

EXTRACCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y PURIFICACIÓN DE ACEITES  
ESENCIALES DE LAS HOJAS DE LAUREL DE CERA (*Morella pubescens*) Y  
ROMERO (*Rosmarinus officinalis*) COMO ALTERNATIVA DE DESARROLLO  
AGROINDUSTRIAL PARA EL DEPARTAMENTO DE NARIÑO.

PATRICIA DEL ROCÍO CASTILLO SILVA  
MÓNICA PAOLA SANTACRUZ BURBANO

UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES  
FACULTAD DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL  
SAN JUAN DE PASTO  
2010

EXTRACCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y PURIFICACIÓN DE ACEITES  
ESENCIALES DE LAS HOJAS DE LAUREL DE CERA (*Morella pubescens*) Y  
ROMERO (*Rosmarinus officinalis*) COMO ALTERNATIVA DE DESARROLLO  
AGROINDUSTRIAL PARA EL DEPARTAMENTO DE NARIÑO.

PATRICIA DEL ROCÍO CASTILLO SILVA  
MÓNICA PAOLA SANTACRUZ BURBANO

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de  
Ingeniera Agroindustrial y Química

Director:  
M. Sc. OSCAR ARANGO BEDOYA

Asesor:  
Qco. DAVID ARTURO PERDOMO

UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES  
FACULTAD DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL  
SAN JUAN DE PASTO  
2010

Las ideas y conclusiones aportadas en el presente trabajo son de responsabilidad exclusiva de los autores.

Artículo 1° del acuerdo No. 324 del 11 de Octubre de 1996, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de Aceptación

---

---

---

---

---

---

---

Director

---

Asesor

---

Jurado

---

Jurado

Pasto, febrero de 2010

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Ingeniero Oscar Arango por su asesoría y colaboración en el desarrollo de este proyecto. Al Químico David Arturo por su paciencia y por contribuir con sus conocimientos para ayudarnos a alcanzar los objetivos propuestos. A los Ingenieros Hugo Gomajoa y Renato Pantoja por su colaboración en el desarrollo del proyecto en Planta Piloto. A la Vicerectoría de Investigaciones y Postgrados por su ayuda financiera. A todos aquellos que nos apoyaron indirectamente en la consecución de este logro.

A Dios Padre,  
por ser la fuerza de mi vida,  
el motor de mi existencia.  
A mi Mami, por toda una vida  
de amor y dedicación.  
A mi Abuela, Tías y demás familiares,  
por enseñarme el valor de la fraternidad.  
A mis amigos, por ser aquellos Ángeles  
que Dios dispuso para encontrar mi camino.

Patricia.

A mi Papá y a mi Mamá por  
guiarme todos estos años.  
A mis Hermanas y a mi Tía por  
apoyarme siempre.  
A Juan Fe y Dani por alegrar mis días.

Mónica Santacruz.

## CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	30
1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	31
2 JUSTIFICACION	32
3 OBJETIVOS	33
3.1 OBJETIVO GENERAL	33
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
4 ESTADO DEL ARTE	34
4.1 ROMERO	34
4.1.1 Generalidades	34
4.1.2 Aceite esencial de romero	34
4.2 LAUREL DE CERA	36
4.2.1 Generalidades	36
4.2.2 Usos	37
4.3 ACEITES ESENCIALES	38
4.3.1 Clasificación	38
4.4 TÉCNICAS UTILIZADAS EN LA EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES	39
4.4.1 Destilación por Arrastre con Vapor	39
4.4.2 Destilación Extracción-Simultanea (D.E.S.)	41
4.4.3 Hidrodestilación asistida por radiación con microondas (M.W.H.D.)	43

4.4.4	Comparación de las técnicas de extracción A.V., D.E.S y M.W.H.D	44
4.5	RECTIFICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES	46
4.5.1	Destilación Fraccionada	47
4.6	METODOS PARA EL ANÁLISIS FÍSICO Y QUÍMICO DE ACEITES ESENCIALES	47
4.6.1	Cromatografía de Gases.	47
4.6.2	Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas	50
4.6.3	Pruebas Físico-Químicas	50
5	METODOLOGÍA	53
5.1	PREPARACIÓN DE LA MATERIA PRIMA	53
5.2	MÉTODOS EVALUADOS EN LABORATORIO	54
5.2.1	Extracción por arrastre con vapor	55
5.2.2	Hidrodestilación asistida por radiación con microondas (M.W.H.D.)	56
5.2.3	Destilación extracción simultánea (D.E.S.)	57
5.3	ESTUDIO DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN MEDIANTE LA TÉCNICA DE EXTRACCIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR EN PLANTA PILOTO.	58
5.3.1	Desarrollo de los Experimentos	59
5.3.2	Balance materia y energía para la extracción por arrastre con vapor (en condiciones óptimas)	59
5.4	PURIFICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES OBTENIDOS	65
5.5	ANÁLISIS CROMATOGRÁFICOS DE LOS ACEITES ESENCIALES	66
5.6	PRUEBAS FÍSICO-QUÍMICAS	68
5.6.1	Punto de Ebullición.	68

5.6.2	Índice de Refracción.	68
5.6.3	Determinación del Peso Especifico.	69
5.6.4	Índice de Acidez.	70
6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	71
6.1	CONSIDERACIONES GENERALES PARA EL ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS EXPERIMENTALES.	71
6.2	EXTRACCIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR	71
6.2.1	Extracción por arrastre con vapor de aceite esencial de las hojas de <i>R. officinalis</i>	71
6.2.1.1	Análisis de varianza.	71
6.2.1.2	Efecto de las variaciones en el proceso de extracción sobre el área del perfil cromatográfico en cuentas del aceite esencial	72
6.2.2	Extracción por arrastre con vapor de aceites esenciales de hojas de <i>M. pubescens</i>	74
6.2.2.1	Análisis de varianza.	74
6.2.2.2	Efecto de las variaciones en el proceso de extracción sobre el área del perfil cromatográfico en cuentas del aceite esencial	74
6.2.2.3	Análisis de resultados para la extracción por A.V. de los AEs de las dos especies vegetales	76
6.3	EXTRACCIÓN DESTILACIÓN SIMULTANEA	77
6.3.1	Extracción de Aceite Esencial de <i>R. officinalis</i> mediante D.E.S.	77
6.3.1.1	Análisis de varianza.	77
6.3.1.2	Efecto de las variaciones en el proceso de extracción sobre el área del perfil cromatográfico en cuentas del aceite esencial	78
6.3.2	Extracción de aceite esencial de <i>M. pubescens</i> mediante D.E.S.	79

6.3.2.1	Análisis de varianza.	80
6.3.2.2	Efecto de las variaciones en el proceso de extracción sobre el área del perfil cromatográfico en cuentas del aceite esencial	80
6.3.3	Análisis de resultados para la obtención AE de las dos especies vegetales mediante D.E.S.	81
6.4	HIDRODESTILACION ASISTIDA POR RADIACIÓN CON MICROONDAS (M.W.H.D.)	82
6.4.1	Extracción de aceite esencial de las hojas de <i>R. officinalis</i> mediante Hidrodestilación asistida por radiación con microondas (M.W.H.D).	82
6.4.1.1	Análisis de varianza	82
6.4.1.2	Efecto de las variaciones en el proceso de extracción sobre el área del perfil cromatográfico en cuentas del aceite esencial	83
6.4.2	Extracción de aceite esencial de las hojas de <i>M. pubescens</i> mediante Hidrodestilación asistida por radiación con microondas (M.W.H.D.)	84
6.4.2.1	Análisis de varianza.	84
6.4.2.2	Efecto de las variaciones en el proceso de extracción sobre el área del perfil cromatográfico en cuentas del aceite esencial	86
6.4.2.3	Análisis de Resultados para la extracción de aceites esenciales de las dos especies vegetales mediante M.W.H.D.	86
6.5	COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN	87
6.5.1	Comparación del aceite esencial de <i>R. Officinalis</i> obtenido en laboratorio	87
6.5.2.	Comparación del aceite de <i>R. officinalis</i> procedente de Gualmatán (N) con otras investigaciones	88
6.5.3	Comparación del aceite esencial de <i>M. pubescens</i> obtenido en laboratorio	90

6.5.4	Comparación del aceite del aceite esencial de <i>M. pubescens</i> procedente de San Pablo (N) con otras investigaciones	91
6.6	EXTRACCIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR EN PLANTA PILOTO	92
6.6.1	Extracción por arrastre con vapor en planta piloto para la obtención de aceite esencial a partir de hojas de <i>R. officinalis</i>	92
6.6.2	Extracción por arrastre con vapor en planta piloto del aceite esencial de las hojas de <i>M. pubescens</i> .	95
6.7	COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LABORATORIO Y PLANTA PILOTO.	97
6.8	BALANCES DE MATERIA Y ENERGÍA PARA EL PROCESO EN CONDICIONES ÓPTIMAS	103
6.8.1	Balance de materia y energía para el aceite esencial de las hojas de <i>R. officinalis</i> .	103
6.8.1.1	Balance de materia.	103
6.8.1.2	Calor perdido por tuberías y accesorios	103
6.8.1.3	Calor necesario para el proceso y consumo de combustible.	106
6.8.2	Balance de materia y energía para la obtención de aceite esencial de <i>M. pubescens</i>	108
6.8.2.1	Balance global de materia	108
6.8.2.2	Calor perdido por tuberías y accesorios	109
6.8.2.3	Calor necesario para el proceso y consumo de combustible	111
6.8.3	Análisis de resultados para los dos tipos de plantas vegetales	111
6.9	PRUEBAS FÍSICOQUÍMICAS DE LOS ACEITES ESENCIALES DE LAS HOJAS DE <i>R. officinalis</i> y <i>M. pubescens</i>	112

6.9.1	Aceite Esencial de las hojas de <i>R. officinalis</i> procedente del municipio de Gualmatán.	112
6.9.2	Aceite Esencial de las hojas de <i>M. pubescens</i> procedente del municipio de San Pablo (N).	114
6.10	PURIFICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES DE LAS HOJAS DE <i>M. pubescens</i> y <i>R. officinalis</i> MEDIANTE DESTILACIÓN FRACCIONADA AL VACÍO.	115
6.10.1	Destilación Fraccionada al vacío del aceite esencial de las hojas de <i>R. officinalis</i> .	115
6.10. 2	Destilación Fraccionada al vacío del aceite esencial de las hojas de <i>M. pubescens</i> .	116
7	CONCLUSIONES	119
8	RECOMENDACIONES	121
	BIBLIOGRAFÍA	122
	ANEXOS	127

## LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Análisis de varianza de los resultados de la extracción por arrastre con vapor del aceite esencial de las hojas de <i>R. officinalis</i> .	72
Tabla 2. Análisis de varianza para los resultados de la extracción por arrastre con vapor de AE de las hojas de <i>M. pubescens</i>	76
Tabla 3. Análisis de varianza para los resultados de la extracción por D.E.S. de aceite esencial de las hojas de <i>R. officinalis</i>	78
Tabla 4. Análisis de varianza para los resultados de la extracción por D.E.S. de AE de las hojas de hojas de <i>M. pubescens</i>	80
Tabla 5. Análisis de varianza para los resultados de la extracción por M.W.H.D de aceite esencial de las hojas de <i>R. officinalis</i>	83
Tabla 6. Análisis de varianza para los resultados de la extracción por M.W.H.D. de aceite esencial de las hojas de <i>M. pubescens</i> .	85
Tabla 7. Análisis de varianza del área en cuentas del perfil cromatográfico para la extracción de aceite esencial de <i>R. officinalis</i> en planta piloto.	93
Tabla 8. Análisis de varianza del porcentaje de rendimiento del aceite esencial de las hojas <i>R. officinalis</i> extraído en planta piloto.	94
Tabla 9. Óptimo Global a partir de las variables de respuesta área total en cuentas del perfil cromatográfico y porcentaje de rendimiento en extracción por arrastre con vapor en planta piloto de <i>R. officinalis</i> .	94
Tabla 10. Análisis de varianza del área total en cuentas del perfil cromatográfico para la extracción por arrastre con vapor del aceite esencial de las hojas de <i>M. pubescens</i>	96
Tabla 11. Análisis de varianza para la variable de respuesta porcentaje de rendimiento, en la extracción por arrastre con vapor del aceite esencial de las hojas de <i>M. pubescens</i>	96
Tabla 12. Óptimo Global a partir de las variables de respuesta área total en cuentas del perfil cromatográfico y porcentaje de rendimiento en la extracción por arrastre con vapor en planta piloto de <i>M. pubescens</i>	97

## LISTA DE CUADROS

	Pág
Cuadro 1. Propiedades de las esencias de <i>R. officinalis</i> .	36
Cuadro 2. Comparación de las técnicas de extracción A.V., D.E.S. y M.W.H.D.	44
Cuadro 3. Porcentaje de humedad inicial y final del material vegetal.	53
Cuadro 4. Abertura de tamiz estándar.	54
Cuadro 5. Diámetro promedio de partícula.	54
Cuadro 6. Factores y niveles para los diferentes métodos evaluados.	55
Cuadro 7. Densidades de lecho en la columna de empaquetamiento para los diferentes materiales vegetales utilizados.	55
Cuadro 8. Compuestos mayoritarios identificados en el AE de <i>R. officinalis</i> extraído por arrastre con vapor.	72
Cuadro 9. Compuestos mayoritarios identificados en el AE de <i>M. pubescens</i> extraído por arrastre con vapor.	74
Cuadro 10. Compuestos mayoritarios identificados en el AE de <i>R. officinalis</i> extraído por D.E.S.	77
Cuadro 11. Compuestos mayoritarios identificados en el AE de <i>M. pubescens</i> extraído por D.E.S.	79
Cuadro 12. Compuestos mayoritarios identificados en el AE de <i>R. officinalis</i> extraído por M.W.H.D.	82
Cuadro 13. Compuestos mayoritarios identificados en el AE de <i>M. pubescens</i> extraído por M.W.H.D.	85
Cuadro 14. Comparación de las tres técnicas de extracción en laboratorio para <i>R. officinalis</i> , en base en los 9 compuestos mayoritarios (Datos promedio de la mejor condición).	88
Cuadro 15. Resumen en base a los resultados obtenidos en cada una de la metodologías en laboratorio para <i>R. officinalis</i> , datos correspondientes al promedio de la mejor condición obtenida.	88
Cuadro 16. Comparación del aceite esencial de <i>R. officinalis</i> procedente de Gualmatán (N) con otras investigaciones.	89
Cuadro 17. Comparación de los 3 métodos en laboratorio para <i>M. pubescens</i> , en base a los 17 compuestos mayoritarios. Datos promedios tomados de la mejor condición.	90
Cuadro 18. Comparación de los métodos en laboratorio para <i>M. pubescens</i> a partir de los datos promedio de la mejor condición.	91
Cuadro 19. Comparación de los compuestos mayoritarios presentes en e aceite esencial de <i>M. pubescens</i> procedente de San Pablo (N) con otras investigaciones.	92

Cuadro 20. Comparación de la cantidad relativa en porcentaje de los compuestos mayoritarios presentes en el aceite esencial de <i>M. pubescens</i> extraído en laboratorio (mejor condición) y planta piloto (promedio punto óptimo)	98
Cuadro 21. Comparación de la cantidad relativa de los compuestos mayoritarios presentes en el aceite esencial de <i>R. officinalis</i> extraído en laboratorio y planta piloto (ensayos en los que se obtuvieron las mayores áreas del cromatograma).	98
Cuadro 22. Datos tomados en planta piloto para extracción de AE de <i>R. officinalis</i>	103
Cuadro 23. Datos tomados en planta piloto, para el intercambiador en la extracción de AE de <i>R. officinalis</i> .	104
Cuadro 24. Datos tomados en planta piloto para extracción de AE de <i>M. pubescens</i> .	109
Cuadro 25. Datos tomados en planta piloto, para el intercambiador en la extracción de AE de <i>M. pubescens</i>	109
Cuadro 26. Resultados del balance de materia y energía, para el punto óptimo obtenido mediante la metodología de respuesta aplicada a arrastre con vapor.	112
Cuadro 27. Actividad biológica y aplicación industrial de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de las hojas de <i>R. officinalis</i>	113
Cuadro 28. Propiedades físico-químicas del aceite esencial de las hojas de <i>R. officinalis</i>	113
Cuadro 29. Actividad biológica y aplicación industrial de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de las hojas de <i>M. pubescens</i>	114
Cuadro 30. Propiedades físico-químicas del aceite esencial de las hojas de <i>M. Pubescens</i>	114
Cuadro 31. Características del AE de <i>R. officinalis</i> sin rectificar y rectificado.	115
Cuadro 32. Características del AE de <i>M. pubescens</i> sin rectificar y rectificado	117

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Flores <i>R. officinalis</i> .	36
Figura 2. Hojas <i>R. officinalis</i> .	36
Figura 3. Árbol de <i>M. pubescens</i> .	38
Figura 4. Hojas de <i>M. pubescens</i> .	38
Figura 5. Esquema básico del proceso utilizado en la extracción por arrastre con vapor.	41
Figura 6. Equipo Likens and Nikerson, utilizado para D.E.S.	42
Figura 7. Equipo para hidrodestilación asistida por microondas.	44
Figura 8. Refracción de la luz.	51
Figura 9. Equipo de arrastre con vapor.	56
Figura 10. Equipo para hidrodestilación asistida por radiación con microondas (M.W.H.D.)	57
Figura 11. Equipo de destilación extracción simultanea.	58
Figura 12. Equipo para extracción por arrastre con vapor en planta piloto.	59
Figura 13. Delimitación del sistema global y descripción de la unidad piloto de Hidrodestilación.	60
Figura 14. Diagrama de energía para el hidrodestilador según cerpa 2007.	62
Figura 15. Hidrodestilador visto desde la parte superior.	63
Figura 16. Equipo para destilación fraccionada al vacío.	66
Figura 17. Cromatógrafo de Gases – Universidad de Nariño.	67
Figura 18. Esquema para la determinación del punto de ebullición.	68
Figura 19. Refractómetro Abbe.	69
Figura 20. Picnómetro con aceite esencial.	70
Figura 21. Titulación para la determinación del Índice de Acidez.	70
Figura 22. a) Diagrama de efectos principales. b) Diagrama de interacción, para el área del perfil cromatográfico del aceite esencial de las hojas <i>R. officinalis</i> extraído mediante arrastre con vapor.	73
Figura 23. a) Diagrama de efectos principales. b) Diagrama de interacción, para el área del perfil cromatográfico del AE de las hojas <i>M. pubescens</i> extraído mediante arrastre con vapor.	75
Figura 24. a) Diagrama de interacción. b) Diagrama de efectos principales, para el área del perfil cromatográfico del aceite esencial de las hojas <i>R. officinalis</i> extraído por D.E.S.	78
Figura 25. a) Diagrama de interacción. b) Diagrama de efectos principales, para el área del perfil cromatográfico del AE obtenido por D.E.S. de las hojas de <i>M. pubescens</i> .	81

Figura 26. a) Diagrama de efectos principales. b) Diagrama de interacción para el área del perfil cromatográfico del AE obtenido por M.W.H.D. de hojas de <i>R. officinalis</i> .	84
Figura 27. a) Diagrama de interacción. b) Diagrama de efectos principales, para el área del perfil cromatográfico del aceite esencial obtenido por M.W.H.D. de hojas de <i>M. pubescens</i> .	86
Figura 28. Gráfica de contorno para la extracción por arrastre con vapor en planta piloto de aceite de las hojas de <i>R. officinalis</i> .	95
Figura 29. Gráfica de contorno para extracción por arrastre con vapor en planta piloto de aceite esencial de las hojas de <i>M. pubescens</i> .	97
Figura 30. a) Componentes principales de una hoja dicotiledónea. b) Resistencia de la hoja a la difusión de vapor de agua.	100
Figura 31. Imágenes por microscopia electrónica de barrido de la superficie de la hoja, a) Superficie de la hoja antes de un proceso de extracción, con 350x y una escala de 30 $\mu\text{m}$ ; b) Tricomas glandulares con 1000x y una escala de 10 $\mu\text{m}$ ; c) Superficie de la hoja procesada, con 200x y una escala de 5 $\mu\text{m}$ ; d) Tricomas glandulares implosionados, con 350x y una escala de 30 $\mu\text{m}$ .	101
Figura 32. Aceite de <i>M. pubescens</i> a) Extraído con una presión inferior a 3 PSI, b) Extraído con una presión superior a 3 PSI.	102
Figura 33. Aceite de <i>R. officinalis</i> a) Extraído con una presión inferior a 3 PSI, b) extraído con una presión superior a 3 PSI.	102
Figura 34. Movimiento de compuestos en la Destilación fraccionada al vacío del aceite esencial de <i>R. officinalis</i> .	116
Figura 35. Aceite esencial de <i>R. officinalis</i> después de purificación por destilación fraccionada al vacío, a) aceite sin rectificar, b), c), d) aceite rectificado.	116
Figura 36. Aceite esencial de <i>M. pubescens</i> después de purificación por destilación fraccionada al vacío, a) aceite sin rectificar, b) fracción 3 (F3), c) fracción 5 (F5).	117
Figura 37. Movimiento de compuestos en la Destilación fraccionada al vacío del aceite esencial de las hojas de <i>M. pubescens</i> .	118

## LISTA DE ANEXOS

	Pág
Anexo A Nomograma	126
Anexo B Grupos funcionales representados en el Nomograma de presión de vapor-temperatura para líquidos de alto punto de ebullición.	127
Anexo C Perfil cromatográfico parafinas C <sub>6</sub> -C <sub>32</sub>	128
Anexo D Cromatograma obtenido por GC-MS del aceite esencial de <i>R. officinalis</i> .	129
Anexo E Cromatograma obtenido por GC-MS del aceite esencial de <i>M. pubescens</i> .	130
Anexo F Resultados del diseño experimental para la extracción por arrastre con vapor en laboratorio de aceite esencial de las hojas de las hojas de <i>R. officinalis</i> .	131
Anexo G Resultados del diseño experimental para la extracción por arrastre con vapor en laboratorio de aceite esencial de las hojas de las hojas de <i>R. officinalis</i> .	132
Anexo H Resultados del diseño experimental para la extracción por arrastre con vapor en laboratorio de hojas de <i>M. pubescens</i> .	133
Anexo I Resultados del diseño experimental para la extracción por arrastre con vapor en laboratorio de hojas de <i>M. pubescens</i> .	134
Anexo J Resultados del diseño experimental para la extracción por arrastre con vapor en laboratorio de hojas de <i>M. pubescens</i> .	135
Anexo K Resultados del diseño experimental para la extracción de aceite esencial de hojas de <i>R. officinalis</i> mediante D.E.S.	136
Anexo L Resultados del diseño experimental para la extracción de aceite esencial de hojas de <i>R. officinalis</i> mediante D.E.S.	137
Anexo M Resultados del diseño experimental para la extracción de aceite esencial de hojas de <i>M. pubescens</i> por D.E.S.	138
Anexo N Resultados del diseño experimental para la extracción de aceite esencial de hojas de <i>M. pubescens</i> por D.E.S.	139
Anexo O Resultados del diseño experimental para la extracción de aceite esencial de hojas de <i>M. pubescens</i> por D.E.S.	140
Anexo P Resultados del diseño experimental para la extracción de aceite esencial de hojas de <i>R. officinalis</i> por M.W.H.D.	141
Anexo Q Resultados del diseño experimental para la extracción de aceite esencial de hojas de <i>R. officinalis</i> por M.W.H.D.	142
Anexo R Resultados del diseño experimental para la extracción de aceite esencial de hojas de <i>R. officinalis</i> por M.W.H.D.	143
Anexo S Resultados del diseño experimental para la extracción de aceite esencial de hojas de <i>M. pubescens</i> por M.W.H.D.	144

Anexo T Resultados del diseño experimental para la extracción de aceite esencial de hojas de <i>M. pubescens</i> por M.W.H.D.	145
Anexo U Resultados del diseño experimental para la obtención de aceite esencial de hojas de <i>R. officinalis</i> por arrastre con vapor en planta piloto.	146
Anexo V Resultados del diseño experimental para la obtención de aceite esencial de hojas de <i>R. officinalis</i> por arrastre con vapor en piloto.	147
Anexo W Resultados del diseño experimental para la obtención de aceite de hojas de <i>M. pubescens</i> por arrastre con vapor en piloto.	148
Anexo X Resultados del diseño experimental para la obtención de aceite de hojas de <i>M. pubescens</i> por arrastre con vapor en planta piloto.	149
Anexo Y Resultados del diseño experimental para la obtención de aceite de hojas de <i>M. pubescens</i> por arrastre con vapor en planta piloto.	150
Anexo Z Resultados del diseño experimental para la obtención de aceite de hojas de <i>M. pubescens</i> por arrastre con vapor en planta piloto.	151
Anexo 1 Movimiento de compuestos en la destilación fraccionada al vacío del aceite esencial de <i>R. officinalis</i> .	152
Anexo 2 Movimiento de compuestos en la destilación fraccionada al vacío del aceite esencial de <i>R. officinalis</i> .	153
Anexo 3 Estructura química compuestos mayoritarios en el aceite esencial de <i>R. officinalis</i> .	154
Anexo 4 Estructura química compuestos mayoritarios en el aceite esencial de <i>M. pubescens</i> .	155
Anexo 5 Espectros de masas de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de <i>R. officinalis</i> : 1,8-cineol, alcanfor, mirceno, $\alpha$ -pineno, canfeno	156
Anexo 6 Espectros de masas de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de <i>M. pubescens</i> : <i>trans</i> -cariofileno, $\alpha$ -selineno, $\beta$ -selineno, selino-3,7(11)-dieno.	162
Anexo 7 Posible ruta de fragmentación de 1,8-cineol	167
Anexo 8 Posible ruta de fragmentación de masas de alcanfor	168
Anexo 9 Posible ruta de fragmentación de masas de mirceno	169
Anexo 10 Posible ruta de fragmentación de masas de $\alpha$ -pineno	170
Anexo 11 Posible ruta de fragmentación de masas de canfeno	171
Anexo 12 Posible ruta de fragmentación de $\alpha$ - Selineno	172
Anexo 13 Posible ruta de fragmentación de masas de $\beta$ -selineno	173
Anexo 14 Posible ruta de fragmentación de masas de selino-3,7(11)-dieno	174
Anexo 15 Posible ruta de fragmentación de masas de <i>trans</i> -cariofileno	175

## ABREVIATURAS

		Unidades
A	Área de transferencia de calor	$[m^2]$
AE	Aceite esencial	
$A_{TC}$	Área total del perfil cromatográfico	$\mu V$
$A_{CM}$	Área de los compuestos mayoritarios	$\mu V$
$^{\circ}C$	Grados Celsius	
$C_p$	Capacidad calorífica a presión constante	$[KJ/Kg^{\circ}C]$
$\overline{C_p}$	Capacidad calorífica promedio	$[KJ/Kg^{\circ}C]$
Cr	Cantidad relativa	%
Ctos	Compuestos	
$^{\circ}F$	Grados Fahrenheit	
$D_p$	Diámetro de partícula	$[mm]$
$\overline{D_p}$	Diámetro de partícula promedio	
$\overline{h}$	Coefficiente de transferencia de calor por convección del aire.	
H	Entalpía	$[BTU/Lb]$
$I_K$	Índice de Kovats	
K	Grados Kelvin	
$\dot{m}$	Flujo másico	$[Kg/s]$
M	Masa	
$\overline{Nu}$	Numero de Nusselt	
P	Presión parcial	
Pr	Numero de Prandtl	
PR	Porcentaje de rendimiento	
$\dot{Q}$	Flujo de calor	$[BTU/min]$
$Q$	Calor	$[BTU]$
$\dot{Q}$	Flujo de calor	$[BTU/min]$
R	Radio	
Re	Numero de Reynolds	
T	Tiempo	
T	Temperatura	
$X_{i''}$	Fracción molar del componente un componente específico "i"	
$\overline{v}$	Velocidad promedio del aire	
V	Volumen	
W	Contenido de agua en porcentaje	

W      Vatios      [Julio/sg]

Alfabeto Griego

P      Densidad      [g/mL]

$\Theta$       Diámetro

$\mathcal{R}$       Coeficiente de transmisión de calor superficial      [w/mk]

$\Pi$       Número Pi

$\Delta$       Variación

$\vartheta$       viscosidad cinemática      [m<sup>2</sup>/s\*]

Super/subíndices

Ac      Referido al acero inoxidable

B      Referido a la superficie

B      Referido a la materia prima al final del proceso

Ce      Referido al cilindro externo del hidroddestilador

Ci      Referido al cilindro interno del hidroddestilador

D      Referido a los condensados con aceite esencial

Eo      Referido al aceite esencial puro

Ex      Referido al radio externo del hidroddestilador

F      Referido a la materia prima al inicio del proceso

Fv      Referido a la fibra de vidrio como aislante térmico

Hd      Referido al hidroddestilador

I      Referido al agua de enfriamiento

In      Referido al radio interno del hidroddestilador

Mh      Referido al material vegetal

P      Referido al vapor de agua

Ts      Referido a la tapa superior del hidroddestilador

Ti      Referido a la tapa inferior del hidroddestilador

$\infty$       Referido a los alrededores del sistema

## LISTA DE ECUACIONES

	Pág.
Ecuación (1) Índice de Kovats	49
Ecuación (2) Índice de Kovats	50
Ecuación (3) Diámetro promedio de partícula	54
Ecuación (4) Modelamiento matemático para diseño factorial de experimentos $2^k$	55
Ecuación (5) Balance general de masa.	60
Ecuación (6) Balance global de energía	61
Ecuación (7) Calor necesario para elevar la temperatura en materia prima de entrada.	61
Ecuación (8) Calor necesario para elevar la temperatura en materia prima a la salida.	61
Ecuación (9) Correlación para encontrar el calor específicos de la materia prima en base a la humedad de la misma.	61
Ecuación (10) Calor contenido por el vapor directo.	61
Ecuación (11) Balance de energía para el intercambiador.	61
Ecuación (12) Calor contenido por el agua de enfriamiento.	61
Ecuación (13) Calor contenido por el vapor.	61
Ecuación (14) Calor contenido en los condensados (aceite + agua).	61
Ecuación (15) Calor adquirido por el agua de enfriamiento.	62
Ecuación (16) Calor perdido en el sistema global.	62
Ecuación (17) Energía para el calentamiento de la planta aromática.	62
Ecuación (18) Energía para el calentamiento del hidroddestilador.	63
Ecuación (19) Masa total del hidroddestilador.	63
Ecuación (20) Capacidad calorífica del hidroddestilador.	63
Ecuación (21) Energía para vaporizar el aceite esencial, considerado como un líquido en la película superficial.	64
Ecuación (22) Flujo del fluido debido a la convección natural.	64
Ecuación (23) Área del hidroddestilador, calculada como el área lateral de un cilindro.	64
Ecuación (24) Numero Reynolds.	64
Ecuación (25) Numero Nusselt, calculado según las constantes de correlación de Hilpert, determinadas por Numero Reynolds y el Numero Prandtl para el aire.	65
Ecuación (26) Numero Nusselt, calculado a partir del coeficiente de transferencia de calor por convección del aire, diámetro externo del cilindro y coeficiente de transferencia de calor superficial del aire.	65

Ecuación (27) El flujo de energía necesario para el proceso de extracción por arrastre con vapor en planta piloto.	65
Ecuación (28) Consumo de combustible en la extracción por arrastre con vapor a nivel piloto.	65
Ecuación (29) Punto de Ebullición.	68
Ecuación (30) Gravedad específica a 20°C.	70

## GLOSARIO

**Alícuota:** volumen o cantidad de masa que se va a emplear en una prueba de laboratorio. Normalmente las alícuotas son el resultado de repartir un volumen inicial en varias partes iguales. Se suele medir en mililitros o gramos diluidos.

**Análisis de varianza:** análisis estadístico que separa la contribución de cada fuente de variación en la variación total observada en los experimentos.

**Anillos rashing:** estructuras cilíndricas de diámetro pequeño que se utilizan con relleno de las columnas de destilación, con el fin de incrementar el área de contacto entre fluidos.

**Aislante térmico:** material sintético que se utiliza para evitar las pérdidas de calor.

**Balance de materia:** hace referencia a la ley de conservación de la materia la cual establece que la materia no se puede crear ni destruir es decir la conservación de la materia exige que los materiales que entran en un proceso, o bien se acumulan o salen del proceso, de forma que no puede haber pérdida ni ganancia.

**Balance de energía:** se aplica a un proceso, o a una parte del mismo, separado de los alrededores por un límite imaginario, en el cual la entrada que cruza el límite tiene que ser igual a la salida más la acumulación siempre y cuando las condiciones son de estado estacionario.

**Base de cálculo:** es la referencia elegida por usted para los cálculos que planea hacer un problema en particular.

**Capa limitrofe:** capa superficial de la hoja, a través de la cual debe difundirse hacia el exterior desde las superficies húmedas en el mesófilo y el parénquima.

**Capacidad calorífica:** es el cambio de entalpía con la temperatura a presión constante.

**Cromatografía de gases:** técnica de separación y análisis de mezclas de sustancias volátiles basada en la distribución de los componentes de una mezcla entre dos fases inmiscibles, una fija y otra móvil. En cromatografía gaseosa, la fase móvil es un gas que fluye a través de una columna que contiene a la fase fija.

**Cromatógrafo:** instrumento compuesto por gas de arrastre, puerto de inyección, columna, detector y analizador que permite la separación de compuestos orgánicos e inorgánicos térmicamente estables y volátiles.

**Cromatograma o perfil cromatográfico:** gráfico que representa la respuesta del detector en función del tiempo de elución.

**Convección:** se da cuando una corriente o una partícula macroscópica de fluido cruza una superficie específica y lleva consigo una determinada cantidad de entalpía. Se presenta entre un elemento sólido y un fluido.

**Detector:** mide la variación de alguna propiedad física del gas portador originada por la elución de los compuestos. La temperatura del detector ha de ser mayor o igual que la de columna para evitar la condensación de algún compuesto eluido.

**Detector de ionización de llama (FID):** detector utilizado en cromatografía de gases en el cual el eluato se quema en una mezcla de H<sub>2</sub> y aire. Los cationes que se producen en la llama conducen la corriente eléctrica desde la punta del quemador

que actúa en el ánodo y colector catódico. Esta señal eléctrica es la señal que da el detector.

Diseño de experimentos: Técnicas estadísticas y de ingeniería que permiten lograr la máxima eficiencia de producción al menor costo, proporciona información necesaria para mejorar el proceso a estudio.

Diseño factorial: diseño experimental que sirve para estudiar el efecto individual y de interacción de varios factores sobre una o varias respuestas.

Diseño de superficie de respuesta: diseño experimental relaciona la variable de respuesta con los factores estudiados mediante modelos de regresión múltiple que permiten encontrar la posible ubicación de un punto óptimo.

Efecto principal: es igual a la respuesta promedio observada en el nivel alto de un factor menos la respuesta promedio en el nivel bajo.

Espectrometría de masas: técnica que se basa en ionizar moléculas gaseosas (convirtiéndolas en cationes), acelerarlas en un campo eléctrico y luego separarlas de acuerdo a su masa.

Espectro de masas: gráfico que muestra la abundancia relativa de cada fragmento que choca con el detector del espectrómetro de masas.

Factores: variables que se investigan en el experimento para observar como afectan o influyen en la variable de respuesta.

Flujo laminar: tipo de régimen en el cual los fluidos tienden a moverse sin mezcla lateral (torbellinos).

Flujo másico: cantidad de materia por unidad de tiempo que pasa por un punto determinado.

Gráfica de contorno: es la proyección en dos planos (X y Y) de la superficie de respuesta.

Índice de retención de Kovats: relaciona el tiempo de retención de un soluto con los tiempos de retención de los alcanos lineales.

Interacción entre efectos: dos factores interactúan significativamente sobre la variable de respuesta cuando el efecto de uno depende del nivel en que está el otro y viceversa.

Muestreo doble o bifásico: en este tipo de muestreo se toma una muestra grande de forma rápida, sencilla y poco costosa, a fin de que su información sirva de base para la selección de otras más pequeñas, relativas a las características que constituyen el objeto del estudio propiamente dicho.

Niveles: son los diferentes valores que se asignan a cada factor estudiado en un diseño experimental.

Nomograma: método gráfico que se utiliza para encontrar valores desconocidos.

Numero Nusselt: número adimensional utilizado en los estudios de transmisión de calor, el cual relaciona el gradiente en la pared y gradiente medio de temperatura en una tubería o superficie.

Numero Prandtl: número adimensional el cual mide el valor de la relación entre la difusividad de cantidad de movimiento y la difusividad térmica. Su valor numérico depende de la temperatura y la presión del fluido.

Numero Reynolds: número adimensional que determina el punto en el que aparece la turbulencia cuando hay transición de flujo laminar a turbulento.

Prueba de falta de ajuste: verifica la calidad del ajuste del modelo, en particular ayuda a evaluar si el orden del modelo es correcto.

Punto central: tratamiento formado por la combinación del nivel intermedio o medio de todos los factores.

Punto óptimo: resultado estadístico que indica la mejor combinación de valores de los factores estudiados, considerando toda la región de operabilidad.

Optimización: técnica matemática que sirve para extraer la información sobre el punto óptimo que tiene un modelo ajustado.

Optimización simultánea o global: resultado estadístico que consiste en sobreponer dos curvas de nivel de cada respuesta sobre diferentes cortes bidimensionales de un cubo, hasta tener una región factible suficientemente pequeña cuyo centro es el óptimo simultáneo buscado.

Rectificación: eliminación de impurezas contenidas en los aceites esenciales brutos generalmente se elimina por un fraccionamiento.

Sistema termodinámico: región del espacio que contiene una cantidad fija de masa que es de interés de estudio, la cual está delimitada por unas fronteras definidas por una superficie arbitraria.

Temperatura de referencia: temperatura que se toma como base de suposición para realizar una serie de cálculos matemáticos.

Tiempo de operación: tiempo determinado por diseño para realizar una corrida experimental.

Tiempo de retención: tiempo necesario después de la inyección de una mezcla en la columna hasta que ese componente llega al detector.

Tamizado: proceso mecánico que permite clasificar las partículas según su diámetro.

Valor-  $p$  o significancia observada: estadísticamente es el área bajo la distribución de referencia más allá del valor del estadístico de prueba.

Variable de respuesta: característica del producto cuyo valor interesa para mejorar el diseño de experimentos.

Viscosidad: capacidad que tiene un fluido de resistir al movimiento interno.

Viscosidad cinemática: relación entre la viscosidad absoluta y la densidad de un fluido.

## RESUMEN

El presente trabajo contiene un estudio sobre la extracción, caracterización y purificación de los aceites esenciales de las hojas de *Rosmarinus officinalis* y *Morella pubescens* cultivadas en las localidades de Gualmatán y San Pablo en el departamento de Nariño. La extracción de estos aceites esenciales se realizó en laboratorio utilizando un diseño de experimentos factorial, que permitió establecer la mejor condición de trabajo de cada una de las siguientes técnicas: arrastre con vapor (A.V.), destilación-extracción con solvente (D.E.S) e hidrodestilación asistida por radiación con microondas (M.W.H.D). Los factores estudiados fueron el tamaño de partícula y tiempo de extracción para A.V. y D.E.S; y para M.W.H.D se evaluó la potencia del horno microondas y tiempo de extracción; se concluyó que por la técnica M.W.H.D, se obtienen los mejores resultados respecto a cantidad relativa de los compuestos mayoritarios en el aceite esencial de *R. officinalis*, A.V. mostró los mejores resultados en relación a cantidad relativa de compuestos mayoritarios del aceite esencial de *M. Pubescens*.

Igualmente la extracción de estos aceites esenciales se realizó en planta piloto utilizando la técnica AV con el fin de evaluar los resultados bajo un diseño de experimentos utilizando la metodología de superficie de respuesta, para este diseño se tomó como base los resultados obtenidos en el laboratorio respecto a tamaño de partícula y tiempo extracción y se evaluó la influencia de la presión de vapor sobre el porcentaje de rendimiento y el área total del perfil cromatográfico de los AEs. Los resultados obtenidos en planta piloto permitieron encontrar las condiciones óptimas de extracción, que se confrontaron con los de la mejor condición de la misma técnica en laboratorio; bajo estas condiciones se analizaron los correspondientes balances de materia y energía que permitieron inferir que este proceso a escala piloto presenta un gasto energético bajo; por lo cual podría ser aplicado en la pequeña industria. Los aceites obtenidos en planta piloto se rectificaron mediante destilación fraccionada al vacío, y se compararon las propiedades físicas y químicas con los aceites obtenidos inicialmente.

Para el análisis de la composición química de los aceites esenciales obtenidos se utilizó Cromatografía de Gases (GC-FID) y Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), se identificaron como compuestos mayoritarios en el aceite esencial de *R. officinalis*, mirceno, alcanfor,  $\alpha$ -pineno, *trans*-cariofileno, 1,8-cineol, canfeno,  $\beta$ -pineno, borneol, acetato de bornilo; y para el aceite esencial de las hojas de *M. pubescens* se identificaron, linalol,  $\beta$ -elemeno, *trans*-cariofileno,  $\beta$ -humuleno,  $\alpha$ -humuleno,  $\gamma$ -selineno,  $\beta$ -selineno,  $\alpha$ -selineno,  $\gamma$ -cadineno, *cis*-calameneno, selino-3,7(11)-dieno, óxido de cariofileno,  $\beta$ -elemenona, epóxido de humuleno II, germacrona, Kongol. Igualmente se analizaron algunas propiedades físico- químicas de los aceites esenciales como color, olor, índice de refracción, densidad, índice de acidez y punto de ebullición.

## ABSTRACT

This work includes a study of extraction, characterization and purification of essential oil of leaves of *Rosmarinus officinalis* and *Morella pubescens* cultivates in Gualmatan and San Pablo in Nariño Department. The extraction of these essential oils are performed in laboratory experiments using a factorial design, allowed to establish the best working condition of each of the following techniques: steam distillation (A.V), distillation-solvent extraction (D.E.S) and hydrodistillation assisted by microwave radiation (M.W.H.D). The factors studied were the particle size and extraction time for A.V. and D.E.S., for M.W.H.D. studied microwave power and extraction time, concluding that M.W.H.D technique got the best results in relative quantity of main compound in the essential oil of *R. officinalis*, while A.V. had the best results in relative quantity of main compounds of essential oil of *M. pubescens*.

Also the extraction of these essential oils are performed in pilot plant using A.V. technology in order to evaluate the results under an experimental design using response surface methodology, for this design used the results obtained in the laboratory for particle size and extraction time and evaluated the influence of steam pressure on the yield and the total area of the chromatographic profile of AEs. The pilot plant results allowed finding the optimal conditions of extraction, which were compared with the best condition of the same technique in laboratory; under these conditions analyzed for mass and energy balances; allowed to infer that this process has a low energy; therefore it could be applied in small industry. The pilot plant oils obtained were purified by vacuum fractional distillation, comparing the physical and chemical properties of oils obtained initially.

Analyzed the chemical composition of essential oils obtained used gas chromatography (GC-FID) and gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) and was identified as the main compounds in the essential oil of *R. officinalis*, myrcene, camphor,  $\alpha$ -pinene, *trans*-caryophyllene, 1,8-cineole, camphene,  $\beta$ -pinene, borneol, bornyl acetate, for the essential oil from leaves of *M. pubescens* were identified as main compounds, linalool,  $\beta$ -elemeno, *trans*-caryophyllene,  $\beta$ -humulene,  $\alpha$ -humulene,  $\gamma$ -selinene,  $\beta$ -selinene,  $\alpha$ -selinene,  $\gamma$ -cadinene, *cis*-calameneno, selina-3,7(11)-diene, caryophyllene oxide,  $\beta$ -elemenona, humulene epoxide II, germacrona. Also analyzed some physical-chemical properties of essential oils such as color, odor, refractive index, density, acidity index and boiling point.

## INTRODUCCION

Los aceites esenciales (AE) son mezclas complejas de compuestos naturales que tienen su origen en las plantas aromáticas; son extremadamente volátiles y poseen un intenso olor; representan sólo una pequeña fracción de la planta de la cual se derivan, pero le dan un olor característico a toda la planta. Los AE son productos de alto valor comercial en el mercado mundial, que aunque no se consumen directamente, en forma pura, tienen múltiples aplicaciones en las industrias de fragancias, aromas y sabores, medicamentos y otros productos con diferentes usos químicos.

Por lo anterior en esta investigación se realizó la extracción de los aceites esenciales de *Morella pubescens* y *Rosmarinus officinalis* mediante las técnicas de arrastre con vapor (A.V.), destilación-extracción simultánea (D.E.S.) e hidrodestilación asistida por radiación de microondas (M.W.H.D.) en laboratorio y mediante la técnica de arrastre con vapor en planta piloto, con el fin de establecer la influencia que ejercen los diferentes factores o variables que intervienen en los procesos de extracción, llegando a determinar las condiciones más apropiadas para la obtención de estos aceites. También se estudió su composición química, algunas propiedades físico-químicas y su purificación mediante destilación fraccionada al vacío, con el objetivo de generar nuevos conocimientos que permitan apropiarse tecnologías para el aprovechamiento de estas especies que resultan ser promisorias por sus aceites esenciales, generando así una alternativa agroindustrial para el departamento de Nariño.

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

“Colombia es un país con gran biodiversidad vegetativa, cuenta por lo menos con 6.000 plantas que presentan algún tipo de característica medicinal o aromática, 120 especies de las cuales se les ha reconocido un potencial productivo y aptitud para ser cultivadas”<sup>1</sup>. “Por ser un país tropical privilegiado por su variedad de climas y topografía, permite que el cultivo de plantas aromáticas y la posterior obtención de aceites esenciales surjan como una posibilidad de aprovechamiento en el campo agrícola y agroindustrial”<sup>2</sup>.

Siendo así que el tema de plantas medicinales y aromáticas en Colombia se encuentra contenido de manera general dentro de un marco trasversal de políticas de biodiversidad y bosques, así como una normatividad referida a la protección, conservación y usos sostenible de recursos biológicos y genéticos de la diversidad existente; sin embargo la utilización de las plantas aromáticas y medicinales en algunas regiones del país específicamente en Nariño se ve limitado al uso popular (aguas aromáticas), debido a la ausencia de tecnologías apropiadas para este tipo de industria y la falta de investigación, dejando de lado nuevas alternativas como la extracción de aceites esenciales como proyecto productivo enfocado al conocimiento de sus componentes, lo cual permitiría encontrar nuevas aplicaciones en la industria como en la medicina favoreciendo el desarrollo económico de la región.

---

<sup>1</sup> CALLE, A (1998). Consideraciones al Proyecto de ley 139 de 1997 para legalizar el uso e industrialización de la flora medicinal Colombiana

<sup>2</sup> OLAYA, J. M. Et al. Manual de extracción de aceites esenciales de plantas aromáticas. Banco de proyectos CORPOEDUAGRO. 2000.

## 2. JUSTIFICACION

El uso de aceites esenciales en la industria es muy variado y va desde aromatizar jabones y champús hasta la elaboración de alimentos y perfumes. “Según las estimaciones de la organización mundial de salud como mínimo el 80% de la población mundial depende principalmente de medicinas y tratamientos naturales, incluso en los países industrializados, el 40% de los fármacos proviene de estas fuentes”<sup>3</sup>. Muchos medicamentos se elaboran a partir de ingredientes naturales y otros son copias sintéticas o variedades modificadas artificialmente de sustancias químicas naturales.

El mercado mundial de productos con base en plantas medicinales es aproximadamente de 14 billones de dólares anuales. Actualmente el mercado de fitoterapéuticos europeo y norteamericano crece a tasas anuales del 10%, siendo este crecimiento más dinámico que el presentado por los farmacéuticos convencionales. “El mercado norteamericano de fitoterapéuticos es de 10 billones de dólares, y el mercado de la Unión Europea es en la actualidad de 4.4 billones de Euros anuales; Alemania registra el 45% de este comercio y Francia el 29%. Le siguen en importancia, Italia, Reino Unido, España, Holanda y Bélgica”<sup>4</sup>. En cuanto al mercado de aceites esenciales en Colombia un estudio realizado por biocomercio sostenible<sup>5</sup>, muestra que las Importaciones y Exportaciones en el 2002 según la Clasificación Arancelaria No. 33, Colombia importó un total de 162'756.968 dólares entre aceites esenciales, mezclas odoríferas, oleorresinas y resinoides; de los aceites esenciales importados los más relevantes fueron: eucalipto, lavanda, anís, geranio, menta, jazmín, naranja, mandarina, lima entre otros, cabe destacar que los principales países importadores fueron Estados Unidos, México y Suiza. Sin embargo las exportaciones que hace Colombia no alcanzan ni siquiera la tercera parte de lo que importa, para este mismo año estas fueron de 12.230.942 dólares y los principales países a los que exportaron fueron los países del pacto andino (Perú, Venezuela, Ecuador) debido a que la mayoría de casas de sabores y empresas multinacionales han globalizado sus operaciones en Colombia y atienden desde aquí a los países cercanos.

Por lo anterior en esta investigación se realizó el análisis de los aceites esenciales de las hojas de *R. officinalis* y *M. pubescens* extraídos por diferentes técnicas, con el fin de encontrar en estas especies vegetales una alternativa productiva para su aprovechamiento en el departamento de Nariño.

---

<sup>3</sup> FLORES Olaya Julia; MÉNDEZ Alzamora Jacobo. Guía de plantas y productos medicinales, convenio Andrés Bello, ciencia y tecnología 116: 17-21. 2003

<sup>4</sup> INSTITUTO HUMBOLDT, FENAT, Ministerio del Medio Ambiente, TRAFFIC. Encuesta Nacional de Plantas Medicinales y Aromáticas, Una aproximación al mercado de PMyA en Colombia. 2001.

<sup>5</sup> BIOCOMERCIO SOSTENIBLE. Estudio del Mercado Colombiano de Aceites Esenciales. Instituto de investigación de recursos biológicos Alexander Von Humboldt, Bogota-Colombia, 2003. P. 42,43,52

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GENERAL

Estudiar los procesos de extracción, caracterización y purificación de aceites esenciales de las hojas de Laurel de Cera (*Morella pubescens*) y Romero (*Rosmarinus officinalis*) como alternativa productiva para el fortalecimiento agroindustrial del departamento de Nariño.

#### 3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar las condiciones más apropiadas para la extracción de aceites esenciales de laurel de cera y romero mediante las técnicas de arrastre con vapor, extracción destilación simultánea e hidrodestilación asistida por radiación con microondas en laboratorio y mediante la técnica de arrastre con vapor en planta piloto.
- Analizar la composición química de los aceites esenciales de laurel de cera (*M. pubescens*) y romero (*R. officinalis*), mediante cromatografía de gases y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas e igualmente sus propiedades físico-químicas.
- Realizar la purificación mediante destilación fraccionada al vacío de los aceites esenciales obtenidos y analizar su composición mediante la técnica de cromatografía de gases y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

## 4. ESTADO DEL ARTE

### 4.1 ROMERO

Familia: Lamiaceae.

Nombre científico o latino: *Rosmarinus officinalis*

Nombre común o vulgar: romero.

4.1.1 Generalidades: arbusto (a veces alcanza los 2 m de altura) numerosamente ramificado, con hojillas lineales de 2-3 cm solamente, color verde oscuro, bordes revueltos, persistentes. “Las flores de color azul-violado pálido (Figura 1) y jaspeadas de púrpura o blanco, se disponen en las extremidades de las ramas, siendo bífido su labio inferior, mientras el superior es trilobulado (Figura 2); florece durante todo el año, pero más abundantemente en febrero-mayo”<sup>6</sup>. El romero por lo general necesita un mínimo de 6 horas diarias de exposición a la luz solar, un riego moderado y un suelo arenoso aunque se adapta con facilidad a otros tipos de suelo más pobres, salvo en los arcillosos.

Esta especie vegetal se encuentra naturalizada en zonas templadas de todo el mundo, especialmente en Europa mediterránea. Se caracteriza por ser una planta termófila, crece en zonas soleadas y protegida de vientos gélidos, encontrándola desde el nivel del mar hasta los 1400 m. de altitud. Se adapta a diferentes tipos de suelos, aunque prefiere los calcáreos, pobres en humus, áridos y bien drenados.

4.1.2 Aceite esencial de romero: El aceite esencial es un líquido incoloro o de color amarillo pálido con un fuerte aroma fresco, alcanforado o mentolado herbáceo y una nota baja a madera balsámica. Es usado por las industrias farmacéutica, cosmética y alimenticia como un aditivo para dar fragancia a sopas, cremas, lociones y perfumes. Por otra parte, se conoce sus propiedades biocidas y repelentes para los insectos. Exhibe una buena actividad microbicida contra algunas bacterias Gram-positivas, Gram-negativas y micetas.

- Propiedades: “líquido incoloro o ligeramente amarillo-verdoso, su olor es penetrante, alcanforado y con nota de cabeza aguda y montaraz; clasificada entre las esencias agrestes, por su tenacidad esta en el grupo segundo de las esencias medias, siendo muy útil para dar cuerpo a las colonias y aguas de tocador”<sup>7</sup>. “El aceite volátil, incluye eucaliptol (cineol), posee un potente efecto antibacterial y relaja los músculos lisos en los pulmones. El ácido rosmarinico tiene actividad antioxidante y otros componentes del aceite romero, como el carnosol, inhiben la

---

<sup>6</sup> GARCIA Apráez H; Esencias naturales. Aguilar S.A de ediciones, Madrid – España. 1953. (Muñoz, 2002; Peter, 2004; Teuscher et al., 2005). P.255

<sup>7</sup> GARCIA Apráez H; Esencias naturales. Aguilar S.A de ediciones, Madrid – España. 1953. (Muñoz, 2002; Peter, 2004; Teuscher et al., 2005). P.256

formación de cáncer”<sup>8</sup>. “El extracto metanólico del aceite también posee propiedades antibacteriales y antifúngicas, ha sido documentada la actividad antimicrobial contra *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis* y *Candida albicans*”<sup>9</sup>.

- Producción: “en Francia se destilan las plantas enteras en alambiques móviles; a partir de tallos secos (con hojas) se obtienen 2% y 1.4% a partir de las flores, consiguiendo las mejores calidades en las primeras horas de trabajo. La extracción se realiza bajo floración (febrero y marzo), dejando secar la planta varios días y eliminando las partes leñosas que bajan el rendimiento y desmerecen la calidad”<sup>10</sup>.

“En Argentina el aceite esencial se obtiene destilando con vapor de agua la materia fresca o desecada. Esta última forma es conveniente pues permite separar las hojas de los tallos fácilmente y destilar únicamente las hojas para obtener una esencia de mayor calidad. Se estima que 1200 a 1600 kg/ha de hoja seca se obtiene 1 al 2 % de aceite esencial sobre materia seca”<sup>11</sup>.

- Propiedades físico- químicas del aceite esencial de *R. officinalis* en diferentes regiones de Europa: Este aceite se caracteriza por ser un líquido incoloro o ligeramente amarillo – verdoso y de olor penetrante. Sus características físico - químicas oscilan entre límites muy amplios a causa de la composición de cada aceite obtenido en diferentes regiones, por lo que se pueden encontrar patrones de comparación como se muestra en el Cuadro 1.

- Aplicaciones terapéuticas: Con el aceite esencial se prepara alcohol de romero, utilizado para prevenir las úlceras de los enfermos que deben pasar tiempo en cama. También es útil para tratar dolores reumáticos, lumbalgias, etc. y se emplea, en fricciones, para combatir la alopecia. La infusión de hojas de romero alivia la tos y es buena para el hígado y para atajar los espasmos intestinales. El humo de romero sirve como tratamiento para el asma. “El alcanfor de romero tiene efecto hipertensor (sube la tensión) y tonifica la circulación sanguínea”<sup>12</sup>.

---

<sup>8</sup> LÓPEZ LUENGO M. Tránsito. El romero. Planta aromática con efectos antioxidantes. Offarm vol. 27 N° 7, julio-agosto 2008.

<sup>9</sup> YESIL O, HAMES E, Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations Food Chemistry 100 (2007) 553-559

<sup>10</sup> GARCIA, Op.cit. p.256

<sup>11</sup> Disponible en URL: (<http://www.herbotecnia.com.ar/exo-romero.html>)

<sup>12</sup> LÓPEZ LUENGO M. Tránsito. El romero. Planta aromática con efectos antioxidantes. Offarm vol. 27 N° 7, julio-agosto 2008.

Cuadro 1 Propiedades de las esencias de *R. officinalis*.

Propiedades	Francia	Dalmacia	Marruecos	Italia	Tangani ca
Peso específico	0.900-0.920	0894-0.913	0.905-0.917	0.894-0.92	0.8980
Poder rotatorio (20°C)	-4° a 13°	-1 1/2 ° a +8	+0.25 a +21/2°	-2° a 13°	-4.06°
Índice de Refracción	1.466-1.473	1.466-1.47	1.463-1.469	1.465-1467	1.4699
Índice de Acetilo	29-42	30-50			59.5
Porcentaje de Esteres	1-5	1.5-8	0.98-1.84	5-20	6.6

Fuente: García, 1953.

Figura1 Flores *R. officinalis*



Figura 2 Hojas *R. officinalis*



Fuente: esta Investigación

#### 4.2. LAUREL DE CERA

Familia: *Myricaceae*.

Género: *Morella*

Nombre científico: *Morella pubescens*

Nombre común: laurel de cera

4.2.1. Generalidades: por lo general el árbol crece de manera natural en los potreros, taludes de carretera, cerca de los ríos, quebradas y en periferias de los bosques. “En algunos sitios alcanza alturas hasta de siete y doce metros, se encuentra distribuido en los países de Colombia (1.600 y 3.200 msnm), Ecuador

(1.000 y 3.400 msnm), Perú, Bolivia y algunos países de Centro América, de origen holártico, es decir, de la parte norte del continente americano, aunque algunos autores indican que es originario del Mar Negro”<sup>13</sup>. Durante las glaciaciones las semillas de esta especie fueron llevadas hasta sur América cruzando por el Canal de Panamá.

“En Colombia esta especie vegetal se conoce en los departamentos de Antioquia, Boyacá, Caldas, Caquetá, Cauca, Cesar, Chocó, Cundinamarca, La Guajira, Huila, Magdalena, Nariño, Norte de Santander, Putumayo, Quindío, Risaralda, Santander, Tolima y Valle del Cauca entre 1700- 3900 m”<sup>14</sup>. Se ha registrado una colección de esta especie en el municipio de La Plata (Huila), a 1200-1300 m. En Centroamérica *M. pubescens* crece en Costa Rica. En Sudamérica se distribuye además en Venezuela, Ecuador, Perú y Bolivia.

4.2.2. Usos: según Luna<sup>15</sup> tradicionalmente el uso por el que se conoce a esta especie vegetal es la cera obtenida de sus frutos, importante para la elaboración de velas en tiempos de la colonia. Sin embargo, el reemplazo de esta cera vegetal por la “cera de castilla” producida por abejas y procedente del continente europeo desplazó su empleo, perdiéndose a través de los años el conocimiento de la existencia de este recurso y la explotación de la cera de *M. pubescens*.

En la actualidad, el uso más importante que se da a la cera extraída de los frutos de esta especie, es en el proceso de fabricación de la panela que las comunidades campesinas de la zona norte del departamento de Nariño extraen de forma tradicional y rudimentaria; cabe destacar la labor del grupo de Investigación PIFIL de la Universidad de Nariño, por rescatar el valor de esta especie vegetal, mediante estudios investigativos que buscan tecnificar la producción y capacitar al sector rural, e igual mente darle otra utilidad .

Según estudios citados por Luna<sup>16</sup>, *M. pubescens* posee un enorme potencial para ser usada en la recuperación de suelos y control de la erosión. El sistema radicular extenso, la densidad de la copa y la resistencia de las ramas a los fuertes vientos son las principales características morfológicas que presenta *M. pubescens* para ser usada con éxito en el control de la erosión. Adicionalmente, la capacidad de *M. pubescens* de tolerar amplios márgenes de pH, fijar nitrógeno (al estar asociada con microorganismos como *Francia sp.*) y producir grandes cantidades de hojarasca ayudando en la formación de materia orgánica, la hacen una

---

<sup>13</sup> PARRA C. Revisión taxonómica de la familia Myricaceae en Colombia. Instituto de ciencias naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia, 2003.

<sup>14</sup> Ibíd. p 25.

<sup>15</sup> LUNA C. La investigación participativa sobre laurel de cera (*Morella pubescens*), una estrategia de educación ambiental en la zona andina del departamento de Nariño – Colombia. Ceneam. Febrero 2006

<sup>16</sup> MUÑOZ J. LUNA C. El Laurel de Cera una Especie Promisoria de los Andes. Quito - Ecuador. 2003.

especie idónea para controlar áreas en donde se presentan problemas de erosión ocasionada por el manejo irracional del suelo.

Figura 3 Árbol de *M. pubescens*



Figura 4 Hojas de *M. pubescens*



Fuente: esta Investigación

### 4.3. ACEITES ESENCIALES

“Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica”<sup>17</sup>.

“Las esencias naturales se componen principalmente de alcoholes, ésteres, fenoles, aldehídos, cetonas, ácidos e hidrocarburos, encontrándose además pequeñísimas cantidades de otras funciones químicas”<sup>18</sup>.

4.3.1. Clasificación: Los aceites esenciales se clasifican con base en diferentes criterios: consistencia, origen y naturaleza química de los componentes mayoritarios.

De acuerdo con su consistencia los aceites esenciales se clasifican en esencias fluidas, bálsamos y oleorresinas. Las Esencias fluidas son líquidos volátiles a temperatura ambiente. Los Bálsamos son de consistencia más espesa, son poco volátiles y propensos a sufrir reacciones de polimerización, Las Oleorresinas tienen el aroma de las plantas en forma concentrada y son típicamente líquidos

<sup>17</sup> MARTÍNEZ M. A. Aceites esenciales. Facultad Química Farmacéutica, universidad de Antioquia, Medellín-Colombia, Febrero 2003.

<sup>18</sup> GARCÍA Apráez H; Esencias naturales. Aguilar S.A de ediciones, Madrid – España. 1953. (Muñoz, 2002; Peter, 2004; Teuscher et al., 2005). P.19

muy viscosos o sustancias semisólidas (caucho, gutapercha, chicle, balata, oleorresina de paprika, de pimienta negra, de clavel, etc.).

De acuerdo a su origen los aceites esenciales se clasifican como naturales, artificiales y sintéticos. Los naturales se obtienen directamente de la planta y no sufren modificaciones físicas ni químicas posteriores, debido a su rendimiento tan bajo son muy costosos. Los artificiales se obtienen a través de procesos de enriquecimiento de la misma esencia con uno o varios de sus componentes, por ejemplo, la mezcla de esencias de rosa, geranio y jazmín enriquecidas con linalol, o la esencia de anís enriquecida con anetol. Los aceites esenciales sintéticos como su nombre lo indica son los producidos por la combinación de sus componentes los cuales son la mayoría de las veces producidos por procesos de síntesis química. Estos son más económicos y por lo tanto son mucho más utilizados como aromatizantes y saborizantes (esencias de vainilla, limón, fresa, etc.).

Desde el punto de vista químico y a pesar de su composición compleja con diferentes tipos de sustancias, los aceites esenciales se pueden clasificar de acuerdo con el tipo de sustancias que son los componentes mayoritarios. “Según esto los aceites esenciales ricos en monoterpenos se denominan aceites esenciales monoterpenoides (p.ej. hierbabuena, albahaca, salvia, etc.). Los ricos en sesquiterpenos son los aceites esenciales sesquiterpenoides (p.ej. copaiba, pino, junípero, etc.). Los ricos en fenilpropanos son los aceites esenciales fenilpropanoides (p.ej. clavo, canela, anís, etc.)”<sup>19</sup>.

#### 4.4. TÉCNICAS UTILIZADAS EN LA EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES

4.4.1. Destilación por arrastre con vapor. La destilación por arrastre de vapor es un caso particular de la destilación de sustancias totalmente inmiscibles. Consiste esencialmente en la vaporización a baja temperatura de los componentes volátiles de una mezcla formada por este y otros “no volátiles”, por introducción de una corriente directa de vapor de agua, denominándose este como “vapor de arrastre”, pero en realidad su función no es la de “arrastrar” el componente volátil, sino condensarse en el matraz formando otra fase inmiscible que cederá su calor latente a la mezcla a destilar para lograr su evaporación. En este caso se tendrán la presencia de dos fases insolubles a lo largo de la destilación (orgánica y acuosa), por lo tanto, cada líquido se comportará como si el otro no estuviera presente. Es decir, cada uno de ellos ejercerá su propia presión de vapor y corresponderá a la de un líquido puro a una temperatura de referencia.

---

<sup>19</sup> MARTÍNEZ M. A. Aceites esenciales. Facultad Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia, Medellín-Colombia, Febrero 2003.

“Las mezclas inmiscibles no destilan de la misma manera que las miscibles ya que cada sustancia ejerce su presión de vapor independientemente de la otra, mientras que en el caso de mezclas miscibles la presión total es la suma de las presiones parciales (Ley de Raoult)”<sup>20</sup>, sin embargo, si la mezcla a destilar es un hidrocarburo con algún aceite, la presión de vapor del aceite al ser muy pequeña se considera despreciable para efecto de los cálculos.

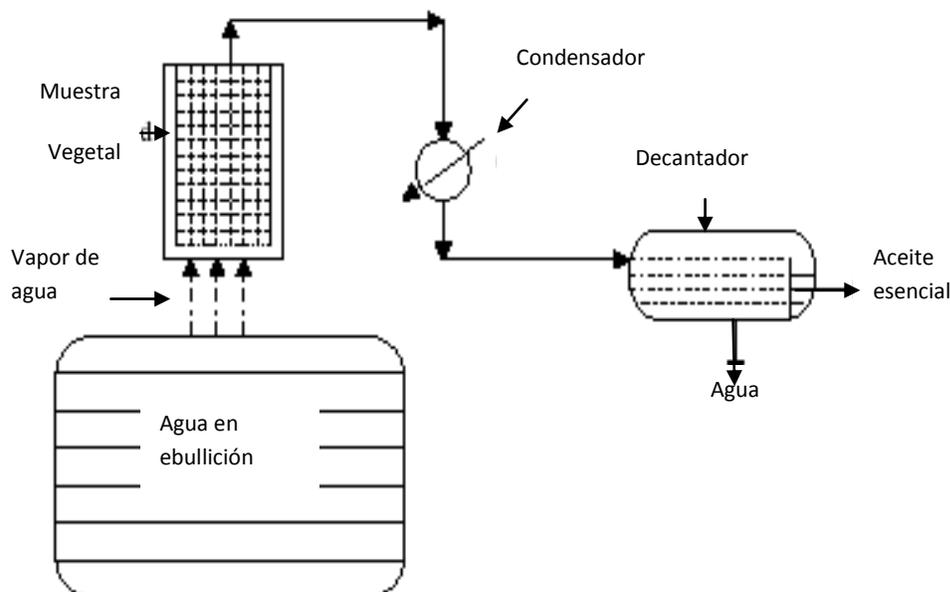
Por otra parte, el punto de ebullición de cualquier sistema se alcanza a la temperatura a la cual la presión total del sistema es igual a la presión del confinamiento y como los dos líquidos juntos alcanzan una presión dada, más rápidamente que cualquiera de ellos solos, la mezcla ebullicará a una temperatura más baja que cualquiera de los componentes puros. El comportamiento que tendrá la temperatura a lo largo de la destilación será constante, ya que no existen cambios en la presión de vapor o en la composición de los vapores de la mezcla, es decir que el punto de ebullición permanecerá constante mientras ambos líquidos estén presentes en la fase líquida. En el momento que uno de los líquidos se elimine por la propia ebullición de la mezcla, la temperatura ascenderá bruscamente. La condición más importante para que este tipo de destilación pueda ser aplicado es que tanto el componente volátil como la impureza sean insolubles en agua ya que el producto destilado (volátil) formará dos capas al condensarse, lo cual permitirá la separación del producto y del agua fácilmente (Figura 5).

Es necesario establecer que existe una gran diferencia entre una destilación por arrastre y una simple, ya que en la primera no se presenta un equilibrio de fases líquido-vapor entre los dos componentes a destilar como se da en la destilación simple, por lo tanto no es posible realizar diagramas de equilibrio ya que en el vapor nunca estará presente el componente "no volátil" mientras este destilando el volátil. Además de que en la destilación por arrastre de vapor el destilado obtenido será puro en relación al componente no volátil (aunque requiera de un decantación para ser separado del agua), algo que no sucede en la destilación simple donde el destilado sigue presentando ambos componentes aunque más enriquecido en alguno de ellos. Además si este tipo de mezclas con aceites de alto peso molecular fueran destiladas sin la adición del vapor se requeriría de gran cantidad de energía para calentarla y emplearía mayor tiempo, pudiéndose descomponer si se trata de un aceite esencial.

---

<sup>20</sup> EXPERIMENTACIÓN EN SÍNTESIS ORGÁNICA (ESO), tercera licenciatura en química, curso 2004-2005, departamento de química, universidad de Oviedo –España. P.14

Figura 5. Esquema básico del proceso utilizado en la extracción por arrastre con vapor



Fuente: CERPA, 2007

4.4.2. Destilación Extracción-Simultanea (D.E.S.). Es un método combinado en el cual la suspensión acuosa o solución de la muestra y el agente orgánico de extracción, se calientan hasta ebullición en dos matraces separados. Los vapores de ambos se mezclan en la parte superior del cuerpo de extracción del aparato para DES (Figura 6), originalmente desarrollado por Likens and Nikerson en 1964<sup>21</sup>.

“Tanto en la fase de mezclado de los vapores como durante la condensación en el condensador, los componentes volátiles de la muestra presentes en el vapor de agua, son extraídos por el agente extractivo”<sup>22</sup>. Según la descripción dada por Manzano<sup>23</sup> para ese dispositivo la fase acuosa que contiene la muestra se introduce en un matraz (A) conectado a un sistema de refrigeración, frente a él, otro matraz con la fase orgánica (B); mediante calentamiento en condiciones controladas de ambos recipientes, se vaporizan los componentes volátiles a

<sup>21</sup> PEREZ G. María P., SALVIA LAVANDULOEFOLIA VAHL SSSP. OXYODON: Evaluación de su aceite esencial e incidencia en el medio ambiente según intensidad de recolección, universidad de granada, facultad de farmacia, departamento de farmacología. Tesis de doctorado. 2005. p.40

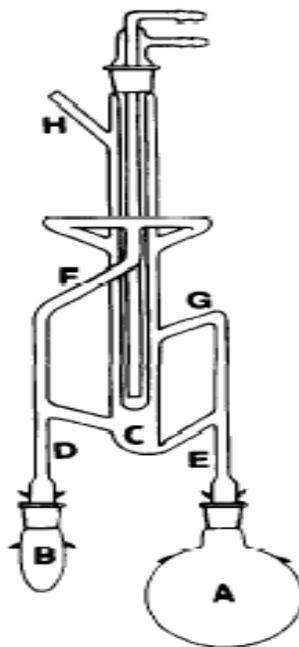
<sup>22</sup> JORDÁN B. María J. Constituyentes Aromáticos del Zumo de Naranja. Efecto del Procesado Industrial, ciencia y tecnología de alimentos, universidad de Murcia, Junio de 1999. p.57

<sup>23</sup> Manzano Blanch. Et al. Dispositivo para la separación y concentración de componentes volátiles de muestras termosensibles por destilación y extracción simultanea mediante disolventes orgánicos. oficina española de patentes y marcas España, N.º de publicación: ES 2 043 551, Nº de solicitud: 9201010, Madrid – España , diciembre 16 de 1993. p.2

extraer (F y G), junto con una parte de agua, como el disolvente, se mezclan y se encuentran en una cámara (C) para pasar simultáneamente a una zona refrigerante (H) donde los vapores recorren un doble camino descendente/ascendente (condensado/vapor), de manera que la superficie de contacto es grande para una buena y exhaustiva transición de las sustancias volátiles de la fase acuosa a la fase orgánica. El condensado producido por la refrigeración cae a un depósito de decantación (C) enfriado exteriormente, donde tiene lugar la separación de fases de forma que la fase acuosa y la orgánica se separan visiblemente, la fase pesada se sifona hacia el disolvente y la ligera hacia la muestra, siendo devueltas al correspondiente matraz de destilación (recirculación continua) a través de conexiones de retorno (D y E), de esta manera se busca que el agente extractivo sea renovado constantemente durante el proceso. Debe tenerse en cuenta el diferente nivel de estas conexiones de retorno, según que la densidad del agente extractivo orgánico sea mayor que la del agua.

Por lo general el método D.E.S. emplea disolventes de muy bajo punto de ebullición para la concentración de los constituyentes volátiles aromáticos, además esta técnica requiere pequeñas cantidades de muestra para el análisis y concentra volátiles extraídos en un pequeño volumen de disolvente, igualmente evita, dos inconvenientes principales de la extracción simple con disolventes: la discriminación química y la sobre-extracción de los compuestos de baja volatilidad.

Figura 6. Equipo Likens and Nikerson, utilizado para DES.



Fuente: PEREZ G 2005

4.4.3. Hidrodestilación asistida por radiación con microondas (M.W.H.D). Las microondas son ondas electromagnéticas de alta energía. Su principal actuación consiste en su capacidad de producir cambios en la rotación molecular y en la movilidad iónica del medio sin alterar la muestra, Las microondas producen dos interacciones básicas:

1. Disipación de energía por conductividad térmica: Al atravesar una onda electromagnética un fluido, los iones presentes en esta se ven afectados por su paso ejerciendo una fuerza que hace migrar los iones en función del campo eléctrico. Esta migración iónica lleva asociada una resistencia del fluido al movimiento de iones. De este modo esa resistencia produce un calentamiento generalizado de la muestra ya que los iones están en todas partes del fluido.

2. Disipación de energía por rotación de dipolos: En moléculas con dipolos eléctricos el campo eléctrico asociado a la radiación electromagnética produce un alineamiento de los mismos con el campo. De este modo cuando pasa la onda los dipolos se encuentran ordenados perfectamente en la dirección del campo pero cuando este cesa las moléculas se reorganizan anárquicamente produciéndose fricción con el disolvente y, por lo tanto, calor.

Ambos fenómenos ocurren en todos los lugares de la disolución por igual, de este modo es mucho más eficaz que el calentamiento con mantas que primero calienta el recipiente y luego es éste el que calienta la muestra.<sup>24</sup>

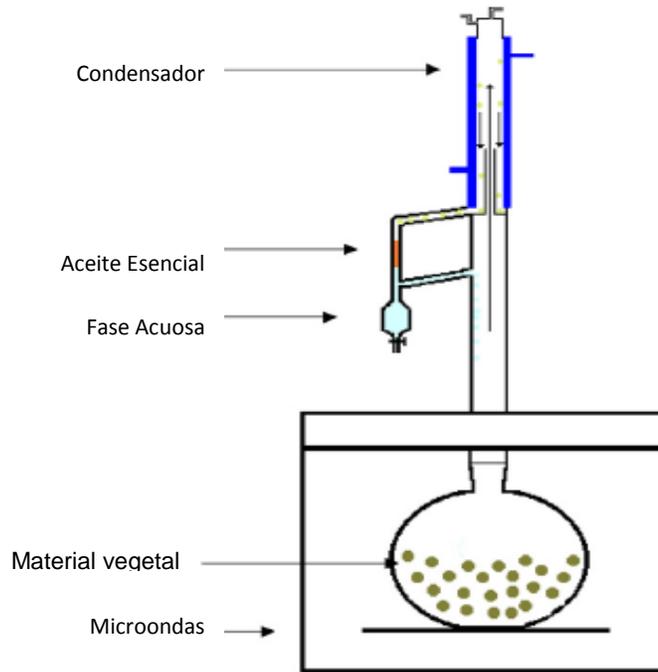
Esta técnica está basada en las dos interacciones anteriores más la destilación, esta metodología puede ser realizada a presión atmosférica o con vacío; “en este proceso el material vegetal está sumergido en el agua y el aceite esencial es arrastrado por el vapor de agua producido por el calentamiento, posteriormente este vapor es condensado a través del condensador externo al horno microondas”<sup>25</sup>. El destilado es recolectado continuamente y el exceso de agua es recirculado y reciclado al balón de extracción con el fin de mantener la humedad del material vegetal; el aceite esencial es recolectado directamente y secado sin necesidad de añadir ningún solvente (Figura 7.).

---

<sup>24</sup> Disponible en: [http://es.wikiversity.org/wiki/Extracci%C3%B3n\\_en\\_fase\\_s%C3%B3lida](http://es.wikiversity.org/wiki/Extracci%C3%B3n_en_fase_s%C3%B3lida)

<sup>25</sup> LUCCHESI. M, Smadja. Et al. Solvent free microwave extraction of *elletaria cardamomum* l.: a multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. En: Journal of Food Engineering 79 (2007):1079–1086

Figura 7. Equipo para hidrodestilación asistida por microondas.



Fuente: LUCCHESI, 2007

4.4.4. Comparación de las técnicas de extracción A.V., D.E.S. y M.W.H.D. a continuación se presentan las ventajas y desventajas de las técnicas de extracción anteriormente mencionadas (Cuadro 2).

Cuadro 2. Comparación de las técnicas de extracción A.V., D.E.S. y M.W.H.D.

	ARRASTRE CON VAPOR	D.E.S	M.W.H.D
VENTAJAS	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La mezcla agua-aceite hierve a una temperatura más baja que cualquiera de los componentes puros que conforman la esencia.</li> <li>• La temperatura de mezcla agua-aceite a lo largo de la destilación será constante.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Permite operar con solventes de alta densidad, sin necesidad de concentrar el extracto por evaporación.</li> <li>• Permite trabajar con mínimos volúmenes de solvente y cantidades de material vegetal</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Es rápida, sencilla y relativamente económica.</li> <li>• Bajo el efecto de la radiación, el agua se calienta hasta ebullición disolviendo parcialmente el AE alojado en los tejidos vegetales.</li> </ul>

	ARRASTRE CON VAPOR	D.E.S	M.W.H.D
VENTAJAS	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La mezcla agua-aceite hierve a una temperatura más baja que cualquiera de los componentes puros que conforman la esencia.</li> <li>• La temperatura de mezcla agua-aceite a lo largo de la destilación será constante.</li> <li>• Evita la descomposición de sustancias inestables o de altos puntos de ebullición.</li> <li>• Es muy útil para el aislamiento de productos naturales.</li> <li>• Método industrial y de laboratorio.</li> <li>• Buenos rendimientos en aceite extraído.</li> <li>• Obtención del aceite puro, libre de solvente.</li> <li>• Bajo costo.</li> <li>• Tecnología no sofisticada.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Permite operar con solventes de alta densidad, sin necesidad de concentrar el extracto por evaporación.</li> <li>• Permite trabajar con mínimos volúmenes de solvente y cantidades de material vegetal</li> <li>• Reducen los costos de análisis y la contaminación a nivel de laboratorio.</li> <li>• Permite también cuantificar sustancias que se encuentran a nivel de trazas en concentraciones del orden de ppb.</li> <li>• Recupera mono- y sesquiterpenoides y sus análogos oxigenados.</li> <li>• Uso de temperaturas bajas.</li> <li>• No provoca termodestrucción ni alteración química de los componentes del aceite.</li> <li>• Posibilidad de separación de componentes individuales.</li> <li>• La recuperación alcanzada oscila entre el 80-100%.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Es rápida, sencilla y relativamente económica.</li> <li>• Bajo el efecto de la radiación, el agua se calienta hasta ebullición disolviendo parcialmente el AE alojado en los tejidos vegetales.</li> <li>• El tiempo de extracción es de aproximadamente 40 min o inferior.</li> <li>• Extrae los AE con un perfil cromatográfico similar al obtenido de aceites extraídos por técnicas a escala industrial.</li> </ul>

	ARRASTRE CON VAPOR	D.E.S	M.W.H.D
DESVENTAJAS	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Procesos colaterales como polimerización y resinificación de los terpenos</li> <li>• Hidrólisis de ésteres</li> <li>• Destrucción térmica de algunos componentes</li> <li>• No es aplicable a Flores.</li> <li>• Dependencia del flujo de vapor generado con la potencia de la fuente de energía.</li> <li>• El flujo de vapor condensado a contracorriente en la columna lleva consigo compuestos hidrosolubles y que generan un recirculación indeseable</li> <li>• Diferencias olfativas con la planta de partida.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Costoso y contaminante a escala industrial.</li> <li>• Riesgo de incendio y explosión.</li> <li>• Se produce reacciones de hidrólisis.</li> <li>• Su acción es selectiva en función del agente extractivo usado.</li> <li>• Se produce una pérdida parcial de componentes muy volátiles debido a los procesos de concentración del agente extractivo,</li> <li>• Diferencias olfativas con la planta de partida.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Muestras sometidas a altas temperaturas, lo cual favorece procesos de termodegradación.</li> <li>• Reacción de hidrólisis de ésteres.</li> <li>• Pobre recuperación de componentes pesados,</li> <li>• Semejanza cualitativa de componentes con otros métodos,</li> <li>• Variación cuantitativa de componentes con otros métodos,</li> <li>• Diferencias olfativas con la planta de partida.</li> </ul>

#### 4.5. RECTIFICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

Los productos brutos obtenidos presentan una serie de defectos, a veces muy importantes, derivados de la presencia de ciertas impurezas, clasificables en dos grupos según se trate de cuerpos más o menos volátiles que los componentes realmente interesantes del aceite esencial. Estas impurezas proceden tanto de su descomposición, ocurrida durante el arrastre, como de la alteración de la materia vegetal que sustenta a dicho aceite esencial, pasando siempre a las esencias y alterando así su aroma peculiar.

Muchas veces estas sustancias se destruyen por una simple exposición al aire, por oxidación, aunque en ella se forman a veces otros cuerpos también malolientes. Más difíciles son de eliminar los olores herbáceos de las plantas verdes, los de las maderas y pedúnculos de las flores, y los de heno de las hojas secas.

Las impurezas más volátiles (generalmente productos originados en descomposiciones, tales como ácido sulfhídrico, aminas, metanol, acetaldehído, amoníaco, fenoles, furfural, acroleína) del aceite se eliminan por un fraccionamiento o rectificación en columna, mientras que los cuerpos fijos (generalmente resinas arrastradas por el vapor o producidas durante el calentamiento) quedan en la caldera cuando se realiza un nuevo arrastre con vapor o una simple destilación al vacío del aceite esencial bruto, perdiendo los aceites esenciales la mayor parte de su color oscuro en este nuevo tratamiento.<sup>26</sup>

4.5.1. Destilación Fraccionada. La destilación fraccionada es una técnica para realizar una serie completa de pequeñas separaciones (destilación simple), en una operación sencilla y continua. Una columna de destilación fraccionada proporciona una gran superficie para el intercambio de calor, en las condiciones de equilibrio, que se establece entre el vapor que asciende y el líquido (condensado) que desciende. Esto tiene como consecuencia una serie completa de evaporaciones y condensaciones parciales en toda la longitud de la columna de fraccionamiento. Cuando el condensado en algún punto de la columna toma calor del vapor, parte se evapora de nuevo y el vapor formando es más rico en el componente más volátil (el de menor ebullición). Al mismo tiempo, cuando el vapor cede calor al condensado, parte del mismo se condensa, siendo este condensado más rico en el componente menos volátil (el de mayor punto de ebullición), bajo este panorama podemos decir que partiendo de la base de la columna, a medida que aumenta la altura aumenta el enriquecimiento del componente más volátil e inversamente con el componente menos volátil.

#### 4.6. METODOS PARA EL ANÁLISIS FÍSICO Y QUÍMICO DE ACEITES ESENCIALES

4.6.1. Cromatografía de Gases. “La cromatografía de gases es la técnica más utilizada entre los métodos de separación, ya que identifica de manera rápida y sencilla el número de componentes de una mezcla. El único requisito para su implementación es que las sustancias a separar sean estables a la temperatura necesaria para mantenerlas en estado gaseoso”<sup>27</sup>. En todas las separaciones cromatográficas, la muestra se desplaza con una fase móvil, que puede ser un

---

<sup>26</sup> GARCIA Apráez H; Esencias naturales. Aguilar S.A de ediciones, Madrid – España. 1953. p 56-57

<sup>27</sup> VERDE J., ESCAMILLA M. Manual de prácticas de química analítica II, Universidad Autónoma Metropolitana. p 13.

gas, un líquido o un fluido supercrítico. Esta fase móvil se hace pasar a través de una fase estacionaria con la que es inmisible, y que se fija a una columna o a una superficie sólida. “Aquellos componentes que son fuertemente retenidos por la fase estacionaria se mueven lentamente con el flujo de la fase móvil; por el contrario, los componentes que se unen débilmente a la fase estacionaria, se mueven con rapidez. Como consecuencia de la distinta movilidad, los componentes de la muestra se separan en bandas o zonas discretas que pueden analizarse cualitativa y/o cuantitativamente”<sup>28</sup>. “Los principales componentes en un sistema de cromatografía gaseosa son: la fuente de gas portador, el sistema de inyección, el horno que contiene la columna, el detector y el sistema de registro e integración”<sup>29</sup>.

- Detectores: El detector debe ser sensible a los efluentes de la columna y capaz de suministrar un registro de la cromatografía en la forma de un cromatograma. La señal del detector debe ser proporcional a la cantidad de cada soluto (analito). Con lo cual debe ser posible realizar un análisis cuantitativo.

Un detector muy utilizado es el detector de ionización de llama (FID). En él se mide, registra y amplifica el flujo iónico resultante de la ionización de las moléculas en una llama de hidrógeno (gases de combustión necesarios: hidrógeno y aire comprimido). “El FID es un detector de los denominados universales o inespecíficos, especialmente adecuados para medidas cuantitativas. Es un detector dependiente del flujo de masa, es decir, la señal es tanto mayor, cuánta más sustancia se ioniza en la llama en la unidad de tiempo”<sup>30</sup>.

Características generales del detector de ionización de llama (FID):

- a. Muy sensible, cantidad mínima detectable  $10^{-11}$ g (aprox. 50 ppb.)
- b. Aplicable solamente al análisis de compuestos orgánicos
- c. Destructivo
- d. Muy buena linealidad
- e. Muy buena estabilidad (poco afectada por cambios de flujo o temperatura)
- f. Límite de temperatura 400 °C
- g. Gas carrier  $H_2$ , He,  $N_2$  (los gases deben ser de alta pureza).

- Identificación de Compuestos por Índices de Kovats ( $I_K$ ). La conveniencia de una fase estacionaria para una separación específica depende de la selectividad de la fase. “Esta es una medida del grado en el que los compuestos polares se retardan en forma relativa a su elusión en una fase no polar. Un método sistemático para expresar los datos de retención es mediante el cálculo de los

---

<sup>28</sup> GÓMEZ R., ULLATE A. Cromatografía Principios y Aplicaciones. Disponible en URL: <http://www.scribd.com/doc/11642417/Cromatografia-Fundamentos-y-Aplicaciones>

<sup>29</sup> WILLARD, H., Métodos Instrumentales de Análisis. Ed. Iberoamericana. México. 1991. p. 565

<sup>30</sup> BAUTISTA A., BENAYAS A., Cromatografía Principios y Aplicaciones. Disponible en URL: <http://www.scribd.com/doc/19050563/Cromatografia-Principios-y-Aplicaciones>

índices de retención de Kovats<sup>31</sup>,  $I_k$ , los cuales se definen de modo tal de asignar un valor de 100 veces el número de carbonos de cada uno de los hidrocarburos lineales. En este sistema el hexano tiene un valor de 600 y el heptano de 700, en todas las fases líquidas. De esta forma, cuando se cromatografía una serie homóloga de  $n$ -hidrocarburos, las fuerzas intermoleculares son relativamente constantes y la separación está controlada fundamentalmente por las diferencias en la presión de vapor (relacionada con los puntos de ebullición). El cromatograma que se obtiene muestra una relación logarítmica entre el número de carbonos y los tiempos de retención, reflejando la tendencia en los puntos de ebullición entre los miembros de una serie homóloga. De esta forma, se obtiene una relación lineal cuando se grafica el logaritmo de los tiempos de retención vs los índices de Kovats. Para encontrar el índice de Kovats para un determinado soluto en una fase estacionaria dada, se requiere cromatografiar y registrar unos pocos miembros de la serie homóloga de hidrocarburos lineales. Luego el soluto se corre en las mismas condiciones y el valor de su Índice se determina a partir de la gráfica correspondiente ( $I$  vs  $t_R$ ). "Para obtener resultados confiables es deseable que los hidrocarburos seleccionados tengan índices de retención menores y mayores que el del soluto de interés"<sup>32</sup>. La ecuación resultante para el cálculo de los índices de retención para un soluto  $x$ , puede expresarse de la siguiente forma:

$$I_k = 100N + 100n \left( \frac{\log t_{R,x} - \log t_{R,N}}{\log t_{R,(N+n)} - \log t_{R,N}} \right) \quad (\text{Ecuación 1})$$

$I_k$  = índice de retención para el componente  $x$ ;

$N$  = número de átomos de carbono del  $n$ -alcano menor

$n$  = diferencia en número de átomos de carbono de los  $n$ -alcanos entre los que se encuentra el componente.

$t_{R,x}$ ,  $t_{R,N}$ ,  $t_{R,(N+n)}$  = tiempos de retención del componente  $x$ , y los  $n$ -alcanos entre los que se encuentra este componente.

De esta forma, en condiciones cromatográficas isotermas, los tiempos de retención crecen en forma logarítmica con el número de carbonos. Por esta razón, para mezclas con un rango amplio de puntos de ebullición, se prefiere trabajar en condiciones de temperatura programada. En estas condiciones, los tiempos de retención de una serie homóloga aumentan en forma lineal con el número de carbonos y la ecuación que los relaciona tiene la siguiente expresión:

$$I_k = 100N + 100n \left( \frac{t_{R,x} - t_{R,N}}{t_{R,(N+n)} - t_{R,N}} \right) \quad (\text{Ecuación 2})$$

<sup>31</sup> MACNAIR, H., Basic Gas Chromatography. Ed. Aerograph. Los Ángeles. 1987. p. 16-43

<sup>32</sup> WILLARD, H., Métodos Instrumentales de Análisis. Ed. Iberoamericana. México. 1991. p. 539

4.6.2. Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas. El espectrómetro de Masas es un detector universal para cromatografía de Gases, ya que cualquier compuesto que pueda pasar a través de un Cromatógrafo de Gases se convierte en iones en un Espectrómetro de Masas. La GC es una técnica de separación que ha evolucionado rápidamente y hoy día permite el análisis de mezclas muy complejas. A esta extraordinaria capacidad de separación ha sido posible agregarle la alta especificidad de la espectrometría de masas, en lo que se constituye la técnica combinada GC-MS, una poderosa herramienta analítica que permite la separación e identificación simultánea de mezclas volátiles complejas. “Por medio de la GC-MS los componentes de la mezcla problema son separados, detectados, identificados y cuantificados”<sup>33</sup>.

4.6.3 Pruebas Físico-Químicas. Son pruebas subjetivas y objetivas que permiten tener un conocimiento a grandes rasgos de los compuestos analizados.

- Examen Olfativo. Considerado como imprescindible para calificar un aceite esencial, tanto natural como sintética o artificial, su técnica es sencilla, requiriendo, sin embargo gran experiencia y sensibilidad en la persona que lo realiza. Normalmente este examen se hace dejando evaporar un poco de la sustancia a temperatura ambiente y oliendo sus vapores a ciertos lapsos de tiempo.
- Color: El color de la muestra original es importante, así como cualquier cambio de color que pueda ocurrir durante la determinación del punto de ebullición, por lo general el color en algunas muestras se debe a impurezas; éstas frecuentemente se producen debido a la oxidación lenta de los compuestos por el oxígeno del aire.
- Índice de Refracción: “El índice de refracción de un líquido es igual a la relación del seno del ángulo de incidencia de un rayo de luz en el aire, con respecto al seno del ángulo de refracción en el líquido”<sup>34</sup> (Figura 8). El rayo de luz sufre cambios en la velocidad de onda y en dirección, en el límite de la interfase, y estos cambios dependen de la temperatura y de la longitud de onda de la luz. No es posible medir directamente los ángulos de incidencia y de refracción, por lo que se han desarrollado sistemas ópticos especiales que dependen del ángulo crítico de reflexión en el límite del líquido con un prisma de vidrio de índice de refracción conocido. El refractómetro de tipo Abbe opera sobre este principio. Las ventajas del refractómetro del tipo Abbe son a) para iluminar se puede utilizar una fuente de luz blanca, porque el sistema de prismas da índice de refracción para la línea D del sodio; b) solo se necesitan unas cuantas gotas de líquido; c) tiene incorporado

---

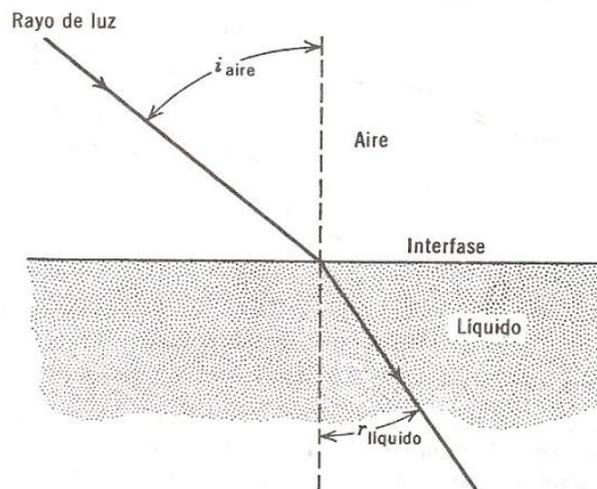
<sup>33</sup> BARCELÓ, D. Environmental Analysis techniques, Applications and Quality Assurance. Ed. Elsevier Science Publisher. Amsterdam. 1993. p. 646

<sup>34</sup> SHRINER, R. L., FUSON, R. C. y CURTIN, D.Y. Identificación sistemática de compuestos orgánicos. Limusa, México, 1995.

un control de temperatura de los prismas y de la muestra; y d) los prismas compensadores de Amici permiten la determinación de la dispersión específica.

- Índice de Acidez: Mediante este método se mide los ácidos carboxílicos libres mediante la neutralización con álcali frente a la fenolftaleína; debe hacerse en frío y a diluciones grandes para evitar el desdoblamiento de ciertos esteres fáciles de saponificar, y en caso de encontrarse presentes grandes cantidades de fenoles (que reaccionan con los álcalis) se usaran indicadores con zonas de viraje en menor pH (rojo de fenol). Los productos viejos poseen mayores índices de acidez debido a la oxidación de aldehídos, hidrólisis de esteres, etc.

Figura 8 Refracción de la luz



Fuente: SHRINER, R. L. 1995.

- Punto de Ebullición – Método Siwoloboff: Este método se basa en determinar el punto de ebullición eliminando la energía necesaria para la formación de burbujas, cuando se calienta un líquido llega un momento en el que su presión de vapor iguala a la presión atmosférica es decir llega a su temperatura de ebullición. Sin embargo es probable que no se observe la producción de vapor en el interior de la masa líquida debido a la energía adicional que se debe gastar para formar una burbuja y en la cual entran en juego las tensiones superficiales del líquido y su vapor. Como consecuencia de ello la temperatura del líquido asciende por encima de su punto de ebullición hasta que este adquiere la energía suficiente como para que se produzca algunas burbujas microscópicas, en este momento estas crecen muy rápidamente y se produce una ebullición violenta que agita toda la masa y la temperatura de la misma vuelve a descender hasta su punto de ebullición.

El exceso de temperatura se reduce a un mínimo despreciable cuando el diámetro de la superficie de contacto con el líquido está por debajo de los 100 micrones, este diámetro se puede conseguir con la fabricación de tubos capilares o mediante el uso de material sólido poroso. El uso de estos materiales trae como consecuencia que la temperatura del líquido que se calienta, no pueda elevarse apreciablemente sobre su punto de ebullición, de esta manera la masa no puede acumular demasiada energía para que las burbujas crezcan excesivamente en tamaño y por lo tanto el fenómeno de la ebullición es mucho más estable.

## 5. METODOLOGÍA

El material vegetal utilizado para realizar los diferentes tratamientos, fue adquirido en el caso de *M. pubescens* en el municipio de San Pablo (Nariño) vereda Bateros a una altura de 2100 msnm, con precipitación pluvial media anual de 1300 mm y una temperatura promedio de 17°C. En cuanto a *R. officinalis* se obtuvo de cultivos comerciales ubicados en el municipio de Gualmatán (Nariño). El material vegetal recibido se pesó, se separó de piedras, impurezas y otros elementos extraños, se dejó secar a temperatura ambiente por espacio de 8 días obteniendo el porcentaje de humedad inicial y final como se muestra en la Cuadro 3; después de este periodo de tiempo cuando la humedad fue constante se pesó y se almacenó en un ambiente seco y a la sombra.

Cuadro 3. Porcentaje de humedad inicial y final del material vegetal

Nombre común	Nombre científico	Porcentaje Humedad inicial	Porcentaje Humedad después del secado
Romero	<i>Rosmarinus officinalis</i>	38.5%	4.69%
Laurel de cera	<i>Morella pubescens</i>	54.52%	4.57%

Fuente: esta Investigación

### 5.1. PREPARACIÓN DE LA MATERIA PRIMA:

Para la sección del material vegetal se realizó un muestreo doble o bifásico<sup>35</sup> es decir, inicialmente se tomó un muestra grande del material vegetal fresco entre 1 y 2 Kg para laboratorio y 80 y 100 Kg para planta piloto dependiendo de la humedad y el tipo de planta recolectada. El Material vegetal se secó a temperatura ambiente, se trituró en un molino de martillos y seguidamente se tamizó utilizando la serie de tamices estándar (Cuadro 4), una vez clasificado por tamaño este se homogenizó y se tomó muestras más pequeñas con las cuales se trabajo en los diferentes experimentos. Tanto las muestras iniciales como de secundarias se recolectaron considerando como área de muestreo un faja o línea en X. Los diámetros de partícula promedio evaluados en la experimentación con los diferentes métodos de extracción se muestran en la Cuadro 5.

---

<sup>35</sup> AZORIN P. Francisco, Curso de muestreo y aplicaciones. Editorial Aguilar, Madrid-España, 1969. p 15,17, 278.

Cuadro 4. Abertura de tamiz estándar.

Tamiz	Pulgadas	Milímetros
4	0.187	4.75
8	0.0937	2.36
10	0.0787	2.00
16	0.0469	1.18
30	0.0234	0.6
50	0.0117	0.3

Fuente: esta Investigación

Cuadro 5. Diámetro promedio de partícula

Tamaño en el diseño	Dpi <sub>+1</sub>	Dpi	Dpi prom
1 (nivel inferior)	0.6	0.3	0.45
2 (nivel medio)	1.18	0.6	0.89
3 (nivel superior)	2.36	1.18	1.77

Fuente: esta Investigación

$$\overline{Dpi} = ((Dpi_{+1} + Dpi)/2) \text{ (Ecuación 3)}$$

$\overline{Dpi}$  = Diámetro promedio de la partícula.

Dpi<sub>+1</sub> = Diámetro promedio de la abertura del tamiz que pasó

Dpi = Diámetro de la abertura del tamiz que retiene la partícula.

## 5.2. MÉTODOS EVALUADOS EN LABORATORIO

Se llevó a cabo un diseño factorial de experimentos  $2^K$  donde  $K=2$  para un total de 4 experimentos, 2 puntos centrales y una réplica obteniendo 12 experimentos seleccionados aleatoriamente con el fin de lograr que pequeñas diferencias provocadas por factores no controlados se repartan de manera homogénea en todos los tratamientos. Se consideraron en los diferentes métodos a evaluar los distintos factores que influyen sobre las variables de respuesta: área total del perfil cromatográfico en cuentas y el área relativa de los compuestos mayoritarios (Cuadro 6). La matriz del diseño de experimentos y el tratamiento estadístico de los datos se realizó con la ayuda del programa estadístico STATGRAPHICS plus 5.0<sup>36</sup>. El cual proporciona un modelamiento matemático que permite predecir la variable de respuesta correspondiente al siguiente tipo:

<sup>36</sup> STATGRAPHICS Plus 5.0. Statistical Graphics Corp. 1994-2000

$$Y_i = a_0 + a_1 x_1 + a_2 x_2 \text{ (Ecuación 4)}$$

Las metodologías aplicadas para los diferentes tratamientos se realizaron para las hojas de *R. officinalis* y *M. pubescens* bajo las mismas condiciones especificadas para cada tratamiento, la variable de respuesta a evaluar en todos los casos fue el área del cromatograma en cuentas.

Cuadro 6. Factores y niveles para los diferentes métodos evaluados.

Método evaluado	Factores	Nivel inferior	Nivel superior
Destilación por arrastre con vapor	Tamaño de partícula (Cuadro 4)	1	3
	Tiempo de operación (min.)	60	180
Destilación extracción simultanea	Tamaño de partícula (Cuadro 4)	1	3
	Tiempo de operación (min.)	60	150
Hidrodestilación asistida con microondas.	Potencia (%)	40	80
	Tiempo de operación (min.)	30	60

Fuente: esta Investigación

5.2.1. Extracción por arrastre con vapor. Se midió en el balón de evaporación 700 mL de agua destilada; se colocó fibra de vidrio en las tetillas de la columna con el fin de evitar que el material pase directamente al balón, seguidamente se colocó el material vegetal previamente pesado junto con los anillos de raschig, los cuales permitieron que el vapor circule adecuadamente dentro de la columna, dicha columna se llenó en un 100% de su capacidad y se aisló térmicamente con la ayuda de una chaqueta de poliuretano (Figura 9); las densidades de lecho para cada una de las especies vegetales se indican en la Cuadro 7.

Cuadro 7. Densidades de lecho en la columna de empaquetamiento para los diferentes materiales vegetales utilizados

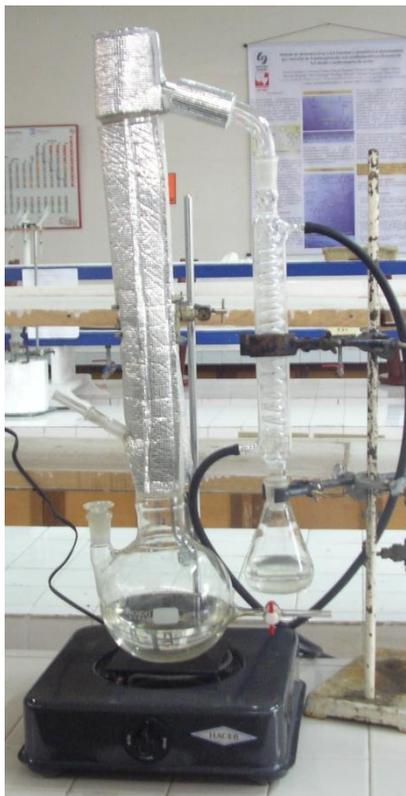
Material vegetal (Hojas)	Cantidad	Densidad del lecho para el 100% de la columna de empaquetamiento
<i>R. officinalis</i>	90 g	0.165 g/ml
<i>M. pubescens</i>	70 g	0.125 g/ml

Fuente: esta Investigación

La mezcla de aceite y agua obtenida se recogió en un erlenmeyer, posteriormente se trasvasó a un embudo de separación, se adicionó solución

saturada de NaCl, se agitó y se dejó en reposo. Se desechó el agua y se recogió el aceite en viales de 2 mL a los cuales se les adicionó sulfato de sodio anhidro para secar el aceite.

Figura 9. Equipo de arrastre con vapor.



Fuente: esta Investigación

5.2.2. Hidrodestilación Asistida por Radiación con Microondas (M.W.H.D.). Se llevó a cabo utilizando un horno microondas (Electrolux, EME281D28S, 120V~60Hz, 850W) con un orificio en la parte superior a través del cual se conectó equipo de destilación tipo Clevenger, según el procedimiento descrito por Stashenko y Jaramillo<sup>37</sup>, (Figura 10). El horno se operó durante 30, 45 y 60 minutos a potencias de 40, 60, 80 %, para la extracción se utilizaron 50 g del material vegetal picado de trozos superiores a 1.18 mm, sumergidos en 300 ml de agua. El aceite esencial se separó del agua, por decantación y se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro. Una alícuota del aceite (20 µL) se diluyó en 1mL de diclorometano para el análisis cromatográfico.

<sup>37</sup> Stashenko E. Jaramillo B, Comparison of different extraction methods for analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity. Journal of Chromatography A, 1025 (2004) 93-103

Figura 10 Equipo para Hidrodestilación Asistida por radiación con Microondas (M.W.H.D.)



Fuente: esta Investigación

5.2.3. Destilación extracción simultánea (D.E.S.). Se realizó utilizando un extractor de destilación continua Likens - Nickerson<sup>38</sup>, el cual consiste en dos balones separados y conectados por vías diferentes a un condensador (Figura 11). “En el primer balón de 250 mL se colocaron 10 g de hojas secas y se le agregó aproximadamente 142 mL de agua destilada. En el segundo balón de 50 mL se adicionaron 16 ml de diclorometano”<sup>39</sup>. “El balón con la muestra se calentó en un baño de aceite hasta 120°C, simultáneamente se colocó el balón con diclorometano en baño maría a 70°C. Finalmente se adicionó  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y concentró hasta un volumen constante de 1 mL”<sup>40</sup>.

<sup>38</sup> CHAINTREAU. A. and FIRMENICH SA, Corporate R&D Division. Simultaneous distillation–extraction: from birth to maturity—review. *En: Flavor and fragrance journal Flavor Fragr. J.* 2001; 16: 136–148

<sup>39</sup> XU ZI-gang y ZHENG Lin. Comparison of volatile and semivolatile compounds from commercial cigarette by supercritical fluid extraction and simultaneous distillation extraction. *Journal of Zhejiang University Science*, 2004 5(12):1528-1539.

<sup>40</sup> QUINTERO América, Aceite esencial de las hojas de *Hyptis umbrosa* Salzm extraído por diferentes técnicas. *Acta Científica Venezolana*, 55:18-187,2004

Figura 11. Equipo de destilación-extracción simultánea.



Fuente: esta Investigación

### 5.3. ESTUDIO DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN MEDIANTE LA TÉCNICA DE DESTILACIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR EN PLANTA PILOTO.

Se realizó un diseño factorial de experimentos utilizando la metodología de superficie de respuesta. El diseño experimental utilizado está formado por 4 experimentos del diseño factorial  $2^k$  con  $k=2$  variables evaluadas a 2 niveles, 4 experimentos en el punto central y 4 experimentos que corresponden a los puntos estrella. De esta manera se estudió un sistema de 2 factores a 5 niveles, con los cuales se pudo determinar el error experimental, la falta de ajuste, las interacciones entre los factores la curvatura de la superficie de respuesta, los coeficientes del modelo que describirán el comportamiento del sistema dentro del intervalo experimental estudiado y los valores físicos que optimizan la variable respuesta.

Las variables independientes estudiadas fueron el tiempo y presión, manteniendo constante la densidad del lecho de extracción. Como variables de respuesta se evaluaron el rendimiento (%p/p) y el área en cuentas del perfil cromatográfico de aceite esencial.

El rendimiento se calculó a partir de la cantidad de aceite esencial obtenido por unidad másica de materia prima en términos porcentuales (g de aceite/g de

materia prima). Los niveles de tiempo de extracción y tamaño de partícula del material vegetal se determinaron a partir de los resultados obtenidos en los ensayos de laboratorio.

5.3.1. Desarrollo de los Experimentos. La extracción de aceite esencial se realizó utilizando una unidad de destilación por arrastre con vapor construida en acero inoxidable 304 (Figura 12). Esta unidad fue debidamente lavada y purgada con vapor a una presión manométrica de 3 psi para evitar contaminaciones de anteriores extracciones.

La muestra vegetal secada y triturada previamente, se colocó en el tanque de alimentación y fue sometida a una corriente de vapor de agua, el aceite esencial arrastrado fue posteriormente condensado, recolectado en un vaso florentino y separado de la fracción acuosa mediante un embudo de separación, se adicionó solución saturada de NaCl, se agitó y dejó reposar, se desechó el agua sobrante y se recogió el aceite esencial obtenido en viales, se les adicionó sulfato de sodio anhidro para retirar el agua de los aceites, finalmente se filtró a gravedad con un embudo de tallo recto para retener algunas impurezas arrastradas por el vapor; el aceite esencial obtenido se mantuvo sin exposición a la luz solar y se refrigeró hasta posteriores análisis.

Figura. 12. Equipo para extracción por arrastre con vapor en planta piloto.



Fuente: esta Investigación

5.3.2 Balance Materia y Energía para la extracción por arrastre con vapor (en condiciones óptimas): se tomaron los datos pertinentes tanto en el hidroddestilador como del proceso en general, con el fin de identificar las pérdidas o ganancias tanto de materia como de energía dentro del proceso, la Figura 13 permite visualizar y plantear los correspondientes balances:

- Balance global de materia

$$M_F + M_P = M_D + M_B \text{ (Ecuación 5)}$$

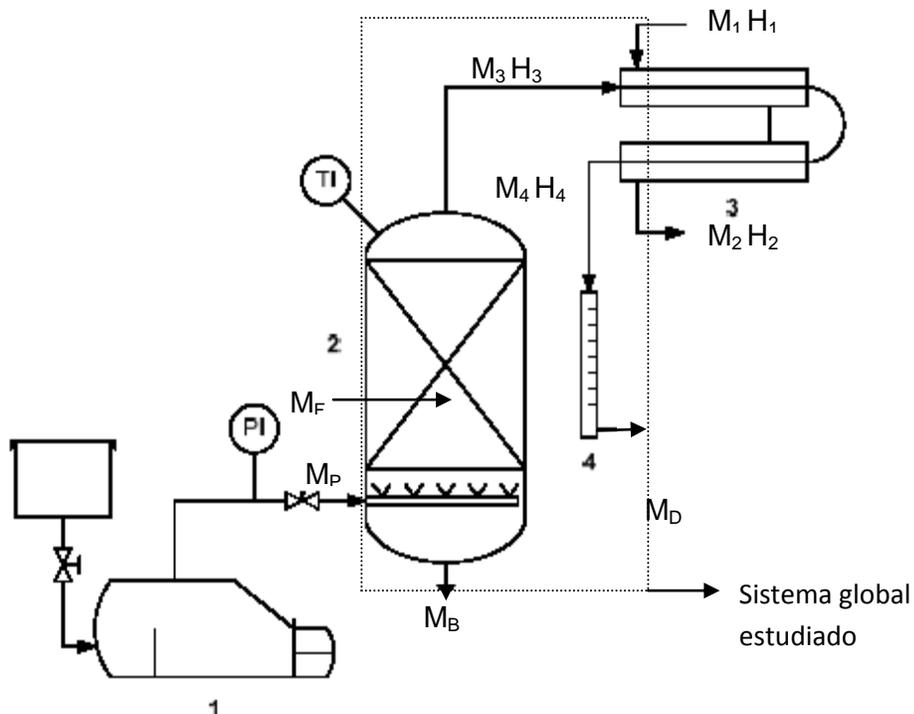
$M_F$  = Masa de la materia prima al inicio del proceso (Kg.).

$M_P$  = Masa de vapor de agua (Kg.)

$M_D$  = Masa de los condensados con aceite esencial (Kg.)

$M_B$  = Masa de la materia prima al final (Kg)

Figura 13. Delimitación del sistema global y descripción de la unidad piloto de Hidrodestilación, 1) Caldera, 2) Hidrodestilador, 3) Condensador, 4) Vaso florentino.



Fuente: Cerpa 2007

- Balance global de energía: para estos balances se utilizaron las tablas de presión y temperatura para las propiedades del agua saturadas<sup>41</sup>. Las que permitieron encontrar algunos datos necesarios como entalpías y algunas temperaturas.

<sup>41</sup> HILMELBLAU David, Balance de materia y energía, cuarta edición, Prentice -Hall hispano americana, S.A. México 1988. a p 822-824

$$M_F H_F + Q_p + Q_i = Q_D + M_B H_B + Q_C + Q_{\text{perdido}} \quad (\text{Ecuación 6})$$

a. Calor necesario para elevar la temperatura en materia prima de entrada  $M_F H_F$  y salida  $M_B H_B$

$$M_F H_F = M_F C_p R. \textit{officinalis} \text{ entrada } (T_F - T_o) \quad (\text{Ecuación 7})$$

$$M_B H_B = M_B C_p R. \textit{officinalis} \text{ salida } (T_B - T_o) \quad (\text{Ecuación 8})$$

$T_o$  = temperatura de referencia = 0

$T_f$  = temperatura ambiente

$T_B$  es la temperatura a la que se encuentra el interior del calderín.

Para encontrar  $H_f$  y  $H_B$  fue necesario calcular la humedad de la materia prima a la entrada y salida del proceso (balance en base seca) y se aplica la siguiente correlación para encontrar los respectivos calores específicos<sup>42</sup> :

$$C_p = 1.675 + 0.025 W \quad (\text{Ecuación 9}) \quad \therefore W = \text{contenido de agua en \%} \quad \text{y } C_p = (\text{KJ/ Kg } ^\circ\text{C})$$

b. Calor contenido por el vapor directo  $Q_p$

$$Q_p = M_p H_p \quad (\text{Ecuación 10})$$

• Balance de Energía para el Intercambiador:

$$m_1 = m_2 = m_A \rightarrow \text{flujo másico de agua fría}$$

$$m_3 = m_4 = m_d \rightarrow \text{flujo másico de Vapor + aceite}$$

$$m_A (H_{A2} - H_{A1}) = m_D (H_{D2} - H_{D1}) \quad (\text{Ecuación 11})$$

a. Calor contenido por el agua de enfriamiento  $Q_i$

$$Q_i = M_A \times C_p \text{ agua } (t_{A1} - t_o) = M_1 H_1 \quad (\text{Ecuación 12})$$

$\therefore M_A$  la masa de agua entrante al intercambiador

b. Calor contenido por el vapor (agua+aceite)

$$Q_{\text{vapor (agua+aceite)}} = M_3 H_3 \quad (\text{Ecuación 13})$$

c. Calor contenido en los condensados (aceite + agua)  $Q_D$

$$Q_D = M_4 H_4 \quad (\text{Ecuación 14})$$

$$H_D = C_{p \text{ mezcla de vapor}} (T_D - T_o)$$

$H_D$  se lo encuentra a partir del balance realizado en el intercambiador. O teniendo en cuenta  $C_{p \text{ mezcla de vapor}} = C_p \text{ aceite} + C_p \text{ Agua}$

<sup>42</sup> Universidad de Almería. Tecnología de alimentos, tema 4: propiedades físicas y reología de alimentos. Departamento de ingeniería de química. p.7

d. Calor adquirido por el agua de enfriamiento  $Q_c$

$$(M_1H_1)+(M_3H_3) = (M_2H_2)+(M_4H_4) \text{ (Ecuación 15)}$$

$$M_2H_2 = Q_c$$

Temperatura de salida del agua enfriamiento.

$Q_c = M_2H_2$  se encuentra despejando la entalpía

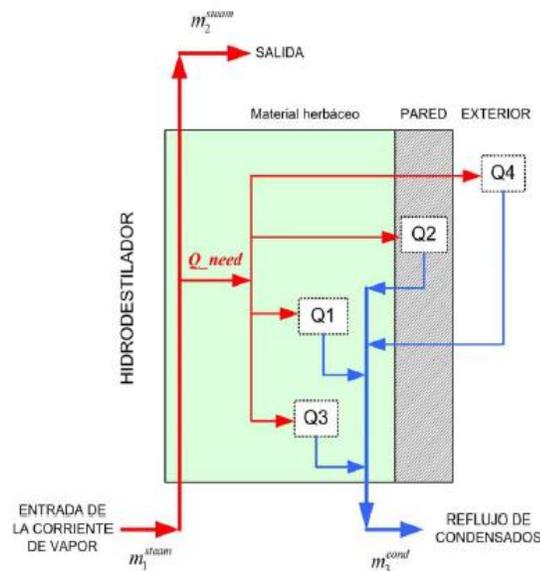
Calor perdido por tuberías y accesorios o fugas en todo el sistema.

$$Q_{\text{perdido}} = (M_F H_F + Q_p + Q_i) - (Q_D + M_B H_B + Q_C) \text{ (Ecuación 16)}$$

- Balance de energía para el Hidrodestilador o calderín (consumo de combustible)

Según el Balance descrito por Cerpa<sup>43</sup>, el flujo de energía necesario para realizar una operación está compuesto por cuatro términos como se observa en la siguiente en la Figura 14:

Figura 14. Diagrama de energía para el hidrodestilador.



Fuente: CERPA, 2007

a. Energía para el calentamiento de la planta aromática ( $Q_1$ ):

$$Q_1 = M^{mh} c_p^{mh} (\Delta T) \text{ (Ecuación 17)}$$

$M^{mh}$  = Masa del material vegetal.

$\Delta T$  = Cambio de temperatura del material vegetal

<sup>43</sup> CERPA Manuel, Hidrodestilación de aceites esenciales, Modelado y caracterización. Departamento de química y tecnología del medio ambiente, marzo de 2007, universidad de Valladolid- España. P.37

$Cp^{mh}$  = Calor específico promedio del material vegetal.

b. Energía para el calentamiento del hidroddestilador ( $Q_2$ ):

$$Q_2 = M^{hd} cp^{hd} (T_b - T_\infty) \text{ (Ecuación 18)}$$

$M^{hd}$  = Masa del hidroddestilador

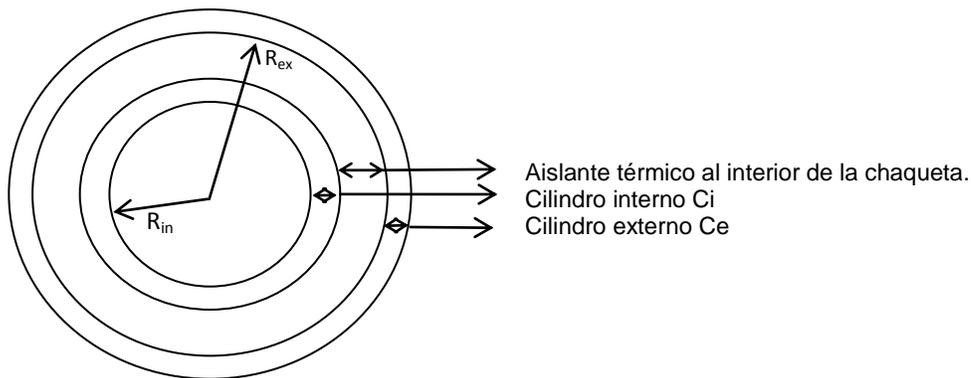
$Cp^{hd}$  = Cp total de hidroddestilador

$T_b$  = Temperatura de superficie

$T_\infty$  = Temperatura del aire

Ecuaciones que se tienen en cuenta para calcular el  $M^{hd}$  y  $Cp^{mh}$ , teniendo en cuenta la Figura 15.

Figura 15. Hidroddestilador visto desde la parte superior



Fuente: esta Investigación

$$M^{hd} = m_{Ci} + m_{Ce} + m_{ts} + m_{ti} + m_{fv} \text{ (Ecuación 19)}$$

$R_{in}$  = Radio interno

$R_{ex}$  = Radio externo.

$At_{hd}$  = Altura del hidroddestilador.

$m_{Ci}$  = Masa del cilindro interno.

$m_{Ce}$  = Masa del cilindro externo.

$m_{ts}$  = Masa tapa superior.

$m_{ti}$  = Masa tapa inferior

$m_{fv}$  = Masa aislante térmico en chaqueta.

Con la masa total se calcula el porcentaje de cada material que conforma el hidroddestilador, este dato permite calcular su Cp así:

$$Cp^{hd} = (\%) Cp_{ac} + (\%) Cp_{fv} \text{ (Ecuación 20)}$$

$Cp_{ac}$  = capacidad calorífica del acero inoxidable 304

$Cp_{fv}$  = capacidad calorífica de la fibra de vidrio (aislante térmico)

c. Energía para vaporizar el aceite esencial, considerado como un líquido en la película superficial ( $Q_3$ ):

$$Q_3 = M^{eo} \Delta H_{vap}^{eo}(T) \text{ (Ecuación 21)}$$

$M^{eo}$  = Masa del material vegetal.

$\Delta H_{vap}^{eo}$  = Cambio de entalpía del aceite esencial en estado vapor.

d. Flujo del fluido debido a la convección natural.

$$Q_1 = h A^{hd} (T_b - T_\infty) \text{ (Ecuación 22)}$$

$H$  = Coeficiente de transferencia de calor por convección para el aire, calculado mediante la expresión de Hilpert<sup>44</sup>.

$A^{hd}$  = Área del Hidrodestilador.

Ecuaciones que se tienen en cuenta para calcular el  $A^{hd}$  el coeficiente de transferencia de calor por convección del aire:

- Área del hidrodestilador, calculada como el área lateral de un cilindro.

$$A^{hd} = 2 \times (R_{ex})^2 \times \Pi \text{ (Ecuación 23)}$$

$R_{ex}$  = Radio externo

$\Pi$  = Número Pi

- Numero Reynolds  $Re_\phi$

$$Re_\phi = \frac{\bar{v}\phi}{\mathcal{G}} \text{ (Ecuación 24)}$$

$\bar{v}$  = velocidad promedio del aire

$\phi$  = Diámetro externo

$\mathcal{G}$  = Viscosidad cinemática

- Numero Nusselt

---

<sup>44</sup> INCROPERA, Frank P., DE WITT David P. Fundamentals of heat and mass transfer. Ata, ed., Ed. John Wiley and Sons, Inc. 1996. p. 356.

$$\overline{Nu} = c (Re_{\phi})^m (Pr)^{1/3} \text{ (Ecuación 25)}$$

$Re_{\phi}$  = numero reynolds.

Pr = numero Prandtl para el aire

c y m = constantes de correlación de Hilpert, determinadas por  $Re_{\phi}$

$$\overline{Nu} = \frac{\overline{h}\phi}{\mathfrak{R}} \text{ (Ecuación 26)}$$

$\overline{h}$  = Coeficiente de transferencia de calor por convección del aire.

$\phi$  = Diametro externo.

$\mathfrak{R}$  = Coeficiente de transmisión de calor superficial del aire.

El flujo de energía necesario es la suma de las energías anteriores, con respecto a un periodo de tiempo y al calor perdido:

$$\overset{\circ}{Q}_{necesario} = \left( \frac{Q_1 + Q_2 + Q_3(T)}{\Delta t} \right) + Q_4(T) \text{ (Ecuación 27)}$$

$\Delta t$  = Variación de tiempo.

Una vez encontrado el calor necesario podemos inferir teóricamente el consumo de combustible así:

$$\text{Consumo de combustible} = \frac{Q_{necesario}}{Q_{\text{combustion ACPM}}} \text{ (Ecuación 28)}$$

$$\overset{\circ}{Q}_{necesario} = \text{Calor necesario}$$

$$Q_{\text{combustion ACPM}} = \text{Calor de combustión del ACPM}$$

#### 5.4. RECTIFICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES DE LAS HOJAS DE *R. officinalis* y *M. pubescens*.

Los aceites esenciales fueron rectificadas mediante destilación fraccionada al vacío, se utilizó una columna de 1 m de alto, con relleno (anillos rashing) y aislada térmicamente con chaqueta de poliuretano (Figura 16). Para determinar el vacío se utilizó un nomograma de presión de vapor – temperatura para líquidos de alto punto de ebullición según el manual de prácticas de química orgánica I, de la Universidad de México<sup>45</sup>, teniendo en cuenta el grupo 2 que

<sup>45</sup> Universidad Autónoma de México. Manual de prácticas de química orgánica I (1311), Destilación a presión reducida Facultad de química 2009.p 44-49.

corresponden a terpenos y otros compuestos orgánicos-aromáticos (ver Anexos A y B), y se confrontó de manera experimental mediante diferentes ensayos utilizando aceite de *R. officinalis* obtenido en planta piloto, de acuerdo a lo anterior se determinó una presión de vacío de 200 mm de Hg que disminuyó el punto de ebullición de los aceites aproximadamente en 40 °C, el proceso se realizó en un tiempo de 8-12 horas.

Figura 16. Equipo para destilación fraccionada al vacío.



Fuente: esta Investigación

## 5.5. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICOS DE LOS ACEITES ESENCIALES

El análisis para determinar la composición química de los aceites esenciales de las hojas de *R. officinalis* y *M. pubescens* se realizó en un cromatógrafo de gases Shimadzu GC 17A versión 3, equipado con un inyector split/splitless a temperatura de 250 °C, relación split 1:100 y un detector de ionización en llama (FID) (280 °C). Los datos cromatográficos fueron adquiridos y procesados con un programa Shimadzu Class VP 4.3. Para la separación de los componentes de los aceites se utilizó una columna apolar DB-5 (J&W) de 30 m x 0,25 mm D.I. y 0,25  $\mu\text{m}$  de una fase estacionaria de 5% fenil-polimetilsiloxano. La temperatura del horno fue programada de 40 °C (5 min) hasta 250 °C a 5 °C

min<sup>-1</sup>. El gas de arrastre y gas auxiliar empleado fue helio (99.9995%, *Agafano S.A*) a flujo de 1 ml min<sup>-1</sup>, las velocidades de flujo para gases de combustión en el FID fueron 300 mL min<sup>-1</sup> para el aire y 30 mL min<sup>-1</sup> para el hidrógeno, el volumen inyectado de los extractos fue de 1.0 µL.

Para la identificación de los compuestos por medio de índices de Kovats se utilizó como referencia la mezcla de parafinas de C<sub>6</sub> – C<sub>32</sub> cuyo cromatograma se observa en el Anexo C. Para confirmar la identificación de los metabolitos secundarios del aceite esencial de las hojas de *R. officinalis* y *M. pubescens* se realizó por un análisis por GC-MS en el Laboratorio de Cromatografía de la Universidad Industrial de Santander para lo cual se utilizó un cromatógrafo de gases *Agilent Technologies* 6890N acoplado a un detector selectivo de masas (MSD) *Agilent Technologies* 5975 *Inert*, operado en el modo barrido completo (*full scan*) de radio frecuencia. La columna empleada en el análisis fue DB-WAX (*J & W Scientific*, Folsom, CA, EE.UU.) y una biblioteca espectral WILEY7n. 1 y ADAMS L<sup>46</sup> mediante la cual se identificaron 25 compuestos para *R. officinalis* y 28 compuestos para *M. pubescens* observados en los Anexos D y E.

Figura 17. Cromatógrafo de Gases – Universidad de Nariño.



Fuente: esta Investigación

<sup>46</sup> ADAMS R. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation. 2004

## 5.6. PRUEBAS FÍSICO-QUÍMICAS

5.6.1 Punto de Ebullición. Se utilizó el Método Siwoloboff mediante el cual se colocaron 0.5 ml de el aceite esencial en un tubo de ensayo pequeño (Durjan) y se invirtió un tubo capilar con su extremo abierto dentro del líquido. Se colocó el tubo de ensayo dentro de un aparato de Thiel equipado con un termómetro. Se calentó el tubo de Thiel, la temperatura se elevó hasta que del tubo capilar salió una rápida y continúa corriente de burbujas que paso a través del líquido. Inmediatamente se suspendió el calentamiento y se dejo enfriar el baño. Se tomó la temperatura en el momento en que dejaron de salir burbujas del capilar y antes de que el líquido entre a él<sup>47</sup> (Figura 18).

Para la realización de los cálculos se tuvo en cuenta la siguiente ecuación:

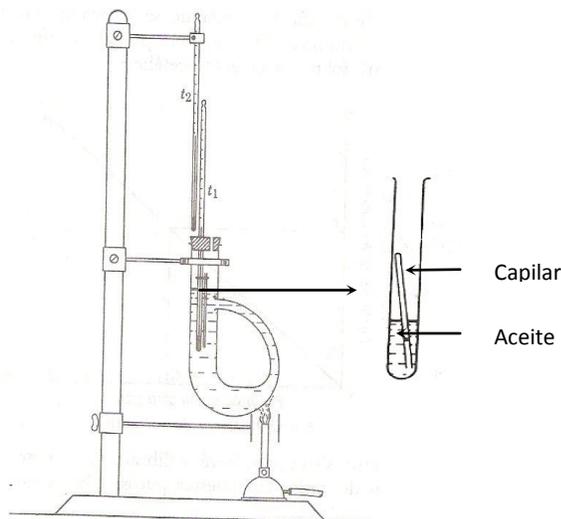
$$P.eb. = T_1 + N(T_1 - T_2) 0.000154 \text{ (Ecuación 29)}$$

Donde:  $T_1$  = Punto de ebullición observado.

$T_2$  = Temperatura promedio de la columnilla de mercurio.

$N$  = Grados de la columnilla de mercurio arriba del nivel del baño de aceite

Figura 18. Esquema para la determinación del punto de ebullición



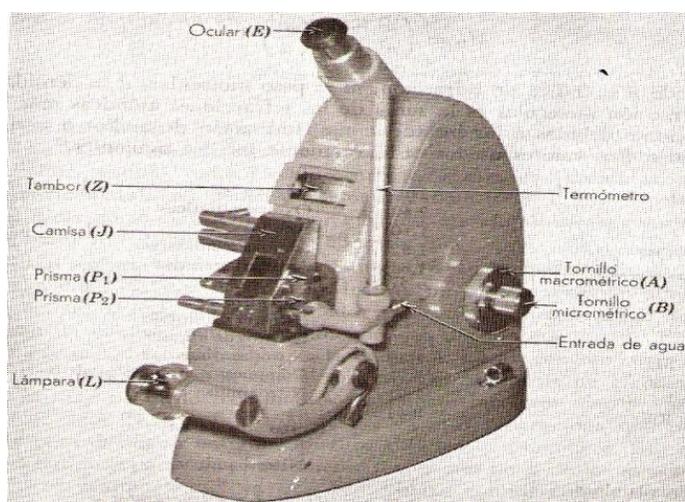
Fuente. SHRINER, 1995

5.6.2. Índice de Refracción. Se colocaron unas gotas de aceite esencial en el prisma  $P_2$ , los prismas se cerraron lentamente expulsando el exceso del líquido. Se encendió la lámpara (L) y se observó en el ocular (E), se dio

<sup>47</sup> SHRINER, R. L., FUSON, R. C. y CURTIN, D.Y. Identificación sistemática de compuestos orgánicos. Limusa, México, 1995.

vuelta al tornillo micrométrico (A) y también se ajustó la posición de la lámpara (L) hasta que se obtuvo un campo iluminado uniformemente. Se enfoca el ocular (E) y se dio vuelta al tornillo (A) hasta que la línea divisoria entre las mitades iluminada y oscura coincidió con el centro de las retículas cruzadas. Después de que la línea divisoria quedo bien definida, se dio vuelta al tornillo micrométrico (B) hasta que la línea divisoria quedo exactamente en el centro de las retículas entrecruzadas. Finalmente se oprimió el interruptor que se encuentra ubicado en el lado izquierdo del instrumento para lograr que se ilumine la escala; en el ocular (E) se determinó el índice de refracción<sup>48</sup> (Figura 19).

Figura 19. Refractómetro Abbe



Fuente: SHRINER, 1995.

5.6.3. Determinación del Peso Específico. Se lavó el picnómetro con agua destilada, se secó, posteriormente se adicionó acetona para eliminar residuos de agua y finalmente se llevó a estufa de secado con temperatura no superior a 30°C para eliminar los posibles residuos y obtener un secado completo.

“Se pesó el picnómetro vacío ( $W_1$ ), después se adicionó agua destilada a 20°C evitando la formación de burbujas y se determinó su peso ( $W_2$ ), finalmente se pesaron uno a uno los aceites a 20°C ( $W_3$ ), los cuales fueron inicialmente sometidos a enfriamiento durante 5 minutos para poder realizar una adecuada determinación”<sup>49</sup>, (Figura 20).

<sup>48</sup> SHRINER, R. L., FUSON, R. C. y CURTIN, D.Y. Identificación sistemática de compuestos orgánicos. Limusa, México, 1995.

<sup>49</sup> GARCIA Apráez H; Esencias naturales. Aguilar S.A de ediciones, Madrid – España. 1953.

Figura 20. Picnómetro con aceite esencial



Fuente: esta Investigación

- Cálculos

$$\text{Gravedad Especifica a } 20^{\circ}\text{C} = \frac{W_3 - W_1}{W_2 - W_1} \quad (\text{Ecuación 30})$$

Donde  $W_1$ = peso del picnómetro vacío

$W_2$ = peso del picnómetro con agua destilada

$W_3$ = peso del picnómetro con el aceite

5.6.4. Índice de Acidez. Se pesaron 2 g de muestra en un erlenmeyer de 100 ml, se agregaron 15 ml de alcohol 96% previamente neutralizado con fenolftaleína (color rojo débil) y se adicionaron unas gotas de fenolftaleína al 1% al alcohol; se agregó NaOH al 1N con ayuda de una bureta, se agitó constantemente, finalmente se midió el volumen de NaOH cuando el color rosado permaneció durante 10 seg<sup>50</sup> (Figura 21).

Figura 21. Titulación para la determinación del índice de acidez



Fuente: esta Investigación

<sup>50</sup> GARCIA Apráez H; Esencias naturales. Aguilar S.A de ediciones, Madrid – España. 1953.

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 CONSIDERACIONES GENERALES PARA EL ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS EXPERIMENTALES.

Para el estudio de la extracción del aceite esencial de las hojas de *M. pubescens* y *R. officinalis* se aplicó un diseño factorial  $2^k$ , con puntos al centro y replica como se indicó en la metodología. Como variables de respuesta se tomaron el área total del cromatograma en cuentas y el área en cuentas de los compuestos mayoritarios identificados mediante Índices de retención de Kovats y Espectros de masas, el rendimiento de los aceites esenciales no se consideró como variable de respuesta debido a que en las condiciones de laboratorio las cantidades obtenidas fueron bastante pequeñas y su separación ocasionaba márgenes de error muy elevados. En cuanto al número de compuestos, se presentó mucha similitud en todos los experimentos y resultó ser una variable no significativa, por lo tanto no se tomó como variable de respuesta.

El análisis de los resultados para todos los experimentos en las diferentes técnicas de extracción aplicadas se realizó a través del análisis de varianza (ANOVA), el cual permitió evaluar la validez estadística de los resultados obtenidos y determinar cuáles de los factores evaluados tuvieron efectos significativos sobre las variables de respuesta.

### 6.2 EXTRACCIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR

6.2.1 Extracción por arrastre con vapor de aceite esencial de las hojas de *R. officinalis*. La Identificación y confirmación de los compuestos mayoritarios (Cuadro 8) en el aceite esencial se realizaron de acuerdo a lo descrito en la sección 5.5. En el aceite esencial extraído por esta técnica se obtuvieron entre 23 y 29 compuestos, cada uno de los cuales se identificó teniendo en cuenta que su cantidad relativa en porcentaje es superior al 0.1 %. (Anexo F y G)

6.2.1.1 Análisis de varianza. La Tabla 1 muestra el análisis de varianza de los factores estudiados en el proceso de extracción por arrastre con vapor del aceite esencial de *R. officinalis* para la variable de respuesta área total del cromatograma en cuentas, el r-cuadrado indica que el modelo predice en un 83.19% la variabilidad de los datos, además la prueba de falta de ajuste (lack of fit) cuyo valor P es de 0.0782 >0.05 indica que el modelo es adecuado para los datos observados a un nivel de confianza del 95%. Se observa que hay dos efectos significativos sobre el área: el tamaño de partícula y la interacción tiempo-tamaño cuyo valor P es < 0.05.

Cuadro 8. Compuestos mayoritarios identificados en el AE de *R. officinalis* extraído por arrastre con vapor.

I <sub>K</sub> Teórico <sup>51</sup>	I <sub>K</sub> Experimental	Compuesto	Cantidad Relativa (Cr)
939	932	α-Pineno	11,31
954	947	Canfeno	8,18
979	981	β-Pineno	5,63
991	990	Mirceno	26,65
1031	1032	1,8-Cineol	8,22
1146	1151	Alcanfor	16,67
1169	1170	Borneol	0,85
1289	1286	Acetato de Bornilo	3,03
1409	1413	<i>trans</i> -Cariofileno	8,29

Fuente: esta Investigación

Tabla 1. Análisis de varianza de los resultados de la extracción por arrastre con vapor del aceite esencial de las hojas de *R. officinalis*.

Analysis of Variance for area

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
A:tamaño de particul	1,11822E13	1	1,11822E13	259,28	0,0038
B:tiempo	5,12525E10	1	5,12525E10	1,19	0,3895
AB	1,71092E12	1	1,71092E12	39,67	0,0243
blocks	3,7554E11	1	3,7554E11	8,71	0,0982
Lack-of-fit	2,60599E12	5	5,21197E11	12,09	0,0782
Pure error	8,62551E10	2	4,31275E10		
Total (corr.)	1,60121E13	11			

R-squared = 83,1862 percent  
R-squared (adjusted for d.f.) = 76,8811 percent  
Standard Error of Est. = 207672,0  
Mean absolute error = 407769,0  
Durbin-Watson statistic = 1,59914 (P=0,2097)  
Lag 1 residual autocorrelation = 0,157883

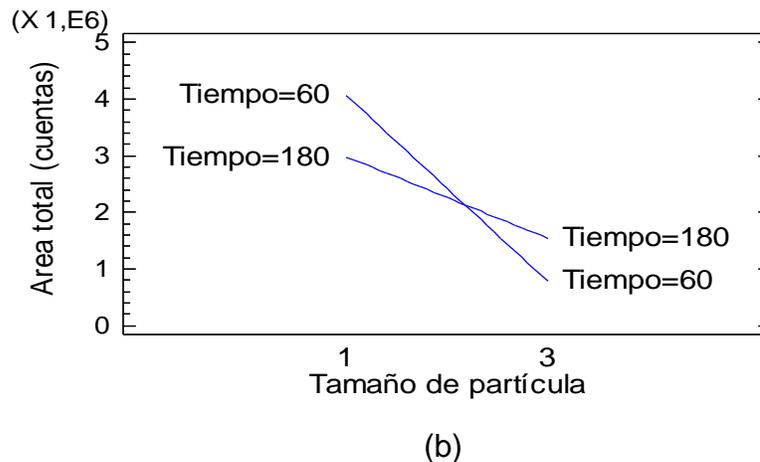
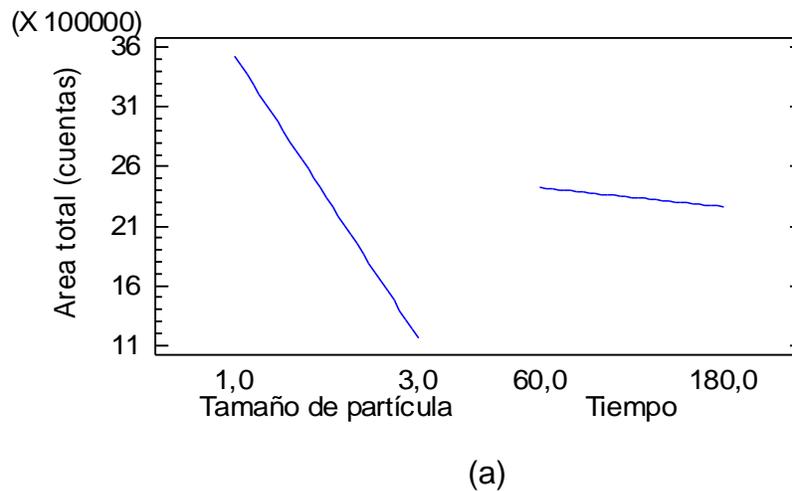
Fuente: esta Investigación

6.2.1.2 Efecto de las variaciones en el proceso de extracción sobre el área en cuentas. El diagrama de efectos principales (Figura 22a) confirma los resultados obtenidos en el ANOVA (Tabla 1) en lo relacionado a la significancia de los efectos

<sup>51</sup> ADAMS R. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation. 2004

estudiados, en el se puede observar que la respuesta área total en relación al tamaño de partícula decrece considerablemente, pero si se observa el efecto tiempo de operación esta variable de respuesta permanece sin variaciones significativas, sin embargo se debe considerar la interacción que puede existir entre estos efectos como lo muestra la Tabla 1 y la Figura 22b, en ella se aprecia que al aumentar el tamaño de partícula del nivel inferior (0,45mm= -1) al nivel superior (1.77 mm = +1) cuando el tiempo es 180 min y 60 min la respuesta decrece para ambos casos, pero si se observa el tiempo en su nivel inferior esta decrece de manera considerable, esta relación muestra un significancia leve en comparación al efecto ejercido por el tamaño de partícula de manera individual. Las áreas mayores obtenidas de los aceites evaluados se encontraron cuando el tamaño de partícula y el tiempo están en su nivel inferior (0.45mm y 60 min).

Figura 22. a. Diagrama de efectos principales b. Diagrama de interacción para el área del perfil cromatográfico del aceite esencial de las hojas *R. officinalis* extraído mediante arrastre con vapor.



Fuente: esta Investigación

6.2.2 Extracción por arrastre con vapor de aceites esenciales de hojas de *M. pubescens*. La Identificación y confirmación de los compuestos mayoritarios en el aceite esencial se realizaron de acuerdo a lo descrito en la sección 5.5 (Cuadro 9). En el aceite esencial extraído por esta técnica se obtuvieron entre 21 y 36 compuestos, cada uno de los cuales se identificó teniendo en cuenta que su cantidad relativa en porcentaje es superior al 0.1 %. (Anexos H, I, J)

Cuadro 9. Compuestos mayoritarios identificados en el AE de *M. pubescens* extraído por arrastre con vapor

$I_k$ Teórico <sup>52</sup>	$I_k$ Experimental	Cantidad Relativa (Cr)	Posible Compuesto
1097	1098	1,07	Linalol
1391	1390	1,81	$\beta$ -Elemeno
1409	1426	21,33	<i>trans</i> -Cariofileno
1440	1432	0,83	$\beta$ -Humuleno
1455	1462	0,61	$\alpha$ -Humuleno
1479	1479	1,51	$\gamma$ -Selineno
1490	1498	9,97	$\beta$ -Selineno
1498	1505	10,66	$\alpha$ -Selineno
1514	1523	1,17	$\gamma$ -Cadineno
1530	1528	1,61	<i>cis</i> -Calameneno
1547	1545	3,29	Selino-3,7(11)-dieno
1583	1568	4,81	Oxido de cariofileno
1590	1591	2,58	$\beta$ -Elemenona
1608	1603	0,68	Epoxido de Humuleno II

Fuente: esta Investigación

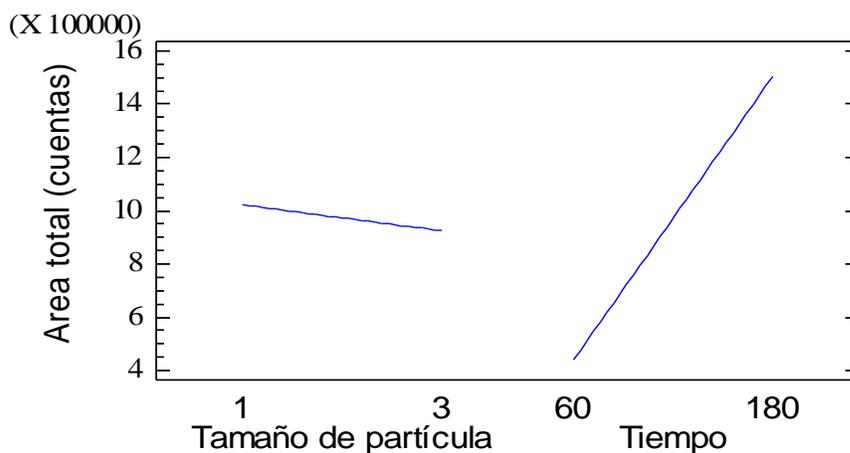
6.2.2.1 Análisis de varianza. El Análisis de varianza para la extracción por arrastre con vapor de aceite esencial de las hojas de *M. pubescens* se muestra en la Tabla 2, los valores de r-cuadrado y la prueba de Lack-of-fit demuestran la validez estadística de los resultados. La variable tiempo fue la única que tuvo un efecto significativo sobre el área del perfil cromatográfico ( $p < 0.05$ ).

6.2.2.2. Efecto de las variaciones en el proceso de extracción sobre el área del perfil cromatográfico del aceite esencial: El diagrama de efectos principales (figura 23a) muestra por separado la influencia de cada factor con respecto a la variable

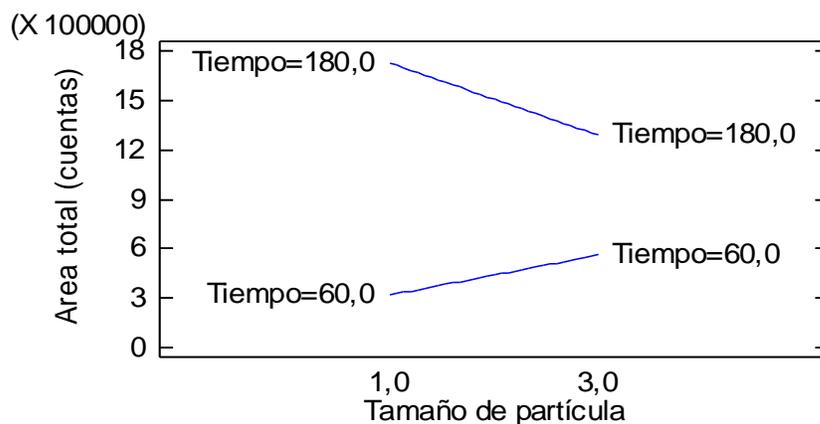
<sup>52</sup> ADAMS R. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation. 2004

de respuesta expresada como área total del cromatograma en cuentas. El tamaño de partícula en los niveles estudiados (0,45 mm a 1.77 mm) no mostró un efecto significativo sobre la variable de respuesta, mientras que el tiempo si tuvo un efecto importante, observándose que al pasar de 60 a 180 minutos se logra un aumento significativo sobre el área del perfil cromatográfico; al observa la figura 23b se puede ver que al incrementar el tamaño de partícula del nivel inferior al superior cuando el tiempo es 180 minutos la variable de respuesta decrece, y se incrementa cuando el tiempo es 60min. Las mejores condiciones para incrementar la variable de respuesta se dieron para un tamaño de partícula inferior (0.45 mm) y un tiempo prolongado (180 min).

Figura 23. a) Diagrama de efectos principales. b) Diagrama de interacción para el área del perfil cromatográfico del AE de las hojas *M. pubescens* extraído mediante arrastre con vapor.



(a)



(b)

Fuente: esta Investigación

Tabla 2. Análisis de varianza para los resultados de la extracción por arrastre con vapor de AE de las hojas de *M. pubescens*

Analysis of Variance for cuentas

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
A:Tamaño de particul	2,24483E10	1	2,24483E10	1,54	0,3408
B:Tiempo	2,29297E12	1	2,29297E12	156,96	0,0063
AB	2,41643E11	1	2,41643E11	16,54	0,0555
blocks	3,08889E10	1	3,08889E10	2,11	0,2831
Lack-of-fit	7,79114E10	5	1,55823E10	1,07	0,5489
Pure error	2,92178E10	2	1,46089E10		
Total (corr.)	2,69508E12	11			

R-squared = 96,025 percent

R-squared (adjusted for d.f.) = 94,5344 percent

Standard Error of Est. = 120867,0

Mean absolute error = 64129,6

Durbin-Watson statistic = 2,71314 (P=0,0354)

Lag 1 residual autocorrelation = -0,38045

Fuente: esta Investigación

6.2.2.3. Análisis de resultados para la extracción por arrastre con vapor de los aceites esenciales de las dos especies vegetales. La mejor condición muestra que el menor tamaño de partícula (0.45 mm) permite que se incremente el área de contacto y debido a esto se obtienen mayores áreas en el cromatograma, sin embargo el tiempo de extracción (60 min para *R. officinalis* y 180 min. para *M. pubescens*) está influenciado por la morfología de la hoja y la mecánica de fluidos; “el aceite esencial contenido en las glándulas odoríferas existentes dentro de las células vegetales, se acumula en las paredes de las mismas, estas células secretoras al estar en contacto con el vapor de agua hinchan sus paredes celulares y posibilitan el paso de los aceites esenciales al exterior por osmosis”<sup>53</sup>, “en las primeras horas de extracción se da una difusión de los componentes de una fase a otra presentándose entre ellos una transferencia de componentes activos con tendencia al equilibrio”<sup>54</sup>; “una vez alcanzado el equilibrio el vapor deja de arrastrar compuestos y comienza a ejercer su acción hidrolítica sobre el aceite esencial, especialmente sobre los esterres que constituyen la parte más noble de el

<sup>53</sup> GARCIA Apráez H; Esencias naturales. Aguilar S.A de ediciones, Madrid – España. 1953. (Muñoz, 2002; Peter, 2004; Teuscher et al., 2005).p 44

<sup>54</sup> VIAN Ángel y OCÓN Joaquín. Elementos De Ingeniería Química, editorial Aguilar, segunda edición, Madrid,-1957.

aceite esencial"<sup>55</sup>, razón por la cual después del tiempo de extracción encontrado en la mejor condición para cada planta el área del perfil cromatográfico disminuye.

### 6.3 DESTILACIÓN EXTRACCION SIMULTÁNEA

6.3.1 Extracción de aceite esencial de *R. officinalis* mediante D.E.S. La Identificación y confirmación de los compuestos mayoritarios en el aceite esencial se realizaron de acuerdo a lo descrito en la sección 5.5 (Cuadro 10). En el aceite esencial extraído por esta técnica se obtuvieron entre 17 y 27 compuestos; cada uno de los cuales se identificó teniendo en cuenta que su cantidad relativa en porcentaje es superior al 0.1 %. (Anexo K y L)

Cuadro 10. Compuestos mayoritarios identificados en el AE de *R. officinalis* extraído por D.E.S.

$I_K$ Teórico <sup>56</sup>	$I_K$ Experimental	Compuesto	Cantidad Relativa (Cr)
939	932	$\alpha$ -Pino	12
954	947	Canfeno	5.7
979	981	$\beta$ -Pino	2,0
991	990	Mirceno	4.8
1031	1032	1,8-Cineol	24.8
1146	1151	Alcanfor	29.8
1169	1170	Borneol	3,3
1289	1286	Acetato de Bornilo	1.47
1409	1413	<i>Trans</i> -Cariofileno	0.4

Fuente: esta Investigación

6.3.1.1. Análisis de varianza. El análisis de varianza de la extracción de aceite esencial de las hojas de *R. officinalis* mediante D.E.S. se muestra en la tabla (Tabla 3), la validez estadística de los resultados se confirma con los valores obtenidos de r-cuadrado y la prueba de Lack-of-fit. Se puede observar que la variable tamaño de partícula, el tiempo y la interacción del tamaño de partícula con el tiempo tuvieron un efecto significativo sobre el área del perfil cromatográfico del aceite esencial.

<sup>55</sup> GARCIA Apráez H; Op. Cit. p. 44

<sup>56</sup> ADAMS R. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation. 2004

Tabla 3. Análisis de varianza para los resultados de la extracción por D.E.S. de aceite esencial de las hojas de *R. officinalis*

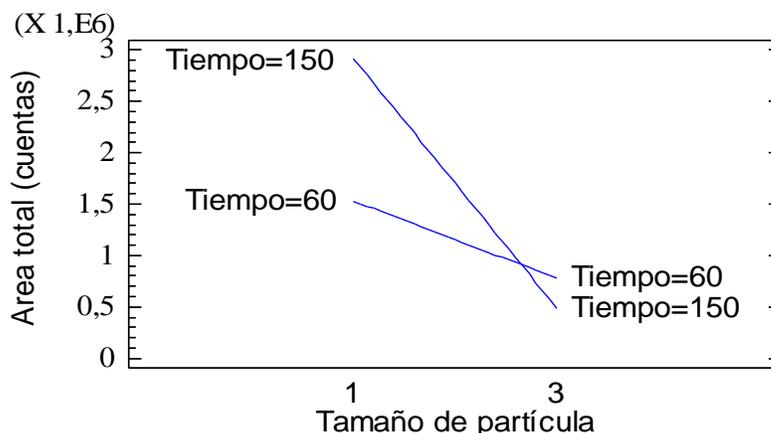
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
A:Tamaño de particul	5,05402E12	1	5,05402E12	388,68	0,0026
B:Tiempo	6,03804E11	1	6,03804E11	46,44	0,0209
AB	1,40796E12	1	1,40796E12	108,28	0,0091
blocks	4,50333E10	1	4,50333E10	3,46	0,2038
Lack-of-fit	6,25522E11	5	1,25104E11	9,62	0,0968
Pure error	2,60064E10	2	1,30032E10		
Total (corr.)	7,76234E12	11			

R-squared = 91,6066 percent  
 R-squared (adjusted for d.f.) = 88,459 percent  
 Standard Error of Est. = 114031,0  
 Mean absolute error = 187748,0  
 Durbin-Watson statistic = 2,04235 (P=0,3491)  
 Lag 1 residual autocorrelation = -0,164481

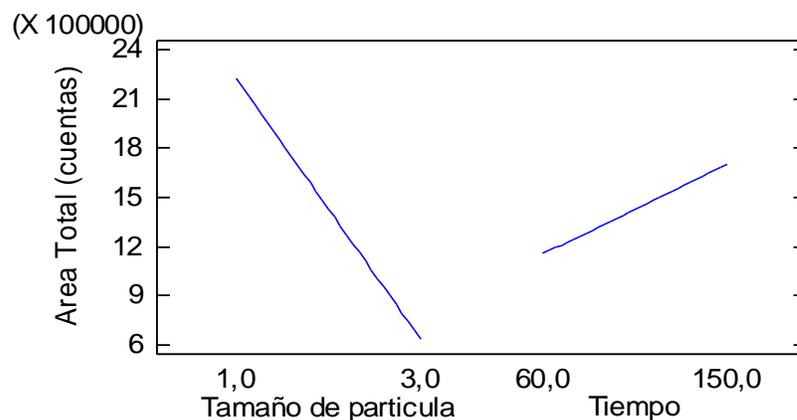
Fuente: esta Investigación

6.3.1.2. Efecto de las variaciones en el proceso de extracción sobre el área del perfil cromatográfico: El diagrama de efectos principales (Figura 24b) muestra que el área total del perfil cromatográfico disminuye al aumentar el tamaño de partícula, caso contrario a la influencia ejercida por tiempo sobre la variable de respuesta, ambos efectos se consideran significativos por lo tanto se analizó el diagrama de interacción (Figura 24a) en el cual se muestra que al incrementar el tamaño de partícula del nivel inferior al superior (0.45mm a 1.77mm) en relación al efecto tiempo en cualquiera de los niveles (60min=-1 y 180 min =+1) la respuesta decrece para ambos casos, sin embargo las áreas más altas se obtuvieron con el tamaño de partícula inferior (0.45mm) y un tiempo de contacto mayor (150 min).

Figura 24. a) Diagrama de interacción. b) Diagrama de efectos principales para el área del perfil cromatográfico del aceite esencial de las hojas *R. officinalis* extraído por D.E.S.



a)



b)

Fuente: esta Investigación

6.3.2 Extracción de aceite esencial de *M. pubescens* mediante D.E.S. La identificación y confirmación de los compuestos mayoritarios en el aceite esencial se realizaron de acuerdo a lo descrito en la sección 5.5 (Cuadro 11). En el aceite esencial extraído por esta técnica se obtuvieron entre 17 y 32 compuestos; cada uno de los cuales se identificó teniendo en cuenta que su cantidad relativa en porcentaje es superior al 0.1 %. (Anexo M, N y O)

Cuadro 11. Compuestos mayoritarios identificados en el AE de *M. pubescens* extraído por D.E.S.

$I_K$ Teórico <sup>57</sup>	$I_K$ Experimental	Cantidad Relativa (Cr)	Posible Compuesto
1097	1098	0,34	Linalol
1319	1390	2,37	$\beta$ -Elemeno
1409	1426	20,62	<i>trans</i> -Cariofileno
1490	1498	11,99	$\beta$ -Selineno
1498	1505	12,10	$\alpha$ -Selineno
1514	1523	2,67	$\gamma$ -Cadineno
1540	1528	1,73	<i>cis</i> -Calameneno
1547	1545	3,32	Selino-3,7(11)-dieno
1583	1568	4,44	Oxido de cariofileno
1590	1591	1,48	$\beta$ -Elemenona
1660	1660	0,88	Kongol
1694	1687	2,67	Germacrona

Fuente: esta Investigación

<sup>57</sup> ADAMS R. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation. 2004

6.3.2.1 Análisis de varianza. En la Tabla 4 se presenta el Análisis de varianza para la extracción por D.E.S. de aceite esencial de las hojas de *M. pubescens*. Los valores obtenidos para r-cuadrado y para la prueba de Lack-of-fit confirman la validez estadística de los resultados. Se observa que la variable tamaño de partícula y la interacción tamaño de partícula-tiempo tienen efectos estadísticamente significativos sobre el área del perfil cromatográfico del aceite esencial.

Tabla 4. Análisis de varianza para los resultados de la extracción por D.E.S. de AE de las hojas de *M. pubescens*

Analysis of Variance for area

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
A:Tamaño de partícul	7,12354E11	1	7,12354E11	692,71	0,0014
B:Tiempo	1,54747E10	1	1,54747E10	15,05	0,0605
AB	3,25665E10	1	3,25665E10	31,67	0,0302
blocks	1,98507E7	1	1,98507E7	0,02	0,9022
Lack-of-fit	8,72683E10	5	1,74537E10	16,97	0,0566
Pure error	2,05672E9	2	1,02836E9		
Total (corr.)	8,4974E11	11			

R-squared = 89,488 percent

R-squared (adjusted for d.f.) = 85,546 percent

Standard Error of Est. = 32068,0

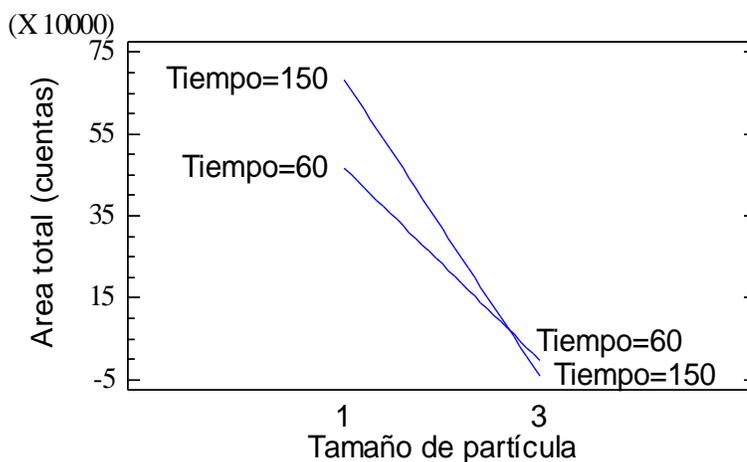
Mean absolute error = 80252,8

Lag 1 residual autocorrelation = -0,537258

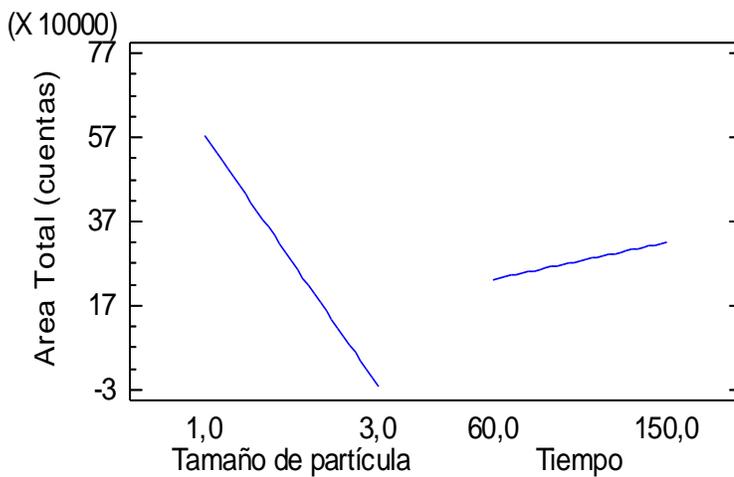
Fuente: esta Investigación

6.3.2.2. Efecto de las variaciones en el proceso de extracción sobre el área del perfil cromatográfico del aceite esencial. Si se observa el diagrama de efectos principales (Figura 25b), se puede ver que la variable de respuesta disminuye con respecto al tamaño de partícula, en el caso del tiempo este presenta un efecto no significativo como lo indica el ANOVA (Tabla 4), al analizar la interacción entre los efectos principales (Figura 25a) se observa que existe una interacción leve con tendencia a la aditividad, sin embargo la grafica de interacción permite inferir las mejores condiciones así: tamaño de partícula inferior (0.45mm) y tiempo de contacto superior (150 min).

Figura 25. a) Diagrama de interacción. b) Diagrama de efectos principales para el área del perfil cromatográfico del AE obtenido por D.E.S. de las hojas de *M. pubescens*



(a)



(b)

Fuente: esta Investigación

6.3.3 Análisis de los resultados de la obtención AE de las dos especies vegetales por la técnica D.E.S. Los mejores resultados con la técnica D.E.S. tanto para *R. officinalis* como para *M. pubescens* se obtuvieron con un tamaño de partícula inferior (0.45 mm) y tiempos de operación prolongados (150 min); los resultados son congruentes con la teoría de los procesos de difusión y transferencia de masa puesto que conjuga la extracción con solventes y la destilación, por lo tanto, su capacidad de extracción depende de la volatilidad y de la polaridad de los compuestos, entre mas ciclos presente el sistema el extracto se enriquece más; además un menor tamaño de partícula favorece la difusión interna en el proceso de extracción. (Velasco R., 2007).

## 6.4 HIDRODESTILACION ASISTIDA POR RADIACIÓN DE MICROONDAS.

Para el desarrollo de estos experimentos se utilizó un solo tamaño de partícula cuyo diámetro promedio es de 0.45 mm, para las dos especies vegetales.

6.4.1 Extracción de aceite esencial de las hojas de *R. officinalis* mediante Hidrodestilación asistida por radiación con microondas (M.W.H.D). La identificación y confirmación de los compuestos mayoritarios en el aceite esencial se realizó de acuerdo a lo descrito en la sección 5.5 (Cuadro 12). En el aceite esencial extraído por esta técnica se obtuvieron entre 25 y 31 compuestos; cada uno de los cuales se identificó teniendo en cuenta que su cantidad relativa en porcentaje es superior al 0.1 %. (Anexos P y Q)

Cuadro 12. Compuestos mayoritarios identificados en el AE de *R. officinalis* extraído por M.W.H.D.

$I_K$ Teórico <sup>58</sup>	$I_K$ Experimental	Compuesto	Cantidad Relativa (Cr)
939	932	$\alpha$ -Pinoeno	6.25
954	947	Canfeno	6.1
979	981	$\beta$ -Pinoeno	4,5
991	990	Mirceno	25.5
1031	1032	1,8-Cineol	18.05
1146	1151	Alcanfor	26.9
1169	1171	Borneol	1,2
1289	1286	Acetato de Bornilo	2,6
1409	1413	<i>trans</i> -Cariofileno	1.5

Fuente: esta Investigación

6.4.1.1. Análisis de varianza. El análisis de varianza para la extracción por M.W.H.D. de aceite esencial de las hojas de *R. officinalis* se muestra en la Tabla 5. Los valores de r-cuadrado y la prueba de Lack-of-fit evidencian la validez estadística de los resultados. La variable potencia y la interacción potencia-tiempo tuvieron efectos estadísticamente significativos sobre el área del perfil cromatográfico del aceite esencial.

<sup>58</sup> ADAMS R. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation. 2004

Tabla 5. Análisis de varianza para los resultados de la extracción por M.W.H.D de aceite esencial de las hojas de *R. officinalis*

Analysis of Variance for area total

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
A:Potencia	1,44274E13	1	1,44274E13	37,37	0,0257
B:Tiempo	3,01037E12	1	3,01037E12	7,80	0,1079
AB	4,20697E13	1	4,20697E13	108,98	0,0091
blocks	2,97753E10	1	2,97753E10	0,08	0,8073
Lack-of-fit	6,69949E12	5	1,3399E12	3,47	0,2387
Pure error	7,72094E11	2	3,86047E11		
Total (corr.)	6,70088E13	11			

R-squared = 88,8498 percent

R-squared (adjusted for d.f.) = 84,6685 percent

Standard Error of Est. = 621327,0

Mean absolute error = 676675,0

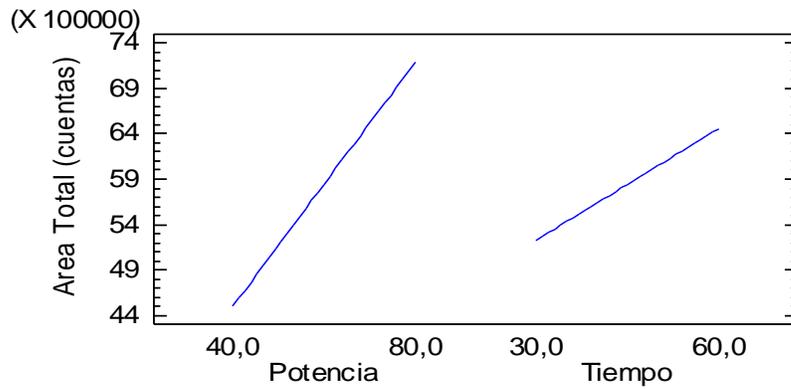
Durbin-Watson statistic = 2,39387 (P=0,1654)

Lag 1 residual autocorrelation = -0,317692

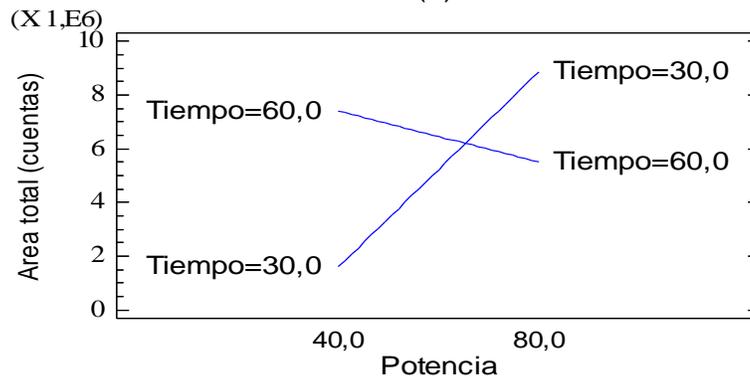
Fuente: esta Investigación

6.4.1.2. Efecto de las variaciones en el proceso de extracción sobre el área del perfil cromatográfico del aceite esencial. La Figura 26a permite visualizar que los efectos potencia y tiempo evaluados de forma independiente se comportan positivamente en relación a la variable de respuesta es decir esta crece, mostrando los mejores resultados en el nivel superior (+1) de ambos efectos, sin embargo se debe considerar su interacción como se indica en el ANOVA, si se observa la Figura 26b se ve una interacción de antagonismo, al aumentar la potencia del 40% (340W) al 80% (680W) en un tiempo mínimo (30min), se puede observar un notable crecimiento en el área del perfil cromatográfico, sin embargo en un tiempo superior (60 min.) se observo un decrecimiento de la misma. Las mayores áreas se obtuvieron cuando la variable tiempo se mantuvo en el nivel inferior (30 min.) y la potencia a un nivel superior (80%).

Figura 26. a) Diagrama de efectos principales. b) Diagrama de interacción para la el área del perfil cromatográfico del AE obtenido por M.W.H.D. de hojas de *R. officinalis*.



(a)



(b)

Fuente: esta Investigación

6.4.2 Extracción de aceite esencial de las hojas de *M. pubescens* mediante Hidrodestilación asistida por radiación con microondas (M.W.H.D.). La Identificación y confirmación de los compuestos mayoritarios en el aceite esencial se realizaron de acuerdo a lo descrito en la sección 5.5 (Cuadro 13). En el aceite esencial extraído por esta técnica se obtuvieron entre 17 y 32 compuestos; cada uno de los cuales se identificó teniendo en cuenta que su cantidad relativa en porcentaje es superior al 0.1 %. (Anexo R, S y T)

6.4.2.1. Análisis de varianza. En la Tabla 6 se presenta el Análisis de varianza para la extracción por M.W.H.D. de aceite esencial de las hojas de *M. pubescens*, la validez estadística de los resultados queda demostrada por los valores obtenidos en la prueba de Lack-of-fit y de r-cuadrado. La variable tiempo, potencia y la interacción potencia-tiempo tienen efectos significativos sobre el área en cuentas del perfil cromatográfico del aceite esencial.

Cuadro 13. Compuestos mayoritarios identificados en el AE de *M. pubescens* extraído por M.W.H.D.

$I_k$ Teórico <sup>59</sup>	Cantidad Relativa (Cr)	$I_k$ Experimental	Posible Compuesto
1097	1,26	1098	Linalol
1319	2,05	1390	$\beta$ -Elemeno
1409	19,44	1426	<i>trans</i> -Cariofileno
1490	8,57	1498	$\beta$ -Selineno
1498	8,80	1505	$\alpha$ -Selineno
1514	0,73	1523	$\gamma$ -Cadineno
1530	1,52	1528	<i>cis</i> -Calameneno
1540	3,02	1533	Zonareno
1547	3,13	1545	Selino-3,7(11)-dieno
1583	2,88	1568	Oxido de cariofileno
1590	0,69	1591	$\beta$ -Elemenona
1694	3,63	1694	Germacrona

Fuente: esta Investigación

Tabla 6. Análisis de varianza para los resultados de la extracción por M.W.H.D. de aceite esencial de las hojas de *M. pubescens*.

Analysis of Variance for cuentas

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
A:potencia	3,36765E11	1	3,36765E11	111,03	0,0089
B:tiempo	1,14885E11	1	1,14885E11	37,88	0,0254
AB	9,5968E10	1	9,5968E10	31,64	0,0302
blocks	1,49528E9	1	1,49528E9	0,49	0,5553
Lack-of-fit	5,15848E10	5	1,0317E10	3,40	0,2427
Pure error	6,06638E9	2	3,03319E9		
Total (corr.)	6,06765E11	11			

R-squared = 90,4986 percent

R-squared (adjusted for d.f.) = 86,9356 percent

Standard Error of Est. = 55074,4

Mean absolute error = 57897,5

Durbin-Watson statistic = 2,47396 (P=0,0908)

Lag 1 residual autocorrelation = -0,258431

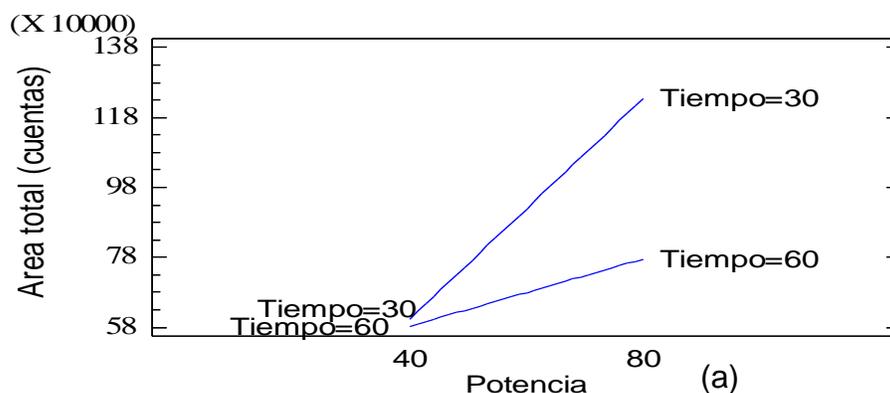
Fuente: esta Investigación

<sup>59</sup> ADAMS R. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation. 2004

6.4.2.2. Efecto de las variaciones en el proceso de extracción sobre el área del perfil cromatográfico del aceite esencial. Al analizar los efectos principales (Figura 27b) potencia y tiempo del nivel inferior al nivel superior, se puede observar que la variable de repuesta área total crece en relación al primer efecto y decrece en relación al segundo, indicando que las mejores condiciones están dadas para una potencia de 80% (680W) y tiempo de 30 minutos; al igual que lo indicado por el diagrama de interacciones (Figura. 27a).

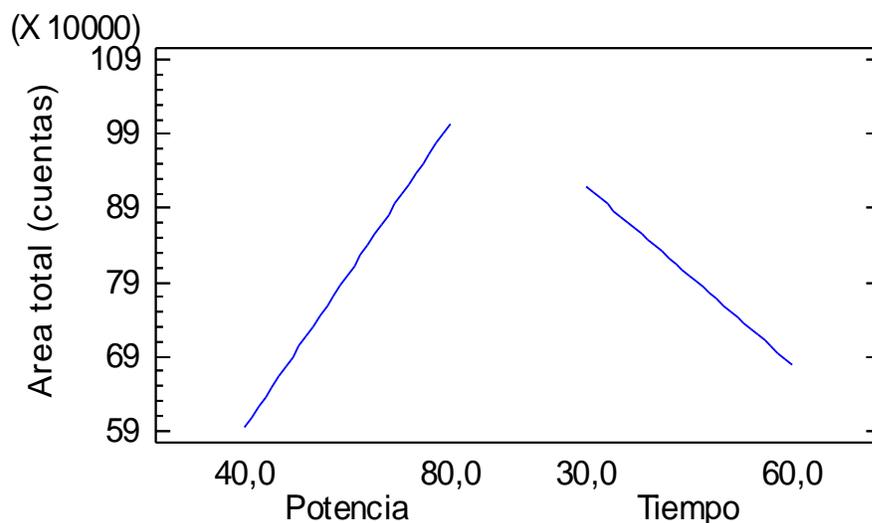
6.4.2.3. Análisis de Resultados para la extracción de aceites esenciales de las dos especies vegetales mediante M.W.H.D. Los resultados anteriores coinciden tanto para *R. officinalis* como para *M. pubescens* al obtener mayores áreas en el aceite esencial a la mayor potencia (680 W) y menor tiempo (30 min). Este resultado se explica debido a la naturaleza electromagnética producida por el horno microondas, “el campo eléctrico tanto como el magnético actúan perpendicularmente causando el calentamiento por dos mecanismos denominados rotación bipolar y conducción iónica los cuales producen colisiones entre las moléculas circundantes que liberan energía térmica”<sup>60</sup>, es decir que al aumentar la potencia del microondas hay un incremento en la velocidad de choque de las moléculas, por lo cual hay mayor liberación de energía térmica en menor tiempo, dicho calentamiento conduce a la expansión y ruptura de la pared celular y es seguido por la liberación de aceites esenciales que son arrastrados por el agua que se evapora, además “el menor tiempo permite que el agua no ejerza su acción hidrolítica sobre los aceites liberados, obteniéndose aceites con mayores concentraciones”<sup>61</sup>.

Figura 27. a) Diagrama de interacción. b) Diagrama de efectos principales para el área del perfil cromatográfico del aceite esencial obtenido por M.W.H.D. de hojas de *M. pubescens*.



<sup>60</sup> LOZADA Juan y ALBAN Viviana. Identificación y cuantificación de metabolitos secundarios volátiles presentes en las hojas de *Schinus Molle* L. Obtenidos por extracción asistida por radiación con microondas. Departamento de química, Universidad de Nariño. Nariño- Colombia.

<sup>61</sup> GARCIA Apráez H; Esencias naturales. Aguilar S.A de ediciones, Madrid – España. 1953. (Muñoz, 2002; Peter, 2004; Teuscher et al., 2005).



b)

Fuente: esta Investigación

## 6.5. COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN.

Del Anexo F hasta el Anexo T se puede observar que la cantidad relativa (en porcentaje de área) de cada compuesto mayoritario de los aceites esenciales no presentó variaciones significativas entre cada uno de los experimentos realizados en las extracciones en laboratorio; sin embargo el área total expresada en cuentas de los perfiles cromatográficos presentó variaciones significativas entre experimentos. Lo anterior permite concluir que los cambios en las variables que intervienen en cada método de extracción permiten obtener aceites esenciales cuya composición es constante en términos de cantidad relativa en porcentaje (porcentaje de área) de sus componentes mayoritarios y varía en relación a la respuesta del detector FID expresada por el área total en cuentas, respuesta que es proporcional a la cantidad de analito en las muestras analizadas para cada experimento.

6.5.1. Comparación del aceite esencial de *R. officinalis* obtenido en laboratorio. Al comparar los tres métodos utilizados en laboratorio para la obtención de aceite esencial de *R. officinalis*, se observa que en todos los casos los compuestos son principalmente monoterpenos cíclicos como  $\alpha$ -pineno y canfeno; monoterpenos acíclicos como el mirceno, cetonas monoterpénicas como el alcanfor, éteres terpénicos como 1,8-cineol; y sesquiterpenos como el *trans*-cariofileno. Teniendo en cuenta las áreas de los perfiles Cromatográficos, se pudo observar que la técnica de extracción M.W.H.D. fue la que produjo mayores áreas, seguido por la técnica de arrastre con vapor, mientras que con la técnica D.E.S. se obtuvieron los aceites con menores áreas. (Ver Cuadros 14 y 15)

Cuadro 14. Comparación de las tres técnicas de extracción en laboratorio para *R. officinalis*, en base en los 9 compuestos mayoritarios (Datos promedio de la mejor condición).

Compuesto	I <sub>k</sub>	Técnica de extracción					
		Arrastre con vapor	Cr (%)	D.E.S.	Cr (%)	M.W.H.D.	Cr (%)
α-Pineno	939	500.061	11,4	415.323	13,91	473.087	5,67
Canfeno	954	371.241	8,5	173.296	5,79	498.443	5,97
β-Pineno	979	242.125	5,9	58.615	1,96	367.317	4,39
Mirceno	991	1.201.528	27,55	143.383	4,82	1.976.375	23,7
1,8-Cineol	1031	304.037	6,97	844.655	28,32	1.399.903	16,77
Alcanfor	1146	719.823	16,5	797.744	26,79	2.169.711	26,02
Borneol	1169	36.636	0,838	85.761	2,88	106.906	1,28
Acetato de Bornilo	1289	135.098	3,1	27.670	0,93	230.521	2,76
<i>trans</i> -Cariofileno	1409	380.655	8,75	7.610	0,26	140.199	1,69

Fuente: esta Investigación

Cuadro 15. Resumen en base a los resultados obtenidos en cada una de la metodologías en laboratorio para *R. officinalis*, datos correspondientes al promedio de la mejor condición obtenida.

Técnica de extracción	Mejores condiciones	No. Ctos	Área total	Área compuesto mayoritario	Compuesto mayoritario	Clasificación Compuesto mayoritario
Arrastre con vapor	Dp= 1 60 min	26	4363764	1201528	Mirceno	Monoterpeno acíclico
D.E.S.	Dp=1 150 min	27	2981382	844655	1,8-Cineol	Éter monoterpénico
M.W.H.D.	Potencia= 680W 30 min	28	8357941	2169711	Alcanfor	Cetona monoterpénica

Fuente: esta Investigación

6.5.2. Comparación del aceite esencial de *R. officinalis* procedente de Gualmatán (N) con otras investigaciones. El estudio comparativo (Cuadro 16) entre los aceites esenciales de *R. officinalis* obtenidos en Nariño, Brasil España, Irán y África; extraídos mediante la técnica de extracción de Arrastre con vapor muestra que el

aceite esencial procedente del municipio de Gualmatán (Nariño) presenta como compuesto mayoritario Mirceno el cual no fue reportado por los otros estudios, indicando que posiblemente posee un Quimiotipo diferente.

Cuadro 16. Comparación del aceite esencial de *R. officinalis* procedente de Gualmatán (N) con otras investigaciones.

Investigaciones	Índice de refracción	Punto de ebullición	Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	Compuestos mayoritarios	Cantidad Relativa
Aceite esencial de las hojas de <i>Rosmarinus officinalis</i> (Nariño-Colombia)	1.477	125.2 °C	0.80	α-Pineno	11,31
				Canfeno	8,18
				β-Pineno	5,63
				Mirceno	26,65
				1,8-Cineol	8,22
				Alcanfor	16,67
				<i>trans</i> -Cariofileno	8,29
Rosmarinus de Brasil <sup>62</sup>	14.697	122°C	0.88	α-Pineno	41,63
				1,8- Cineol	19,35
				Canfeno	4,73
				Verbenona	3,86
Romero español <sup>63</sup>	14.703	No reportado	0.91	α-Pineno	14,4
				Alcanfor	18,1
				1,8-Cineol	19,9
				Canfeno	8,6
				Borneol	5,9
				Acetato de bornilo	6,1
Aceite esencial Romero <sup>64</sup>	No reportado	No reportado	No reportado	Piperitona	23,7
				α-Pineno	14,9
				Linalol	14,9
				1,8-Cineol	7,43
				Alcanfor	4,97
				Borneol	3,68

<sup>62</sup> Atti-Santos A. Physico-chemical Evaluation of *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oil, Brazilian archives of Biology and Technology Vol.48, n. 6 : pp. 1035-1039, November 2005. Brazil

<sup>63</sup> Cerpa M. Hidrodestilación de aceites esenciales: Modelado y Caracterización. Universidad de Valladolid 2007

<sup>64</sup> Latif Gachkar. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. Food Chemistry 102 (2007) 898–904

Investigaciones	Índice de refracción	Punto de ebullición	Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	Compuestos mayoritarios	Cantidad Relativa
Aceite esencial Romero <sup>65</sup>	1,47	No reportado	0,9	α-Pineno	44,05
				Alcanfor	7,82
				Canfeno	6,14
				Limoneno	5,48
				Verbenona	6,37
				β-Pineno	2,61

6.5.3. Comparación del aceite esencial de *M. pubescens* obtenido en laboratorio. Al comparar los 3 métodos utilizados en laboratorio para la obtención de aceite esencial de las hojas de *M. pubescens*, se observó que corresponde a una aceite esencial que se caracteriza por ser menos volátil que el aceite esencial de *R. officinalis* debido a que la mayoría de sus compuestos son de carácter sesquiterpénico, entre ellos se encuentran alcoholes sesquiterpénicos como selin-11-en-4- $\alpha$ -ol, sesquiterpenos bicíclicos como el  $\beta$ -selineno y  $\alpha$ -selineno, y *trans*-cariofileno. Al evaluar las áreas totales en cuentas de los cromatogramas en los experimentos que resultaron tener las mejores condiciones, se observó que el método arrastre con vapor fue el más eficiente puesto que se obtuvieron mayores áreas de los compuestos mayoritarios, seguido de M.H.W.D. y por último D.E.S. (Cuadro 17 y 18).

Cuadro 17. Comparación de los 3 métodos en laboratorio para *M. pubescens*, en base a los 17 compuestos mayoritarios. Datos promedios tomados de la mejor condición.

Compuestos	I <sub>K</sub>	Técnica de Extracción					
		Arrastre con vapor	Cr (%)	D.E.S.	Cr (%)	M.W.H.D.	Cr (%)
Linalol	1097	17.360	0,89	3.896	0,52	14.862	1,17
β-Elemeno	1319	33.437	1,74	18.002	2,43	23.966	1,89
<i>trans</i> -Cariofileno	1409	394.469	20,49	117.074	15,79	246.300	19,48
β-Humuleno	1440	13848	0,823	0	0	0	0
α-Humuleno	1455	11.241	0,58	0	0	0	0
$\gamma$ -Selineno	1479	27.240	1,42	0	0	0	0
β-Selineno	1490	179.610	9,36	71.243	9,611	121.763	9,65
α-Selineno	1498	192.833	10,08	68.953	9,3	116.296	9,2
$\gamma$ -Cadineno	1514	21.745	1,14	27.038	3,64	10.364	0,82

<sup>65</sup> Bousbia N. Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity. Food Chemistry 114 (2009) 355–362.

Compuestos	I <sub>k</sub>	Técnica de Extracción					
		Arrastre con vapor	Cr (%)	D.E.S.	Cr (%)	M.W.H.D.	Cr (%)
Zonareno	0	0	0	0	0	35.817	2,81
Selino-3,7(11)-dieno	1547	59.894	3,13	32.101	4,33	39.282	3,09
Oxido de cariofileno	1583	97.480	5,12	37.113	4,98	37.902	3
β-Elementona	1590	45.827	2,42	27.292	3,66	10.560	0,83
Epoxido de Humuleno II	1608	14.236	0,668	0	0	0	0
Kongol	1660	0	0	16.259	2,174	0	0
Germacrona	1694	0	0	19.609	2,62	54.275	4,27

Fuente: esta Investigación

Cuadro 18. Comparación de los métodos en laboratorio para *M. pubescens* a partir de los datos promedio de la mejor condición.

Metodología	Mejores condiciones	No. Ctos	Área total	Área compuesto mayoritario	Compuesto o mayoritario	Clasificación Compuesto mayoritario
Arrastre con vapor	Dp =1 180 min	25	1756572	394470	<i>trans</i> -Cariofileno	Sesquiterpeno bicíclico
D.E.S.	Dp=1 150 min	24	742710	117074	<i>trans</i> -Cariofileno	Sesquiterpeno bicíclico
M.W.H.D	Potencia 680W 30 min	18	1269571	246300	<i>trans</i> -Cariofileno	Sesquiterpeno bicíclico

Fuente: esta Investigación

6.5.4. Comparación del aceite esencial de *M. pubescens* procedente de San Pablo (N) con otras investigaciones. Actualmente solo se ha reportado un estudio acerca del aceite esencial de *M. pubescens*, cuyos autores pertenecen a la Universidad de los Andes en él se puede observar que el compuesto mayoritario corresponde a 1,8-cineol (20%) (Cuadro 19) a diferencia de esta investigación la cual reporta como compuesto mayoritario *trans*-cariofileno; además existen 6 compuestos que coinciden en las dos investigaciones. Los anteriores estudios hacen referencia a la técnica de extracción D.E.S. (Cuadro 19).

Cuadro 19. Comparación de los compuestos mayoritarios presente en el aceite esencial de *M. pubescens* procedente de San Pablo (N) con otras investigaciones.

Universidad de Nariño		Universidad de los Andes	
Compuestos mayoritarios	Cantidad relativa	Compuestos mayoritarios	Cantidad relativa
<i>trans</i> -Cariofileno	20,62	1,8 Cineol	20
$\alpha$ -Selineno	12,1	Linalol	16,4
$\beta$ -Selineno	11,99	Acetato de $\alpha$ -terpinilo	11,1
Oxido de cariofileno	4,44	<i>trans</i> -cariofileno	9
Selino-3,7(11)-dieno	3,32	$\beta$ -pineno	6,1
$\gamma$ -Cadineno	2,67	$\alpha$ -terpineol	4,9
Germacrona	2,67	Acetato de E-cinamilo	4,2
$\beta$ -Elemeno	2,37	$\alpha$ -Pineno	2,9
<i>cis</i> -Calameneno	1,73	Metil eugenol	2,9
$\beta$ -Elemenona	1,48	Eugenol	2
Kongol	0,88	Terpinen-4-ol	1,6
Linalol	0,34	Sabineno	1,5

## 6.6. EXTRACCIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR EN PLANTA PILOTO

Para estudiar el proceso de extracción de los aceites esenciales en planta piloto e identificar la influencia de los factores presión y tiempo, sobre las variables de respuesta: rendimiento (%p/p) y el área total del cromatograma en cuentas, se aplicó un diseño factorial de experimentos utilizando la metodología de superficie de respuesta como se describió en la sección 5.3.1 Para la realización de estos experimentos se utilizó un solo tamaño de partícula cuyo diámetro promedio es de aproximadamente 0.45 mm y una densidad de lecho constante de 0.29 g/cm<sup>3</sup> para *R. officinalis* y de 0.47 g/cm<sup>3</sup> para *M. pubescens*.

6.6.1 Extracción por arrastre con vapor en planta piloto para la obtención de aceite esencial a partir de hojas de *R. officinalis*. Los resultados para el diseño experimental en la extracción por arrastre con vapor en planta piloto se muestran en los Anexos U y V, los valores de r-cuadrado dados por los análisis de varianza para las variables de respuesta estudiadas confirman la validez estadística del diseño experimental como se observa en las Tablas 7 y 8. El análisis de varianza (Tabla 7) muestra que tanto la presión como el cuadrado de ésta tuvieron efectos estadísticamente significativos sobre el área total del cromatograma en cuentas de *R. officinalis*, mientras que para la variable de respuesta rendimiento los factores que mostraron efectos significativos fueron: la presión, el tiempo, la interacción presión-tiempo y el efecto cuadrático de la presión (Tabla 8).

- Punto óptimo en la extracción de aceite esencial de las hojas de *R. officinalis* en base al área del perfil cromatográfico y el porcentaje de rendimiento. Se consideraron las dos variables de respuesta en las extracciones del aceite esencial de las hojas de *R. officinalis* para construir una metodología de superficie de respuesta (MSR) apropiada para cada una de las mismas y después se encontró un conjunto de condiciones que optimizó las respuestas dentro de los rangos estudiados, la optimización simultánea se construyó a partir de un modelo de regresión jerárquico para cada una de las respuestas partiendo del mejor ANOVA (Tablas 7 y 8), generando de esta forma un óptimo global como se muestra en la Tabla 9. Este resultado se confirma observando la gráfica de superposición de contorno tanto para el área total del cromatograma como para porcentaje de rendimiento (Figura 28) en la que se observó que existen varias combinaciones de presión y tiempo que resultan en un proceso satisfactorio, y en donde la respuesta máxima está dada fuera del área experimental.

Las condiciones óptimas dadas por el modelo estadístico para la obtención de aceite esencial de *R. officinalis* mediante la técnica de arrastre con vapor en planta piloto son: una presión manométrica 0.58 psi y un tiempo de operación 90 minutos (Tabla 9).

Tabla 7. Análisis de varianza del área en cuentas del perfil cromatográfico para la extracción de aceite esencial de *R. officinalis* en planta piloto.

Analysis of Variance for cuentas					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
A:Presion	8,49676E12	1	8,49676E12	14,74	0,0312
B:tiempo	9,53374E11	1	9,53374E11	1,65	0,2887
AA	5,5245E13	1	5,5245E13	95,84	0,0023
AB	3,43525E11	1	3,43525E11	0,60	0,4964
BB	5,02826E12	1	5,02826E12	8,72	0,0599
Lack-of-fit	6,99884E12	3	2,33295E12	4,05	0,1405
Pure error	1,72934E12	3	5,76445E11		
Total (corr.)	7,43618E13	11			

R-squared = 88,2625 percent  
 R-squared (adjusted for d.f.) = 78,4813 percent  
 Standard Error of Est. = 759240,0  
 Mean absolute error = 724791,0  
 Durbin-Watson statistic = 1,65866 (P=0,3210)

Fuente: esta Investigación

Tabla 8. Análisis de varianza del porcentaje de rendimiento del aceite esencial de las hojas *R. officinalis* extraído en planta piloto.

Analysis of Variance for %

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
A:Presion	0,887246	1	0,887246	102,87	0,0020
B:tiempo	0,113671	1	0,113671	13,18	0,0360
AA	0,287812	1	0,287812	33,37	0,0103
AB	0,16769	1	0,16769	19,44	0,0216
BB	0,0782337	1	0,0782337	9,07	0,0571
Lack-of-fit	0,140713	3	0,0469044	5,44	0,0989
Pure error	0,025875	3	0,008625		
Total (corr.)	1,65397	11			

R-squared = 89,928 percent

R-squared (adjusted for d.f.) = 81,5346 percent

Standard Error of Est. = 0,0928709

Mean absolute error = 0,0931844

Durbin-Watson statistic = 1,28764 (P=0,1217)

Fuente: esta Investigación

Tabla 9. Óptimo Global a partir de las variables de respuesta área total en cuentas del perfil cromatográfico y porcentaje de rendimiento en extracción por arrastre con vapor en planta piloto de *R. officinalis*.

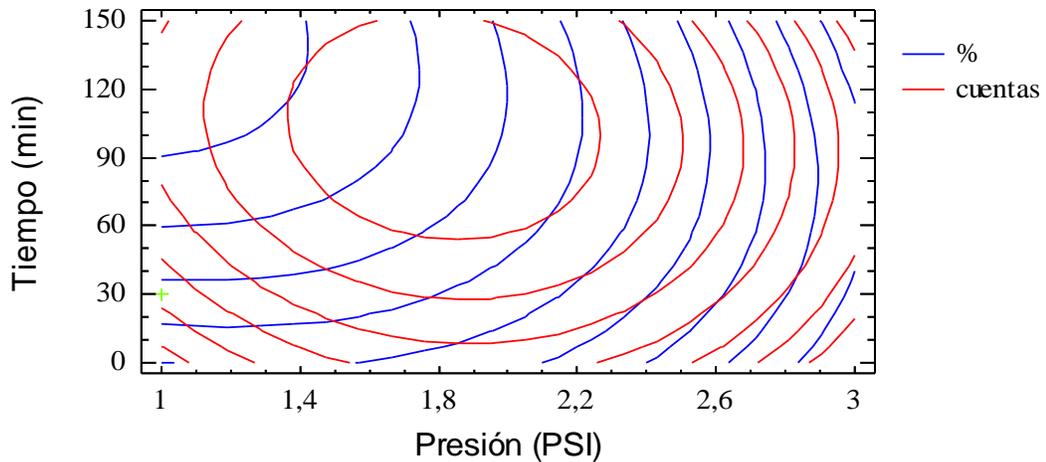
Optimize Desirability

-----  
 Optimum value = 1,0

Factor	Low	High	Optimum
Presion	0,585786	3,41421	0,585786
tiempo	5,14719	174,853	90,0
Response	Optimum		
cuentas	5,94692E6		
%	1,10434		

Fuente: esta Investigación

Figura 28. Gráfica de contorno para la extracción por arrastre con vapor en planta piloto de aceite de las hojas de *R. officinalis*.



Fuente: esta Investigación

6.6.2 Extracción por arrastre con vapor en planta piloto del aceite esencial de las hojas de *M. pubescens*. Los resultados para el diseño experimental en la extracción por arrastre con vapor en planta piloto se muestran en los anexos W, X, Y, Z los valores de r-cuadrado dados por los análisis de varianza para las variables de respuesta estudiadas confirman la validez estadística del diseño experimental como se observa en las Tablas 10 y 11.

La Tabla 10 muestra el ANOVA obtenido para evaluar el área total dada por el cromatograma a partir del aceite esencial de hojas de *M. pubescens* para el cual la variable significativa es la presión, el efecto cuadrático de la presión y el efecto cuadrático del tiempo, la Tabla 11 muestra el ANOVA obtenido para evaluar el porcentaje de rendimiento a partir del aceite obtenido de hojas de esta misma especie vegetal, muestra como variables significativas la presión, el efecto cuadrático de la presión y el efecto cuadrático del tiempo.

En la superposición de la gráfica de contorno (Figura 29) se puede observar que existen varias combinaciones de presión y tiempo que producen un proceso satisfactorio, obteniéndose la mejor respuesta dentro del área experimental; se encontró que el punto óptimo está dado por una presión manométrica 2 psi y tiempo de operación 90 minutos (Tabla 12).

Tabla 10. Análisis de varianza del área total en cuentas del perfil cromatográfico para la extracción por arrastre con vapor del aceite esencial de las hojas de *M. pubescens*

Analysis of Variance for cuentas

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
A:presión	1,83837E13	1	1,83837E13	109,20	0,0019
B:tiempo	1,166E11	1	1,166E11	0,69	0,4663
AA	4,33949E12	1	4,33949E12	25,78	0,0148
AB	5,55389E11	1	5,55389E11	3,30	0,1669
BB	3,24554E12	1	3,24554E12	19,28	0,0219
Lack-of-fit	1,9753E12	3	6,58435E11	3,91	0,1461
Pure error	5,05062E11	3	1,68354E11		
Total (corr.)	2,78734E13	11			

R-squared = 91,1013 percent  
R-squared (adjusted for d.f.) = 83,6857 percent  
Standard Error of Est. = 410310,0  
Mean absolute error = 392529,0  
Durbin-Watson statistic = 1,50821 (P=0,1774)

Fuente: esta Investigación

Tabla 11. Análisis de varianza para la variable de respuesta porcentaje de rendimiento, en la extracción por arrastre con vapor del aceite esencial de las hojas de *M. pubescens*

Analysis of Variance for %

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
A:presión	0,00561013	1	0,00561013	92,69	0,0024
B:tiempo	0,0000877555	1	0,0000877555	1,45	0,3149
AA	0,00000810091	1	0,00000810091	0,13	0,7388
AB	0,001225	1	0,001225	20,24	0,0205
BB	0,00000809976	1	0,00000809976	0,13	0,7388
Lack-of-fit	0,00247817	3	0,000826058	13,65	0,0297
Pure error	0,00018158	3	0,0000605267		
Total (corr.)	0,00959614	11			

R-squared = 72,2831 percent  
R-squared (adjusted for d.f.) = 49,1857 percent  
Standard Error of Est. = 0,00777989  
Mean absolute error = 0,0111968  
Durbin-Watson statistic = 1,58185 (P=0,2180)  
Lag 1 residual autocorrelation = 0,163781

Fuente: esta Investigación

Tabla 12. Óptimo Global a partir de las variables de respuesta área total en cuentas del perfil cromatográfico y porcentaje de rendimiento en la extracción por arrastre con vapor en planta piloto de *M. pubescens*.

Optimize Desirability  
-----

Optimum value = 1,0

Factor	Low	High	Optimum
presión	0,585786	3,41421	2,0
tiempo	5,14719	174,853	90,0

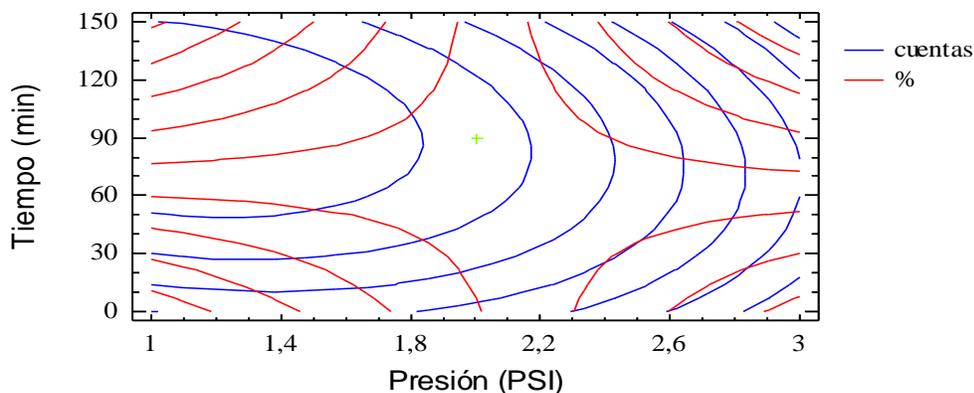
  

Response	Optimum
cuentas	4,27445E6
%	0,1747

-----

Fuente: esta Investigación

Figura 29. Gráfica de contorno para extracción por arrastre con vapor en planta piloto de aceite esencial de las hojas de *M. pubescens*.



Fuente: esta Investigación

### 6.7. COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LABORATORIO Y PLANTA PILOTO.

Al comparar los resultados obtenidos en la mejor condición obtenida en laboratorio en la extracción por arrastre con vapor y el punto óptimo encontrado en planta piloto para el aceite esencial de las hojas de *R. officinalis* y *M. pubescens*, se puede observar que bajo las condiciones trabajadas en planta piloto las áreas del perfil cromatográfico se incrementan en relación a las áreas obtenidas en

laboratorio. También se puede observar que en las dos especies vegetales los compuestos mayoritarios en las dos extracciones son los mismos (Cuadros 20 y 21).

Cuadro 20. Comparación de la cantidad relativa en porcentaje de los compuestos mayoritarios presentes en el aceite esencial de *M. pubescens* extraído en laboratorio (mejor condición) y planta piloto (promedio punto óptimo)

Compuestos	I <sub>k</sub>	Laboratorio	Cr (%)	Planta Piloto	Cr (%)
Linalol	1097	17.360	0,89	16.308	0,09
α-Cubebeno	1351	0	0	4.146	0,09
α-Copaeno	1377	0	0	6.083	0,14
β-Elemeno	1391	33.437	1,74	56.364	1,35
cis-Cariofileno	1419	0	0	5.270	0,14
trans-Cariofileno	1409	394.469	20,49	559.505	13,42
β-Humuleno	1440	13.848	0,823	0	0
α-Humuleno	1455	11.241	0,58	18.133	0,43
γ-Selineno	1479	27.240	1,42	0	0
β-Selineno	1490	179.610	9,36	293.843	7,28
α-Selineno	1498	192.833	10,08	299.407	7,41
γ-Cadineno	1514	21.745	1,14	33.507	0,84
cis-Calameneno	1530	29.691	1,55	56.180	1,4
Zonareno	1540	0	0	23.819	0,56
Selino-3,7(11)-dieno	1547	59.894	3,13	122.478	3,07
Oxido de cariofileno	1583	97.480	5,12	169.084	4,31
β-Elemenona	1590	45.827	2,42	66.397	1,73
Epoxido de Humuleno II	1608	14.236	0,67	48.155	1,38
Kongol	1660	0	0	43.944	1,03
Germacrona	1694	0	0	235.889	6,25

Fuente: esta Investigación

Cuadro 21. Comparación de la cantidad relativa de los compuestos mayoritarios presentes en el aceite esencial de *R. officinalis* extraído en laboratorio y planta piloto (ensayos en los que se obtuvieron las mayores áreas del cromatograma).

Compuesto	I <sub>k</sub>	Laboratorio	Cr (%)	Planta piloto	Cr (%)
α-Pineno	939	500.061	11.4	605.488	9.0
Canfeno	954	371.241	8.5	563.440	8.4
β-Pineno	979	242.125	5.9	413.759	6.17
1,8-Cineol	1031	304.037	6.97	406.808	6.1

Compuesto	I <sub>K</sub>	Laboratorio	Cr (%)	Planta piloto	Cr (%)
Alcanfor	1146	719.823	16.5	897.536	13.4
Borneol	1169	36.636	0.84	32.815	0.49
Acetato de Bornilo	1289	135.098	3.1	202.561	3.02
<i>trans</i> -Cariofileno	1409	380.655	8.75	573.169	8.6

Fuente: esta Investigación

Los resultados obtenidos en el proceso de optimización en planta piloto para ambas especies coinciden en cuanto a tiempo de extracción (90 minutos), pero difieren en el nivel de la variable presión (0.58 psi para *R. officinalis* y 2,0 psi para *M. pubescens*), este resultado se puede explicar por las diferencias existentes en la morfología y fisiología de las hojas de ambas plantas. Las estructuras principales de la hoja son la epidermis, la cutícula y el mesófilo (Figura 30); “la epidermis es la envoltura de una sola capa de células que regula el movimiento del agua y gases a través de la superficie de la hoja; la cutícula se encuentra sobre la epidermis, en forma de una delgada capa de cera secretada por la misma epidermis, que ayuda a proteger a la planta de la deshidratación y de los agentes patógenos”<sup>66</sup>, en ella se encuentran los tricomas glandulares que contienen el aceite esencial (Figura 31 a y b), la parte media de la hoja o mesófilo es el sistema fundamental de la misma.

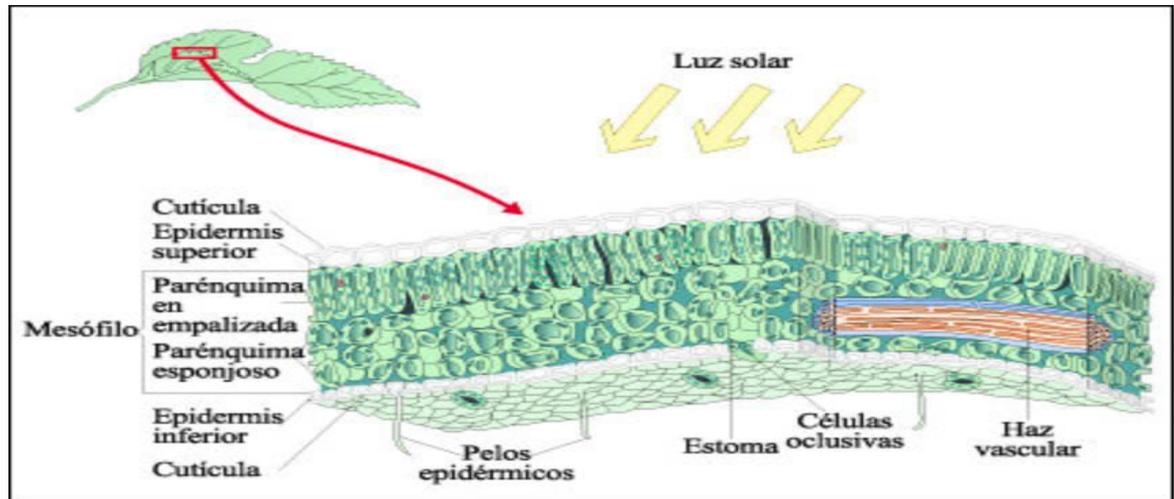
Según estudios botánicos citados por Mauricio Cerpa<sup>67</sup> en su tesis doctoral muestra que existen tres fenómenos controlantes del proceso en la extracción de aceite por arrastre con vapor, al entrar en contacto la hoja con el medio externo (en este caso vapor de agua): el primero una vaporización instantánea del aceite esencial, en la interfase de la película formada en la superficie del material vegetal y del vapor circundante. El segundo la difusión del aceite vaporizado a la corriente del vapor circundante, debido a la convección que ejerce el vapor en el lecho, y el tercero una exudación (o excreción), desde el interior de los tricomas glandulares, a través de su cutícula a la película superficial del material vegetal (Figura. 31c, 31d). Según lo anterior al darse la vaporización instantánea la epidermis ejerce resistencia al vapor en su capa limítrofe ( $r_a$ ) (Figura 30 b), esta resistencia varía de acuerdo al grosor de la misma y depende del tamaño de la hoja y la velocidad del viento a la que ha sido expuesta durante su crecimiento. Las hojas pequeñas como el *R. officinalis* que son plantas nativas de clima frío tienen capas limítrofes delgadas, dado el mayor intercambio conectivo entre la superficie de la hoja y el aire libre que la rodea, en tanto el *M. pubescens* que se origina climas templados presenta mayor resistencia a la difusión por tener una capa limítrofe gruesas. Es

<sup>66</sup> LIRA S. Ricardo. Fisiología vegetal, editorial Trilla, México D.C 1994.

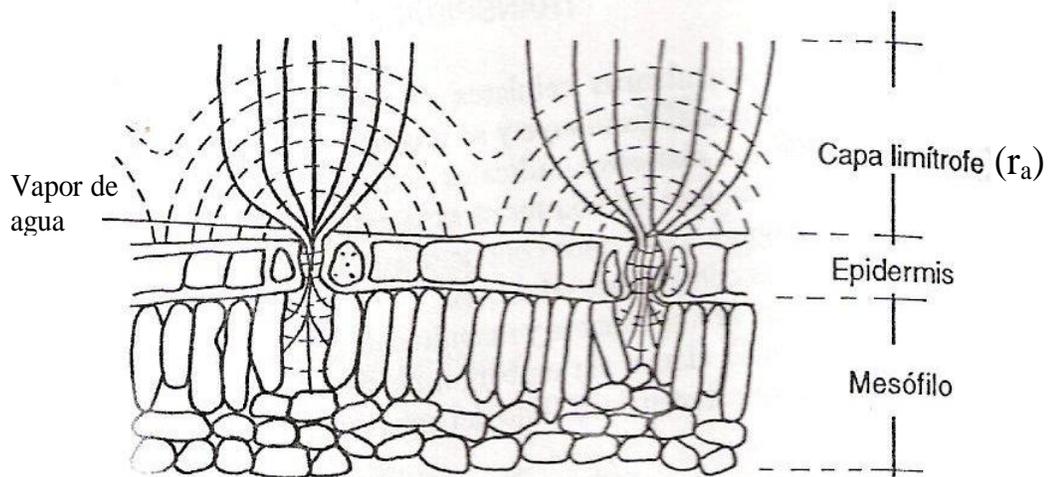
<sup>67</sup> CERPA Manuel, Hidrodestilación de aceites esenciales, modelado y caracterización. Departamento de química y tecnología del medio ambiente, marzo de 2007, universidad de Valladolid- España.

por esta razón que las presiones manométricas de vapor ejercidas para *M. pubescens* son mayores que las del *R. officinalis* ya que la resistencia de la capa limítrofe ( $r_a$ ) se considera parte de la resistencia total de la hoja y está influenciada por características morfológicas de la misma.

Figura 30 a) Componentes principales de una hoja dicotiledónea.  
b) Resistencia de la hoja a la difusión de vapor de agua



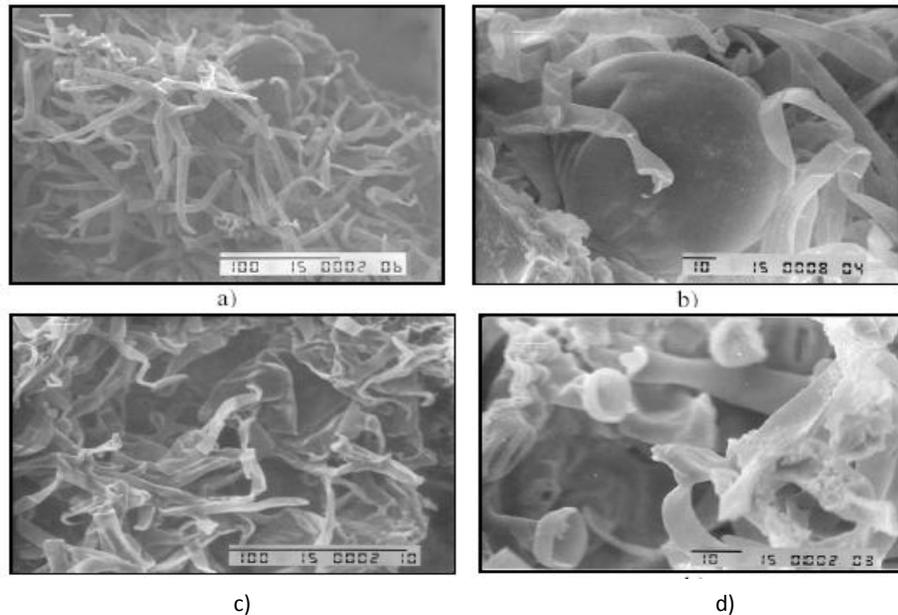
a)



b)

Fuente: LIRA 1994

Figura 31. Imágenes por microscopía electrónica de barrido de la superficie de la hoja, a) Superficie de la hoja antes de un proceso de extracción, con 350x y una escala de 30  $\mu\text{m}$ ; b) Tricomas glandulares con 1000x y una escala de 10  $\mu\text{m}$ ; c) Superficie de la hoja procesada, con 200x y una escala de 5  $\mu\text{m}$ ; d) Tricomas glandulares implosionados, con 350x y una escala de 30  $\mu\text{m}$ .

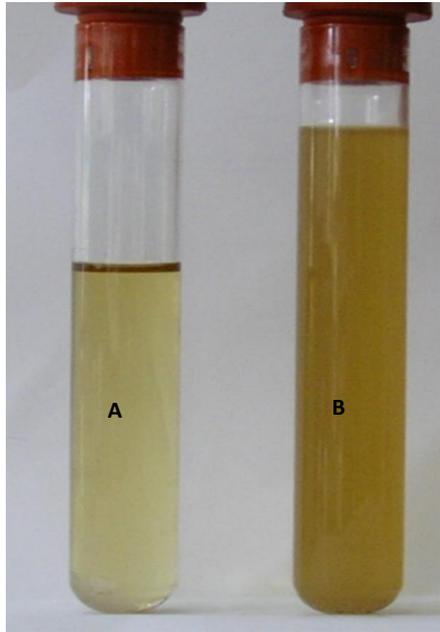


Fuente: CERPA, 2007

En las Figuras 32 y 33 se puede observar que la presión no solamente influye sobre el rendimiento y el área del perfil cromatográfico de los aceites obtenidos, sino también sobre sus propiedades físicas y organolépticas independiente del material vegetal en estudio, es así como presiones manométricas de 3 psi y superiores a esta producen aceites de colores oscuros, aparentemente más densos y con olor herbáceo o leñosos, en tanto presiones manométricas inferiores a estas producen aceites menos densos, de color más claro y con olores más frescos y agradables, indicando que estas presiones posiblemente evitan la hidrólisis de algunos compuestos volátiles, el arrastre de sustancias indeseables como pigmentos (carotenos, xantofilas, clorofilas), hidrocarburos terpénicos o impurezas metálicas procedentes del equipo o del agua empleada, factores que por lo general bajan la calidad de las esencias y dificultan su purificación como lo indica García<sup>68</sup> en su libro esencias naturales.

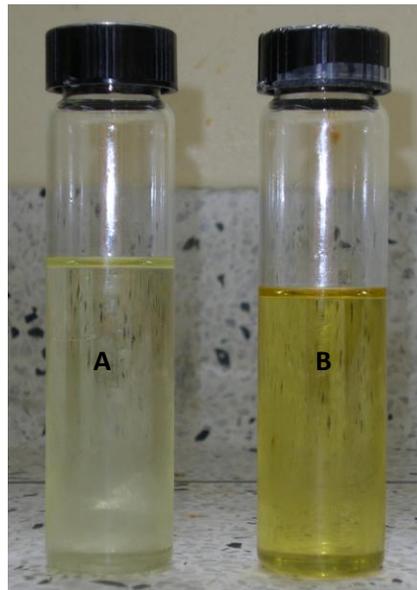
<sup>68</sup>GARCIA Apráez H; Esencias naturales. Aguilar S.A de ediciones, Madrid – España. 1953. (Muñoz, 2002; Peter, 2004; Teuscher et al., 2005). p. 83.

Figura 32. Aceite de *M. pubescens* a) Extraído con una presión inferior a 3 PSI, b) Extraído con un una presión superior a 3 PSI.



Fuente: esta Investigación

Figura 33. Aceite de *R. officinalis* a) Extraído con una presión inferior a 3 PSI, b) extraído con un una presión superior a 3 PSI.



Fuente: esta Investigación

## 6.8. BALANCES DE MATERIA Y ENERGÍA PARA EL PROCESO EN CONDICIONES ÓPTIMAS

Los balances que se presentan a continuación se realizaron en base a la formulación especificada en la metodología.

6.8.1 Balance de materia y energía para el aceite esencial de las hojas de (*R. officinalis*). Para los siguientes análisis se toma como bases de cálculo 2.5 Kg de material vegetal y un tiempo de operación de 90 minutos, igualmente se tienen en cuenta los datos contenidos en los Cuadros 22 y 23

6.8.1.1 Balance de materia. Este balance es necesario para encontrar la masa de vapor utilizada y la cantidad (en porcentaje peso/peso) de aceite esencial en el material vegetal a la salida del proceso.

Cuadro 22. Datos tomados en planta piloto para extracción de AE de *R. officinalis*

Datos	Entra		Sale	
	F	P	D	B
Masa (Kg)	2.5	-	13.35	3.75
T°	18.5°C	-	25°C	72°C
Porcentaje de aceite	2	0	1.33	-
Porcentaje de humedad	4.69%	-	-	50%

Fuente: esta Investigación

Para encontrar la masa de vapor (aproximada) que entra se despeja la Ecuación (5)

$$2.5 \text{ Kg de } R. \text{ officinalis} + M_p = 13.35 \text{ Kg de condensados} + 3.75 \text{ Kg de } R. \text{ officinalis}$$

$$M_p = 13.35 \text{ Kg de condensados} + 3.75 \text{ Kg de } R. \text{ officinalis} - 2.5 \text{ Kg de } R. \text{ officinalis}$$

$$M_p = 14.65 \text{ Kg de vapor que entra.}$$

6.8.1.2 Calor perdido por tuberías y accesorios: Para calcular este calor se realizó un balance de energía global (Ecuación 6), los datos de entalpías y temperaturas necesarias para el desarrollo del balance se tomaron del apéndice A del libro de Incropera and De Witt<sup>69</sup>.

<sup>69</sup> INCROPERA, Frank P., DE WITT David P. Fundamentals of heat and mass transfer. Ata, Ed, Ed. John Wiley and Sons, tnc.1996. p. 827-886.

Cuadro 23. Datos tomados en planta piloto, para el intercambiador en la extracción de AE de *R. officinalis*.

Sustancia	Temperaturas tomadas	
	Entrada	Salida
Vapor (aceite + agua)	-	25°C
Agua de enfriamiento	18.2°C	-

Fuente: esta Investigación

Datos a tener en cuenta:

- Se utilizó una temperatura de referencia para encontrar las entalpías  $T_0 = 0$

- El  $C_p$  de la materia prima a la entrada y salida del proceso se calcula con base en la Ecuación (9)

$C_p$  *R. officinalis* entrada:  $1.675 + 0.0025 (4.69\%) = 1.687 \text{ KJ/Kg}^\circ\text{C}$

$C_p$  *R. officinalis* salida:  $1.675 + 0.0025 (50\%) = 1.8 \text{ KJ/Kg}^\circ\text{C}$

- Presión total = presión manométrica + presión atmosférica.

$P_T = 0.6 \text{ PSI} + 10.8 \text{ PSI} = 11.4 \text{ PSI}$

Interpolando se tiene una temperatura de vapor (agua –aceite):

$T(^{\circ}\text{F}) = 198.8$  ó  $T(^{\circ}\text{C}) = 92.7$

• Calor necesario para elevar la temperatura en materia prima de entrada  $Q_F$  según ecuación (7).

$Q_F = 2.5 \text{ kg} (1.687 \text{ KJ/Kg}^\circ\text{C}) (18.5^{\circ}\text{C} - 0)$

$Q_F = 78.01 \text{ KJ} \times 0.948 \text{ BTU/KJ} = 73.955 \text{ BTU}$

• Calor contenido por el vapor directo  $Q_p$  según Ecuación (10).

$m_p = 14.65 \text{ Kg} = 25.30 \text{ Lb}$

$H_p = 1145.37 \text{ BTU/Lb}$  para un presión total del 11.4 PSI

$Q_p = 25.30 \text{ Lb} \times 1145.37 \text{ BTU/Lb} = 28977.84 \text{ BTU}$

• Calor necesario para elevar la temperatura en la materia prima a la salida del proceso según Ecuación (8).

$Q_B = m_F C_p$  *R. officinalis* salida  $(T_f - T_0)$

$Q_B = 2.5 \text{ Kg} \times 1.8 \text{ KJ/Kg}^\circ\text{C} (72^{\circ}\text{C} - 0)$

$Q_B = 324 \text{ KJ} \times 0.948 \text{ BTU/KJ} = 307.15 \text{ BTU}$

Balance de energía para el Intercambiador:

Teniendo en cuenta la Ecuación (11), se aplican las Ecuaciones (12), (13), (14) y (15) se puede deducir  $Q_i$ ,  $Q_c$ ,  $Q_D$  así:

- Calor contenido por el agua de enfriamiento  $Q_i$  Ecuación (12)

$$Q_i = 4320 \text{ Lb} \times 32.49 \text{ BTU/lb} = 140356.8 \text{ BTU}$$

$$\text{Caudal de agua de enfriamiento} = 0.4 \text{ Kg /s}$$

$$\text{Tiempo de operación : 90 minutos} = 5400 \text{ s}$$

$$M_1 = 0.4 \text{ Kg/s} \times 5400 \text{ s} = 2160 \text{ Kg} = 4320 \text{ Lb}$$

$$T_{\text{agua de enfriamiento entrada}} = 18^\circ\text{C} = 64.4^\circ\text{F}$$

Entalpía para el agua de enfriamiento según la anterior temperatura:

$$H_D = 32.49 \text{ BTU/Lb}$$

- Calor contenido por el vapor (agua+aceite). Ecuación (13)

$$Q_{\text{vapor (agua+aceite)}} = 26.7 \text{ Lb} \times 1145.44 \text{ BTU/Lb} = 30583.45 \text{ BTU}$$

$$M_3 = 13.35 \text{ Kg} = 26.7 \text{ Lb}$$

$$T_{\text{vapor (agua+aceite)}} = 198.79^\circ\text{F}$$

Entalpía para el agua de enfriamiento según la anterior temperatura:

$$H_3 = 1145.44 \text{ BTU/Lb}$$

- Calor contenido en los condensados (aceite + agua) Ecuación (14)

$$Q_D = 26.7 \text{ Lb} \times 52.28 \text{ BTU/Lb} = 1395.87 \text{ BTU}$$

$$M_4 = 13.35 \text{ Kg} = 26.7 \text{ Lb}$$

$$T_{\text{condensados}} = 29^\circ\text{C} = 84.2^\circ\text{F}$$

Entalpía para los condensados según la anterior temperatura:

$$H_D = 52.28 \text{ BTU/Lb} \quad T_{\text{condensados}} = 29^\circ\text{C} = 84.2^\circ\text{F}$$

- Calor adquirido por el agua de enfriamiento  $Q_c$

Despejando la Ecuación (15) se tiene:

$$M_2 H_2 = 140356.8 \text{ BTU} + 30583.45 \text{ BTU} - 1395.87 \text{ BTU}$$

$$M_2 H_2 = Q_c = 172335.93 \text{ BTU}$$

Temperatura de salida del agua enfriamiento.

$$Q_c = M_2 H_2$$

$$H_2 = 169544.38 \text{ BTU} / 4320 \text{ Lb} = 39.24 \text{ BTU/Lb}$$

Interpolando se tiene la temperatura del agua de enfriamiento:

$$T_2 = 71.8^\circ\text{F} = 22.11^\circ\text{C}$$

A partir de la Ecuación (16) se encontró el calor perdido por tuberías y accesorios o fugas en todo el sistema.

$$Q_{\text{perdido}} = 73.955 \text{ BTU} + 28977.84 \text{ BTU} + 140356.8 \text{ BTU} - (1395.87 \text{ BTU} + 307.2 \text{ BTU} + 169544.38 \text{ BTU})$$

$$Q_{\text{perdido}} = 2012.16 \text{ BTU}$$

6.8.1.3 Calor necesario para el proceso y consumo de combustible. Para la obtención de este calor se realizó un balance más específico en este caso el hidroddestilador, teniendo en cuenta una base de cálculo de 90 min y 2.5 Kg de *R. officinalis*

a. A partir de la Ecuación (17) se encontró la energía para el calentamiento de la planta aromática  $Q_1$

$$Q_1 = 2.5 \text{Kg} (1.7435 \text{KJ} / \text{Kg}^\circ \text{C}) (72^\circ \text{C} - 18.5^\circ \text{C})$$

$$Q_1 = 233.19 \text{KJ} = 221.16 \text{BTU}$$

b. Energía para el calentamiento del hidroddestilador, para encontrar  $Q_2$  es necesario tener en cuenta los siguientes datos.

Espesor de los cilindros respectivamente = 0.24 cm

Espesor del aislante térmico (fibra de vidrio) = 4 cm

Radio interno  $R_1 = 60.8$  cm

Radio externo  $R_2 = 6.48$  cm

Altura del hidroddestilador = 64 cm

Volumen del cilindro interno =  $V_{Ci}$

Volumen del cilindro externo =  $V_{Ce}$

Masa correspondiente a los cilindros

$$M_{ci} = V_{Ci} \times \rho_{ac}$$

$$M_{ci} = [(\Pi(0.3052\text{m})^2 0.64\text{m}) - (\Pi(0.304\text{m})^2 0.64\text{m})] \times 7900 \text{Kg} / \text{m}^3$$

$$M_{ci} = 11.9 \text{Kg}$$

$$M_{ce} = V_{Ce} \times \rho_{ac}$$

$$M_{ce} = [(\Pi(0.3252\text{m})^2 0.64\text{m}) - (\Pi(0.324\text{m})^2 0.64\text{m})] \times 7900 \text{kg} / \text{m}^3$$

$$M_{ce} = 12.9 \text{kg}$$

Masa correspondiente a las tapas: Suponiendo que la masa tapa superior  $M_{ts}$  = masa tapa inferior  $M_{ti}$  entonces se tiene:

$$M_{ts} = V_{ci} \times \rho_{ac}$$

$$M_{ts} = [(\Pi(0.324\text{m})^2 0.0024\text{m})] \times 7900 \text{kg} / \text{m}^3$$

$$M_{ts} = 6.2 \text{kg}$$

Masa correspondiente al aislante térmico (fibra de vidrio)  $M_{fv}$

$$M_{fv} = v_{fv} \times \rho_{fv}$$

$$M_{fv} = [(\Pi(0.324\text{m})^2 0.64\text{m}) - (\Pi(0.304\text{m})^2 0.64\text{m})] \times 32 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$$

$$M_{fv} = 0.99\text{kg}$$

Con los anteriores datos según la Ecuación (19) se tiene:

$$M^{\text{hd}} = 11.9\text{kg} + 12.9\text{kg} + 6.2\text{kg} + 6.2\text{kg} + 0.99\text{kg}$$

$$M^{\text{hd}} = 38.2\text{kg}$$

Ahora se puede inferir los porcentajes tanto de acero inoxidable como de fibra contenido en el hidroddestilador aplicando la Ecuación (20), entonces  $C_p^{\text{hd}}$  total es igual a:

$$c_p^{\text{hd}} = (0.974) 0.477 \frac{\text{Kj}}{\text{kg} \times \text{K}} + (0.026) 0.835 \frac{\text{Kj}}{\text{kg} \times \text{K}}$$

$$c_p^{\text{hd}} = 0.48 \frac{\text{Kj}}{\text{kg} \times \text{K}}$$

Entonces la energía para calentamiento del hidroddestilador según la Ecuación (18) es igual a:

$$Q_2 = 38.2\text{kg} \left( 0.48 \frac{\text{Kj}}{\text{kg} \times \text{K}} \right) (40\text{K})$$

$$Q_2 = 733.44\text{Kj} = 695.3\text{BTU}$$

c. Energía para vaporizar el aceite esencial, considerado como un líquido en la película superficial ( $Q_3$ ), Ecuación (21) en este caso se considerara despreciable puesto que la producción de aceite esencial es insignificante con respecto al vapor de agua utilizado en el proceso.

$$Q_3 = M^{\text{eo}} \Delta H_{\text{vap}}^{\text{eo}} (T) = \text{se consideran nulo o despreciable}$$

d. Para encontrar el flujo de calor debido a la convección natural mediante la Ecuación (22) se tuvieron en cuenta las propiedades del aire como flujo laminar, con una velocidad de  $0.5 \text{ m sg}^{-1}$  y suponiendo que la temperatura de superficie del hidroddestilador  $T_b = 60^\circ\text{C}$  y la temperatura del aire (ambiente)  $T_\infty = 20^\circ\text{C}$  se tiene:

$$\Delta T = (T_b - T_\infty) = (60^\circ\text{C} - 20^\circ\text{C}) = 40^\circ\text{C} \text{ ó } 313 \text{ K}$$

En base al anterior  $\Delta T$  las propiedades del aire son:

$$\text{Pr} = 0.7052$$

$$\mathfrak{R} = 27.262 \times 10^{-3} \text{ w/mk}$$

$$\mathfrak{g} = 17.2 \times 10^{-6} \text{ m}^2/\text{s}$$

Con los anteriores datos se calculó el  $\bar{h}$  utilizando las Ecuaciones (24), (25), y (26) como se muestra a continuación:

$$\text{Re}_\phi = \frac{0.5 \text{ m} / \text{sg} \cdot 0.648 \text{ m}}{17.2 \times 10^{-6} \text{ m}^2 / \text{sg}} = 18837 \text{ entonces } c = 0.193 \text{ y } m = 0.618$$

$$\bar{\text{Nu}} = 0.193(18837)^{0.618}(0.7052)^{1/3} = 75.32$$

$$\bar{h} = \frac{\bar{\text{Nu}} \times \mathfrak{R}}{\phi} = \frac{75.32 \times 27.262 \times 10^{-3} \text{ w/mk}}{0.648 \text{ m}} = 3.17 \text{ w/m}^2\text{k}$$

Flujo por convección natural según la Ecuación (22) es igual a:

$$Q_4 = 3.17 \text{ w/m}^2\text{k} (2 \times (0.324 \text{ m})^2 \times \Pi) (330 \text{ k} - 290 \text{ k})$$

$$Q_4 = 83.64 \text{ w} = 5.3 \text{ Btu/min}$$

El flujo de energía necesario según la Ecuación (27) es la suma de las energías anteriores, con respecto a un periodo de tiempo y al calor perdido:

$$Q_{\text{necesario}} = \left( \frac{221.16 \text{ Btu} + 695.3 \text{ Btu} + 0}{(90 \text{ min} - 0)} \right) + 5.3 \text{ Btu/min} = 15.5 \text{ Btu/min}$$

El consumo de combustible teórico para la extracción por arrastre con vapor de *R. officinalis* en un según la Ecuación (28) es igual a:

$$\text{Consumo de combustible} = \frac{15.4 \text{ BTU}}{19200 \text{ BTU/Lb}} = 8.02 \times 10^{-4} \text{ lb/min}$$

6.8.2 Balance de materia y energía para la obtención de aceite esencial de las hojas de *M. pubescens*. Para los siguientes análisis se tomó como base de cálculo 4 Kg de material vegetal y un tiempo de operación de 90 minutos, igualmente se tuvieron en cuenta los datos contenidos en los Cuadros 24 y 25

6.8.2.1 Balance global de materia: este balance es necesario para encontrar la masa de vapor utilizada y la cantidad (en porcentaje peso/peso) de aceite esencial en el material vegetal a la salida del proceso.

Caudro 24. Datos tomados en planta piloto para extracción de AE de *M. pubescens*.

Datos	Entra		Sale	
	F	P	D	B
Masa (kg)	4.0	-	20.8	5.37
T°	19	-	65	83
% de aceite	0.17	-	0.185	
% de humedad	4.57	100	-	34.25

Fuente: esta Investigación

Para encontrar la masa de vapor que entra se despeja la Ecuación (5)  
 $4 \text{ Kg de } M. \text{ pubescens} + P = 20.8 \text{ Kg de condensados} + 5.37 \text{ Kg de } R. \text{ officinalis}$   
 $M_p = 20.8 \text{ Kg de condensados} + 5.37 \text{ Kg de } R. \text{ officinalis} - 4 \text{ Kg de } R. \text{ officinalis}$   
 $M_p = 22.17 \text{ Kg de vapor que entra.}$

6.8.2.2 Calor perdido por tuberías y accesorios. Para calcular este calor se hizo realizó un balance de energía global. Ecuación (6)

$$Q_F + Q_p + Q_i = Q_D + Q_B + Q_C + Q_{\text{perdido}}$$

Cuadro 25. Datos tomados en planta piloto, para el intercambiador en la extracción de AE de *M. pubescens*

Sustancia	Temperaturas tomadas	
	Entrada	Salida
Vapor (aceite + agua)	-	65°C
Agua de enfriamiento	16°C	-

Fuente: esta Investigación

Datos a tener en cuenta:

- Se utilizó una temperatura de referencia para encontrar las entalpías  $T_o = 0$
- El  $C_p$  de la materia prima a la entrada y salida del proceso se calcula con base en la Ecuación (9)

$$C_p \text{ } M. \text{ pubescens entrada: } 1.675 + 0.0025 (4.57\%) = 1.686 \text{ KJ/Kg}^\circ\text{C}$$

$$C_p \text{ } M. \text{ pubescens salida: } 1.675 + 0.0025 (34.25\%) = 1.7606 \text{ KJ/Kg}^\circ\text{C}$$

-  $PT = \text{presión manométrica} + \text{presión atmosférica.}$

$$PT = 2 \text{ PSI} + 10.8 \text{ PSI} = 12.8 \text{ PSI}$$

Interpolando se tiene temperatura de vapor (agua- aceite)

$$T(^{\circ}\text{F}) = 204.4 \text{ ó } T(^{\circ}\text{C}) = 95.78$$

- Calor necesario para elevar la temperatura en materia prima de entrada  $Q_F$  según Ecuación (7).

$$Q_F = 4 \text{ Kg} \times 1.686 \text{ KJ/Kg}^\circ\text{C} \times (19^\circ\text{C} - 0)$$

$$Q_F = 128.17 \text{ KJ} \times 0.948 \text{ BTU/KJ} = 121.51 \text{ BTU}$$

- Calor contenido por el vapor directo  $Q_p$  según Ecuación (10)

$$Q_p = M_p H_p$$

$$M_p = 22.17 \text{ Kg} = 44.34 \text{ Lb}$$
 Para una presión total de 12.8 PSI

$$Q_p = 44.34 \text{ Lb} \times 1147.55 \text{ BTU/Lb} = 50882.37 \text{ BTU}$$

- Calor necesario para elevar la temperatura en la materia prima a la salida del proceso según Ecuación (8).

$$Q_B = M_B C_p \text{ M. pubescens salida } (T_f - T_o)$$

$$Q_B = 4 \text{ Kg} \times 1.7606 \text{ KJ/Kg}^\circ\text{C} (83^\circ\text{C} - 0)$$

$$Q_B = 584.52 \text{ KJ} \times 0.948 \text{ BTU/KJ} = 554.12 \text{ BTU}$$

Balance de energía para el intercambiador: Teniendo en cuenta la Ecuación (11), se aplican las ecuaciones (12), (13), (14) y (15) se puede deducir  $Q_i$ ,  $Q_C$ ,  $Q_D$  así:

- Calor contenido por el agua de enfriamiento  $Q_i$  Ecuación (12)

$$Q_i = M_1 H_1 = 4320 \text{ Lb} \times 28.88 \text{ BTU/Lb} = 124761.6 \text{ BTU}$$

$$\text{Caudal de agua de enfriamiento} = 0.4 \text{ Kg/s}$$

Tiempo de operación: 90 minutos = 5400 s

$$M_1 = 0.4 \text{ Kg/s} \times 5400 \text{ s} = 2160 \text{ Kg} = 4320 \text{ Lb}$$

$$T_{\text{agua de enfriamiento entrada}} = 16^\circ\text{C} = 60.8^\circ\text{F}$$

Entalpía para el agua de enfriamiento de acuerdo a la anterior temperatura:

$$H_D = 28.88 \text{ BTU/Lb}$$

- Calor contenido por el vapor (agua + aceite) Ecuación (13)

$$Q_{\text{vapor (agua+aceite)}} = M_3 H_3 = 41.6 \text{ Lb} \times 1145.9 \text{ BTU/Lb} = 47738.99 \text{ BTU}$$

$$M_3 = 20.8 \text{ Kg} = 41.6 \text{ Lb}$$

$$T_{\text{vapor (agua+aceite)}} = 204.4^\circ\text{F}$$
 entonces  $H_3 = 1147.572 \text{ BTU/Lb}$

- Calor contenido en los condensados (aceite + agua) Ecuación (14)

$$Q_D = M_4 H_4 = 41.61 \text{ Lb} \times 137.97 \text{ BTU/Lb} = 5740.93 \text{ BTU}$$

$$M_4 = 20.8 \text{ Kg} = 41.61 \text{ Lb}$$

$$T_{\text{condensados}} = 75^\circ\text{C} = 167^\circ\text{F}$$
 entonces  $H_D = 134.97 \text{ BTU/Lb}$

- Calor adquirido por el agua de enfriamiento  $Q_C$  despejando la Ecuación (15) se tiene:

$$M_2 H_2 = (M_1 H_1) + (M_3 H_3) - (M_4 H_4)$$

$$M_2 H_2 = 124761.6 \text{ BTU} + 47738.99 \text{ BTU} - 5740.93 \text{ BTU}$$

$$M_2 H_2 = Q_C = 166759.66 \text{ BTU}$$

Temperatura de salida del agua enfriamiento.

$$Q_c = M_2 H_2 = 166759.66 \text{ BTU}$$

$$H_2 = 166759.66 \text{ BTU} / 4320 \text{ Lb} = 38.60 \text{ BTU/Lb entonces } T_2 = 70.51^\circ\text{F} = 21.39^\circ$$

- A partir de la Ecuación (16) se encontró el calor perdido por tuberías y accesorios o fugas en todo el sistema.

$$Q_{\text{perdido}} = 121.51 \text{ BTU} + 50882.37 \text{ BTU} + 124761.6 \text{ BTU} - (5740.93 \text{ BTU} + 554.12 \text{ BTU} + 38.60 \text{ BTU})$$

$$Q_{\text{perdido}} = 2710.77 \text{ BTU}$$

6.8.2.3 Calor necesario para el proceso y consumo de combustible. Para la obtención de este calor se realizó un balance más específico en este caso el hidroddestilador, teniendo en cuenta una base de cálculo de 90 min. y 4 Kg de *M. pubescens*.

a. A partir de la Ecuación (17) se encontró la energía para el calentamiento de la planta aromática  $Q_1$

$$Q_1 = 4\text{kg}(1.7233\text{kJ/kg}^\circ\text{C})(75^\circ\text{C} - 19^\circ\text{C})$$

$$Q_1 = 386.01\text{KJ} = 365.94\text{BTU}$$

b. Por utilizar el mismo hidroddestilador, se empleo el mismo tiempo de operación y por la obtención de bajos rendimiento de aceite se asumirá que la energía para el calentamiento del hidroddestilador ( $Q_2$ ), energía para vaporizar el aceite esencial, ( $Q_3$ ) y flujo del fluido debido a la convección natural, son iguales a las del anterior balance por lo que el calor necesario para llevar a cabo este proceso según la ecuación (27) es igual a:

$$Q_{\text{necesario}} = \left( \frac{365.94\text{Btu} + 695.3\text{Btu} + 0}{(90\text{min} - 0)} \right) + 5.3\text{Btu}/\text{min} = 17.1\text{Btu}/\text{min}$$

En tanto el consumo de combustible teórico para la extracción por arrastre con vapor de *M. pubescens* según Ecuación (28) es igual a:

$$\text{Consumo de combustible} = \frac{17.1\text{BTU}/\text{min}}{19200\text{BTU}/\text{Lb}} = 9.0 \times 10^{-4} \text{ lb}/\text{min}$$

6.8.3 Análisis de resultados para los dos tipos de plantas: Según el Cuadro 26 se puede observar que el consumo de combustible, el calor necesario y el calor perdido están estrechamente relacionados al diseño del equipo y al tiempo de extracción puesto que en ambos casos aunque varia la cantidad de materia prima y la presión utilizada, esto resultados no muestran diferencias significativas, sin embargo la cantidad de materia prima utilizada y la presión ejercen una marcada

influencia en la cantidad de vapor utilizado, la temperatura del sistema y el porcentaje de rendimiento del AE como se indicó anteriormente en los resultados encontrados a través de la metodología de superficie de respuesta. (Anexos U y V para *R. officinalis* y Anexos W, X, Y y Z para *M. pubescens*). Cabe destacar que el proceso de arrastre con vapor en planta presenta un gasto energético bajo, haciendo de esta técnica un proceso relativamente barato en cuanto a consumo energético y gasto de combustible, pero de elevado consumo de agua, empleada para la extracción por arrastre con vapor. Sin embargo existen pérdidas de calor por tuberías, accesorios y fugas indicándonos que pueden existir falencias en el aislamiento térmico del sistema en general.

Cuadro 26. Resultados del balance de materia y energía, para el punto óptimo obtenido mediante la metodología de respuesta aplicada a arrastre con vapor.

VARIABLES Y RESULTADOS	<i>R. officinalis</i>	<i>M. pubescens</i>
Base de cálculo	90 min y 2.5 Kg de material vegetal	90min y 4 Kg de material vegetal
Presión manométrica trabajada	0.6 Psi	2 Psi
Vapor utilizado (aproximado)	14.65 Kg	22.17 Kg
Porcentaje de rendimiento AE (w/w)	1.33%	0.17%
$\dot{Q}_{necesario}$	15.5 Btu/min	17.1 Btu/min
Consumo de combustible	$8.02 \times 10^{-4}$ lb/min	$9.0 \times 10^{-4}$ lb/min
Q perdido, por tuberías, accesorios y fugas	2012.16 Btu	2710.77 Btu

Fuente: esta Investigación

## 6.9 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS, ACTIVIDAD BIOLÓGICA Y APLICACIÓN INDUSTRIAL DE LOS ACEITES ESENCIALES DE LAS HOJAS DE *R. officinalis* Y *M. pubescens*

6.9.1 Aceite esencial de las hojas de *R. officinalis* procedente del municipio de Gualmatán. A continuación se presentan algunas de las propiedades fisicoquímicas determinadas en laboratorio, la actividad biológica y aplicación industrial del aceite esencial de *R. officinalis* obtenido a partir de extracción con arrastre con vapor en planta piloto. (Cuadro 27 y 28)

Cuadro 27. Actividad biológica y aplicación industrial de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de las hojas de *R. officinalis*

Compuesto	Actividad Biológica	Aplicación Industrial
$\alpha$ -Pino	Antibacterial, antiinflamatorio, antiséptico, antiespasmódico, aromatizante, insecticida, herbicida.	Perfumería, alimentos
Canfeno	Expectorante, antioxidante, aromatizante, aromatizante.	Alimentos
Mirceno	Antimutagenico, antibacterial, analgésico, fungicida , hipodérmico, antiespasmódico, antioxidante	Perfumería, alimentos
1,8-Cineol	Anestésico, antibacterial, antiinflamatorio, herbicida	Alimentos
Alcanfor	Analgésico, antiséptico, antidiarreico, expectorante, fungicida, herbicida, antiacné.	Cosméticos
<i>trans</i> -Cariofileno	Antiinflamatorio , se usa junto al $\alpha$ -Humuleno.	Farmacéutico
$\beta$ -Pino	Antiséptico, antiespasmódico, herbicida, aromatizante.	Perfumería, Alimentos
Borneol	Antiinflamatorio, Hepatoprotector, Insecticida, Sedante, Tranquilizante, Analgésico, Antibacterial, Antipirético, Antiespasmódico, Fungicida, Herbicida, Repelente de insectos.	Perfumería, alimentos
Acetato de Bornilo	Antibacterial, Antiespasmódico, Antiviral, Expectorante, Insecticida, Sedante.	Alimentos

Fuente: [www.ars-grin.gov/duke/](http://www.ars-grin.gov/duke/) (base de datos virtuales – botánica y fotoquímica)

Cuadro 28. Propiedades físico-químicas del aceite esencial de las hojas de *R. officinalis*

Color	Amarillo Claro
Densidad	0.7952 g/ml
Índice de Refracción	1.480
Índice de acidez	0.28
Punto de Ebullición	125.2 °C
Solubilidad	Soluble en etanol a 25 °C

Fuente: esta Investigación

6.9.2 Aceite Esencial de las hojas de *M. pubescens* procedente del municipio de San Pablo (N). A continuación se presentan algunas de las propiedades físico-químicas determinadas en laboratorio y la actividad biológica y aplicación industrial del aceite esencial de las hojas de *M. pubescens* obtenido a partir de extracción con arrastre con vapor (Cuadros 29 y 30).

Cuadro 29. Actividad biológica y aplicación industrial de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de las hojas de *M. pubescens*

Compuesto	Actividad Biológica	Aplicación Industrial
<i>trans</i> -Cariofileno	Antiinflamatorio, antibacterial, antiacné, antialérgico, fungicida, irritante.	Farmacéutica
Oxido de Cariofileno	Antiendémico, Antiinflamatorio, Insecticida	Farmacéutica, Ind. agrícola
$\beta$ -Selineno	Antimalarial, Antidepresivo, previene el Cáncer, Inmuno estimulante	Perfumería,
$\alpha$ -Selineno	Antimalarial, aromatizante, Previene el Cáncer, inhibidor de Xantina-Oxidasa	Perfumería,
Selin-11-en-4- $\alpha$ -ol	Fungicida	Farmacéutica, Ind. Agrícola
Linalol	Antiendémico, Antihistamínico, Antiinflamatorio, Antiséptico, Insecticida, Sedativo	Perfumería, alimentos

Fuente: [www.ars-grin.gov/duke/](http://www.ars-grin.gov/duke/) (base de datos virtuales –botánica y fitoquímica)

Cuadro 30. Propiedades físico-químicas del aceite esencial de las hojas de *M. pubescens*.

Color	Amarillo verdoso
Densidad	0.87 g/ml
Índice de Refracción	1.511
Índice de acidez	3.08
Punto de Ebullición	117.4 °C
Solubilidad	Soluble en etanol a 25 °C

Fuente: esta Investigación

## 6.10 RECTIFICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES DE LAS HOJAS DE *M. pubescens* y *R. officinalis* MEDIANTE DESTILACIÓN FRACCIONADA AL VACÍO.

En este estudio se emplearon tiempos de operación de 8-12 horas, dichos tiempos se determinaron de acuerdo a las siguientes observaciones: el aceite destilado condensó en la última fracción y el color cambió de oscuro a translúcido. Con estos datos se procedió a rectificar los aceites, se tomaron las diferentes fracciones a lo largo de la columna, las cuales se separaron teniendo en cuenta los intervalos de temperatura en las mismas. Dichas fracciones fueron analizadas por cromatografía de gases.

6.10.1 Destilación fraccionada al vacío del aceite esencial de las hojas de *R. officinalis*. De acuerdo a los resultados obtenidos en la destilación fraccionada al vacío se puede observar que los compuestos que presentan las mayores áreas en las diferentes fracciones, son compuestos cuyos puntos de ebullición a presión atmosférica (760 mm de Hg) oscilan entre 155 - 167°C como es el caso del mirceno, canfeno,  $\alpha$ -pineno y  $\beta$ -pineno (Anexo 1), los cuales se pueden catalogar como los compuestos volátiles o fracción liviana del aceite esencial. Sin embargo en la Figura 34 se observa que hay mucha variabilidad en el movimiento de estos compuestos a lo largo de la columna, a excepción del mirceno el cual tuvo áreas grandes a partir de la fracción 2, a medida que sube en la columna estas áreas comenzaron a disminuir notablemente. Los compuestos cuyos puntos de ebullición sobrepasan los 170°C como el 1,8-cineol y el alcanfor, presentaron áreas en las fracciones relativamente pequeñas en comparación a las anteriormente mencionadas, debido a que son los menos volátiles y por lo tanto constituyen la fracción pesada del aceite esencial dentro de las condiciones dadas para la destilación.

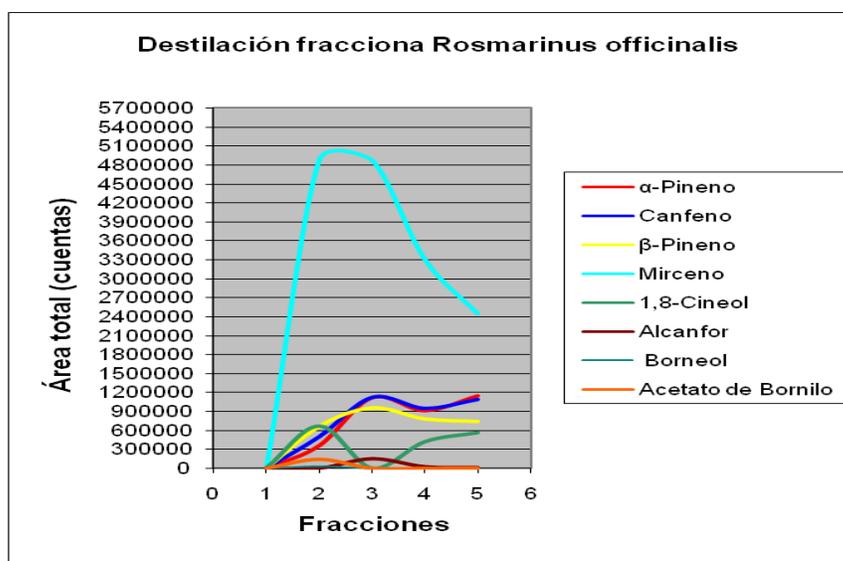
En el Cuadro 31 y Figura 35 se pueden observar las diferencias en las características físicas del aceite esencial de *R. officinalis* sin rectificar y el rectificado.

Cuadro 31. Características del AE de *R. officinalis* sin rectificar y rectificado.

Especificaciones	Aceite sin rectificar	Aceite rectificado
Aspecto a 20°C	Líquido fluido incoloro	Líquido fluido translucido
Color	Amarillo pálido – amarillo intenso	Incoloro
Olor	Alcanforado, fuerte, herbáceo	Anisado, fresco, balsámico, dulce
Índice de refracción	1.480	-

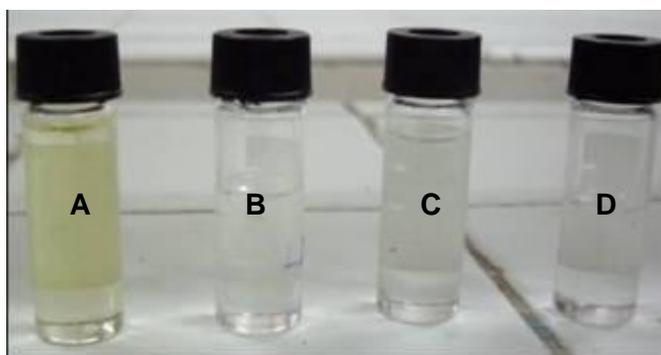
Fuente: esta Investigación

Figura 34. Movimiento de compuestos en la Destilación fraccionada al vacío del aceite esencial de *R. officinalis*



Fuente: esta Investigación

Figura 35. Aceite esencial de *R. officinalis* después de purificación por destilación fraccionada al vacío, a) aceite sin purificar, b), c), d) aceite purificado.



Fuente: esta Investigación

6.10.2 Destilación Fraccionada al vacío del aceite esencial de las hojas de *M. pubescens*. Si se observa el Anexo 2 y la Figura 36 se puede ver que las áreas de los compuestos evaluados son relativamente pequeñas en comparación al área del *cis*-Cariofileno en F<sub>2</sub> y *trans*-Cariofileno en F<sub>5</sub>, posiblemente estos compuestos constituyan la fracción liviana del aceite esencial por su mayor volatilidad, característica que se les atribuye por poseer puntos de ebullición inferiores a 280°C.

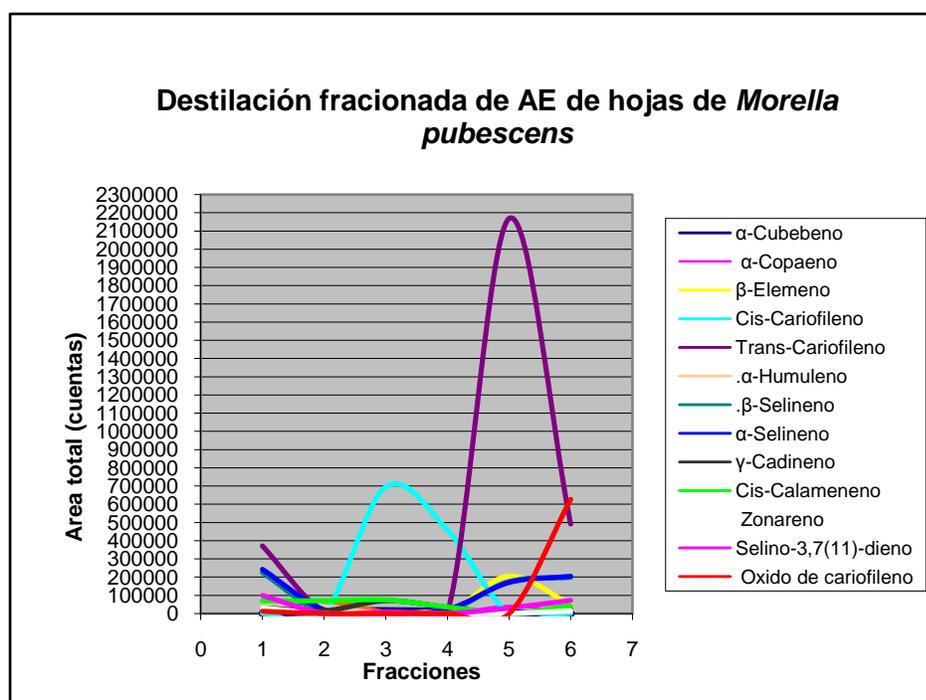
En el Cuadro 32 y en la Figura 37 se pueden observar una comparación entre las características físicas del aceite esencial de *M. pubescens* sin purificar y purificado.

Cuadro 32. Características del AE de *M. pubescens* sin rectificar y rectificado

ESPECIFICACIONES	Aceite sin rectificar	Aceite rectificado
Aspecto a 20°C	Líquido viscoso – turbio	Líquido fluido –translucido
Color	Amarillo verdoso a marrón	Amarillo pálido
Olor	Fuerte y un poco amarga, herbáceo	Medio, dulce
Índice de refracción	1.511	--

Fuente: esta Investigación

Figura 36. Movimiento de compuestos en la Destilación fraccionada al vacío del aceite esencial de las hojas de *M. pubescens*



Fuente: esta Investigación

Figura 37. Aceite esencial de *M. pubescens* después de purificación por destilación fraccionada al vacío, a) aceite sin purificar, b) fracción 3 (F<sub>3</sub>), c) fracción 5 (F<sub>5</sub>)



Fuente: esta Investigación

## 7. CONCLUSIONES

El diseño factorial de experimentos permitió encontrar las mejores condiciones para la extracción de aceite esencial de hojas de *R. officinalis* en laboratorio así: utilizando la técnica de arrastre con vapor las mejores condiciones están dadas para un tiempo de operación de 60 min y un tamaño de partícula de 0.45 mm; en la técnica M.W.H.D. para una potencia de 680 W en un tiempo de operación de 30 min.; y en D.E.S para un tiempo de 150 min. y con un tamaño de partícula de 0.45mm.

Por medio de análisis cromatográficos y espectrométricos se identificaron 25 compuestos en el aceite esencial de las hojas de *R. officinalis*, de los cuales los compuestos mayoritarios son mirceno, alcanfor,  $\alpha$ -pineno, *trans*-cariofileno, 1,8-cineol, canfeno,  $\beta$ -pineno, borneol, acetato de bornilo; que se encuentran presentes en las extracciones realizadas por arrastre con vapor, D.E.S. y M.W.H.D. Este aceite esencial se caracteriza por ser principalmente monoterpénico.

El diseño experimental permitió establecer las mejores condiciones para la extracción de aceite esencial de las hojas de *M. pubescens* en laboratorio así: en la extracción por arrastre con vapor las mejores condiciones están dadas para un tiempo de operación de 180 min y un tamaño de partícula de 0.45 mm, en la D.E.S. para un tamaño de partícula de 0.45mm y un tiempo de operación de 150 min y en M.W.H.D para una potencia de 680 W en un tiempo de 30 min.

El aceite esencial de las hojas de *M. pubescens* está constituido en mayor cantidad por compuestos sesquiterpénicos de los cuales se identificaron 28 compuestos y siendo los mayoritarios linalol,  $\beta$ -elemeno, *trans*-cariofileno,  $\beta$ -humuleno,  $\alpha$ -humuleno,  $\gamma$ -selineno,  $\beta$ -selineno,  $\alpha$ -selineno,  $\gamma$ -cadineno, *cis*-calameneno, selino-3,7(11)-dieno, oxido de cariofileno,  $\beta$ -elemenona, epoxido de humuleno II, germacrona, kongol; los compuestos en su mayoría se caracterizan por ser sesquiterpenos.

En la técnica de extracción de aceites esenciales M.W.H.D, se obtuvieron mayores porcentajes de área (Cr) de los compuestos mayoritarios en el aceite esencial de *R. officinalis*, en cambio para el aceite esencial de *M. Pubescens* la técnica arrastre con vapor reportó mayores porcentajes de área (Cr) de los compuestos mayoritarios.

Comparando el aceite esencial de *R. officinalis* con otras investigaciones se encontró que el aceite esencial procedente de Gualmatán tiene como compuesto mayoritario mirceno, el cual está ausente en los aceites estudiados.

Al realizar la comparación entre el aceite esencial de *M. pubescens* obtenido por D.E.S. se encontró que su compuesto mayoritario es *trans*-cariofileno en relación a otro estudio que reporta como compuesto mayoritario 1,8-cineol.

El diseño experimental de superficie de respuesta empleado en planta piloto permitió encontrar las condiciones óptimas de operación; para el aceite esencial de las hojas de *R. officinalis* las condiciones óptimas fueron a una presión manométrica de 0.59 psi y un tiempo de operación de 90 min; y para las hojas de *M. pubescens* una presión manométrica de 2 psi y un tiempo de operación de 90 min.

Mediante la técnica de extracción por arrastre con vapor en planta piloto se encontró que el efecto ejercido por la presión de vapor en determinados tiempos de operación, influye tanto en el porcentaje de rendimiento como en la cantidad relativa de los compuestos del aceite esencial de *R. officinalis* y *M. Pubescens*, cantidad obtenida en base al área total en cuentas dada por perfil cromatográfico para cada compuesto, esta influencia se pudo observar debido a que la densidad del lecho se mantuvo constante.

Se determinó que el proceso de arrastre con vapor en planta piloto presenta un gasto energético bajo, haciendo de esta técnica un proceso relativamente barato en cuanto a consumo energético y gasto de combustible.

Al realizar la purificación de los aceites esenciales de *R. officinalis* y *M. pubescens* obtenidos en extracciones por arrastre con vapor en planta piloto por medio de destilación fraccionada al vacío se observaron cambios en algunas de sus propiedades físicas como son el color y aroma, en cuanto a las propiedades químicas se presentaron variaciones en la composición química expresadas como área en cuentas del perfil cromatográfico de las diferentes fracciones.

## 8. RECOMENDACIONES

Evaluar la actividad antimicrobial, fungicida y antioxidante de los aceites esenciales obtenidos en especial de *M. Pubescens* ya que con ayuda de estos estudios se ampliaría el conocimiento acerca de las propiedades y aplicaciones de este aceite esencial.

Implementar tanto en planta piloto como en laboratorio un sistema de recirculación de agua de enfriamiento que permita regular la temperatura de la misma, con el fin de mejorar la condensación en las técnicas de extracción.

Mejorar el aislamiento térmico en las tuberías y accesorios de la unidad de extracción de planta piloto, puesto que las pérdidas de calor por tuberías y accesorios son más grandes que la energía requerida para la realización del proceso de extracción por arrastre con vapor.

Profundizar el estudio enfocado particularmente a la purificación de aceites esenciales, con el fin de encontrar los equipos y técnicas adecuadas que permitan lograr los estándares de calidad requeridos en el mercado.

Realizar un estudio de factibilidad para identificar el potencial socio-económico de la producción de aceite esencial de *M. pubescens* en el departamento de Nariño.

## BIBLIOGRAFÍA

ADAMS R. Identification of essential oil components by gas chromatography / quadrupole mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation. 2004

AENOR. UNE 84306. Aceites esenciales. Aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) de España. 1997

AZORIN P. F. Curso de muestreo y aplicaciones. Editorial Aguilar, Madrid-España, 1969.

BARCELÓ, D. Environmental analysis techniques, applications and quality assurance. Ed. Elsevier Science Publisher. Amsterdam. 1993. p. 646

BAUTISTA A., BENAYAS A., Cromatografía Principios y Aplicaciones. Disponible en URL: <http://www.scribd.com/doc/19050563/Cromatografia-Principios-y-Aplicaciones>

BIOCOMERCIO SOSTENIBLE. Estudio del mercado colombiano de aceites esenciales. Instituto de investigación de recursos biológicos Alexander Von Humboldt, Bogota-Colombia, 2003.

CALLE, A. Consideraciones al proyecto de ley 139 de 1997 para legalizar el uso e industrialización de la flora medicinal colombiana. 1998

CERPA M, Hidrodestilación de aceites esenciales, modelado y caracterización. Departamento de química y tecnología del medio ambiente, Universidad de Valladolid- España. Marzo 2007.

COLMENARES A. RAMÍREZ A. 30 Plantas medicinales del valle del cauca: fundamentos fisicoquímicos y farmacológicos que sustentan sus usos. Fondo de cofinanciación para la inversión social (FIT). Pág. 65-67.

CHARENTREAU. A. FIRMENICH. Simultaneous distillation–extraction: from birth to maturity—review. Flavor and fragrance journal. 16: 136–148 2001

Dr.Duke`s Phytochemical and Ethnobotanical Database disponible en URL: <http://www.ars-grin.gov/duke/>

EXPERIMENTACIÓN EN SÍNTESIS ORGÁNICA (ESO), tercera licenciatura en química, curso 2004-2005, departamento de química, universidad de Oviedo – España. Disponible en URL: [http://www.ual.es/~getopor/avb/ESO%20\(03-04\).pdf](http://www.ual.es/~getopor/avb/ESO%20(03-04).pdf)

FLORES J; MÉNDEZ J. Guía de plantas y productos medicinales, convenio Andrés Bello, ciencia y tecnología 116: 17-21. 2003

GARCIA H; Esencias Naturales. Aguilar S.A de ediciones, Madrid – España. 1953.

GÓMEZ R., ULLATE A. Cromatografía principios y aplicaciones. Disponible en URL: <http://www.scribd.com/doc/11642417/Cromatografia-Fundamentos-y-Aplicaciones>

GUENTHER E, The essential oils “History – origin in plants production – analysis”. fourth printing, D. Nostrand Company, INC. Princeton, New Jersey. 1948. V1, pg.182

HILMMELBLAU D, Balance de materia y energía, cuarta edición, Prentice –Hall hispano americana, S.A. México. 1988

INCROPERA F, DE WITT D. Fundamentals of heat and mass transfer. Ata, Ed. John Wiley and Jons, inc.1996. p. 356.

INSTITUTO HUMBOLDT, FENAT, Ministerio del Medio Ambiente, TRAFFIC. Encuesta Nacional de Plantas Medicinales y Aromáticas, Una aproximación al mercado de PMyA en Colombia. 2001.

JORDÁN B. Constituyentes aromáticos del zumo de naranja. Efecto del procesado industrial, ciencia y tecnología de alimentos, universidad de Murcia, Junio de 1999. pág. 57.

LATIF G. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. Food Chemistry 102 (2007) 898-904

LÓPEZ T. el romero. planta aromática con efectos antioxidantes. Offarm vol. 27 N° 7, julio-agosto 2008.

LOZADA J. ALBAN V. Identificación y cuantificación de metabolitos secundarios volátiles presentes en las hojas de *Schinus Molle L.* Obtenidos por extracción asistida por radiación con microondas. Universidad de Nariño

LIRA S. Ricardo. Fisiología Vegetal, editorial Trilla, México D.C 1994.

LUCCHESI. M, Smadja. Et al. Solvent free microwave extraction of *Elletaria Cardamomum L.*: a multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. Journal of Food Engineering 79:1079–1086. 2007

LUNA CABRERA. C. La investigación participativa sobre laurel de CERA (*Morella pubescens*), una estrategia de educación ambiental en la zona andina del departamento de Nariño – Colombia. Ceneam. Febrero 2006

MANZANO B. Et al. Dispositivo para la separación y concentración de componentes volátiles de muestras termosensibles por destilación y extracción simultánea mediante disolventes orgánicos. Oficina española de patentes y marcas España, N.º de publicación: ES 2 043 551, Nº de solicitud: 9201010, Madrid – España , diciembre 16 de 1993. Disponible en URL: [http://www.oepm.es/pdf/2/04/35/2043551\\_a1.pdf](http://www.oepm.es/pdf/2/04/35/2043551_a1.pdf)

MACNAIR, H., Basic gas chromatography. Ed. Aerograph. Los Ángeles. 1987. p. 16-43

MIKES, O. Chromatography methods. Ed. Reinhold. New York, 1970. p 25-30

MARTÍNEZ M. A. Aceites esenciales. Facultad Química Farmacéutica, universidad de Antioquia, Medellín- Colombia, Febrero 2003.

MUÑOZ J. LUNA C. El laurel de cera una especie promisorio de los Andes. Quito - Ecuador. 2003.

OLAYA, J. M. Et al. Manual de extracción de aceites esenciales de plantas aromáticas. Banco de proyectos CORPOEDUAGRO. 2000.

PARRA C. Revisión taxonómica de la familia *Myricaceae* en Colombia. Instituto de ciencias naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia, 2003.

PEREZ G. María P., *Salvia lavanduloefolia* vahl sssp. oxyodon: Evaluación de su aceite esencial e incidencia en el medio ambiente según intensidad de recolección, Universidad de Granada, Facultad de Farmacia, Departamento de Farmacología. Tesis de doctorado. 2005.

QUINTERO América, Aceite esencial de las hojas de *Hyptis umbrosa* Salzm extraído por diferentes técnicas. Acta Científica Venezolana, 55:18-187,2004

SHRINER, R. L., FUSON, R. C. y CURTIN, D.Y. Identificación sistemática de compuestos orgánicos. Limusa, México, 1995.

STATGRAPHICS Plus 5.0 [CD-ROM]. Copyright by statistical graphics corporation. Estados Unidos. 2000.

STASHENKO E. JARAMILLO B, Comparison of different extraction methods for analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E. brown, grown

in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity. Journal of Chromatography A, 1025 (2004) 93-103

STASHENKO, E., QUIROZ, N. High resoult. Chromatography. 1996. P 351  
Universidad de Almería. Tecnología de alimentos, tema 4: propiedades físicas y reología de alimentos. Departamento de ingeniería química. Disponible en URL: <http://www.ual.es/~jfernand/TA/Tema4/Tema4PropiedadesFisicasyReologia.pdf>

Universidad Autónoma de México. Manual de prácticas de química orgánica I (1311), Destilación a opresión reducida Facultad de química 2009 disponible en URL: [.http://organica1.org/1311/1311pdf6.pdf](http://organica1.org/1311/1311pdf6.pdf).

VIAN Á. OCÓN J. Elementos de ingeniería química, editorial Aguilar, segunda edición, Madrid,-1957.

VELASCO R., VILLADA H. Aplicaciones de fluidos supercríticos en la agroindustria. Información tecnológica, Popayán, Colombia, 2007 Vol. 18(1): 53-65.

VERDE J., ESCAMILLA M. Manual de prácticas de química analítica II, Universidad Autónoma Metropolitana. p 13.

WILLARD, H., Métodos instrumentales de análisis. Ed. Iberoamericana. México. 1991. p. 15, 531, 539, 565.

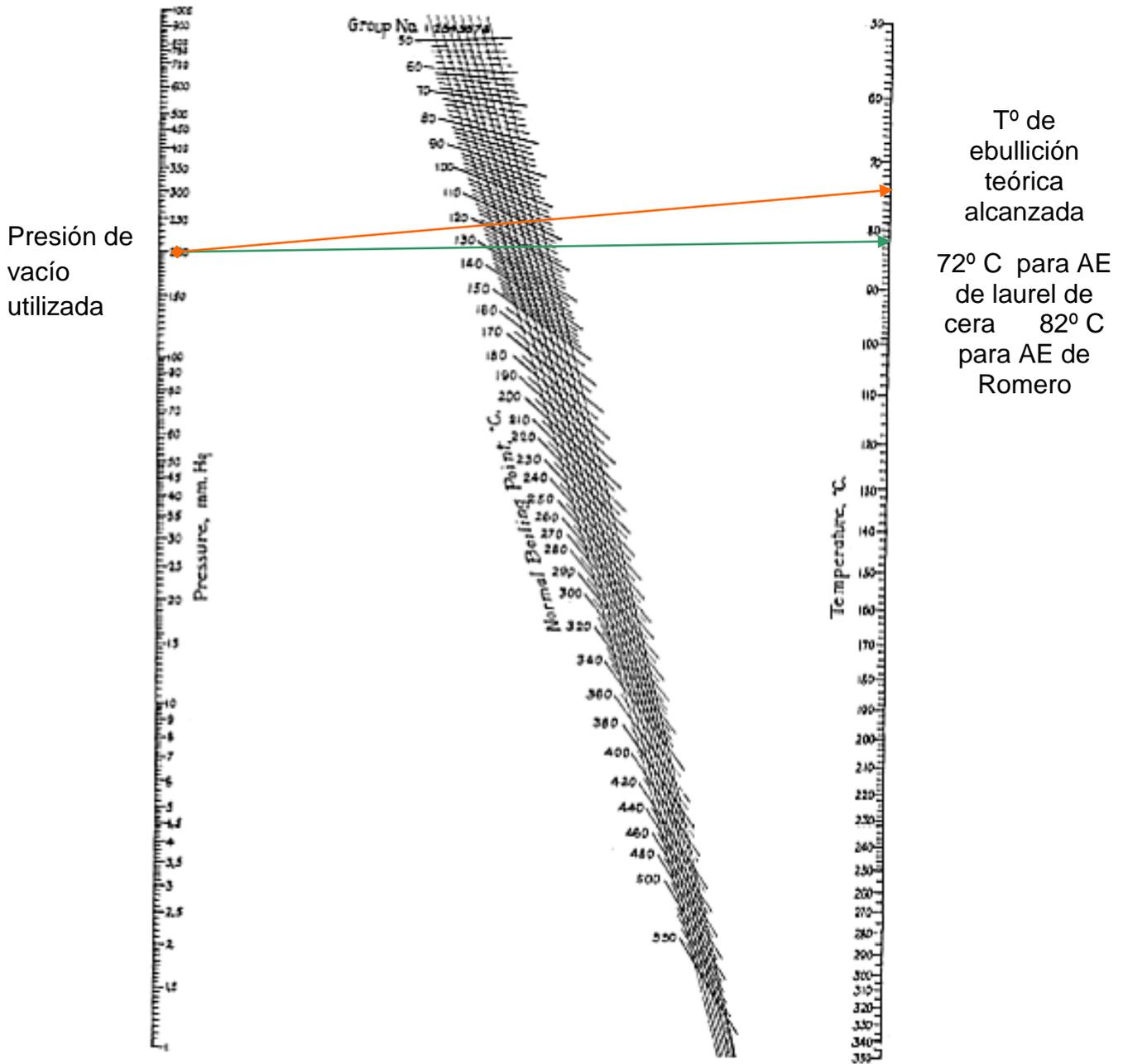
XU ZI-gang y ZHENG Lin. Comparison of volatile and semivolatile compounds from commercial cigarette by supercritical fluid extraction and simultaneous distillation extraction. Journal of Zhejiang University Science, 2004 5(12):1528-1539.

YESIL O, HAMES E, Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. Food Chemistry 100 (2007) 553-559

Natural Touch Aromatherapy – Essential Oil Monograph, disponible en URL: <http://www.naturaltoucharomatherapy.com>

## ANEXOS

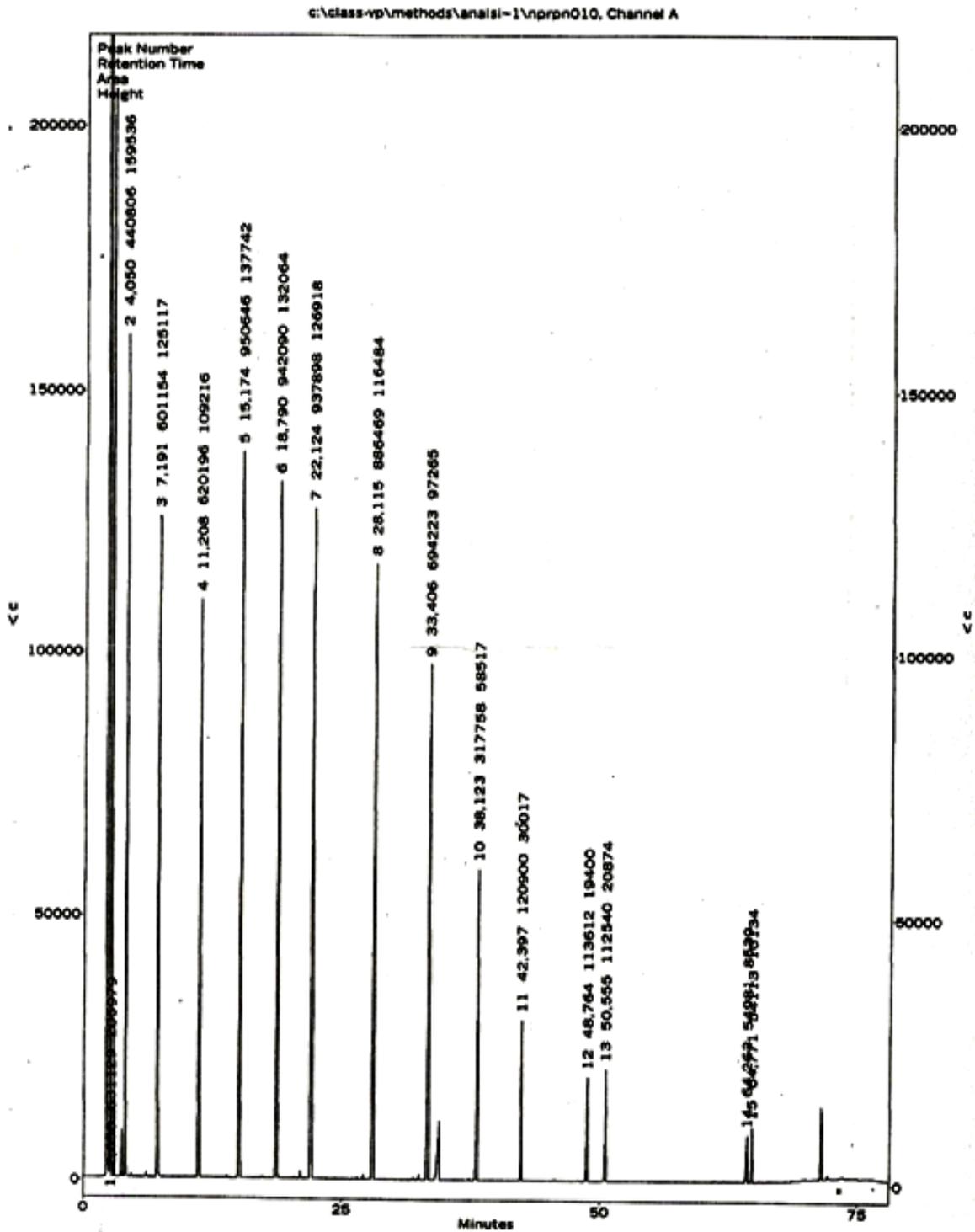
Anexo A. Nomograma de presión de vapor-temperatura para líquidos de alto punto de ebullición.



Anexo B. Grupos funcionales representados en el Nomograma de presión de vapor-temperatura para líquidos de alto punto de ebullición.

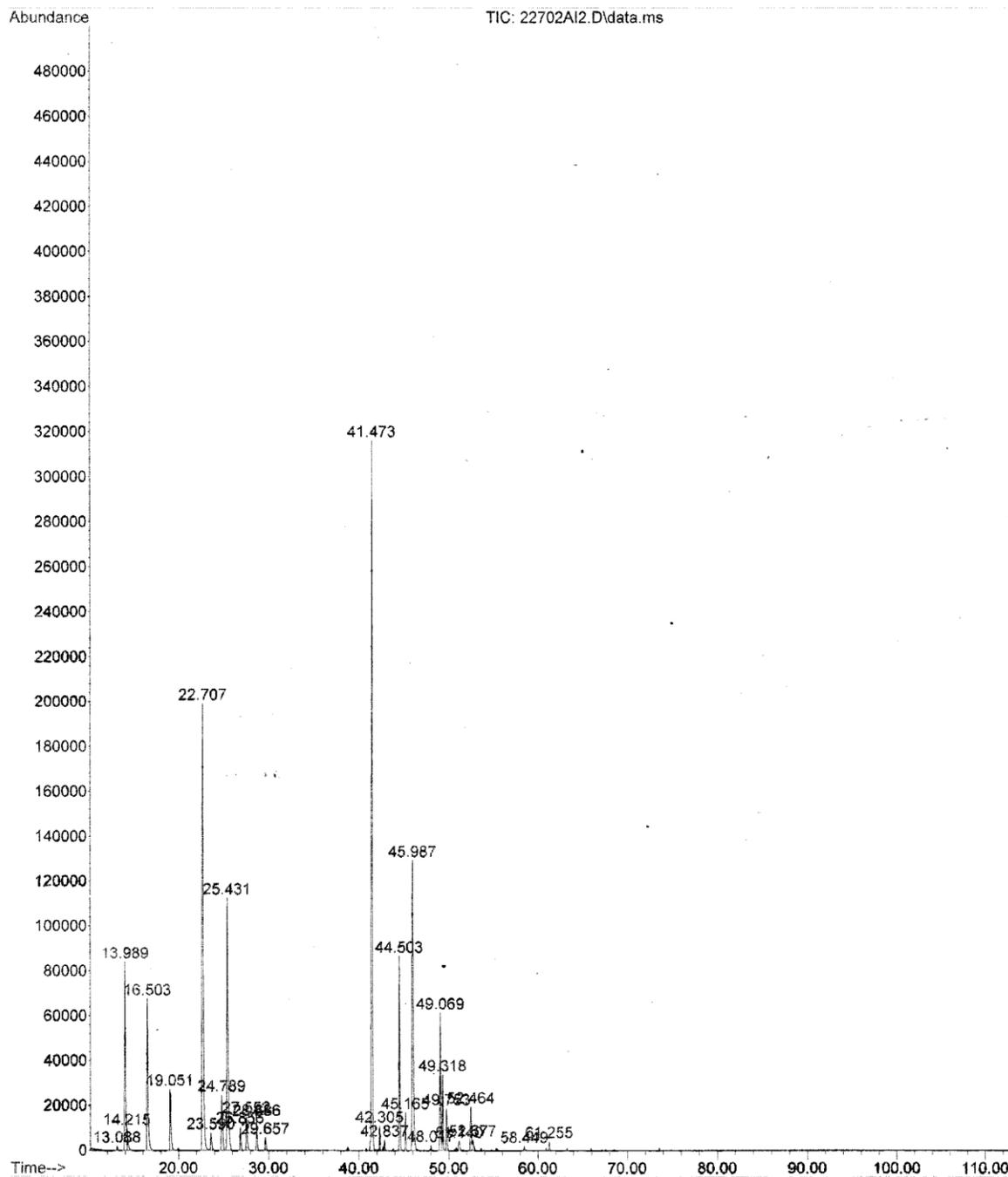
Grupo 1	Antraceno	Monocloruro de azufre
	Antraquinona	Sulfuro de carbono
	Butiletileno	Tricloroetileno
	Fenantreno	
Grupo 2	Alcanfor	Hidrocarburos
	Anhidrido ftálico	Hidrocarburos
	Benzaldehido	Metiletilcetona
	Dibenzilcetona	Nitrotoluenos
	Dimetilsilano	Quinoleína
	Éteres	Salicilato de metilo
	Fluoruro de hidrógeno	Sulfucianuro de carbono
	Fosgeno	Sulfuros
Grupo 3	Acetaldehído	Esteres
	Acetona	Éter metílico
	Ácido fórmico	Metiletiléter
	Aminas	Aminas Naftoles
	Benzoato de metilo	Nitrobenceno
Grupo 4	Acetofenona	Dimetilamina
	Ácido acético	Dióxido de azufre
	Cloruro de nitrosilo	Formiato de metilo
Grupo 5	Ácido propiónico, Alcohol bencílico, Amoniac, Fenol.	
Grupo 6	Ácido isobutírico, Agua, Anhídrido acético.	
Grupo 7	Ácido benzóico, Ácido butírico, Ácido heptanóico, Ácido isocaproico, Ácido valérico, Alcohol metílico, Etilenglicol.	
Grupo 8	Alcohol p-amílico, Alcohol etílico, Alcohol Isoamílico, Alcohol isobutílico	

Anexo C. Perfil cromatográfico parafinas C<sub>6</sub>-C<sub>32</sub>



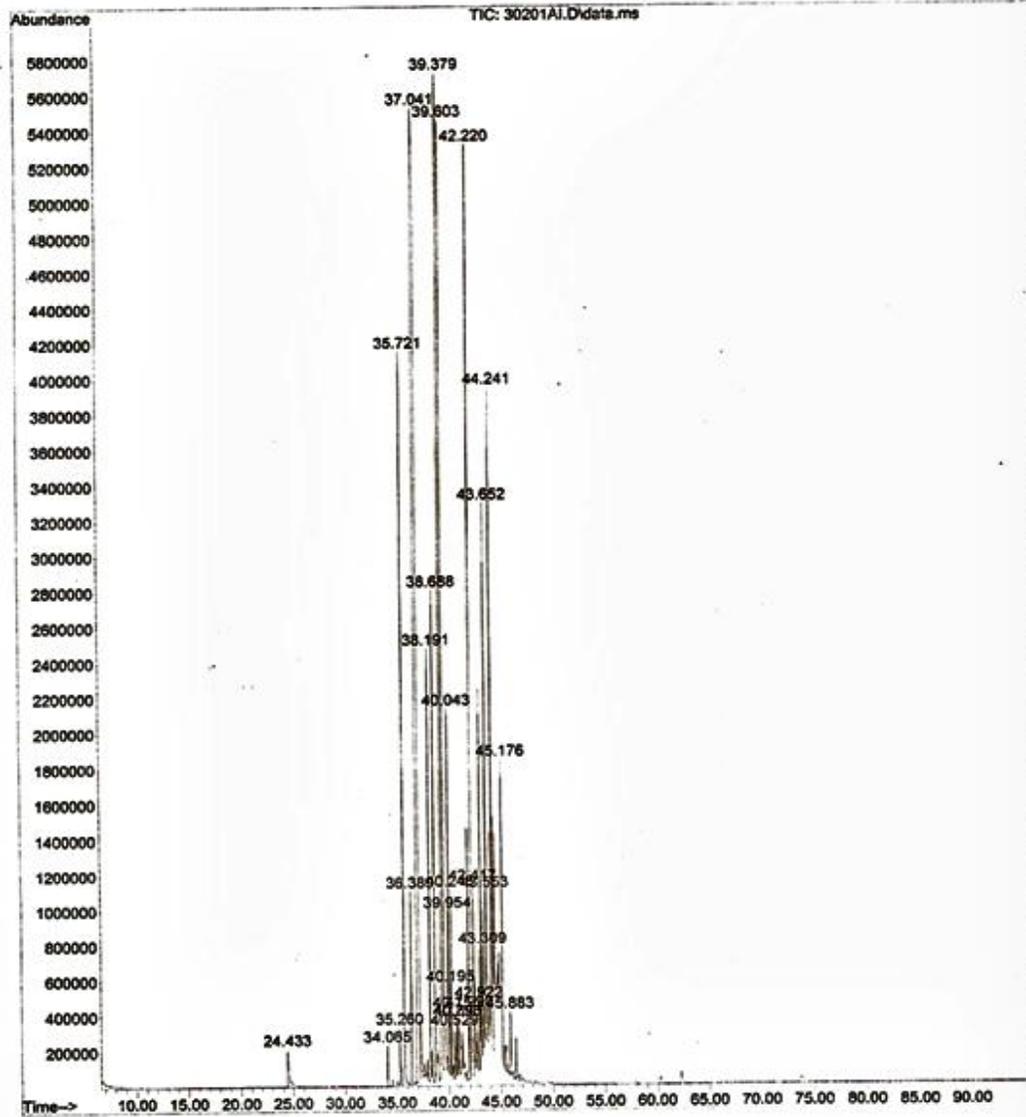
Anexo D. Cromatograma obtenido por GC-MS del aceite esencial de *R. officinalis*.

File :D:\msdchem\1\DATA\151008\22702AI2.D  
Operator : Elena Stashenko (UIS)  
Acquired : 16 Oct 2008 4:00 using AcqMethod AEDEANMS.M  
Instrument : 6890N - 5975  
Sample Name: 982227-02-AI, U. NARINO  
Misc Info : 982227-02-AI, AES ROMERO  
Vial Number: 23



Anexo E. Cromatograma obtenido por GC-MS del aceite esencial de *M. pubescens*

File :C:\msdchem\1\DATA\982302\310109-5973\30201AI.D  
Operator : Elena Stashenko (UIS)  
Acquired : 4 Feb 2009 14:21 using AcqMethod AESPLIT.M  
Instrument : 6890 Plus - 5973N  
Sample Name: 982302-01-AI  
Misc Info : 982302-01-AI  
Vial Number: 1



Anexo F. Resultados del diseño experimental para la extracción por arrastre con vapor en laboratorio de aceite esencial de las hojas de las hojas de *R. officinalis*.

Exp	D <sub>p</sub>	Tiempo (min.)	A <sub>TC</sub> (Cuentas)	Ctos	□-Pino	(Cr)	Canfeno	(Cr)	β-Pino	(Cr)	Mirceno	(Cr)	1,8-cineol	(Cr)
1	1	60	4.573.646	26	576.931	12,61	393.679	8,61	258.495	5,652	1.247.942	27,29	318.054	6,95
2	3	180	2.381.941	25	231.241	9,71	194.685	8,17	148327	6,227	679.285	28,52	167.401	7,03
3	3	60	1.039.980	26	119.213	11,46	85.269	8,2	58726	5,647	281.106	27,03	85.732	8,24
4	1	180	3.578.261	25	350.295	9,79	294.720	8,24	231176	6,461	1.039.858	29,06	232.270	6,49
5	2	120	1.583.312	23	150.884	9,53	121.209	7,66	91958	5,808	421.007	26,59	134.370	8,49
6	2	120	1.954.776	24	245.685	12,57	164.012	8,29	103365	5,288	504.109	25,79	172.515	8,83
7	1	60	4.153.882	26	423.192	10,19	348.803	8,4	225756	6,157	1.155.114	27,81	290.021	6,98
8	3	180	1.296.328	28	143.371	11,06	100.446	7,75	65662	5,065	326.348	25,18	126.726	9,78
9	3	60	1.108.629	28	138.194	12,47	88.649	8	54267	4,895	261.758	23,61	111.839	10,09
10	1	180	2.979.279	28	384.889	12,92	264.475	8,88	174848	5,869	841.716	28,25	207.904	6,98
11	2	120	1.632.572	24	197.019	12,07	130.996	8,02	84550	5,179	415.856	25,47	152.252	9,33
12	2	120	1.818.380	29	207.041	11,39	143.262	7,88	95590	5,257	457.668	25,17	172.057	9,46

Anexo G. Resultados del diseño experimental para la extracción por arrastre con vapor en laboratorio de aceite esencial de las hojas de las hojas de *R. officinalis*.

Exp	D <sub>p</sub>	Tiempo (min.)	A <sub>TC</sub> (Cuentas)	Ctos	Alcanfor	Cr (%)	Borneol	Cr (%)	Acetato de Bornilo	Cr (%)	<i>trans</i> -Cariofileno	Cr (%)
1	1	60	4.573.646	26	746.139	16,31	40101	0,877	134244	2,935	377.360	8,25
2	3	180	2.381.941	25	347.372	14,58	15563	0,653	80301	3,371	227.837	9,57
3	3	60	1.039.980	26	160.106	15,4	7799	0,75	32371	3,113	84.104	8,09
4	1	180	3.578.261	25	569.059	15,9	25070	0,701	124343	3,475	344.944	9,64
5	2	120	1.583.312	23	293.152	18,52	13571	0,857	50061	3,162	141.135	8,91
6	2	120	1.954.776	24	322.251	16,49	17596	0,9	53951	2,76	151.234	7,74
7	1	60	4.153.882	26	693.508	16,7	33171	0,799	135953	3,273	383.950	9,24
8	3	180	1.296.328	28	230.386	17,77	11786	0,909	37154	2,866	95.385	7,36
9	3	60	1.108.629	28	201.726	18,2	11723	1,057	27901	2,517	79.122	7,14
10	1	180	2.979.279	28	450.541	15,12	23172	0,778	95614	3,209	254.363	8,54
11	2	120	1.632.572	24	282.404	17,3	15721	0,963	45277	2,773	123.173	7,55
12	2	120	1.818.380	29	322.511	17,74	16789	0,923	52669	2,896	134.690	7,41

Anexo H. Resultados del diseño experimental para la extracción por arrastre con vapor en laboratorio de hojas de *M. pubescens*

Exp	D <sub>P</sub>	Tiempo	A <sub>TC</sub> (Cuentas)	Ctos	ACM (Cuentas)	Linalool	CR (%)	β- Elemeno	CR (%)	<i>trans</i> - Cariofileno	CR (%)	β- Humuleno	CR (%)	α- Humuleno	CR (%)
1	3	60	593167	36	254.040	4.815	0,0812	10.012	1,688	118.859	20,038	4.833	0,815	3336	0,562
2	2	120	987553	26	442.188	5.790	0,586	20.931	2,119	248.567	25,17	9271	0,939	6953	0,704
3	3	180	1276046	27	621.614	13.274	1,04	26.028	2,04	292.431	22,917	9289	0,728	0	0
4	2	120	959106	23	457.728	13.985	1,458	19.431	2,026	230.991	24,084	8600	0,897	5908	0,616
5	1	180	1830354	25	1.062.841	21.160	0,993	39.788	1,868	473.261	22,215	0	0	12907	0,606
6	1	60	361596	29	182.490	6.272	1,732	5.659	1,565	62.991	17,42	2891	0,8	1782	0,493
7	3	60	566610	21	259.832	5.630	0,994	11.197	1,976	134.185	23,682	4734	0,835	3699	0,653
8	2	120	872375	28	400.322	9.644	1,105	17.359	1,99	202.998	23,27	8384	0,961	5684	0,652
9	3	180	1330022	28	556.304	6.140	0,462	25.456	1,914	307.734	23,138	10563	0,794	8824	0,663
10	2	120	632320	22	373.125	15.868	2,509	7.218	1,142	88.234	13,954	4207	0,665	2925	0,463
11	1	180	1682790	24	900.066	13.560	0,806	27.087	1,61	315.678	18,759	13848	0,823	9575	0,569
12	1	60	314881	25	119.544	0	0	8.678	2,756	92.941	29,516	3996	1,269	2484	0,789

Anexo I. Resultados del diseño experimental para la extracción por arrastre con vapor en laboratorio de hojas de *M. pubescens*

Exp	D <sub>P</sub>	Tiempo	A <sub>TC</sub> (Cuentas)	C <sub>tos</sub>	A <sub>CM</sub> (Cuentas)	γ- Selineno	CR (%)	β- Selineno	CR (%)	α- Selineno	CR (%)	γ- Cadineno	CR (%)	cis- Calameneno	CR (%)
1	3	60	593167	36	254.040	7873	1,327	55454	9,349	56712	9,561	8303	1,4	9560	1,612
2	2	120	987553	26	442.188	16920	1,713	112950	11,437	115331	11,678	11518	1,166	17475	1,77
3	3	180	1276046	27	621.614	21319	1,671	137820	10,801	148449	11,634	16609	1,302	21773	1,706
4	2	120	959106	23	457.728	14087	1,469	90900	9,478	100376	10,466	11335	1,182	15781	1,645
5	1	180	1830354	25	1.062.841	31788	1,492	210948	9,902	220240	10,338	24109	1,132	34909	1,639
6	1	60	361596	29	182.490	4594	1,27	32965	9,117	33943	9,387	3373	0,933	5089	1,407
7	3	60	566610	21	259.832	9554	1,686	59104	10,431	65429	11,547	7377	1,302	9868	1,742
8	2	120	872375	28	400.322	13885	1,592	92712	10,628	97576	11,185	10112	1,159	14745	1,69
9	3	180	1330022	28	556.304	19701	1,481	129510	9,737	142074	10,682	15969	1,201	22639	1,702
10	2	120	632320	22	373.125	0	0	43923	6,946	56175	8,884	6870	1,086	8291	1,311
11	1	180	1682790	24	900.066	22693	1,349	148273	8,811	165427	9,831	19382	1,152	24473	1,454
12	1	60	314881	25	119.544	6720	2,134	45225	14,363	40120	12,741	3179	1,01	6356	2,019

Anexo J. Resultados del diseño experimental para la extracción por arrastre con vapor en laboratorio de hojas de *M. pubescens*

Exp	D <sub>P</sub>	Tiempo	A <sub>TC</sub> (Cuentas)	Ctos	A <sub>CM</sub> (Cuentas)	Selino- 3,7(11)- dieno	CR (%)	Oxido de cariofileno	CR (%)	.β- Elemenona	CR (%)	Epoxido de Humuleno II	CR (%)
1	3	60	593167	36	254.040	18452	3,111	26229	4,422	12319	2,077	3143	0,53
2	2	120	987553	26	442.188	34669	3,511	49422	5,004	28388	2,875	6693	0,678
3	3	180	1276046	27	621.614	44675	3,501	61793	4,843	30514	2,391	0	0
4	2	120	959106	23	457.728	31479	3,282	47148	4,916	22452	2,341	6130	0,639
5	1	180	1830354	25	1.062.841	68534	3,217	108207	5,079	48840	2,293	14236	0,668
6	1	60	361596	29	182.490	11443	3,165	14668	4,056	9476	2,621	3170	0,877
7	3	60	566610	21	259.832	20048	3,538	27235	4,807	16388	2,892	3857	0,681
8	2	120	872375	28	400.322	29893	3,427	42344	4,854	22645	2,596	6520	0,747
9	3	180	1330022	28	556.304	44641	3,356	69184	5,202	30868	2,321	8764	0,659
10	2	120	632320	22	373.125	17367	2,747	29214	4,62	21628	3,42	0	0
11	1	180	1682790	24	900.066	51254	3,046	86754	5,155	42814	2,544	0	0
12	1	60	314881	25	119.544	11445	3,635	15138	4,808	14887	4,728	0	0

Anexo K. Resultados del diseño experimental para la extracción de aceite esencial de hojas de *R. officinalis* mediante D.E.S

Exp	D <sub>p</sub>	Tiempo (min.)	A <sub>TC</sub> (Cuentas)	C <sub>tos</sub>	A <sub>CM</sub> (Cuentas)	□-Pino	Cr (%)	Canfeno	Cr (%)	β-Pino	Cr (%)	Mirceno	Cr (%)	1,8-cineol	Cr (%)
1	1	60	1.486.097	26	1.180.767	241.278	16,24	98.729	6,64	29.606	1,992	74.345	5	377.746	25,42
2	3	60	989.254	22	772.118	102.056	10,32	53.761	5,43	21111	2,134	45.007	4,55	244.416	24,71
3	3	150	599.126	17	472.171	68.870	11,5	35.912	5,99	13609	2,271	29.529	4,92	134.748	22,49
4	2	105	1.680.257	23	1.340.251	187.079	11,13	92.712	5,34	24913	1,483	83.140	4,95	438.950	26,12
5	2	105	1.505.199	21	1.190.367	201.790	13,41	96.938	6,44	34171	2,27	79.447	5,28	336.786	22,38
6	1	150	2.686.145	27	2.184.893	366.154	13,63	150.586	5,61	51561	1,92	132.258	4,92	757.761	28,21
7	1	60	1.699.688	21	5.171.463	249.439	14,68	104.931	6,17	31700	1,865	80.948	4,76	456.735	26,87
8	3	60	695.284	23	537.810	58.098	8,36	31.801	4,57	12966	1,865	28.645	4,12	166.229	23,91
9	3	150	506.257	24	393.026	51.197	10,11	26.711	5,27	10477	2,07	24.645	4,87	116.112	22,94
10	2	105	943.467	25	772.634	132.895	9,58	68.306	5,33	7837	2,282	66.764	4,88	281.141	23,62
11	2	105	1.089.643	21	845.665	118.855	10,91	59.078	5,42	22103	2,028	53.311	4,89	243.736	22,37
12	1	150	3.276.620	27	2.681.143	464.493	14,18	196.007	5,98	65669	2,004	154.509	4,72	931.550	28,43

Anexo L. Resultados del diseño experimental para la extracción de aceite esencial de hojas de *R. officinalis* mediante D.E.S

Exp	D <sub>p</sub>	Tiempo (min.)	A <sub>TC</sub> (Cuentas)	Ctos	A <sub>CM</sub> (Cuentas)	Alcanfor	Cr (%)	Borneol	Cr (%)	Acetato de Bornilo	Cr (%)	<i>trans</i> -Cariofileno	Cr (%)
1	1	60	1.486.097	26	1.180.767	359.063	24,16	36534	2,458	16051	1,08	0	0
2	3	60	989.254	22	772.118	305.767	30,91	33190	3,355	17993	1,819	6.758	0,68
3	3	150	599.126	17	472.171	189.503	31,63	20534	3,427	11458	1,912	0	0
4	2	105	1.680.257	23	1.340.251	503.845	29,99	57540	3,424	25425	1,513	6.420	0,38
5	2	105	1.505.199	21	1.190.367	441.235	29,31	54858	3,645	20564	1,366	6.779	0,45
6	1	150	2.686.145	27	2.184.893	726.573	27,05	77743	2,894	25269	0,941	8.527	0,32
7	1	60	1.699.688	21	5.171.463	424.710	24,99	54426	3,202	18273	1,075	8.589	0,51
8	3	60	695.284	23	537.810	240.071	34,53	24920	3,584	12709	1,828	4.067	0,59
9	3	150	506.257	24	393.026	163.884	32,37	16438	3,247	8325	1,644	2.198	0,43
10	2	105	943.467	25	772.634	315.691	33,68	13026	3,793	6762	1,969	2.150	0,63
11	2	105	1.089.643	21	845.665	348.582	31,99	35052	3,217	16600	1,523	5.433	0,5
12	1	150	3.276.620	27	2.681.143	868.915	26,52	93780	2,862	30072	0,918	6.694	0,2

Anexo M. Resultados del diseño experimental para la extracción de aceite esencial de hojas de *M. pubescens* por D.E.S.

Exp	D <sub>P</sub>	Tiempo	A <sub>TC</sub> (Cuentas)	Ctos	A <sub>CM</sub> (Cuentas)	Linalool	CR (%)	β- Elemeno	CR (%)	<i>trans</i> - Cariofileno	CR (%)	β- Selineno	CR (%)
1	3	60	63394	20	40893	444	0,7	1361	2,147	14381	22,685	7134	11,253
2	1	60	518008	21	236930	0	0	0	0	90.503	17,47	64.156	12,39
3	2	105	179275	32	145196	2163	1,278	5078	3	52282	30,886	22177	13,101
4	3	150	17232	15	12228	0	0	453	2,629	5025	29,161	2079	12,065
5	2	105	136616	30	86575	1104	0,665	2299	1,384	22278	13,411	22821	13,738
6	1	150	735756	25	473395	3812	0,518	23335	3,172	133964	18,208	85383	11,605
7	3	60	52489	17	36924	317	0,689	1246	2,374	13346	25,426	6365	12,126
8	1	60	536275	28	380590	0	0	0	0	138.293	13,35	104.851	10,12
9	2	105	177908	24	120712	2194	1,233	5309	2,984	39.106	26,44	18.033	12,19
10	3	150	19364	17	12086	0	0	410	2,117	4641	23,967	1885	9,735
11	2	105	130016	25	88977	1624	1,249	3731	2,87	28859	22,196	14723	11,324
12	1	150	749663	22	441097	3980	0,531	12670	1,69	100184	13,364	57104	7,617

Anexo N. Resultados del diseño experimental para la extracción de aceite esencial de hojas de *M. pubescens* por D.E.S.

	D <sub>p</sub>	Tiempo	ATC (Cuentas)	Ctos	ACM (Cuentas)	α- Selineno	CR (%)	γ- Cadineno	CR (%)	Cis- Calameneno	CR (%)	Selino- 3,7(11)- dieno	CR (%)
1	3	60	63394	20	40893	7399	11,671	1087	1,715	1018	1,606	2124	3,35
2	1	60	518008	21	236930	57.978	11,19	0	0	0	0	0	0
3	2	105	179275	32	145196	23091	13,641	3701	2,186	2870	1,695	5841	3,451
4	3	150	17232	15	12228	2332	13,533	216	1,253	336	1,95	589	3,418
5	2	105	136616	30	86575	11020	6,634	4111	2,475	2369	1,426	7590	4,569
6	1	150	735756	25	473395	81463	11,072	26698	3,629	21214	2,883	41450	5,634
7	3	60	52489	17	36924	6653	12,675	1032	1,966	911	1,736	1813	3,454
8	1	60	536275	28	380590	101.900	9,83	0	0	0	0	0	0
9	2	105	177908	24	120712	18.563	12,55	3848	2,163	2923	1,643	6070	3,412
10	3	150	19364	17	12086	2179	11,253	204	1,054	322	1,663	600	3,099
11	2	105	130016	25	88977	14765	11,356	4611	3,546	3385	2,604	5828	4,483
12	1	150	749663	22	441097	56444	7,529	27378	3,652	16113	2,149	22752	3,035

Anexo O. Resultados del diseño experimental para la extracción de aceite esencial de hojas de *M. pubescens* por D.E.S.

Exp	D <sub>p</sub>	Tiempo	ATC (Cuentas)	Ctos	ACM (Cuentas)	Oxido de cariofileno	CR (%)	β- Elemenona	CR (%)	Kongol	CR (%)	Germacrona	CR (%)
1	3	60	63394	20	40893	2903	4,579	729	1,15	772	1,218	1541	2,413
2	1	60	518008	21	236930	15780	3,05	8513	1,64	0	0	0	0
3	2	105	179275	32	145196	10530	6,221	3949	2,333	1180	0,697	12334	7,286
4	3	150	17232	15	12228	759	4,405	118	0,685	173	1,006	148	0,859
5	2	105	136616	30	86575	2962	1,783	1702	1,025	4081	2,987	4238	3,102
6	1	150	735756	25	473395	27191	3,696	17527	2,382	4447	0,604	6911	0,939
7	3	60	52489	17	36924	2809	5,352	726	1,383	485	0,924	1221	2,326
8	1	60	536275	28	380590	22996	2,22	12550	1,21	0	0	0	0
9	2	105	177908	24	120712	6209	4,2	4462	3,02	1162	0,653	12833	7,213
10	3	150	19364	17	12086	947	4,891	229	1,183	203	1,048	466	2,407
11	2	105	130016	25	88977	2280	1,754	1308	1,006	3847	2,959	4016	3,089
12	1	150	749663	22	441097	47035	6,274	37058	4,943	28071	3,744	32308	4,31

Anexo P. Resultados del diseño experimental para la extracción de aceite esencial de hojas de *R. officinalis* por M.W.H.D. (Se tomó como base de cálculo la potencia del horno microondas de 850W)

Exp	Potencia	Tiempo (min.)	A <sub>TC</sub> (Cuentas)	Ctos	A <sub>CM</sub> (Cuentas)	□-Pino	Cr (%)	Canfeno	Cr (%)	β-Pino	Cr (%)	Mirceno	Cr (%)	1,8-cineol	Cr (%)
1	40	30	1.030.687	30	43.457	4.198	0,41	0	0	850	0,082	2.317	0,25	3.715	0,36
2	80	30	8.060.984	28	6.986.344	478.642	5,94	503.998	6,25	351048	4,355	2.031.931	25,21	1.400.458	17,37
3	40	60	6.943.165	31	6.002.046	431.931	6,22	460.064	6,63	315769	4,548	1.753.063	25,25	1.207.466	17,39
4	60	45	7.605.557	28	6.555.797	443.527	5,83	473.667	6,23	340211	4,473	1.966.776	25,86	1.307.606	17,19
5	80	60	5.003.980	26	4.415.419	319.491	6,39	329.179	6,58	225900	4,514	1.286.676	25,71	930.182	18,59
6	60	45	6.711.153	25	5.830.291	435.114	6,48	453.184	6,75	311706	4,645	1.757.367	26,19	1.155.271	17,21
7	40	30	1.140.787	31	860.380	66.622	5,84	69.588	6,1	1106	0,097	268.084	23,5	171.118	15
8	80	30	8.654.899	27	6.761.901	467.531	5,4	492.887	5,69	383585	4,432	1.920.820	22,19	1.399.348	16,17
9	40	60	6.854.777	30	5.770.792	422.020	6,16	459.953	6,71	309150	4,51	1.642.952	23,97	1.196.355	17,45
10	60	45	6.125.879	29	6.668.586	454.638	7,42	464.556	7,58	263290	4,298	1.855.666	30,29	1.418.717	23,16
11	80	60	4.992.871	25	4.756.744	328.502	6,58	340.280	6,82	224529	4,497	1.397.787	28	1.041.293	20,86
12	60	45	6.988.566	26	6.086.845	450.338	6,44	442.073	6,33	323550	4,71	1.681.475	24,06	1.266.382	18,12

Anexo Q. Resultados del diseño experimental para la extracción de aceite esencial de hojas de *R. officinalis* por M.W.H.D. (Se tomó como base de cálculo la potencia del horno microondas de 850W)

Exp	Potencia	Tiempo (min.)	A <sub>TC</sub> (Cuentas)	Ctos	A <sub>CM</sub> (Cuentas)	Alcanfor	Cr (%)	Borneol	Cr (%)	Acetato de Bornilo	Cr (%)	trans-Cariofileno	Cr (%)
1	40	30	1.030.687	30	43.457	12.506	1,21	926	0,09	0	0	194.704	18,89
2	80	30	8.060.984	28	6.986.344	2.220.267	27,54	101.126	1,255	218532	2,711	145.755	1,81
3	40	60	6.943.165	31	6.002.046	1.833.753	26,41	88.270	1,271	194467	2,801	90.749	1,31
4	60	45	7.605.557	28	6.555.797	2.024.010	26,61	97.999	1,289	201778	2,653	123.641	1,63
5	80	60	5.003.980	26	4.415.419	1.323.991	26,46	42.521	0,85	105077	2,1	73.946	1,48
6	60	45	6.711.153	25	5.830.291	1.723.649	25,68	81031	1,2	177712	2.648	91.386	1,36
7	40	30	1.140.787	31	860.380	261.240	22,9	1.117	0,098	0	0	23.728	2,08
8	80	30	8.654.899	27	6.761.901	2.119.156	24,49	112.687	1,302	242510	2,802	134.644	1,56
9	40	60	6.854.777	30	5.770.792	1.722.642	25,13	85.959	1,254	191591	2,795	89.630	1,31
10	60	45	6.125.879	29	6.668.586	2.135.909	34,87	75.470	1,232	159028	2,596	111.532	1,82
11	80	60	4.992.871	25	4.756.744	1.434.882	28,74	40.243	0,806	104750	2,098	64.055	1,28
12	60	45	6.988.566	26	6.086.845	1.923.759	27,53	79022	1,1	169825	2,51	82.395	1,18

Anexo R. Resultados del diseño experimental para la extracción de aceite esencial de hojas de *M. pubescens* por M.W.H.D. (Se tomó como base de cálculo la potencia del horno microondas de 850W)

Exp	Potencia	Tiempo (min.)	A <sub>TC</sub> (Cuentas)	Ctos	A <sub>CM</sub> (Cuentas)	Linalool	CR (%)	β-Elemeno	CR (%)	<i>trans</i> -Cariofileno	CR (%)	β-Selineno	CR (%)
1	40	60	580.665	17	324852	6544	1,127	11045	1,902	111399	19,185	48856	8,414
2	60	45	703.227	22	387196	8400	1,194	13451	1,913	133216	18,944	59533	8,466
3	80	60	830.297	21	464212	10720	1,291	17590	2,119	176290	21,232	70.744	8,52
4	40	30	620.460	24	341578	0	0	12494	2,014	122790	19,79	53720	8,658
5	60	45	642.139	16	377163	13016	2,027	13992	2,179	134156	20,892	58767	9,152
6	80	30	1.364.016	18	753751	16822	1,233	26.052	1,91	251.746	18,456	120.867	8,861
7	40	60	658.444	18	334628	8013	1,217	13300	2,02	102.400	15,55	49.967	7,59
8	60	45	785.568	21	415853	10385	1,322	16567	2,109	139.636	17,78	58.622	7,46
9	80	60	791.396	22	466974	8515	1,076	15725	1,987	186.390	23,55	69.855	8,83
10	40	30	659.888	25	364018	8558	1,053	14722	2,231	132.181	20,03	55.895	8,47
11	60	45	741.111	17	389660	16638	2,245	17349	2,341	129.199	17,43	59.118	7,98
12	80	30	1.175.126	18	707094	12903	1,098	21881	1,862	240.855	20,5	122.659	10,44

Anexo S. Resultados del diseño experimental para la extracción de aceite esencial de hojas de *M. pubescens* por M.W.H.D. (Se tomó como base de cálculo la potencia del horno microondas de 850W)

Exp	Potencia	Tiempo (min.)	A <sub>TC</sub> (Cuentas)	Ctos	A <sub>CM</sub> (Cuentas)	α-Selineno	CR (%)	γ-Cadineno	CR (%)	Cis-Calameneno	CR (%)	Zonareno	CR (%)
1	40	60	580.665	17	92226	49455	8,517	5.327	0,917	8.578	1,477	17657	3,041
2	60	45	703.227	22	104630	62031	8,821	5935	0,844	10057	1,43	20601	2,929
3	80	60	830.297	21	108110	74.017	8,915	6.741	0,812	12.853	1,548	25.400	3,059
4	40	30	620.460	24	89775	57181	9,216	5618	0,905	9242	1,49	18850	3,038
5	60	45	642.139	16	95371	61861	9,634	0	0	10490	1,634	19920	3,102
6	80	30	1.364.016	18	209798	117.256	8,596	11.210	0,822	20.298	1,488	39.365	2,886
7	40	60	658.444	18	103080	51.244	7,78	6624	1,006	9923	1,507	20563	3,123
8	60	45	785.568	21	120266	63.142	8,04	7235	0,921	11530	1,52	23465	2,987
9	80	60	791.396	22	106246	73.999	9,35	6244	0,789	11364	1,436	23623	2,985
10	40	30	659.888	25	96910	58.001	8,79	6309	0,956	10307	1,562	20668	3,132
11	60	45	741.111	17	107467	59.889	8,08	0	0	12258	1,654	23797	3,211
12	80	30	1.175.126	18	183941	115.336	9,81	9519	0,81	17768	1,512	32269	2,746

Anexo T. Resultados del diseño experimental para la extracción de aceite esencial de hojas de *M. pubescens* por M.W.H.D. (Se tomó como base de cálculo la potencia del horno microondas de 850W)

Exp	Potencia	Tiempo (min.)	A <sub>TC</sub> (Cuentas)	Ctos	A <sub>CM</sub> (Cuentas)	Selino-3,7(11)-dieno	CR (%)	Oxido de cariofileno	CR (%)	.β-Elemenona	CR (%)	Germacrona	CR (%)
1	40	60	580.665	17	92226	17632	3,037	21.686	3,735	5.643	0,972	21030	3,622
2	60	45	703.227	22	104630	21642	3,078	22070	3,138	5940	0,845	24320	3,458
3	80	60	830.297	21	108110	26374	3,176	21.091	2,54	0	0	25334	3,051
4	40	30	620.460	24	89775	19770	3,186	16938	2,73	3771	0,608	21204	3,417
5	60	45	642.139	16	95371	20450	3,185	16925	2,636	5194	0,809	22392	3,487
6	80	30	1.364.016	18	209798	42.289	3,1	37.238	2,73	11.590	0,85	59.018	4,327
7	40	60	658.444	18	103080	20629	3,133	20.787	3,16	6532	0,992	24646	3,743
8	60	45	785.568	21	120266	24533	3,123	26.031	3,31	6882	0,876	27825	3,542
9	80	60	791.396	22	106246	24517	3,098	20.199	2,55	0	0	26543	3,354
10	40	30	659.888	25	96910	21473	3,254	17.222	2,61	4335	0,657	22905	3,471
11	60	45	741.111	17	107467	22959	3,098	16.200	2,19	6388	0,862	25865	3,49
12	80	30	1.175.126	18	183941	36276	3,087	38.566	3,28	9530	0,811	49532	4,215

Anexo U. Resultados del diseño experimental para la obtención de aceite esencial de hojas de *R. officinalis* por arrastre con vapor en planta piloto.

Exp.	Presión	Tiempo	A <sub>TC</sub>	PR	Ctos	ACM	α-Pineno	Cr (%)	Canfeno	Cr (%)	β-Pineno	Cr (%)	Mirceno	Cr (%)	1,8-Cineol	Cr (%)
1	1	30	6.690.662	0,543	38	5.130.667	598.453	8,95	566.814	8,47	418466	6,254	2.323.359	34,73	337.580	5,05
2	3	150	6.619.667	0,334	29	5.328.117	720.125	10,88	645.725	9,76	445976	6,737	2.397.780	36,22	0	0
3	0,59	90	6.705.005	1,33	38	5.287.024	605.488	9,03	563.440	8,4	413759	6,171	2.240.583	33,42	406.808	6,07
4	2	90	10.115.588	1,19	38	7.768.588	594.488	5,88	619.907	6,13	438899	6,192	2.547.966	25,19	1.032.398	10,21
5	2	174,853	8.920.012	1,076	35	6.915.960	736.985	8,26	714.059	8,01	538401	6,036	3.075.879	34,48	423.173	4,74
6	2	90	11.494.166	0,98	35	345.518	25.098	0,22	25.860	0,23	23710	0,206	177.581	1,55	20.552	0,18
7	3	30	6.863.437	0,476	35	5.345.458	390.435	5,69	374.859	5,46	304431	4,436	1.777.538	25,9	1.007.038	14,67
8	3,41	90	1.459.737	0,12	39	1.093.370	115.175	7,89	112.200	7,69	83599	5,727	475.618	32,58	107.058	7,33
9	1	150	7.619.112	1,22	45	5.873.272	694.963	9,12	644.804	8,46	469184	6,158	2.604.788	34,19	368.597	4,84
10	2	90	9.866.977	1,05	43	7.323.087	614.741	6,23	636.986	6,46	519713	5,267	3.158.087	32,01	0	0
11	2	5,14719	7.451.344	0,78	35	5.531.903	305.579	4,1	304.451	4,09	265366	3,561	1.757.040	23,58	992.327	13,17
12	2	90	9.985.411	1,01	40	7.861.797	694.488	6,96	616.097	6,17	428614	4,156	2.947.976	29,52	932.397	9,34

Anexo V. Resultados del diseño experimental para la obtención de aceite esencial de hojas de *R. officinalis* por arrastre con vapor en planta piloto.

Exp.	Presión	Tiempo	A <sub>TC</sub>	PR	Ctos	ACM	Alcanfor	Cr (%)	Borneol	Cr (%)	Acetato de Bornilo	Cr (%)	<i>trans</i> -Cariofileno	Cr (%)
1	1	30	6.690.662	0,543	38	5.130.667	512.270	7,66	20894	0,312	250407	3,743	792.191	11,84
2	3	150	6.619.667	0,334	29	5.328.117	1.158.121	17,5	41388	0,625	167668	2,533	406.366	6,14
3	0,59	90	6.705.005	1,33	38	5.287.024	897.536	13,39	32815	0,489	202561	3,021	573.169	8,55
4	2	90	10.115.588	1,19	38	7.768.588	1.989.838	19,67	72222	0,49	390085	4,205	983.991	10,73
5	2	174,853	8.920.012	1,076	35	6.915.960	905.178	10,15	35846	0,402	348833	3,911	1.060.686	11,89
6	2	90	11.494.166	0,98	35	345.518	96.427	0,84	11345	0,099	1106465	9,626	0	0
7	3	30	6.863.437	0,476	35	5.345.458	911.269	13,28	40927	0,596	283314	4,128	899.895	13,11
8	3,41	90	1.459.737	0,12	39	1.093.370	132.237	9,06	5335	0,365	49854	3,415	151.082	10,35
9	1	150	7.619.112	1,22	45	5.873.272	768.960	10,09	30417	0,399	266512	3,498	791.160	10,38
10	2	90	9.866.977	1,05	43	7.323.087	1.708.050	17,31	78748	0,798	448737	4,548	1.205.223	12,22
11	2	5,14719	7.451.344	0,78	35	5.531.903	747.507	10,03	42014	0,564	413092	5,544	1.424.999	19,12
12	2	90	9.985.411	1,01	40	7.861.797	1.587.838	15,9	67737	0,605	0	0	1.083.001	10,85

Anexo W. Resultados del diseño experimental para la obtención de aceite de hojas de *M. pubescens* por arrastre con vapor en planta piloto.

Exp.	Presión	Tiempo	ATC	PR	Ctos	Linalool	CR (%)	$\alpha$ -Cubebeno	CR (%)	$\alpha$ -Copaeno	CR (%)	$\beta$ -Elemeno	CR (%)	$\alpha$ -Selineno	CR (%)
1	2	90	4676608	0,1725	33	10793	0,231	4840	0,103	7199	0,154	62907	1,345	325181	6,953
2	3	30	1522884	0,18	26	18781	1,233	0	0	0	0	29086	1,91	130913	8,596
3	1	150	5265887	0,2175	35	23900	0,454	8610	0,164	12508	0,238	104214	1,979	455564	8,651
4	3,41421	90	768918	0,1648	13	0	0	0	0	0	0	15345	1,996	72092	9,376
5	2	90	3859409	0,185	31	3601	0,093	3799	0,098	5504	0,143	52420	1,358	299052	7,749
6	0,585786	90	3920501	0,205	22	0	0	2610	0,089	3952	0,135	37904	1,298	216406	7,41
7	3	150	685541	0,105	16	8188	1,194	0	0	0	0	13113	1,913	60471	8,821
8	1	30	4612741	0,1375	33	20093	0,436	0	0	8350	0,181	73209	1,587	327278	7,095
9	2	90	4573277	0,175	32	47140	1,031	10620	0,232	13788	0,301	109249	2,389	417567	9,131
10	2	90	3988488	0,1663	30	3698	0,093	3801	0,095	5547	0,139	53765	1,348	299762	7,516
11	2	5,14719	2843681	0,1773	26	13102	0,461	4199	0,148	6417	0,226	54794	1,927	264028	9,285
12	2	174,853	2290987	0,1925	22	0	0	1493	0,065	2361	0,103	25713	1,122	167760	7,323

Anexo X. Resultados del diseño experimental para la obtención de aceite de hojas de *M. pubescens* por arrastre con vapor en planta piloto.

Exp.	Presión	Tiempo	ATC	PR	Ctos	Y- Cadineno	CR (%)	cis- Calameneno	CR (%)	Zonareno	CR (%)	cis- Cariofileno	CR (%)	trans- Cariofileno	CR (%)
1	2	90	4676608	0,1725	33	35056	0,75	59339	1,269	23397	0,5	5539	0,118	615234	13,156
2	3	30	1522884	0,18	26	12516	0,822	22662	1,488	0	0	0	0	281067	18,456
3	1	150	5265887	0,2175	35	45732	0,868	83931	1,594	32569	0,618	10524	0,2	1188581	22,571
4	3,41421	90	768918	0,1648	13	8220	1,069	13239	1,722	0	0	0	0	174835	22,738
5	2	90	3859409	0,185	31	32297	0,837	54107	1,402	21466	0,556	5119	0,133	531162	13,763
6	0,585786	90	3920501	0,205	22	23994	0,822	39511	1,353	0	0	3529	0,121	400066	13,699
7	3	150	685541	0,105	16	5786	0,844	9804	1,43	0	0	0	0	129866	18,944
8	1	30	4612741	0,1375	33	33190	0,72	62592	1,357	0	0	11082	0,24	741784	16,081
9	2	90	4573277	0,175	32	43063	0,942	71797	1,57	28330	0,619	8228	0,18	1223115	26,745
10	2	90	3988488	0,1663	30	33168	0,832	55095	1,381	22084	0,554	5154	0,129	532121	13,341
11	2	5,14719	2843681	0,1773	26	28176	0,991	47542	1,672	16585	0,583	4733	0,166	562047	19,765
12	2	174,853	2290987	0,1925	22	17917	.782	30429	1,328	11104	0,485	0	0	282153	12,316

Anexo Y. Resultados del diseño experimental para la obtención de aceite de hojas de *M. pubescens* por arrastre con vapor en planta piloto.

Exp.	Presión	Tiempo	ATC	PR	Ctos	$\alpha$ -Humuleno	CR (%)	$\beta$ -Selineno	CR (%)	Selino-3,7(11)-dieno	CR (%)	Oxido de cariofileno	CR (%)
1	2	90	4676608	0,1725	33	19819	0,424	320483	6,853	128644	2,751	158845	3,397
2	3	30	1522884	0,18	26	7717	0,507	134944	8,861	47214	3,1	48565	3,189
3	1	150	5265887	0,2175	35	30866	0,586	448224	8,512	166597	3,164	224439	4,262
4	3,41421	90	768918	0,1648	13	0	0	63807	8,298	26516	3,448	31838	4,141
5	2	90	3859409	0,185	31	17193	0,445	293364	7,601	119334	3,092	164898	4,273
6	0,585786	90	3920501	0,205	22	12442	0,426	192486	6,591	85933	2,942	118234	4,048
7	3	150	685541	0,105	16	4080	0,595	58036	8,466	20083	2,929	24271	3,54
8	1	30	4612741	0,1375	33	22699	0,492	326743	7,083	119118	2,582	160862	3,487
9	2	90	4573277	0,175	32	29833	0,652	413881	9,05	143520	3,138	184835	4,042
10	2	90	3988488	0,1663	30	17388	0,436	294321	7,379	119456	2,995	173270	4,344
11	2	5,14719	2843681	0,1773	26	14833	0,522	258188	9,079	97821	3,44	125376	4,409
12	2	174,853	2290987	0,1925	22	8112	0,354	159610	6,967	61796	15404	73635	3,214

Anexo Z. Resultados del diseño experimental para la obtención de aceite de hojas de *M. pubescens* por arrastre con vapor en planta piloto.

Exp.	Presión	Tiempo	ATC	PR	Ctos	$\beta$ - Elemenona	CR (%)	Epoxido de Humuleno II	CR (%)	Kongol	CR (%)	Germacrona	CR (%)
1	2	90	4676608	0,1725	33	63119	1,35	73616	1,574	39398	0,84	217402	4,649
2	3	30	1522884	0,18	26	26346	1,73	0	0	23440	1,539	0	0
3	1	150	5265887	0,2175	35	70886	1,346	74009	1,405	46954	0,892	249345	4,735
4	3,41421	90	768918	0,1648	13	0	0	0	0	0	0	0	0
5	2	90	3859409	0,185	31	67728	1,755	50267	1,302	43779	1,134	242855	6,293
6	0,585786	90	3920501	0,205	22	49959	1,711	42440	1,453	0	0	0	0
7	3	150	685541	0,105	16	5791	0,845	0	0	11410	1,664	0	0
8	1	30	4612741	0,1375	33	65313	1,416	0	0	37403	0,811	241872	5,244
9	2	90	4573277	0,175	32	58703	1,284	43587	0,953	0	0	140868	3,08
10	2	90	3988488	0,1663	30	68345	1,714	50611	1,269	44108	1,105	247412	6,203
11	2	5,14719	2843681	0,1773	26	49048	1,725	23861	0,839	0	0	123639	4,348
12	2	174,853	2290987	0,1925	22	41649	1,818	0	0	0	0	120019	5,239

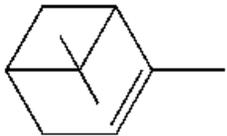
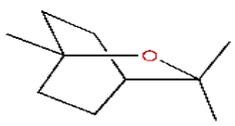
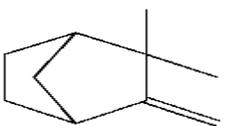
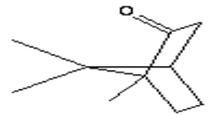
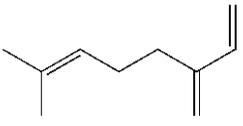
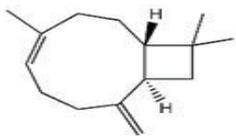
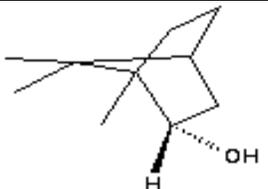
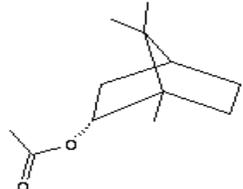
Anexo 1. Movimiento de compuestos en la destilación fraccionada al vacío del aceite esencial de *R. officinalis*

Fracción	T°	Área en cuentas							
		$\alpha$ -Pino	Canfeno	$\beta$ -Pino	Mirceno	1,8-Cineol	Alcanfor	Borneol	Acetato de Bornilo
F1	86	0	2.808	2.502	0	4.052	0	0	0
F2	64	357.220	501.391	662.027	4.883.135	670.791	0	32.522	140.569
F3	44	1.120.830	1.123.381	952.911	4.877.921	0	157.013	0	0
F4	40	913.373	950.535	779.500	3.308.262	421.244	25.638	0	0
F5	24	1.148.756	1.090.761	739.222	2.448.567	565.041	12.056	0	2.203

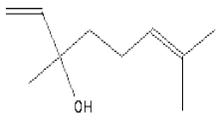
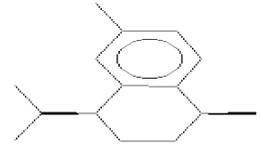
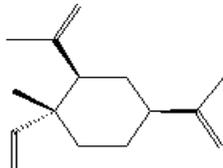
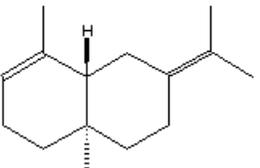
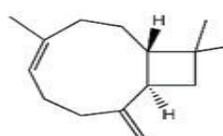
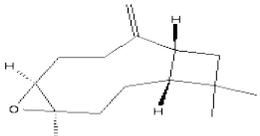
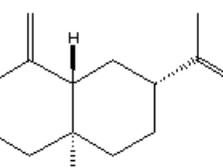
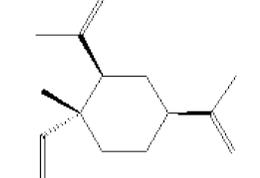
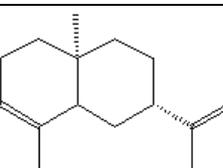
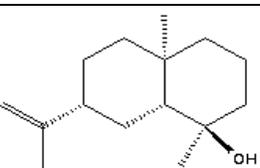
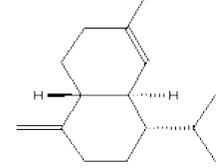
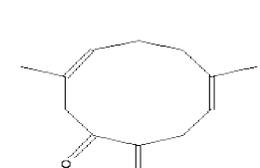
Anexo 2. Movimiento de compuestos en la destilación fraccionada al vacío del aceite esencial de *M. pubencens*

Fracción	T°	Área en Cuentas												
		$\alpha$ -Cubebeno	$\alpha$ -Copaeno	$\beta$ -Elemeno	<i>cis</i> -Cariofileno	<i>trans</i> -Cariofileno	$\alpha$ -Humuleno	$\beta$ -Selineno	$\alpha$ -Selineno	$\gamma$ -Cadineno	<i>Cis</i> -Calameneno	Zonareno	Selino-3,7(11)-dieno	Oxido de cariofileno
F1	90	0	0	35272	0	371212	11200	224075	242839	32200	69771	30851	98476	13069
F2	78	12015	66371	8642	0	10633	32851	0	21052	15869	70461	0	0	0
F3	74	12896	6908	0	694944	8766	0	0	0	70679	74535	0	8084	0
F4	72	8631	0	5151	459349	5918	12161	10994	22161	34775	35643	0	0	0
F5	65	0	40992	205583	0	2168190	0	174241	170750	0	0	0	30122	0
F6	44	0	6613	49595	0	491531	12935	197760	204456	23021	42282	15371	71113	627194

Anexo 3. Estructura química de los compuestos mayoritarios en el aceite esencial de *R. officinalis*

COMPUESTO	ESTRUCTURA QUÍMICA	COMPUESTO	ESTRUCTURA QUÍMICA
$\alpha$ -Pinoeno		1,8-Cineol	
Canfeno		Alcanfor	
Mirceno		<i>trans</i> -Cariofileno	
$\beta$ -Pinoeno		Borneol	
Acetato de Bornoilo			

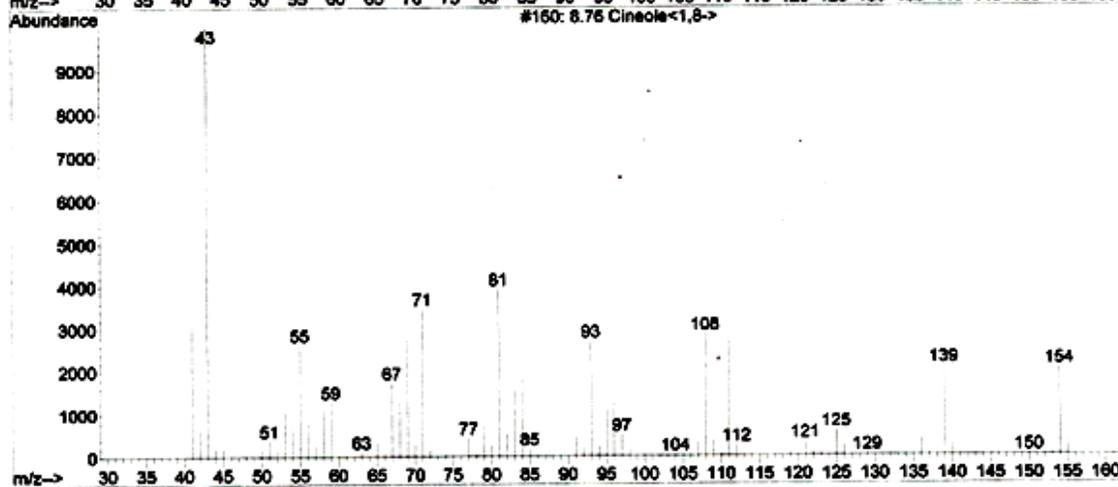
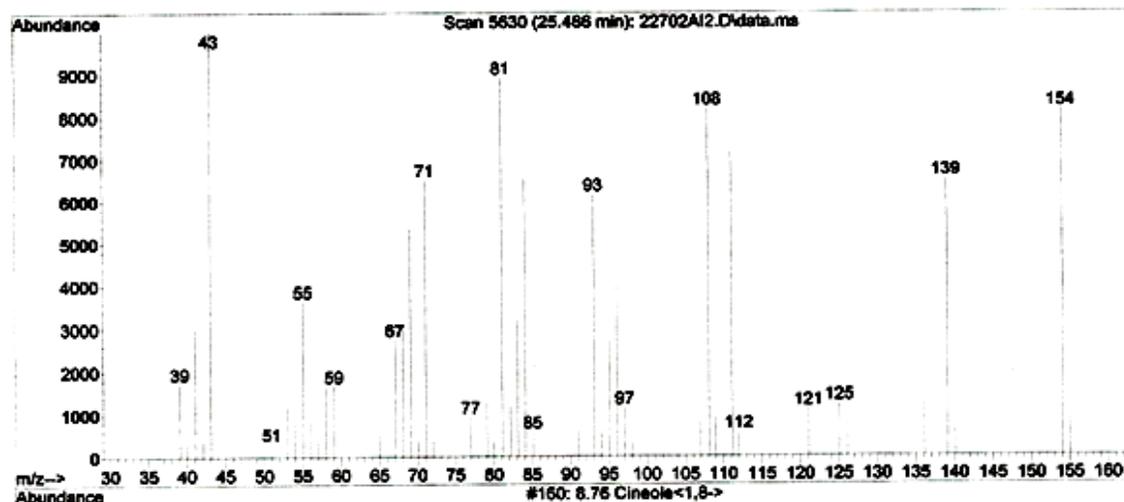
Anexo 4. Estructura química de los compuestos mayoritarios en el aceite esencial de *M. pubescens*

COMPUESTO	ESTRUCTURA QUIMICA	COMPUESTO	ESTRUCTURA QUIMICA
Linalool		Cis-Calameneno	
$\beta$ -Elemeno		Selino-3,7(11)-dieno	
<i>trans</i> -Cariofileno		Oxido de cariofileno	
$\beta$ -Selineno		$\beta$ -Elemeno	
$\alpha$ -Selineno		Kongol	
$\gamma$ -Cadineno		Germacrona	

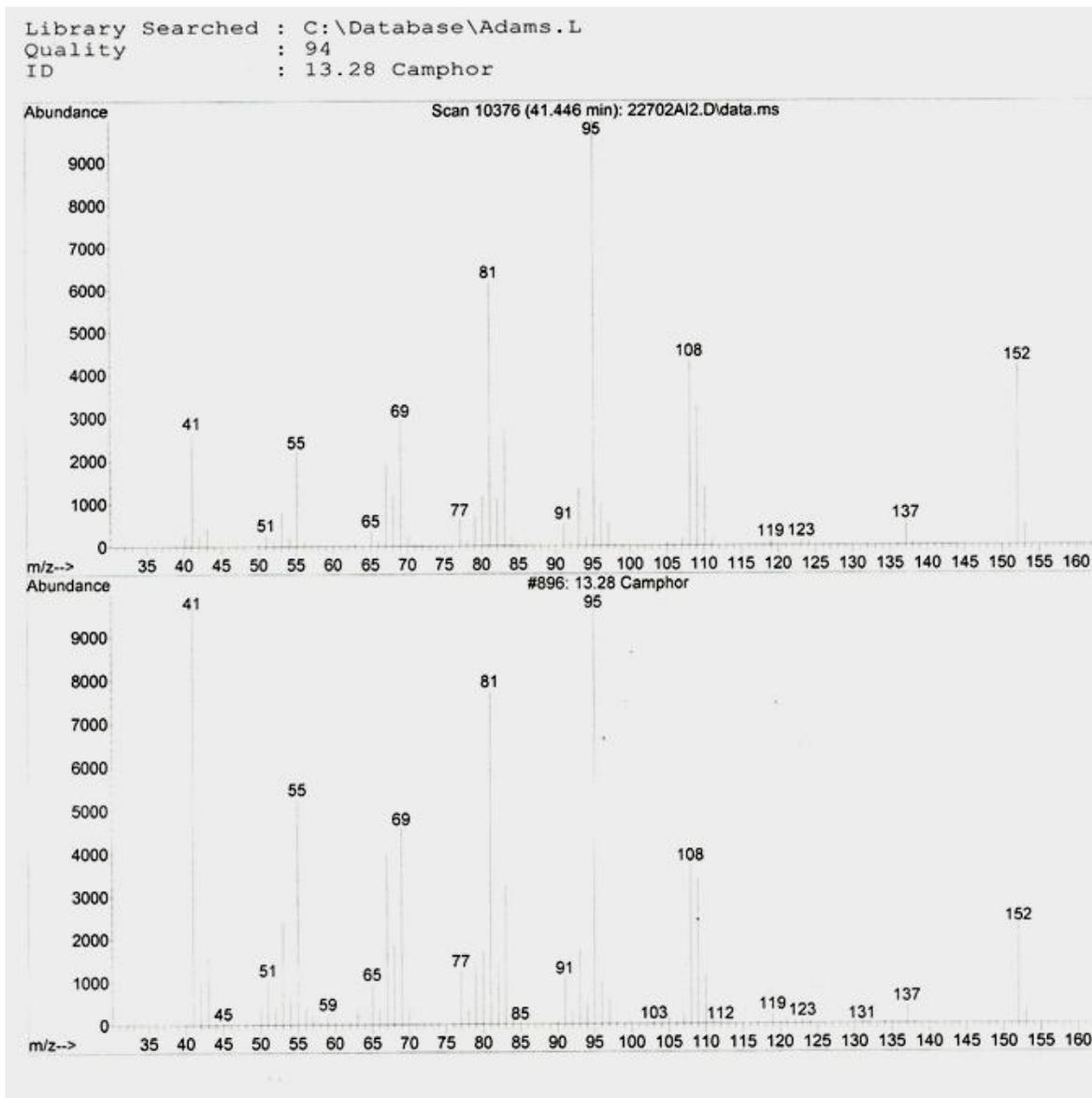
Anexo 5. Espectros de masas de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de *R. officinalis*: 1,8-Cineol, Alcanfor, Mirceno,  $\alpha$ -Pineno, Canfeno

# Espectro de masas 1,8-cineol

Library Searched : C:\Database\Adams.L  
Quality : 90  
ID : 8.76 Cineole<1,8->

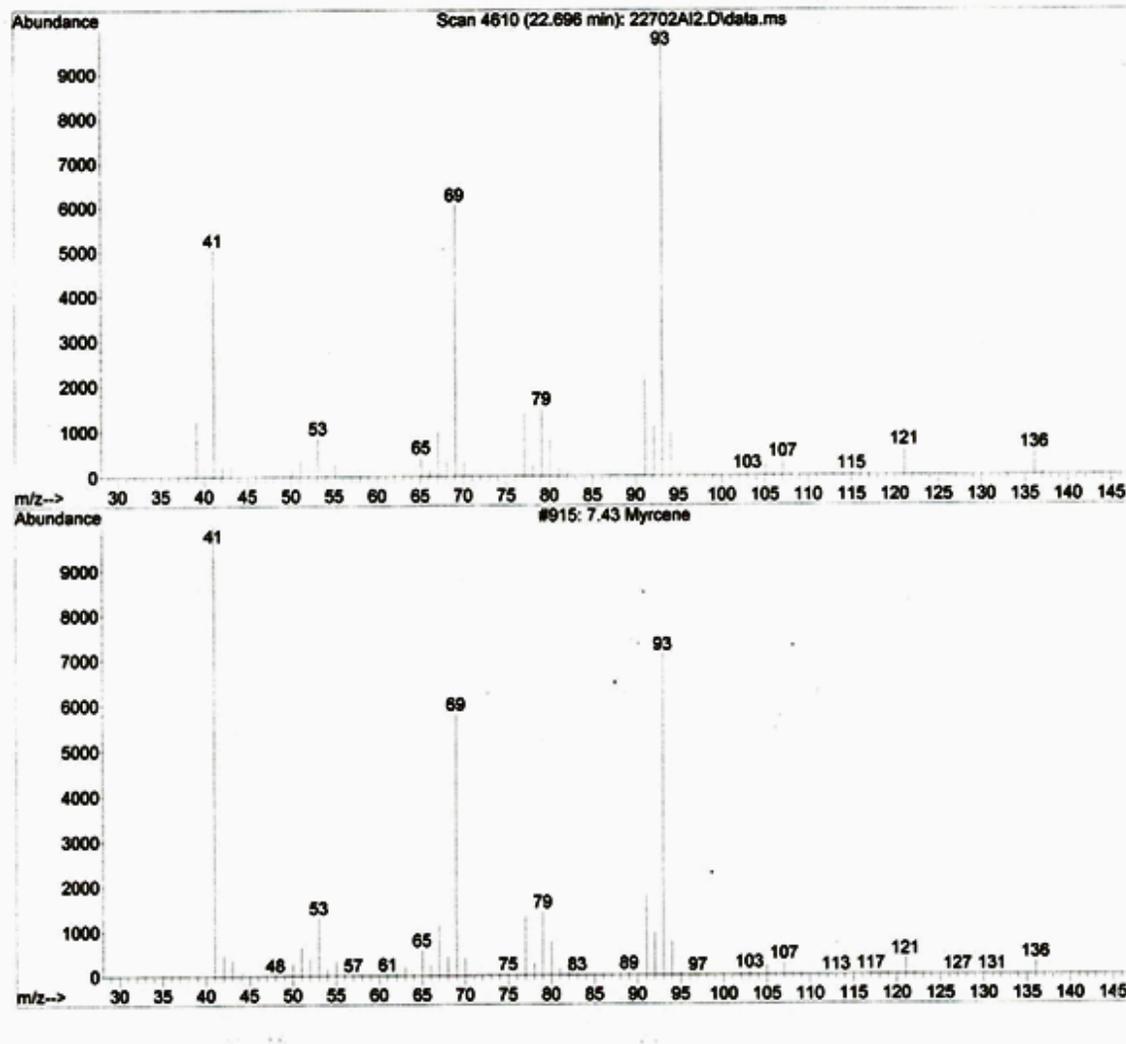


# Espectro de masas alcanfor

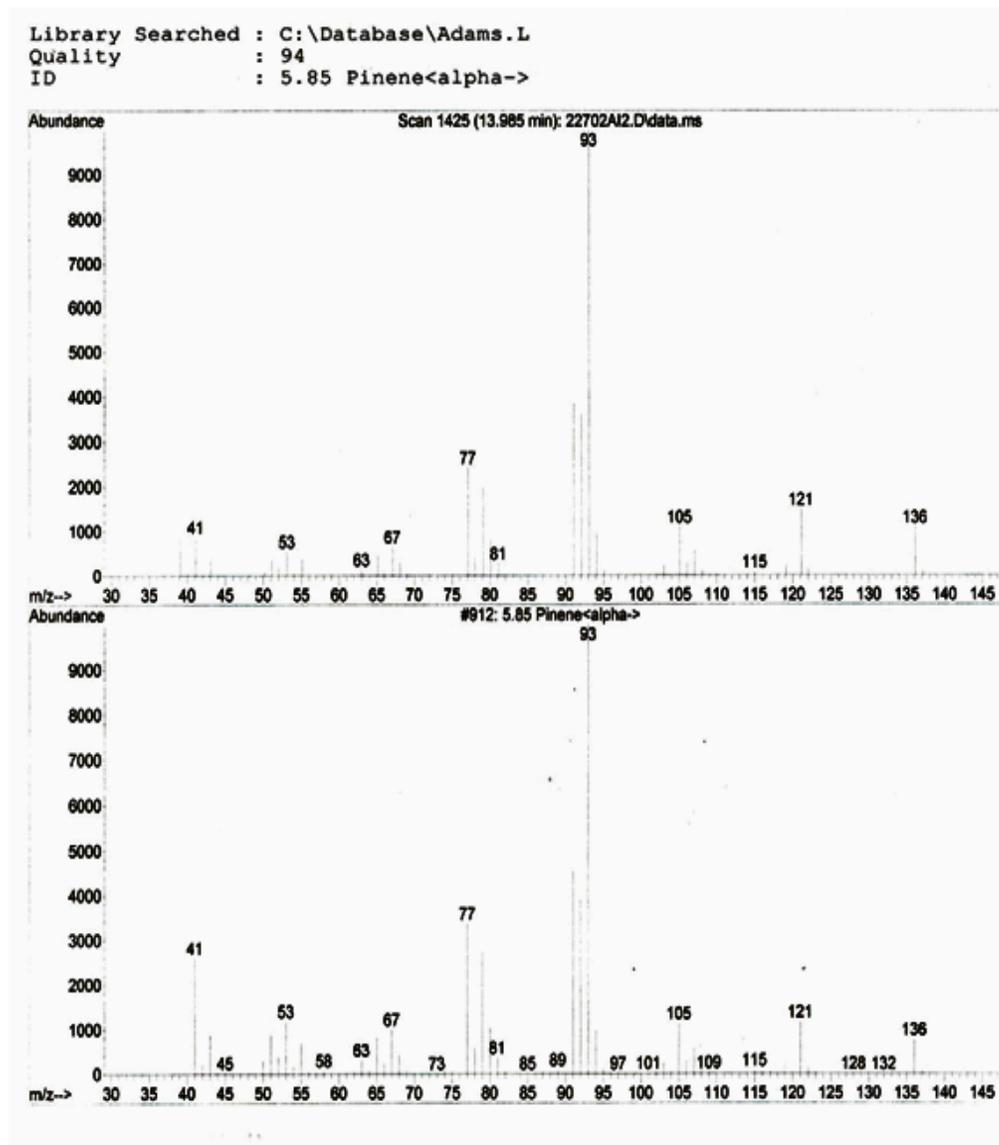


# Espectro de masas mirceno

Library Searched : C:\Database\Adams.L  
Quality : 94  
ID : 7.43 Myrcene

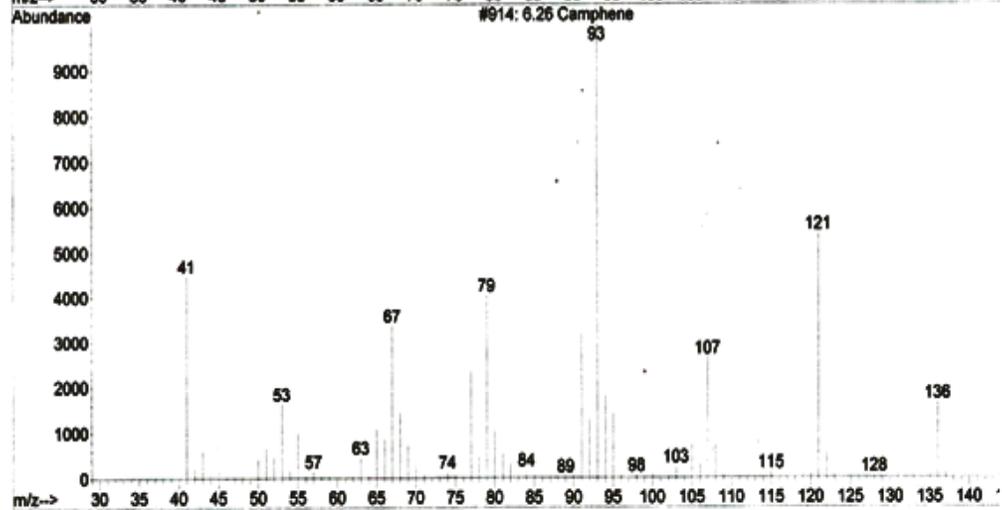
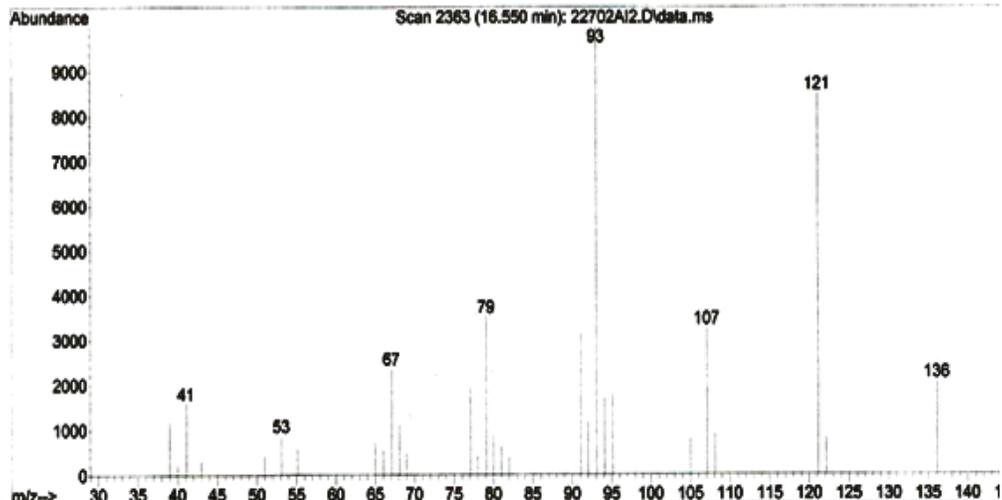


# Espectro de masas $\alpha$ -pineno



# Espectro de masas canfeno

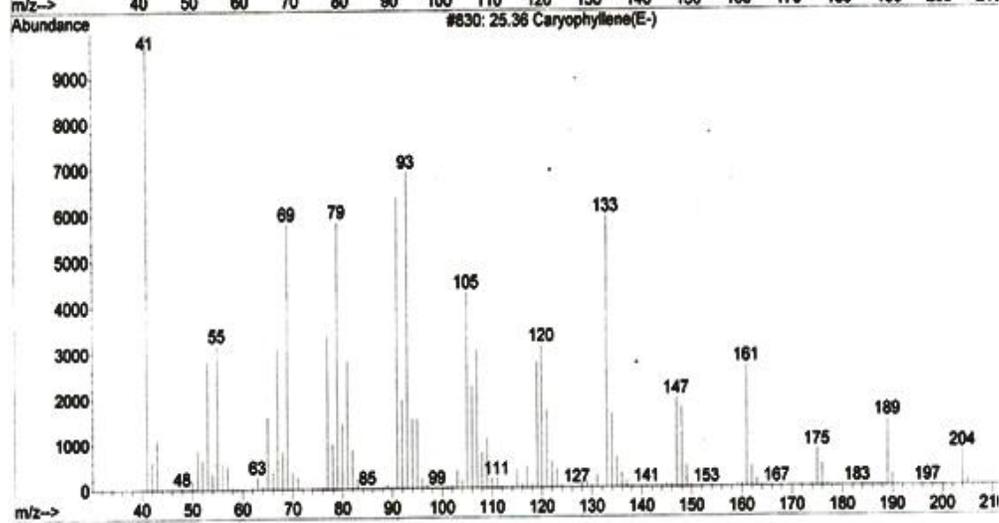
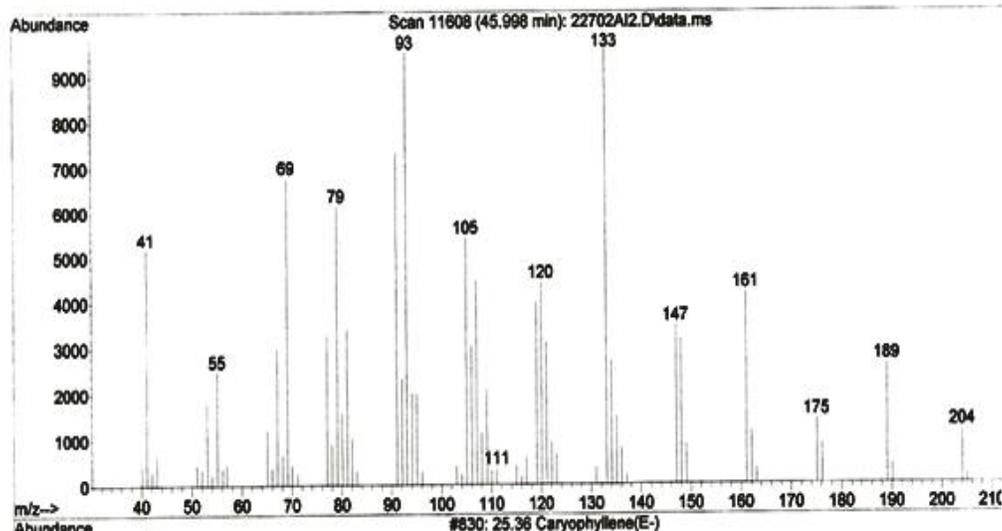
Library Searched : C:\Database\Adams.L  
Quality : 97  
ID : 6.26 Camphene



Anexo 6 Espectros de masas de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de *M. pubescens*: *trans*-Cariofileno,  $\alpha$ - Selineno,  $\beta$ -Selineno, Selino-3,7(11)-dieno

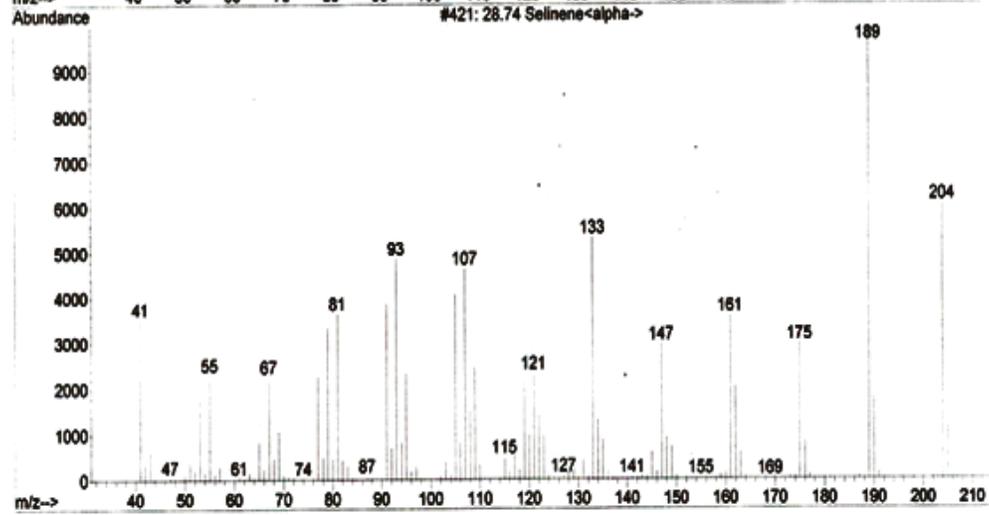
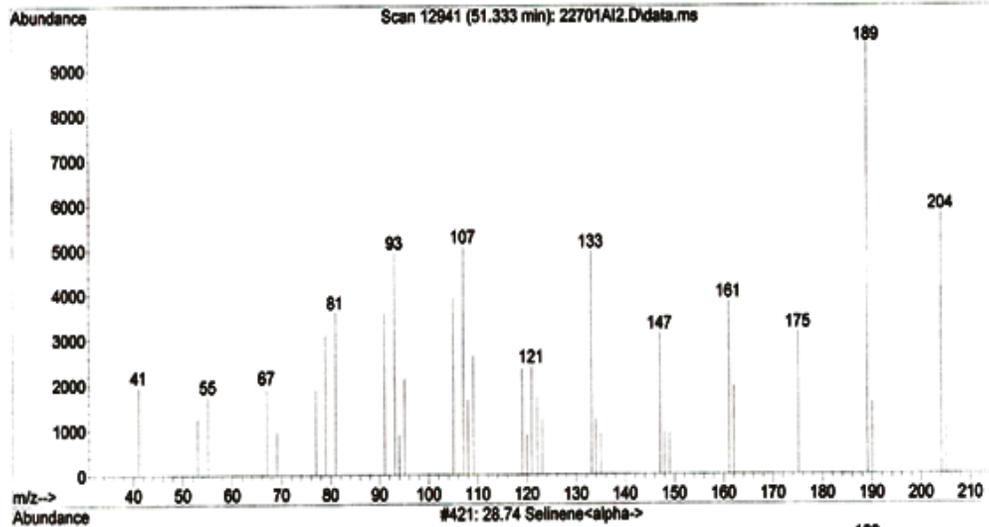
Espectro de masas *trans*-cariofileno

Library Searched : C:\Database\Adams.L  
Quality : 99  
ID : 25.36 Caryophyllene(E-)



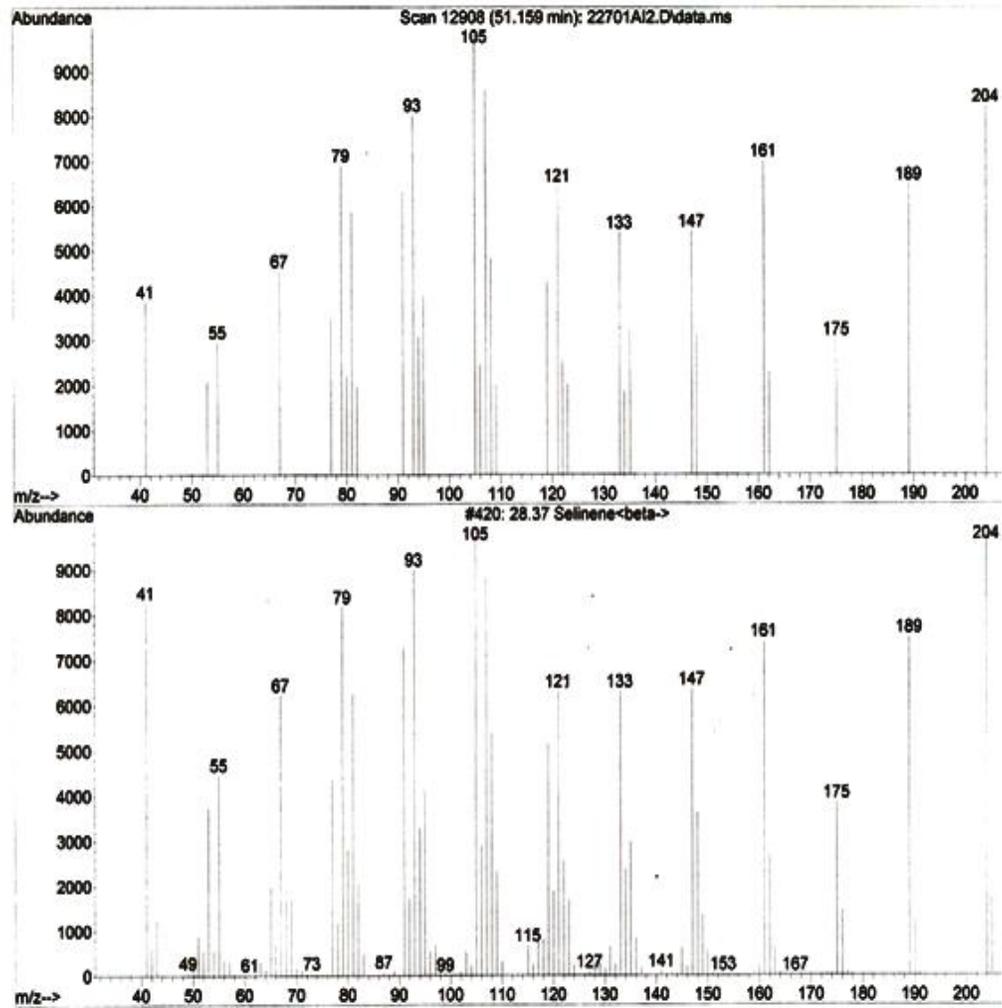
# Espectro de masas $\alpha$ -selineno

Library Searched : C:\Database\Adams.L  
Quality : 99  
ID : 28.74 Selinene<alpha->



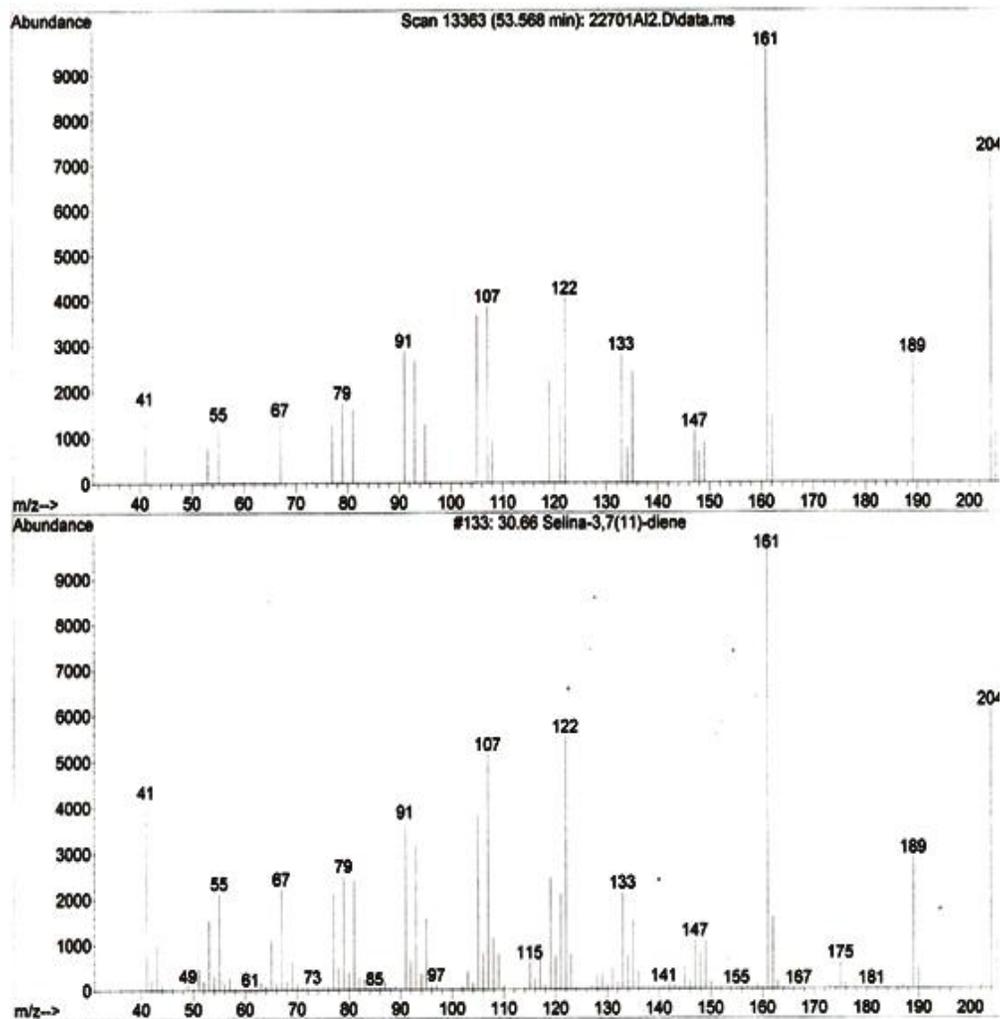
# Espectro de masas $\beta$ -selineno

Library Searched : C:\Database\Adams.L  
Quality : 99  
ID : 28.37 Selinene<beta->

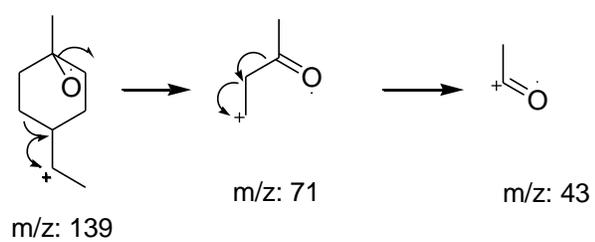
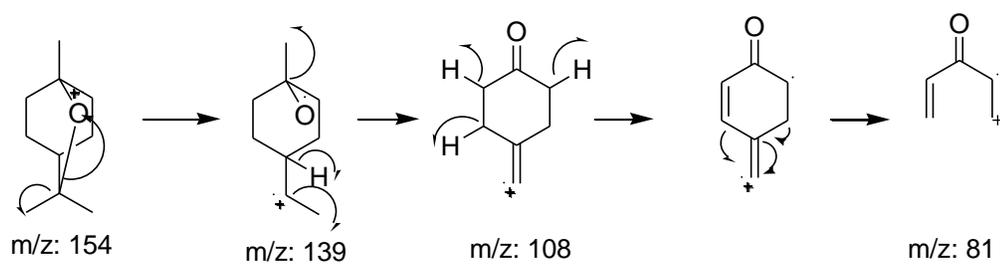


# Espectro de masas selino-3,7 (11)-dieno

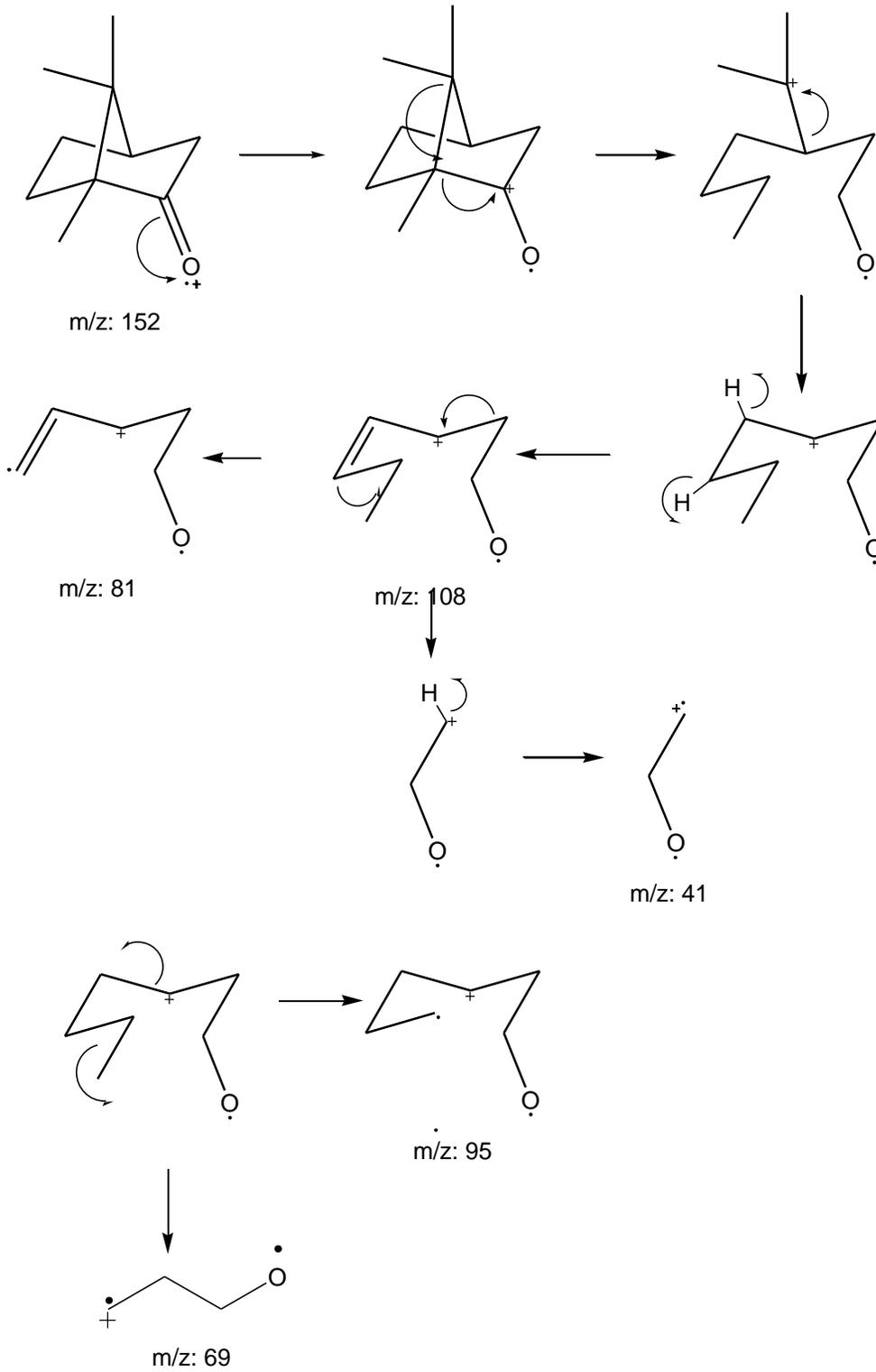
Library Searched : C:\Database\Adams.L  
Quality : 98  
ID : 30.66 Selina-3,7(11)-diene



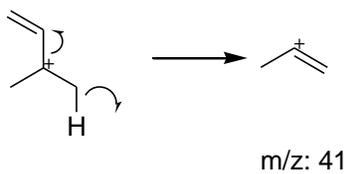
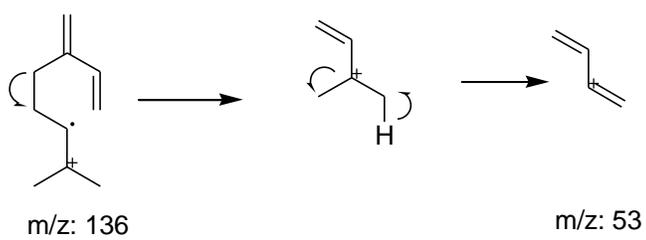
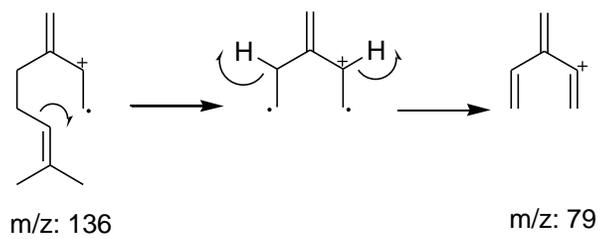
Anexo 7. Posible ruta de fragmentación de 1,8-cineol



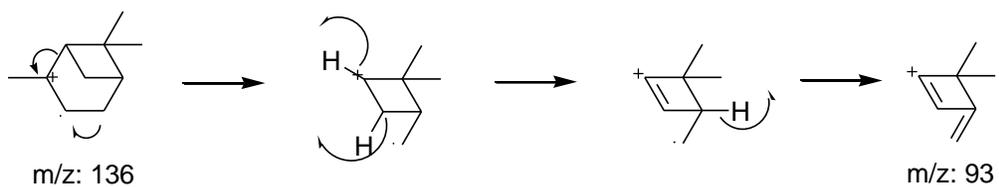
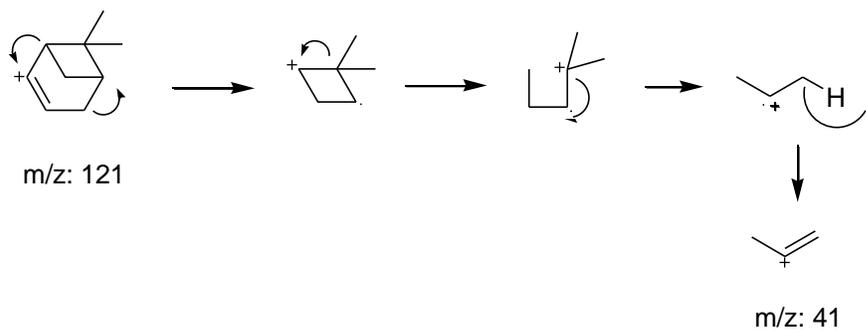
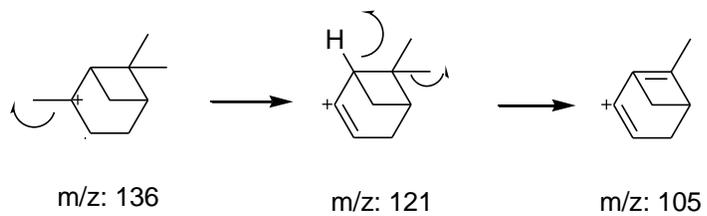
Anexo 8. Posible ruta de fragmentación de masas de alcanfor



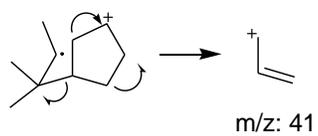
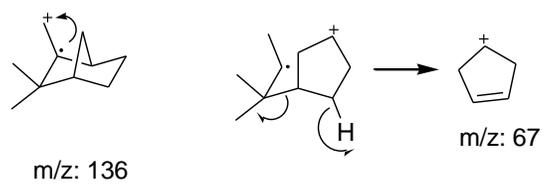
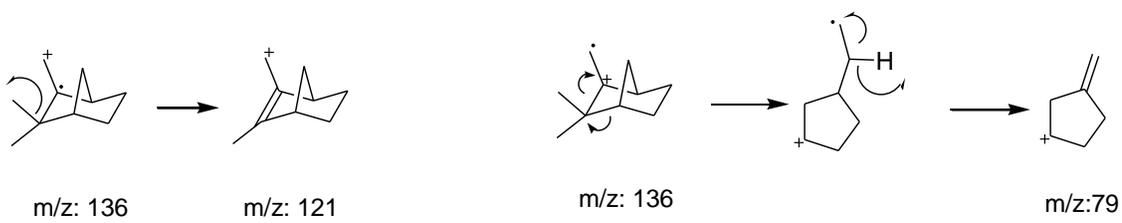
Anexo 9. Posible ruta de fragmentación de masas de mirceno



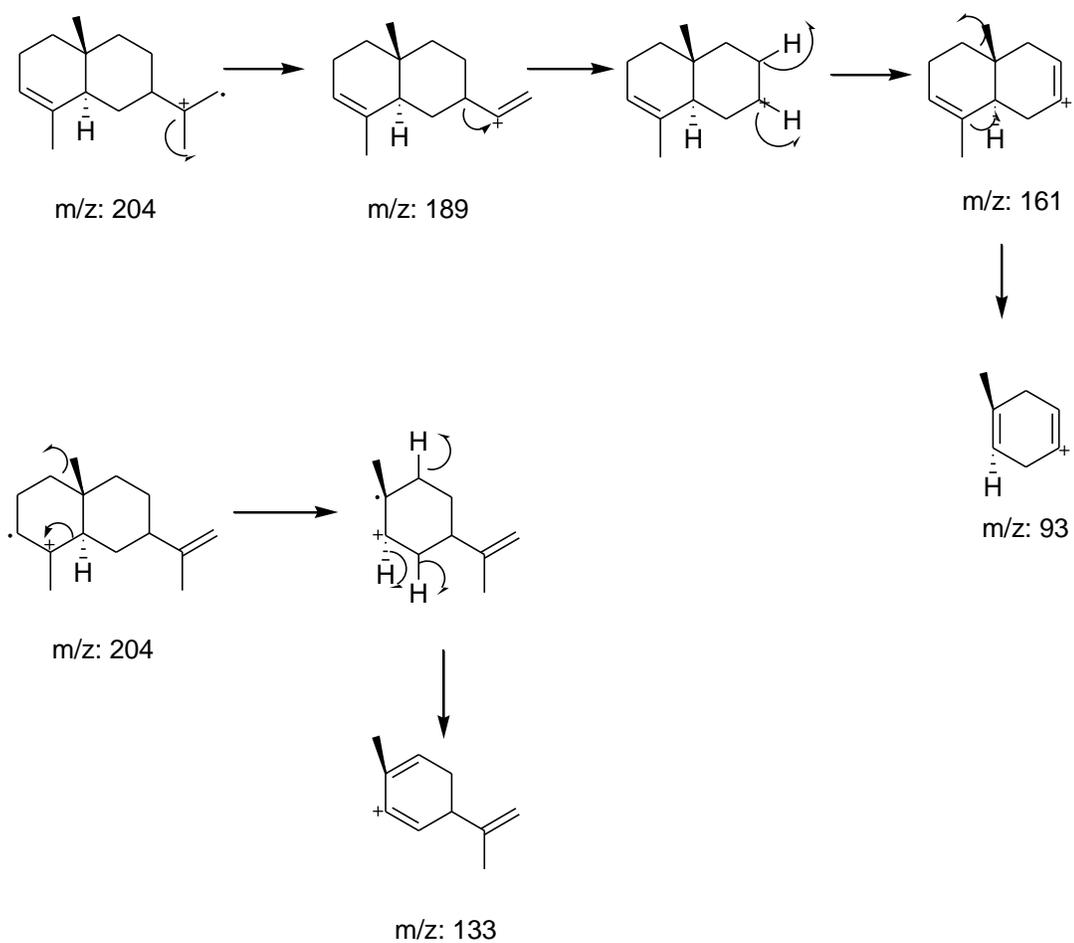
Anexo 10. Posible ruta de fragmentación de masas de  $\alpha$ -pineno



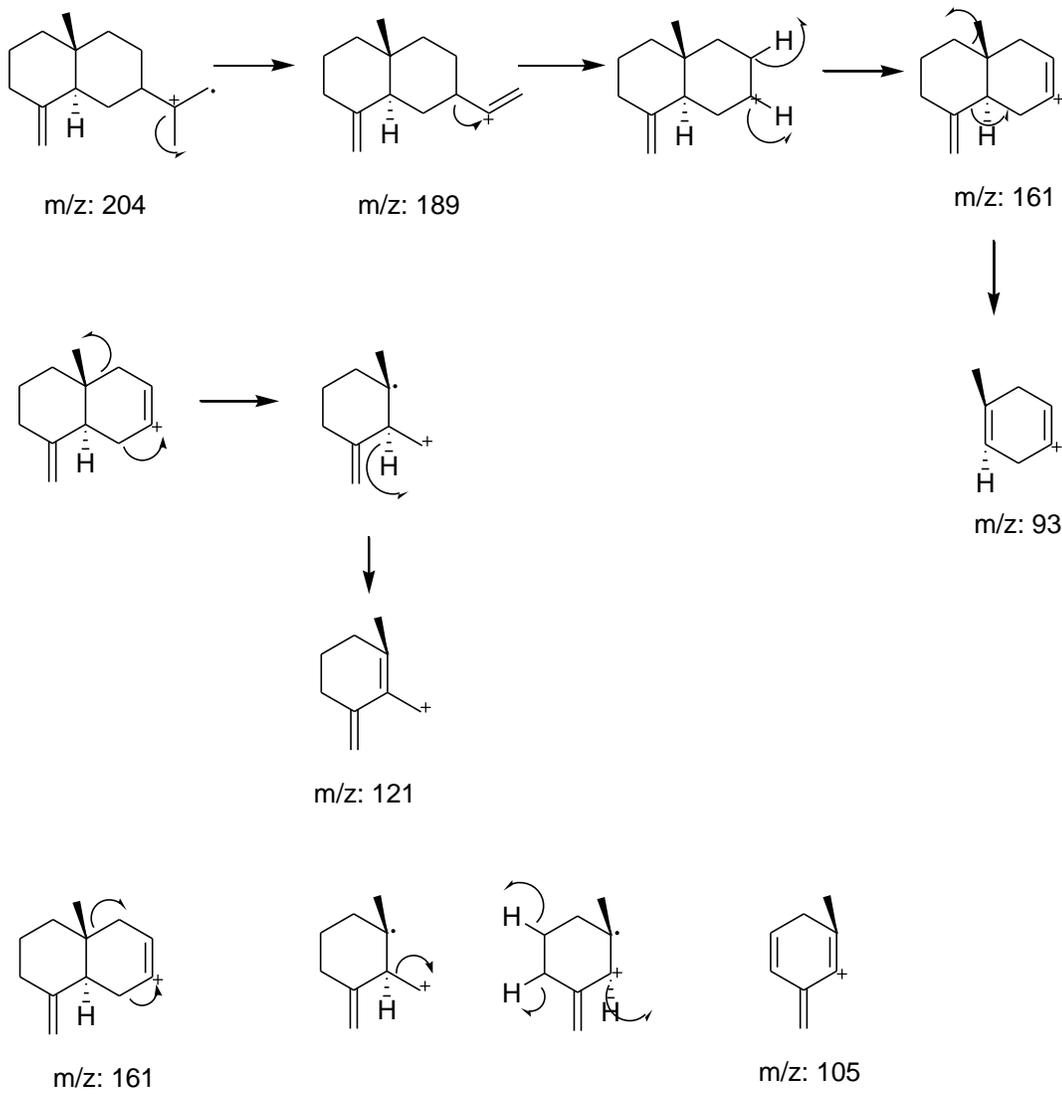
Anexo 11. Posible ruta de fragmentación de masas de canfeno



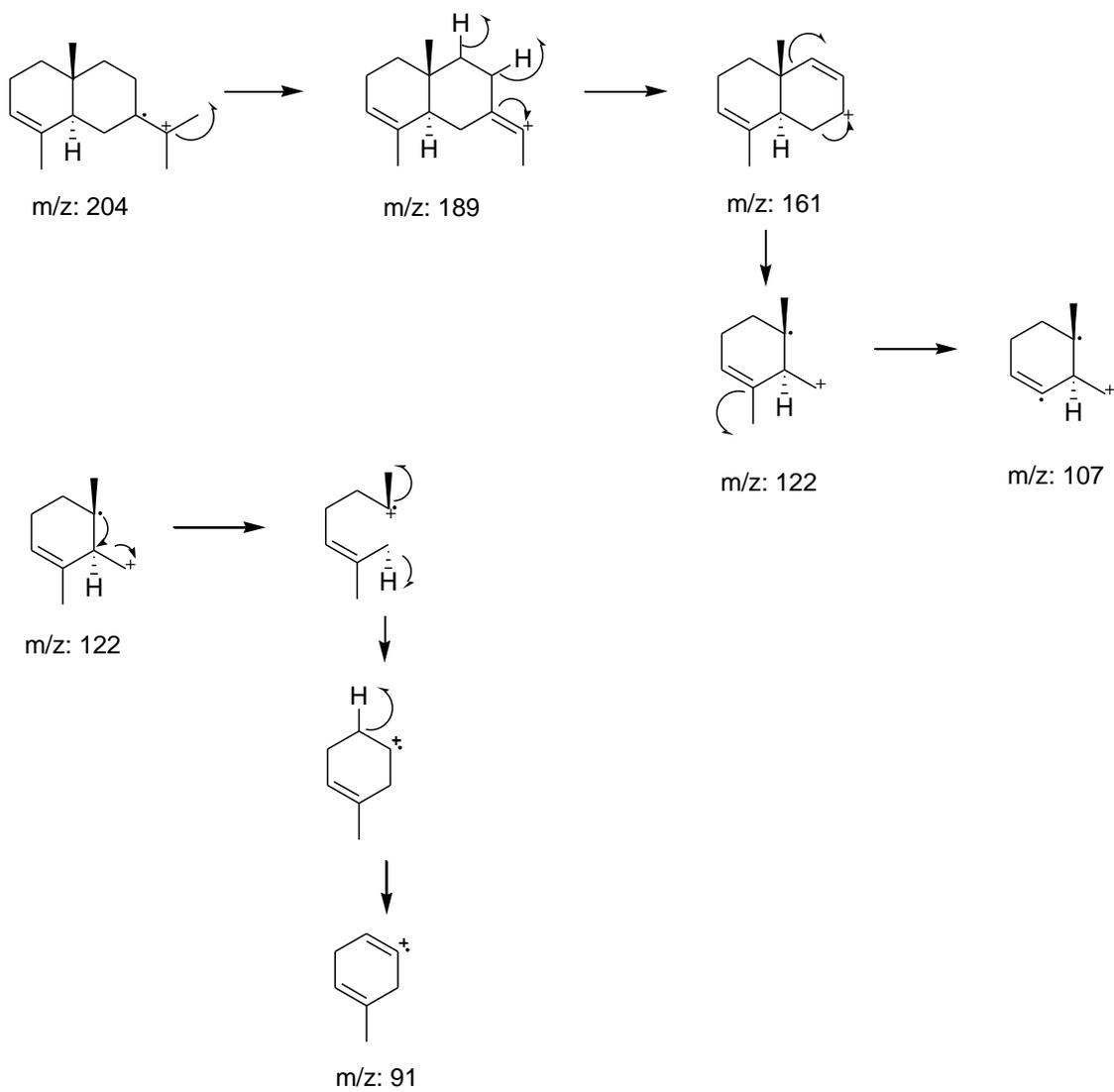
Anexo 12. Posible ruta de fragmentación de  $\alpha$ -selineno



Anexo 13. Posible ruta de fragmentación de masas de  $\beta$ -selineno



Anexo 14. Posible ruta de fragmentación de masas de selino-3,7(11)-dieno



Anexo 15. Posible ruta de fragmentación de masas de *trans*-cariofileno

