



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

**EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN DE LAS
FRACCIONES VOLÁTILES DEL TOMILLO (*Thymus vulgaris* L.),
OBTENIDAS EN UNA PLANTA PILOTO DE EXTRACCIÓN DE
ACEITES ESENCIALES**

RODRIGO ANTONIO CIFUENTES MARCKWORDT
ASESORADO POR: INGA. TELMA MARICELA CANO
MORALES

GUATEMALA, ABRIL DE 2005

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN DE LAS
FRACCIONES VOLÁTILES DEL TOMILLO (*Thymus vulgaris* L.),
OBTENIDAS EN UNA PLANTA PILOTO DE EXTRACCIÓN DE
ACEITES ESENCIALES**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

**PRESENTADO A JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA
POR**

**RODRIGO ANTONIO CIFUENTES MARCKWORDT
ASESORADO POR INGA. TELMA MARICELA CANO MORALES
AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE
INGENIERO QUÍMICO**

GUATEMALA, ABRIL DE 2005

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANO	Ing. Sydney Alexander Samuels Milson
VOCAL I	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
VOCAL II	Lic. Amahán Sánchez Álvarez
VOCAL III	Ing. Julio David Galicia Celada
VOCAL IV	Br. Kenneth Issur Estrada Ruiz
VOCAL V	Br. Elisa Yazminda Vides Leiva
SECRETARIO	Ing. Carlos Humberto Pérez Rodríguez

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO	Ing. Sydney Alexander Samuels Milson
EXAMINADOR	Ing. José Eduardo Calderón García
EXAMINADOR	Inga. Telma Maricela Cano Morales
EXAMINADOR	Ing. Julio Rivera Palacios
SECRETARIO	Ing. Carlos Humberto Pérez Rodríguez

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

Cumpliendo con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN DE LAS FRACCIONES VOLÁTILES DEL TOMILLO (*Thymus vulgaris* L.), OBTENIDAS EN UNA PLANTA PILOTO DE EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha 5 de abril de 2004.

Rodrigo Antonio Cifuentes Marckwordt

ACTO QUE DEDICO

A mi madre

María Antonieta Marckwordt Barranco

Siempre estas en mi corazón

A mi padre

Edeliberto Cifuentes Medina

Por su amor incondicional

A mi hermano

Manoel José Cifuentes Marckwordt

Por su apoyo

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	V
LISTA DE SÍMBOLOS	VII
GLOSARIO	XI
RESUMEN	XVII
OBJETIVOS	XIX
HIPÓTESIS	XXI
INTRODUCCIÓN	XVII
1. DEFINICIONES	1
1.1. Plantas medicinales	1
1.2. Aceites esenciales	2
1.2.1. Actividad fisiológica vegetal de los aceites esenciales en las plantas	3
1.2.2. Usos de los aceites esenciales	4
1.2.3. Propiedades físicas de los aceites esenciales	5
1.2.3.1. Punto de ebullición y fusión	6
1.2.3.2. Densidad específica	6
1.2.3.3. Índice de refracción	6
1.2.4. Extracción de aceites esenciales	8
1.2.4.1. Extracción por arrastre con vapor	8
1.2.4.2. Extracción por arrastre con agua	9
1.2.4.3. Extracción por arrastre con vapor y agua (v. húmedo)	9
1.2.4.4. Extracción por arrastre vapor (vapor seco)	10
1.2.4.5. Hidrodifusión	11

1.2.5.	Constituyentes de un equipo de extracción de aceites esenciales	11
1.2.6.	Detalles de la extracción por arrastre con vapor	15
1.2.6.1.	Principios fisicoquímicos	16
1.2.7.	Pros y contras del método de extracción por arrastre vapor	17
1.3.	Tomillo (<i>Thymus Vulgaris</i> L.)	18
1.3.1.	Requerimientos para su desarrollo agronómico	20
1.3.2.	Clima	20
1.3.3.	Suelo	20
1.3.4.	Características del cultivo	20
1.3.4.1.	Multiplicación	20
1.3.4.2.	Semillas	21
1.3.4.3.	División de matas	21
1.3.4.4.	Estacas	21
1.3.5.	Labores	22
1.3.6.	Cosecha	22
1.3.7.	Postcosecha	25
1.3.8.	Rendimiento	25
1.3.9.	Usos y propiedades	25
1.3.9.1.	Sumidades	25
1.3.9.2.	Esencia	26
1.3.10.	Composición cualitativa y cuantitativa	26
1.3.11.	Propiedades farmacodinámicas	27
1.3.12.	Propiedades farmacocinéticas	27
1.3.13.	Datos preclínicos de seguridad	28
1.3.14.	Datos clínicos	28
1.3.15.	Indicaciones terapéuticas	29
1.3.16.	Posología y métodos de administración	29

1.3.17. Contraindicaciones	30
1.3.17.1. Embarazo	30
1.3.17.2. Lactancia	30
1.3.17.3. Efectos sobre la capacidad para conducir y utilizar maquinaria	30
1.3.18. Reacciones adversas	31
1.3.19. Alergia	31
1.3.19.1. Dermatológicas	31
1.3.19.2. Digestivas	31
1.3.19.3. Cardiovasculares	32
1.3.19.4. Neurológicas/psicológicas	32
1.3.19.5. Genitourinarias	32
1.3.19.6. Alérgicas dermatológicas	32
1.3.20. Reacciones adversas de la planta	32
1.3.21. Carcinogénesis, mutagénesis, impedimento de fertilidad	32
1.3.22. Sobredosificación	33
1.3.23. Advertencias y precauciones especiales de uso	33
1.3.24. Ensayos generales para la caracterización de la planta y sus extractos	33
1.3.25. Ensayos de pureza	33
1.3.25.1. Microbiológicos	33
1.3.25.2. Materia orgánica extraña	34
1.3.25.3. Cenizas totales	34
1.3.25.4. Ceniza insoluble en ácido	34
1.3.25.5. Humedad	34
1.3.25.6. Residuos de pesticidas	34
1.3.25.7. Metales pesados	34
1.3.26. Otros ensayos de pureza	35

1.3.27. Producción y mercados	35
2. METODOLOGÍA	36
2.1 Ubicación	36
2.2 Recursos humanos	37
2.3 Recursos materiales	37
2.4 Equipo y cristalería	37
2.5 Procedimiento	37
2.5.1 Extracción de aceite esencial de tomillo materia prima verde	37
2.5.2 Extracción de aceite esencial de tomillo usando materia prima seca	41
2.5.3 Análisis físicos del aceite esencial	43
2.5.3.1 Determinación de la densidad	43
2.5.3.2 Determinación del índice de refracción	44
2.5.3.3 Cromatografía de gases y cuantificación de timol en las muestras de aceite esencial	44
2.6 Diseño del estudio	45
2.7 Diseño experimental	45
2.8 Análisis estadístico	46
3. RESULTADOS	53
4. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	55
CONCLUSIONES	63
RECOMENDACIONES	65
BIBLIOGRAFÍA	67
ANEXOS	71

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1	Diagrama haz de luz incidiendo sobre una superficie transparente	7
2	Diagrama de extracción por arrastre con vapor	10
3	Foto planta de tomillo con escala	23
4	Detalle sobre las partes de la planta de tomillo	24
5	Resultados del cromatograma, tomillo verde	85
6	Resultados del cromatograma, tomillo seco	87

TABLAS

I	Datos del análisis de varianza ANOVA	XXV
II	Datos para análisis de varianza	47
III	Formato de presentación para datos del ANOVA	51
IV	Resultados obtenidos	53
V	Tabla de ANOVA de rendimientos de extracción	76
VI	Cálculo de los grados de libertad para el ANOVA	78
VII	Datos calculados	79
VIII	Datos originales	81
IX	Datos originales	82
X	Datos calculados	83
XI	Datos calculados	84
XII	Datos calculados	85
XIII	Datos calculados	86

LISTA DE SÍMBOLOS

H_0	Hipótesis nula
H_a	Hipótesis alterna
μ_{PF}	Es la media de la cantidad de aceite esencial, determinada en base seca, de <i>Thymus Vulgaris L.</i> contenida en el material vegetal de la planta en estado fresco.
μ_{PS}	Es la media de la cantidad de aceite esencial, determinada en base seca, de <i>Thymus Vulgaris L.</i> contenida en el material vegetal de la planta en estado seco.
μ_{RF}	Es la media del rendimiento de extracción del aceite esencial de <i>Thymus Vulgaris L.</i> utilizando el material vegetal de la planta en estado fresco.
μ_{RS}	Es la media del rendimiento de extracción del aceite esencial de <i>Thymus Vulgaris L.</i> utilizando el material vegetal de la planta en estado seco.
SC	Suma de cuadrados.
gl	Grados de libertad.
CM	Cuadrado medio para el factor que se está probando.
F^*	Valor calculado de F
F	Valor crítico de F , en la distribución F-Snedecor
$\sin i$	Seno del ángulo i
n	Índice de refracción
v_i	Velocidad de la luz en el medio i
P_{TOTAL}	Presión total

X_A	Fracción del componente A
P_A	Presión parcial del componente A
X_B	Fracción del componente B
P_B	Presión parcial del componente B
g	Gramos
mL	Mililitros
mg	Miligramos
Kg	Kilogramos
°C	Grados Celsius
\$	Dólares estadounidenses
k	Repetición en tabla de ANOVA
C_c	Totales por columna en tabla de ANOVA
$x_{c,k}$	Datos de cada muestra del nivel c , y repetición k , en la tabla de ANOVA
Σ	Sumatoria
μ	Media de los datos en tabla de ANOVA
F_c	Efecto del factor evaluado sobre la variable respuesta en cada nivel c , en tabla de ANOVA.
$\varepsilon_{k(c)}$	Error experimental que ocurre entre las k repeticiones en cada una de las c columnas, en tabla de ANOVA
s	Varianza de la muestra
\bar{x}	Media
n	Número de corridas
$\Sigma (x^2)$	Sumatoria de cada dato elevado al cuadrado
$(\Sigma x)^2$	Sumatoria de todos los datos al cuadrado
CM	Cuadrado medio
η	Cantidad en base seca de aceite esencial contenida en la planta de tomillo fresco y seco, en gramos de aceite por kilogramo de tomillo.

$\bar{\eta}$	Cantidad media en base seca de aceite esencial contenida en la planta de tomillo fresco y seco, en gramos de aceite por kilogramo de tomillo.
H	Humedad de la planta en unidades de porcentaje de masa.
PL	Peso de cada lote
E	Peso de aceite esencial recuperado en cada lote
β	Rendimiento de extracción de aceite esencial, en unidades de porcentaje de masa
$\bar{\beta}$	Rendimiento medio de extracción de aceite esencial, en unidades de porcentaje de masa
ρ	Densidad del aceite en g/mL
<i>m</i>	Masa del picnómetro lleno con el aceite, en gramos
T	Tara del picnómetro o peso del picnómetro vacío, en gramos
V	Volumen del picnómetro o volumen de aceite, en mililitros

GLOSARIO

Agua de enfriamiento	Agua utilizada para enfriamiento que sólo necesita estar más fría que la temperatura más baja del proceso y ser limpia, clara y libre de iones pesados.
Alambique	Aparato utilizado para separar dos líquidos por diferencia de puntos de ebullición.
Almácigos	Lugar donde se siembran y crían los vegetales que luego han de trasplantarse.
Análisis de variancia ANOVA	Método estadístico de comparación de medias para evaluar el efecto de un factor en un experimento.
Antifúngica	Que inhibe el crecimiento de hongos.
Antiséptico	Que combate o previene los padecimientos infecciosos destruyendo los microbios que los causan.
Aporque	Bol., Col., Hond. y Perú. Remover la tierra para amontonarla en torno a los troncos o los tallos de cualquier planta.

Balsámico	Que tiene propiedades de una sustancia aromática, líquida y casi transparente en el momento en que por incisión se obtiene de ciertos árboles, pero que va espesándose y tomando color a medida que, por la acción atmosférica, los aceites esenciales que contiene se cambian en resina y en ácido benzoico y cinámico.
Biodiversidad	Variedad de especies animales y vegetales en su medio ambiente.
Carminativo	Dicho de un medicamento: Que favorece la expulsión de los gases desarrollados en el tubo digestivo.
Carpidas	Se resume a limpiar y eliminar malezas de la tierra donde se ha sembrado.
Colagogo	Estimulador del flujo biliar, provoca la secreción de bilis.
Condensación	Acción y efecto de convertir un vapor en líquido.
Contenido en base seca	Es la cantidad de aceite esencial extraída de la planta tomando como peso base la materia prima seca.
Decocciones	La decocción o cocimiento es el método de extracción de los principios activos de una planta

seca consistente en hacerla hervir en agua a fuego lento desde 3 minutos a 30, generalmente sobre las partes más duras de la misma desmenuzadas - raíces, tallos, cortezas o semillas- , y dejarla reposar con un tiempo mínimo de 10 minutos.

Destilación	Acción y efecto de separar por medio del calor, en alambiques u otros vasos, una sustancia volátil de otras más fijas, enfriando luego su vapor para reducirla nuevamente a líquido.
Destilar	Acción y efecto de separar por medio del calor, en alambiques u otros vasos, una sustancia volátil de otras más fijas, enfriando luego su vapor para reducirla nuevamente a líquido.
Diaforético	Que causa la sudoración.
Dispepsias	Mala digestión.
Eritema	Inflamación superficial de la piel, caracterizada por manchas rojas.
Farmacodinámica	Mecanismos de acción de los fármacos.
Halitosis	Fetidez del aliento.

Marmita	Olla de metal, con tapadera ajustada y una o dos asas.
Neurotoxicidad	Capacidad de las sustancias químicas de interaccionar y provocar efectos en el sistema nervioso.
Oreado	Secado al aire.
Porcentaje de rendimiento	O contenido en base seca, es la cantidad de aceite esencial extraída de la planta tomando como peso base la materia prima seca.
Principios activos	Sustancia dotada de actividad farmacológica. Los principios activos suelen ser metabolitos secundarios de la planta, es decir que no son fundamentales para ella (suele tratarse de sustancias de reserva, productos para repeler o para atraer a los insectos para la polinización, etc.).
Prurito	Comezón, picazón.
Punto de ebullición	Temperatura a la que una sustancia cambia de estado líquido para volverse gas.
Rendimiento de extracción	Es el rendimiento de aceite esencial de tomillo en gramos de aceite por gramo de tomillo.

Sifón	Tubo encorvado que sirve para sacar líquidos del vaso que los contiene, haciéndolos pasar por un punto superior a su nivel.
Sumidades floridas	Flores.
Terapéutico	Pertenece a la parte de la medicina que enseña los preceptos y remedios para el tratamiento de las enfermedades.
Teratógeno	Agente capaz de causar un defecto congénito.
Vapor húmedo	Vapor en equilibrio con agua líquida a presión atmosférica.
Vapor seco	Vapor a presiones mayores a la presión atmosférica.
Vermífugo	Que tiene virtud para matar las lombrices intestinales.
Volátil	Dicho de un líquido: Que se transforma espontáneamente en vapor.

RESUMEN

Se evaluó la calidad, el contenido en base seca, y el rendimiento de extracción de aceite esencial de tomillo (*Thymus Vulgaris L.*), en función de los dos tipos de material vegetal usado, fresco y seco. El tomillo utilizado para todo el experimento fue sembrado y cosechado en la comunidad de Chaquijyá, la cual está ubicada a una altitud de 2380 msnm en el departamento de Sololá, al occidente del país.

Se asumió hipotéticamente que la cantidad de aceite en la planta fresca, y por lo tanto el rendimiento de aceite esencial, era mayor que en la planta seca; se establecieron dos hipótesis nulas, las cuales se rechazaron utilizando un análisis estadístico de variancia (ANOVA), usando la distribución F-Snedecor (1-276) y calculando la estadística $F(14-436)$, que es la razón de las variancias.

El experimento se hizo aplicando el mismo método extracción para todos los lotes de tomillo, arrastre con vapor, y utilizando tomillo en estado fresco y seco. Los resultados del promedio de los rendimientos de extracción utilizando cada materia prima, indican que se pudo extraer mayor cantidad de aceite esencial utilizando materia prima seca, pero el contenido de aceite esencial es mayor en la planta en estado fresco, en la sección de resultados se puede comparar los datos obtenidos.

Las extracciones se realizaron en la planta piloto de extracción-destilación del Centro de Investigaciones de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, las condiciones ambientales del experimento fueron: temperatura media 26°C, y presión atmosférica media 640mm de Mercurio

OBJETIVOS

General

Determinar la influencia del secado de la planta fresca, en el rendimiento de extracción del aceite esencial de tomillo.

Específicos

1. Extraer el aceite esencial de tomillo utilizando para ello dos clases de materia prima, la planta fresca y la planta seca.
2. Determinar el rendimiento de aceite esencial de tomillo, utilizando el peso húmedo y seco de la planta.
3. Familiarizar con los fundamentos de la tecnología de la industrialización de productos fitoterapéuticos y los parámetros para su control de calidad.
4. Contribuir al conocimiento científico de la flora nativa.
5. Propiciar la industrialización de los recursos renovables con alto potencial de exportación, incrementando su valor agregado.
6. Estudiar los principios activos del tomillo, como sustituto de los productos químicos sintéticos con iguales características terapéuticas.

HIPÓTESIS

HIPÓTESIS 1

El rendimiento de extracción de aceite esencial y la cantidad de aceite esencial determinada en base seca, en la planta fresca, es mayor que en la planta seca, utilizando el mismo método de extracción, la misma cantidad de material vegetal e igual tiempo de extracción.

HIPÓTESIS ESTADÍSTICA 1

Hipótesis nula

H₀: No existe diferencia significativa en la cantidad de aceite esencial contenida en el tomillo, determinada en base seca, usando tomillo en estado fresco y en estado seco.

$$\mu_{PF} = \mu_{PS}$$

Donde,

μ_{PF} : Es la media de la cantidad de aceite esencial, determinada en base seca, de *Thymus Vulgaris L.* contenida en el material vegetal de la planta en estado fresco.

μ_{PS} : Es la media de la cantidad de aceite esencial, determinada en base seca, de *Thymus Vulgaris L.* contenida en el material vegetal de la planta en estado seco.

Hipótesis alterna

Ha: Existe diferencia significativa en la cantidad de aceite esencial, determinada en base seca, contenida en la planta en estado fresco y en estado seco.

$$\mu_{PF} \neq \mu_{PS}$$

Donde,

μ_{PF} : Es la media de la cantidad de aceite esencial, determinada en base seca, de *Thymus Vulgaris L.*, contenida en el material vegetal de la planta en estado fresco.

μ_{PS} : Es la media de la cantidad de aceite esencial, determinada en base seca, de *Thymus Vulgaris L.* contenida en el material vegetal de la planta en estado seco.

Ahora se comparan las medias aplicando el análisis de variancia de un solo factor, entonces el factor es el tipo de materia prima vegetal, y los niveles del factor, en este caso, materia prima fresca y seca. Las repeticiones son las cantidades de aceite esencial de tomillo, determinadas en base seca, las cuales fueron obtenidas a partir de las extracciones utilizando la planta fresca y seca. La hipótesis nula por contrastar es: "las dos materias primas contienen la misma cantidad de aceite esencial".

HIPÓTESIS 2

El porcentaje de rendimiento de extracción de aceite esencial de tomillo (*Thymus Vulgaris L.*) extraído del material vegetal de la planta fresca será diferente al porcentaje de rendimiento de extracción obtenido del material vegetal de la planta seca.

HIPÓTESIS ESTADÍSTICA 2

Hipótesis nula

H₀: No existe diferencia significativa en el rendimiento de extracción del aceite esencial utilizando diferente material vegetal de la misma planta, en estado fresco y en estado seco, usando el mismo método de extracción, la misma cantidad de material vegetal e igual tiempo de extracción.

$$\mu_{RF} = \mu_{RS}$$

Donde,

μ_{RF} : Es la media del rendimiento de extracción del aceite esencial de *Thymus Vulgaris L.* utilizando el material vegetal de la planta en estado fresco.

μ_{RS} : Es la media del rendimiento de extracción del aceite esencial de *Thymus Vulgaris L.* utilizando el material vegetal de la planta en estado seco.

Hipótesis alterna

Ha: Existe diferencia significativa en el rendimiento de extracción del aceite esencial utilizando diferente material vegetal de la misma planta, en estado fresco y en estado seco, usando el mismo método de extracción, la misma cantidad de material vegetal e igual tiempo de extracción.

$$\mu_{RF} \neq \mu_{RS}$$

Donde,

μ_{RF} : Es la media del rendimiento de extracción del aceite esencial de *Thymus Vulgaris L.* utilizando el material vegetal de la planta en estado fresco.

μ_{RS} : Es la media del rendimiento de extracción del aceite esencial de *Thymus Vulgaris L.* utilizando el material vegetal de la planta en estado seco.

En esta hipótesis, el factor es tipo de materia prima vegetal, y los niveles del factor, en este caso, fresca y seca. Las repeticiones son los rendimientos de extracción obtenidos a partir de las extracciones utilizando la planta fresca y seca. La hipótesis nula por contrastar es: “los rendimientos de extracción promedio obtenidos con cada materia prima vegetal son iguales”.

De modo que se desea rechazar ambas hipótesis nulas si los datos indican que una de las dos pares de medias es diferente significativamente de la otra.

Se hará la decisión sobre el rechazo o no rechazo de H_0 utilizando la distribución *F-Snedecor* y la estadística F , que es la razón de las dos variancias.

Los datos del ANOVA se tabulan como lo indica la siguiente tabla (14-436):

Tabla I. Datos del análisis de variancia (ANOVA)

Fuente de variación	SC	gl	CM
Rendimiento			
Error			
Total			

Este cuadro registra las sumás de cuadrados y organiza los cálculos restantes.

Donde,

SC: Suma de cuadrados.

gl: Grados de libertad.

CM: Cuadrado medio para el factor que se está probando.

La decisión sobre rechazo o no rechazo de H_0 se realiza comparando el valor calculado de F , o sea F' , con el valor crítico de F , para una extremidad, obtenido de tablas.

INTRODUCCIÓN

"Que tu alimento sea tu medicina y tu medicina sea tu alimento"

Hipócrates

El uso de productos fitoterapéuticos nuevos puede ser más económico y rentable de lo que comúnmente se cree. Actualmente son más de 120 compuestos químicos derivados de plantas los que se utilizan como agentes terapéuticos. Menos de una docena de ellos se producen comercialmente por síntesis o modificación química del compuesto natural, los restantes se extraen y purifican directamente de plantas pertenecientes a unas 90 especies. Estos productos químicos pueden ser utilizados también en tecnología de alimentos, en cosmética y productos de limpieza.

En los países industrializados, el 25 % del total de las prescripciones médicas está basado en el uso de plantas medicinales. En los países en desarrollo, el 80% del arsenal terapéutico está representado por las mismas.

El presente trabajo trata sobre la extracción a nivel planta piloto y caracterización de las fracciones extractables volátiles del tomillo (*Thymus Vulgaris L.*). La planta de tomillo utilizada en este proyecto es cultivada en la comunidad de Chaquijyá, en el departamento de Sololá, altiplano Guatemalteco.

Se seleccionó este lugar para la obtención del tomillo debido a que en este lugar se cultiva desde ya hace varios años, además, dicha comunidad ha demostrado ser pionera en el cultivo plantas medicinales como la manzanilla, el ajeno y otros productos de interés agroindustrial y medicinal.

Se utilizó materia prima verde y seca para el estudio, de esta manera se pudo determinar si existe diferencia significativa en la cantidad de aceite esencial contenida en la planta en base seca, y el rendimiento de aceite esencial obtenido, utilizando materia prima vegetal en estado fresco y materia prima vegetal en estado seco. Se utilizó el método de extracción por arrastre con vapor de agua para la extracción del aceite esencial en la planta piloto.

1. DEFINICIONES

1.1. Plantas medicinales

El mundo vegetal ofrece una gran cantidad de plantas que proveen al hombre de principios activos muy importantes para la medicina moderna. Muchas veces se ha presentado el caso de la intoxicación por el consumo indebido de estas plantas, pero es muy importante mencionar que muchas veces es causada por el uso de una dosis inadecuada de la planta.

Existe un límite en el que la dosis pasa de ser tóxica a terapéutica y otra en la que ya no causa ningún efecto, que corresponde a una disminución en la concentración de los principios activos de la planta en el medio por el cual se introduce al cuerpo humano.

En los principios activos más importantes están (9-170):

1. Alcaloides
2. Glucósidos
 - Glucósidos cianogénicos
 - Glucósidos goitrogénicos o bociogenos
 - Glucósidos cardiacos
 - Saponinas o saponosidos
 - Heterósidos cumarínicos simples
3. Nitratos/nitritos
4. Oxalatos
5. Agentes fotosensibilizantes
6. Proteínas, péptidos y aminoácidos

7. Taninos
8. Aceites esenciales
9. Fitoestrógenos

1.2. Aceites esenciales

Están constituidos por una mezcla compleja de sustancias volátiles, donde destacan los compuestos terpénicos, los compuestos aromáticos derivados del fenilpropano (eugenol, anetol, aldehído cinámico, etc.), ácidos orgánicos, cetonas y cumarinas volátiles (bergapteno).

Se encuentran distribuidos en numerosos órganos de las plantas: sumidades floridas (lavanda, menta), frutos (anís, hinojo), corteza (canela), etc. y son subproducto de su metabolismo secundario, es por eso que a las plantas que tienen como metabolitos secundarios a los aceites esenciales se les llama plantas aromáticas.

En su mayoría, los aceites esenciales o volátiles son insolubles en agua, pero fácilmente solubles en alcohol, éter, aceites vegetales y minerales. Su composición química es variadísima, han sido citados anteriormente, como componentes generales de éstos, los hidrocarburos de la serie de los terpenos, sesquiterpenos y sus alcoholes, ésteres, aldehídos, cetonas, etc. Algunos de ellos son de cadena abierta o cíclicos y están generalmente mezclados con otras sustancias, presentes en los aceites volátiles de origen vegetal y oleorresinas, como la trementina.

1.2.1. Actividad fisiológica vegetal de los aceites esenciales en las plantas

La acumulación de los aceites esenciales en las plantas se realiza en determinados tejidos, en el interior de las células, en espacios intercelulares, o bajo la epidermis de los pelos. En cuanto a la actividad fisiológica de los aceites esenciales diversas hipótesis se ha planteado para explicar el rol de éstos en las plantas:

- Ayudan a la polinización, ya que por su aroma atraen a los insectos.
- Son alimentos de reserva.
- Protegen los tejidos contra la acción de agentes atmosféricos.
- Evitan el recalentamiento de la planta mediante el mecanismo de ahorro del agua, ya que el calor absorbido sirve para la evaporación del aceite volátil.
- Son donadores de protones en reacciones de óxido-reducción debido a la presencia de alcaloides secundarios y terciarios, fenoles y aldehídos.
- Previenen la evaporación excesiva del agua de las células, ya que actúan como especie de barniz.
- Cicatrizan heridas.
- Son fuentes de energía durante un estado deficiente causado por interrupción de la asimilación normal de CO₂.
- Son productos de desecho.
- Pueden actuar como hormonas reguladoras (giberelinas) u hormonas inhibitorias (el ácido absínico antiguamente denominado absicina II o también dormina).
- En la madera sirven de protección contra la infección de hongos y parásitos. Usos de los aceites esenciales (9-21)

Su margen terapéutico es pequeño, pudiéndose alcanzar fácilmente la sobredosificación (1 gramo de aceite esencial representa 100 gramos de la planta seca).

Algunos aceites esenciales atraviesan la barrera hematoencefálica actuando directamente sobre el Sistema Nervioso Central, como ocurre con la tuyona, principal componente de aceites esenciales como los del ajeno (Artemisia absinthium L.), tuya (Thuja occidentalis L.) o salvia (Salvia officinalis L.).

La mayoría tienen olor agradable y se utilizan en una gama de productos tales como sabores y fragancias para alimentos, el jabón, los detergentes, los perfumes, las lociones, etc.

En medicina se utilizan aceites esenciales como el mentol o alcanfor, también pueden formularse mezclas de otros aceites esenciales, como la menta, romero, etc. Estas esencias son aprovechadas para aplicaciones externas antirreumáticas, gracias a la capacidad de irritación de la piel.

Las propiedades fisiológicas de los aceites esenciales utilizados en medicina, tienen que ver con el efecto de irritación de la piel y mucosas, las propiedades desinfectantes o bactericidas, digestivas, etc. Ejemplo de esencias medicinales son el anís e hinojo, empleados como expectorantes, procesos digestivos, estomacales, colagogos, carminativos; así como en gargarismos e inhalaciones. Muchas plantas con alto contenido en aceite esencial se emplean en realidad como aromáticas, como el tomillo, orégano, serpol, anís, alcaravea, etc. Desde el punto de vista farmacodinámico, las propiedades de los aceites volátiles son muy variables debido a la circunstancia, ya anotada, de la heterogeneidad de sus componentes.

Muy importante es la aplicación industrial de las esencias como agentes saborizantes y aromáticos en la presentación de jarabes, elixires, suspensiones y otras formas farmacéuticas; en la fabricación de cosméticos, perfumes, petríficos, chicles; en la desnaturalización del alcohol, y en la preservación de carnes y otros alimentos. El aceite de citronela se utiliza en la síntesis industrial de la vitamina A.

Actualmente, el uso de los aceites esenciales y productos naturales abarca una gama de aplicaciones inimaginables. En España existe un trabajo de tesis titulado "Productos naturales y extractos de plantas medicinales con actividad antifúngica para la conservación de frutos" (I-1).

Entonces, la utilización de los aceites esenciales se puede aplicar en campos muy diversos y como una opción a la utilización de productos químicos sintéticos que pueden causar daño en el ser humano y en el ambiente.

1.2.2. Propiedades físicas de los aceites esenciales

Con el fin de poder realizar una extracción adecuada, además de dar una caracterización física, química y terapéutica del aceite esencial, existen ciertas propiedades que ayudan a clasificarlo. En general, el manejo de principios activos genera otros métodos más minuciosos, como la cromatografía de gases, para el control de calidad de los mismos.

Las propiedades más comunes son:

1. Punto de ebullición y fusión
2. Densidad específica
3. Índice de refracción

1.2.2.1. Punto de ebullición y fusión

Es la temperatura a la que el aceite esencial ebulle y se funde respectivamente, debido a la heterogeneidad en los componentes de los aceites, ambas temperaturas son muy variables. En el caso del punto de ebullición, éste siempre es menor que la temperatura de ebullición del agua.

1.2.2.2. Densidad específica

Es la densidad del aceite respecto a la densidad del agua. Generalmente se toma como referencia a la densidad del agua a 4°C que es de 1 g/ml. En la mayoría de los casos, las densidades de los aceites esenciales son menores a la densidad del agua.

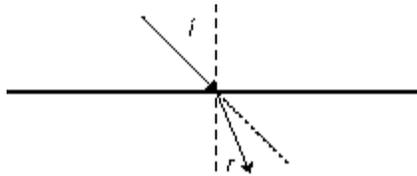
1.2.2.3. Índice de refracción

Es un número adimensional que expresa la relación existente entre la velocidad de la luz en el aire y la velocidad de la luz en el medio más denso (el aceite esencial). La medida del índice de refracción (o de los índices de refracción) de un aceite esencial es fundamental para su determinación y caracterización e incluso para su control de calidad. Se lleva a cabo por medio de refractómetros, que son aparatos ópticos de precisión, pero de sencillo principio operativo y manejo.

Cuanto mayor es la diferencia entre la velocidad de la luz en un medio y otro, mayor es la desviación respecto a la propagación rectilínea. La ley física que describe este fenómeno se conoce con el nombre de ley de refracción de la luz: Sea i el ángulo que forma el rayo de luz incidente con la perpendicular a la

superficie que separa ambos medios, y sea r el ángulo del rayo emergente dentro del segundo medio, ver figura 1.

Figura 1. Diagrama haz de luz incidiendo sobre una superficie transparente



Entonces,

$$\sin i / \sin r = n$$

Donde n es el índice de refracción del segundo medio con respecto al primero. n puede calcularse fácilmente si se conoce la velocidad de la luz en el medio incidente v y aquella en el segundo medio v' :

$$n = v/v'$$

Es importante mencionar que todas estas propiedades, puesto que son índices de la calidad del aceite, dependen en gran medida de las condiciones en las que la planta fue cultivada y cosechada.

1.2.3. Extracción de aceites esenciales

Existen diferentes métodos para la extracción de aceites esenciales, unos más sofisticados que otros. En este trabajo se describen los siguientes:

- Extracción por arrastre con vapor
- Extracción con solvente
- Extracción con fluidos supercríticos
- Extracción con florasols y phytols
- Presión en frío
- Incisión vegetal
- Enfloración

Se ha dado énfasis en el método de extracción por arrastre con vapor, ya que es el método más generalizado por sus bajos costos de operación, y aceptable calidad del aceite extraído.

1.2.3.1. Extracción por arrastre con vapor

Usualmente se utilizan los siguientes métodos de arrastre con vapor:

- Extracción por arrastre con agua
- Extracción por arrastre con vapor y agua (vapor húmedo)
- Extracción por arrastre con vapor (vapor seco)
- Hidrodifusión

1.2.3.2. Extracción por arrastre con agua

En este método las hierbas entran en contacto directo con el agua hirviente, es una especie de cocimiento donde el material cargado flota o se sumerge según la densidad. El sistema de calentamiento del agua puede ser: a fuego directo, camisa de vapor, serpentinas cerradas con circulación de vapor o

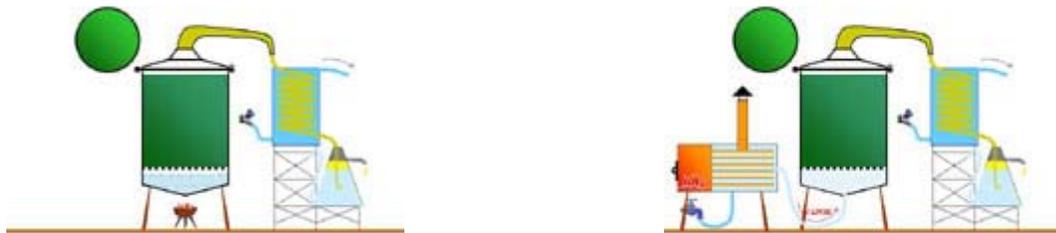
serpentinatas abiertas o perforadas, también con vapor. Este método no es el más conveniente.

1.2.3.3. Extracción por arrastre con vapor y agua (vapor húmedo)

Usando este método, las hierbas se colocan sobre un fondo perforado o criba ubicado a cierta distancia del fondo de un tanque llamado retorta. La parte más baja de ésta contiene agua hasta una altura algo menor que el nivel de la criba. El calentamiento se produce con vapor saturado que se provee de una fuente de calor que compone el equipo, fluye mojado y a presión baja, penetrando a través del material vegetal.

En la figura 2 se puede ver el diagrama de la extracción por arrastre con vapor y agua utilizando vapor húmedo.

Figura 2. Diagrama de extracción por arrastre con vapor



1.2.3.4. Extracción por arrastre con vapor (vapor seco)

Esta técnica de extracción directa con vapor es similar a la anterior, pero en el fondo de la retorta no hay agua. El vapor saturado o sobrecalentado es provisto por una caldera, a presiones más elevadas que la atmosférica, se inyecta por medio de serpentinatas cribadas que están debajo de la carga y se

dirige hacia arriba, atravesando la masa vegetal colocada sobre una parrilla interior.

Conviene realizar la extracción inmediatamente de cosechado el vegetal, después de un oreado o un desecado al aire que le quite algo de la humedad.

En el vegetal, los aceites esenciales se almacenan o sitúan en glándulas, conductos, sacos o pelos glandulares o simplemente reservorios dentro del vegetal, por lo que conviene hacer un desmenuzamiento del material a utilizar para exponer esos reservorios a la acción del vapor de extracción.

El espesor del material, reducido, permite también una mejor vaporización y extracción, así como una aceleración del proceso.

En lo que respecta a las partes de la planta que se va a utilizar, las flores, hojas y partes blandas o delgadas pueden tratarse sin ningún tratamiento previo.

Las semillas o frutos deben ser triturados con rodillos lisos, cuya separación en la máquina depende del grosor de aquellos y también del grado de desmenuzamiento que se necesite.

Las raíces, tallos y otros materiales leñosos, se cortarán en trozos pequeños o en astillas.

1.2.3.5. Hidrodifusión

El método de hidrodifusión es una variante del método de extracción por arrastre con vapor, la única diferencia con el método ya descrito es que el vapor se introduce al material vegetal desde arriba, la condensación del aceite con vapor de agua ocurre abajo del área donde está el material vegetal por un condensador.

Las ventajas de este método son el uso de menos vapor, un tiempo de procesamiento menor, y mejores rendimientos de aceite esencial.

1.2.4. Constituyentes de un equipo de extracción de aceites esenciales

El equipo para extraer el aceite esencial debe ser tal que permita la operación más conveniente, cualquiera sea el material vegetal del que se quieran extraer sus esencias.

En cambio, las dimensiones del equipo siempre deberán estar en concordancia con las cantidades de hierbas producidas y del tiempo disponible para su extracción.

Un equipo de extracción consta de cuatro elementos básicos:

1. La retorta o alambique propiamente dicho.
2. El condensador.
3. El recipiente donde se deposita el condensado.
4. La caldera generadora del vapor.

La retorta o alambique es donde se deposita el material a utilizar. Consiste en un tanque cilíndrico de un diámetro igual o algo inferior a la altura, que tiene en la parte superior una tapa que debe ser asegurada con cierre hermético.

Preferentemente, del centro de esta tapa debe salir un tubo llamado "cuello de cisne", que es el conductor de los vapores hacia el condensador.

La retorta se construye en diversos materiales de chapa cuyo espesor es también variable según el trabajo, pero es preferible que sea de acero inoxidable. En el fondo de la retorta se coloca la criba que soporta el material por utilizar.

Los tubos de conexión deben ser amplios y de acuerdo a la rapidez de extracción, más grandes cuanto más veloz sea ésta.

Debajo de la parrilla o criba, se encuentra el tubo de entrada de vapor, cuidando que entre el fondo y el tubo la distancia sea lo suficientemente grande como para que se produzca aquí la condensación de agua.

La distribución del vapor se asegura por la disposición en espiral o en cruz, de la prolongación del tubo alimentador, que tiene también una serie de agujeros chicos en la parte superior y a lo largo del mismo, dándole así uniformidad a la distribución. En el fondo de la retorta hay una válvula de drenaje de capacidad suficiente como para permitir que cualquier cantidad de agua que se condense dentro de la carga y gotee hacia el fondo, pueda ser sacada durante la extracción.

Un alambique bien construido debe ser hermético; para esto deberá cuidarse el ajuste de las juntas y el cierre de la tapa. La carga de material no debe estar comprimida. Para obtener los mejores resultados se pueden hacer separaciones, por medio de patas, de las cargas que estén más abajo. El objeto principal es buscar que el vapor atraviese correctamente la masa vegetal y que no se deslice por las paredes de la retorta.

Debido a que el vapor se difunde por los lugares que le oponen menos resistencia, no son recomendables los cestos de alambres o perforados, pues el vapor tiende a dirigirse a través de las mallas y entre los costados del cesto y la retorta. Los mejores cestos son los que tienen costados de chapa sin agujeros, pero con el fondo perforado. El empleo de cestos ayuda a la carga y descarga del material, sobre todo en alambiques grandes.

La carga y descarga del alambique es un punto importante. Ahorra tiempo el contar con grúas y que el lugar de cultivo esté cercano al de la planta de extracción.

El condensador continúa a la retorta, allí vuelve a su estado líquido el vapor y los productos volátiles.

El condensador más usado es el compuesto por un serpentín que se ubica en un tanque, aunque hay condensadores tubulares que son más eficientes en el trabajo, en el que corre agua fría que entra por la parte inferior y asciende en sentido contrario a los vapores de agua y aceite esencial que circulan por los tubos.

Los tubos que forman este aparato se colocan en forma vertical u horizontal, su forma, longitud y diámetro dependen de la condensación de las esencias que se procesan.

El agua de enfriamiento debe ser potable en lo posible, porque se eliminan así las probables incrustaciones y depósitos, cuando están cargadas con sales. Los tubos mejores son los construidos en acero inoxidable, pues evitan coloraciones indeseables en la esencia obtenida.

Para este estudio se utilizó como equipo la planta piloto de extracción de aceites esenciales que está ubicada en la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala y que es parte del Centro de Investigaciones de Ingeniería de la misma universidad.

Esta planta fue adquirida por la Universidad de San Carlos de Guatemala a través de un proyecto en el cual se invirtió alrededor de \$ 516,258.00 y fue financiado por UNIDO. Este proyecto se empezó en el año 1984(1-4) con el nombre Utilización de plantas medicinales y aromáticas para la industria farmacéutica, cuyo título en inglés es, *Utilization of medicinal and aromatic plants for herbal pharmaceutical industry.*

En breve, el proyecto trataba de desarrollar tecnología y entrenar personas para iniciar una industria basada en plantas medicinales, con una visión de generar farmacéuticos derivados de las plantas medicinales, para suplir la demanda de salud de los pueblos indígenas, esto en una primera fase, y después en una segunda fase, poder fijar la base para exportar estos productos fitofarmacéuticos. Más adelante se explica con detalle el diseño y manejo de esta planta de extracción.

1.2.5. Detalles de la extracción por arrastre con vapor

En lo que concierne a los aceites esenciales, la revisión de literatura científica muestra que la obtención de éstos por el método de arrastre con vapor, ha sido abordado tradicionalmente usando la teoría de la destilación fraccionada, la rectificación y la desorción o *stripping*.

Sin embargo, un análisis más exhaustivo propone que el mecanismo de extracción del aceite esencial se asemeja más a la difusión del vapor en un lecho empacado, lo que dista notoriamente de ser un proceso de destilación pura de los tipos mencionados.

En efecto, se observa que la extracción de aceites esenciales en un lecho empacado obedecería más bien al efecto combinado de la difusión-evapo-convectiva. De este modo, el vapor caliente debe llegar hasta los sacos que almacenan los aceites esenciales, debe vencer resistencias difusionales previas, para penetrar y salir de las hojas a través de los poros de la pared celular.

Finalmente, los aceites esenciales en fase vapor deben llegar hasta el tope de la columna transportados por la fuerza convectiva del vapor que asciende a través del lecho. Ésta sería la tercera resistencia a vencer en el proceso.

1.2.5.1. Principios fisicoquímicos

El mecanismo de extracción de los aceites esenciales por arrastre con vapor involucra el efecto combinado del fenómeno de transporte intrapartícula por difusión molecular del vapor caliente, el rompimiento de las paredes

celulares de los capilares que guardan los aceites esenciales, la subsecuente evaporación de dichos aceites y la difusión de los aceites esenciales junto con el vapor caliente hacia la boca del poro.

Una interpretación plausible del fenómeno de evaporación de los aceites esenciales en el interior de la matriz vegetal, supone que la misma está gobernada por la volatilidad relativa del aceite esencial; la temperatura de operación; la calidad del vapor saturado usado; el tamaño de los poros; las tensiones locales en el interior de la matriz vegetal, y el esfuerzo necesario para el rompimiento de los sacos capilares.

De todos estos factores, el más relevante es la energía necesaria para el cambio de fase, donde la velocidad de evaporación de los aceites esenciales es favorecida por la disminución de la presión parcial debido a la presencia del vapor de agua. Entonces existen dos resistencias a vencer en este proceso, siendo estas la resistencia difusional y la vaporización del aceite esencial propiamente.

De esto se puede concluir que manejando las variables del tamaño de partícula y grado de tamaño de los lotes se puede optimizar el proceso de extracción, lo cual no pretende ser demostrado en este trabajo, pero se refiere como un punto de partida para otras investigaciones.

1.2.6. Pros y contras del método de extracción por arrastre con vapor

Con bajo capital necesario se pueden adquirir estos equipos y sus accesorios, inclusive pueden ser móviles y usar diversas fuentes de energía, tienen proceso simple, versátil y flexible, permiten trabajar con volúmenes

grandes de materia prima en cada experimento. El rendimiento se ve afectado por el tiempo de extracción.

Se produce degradación térmica en el aceite esencial obtenido, es decir, se inducen cambios químicos indeseables, como oxidación, hidrólisis y oligomerización. Altos costos operativos por carga de materia prima, debido a la necesidad de energía para producir el vapor de agua.

1.3. Tomillo (*Thymus Vulgaris L.*) (31-259)

Otros nombres (31-259):

Common thyme, farigola, garden thyme, herba timi, herba thymi, mother of thyme, red thyme, rubbed thyme, ten, thick leaf thyme, thym, Thymian, thyme, time, timi, tomilloo, za´ater.

Clasificación de la planta:

Reino:	<i>Plantae</i> – Plantas
Subreino:	<i>Tracheobionta</i> – Plantas vasculares.
Superdivisión:	<i>Spermatophyta</i> – Plantas con semilla.
División:	<i>Magnoliophyta</i> – Plantas con flor.
Clase:	<i>Magnoliopsida</i> – Dicotiledóneas.
Subclase:	<i>Asteridae</i>
Orden:	<i>Lamiales</i>
Familia:	<i>Lamiaceae</i> – De la familia de la menta.
Género:	<i>Thymus L.</i> – Tomillo.
Especie:	<i>Thymus Vulgaris L.</i>
Hábitat:	Subarbusto

Duración: Perenne

Tipo de especie: Introducida, no nativa.

Planta aromática perenne originaria de la zona mediterránea occidental, en particular de España, donde se le recolecta en época de floración, y se le ata y se deja colgada hasta que se seque. Se reproduce por matas, además de por semilla.

Su nombre científico es *Thymus Vulgaris L.* En griego, la palabra *Thymos* significa perfume. Las pequeñísimas hojas de esta planta proporcionan un fuerte aroma muy apreciado en la buena cocina. En los templos de la antigüedad se quemaba el tomillo con fines purificadores del alma y porque se creía que tenía poderes mágicos para conservar la buena salud. Las partes de la planta utilizadas son sumidad aérea y raíces.

La variedad mediterránea es un arbusto pequeño de hasta 50 cm de altura, pero la variedad guatemalteca crece hasta veinte centímetros con un tallo leñoso, erecto y muy ramificado. Las hojas tienen un corto pecíolo, son lineares u oblongas con el ápice agudo y tomentosas en el envés.

Las inflorescencias son racimos axilares con flores violetas azuladas a rojo brillantes.

En la antigüedad lo veían como un tónico para la salud, pero el uso más apreciado del tomillo es el que se relaciona con su acción estimulante sobre los procesos respiratorios.

Posee una ventaja sobre el aceite de *eucaliptus* en ese uso, y es que el tomillo produce calor, mientras que el *eucaliptus* es refrescante.

Por eso es especialmente indicado en todos los procesos gripales, de afecciones bronquiales, tos, laringitis, resfríos, problemás de amígdalas, actuando como antiséptico y descongestivo. Su acción sobre los órganos pulmón y su opuesto complementario, intestino grueso, ayuda en los procesos de recuperación en las vías respiratorias.

Es antirreumático y antiepasmódico, ejerciendo una amplia acción sobre el aparato digestivo: ideal para combatir la flatulencia, la pérdida de apetito, y las infecciones intestinales.

1.3.1. Requerimientos para su desarrollo agronómico (I-2)

1.3.2. Clima

El clima debe ser templado, templado-cálido y seco. Es una especie poco exigente de agua, resiste bien los períodos de sequía. El exceso de humedad le es muy perjudicial.

1.3.3. Suelo

No es exigente en cuanto a suelos, prospera en diversidad de terrenos, siendo los mejores los de consistencia media, permeables. Prospera también en suelos secos, algo calcáreos y en colinas hasta unos 800/1.000 msnm. No son convenientes los suelos arcillosos.

1.3.4. Características del cultivo (I-2)

1.3.4.1. Multiplicación

La multiplicación puede ser realizada por medio de semillas, matas o estacas. Semillas

Las semillas de esta especie son pequeñas (P1000 = 0,260 g), por lo cual es conveniente hacer almácigos y ubicar las simientes muy superficialmente. Las épocas del año más convenientes son otoño y principios de primavera. El almácigo deberá estar protegido contra lluvias copiosas, vientos fuertes y temperaturas elevadas. Hay que tener en cuenta que de este modo se obtendrán plantas de características distintas dentro de un mismo lote.

Los cuidados más importantes son el riego y el desmalezado, además del control de plagas. Cuando las plántulas hayan alcanzado una altura de 8/10 cm se transplantarán en el terreno definitivo. La distancia, en la plantación definitiva, puede ser de 0,50 a 0,70 m entre líneas y 0,30 a 0,40 m entre plantas de la línea, es decir, unos 0,20 m² de superficie para cada planta.

La siembra puede realizarse en forma directa, pero ello demanda más tareas y costo que por este método.

1.3.4.2. División de matas

Las matas se separan durante el otoño o principios de primavera, llevándolas inmediatamente al terreno definitivo, disponiéndolas en él a las distancias antes mencionadas. De cada mata dividida se pueden obtener, en promedio, unas 20-25 plantas.

1.3.4.3. Estacas

La multiplicación por estacas conviene realizarla durante el otoño, pero también puede hacerse durante el invierno. Se cortan ramitas jóvenes de plantas seleccionadas y despuntadas se llevan a vivero donde se plantan en tierra muy bien preparada, a distancias de 0,10 x 0,05 m aproximadamente.

Las plantas en el vivero deben ser protegidas de las temperaturas muy frías, la falta de agua, etc. El transplante se realiza a comienzos de la primavera.

1.3.5. Labores

Los cuidados se reducen a eliminación de malezas, carpidas y un aporque leve. Los riegos deben suministrarse en casos de sequías prolongadas.

1.3.6. Cosecha

Se realiza en época de floración, cortando las plantas a unos pocos centímetros del suelo, para permitir el rebrote y la posibilidad de realizar un segundo corte a principios de otoño.

A veces es probable realizar dos cosechas al año, una a mediados/fin de primavera, y otra a fines de verano principios de otoño, pero no es siempre posible.

Figura 3. Foto planta de tomillo con escala



Fuente : La Guía Incafo de las Plantas útiles y Venenosas de la Península Ibérica y Baleares.(23)

La cosecha debe realizarse en días secos y cuando se haya ya levantado el rocío.

Figura 4. Detalle sobre las partes de la planta de tomillo



Fuente: Herbal Drugs and Phytopharmaceutical. A Handbook for Practice on a Scientific basis. (32)

1.3.7. Postcosecha

1.3.7.1. Sumidades floridas

El producto de la cosecha se deja secar en un lugar ventilado y a la sombra, para que conserven su color natural. De tal modo, el secado es rápido.

Es importante hacer una buena limpieza del producto, separando las hojas de los tallos.

1.3.7.2. Aceite esencial

El producto de la cosecha, fresco o después de un oreado, se lo extrae con vapor de agua. También puede ser secado al sol y, después de separar tallos de hojas, extraer de éstas para obtener una esencia de mayor calidad.

1.3.8. Rendimiento

Sumidades: 800-1800 kg por hectárea.

Esencia: 0,5 a 1,5% sobre material oreado.

1.3.9. Usos y propiedades

1.3.9.1. Sumidades

Estimulante, antiespasmódico, balsámico, carminativo, vermífugo, diaforético y antiséptico. Condimento y aromatizante de carnes, aves, pescados, salsas, etc.

Para infusiones, pomadas y cocimientos en dermatología, cosmetología, desinfectantes de manos, inhalaciones, baños aromáticos, en la preparación de vinos especiales, etc.

Para la extracción del aceite esencial.

1.3.9.2. Esencia

Aromatizante y condimento, en reemplazo de las sumidades. En farmacia como desinfectante y antiséptico. En perfumería y jabonería.

1.3.10. Composición cualitativa y cuantitativa (31-262)

Aceite esencial (1.0-2.5%). Monoterpenos como timol (20-55%), p-cimeno (14-45%), carvacrol (1-10%), gamma-terpineno (5-10%), borneol (8%), linalol (8%).

Flavonoides. Luteolina, apigenina, naringenina, eriodictol, cirsilineol, salvigenina, cirsimaritina, timonina, timusina.

Ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico. Ácidos cafeico, rosmarínico (0.15-1.35%).

Triterpenos. Ácidos ursólico (1.9%), oleanólico (0.6%). Saponinas. Taninos.

1.3.11. Propiedades farmacodinámicas (2-377)

Clasificación terapéutica: PR03. Plantas medicinales expectorantes. (32-493). El aceite esencial de tomillo aumenta la actividad de los cilios bronquiales, a la vez que por un efecto irritante aumenta la producción de secreción bronquioalveolar. Evidencia experimental sugiere que el aceite esencial de tomillo tiene una actividad secretomotora. Esta actividad ha sido asociada con los extractos de saponinas de *Thymus Vulgaris L.*

También se ha reportado estimulación de los movimiento ciliares en la mucosa de la faringe de ranas, al ser tratadas con soluciones diluidas de aceite esencial de tomillo, timol o carvacrol.

Antiespasmódico. El aceite esencial de tomillo ejerce un efecto relajante del músculo liso bronquial. La acción espasmolítica y antitusiva del tomillo ha sido más frecuentemente atribuida a los constituyentes fenólicos timol y carvacrol, los cuales están en alto porcentaje en el aceite esencial, (más del 64%). Se ha demostrado que estos componentes previenen la contracción inducida en el ileón y la tráquea en el cerdo de Guinea, por la histamina, acetilcolina y otros reactivos, la concentración de fenoles en preparaciones acuosas de la droga son insuficientes para tomarse como parte de su actividad.

Evidencia experimental sugiere que la actividad espasmolítica *in vitro* de las preparaciones de tomillo son debidas a la presencia de polimetoxiflavonas. Estudios *in vitro* han demostrado que las flaonas del tomillo extraen la respuesta inhibitoria de antagonistas de receptores específicos como la acetilcolina, histamina y L-norepinefrina, así como agentes cuya acción no requiere de receptores específicos, como el cloruro de bario.

Se encontró también que las flavonas del tomillo actúan como antagonistas no competitivos y no específicos, también se demostró que son antagonistas del Ca^{+2} y son agentes musculotrópicos que actúan directamente sobre el músculo liso.

Antifúngico y antibacterial. Estudios hechos *in vitro* han demostrado que ambos, el aceite esencial de tomillo y el timol, tienen actividad anfúngica contra algunas especies *fungi*, incluyendo *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus*, *Saprolengia*, y *zygorhynchus*.

Ambos el aceite esencial y el timol tienen actividad antibacteriana contra *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, y algunas otras especies bacterianas. Como antibiótico, el timol es 25 veces más efectivo que el fenol, pero menos tóxico.

1.3.12. Propiedades farmacocinéticas (2-377)

No hay datos disponibles.

1.3.13. Datos preclínicos de seguridad (2-377)

No hay datos disponibles.

1.3.14. Datos clínicos

No hay datos disponibles.

1.3.15. Indicaciones terapéuticas (2-377)

Indicaciones terapéuticas aprobadas por la Comisión E del Ministerio de Sanidad alemán:

Tos improductiva.

Bronquitis.

Otras indicaciones:

Tradicionalmente se ha utilizado para el tratamiento del resfriado común, asma, laringitis, tos ferina, dispepsias, gastritis. También se ha utilizado por vía

tópica para el tratamiento de la estomatitis, halitosis, faringitis, amigdalitis, lesiones cutáneas y prurito.

1.3.16. Posología y método de administración

Se usa la droga pulverizada, infusiones/decocciones, extracto fluido, aceite esencial. No se recomienda el uso del aceite esencial del tomillo durante un periodo prolongado de tiempo o a dosis mayores a las recomendadas debido a su posible neurotoxicidad.

Las dosis diarias recomendadas son:

Droga seca pulverizada: 3 g/8 horas; infusión: 1-2 g/150 ml/6-8 horas; extracto fluido, 1:1 (g/ml): 1-2 ml/8 horas.

1.3.17. Contraindicaciones

1.3.17.1. Embarazo

El tomillo no debe usarse durante el embarazo debido a la ausencia de datos que avalen su seguridad. Categoría B, lo que implica que se han realizado estudios sobre varias especies de animales, utilizando dosis varias veces superiores a las humanas, sin que se hayan registrado efectos embriotóxicos o teratógenos; sin embargo, no se han realizado ensayos clínicos en seres humanos, por lo que el uso del tomillo sólo se acepta en caso de ausencia de alternativas terapéuticas más seguras.

1.3.17.2. Lactancia

El tomillo no debe usarse durante la lactancia debido a la ausencia de datos que avalen su seguridad.

Se ignora si los componentes del tomillo son excretados en cantidades significativas con la leche materna, y si ello pudiese afectar al niño. Se recomienda suspender la lactancia materna o evitar la administración del tomillo.

1.3.17.3. Efectos sobre la capacidad para conducir y utilizar maquinaria

No se han descrito.

1.3.18. Reacciones adversas

No se han descrito reacciones adversas a las dosis terapéuticas recomendadas. A altas dosis, en tratamientos crónicos o en individuos especialmente sensibles se pueden producir reacciones adversas.

1.3.19. Alergias

1.3.19.1. Dermatológicas

El tomillo posee un potencial de sensibilización débil, por lo que puede producir reacciones de hipersensibilidad o dermatitis por contacto en muy raras ocasiones.

Además de estas reacciones adversas, se han recogido en la base de datos FEDRA (Farmacovigilancia Española, Datos de Reacciones Adversas) del Sistema Español de Farmacovigilancia datos sobre posibles reacciones adversas, entre ellas las siguientes.

1.3.19.2. Digestivas

Anorexia.

1.3.19.3. Cardiovasculares

Arritmia cardíaca, taquicardia.

1.3.19.4. Neurológicas/psicológicas

Vértigo.

1.3.19.5. Genitourinarias

Oliguria, retención urinaria.

1.3.19.6. Alérgicas/dermatológicas

Eritema, erupción maculopapular.

1.3.20. Reacciones adversas de la planta

Ha sido reportada dermatitis al contacto. Los pacientes sensibles al polen de abedul o apio deben de ser sensibles al tomillo.

1.3.21. Carcinogénesis, mutagénesis, impedimento de fertilidad (31-264)

El aceite esencial de tomillo no ha demostrado ninguna actividad mutagenética en el ensayo del *Basillus subtilis*, en el ensayo del microsoma revertido de la *Salmonella*.

Investigaciones recientes sugieren que los extractos de tomillo son antimutagénicos, y que la Luteolina, un constituyente del tomillo, es un fuerte antimutagénico contra el carcinógeno dietético Trp-P-2.

1.3.22. Sobredosificación (32-494)

No hay datos disponibles.

1.3.23. Advertencias y precauciones especiales de uso (32-494)

Niños pequeños. Se debe tener especial cuidado al usar el aceite esencial puro y no sobrepasar nunca las dosis diarias recomendadas, ya que los aceites esenciales pueden resultar neurotóxicos y convulsivantes.

1.3.24. Ensayos generales para la caracterización de la planta y sus extractos (31-260)

Examinación macro y microscópica, y cromatografía química y de capa fina, cuantifican al Timol como agente trazador, en el aceite esencial.

1.3.25. Ensayos de pureza (31-261)

1.3.25.1. Microbiológicos

El ensayo para *Salmonella spp.* en la hierba del tomillo debe de resultar negativo. El límite máximo aceptable de otros microorganismos es el siguiente. Para preparación de infusión: bacterias aerobias, no más de 10⁷ /g; *fungi*, no más de 10⁵ /g; *Escherichia coli*, no más de 10² /g. Preparaciones para uso oral: bacterias aerobias, no más de 10⁵ /g; *fungi*, no más de 10⁴ /g; enterobacteria y ciertos bacterias Gram-negativas, no más de 10³ /ml, *Escherichia coli*, 0 /ml.

1.3.25.2. Materia orgánica extraña

No más del 10% de estambres de un diámetro de 1 mm. Hojas con tricomas largos en su base y con otras partes débiles y pubescentes no están permitidas. Las hojas y flores de *Origanum creticum* u *O. dictamnus* son consideradas como adulterantes. No está permitida alguna otra materia orgánica, en más de 2%.

1.3.25.3. Cenizas totales

No más de 15%.

1.3.25.4. Cenizas insoluble en ácido

No más del 2.0%.

1.3.25.5. Humedad

No más del 10%.

1.3.25.6. Residuos de pesticidas

Normalmente el límite máximo residuo de aldrin y dieldrin en el tomillo no debe ser de más de 0.05 mg/kg.

1.3.25.7. Metales pesados

Los niveles de cadmio y plomo no deben ser mayores a 10 y 0.3 mg/kg, respectivamente, en la forma de la dosis final de la planta. Otros ensayos de pureza (31-261)

Químicos, fracciones extractables en alcohol, fracciones extractables en agua.

1.3.26. Producción y mercados (I-3)

Cifras disponibles a 1997, indican que las importaciones europeas se ubicaban en 2.350 toneladas, por un monto aproximado de US\$ 5.000.000. De esta cantidad, los países miembros de la U.E. suministraron 921 toneladas, en tanto que las remesas del exterior ascendieron a 1.429 toneladas.

España es el principal productor de tomillo a nivel mundial, cultivando diversas variedades. Francia es un importante proveedor de tomillo salvaje y cultivado (*Thymus Vulgaris L.*). Marruecos, por su parte, provee una calidad particular de la variedad *Thymus satureioides*. En herboristería, el mercado es relativamente estable, con una demanda sostenida.

2. METODOLOGÍA

2.1. Ubicación

- Comunidad de Chaquijyá, en el departamento de Sololá al occidente del país. En esta comunidad se recolectó el tomillo, (*Thymus Vulgaris L.*), la materia prima vegetal para el experimento.
- Planta Piloto de extracción-destilación de aceites esenciales de la sección de Química Industrial, del Centro de Investigaciones de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Laboratorio de ensayo físico-químico de la Sección de Química Industrial, del Centro de Investigaciones de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Unidad de Análisis Instrumental (UAI), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

2.2. Recursos humanos

- Autor del trabajo de graduación: Rodrigo Antonio Cifuentes Marckwordt.
- Asesora del trabajo de graduación: Inga. Telma Maricela Cano Morales.

2.3. Recursos materiales

En cada repetición del experimento para la destilación por arrastre con vapor se utilizó:

- 8 libras de tomillo (*Thymus Vulgaris L.*)
- Agua para la destilación y para recuperar el aceite condensado.

2.4. Equipo y cristalería

- Planta piloto de extracción
- Beakers, probetas, tubos de ensayo, pipetas volumétricas, micropipetas, viales, frascos de vidrio.
- Refractómetro
- Balanza analítica
- Horno de secado

2.5. Procedimiento

2.5.1. Extracción de aceite esencial de tomillo usando materia prima verde A cada lote de materia prima verde extraerle el aceite esencial de tomillo (de acuerdo al siguiente procedimiento:

Determinar la humedad de la materia prima fresca pesando 100 gramos de material vegetal verde (P1), luego dejándolo secar a peso constante a 35°C, determinar el peso final (P2), restando el peso final al peso inicial y luego, dividiendo este resultado dentro del peso inicial, se calcula el porcentaje de humedad de la muestra de tomillo. Ver muestra de cálculo.

1. Encender la caldera.
2. Pesar 8 libras de material verde.

3. Abrir la marmita observando que esté limpia, antes de cargar el lote de materia prima.
4. Introducir en la marmita el material vegetal verde colocando los platos de aluminio.
5. Cerrar bien la marmita comprobando que todas las llaves de salida de vapor desde la marmita estén cerradas, para evitar fugas de vapor.
6. Encender la bomba de agua, corroborando que el nivel de agua en el depósito sea el adecuado para el funcionamiento del sistema. Encender el sistema de refrigeración.
7. Llenar el vaso para recuperar el condensado con agua hasta un nivel que el sifón desagüe el agua en exceso.
8. Colocar el vaso en su lugar para que guarde el condensado.
9. Abrir levemente la llave de vapor directo cuando la presión sea de 5.51 bar (80 psi), en el manómetro de la caldera.
10. Abrir un poco más la llave cuando empiece a caer el condensado en el vaso.
11. Extraer por dos horas.
12. Apagar el flujo de vapor, cerrando la llave de vapor directo.

13. Enfriar la marmita por 2 minutos mojándola con agua a temperatura ambiente del grifo.
14. Apagar el sistema de refrigeración.
15. Apagar la bomba de agua.
16. Abrir la marmita.
17. Purgar el condensado de la marmita abriendo la válvula de desagüe colocada en el fondo de ésta.
18. Sacar el material vegetal contenido en los platos y sacar el resto con agua del grifo, comprobando que la válvula de desagüe esté abierta.
19. Lavar bien la marmita con jabón, barrer y recoger el material que cayó en los alrededores.
20. Tirar en un lugar adecuado el material vegetal al que se le extrajo el aceite esencial y el material sobrante.

2.5.2. Extracción de aceite esencial de tomillo usando materia prima seca

A cada lote de materia prima seca extraerle el aceite esencial de tomillo de acuerdo al siguiente procedimiento:

1. Determinar la humedad de la materia prima seca pesando 100 gramos de material vegetal seco (P1), luego dejándolo secar a peso constante a 35°C, determinar el peso final (P2), restando el peso final al peso inicial y luego, dividiendo este resultado dentro del peso inicial, se calcula el porcentaje de humedad de la muestra de tomillo. Ver muestra de cálculo.
2. Encender la caldera.
3. Pesar 8 libras de material seco.
4. Abrir la marmita observando que este limpia, antes de cargar el lote de materia prima.
5. Introducir en la marmita el material vegetal seco colocando los platos de aluminio.
6. Cerrar bien la marmita comprobando que todas las llaves de salida de vapor desde la marmita estén cerradas, para evitar fugas de vapor.
7. Encender la bomba de agua, corroborando que el nivel de agua en el depósito sea el adecuado para el funcionamiento del sistema.
8. Encender el sistema de refrigeración.
9. Llenar el vaso para recuperar el condensado con agua hasta un nivel que el sifón desagüe el agua en exceso.

10. Colocar el vaso en su lugar para que guarde el condensado.
11. Abrir levemente la llave de vapor directo cuando la presión sea de 5.51 bar (80 psi), en el manómetro de la caldera.
12. Abrir un poco más la llave cuando empiece a caer el condensado en el vaso.
13. Extraer por dos horas.
14. Apagar el flujo de vapor, cerrando la llave de vapor directo.
15. Enfriar la marmita por 2 minutos mojándola con agua a temperatura ambiente del grifo.
16. Apagar el sistema de refrigeración.
17. Apagar la bomba de agua.
18. Abrir la marmita.
19. Purgar el condensado de la marmita abriendo la válvula de desagüe colocada en el fondo de ésta.
20. Sacar el material vegetal contenido en los platos y sacar el resto con agua del grifo, comprobando que la válvula de desagüe esté abierta.

21. Lavar bien la marmita con jabón, barrer y recoger el material que cayó en los alrededores.
22. Tirar en un lugar adecuado el material vegetal al que se le extrajo el aceite esencial y el material sobrante.

2.5.3. Análisis físicos del aceite esencial

2.5.3.1. Determinación de la densidad

1. Tarar el picnómetro anotando el peso de la tara.
2. Llenar hasta el aforo con el aceite esencial obtenido de las extracciones.
3. Pesarse de nuevo el picnómetro conteniendo el aceite y se anota el peso.
4. Restar al peso obtenido en el último paso, el peso obtenido de la tara. Dividir el resultado de la resta anterior dentro del volumen del picnómetro.

2.5.3.2. Determinación del índice de refracción

1. Limpiar el prisma del refractómetro con una pequeña cantidad de trietanolamina.
2. Encender la luz del refractómetro.

3. Tomar una muestra del aceite esencial obtenido de las extracciones con una micropipeta.
4. Colocar una gota del aceite en el prisma del refractómetro.
5. Leer el índice de refracción del aceite y anotarlo correctamente.

2.5.3.3. Cromatografía de gases y cuantificación del timol en las muestras de aceite esencial

El análisis por cromatografía de gases se realizó en la Unidad de Análisis Instrumental de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Luego se procedió a la lectura del cromatograma y cuantificación de las fracciones de Timol, determinando los tiempos de retención y las áreas en el cromatograma para el patrón de Timol y comparándolas con las áreas obtenidas para el cromatograma del aceite esencial extraído de cada tipo de material vegetal, fresco y seco. Diseño del estudio

Se determinó la cantidad de aceite esencial en base seca y rendimiento de extracción de aceite esencial de tomillo, evaluando dos tipos de materia prima vegetal, verde y seca, en lotes de 8 libras, utilizando tiempos de extracción de 2 horas, aplicando el método de arrastre con vapor directo, manteniendo una temperatura uniforme del condensado de 20°C, temperatura ambiente de 26°C y presión atmosférica de 640 mm de mercurio.

Utilizando los datos de humedad de la materia prima y los pesos de aceite esencial obtenidos de cada extracción, se determinó la cantidad en base seca,

y el rendimiento de extracción, de aceite esencial contenido en la planta del tomillo fresco y seco.

2.6. Diseño experimental

Cada experimento corresponde a la extracción de aceite esencial de tomillo de una cantidad de 8 libras de material vegetal fresco y seco, utilizando el mismo tiempo y método de extracción, 2 horas y arrastre con vapor directo, respectivamente.

La variable respuesta es la cantidad de aceite esencial en base seca y rendimiento de extracción de aceite esencial obtenido en cada corrida, para los dos tipos de materia prima, material vegetal fresco y seco.

La variable independiente es el tipo de materia prima, fresca y seca.

El número de tratamientos es:

- 2 tipos de material vegetal diferentes.
- 1 cantidad de masa de materia prima constante de 8 libras.

Número de tratamientos = $2 \times 1 = 2$

Cada tratamiento se realizará 4 veces o repeticiones:

Número de experimentos = $2 \text{ tratamientos} \times 4 \text{ repeticiones} = 8 \text{ corridas o experimentos}$.

2.7. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico del estudio se utilizó un diseño factorial con un factor de efecto fijo, que es el tipo de material vegetal, con dos niveles a estudiar, material vegetal fresco y material vegetal seco, las repeticiones son los rendimientos de extracción obtenidos en cada grupo y las cantidades de aceite esencial obtenidos en cada grupo. Los datos se compararon utilizando un análisis de variancia, ANOVA (14-430).

Para las extracciones de aceite esencial de tomillo, utilizando material vegetal fresco y seco, se hicieron cuatro repeticiones por cada tipo de material vegetal, entonces, se desea saber si estos datos indican que el tipo de material vegetal tiene un efecto significativo sobre el nivel de: cantidad de aceite esencial en base seca contenido en la planta y rendimiento de extracción de aceite esencial de tomillo con un nivel de confianza de 95%.

Los dos parámetros a analizar (cantidad de aceite en base seca contenida en la planta fresca y seca; y rendimiento de extracción de aceite esencial utilizando la planta fresca y seca) fueron medidos por la variable, \bar{x}_i , que indica el valor medio de ambos parámetros al nivel i , donde $i = 1,2$, corresponde a los tipos de material vegetal, respectivamente.

Existe cierto grado de variabilidad entre estas medidas. Ya que no se repiten sus valores cuando se toman muestras repetidas de una población, puede esperarse alguna variación aún si las dos medias poblacionales son iguales.

Entonces se plantea la pregunta: “¿Esta variación entre las \bar{x} se debe al azar o al efecto que tiene el tipo de material vegetal usado en las extracciones,

sobre el rendimiento de extracción de aceite esencial de tomillo y sobre la cantidad de aceite obtenida en base seca?”

Las hipótesis nulas por contrastar son: "los dos tipos de material vegetal tienen la misma cantidad de aceite esencial en base seca" y "los dos tipos de material vegetal rinden en las extracciones la misma cantidad promedio de aceite esencial de tomillo".

Los datos se tabulan de la siguiente manera (14-440):

Tabla II. Datos para análisis de varianza

	<i>Niveles del factor</i>			
Repetición	Muestra del nivel 1	Muestra del nivel 2	Muestra del nivel C
$k = 1$	$X_{1,1}$	$X_{2,1}$		$X_{c,1}$
$k = 2$	$X_{1,2}$	$X_{2,2}$		$X_{c,2}$
$k = 3$	$X_{1,3}$	$X_{2,3}$		$X_{c,3}$
.				
.				
.				
Totales de Columna	C_1	C_2	C_c
	$T = \text{gran total} = \text{suma de todas las } x = \sum x = \sum C_i$			

Cada dato tiene dos subíndices; el primero indica el número de columna (nivel del factor estudiado), y el segundo, el número de fila (repetición). Los totales de columna, C_i , se enlistan en la parte inferior de la tabla. El gran total, T , es igual a la suma de todas las x , y se obtiene sumando los totales de columna. Los totales de fila o hilera sirven para verificar el gran total, pero no tienen ninguna otra utilidad.

El modelo matemático para expresar el experimento es una función de probabilidad, la cual es una expresión de la composición de cada valor que aparece dentro del cuadro de datos.

Esta función de probabilidad se escribe así:

$$X_{c,k} = \mu + F_c + \varepsilon_{k(c)}$$

Cada término de este modelo se interpreta de la manera siguiente (14-441):

1. μ es el valor medio de todos los datos independientes del factor que se estudia.
2. F_c es el efecto que tiene el factor que se está comparando sobre la variable de respuesta en cada nivel c .
3. $\varepsilon_{k(c)}$ (ε es la letra griega minúscula épsilon) es el error experimental que ocurre entre las k repeticiones en cada una de las c columnas.

El primer paso entonces es establecer la hipótesis nula y la hipótesis alterna: $H_0: \mu_f = \mu_s$

H_a : Las medias no son iguales.

Donde μ_f y μ_s son las medias de las variables de estudio, (cantidad de aceite esencial determinada en base seca, contenido en la planta fresca y seca; y rendimientos de extracción de aceite esencial de tomillo utilizando material vegetal fresco y material vegetal seco, respectivamente).

Se desean rechazar las hipótesis nulas si los datos indican que una de las medias es diferente significativamente de la otra a un nivel de confianza del 95%.

Se debe determinar la variancia muestral, según la siguiente fórmula:

$$s^2 = \frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n - 1}$$

El numerador de esta fracción es la suma de cuadrados (SC):

$$\text{Suma de cuadrados} = \sum(x - \bar{x})^2$$

La suma de cuadrados de todos los datos o **suma de cuadrados total**, o bien **SC(total)**, se calcula con una fórmula equivalente a la de la variancia pero que no requiere de la media, \bar{x} , así (12-435):

SC (total) = $\sum(x^2) - (\sum x)^2/n$ La SC (total), debe separarse en dos partes: la suma de cuadrados SC (factor), debida a los niveles de tipo de material vegetal, y la SC (error), debido al error experimental de replicación o repetición.

Entonces, se tiene que:

$$\text{SC (total)} = \text{SC (factor)} + \text{SC (error)}$$

La suma de cuadrados SC (factor), mide la variabilidad entre los niveles de factor (tipos de material vegetal) se encuentra con la fórmula:

$$SC(\text{factor}) = (C_1^2/k_1 + C_2^2/k_2 + \dots) - (\sum x)^2/n$$

Donde C_i representa el total de columna: k_i , el número de repeticiones en cada nivel del factor; y n , el tamaño de muestra total ($n = \sum k_i$).

La suma de cuadrados SC (error) que mide la variabilidad dentro de las filas se obtiene con:

$$SC(\text{error}) = \sum(x^2) - (C_1^2/k_1 + C_2^2/k_2 + \dots)$$

Se utilizará una tabla de ANOVA como ya se indicó para registrar las sumas de cuadrados y organizar los demás datos. El formato de una tabla de este tipo es como el cuadro siguiente:

Tabla III. Formato de presentación para datos del ANOVA

Fuente de Variación	de	SC	gl	CM
Rendimiento				
Error				
Total				

La tabla de ANOVA indica también los grados de libertad (gl) asociados a cada una de las tres fuentes, estos se determinan así:

1. gl (factor) es igual al número de niveles (columnas) para los cuales se prueba el factor, menos uno:

$$gl(\text{factor}) = c - 1$$

2. gl (total) es el número total de datos menos uno:

$$\text{gl (total)} = n - 1$$

donde n representa el número total de datos en la muestra (es decir, $n = k_1 + k_2 + \dots$, donde k_i es el número de repeticiones en cada nivel probado).

3. gl (error) es la suma de los grados de libertad de los niveles probados (columnas en la tabla de datos). La columna tiene $k_i - 1$ grados de libertad; consecuentemente,

$$\text{gl (error)} = (k_1 - 1) + (k_2 - 1) + \dots \text{o bien:}$$

$$\text{gl (error)} = n - c$$

Las sumas de cuadrados y los grados de libertad deben satisfacer lo siguiente:

$$\text{SC (factor)} + \text{SC (error)} = \text{SC (total)}$$

$$\text{gl (factor)} + \text{gl (error)} = \text{gl (total)}$$

El cuadrado medio para el factor que se está probando, CM (factor), y para el error, CM (error), se obtendrá dividiendo el valor de la suma de cuadrados entre el número de grados de libertad correspondiente. Es decir:

$$\text{CM (factor)} = \text{SC (factor)} / \text{gl (factor)}$$

$$\text{CM (error)} = \text{SC (error)} / \text{gl (error)}$$

Finalmente se contrastan las hipótesis utilizando los dos cuadrados medios como medidas de variancia. El valor calculado de la estadística de prueba F , se obtiene al dividir el CM (factor) entre el CM (error).

$$F = \text{CM (factor)} / \text{CM (error)}.$$

La decisión sobre rechazar H_0 o no rechazarla se realizará comparando el valor calculado de F , o sea F , con el valor crítico de F , para una extremidad, obtenido de tablas (14-436).

3. RESULTADOS

Tabla IV. Resultados

No.	Parámetro	Tomillo seco	Tomillo verde
1.	Rendimiento de extracción	0.22498622	0.14980706
2.	Cantidad de aceite esencial en base seca	2.54 g/kg	6.05 g/kg
3.	Humedad	75.25 %	11.53 %.
4.	Índice de refracción	1.485	1.4975
5.	Densidad	0.895	0.895
6.	Composición		
	Timol	21.23	32.0
	Carvacrol	4.05	4.92
	P-Cimeno	14.92	12.48

Fuente: Datos originales, datos calculados

1. Para el análisis de varianza se determinó la influencia del tipo de materia vegetal en el rendimiento de extracción de aceite esencial, $F_c^* > F$, $20.16 > 5.99$, por lo tanto, sí existe diferencia significativa entre las medias del rendimiento de extracción al utilizar dos tipos de materia prima con diferente grado de humedad.
2. Para el análisis de varianza se determinó la influencia del tipo de materia vegetal en la cantidad de aceite esencial determinada en base seca, $F_c^* > F$, $39.94 > 5.99$, por lo tanto, sí existe diferencia significativa entre las medias del rendimiento de extracción al utilizar dos tipos de materia prima con diferente grado de humedad.

4. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Según la Agencia Europea del Medicamento, *EMEA* (por sus siglas en inglés), (1-126) cuando se habla de plantas medicinales se refiere a:

- Planta medicinal propiamente dicha (materia prima).
- Preparados a base de plantas medicinales, como son extractos, infusiones, etc.
- Especialidades farmacéuticas elaboradas con plantas medicinales o con preparados de éstas.

Debido a que la calidad de una planta medicinal como materia prima se puede medir en función de la calidad de su aceite esencial, es importante poder determinar la forma de obtener un aceite de mejor calidad lo que asegura la calidad final de sus preparados y especialidades farmacéuticas.

Las plantas medicinales son materia vegetal de origen natural y tienen una composición variable y no definida en su totalidad (1-126). Son seres vivos que varían constantemente su composición química en forma cuantitativa y cualitativa, según su naturaleza, tiempo de insolación, cantidad y calidad del agua de riego, características del suelo, época de recolección, etc. Además, las distintas partes de una misma planta (hojas, raíces, etc.) también tienen distinta composición.

Entonces resulta utópico concluir que se conoce la composición química real de todos y cada uno de los componentes de una planta. Aún así se pudo

determinar por medio de cromatografía gaseosa las cantidades de algunos de los componentes que contiene el aceite esencial de tomillo.

Al determinar la cantidad de aceite esencial en la planta, utilizando el peso del material seco, se debe tomar en cuenta que el aceite esencial se encuentra en las sumidades floridas y las hojas de la planta, y no así en el tallo. Los rendimientos que reporta la bibliografía fueron determinados usando estas partes, y utilizando el peso en base seca, a eso se debe la diferencia entre los rendimientos determinados y estos rendimientos. Se trató de eliminar el 50% del tallo de la planta, pero aún así los resultados indican que se debe utilizar solo las hojas y las flores para obtener un mayor rendimiento de extracción del aceite esencial.

Frecuentemente se desconoce con exactitud qué principios activos (generalmente más de uno) son los responsables de la acción terapéutica en una planta medicinal. En estos casos se elige la determinación de un “marcador de calidad”, es decir, un analito presuntamente estable que está presente en la planta aunque no necesariamente deba tener actividad terapéutica definida.

También ocurre que al no existir patrón de referencia en el mercado, o ser de muy difícil localización, se estipule el control de calidad de una materia prima mediante la valoración de un conjunto de sustancias químicas con el mismo grupo funcional (flavonoides, etc) lo que intrínsecamente comporta una falta de selectividad.

De esta forma quedan definidas las especificaciones de calidad de muchas plantas medicinales, desde el punto de vista de materia primas, en distintas monografías presentes en farmacopeas (1-126).

Para el tomillo se escogió como analito su aceite esencial, el cual se encuentra en el interior de la planta, específicamente en las hojas y en las sumidades floridas.

Para el aceite esencial de tomillo se escogieron como marcadores de calidad, el Timol, Carvacrol y Para-Cimeno, estos compuestos químicos se buscaron en el aceite esencial de tomillo por la técnica de cromatografía gaseosa, utilizando patrones químicos de cada uno y observando su tiempo de retención en el cromatograma; y se compararon los tiempos de retención de los picos obtenidos en los cromatogramas de los aceites esenciales, con los tiempos de retención de los patrones. Así se pudo identificar y cuantificar estos trazadores.

Los compuestos Timol, Para-Cimeno, y Carvacrol, se escogieron por razones de disponibilidad de patrones y debido a que son los que se encuentran en mayor cantidad en el aceite esencial de tomillo, según lo indica la bibliografía (31-261).

Se determinó la humedad de cada lote al que se le extrajo el aceite esencial para poder hacer una comparación de las cantidades de aceite esencial contenidas en la planta fresca y seca y poder concluir si en el proceso de secado existe pérdida de aceite esencial. Los resultados de la humedad de la materia prima se pueden observar en la Tabla X , página 80.

Los analitos presentes en las plantas medicinales se hallan en el interior de su estructura y no de forma aislada como sucede en una mezcla de analitos y excipientes, por lo que deben ser extraídos de su interior.

Se obtuvieron rendimientos de aceite esencial más bajos que los reportados en la bibliografía debido a que la principal dificultad de extracción del analito radica en el tratamiento de la materia prima. A causa de esta característica, a menudo deben aplicarse tratamientos de la materia prima largos y agresivos, lo que puede provocar pérdidas importantes de analito. Todo ello hace que los porcentajes de recuperación sean generalmente bajos.

Para poder extraer el aceite esencial se utilizó la planta piloto de extracción-destilación de productos naturales, un diagrama detallado de esta se encuentra en la sección de anexos.

En esta planta se pueden hacer diferentes tipos de preparados y extracciones, entre ellas la extracción de aceites esenciales utilizando diferentes métodos, para extraer el aceite esencial de tomillo se escogió el método de arrastre con vapor, el cual ya fue explicado en este mismo documento en la sección de definiciones. Este método se seleccionó debido a su economía, a que es uno de los métodos que produce mejor recuperación de aceite esencial, limpieza y la facilidad de su procedimiento.

La capacidad nominal de la marmita de la planta piloto es de 9.07 kg (20 libras), pero debido al volumen del material, se escogieron lotes de 3.63 kg (8 libras), para los dos tipos de materia prima, fresca y seca.

El tiempo de extracción se fijó en dos horas, que no equivale al agotamiento del aceite en la planta de tomillo, pero que después de este tiempo la cantidad del aceite es muy pequeña y no resulta económico seguir extrayéndolo debido al aumento en el costo de operación de la planta piloto. El tomillo fue preparado antes de la extracción para separar las hojas y sumidades floridas del tallo, ya que éste no posee aceite esencial. En éste proceso existen

pérdidas de analito, luego, el proceso de extracción en la planta piloto es otro tratamiento en el cual, por arrastre con vapor, se extrae el aceite esencial.

Dicho aceite involucra pérdidas en el proceso de condensación, ya que parte de él se impregna en la superficie de los tubos del condensador. Este aceite se queda atrapado en las rugosidades de la superficie del metal, debido a que la superficie de condensación es considerable, entonces se puede esperar un rendimiento de extracción menor que si el experimento se hiciera a escala más pequeña.

La eliminación parcial de agua en el material vegetal fresco, se define como secado. Al comparar los rendimientos de extracción de aceite esencial utilizando la materia prima fresca y la materia prima que se ha sometido a secado, se debe tomar en cuenta que el peso del material fresco incluye el agua que posee la planta, el cual es de aproximadamente 75.25%.

Comparado con el 11.53% que posee el material seco, se deduce inmediatamente que el rendimiento de extracción del material fresco debe ser menor, ya que el rendimiento es la razón del peso de aceite esencial y peso de materia prima.

Asumiendo que existía diferencia entre las cantidades de aceite esencial sin tomar en cuenta la cantidad de agua (hipótesis 2), se quiso descartar la posibilidad de que los rendimientos fueran iguales debido a la pérdida de aceite en el secado de la planta fresca, se concluyó que el rendimiento de extracción si es significativamente diferente, ya que la pérdida de agua no es igual, en magnitud, a la diferencia de en la cantidad de aceite que posee el material fresco y el seco.

En el análisis estadístico de los resultados se asumió la hipótesis nula, “no existe diferencia significativa en las cantidades de aceite esencial determinadas en base seca, usando la planta en estado fresco y en estado seco”, esta hipótesis se rechazó estadísticamente y se validó la hipótesis alterna, “existe diferencia significativa en la cantidad de aceite esencial, determinada en base seca, contenida en la planta en estado fresco y en estado seco”, con lo cual se concluyó que sí hay pérdida de aceite esencial en el proceso de secado de la planta fresca. (Ver tabla XI y tabla XIII de datos calculados, páginas 81 y 82).

Las muestras de aceite esencial analizadas en el cromatógrafo de gases, se prepararon mezclando las muestras de aceite esencial obtenidas para cada tipo de materia prima, la planta fresca y la planta seca. Se obtuvieron dos cromatogramas, en los cuales se puede observar los resultados obtenidos de la cuantificación de los compuestos, la cual indica que no existe diferencia en la calidad del aceite, es decir que las concentraciones de los compuestos químicos hallados es la misma en cada aceite.

Muchos factores influyeron en el bajo porcentaje de recuperación del aceite esencial, uno de ellos es que en el proceso de cuantificación del analito, existe una falta de homogeneidad y representatividad de la muestra. Las distintas partes de una misma planta tienen una composición química diferente, que además se ve modificada según la época de recolección, el corte y las condiciones de almacenamiento.

Por tanto, es primordial efectuar un muestreo adecuado y homogeneizar la muestra a analizar con el objeto de conseguir la máxima representatividad. Aun cuando se utilizan extractos normalizados de plantas medicinales que han pasado por una fase previa de homogenización (e.g. estado líquido), continúa

persistiendo la incertidumbre sobre si su composición química es realmente homogénea.

El tomillo posee una concentración máxima de aceite esencial durante la época de floración y durante el período de la estación seca. Para este caso no fue posible controlar estos factores, ya que la materia prima fue comprada a proveedores que no conocen acerca de este tema.

La comparación de los índices de refracción y la densidad del aceite esencial, para cada muestra indican lo que se había confirmado con los cromatogramas, que la calidad del aceite es la misma, debido a que la composición química no es diferente en las muestras de aceite esencial de tomillo extraído de los dos tipos de materia prima, fresca y seca.

Dado que el estudio de calidad de los preparados a base de plantas medicinales y de las especialidades fitoterapéuticas tiene su inicio en el análisis de las plantas medicinales como materia prima, se considera lógico e interesante intentar aplicar los mismos métodos analíticos (utilizados en la identificación y valoración de analitos) al control de calidad de los productos finales preparados con la misma planta.

Con ello se consigue una correlación en las especificaciones de materia prima y producto acabado que favorecerá el seguimiento y la comprobación de un adecuado y constante método de fabricación de los productos elaborados.(1-127).Teniendo en cuenta el bajo valor agregado que tienen las plantas medicinales de utilización cotidiana en su proceso de comercialización, la inversión y los recursos que se aplican a su investigación y control de calidad no resultan ser muy elevados generalmente.

Es por ello que, aunque existen laboratorios con departamentos de control de calidad con personal técnico muy calificado y muy bien equipado, en general los métodos analíticos más comunes o más utilizados para su control de calidad siguen siendo técnicas analíticas poco sofisticadas y de bajo costo, como pueden ser la cromatografía de capa fina, y la espectrofotometría UV-visible, tal y como se encuentra en la mayoría de monografías de plantas medicinales presentes en las diferentes farmacopeas.

CONCLUSIONES

1. El proceso de secado influye en la cantidad obtenida de aceite esencial de tomillo (*Thymus Vulgaris L.*) determinada en base seca y en el rendimiento de extracción a nivel planta piloto, ya que existe diferencia significativa entre estas variables utilizando materia prima vegetal en estado fresco y seco.
2. El rendimiento de extracción de aceite esencial de tomillo es mayor cuando es extraído de la planta en estado seco, y es de 0.225 % para la extracción utilizando tomillo seco, y de 0.149 % para el tomillo fresco.
3. La cantidad de aceite esencial de tomillo por unidad de masa es mayor en la planta en estado fresco, por lo tanto, existe pérdida de aceite esencial en el proceso de secado, y es 2.54 gramos por kilogramo de tomillo seco y de 6.05 gramos por kilogramo de tomillo fresco.
4. La humedad del tomillo en la planta fresca es de aproximadamente 75.25%.
5. La humedad del tomillo en la planta seca es de aproximadamente 11.53%.

RECOMENDACIONES

1. Mantener un buen control de todos los factores, pero sobre todo del proceso de secado, recolección y cosecha del tomillo, para obtener mejores rendimientos de aceite esencial y también aceite esencial de mejor calidad.
2. Utilizar materia prima vegetal que tenga un mayor porcentaje de hojas, ya que el aceite esencial se encuentra en mayor cantidad en éstas.
3. Hacer que la información sobre plantas medicinales llegue hasta los productores de plantas medicinales y extractos naturales para así poder tener una retroalimentación de información, la cual servirá para que los productos finales tengan una mejor calidad.
4. Realizar estudios económicos de extracción del aceite esencial de tomillo, utilizando especies cultivadas en la región altiplano del país.

BIBLIOGRAFÍA

1. Asociación Española De Farmacéuticos De La Industria. **Monografías de AEFI**, Barcelona, marzo 2001.
2. *Blumenthal M, Goldberg A. Brinckman J., Herbal Medicine, Expanded Commission E Monographs. Integrative Medicine Communications, Newton, 2000. pp 376-8.*
3. *CAB. Abstracts. Medicinal, Essential oil, culinary, herb and pesticidal plants of the Labiatae. Part. 1. CAB International. Edit. D.J. Cousins Walling Ford. Oxon Oxio 8 DE UK. 1973-1993, PP 167-200.*
4. Cáceres, Armando. **Plantas de uso medicinal en Guatemala**, Editorial Universitaria (USAC) Guatemala 1996. Páginas 358-360.
5. **European Pharmacopea**. Maisonneuve S. A. Sainte Ruffin France. 2nd ed. 1980.
6. *European Scientific Cooperative On Phytotherapy (E.S.C.O.P.). Monographs on the medicinal uses of plant drugs. Fascicle 1: Thymi herba. March, 1996.*
7. Fernández, M; Nieto. A., **Plantas Medicinales**, Ediciones Universidad de Navarra, Pamplona, 1982, p. 170.
8. *Food And Agriculture Organization. Non wood forest products from conifers. FAO, Roma, 1998.*
9. García, A.A. **Vademecum de Prescripción: plantas medicinales, Fitoterapia**. 3 ed. Editora Másson S.A., España, 1998.

10. **García, MC; Rebollar, W; García D. Composición química del aceite esencial de *Thymus Vulgaris L.* en la Comunidad de Madrid. En: 1 Jornadas ibéricas de plantas medicinales, aromáticas y de aceites esenciales. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid, 1992.**
11. **Gere, DR.; Derrico, E.M. Hydrodistillation and Supercritical Fluid Extraction for the Determination of Essential Oils in Aromatic Plants. 1994, 12(5), 352-366.**
12. **Guenther, E. The essential Oils, Van Nostrand Co. Inc. Vol 1, IV, V USA, 1956.**
13. **Janies, A; Duke, Ph D. Handbook of Medicinal Herbs. 5a. Boca Ratón, Florida: CRC Press, 1987, pp. 4834; 493; 501; 523; 567.**
14. **Johnson, Robert. Estadística elemental, Primera Edición, Grupo Editorial Iberoamérica, México, 1991.**
15. **Lawrence, B.H. 1985. A review of the world production of essential oils. Perfumer and Florist 10: 1-1.6.**
16. **Lawrence, B.M. Progress in Essential Oils. PerAm. Flavor. 1995, pp, 20, 3 5-3 7.**
17. **Mann, J.; Secondary Metabolism. Oxford Chemical Series General Editors. Oxford, 1978.**
18. **PDR For Herbal Medicines. Medical Economics Company, Montvale. Second Edition. 2000; pp 761-2.**
19. **Ramaswami, S.K.; Briscese, P.; Garguillo, R.J.; And Van Geldern, T. IN. Lawrence, B.M.; Mookberjee, B.I.; And Willis, B.J.(Editors). Flavors and Fragrances: A World Perspective, Proceedings of the loth International Congress on Essential Oils. Flavors and Fragrances, Washington, DC. 1986, Elsevier, Amsterdam, 1988, pp. 51.**

20. **Real Farmacopea Española.** Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo, 1997, pp. 1706-7.

21. *Revercheron, E.; Della Porta, G.; Senatore, F. **Supercritical CO2 Extraction and fractionation of Lavender Essential Oil and Waxes.** *Jagric. Food Chem.* 1995, pp, 43, 1654-1658.*

22. *Revercheron, E.; Donsi, G.; Osseo, L.S. **Modeling of Supercritical Fluid Extraction from Herbaceous Matrices.** *Ind. Eng. Chem. Res.* 1993, 32, 2721-2726.*

23. Rivera, D; Obon, C. **La Guía Incafo de las Plantas útiles y Venenosas de la Península Ibérica y Baleares.** Madrid: Incafo, 1991, pp. 867-70.

24. Robert H. Perry/ Cecil H Chilton, **Manual del Ingeniero Químico,** Segunda Edición en Español, Quinta Edición Internacional, Editorial McGraw Hill, México, 1982.

25. *Rural Industries Research & Development Corp. - **The New Rural Industries A Handbook for Farmers & Investors.***

26. *Samuelsson, G. **Drugs of Natural Origin. A Textbook of Pharmacognosy.** Stockholm: Swedish Pharmaceutical Press, 1992, p. 145.*

27. S SA- **Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos.** 1952, pp: 15-16.

28. Trease, GE; Evans, WCh. **Farmacognosia.** México D.F.: Interamericana--MacGrawHill, 1991, pp. 465.

29. *Van Hellemont, J. **Compendium de Phytotherapie.** Bruxelles: Association Pharmaceutique Belge, 1986, pp. 397-402.*

30. Villar, L; Palacín, JM; Calvo, C; Gómez, D; Montserrat, G. **Plantas Medicinales del Pirineo Aragonés y demás tierras oscenses. 2.** Huesca: Diputación Provincial, 1992, pp.234; 283.
31. **WHO Monographs on Selected Medicinal Plants, Volume 1,** Editorial World Health Organization, Geneva, 1999. pp.259-266.
32. **Wichtl, M. Herbal Drugs and Phytopharmaceutical. A Handbook for Practice on a Scientific basis.** Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 1994, pp. 493-5.
33. Agarraberes, Susana. **Productos naturales y extractos de plantas medicinales con actividad antifúngica para la conservación de frutos.** 01/22/2002, http://docum.azti.es/noticiastec.nsf/0/d3ba3a2b77cf5296c1_256b4a0044d7a8?OpenDocument, 15/08/ 2004.
34. **Tecnologías de cultivo y poscosecha de plantas medicinales, aromáticas y tintóreas,** <http://www.herbotecnia.com.ar/exo-tomillo.html>, 17/08/2004.
35. Boletín Informativo, **Desarrollo del Sector de las Plantas Medicinales y Aromáticas en el Uruguay,** 03/2002, <http://www.mgap.gub.uy/Junagra/Boletines/AceitesEsenciales/Aceites02.pdf>, 17/08/2004.
36. Proyectos realizados por UNIDO, **Utilization of medicinal and aromatic plants for a herbal pharmaceutical industry,** 1984, <http://www.unido.org/Data/Project/Project.cfm?c=2572>, 15/07 /2004.

5. ANEXOS

Cálculo de muestra

Cálculo del porcentaje de humedad de los lotes de materia prima.

Se calculó la humedad de la materia prima utilizando el peso inicial y el peso final después del secado, así:

$$H = 100 \times (P_1 - P_2) / P_1$$

Donde:

H = Porcentaje de masa de humedad de la muestra.

P₁ = Peso inicial

P₂ = Peso final

$$H_1 = 100 \times (100 - 24.8) / 100$$

H₁ = 75.2 % Cálculo de las cantidades en base seca de aceite esencial utilizando los dos tipos de material vegetal, fresco y seco.

Para poder determinar la cantidad de aceite esencial de tomillo contenida en el material vegetal fresco y seco, se debe tomar en cuenta la humedad de los lotes, se tomaron muestras de los lotes y fueron secadas a peso constante a una temperatura de 35°C, entonces tomando en cuenta esto se determinó el porcentaje en base seca de aceite esencial contenido en el material vegetal de tomillo fresco y seco.

Los resultados de las humedades de cada lote se muestran en los datos originales, página XXVII.

La cantidad en base seca de aceite esencial contenida en la planta de tomillo fresco y seco se calculó de la siguiente manera:

$$\eta = \frac{10^5 \times E (100)}{PL(100-H)}$$

η = Cantidad de aceite esencial en base seca, en gramos de aceite por kilogramo de tomillo.

E = Peso de aceite esencial de tomillo obtenido en cada extracción, en gramos.

PL = Peso del lote, para todos los casos 8 libras, o sea 3628 gramos.

H = Humedad de la planta en unidades de porcentaje de masa. Cálculo de la media de la cantidad en base seca de aceite esencial en la planta fresca y seca

$$\bar{\eta} = \frac{\sum \eta_i}{n}$$

Donde:

$\bar{\eta}$ = Media de las cantidades en base seca de aceite esencial.

$\sum \eta_i$ = Sumatoria de las cantidades en base seca de aceite esencial.

n = número de corridas.

Por ejemplo, el cálculo para determinar el promedio de las cantidades en base seca de aceite esencial de tomillo, utilizando los datos para materia prima fresca, se realiza de la siguiente manera:

$$\bar{\eta} = \sum \eta_i/n = (0.00684 + 0.00581 + 0.00695 + 0.00461)/4$$

$$\bar{\eta} = 0.00605$$

Cálculo del rendimiento de extracción de aceite esencial

Los rendimientos de extracción de aceite esencial de tomillo utilizando material fresco y seco, son comparaciones de masa entre la masa utilizada en cada lote al cual se le extrajo el aceite esencial y la masa de aceite esencial obtenido a partir de estos lotes, sin tomar en cuenta la humedad del material vegetal. Los resultados de los pesos de aceite esencial se muestran en los datos originales.

El rendimiento de extracción de aceite esencial se calculó de la siguiente manera:

$$\beta = \frac{100 \times E}{3628}$$

β = Rendimiento de extracción de aceite esencial, en unidades de porcentaje de masa.

E = Peso de aceite esencial de tomillo obtenido en cada extracción, en gramos.

Cálculo de la media de los rendimientos de extracción de aceite esencial utilizando los dos tipos de material vegetal fresco y seco.

$$\bar{\beta} = \Sigma \beta_i/n$$

Donde:

$\bar{\beta}$ = Media de los rendimientos de extracción.

$\Sigma \beta_i$ = Sumatoria de los rendimientos de extracción para un tipo de materia prima.

n = número de corridas.

Por ejemplo, el cálculo para determinar el promedio de los rendimientos de extracción de aceite esencial de tomillo, utilizando los datos para materia prima fresca, se realiza de la siguiente manera:

$$\bar{\beta} = \Sigma \beta_i/n = (0.169 + 0.144 + 0.172 + 0.114)/4$$

$$\bar{\beta} = 0.149 \%$$

De la misma forma se calcula el promedio del rendimiento de aceite esencial de tomillo a partir de materia prima seca, y los datos de los rendimientos se encuentran en la sección de datos calculados.

Cálculo de la densidad del aceite esencial

$$\rho = (m-T)/V \text{ Donde:}$$

ρ = Densidad del aceite en g/ml.

m = Masa del picnómetro lleno con el aceite, en gramos.

T = Tara del picnómetro o peso del picnómetro vacío, en gramos.

V = Volumen del picnómetro o volumen de aceite, en mililitros.

Por ejemplo, para calcular la densidad del aceite obtenido en la primera corrida utilizando material vegetal fresco, se utilizó un picnómetro que tiene un volumen de 5 ml, y utilizando la tara o peso del picnómetro vacío se determina la densidad así:

$$\rho = m/V = (16.58-12.13)\text{g} / 5\text{ml} = 0.89 \text{ g/ml}$$

De la misma manera se calcularon las demás densidades, tarando el picnómetro antes de cada determinación de la densidad.

Cálculo del ANOVA

Antes de empezar los cálculos para el ANOVA se ordenan los datos según la siguiente tabla:

Tabla V. ANOVA de rendimientos de extracción

	Niveles del factor	
	Tipos de materia prima vegetal para las extracciones de aceite esencial	
Repetición	Muestra del nivel 1	Muestra del nivel 2
	Rendimientos de extracción de aceite esencial de tomillo fresco	Rendimientos de extracción de aceite esencial de tomillo seco
$k = 1$	$x_{1,1} = 0.169$	$x_{2,1} = 0.252$
$k = 2$	$x_{1,2} = 0.144$	$x_{2,2} = 0.226$
$k = 3$	$x_{1,3} = 0.172$	$x_{2,3} = 0.208$
$k = 4$	$x_{1,4} = 0.114$	$x_{2,4} = 0.213$
Totales de columna	$C_1 = 0.599$	$C_2 = 0.899$
$T = \text{gran total} = \sum x = \sum C_i = C_1 + C_2 = 1.498$		

1. Determinación de, SC (total), suma de cuadrados total para los rendimientos de extracción de aceite esencial de tomillo:

$$SC \text{ (total)} = \sum (x^2) - (\sum x)^2/n$$

$$\begin{aligned} \sum (x^2) &= 0.169^2 + 0.144^2 + 0.172^2 + 0.114^2 + 0.252^2 + 0.226^2 + 0.208^2 + 0.213^2 \\ &= 0.296 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \sum x &= 0.169 + 0.144 + 0.172 + 0.114 + 0.252 + 0.226 + 0.208 + 0.213 \\ &= 1.499 \end{aligned}$$

$$SC \text{ (total)} = \sum (x^2) - (\sum x)^2/n = 0.296 - (1.499)^2/8 = 0.0147$$

2. Cálculo de C_i , o totales por columna:

$$C_1 = \sum x_i = 0.599$$

$$C_2 = \sum x_j = 0.900$$

3. Cálculo de **SC (factor)**, o **SC (tipo de material vegetal)**:

$$\begin{aligned} \text{SC (factor)} &= (C_1^2/k_1 + C_2^2/k_2) - (\sum x)^2/n \\ &= (0.599^2/4 + 0.900^2/4) - 1.499^2/8 = 0.0113 \end{aligned}$$

4. Determinación de **SC (error)**:

$$\text{SC (error)} = \sum(x^2) - (C_1^2/k_1 + C_2^2/k_2)$$

$$\begin{aligned} \sum(x^2) &= 0.169^2 + 0.144^2 + 0.172^2 + 0.114^2 + 0.252^2 + 0.226^2 + 0.208^2 + 0.213^2 \\ &= 0.296 \end{aligned}$$

$$(C_1^2/k_1 + C_2^2/k_2) = 0.599^2/4 + 0.900^2/4$$

$$= 0.292 \quad \text{SC (error)} = \sum(x^2) - (C_1^2/k_1 + C_2^2/k_2) = 0.296 - 0.292 = 0.004$$

5. Comprobando la suma:

$$\text{SC (factor)} + \text{SC (error)} = \text{SC (total)}$$

$$0.0113 + 0.004 = 0.0147$$

6. Cálculo de los grados de libertad, gl:

Tabla VI. Cálculo de los grados de libertad para el ANOVA

gl (tipo de material vegetal)	$c - 1$	$2 - 1$	1
gl (total)	$n - 1$	$8 - 1$	7
gl (error)	$n - c$	$8 - 2$	6
gl (factor) + gl (error) = gl (total)	***	***	7

7. Determinación del **cuadrado medio** para el factor que se está probando, **CM (factor)**, y para el error, **CM (error)**, se obtendrán así:

$$\text{CM (factor)} = \text{SC (factor)} / \text{gl (factor)}$$

$$\text{CM (factor)} = 0.01130381 / 1 = 0.011303813$$

$$\text{CM (error)} = \text{SC (error)} / \text{gl (error)}$$

$$\text{CM (error)} = 0.00336442 / 6 = 0.000560736$$

8. La tabla de ANOVA donde se incluye toda la información encontrada hasta el paso anterior se muestra en el cuadro siguiente:

Tabla VII. Datos calculados para el ANOVA de los rendimientos de extracción

Fuente de variación	SC	gl	CM
Rendimiento de Extracción	0.01130381	1	0.011303813
Error	0.00336442	6	0.000560736
Total	0.01466823	7	

9. Ahora se efectúa el contraste de hipótesis utilizando los dos cuadrados medios como medidas de variancia.

El valor calculado de la estadística de prueba F^* , se obtiene al dividir el CM (factor) entre el CM (error):

$$F^* = \text{CM (factor)}/\text{CM (error)} = 0.011303813/0.000560736 = 20.15887882$$

Comparando con el valor crítico para F , para una extremidad, obtenido de tablas, el cual es $F(1,6,0.05) = 5.99$, para este caso la F calculada es mayor que la F de tablas así:

$$F^* > F(1,6,0.05)$$

$$20.15887882 > 5.99$$

La F^* calculada es mayor que la $F(1,6,0.05)$ obtenida de tablas, por lo tanto, la hipótesis se rechazó.

De la misma forma que se calcularon los datos del paso 1 al 9, se realizaron los cálculos para las cantidades en base seca de aceite esencial de tomillo para materia prima fresca y seca. Los resultados de estos cálculos se presentan en la sección de datos calculados. Para estos datos la F^* calculada fue mayor que la $F(1,6,0.05)$ de tablas, por lo tanto, también se rechazó la hipótesis.

Datos originales

Tabla VIII. Pesos de aceite esencial en gramos, humedades de la materia prima en base seca.

MATERIA PRIMA	VARIABLES	
Tomillo verde	Peso de aceite esencial de tomillo en gramos	Pesos finales después de secar las muestras de materia prima (100 gramos)
1.	6.15	24.8
2.	5.21	24.7
3.	6.25	24.8
4.	4.13	24.7
Tomillo seco		
1.	9.14	88.5
2.	8.21	88.48
3.	7.56	88.46
4.	7.74	88.46

Tabla IX. Índices de refracción de los aceites esenciales.

CORRIDA	VARIABLE
Tomillo verde	Índice de refracción
1.	1.51
2.	1.5
3.	1.48
4.	1.5
Tomillo seco	
1.	1.49
2.	1.48
3.	1.47
4.	1.5

Datos calculados

Tabla X. Datos calculados, humedades de la materia prima utilizada

MATERIA PRIMA	PORCENTAJE DE MASA DE HUMEDAD
Tomillo verde	
1.	75.2 %
2.	75.3 %
3.	75.2 %
4.	75.3 %
Tomillo seco	
1.	11.5 %
2.	11.52 %
3.	11.54 %
4.	11.54 %

Tabla XI. Datos calculados, rendimientos de extracción de aceite esencial y cantidades de aceite esencial en base seca.

MATERIA PRIMA	VARIABLES	
	Rendimiento de extracción de aceite esencial	Cantidades de aceite esencial en base seca g de aceite / kg de tomillo
Tomillo verde		
1.	0.170	6.84
2.	0.144	5.81
3.	0.172	6.95
4.	0.114	4.61
Tomillo seco		
1.	0.252	2.85
2.	0.226	2.56
3.	0.208	2.36
4.	0.213	2.41

Tabla XII. Datos calculados, densidad de los aceites extraídos.

MATERIA PRIMA	VARIABLE	
Tomillo verde	Densidad del aceite esencial	
	1.	0.89
	2.	0.90
	3.	0.89
	4.	0.90
Tomillo seco		
	1.	0.90
	2.	0.90
	3.	0.89
	4.	0.90

Tabla XIII. Resultados del ANOVA

Fuente de variación	SC	gl	CM
Rendimiento de extracción	0.01130381	1	0.011303813
Error	0.00336442	6	0.000560736
Total	0.01466823	7	
$F(1,6,0.05)$			5.99
F^*			20.15887882
Comparación de F			$F^* > F$ 20.16 > 5.99
Cantidad de aceite esencial en base seca	2.4615E-05	1	2.46151E-05
Error	3.6978E-06	6	6.16302E-07
Total	2.8313E-05	7	
$F(1,6,0.05)$			5.99
F^*			39.94001128
Comparación de F			$F^* > F$ 39.94 > 5.99

CROMATOGRAMAS

Figura 5. Resultados del cromatograma, tomillo verde

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS
DE GUATEMALA



FACULTAD DE CC. QQ. Y FARMACIA

Edificio "T-12"
Ciudad Universitaria, zona 12
Guatemala, Centroamérica

ESCUELA DE QUIMICA UNIDAD DE ANALISIS INSTRUMENTAL Edificio T-13, Ciudad Universitaria, Zona 12 Tel: 4769844 y 4760790 al 94 ext. 274		INFORME DE ANALISIS DE LABORATORIO	
Nombre común o comercial de la muestra Aceite esencial de Tomillo		Código del Remitente TF	
No. registro: 0108147		Empresa/Institución: Facultad de Ingeniería-USAC- Remitente/Solicitante: Rodrigo Cifuentes Marckwordt	
Fecha recepción 22/08/2004	Muestras recibidas por RV	Tipo de recipiente vidrio	Peso neto ***
Determinaciones solicitadas: Análisis por Cromatografía Gaseosa de aceite esencial.			
RESULTADOS DE ANÁLISIS			
Componente	Tiempo de Retención (min.)	% de Área	
No identificado	11.30	1.14	
α -pineno	11.58	1.41	
Camfeno	12.34	1.37	
Mirceno	13.27	2.45	
No identificado	14.65	1.94	
Eucaliptol	15.62	2.21	
p-cimeno	16.30	12.48	
No identificado	16.65	24.31	
No identificado	18.56	1.99	
No identificado	19.28	2.09	
No identificado	21.50	2.51	
Linalool	24.18	2.20	
α -terpineol	32.51	2.12	
Geraniol + β -cariofileno	38.25	4.85	
Timol	50.27	32.00	
Carvacrol	51.41	4.92	
No se excluye la posibilidad de otros componentes en cada uno de los picos identificados. Adjunto cromatograma.			
Costo por determinación Q 200.00			
Fecha terminado 11/09/2004	Analista RV	Ref. Registro Analítico UAI-crom	Costo total facturado Q 200.00
Firma 	Firma de recibido		Fecha de recibido



Figura 6. Resultados del cromatograma, tomillo seco

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS
DE GUATEMALA



FACULTAD DE CC. QQ. Y FARMACIA
Edificio "T-13"
Ciudad Universitaria, zona 12
Guatemala, Centroamérica

ESCUELA DE QUIMICA UNIDAD DE ANALISIS INSTRUMENTAL Edificio T-13, Ciudad Universitaria, Zona 12 Tel: 4769844 y 4760790 al 94 ext. 274		INFORME DE ANALISIS DE LABORATORIO	
Nombre común o comercial de la muestra Aceite esencial de Tomillo		Código del Remitente TS	
No. registro: 0108138		Empresa/Institución: Facultad de Ingeniería-USAC- Remitente/Solicitante: Rodrigo Cifuentes Marckwordt	
Fecha recepción 22/08/2004	Muestras recibidas por RV	Tipo de recipiente vidrio	Peso neto ***
Determinaciones solicitadas: Análisis por Cromatografía Gaseosa de aceite esencial.			
RESULTADOS DE ANÁLISIS			
Componente	Tiempo de Retención (min.)	% de Área	
α-pineno	11.66	1.11	
Camfeno	12.43	1.06	
Mirceno	13.36	2.36	
Eucaliptol	15.74	1.95	
p-cimeno	16.46	14.92	
No identificado	16.79	22.62	
No identificado	17.82	1.21	
No identificado	18.67	1.58	
No identificado	19.40	2.45	
Linalool	24.31	1.75	
Alcanfor	26.93	0.99	
α-terpineol	32.67	1.33	
Geraniol + β carfileno	38.57	8.36	
Timol	50.41	21.23	
Carvacrol	51.56	4.05	
No se excluye la posibilidad de otros componentes en cada uno de los picos identificados. Adjunto cromatograma.			
Costo por determinación		Q 200.00	
Fecha terminado 07/09/2004	Analista RV	Ref. Registro Analítico UAI-crom	Costo total facturado Q 200.00
Firma 		Firma de recibido	Fecha de recibido