



Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ingeniería
Escuela Ingeniería Química

EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL CRUDO DE HIERBABUENA
(MENTHA CITRATA EHRH.) CON LA APLICACIÓN DEL MÉTODO DE
EXTRACCIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR VARIANDO LOS
TAMAÑOS DE MUESTRA Y HUMEDAD A PARTIR DE PRUEBAS A
NIVEL LABORATORIO

Tannia Magaly De León Morán

Asesorado por Inga. Telma Maricela Cano Morales

Guatemala, febrero de 2005

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL CRUDO DE HIERBABUENA
(MENTHA CITRATA EHRH.) CON LA APLICACIÓN DEL MÉTODO DE
EXTRACCIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR VARIANDO LOS
TAMAÑOS DE MUESTRA Y HUMEDAD A PARTIR DE PRUEBAS A
NIVEL LABORATORIO

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA

POR

TANNIA MAGALY DE LEÓN MORÁN

ASESORADA POR INGA. TELMA MARICELA CANO MORALES

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE
INGENIERA QUÍMICO

GUATEMALA, FEBRERO 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 Alvarez
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. Jaime Domingo Carranza González
EXAMINADOR	Ing. Orlando Posadas Valdez
EXAMINADOR	Ing. Edgar Adolfo Reynoso Enríquez
SECRETARIO	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco

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:

EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL CRUDO DE HIERBABUENA (MENTHA CITRATA EHRH.) CON LA APLICACIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR VARIANDO LOS TAMAÑOS DE MUESTRA Y HUMEDAD A PARTIR DE PRUEBAS A NIVEL LABORATORIO

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química con fecha 28 de junio de 2004.

Tannia Magaly De León Morán

ACTO QUE DEDICO

- A MIS PADRES:** Lic. César De León Contreras y Licda. Gloria Rebeca Morán Mérida por ser en mi vida ejemplo de superación , amor y apoyo. Por todo esto y más ... Gracias.
- A MI ESPOSO:** Werner Leonel Pineda Muñoz por su amor, amistad y dedicación . Y por ser ante todo el gran amigo que con su amor me inspira a seguir adelante.
- A MI HIJITA:** Melany Sofía, por ser la luz que alumbró el sendero de mi vida y que con su sonrisa y sus gracias me alegra cada día.
- A MIS HERMANOS:** Douglas, Vera, Dennis y Damaris porque nos sigamos fijando metas, podamos realizarlas y compartirlas.
- A MI SOBRINO:** Harold Joel porque todos sus sueños se cumplan.
- A MI ABUELO:** Manuel de Jesús Morán Gálvez por su cariño.

A MIS SUEGROS: Dr. Elmer A. Pineda Díaz y Sandra Muñoz de Pineda, por todo el apoyo que me han dado. Gracias.

A MIS CUÑADOS: Elmer y Carolina por su amistad.

A LA MEMORIA Félix De León Barillas, Máxima Contreras
DE MIS ABUELOS: Aguirre y María Laura Mérida Ruiz por que los llevo en mis recuerdos de infancia.

AGRADECIMIENTOS

A MI ASESORA

Inga. Telma Maricela Cano Morales por brindarme su apoyo y asesoría en la realización este trabajo.

A MI REVISOR

Ing. José Eduardo Calderón García por la atención brindada en la revisión de este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	V
LISTA DE SÍMBOLOS.....	VII
GLOSARIO.....	VIII
RESUMEN.....	X
OBJETIVOS.....	XII
HIPÓTESIS.....	XIII
INTRODUCCIÓN.....	XV
1. ANTECEDENTES.....	1
2. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. Aceites esenciales.....	5
2.2. Composición química de los aceites esenciales.....	6
2.3. Métodos de extracción de los aceites esenciales.....	7
2.3.1. Extracción por arrastre con vapor.....	8
2.3.2. Enflorado.....	8
2.3.3. Expresión.....	9
2.3.4. Extracción por solventes.....	9
2.3.5. Maceración.....	10
2.4. Métodos de identificación y cuantificación de los constituyentes del aceite esencial.....	10

2.4.1.	Densidad e índice de refracción.....	10
2.4.2.	Solubilidad.....	11
2.4.3.	Cromatografía de gases.....	11
2.5.	Características de los aceites esenciales.....	13
2.6.	Factores que afectan el rendimiento de los aceites esenciales.....	13
2.6.1.	Tipo de materia prima.....	14
2.6.2.	Tiempo de secado.....	14
2.6.3.	Tamaño de partícula.....	14
2.6.4.	Tiempo de extracción.....	14
2.6.5.	Método de extracción.....	15
2.6.6.	Características del equipo de extracción.....	15
2.6.6.	Características de los flujos.....	15
2.7.	La hierbabuena.....	15
2.7.1.	Nombre científico	15
2.7.2.	Sinónimos.....	15
2.7.3.	Familia.....	16
2.7.4.	Nombres populares.....	16
2.7.5.	Descripción botánica.....	16
2.7.6.	Hábitat.....	16
2.7.7.	Historia.....	17
2.7.8.	Agricultura.....	17
2.7.9.	Usos medicinales atribuidos.....	18
2.7.10.	Usos domésticos	18
2.7.11.	Farmacología.....	18
2.7.11.1.	Experimental.....	18
2.7.12.	Composición química.....	19

2.7.12.1.	Composición química del aceite esencial.....	19
2.7.13.	Farmacognosia.....	19
2.7.14.	Toxicología.....	20
2.7.15.	Indicaciones terapéuticas.....	20
2.8.	Comercio del aceite esencial de hierbabuena.....	20
3.	METODOLOGÍA	22
3.1.	Localización.....	22
3.2.	Recursos humanos.....	23
3.3.	Recursos materiales	23
3.4.	Equipo y cristalería.....	23
3.5.	Procedimiento.....	24
3.6.	Diseño del estudio.....	25
3.7.	Manejo del estudio.....	26
3.8.	Diseño experimental.....	26
3.8.1.	Unidad experimental.....	26
3.8.2.	Variables independientes.....	26
3.8.3.	Variable respuesta.....	26
3.8.4.	Tratamientos.....	27
3.8.5.	Análisis estadístico.....	27

4. RESULTADOS.....	32
5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	36
CONCLUSIONES.....	42
RECOMENDACIONES.....	43
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44
BIBLIOGRAFÍA.....	46
APÉNDICE A	
Datos originales.....	48
APÉNDICE B	
Datos calculados.....	49
APÉNDICE C	
Muestra de cálculo.....	51
APÉNDICE D	
Equipo <i>Clavenger</i> para extracción de aceites esenciales.....	56
APÉNDICE E	
Cromatograma de aceite esencial.....	57
APÉNDICE F	
Ilustración de la hierbabuena (<i>Mentha citrata</i> Ehrh).....	59

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1	Rendimiento (%) de aceite esencial de hierbabuena (Mentha citrata Ehrh)	33
2	Diagrama del equipo utilizado	56
3	Cromatograma del aceite esencial de hierbabuena (Mentha citrata Ehrh) fresca	57
4	Cromatograma del aceite esencial de hierbabuena (Mentha citrata Ehrh) seca	58
5	Ilustración de la hierbabuena (Mentha citrata Ehrh)	59

TABLAS

I	Experimento de dos factores con n réplicas	28
II	Análisis de varianza para el experimento de dos factores con n réplicas	30

III	Rendimiento (%) de aceite esencial de hierbabuena (Mentha citrata Ehrh.), a tres tamaños de muestra y dos contenidos de humedad	32
IV	Propiedades sensoriales del aceite esencial de hierbabuena (Mentha citrata Ehrh.)	34
V	Índice de refracción a 22°C, del aceite esencial de hierbabuena (Mentha citrata Ehrh.) fresca	34
VI	Índice de refracción a 22°C, del aceite esencial de hierbabuena (Mentha citrata Ehrh.) seca	35
VII	Resultado de la cromatografía de gases para aceite esencial crudo de hierbabuena (Mentha citrata Ehrh.) fresca	35
VIII	Resultado de la cromatografía de gases para aceite esencial crudo de hierbabuena (Mentha citrata Ehrh.) seca	35
IX	Datos originales de masa en gramos de aceite esencial de hierbabuena (Mentha citrata Ehrh.)	48
X	Datos calculados de la sumatoria (ΣY_{ijk}) de rendimiento de los distintos tratamientos	49
XI	Resumen del análisis de varianza	50

LISTA DE SÍMBOLOS

Σ	Sumatoria
n	Número de réplicas
T_{ij}	Suma de las observaciones
y_{ij}	Media de las observaciones
Y_{ijk}	Variable respuesta
k	Observaciones
i	Niveles del factor A
j	Niveles del factor B
SSA	Suma de cuadrados del factor A
SSB	Suma de cuadrados del factor B
$SS(AB)$	Suma de cuadrados de AB
a	Tamaños de muestra
b	Contenidos de humedad
S^2	Cuadrado medio (varianza)
SSE	Suma de cuadrados del error

GLOSARIO

Alifático	Compuesto orgánico que debe reaccionar como un alcano, alqueno, alquino o cualquiera de sus contrapartes cíclicas.
Cáliz	Se dice de los órganos que cubren externamente a las flores.
Corola	Término utilizado para nombrar la segunda envoltura de las flores que protege los estambres y el pistilo.
Dispepsia	Sensación de molestia gástrica vaga que se siente después de la ingesta.
Diurético	Se dice del fármaco u otra sustancia que tiende a promover la formación y excreción de la orina.
Espiga	Conjunto de flores o frutos situados a lo largo de un tallo común.
Estolón	Se denomina así al tallo de una planta el cual tendido en el suelo echa raicillas.

Fenol	Compuesto derivado del benceno el cual contiene un grupo hidroxilo.
Labiadas	Familia de las plantas dicotiledóneas gamopétalas con la corola dividida en dos lóbulos.
Patógeno	Término que se utiliza para designar a los agentes que causan las enfermedades.
Umbelíferas	Dícese de las plantas de la familia umbelífera, familia de plantas herbáceas o leñosas que tienen hojas grandes y flores pequeñas.
Vermífugos	Propiedad que tienen algunas plantas de matar las lombrices intestinales.

RESUMEN

Se realizó la extracción del aceite esencial crudo de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh.). Para lo cual se utilizó el método de extracción por arrastre con vapor a nivel laboratorio. Se evaluó el efecto del tamaño de muestra y el contenido de humedad sobre el rendimiento del aceite. El contenido de humedad que se utilizó fue fresca y seca (al 10 % de humedad) y los tamaños de muestra fueron de 15, 30 y 45 g. El tiempo de extracción fue de dos horas.

Para la caracterización del aceite esencial se realizó la cromatografía de gases para determinar los componentes mayoritarios presentes en el mismo, también se realizaron pruebas fisicoquímicas: densidad e índice de refracción.

Se diseñó un experimento factorial (3 x 2) realizando tres repeticiones por tratamiento. El análisis estadístico indicó: que sí existe variación significativa en el porcentaje de rendimiento sometida a diferentes tamaños de muestra; no existe variación significativa en el porcentaje de rendimiento con respecto a los diferentes contenidos de humedad de la muestra; existe diferencia significativa en la interacción tamaño de muestra-contenido de humedad.

Los resultados de las pruebas fisicoquímicas, densidad e índice de refracción realizadas al aceite esencial corresponden a lo reportado en las referencias bibliográficas.

OBJETIVOS

General

Extraer aceite esencial crudo de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh.) aplicando el método de extracción por arrastre con vapor, variando los tamaños de muestra y humedad a partir de pruebas a nivel laboratorio.

Específicos

1. Determinar el rendimiento del aceite esencial crudo de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh.), variando el tamaño de muestra por el método de arrastre con vapor a nivel laboratorio.
2. Caracterizar el aceite esencial crudo de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh.) por medio de cromatografía de gases.
3. Evaluar la influencia del contenido de humedad de la muestra (fresco y seco) en el rendimiento de aceite esencial crudo de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh.).

HIPÓTESIS

El rendimiento de aceite esencial crudo de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh.) tiene dependencia con el tamaño de muestra y contenido de humedad.

Hipótesis estadística

Para la variable respuesta porcentaje de rendimiento, se tiene:

H_{0a}: No existe variación significativa en la variable respuesta sometida a diferentes tamaños de muestra.

H_{1a}: Existe variación significativa en la variable respuesta sometida a diferentes tamaños de muestra.

H_{0b}: No existe variación significativa en la variable respuesta con respecto a los diferentes contenidos de humedad de la muestra

H_{1b}: Existe variación significativa en la variable respuesta con respecto a los diferentes contenidos de humedad de la muestra.

H_{0a.b}: No existe diferencia significativa en la interacción tamaño de muestra- contenido de humedad.

H1a.b: Existe diferencia significativa en la interacción tamaño de muestra-contenido de humedad.

INTRODUCCIÓN

Guatemala es un país rico en recursos vegetales, de los cuales pocos se han explotado y estudiado, se tiene por lo tanto a nivel de la población, conocimientos empíricos de los beneficios medicinales de las plantas, pero es necesario estudiar las propiedades de éstas, los compuestos que se pueden extraer de ellas, así como los componentes de estos extractos, para que pueda abrirse campo en la industria, el uso de estas plantas como materia prima para una diversidad de aplicaciones.

Una de estas plantas es la hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh), la cual es utilizada principalmente para un sin número de trastornos estomacales, también es utilizada para condimentar alimentos frescos y cocidos. Esta planta crece en los jardines de muchos de los hogares guatemaltecos y no requiere suelo ni clima específicos.

Entre los métodos para extraer aceite esencial crudo de las plantas, se encuentra el método de extracción por arrastre con vapor, el cual consiste en poner a ebullición la materia prima sólida utilizada, esto hace que las células grasas donde se deposita el aceite esencial en la planta se rompan, este aceite es arrastrado por el vapor de agua, que luego se condensa a una temperatura de 5° C.

Luego el aceite crudo es atrapado por un solvente, en este caso hexano, para obtener una mezcla de aceite esencial- hexano-agua. El agua se separa por diferencia de densidades. Finalmente la mezcla se hace pasar por un rotavapor, en el cual se separa el aceite esencial del hexano por puntos de ebullición diferentes.

El objetivo del presente estudio fue caracterizar el aceite esencial crudo de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh), a nivel laboratorio y determinar si existe influencia sobre el rendimiento de aceite esencial crudo variando los tamaños de muestra y el contenido de humedad (fresca y seca al 10 % de humedad), así mismo determinar si existe interacción entre ellos que afecte el rendimiento.

Se tomó como materia prima la hoja de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh.), originaria del municipio de Santiago Atitlán, del departamento de Sololá.

1 ANTECEDENTES

Las especies aromáticas han tenido gran importancia dentro de la vida humana por más de cuarenta siglos antes de Jesucristo, éstas han tenido variados usos durante todo este tiempo, hasta la fecha. Entre sus usos principales se encuentran, los medicinales, así como su utilización en la industria, de los cuales se puede mencionar los extractivos de dichas especies como los aceites esenciales.

Los aceites esenciales se produjeron y usaron por primera vez en oriente, específicamente en Egipto, Persia y la India luego se dieron a conocer en occidente donde en el año 485 a.C. ya se conocía el aceite de trementina el cual es uno de los más antiguos. La primera referencia en la literatura acerca de los aceites esenciales de las especies apareció en la última parte del siglo XIII, en ese tiempo Arnoldo de Villanova describió por primera vez la destilación de los aceites esenciales de las hojas de romero y salvia (ref. 5).

En la segunda mitad del siglo XVI se pudo evidenciar la obtención de los aceites esenciales por medio de la destilación.

En la obra de Hieronymus Brunschwig (Strassbourg 1450-1534) la cual tenía por título *Liber De Arte Distillandi* se hacía mención a los aceites de trementina, romero, enebro y lavanda, obtenidos por destilación (ref. 7).

Durante el siglo XIX se practicaron los primeros análisis químicos de las esencias, lo cual dio origen con *Lavoisier*, iniciándose así la aplicación de la química analítica.

J. J. Houston de la Billardiére fue el primero en someter el aceite esencial de trementina a un análisis elemental, encontrando que la relación carbono-hidrógeno era de 5-8, la misma que se estableció más adelante para todos los hemiterpenos, terpenos, sesquiterpenos y politerpenos.

En Guatemala la industria de los aceites esenciales principió durante la segunda guerra mundial, época en la cual los Estados Unidos tenía que abastecerse en América, ya que prácticamente resultaba difícil el comercio entre los países del lejano oriente, fue entonces cuando la producción de aceite de citronela y té de limón adquirió en Guatemala un auge extraordinario (ref. 7).

En la escuela de Ingeniería Química y el Centro de Investigaciones Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala se han realizado varios estudios sobre la extracción de aceites esenciales tanto a nivel laboratorio como a nivel planta piloto de diversas especies; pero ninguno de ellos se ocupa de la extracción de aceite esencial de hierbabuena.

Entre estos estudios importantes y completos se encuentran: “Determinación y comparación del rendimiento del aceite esencial de la cáscara del fruto de *Protium copal*, en tres distintos tiempos de destilación”, realizada por la Inga. química Mildred Carmina López O., en 1999, en el cual determina que a mayor tiempo de destilación mayor rendimiento de aceite esencial.

También se encuentra: “Evaluación del rendimiento en la extracción del aceite esencial de la hoja de orégano (*Lippia graveolens*), variando el tamaño de muestra y aplicando los métodos de arrastre con vapor e hidrodestilación a nivel laboratorio”, realizada por el Ing. químico Jonathan Iván Sandoval Arana, en 1999, en el cual determina que no existe interacción significativa entre las variables del tamaño de muestra y método a utilizar.

Y cabe mencionar para finalizar, “Extracción y determinación del rendimiento de aceite esencial de *Ocimum basilicum* (Albahaca) en función de la estación de recolección y del tamaño de lote obtenidos por medio de arrastre con vapor a nivel laboratorio”, realizada por la Inga. química María de los Ángeles Pernilla De León, en 2002, en el cual determina que se obtiene mayor porcentaje de aceite esencial cuando el material es recolectado en verano y el tamaño de lote es mayor.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Aceites esenciales

Los aceites esenciales son componentes vegetales que debido a su consistencia son muy volátiles, su olor es intenso aunque en algunas excepciones agradable. Son muy frecuentes en el reino vegetal y son muy pocas las plantas que carecen de ellos por completo (ref. 6).

Los aceites esenciales son llamados también aceites etéreos o esencias, aceites aromáticos y aceites volátiles, se obtienen generalmente por arrastre de vapor debido a que éstos difícilmente se disuelven en el agua o resultan incluso insolubles en ella.

Entre las familias botánicas que contienen los aceites esenciales en cantidades elevadas entre el 0.1 y el 10 por ciento son las labiadas y las umbelíferas. Estos aceites se depositan en las células grasas, las vías o los pelos oleaginosos. Los aceites esenciales están formados por numerosas sustancias diferentes, de esta cuenta es que los hay en los que se han podido identificar hasta más de 50 elementos (ref. 6).

Las plantas medicinales que contienen aceites esenciales tienen en común propiedades curativas antiinflamatorias, expectorantes, diuréticas, antiespasmódicas y tonificantes sobre el estómago, el intestino, la bilis y el hígado. Lo cual implica que las plantas con aceite esencial combaten los agentes patógenos, a las bacterias y posiblemente a los virus.

2.2 Composición química de los aceites esenciales

La composición química de los aceites esenciales es muy variada, difieren de una familia a otra, los aceites esenciales están formados principalmente por compuestos orgánicos líquidos más o menos volátiles, se encuentran compuestos de cadena abierta, cíclicos, bicíclicos, tricíclicos así como también sus derivados oxigenados y en algunas ocasiones compuestos sulfurados.

Existe por lo tanto una gran variedad de compuestos los cuales se pueden clasificar en la forma siguiente: compuestos de la serie terpénica; compuestos acíclicos sin ramas laterales; derivados del benceno; y otros compuestos de diversa estructura química.

Los compuestos de la serie terpénica son compuestos naturales que contienen dobles enlaces, los terpenos pueden dividirse en unidades de isopreno de cinco carbonos, los terpenos se clasifican de acuerdo al número de subunidades de isopreno que contienen.

Los monoterpenos poseen dos unidades isoprénicas, es decir, contienen diez átomos de carbono, los sesquiterpenos contienen tres unidades isoprénicas (15 átomos de carbono), los diterpenos poseen cuatro unidades isoprénicas por lo tanto contiene 20 átomos de carbono, y así sucesivamente.

Los compuestos acíclicos sin ramas laterales se refieren a todos los hidrocarburos en cadena recta y sus derivados oxigenados, como los aldehídos y cetonas, los alcoholes, ácidos, éteres y ésteres. De estos, los tres primeros constituyen lo que es la fracción más volátil de los aceites esenciales.

Los derivados del benceno presentan diferentes grados de oxidación por lo tanto puede ocurrir que se unan al anillo aromático grupos de hidroxil, metoxil, metilén así como la cadena lateral puede contener grupos hidroxil o de carboxil.

2.3 Métodos de extracción de los aceites esenciales

Existen varios métodos de extracción para obtener los aceites esenciales de las plantas, los cuales se encuentran en las células grasas, las vías o los pelos oleaginosos, que se encuentran a su vez en las hojas, semillas, tallos, flores, frutos etc., de las mismas. Entre los métodos de extracción se encuentran los siguientes:

2.3.1 Extracción por arrastre con vapor

Este método es uno de los más antiguos, la mayoría de los aceites esenciales se puede obtener mediante este método, el cual consiste en llevar a ebullición el agua donde está inmersa la materia sólida a tratar y separando los componentes por condensación. En este método el material que se desea extraer se coloca en una matraz y se agrega agua hasta un nivel en el que el material a extraer quede ligeramente cubierto, luego se lleva a ebullición donde el aceite es arrastrado por el vapor de agua, el cual se condensa y por diferencia de densidades se separan utilizando para recolectar el aceite hexano para retener la esencia y facilitar la separación.

El equipo para extraer debe constar de las siguientes partes: una fuente de calor, un matraz para colocar el material a extraer con agua, un colector de aceite esencial y un refrigerante para la condensación de los vapores.

2.3.2 Enflorado

En este método se utiliza pétalos de flores, en contacto con grasa fría. Estos se colocan dentro de pequeñas cámaras formadas por los *chasises* al colocarse uno sobre otro, el perfume de las flores se desprende y se deposita en la grasa, las flores se cambian varias veces hasta saturar la grasa de perfume, a esto se le llama pomada.

Se realizan lavajes de la pomada en alcohol etílico, del cual se separa posteriormente por destilación al vacío. Puede efectuarse también el mismo procedimiento sobre polvo de carbón de madera. Otro sistema de enflorado consiste en colocar los pétalos sobre paños de tela absorbente, los cuales se impregnan de aceite y después de exprimir se obtiene el aceite perfumado, los materiales a utilizar en este método deben de ser previamente purificados y desodorizados. Este método produce esencias de alta calidad.

2.3.3 Expresión

Consiste en exprimir el material que contiene la esencia por medio de presión, este método puede aplicarse con éxito a materiales del tipo de la cáscara de cítricos.

2.3.4 Extracción por solventes

Este método consiste en colocar el material en una corriente de solvente, de manera que éste se apodere de toda la esencia y luego es separada por destilación, existen varios solventes que se pueden utilizar, pero los que proporcionan mejores resultados son el éter de petróleo y el benceno.

Debe tomarse en cuenta que el solvente a utilizar tiene que poseer las siguientes características: selectivo, es decir disolver rápida y efectivamente los componentes odoríferos; bajo en punto de ebullición; químicamente inerte al aceite; evaporarse completamente sin dejar cualquier residuo odorífero; de bajo precio y no inflamable (ref. 9).

2.3.5 Maceración

Se lleva a cabo mediante una operación que consiste en dejar remojar por varios días el material en líquido para sacar los productos solubles que contienen, en este sistema se utiliza aceite, grasa fundida y alcohol etílico.

2.4 Métodos de identificación y cuantificación de los constituyentes del aceite esencial

Existen varias formas de identificar los compuestos por los que están formados los aceites esenciales, entre las cuales se encuentran:

2.4.1 Densidad e índice de refracción

Determinando la densidad e índice de refracción del aceite esencial se pueden hacer deducciones sobre los componentes presentes.

Por lo que densidades menores de 0.9 e índices de refracción menores de 1.47 sugieren un alto porcentaje de hidrocarburos terpénicos o compuestos alifáticos. Si la densidad es mayor es posible la presencia de compuestos oxigenados alifáticos.

2.4.2 Solubilidad

La solubilidad a 20 ° C de un aceite esencial en soluciones de etanol-agua puede ser indicador de compuestos oxigenados. La solubilidad en volúmenes iguales de disulfuro de carbono puede indicar agua debido a la opalescencia. En soluciones de hidróxido de potasio la solubilidad aumenta con el contenido de fenoles.

2.4.3 Cromatografía de gases

Los aceites esenciales tienen una inmensa gama de compuestos que los forman, por lo tanto es indispensable determinar la composición de los mismos y la proporción en que estos compuestos se encuentran en los aceites. Para ello se necesita aislar y purificar los compuestos mediante la cromatografía.

La cromatografía consiste en separar las moléculas de un soluto de una fase móvil debido a la afinidad que presentan con una fase estacionaria, cuanto mayor sea la afinidad por la fase estacionaria mayor será el tiempo en que la molécula será retenida, en la cromatografía de gases la fase móvil es un gas.

Existen varios tipos de fases estacionarias disponibles para la cromatografía de gases, la fase estacionaria retiene mejor los solutos de su misma clase. Los siguientes son ejemplos de los solutos que son retenidos frecuentemente por las fases líquidas, compuestos como los hidrocarburos saturados, los hidrocarburos aromáticos, los cuales son compuestos de baja polaridad; los éteres, cetonas y aldehídos los cuales son de polaridad intermedia, como los alcoholes por ejemplo; los que son compuestos polares; y los hay también muy polares, como los ácidos polipróticos,

Las fases estacionarias más usadas en la cromatografía de gases son: elastómeros de silicona y Apiezon L como fases no polares y *carbowax* 400 y poliéster de adipato de dietilenglicol. Los cromatógrafos de acoplados a espectrómetros de masa han permitido hacer una identificación y cuantificación de los picos casi completa.

2.5 Características de los aceites esenciales

Los aceites esenciales se caracterizan por ser uniformes en sabor, en cuanto a origen de la materia prima, el cual es muy intenso, están libres de enzimas, taninos, bacterias y suciedad, razón por la cual las plantas que contienen aceites esenciales combaten los agentes patógenos, a las bacterias y posiblemente a los virus. Los aceites esenciales no son constituyentes de humedad, ni aporta color significativo al producto final, que sería en este caso las especies.

Otra de las características de los aceites esenciales es que bajo condiciones normales de almacenamiento se mantienen estables.

Entre las características desfavorables se encuentra que se oxidan fácilmente, existe pérdida de compuestos volátiles bajo condiciones de altas temperaturas de proceso, de igual manera el sabor y aroma no es completamente típico de la especie natural ya que son muy concentrados, lo que hace difícil su manejo y peso exacto, además son fácilmente alterados.

2.6 Factores que afectan el rendimiento de los aceites esenciales

Existen diferentes factores que pueden afectar el rendimiento de los aceites esenciales, entre los se pueden mencionar los siguientes:

2.6.1 Tipo de materia prima

Los aceites esenciales de las especies tienen variaciones dentro de las mismas familias, dependiendo tanto del origen de la planta, el lugar y la época de producción como la edad y cuidados que ésta haya tenido, etc.

2.6.2 Tiempo de secado

Del tiempo de secado dependerá el porcentaje de humedad que la planta tendrá.

2.6.3 Tamaño de partícula

Entre más pequeño sea el tamaño de partícula mejor será la transferencia de calor entre el agua y la especie, en el caso de extracción por arrastre con vapor.

2.6.4 Tiempo de extracción

Se refiere a la duración del proceso de extracción, en el cual el aceite contenido en la planta se extrae gradualmente.

2.6.5 Método de extracción

Dependiendo del tipo de método utilizado, ya que con ciertos métodos se obtienen mejores resultados.

2.6.6 Características del equipo de extracción

Se ve afectado por el material del equipo de extracción así como el tamaño del mismo.

2.6.7 Características de los flujos

Se refiere a la cantidad de materia prima, el volumen y la pureza del solvente, la cantidad de agua o vapor, su temperatura y presión utilizada.

2.7 La hierbabuena

2.7.1 Nombre científico

Mentha citrata Ehrh.

2.7.2 Sinónimos

Mentha bergamota.

2.7.3 Familia

Lamiaceae/Labiatae; Labiadas.

2.7.4 Nombres populares

Yerbabuena lisa, menta Eau de Cologne, hierba de San Juan, menta.

2.7.5 Descripción botánica

Hierba aromática perenne, de 30 a 60 cms de alto con ramas erectas al final, de estolones prismáticos; hojas lisas de color verde claro, con los nervios rojizos, posee fuerte olor a mentol y sabor dulce. Hojas aovadas de 1.25 a 5.0 cms de largo, delgadas. Inflorescencia en espigas cortas, de 1-2-(3-4) glomérulos. La hoja más alta es en forma de lanza aguda en la cima.

Flores con apariencia morada con pequeñas púas al final. Cáliz glamoroso igual que la corola de 0.5 cm de largo.

2.7.6 Hábitat

Origen desconocido posiblemente europeo, ampliamente naturalizada en lugares soleados, húmedos y templados de Europa y Norte América de 1,500–2,700 msnm. Cultivada en Guatemala en el altiplano central.

2.7.7 Historia

Planta domesticada desde épocas remotas, ya que su propagación y conservación es muy fácil, aunque su entrecruzamiento es muy frecuente, por lo que es difícil conservar especies puras. Desde Dioscórides son utilizadas las mentas con fines aromáticos y medicinales. Se menciona en varios herbarios medievales, que demuestran su cultivo en jardines de los conventos desde el s. IX, la hierba buena fue usada por los oradores para hacer más resonantes sus voces, las mujeres la usaban para dar olor a sus baños y los boticarios la usaron en la formulación de perfumes.

2.7.8 Agricultura

Requiere suelo medio, profundo, gumífero, clima templado y húmedo, con un rango de pH de 6- 7.5. Se propaga por estolones. Su crecimiento es relativamente rápido. Suelen hacerse dos cortes; las hojas se colectan al máximo follaje antes de floración, se separan del tallo y se secan a la sombra a no más de 35° C. La primer cosecha se realiza al final de junio y la segunda se puede realizar en septiembre u octubre.

2.7.9 Usos medicinales atribuidos

La infusión o decocción de la planta se usa por vía oral para tratar afecciones digestivas (cólico, indigestión, diarrea, dispepsia, flatulencia, gastralgia, náuseas, vómito), dismenorrea, dolores, reumatismo y neuralgia. Tópicamente se usa en cataplasma y compresas para tratar abscesos, piodermia, reumatismo y tumores; en baños para desodorizar los pies, lavar heridas y raspones. La decocción y el jugo de hojas se aplican en cataplasma y baños para cáncer, endurecimientos, tumores y úlceras.

Se le atribuye propiedades antiinflamatorias, desinfectante, antivómitos, calmante, diaforética, digestiva, diurética, espasmolítica, estimulante, estomáquica, expectorante, febrífuga, hipotensora, sudorífica y vermífuga.

2.7.10 Usos domésticos

Se utilizan las hojas frescas para condimentar ensaladas, y las hojas cocidas para diversas comidas.

2.7.11 Farmacología

2.7.11.1. Experimental

Estudios antibacterianos demuestran que el aceite esencial es antibacteriano.

2.7.12 Composición química

La composición es variable y compleja. El tamizaje fitoquímico demuestra alcoholes, ácidos orgánicos, derivados diterpénicos y aceite esencial.

2.7.12.1 Composición química del aceite esencial

El aceite esencial de hojas contiene acetato de linalilo (33%), α -pineno (0.6%), β -pineno (0.9%), limoneno (1.1 %), cineolo (0.2 %), linalol (32.4 %), menthofurano (0.1 %), pulegono (8.1 %), piperitone (4.2 %), óxido de piperitone (3.0 %).

2.7.13 Farmacognosia

El aceite esencial de hierbabuena es obtenido por arrastre con vapor de las hojas, aproximadamente el 0.6% se produce de las hojas y del floreado superior, es incoloro o ligeramente amarillo, de fuerte olor, fresco y penetrante a menta, dulce, balsámico, suave y de aroma placentero. Su densidad 0.916–0.924, rotación óptica -7° a -8° , e índice de refracción 1.4582–1.4598.(15°C). Las hojas de hierbabuena producen aproximadamente 0.1–1.0% de aceite volátil.

2.7.14 Toxicología

En la revisión de literatura realizada no se encontró referencia sobre sus efectos adversos.

2.7.15 Indicaciones terapéuticas

Por sus actividades espasmolíticas, carminativas y calmante está indicada en el tratamiento de afecciones gastrointestinales y dolores espasmódicos. El aceite esencial se recomienda para prevenir náuseas y dolores espasmódicos.

2.8 Comercio del aceite esencial de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh)

Entre los aceites de menta que se producen anualmente en todo el mundo se encuentra el de la hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh), este producto relativamente nuevo, extraído de distintas variedades de la hierba del mismo nombre.

El aceite de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh) era virtualmente desconocido en el mercado internacional hasta hace unos diez o quince años. Sigue siendo un aceite especializado y sólo se emplea en pequeñas cantidades. Los Estados Unidos y el Brasil son los productores principales y su producción asciende de 3 a 5 toneladas anuales; la India produce también pequeñas cantidades. Este aceite tiene pocas perspectivas de presentar algún interés para posibles productores en un futuro previsible, ya que no es probable que la demanda aumente en forma importante (ref. 2).

3 METODOLOGÍA

3.1 Localización

- Municipio Santiago Atitlán, departamento de Sololá.
Recolección de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh.).
- Laboratorio de la planta piloto de extracción–destilación, sección química industrial. Centro de Investigaciones de Ingeniería.

En este laboratorio se realizó la extracción de aceite esencial crudo, parte experimental de la investigación.

Del mismo modo en este lugar se realizó el secado al 10% de humedad de la hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh.), utilizando el secador eléctrico.

- Laboratorio de la sección análisis fisicoquímico química industrial, Centro de Investigaciones de Ingeniería.

En este laboratorio se realizó el análisis fisicoquímico del aceite esencial crudo obtenido.

- Unidad de Análisis Instrumental, facultad de ciencias químicas y farmacia.

En esta área se realizó el análisis cromatográfico de gases al aceite esencial crudo.

3.2 Recursos humanos

- Autora del trabajo de graduación: Tannia Magaly De León Morán
- Asesora del trabajo de graduación: Inga. Q. Telma Maricela Cano Morales

3.3 Recursos materiales

Cada unidad experimental requiere:

- Hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh.) fresca y seca
- Agua destilada
- Agua para recirculación y baño María
- Hexano

3.4 Equipo y cristalería

- Equipo para extracción de aceites esenciales crudos *Neoclevenger*
- Rotavaporador
- Balanza analítica
- Bomba hidráulica y de vacío
- Manto de calentamiento

- Soportes y pinzas para asegurar el *Neoclevenger*
- Pizeta
- Recipiente con agua de recirculación
- Balón de 1,000 mililitros para destilación
- Balón de 100 mililitros para el rotaevaporador
- *Earlenmeyer* de 50 mililitros
- Viales
- Pipetas *Pasteur* con bulbo de caucho
- *Beackers* de 50 ml

3.5 Procedimiento

- Lavar el *Neoclevenger* con abundante agua, para evitar posible contaminación de material depositado en la parte interna del aparato.
- Colocar las muestras de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh.) 15, 30 y 45 gramos en un balón de 1,000 mililitros.
- Agregar agua al balón hasta humedecer la muestra de forma uniforme, de tal manera que todas las partículas de la muestra estén húmedas.
- Colocar el balón con material.
- Colocar de 2 a 4 mililitros de hexano sobre la sección de descarga; el hexano se utiliza como trampa para el aceite extraído.
- Encender la bomba hidráulica para recircular el agua del condensador.
- Agregar calor con la plancha de calentamiento para que se inicie la ebullición.
- Dejar destilar durante dos horas.

- Apagar la plancha de calentamiento y esperar que termine de producirse condensado.
- Vaciar el agua de las secciones de descarga con cuidado de no vaciar la fase hexano-aceite extraído.
- Recolectar lo extraído de la región de descarga en un balón de 100 ml.
- Agregar hexano en la sección de descarga para eliminar el aceite adherido a las paredes del equipo.
- Colocar lo extraído en el rotavapor a una temperatura de baño María de 70 grados Celsius por cinco minutos, para eliminar el hexano.
- Con una micropipeta *Pasteur* transferir el aceite esencial crudo a un vial de masa ya establecida.
- Pesarse nuevamente el vial conteniendo el aceite esencial crudo y determinar la masa del aceite.
- Guardar las muestras de aceite esencial crudo recolectado a bajas temperaturas para posteriores análisis.

3.6 Diseño del estudio

El porcentaje de rendimiento de la hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh.), se obtendrá a partir del método de extracción por arrastre con vapor, con tres tamaños de muestra y con el contenido de humedad del material fresco y seco.

3.7 Manejo del estudio

Primero se realizará la recolección de la materia prima, se cortará con tijeras para reducirla a un tamaño aproximado de 1 x 1 cm. Se pondrá a secar hasta un 10 por ciento de contenido de humedad, en el caso del material seco. Luego, se procederá a la extracción de aceite esencial crudo.

3.8 Diseño experimental

3.8.1 Unidad experimental

Cada unidad experimental consta de 15, 30 y 45 gramos de material fresco y seco de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh.).

3.8.2 Variables independientes

Las variables independientes las constituyen el tamaño de muestra y el contenido de humedad del material fresco o seco.

3.8.3 Variable respuesta

La variable respuesta corresponde al porcentaje de rendimiento de aceite esencial obtenido de la extracción por arrastre con vapor del material fresco y seco para los dos tamaños de muestra.

3.8.4 Tratamientos

1 especies de material, Hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh.)

3 tamaños de muestra, 15, 30 y 45 gramos

2 contenido de humedad, fresco y seco

tratamientos = $1 \times 3 \times 2 = 6$ tratamientos

A cada tratamiento se le practicarán 3 corridas

corridas = 6 tratamientos \times 3 corridas = 18 corridas

3.8.5 Análisis estadístico

Debido a que lo que se desea determinar es el efecto de dos factores sobre una variable respuesta, el experimento es un experimento factorial de dos factores. En este caso es importante también determinar si existe una interacción significativa entre los dos factores los cuales son: el contenido de humedad y el tamaño de muestra, el diseño es completamente aleatorizado.

Tabla I. Experimento de dos factores con n réplicas

A	B				Total	Media
	1	2	...	b		
1	y_{111}	y_{121}	...	y_{1b1}	$T_{1..}$	$y_{1..}$
	y_{112}	y_{122}	...	y_{1b2}		
	.	.		.		
	.	.		.		
	y_{11n}	y_{12n}	...	y_{1bn}		
2	y_{211}	y_{221}	...	y_{2b1}	$T_{2..}$	$y_{2..}$
	y_{212}	y_{222}	...	y_{2b2}		
	.	.		.		
	.	.		.		
	y_{21n}	y_{22n}	...	y_{2bn}		
.
.
.
a	y_{a11}	y_{a21}	...	y_{ab1}	$T_{a..}$	$y_{a..}$
	y_{a12}	y_{a22}	...	y_{ab2}		
	.	.		.		
	.	.		.		
	y_{a1n}	y_{a2n}	...	y_{abn}		
Total	$T_{.1.}$	$T_{.2.}$...	$T_{.b.}$	$T_{...}$	
Media	$y_{.1.}$	$y_{.2.}$...			$y_{...}$

Donde:

T_{ij} = suma de las observaciones en la ij-ésima celda

$T_{i..}$ = suma de las observaciones para el i-ésimo nivel del factor A

$T_{.j}$ = suma de las observaciones para el j-ésimo nivel del factor B

$T_{...}$ = suma de todas las abn observaciones

y_{ij} = media de las observaciones en la ij-ésima celda

$y_{i..}$ = media de las observaciones para el i-ésimo nivel del factor A

$y_{.j}$ = media de las observaciones para el j-ésimo nivel del factor B

$y_{...}$ = media de todas las abn observaciones.

Modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + \varepsilon_{ijk}$$

i: niveles del factor A

j: niveles del factor B

k: observaciones tomadas

Donde

Y_{ijk} : variable respuesta de ij-ésima

μ : efecto de la media general

ε_{ijk} : efecto del error experimental asociado a la ij-ésima unidad experimental.

Tabla II. Análisis de variancia para el experimento de dos factores con n réplicas

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	f calculada
Efecto Principal				
A	SSA	$a - 1$	$S^2_1 = SSA / a - 1$	$f_1 = S^2_1 / S^2$
B	SSB	$b - 1$	$S^2_2 = SSB / b - 1$	$f_2 = S^2_2 / S^2$
Interacción de dos factores AB	SS(AB)	$(a-1)(b-1)$	$S^2_3 = \frac{SS(AB)}{(a-1)(b-1)}$	$f_3 = S^2_3 / S^2$
Error	SSE	$ab(n-1)$	$S^2 = SSE / ab(n-1)$	
Total	SST	$abn - 1$		

Fórmulas para cálculo de suma de cuadrados

$$SST = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n y^2_{ijk} - \frac{T^2 \dots}{abn}$$

$$SSA = \frac{\sum_{i=1}^a T^2_{i..}}{bn} - \frac{T^2 \dots}{abn}$$

$$SSB = \frac{\sum_{j=1}^b T^2_{.j}}{an} - \frac{T^2 \dots}{abn}$$

$$SS(AB) = \frac{\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b T^2_{ij..}}{n} - \frac{\sum_{i=1}^a T^2_{i..}}{bn} - \frac{\sum_{j=1}^b T^2_{.j.}}{an} + \frac{T^2}{abn}$$

$$SSE = SST - SSA - SSB - SS(AB).$$

4 RESULTADOS

4.1 0.899 g/mL densidad del aceite esencial

Tabla III. Rendimiento (%) de aceite esencial de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh.), a tres tamaños de muestra y dos contenidos de humedad

Tamaño de muestra (g)	Fresca	Seca
15	1.626	0.920
	1.320	1.293
	1.473	0.953
30	0.380	0.496
	0.496	0.616
	0.363	0.486
45	0.191	0.348
	0.242	0.413
	0.291	0.228

Figura 1. Rendimiento (%) de aceite esencial de hierbabuena (*Mentha citrata*) que se obtuvo de los tres tamaños de muestra y los dos contenidos de humedad

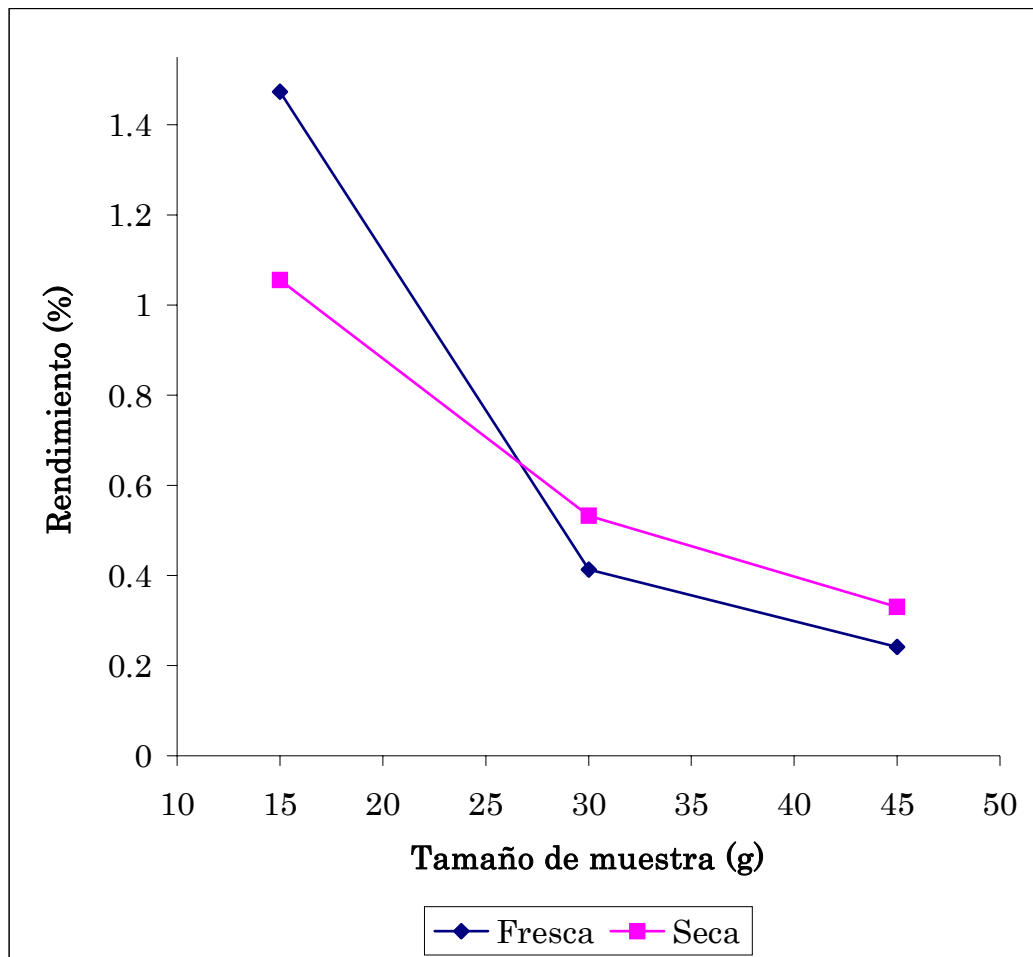


Tabla IV. **Propiedades sensoriales del aceite esencial de hierbabuena (Mentha citrata Ehrh.)**

Propiedad	Característica
Color	Ligeramente amarillo.
Olor	Fuerte, fresco y penetrante a menta dulce.
Aspecto	Líquido limpio.

Tabla V. **Índice de refracción a 22°C, del aceite esencial de hierbabuena (Mentha citrata Ehrh.) fresca**

Tamaño de muestra (g)	Repetición No. 1	Repetición No. 2	Repetición No. 3	Promedio
15	1.452	1.458	1.451	1.454
30	1.457	1.451	1.452	1.453
45	1.469	1.460	1.456	1.462
				X = 1.456

Tabla VI. Índice de refracción a 22°C, del aceite esencial de hierbabuena (Mentha citrata Ehrh.) seca

Tamaño de muestra (g)	Repetición No. 1	Repetición No. 2	Repetición No. 3	Promedio
15	1.455	1.443	1.468	1.455
30	1.461	1.463	1.462	1.462
45	1.462	1.455	1.451	1.456
				X = 1.457

Tabla VII. Resultado de la cromatografía de gases para aceite esencial crudo de hierbabuena (Mentha citrata Ehrh.) fresca

Compuesto	Porcentaje(%)
Acetato de linalilo	7.27

Tabla VIII. Resultado de la cromatografía de gases para aceite esencial crudo de hierbabuena (Mentha citrata Ehrh.) seca

Compuesto	Porcentaje (%)
Acetato de linalilo	7.77

5 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Guatemala es un país con una gran riqueza natural y una variedad inmensa de especies, por lo tanto es de gran importancia el estudio de una de tantas especies utilizadas a nivel popular, como lo es la hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh.), la cual es una hierba aromática perenne, perteneciente a la familia de las labiadas, cuya propagación no requiere de clima ni suelo específicos. Su empleo es variados que va desde usos medicinales como afecciones digestivas, reumatismo y neuralgias hasta la condimentación de alimentos.

En la extracción del aceite esencial la planta que se utilizó se obtuvo del municipio de Santiago Atitlán departamento de Sololá, se utilizó hierba fresca y hierba seca al 10% de humedad. La parte utilizada fueron las hojas las cuales se escogieron al azar. La planta utilizada se recolectó toda del mismo lugar y al mismo tiempo para evitar que se pudieran trabajar especies distintas de hierbabuena, y así tener variaciones en los resultados obtenidos.

El método de extracción que se utilizó fue el de arrastre con vapor, la mayoría de los aceites esenciales se pueden extraer por este método ya que es muy sencillo y práctico en el cual se utiliza un *neoclevenger*, una fuente de calor, un enfriador, agua y un solvente para atrapar el aceite en este caso hexano.

En el proceso de extracción del aceite esencial crudo de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh.) se variaron dos factores importantes: el tamaño de muestra y el contenido de humedad de la planta. Los tamaños de muestra fueron de 15, 30 y 45 gramos y el contenido de humedad como fresca y seca a 10% de humedad. El tiempo de extracción fue de dos horas y el tamaño de partícula fue de aproximadamente 2 mm, debido a que con esto se aumenta la superficie de contacto ayudando así a que las glándulas que contienen el aceite esencial se rompan con mayor facilidad (10).

Realizada la extracción se separó el aceite esencial crudo del hexano por medio de un rotavapor, se caracterizó el aceite a temperatura ambiente el cual presentaba un olor fuerte, fresco y penetrante a menta dulce, un aspecto de líquido limpio de color ligeramente amarillo.

Se realizó una serie de análisis fisicoquímicos para determinar y caracterizar el aceite esencial y sus propiedades, se midió la densidad de éste, la cual fue de 0.899 g/mL a temperatura ambiente (22°C). Este dato concuerda con el proporcionado en la bibliografía para 15°C la cual es de 0.916–0.924 ya que a mayor temperatura menor densidad.

Se midió el índice de refracción del aceite crudo obtenido, que corresponde a un promedio de 1.456 para el aceite esencial crudo con hierba fresca y de 1.457 para el aceite con hierba seca, estos datos coinciden con los proporcionados por la bibliografía a 15° C, descritos en el marco teórico.

El análisis químico del aceite se realizó mediante una cromatografía de gases, para la cual se obtuvo que el aceite esencial crudo de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh.) contiene acetato de linalilo en un 7.27% para la planta fresca y para la seca contiene un 7.77% del mismo compuesto, y ya que la diferencia no es significativa se puede expresar que el contenido de humedad no influye en la calidad del aceite. No pudo determinarse algunos de los otros compuestos del aceite esencial de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh.) los cuales ocupaban un área relativamente grande por la falta de estándares para su comparación en los dos cromatogramas tanto para la planta fresca como para la seca. El acetato de linalilo es uno de los componentes mayoritarios del aceite esencial de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh.), que se encuentra entre aproximadamente 33%, con lo que se puede apreciar una diferencia entre el porcentaje de este compuesto en la teoría y lo obtenido en lo experimental.

El análisis estadístico que se utilizó fue el de análisis de varianza de dos factores, para este caso el factor A: tamaño de muestra y factor B: contenido de humedad de la planta para el cual se utilizó un diseño completamente aleatorizado en el cual interaccionan los factores para determinar el efecto sobre la variable respuesta, en este caso el porcentaje de rendimiento del aceite esencial crudo de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh.). Se obtuvo un total de 18 unidades experimentales. Las cuales se obtuvieron a partir de 1 especie x 3 tamaños de muestra x 2 porcentajes de humedad (fresca y seca al 10%) x 3 repeticiones.

Planteado lo anterior se evaluaron las hipótesis estadísticas, las cuales establecen la relación entre el rendimiento del aceite esencial crudo (variable respuesta) y los dos factores considerados (A: tamaño de muestra y B: contenido de humedad). Según el análisis estadístico se rechazan la primera y la tercera hipótesis nula y se acepta la segunda. De lo que se concluye que el factor tamaño de muestra afecta el rendimiento del aceite esencial crudo de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh.) y que el factor contenido de humedad no tiene influencia significativa sobre dicho aceite, sin embargo, la interacción de estos dos factores si influye en el rendimiento del aceite.

Lo anterior se puede observar claramente en la figura 1 de la sección de resultados donde el mayor rendimiento se obtiene para los 15 gramos de muestra, observándose un incremento significativo con respecto a los 30 y 45 gramos, y que para los contenidos de humedad se observa que las dos gráficas presentan la misma tendencia respecto una de la otra, sin embargo, para 15 gramos fresca se obtiene un mayor rendimiento que para 15 gramos seca.

Los rendimientos obtenidos nos proporcionan una media de 1.473% para 15 gramos, mientras las referencias bibliográficas indican que el rendimiento del aceite esencial obtenido es mucho mayor. Mientras que para 45 gramos, el rendimiento presenta una media de 0.241% el cual se encuentra todavía dentro del rango a pesar de ser el rendimiento más bajo que se obtuvo.

CONCLUSIONES

1. El rendimiento del aceite esencial crudo de hierbabuena (*Mentha citrata*, Ehrh.) depende del tamaño de muestra y de la interacción entre éste y el contenido de humedad de la especie, obteniéndose mejores resultados con la muestra fresca a menor cantidad.
2. Los datos obtenidos en las pruebas fisicoquímicas (densidad, índice de refracción) del aceite esencial crudo de hierbabuena (*Mentha citrata*, Ehrh.) coinciden con los descritos en la bibliografía consultada.
3. La interacción entre el tamaño de muestra y el contenido de humedad (fresco y seco al 10%) influye el rendimiento del aceite esencial crudo de hierbabuena (*Mentha citrata*, Ehrh.).

RECOMENDACIONES

1. Realizar la extracción del aceite esencial de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh) por otros métodos de extracción (enflorado, maceración, extracción por solventes y expresión), para comparar el rendimiento del mismo, bajo las mismas condiciones de tamaño de muestra y porcentaje de humedad.
2. Extraer aceite esencial a nivel planta piloto por arrastre con vapor, para evaluar el rendimiento del aceite crudo de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh).
3. Obtener aceite esencial de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh) de distintas regiones de cosecha, para determinar si afecta el lugar de procedencia de la especie en el rendimiento del aceite esencial, así como en su composición.

REFERENCIAS

- 1 Armando Cáceres. **Plantas de uso medicinal en Guatemala.** (Guatemala: Editorial Universitaria, 1996) pp. 211–212.
- 2 Centro de Comercio Internacional. **Estudio de mercado, aceites esenciales y oleorresinas.** (Suiza: UNCTAD/GATT, 1986). pp. 35–36.
- 3 William G. Cochran y Gertrude Cox M. **Diseño experimental.** (6ta Edición; México: Editorial Trillas, 1980) pp. 205–215.
- 4 Xorge Alejandro Domínguez. **Métodos de investigación fitoquímica.** (s.e., s.l., s.a.) pp. 229–233.
- 5 Farrel Kenneth,. **Spices, condiments and seasonings.** (USA: The Avi Publishing Company, Inc. 1985) pp. 3–12, 16–20, 147–149.
- 6 M. Pahlow **El gran libro de las plantas medicinales.** (5ta. Edición; España: Editorial Everest, 1958) pp. 24.
- 7 Humberto Ortiz,. La producción de aceites esenciales en Guatemala y sus posibilidades de ensanchamiento. (Tesis de Ingeniero Agrónomo. Guatemala, Universidad de San Carlos 1959). pp. 20–22.

- 8 María de los Angeles Pernilla. Extracción y determinación del rendimiento de aceite esencial de *Ocimum basilicum* (Albahaca) en función de la estación de recolección y del tamaño de lote obtenidos por medio de arrastre con vapor a nivel laboratorio. (Tesis de Ing. Química. Guatemala, Universidad de Guatemala. 2002) pp. 5–8.

- 9 Benjamín ,Piedrasanta B. Extracción de aceite esencial de romero con la aplicación del método de destilación por arrastre de vapor, variando los tamaños de batch a partir de pruebas a nivel de laboratorio y pruebas a nivel de planta piloto. (Tesis de Ing. Químico. Guatemala, Universidad de San Carlos. 1997) pp. 9–11.

- 10 Jonathan Sandoval. Evaluación del rendimiento en la extracción del aceite esencial de la hoja de orégano (*Lippia graveolens*), variando el tamaño de muestra y aplicando los métodos de arrastre con vapor de destilación a nivel laboratorio. (Tesis de Ing. Químico. Guatemala, Universidad de San Carlos. 1999) pp. 12–13.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Kirk, Raymond, et al. **Enciclopedia de tecnología química**. España: Editorial Hispanoamericana, 1961).
- 2 Lopez O. Mildred Carmina. Extracción y caracterización preliminar del aceite esencial del *protium copal*, a nivel laboratorio. Tesis Ing. Química. Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Ingeniería, 1999.
- 3 Tay S. Irma Julieta. Extracción del aceite esencial de la hoja seca de cordoncillo(*piper scabrum Swartz*) en función de la cantidad de material y el tiempo de destilación a nivel laboratorio. Tesis de Ing. Química. Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Ingeniería, 1999.
- 4 Walpole Ronald, Myers Raymond. **Probabilidad y Estadística**. 4ta. ed. México: Editorial McGraw-Hill, 1992.
- 5 Wingrove, Caret. **Química orgánica**. México: Editorial Harla, 1994.

Páginas Web consultadas

www.iespana.es/natureduca/botan_familias.htm

www.puritan.com/vf/healthnotes/HN75_Spanish/Es-Herb.

www.ideal.es/primerasplantas.htm

www.actosdeamor.com/plantas.htm

APÉNDICE A

Datos Originales

Tabla IX. Datos originales de masa en gramos de aceite esencial de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh.)

Tamaño de muestra (g)	Masa de aceite esencial (g)	
	Fresca (100 %)	Seca (al 10 %)
15	0.244	0.138
	0.198	0.194
	0.221	0.143
30	0.114	0.149
	0.149	0.185
	0.109	0.146
45	0.086	0.157
	0.119	0.186
	0.131	0.172

APÉNDICE B

Datos Calculados

Tabla X. Datos calculados de la sumatoria (ΣY_{ijk}) de rendimiento de los distintos tratamientos

Tamaño de muestra (g)	Fresca	Seca	Total
15	4.419	3.166	7.585
30	1.239	1.598	2.837
45	0.724	0.989	1.713
Total	6.382	5.753	12.135

Tabla XI. Resumen del análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	f calculada	f crítica
Tamaño de muestra	3.2382	2	1.6191	110.58	3.89
Contenido de humedad	0.022	1	0.022	1.51	4.75
Interacción de los dos factores	0.2728	2	0.1364	9.34	3.89
Error	0.1757	12	0.0146		
Total	3.7087	17			

APÉNDICE C

Muestra de Cálculo

Cálculo del rendimiento

Se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{masa de aceite} * 100}{\text{masa de hierbabuena}}$$

Para la primera repetición a 15 g de hierbabuena con el contenido de humedad fresca se tiene:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{0.244 * 100}{15} = 1.627$$

De igual forma se procedió con los demás unidades experimentales; los resultados se encuentran en la tabla de resultados.

Cálculo del análisis de varianza de dos factores

Grados de libertad

Grados de libertad totales ($abn - 1$)

$$abn - 1 = 3 \cdot 2 \cdot 3 - 1 = 17$$

Grados de libertad del error $ab(n-1)$

$$ab(n-1) = 3 \cdot 2 \cdot (3 - 1) = 12$$

Grados de libertad del factor A ($a - 1$)

$$a - 1 = 3 - 1 = 2$$

Grados de libertad del factor B ($b - 1$)

$$b - 1 = 2 - 1 = 1$$

Grados de libertad de la interacción de los factores A y B $(a - 1)(b - 1)$

$$(a - 1)(b - 1) = (3 - 1)(2 - 1) = 2$$

Suma de cuadrados

Suma total de cuadrados (SST)

$$SST = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n y_{ijk}^2 - T^2 / abn$$

$$SST = (1.626)^2 + (1.320)^2 + (1.473)^2 + \dots + (0.519)^2 = 11.8897$$

$$SST = 11.8897 - (12.135)^2 / 18$$

$$SST = 3.7087$$

Suma de cuadrados del factor A (SSA)

$$SSA = \frac{\sum_{i=1}^a T^2_{i..}}{bn} - \frac{T^2 \dots}{abn}$$

$$SSA = (7.585)^2 + (2.837)^2 + (1.713)^2 / 6 - 8.1810$$

$$SSA = 11.4191 - 8.1810 = 3.2382$$

Suma de cuadrados del factor B (SSB)

$$SSB = \frac{\sum_{j=1}^b T^2_{.j.}}{an} - \frac{T^2 \dots}{abn}$$

$$SSB = (6.382)^2 + (5.753)^2 / 9 - 8.1810$$

$$SSB = 8.2030 - 8.1810 = 0.022$$

Suma de cuadrados de la interacción de los factores A y B (SS(AB))

$$SS(AB) = \frac{\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b T^2_{ij..}}{n} - \frac{\sum_{i=1}^a T^2_{i..}}{bn} - \frac{\sum_{j=1}^b T^2_{.j.}}{an} + \frac{T^2}{abn}$$

$$SS(AB) = 3.7087 - 0.1757 - 3.2382 - 0.022$$

$$SS(AB) = 0.2728$$

Suma de cuadrados para el error (SSE)

$$SSE = SST - SSA - SSB - SS(AB).$$

$$SSE = SS_T - SS_{\text{subtotales}}$$

$$SS_{\text{subtotales}} = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \frac{Y_{ij..}^2}{n} - \frac{T^2}{abn}$$

$$SS_{\text{subtotales}} = (4.419)^2 + (3.166)^2 + (1.239)^2 + (1.598)^2 + (0.724)^2 + (0.989)^2 / 3$$

$$SS_{\text{subtotales}} = 11.7140$$

$$SSE = 11.8897 - 11.7140 = 0.1757$$

Cuadrados medios

Cuadrado medio del error (S^2)

$$S^2 = SSE / ab(n - 1)$$

$$S^2 = 0.1757 / 12$$

$$S^2 = 0.0146$$

Cuadrado medio del factor A (S_1^2)

$$S_1^2 = SSA / a - 1$$

$$S_1^2 = 3.2382 / 2$$

$$S_1^2 = 1.6191$$

Cuadrado medio del factor B (S_2^2)

$$S_2^2 = 0.022 / 1$$

$$S_2^2 = 0.022$$

Cuadrado medio de la interacción (S_3^2)

$$S_3^2 = SS(AB) / (a - 1)(b - 1)$$

$$S_3^2 = 0.2728 / 2$$

$$S_3^2 = 0.1364$$

Valores de f observada

Para el factor A (f_1)

$$f_1 = S_1^2 / S^2$$

$$f_1 = 1.6191 / 0.0146$$

$$f_1 = 110.897$$

Para el factor B (f_2)

$$f_2 = S_2^2 / S^2$$

$$f_2 = 0.022 / 0.0146$$

$$f_2 = 1.507$$

Para la interacción de A y B (f_3)

$$f_3 = S_3^2 / S^2$$

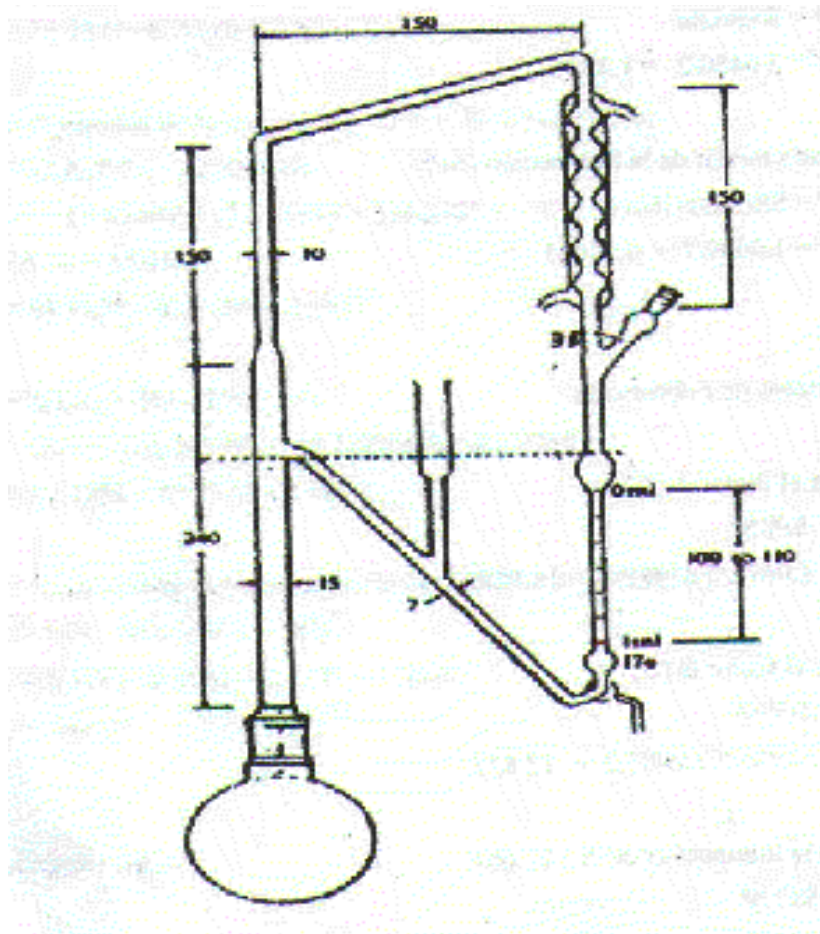
$$f_3 = 0.1364 / 0.0146$$

$$f_3 = 9.342$$

En la tabla XI de la sección de datos calculados se muestran los resultados de este análisis de varianza.

APÉNDICE D

Figura 2. Equipo *Clavenger* para extracción de aceites esenciales



Fuente: K. Tuley De Silva. *Manual on the essential oil industry*, página 156

APÉNDICE E

Figura 3. Resultado del análisis por cromatografía gaseosa del aceite esencial de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh) fresca

Fuente: Unidad de análisis instrumental. Escuela química. Facultad de ciencias químicas y farmacia. USAC.

Figura 4. Resultado del análisis por cromatografía gaseosa del aceite esencial de hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh.) seca

Fuente: Unidad de análisis instrumental. Escuela química. Facultad de ciencias químicas y farmacia. USAC.

APÉNDICE F

Figura 5. Ilustración de la hierbabuena (*Mentha citrata* Ehrh.)

