



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

**“OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE OLEORRESINA DE CLAVO(*Eugenia
cariophyllata*,Thunb), CULTIVADO EN GUATEMALA, A NIVEL PLANTA
PILOTO”**

TITO ESTUARDO VIDES QUIÑONEZ

Asesorado por la Inga. Qca. Telma Maricela Cano Morales

Guatemala, octubre de 2005.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

“OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE OLEORRESINA DE CLAVO(*Eugenia caryophyllata*, Thunb), CULTIVADO EN GUATEMALA, A NIVEL PLANTA PILOTO”

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA
POR

TITO ESTUARDO VIDES QUIÑONES

ASESORADO POR LA INGA. QCA. TELMA MARICELA CANO MORALES

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO

GUATEMALA, OCTUBRE DE 2005.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
VOCAL I	
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
SECRETARIA	Inga. Marcia Ivonne Véliz Vargas

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO	Ing. Sydney Alexander Samuels Milson
EXAMINADOR	Ing. Estuardo Edmundo Monroy Benítez
EXAMINADOR	Ing. Manuel Gilberto Galván Estrada
EXAMINADOR	Ing. Federico Guillermo Salazar Rodriguez
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:

“OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE OLEORRESINA DE CLAVO(*Eugenia caryophyllata*, Thunb), CULTIVADO EN GUATEMALA, A NIVEL PLANTA PILOTO”

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, el 16 de abril de 2004.

Tito Estuardo Vides Quiñonez

DEDICO ESTE ACTO A:

Dios Todo poderoso

Gracias por mi vida.

Mi Papa y mi Ita

Ita (†); gracias por tu dulce compañía.
Papa; gracias por ser la guía en el camino de mi vida, por tu entrañable amor y estar siempre conmigo.

Mi Mamita

Gracias por darme la vida, por hacerme saber que estás siempre conmigo, por tu preocupación constante, tu inmenso amor, tu sacrificio, tu fe en mí y tu ejemplo de fortaleza Y dignidad.

Mi Tía Brenda

Gracias por tu amor incondicional, tu apoyo, tu sacrificio, tu sabiduría, tu preocupación y por ser tan especial conmigo.

Mis Tíos

Mario Roberto Lambour Espinosa,
Oscar Augusto Quiñones Orantes,
Byron Estuardo Quiñones Orantes,
Julio César Quiñones Orantes.

Mi Hermano

Julio César Junior Alegría Quiñones
Porque su cálida presencia, ha sido la inspiración más preciada en mi vida.

Todos mis Primos

En especial a:

Mario Roberto Lambour Quiñones

María Isabel Lambour Quiñones

María José Lambour Quiñones

Mi Ahijada

María José Girón Lambour

Mis Sobrinos

Edgar Andrés y Mabel

AGRADECIMIENTOS A:

Mi Asesora

Inga. Telma Cano; por su amistad, por todo el apoyo incondicional y colaboración brindada en la realización de este trabajo.

Ingenieros

Blanca Luz Chávez Quiñónez (†)
Jorge Emilio Godínez Lemus; por brindarme su apoyo y conocimientos en la utilización de la planta piloto.

Ing. César García

Por sus enseñanzas, su amistad y su apoyo.

Licenciados

Armando Cáceres y Sully M Cruz; por su amistad y colaboración.

Ing. Pablo de León

Por su colaboración.

Inga. Cinthya Ortiz

Por su amistad y colaboración.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	III
LISTA DE SÍMBOLOS	V
GLOSARIO	VII
RESUMEN	IX
OBJETIVOS	XI
HIPÓTESIS	XIII
INTRODUCCIÓN	XV
JUSTIFICACIÓN	XVII
1. MARCO TEÓRICO	1
1.1. CLAVO	1
1.1.1. Generalidades	1
1.1.2. Descripción botánica	1
1.1.3. Hábitat	2
1.1.4. Historia	2
1.1.5. Agricultura	2
1.1.6. Usos medicinales	3
1.1.7. Otros usos populares	3
1.1.8. Composición química	4
1.1.9. Farmacognosia	4
1.1.10. Farmacología	6
1.1.11. Toxicología	6
1.1.12. Indicaciones terapéuticas	7
1.2. OLEORRESINAS	7
1.2.1. Definición	7
1.2.2. Características generales	10
1.2.3. Usos de las oleorresinas	11
1.3. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE OLEORRESINAS	12

1.3.1. Extracción de oleorresinas	12
1.3.2. Preparación de la especia vegetal	12
1.3.3. Molienda	12
1.3.4. Selección del solvente	13
1.3.5. Maceración	15
1.3.6. Percolación	16
2. Metodología	17
2.1. Localización	17
2.2. Recursos humanos	17
2.3. Recursos materiales	18
2.4. Equipo y cristalería	18
2.5. Procedimiento experimental	19
2.5.1. Diseño de tratamientos	19
2.5.2. Manejo del experimento	20
2.5.3. Análisis cromatográfico	20
2.5.4. Análisis estadístico	21
2.5.4.1. Modelo estadístico	21
2.5.4.2. Fórmulas de análisis de varianza	22
3. RESULTADOS	25
4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	29
CONCLUSIONES	31
RECOMENDACIONES	33
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
BIBLIOGRAFÍA	37
APÉNDICE	39

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1.	Rendimiento oleorresina de clavo contra tiempo de maceración.	26
2.	Análisis cualitativo TLC para determinar la presencia del compuesto mayoritario en la Oleorresina.	27
3.	Presentación de la unidad utilizada en la planta piloto.	39
4.	Presentación del Rotaevaporador.	39

TABLAS

I.	Procedimiento que se llevó a cabo para la obtención de los resultados.	21
II.	Procedimiento de prueba de análisis de varianza para el modelo de efectos fijos unifactorial.	22
III.	Datos de masa de oleorresina obtenida para un tiempo de maceración de 12 horas.	40
IV.	Datos de masa de oleorresina obtenida para un tiempo de maceración de 24 horas.	40

V.	Datos de masa de oleorresina obtenida para un tiempo de maceración de 36 horas.	40
VI.	Densidad de oleorresina obtenida a un tiempo de maceración de 12 horas.	41
VII.	Densidad de oleorresina obtenida a un tiempo de maceración de 24 horas.	41
VIII.	Densidad de oleorresina obtenida a un tiempo de maceración de 36 horas.	41
IX.	Porcentaje de rendimiento de oleorresina extraída a un tiempo de maceración de 12 horas.	42
X.	Porcentaje de rendimiento de oleorresina extraída a un tiempo de maceración de 24 horas.	42
XI.	Porcentaje de rendimiento de oleorresina extraída a un tiempo de maceración de 36 horas.	42
XII.	Datos para el experimento unifactorial.	43
XIII.	Análisis de varianza para los datos de rendimiento según los diferentes tiempos de maceración.	43

LISTA DE SÍMBOLOS

SÍMBOLO	SIGNIFICADO
Y_{ij}^2	Rendimiento al cuadrado en cada repetición.
Y_1, Y_2, Y_3	Totales.
$\bar{y}$	Promedio en cada nivel.
SS_T	Suma total de cuadrados.
$SS \text{ niveles}$	Suma de cuadrados debido a los niveles.
SS_E	Suma de cuadrados debido al error.
N	Total de repeticiones.
n	Repeticiones en cada nivel.
Y_i^2	Totales al cuadrado.
Y^2	Suma de totales al cuadrado.
μ	Rendimiento de la oleorresina.
$MS \text{ niveles}$	Media de cuadrados.
MS_E	Media de cuadrados debido al error.

a	Número de repeticiones en cada tiempo.
lb	Libras.
cm³	Media de volumen por centímetro cúbico.
Fo	La razón o la prueba F.

GLOSARIO

Arcilloso	Que tiene arcilla, silicato aluminico hidratado, plástico con agua.
Cromatografía de capa fina	Método de análisis que permite la separación de los componentes de una muestra entre dos fases, una móvil, que suele ser líquida y otra estacionaria, que puede ser líquida o sólida, y que está dispuesta como una capa de material poroso de un espesor determinado, colocada sobre un soporte plano inerte, de vidrio o de aluminio.
Destilación	Separación de los componentes de una solución por medio de sus distintos puntos de ebullición.
Emulsión	Líquido integrado por dos sustancias no miscibles, una de las cuales se halla dispersada en la otra en forma de gotas pequeñísimas.
Endémica	Cualquier planta o animal confinado en un determinado país o región.
Garras	Parte del fruto del clavo.
Higroscópica	Sustancia que tiene la capacidad para absorber agua de la humedad del ambiente.
Humus	Parte orgánica del suelo.

Inflorescencia	Disposición en que se presentan y desarrollan las flores de una planta.
Macerar	Extraer las partes solubles de una sustancia manteniéndola sumergida en un líquido.
Oleorresina	Producto líquido, viscoso, formado por resinas disueltas en aceites, y procedente de diversas plantas.
Perianto	Conjunto de hojas florales que forman la envoltura de la flor.
Polinización	Paso o tránsito del polen desde el estambre, hasta el pistilo en donde ha de germinar.
Resina Vegetal	Sustancia orgánica principalmente de origen vegetal, sólida, soluble en alcohol y en los aceites esenciales insolubles en agua, que arde produciendo humo.
S. aureus	Bacterias en forma de pequeñas esferas, ligeramente menores a una micra de diámetro, colonias dorado-amarillas, que producen una hemolisina filtrable, que produce la muerte de la piel.
Terpenos	Nombre común de ciertos hidrocarburos, que se encuentran en los aceites obtenidos de las plantas.

RESUMEN

Se evaluó el porcentaje de rendimiento de la oleorresina de clavo (*Eugenia caryophyllata Thunb*) a nivel planta piloto, en función del tiempo de maceración, utilizando como método de extracción la maceración sin agitación o recirculación del clavo molido, filtración y posterior concentración del extracto; se utilizó como solvente una solución acuosa de etanol al 70 % y se manejó como variable controlable tres diferentes tiempos de maceración, siendo éstos 12, 24 y 36 horas.

El diseño experimental se planteó completamente al azar con un arreglo combinatorio, unifactorial, de 3 diferentes tiempos de maceración y 3 repeticiones de cada uno, para hacer un total de 9 experimentos.

Se determinó que el rendimiento de la oleorresina de clavo (*Eugenia caryophyllata Thunb*) extraído en la planta piloto es de 19.5 % para un tiempo de 12 horas, 20.8 % para un tiempo de 24 horas y 22.6 % para un tiempo de 36 horas, con composición y propiedades semejantes.

Para la interpretación estadística de los resultados se utilizó un nivel de significancia del 5 %; sobre esta base se determinó que el rendimiento no se ve afectado significativamente por el tiempo de maceración.

Se realizó un análisis cualitativo por medio de cromatografía de capa fina de la oleorresina obtenida para confirmar la presencia de los compuestos mayoritarios, siendo éste el Eugenol.

OBJETIVOS

General

Obtener y caracterizar la oleorresina de clavo (*Eugenia caryophyllata Thunb*) variando el tiempo de maceración a nivel de planta piloto.

Específicos

1. Determinar el porcentaje de rendimiento de oleorresina de clavo(*Eugenia caryophyllata Thunb*), utilizando el método de maceración estática, a diferentes tiempos de maceración.
2. Determinar la presencia del componente activo, eugenol, utilizando cromatografía en capa fina.
3. Establecer el grado de pureza de la oleorresina extraída mediante la determinación de sus propiedades físicas y químicas, tales como gravedad específica, solubilidad, etc.

HIPÓTESIS

Hipótesis Nula (H_0). Existe diferencia significativa en el porcentaje de rendimiento de oleorresina extraída del clavo (*Eugenia caryophyllata Thunb*) en función del tiempo de maceración.

$$\mu_i \neq \mu_j$$

Donde: μ_i es el rendimiento de la oleorresina de clavo (*Eugenia caryophyllata Thunb*), extraído de la i -ésima extracción con respecto al tiempo de maceración.

Hipótesis Alternativa (H_1). No existe diferencia significativa en el porcentaje de rendimiento de oleorresina extraída del clavo (*Eugenia caryophyllata Thunb*) en función del tiempo de maceración.

$$\mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

Donde: μ es el rendimiento de la oleorresina de clavo (*Eugenia caryophyllata Thunb*), extraído en la planta piloto a diferentes tiempos de maceración.

INTRODUCCIÓN

Guatemala es un país rico en su biodiversidad, debido a su posición geográfica, lo que hace que se tenga producción de una diversidad de productos agrícolas.

En los últimos años se tiene la búsqueda de productos no tradicionales como alternativa a la ya tradicional agricultura guatemalteca, tal es el caso del clavo (*Eugenia Caryophyllata*, Thunb), que durante años se ha usado como saborizante en la fabricación de condimentos, repostería y en la industria farmacéutica. El clavo tiene varios usos medicinales atribuidos, los botones florales triturados se usan en enjuagues bucales y masticados para el dolor de muelas. El fruto se usa para tratar afecciones digestivas, respiratorias y cardíacas. La tintura se usa para tratar afecciones digestivas y bajar la fiebre.

La oleorresina y el aceite esencial son muy usados en la industria alimenticia, farmacéutica y perfumería, con particular aplicación en odontología como antiséptico y anestésico.

El presente trabajo, trata sobre la obtención y caracterización de la oleorresina de clavo (*Eugenia caryophyllata*, Thunb), para tal efecto, se realizó un experimento unifactorial en el que se utilizó Alcohol Etilico al 70 %, materia prima seca con 10 % de humedad, un tamaño de lote fijo de 4.54 Kg . y se varió el tiempo de maceración: 12 h, 24 h y 36 h, para determinar cuál fue el tiempo de maceración con el rendimiento más alto de oleorresina y la mejor calidad de la misma.

JUSTIFICACIÓN

Las oleorresinas de especias constituyen la forma líquida más concentrada de la especia, reproducen el carácter de la especia con mucha mayor plenitud que los aceites esenciales. La oleorresina de clavo se utiliza en la industria alimenticia, farmacéutica y perfumería, con particular aplicación en odontología como antiséptico y anestésico.

En la actualidad, el clavo está siendo cultivado en algunas comunidades del Departamento de Alta Verapaz y en un alto porcentaje es importado de México y de la India. Con el presente trabajo se continúa el proceso de investigación en la obtención de extractos de esta especie vegetal ya que en anterior trabajo se obtuvo el aceite esencial y se sientan las bases para profundizar en el estudio, lo que conlleva a impulsar su cultivo e industrialización en años posteriores.

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Clavo

1.1.1 Generalidades

Comúnmente conocido como clavo de especia, clavo de olor, clavillo. Su origen botánico: *Syzygium aromaticum* (L.), Merr & Perry; *Eugenia Caryophyllata*, Thunb; *Jambosa Caryophyllus* (Spreng), Niedenzu; *E. Caryophyllus*, Bullok & Harris.

1.1.2 Descripción Botánica

El árbol de clavo es siempre verde, de 10 a 15 m de alto y el tronco llega a medir hasta 30 cm de diámetro. Hojas simples, oblongo – lanceoladas, acuminadas. Flores poco numerosas, en corimbos terminales, tubo de cáliz turbinado, 1 cm de largo, lóbulos largos, redondos, pétalos glandulosos, 1 –2 cm de largo. Los botones florales tienen una longitud de 12 a 17 mm y son de color marrón oscuro. Consta de un largo hipanto que puede tener hasta 4 mm de diámetro, el cual, en la parte alta, termina en 4 grandes dientes del cáliz, algo salientes. Los 4 pétalos son más claros, de color pardo – amarillento, forman una cúpula (hilera central) bajo la cuál se encuentran numerosos estambres. En la parte superior del hipanto se encuentra el ovario ínfero, bilocular, con numerosos óvulos.²

Apretando el clavo de especia con la uña, éste exuda aceite esencial.

1.1.3 Hábitat

Nativo del sudeste asiático (islas Molucas), se cultiva en climas tropicales marítimos como Indonesia, Madagascar, Malasia, Zanzibar, Sri Lanka, Brasil y el Caribe. En Guatemala se cultiva en el norte del país en lugares con 150 – 300 cm de precipitación anual.³

1.1.4 Historia

Fue conocido por los chinos desde antes del 266 aC. Si bien se sabe que es una especia oriental e introducida en América, Ximénez refiere en 1722 que un trabajador le trajo "...un ramillete de clavos frescos, que en olor y en todo son lo mismo que los de la India...".

Los Holandeses se posesionaron de las islas de las Especias en 1605 con el fin de crear un monopolio y destruyeron todos los árboles excepto aquellos de las islas de Ambon y Ternate, pero, en 1770 los franceses introdujeron el árbol en las islas de Mauricio y Reunión. Si bien el mejor clavo viene de las islas de Pemba, más de 80% de la producción mundial proviene de Tanzania.⁵

1.1.5 Agricultura

Planta cultivada comercialmente que prefiere suelos arcillosos con mucho humus. Se propaga por semillas que se obtienen de frutos maduros después de remojo en agua para remover el pericarpio. Las semillas germinan en terreno arenoso, a los 2 – 3 meses se transplanta a bolsas de polietileno y mantienen en viveros con riego diario. El trasplante se hace en la época de lluvia a distancias de 6 – 7 m.

La fertilización es orgánica y debe regarse en la época seca durante los primeros 2 – 3 años. Se recomienda media sombra y protección de la lluvia fuerte; por ejemplo sombras de banano o mango. Su principal enfermedad es *Imperata Cylindrica*, que puede tratarse con dalapón. La cosecha empieza a los 4 – 5 años, durante los primeros 3 meses del año. Los manojos de clavo se recogen manualmente con mucho cuidado cuando la yema ha alcanzado su máximo desarrollo. Separar los botones, secar al sol por 4 – 5 días, pierden 2/3 de su peso original. El rendimiento varía entre 3 – 7 Kg de clavo seco por árbol.^{3,6}

1.1.6 Usos Medicinales Atribuidos

Los botones florales machacados se usan en enjuagues bucales y masticados para el dolor de muelas. El fruto se usa para tratar afecciones digestivas, respiratorias y cardíacas. El polvo y decocción se usan interna y externamente en el tratamiento de induraciones, verrugas, tumores y ciertas formas de cáncer. La tintura se usa para tratar afecciones digestivas y bajar la fiebre.⁹

Se le atribuye propiedad analgésica, anestésica, antiemética, antioxidante, antiséptica, aromática, carminativa, desodorante, digestiva, estimulante, estomáquica, expectorante, rubefaciente, tónica y vermífuga.^{1,7}

1.1.7 Otros Usos Populares

Usado como saborizante en la fabricación de condimentos, repostería y en la Industria farmacéutica.^{3,5}

1.1.8 Composición Química

El botón floral contiene aceite esencial (15 – 20%) rico en eugenol (70 – 90%), acetato de eugenilo (<10%), hidrocarburos sesquiterpénicos (beta-cariofileno, alfa-humuleno, langeno, trazas de furfural, vainillina y metilamiloetona), compuestos oxigenados no fenólicos (5%) y flavonoides (rhamnetina, kampferol, ácido eleanólico, eugenitina e isoeugenitina). La corteza contiene trimetileter de ácido elágico, beta-sitosterol y amirina.^{1,4}

El análisis proximal de 100 g del botón floral seco indica: 430 calorías, humedad (5.4 g), proteína (6.3 g), aceite volátil (13.2 g), grasa no volátil (15.5 g), fibra (11.1 g), carbohidratos totales (57.7 g), materia mineral (5.0 g), ceniza insoluble en ácido (0.24 g), calcio (0.7 g), fósforo (0.11 g), hierro (0.01 g), sodio (0.25 g), potasio (1.2 g), vit B1 (0.11 mg), vit B2 (0.04 mg), niacina (1.5 mg), vit C (80.9 mg), vit A (175 UI).^{1,5}

1.1.9 Farmacognosia

La materia médica es el botón floral que tiene olor aromático, picante y ligeramente astringente. Microscópicamente presente una epidermis compuesta de células pequeñas poligonales, numerosos anomocitos circulares y grandes válvulas de aceites ovoides; abundante parénquima amarillo – café; grumos de cristales de oxalato de calcio; ocasionalmente fibras; fragmentos de filamentos y capas fibrosas en las anteras; abundantes gránulos de polen. Contiene de 4 – 10% de extracto etéreo no volátil, 5 – 8% de ceniza (0.1 – 0.6% insoluble en ácido), no menos de 15% de aceite volátil, 10% de humedad, 13% de fibra; no más del 4% de botones abiertos, ni más de 2% de botones fermentados, no más de 0.5% de materia orgánica extraña.²

La actividad antimicrobiana se atribuye al eugenol que es activo contra *S. aureus*, *E. coli* y *C. albicans*. La CIM del polvo del fruto contra *S. aureus* es 2 mg/ml; el extracto metanólico es activo contra *S. mutans* (CIM = 0.8 mg); el extracto acuoso es inactivo. La eugenina tiene actividad antiviral contra el herpes simplex (10 mg/ml). El extracto estimula la secreción gástrica y actúa sobre la pepsina, mejorando la digestión y eliminando los gases; es un potente ascaricida, en dosis de 0.1 – 1.0 g/kg, del extracto alcohólico o del aceite se expulsan los *A. lumbricoides* sin efectos adversos.

El aceite esencial se obtiene de botones florales y hojas; botones con rendimiento de 15 – 20 % y hojas 2 – 3 %.

Sus propiedades fisicoquímicas son: densidad 1.043 – 1.068, índice de refracción 1.530; contiene esteroides (campostero, glucósidos de beta-sitosterol y stigmasterol) y triterpenoides (metiléster del ácido 1 alfa-hidroxioleanólico).

El eugenol (ácido cariofílico) se obtiene por extracción del aceite con KOH y rectificación con CO₂. Se usa como analgésico, carminativo, espasmolítico y antiséptico; en odontología como analgésico dental y relleno temporal de cavidades con óxido de cinc; se usa en perfumería, en la fabricación de vainillina y como insecticida. Es un líquido incoloro – amarillento, picante, se oscurece al contacto con el aire, peso molecular 164, punto de ebullición 255 C, densidad 1.0644, índice de refracción 1.5410, rotación óptica –1.3 grados, insoluble en agua, soluble en etanol, cloroformo y éter; a pesar de su alta concentración en el aceite (99 %), su aroma particular proviene de trazas de otros elementos, como metil-n-amilcetona. El acetato de eugenilo es un sólido cristalino, peso molecular 206, punto de fusión 29 C, punto de ebullición 120 –121 C, densidad 1.0806, índice de refracción 1.5205, olor a fruta. Ambos compuestos poseen actividad anestésica, sedante e hipotérmica.

Algunos de sus sesquiterpenos (beta-cariofileno, óxido de beta-cariofileno, alfa-humuleno y eugenol) tienen propiedad anticarcinogénica medida por el ensayo de reducción de la glutathion s-transferasa. El beta-cariofileno es un líquido de peso molecular 204, punto de ebullición 129 – 130 C, rotación óptica específica –5.2 grados, índice de refracción 1.5009, densidad 0.9052. El alfa-humuleno es líquido, peso molecular 204, punto de ebullición 106 – 107 C, índice de refracción 1.5004, densidad 0.8865.

Se comercializan formas fitofarmacéuticas del extracto y esencia como aceite esencial, polvo, píldoras, tintura y aceite.

1.1.10 Farmacología

Estudios antimicrobianos demuestran que el aceite esencial y el extracto etanólico son antibacterianos y antifúngicos a concentraciones de 1:8,000 – 1:16,000; la tintura del fruto es activo contra bacterias y *C. albicans*. El polvo del fruto es activo contra *S. aureus*, el aceite esencial es antibacteriano, antifúngico y analgésico.

La oleorresina y el aceite esencial son muy usados en la industria alimenticia, farmacéutica y perfumería, con particular aplicación en odontología, como antiséptico y anestésico. El extracto metanólico tiene actividad antiinflamatoria en el edema de la oreja del ratón inducido por acetato de tetradecanoilforbol y posiblemente inhibidor de promotores tumorales.

1.1.11 Toxicología

El extracto etanólico es poco mutagénico en *S. typhimurium* TA98, más en TA102, CI50 en *A. salina* es 45 micro g/mL .

A los animales que se les administra pueden desarrollar síntomas de hematuria, necrosis y morir de parálisis. Su uso es incompatible con C. longa, compuestos de hierro, plata y sulfato de cinc. El aceite y sus derivados irritan la piel y mucosas. Por vía oral la dosis tóxica de flores en el adulto es de 3 g, en niños es 0.5 g; el contacto repetido por vía tópica puede causar dermatitis. La DL50 del aceite en ratón es 1.82 g/Kg por vía intragástrica y 1.6 g/Kg por vía oral; 5 g/Kg en perros y 19.3 g/Kg en ratas. La DL50 del eugenol por vía oral en ratas es 2,680 mg/Kg y en ratón 3,000 mg/Kg.

1.1.12 Indicaciones Terapéuticas

Por su propiedad antiemética, carminativa y estimulante del apetito y la digestión, los botones florales secos y sus preparados están indicados por vía oral para tratar ataques de hipo, inapetencia, dispepsia, bronquitis, amigdalitis y otitis en dosis de 3 tazas/día de una infusión de 10 g/l, 3 – 10 gotas/día de la esencia y 10 – 30 gotas/día de la tintura. Por su propiedad cicatrizante y desinfectante está indicado su uso tópico en infecciones, heridas y ulceraciones. Las indicaciones terapéuticas del aceite y del extracto alcohólico son como analgésico y antiséptico de la piel y mucosas, particularmente de la cavidad oral.

1.2 Oleorresinas

1.2.1 Definición

Las oleorresinas son extractos de especias deshidratadas, que se obtienen por tratamiento con solventes. Son preparados líquidos consistentes en aceites esenciales y materias resinosas.

Pueden dividirse en dos grandes grupos: Las que se preparan con especias y hierbas por extracción con disolventes volátiles, utilizados exclusivamente en la industria de sustancias soporíferas; y las que se preparan de las partes odoríferas de la planta, exceptuadas las flores, cuyo empleo principal es la industria de perfumes.

Las oleorresinas de especias corresponden enteramente a la primera categoría de oleorresinas antes mencionadas, hay que distinguirlas de las llamadas acuarresinas, que típicamente se preparan por extracción con alcohol acuoso y no con disolventes, aunque hay cierta superposición en las aplicaciones de ambos tipos de productos.

Puesto que disolventes distintos pueden dar como resultado productos de diferentes características de olor a partir de la misma sustancia, la elección de los disolventes es una de las funciones más importantes en la fabricación de oleorresinas.

Después de la separación de las materias sobrantes se libera el extracto de su disolvente volátil mediante la destilación al vacío, lo que deja como residuo la oleorresina deseada.

Las oleorresinas de especias que constituyen la forma líquida más concentrada de la especia, reproducen el carácter de la especia con mucha mayor plenitud que los aceites esenciales.

Se utilizan como agentes soporíferos en la industria de elaboración de alimentos. Como su elevada concentración hace difícil que las oleorresinas como tales se incorporen en las mezclas de productos alimentarios, se dispersan en una base seca, harina y dextrosa.

Las oleorresinas son de empleo más económico, de más fácil control de calidad y más limpias que las especias molidas equivalentes; su ventaja sobre los aceites esenciales equivalentes, es que son más estables cuando se calientan.

Con referencia a los extractos obtenidos de plantas aromáticas, pueden ser: aceites esenciales, resinoides, concretos, absolutos, extractos crudos o purificados, oleorresinas, exudados naturales (bálsamos y resinas), etc.

Se denomina **Concreto** a un extracto de una planta aromática obtenido por medio de un disolvente no polar(dentro de los más usados están: hexano, eter de petróleo, acetona, acetato de etilo, n-butanol,etc.) o etanol y posterior eliminación de éste por evaporación a baja temperatura y con ayuda de vacío.

El residuo resultante suele ser un producto semisólido, pastoso, conteniendo no solamente la porción aromática de la planta sino también productos oleosos, cerosos, clorofila, pigmentos, resinas, etc.

En la jerga comercial estos tipos de extractos suelen llamarse **oleorresinas** por el hecho de contener todos los componentes oleosos o liposolubles de la planta de origen.

Muchas de éstas oleorresinas tienen un vasto uso en la industria alimenticia y farmacéutica, como reemplazantes de las respectivas partes de la planta. Las ventajas que tienen son la facilidad de dosificación, la posibilidad de homogeneizar la calidad, la carencia de problemas por contaminación y por ende una mayor estabilidad.

Y con respecto a los aceites esenciales algunas veces suelen preferirse por contener no solamente los componentes volátiles de la planta, sino también los otros compuestos que hacen al sabor, la textura, la pungencia, solubilidad, y al acorde de sus características organolépticas.

Una vez obtenido el concreto, se lo puede redissolver en etanol a temperatura ambiente. Quedará una parte insoluble en el etanol, que se denomina **resinoide**, y una parte soluble que se separa por filtración, la que después de eliminarle el etanol (a baja temperatura y con ayuda de vacío) se denomina **absoluto**.

1.2.2 Características Generales

La oleorresina del clavo es un líquido muy viscoso de color café oscuro verdoso, contiene de 40 a 60 % de Eugenol, con un olor placentero dulzón, un sabor picante y provoca irritación al tener contacto con la piel.

Oleorresina del clavo es el nombre comercial para varios extractos de clavo ya sea un concreto, un absoluto o un acuarresina. El producto se extrae directamente de los botones del clavo utilizando alcohol etílico como solvente.

La Oleorresina extraída del clavo contiene aproximadamente 70 mL de aceite esencial por cada 100 g de la misma, con un rendimiento del 15 % en peso a partir de la especia seca. Existe una relación en la que 1.7 g de oleorresina de clavo equivale a 1 onza de la especia.

Entre las características de las Oleorresinas está la uniformidad de sabor, ya que la variación de las intensidades y las características del sabor que pueden ocurrir utilizando especies de diferente cosecha, origen o adulteraciones no ocurren con las oleorresinas.

Las oleorresinas son fácilmente dispersables en alimentos, logrando uniformidad en el sabor y evitando la presencia de hot points que pueden ocurrir con las especias.

La Oleorresina de clavo (No. cas: 8000-34-8) es utilizada en la industria farmacéutica para elaborar productos anestésicos, en la industria de alimentos es utilizada como saborizante para fabricar condimentos y en repostería, en la industria de cosméticos es utilizada para formular perfumes y cremas terapéuticas especiales.

1.2.3 Usos de las Oleorresinas

Las Oleorresinas tienen uso en la industria de alimentos y de medicamentos sustituyendo las plantas secas o las tinturas. Se emplean en la coloración de productos lácteos, principalmente en mantequillas, margarinas, quesos, en productos de panadería y mezclado con el colorante bixina para la coloración de confituras, helados, pudines.

También se utiliza industrialmente como saporífero de salsas curry, en curtidos, salsas y condimentos, en sopas y pures instantáneos, en la coloración de la mostaza, en helados de vainilla, utilizando como saborizante artificial la oleorresina del clavo, en yogurts y en productos de harina.

Las oleorresinas en general son ampliamente comercializadas y existen muchos países interesados en importar estos productos, siendo los mayores exportadores de especias a nivel mundial la India, Estados Unidos, Madagascar y Australia.

1.3 Método de Extracción de Oleorresinas

1.3.1 Extracción de Oleorresinas

Las oleorresinas de especias se obtienen de especias deshidratadas por extracción con un solvente volátil no acuoso, los solventes empleados son eliminados casi completamente por procesos de destilación al vacío, destilación azeotrópica o ambas.

La oleorresina del Clavo se obtiene por extracción con solventes (éter de petróleo, hexano, diclorometano, etanol, entre otros), utilizando clavo deshidratado con un % de humedad entre el 15 y 20 %.

1.3.2 Preparación de la especia vegetal

La fabricación de un producto a partir de la materia prima vegetal comprende las operaciones de molienda, extracción, concentración y purificación. Se utiliza como materia prima el material vegetal seco previamente seleccionado para eliminar las impurezas. En esta operación se separan manualmente los materiales extraños como pedazos de madera, de metal o materiales de otra naturaleza. La tierra, la arena y el polvo muy fino son separados por medio de tamices.

1.3.3 Molienda

El proceso de extracción de oleorresinas, se inicia con la molienda de la planta. Teniendo como objetivo la disminución del tamaño de las partículas de la especia para adecuarla a la etapa siguiente del proceso de extracción.

En la molienda a que es sometida la especia se rompen las paredes o membranas celulares, para que en el proceso de maceración se facilite la disolución de todas las propiedades de la especia en el líquido externo.

El tamaño de partícula se establece experimentalmente para cada especia procesada, teniendo en cuenta la naturaleza del solvente y el equipo empleado para la extracción.

La molienda da como resultado cierta cantidad de partículas muy finas, las cuales se separan utilizando tamices.

El clavo seco presenta dificultad en el proceso de molienda ya que tiene dos tipos de tejido que produce polvos muy finos; por esta razón solo de muesca para romper los micelios y facilitar la extracción.

1.3.4 Selección del solvente

Antes de empezar el proceso extractivo en una escala piloto o industrial, se debe definir la selectividad del solvente a ser usado en el proceso. Cuando se desea que estén presentes la mayor parte de los constituyentes químicos de la planta, normalmente se utiliza un solvente de naturaleza general, de alta polaridad, como alcohol metílico o metanol. La escogencia del solvente de extracción, así como la permanencia en la composición química de la materia vegetal, representan dos aspectos de suma importancia.

Como la especia seca molida se pone en contacto con el solvente se inicia un proceso opuesto al proceso de secado que tiende a reconstruir el estado original de la célula. Inicialmente el solvente penetra en la célula vegetal y expelle el aire contenido en el citoplasma, dándose inicio de esta forma un proceso extractivo.

La penetración del solvente en la célula induce un momento dipolar en las moléculas de los compuestos que van a ser extraídos. De ésta manera las sustancias extraíbles se adhieren a las moléculas del solvente. La capacidad de asociación puede expresarse en términos de la constante dieléctrica. Cuanto más polar sea un solvente mayor será su respectiva constante dieléctrica. Compuestos ionizables y/o altamente polares se disuelven en solventes de elevada constante dieléctrica; al igual que compuestos apolares se disolverán en solventes de baja constante dieléctrica.

En el proceso de escogencia de un solvente determinado es necesario considerar aspectos relacionados con la selectividad, la facilidad de manipulación, el precio, la seguridad y los riesgos en cuanto a una posible contaminación ambiental, siendo el aspecto más importante el grado de toxicidad del solvente.

Con las oleorresinas se pueden utilizar solventes orgánicos, incluso mezclas azeotrópicas, ya que estas mezclas mantienen la misma concentración relativa de sus componentes cuando alcanzan su punto de ebullición, y el punto de ebullición de la mezcla es inferior al del componente cuyo punto de ebullición más alto, por lo cual pueden ser usados en procesos extractivos. Incluso del tipo Soxhlet, ya que no representa la separación de los componentes de la mezcla.

En el caso de la extracción de la oleorresina del clavo se utilizan diclorometano, hexano, alcohol etílico, entre otros.

Durante el proceso de extracción ocurren dos fenómenos paralelos: la lixiviación de las sustancias solubles de células rotas y la disolución y difusión de las sustancias solubles de células intactas.

Mientras la lixiviación de las sustancias de las células rotas es rápida, la difusión de las sustancias a través de la membrana de células intactas es lenta y requiere etapas de humedecimiento y ablandamiento para aumentar la permeabilidad de la membrana. Este proceso comprende tres etapas: la penetración del solvente en la célula, la disolución de las sustancias extraíbles y la difusión de la solución fuera de la célula vegetal.

1.3.5 Maceración

El proceso de maceración consiste en poner en contacto la droga y el solvente, durante varios días. Se trata de un proceso que da como resultado un equilibrio de concentración entre la especie y el solvente, y depende de factores que están unidos a la especie, como lo son su naturaleza, el tamaño de partícula, su contenido de humedad y cantidad y factores que están relacionados con el solvente, la selectividad y la cantidad. El rendimiento del extracto disminuye cuando la relación

especia-solvente aumenta la permeabilidad de la pared celular y la difusión del solvente. La velocidad con la que se obtiene el equilibrio esta en función del tamaño de la partícula de la droga molida, así como, del grado hinchamiento de las células y de las propiedades del solvente.

El proceso clásico de maceración consiste en dejar la droga en contacto con solvente durante varios días, con agitación ocasional, proceso conocido como maceración simple o estática, es sumamente lento. Para abreviar el tiempo de operación, la droga y el solvente deben mantenerse en movimiento constante, este proceso se conoce como maceración dinámica. Ambos procesos pueden ser ejecutados a temperatura ambiente.

La etapa final del proceso es el prensado o la centrifugación del residuo para la recuperación de la parte del extracto retenido en él.

1.3.6 Percolación

Consiste en hacer pasar el solvente a través de la planta que contiene el componente activo ó metabolito secundario, hasta su extracción exhaustiva completa. Con el fin de aumentar el contacto, se utiliza una etapa preliminar de humedecimiento de la droga o en este caso la especia, de esta forma se facilita el paso del solvente y no permite la formación de falsas vías, las que perjudican la eficiencia del proceso. El humedecimiento de la especia aumenta la porosidad de la pared celular y facilita la difusión de las sustancias extraíbles hacia el exterior de las células. El humedecimiento debe realizarse fuera del percolador, ya que la especia puede hincharse excesivamente, principalmente cuando el solvente es acuoso, y comprimirse contra las paredes del percolador, no permitiendo el paso del solvente.

2. METODOLOGÍA

2.1 Localización:

La parte experimental de la investigación se llevó a cabo en la Universidad de San Carlos de Guatemala en las siguientes instalaciones:

- Planta piloto de extracción – Destilación de aceites esenciales de la sección de Química Industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería.
- Laboratorio de Ensayo Físico – Químico de la sección de Química Industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería.
- LIPRONAT, Laboratorio de Investigación de productos naturales, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

2.2 Recursos Humanos:

- Investigador: Tito Estuardo Vides Quiñones
- Asesora: Inga. Qca. Telma Maricela Cano Morales

2.3 Recursos materiales:

Para cada lote se utilizó:

- 10 libras de Clavo seco
- 12.6 litros de etanol al 70 %.
- 10 galones de diesel
- 5 yardas de manta para filtrar
- 2 cintas de tape grueso

2.4 Equipo y Cristalería :

- 12 Cubetas de plástico de 50 litros con tapadera hermética
- molino manual
- balanza analítica
- 1 filtro de plástico grande
- tubo recolector hacia el molino
- 6 cubetas plásticas de 15 litros
- 1 probeta plástica de 2000 ml
- 10 erlen meyer de 2000 ml
- 10 beackers de 500 ml
- 2 espátulas plásticas miserables
- 1 pizeta
- reloj
- refrigerador
- anillos rasching
- 2 balones de 1000 ml
- 2 balones de 500 ml
- 2 balones de 2000 ml
- Rotavapor BUCHI
- bomba de vacío

- vaselina
- termómetro
- material de limpieza de cristalería
- frascos con tapadera con rosca

2.5 Procedimiento Experimental:

2.5.1 Diseño de Tratamientos:

Para la obtención de la oleoresina del clavo, se procedió a colocar la materia prima en contacto con el solvente, cuya técnica es llamada maceración. Se utilizó alcohol etílico al 70 % como solvente. La materia prima se trabajó en seco con un 10 % de humedad. Para todos los tratamientos se usó un batch fijo de 4.54 kilos de clavo y 12.6 litros de alcohol etílico, para utilizar una relación de 3:1.

En el presente trabajo de investigación se utilizó un diseño completamente al azar con un arreglo combinatorio, en el cual se aplicó un experimento unifactorial el cual es 3 diferentes tiempos de maceración y 3 repeticiones de cada uno, para hacer un total de 9 experimentos.

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el modelo estadístico de Análisis de varianza, haciendo uso del programa estadístico SAS y se comprobaron los resultados bajo la prueba de Tukey.

2.5.2 Manejo del Experimento

La materia prima seca se obtuvo de los productores directos en el municipio de Chisec, Alta Verapaz. Al material seco se le realizó un tratamiento previo para llevarlo a un 10 % de humedad.

Para las extracciones, el material seco, se procedió a triturarlo para aumentar la eficiencia del proceso de extracción. Se colocó la materia prima en contacto con el solvente a un tiempo de maceración determinado y se filtró utilizando manta fina para evitar el paso de las partículas finas.

La oleorresina obtenida en cada extracción se concentró inicialmente en la unidad de concentración de la planta piloto y luego en el rotavapor para eliminar el resto del solvente. Posteriormente se almacenó en frascos limpios de color ámbar, debidamente etiquetados y a una temperatura de 5° C para luego realizar el análisis de cromatografía en capa fina y determinar la presencia del componente activo eugenol.

2.5.3 Análisis Cromatográfico:

El análisis de cromatografía en capa fina se realizó en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales(LIPRONAT) de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC, utilizando el siguiente procedimiento: De las muestras obtenidas de oleorresina de clavo se tomó 1 g y se colocaron en tubos de ensayo, se agregaron 3 mL de etanol absoluto(96 %) y 3 mL de agua. Utilizando el vortex se disolvió la oleorresina en la mezcla etanol-agua y se procedió a filtrar. Ya filtradas las muestras se realizó una dilución 1:10 con tolueno para las muestras y para los estándares se realizó una dilución 1:300.

Se procedió a sembrar en la placa cromatográfica 5 microlitros de cada muestra y 1 microlitro de los estándares, Eugenol, Linalool, Limoneno, alpha-terpineol y Farmaseno, luego se procedió a colocar la placa dentro de la cámara cromatográfica que contenía Tolueno y Acetato de Etilo, y se retiró hasta que el solvente alcanzó la altura adecuada en la placa, posteriormente se procedió a secar la placa dentro de la campana de extracción de gases, luego se asperjó con una mezcla de Ácido Sulfúrico y Anisaldehído, se secó y se colocó en una plancha de calentamiento para revelar el cromatograma.

2.5.4 Análisis Estadístico

2.5.4.1 Modelo estadístico

Se utilizó un análisis de varianza unifactorial, para estimar las posibles variaciones existentes entre los datos obtenidos de las nueve corridas llevadas a cabo.

Por medio del análisis de varianza, se interpretaron los datos para determinar el rendimiento en % de oleorresina extraído en la planta piloto a diferentes tiempos de maceración; y se investigó un solo factor.

Tabla I. Procedimiento que se llevó a cabo para la obtención de los resultados.

Nivel	Observaciones	totales	Promedio
1	Y1,1 Y1,2 Y1,3	Y1	$\bar{y}_1$
2	Y2,1 Y2,2 Y2,3	Y2	$\bar{y}_2$
3	Y3,1 Y3,2 Y3,3	Y3	$\bar{y}_3$

Este diseño experimental es completamente aleatorizado para obtener mejores resultados. Este modelo estadístico permitió probar la hipótesis sobre las medias de los niveles.

El procedimiento de prueba del análisis de varianza para el modelo de efectos fijos unifactorial se describe en la siguiente tabla.

Tabla II. Procedimiento de prueba del análisis de varianza para el modelo de efectos fijos unifactorial.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Fo
Entre niveles	SS niveles	a - 1	MS	<u>MSniveles</u>
Error (niveles)	SS _E	N - a	MS _E	MS _E
Total	SS _T	N - 1		

Por medio del análisis anterior, se obtuvo las medias de los rendimientos de la oleoresina de clavo (*Eugenia caryophyllata* Thunb), para comparar por medio de la prueba Fo, cuál de las hipótesis se rechazaría.

2.5.4.2 Fórmulas para el análisis de varianza

El cálculo de los parámetros para el análisis de varianza, se realizaron por las siguientes ecuaciones.

$$SS_T = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n Y_{ij}^2 - \frac{Y^2}{N} \quad (1)$$

$$SS \text{ niveles} = \sum_{j=1}^a \frac{\underline{Y_j}^2}{n} - \frac{\underline{Y}^2}{N} \quad (2)$$

$$SS_E = SS_T - SS \text{ niveles} \quad (3)$$

$$MS \text{ niveles} = \frac{SS \text{ niveles}}{a - 1} \quad (4)$$

$$MS_E = \frac{SS_E}{N - a} \quad (5)$$

$$F_o = \frac{MS \text{ niveles}}{MS_E} \quad (6)$$

3. RESULTADOS

Comparación del rendimiento de la oleorresina de clavo (*Eugenia caryophyllata* Thunb), extraída en la planta piloto, en función del tiempo de maceración, a partir del material vegetal utilizado.

Rendimiento mayor a las 12 horas de maceración: 19.5 %

Rendimiento mayor a las 24 horas de maceración: 20.8 %

Rendimiento mayor a las 36 horas de maceración: 22.6 %

El rendimiento obtenido, en los tres diferentes tiempos de maceración, muestra que no existe diferencia significativa, con una probabilidad de ocurrencia del 99.5 %, de acuerdo con esto se acepta la hipótesis alternativa:

$$\mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

Donde: μ es el rendimiento de la oleorresina de clavo (*Eugenia caryophyllata* Thunb), extraída en la planta piloto a diferentes tiempos de maceración.

Comparación de las propiedades químicas de la oleorresina de clavo (*Eugenia caryophyllata* Thunb), extraída en la planta piloto a diferentes tiempos de maceración.

Los componentes de ésta oleorresina, a diferentes tiempos de maceración son los mismos. Se realizó un análisis cualitativo por medio de cromatografía de capa fina a los nueve lotes de oleorresina obtenida para confirmar la presencia de los compuestos mayoritarios, siendo éste el Eugenol.

Comparación de las propiedades físicas de la oleorresina de clavo (Eugenia caryophyllata Thunb), extraída en la planta piloto a diferentes tiempos de maceración.

Densidad relativa de la oleorresina a diferentes tiempos de maceración:

Oleorresina a 12 horas de maceración: 1.279 60 °C

Oleorresina a 24 horas de maceración: 1.278 60 °C

Oleorresina a 36 horas de maceración: 1.287 60 °C

Con éstos datos se observa que las propiedades físicas de la oleorresina extraída en la planta piloto a diferentes tiempos de maceración, son semejantes.

Fig. 1. Rendimiento de oleorresina de clavo (*Eugenia caryophyllata, Thunb*)

(%), a diferentes tiempos de maceración

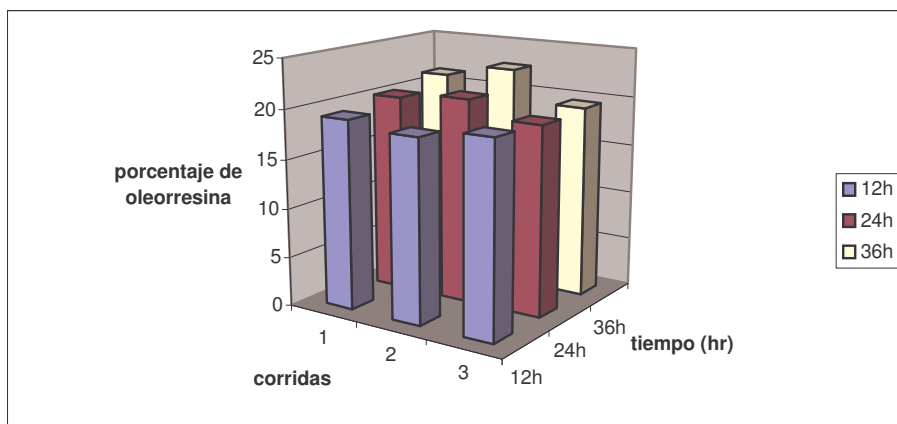
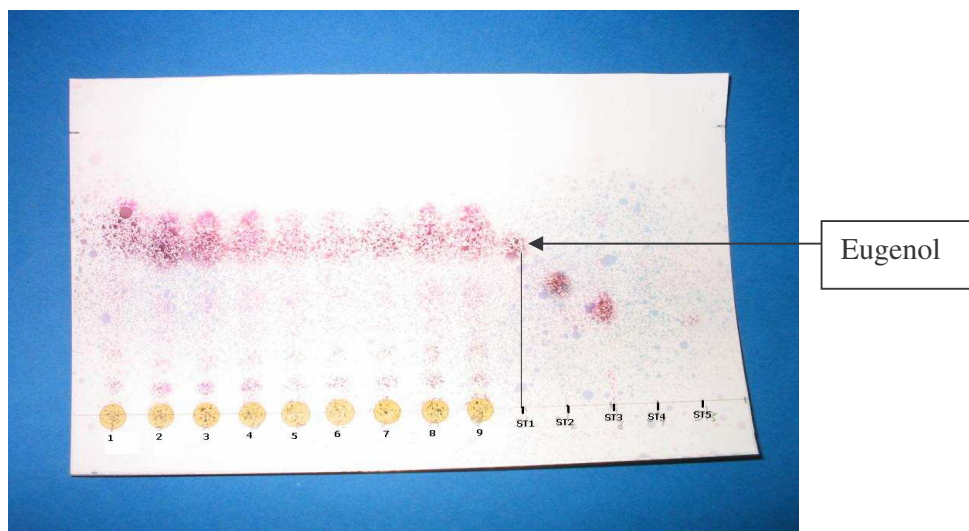


Fig. 2. Análisis cualitativo TLC para determinar la presencia del compuesto mayoritario de la oleorresina de clavo (*Eugenia caryophyllata*, Thunb)



Estándares:

- St1:** Eugenol
- St2:** Linalool
- St3:** Limoneno
- St4:** alpha-terpineol
- St5:** Farmaseno

Como se observa en la figura anterior, las nueve extracciones tienen como compuesto mayoritario el “**Eugenol**”.

4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La materia prima se obtuvo de los productores directos en el municipio de Chisec, Alta Verapaz, donde la temperatura y latitud del cultivo del clavero son ideales. Al material seco se le realizó un tratamiento previo para llevarlo a un 10 % de humedad y se mantuvo en un ambiente fresco y protegido de la luz previo a su extracción, con el fin de conservar la materia prima libre de exceso de humedad.

Para llevar a cabo una mejor extracción de oleorresina, por medio de un molino manual se trituró la materia prima, para reducirla y homogenizarla; para aprovechar al máximo la etapa de maceración, en donde se pone en contacto con el disolvente y éste absorbe todos los constituyentes de la planta.

La elección del disolvente es uno de los factores más importantes en la extracción de oleorresinas, debido a que disolventes distintos dan como resultado productos de diferentes características. El disolvente utilizado en el presente trabajo de graduación fue el Etanol; según fuentes bibliográficas, es el mayor usado por su rendimiento y afinidad con el compuesto principal de esta oleorresina, el Eugenol.

El proceso de concentración se llevó a cabo a presión reducida, haciendo énfasis en la temperatura, se trabajó dentro de un rango de temperatura del 40 – 55 ° C, con el fin de no deteriorar los constituyentes de la especia por efecto de una temperatura muy elevada.

Debido a su naturaleza viscosa, parte del material se quedó en el concentrador; se trató de eliminar en la mayor cantidad posible éstas pérdidas, vertiendo etanol en

las paredes del recipiente luego del proceso de concentración para cada corrida. Por lo tanto, se puede considerar como una fuente de error en los resultados.

Los rendimientos obtenidos para las distintas extracciones de oleorresina de Clavo (*Eugenia caryophyllata Thunb*), a diferentes tiempos de maceración, están comprendidos entre el 19 al 23 %; mucho mayores que el rendimiento esperado del 7 %, según fuentes bibliográficas. Lo cual pone en evidencia la calidad de la materia prima utilizada.

Al comparar los resultados obtenidos del rendimiento de oleorresina a diferentes tiempos de maceración en la planta piloto, por medio del análisis de varianza para las medias a cada tiempo con resultado de 3.99 que es la media de cuadrados, y la razón $F_o = 4.70$, da como resultado de error entre medias de 0.8483; comparando éstos resultados se determinó que las medias de los niveles no presentan una diferencia significativa, entre el rendimiento a diferentes tiempos de maceración, con un nivel de significación del 99.5 %. Por lo tanto se acepta la Hipótesis Alternativa (H_i). “No existe diferencia significativa en el porcentaje de rendimiento de oleorresina extraída del clavo (*Eugenia caryophyllata Thunb*) en función del tiempo de maceración”.

En el análisis cromatográfico de capa fina, se confirma la presencia del Eugenol, como el compuesto mayoritario, en las nueve extracciones, tal como se observa en la Fig. 2 de la cromatografía en capa fina. (Pag. No. 27)

Las pruebas físicas realizadas a cada extracto, son muy similares tanto en densidad, como en sus características organolépticas como sabor, olor y color.

CONCLUSIONES

1. No existe diferencia significativa en el rendimiento porcentual de oleorresina de clavo (*Eugenia caryophyllata*, Thunb) a diferentes tiempos de maceración.
2. Según el análisis cualitativo por cromatografía en capa fina, el componente mayoritario en la oleorresina de clavo (*Eugenia caryophyllata*, Thunb), es el Eugenol.
3. Las propiedades físicas: densidad y solubilidad de las oleorresinas obtenidas a diferentes tiempos de maceración, son similares.
4. La oleorresina de clavo (*Eugenia caryophyllata*, Thunb) es soluble en agua y etanol.

RECOMENDACIONES

1. Es necesario hacer una corrida inicial, para establecer los puntos críticos del proceso de extracción de la oleorresina, como por ejemplo: el tiempo de concentración, si se pierde algo del material concentrado en las paredes del concentrador, si se forma espuma durante la concentración (y qué medidas tomar), entre otras.
2. Es conveniente, si se desea obtener un concreto, o sea una Oleorresina pura, que el “**solvente**” sea puro, debido a que al final de la concentración, el rendimiento no es real, dado que se ve afectado por el exceso de agua, al formarse el azeótropo, para el caso del Etanol utilizado como solvente. Además, se forman el absoluto y el resinoide, que tienen características físicas y químicas muy diferentes, afectando en sí el rendimiento y la calidad de la Oleorresina.
3. Hay que tener en cuenta que luego de la concentración, a las muestras se les debe quitar totalmente el solvente que estuviese presente, para obtener una Oleorresina libre de impurezas. Para ello se debe utilizar un Rotaevapor con medidor de presión digital, con bomba de vacío incorporada capaz de alcanzar presiones reducidas hasta de 40 mbar, para lograr obtener Oleorresinas de alta calidad extraídas en las planta piloto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cáceres, Armando. **Plantas de uso medicinal en Guatemala.** (Guatemala: Editorial Universitaria, 1996.) pp. 137-138.
2. Conquist, Arthurd. **An integrated system of classification of flowering plants.** (N.Y.: Columbia University Press, 1981.) pp. 15.
3. Guenther, Ernest. **The esencial Oils.** (U.S.A.: Van Nostrand, 1996.) pp. 3-13.
4. León, Jorge. **Botánica de los cultivos tropicales.** (Costa Rica: Editorial IICA, 1987.) pp. 365-366.
5. Maestre, Jacques. **Las plantas de especias.** (Barcelona: Editorial Blume, 1969.) pp. 106-107.
6. Oleorresins and extracts <http://www.kancorflavours.com/>
7. Wlapole, Ronald & Raymond Myer. **Probabilidad y Estadística para ingenieros.** (Mexico: Editorial Iberoamericana, 1989.) pp. 538-555.

BIBLIOGRAFÍA

1. Baldoni, Arnaldo. **Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica**, su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores. CYTED. Editorial de la Universidad Nacional de la Plata. Argentina, 2000.
2. Bruneton, Jean. **Pharmacognosy, Phytochemistry, Medical Plants**. Editorial Lavoisier, France 1995.
3. Cañigual, Salvador. **Plantas medicinales y drogas vegetales para infusión y tisana**, un manual de base científica para Farmacéuticos y Médicos. OEMF Internacional. Barcelona, 1989.
4. Centro de Comercio Internacional UNCTAD/GATT. **Aceites esenciales y oleorresinas**. Estudio de Mercado. Estudios de distintos productores y de mercados importantes. Financiado por el gobierno de Dinamarca. Ginebra 1986.
5. CONAPLAMED. **Farmacopea vegetal guatemalteca**. Guatemala. Comisión Nacional para el aprovechamiento de Plantas Medicinales. 1991.
6. De Silva, Tuley. **A manual on the essential oil industry**. Viena, Austria, 1995. U.N. Industry Development Organization.
7. Husain Akhtar. **Major essential oil-bearing plants of India**. India 1988. Central Institute of Medical and Aromatic Plants.
8. Kenneth T. Farrell. **Spices, condiments, and seasonings**. Daytona Beach, Florida, USA.
9. Kurt Bawer, Garbe Dorothea Surburg Horst. **Comon fragrance and flavor material. Preparation, properties y used**. Second revised edition. VCH, 1990, Germany.
10. Lawless, Julia. **The enciclopedia of essential oils**. Editorial Element. First Edition Great Britain 1992.
11. Macedo dos Santos Elizabeth. **Extracción de ditofármacos**. Aspectos tecnológicos. Santa Rosa, Niteroi, RJ Brasil, 1996.
12. Secondini, Olindo. **Handbook of perfumes and flavors**. Chemical Publishing Co. Inc. 1990.

13. Sharapin Nikolai. **Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos.** Programa Iberoamericano de ciencia y tecnología para el desarrollo.CYTED. 1998.
14. Swahn, J.O. **The Lore of Spices.** Sweden 1991. Crescent Books.
15. Wijesekera, R.O.B. The essential Oils Industry. UNIDO, Viena, Austria 1983.

APÉNDICE

Fig. 3. Presentación de la unidad utilizada en la planta piloto.



Fig. 4. Presentación del Rotaevaporador.



Datos Originales

Tabla III. Datos de masa de oleorresina obtenidos en la plata piloto, para una masa de 10 libras de material vegetal, a un tiempo de maceración de 12 horas.

CORRIDA	Tiempo de maceración (h)	Masa (Kg)
1	12	0.87
2	12	0.84
3	12	0.88

Tabla IV. Datos de masa de oleorresina obtenidos en la plata piloto, para una masa de 10 libras de material vegetal, a un tiempo de maceración de 24 horas.

CORRIDA	Tiempo de maceración (h)	Masa (Kg)
1	24	0.91
2	24	0.94
3	24	0.87

Tabla V. Datos de masa de oleorresina obtenidos en la plata piloto, para una masa de 10 libras de material vegetal, a un tiempo de maceración de 36 horas.

CORRIDA	Tiempo de maceración (h)	Masa (Kg)
1	36	0.96
2	36	1.03
3	36	0.88

Propiedades físicas de la Oleorresina extraída

Tabla VI. Densidad de la Oleorresina determinada con picnómetro a 20 °C/60 °C .

CORRIDA	Tiempo de maceración (h)	Densidad de oleorresina (g/cm³)
1	12	1.274
2	12	1.275
3	12	1.279

Tabla VII. Densidad de la Oleorresina determinada con picnómetro a 20 °C/60 °C .

CORRIDA	Tiempo de maceración (h)	Densidad de oleorresina (g/cm³)
1	24	1.276
2	24	1.273
3	24	1.278

Tabla VIII. Densidad de la Oleorresina determinada con picnómetro a 20 °C/60 °C .

CORRIDA	Tiempo de maceración (h)	Densidad de oleorresina (g/cm³)
1	36	1.286
2	36	1.274
3	36	1.287

Datos calculados

Tabla IX. Porcentaje de rendimiento para la Oleorresina extraída.

CORRIDA	Tiempo de maceración (h)	Rendimiento obtenido en la planta piloto
1	12	19.20 %
2	12	18.50 %
3	12	19.50 %

Tabla X. Porcentaje de rendimiento para la Oleorresina extraída.

CORRIDA	Tiempo de maceración (h)	Rendimiento obtenido en la planta piloto
1	24	20.10 %
2	24	20.80 %
3	24	19.20 %

Tabla XI. Porcentaje de rendimiento para la Oleorresina extraída.

CORRIDA	Tiempo de maceración (h)	Rendimiento obtenido en la planta piloto
1	36	21.30 %
2	36	22.60 %
3	36	19.50 %

Tabla XII. Datos para el experimento unifactorial.

Tiempo de maceración	Número de corridas			Totales	Promedio
	1	2	3	Yi	$\bar{y}_i$
12	1.92	1.85	1.95	5.72	1.91
24	2.01	2.08	1.92	6.01	2
36	2.13	2.26	1.95	6.34	2.11
				Y= 18.07	$\bar{y}=6.02$

Tabla XIII. Análisis de varianza para los datos de rendimiento según los diferentes tiempos de maceración.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Fo 4.70
Tiempo de maceración	7.98	2	3.99	
Error	5.09	6	0.8483	
Total	13.07	8		

Cálculo de Muestra

1. Cálculo de Rendimiento:

Se utilizó la siguiente ecuación

$$\text{Rendimiento}(\%) = \frac{\text{masa de oleorresina(Kg)}}{\text{masa de material vegetal(Kg)}} \times 100\%$$

Para la primera corrida en la planta piloto, con una masa de oleorresina de 1.92 lb y 10 lb de clavo seco, se tiene:

$$\text{Rendimiento}(\%) = \frac{0.87 \text{ Kg}}{4.54 \text{ Kg}} \times 100 = 19.2 \%$$

2. Cálculo del promedio de los rendimientos de oleorresina.

Se utilizó la ecuación del promedio:

$$\text{Promedio} = \frac{\text{suma de los datos de las corridas}}{\text{número de corridas}}$$

Para el promedio del rendimiento de las oleorresinas, extraídas en la planta piloto, se tiene:

$$\text{Promedio} = \frac{19.2+18.5+19.5+20.8+22.6+\dots+19.2}{9} = 20.08 \%$$

3. La suma de los cuadrados requeridas, para el análisis de varianzas, se calculan como sigue:

$$SST = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n Y_{ij}^2 - \frac{\underline{Y}^2}{N}$$

$$SST = \frac{(19.2)^2 + (18.5)^2 + (19.5)^2 + (20.8)^2 + (22.6)^2 + (19.5)^2 + (20.1)^2 + (21.3)^2 + (19.2)^2 - \frac{(180.72)^2}{9}}$$

$$SST = 13.07$$

Donde:

SST = Suma total de cuadrados

Y_{ij}^2 = Rendimiento al cuadrado en cada extracción

Y^2 = Totales al cuadrado

N = Total de extracciones

$$SS \text{ niveles} = \sum_{j=1}^a \frac{Y_j^2}{n} - \frac{Y^2}{N}$$

$$SS \text{ niveles} = \frac{(57.2)^2 + (59.59)^2 + (64)^2}{3} - \frac{(180.72)^2}{9}$$

$$SS \text{ niveles} = 7.98$$

Donde:

SS niveles: suma de cuadrados debido a los niveles

n: número de repeticiones

$$SSE = SST - SS \text{ niveles}$$

$$SSE = 13.07 - 7.98$$

$$SSE = 5.09$$

Donde:

SSE: suma al cuadrado debido al error

$$MS \text{ niveles} = \frac{SS \text{ niveles}}{a - 1}$$

$$MS \text{ niveles} = \frac{7.98}{3 - 1}$$

$$MS \text{ niveles} = 3.99$$

Donde:

MS niveles: media de cuadrados o cuadrados medios

$$MSE = \frac{SSE}{N - a}$$

$$MSE = \frac{5.09}{9 - 3}$$

$$MSE = 0.8483$$

Donde:

MSE: media de cuadrados debido al error

a: número de repeticiones en cada tiempo

Al obtener las medias de los cuadrados, por medio del análisis de varianza, esto permite determinar la razón Fo con un nivel de significación de 0.05 %.

$$F_o = \frac{\text{MS niveles}}{\text{MSE}}$$

$$F_o = \frac{3.99}{0.8483}$$

$$F_o = 4.70$$

Donde:

Fo: La razón f o prueba F

Con la razón F para un nivel de significación de 0.05 % y 2.6 grados de libertad, se busca en las respectivas tablas, lo que resulta $F_o(0.05, 2.6) = 5.14$ y ésta se compara con la obtenida.