

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**ESCUELA DE POSGRADO**  
**PROGRAMA DE MAESTRÍA**  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS - INGENIERÍA QUÍMICA**



**TESIS**

**MODELADO MATEMÁTICO DE LA EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL  
DE EUCALIPTO "*Eucalyptus Globulus s.p.*" POR DESTILACIÓN CON  
VAPOR DE AGUA**

**PRESENTADA POR:**

**RENE JUSTO QUISPE FLORES**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:**

**MAGÍSTER SCIENTIAE EN INGENIERÍA QUÍMICA**

**PUNO, PERÚ**

**2017**

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

ESCUELA DE POSGRADO

PROGRAMA DE MAESTRÍA

MAESTRÍA EN CIENCIAS - INGENIERÍA QUÍMICA



TESIS

MODELADO MATEMÁTICO DE LA EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL  
DE EUCALIPTO "*Eucalyptus Globulus s.p.*" POR DESTILACIÓN CON  
VAPOR DE AGUA

PRESENTADA POR:

RENE JUSTO QUISPE FLORES

PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:

MAGÍSTER SCIENTIAE EN INGENIERÍA QUÍMICA

APROBADA POR EL SIGUIENTE JURADO:

PRESIDENTE



Dr. NAZARIO VILLAFUERTE PRUDENCIO

PRIMER MIEMBRO



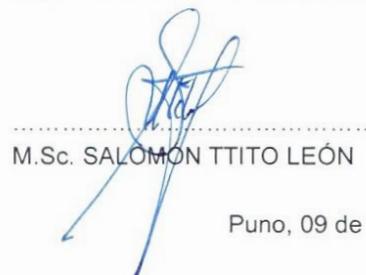
M.Sc. JOSÉ MIGUEL CASTILLO PRADO

SEGUNDO MIEMBRO



M.Sc. ROGER HUANQUI PÉREZ

ASESOR DE TESIS



M.Sc. SALOMON TTITO LEÓN

Puno, 09 de febrero de 2017

ÁREA: Investigación

TEMA: Ingeniería Química

LÍNEA: Ingeniería Química

## DEDICATORIA

A mis Padres Justo y Marcelina æ por su incondicional apoyo y acompañamiento en todo momento mis estudios y para la culminación de mis estudios.

A mi Esposa Danitza por su apoyo en la culminación de este trabajo y por ser la razón de vivir y la luz que ilumina mi camino.

A mis hermanos por su apoyo durante la realización de mis estudios de posgrado.

## AGRADECIMIENTOS

- A la Universidad Nacional del Altiplano, Escuela de Posgrado Maestría en Ciencias Mención Ingeniería Química, que me brindó los conocimientos para alcanzar mis metas y poder desarrollarme como persona y profesional en bien de la humanidad.
- A los miembros del Jurado y a mi asesor, agradecerles por su apoyo, sus recomendaciones y por la predisposición que tuvieron, sin las cuales este proyecto no se hubiera culminado satisfactoriamente.
- A todas aquellas personas que han estado a mi lado, brindando su ayuda de una u otra forma, muchas gracias.

## ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS .....	ii
ÍNDICE GENERAL.....	iii
ÍNDICE DE CUADROS .....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	x
ÍNDICE DE ANEXOS .....	xii
RESUMEN .....	xiii
ABSTRACT .....	xiv
INTRODUCCIÓN .....	1

### CAPÍTULO I

#### PROBLEMÁTICA DE INVESTIGACIÓN

1.1 PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN.....	4
1.1.1 Formulación del problema.....	5
1.1.2 Problema general.....	5
1.1.3 Problemas específicos .....	5
1.2 OBJETIVOS .....	6
1.2.1 Objetivo general.....	6
1.2.2 Objetivos específicos. ....	6
1.3 HIPÓTESIS .....	7

1.3.1	Hipótesis general. ....	7
1.3.2	Hipótesis específicas. ....	7

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

2.1	ANTECEDENTES .....	9
2.2	MARCO TEORICO.....	18
2.2.1	Características botánicas del eucalipto.....	18
2.2.2	Taxonomía del <i>Eucalyptus globulus</i> .....	22
2.2.3	Aceites esenciales .....	23
2.2.4	Métodos de extracción de aceites esenciales.....	33
2.2.5	Mecanismo de extracción de aceites esenciales por arrastre de vapor.....	35
2.2.6	Equipos utilizados en la extracción de aceites esenciales .....	37
2.2.7	Métodos de análisis de aceites esenciales .....	43
2.2.8	Ensayos físico – químicos cualitativos y cuantitativos .....	47
2.3	MARCO CONCEPTUAL.....	53
2.3.1	Plantas aromáticas y medicinales (PAM).....	53
2.3.2	Extracción por arrastre de vapor.....	53
2.3.3	Especificaciones técnicas del aceite esencial de eucalipto según las normas técnicas peruanas – NTP.....	54
2.4	INGENIERÍA DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE <i>Eucalyptus globulus s.p.</i> .....	55
2.4.1	Balance de materia .....	55

2.4.2	Balance de energía .....	56
-------	--------------------------	----

### CAPÍTULO III

#### METODOLOGÍA

3.1	TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN .....	61
3.2	DISEÑO EXPERIMENTAL .....	61
3.3	MATERIALES.....	62
3.3.1	Materia prima .....	62
3.3.2	Reactivos .....	62
3.3.3	Material de vidrio y otros .....	63
3.3.4	Equipo de laboratorio.....	63
3.4	EQUIPOS .....	63
3.4.1	Equipo de extracción.....	63
3.4.2	Equipo de análisis – cromatógrafo de gases .....	64
3.5	MÉTODOS DE ANÁLISIS .....	65
3.5.1	Diseño experimental propuesto .....	65
3.6	TRATAMIENTO DE LA MUESTRA .....	67
3.6.1	Recolección de la materia prima.....	67
3.6.2	Secado.....	68
3.6.3	Pesado.....	68
3.6.4	Extracción. ....	69
3.6.5	Condensación .....	69

3.6.6	Separación.....	69
3.6.7	Envasado.....	70

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	RESULTADOS DE PRUEBAS EXPERIMENTALES.....	72
4.1.1	Resultados de extracción por arrastre de vapor. ....	72
4.1.2	Análisis estadístico de los resultados del proceso de extracción de aceite esencial de eucalipto.....	79
4.1.3	Prueba de correlación entre la variable independiente: tiempo de secado (días) y rendimiento de aceite esencial de eucalipto.....	81
4.1.4	Prueba de correlación entre la variable independiente: tiempo de extracción y el rendimiento de aceite esencial. ....	83
4.2	DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE CINEOL EN EL ACEITE ESENCIAL DE EUCALIPTO <i>Eucalyptus globulus s.p.</i> .....	85
4.2.1	Determinación del contenido de cineol en el aceite esencial de eucalipto ( <i>Eucalyptus globulus s.p.</i> ).....	86
4.3	RESULTADOS DE ANALISIS FISICOQUIMICOS .....	90
4.3.1	Prueba de hipótesis estadística: propiedades físicas del aceite esencial. ....	91
4.4	RESULTADOS DEL BALANCE DE MATERIA.....	96
4.5	RESULTADOS DEL BALANCE DE ENERGÍA .....	97
	CONCLUSIONES .....	103
	RECOMENDACIONES .....	105



BIBLIOGRAFÍA .....	106
ANEXOS .....	111

## ÍNDICE DE CUADROS

1. Composición porcentual de terpenos en aceites esenciales de hojas adultas y juveniles de <i>Eucalyptus globulus</i> .....	29
2. Especificaciones técnicas del aceite esencial de <i>Eucalyptus globulus s.p.</i>	55
3. Matriz del diseño experimental para el desarrollo de experimentos.....	66
4. Variables para el diseño experimental .....	66
5. Resultado de las pruebas experimentales de extracción de aceite esencial	73
6. Análisis de varianza para la extracción de aceite esencial de eucalipto .....	74
7. Coeficiente de regresión para extracción de aceite esencial de eucalipto. ...	75
8. Combinaciones entre niveles de los factores para extracción de aceite esencial de eucalipto. ....	76
9. Resultados estimados para extracción .....	77
10. Nivel de correlación entre el tamaño de hojas y el rendimiento de aceite esencial de eucalipto. ....	80
11. Nivel de correlación de las variables en estudio .....	82
12. Nivel de correlación entre el tiempo de extracción y el rendimiento de aceite esencial de eucalipto .....	84
13. Resultados de análisis físicos y contenido de cineol en el aceite esencial de eucalipto, " <i>Eucalyptus globulus s.p.</i> " .....	87
14. Estadísticos para una muestra (% de cineol en el aceite esencial de eucalipto) .....	89
15. Resultados de ensayos fisicoquímicos del aceite esencial de <i>Eucalyptus globulus s.p.</i> .....	90
16. Estadísticos para una muestra (densidad relativa) .....	92
17. Estadísticos para una muestra (índice de refracción) .....	94

18. Comparación de resultados de ensayos fisicoquímicos de aceite esencial  
de *Eucalyptus globulus s.p.* con las NTP..... 95

## ÍNDICE DE FIGURAS

1. Árbol de eucalipto ( <i>Eucalyptus globulus s.p.</i> ).....	19
2. <i>Eucalyptus globulus</i> : árbol, flores y frutos .....	23
3. Aceite esencial de eucalipto.....	25
4. Cromatograma de hojas adultas de <i>Eucalyptus globulus</i> .....	28
5. Cromatograma de hojas juveniles de <i>Eucalyptus glóbulus</i> .....	28
6. Esquema simplificado para el análisis .....	36
7. Modelo simplificado de tableta .....	37
8. Equipo de destilación Clevenger.....	39
9. Equipo a escala piloto .....	42
10. Espectro infrarrojo del anetol .....	44
11. Espectro RMN-H del trans-anetol .....	46
12. Espectro de masa del trans-anetol.....	46
13. Equipo modular de extracción de aceites esenciales de la FIQ UNA Puno .....	64
14. Cromatografo de gases acoplado a espectrómetro de masa. UNSAAC ...	65
15. Recolección de hojas de eucalipto.....	67
16. Secado de las hojas de eucalipto.....	68
17. Pesado de las hojas de eucalipto para la extracción .....	68
18. Separación del aceite esencial obtenido por destilación con vapor de agua.....	70
19. Diagrama de flujo cualitativo para la extracción de aceite esencial de <i>Eucalyptus globulus s.p.</i> .....	71
20. Diagrama de pareto estandarizada para la extracción de aceite esencial de eucalipto. ....	76

21. Gráfica de efectos principales para la extracción .....	78
22. Diagrama respuesta estimada. Min = 40,0.....	79
23. Correlación entre la variable independiente: tamaño de hoja y rendimiento de aceite esencial .....	81
24. Correlación entre la variable independiente: tiempo de secado (días) y el rendimiento de aceite esencial .....	83
25. Correlación entre la variable independiente: humedad de la hoja (tiempo de secado) y el rendimiento de aceite esencial .....	85
26. Cromatograma del aceite esencial de <i>Eucalyptus globulus s.p.</i> .....	86

## ÍNDICE DE ANEXOS

1. Constancia de análisis de aceite esencial de eucalipto ( <i>Eucalyptus globulus s.p.</i> ) .....	112
2. Composición de aceite esencial en porcentajes .....	118
3. Cromatograma del aceite esencial de eucalipto ( <i>Eucalyptus globulus s.p.</i> ).....	119
4. Cromatograma con valores en los picos, del aceite esencial de eucalipto ( <i>Eucalyptus glóbulus s.p.</i> ) .....	120
5. Norma técnica peruana NTP 319.077. Preparación de la muestra para análisis.....	121
6. Norma técnica peruana NTP 319.086. Determinación del contenido de cineol (eucalipto).....	127
7. Norma técnica peruana NTP-ISO 279. Determinación de la densidad relativa a 20°C. Método de referencia .....	138
8. Norma técnica peruana NTP-ISO 280. Determinación del índice de refracción.....	148
9. Panel fotográfico. ....	157

## RESUMEN

El presente trabajo tiene como principal objetivo desarrollar un modelo matemático que nos permita predecir con un alto grado de certeza el rendimiento en la extracción de aceites esenciales del eucalipto (*Eucalyptus globulus s.p.*). Se utilizó las hojas de eucalipto jóvenes entre 10 a 12 años con un tamaño promedio de 15 metros de altura, procedentes de la ciudad de Puno. Las hojas fueron procesadas de acuerdo al diseño experimental establecido de  $2^3$ , a dos niveles y dos factores; teniendo como variables del estudio: tamaños de hojas,  $X_1$  (partidos y enteros), tiempo de secado,  $X_2$  (1 y 10 días) y tiempo de extracción,  $X_3$  (30 y 50 minutos). Los experimentos se desarrollaron en un equipo modular de extracción de aceites esenciales en la Escuela Profesional de Ingeniería Química de la UNA Puno, con dos replicas por cada prueba. Los resultados del experimento se trataron en los software Statgraphic V-5.1 y SPSS V-22, obteniéndose como resultado para el modelo matemático los valores óptimos de extracción: tamaño de hojas partidas, tiempo de secado de 10 días y tiempo de extracción de 50 minutos. La composición química del aceite esencial se determinó mediante el cromatografo de gases Agilent 6890N acoplado a un espectrofotómetro de masa, dando como resultado 63,96% en contenido de cineol; los análisis fisicoquímicos no indican que los parámetros de densidad, densidad relativa e índice de refracción, si se encuentran dentro de los rangos establecidos por las normas técnicas peruanas (NTP) dados por el Indecopi.

**Palabras clave:** Aceite esencial, Cineol, *Eucalyptus globulus s.p.*, Equipo modular de extracción, Modelo matemático.

## ABSTRACT

The main objective of this work is to develop a mathematical model that allows us to predict with a high degree of certainty the performance in the extraction of essential oils of eucalyptus (*Eucalyptus globulus s.p.*). Young eucalyptus leaves between 10 to 12 years old with an average size of 15 meters high, from the city of Puno, were used. The leaves were processed according to the established experimental design of  $2^3$ , at two levels and two factors; having as variables of the study: leaf sizes,  $X_1$  (matches and wholes), drying time,  $X_2$  (1 and 10 days) and extraction time,  $X_3$  (30 and 50 minutes). The experiments were developed in a modular equipment of extraction of essential oils in the Professional School of Chemical Engineering of the UNA Puno, with two replicas for each test. The results of the experiment were treated in the software Statgraphic V-5.1 and SPSS V-22, obtaining as a result for the mathematical model the optimal values of extraction: size of split leaves, drying time of 10 days and extraction time of 50 minutes. The chemical composition of the essential oil was determined by Agilent 6890N gas chromatograph coupled to a mass spectrophotometer, resulting in 63.96% in cineol content; the physicochemical analysis does not indicate that the parameters of density, relative density and refractive index, if they are within the ranges established by the Peruvian technical standards (NTP) given by the Indecopi.

**Keywords:** Cineol, essential oil, *Eucalyptus globulus s.p.*, Mathematical model, Extraction of modular equipment,

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años el estudio de los aceites esenciales ha llegado a tener una gran importancia, debido a las aplicaciones que se le da en los diversos campos, convirtiéndose así en un área de investigación para el desarrollo de las diferentes regiones; además, la gran acogida que tienen dentro de la industria farmacéutica, cosmética y de alimentos, hacen más atractivos aún, el estudio de los aceites esenciales y la búsqueda de métodos de extracción más eficientes.

Los aceites esenciales, son fracciones líquidas volátiles, generalmente mezclas homogéneas de hasta 100 compuestos químicos orgánicos, provenientes de la familia química de los terpenoides. Generan diversos aromas agradables y perceptibles al ser humano. Bajo condiciones de temperatura ambiental, son líquidos poco densos pero con mayor viscosidad que el agua, son metabolitos secundarios sintetizados por las plantas, producidos al momento de activarse mecanismos de defensa como respuesta a factores ambientales y ecológicos, estos presentan roles de defensa, atracción de polinizadores, entre otros. (Rodríguez, Alcaraz y Real, 2012).

En la clasificación de los aceites esenciales, realizada Rodríguez *et. al* (2012) nos indican que se encuentran ampliamente distribuidos en diferentes partes de las plantas: en las hojas (albahaca, eucalipto, hierbabuena, mejorana, menta, romero, salvia, etc.), en las raíces (jengibre, sándalo, sazafrán, etc.), en el pericarpio del fruto (cítricos como limón, mandarina, naranja, etc.), en las semillas (anís, comino, etc.), en el tallo (canela, etc.), en las flores (lavanda,

manzanilla, tomillo, rosa, etc.) o en los frutos (perejil, pimienta, etc.). Se clasifican basándose en criterios como consistencia y origen.

El aceite de eucalipto es un aceite esencial puro que tiene usos prácticos e industriales, así como propiedades curativas. Proviene del árbol perenne de rápido crecimiento nativo de Australia, con la producción global de aceite de eucalipto proveniente principalmente del *Eucalyptus globulus* o "Goma Azul". El aceite destilado proviene de las hojas secas o frescas de eucalipto – un líquido incoloro con un fuerte aroma amaderado y dulce. (Felton, Grimwade & Bosisto's, 2009).

El consumo de aceites esenciales en la industria es muy variado y se emplean como aromatizantes, ambientadores y artículos de limpieza. Además se emplean en la elaboración de jabones, champúes, licores, cremas, desodorantes y hasta alimentos. (Naturasen, 2006)

Según Martínez (1996), los aceites esenciales se pueden extraer de las muestras vegetales mediante varios métodos como son: expresión, destilación con vapor de agua, extracción con solventes volátiles, enfleurage y con fluidos supercríticos.

En el presente estudio se ha utilizado el método de **destilación por arrastre con vapor de agua**, en un equipo modular de extracción de aceite esencial, donde la muestra vegetal fresca y seca, enteras y cortadas fue encerrada en una cámara inerte y sometida a una corriente de vapor sobrecalentado, la esencia así arrastrada es posteriormente condensada, recolectada y separada de la fracción acuosa. Esta técnica, es muy utilizada a nivel industrial debido a

su alto rendimiento, la pureza del aceite obtenido y porque no requiere tecnología sofisticada.

Los resultados obtenidos del proceso de extracción de aceite esencial fueron analizados por el método de Cromatografía de Gases acoplada a un espectrofotómetro de masas, y el rendimiento se evaluó de acuerdo a los resultados del diseño experimental propuesto para el estudio.

Se siguieron las normas técnicas peruana para la determinación de los parámetros físicos del aceite esencial de eucalipto y determinar las características técnicas que deben poseer los aceites esenciales para fines comerciales.

## CAPÍTULO I

### PROBLEMÁTICA DE INVESTIGACIÓN

#### 1.1 PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

La Región Puno, cuenta con una amplia variedad de plantas medicinales entre ellas el eucalipto (en diversas variedades) de los cuales el de mayor existencia es el *Eucalyptus globulus s.p.*, según, Ramirez, Dapozzo, Montesinos, & Pacheco, (2011), el eucalipto (en sus diferentes variedades) en la región de Puno está siendo aprovechado solo como producto maderable, como madera rolliza y madera aserrada. No aprovechando el potencial que tienen en las hojas, como es el aceite esencial que se utiliza como expectorante y antiséptico en la industria farmacéutica.

La investigación propuesta, tiene carácter experimental debido a que el modelado matemático se desarrolló en base a resultados experimentales que obedecieron a un diseño experimental con una posterior validación de los resultados siendo así de carácter predictivo.

### 1.1.1 Formulación del problema

Por lo anteriormente expuesto se plantea las siguientes interrogantes:

### 1.1.2 Problema general

¿Cuál es el modelo matemático que represente en forma adecuada el proceso de extracción de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus s.p.*), por destilación con vapor de agua, el cual nos permita realizar predicciones de rendimiento de aceite esencial con alto grado de certeza?

### 1.1.3 Problemas específicos

- ¿Las variables seleccionadas para la formulación del modelo matemático del proceso de extracción de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus s.p.*) por destilación con vapor, nos permitirá predecir el rendimiento de aceite esencial con alto grado de certeza?
- ¿El contenido de cineol (eucaliptol) en el aceite esencial de Eucalipto (*Eucalyptus globulus s.p.*) obtenido por destilación con vapor de agua, está dentro del rango establecido por las Normas Técnicas Peruanas dadas por el Indecopi?
- ¿Las características físicas del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus s.p.*) obtenido por destilación con vapor de agua, como: densidad y densidad relativa e índice de refracción; se encontrarán dentro del rango establecido por las Normas

Técnicas Peruanas y exigidos dados por el Indecopi para los aceites esenciales comerciales?

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo general

Formular un Modelo Matemático para la extracción de aceite Esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus s.p.*) por destilación con vapor de agua, el cual nos prediga con un alto grado de certeza el rendimiento de aceite esencial.

### 1.2.2 Objetivos específicos.

- Determinar si las variables seleccionadas, estado de división de las hojas, tiempo de secado de las hojas y tiempo de extracción, para la formulación del modelo matemático del procesos de extracción de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus s.p.*) por destilación con vapor de agua, nos permite predecir el rendimiento de aceite esencial con alto grado de certeza.
- Determinar si el contenido de 1,8-cineol (eucaliptol) presente en el aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus s.p.*) obtenido por destilación con vapor de agua, se encuentra dentro del rango establecido en los requerimientos que exige las Normas Técnicas Peruanas dadas por el Indecopi para los aceites esenciales comerciales.
- Determinar si las propiedades físicas del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus s.p.*) obtenido por destilación con

vapor de agua, como: densidad, densidad relativa, e, índice de refracción cumplen con lo establecido por las Normas Técnicas Peruanas dadas por el Indecopi para los aceites esenciales comerciales.

### 1.3 HIPÓTESIS

#### 1.3.1 Hipótesis general.

El modelo matemático desarrollado para la extracción de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus s.p.*) por destilación con vapor de agua, es el adecuado y nos permite realizar predicciones del rendimiento de aceite esencial con un alto grado de certeza.

#### 1.3.2 Hipótesis específicas.

- Las variables seleccionadas; estado de división de las hojas, tiempo de secado de las hojas y tiempo de extracción, para la formulación del modelo matemático del proceso de extracción de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus s.p.*) por destilación con vapor de agua, son las adecuadas para la predicción del rendimiento de aceite esencial con alto grado de certeza.
- El contenido de cineol (eucaliptol) presente en el aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus s.p.*) obtenido por destilación con vapor de agua, es del 63,96%, el cual se encuentra dentro del rango establecido por las Normas Técnicas peruanas dadas por el Indecopi para los aceites esenciales comerciales.

- Las características físicas del aceite esencial de Eucalipto (*Eucalyptus globulus* s.p.) como: densidad, densidad relativa, e índice de refracción; se encuentran dentro del rango establecido en las Normas Técnicas Peruanas dadas por el Indecopi para los aceites esenciales comerciales.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 ANTECEDENTES

Mu'azu. *et al.* (2012), desarrollaron un modelo matemático para predecir la extracción del aceite esencial de las hojas de eucalipto (*Eucalyptus Citriodora*); utilizando la técnica de la destilación con vapor de agua y desarrollado mediante un análisis factorial. Los factores estudiados fueron: tiempo de extracción, cantidad de calor suministrado y la condición de las hojas (seco y húmedo). De los resultados experimentales, demostraron que el mejor rendimiento de aceite esencial fue de 2,66 % para las siguientes condiciones: tiempo de extracción de 80 minutos, cantidad de calor suministrado de 6,76 kJ/s y  $2 \times 10^{-3}$  m<sup>3</sup> de hojas húmedas.

El diseño experimental utilizado para el estudio fue el diseño factorial a dos niveles y 4 factores ( $2^4$ ), cuyas variables de estudio fueron: tiempo de extracción,  $X_1$ ; cantidad de calor,  $X_2$ ; volumen de agua,  $X_3$  y condición de las hojas,  $X_4$ ; el modelo matemático utilizado para este trabajo fue:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 A + \beta_2 B + \beta_3 C + \beta_4 D + \beta_5 AB + \beta_6 AC + \beta_7 AD + \beta_8 BC + \beta_9 BD \\ + \beta_{10} CD + \beta_{11} ABC + \beta_{12} ABD + \beta_{13} ACD + \beta_{14} BCD + \beta_{15} ABCD$$

Dónde:  $Y$  = respuesta predicha (rendimiento de aceite).

$\beta_0$  = Constante del modelo

$\beta_1, \beta_2, \beta_3, \dots, \beta_{15}$  = Coeficientes asociados a las variables A, B, C y D.

Moreno *et. al.* (2010). Estudiaron el efecto de la humedad de la hoja del eucalipto y el tiempo de extracción sobre el rendimiento de aceite esencial y el costo de producción. Tuvieron en cuenta parámetros como la temperatura de vapor, la presión de extracción, la porosidad de lecho, flujo de vapor y temperatura de condensación: utilizando la extracción por arrastre de vapor en un equipo de arrastre por vapor no convencional.

Además, para evaluar el efecto de la humedad de las hojas y el tiempo de extracción y el costo, fue utilizado un diseño compuesto central rotacional de  $2^3 + 4$  puntos axiales + 3 repeticiones en el punto central. Variando su tiempo de extracción entre 20 a 140 minutos, contándose desde el instante en el que caía la primera gota en la pera de decantación. La humedad de las hojas colocadas para la extracción varió desde 12% a 40%. Y operando con tiempos de extracción entre 98 y 126 minutos y con hojas entre 25 y 30% de humedad se obtuvieron rendimientos de 2,11 mL de aceite esencial por cada 100 g de hojas. Estas condiciones generan un costo de producción promedio de 0,57 Nuevos soles por mL de aceite esencial.

Utilizando Statistica 6,0 obtuvieron por regresión los siguientes modelos para las variables Rendimiento (R) y costo(C).

$$R = 1,03291 + 0,02207t - 0,00006t^2 - 0,00021Ht$$

$$C = 1,75249 - 0,06109\%H + 0,00064\%H^2 - 0,00493t + 0,00002t^2 \\ + 0,00010\%H * t$$

Dónde:  $R$  = rendimiento

$C$  = Costo

$H$  = Humedad de las hojas

$t$  = tiempo de extracción

Silou *et al.* (2009). Con el objetivo de optimizar la extracción del aceite esencial de *Eucalyptus citriodora*, establecieron un modelo para el proceso de extracción determinándose como variables respuesta el rendimiento de aceite esencial y el contenido de citronela. El modelo utilizado para este proceso fue el de diseño factorial completo. Este modelo de primer grado está en función a las variables seleccionadas que son: tres variables para la destilación con vapor, estado de división de las hojas ( $X_1$ ) enteras y picadas, duración de la extracción ( $X_2$ ) 90 y 30 minutos y potencia de calentamiento ( $X_3$ ) 450 y 360 Watt. Cuatro variables para la destilación con agua, estado de división de las hojas ( $X_1$ ), duración de la extracción ( $X_2$ ), relación de materia y cantidad de agua ( $X_3$ ) 0,2 y 0,1; y potencia de calentamiento ( $X_4$ ). El rendimiento de aceite esencial utilizando destilación con vapor fue de 2,3% en peso con un contenido de citronela de 88,26% en promedio; y el rendimiento obtenido por destilación con agua fue de 3,2% con un contenido de citronela de 83,11% en promedio.

El modelo utilizado para la destilación con vapor fue el siguiente:

$$y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_{12}X_1X_2 + a_{13}X_1X_3 + a_{23}X_2X_3 + a_{123}X_1X_2X_3$$

El modelo matemático que representa el rendimiento de aceite con destilación

con agua es:

$$\begin{aligned}
 y = & a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_4X_4 + a_{12}X_1X_2 + a_{13}X_1X_3 + a_{14}X_1X_4 + a_{23}X_2X_3 \\
 & + a_{24}X_2X_4 + a_{34}X_3X_4 + a_{123}X_1X_2X_3 + a_{124}X_1X_2X_4 + a_{134}X_1X_3X_4 \\
 & + a_{234}X_2X_3X_4 + a_{1234}X_1X_2X_3X_4
 \end{aligned}$$

Dónde:  $a_{ij}$  representa las interacciones entre las diferentes variables.

Cassel *et al.* (2009). Evaluaron un modelo matemático para predecir la recuperación de aceite esencial por destilación con vapor, utilizando plantas como el romero (*Rosmarinus officinalis* L.), albahaca (*Ocimum basilicum* L.) y lavanda (*Lavandula dentata* L.). Realizaron trabajos para obtener datos experimentales y hacer una comparación con el modelo matemático utilizado en simulación de extracción de aceites esenciales por destilación con vapor. La extracción está basada en plato único (una etapa). Este modelo solo requiere de un parámetro ajustable; como es el coeficiente de difusión efectivo, ( $D$ ) para predecir el rendimiento de aceite esencial. El modelo matemático, está basado en la Ley de Fick para una dimensión y en estado estacionario. Obteniéndose un rendimiento máximo de aceite esencial, para el romero, albahaca y lavanda de 0,51 %, 0,38 % y 0,32 % ( $W_{aceite}/W_{material}$ ) respectivamente. El modelo utilizado fue:

$$\frac{\partial^2 C_A}{\partial x^2} = \frac{1}{D} \frac{\partial C_A}{\partial t} \quad \forall \quad 0 \leq x \leq L$$

Dónde:  $C_A$  = Concentración del aceite esencial.

$D$  = Coeficiente de difusión del aceite en el vapor,  $m^2/s$ .

$t$  = Tiempo de extracción, s.

$x$  = Altura del material en el lecho ( $L$ ), m.

Sovová & Aleksovski (2006). Aplicaron su modelado al caso de las hojas del tomillo rojo (*Thymus serpyllum L.*). Se consideró que: no existe exudación; el aceite está disponible en la superficie de la matriz y se evapora instantáneamente conforme la temperatura aumenta. Existe una resistencia a esta vaporización, debido a la difusión por convección del aceite desde la superficie al seno del agua circundante. El equilibrio entre el aceite superficial y el vaporizado se estableció mediante una constante de partición, independiente de la composición de las fases, de la temperatura y de la difusión externa. Este modelado posee algunas limitaciones en su enunciado: es aplicable sólo cuando la matriz herbácea está molida, es decir, cuando deliberadamente, se permite que todo el aceite esencial se encuentre libre en la superficie y disponible; la materia prima está sumergida en agua, que se va calentando hasta alcanzar su punto de ebullición, lo cual es válido para un determinado tipo de hidrodestilación, la constante de partición carece de una relación matemática vinculada con la termodinámica, es obtenida por la minimización de los errores para correlacionar el modelado a los datos experimentales, obviándose su relación con respecto a las propiedades físicas (presión de vapor) del aceite esencial o a la composición en la interfase formada. El resultado indicado de aceite esencial fue de 11,1 g/kg de hojas secas de tomillo para un tamaño de partícula entre 0,18 – 0,35 mm y un tiempo de 60 minutos. El modelo matemático para determinar el rendimiento de aceite esencial en el colector y separador, es:

$$Y = \frac{Q}{N} \int_0^t (x_v - x_s) dt$$

Dónde: Y = Rendimiento de aceite esencial, g (aceite)/kg (materia)

$Q$  = Velocidad de flujo de vapor, kg/s

$N$  = Materia vegetal en el alambique, kg

$x_v$  = Concentración de la masa en fase vapor, g (aceite)/kg (materia)

$x_s$  = Concentración de masa en el flujo del alambique al separador, g  
(aceite)/kg (agua)

$t$  = Tiempo de destilación, s

Cassel & Vargas (2006). Realizaron un trabajo para optimizar y modelar el rendimiento del proceso de extracción del aceite esencial de Citronela (*Cymbopogon winterianus*), obtenido por destilación por arrastre de vapor a partir de las hojas y ramas. Las variables de estudio evaluadas en este estudio fueron el tiempo de extracción y el estado de la materia prima (seca o natural). El rendimiento de aceite esencial fue calculado a partir de la relación entre la masa del aceite y la masa de la planta aromática usada en la extracción. Las condiciones experimentales para el rendimiento máximo, 0,942%, fueron las siguientes: tiempo de extracción, 4 horas; estado, planta natural; donde los resultados obtenidos a partir del estudio estadístico indicaron que la variable que más influencia el rendimiento de aceite esencial es el estado de la planta. El modelado propuesto para describir la transferencia de masa del proceso de extracción está centrado en una partícula en forma de placa plana.

$$\frac{\partial^2 C_A}{\partial x^2} = \frac{1}{D} \frac{\partial C_A}{\partial t} \quad \forall \quad 0 \leq x \leq L$$

Dónde:  $C_A$  = Concentración del aceite esencial

$D$  = Coeficiente de difusividad, m<sup>2</sup>/s

$t$  = Tiempo de extracción, s

$x$  = altura del material en el lecho (L), m

Rezzoug *et al.* (2005), Utilizaron la metodología de superficie de respuesta para evaluar los parámetros del proceso de extracción con respecto al rendimiento de extracción de aceite esencial de romero. Este proceso implicó someter a las hojas de romero durante un corto periodo de tiempo a una presión vapor entre 50 y 550 kPa, y luego a una presión de vacío de 50 kPa. Los parámetros estudiados para este trabajo fueron la presión del proceso, tiempo de proceso y contenido de humedad de las hojas antes del tratamiento de extracción de aceites esenciales. La condiciones óptimas del rendimiento global de la extracción de aceite esencial obtenido a partir de análisis de superficie de respuesta son los siguientes: nivel de presión: 410 kPa, contenido de humedad: 0,40 g H<sub>2</sub>O / g de materia seca, el tiempo de procesamiento: es de 15,8 min. En estas condiciones, la extracción experimental de rendimiento de aceite esencial fue cercano a la calculada a partir de los valores previstos por un modelo polinomial. Los resultados mostraron que el tratamiento de la presión y el tiempo de procesamiento fueron los parámetros más significativos, tanto en la extracción global de rendimiento y rendimiento de la extracción de los diferentes compuestos de aceites esenciales.

Benyoussef *et al.*, (2002). Aplicaron su modelado al caso de los frutos del cilantro (*Coriandrum sativum L.*). Se consideró que: la exudación es una desorción irreversible del aceite esencial en el agua penetrante en la matriz herbácea, con una velocidad de primer orden con respecto al aceite retenido. La vaporización del aceite liberado se asumió como instantánea, debido al equilibrio de fases formado, pero la relación era explícita y en función de un

término constante y empírico. La difusión intrapartícula del aceite en el agua penetrante fue asumida como la controlante, despreciándose la difusión externa por convección. Este modelado posee algunas limitaciones en su enunciado: sólo es aplicable a frutos (geometría esferoide), donde el aceite esencial está en el interior de la matriz herbácea; la difusión intrapartícula del aceite en el vapor penetrante se aplica sólo cuando la materia prima está molida, como fue el caso, pero a nivel industrial, los frutos no suelen ser molidos y no hay evidencias de que el agua penetre en la matriz herbácea; el término empírico para relacionar el equilibrio entre el aceite en la superficie de la matriz y el del vapor es definido como un coeficiente de reparto, independiente de las volatilidades y de la solubilidad del aceite en el vapor, y sin ninguna relación termodinámica que lo respalde; lo cual es inconsistente, porque el aceite esencial se vaporiza en determinada proporción, de acuerdo a principios termodinámicos conocidos.

Palomino (2001). Ha desarrollado un nuevo modelo para la hidroextracción de aceites esenciales, utilizando vapor saturado como extractante. La materia prima utilizada en este proceso fue la *Minthostachys mollis* y la *Minthostachys setosa* (muña), tallos tiernos y hojas en buen estado. Y el aceite esencial fue obtenido mediante la acción del vapor saturado en el extractor para lo cual se ha utilizado 3 litros de agua en el reboiler. Como premisa fundamental del modelamiento asume que el proceso guarda analogía con la operación de una columna empacada con generación de producto y pérdida de actividad catalítica de manera irreversible. Los rendimientos globales observados se consideraron altos, pues se lograron recuperaciones de hasta el 98% de aceite disponible.

El mecanismo de extracción de los aceites esenciales se interpreta aquí que se debe al efecto combinado del fenómeno de transporte intrapartícula por difusión molecular del vapor caliente, el rompimiento de las paredes celulares de los sacos que guardan los aceites esenciales junto con el vapor caliente hacia la boca del poro. El modelo desarrollado para estimar la concentración del aceite que sale de la columna de extracción en función del tiempo, es:

$$C_{ex} = \frac{(1 - \varepsilon) H \varepsilon}{\varepsilon} \frac{H \varepsilon}{u} k_1 S_0 \mathfrak{J} e^{-k_1 t}$$

Dónde:  $C_{ex}$  = Concentración final del aceite extraído, g/mL.

$\varepsilon$  = Fracción libre del lecho, adim.

$u$  = Velocidad lineal, m/min.

$k_1$  = coeficiente global de transferencia de masa,  $\text{min}^{-1}$ .

$\mathfrak{J}$  = Factor de efectividad de extracción, adim.

$t$  = tiempo de extracción, min.

Palomino y Cerpa (1999). Aplicaron su modelado al caso de las hojas de la muña (*Minthostachys Setosa L.*). Se consideró que: la exudación es una difusión intrapartícula del aceite esencial en el vapor penetrante de la matriz herbácea. La vaporización del aceite liberado se asumió como un fenómeno cinético, representado por una velocidad de primer orden con respecto a la concentración en el equilibrio del aceite vaporizado en el vapor de agua. Se relacionó la vaporización con la difusión intrapartícula, a través de un factor de efectividad de extracción, análogo al módulo de Thiele, usado para la reacción heterogénea en un sólido poroso. Se despreció la difusión externa por convección y sólo los procesos internos controlaban el proceso. Este modelado posee algunas limitaciones en su fundamento: el aceite esencial se

encuentra mayoritariamente en los tricomas glandulares superficiales y no en el interior de las hojas, como fue asumido; la vaporización instantánea depende del equilibrio de las fases formadas y no es un término arbitrario o empírico. Además, la aplicación de un factor de efectividad es inconsistente físicamente, debido a que el soluto es liberado desde la superficie de la matriz hacia el seno del vapor, así como el módulo de Thiele no puede ser aplicado cuando el soluto penetra en el sólido.

Existen, por lo menos, tres fenómenos controlantes del proceso: El primero, **una vaporización instantánea del aceite esencial**, en la interfase de la película formada en la superficie del material vegetal y el vapor circundante. El segundo, **la difusión del aceite vaporizado al seno de la corriente del vapor circundante**, debido a la convección que ejerce el vapor en el lecho, y su inmediato transporte al exterior del equipo. Y el tercero, **una exudación (o excreción) del aceite esencial** desde el interior de los tricomas glandulares, a través de su cutícula, a la película superficial del material vegetal

## 2.2 MARCO TEORICO

### 2.2.1 Características botánicas del eucalipto

El eucalipto es un árbol de crecimiento rápido, que puede llegar a una altura de unos 20 metros, en un periodo de 8 años y un máximo de 70 metros en su periodo adulto, por lo que es considerado una de la especie más alta del mundo. De tronco erguido, está recubierto de una corteza plateada, a veces gris ceniza y en algunas ocasiones, blanquecina. La madera, blanca o rojiza, es dura y muy resistente a la putrefacción. Las hojas coriáceas, de un gris azulado verdoso, son

redondas cuando el árbol es joven, pero rápidamente adquieren una forma ovalada acuminada y carnosa; pueden llegar hasta unos 30 cm de largo. Son características sus flores solitarias sin pedúnculos, posicionadas en las axilas de las hojas, con amplias, arrugadas y espesas tapas. Cuando las flores se secan, la tapa de la cápsula se desprende, para dejar paso a un manojito de estambres blanquecinos o rojizos. (Vogel, 2015).



**Figura 1.** Árbol de eucalipto  
(*Eucalyptus globulus* s.p.)

#### 2.2.1.1 Historia.

Según, Vogel (2015). El nombre compuesto de la especie deriva del griego, “eu” que significa "bueno" o "bonito" y “kaliptos” que

quiere decir "*escondido*". El cáliz forma una dura cápsula que se desprende de su parte superior dando lugar a la floración. El adjetivo latín, *glóbulos* es un diminutivo de globos "*bola*" que significa precisamente "*pequeñas bolitas*", por el aspecto de sus frutos. En inglés, se le denomina "*fever tree*" árbol de la fiebre, por su utilidad beneficiosa en las zonas pantanosas, donde se reproducen las larvas de los anófeles, los mosquitos del paludismo.

Debido a su rápido crecimiento, el eucalipto tiene una gran necesidad de agua. Se plantaron durante los siglos pasados, enormes cantidades de eucaliptos en regiones pantanosas del Norte de Australia y en zonas del Mediterráneo, que absorbieron grandes extensiones de territorios, reduciendo el espacio vital del mosquito anofeles, transmisor del paludismo y malaria. (Vogel, 2015)

#### **2.2.1.2 Hábitat**

El eucalipto es originario de Australia y de Tasmania. Actualmente, crece en todas las regiones de clima subtropical. (Vogel, 2015).

#### **2.2.1.3 Usos**

Laboratorio Bioforce utiliza el aceite esencial de las hojas frescas y la extremidad de las ramas. Se obtiene por destilación al vapor de agua, rectificando después para eliminar los aldehídos que

tienen un efecto irritante en las vías respiratorias. El aceite esencial de eucalipto proviene en gran parte de Portugal y España. El aceite esencial del eucalipto proveniente de Australia, se obtiene a partir del Eucalipto *smithii* R.T.Bak. o el *E. fructicetorum* F.Von Muell. Estos aceites esenciales son considerados igualmente como oficinales. Las hojas cortadas pueden ser empleadas en infusiones. (Vogel, 2015).

El *Eucalyptus Glóbulus Labill* procedente de Australia, fue introducida en Perú entre los años de 1860–1870, mayormente en los valles interandinos de la sierra peruana, y específicamente en el Valle del Mantaro ya se encontraba en el año 1876, esta especie ha logrado aclimatarse perfectamente a las condiciones edáficas y medioambientales de la sierra, costa e incluso la selva alta, pese a que en su Silvicultura no se ha utilizado las técnicas más apropiadas de propagación. Tal es así que se han establecido las plantaciones sin definir el uso final o específico, en suelos pobres, degradados, efímeros y marginales sobre todo en terrenos comunales, el eucalipto viene reemplazando poco a poco en un 95 % a las especies arbóreas nativas y endémicas de la biodiversidad de la flora peruana, Los principales beneficiarios directos e indirectos de esta especie son los campesinos y la población urbano marginal de las ciudades.

## 2.2.2 Taxonomía del *Eucalyptus globulus*.

### 2.2.2.1 Familia Myrtaceae: Género *Eucalyptus*

Entre las diversas plantas aromáticas, la familia Myrtaceae comprende 130 géneros que incluyen 2900 especies de árboles o arbustos perennifolios, con follaje rico en tricomas glandulares, distribuidos en regiones tropicales y subtropicales, algunas de las cuales también están presentes en Europa.

El género *Eucalyptus*, originario de Australia y de Tasmania, está representado por más de 700 especies distribuidas en todo el mundo, y es ampliamente utilizado para la obtención de pasta de papel y madera. Las especies de *Eucalyptus* no sólo proporcionan biomasa sino que producen aceites esenciales utilizados en farmacia, perfumería e industria. (Brooker y Kleinig, 1983).

### 2.2.2.2 *Eucalyptus globulus*

*Eucalyptus globulus* Labill (*globulus*: redondeado, refiriéndose a la flor o al fruto (*E. gigantea* Desf.): “eucalipto blanco”, “eucalipto azul” es un árbol de follaje persistente, de gran porte, de 30 a 55 metros de altura, aunque en su hábitat original puede alcanzar los 90 metros. Se caracteriza por el tronco color ceniciento, con corteza lisa que se desprende fácilmente en láminas en los ejemplares adultos. La copa es piramidal, alta, los tallos jóvenes son tetraédricos, blanquecinos pubescentes. Las hojas son enteras, perennes y coriáceas, las juveniles son opuestas, sésiles,

de base cordada, de color gris-azulado, de 8 - 15 cm de longitud y 4 - 8 cm de ancho, mientras que las adultas son alternas, pecioladas, con la base cuneada, linear-lanceoladas, de 15 - 25 cm de longitud, con el ápice acuminado, de color verde oscuro, con la nerviación marcada. Las flores son axilares, solitarias o en grupos de 2 a 3, de hasta 3 cm de diámetro, con numerosos estambres de color blanco. El fruto es una cápsula campaniforme de color glauco y cubierta de un polvo blanquecino, de 1,4 – 2,4 cm de diámetro (Figura 2). La floración es en septiembre-octubre. La multiplicación es por semillas. (Cozzo, 1976; Winkler *et al.*, 1998).



**Figura 2.** *Eucalyptus globulus*: árbol, flores y frutos

### 2.2.3 Aceites esenciales

Rodríguez, Alcaraz y Real, (2012), citaron a Cadby *et.al.* (2002), quienes definen a los aceites esenciales como fracciones líquidas volátiles,

generalmente mezclas homogéneas de hasta 100 compuestos químicos orgánicos, provenientes de la familia química de los terpenoides. Generan diversos aromas agradables y perceptibles al ser humano. Bajo condiciones de temperatura ambiental, son líquidos poco densos pero con mayor viscosidad que el agua. Los aceites esenciales son metabolitos secundarios sintetizados por las plantas, producidos al momento de activarse mecanismos de defensa como respuesta a factores ambientales y ecológicos, estos presentan roles de defensa, atracción de polinizadores, entre otros. Son inflamables, no son tóxicos, aunque pueden provocar alergias en personas sensibles a determinados terpenoides. Son inocuos, mientras la dosis suministrada no supere los límites de toxicidad. Sufren degradación química en presencia de la luz solar, del aire, del calor, de ácidos y álcalis fuertes, generando oligómeros de naturaleza indeterminada. Son solubles en los disolventes orgánicos comunes. Casi inmiscibles en disolventes polares asociados (agua, amoníaco). Tienen propiedades de solvencia para los polímeros con anillos aromáticos presentes en su cadena. Son aceptados como sustancias seguras (GRAS) por la Agencia de Drogas y Alimentos de EE.UU. (FDA) (Code of Federal Regulations, 2003). Los aceites esenciales presentan diferentes tonalidades, en genotipos de albahaca presentan diferentes tonalidades en la gama del amarillo, hasta incoloros en algunos casos. La figura 3 el aceite esencial obtenido de las hojas de eucalipto.



**Figura 3.** Aceite esencial de eucalipto

Fuente: (<http://granvelada.com>)

Palomino (2001), indica que los aceites esenciales son sustancias conocidas también como sustancias volátiles, estos son sintetizados por algunas plantas y pueden estar presentes en hojas, tallos, raíces, raíces y frutos.

Una revisión sobre la estructura de los aceites esenciales revela que se trata de moléculas complejas que son típicas para cada planta. Los principales grupos conformantes de los aceites esenciales son los alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ciertos ácidos, organizados en estructuras más complejas de terpenos, sesquiterpenos y otros. (Gunther, 1948).

### **2.2.3.1 Clasificación de los aceites esenciales.**

Rodríguez *et al.* (2012), realizaron la clasificación de los aceites esenciales e indicaron que se encuentran ampliamente distribuidos en diferentes partes de las plantas: en las hojas (albahaca, eucalipto, hierbabuena, mejorana, menta, romero,

salvia, etc.), en las raíces (jengibre, sándalo, sasafrás, etc.), en el pericarpio del fruto (cítricos como limón, mandarina, naranja, etc.), en las semillas (anís, comino, etc.), en el tallo (canela, etc.), en las flores (lavanda, manzanilla, tomillo, rosa, etc.) o en los frutos (perejil, pimienta, etc.). Se clasifican basándose en criterios como consistencia y origen.

### **Clasificación por consistencia**

- Las esencias fluidas son líquidos volátiles a temperatura ambiente.
- Los bálsamos son de consistencia más espesa, poco volátiles y propensos a sufrir reacciones de polimerización, son ejemplos, el bálsamo de copaiba, el bálsamo del Perú, bálsamo de Tolú, Estoraque, etc.
- Las oleorresinas tienen el aroma de las plantas en forma concentrada y son típicamente líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas (caucho, gutapercha, chicle, oleorresina de paprika, de pimienta negra, de clavo, etc.).

### **Clasificación por su origen.**

- Los naturales se obtienen directamente de la planta y no sufren modificaciones físicas ni químicas posteriores, debido a su rendimiento tan bajo son muy costosos.
- Los artificiales se obtienen a través de procesos de enriquecimiento de la misma esencia con uno o varios de sus

componentes, por ejemplo, la mezcla de esencias de rosa, geranio y jazmín enriquecida con linalol.

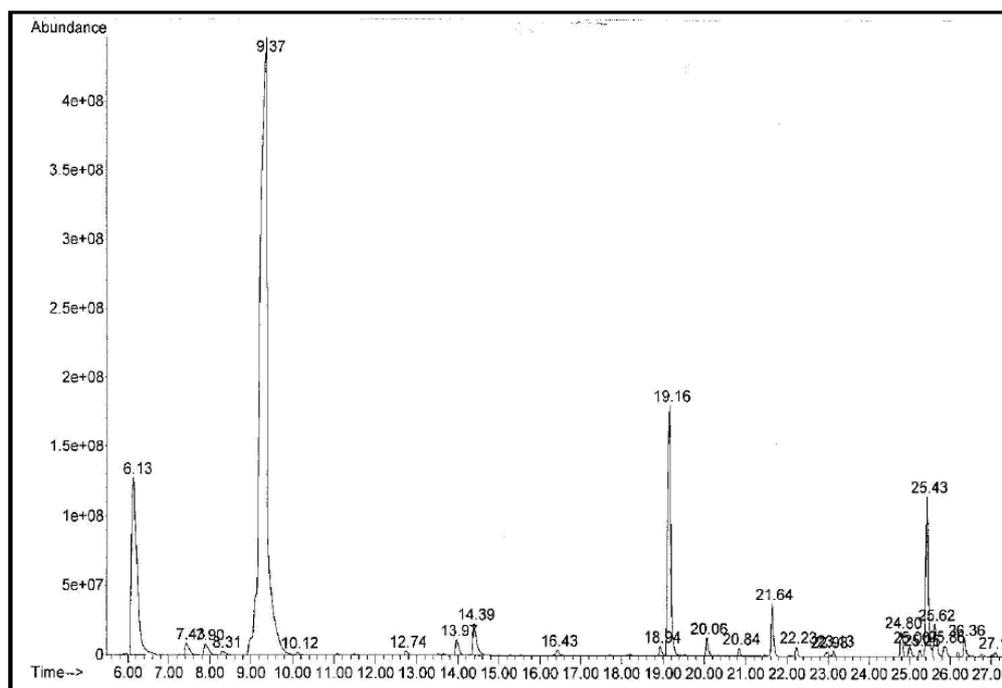
- Los sintéticos como su nombre lo indica son los producidos por procesos de síntesis química. Estos son más económicos y por lo tanto son mucho más utilizados como aromatizantes y saborizantes.

### 2.2.3.2 Aceite esencial de Eucalipto

El aceite de eucalipto es un aceite esencial puro que tiene usos prácticos e industriales, así como propiedades curativas. Proviene del árbol perenne de rápido crecimiento nativo de Australia, con la producción global de aceite de eucalipto proveniente principalmente del *Eucalyptus globulus* o "Goma Azul". El aceite destilado proviene de las hojas secas o frescas de eucalipto – un líquido incoloro con un fuerte aroma amaderado y dulce. Existen más de 700 especies diferentes de eucalipto en el mundo, de los cuales al menos 500 producen un tipo de aceite esencial (Felton Grimwade & Bosisto's, 2009).

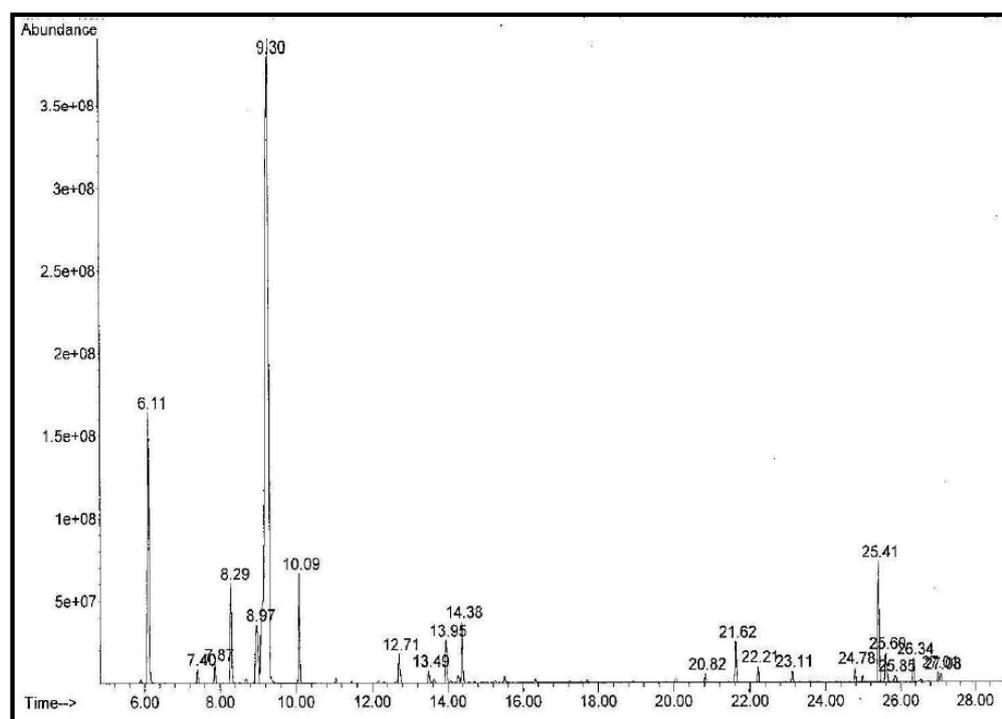
### 2.2.3.3 Química de los aceites esenciales

En los siguientes gráficos, se tiene una comparación de los cromatogramas de aceite esencial de hojas adultas y juveniles de *Eucalyptus glóbulus* por cromatografía gaseosa (CG) y por CG acoplada a un espectrómetro de masa (CG-MS). (Russo, 2013).



**Figura 4.** Cromatograma de hojas adultas de *Eucalyptus globulus*

Fuente: Russo, (2013)



**Figura 5.** Cromatograma de hojas juveniles de *Eucalyptus glóbulus*

Fuente: Russo, (2013)

**Cuadro 1.** Composición porcentual de terpenos en aceites esenciales de hojas adultas y juveniles de *Eucalyptus globulus*

	Terpeno.	IK	Hojas Adultas	Hojas Juveniles
1	$\alpha$ -pineno	939	11,00 $\pm$ 0,61	9,98 $\pm$ 0,41
2	$\beta$ -pineno	979	0,53 $\pm$ 0,02	0,85 $\pm$ 0,21
3	Mirceno	991	0,52 $\pm$ 0,12	0,91 $\pm$ 0,19
4	$\alpha$ -felandreno	1011	0,23 $\pm$ 0,11	3,78 $\pm$ 0,63
5	Limoneno	1034	0,08 $\pm$ 0,01	3,59 $\pm$ 0,09
6	1,8-cineol	1036	62,11 $\pm$ 1,03	52,26 $\pm$ 1,29
7	<i>cis</i> - $\beta$ -ocimeno	1046	0,19 $\pm$ 0,11	3,57 $\pm$ 0,59
8	<i>trans</i> -pinocarveol	1150	0,24 $\pm$ 0,17	1,43 $\pm$ 0,21
9	Pinocarvone	1174	0,09 $\pm$ 0,02	0,21 $\pm$ 0,09
10	1-terpinen-4-ol	1190	0,65 $\pm$ 0,14	1,21 $\pm$ 0,44
11	$\alpha$ -terpineol	1206	1,50 $\pm$ 0,22	1,81 $\pm$ 0,33
12	Acetato de $\alpha$ -terpinilo	1344	9,16 $\pm$ 0,93	-
13	Acetato de geranilo	1382	0,57 $\pm$ 0,20	-
14	$\alpha$ -gurjeneno	1408	0,17 $\pm$ 0,08	0,43 $\pm$ 0,11
15	Aromadendreno	1437	1,29 $\pm$ 0,42	1,57 $\pm$ 0,28
16	$\beta$ -humuleno	1455	1,01 $\pm$ 0,38	1,81 $\pm$ 0,27
17	Alloaromadendreno	1463	0,18 $\pm$ 0,06	0,86 $\pm$ 0,09
18	Globulol	1588	5,31 $\pm$ 0,44	4,11 $\pm$ 0,35
19	Epiglobulol	1627	0,69 $\pm$ 0,17	0,62 $\pm$ 0,11
	Terpenos oxigenados		80,32	61,65
	Terpenos no oxigenados		15,20	27,35
	Total de terpenos identificados		95,34	88,96
	Compuestos no identificados		4,66	11,04

Fuente: Russo, (2013)

Cada valor representa la media  $\pm$  desvío estándar para (n=4). IK: Índice de Kovats.

#### **2.2.3.4 Principales usos de los aceites esenciales.**

El consumo de aceites esenciales en la industria es muy variado y se emplean como aromatizantes, ambientadores y artículos de limpieza. Además se emplean en la elaboración de jabones, champúes, licores, cremas, desodorantes y hasta alimentos. (Naturasen, 2006).

Naturasen (2006) Nos muestra la gama de las industrias que utilizan los aceites esenciales o sus subproductos es amplia y variada:

##### **Industria alimentaria y de licores**

La industria alimentaria es una de las que más aceites esenciales requiere. Se encuentran en productos como aceites, vinagres, encurtidos y embutidos. En la confitería se utilizan para saborizar y aromatizar productos como caramelos y chocolates.

También se utilizan en la preparación de bebidas alcohólicas y no alcohólicas, en refrescos y helados. Otro de sus usos es como aditivos naturales: saborizantes, colorantes, antioxidantes o conservantes.

##### **Industria farmacéutica y dental**

Esta es una de las ramas de la industria que más aceites esenciales emplea. Históricamente la mayoría de los medicamentos han tenido origen en los compuestos de las

plantas. Además, se utilizan en la fabricación de neutralizantes del sabor desagradable de muchos medicamentos.

De otro lado, y gracias a su actividad antiséptica, los aceites esenciales son muy usados para problemas de las vías respiratorias; para infecciones urinarias; infecciones de la epidermis; en antisépticos bucales y en dentífricos. Además, tienen muchas propiedades saludables como las de ser antiinflamatorios, analgésicos, antibacterianos, antiespasmódicos, entre otras.

En términos generales los aceites esenciales se emplean contra enfermedades y en aromaterapia, se utilizan en la producción de cremas dentales, articular de tocador, de baño, y otros.

### **Industria cosmética y de perfumería**

En productos cosméticos, los aceites esenciales no sólo se emplean para proporcionar aroma, sino que se aprovechan sus propiedades aromaterapéuticas. En esta industria también se aprovecha el efecto antiséptico de los aceites esenciales, donde se ha llegado a producir desodorantes elaborados exclusivamente con estos productos naturales.

De otro lado, los aceites esenciales fueron los pilares de la perfumería hasta comienzos del siglo XX, cuando gracias a la química moderna se sintetizaron la mayoría de las fragancias. Se estima que en la actualidad, el 85% de las sustancias aromatizantes empleadas en la industria del perfume y los

cosméticos son productos de síntesis en los laboratorios y se emplean en jabones, ambientadores y productos de baño. El 15% restante corresponde a productos naturales o aceites vegetales, extraídos de las plantas aromáticas.

### **Industria del jabón y de los ambientadores**

En la industria jabonera fina, el aroma de los jabones es una mezcla de fragancias y aceites esenciales de flores, maderas y plantas aromáticas. En la industria de productos de aseo se utilizan la limonaria y la lavanda para perfumar y desinfectar

### **Industria fitosanitaria**

Los aceites y los hidrolatos obtenidos durante el proceso de extracción se utilizan para repeler y controlar plagas, con ellos se preparan herbicidas, insecticidas, fungicidas, nematocidas, acaricidas, desodorizantes, desinfectantes

### **Otros usos**

En veterinaria, en la industria del motor, en la elaboración de adhesivos, artículos quirúrgicos, compuestos a prueba de agua, artículos de goma para uso general, papelería, materiales de envoltura, y utensilios de cocina. En la industria del petróleo en cremas desodorantes, solventes de la nafta, aceites lubricantes, destilados especiales del petróleo y ceras. En la elaboración de polímeros, pinturas y barnices. En la industria del cuero,

materiales de tapicería, preparaciones de tintes y pigmentos en la industria textil.

#### 2.2.4 Métodos de extracción de aceites esenciales

Martínez, (1996), nos indica que los aceites esenciales se pueden extraer de las muestras vegetales mediante varios métodos como son: expresión, destilación con vapor de agua, extracción con solventes volátiles, enfleurage y con fluidos supercríticos.

En la **expresión** el material vegetal es exprimido para liberar el aceite y este es recolectado y filtrado. Este método es utilizado para el caso de las esencia de cítricos.

En la **destilación por arrastre con vapor de agua**, la muestra vegetal generalmente fresca y cortada en trozos pequeños, es encerrada en una cámara inerte y sometida a una corriente de vapor de agua sobrecalentado, la esencia así arrastrada es posteriormente condensada, recolectada y separada de la fracción acuosa. Esta técnica es muy utilizada especialmente para esencias fluidas, especialmente las utilizadas para perfumería. Se utiliza a nivel industrial debido a su alto rendimiento, la pureza del aceite obtenido y porque no requiere tecnología sofisticada.

En el método de **extracción con solventes volátiles**, la muestra seca y molida se pone en contacto con solventes tales como alcohol, cloroformo, etc. Estos solventes solubilizan la esencia pero también solubilizan y extraen otras sustancias tales como grasas y ceras, obteniéndose al final una esencia impura. Se utiliza a escala de

laboratorio pues a nivel industrial resulta costoso por el valor comercial de los solventes, porque se obtienen esencias impurificadas con otras sustancias, y además por el riesgo de explosión e incendio característicos de muchos solventes orgánicos volátiles.

En el método de **enflorado o enfleurage**, el material vegetal (generalmente flores) es puesto en contacto con un aceite vegetal. La esencia es solubilizada en el aceite vegetal que actúa como vehículo extractor. Se obtiene inicialmente una mezcla de aceite esencial y aceite vegetal la cual es separada posteriormente por otros medios fisico-químicos. Esta técnica es empleada para la obtención de esencias florales (rosa, jazmín, azahar, etc.), pero su bajo rendimiento y la difícil separación del aceite extractor la hacen costosa.

El método de **extracción con fluidos supercríticos**, es de desarrollo más reciente. El material vegetal cortado en trozos pequeños, licuado o molido, se empaca en una cámara de acero inoxidable y se hace circular a través de la muestra un líquido supercrítico (por ejemplo bióxido de carbono líquido), las esencias son así solubilizadas y arrastradas y el líquido supercrítico que actúa como solvente extractor y se elimina por descompresión progresiva hasta alcanzar la presión y temperatura ambiente, y finalmente se obtiene una esencia pura. Aunque presenta varias ventajas como rendimiento alto, es ecológicamente compatible, el solvente se elimina fácilmente e inclusive se puede reciclar, y las bajas temperaturas utilizadas para la extracción no cambian químicamente los componentes de la esencia, sin embargo el equipo requerido es

relativamente costoso, ya que se requieren bombas de alta presión y sistemas de extracción también resistentes a las altas presiones.

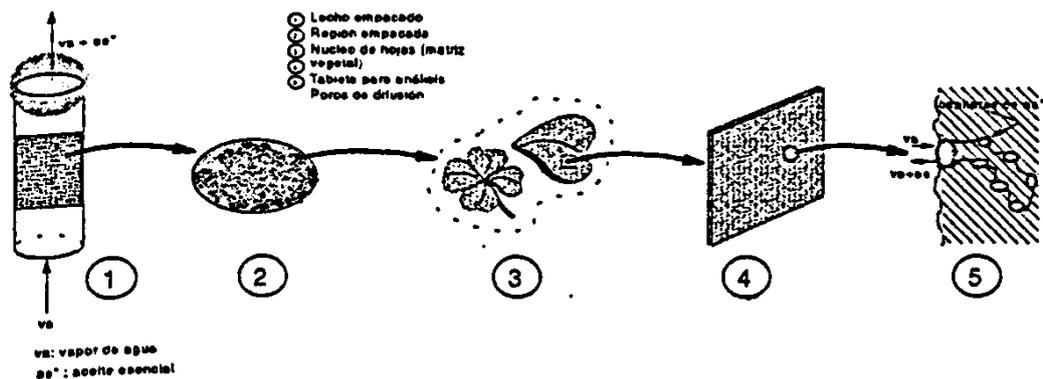
### **2.2.5 Mecanismo de extracción de aceites esenciales por arrastre de vapor.**

Palomino, (2001), interpreta un mecanismo de extracción de aceites esenciales el cual se debe al efecto combinado del fenómeno de transporte intrapartícula por difusión molecular del vapor caliente, el rompimiento de las paredes celulares de los sacos que guardan los aceites esenciales, la subsecuente evaporación de dichos aceites y la difusión de los aceites esenciales junto con el vapor caliente hacia la boca del poro.

Una interpretación plausible del fenómeno de evaporación de los aceites esenciales en el interior de la matriz vegetal (hojas, tallos, raíces, etc.), supone que la misma está gobernada por la volatilidad relativa del aceites esenciales, la temperatura y calidad del vapor, el tamaño de los poros, las tensiones locales en el interior de la matriz vegetal y el esfuerzo necesario para el rompimiento de los sacos capilares.

De todos estos factores tomamos como el más relevante la energía necesaria para el cambio de fase, donde la velocidad de evaporación de los aceites esenciales es favorecida por la disminución de la presión parcial debido a la presencia del vapor de agua. En suma habría la necesidad de contabilizar dos resistencias a vencer en esta parte del proceso, siendo estas la resistencia difusional y la resistencia a la vaporización del aceite esencial propiamente. A partir de esto, podemos

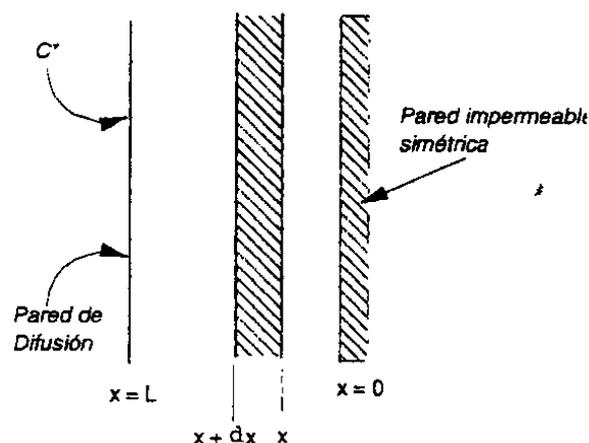
decir que la velocidad de transporte de los aceites esenciales desde las partes alejadas de la boca de poro será más lenta que desde las cercanías. Así mismo, los sacos que almacenan los aceites esenciales colapsarán al romperse y evaporarse los aceites esenciales. (Palomino, 2001).



**Figura 6.** Esquema simplificado para el análisis

Fuente: Palomino, (2001).

De esta manera el perfil de concentración entre la zona interna y externa de la matriz vegetal será cada vez menos pronunciado a medida que pasa el tiempo, hasta que eventualmente al agotarse los aceites esenciales, el perfil de concentración de los aceites esenciales en el interior de los poros se hará prácticamente plano. Por otra parte, la transferencia de los aceites esenciales hacia la corriente principal de vapor, se puede interpretar mediante la teoría de película, entre la concentración de boca de poro  $C$  y la corriente principal, cuya concentración en aceite esencial es  $C$ . (Palomino, 2001).



**Figura 7.** Modelo simplificado de tableta

Fuente: Palomino (2001).

La tercera resistencia a vencer viene a ser la referida a la convección de la fase fluida, puesto que el lecho está empacado. Esta resistencia puede ser caracterizada mediante parámetros o grupos adimensionales, tomando en cuenta la hidrodinámica del sistema. Por vía de simplificación tomamos aquí la asunción de que no hay caída de presión apreciable en el lecho. Es interesante observar por otro lado, que la columna se podría comportar como un stripper, si se cumple que los aceites esenciales no se vaporizan completamente sino que forman microgotas, las cuales no se asocian entre sí y son transportadas por el vapor caliente hasta el tope de la columna; nótese que los aceites esenciales y el agua no son miscibles y tienen diferentes densidades. (Palomino, 2001).

### 2.2.6 Equipos utilizados en la extracción de aceites esenciales

Rodríguez *et. al.* (2012). Indican que no se han realizado modificaciones significativas al proceso original y básico, por lo cual, las mayores

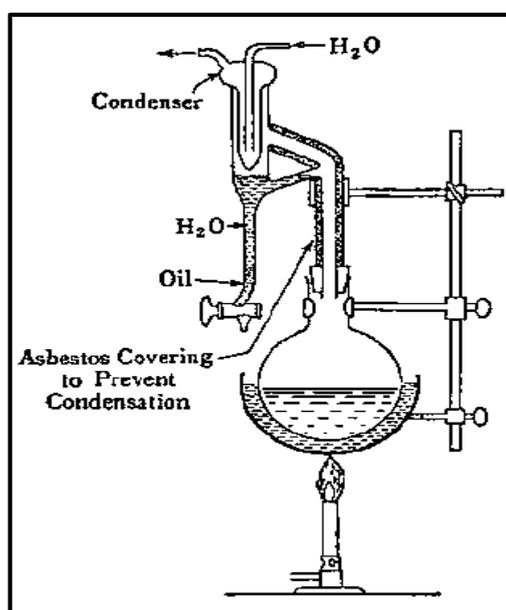
modificaciones en los diseños han sido de carácter mecánico, buscando ese mayor contacto y que la materia prima sea calentada lo más rápidamente posible. El mayor inconveniente de este proceso es su condición de semi-continuo, las modificaciones industriales recientes han sido enfocadas a establecer un proceso continuo. En el desarrollo de los procesos de extracción de aceites esenciales el CIBNOR ha realizado modificaciones y acondicionamiento a los equipos utilizados a nivel laboratorio.

#### **2.2.6.1 Escala de laboratorio**

Según Günther, (1948), el más conocido es el equipo Clevenger usado en muchos laboratorios y considerado en varios estándares internacionales como el más adecuado para la determinación del contenido total del aceite esencial de una planta aromática. Está compuesto de un matraz redondo, donde se deposita la materia prima molida y una cantidad conocida de agua pura. Se le calienta constantemente, el aceite esencial con el agua presente se evaporan continuamente. Un condensador va acoplado al matraz y una conexión en forma de D, permite acumular y separar el aceite esencial de la mezcla condensada. El agua floral condensada regresa al matraz por el rebose de la conexión.

Las ventajas de este equipo son su simplicidad y flexibilidad para trabajar con aceites de diferente densidad y naturaleza. Las desventajas radican en la incapacidad de usar los resultados obtenidos para un escalado, porque el material vegetal no forma

un lecho fijo, sino está en contacto permanente con el agua; lo cual, no responde al tipo de hidrodestilación industrial empleado comúnmente. Además, el hecho de estar molido, genera que el aceite se encuentre disponible para su vaporización y “arrastre”, lo cual no ocurre a mayores escalas. El tiempo de extracción es muy largo comparado con el usado industrialmente, porque se busca agotar todo el aceite contenido en la planta y no sirve para establecer el tiempo óptimo de operación. (Günther, 1948).



**Figura 8.** Equipo de destilación Clevenger

**Fuente:** Günther (1948).

Existen otros equipos a esta escala, basados en una miniaturización de los equipos piloto, donde el material vegetal forma un lecho fijo, en una columna de vidrio y el vapor de agua es alimentado continuamente desde un matraz redondo inferior calentado constantemente, que funciona como un generador. Estos equipos son simples y flexibles y poseen la ventaja

adicional de trabajar en un modo más similar al de los equipos mayores. Sus limitaciones son el uso de materia prima molida; el flujo del vapor condensado a contracorriente en la columna, que lleva consigo compuestos hidrosolubles y que generan una recirculación indeseable, ya que se pueden degradar estos compuestos y afectar la calidad del aceite obtenido; y la dependencia del flujo de vapor generado con la potencia de la fuente de energía, lo que le resta flexibilidad en el control de este parámetro. (Rodríguez *et al.* 2012).

#### **2.2.6.2 Escala intermedia o banco (bench)**

Existen también equipos a escala intermedia. Existiendo numerosos y variados modelos de este tipo. La mayoría de ellos poseen capacidades entre 5 a 50 litros. Son construidos en vidrio Pyrex, acero inoxidable o cobre. Están conformados de un hidrodestilador-generador, es decir el vapor de agua se genera en el mismo recipiente donde se almacena la materia vegetal, separados por medio de una rejilla o cesta. Se carga el hidrodestilador con el material vegetal, cuando el agua alcanza una temperatura cercana a la de ebullición. El vapor generado calienta la planta aromática y arrastra el aceite vaporizado. La tapa suele ser del tipo “cuello de cisne” o plana. Aunque se prefiere el primero, para favorecer el tiro del vapor. Los condensadores son de doble tubo o de serpentín sumergido en un tanque o con alimentación constante, a contracorriente, de agua fría. El aceite esencial es obtenido en un florentino, a la salida del

condensador. El agua floral puede ser reciclada, si el florentino es adaptable para que su brazo lateral se conecte con la sección de generación del vapor del hidroddestilador. Las ventajas son su movilidad; maniobrabilidad; la posibilidad de ser aislados fácilmente; su capacidad de ser instrumentado, para seguir el proceso internamente; la implementación de un control automático; y la confiabilidad y reproducibilidad de los datos experimentales generados, para ajustarlos a modelados fenomenológicos. Las desventajas residen en requerir de material vegetal seleccionado, debido a que el rendimiento y la velocidad de obtención son sensibles de las características físicas de material (molido, entero, trozado, etc.); de una limpieza periódica y exhaustiva, para evitar la contaminación de los productos y de la imposibilidad de trabajar con vapor saturado con mayor presión, lo cual, es una limitante importante con respecto a los equipos piloto o industriales. Una alternativa optimizada es un equipo de este tipo, pero sin que el vapor sea generado en el mismo recipiente; sino que sea inyectado mediante un distribuidor interno y el vapor provenga de un generador externo disponible. (Rodríguez *et al.* 2012).

### **2.2.6.3 Escala piloto.**

Son construidos en acero comercial, inoxidable o cobre. Pueden ser de dos tipos: con generador externo o acoplado al hidroddestilador. Están conformados de un hidroddestilador cilíndrico simétrico o de una altura ligeramente mayor al diámetro.

El vapor de agua es inyectado por los fondos del equipo o generado en esa sección. La materia prima suele estar compactada y almacenada en una cesta para su mejor carga y descarga. Los condensadores son de coraza y de varios tubos internos o de un doble serpentín sumergido en un tanque de agua. Los florentinos son diferentes a los de la escala intermedia y de laboratorio. Son decantadores en acero inoxidable con un cuerpo cónico o cilíndrico y un fondo cónico. El aceite esencial es recogido del florentino y almacenado en otro decantador. Se realiza esta segunda separación dinámica porque el flujo de vapor es alto y el tiempo necesario para que la emulsión aceite-agua se rompa suele ser mayor a la medida en la escala intermedia.



**Figura 9.** Equipo a escala piloto

Fuente: Rodríguez *et al.* (2012).

## 2.2.7 Métodos de análisis de aceites esenciales

### 2.2.7.1 Extracción y aislamiento

Los fenilpropanos de aceites esenciales se extraen con la misma metodología descrita anteriormente para mono y sesquiterpenos. Sin embargo, debido a su anillo aromático presentan ventajas en su detección por CCF y HPLC pues absorben luz ultravioleta (254 nm) y no requieren ser revelados con agentes químicos, ni necesitan ser derivatizados, y por lo tanto pueden aislarse y analizarse más fácilmente. (Martínez, 1996).

### 2.2.7.2 Ensayos de reconocimiento

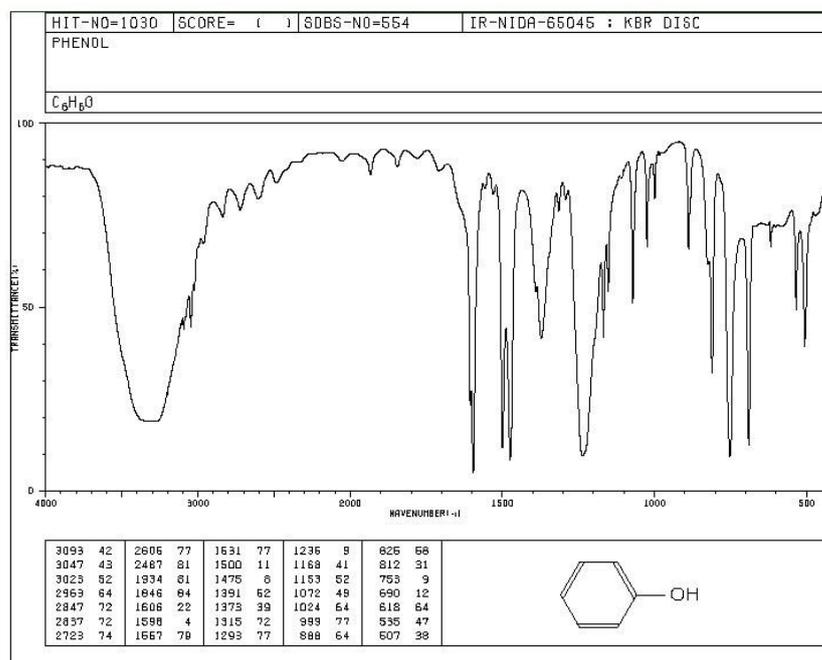
Existen ensayos de reconocimiento para el anillo aromático como la reacción con formaldehído y ácido sulfúrico. Así mismo en el caso de fenilpropanos con hidroxilos fenólicos estos pueden reconocerse por el ensayo del cloruro férrico, el cual produce coloraciones verdes y azules con sustancias fenólicas en general. (Martínez, 1996).

### 2.2.7.3 Caracterización espectral

Según Martínez, (1996). Los monoterpenos y sesquiterpenos en un buen número se pueden caracterizar químicamente a partir de los datos de cromatografía de gases y los espectros de masas, pero cuando existen dudas de tal caracterización se recurre a los métodos espectrales como Infrarrojo, Ultravioleta y Resonancia Magnética Nuclear.

### Infrarrojo

Por tratarse de sustancias con anillo aromático, su espectro infrarrojo muestra las señales características de estos compuestos y dan información sobre el tipo de sustitución del anillo aromático además de los grupos funcionales presentes en la molécula. Por ejemplo, el espectro IR del eugenol muestra entre otras bandas en 3500 (ancha) debida al grupo hidroxilo, 1510 característica de aromáticos, y tres bandas en 990, 920 y 938  $\text{cm}^{-1}$  características de un grupo vinilo monosustituido. El espectro IR del cinamaldehído muestra bandas en 3330 (débil), 3050, 2820, 2750, 1660 (intensa, debida al grupo carbonilo), 975, 740 y 695  $\text{cm}^{-1}$  entre otras. (Martínez, 1996).



**Figura 10.** Espectro infrarrojo del anetol

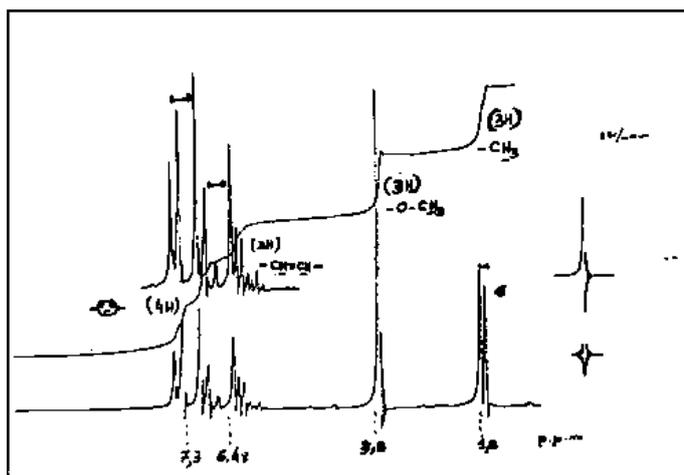
Fuente: Martínez (1996)

### **Ultravioleta**

A diferencia de la mayoría de mono- y sesquiterpenos, los fenilpropanos absorben luz UV con máximos alrededor de 254 nm dependiendo de los grupos cromóforos presentes en la molécula. Por ejemplo el isoeugenol muestra máximos en 260 (15850) y 305 (7000), el safrol en 286 nm, la miristicina en 276 nm, el isosafrol en 264 nm, el ácido trans-cinámico en 273 nm y el ácido cis-cinámico en 264 nm. (Martínez, 1996).

### **Resonancia Magnética Nuclear**

Los espectros de RMN-1H de los fenilpropanos muestran señales de protones aromáticos alrededor de 6-8 ppm cuyas multiplicidades y constantes de acoplamiento permiten realizar una asignación estructural clara aún con espectros de baja resolución. La Figura 5 muestra a manera de ilustración el espectro RMN-1H del trans-anetol. Se aprecia una señal doblete alrededor de 1.9 ppm debida a los protones del grupo metilo, un singlete en 3.9 debido a los protones del grupo metoxilo, una señal compleja alrededor de 6,1 ppm debida a los dos protones olefínicos en disposición trans entre sí, y un doble doblete alrededor de 6,9 ppm característico de los 4 protones de un anillo aromático p-disustituído. (Martínez, 1996).

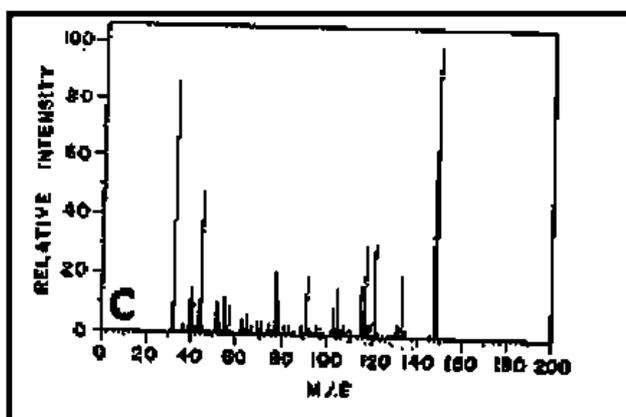


**Figura 11.** Espectro RMN-H del trans-anetol

Fuente: Martínez, (1996)

### Espectrometría de Masas

Debido también a su anillo aromático, los fenilpropanos presentan espectros de masas con iones moleculares intensos, lo que facilita la determinación de su peso molecular. A manera de ejemplo, la Figura 6 muestra el espectro de masas del trans-anetol, donde se alcanza a apreciar el fragmento  $m/z$  148 correspondiente al ion molecular. (Martínez, 1996).



**Figura 12.** Espectro de masa del trans-anetol

Fuente: Martínez, (1996)

### 2.2.8 Ensayos físico – químicos cualitativos y cuantitativos

Se denominan así a los ensayos que se realizan sobre la droga entera, pulverizada o extractos de la planta. Son ensayos cualitativos o cuantitativos que permiten conocer la composición de la droga o planta, caracterizar principios activos y reconocer falsificaciones. Se realizan con una finalidad cualitativa (identificar sustancias), cuantitativa (determinar su concentración) o ambas. (Bisset, N. G. 1994; Bruneton, J. 2001; Palomino, O. 2001).

Los ensayos cuantitativos son los siguientes:

- Humedad
- Cenizas
- Residuo seco
- Materia extraíble
- Parámetros físicos (densidad, poder rotatorio, índice de refracción)
- Índices químicos (acidez, saponificación, sobre todo para aceites esenciales)
- Índices de hinchamiento (para mucílagos)
- Índices de espuma (para saponinas)
- Contaminantes. Metales pesados, plaguicidas, aflatoxinas.

Los ensayos cualitativos son los siguientes

- Reacciones de identificación. Coloreadas, de precipitación, fluorescencia, microsublimación, etc., que permiten detectar

determinados constituyentes característicos de una planta (flavonoides, alcaloides, etc.).

- Métodos cromatográficos. Permiten separar los diferentes componentes de un extracto, esencia, etc.
- Métodos espectroscópicos. Permiten la identificación de sustancias.

### 2.2.8.1 Ensayos cuantitativos.

#### Humedad

Se entiende por humedad el agua libre que contiene el material vegetal. Para una buena conservación ha de ser inferior al 10%, para evitar los procesos enzimáticos, y para expresar la valoración de los principios activos referidos a materia seca. Existen varios métodos para la determinación de la humedad.

**Método gravimétrico.** Se pesa una cantidad exacta de droga seca, pulverizada o troceada y se pone en estufa a unos 110 °C, pesándola cada media hora hasta peso constante. La diferencia entre el peso inicial y final es el contenido en agua o humedad aparente. Pueden perderse sustancias volátiles, por lo que en ocasiones este método no puede utilizarse.

**Método volumétrico.** Se determina el contenido en agua por arrastre azeotrópico. Una cantidad exacta de materia vegetal se coloca en un matraz con benceno, tolueno o xileno, y se lleva a destilación en circuito cerrado. El vapor de agua condensa y al ser

inmiscible forma una fase separada y visible, de la cual se determina el volumen.

**Método Karl-Fisher.** Muy útil en muestras con bajo contenido en humedad, se basa en la reacción cuantitativa del agua con dióxido de azufre y yodo en medio anhidro y presencia de una base. El yodo y anhídrido sulfuroso en presencia de agua reaccionan, formando sulfúrico y ácido yodhídrico. Para desplazar el equilibrio se emplea una base como la piridina.

### **Determinación de cenizas**

Representan el contenido en sales minerales o en materia inorgánica de la droga. En condiciones rigurosas, es constante y nos permite descubrir falsificaciones por otras drogas, tierras u otros minerales. Las cenizas dan una idea del contenido en materia mineral de la planta, que suele ser alrededor del 5%. Su determinación es importante porque la materia mineral puede ser responsable de alguna acción farmacológica (por ejemplo, las sales de potasio son responsables de la acción diurética del equiseto, diente de león y ortosifón). También si su contenido es elevado, puede ser indicador de contaminación por adición de materia mineral o tierra, especialmente en raíces.

**Cenizas totales.** Se basa en calcinar hasta que quedan blancas. El residuo que queda corresponde a las cenizas derivadas del tejido vegetal (cenizas fisiológicas) y a las de la materia extraña (cenizas no fisiológicas).

**Cenizas sulfúricas.** Se añade  $H_2SO_4$  antes de calcinar, obteniendo los sulfatos de los cationes. Son mucho más estables que las totales.

**Cenizas insolubles en HCl.** Es el residuo que queda tras extraer las totales o las sulfúricas con HCl. La sílice es insoluble en HCl, por lo que indican presencia de arena o tierra.

### **Nutrientes**

Los nutrientes se analizan a partir de las cenizas totales de 1 g de muestra calcinada a  $400^\circ C$  durante 24 horas y disueltas en ácido clorhídrico (1:1). La determinación analítica de metales y elementos tales como Na, K, Mg, Ca, Fe, Cu, Zn y Mn se analizan por espectrofotometría de absorción atómica de llama.

### **Residuo seco**

Consiste en desecar en la estufa, a  $100^\circ C$ , un determinado peso de extracto durante un tiempo determinado. Se expresa en % (m/m) respecto a extracto inicial.

### **Materia extraíble con disolventes**

Cuando no existen métodos adecuados para valorar los principios activos de una droga mediante métodos físico – químicos, se determina la cantidad de materia extraíble con agua, alcohol, éter o disolventes orgánicos.

### **Residuos de productos fitosanitarios**

Se determinan por CCF, CGL ó HPLC.

### **Contaminación microbiológica**

Por lo general, la planta se contamina en el momento de la recolección, disminuyendo la tasa en el proceso de secado. Sin embargo, los procesos de manipulación de la planta (trituration, embalaje, almacenamiento, etc.) pueden aportar una contaminación suplementaria. Salvo excepciones, se permiten un máximo de 106 bacterias y 105 levaduras por gramo.

### **Contaminación radiactiva**

La normativa europea permite unos niveles máximos de 600 beq/kg, pero se refiere a productos alimentarios, no específicamente a plantas medicinales.

### **Naturaleza y tasa de elementos extraños**

Normalmente, las farmacopeas toleran hasta un máximo del 2%.

### **Metales pesados**

Se aceptan los criterios establecidos para alimentos de origen vegetal, que son los siguientes.

**Plomo.**- Máximo de 0,5 ppm para frutas y raíces Máximo de 1,2 ppm para vegetales verdes.

**Cadmio.**- Máximo de 0,1 ppm para frutos y vegetales verdes, y  
Máximo de 0,05 ppm para raíces.

**Mercurio.**- Máximo de 0,03 ppm para cereales

### **Índice de hinchamiento**

Aplicable a drogas con mucílago. Se define como el volumen en ml ocupado por 1 gramo de droga y mucílago después de su hinchamiento tras permanecer en contacto con un líquido acuoso. Por ejemplo, para el agar es  $> 15$ , para la semilla de lino  $> 4$  si es droga entera y  $> 4,5$  si es en polvo.

### **Índice de refracción**

Viene dado por la relación entre la velocidad de la luz en el aire y la velocidad en la sustancia de ensayo. Para su determinación se emplea el refractómetro de Abbe. Es un valor útil para establecer a pureza de los aceites esenciales, cuyos valores figuran en muchas de las farmacopeas.

### **Poder rotatorio**

El poder rotatorio de un líquido es el ángulo de giro del plano de polarización de la luz cuando se hace pasar un rayo de luz polarizada a través de una muestra de dicho líquido. Este giro puede ser en el sentido horario o antihorario.

## 2.3 MARCO CONCEPTUAL

Desde que apareció el hombre sobre la tierra, siempre ha tenido la necesidad de eliminar o aminorar sus padecimientos y para ello ha recurrido a los medios que están a su alcance. Las plantas poseen propiedades medicinales debido a sus metabolitos secundarios o principios activos, éstos se pueden encontrar tanto e hojas, flores, tallos, semillas o raíces, por tanto se puede encontrar más de un principio activo lo que implica que puede tener muchos usos.

### 2.3.1 Plantas aromáticas y medicinales (PAM)

Las plantas aromáticas son vegetales que elaboran metabolitos secundarios característicos que pueden ser de utilidad o bien tóxicos para un organismo. Las PAM provienen de dos orígenes diferentes: el cultivo y la recolección. A pesar de que las especies de más consumo son cultivadas, se podría asegurar que, aún ahora, la mayoría de las hojas que manejan los herbolarios provienen de recolección libre. En la tabla 1.1 se muestra el origen y destino de las PAM en función de sus procesos primarios.

### 2.3.2 Extracción por arrastre de vapor

Es el método más usado a nivel industrial, permite obtener aceite esencial con buenos rendimientos, y además se pueden procesar grandes cantidades de material vegetal. La materia prima vegetal es cargada de manera que forme un lecho fijo compactado; su estado puede ser molido, cortado, entero o la combinación de éstos. El vapor de agua es inyectado mediante un distribuidor interno, próximo a su base y

con la presión suficiente para vencer la resistencia hidráulica del lecho.  
(Vargas, 2008).

El fundamento detrás de esta técnica de extracción está dado por el rompimiento del tejido vegetal por efecto de la temperatura de vapor (100°C), liberando así el aceite esencial después de un cierto tiempo (Sanchez, 2006).

### **2.3.3 Especificaciones técnicas del aceite esencial de eucalipto según las normas técnicas peruanas – NTP**

Las especificaciones técnicas del aceite esencial de *Eucalyptus globulus s.p.*, están referidas a las Normas Técnicas Peruanas, NTP, las cuales se muestra en el cuadro 2.

**Cuadro 2.** Especificaciones técnicas del aceite esencial de *Eucalyptus globulus s.p.*

<b>Nro (1)</b>	<b>Característica (2)</b>	<b>Requerimiento (3)</b>	<b>Método de Ensayo (4)</b>
1	Color y apariencia	Líquido incoloro a amarillo pálido	IS 326 (Parte 2);1980
2	Olor y gusto	Olor característico ligado a alcanfor aromático con una sensación de frío	IS 2284:1988
3	Densidad relativa a 27°/27°C	0,8985 a 0,9055	NTP-ISO 279 2011
4	Rotación óptica	-5° a +10°	NTP 319.076
5	Índice de refracción a 27°/27°C	1,4559 a 1,4667	NTP-ISO 280 2011
6	Contenido de Cineol, porcentaje en masa, mínimo	60	NTO 319.086 1974
7	Punto de congelamiento, °C	Mayor a 35	IS 328 : 1992

Fuente: Normas técnicas peruanas - NTP

## 2.4 INGENIERÍA DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE *Eucalyptus globulus s.p.*

### 2.4.1 Balance de materia

El balance de materia se realiza en función a un componente:

Balance de materia general.

$$F = m_{hoja} + m_{oil}$$

$$F * X_F = m_{hoja} * X_{hoja} + m_{oil} * X_{oil}$$

Asumiendo una recuperación completa (100%) del aceite esencial tendremos:

$$X_{oil} = 1$$

$$X_{hoja} = 0$$

Reemplazando en la ecuación de balance de materia general:

$$X_F = \frac{m_{oil}}{F} = \frac{m_{oil}}{m_{muestra}}$$

Por lo tanto, el rendimiento será:

$$\%R = \frac{m_{oil}}{m_{muestra}} * 100$$

#### 2.4.2 Balance de energía

El balance de energía viene dado por la siguiente expresión:

$$\left( \begin{array}{c} \text{Calor} \\ \text{suministrado} \\ \text{al sistema} \end{array} \right) = \left( \begin{array}{c} \text{Calor} \\ \text{suministrado} \\ \text{por el sistema} \end{array} \right) + \left( \begin{array}{c} \text{Calor disipado} \\ \text{a los} \\ \text{alrededores} \end{array} \right)$$

$$Q_T = Q_C + Q_P$$

#### Balance de energía en el generador de vapor

El calor total generado, se determina mediante la siguiente ecuación:

$$Q_T = Q_{H_2O} + Q_D$$

Dónde:  $Q_T$ : Calor total generado, kcal.

$Q_{H_2O}$ : Calor consumido por el agua, kcal.

$Q_D$ : Calor disipado, kcal.

### Cálculo del calor total generado.

El calor total generado por el hervidor está dado por la potencia de la resistencia en contacto y el tiempo total de calentamiento.

$$Q_T = P * (t_{TC} + t_v)$$

Dónde:  $P$ : Potencia, kW (resistencia eléctrica externa).

$t_{TC}$ : Tiempo total de calentamiento, min.

$t_v$ : Tiempo de vaporización, h.

### Cálculo del calor consumido por el agua

El calor consumido por el agua se determina mediante la ecuación dada por Cengel, (2011).

$$Q_{H_2O} = mC_p\Delta T + m_v h_v$$

Dónde:  $m$ : Masa de agua, L.

$C_p$ : Calor específico del agua,  $\frac{kcal}{Kg}$ .

$\Delta T$ : Variación de la temperatura, °C.

$T_2$ : Temperatura de salida de vapor de agua, °C.

$T_1$ : Temperatura de entrada de agua, °C.

$m_v$ : Vapor generado en una corriente, kg.

$h_v$ : Calor latente de vaporización del agua a 87°C,  $\frac{kcal}{Kg}$ .

### Cálculo del calor disipado

Para calcular el calor disipado en el generador de vapor de agua se reemplaza los valores de las ecuaciones.

$$Q_D = Q_T - Q_{H_2O}$$

### Balance de energía en el tanque extractor

Kern, (2007). Nos indica el cálculo del balance de energía mediante la siguiente ecuación:

$$Q_V = Q_E + Q_D + Q_{CE}$$

Dónde:

$Q_V$ : Calor latente del vapor, kcal.

$Q_E$ : Calor consumido en el extractor, kcal.

$Q_D$ : Calor disipado, kcal.

$Q_{CE}$ : Calor necesario para calentar el lecho de extracción,  
kcal.

### Cálculo del calor que lleva el vapor

El calor que lleva el vapor se determina según la siguiente ecuación (Kern, 2007)

$$Q_V = m_v * h_v$$

Dónde:  $m_v$ : Flujo de vapor, kg

$h_v$ : Calor de vaporización del agua a 87°C =,  $\frac{kcal}{Kg}$ .

### Cálculo del calor consumido en el extractor

El calor consumido en el extractor se determina por la siguiente ecuación:

$$Q_E = m_d * h_v + m_M * C_{P_M} * \Delta T$$

Dónde:  $m_d$ : Masa del destilado, kg

$h_v$ : Calor de vaporización del agua a 87°C =,  $\frac{kcal}{Kg}$ .

$m_M$ : Masa total de la muestra, kg.

$T_1$ : Temperatura de ingreso, °C.

$T_2$ : Temperatura de salida, °C.

$C_{P_m}$ : Calor específico de la muestra (agua),  $\frac{kcal}{kg \cdot ^\circ C}$

Como la masa de vapor de agua con relación a la del aceite esencial es superior, todos los cálculos se realizan como si se tratara de vapor de agua.

### Cálculo del calor necesario para calentar el lecho de extracción.

El calor necesario para el calentamiento del extractor está dado por la siguiente ecuación.

$$Q_{CE} = m * C_p * (T_2 - T_1)$$

Dónde:  $m$ : masa de extractor, kg

$C_p$ : Calor específico

$T_2$ : Temperatura de la pared, °C

$T_1$ : Temperatura de ingreso, °C

### **Cálculo del calor necesario para calentar el lecho de extracción.**

Deduciendo el calor disipado según la ecuación tenemos:

$$Q_D = Q_V - (Q_E + Q_{CE})$$

Dónde:  $Q_V$ : Calor latente del vapor, kcal.

$Q_E$ : Calor consumido en el extractor, kcal.

$Q_D$ : Calor disipado, kcal.

$Q_{CE}$ : Calor necesario para calentar el lecho de extracción, kcal.

## CAPÍTULO III

### METODOLOGÍA

#### 3.1 TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

La investigación desarrollada fue experimental, utilizando el método científico con el apoyo de la estadística descriptiva. Mediante la experimentación se establecen relaciones causa y efecto para poder confirmar la veracidad o falsedad de las hipótesis planteadas en la investigación. Y es descriptivo debido a que se controlaron las variables de acuerdo a las necesidades del diseño experimental para el proceso de extracción y obtener un producto con las características deseadas.

#### 3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

Para el análisis de este trabajo se utilizó el diseño factorial de  $2^k$ , donde  $k = 3$ . Que son las variables independientes: tamaño de las hojas (enteras y picadas); tiempo de secado (1 y 10 días) y tiempo de extracción (30 y 50 minutos).

La correlación de las variables seleccionadas para establecer el modelo matemático, se realizó haciendo uso de software Statgraphics V-5,1, el cual nos da las variables adecuadas para el modelo matemático.

El contenido de cineol, como componente mayoritario del aceite esencial se determinó mediante análisis de laboratorio siguiendo los procedimientos establecidos por las normas técnicas peruanas (NTP) y posteriormente correlacionados con el software estadístico SPSS V-22.

Las propiedades físicas del aceite esencial se desarrollaron en el laboratorio siguiendo estrictamente las normas técnicas peruanas (NTP) y los datos resultantes se correlacionaron haciendo uso del software estadístico SPSS V-22.

### **3.3 MATERIALES**

#### **3.3.1 Materia prima**

El material de estudio correspondió a las hojas de eucalipto "*Eucalyptus glóbulus s.p.*" de árboles que oscilan entre 10 y 12 años con un tamaño promedio de 15 m de altura, procedente del Departamento de Puno, Provincia de Puno, Distrito de Puno, Barrio Chanu Chanu.

Las hojas de eucalipto fueron procesadas para su extracción de acuerdo al diseño experimental desarrollado entre; hojas secas con 10 días de secado, y hojas frescas que fueron procesadas luego de 1 día de su recolección.

#### **3.3.2 Reactivos**

- Agua destilada
- Orto cresol
- Sulfato de magnesio

### 3.3.3 Material de vidrio y otros

- Matraz Herlenmeyer de 250 mL.
- Tubo de ensayo de 20 mL.
- Frascos de vidrio oscuro, con tapa para conservación de la muestra.
- Placa de vidrio.
- Embudo de vidrio.
- Probeta de 25 y 50 mL.
- Pipetas.

### 3.3.4 Equipo de laboratorio.

- Balanza analítica.
- Picnómetro de 25 mL.
- Refractómetro.
- Estufa.
- Horno eléctrico.
- Papel filtro.
- Baguetas.

## 3.4 EQUIPOS

### 3.4.1 Equipo de extracción

Se realizó en el equipo de extracción automatizado denominado essential oil extraction unit mod. UDCA – 2/EV, perteneciente a la

Facultad de Ingeniería Química de la UNA – Puno, el que se encuentra en el laboratorio de operaciones y procesos unitarios – LOPU.



**Figura 13.** Equipo modular de extracción de aceites esenciales de la FIQ UNA Puno.

### 3.4.2 Equipo de análisis – cromatógrafo de gases

La composición química fue caracterizado en el laboratorio de cromatografía y espectrometría – pabellón de control de calidad, de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, utilizando el cromatógrafo de gases Agilent 6890N, acoplado a un espectrómetro de masas. La identificación se basó en la comparación de las señales del espectro de masas de cada componente del aceite con los datos compilados en la librería NIST011a (Wiley) y Flavor v2



**Figura 14.** Cromatografo de gases acoplado a espectrómetro de masa. UNSAAC

### 3.5 METODOS DE ANÁLISIS

#### 3.5.1 Diseño experimental propuesto

El diseño experimental planteado para el desarrollo de la investigación es un diseño factorial de  $2^k$ , donde  $n$  es el número de variables independientes, en este trabajo  $k = 3$ .

El diseño se plantea para desarrollarse con dos replicas para cada diseño y a dos niveles:  $m$  = nivel alto y  $n$  = nivel bajo. (Kuehl, 2001).

**Cuadro 3.** Matriz del diseño experimental para el desarrollo de experimentos

Nro	Diseño	Combinación de niveles			Matriz de Diseño		
		A	B	C	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>
1	1	n <sub>1</sub>	n <sub>2</sub>	n <sub>3</sub>	-1	-1	-1
2	A	m <sub>1</sub>	n <sub>2</sub>	n <sub>3</sub>	1	-1	-1
3	B	n <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	n <sub>3</sub>	-1	1	-1
4	AB	m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	n <sub>3</sub>	1	1	-1
5	C	n <sub>1</sub>	n <sub>2</sub>	m <sub>3</sub>	-1	-1	1
6	AC	m <sub>1</sub>	n <sub>2</sub>	m <sub>3</sub>	1	-1	1
7	BC	n <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	m <sub>3</sub>	-1	1	1
8	ABC	m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	m <sub>3</sub>	1	1	1

**Cuadro 4.** Variables para el diseño experimental

X <sub>1</sub> =	Tamaño de Hoja:	0,25	hojas picadas
		1	hojas enteras
X <sub>2</sub> =	Tiempo de secado de hojas:	1	días
		10	días
X <sub>3</sub> =	Tiempo de extracción:	30	min
		50	min

Para el análisis de los resultados se utilizara el modelo planteado por Silou et.al. (2009) para la optimización de la extracción de aceite esencial de *Eucalyptus Citriodora*. El cual se ajusta a las variables de estudio propuestas.

$$Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_{12}X_1X_2 + a_{13}X_1X_3 + a_{23}X_2X_3 + a_{123}X_1X_2X_3$$

Dónde:  $Y$  = Volumen de Aceite esencial extraído, mL.

$a_i$  = Constante de interacción entre las variables independientes.

### 3.6 TRATAMIENTO DE LA MUESTRA

#### 3.6.1 Recolección de la materia prima

Se utilizó un plan de recolección al azar de hojas de árboles de eucalipto. Para llevar a cabo este plan de muestreo se procedió a seleccionar los árboles que se ajustan a un tamaño promedio de 12 m para poder recolectar las hojas, y así obtener una muestra de tamaño de hojas homogénea, basado en el criterio del descarte de hojas dañados por insectos, plagas, daños físicos (roturas, hendiduras, raspaduras, manchados) y con daños por hongos y bacterias (descomposición).



**Figura 15.** Recolección de hojas de eucalipto.

### 3.6.2 Secado

En esta etapa del proceso, se realizó a temperatura ambiente (entre 8°C a 16°C) por un espacio de tiempo de 10 días.



**Figura 16.** Secado de las hojas de eucalipto

### 3.6.3 Pesado

Esta operación se realiza en una balanza de reloj, el cual permitió realizar el pesaje de las hojas para cada uno de los experimentos.



**Figura 17.** Pesado de las hojas de eucalipto para la extracción

#### **3.6.4 Extracción.**

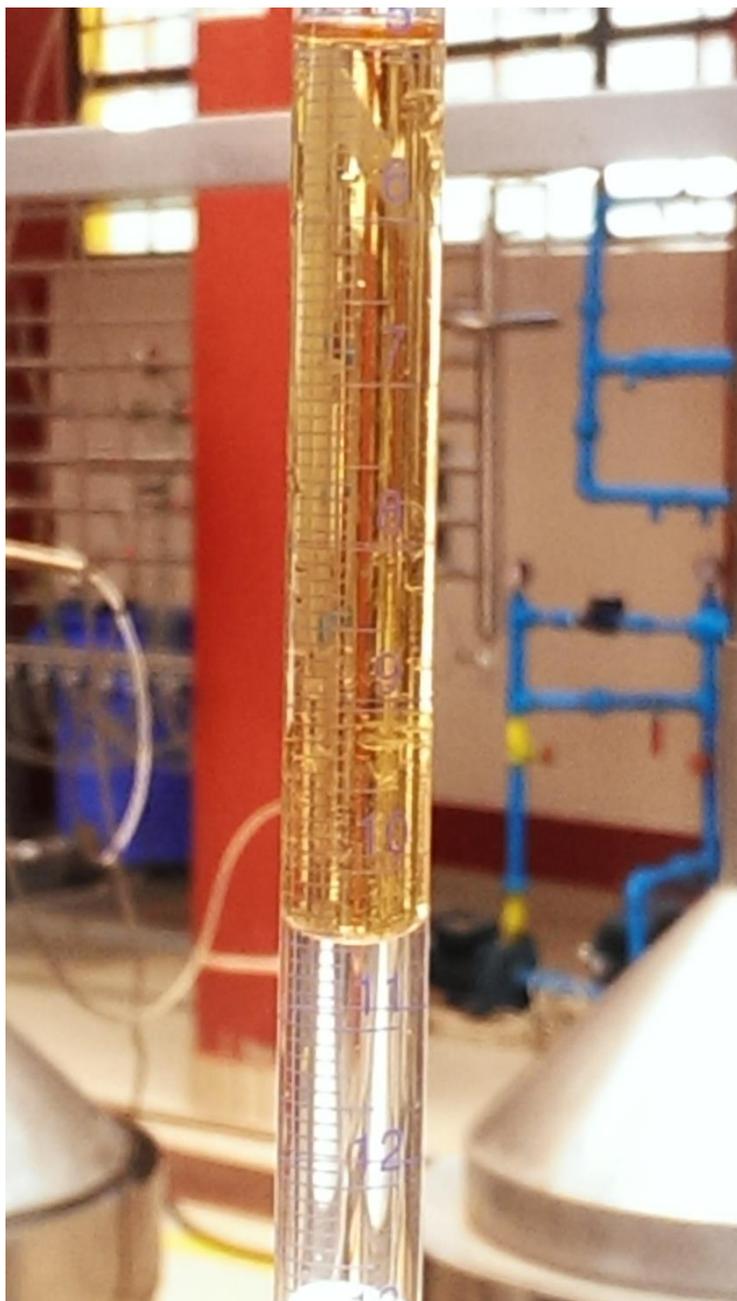
La extracción de los aceites esenciales se realizó a través del método de arrastre con vapor de agua, desarrollado en una unidad automatizada de destilación por corriente de vapor, abastecido a partir de un caldero eléctrico con un flujo de 3,4 kg/h de vapor de agua, y una presión en el flujo de vapor de 3 bar, el cual por contacto directo con las hojas, extrae el aceite esencial de las hojas de eucalipto.

#### **3.6.5 Condensación**

Se realizó mediante un sistema de refrigeración, utilizando agua como líquido de enfriamiento en contracorriente a temperatura ambiente, los vapores son enfriados y pasados al estado líquido, formando una mezcla binaria agua-aceite.

#### **3.6.6 Separación**

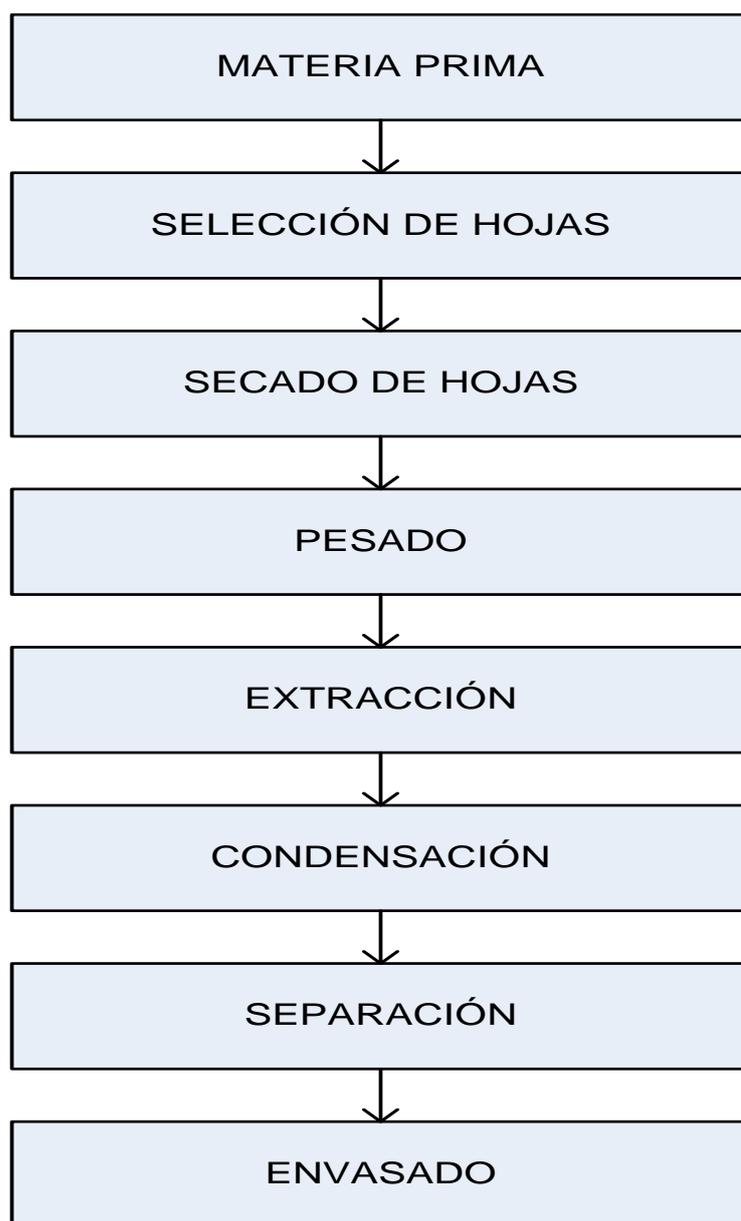
Una vez condensado la mezcla agua-aceite esencial, se realizó la separación por diferencia de densidades en un matraz de separación.



**Figura 18.** Separación del aceite esencial obtenido por destilación con vapor de agua

### 3.6.7 Envasado.

El envasado se realiza una vez separado del agua floral del condensado, en frascos de color ámbar para su conservación y análisis en laboratorio.



**Figura 19.** Diagrama de flujo cualitativo para la extracción de aceite esencial de *Eucalyptus globulus s.p.*

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1 RESULTADOS DE PRUEBAS EXPERIMENTALES

Los resultados de los experimentos fueron analizados en el software estadístico Statgraphics V-5,1 y SPSS v22.

##### 4.1.1 Resultados de extracción por arrastre de vapor.

La extracción de aceite esencial de eucalipto "*Eucalyptus glóbulus s.p.*" se desarrolló de tal manera que se cumpla con los diseños experimentales establecidos en los cuadros 4 y 5; se realizaron dos replicas para cada uno de los experimentos.

Los resultados obtenidos mediante el tratamiento de hojas de eucalipto "*Eucalyptus Glóbulus s.p.*" en la extracción de aceite esencial por arrastre con vapor de agua se muestran en el cuadro 5.

**Cuadro 5.** Resultado de las pruebas experimentales de extracción de aceite esencial

Nro.	Diseño	Matriz de Diseño			Combinación de niveles			REPLICA 1 (mL)	REPLICA 2 (mL)	PROMEDIO DE ACEITE (mL)
		X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	I (unid)	II (días)	III (min)			
1	1	-1	-1	-1	0,25	1	30	9,5	10,4	9,95
2	A	1	-1	-1	1	1	30	2,5	3,2	2,85
3	B	-1	1	-1	0,25	10	30	9,5	9,0	9,25
4	AB	1	1	-1	1	10	30	7,9	8,5	8,2
5	C	-1	-1	1	0,25	1	50	10,0	9,5	9,75
6	AC	1	-1	1	1	1	50	5,5	7,0	6,25
7	BC	-1	1	1	0,25	10	50	13,8	12,5	13,15
8	ABC	1	1	1	1	10	50	9,9	11,0	10,45

De acuerdo a los resultados obtenidos en las pruebas experimentales, el mayor rendimiento se obtuvo en el diseño BC con: tamaño de hoja (X<sub>1</sub>), tiempo de secado de 10 días (X<sub>2</sub>) y con un tiempo de extracción de 50 minutos (X<sub>3</sub>); obteniéndose un promedio entre las dos réplicas de aceite esencial de eucalipto de 13,5 mL por 2,0 kg de hojas de “*Eucalyptus glóbulus s.p.*” que hacen un 0,6103%, en comparación con los resultados obtenidos por Silou et. al. (2009), que obtuvieron el 2,3 % de rendimiento de aceite esencial de *Eucalyptus Citriodora* con un tiempo de extracción de 90 minutos hojas picadas y 450 Watt de potencia en el calentamiento.

#### 4.1.1.1 Análisis de resultados de extracción de aceite esencial con Statgraphics.

Con los datos que se tienen en el Cuadro 5, se realizó un análisis de varianza para las variables independientes y la interacción entre ellos, los resultados se muestran en el Cuadro 6.

**Cuadro 6.** Análisis de varianza para la extracción de aceite esencial de eucalipto

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Grados de Libertad</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A: Tamaño de hojas	51,4806	1	51,4806	46,17	<b>0,0001</b>
B: tiempo de secado	37,5156	1	37,5156	33,65	<b>0,0004</b>
C: tiempo de extracción	21,8556	1	21,8556	19,60	<b>0,0022</b>
AB	11,7306	1	11,7306	10,52	<b>0,0118</b>
AC	0,9506	1	0,9506	0,85	0,3828
BC	2,1756	1	2,1756	1,95	0,2000
bloques	1,6256	1	1,6256	1,46	0,2617
Error total	8,92	8	1,115		
Total (corr.)	136,254	15			

*Fuente:* Elaborado en STATGRAPHICS V-5,1.

R-cuadrada = **93,4534** %

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = **87,7252** %

El análisis ANOVA mostrado en el Cuadro 7, nos indica que, las interacciones que más significancia tienen son: el tamaño de hojas (A), Tiempo de secado (B), el tiempo de extracción (C) y la interacción de las variables tamaño de hoja y tiempo de secado

(AB). Las interacciones entre las variables tamaño de hoja-tiempo de extracción (AC), tiempo de secado – tiempo de extracción (BC) y la interacción ABC no son muy significativos por tener el valor de P mayor a 0,05 o 5% con un nivel de confianza de 95,0 %.

El estadístico R-cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 93,4534% de la variabilidad en Extracción. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 87,7252% el cual nos indica que existe una buena correlación entre las variables.

**Cuadro 7.** Coeficiente de regresión para extracción de aceite esencial de eucalipto.

<i>Coeficiente</i>	<i>Estimado</i>
Constante	10,3463
A: hojas	-10,1741
B: días	-0,3046
C: min	0,0312
AB	0,5074
AC	0,0650
BC	0,0082

*Fuente:* Elaborado en STATGRAPHICS V-5,1

De acuerdo a los coeficientes de regresión, el modelo matemático que se ajusta para el rendimiento de extracción de aceite esencial de *Eucalyptus glóbulus s.p.* con las variables seleccionadas y sus interacciones es el siguiente:

$$Y_{(Extracción)} = 10,3463 - 10,1741*X_1 - 0,3046*X_2 + 0,0312*X_3 + 0,5074*X_1*X_2 + 0,0650*X_1*X_3 + 0,0082*X_2*X_3$$

En donde los valores de las variables están especificados en sus unidades originales.

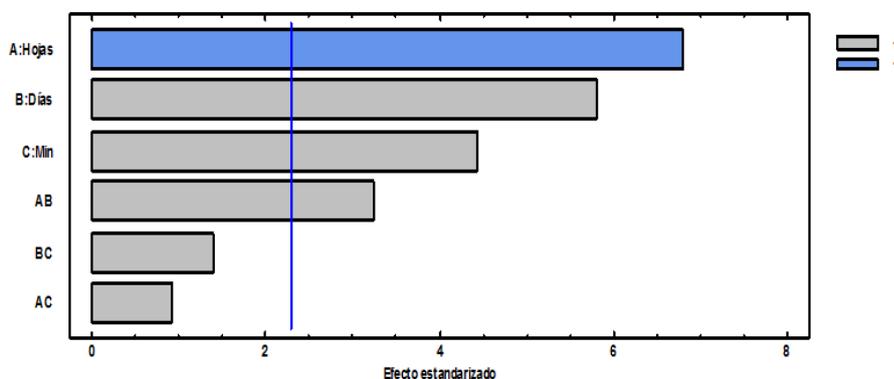
Al maximizar la ecuación se obtiene un volumen de aceite esencial de eucalipto de 12,4939 mL

**Cuadro 8.** Combinaciones entre niveles de los factores para extracción de aceite esencial de eucalipto.

<i>Factor</i>	<i>Nivel bajo</i>	<i>Nivel alto</i>	<i>Nivel óptimo</i>
Tamaño de hojas, adim. (enteros y partidos).	0,25	1,0	0,25
Tiempo de secado, días.	1,0	10,0	10,0
Tiempo de extracción, min.	30,0	50,0	50,0

Fuente: Elaborado en STATGRAPHICS V-5,1

El cuadro 9 muestra la combinación de los niveles y de los factores.



**Figura 20.** Diagrama de Pareto estandarizada para la extracción de aceite esencial de eucalipto.

El diagrama de Pareto, figura 20, nos indica por medio de barras horizontales las interacciones que estadísticamente tienen mayor significancia, son: tamaño de hojas (A), tiempo de secado (B), tiempo de extracción (C) y la interacción entre las variables tamaño de hoja-tiempo de secado (AB); las interacciones entre las variables AC y BC no tienen significancia estadística, por lo tanto no influyen en el proceso de extracción de aceite esencial..

**Cuadro 9.** Resultados estimados para extracción

	<i>Observados</i>	<i>Ajustados</i>	<i>Inferior 95,0%</i>	<i>Superior 95,0%</i>
<i>Fila</i>	<i>Valores</i>	<i>Valores</i>	<i>para Media</i>	<i>para Media</i>
1	9,5	9,5875	7,8657	11,3093
2	7,9	7,225	5,5032	8,9468
3	12,5	12,175	10,4532	13,8968
4	5,5	5,275	3,5532	6,9968
5	10,0	10,0875	8,3657	11,8093
6	9,9	10,7875	9,0657	12,5093
7	2,5	3,1875	1,4657	4,9093
8	9,5	8,975	7,2532	10,6968
9	9,0	10,225	8,5032	11,9468
10	8,5	7,8625	6,1407	9,5843
11	13,8	12,8125	11,0907	14,5343
12	7,0	5,9125	4,1907	7,6343
13	9,5	10,725	9,0032	12,4468
14	11,0	11,425	9,7032	13,1468
15	3,2	3,825	2,1032	5,5468
16	10,4	9,6125	7,8907	11,3343

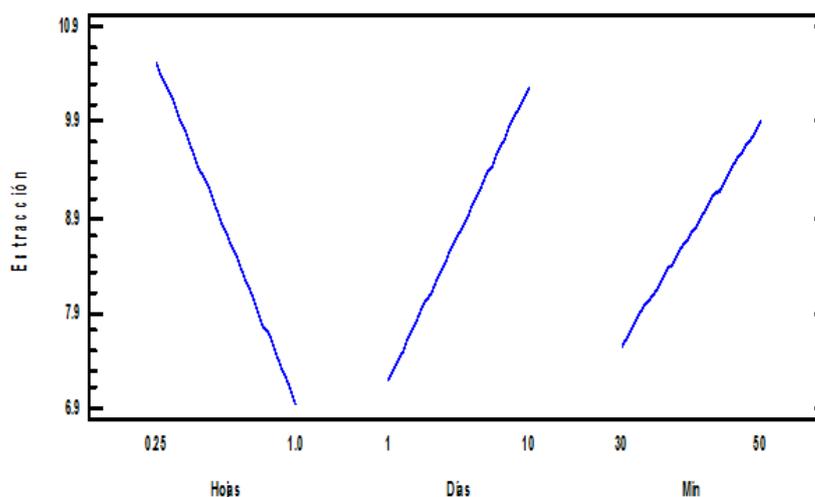
*Fuente:* Elaborado en STATGRAPHICS V-5,1.

El Cuadro 9 contiene información acerca de los valores de extracción generados usando el modelo ajustado. El cuadro incluye:

- Los valores observados de extracción.
- El valor predicho de extracción usando el modelo ajustado.
- Intervalos de confianza del 95,0% para la respuesta media

Del análisis de los resultados obtenidos con el modelo matemático y los resultados experimentales son muy similares

#### 4.1.1.2 Efectos principales de extracción

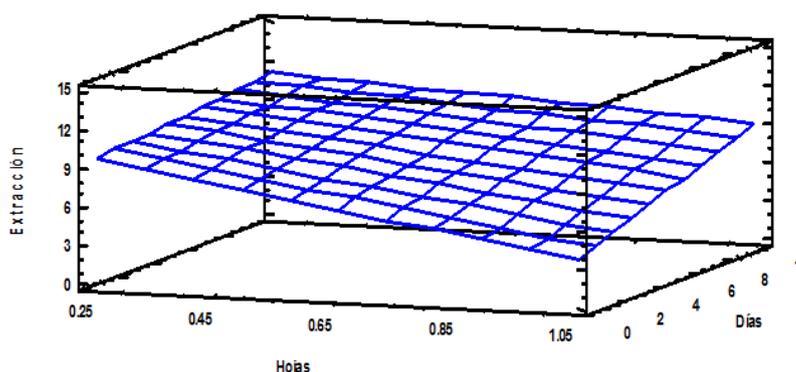


**Figura 21.** Gráfica de efectos principales para la extracción

En el diagrama se puede observar que al incrementarse los días de secado de 1 a 10 días se obtiene un incremento en el rendimiento de aceite esencial de 3,1%. Con relación al tiempo de extracción se observa que también lo hace el rendimiento; desde un tiempo de 30 minutos hasta 50 minutos de extracción se tiene

un incremento en el rendimiento de aceite esencial de 2,3%. De la misma forma se observa que la reducción de tamaño de hoja (partidas en cuatro partes) nos conduce a un incremento en el rendimiento de aceite esencial de 3,6%.

#### 4.1.1.3 Superficie de respuesta



**Figura 22.** Diagrama respuesta estimada. Min = 40,0.

La figura 22, nos muestra las variables que maximizan el rendimiento de aceite esencial e los intervalos estudiados son: tamaño de hojas,  $X_1$ (hojas partidas); tiempo de secado;  $X_2$  (10 días) y tiempo de extracción,  $X_3$  (50 minutos) respectivamente.

#### 4.1.2 Análisis estadístico de los resultados del proceso de extracción de aceite esencial de eucalipto

El análisis estadístico de los resultados de la extracción de aceite esencial de realizo haciendo uso del software estadístico SPSS V-22,0; tomando como base los datos obtenidos en el cuadro 6.

**4.1.2.1 Prueba de correlación entre la variable independiente:  
tamaño de hojas de eucalipto y el rendimiento de  
aceite extraído.**

**Hipótesis nula; Ho:  $r = 0$ :** No existe relación entre el tamaño de hojas y el rendimiento de aceite esencial de eucalipto.

**Hipótesis Alternativa; Ha:  $r \neq 0$ :** Existe relación significativa entre el tamaño de hojas y el rendimiento de aceite esencial de eucalipto.

La Prueba de hipótesis utilizada es la Correlación lineal de Pearson.

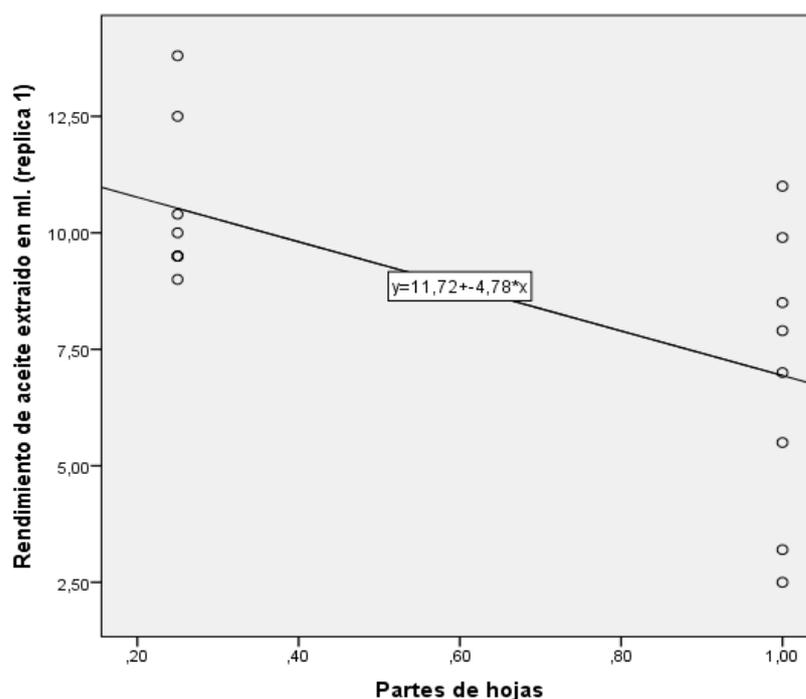
**Cuadro 10.** Nivel de correlación entre el tamaño de hojas y el rendimiento de aceite esencial de eucalipto.

		<b>Rendimiento de aceite esencial. (replica 1)</b>	<b>Tamaño de hojas</b>
Rendimiento de aceite esencial. (replica 1)	Correlación de Pearson	1	<b>-0,615*</b>
	Sig. (bilateral)		0,011
	N	16	16
Tamaño de hojas	Correlación de Pearson	<b>-0,615*</b>	1
	Sig. (bilateral)	0,011	
	N	16	16

\*. La correlación es significativa en el nivel 0,05 (2 colas).

La correlación entre el tamaño de hoja y el rendimiento de aceite esencial es de -0,615, lo que significa que es inversa, a medida

que disminuye el tamaño de hoja el rendimiento será mayor. Se ve que el nivel de significancia de 0,011 es menor que el valor de 0,05 (nivel de confianza), lo que nos permite rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alterna que nos indica que si existe una correlación entre el tamaño de hoja y el rendimiento de aceite esencial y que es significativa.



**Figura 23.** Correlación entre la variable independiente: tamaño de hoja y rendimiento de aceite esencial

#### 4.1.3 Prueba de correlación entre la variable independiente: tiempo de secado (días) y rendimiento de aceite esencial de eucalipto.

**Hipótesis nula; Ho:  $r = 0$ :** No existe relación entre el tiempo de secado (días) y el rendimiento de aceite esencial.

**Hipótesis Alternativa;  $H_a: r \neq 0$ :** Existe relación significativa entre el tiempo de secado (días) y el rendimiento de aceite esencial.

La Prueba de hipótesis utilizada es la Correlación lineal de Pearson, cuyos resultados se muestran en la cuadro 11

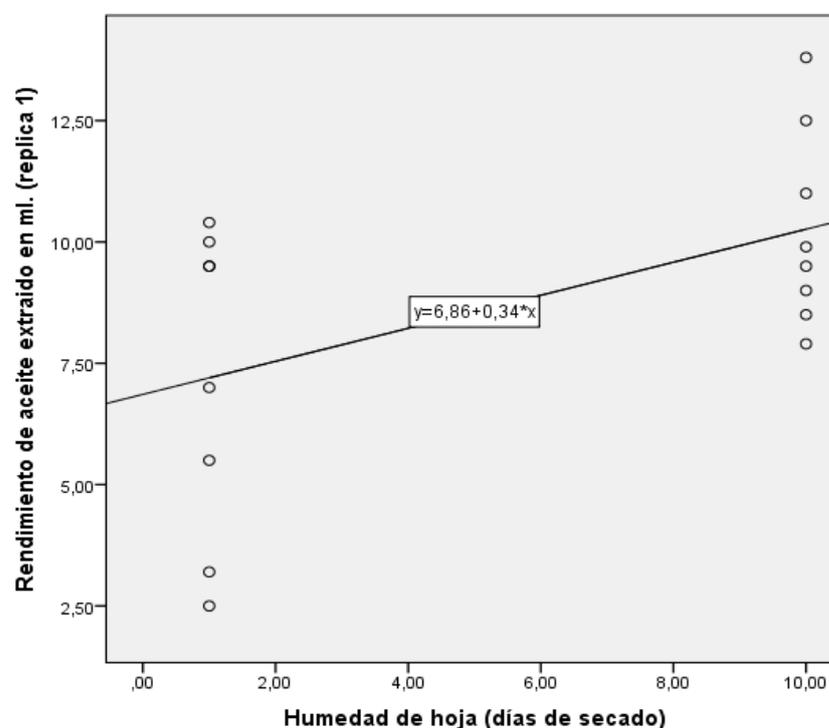
**Cuadro 11.** Nivel de correlación de las variables en estudio

		Rendimiento de aceite esencial. (replica 1)	tiempo de secado (días)
Rendimiento de aceite esencial. (replica 1)	Correlación de Pearson	1	<b>0,525*</b>
	Sig. (bilateral)		0,037
	N	16	16
tiempo de secado (días)	Correlación de Pearson	<b>0,525*</b>	1
	Sig. (bilateral)	0,037	
	N	16	16

\*. La correlación es significativa en el nivel 0,05 (2 colas).

La correlación entre el tiempo de secado (días) y el rendimiento de aceite esencial es de 0,525, lo que significa que es una correlación directa, a medida que se incrementa el tiempo de secado, el rendimiento de aceite esencial será mayor. Se ve que el nivel de significancia de 0,037 es menor que el valor de 0,05 (nivel de confianza), lo que nos permite rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alternativa que nos

indica que si existe una correlación entre el tiempo de secado y el rendimiento de aceite esencial y que es significativa.



**Figura 24.** Correlación entre la variable independiente: tiempo de secado (días) y el rendimiento de aceite esencial

#### 4.1.4 Prueba de correlación entre la variable independiente: tiempo de extracción y el rendimiento de aceite esencial.

**Hipótesis nula; Ho:  $r = 0$ :** No existe relación entre el tiempo de extracción de aceite y el rendimiento de aceite esencial.

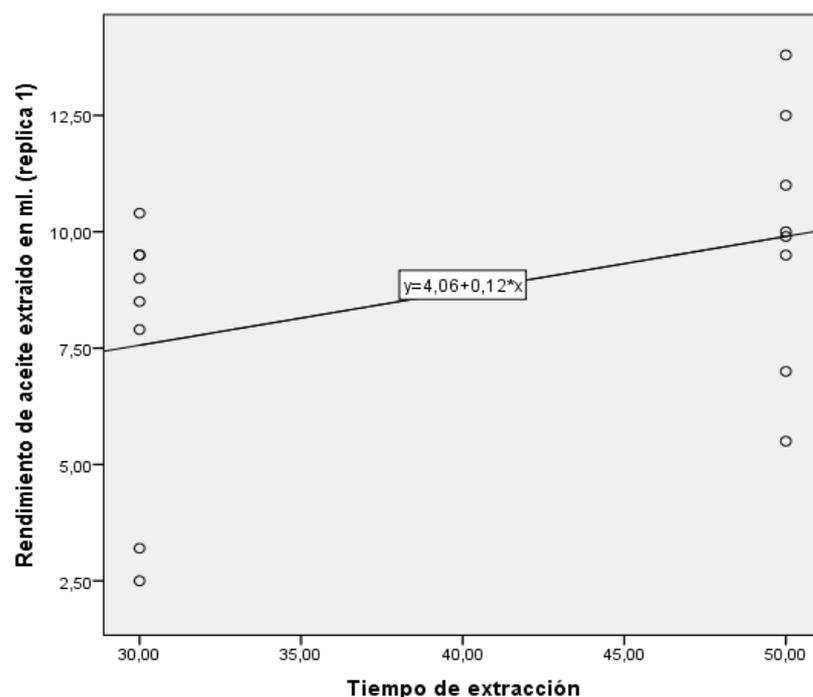
**Hipótesis Alternativa; Ha:  $r \neq 0$ :** Existe relación significativa entre el tiempo de extracción de aceite y el rendimiento de aceite esencial.

La prueba de hipótesis utilizado fue la Correlación rectilínea de Pearson, cuyos resultados se han obtenido utilizando el software estadístico SPSS V-22. Y se muestran en el cuadro 12.

**Cuadro 12.** Nivel de correlación entre el tiempo de extracción y el rendimiento de aceite esencial de eucalipto

		Rendimiento de aceite esencial. (replica 1 y 2)	Tiempo de extracción (min)
Rendimiento de aceite esencial. (replicas 1 y 2)	Correlación de Pearson	1	<b>0,401</b>
	Sig. (bilateral)		0,124
	N	16	16
Tiempo de extracción	Correlación de Pearson	<b>0,401</b>	1
	Sig. (bilateral)	0,124	
	N	16	16

La correlación entre la variable tiempo de extracción y el rendimiento de aceite esencial es de 0,401, lo que significa que es una correlación directa, a medida que se incrementa el tiempo de extracción, el rendimiento de aceite esencial será mayor. Se ve que el nivel de significancia de 0,124 es mayor que el valor de 0,05 (nivel de confianza), lo que nos indica que la relación entre estas dos variables es muy baja.



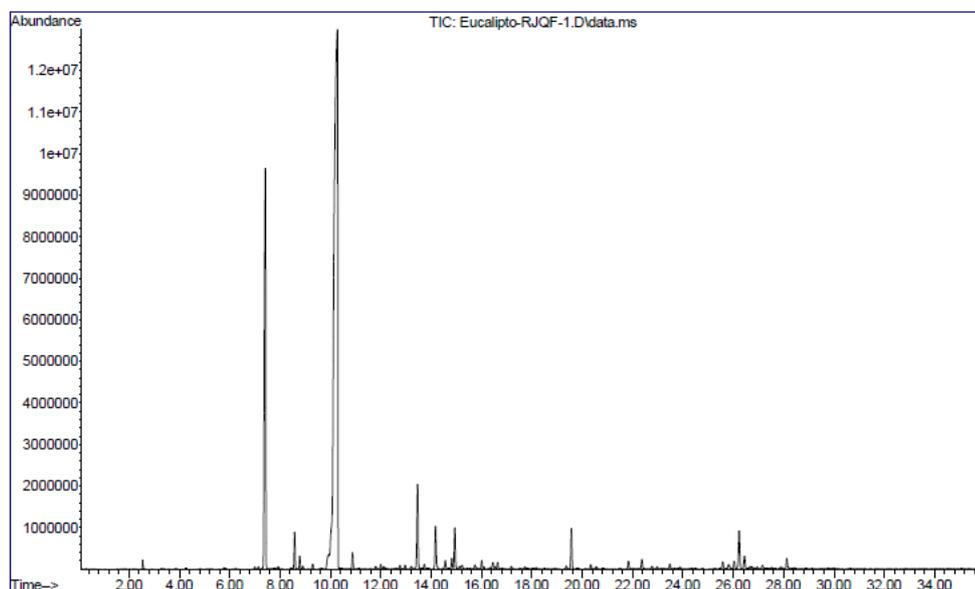
**Figura 25.** Correlación entre la variable independiente: tiempo de extracción (min) y el rendimiento de aceite esencial

#### 4.2 DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE CINEOL EN EL ACEITE ESENCIAL DE EUCALIPTO *Eucalyptus globulus s.p.*

El análisis del aceite esencial se realizó en el Laboratorio de cromatografía y espectrometría – pabellón de control de calidad de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco - UNSAAC.

La composición química del aceite esencial de *Eucalyptus globulus s.p.* fue caracterizado utilizando el cromatógrafo de gases Agilent 6890N, acoplado a un espectrómetro de masas, identificándose 30 compuestos mayoritarios. La identificación se basó en la comparación de las señales del espectro de masas de cada componente del aceite con los datos compilados en la librería NIST011a (Wiley) y Flavor v2 (bases de datos del software).

File :D:\DATA MSD\ACEITES ESENCIALES\2016\RJQF\Eucalipto-RJQF-1.D  
Operator : JCHP  
Acquired : 20 Sep 2016 15:42 using AcqMethod ACEITE ESENCIAL CURSO-14.M  
Instrument : UNSSAC  
Sample Name: AE Arrayan-16  
Misc Info :  
Vial Number: 2



**Figura 26.** Cromatograma del aceite esencial de *Eucalyptus globulus s.p.*

#### **4.2.1 Determinación del contenido de cineol en el aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus s.p.*).**

La determinación del contenido de cineol en el aceite esencial de “*Eucalyptus glóbulus s.p.*” obtenido por destilación con vapor de agua, se realizaron siguiendo las normas técnicas peruanas NTP para análisis de aceites esenciales y cuyos resultados se muestran en el cuadro 13.

**Cuadro 13.** Resultados de análisis físicos y contenido de cineol en el aceite esencial de eucalipto, "*Eucalyptus globulus s.p.*"

Experimento	Cineol (%)
1	63,94
A	64,01
B	63,15
AB	62,80
C	62,43
AC	63,15
BC	62,80
ABC	62,43
Prom.	-

*Fuente:* Datos obtenidos por el autor en base a resultados de laboratorio según las normas técnicas peruanas

### Prueba de Hipótesis Estadística para el contenido de cineol

Determinar si el contenido de cineol presente en el aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus s.p.*) obtenido por destilación con vapor de agua, es mayor al rango establecido en los requerimientos que exige el Indecopi (60% = 0,60) para los aceites esenciales comerciales.

### Planteamiento de la hipótesis del porcentaje de cineol presente en el aceite esencial de eucalipto

Ho:  $\mu \leq 0,60 = 60,0\%$  el contenido de cineol presente en el aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus glóbulus s.p.*) obtenido por destilación con vapor de agua, es menor o igual al rango establecido en los

requerimientos que exige el Indecopi (60% = 0,60) para los aceites esenciales comerciales.

Ha:  $\mu > 0,60 = 60,0\%$  El contenido de cineol presente en el aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus s.p.*) obtenido por destilación con vapor de agua, es mayor al rango establecido en los requerimientos que exige el Indecopi (60% = 0,60) para los aceites esenciales comerciales.

Como la muestra es  $n = 08$ , la estadística de prueba es:

$$T_c = \frac{\bar{x} - \mu}{\frac{\sigma_{n-1}}{\sqrt{n}}}$$

Que tiene una distribución T con  $n - 1 = 8 - 1 = 7$ , grados de libertad, con un nivel de significancia o error del 5%, además suponemos que la población tiene una distribución aproximadamente normal.

De los resultados según el paquete estadístico SPSS tiene:

**Cuadro 14.** Estadísticos para una muestra (% de cineol en el aceite esencial de eucalipto)

		Estadísticos	Bootstrap <sup>a</sup>			
			Sesgo	Error típico	Intervalo de confianza al 95%	
					Inferior	Superior
% de cineol	N	8				
	Media	63,2038	0,0008	0,2356	62,7513	63,6687
	Desviación típ.	0,72168	-0,04869	0,11726	0,41751	0,87017
	Error típ. de la media	0,25515				

a. A no ser que se indique lo contrario, los resultados del bootstrap se basan en 1000 muestras de bootstrap

Reemplazando los resultados en la formula,

$$T_c = \frac{63,2038 - 60}{\frac{0,72168}{\sqrt{8}}} = 12,556$$

**Conclusión:** Como  $T_c = 12,556$  es mayor que  $T_t = +1,8946$  rechazamos la hipótesis nula  $H_0$ , y aceptamos la hipótesis alterna  $H_a$ , es decir, esta muestra contiene suficiente evidencia para indicar que, el contenido de cineol presente en el aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus glóbulus* s.p.) obtenido por destilación con vapor de agua, es mayor al rango establecido en los requerimientos que exige el Indecopi (60% = 0,60) para los aceites esenciales comerciales. A un nivel de significancia o error del 5%.

**Intervalo de confianza.** El mismo que es superior a los rangos que exige Indecopi.

Inferior: 62,7513

Superior: 63,6687

#### 4.3 RESULTADOS DE ANALISIS FISICOQUIMICOS

El análisis fisicoquímico, fue realizado en los laboratorios de la Facultad de Ingeniería Química de la UNA – Puno y en siguiendo estrictamente las normas técnicas peruanas NTP para aceites esenciales, y en especial para aceite esencial de *Eucalyptus globulus s.p.*

Los resultados obtenidos en las pruebas fisicoquímicas se muestran a continuación en el cuadro 15.

**Cuadro 15.** Resultados de ensayos fisicoquímicos del aceite esencial de *Eucalyptus globulus s.p.*

Diseño	Densidad g/ml	Densidad Relativa	Índice de refracción
1	0,8999	0,9015	1,4580
A	0,9000	0,9016	1,4590
B	0.8990	0,9006	1,4600
AB	0,9050	0,9066	1,4620
C	0,9100	0,9116	1,4630
AC	0,8990	0,9006	1,4600
BC	0,9055	0,9071	1,4620
ABC	0,9150	0,9166	1,4630
PROMEDIO	0,9042	0,9058	1,4609

### 4.3.1 Prueba de hipótesis estadística: propiedades físicas del aceite esencial.

#### 4.3.1.1 Densidad relativa.

Determinar si la densidad relativa del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus s.p.*) obtenido por destilación con vapor de agua, está por encima del valor mínimo establecido por el Indecopi para los aceites esenciales comerciales (Densidad relativa promedio del rango = 0,902).

#### Planteamiento de la hipótesis para la densidad relativa.

Ho:  $\mu = 0,902$  La densidad relativa presente en el aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus s.p.*) obtenido por destilación con vapor de agua, es igual al promedio del rango establecido en los requerimientos que exige el Indecopi para los aceites esenciales comerciales.

Ha:  $\mu \neq 0,902$  La densidad relativa presente en el aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus sp*) obtenido por destilación con vapor de agua, es diferente al promedio del rango establecido en los requerimientos que exige el Indecopi para los aceites esenciales comerciales.

Como la muestra es  $n = 08$ , la estadística de prueba es:

$$T_c = \frac{\bar{x} - \mu}{\frac{\sigma_{n-1}}{\sqrt{n}}}$$

Que tiene una distribución T con  $n - 1 = 8 - 1 = 7$ , grados de libertad, con un nivel de significancia o error del 5%, además suponemos que la población tiene una distribución aproximadamente normal.

De los resultados según el paquete estadístico SPSS tiene:

**Cuadro 16.** Estadísticos para una muestra (densidad relativa)

		Statístic	Bootstrap <sup>a</sup>			
			Sesgo	Típ. Error	Intervalo de confianza al 95%	
					Inferior	Superior
Densidad relativa	N	8				
	Media	0,9026	0,0001	0,0014	0,9000	0,9053
	Desviación típ.	0,00428	-0,00032	0,00067	0,00256	0,00506
	Error típ. de la media	0,00151				

a. A no ser que se indique lo contrario, los resultados del bootstrap se basan en 1000 muestras de bootstrap

Reemplazando los resultados en la formula,

$$T_c = \frac{0,9026 - 0.902}{\frac{0,00428}{\sqrt{8}}} = 0,396$$

**Conclusión:** Como  $T_c = 0,396$  es menor que  $T_t = \pm 2,3646$  rechazamos la hipótesis alterna  $H_a$ , y aceptamos la hipótesis nula  $H_0$ , es decir, esta muestra contiene suficiente evidencia para indicar que, la densidad relativa presente en el aceite esencial de

eucalipto (*Eucalyptus globulus s.p.*) obtenido por destilación con vapor de agua, es diferente al promedio del rango establecido en los requerimientos que exige el Indecopi para los aceites esenciales comerciales. A un nivel de significancia o error del 5%.

**Intervalo de confianza.** Donde observamos que los resultados del intervalo de confianza están dentro del rango que exige Indecopi.

Inferior: 0,9000

Superior: 0,9053

#### 4.3.1.2 Índice de refracción

Determinar si el índice de refracción del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus s.p.*) obtenido por destilación con vapor de agua, está por encima del valor mínimo establecido por las NTP dadas por el Indecopi para los aceites esenciales comerciales (Índice de refracción promedio del rango = 1,4613).

#### Planteamiento de las hipótesis para el índice de refracción.

Ho:  $\mu = 1,4613$  El índice de refracción presente en el aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus s.p.*) obtenido por destilación con vapor de agua, es igual al promedio del rango establecido en los requerimientos que exige el Indecopi para los aceites esenciales comerciales.

Ha:  $\mu \neq 1,4613$  El índice de refracción presente en el aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus s.p.*) obtenido por

destilación con vapor de agua, es diferente al promedio del rango establecido en los requerimientos que exige el Indecopi para los aceites esenciales comerciales.

Como la muestra es  $n = 08$ , la estadística de prueba es:

$$T_c = \frac{\bar{x} - \mu}{\frac{\sigma_{n-1}}{\sqrt{n}}}$$

Que tiene una distribución T con  $n - 1 = 8 - 1 = 7$ , grados de libertad, con un nivel de significancia o error del 5%, además suponemos que la población tiene una distribución aproximadamente normal.

De los resultados según el paquete estadístico SPSS tiene:

**Cuadro 17.** Estadísticos para una muestra (índice de refracción)

		Statistic	Bootstrap <sup>a</sup>			
			Sesgo	Típ. Error	Intervalo de confianza al 95%	
					Inferior	Superior
Índice de refracción	N	8				
	Media	1,4605	0,0000	0,0007	1,4592	1,4618
	Desviación típ.	0,00198	-0,00015	0,00032	0,0010 3	0,0023 6
	Error típ. de la media	0,00070				

a. A no ser que se indique lo contrario, los resultados del bootstrap se basan en 1000 muestras de bootstrap

Reemplazando los resultados en la formula,

$$T_c = \frac{1,4605 - 1,4613}{\frac{0,00198}{\sqrt{8}}} = -1,142$$

**Conclusión:** Como  $T_c = -1,142$  es menor que  $T_t = \pm 2,3646$  el cual pertenece a la zona de aceptación, rechazamos la hipótesis alterna  $H_a$ , y aceptamos la hipótesis nula  $H_0$ , es decir, esta muestra contiene suficiente evidencia para indicar que, el índice de refracción presente en el aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus glóbulus s.p.*) obtenido por destilación con vapor de agua, es igual al promedio del rango establecido en los requerimientos que exige el Indecopi para los aceites esenciales comerciales. A un nivel de significancia o error del 5%.

**Intervalo de confianza.** Donde observamos que los resultados del intervalo de confianza están dentro del rango que exige Indecopi.

Inferior: 1,4592

Superior: 1,4618

**Cuadro 18.** Comparación de resultados de ensayos fisicoquímicos de aceite esencial de *Eucalyptus globulus s.p.* con las NTP.

Nro	Parámetro	Resultado	NTP	Unidad
1	Cineol	63,964	60	%
2	Densidad	0,9042		g/mL
3	Densidad relativa	0,9058	0,8985 – 0,9055	Adim.
4	Índice de refracción	1,4609	1,4559 – 1,4667	Adim.

De los resultados obtenidos en los ensayos fisicoquímicos del aceite esencial de *Eucalyptus globulus s.p.*, en comparación con los requerimientos que establecen las normas técnicas peruanas – NTP, están dentro del rango establecido, por lo que el producto si es posible llevarlo a una comercialización en el mercado nacional e internacional.

#### 4.4 RESULTADOS DEL BALANCE DE MATERIA

El balance de materia se realiza en función a la cantidad de aceite esencial extraído:

Balance de materia general.

$$F = m_{hoja} + m_{oil}$$

$$F * X_F = m_{hoja} * X_{hoja} + m_{oil} * X_{oil}$$

Asumiendo una recuperación completa (100%) del aceite esencial tendremos:

$$X_{oil} = 1$$

$$X_{hoja} = 0$$

Reemplazando en la ecuación de balance de materia general:

$$X_F = \frac{12,2067 \text{ g}}{2000 \text{ g}}$$

$$X_F = 6,103 \times 10^{-3}$$

Por lo tanto, el rendimiento será:

$$\%R = \frac{12,2067 \text{ g}}{2000\text{g}} * 100$$

$$\%R = 0,6103 \%$$

Este resultado nos indica que el rendimiento de extracción de aceite esencial de eucalipto es de 0,6103%.

#### 4.5 RESULTADOS DEL BALANCE DE ENERGÍA

El balance de energía viene dado por la siguiente expresión:

$$\left( \begin{array}{c} \text{Calor} \\ \text{suministrado} \\ \text{al sistema} \end{array} \right) = \left( \begin{array}{c} \text{Calor} \\ \text{suministrado} \\ \text{por el sistema} \end{array} \right) + \left( \begin{array}{c} \text{Calor disipado} \\ \text{a los} \\ \text{alrededores} \end{array} \right)$$

$$Q_T = Q_C + Q_P$$

##### Balance de energía en el generador de vapor

El calor total generado, se determina mediante la siguiente ecuación:

$$Q_T = Q_{H_2O} + Q_D$$

Dónde:  $Q_T$ : Calor total generado, kcal.

$Q_{H_2O}$ : Calor consumido por el agua, kcal.

$Q_D$ : Calor disipado, kcal.

##### Cálculo del calor total generado.

El calor total generado por el hervidor está dado por la potencia de la resistencia en contacto y el tiempo total de calentamiento.

$$Q_T = P * (t_{TC} + t_v)$$

$P$ : Potencia = 15 kW (resistencia eléctrica externa)

$t_{TC}$ : Tiempo total de calentamiento = 0,5 h = 30 min

$t_v$ : Tiempo de vaporización = 1,5 h

$$Q_T = 15 \text{ kW} * (0,5 + 1,5)h$$

$$Q_T = 30 \text{ kW} \cdot h * \left( \frac{860,4206 \text{ kcal}}{1 \text{ kW} \cdot h} \right)$$

$$Q_T = 25812,618 \text{ kcal}$$

### Cálculo del calor consumido por el agua

El calor consumido por el agua se determina mediante la ecuación dada por Cengel, (2011)

$$Q_{H_2O} = mC_p\Delta T + m_v h_v$$

Dónde:

$m$  =: Masa de agua = 10 kg = 10 L.

$C_p$  =: Calor específico del agua =  $1,00604 \frac{\text{kcal}}{\text{kg}}$

$\Delta T$  =: Variación de la temperatura ( $T_2 - T_1$ ), °C.

$T_2$  =: Temperatura de salida de vapor de agua = 87 °C.

$T_1$  =: Temperatura de entrada de agua = 14 °C.

$m_v$  =: Vapor generado en una corriente = 6,4 kg.

$h_v$  =: Calor latente de vaporización del agua a 87°C = 634,06

$$\frac{\text{kcal}}{\text{kg}}$$

$$Q_{H_2O} = 10Kg * 1,00604 \frac{kcal}{kg \cdot ^\circ C} * (87 - 14)^\circ C + 6,4Kg * 634,06 \frac{kcal}{kg}$$

$$Q_{H_2O} = 4792,3932kcal$$

### Cálculo del calor disipado

Para calcular el calor disipado en el generador de vapor de agua se reemplaza los valores de las ecuaciones.

$$Q_D = Q_T - Q_{H_2O}$$

$$Q_D = 25812,618 kcal - 4792,3932 kcal$$

$$Q_D = 21020,2248 kcal$$

### Balance de energía en el tanque extractor

Kern, (2007). Nos indica el cálculo del balance de energía mediante la siguiente ecuación:

$$Q_V = Q_E + Q_D + Q_{CE}$$

Dónde:

$Q_V$ : Calor latente del vapor, kcal.

$Q_E$ : Calor consumido en el extractor, kcal.

$Q_D$ : Calor disipado, kcal.

$Q_{CE}$ : Calor necesario para calentar el lecho de extracción, kcal.

### Cálculo del calor que lleva el vapor

El calor que lleva el vapor se determina según la siguiente ecuación:

(Kern, 2007).

$$Q_V = m_v * h_v$$

Dónde:

$m_v$ : Flujo de vapor = 6,4 kg

$h_v$ : Calor de vaporización del agua a 87°C = 634,06  $\frac{kcal}{kg}$

$$Q_V = 6,4 \text{ kg} * 634,06 \frac{kcal}{kg}$$

$$Q_V = 4057,98 \text{ kcal}$$

### Cálculo del calor consumido en el extractor

El calor consumido en el extractor se determina por la siguiente ecuación:

$$Q_E = m_d * h_v + m_M * C_{P_M} * \Delta T$$

Dónde:

$m_d$ : Masa del destilado = 4,2 kg

$h_v$ : Calor de vaporización del agua a 87°C = 634,06  $\frac{kcal}{kg}$

$m_M$ : Masa total de la muestra = 4,5 kg

$T_1$ : Temperatura de ingreso = 68 °C

$T_2$ : Temperatura de salida = 87 °C

$C_{P_m}$ : Calor específico de la muestra (agua) = 4,186  $\frac{kcal}{kg \cdot ^\circ C}$

Como la masa de vapor de agua con relación a la del aceite esencial es superior, todos los cálculos se realizan como si se tratara de vapor de agua.

Reemplazando en:

$$Q_E = 4,2 \text{ kg} * 634,06 \frac{\text{kcal}}{\text{kg}} + 4,5 \text{ kg} * 4,186 \frac{\text{kcal}}{\text{kg} \cdot ^\circ\text{C}} * (87 - 68)^\circ\text{C}$$

$$Q_E = 3020,955 \text{ kcal}$$

### **Cálculo del calor necesario para calentar el lecho de extracción.**

El calor necesario para el calentamiento del extractor está dado por la siguiente ecuación.

$$Q_{CE} = m * C_P * (T_2 - T_1)$$

Dónde:

$m$ : Masa de extractor = 6,10 kg

$C_P$ : Calor específico =  $4,186 \frac{\text{kcal}}{\text{kg} \cdot ^\circ\text{C}}$

$T_2$ : Temperatura de la pared = 87 °C

$T_1$ : Temperatura de ingreso = 68 °C

$$Q_{CE} = 6,10 \text{ kg} * 4,186 \frac{\text{kcal}}{\text{kg} \cdot ^\circ\text{C}} * (87 - 68)^\circ\text{C}$$

$$Q_{CE} = 485,157 \text{ kcal}$$

**Cálculo del calor necesario para calentar el lecho de extracción**

Deduciendo el calor disipado según la ecuación tenemos:

$$Q_D = Q_V - (Q_E + Q_{CE})$$

$$Q_D = 4057,98 \text{ kcal} - (3020,955 + 485,157) \text{ kcal}$$

$$Q_D = 551,868 \text{ kcal}$$

Que es el calor necesario para poder calentar el lecho de extracción.

## CONCLUSIONES

- El modelo matemático formulado para la predicción del rendimiento de aceite esencial de *Eucalyptus globulus s.p.* es el más adecuado y óptimo de acuerdo a los resultados obtenidos del análisis estadístico de los diseños experimentales mediante el software Statgraphics, dándonos como resultado que las variables que más influyen en el rendimiento son: tamaño de hoja: picadas; estado de las hojas: secas y con un tiempo de extracción de 50 minutos, con los cuales se obtiene un rendimiento de 0,6103 %. El modelo matemático obtenido por el análisis es el siguiente:

$$\text{Extracción} = 10,3463 - 10,1741*X_1 - 0,30463*X_2 + 0,0311806*X_3 + 0,507407*X_1*X_2 + 0,065*X_1*X_3 + 0,00819444*X_2*X_3$$

- Las variables seleccionadas para realizar el análisis y desarrollo del modelo matemático son: tamaño de hojas (hojas picadas), tiempo de secado (hojas secas) y tiempo de extracción (50 minutos). El modelo matemático predice con alto grado de certeza el rendimiento de extracción de aceite esencial de *Eucalyptus globulus s.p.* mediante este modelo se han predicho rendimientos de hasta 0,6103 % de extracción.

- El contenido de cineol en el aceite esencial de *Eucalyptus globulus s.p.* es de 63,964 %, el cual está dentro del rango que establece las normas técnicas peruanas - NTP.
- Las propiedades físicas del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus s.p.*) obtenidos por destilación con vapor de agua tienen los siguientes valores: la densidad del aceite esencial de eucalipto extraído es de 0,9042 g/mL; la densidad relativa es de 0,9058 y el índice de refracción es de 1,4609; estos resultados están de acuerdo a los requerimientos que establecen las normas técnicas peruanas – NTP para los aceites esenciales comerciales.

## RECOMENDACIONES

- Es necesario realizar más experimentos con variables diferentes a los estudiados en este trabajo, para poder desarrollar un modelo matemático que se adecúe a las diferentes situaciones y condiciones y una mejor optimización del rendimiento en el proceso de extracción de aceites esenciales de eucalipto, (*Eucalyptus globulus s.p.*).
- Realizar trabajos de investigación con el análisis de otras propiedades físicas y químicas que sean influenciadas por la interacción de las variables de estudio y determinar su adecuación de acuerdo a los requerimientos de las normas técnicas peruanas para aceites esenciales comerciales.

## BIBLIOGRAFÍA

- Benyoussef, E.-H.; Hasni, S.; Belabbes, R.; Bessiere, J.-M. (2002). *Modélisation du transfert de matière lors de l'extraction de l'huile essentielle des fruits de coriandre*. Chem. Eng. J., 85, 1-5
- Bisset, N. G. (1994). Herbal drug and phytopharmaceuticals. A handbook for practice on a scientist basis. Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart, U. K.
- Brooker, M. I. H., & Kleinig, D. A. (1983). *Field guide to eucalypts. Volume 1. South-eastern Australia*. Inkata Press Pty Ltd.
- Bruneton, J. (2001). Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales. 2ª Edición. Acribia, Zaragoza.
- Cassel, E., Vargas, R. M. F., Martinez, N., Lorenzo, D., & Dellacassa, E. (2009). Steam distillation modeling for essential oil extraction process. *Industrial crops and products*, 29(1), 171-176.

- Cassel, E., & Vargas, R. M. (2006). Experiments and modeling of the Cymbopogon winterianus essential oil extraction by steam distillation. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 50(3), 126-129.
- Cengel, Y. A. (2007). *Heat and mass transfer*. Tata McGraw-Hill Education.
- Cozzo, D. (1976). Tecnología de las forestaciones en la Argentina y América Latina. Editorial Hemisferio Sur. Bs. As. pp. 608-609.
- Felton Grimwade & Bosisto's (2009). Eucalyptus Oil. Recuperado de: <http://www.eucalyptusoil.com/eucalyptus-oils/eucalyptus-polybractea>
- Food and Drug Administration. (2003). Code of federal Regulations.
- Guenther, E. (1948). *The essential oils*. D Van Nostrand Company; Newyork.
- Hernández, V. L. (2005). Comparación de la calidad del aceite esencial crudo de citronela (*Cymbopogon winteriana jowitt*) en función de la concentración de geraniol obtenido por medio de extracción por arrastre con vapor y maceración. *Guatemala, Republica de Guatemala*.
- Kern, D. Q., & Kern Donald, Q. (2007). *Process heat transfer*. Tata Mc Graw Hill Publishing Company Limited.
- Kuehl, R. O. (2001). Diseño de experimentos. Principios estadísticos de diseño y análisis de investigación. Thomson Editores, S.A. Segunda edición. México.
- Martínez, A. (1996). Aceites esenciales. *J. Nat. Prod*, 59(1), 77-79.

- Moreno, J., López, G., & Jara, R. S. (2010). Modelación y optimización del proceso de extracción de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus*). *Scientia Agropecuaria*, 1(2), 147-154.
- Mu'azu, K., Mohammed-Dabo, I. A., & Waziri, S. M. (2012). Development of mathematical model for the prediction of essential oil extraction from *Eucalyptus citriodora* leave. *Journal of Basic and Applied Scientific Research*, 2(3), 2298-2306
- Naturaesén, Sena, Incubar, (2006) Introducción a la industria de los aceites esenciales extraídos de plantas Medicinales y Aromáticas. Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA). Manizales: SENA. Recuperado de: <http://biblioteca.sena.edu.co/coleccion/1.html>.
- Palomino, O. (2001). Métodos analíticos para la identificación de Plantas Medicinales. Apuntes del Curso de la Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (AEFI)
- Palomino A. (2001). "Nuevo modelo para la hidrodestilación de aceites esenciales". Revista Peruana de Química e Ingeniería Química. Vol. 3 pág. 36 – 47. Lima, Perú.
- Palomino, A. y Cerpa, M. (1999). *Hidroextracción de los aceites esenciales*. Memorias de la IV Reunión de Fenómenos de Transporte. Callao, Perú.
- Ramirez-Arroyo, R., Dapozzo-Ibáñez, B., Sánchez-Montesinos, C., & Pacheco-Roldan, D., (2011). Perú Forestal en números año 2010. *DGFFS del Ministerio de Agricultura, Lima Google Scholar*.

- Rezzoug, S. A., Boutekedjiret, C., & Allaf, K. (2005). Optimization of operating conditions of rosemary essential oil extraction by a fast controlled pressure drop process using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 71(1), 9-17.
- Rodríguez, M., Alcaraz, L., & Real, S. (2012). Procedimientos para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas. *Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, SC La Paz, Baja California Sur, México*.
- Russo, S. (2013). Toxicidad, efecto antialimentario y repelente de metabolitos secundarios de *Eucalyptus globulus* (Labill)(Myrtaceae) sobre coleópteros de importancia agrícola (Doctoral dissertation, Facultad de Ciencias Naturales y Museo).
- Sanchez, F. (2006, October). Extracción de aceites esenciales. In *Memorias II Congreso Internacional de Plantas Medicinales y Aromáticas. Palmira (Colombia)*.
- Silou, T., Mapola, G., Makany, R. A., Loumouamou, A. N., Malanda, M., & Chalchat, J. C. (2009). Model of steam and water extraction of essential oil of *Eucalyptus citriodora* using a complete  $2^n$  factorial plan. *International Journal of Food Engineering*, 5(4), 9.
- Sovová, H., & Aleksovski, S. A. (2006). Mathematical model for hydrodistillation of essential oils. *Flavour and fragrance journal*, 21(6), 881-889.
- Vargas, A., & Bottia, E. (2008). Estudio de la composición química de los aceites esenciales de seis especies vegetales cultivadas en los municipios de Bolívar y el peñón–Santander, Colombia. *Proyecto de*

*grado, Universidad Industrial de Santander Facultad de Ciencias,  
Escuela de Química.*

Vogel A. (2015). Plant Encyclopedia. Recuperado de:  
<http://www.avogel.ca/en/plant-encyclopedia/>

Winkler, N., & Guerreiro, C. A. (1998). *Environmentally Sound Forest  
Harvesting: Testing the Applicability the FAO Model Code in the Amazon  
in Brazil*. FAO.



**ANEXOS**

**Anexo 1.** Constancia de análisis de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus s.p.*)**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA – Pabellón de Control de Calidad  
AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855**CONSTANCIA DE ANÁLISIS**

El que suscribe, analista responsable del Laboratorio de Cromatografía de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, deja Constancia.

Que el maestrista Rene Justo Quispe Flores de Maestría en Ciencias: Mención en Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Altiplano - Puno, ha presentado al laboratorio un frasco con aceite esencial para su identificación de sus componentes, como parte de su proyecto de investigación titulado "MODELADO MATEMATICO DE LA EXTRACCION DE ACEITE ESENCIAL DE EUCALIPTO "*Eucalyptus Glóbulus s.p.*" POR DESTILACION CON VAPOR DE AGUA". La composición química fue caracterizado utilizando el Cromatógrafo de Gases Agilent 6890N, acoplado a un Espectrómetro de Masas. La identificación se basó en la comparación de las señales del espectro de masas de cada componente del aceite con los datos compilados en la librería NIST011a (Wiley) y Flavor v2

Se expide la siguiente constancia a solicitud del interesado para los fines que viera por conveniente.

Cusco, 21 de Septiembre del 2016

Arre



Quim. Jorge Choquenaira Pari  
Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
Espectrometría – UNSAAC.  
CQP - 914

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO****FACULTAD DE CIENCIAS**LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA - Pabellon de Control de Calidad  
AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERU Contacto 973868855**Resultados**

Resultado del análisis.

Solicitante : Rene Justo Quispe Flores  
Muestra : Aceite esencial**Condiciones de análisis**

Cromatógrafo: Agilent 6890N

Detector de Masas Agilent 5975B.  
Línea de transferencia: 280°C  
Impacto Electrónico: 70 eV

Inyector Automático Agilent: 7683B

Columna: Agilent HP-5MS 5% Fenil Metil Siloxano.

Condiciones del cromatógrafo.

Temperatura del Horno inicial 60°C

Rampa:			
Rate °C/min	temp °C	Final time	
Inic	0	60	0.00
1	5.00	240	36

Post Run time: 280 4.00 min

Tiempo de Análisis: 36.00 min

Puerto de Inyección  
Modo: Split  
Relación de Split: 50:1  
Temp. Inicial: 200 °C  
Tipo de Gas: Helio  
Flujo: 1 mL/min  
Volumen de Inyección: 0.1µL  
Muestra inyecta: puro


Quim. Jorge Choquenaira Pari  
Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
Espectrometría - UNSAAC.  
CQP - 914



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
 LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA - Pabellón de Control de Calidad  
 AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855

Lab Cromatografia UNSAAC Library Search Report

Data Path : D:\DATA MSD\ACEITES ESENCIALES\2016\RJQF\  
 Data File : Eucalipto-RJQF-1.D  
 Acq On : 20 Sep 2016 15:42  
 Operator : JCHP  
 Sample : AE Arrayan-16  
 Misc :  
 ALS Vial : 2 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\NIST11.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex  
 Integration Events: RTE Integrator - Aceites canon LSQ.P

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	2.544	0.16	C:\Database\NIST11.L Butanal, 3-methyl- Butanal, 3-methyl- Butanal, 3-methyl-	1742 1741 1743	000590-86-3 000590-86-3 000590-86-3	91 91 90
2	7.412	18.65	C:\Database\NIST11.L (1R)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1] hept-2-ene (1R)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1] hept-2-ene .alpha.-Pinene	15852 15854 15705	007785-70-8 007785-70-8 000080-56-8	96 95 94
3	8.574	1.16	C:\Database\NIST11.L .beta.-Pinene Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethy 1-2-methylene-, (1S)- .beta.-Pinene	15696 15902 15694	000127-91-3 018172-67-3 000127-91-3	94 91 91
4	8.777	0.41	C:\Database\NIST11.L .beta.-Myrcene .beta.-Myrcene .beta.-Myrcene	15697 15701 15700	000123-35-3 000123-35-3 000123-35-3	91 91 86
5	9.293	0.18	C:\Database\NIST11.L .alpha.-Phellandrene .alpha.-Phellandrene .alpha.-Phellandrene	15728 15726 15729	000099-83-2 000099-83-2 000099-83-2	76 76 74
6	9.936	0.32	C:\Database\NIST11.L Benzene, 1-methyl-3-(1-methylethyl )- Benzene, 1-methyl-3-(1-methylethyl )- o-Cymene	14907 14909 14812	000535-77-3 000535-77-3 000527-84-4	95 94 94
7	10.274	63.96	C:\Database\NIST11.L Eucalyptol Eucalyptol Eucalyptol	26615 26624 26625	000470-82-6 000470-82-6 000470-82-6	98 97 91
8	10.875	0.54	C:\Database\NIST11.L .gamma.-Terpinene .gamma.-Terpinene .gamma.-Terpinene	15711 15709 15708	000099-85-4 000099-85-4 000099-85-4	95 94 94
9	13.459	3.15	C:\Database\NIST11.L Bicyclo[3.1.1]heptan-3-ol, 6,6-dim ethyl-2-methylene-, [1S-(1.alpha., 3.alpha.,5.alpha.)]- Bicyclo[3.1.1]heptan-3-ol, 6,6-dim ethyl-2-methylene-, [1S-(1.alpha., 3.alpha.,5.alpha.)]- Bicyclo[3.1.1]heptan-3-ol, 6,6-dim ethyl-2-methylene-, [1S-(1.alpha., 3.alpha.,5.alpha.)]-	25381 25380 25382	000547-61-5 000547-61-5 000547-61-5	95 90 72
10	13.725	0.17	C:\Database\NIST11.L			

Quim. Jorge Choquenaira Pari  
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
 Espectrometría - UNSAAC.  
 CCP - 914



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
 LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA - Pabellón de Control de Calidad  
 AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855

			1,5,7-Octatrien-3-ol, 2,6-dimethyl	25196	029414-56-0	52
			1,4-Pentadiene	439	000591-93-5	38
			1,3-Pentadiene	435	000504-60-9	38
11	14.173	1.75	C:\Database\NIST11.L			
			Pinocarvone	23679	030460-92-5	80
			Pinocarvone	23678	030460-92-5	70
			3-Cyclohexene-1-acetic acid, .alph	37360	077846-83-4	53
			a.-oxo-, methyl ester			
12	14.558	0.35	C:\Database\NIST11.L			
			Terpinen-4-ol	26663	000562-74-3	97
			Terpinen-4-ol	26662	000562-74-3	96
			3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-m	26914	020126-76-5	96
			ethylethyl)-, (R)-			
13	14.816	0.36	C:\Database\NIST11.L			
			trans-p-mentha-1(7),8-dien-2-ol	25172	1000374-16-7	99
			p-Mentha-1(7),8-dien-2-ol	25140	035907-10-9	80
			5-Endo-hydroxy-protoadamantane	25169	1000146-18-9	50
14	14.939	1.50	C:\Database\NIST11.L			
			.alpha.-Terpineol	26682	000098-55-5	91
			.alpha.-Terpineol	26684	000098-55-5	87
			L-.alpha.-Terpineol	26687	010482-56-1	86
15	15.738	0.20	C:\Database\NIST11.L			
			2-Cyclohexen-1-ol, 2-methyl-5-(1-m	25351	001197-06-4	95
			ethylethenyl)-, cis-			
			trans-Carveol	25087	001197-07-5	64
			trans-Carveol	25082	001197-07-5	59
16	16.008	0.27	C:\Database\NIST11.L			
			cis-p-mentha-1(7),8-dien-2-ol	25159	1000374-16-8	97
			p-Mentha-1(7),8-dien-2-ol	25140	035907-10-9	43
			3-Oxatricyclo[4.1.1.0(2,4)]octane,	25324	001686-14-2	43
			2,7,7-trimethyl-			
17	16.448	0.23	C:\Database\NIST11.L			
			Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methy	25290	015932-80-6	98
			lethylidene)-			
			Pulegone	25067	000089-82-7	98
			Pulegone	25066	000089-82-7	97
18	16.643	0.21	C:\Database\NIST11.L			
			Geraniol	26608	000106-24-1	94
			2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-,	26831	000106-25-2	64
			(Z)-			
			Geraniol	26611	000106-24-1	59
19	19.569	1.53	C:\Database\NIST11.L			
			3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,	58096	000080-26-2	91
			.alpha.,4-trimethyl-, acetate			
			Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methyle	15858	000586-62-9	90
			thylidene)-			
			3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,	69396	000080-27-3	90
			.alpha.,4-trimethyl-, propanoate			
20	20.339	0.15	C:\Database\NIST11.L			
			2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-,	26832	000106-25-2	87
			(Z)-			
			2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-,	58040	000141-12-8	86
			acetate, (Z)-			
			2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-,	69355	000105-91-9	78
			propanoate, (Z)-			
21	21.835	0.31	C:\Database\NIST11.L			
			Caryophyllene	64272	000087-44-5	99
			Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11	64418	013877-93-5	95
			-trimethyl-8-methylene-			
			Caryophyllene	64275	000087-44-5	94
22	22.368	0.37	C:\Database\NIST11.L			
			Aromandendrene	64290	000489-39-4	99

.....  
 Quím. Jorge Choquenaira Pari  
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
 Espectrometría - UNSAAC.  
 COP - 914



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
 LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA – Pabellón de Control de Calidad  
 AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855

			Alloaromadendrene	64332 025246-27-9 99
			1H-Cycloprop[e]azulene, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-	64431 072747-25-2 99
23	23.480	0.24	C:\Database\NIST11.L	
			1H-Cyclopenta[1,3]cyclopropa[1,2]benzene, octahydro-7-methyl-3-methylene-4-(1-methylethyl)-, [3aS-(3a.alpha.,3b.beta.,4.beta.,7.alpha.,7aS*)]-.beta.-copaene	64586 013744-15-5 92
			1H-Cyclopenta[1,3]cyclopropa[1,2]benzene, octahydro-7-methyl-3-methylene-4-(1-methylethyl)-, [3aS-(3a.alpha.,3b.beta.,4.beta.,7.alpha.,7aS*)]-	64281 1000374-18-9 90
			64587 013744-15-5 89	
24	25.582	0.29	C:\Database\NIST11.L	
			Aromadendrene	64290 000489-39-4 96
			Azulene, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1R-(1.alpha.,3a.beta.,4.alpha.,7.beta.)]-	64561 022567-17-5 95
			Epiglobulol	79381 1000150-05-1 93
25	25.810	0.23	C:\Database\NIST11.L	
			Alloaromadendrene	64327 025246-27-9 95
			Azulene, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1R-(1.alpha.,3a.beta.,4.alpha.,7.beta.)]-	64561 022567-17-5 95
			Naphthalene, 1,2,4a,5,8,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, [1S-(1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)]-	64529 000523-47-7 91
26	26.030	0.31	C:\Database\NIST11.L	
			1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1aR-(1a.alpha.,4a.alpha.,7.beta.,7a.beta.,7b.alpha.)]-	77648 006750-60-3 99
			(-)-Spathulenol	77506 077171-55-2 70
			1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1aR-(1a.alpha.,4a.alpha.,7.beta.,7a.beta.,7b.alpha.)]-	77647 006750-60-3 62
27	26.229	1.71	C:\Database\NIST11.L	
			Azulene, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1R-(1.alpha.,3a.beta.,4.alpha.,7.beta.)]-	64562 022567-17-5 97
			Alloaromadendrene	64322 025246-27-9 96
			1H-Cycloprop[e]azulene, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR-(1a.alpha.,7.alpha.,7a.beta.,7b.alpha.)]-	64571 021747-46-6 96
28	26.440	0.61	C:\Database\NIST11.L	
			Longifolene	64271 000475-20-7 89
			Longifolene	64265 000475-20-7 83
			1H-Cycloprop[e]azulen-4-ol, decahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR-(1a.alpha.,4.beta.,4a.beta.,7.alpha.,7a.beta.,7b.alpha.)]-	79521 000552-02-3 70
29	27.159	0.19	C:\Database\NIST11.L	
			1-Cycloheptene, 1,4-dimethyl-3-(2-methyl-1-propene-1-yl)-4-vinyl-	64439 1000159-38-6 48
			1H-Indene, 1-ethylideneoctahydro-7a-methyl-, cis-	33797 056362-87-9 43
			2-Naphthalenemethanol, decahydro-.alpha.,.alpha.,4a-trimethyl-8-methylene-, [2R-(2.alpha.,4a.alpha.,8a	79501 000473-15-4 38

Quim. Jorge Choquenaira Pari  
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría - UNSAAC.  
 COP - 914



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
 LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA - Pabellón de Control de Calidad  
 AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855

.beta.)]-

30	28.123	0.50	C:\Database\NIST11.L		
			.beta.-Asarone	67455	005273-86-9 98
			Asarone	67451	002883-98-9 98
			Asarone	67450	002883-98-9 97

ACEITE ESEN...L CURSO-14.M Wed Sep 21 07:53:50 2016 UNSAAC



.....  
 Quim. Jorge Choquenaira Pari  
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
 Espectrometría - UNSAAC.  
 CQP - 914

Anexo 2. Composición de aceite esencial en porcentajes



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
 LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA - Pabellón de Control de Calidad  
 AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERU Contacto 973868855

Lab Cromatografía UNSAAC Area Percent Report

Data Path : D:\DATA MSD\ACEITES ESENCIALES\2016\RJQF\  
 Data File : Eucalipto-RJQF-1.D  
 Acq On : 20 Sep 2016 15:42  
 Operator : JCHP  
 Sample : AE Arrayan-16  
 Misc :  
 ALS Vial : 2 Sample Multiplier: 1

Integration Parameters: Aceites canon LSQ.P  
 Integrator: RTE  
 Smoothing : ON  
 Sampling : 1  
 Start Thrs: 0.001  
 Stop Thrs : 0  
 Filtering: 5  
 Min Area: 100 Area counts  
 Max Peaks: 30  
 Peak Location: TOP

If leading or trailing edge < 1 prefer < Baseline drop else tangent >  
 Peak separation: 100

Method : C:\msdchem\1\methods\ACEITE ESENCIAL CURSO-14.M  
 Title :

Signal : TIC: Eucalipto-RJQF-1.D\data.ms

peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. area	corr. % max.	% of total
1	2.544	573	581	596	rBV	222232	310326	0.25%	0.157%
2	7.412	1708	1732	1770	rVV	9648420	36854929	29.16%	18.651%
3	8.574	1990	2007	2037	rVV	894224	2282909	1.81%	1.155%
4	8.777	2037	2055	2070	rVV	318982	812786	0.64%	0.411%
5	9.293	2160	2177	2200	rVB	119142	348445	0.28%	0.176%
6	9.936	2304	2329	2333	rBB2	67055	624444	0.49%	0.316%
7	10.274	2335	2409	2421	rBB8	12906010	126396598	100.00%	63.964%
8	10.875	2535	2551	2579	rVV	402174	1061706	0.84%	0.537%
9	13.459	3133	3162	3177	rBB	2030958	6217473	4.92%	3.146%
10	13.725	3198	3225	3243	rBB5	114402	341187	0.27%	0.173%
11	14.173	3303	3331	3371	rVV2	1034088	3452252	2.73%	1.747%
12	14.558	3395	3422	3446	rVV3	207007	695248	0.55%	0.352%
13	14.816	3468	3483	3496	rBB2	248789	715410	0.57%	0.362%
14	14.939	3496	3512	3539	rBB	980436	2965511	2.35%	1.501%
15	15.738	3684	3701	3732	rBB3	101813	388750	0.31%	0.197%
16	16.008	3750	3765	3777	rBB2	192777	538721	0.43%	0.273%
17	16.448	3855	3869	3884	rBB3	145487	452230	0.36%	0.229%
18	16.643	3903	3915	3933	rBB2	153433	418918	0.33%	0.212%
19	19.569	4588	4607	4631	rVV	984968	3013734	2.38%	1.525%
20	20.339	4772	4789	4805	rBB2	106372	293829	0.23%	0.149%
21	21.835	5118	5143	5160	rBV3	193079	614805	0.49%	0.311%
22	22.368	5250	5269	5287	rBB2	227846	739906	0.59%	0.374%
23	23.480	5500	5532	5558	rBV7	120306	470311	0.37%	0.238%
24	25.582	6010	6029	6050	rVV4	173048	582756	0.46%	0.295%
25	25.810	6066	6083	6109	rBB4	99929	444803	0.35%	0.225%
26	26.030	6121	6135	6153	rBB5	183265	613833	0.49%	0.311%
27	26.229	6155	6182	6209	rVV2	925900	3380579	2.67%	1.711%
28	26.440	6213	6232	6255	rVV5	309054	1198684	0.95%	0.607%
29	27.159	6385	6402	6432	rVV7	93876	383990	0.30%	0.194%
30	28.123	6611	6630	6665	rVV	262008	990895	0.78%	0.501%

Sum of corrected areas: 197605968

ACEITE ESEN...L CURSO-14.M Wed Sep 21 07:54:36 2016 UNSAAC

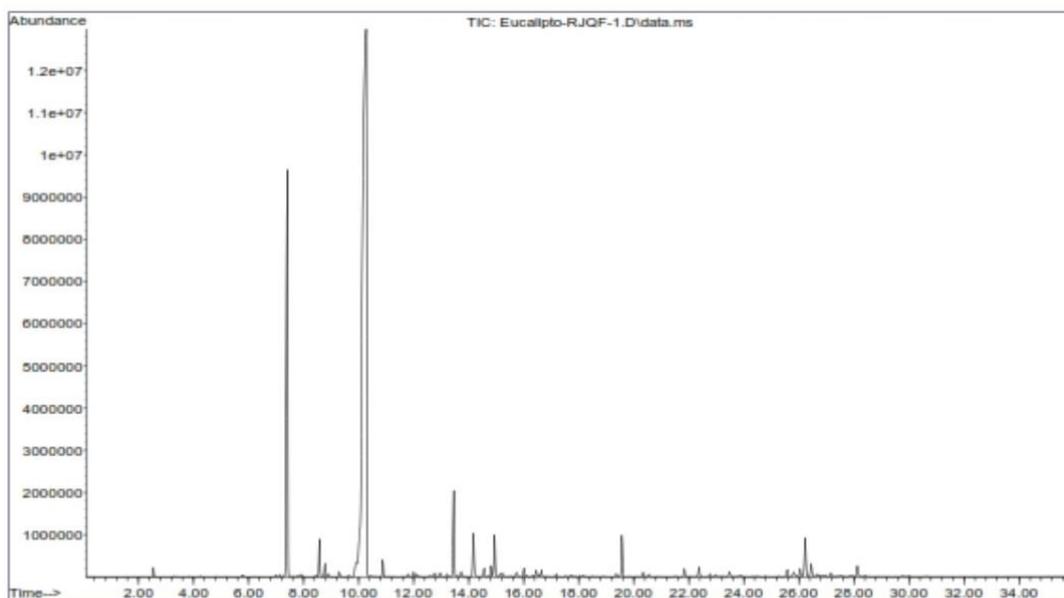
Quim. Jorge Choquenaira Pari  
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría - UNSAAC.  
 CQP - 914

**Anexo 3.** Cromatograma del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus* s.p.)



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
 LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA – Pabellón de Control de Calidad  
 AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855

File :D:\DATA MSD\ACEITES ESENCIALES\2016\RJQF\Eucalipto-RJQF-1.D  
 Operator : JCHP  
 Acquired : 20 Sep 2016 15:42 using AcqMethod ACEITE ESENCIAL CURSO-14.M  
 Instrument : UNSSAC  
 Sample Name: AE Arrayan-16  
 Misc Info :  
 Vial Number: 2




Quim. Jorge Choquenaira Pari  
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
 Espectrometría - UNSAAC.  
 CQP - 914

**Anexo 4.** Cromatograma con valores en los picos, del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus glóbulus s.p.*)

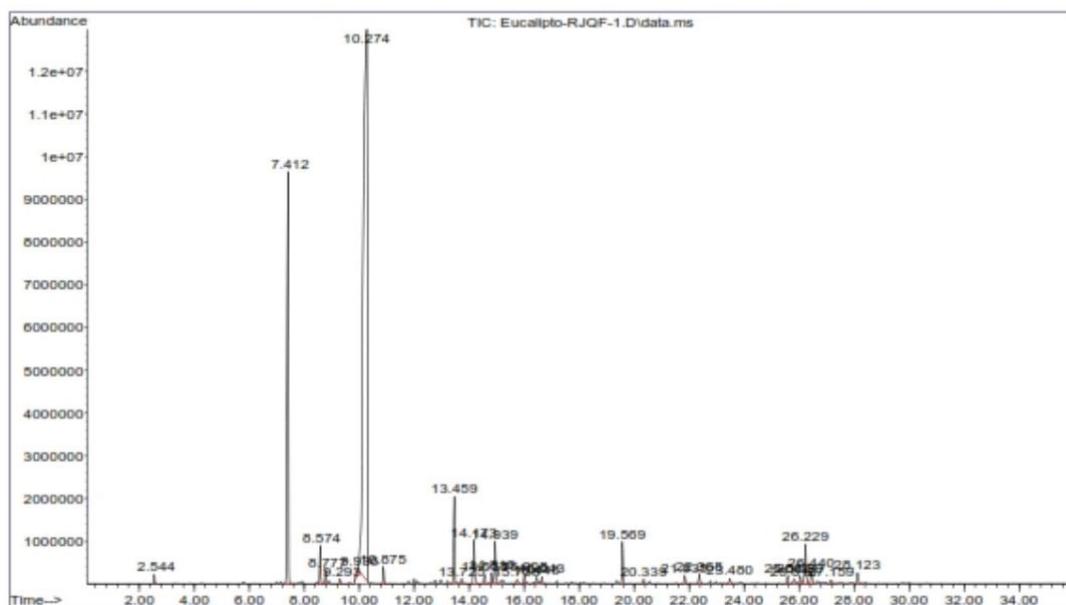


**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA – Pabellón de Control de Calidad  
 AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855

File :D:\DATA MSD\ACEITES ESENCIALES\2016\RJQF\Eucalipto-RJQF-1.D  
 Operator : JCHP  
 Acquired : 20 Sep 2016 15:42 using AcqMethod ACEITE ESENCIAL CURSO-14.M  
 Instrument : UNSSAC  
 Sample Name: AE Arrayan-16  
 Misc Info :  
 Vial Number: 2



Quim. Jorge Choquenaira Pari  
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
 Espectrometría – UNSAAC.  
 CQP - 914

**Anexo 5.** Norma técnica peruana NTP 319.077. Preparación de la muestra para análisis.

**NORMA TÉCNICA  
PERUANA**

**NTP 319.077  
1974 (Revisada el 2011)**

Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales no Arancelarias-INDECOPI  
Calle de La Prosa 104, San Borja (Lima 41) Apartado 145  
Lima, Perú

## ACEITES ESENCIALES. Preparación de la muestra para análisis

ESSENTIAL OILS. Preparation of the sample for analysis

2011-07-20  
1ª Edición

R.0030-2011/CNB-INDECOPI. Publicada el 2011-08-08  
I.C.S.: 71.100.60  
Descriptores: Aceite esencial, aceite, muestra, análisis

Precio basado en 03 páginas  
ESTA NORMA ES RECOMENDABLE

## PRÓLOGO

(De Revisión 2011)

### A. RESEÑA HISTÓRICA

A.1 La presente Norma Técnica Peruana se encuentra dentro de la relación de normas incluidas en el Plan de Revisión y Actualización de Normas Técnicas Peruanas, aprobadas durante la gestión del ITINTEC (periodo 1966-1992).

A.2 La NTP 319.077:1974 fue aprobada mediante resolución R.D. N° 409-74 ITINTEC DG/DN del 74-12-30 y el Comité Técnico de Normalización de Tecnología química, Subcomité Técnico de Normalización de Aceites esenciales, la revisó acordando en su sesión del 2011-06-27, mantenerla vigente.

A.3 La Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales No Arancelarias -CNB-, aprobó mantener vigente la presente norma, oficializándose como **NTP 319.077:1974 (Revisada el 2011) ACEITES ESENCIALES. Preparación de la muestra para análisis**, el 08 de agosto de 2011.

NOTA: Cabe resaltar que la revisión de la presente NTP se ha realizado con el objetivo de determinar su vigencia, mas no su actualización.

A.4 La presente Norma Técnica Peruana reemplaza a la NTP 319.077:1974. ACEITES ESENCIALES. Preparación de la muestra para análisis. Las Normas Técnicas Peruanas que fueron dejadas sin efecto no figuran en la presente edición.

### B. INSTITUCIONES MIEMBROS DEL CTN DE TECNOLOGÍA QUÍMICA – SUBCOMITÉ DE ACEITES ESENCIALES

Secretaría	Colegio de Químicos del Perú
Secretaria CTN	Betty Chung Tong
Secretaria SCTN	Rocío Tavera
Presidente SCTN	Fernando Anaya

<b>ENTIDAD</b>	<b>REPRESENTANTE</b>
Flavorist Senior – Sensoria	María del Pilar Chávez
Esencias Químicas S.A.C.	Miguel Sarria Gustavo Salazar
Plantex S.A.C.	Paola Lazo
DIGEMID	Betty Vadillo
Universidad Peruana Cayetano Heredia	Gilma Fernandez Graciela Untiveros
PUCP	Ana Pastor Eric Cosio
Colegio de Químicos del Perú	Gloria Tomás
Alex Stewart (Assayers) del Perú S.R.L.	Luis Arca Karyn Loo

---oooOooo---

## ACEITES ESENCIALES. Preparación de la muestra para análisis

NTP 319.075      ACEITES ESENCIALES. Determinación del índice de refracción

### 1.            **OBJETO**

1.1            La presente Norma Técnica Peruana establece los métodos de preparación de las muestras de aceites esenciales destinadas al laboratorio para su análisis.

### 2.            **MÉTODOS**

#### 2.1            **Aparatos**

2.1.1          Matraces Erlenmeyer

2.1.2          Cápsulas para cenizas

2.1.3          Estufa

2.1.4          Frascos de vidrio oscuro, con tapa para conservación de la muestra.

#### 2.2            **Reactivos**

2.2.1          Sulfato de magnesio (p.a)

---

NORMA TÉCNICA  
PERUANA

---

NTP 319.077  
2 de 3

## 2.3 Procedimiento

### 2.3.1 Aceite esencial líquido a la temperatura ambiente.

Se introduce en un matraz Erlenmeyer seco, que se encuentre a la misma temperatura del aceite esencial, una cantidad de aceite no mayor de los  $\frac{2}{3}$  partes de la capacidad del matraz.

### 2.3.2 Aceite esencial sólido o parcialmente solidificado a la temperatura ambiente

2.3.2.1 Se licuefacta colocándolo en una estufa a temperatura lo más baja posible pero que permita licuefactarlo en menos de diez minutos, por lo general es preferible una temperatura superior en  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  al punto de congelación del aceite esencial. Se debe evitar durante esta operación (principalmente en el caso de los aceites esenciales que contienen aldehídos) la renovación del aire en el recipiente que contiene la muestra; con este fin se afloja el tapon sin retirarlo.

2.3.2.2 Se vierte después el aceite esencial en un matraz Erlenmeyer seco y previamente calentado en la estufa; este matraz no debe llenarse a más de las  $\frac{2}{3}$  partes de su capacidad.

2.3.2.3 Durante todas las operaciones posteriores el aceite esencial se debe mantener a una temperatura lo más baja posible, pero sin que llegue a solidificar.

2.3.3 En los dos casos anteriores (apartados 2.3.1 y 2.3.2) se introduce una cantidad de sulfato de magnesio recién desecado, neutro, igual a más o menos el 10 % del peso del aceite esencial.

2.3.3.1 Es posible desecar el sulfato de magnesio del siguiente modo: Se calienta el sulfato de magnesio en una cápsula hasta peso constante entre  $180\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $200\text{ }^{\circ}\text{C}$  (temperatura que se toma en el producto removido constantemente) se pulveriza finamente y se conserva en un frasco seco y herméticamente cerrado.

---

NORMA TÉCNICA  
PERUANA

---

NTP 319.077  
3 de 3

2.3.4 Se agita vigorosamente y de tiempo en tiempo durante una o dos horas y luego se filtra.

2.3.4.1 Este tratamiento vuelve a la muestra inadecuada para determinar su tenor de agua.

2.3.5 Si se trata de un aceite esencial sólido o parcialmente solidificado a la temperatura ambiente, se efectúa la filtración en la estufa evitando prolongar más tiempo del necesario la permanencia de la muestra dentro de ella.

2.3.6 Se verifica la acción del agente desecador por una serie de mediciones del índice de refracción, después de cada desecación.

Las variaciones del índice de refracción no debe ser superior a una unidad decimal del tercer orden de lo contrario, se introduce una nueva cantidad de sulfato de magnesio aproximadamente igual a un 5 % del peso del aceite esencial.

Se agita y se filtra de nuevo como lo indicado anteriormente. Se mide el índice de refracción y se asegura que su variación no sea superior a una unidad decimal del tercer orden.

2.3.6.1 Es posible efectuar en el curso de preparación de la muestra, la determinación definitiva del índice de refracción, pero conviene en este caso, operar según lo indicado en la NTP 319.075 .

2.3.7 Todas estas operaciones deben preceder inmediatamente al análisis; en caso de no ser posible, se conserva la muestra desecada y filtrada en un recipiente seco, lleno, herméticamente cerrado, protegido de la luz y en lugar fresco.

**Anexo 6.** Norma técnica peruana NTP 319.086. Determinación del contenido de cineol (eucaliptol)

---

**NORMA TÉCNICA  
PERUANA**

**NTP 319.086  
1974 (Revisada el 2011)**

---

Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales No Arancelarias-INDECOPI  
Calle de La Prosa 104, San Borja (Lima 41) Apartado 145  
Lima, Perú

**ACEITES ESENCIALES. Determinación del contenido  
de cineol (eucaliptol)**

ESSENTIAL OILS. Determination of cineol content (Eucalyptol)

**2011-06-28  
1ª Edición**

R.0022-2011/CNB-INDECOPI. Publicada el 2011-07-20

I.C.S.: 71.100.60

Descriptor: Aceite esencial, aceite, cineol, eucaliptol

Precio basado en 08 páginas

ESTA NORMA ES RECOMENDABLE

## PRÓLOGO

(De revisión 2011)

### A. RESEÑA HISTÓRICA

A.1 La presente Norma Técnica Peruana se encuentra dentro de la relación de normas incluidas en el Plan de Revisión y Actualización de Normas Técnicas Peruanas, aprobadas durante la gestión del ITINTEC (periodo 1966-1992).

A.2 La NTP 319.086:1974 fue aprobada mediante resolución R.D. N° 413-74-ITINTEC-DG/DN del 74-12-30 y el Comité Técnico de Normalización de Tecnología química, Subcomité Técnico de Normalización de Aceites esenciales, la revisó acordando en su sesión del 2011-06-27, mantenerla vigente.

A.3 La Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales No Arancelarias –CNB-, aprobó mantener vigente la presente norma, oficializándose como **NTP 319.086:1974 (Revisada el 2011) ACEITES ESENCIALES. Determinación del contenido de cineol (eucaliptol)**, el 20 de julio de 2011.

NOTA: Cabe resaltar que la revisión de la presente NTP se ha realizado con el objetivo de determinar su vigencia, mas no su actualización.

A.4 La presente Norma Técnica Peruana reemplaza a NTP 319.086:1974 ACEITES ESENCIALES. Determinación del contenido de cineol (eucaliptol). Las Normas Técnicas Peruanas que fueron dejadas sin efecto no figuran en la presente edición.

### B. INSTITUCIONES MIEMBROS DEL CTN DE TECNOLOGÍA QUÍMICA – SUBCOMITÉ DE ACEITES ESENCIALES

Secretaría	Colegio de Químicos del Perú
Secretaria CTN	Betty Chung Tong
Secretaria SCTN	Rocío Tavera
Presidente SCTN	Fernando Anaya

<b>ENTIDAD</b>	<b>REPRESENTANTE</b>
Flavorist Senior – Sensoría	María del Pilar Chávez
Esencias Químicas S.A.C.	Miguel Sarria Gustavo Salazar
Plantex S.A.C.	Paola Lazo
DIGEMID	Betty Vadillo
Universidad Peruana Cayetano Heredia	Gilma Fernandez Graciela Untiveros
PUCP	Ana Pastor Eric Cosio
Colegio de Químicos del Perú	Gloria Tomás
Alex Stewart (Assayers) del Perú S.R.L.	Luis Arca Karyn Loo

oooOooo

## ACEITES ESENCIALES. Determinación del contenido de cineol (eucaliptol)

### 1. NORMAS A CONSULTAR

NTP 319.077 ACEITES ESENCIALES. Preparación de la muestra para análisis

NTP 319.079 ACEITES ESENCIALES. Extracción de muestras

### 2. OBJETO

2.1 La presente Norma Técnica Peruana establece el método de determinación del contenido, en peso, de cineol, en aceites esenciales en los cuales los constituyentes principales son cineol e hidrocarburos terpénicos.

### 3. EXTRACCIÓN DE MUESTRAS

3.1 La muestra se extraerá de acuerdo a lo establecido en la NTP 319.079.

### 4. MÉTODOS DE ENSAYO

#### 4.1 Principio del método

4.1.1 Se basa en la medición de la temperatura de cristalización de una mezcla constituida por aceite esencial y orto-cresol. Esta temperatura depende del contenido en cineol del aceite esencial.

**4.2 Aparatos**

4.2.1 Termómetro calibrado que cumpla con los siguientes requerimientos:

Longitud del bulbo	10 mm a 15 mm
Diámetro del bulbo	5 mm a 6 mm
Graduación	0,1 °C

El juego de termómetros a usar, debe permitir la medida de cualquier temperatura entre 20 °C y 60 °C .

**4.2.2 Termómetro ordinario**

4.2.3 Tubo de ensayo, con un diámetro de aproximadamente 20 mm y longitud de 100 mm .

4.2.4 Tubo de ensayo de paredes gruesas, con un diámetro de aproximadamente 30 mm y una longitud de 125 mm .

4.2.5 Dispositivo para la determinación del punto de congelación (véase figura), que se describe a continuación:

4.2.5.1 Consiste en un depósito o matraz de boca ancha, con una capacidad de más o menos 500 ml , provisto de un tapón horadado de corcho o jebe, en el cual se inserta el tubo de paredes gruesas (apartado 4.2.4). El tubo de ensayo (apartado 4.2.3) se adapta al anterior (apartado 4.2.4) por medio de otro tapón horadado de corcho o jebe.

4.2.5.2 Si es necesario, el recipiente (apartado 4.2.5.1) puede llenarse con agua fría para un enfriamiento previo al ensayo preliminar (véase apartado 4.2.5.1) y a la determinación propiamente dicha (véase apartado 4.4.2).

4.2.5.3 El termómetro (apartado 4.2.1) se inserta en el tubo de ensayo (apartado 4.2.3) de manera que la parte central del bulbo de mercurio esté situado en el centro del líquido.

4.2.6 Baño de agua

### 4.3 Reactivos

4.3.1 Orto-cresol purificado, anhidro, cuyo punto de fusión no sea menor de 30 °C.

4.3.1.1 Como este reactivo es higroscópico, se debe guardar en frascos pequeños, bien tapados o de preferencia en frascos sellados. Estos frascos deben estar protegidos de la luz.

4.3.1.2 Cuando el orto-cresol no está en la condición mencionada en el apartado 4.3.1.1 es posible purificarlo como sigue:

Se funde una cantidad de orto-cresol (para análisis), se añade 5 % de su peso de agua destilada y se deja cristalizar a una temperatura entre 20 °C y 25 °C. Se escurren los cristales y se transfieren a un matraz provisto de una columna de fraccionamiento. Se destila el primer 10 % (V/V) y se le descarta. Se reemplaza la columna por otro similar, seca y se destila el 80 % (V/V); se descarta el residuo que queda en el matraz. Se deja cristalizar la porción principal. Si su punto de fusión está aún por debajo de 30 °C, se repite la destilación en la forma indicada, tantas veces como sean necesarias para obtener un producto que tenga un punto de fusión no menor de 30 °C y que sea incoloro al fundir.

4.3.2 Cineol (para análisis): La pureza del cineol se controla por ejemplo midiendo su índice de refracción el cual debe estar entre 1,455 y 1,460.

4.3.3 Complejo cineol-o-cresol, preparado mezclando proporciones equimoleculares en la relación 154,24/108,13 de cineol (apartado 4.3.2) y orto-cresol (apartado 4.3.1) y purificado por cristalización en éter de petróleo (punto de destilación entre 40 °C y 60 °C). El punto de cristalización no debe ser menor de 55,2 °C.

---

NORMA TÉCNICA  
PERUANA

NTP 319.086  
4 de 8

---

#### **4.4 Procedimiento**

##### **4.4.1 Ensayo preliminar**

4.4.1.1 Se pesa, en el tubo de ensayo (apartado 4.3.3) perfectamente seco, 300 g de la muestra a ensayar, recientemente preparada y se añade 2,1 g de orto-cresol (apartado 4.3.1) fundido.

4.4.1.2 Se coloca el tubo en el dispositivo (apartado 4.2.5) y se deja cristalizar la mezcla por enfriamiento, agitando con el termómetro (apartado 4.2.1).

4.4.1.3 Cuando se produce la cristalización, hay un pequeño aumento de temperatura. Se anota el valor máximo  $t_1$  obtenido.

##### **4.4.2 Determinación**

4.4.2.1 Se vuelve a fundir la mezcla a una temperatura que no exceda a  $t_1$  en más de 5 °C, usando el baño de agua (apartado 4.2.6).

4.4.2.2 Se coloca el tubo de ensayo en el dispositivo (apartado 4.2.5) mantenido a una temperatura inferior en 5 °C a  $t_1$ .

4.4.2.3 Cuando comienza la cristalización o cuando la temperatura de la mezcla ha descendido 3 °C por debajo de  $t_1$ , se debe agitar continuamente por medio del termómetro (apartado 4.2.1), teniendo cuidado que el bulbo esté siempre completamente sumergido. Se induce la cristalización por fricción de las paredes del tubo de ensayo con el bulbo del termómetro.

4.4.2.4 Se anota la temperatura máxima  $t_2$  a la cual cristaliza la mezcla.

4.4.2.5 Se repite la determinación hasta que dos de los valores más altos obtenidos para  $t_2$ , no difieran en más de 0,2 °C.

4.4.2.6 Si se produce un super enfriamiento se induce la cristalización por adición de un pequeño cristal del complejo (apartado 4.3.3).

4.4.2.7 Si  $t_2$  está por debajo de  $27,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , se repite la determinación después de la adición de  $5,10\text{ g}$  del complejo cineol-o-cresol (apartado 4.3.3).

#### 4.5 Expresión de resultados

4.5.1 El contenido de cineol, correspondiente a la temperatura más alta observada ( $t_2$ ) está dado en la Tabla 1.

4.5.2 Si se ha agregado  $5,10\text{ g}$  del complejo cineol-o-cresol (apartado 4.3.3) el contenido en cineol de la muestra en por ciento en peso, se calcula a partir de la expresión:

$$2 (A - 50)$$

Donde:

A = es el porcentaje de cineol indicado en la Tabla 1.

4.5.3 Los resultados deben expresarse hasta con dos cifras significativas.

4.5.4 El contenido de cineol correspondiente a la temperatura más alta observada ( $t_2$ ), se obtiene cuando es necesario, por interpolación de datos en la Tabla 1.

NORMA TÉCNICA  
PERUANA

NTP 319.086  
6 de 8

**TABLA 1 – Contenido de cineol en función de la temperatura de cristalización de la mezcla: aceite esencial – orto cresol**

Temperatura de cristalización °C	Contenido de cineol %	Temperatura de cristalización °C	Contenido de cineol %	Temperatura de cristalización °C	Contenido de cineol %	Temperatura de cristalización °C	Contenido de cineol %
24	45,5	32	56	40	67	48	82
25	47	33	57	41	68,5	49	84
26	48,5	34	58,5	42	70	50	86
27	49,5	35	60	43	72,5	51	88,5
28	50,5	36	61	44	74	52	91
29	52	37	62,5	45	76	53	93,5
30	53,5	38	63,5	46	78	54	96
31	54,5	39	65	47	80	55	99

---

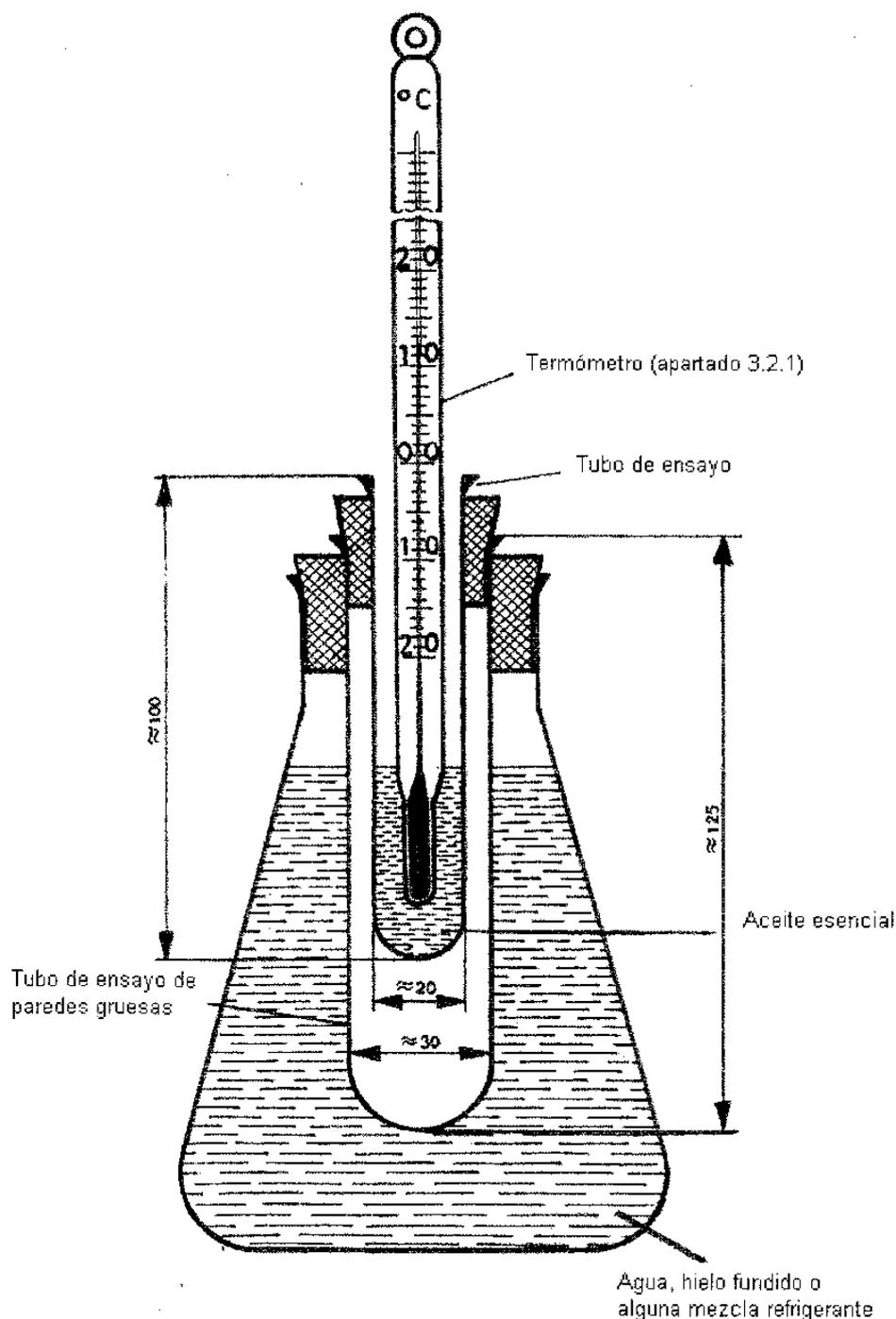
NORMA TÉCNICA  
PERUANA

NTP 319.086  
7 de 8

---

#### **4.6 Informe**

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



**Anexo 7.** Norma técnica peruana NTP-ISO 279. Determinación de la densidad relativa a 20°C. Método de referencia

---

**NORMA TÉCNICA  
PERUANA**

---

**NTP-ISO 279  
2011**

---

Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales No Arancelarias - INDECOPI  
Calle De La Prosa 104, San Borja (Lima 41) Apartado 145 Lima, Perú

---

**ACEITES ESENCIALES. Determinación de la densidad  
relativa a 20 °C . Método de referencia**

ESSENTIAL OILS. Determination of relative density at 20 °C . Reference method

(EQV.ISO 279:1998 Essential oils -- Determination of relative density at 20 °C -- Reference method)

**2011-08-31  
1ª Edición**

R.0035-2011/CNB-INDECOPI. Publicada el 2011-09-16

Precio basado en 06 páginas

I.C.S.: 71.100.60

**ESTA NORMA ES RECOMENDABLE**

Descriptor: Aceite esencial, aceite, densidad relativa, densidad, método, referencia

## ÍNDICE

	página
ÍNDICE	i
PREFACIO	ii
1. ALCANCE	1
2. REFERENCIAS NORMATIVAS	1
3. TÉRMINOS Y DEFINICIONES	1
4. PRINCIPIOS	2
5. REACTIVOS	2
6. APARATOS	2
7. MUESTREO	3
8. ESPECIAL	3
9. PROCEDIMIENTO	3
10. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS	4
11. INFORME DEL ENSAYO	5
12. ANTECEDENTES	5
BIBLIOGRAFÍA	6

## PREFACIO

### A. RESEÑA HISTÓRICA

A.1 La presente Norma Técnica Peruana ha sido elaborada por el Comité Técnico de Normalización de Tecnología química, Subcomité de Aceites esenciales mediante el Sistema 1 o de Adopción, durante los meses de enero a mayo de 2011, utilizando como antecedente a la norma ISO 279:1998 Essential oils –Determination of relative density at 20 °C – Reference method.

A.2 El Comité Técnico de Normalización de Tecnología química, presentó a la Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales No Arancelarias –CNB-, con fecha 2011-06-01, el PNTP-ISO 279:2011, para su revisión y aprobación, siendo sometido a la etapa de Discusión Pública el 2011-07-28. No habiéndose presentado observaciones fue oficializado como Norma Técnica Peruana **NTP-ISO 279:2011 ACEITES ESENCIALES. Determinación de la densidad relativa a 20 °C . Método de referencia**, 1ª Edición, el 16 de setiembre de 2011.

A.3 Esta Norma Técnica Peruana reemplaza a la NTP 319.081:1974 ACEITES ESENCIALES. Determinación de la densidad y de la densidad relativa y es una adopción de la ISO 279:1998. La presente Norma Técnica Peruana presenta cambios editoriales referidos principalmente a la terminología empleada propia del idioma español y ha sido estructurada de acuerdo a las Guías Peruanas GP 001:1995 y GP 002:1995.

### B. INSTITUCIONES QUE PARTICIPARON EN LA ELABORACIÓN DE LA NORMA TÉCNICA PERUANA

SECRETARÍA	Colegio de Químicos del Perú
SECRETARIA CTN	Betty Chung Tong
PRESIDENTE SCTN	Fernando Anaya
SECRETARIA SCTN	Rocío del Pilar Tavera

**ENTIDAD**

Universidad Peruana Cayetano Heredia

Colegio de Químicos del Perú

Alex Stewart (Assayers) del Perú S.R.L.

Plantex S.A.C.

**SENSORIA**

Esencias Químicas S.A.C.

**DIGEMID****REPRESENTANTE**Gilma Fernandez  
Graciela Untiveros

Gloria Eva Tomás

Luis Arca

Rossana Passoni

María del Pilar Chavez

Miguel Sarria A.

Betty Vadillo

---oooOooo---

## ACEITES ESENCIALES. Determinación de la densidad relativa a 20 °C . Método de referencia

### 1. ALCANCE

La presente Norma Técnica Peruana especifica el método de referencia para la determinación de la densidad relativa de aceites esenciales a 20 °C .

NOTA: Si es necesario realizar el ensayo a una temperatura diferente como consecuencia de la naturaleza del aceite esencial, se debe mencionar la temperatura en la Norma Técnica apropiada al aceite esencial en cuestión. La corrección promedio en la región de 20 °C es de 0,000 7 a 0,000 8 por grado Celsius.

### 2. REFERENCIAS NORMATIVAS

Las siguientes normas contienen disposiciones que al ser citadas en este texto, constituyen requisitos de esta Norma Técnica Peruana. Las ediciones indicadas estaban en vigencia en el momento de esta publicación. Como toda Norma está sujeta a revisión, se recomienda a aquellos que realicen acuerdos con base en ellas, que analicen la conveniencia de usar las ediciones recientes de las normas citadas seguidamente. El Organismo Peruano de Normalización posee, en todo momento, la información de las Normas Técnicas Peruanas en vigencia.

#### Normas Técnicas Internacionales

ISO 356 Aceites esenciales — Preparación de muestras de prueba

### 3. TÉRMINOS Y DEFINICIONES

Para efectos de la presente Norma Técnica Peruana se aplican los siguientes términos y definiciones:

---

NORMA TÉCNICA  
PERUANA

---

NTP-ISO 279  
2 de 6

### 3.1

#### Densidad relativa a 20 °C

Es la relación entre la masa de un volumen dado de aceite a 20°C y la masa de un volumen igual de agua destilada a 20 °C .

NOTA: Esta cantidad es adimensional y su símbolo es  $d_{20}^{20}$

### 3.2

#### Densidad absoluta a 20 °C de un aceite esencial

Es la relación entre la masa de un volumen dado de aceite a 20 °C al mismo volumen.

NOTA: Esta cantidad se expresa en gramos por mililitro.

## 4. PRINCIPIO

Volúmenes iguales de aceite esencial y agua, a 20 °C, son pesados sucesivamente en un picnómetro.

## 5. REACTIVOS

**5.1** Agua destilada, recién hervida y posteriormente enfriada a aproximadamente 20 °C .

## 6. APARATOS

Aparatos de uso común en laboratorio y los siguientes.

**6.1** Picnómetro de vidrio, de una capacidad nominal mínima de 5 ml.

NOTA 1: Existen instrumentos automáticos disponibles en el mercado para una medida exacta de la densidad relativa. Dichos instrumentos pueden ser utilizados para controles de rutina, pero en casos de desacuerdo el método de referencia es el método picnométrico.

NOTA 2: Los picnómetros apropiados son descritos en la norma ISO 3507 [2].

**6.2** Baño maría, capaz de mantenerse a 20 °C ± 0,2 °C .

**6.3** **Termómetro estandarizado**, graduado de 10 °C a 30 °C , con divisiones de 0,2 °C ó 0,1 °C .

**6.4** **Balanza analítica**, exactitud de 0,001 g .

## 7. MUESTREO

Es importante que el laboratorio reciba una muestra representativa que no haya sido dañada o alterada durante el transporte o almacenamiento.

El muestreo no es parte del método descrito en la presente Norma Técnica Peruana. Un método de muestreo recomendado se da en la norma ISO 212 [1].

## 8. ESPECIAL

Preparar la muestra de ensayo de acuerdo a la norma ISO 356.

## 9. PROCEDIMIENTO

### 9.1 Preparación del picnómetro

Limpiar cuidadosamente el picnómetro (6.1) y luego enjuagarlo, por ejemplo, con etanol y acetona, luego secar el interior con una corriente de aire seco.

De ser necesario, limpiar el exterior con un trapo seco o un papel de filtro.

Cuando se alcance el equilibrio de temperatura entre la cámara de la balanza y el picnómetro, considerando su tapón; realizar el pesado con una precisión de 1 mg .

### 9.2 Pesado del agua destilada

Llenar el picnómetro con agua destilada (5.1).

Sumergir el picnómetro en baño maría (6.2). Después de 30 min , llenar con agua hasta la marca, en caso sea necesario. Inserte el tapón, si lo hubiese, y secar el exterior como antes, con un trapo seco o papel de filtro.

Cuando se alcance el equilibrio de temperatura entre la cámara de la balanza y el picnómetro, considerando su tapón; realizar el pesado al 1 mg más cercano.

### 9.3 Pesado del aceite esencial

Vaciar el picnómetro, luego lavarlo y secarlo como se especifica en el apartado 9.1.

Proceda como se indica en 9.2, reemplazando el agua por la muestra de prueba preparada según lo especificado en el capítulo 8.

## 10. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

La densidad relativa,  $d_{20}^{20}$ , se da por la siguiente ecuación:

$$\frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

donde:

- $m_0$  es la masa, en gramos, del picnómetro vacío determinado en el apartado 9.1
- $m_1$  es la masa, en gramos, del picnómetro llenado con agua, determinado conforme al apartado 9.2
- $m_2$  es la masa, en gramos, del picnómetro llenado con aceite esencial, determinado conforme al apartado 9.3.

Expresar el resultado con tres decimales.

NOTA 1: En la práctica, no se realiza ninguna corrección para el empuje ascendente debido al aire.

NOTA 2: Los instrumentos electrónicos con frecuencia registran niveles más exactos.

Si se requiere la densidad absoluta del aceite esencial, multiplicar el valor obtenido para la densidad relativa por la densidad absoluta del agua a 20 °C (por ejemplo 0,998 23 g/ml).

## 11. INFORME DEL ENSAYO

El informe del ensayo indicará:

- el método utilizado;
- el resultado obtenido; y
- si se ha verificado la repetibilidad del resultado final obtenido.

También deberá indicar cualquier condición operativa no descrita en la presente Norma Técnica Peruana, o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que podría haber influenciado en los resultados.

El informe del ensayo deberá incluir todos los detalles necesarios para la identificación completa de la muestra.

## 12. ANTECEDENTES

- |      |                  |  |
|------|------------------|--|
| 12.1 | ISO 279:1998     | Essential oils – Determination of relative density at 20 °C – Reference method |
| 12.2 | NTP 319.081:1974 | ACEITES ESENCIALES. Determinación de la densidad y de la densidad relativa     |

---

NORMA TÉCNICA  
PERUANA

NTP-ISO 279  
6 de 6

---

### BIBLIOGRAFÍA

- [1] ISO 212, Essential oils – Sampling
- [2] ISO 3507, Laboratory glassware – Pyknometers

**Anexo 8.** Norma técnica peruana NTP-ISO 280. Determinación del índice de refracción.

---

NORMA TÉCNICA  
PERUANA

---

NTP-ISO 280  
2011

Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales No Arancelarias-INDECOPI  
Calle de La Prosa 104, San Borja (Lima 41) Apartado 145 Lima, Perú

---

## ACEITES ESENCIALES. Determinación del índice de refracción

ESSENTIAL OILS. Determination of refractive index

(EQV. ISO 280:1998 Essential oils -- Determination of refractive index)

2011-08-31  
2ª Edición

R.0035-2011/CNB-INDECOPI. Publicada el 2011-09-16

I.C.S 71.100.60

Descriptores: Aceite esencial, aceite, índice, refracción

Precio basado en 05 páginas

ESTA NORMA ES RECOMENDABLE

## ÍNDICE

	página
ÍNDICE	i
PREFACIO	ii
1. ALCANCE	1
2. REFERENCIAS NORMATIVAS	1
3. TÉRMINO Y DEFINICIÓN	1
4. PRINCIPIO	2
5. REACTIVOS	2
6. EQUIPOS	2
7. MUESTREO	3
8. PROCEDIMIENTO	3
9. DETERMINACIÓN	3
10. CÁLCULO	4
11. REPETIBILIDAD	4
12. INFORME DE ENSAYO	4
13. ANTECEDENTES	5

## PRÓLOGO

### A. RESEÑA HISTÓRICA

A.1 La presente Norma Técnica Peruana ha sido elaborada por el Comité Técnico de Normalización de Tecnología química, Subcomité de Aceites esenciales mediante el Sistema I o de Adopción, durante los meses de enero a mayo de 2011, utilizando como antecedente a la norma ISO 280:1998 Essential oils Determination of refractive index.

A.2 El Comité Técnico de Normalización de Tecnología Química, presentó a la Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales No Arancelarias –CNB-, con fecha 2011-06-01, el PNTP-ISO 280:2011, para su revisión y aprobación, siendo sometido a la etapa de Discusión Pública el 2011-07-28. No habiéndose presentado observaciones fue oficializado como Norma Técnica Peruana **NTP-ISO 280 ACEITES ESENCIALES. Determinación del índice de refracción**, 2ª Edición, el 16 de setiembre de 2011.

A.3 Esta Norma Técnica Peruana reemplaza a la NTP 319.075:1974 ACEITES ESENCIALES. Determinación del índice de refracción y es una adopción de la ISO 280:1998. La presente Norma Técnica Peruana presenta cambios editoriales referidos principalmente a terminología empleada propia del idioma español y ha sido estructurada de acuerdo a las Guías Peruanas GP 001:1995 y GP 002:1995.

### B. INSTITUCIONES QUE PARTICIPARON EN LA ELABORACIÓN DE LA NORMA TÉCNICA PERUANA

SECRETARÍA	Colegio de Químicos del Perú
SECRETARIA CTN	Betty Chung Tong
PRESIDENTE SCTN	Fernando Anaya
SECRETARIA SCTN	Rocio del Pilar Tavera

**ENTIDAD**

Universidad Peruana Cayetano Heredia

Colegio de Químicos del Perú

Alex Stewart (Assayers) del Perú S.R.L.

Plantex S.A.C.

**SENSORIA**

Esencias Químicas S.A.C.

**DIGEMID****REPRESENTANTE**Gilma Fernandez  
Graciela Untiveros

Gloria Eva Tomás

Luis Arca

Rossana Passoni

María del Pilar Chavez

Miguel Sarria A.

Betty Vadillo

---oooOooo---

## ACEITES ESENCIALES. Determinación del índice de refracción

### 1. ALCANCE

Esta Norma Técnica Peruana especifica un método para la determinación del índice de refracción de aceites esenciales.

### 2. REFERENCIAS NORMATIVAS

Las siguientes normas contienen disposiciones que al ser citadas en este texto, constituyen requisitos de esta Norma Técnica Peruana. Las ediciones indicadas estaban en vigencia en el momento de esta publicación. Como toda Norma está sujeta a revisión, se recomienda a aquellos que realicen acuerdos con base en ellas, que analicen la conveniencia de usar las ediciones recientes de las normas citadas seguidamente. El Organismo Peruano de Normalización posee, en todo momento, la información de las Normas Técnicas Peruanas en vigencia.

#### Normas Internacionales

ISO 356      Aceites esenciales — Preparación de muestras de prueba

### 3. TÉRMINO Y DEFINICIÓN

Para fines de esta Norma Técnica Peruana, se aplica el siguiente término y definición.

#### 3.1

##### Índice de refracción, $n_D'$

Es la relación entre el seno del ángulo de incidencia y el seno del ángulo de refracción, cuando un rayo de luz de longitudes de onda definidas pasa desde el aire hacia el aceite esencial conservado a temperatura constante.

NOTA: La longitud de onda especificada es 589,3 nm  $\pm$  0,3 nm que corresponde a las líneas D<sub>1</sub> y D<sub>2</sub> del espectro del sodio.

#### 4. PRINCIPIO

De acuerdo al tipo de instrumento utilizado, ya sea por medida directa del ángulo de refracción o que el límite de reflexión total sea observado, siendo mantenido el aceite bajo condiciones de isotropismo y transparencia.

#### 5. REACTIVOS

5.1 **Productos estándar**, de grado refractométrico, para ajustar el refractómetro, como sigue:

5.1.1 **Agua destilada** de índice de refracción 1,333 0 a 20 °C .

5.1.2 ***p*-Cimeno** de índice de refracción 1,490 6 a 20 °C .

5.1.3 **Benzilbenzoato** de índice de refracción 1,568 5 a 20 °C .

5.1.4 **1-Bromonaftalina** de índice de refracción 1,658 5 a 20 °C .

#### 6. EQUIPOS

6.1 **Refractómetro** que permite lecturas directas de índices de refracción entre 1,300 0 y 1,700 0 a realizarse con una exactitud de  $\pm 0,000 2$ .

6.2 **Termostato o equipo para conservar la temperatura** que asegure la circulación de agua, a través del refractómetro, manteniendo así el instrumento a temperatura de referencia dentro de  $\pm 0,2$  °C .

6.3 **Fuente de luz**, luz de sodio.

NOTA: La luz natural difusa o luz de una lámpara eléctrica puede usarse para refractómetros equipados con un compensador acromático.

6.4 **Placa de vidrio** (opcional) de índice de refracción conocido.

## 7. MUESTREO

Es importante que el laboratorio reciba una muestra representativa que no haya sido dañada o modificada durante el transporte o almacenamiento.

El muestreo no constituye una parte del método especificado en esta Norma Técnica Peruana. Un método de muestreo recomendado se proporciona en la Norma ISO 212<sup>1</sup>

## 8. PROCEDIMIENTO

### 8.1 Preparación de la muestra de ensayo

Preparar la muestra de ensayo, de acuerdo con la ISO 356. Llevar la muestra de ensayo a la temperatura en la que se harán las mediciones.

### 8.2 Regulación del refractómetro

8.2.1 Regular el refractómetro (6.1) midiendo el índice de refracción de los productos estándares descritos en los apartados 5.1.1 a 5.1.4.

NOTA: Algunos instrumentos pueden ajustarse por medio de una placa de vidrio (6.4), de acuerdo con las indicaciones proporcionadas por el fabricante del instrumento.

8.2.2 Verificar que el refractómetro (6.1) se conserva a la temperatura en la que se harán las lecturas.

Esta temperatura no diferirá de la temperatura de referencia por más de  $\pm 0,2$  °C durante el ensayo.

La temperatura de referencia es 20 °C , excepto para aquellos aceites que no son líquidos a esta temperatura, en cuyo caso se usará una temperatura de 25 °C ó 30 °C , dependiendo del punto de fusión de estos aceites esenciales.

## 9. DETERMINACIÓN

Colocar la muestra de ensayo, preparada de acuerdo con el apartado 8.1, en el refractómetro. Esperar hasta que la temperatura sea estable y hacer las mediciones.

---

<sup>1</sup> NTP-ISO 212 ACEITES ESENCIALES. Muestreo

**10. CÁLCULO**

El índice de refracción  $n_D^t$ , a la temperatura especificada  $t$ , está dado por la ecuación:

$$n_D^t = n_D^{t'} + 0,0004 (t' - t)$$

Donde  $n_D^{t'}$  es la lectura tomada a la temperatura de trabajo,  $t'$  en la que fue realizada verdaderamente la determinación.

Expresar el resultado con 4 decimales.

**11. REPETIBILIDAD**

La diferencia absoluta entre 2 resultados independientes obtenidos de pruebas individuales usando el mismo método en un aceite esencial idéntico, en el mismo laboratorio y realizados por el mismo operador usando el mismo equipo con un intervalo corto de tiempo, no será en más del 5 % de casos, mayor a = 0,000 2.

**12. INFORME DE ENSAYO**

El informe de ensayo contendrá la siguiente información:

- Todos los detalles necesarios para la identificación completa del producto;
- El método de muestreo usado, si es conocido;
- El método de ensayo usado con referencia a esta Norma Técnica Peruana;
- Todos los detalles operativos, no especificados en esta Norma Técnica Peruana, o considerados opcionales, junto con detalles de todos los incidentes que pueden haber influenciado el resultado del ensayo;
- Los resultados obtenidos del ensayo;
- Si se ha verificado la repetitividad, el resultado final obtenido.

---

NORMA TÉCNICA  
PERUANA

---

NTP-ISO 280  
5 de 5

**13. ANTECEDENTES**

- |      |                  |  |
|------|------------------|--|
| 13.1 | ISO 280:1998     | Essential oils – Determination of refractive index         |
| 13.2 | NTP 319.075:1974 | ACEITES ESENCIALES. Determinación del índice de refracción |

Anexo 9. Panel fotográfico.



1. Árbol de eucalipto



2. Recolección de muestras (hojas)



3. Secado de las hojas



4. Medición de la humedad del ambiente



5. Pesado de hojas enteras



6. Pesado de hojas partidas



7. Preparación para el llenado del extractor



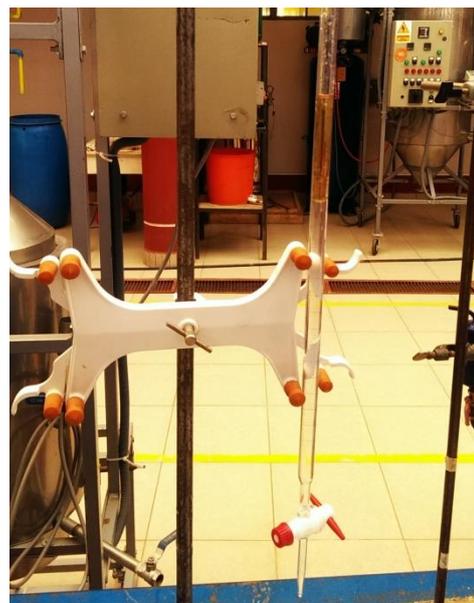
8. Llenado del extractor



9. Inicio de la extracción de aceite



10. Proceso de extracción de aceite esencial de eucalipto



11. Aceite esencial de eucalipto extraído y separado del agua



12. Análisis con cromatografo de gases de aceite esencial