

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES



**"ACEITES ESENCIALES CON POTENCIAL
ECONÓMICO EN TRES ESPECIES DEL
GÉNERO *PIPER* PROCEDENTES DE LA SELVA
CENTRAL DEL PERÚ"**

Presentado por:

Rocío Magaly Díaz Calderón

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO FORESTAL

Lima - Perú
2018

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos para calificar la sustentación del Trabajo de Tesis, presentado por la ex-alumna de la Facultad de Ciencias Forestales, Bach. **ROCÍO MAGALY DÍAZ CALDERÓN**, intitulado “ACEITES ESENCIALES CON POTENCIAL ECONÓMICO EN TRES ESPECIES DEL GÉNERO PIPER PROCEDENTES DE LA SELVA CENTRAL DEL PERÚ”.

Oídas las respuestas a las observaciones formuladas, lo declaramos:

.....

con el calificativo de

En consecuencia queda en condición de ser considerada APTA y recibir el título de INGENIERO FORESTAL.

La Molina, 30 de mayo de 2018

.....
PhD. María Isabel Manta Nolasco
Presidente

.....
Mg. Sc. Graciela Egoavil Cueva Galvez
Miembro

.....
Lic. Deysi Guzmán Loayza
Miembro

.....
PhD. Carlos Augusto Reynel Rodríguez
Asesor

PhD. Héctor Enrique Gonzales Mora
Coasesor

DEDICATORIA

A mis padres Jovita y Manuel, por ser mi soporte siempre.

A mi hermanas Liz y Roxana por ser una inspiración y ejemplo para mí.

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mis maestros Carlos Reynel y Enrique Gonzales, por ser guías constantes durante nuestra formación, por enseñarnos a amar nuestra profesión y además, por guiarme y ser partícipes de esta investigación.

Al Simposio de Investigación Científica de Estudiantes de Ingeniería Forestal: Ideas Forestales por haber permitido la realización de esta investigación.

Un agradecimiento especial al Ing. José Vásquez por su apoyo durante mi estancia en la Génova,

A la profesora Daysi Guzmán por su guía y a Marco por su apoyo en el laboratorio de Pulpa y Papel de nuestra Universidad.

Agradezco a la Mg. Sc. Emilia Hermoza y al Ing. Herbert Hernández por su amabilidad y apoyo durante las pruebas en el laboratorio de química orgánica de la UNI.

Agradezco a Daniel Williams por su apoyo incondicional y soporte en el transporte de las muestras.

Finalmente agradezco a Natalia Miranda, Liseth Cangahuala, Cecilia Silva y Clara Elías por ayudarme con el procesamiento de muestras.

RESUMEN

La presente investigación tiene como objetivo general es contribuir al conocimiento de los aceites esenciales de interés económico presentes en las tres especies del género *Piper* (*P. aduncum*, *P. glabribaccum* y *P. reticulatum*) procedentes de la selva central del Perú, específicamente del distrito de San Ramón, provincia Chanchamayo, departamento Junín; Se colectaron muestras de estas tres especies, las mismas fueron depositadas en el Herbario Forestal MOL. La materia prima fue recolectada, transportada y acondicionada en el Área de transformación Química Laboratorio de Pulpa y Papel, donde se extrajeron los aceites esenciales de las tres especies del género *Piper*, dichos aceites fueron obtenidos mediante destilación por arrastre de vapor; y se realizó la Caracterización física, y de compuestos químicos de los aceites esenciales de las especies del género *Piper*

Palabras claves: Aceites esenciales, Piperaceae, *Piper*

ÍNDICE GENERAL

	Página
I. Introducción	1
II. Revisión de Literatura	3
1. Metabolismo secundario en las plantas.....	3
2. Aceites esenciales.....	4
2.1. Definición	4
2.2. Composición de los aceites esenciales	5
2.3. Métodos de obtención de los aceites esenciales.....	7
2.3.1. Por arrastre con vapor de agua	7
2.3.2. Hidrodestilación	8
2.3.3. Por expresión de los epicarpios frescos.....	8
2.3.4. procedimiento que utilizan aceites y grasas para la obtención de esencias concretas.....	8
3. Aspectos botánicos	9
3.1. Familia piperaceae.....	9
3.2. Género <i>Piper</i>	9
3.3. <i>Piper aduncum</i> Linnaeus	10
3.4. <i>Piper glabribaccum</i> Trelease	14
3.5. <i>Piper reticulatum</i> Linnaeus.....	17
4. Aspectos Químicos.....	20
4.1. <i>Piper aduncum</i> Linnaeus	20
4.2. <i>Piper reticulatum</i> Linnaeus	21
4.3. Descripción de los principales componentes.....	21
4.3.1. Miristicina (C ₁₁ H ₁₂ O ₃),.....	21
4.3.2. β-Cariofileno (C ₁₅ H ₂₄)	22
4.3.3. Germacreno-B (C ₁₅ H ₂₄) y Germacreno-D (C ₁₅ H ₂₄)	22
4.3.4. β-Pineno (C ₁₀ H ₁₆).....	23
4.3.5. β-Elemento (C ₁₅ H ₂₄).....	23
4.3.6. α-Felandreno (C ₁₀ H ₁₆).....	24
4.4. Aplicaciones de los aceites esenciales en el género <i>Piper</i>	24
5. Comercio de los aceites esenciales.....	26
5.1. Comercio mundial de los aceites esenciales.....	26
5.2. Comercio nacional de los aceites esenciales.....	28
III. Materiales y Métodos.....	33
1. Área de estudio.....	33
2. Materiales y equipos	38
2.1. Materiales.....	38
2.2. Equipos.....	39
3. Metodología experimental	40
3.1. Identificación de muestras dendrológicas	42
3.2. Obtención de muestras para ensayo	42
3.3. Extracción de aceite esencial, purificación, envasado y almacenamiento	43
3.4. Métodos de análisis físico – químicos e instrumentales.....	44
3.4.1. Rendimiento de obtención de aceite esencial.....	44
3.4.2. Densidad relativa	45
3.4.3. Índice de refracción	45
3.4.4. Rotación Óptica.....	45
3.4.5. Cromatografía de gases con espectrometría de masas	46

3.5.	Diseño experimental.....	47
IV.	Resultados y discusión.....	49
1.	Caracterización sensorial	49
2.	Rendimiento.....	50
2.1.	Análisis de la influencia de la variable <i>especie</i> en los valores de Rendimiento	50
2.2.	Análisis de la influencia de la variable <i>grado de trituración de las hojas</i> en los valores de Rendimiento.....	53
3.	Densidad Relativa	53
4.	Índice de Refracción.....	56
5.	Poder rotatorio específico.....	58
6.	Cromatografía de Gases – Masa (CG-MS)	58
6.1.	Compuestos identificados para <i>Piper aduncum</i>	58
6.2.	Compuestos identificados para <i>Piper glabribaccum</i> Trelease.....	61
6.3.	Compuestos Identificados para <i>Piper reticulatum</i> Linnaeus.....	63
7.	Potencial de producción.....	65
V.	Conclusiones.....	67
VI.	Recomendaciones	69
VII.	Referencias bibliográficas	71
VIII.	Anexos.....	75

Índice de tablas

Tabla 1:	Obtención de aceite esencial de matico a nivel laboratorio	9
Tabla 2:	Clasificación taxonómica de las especies	10
Tabla 3:	Principales constituyentes del <i>Piper aduncum</i> Linnaeus	20
Tabla 4:	Principales constituyentes del <i>Piper aduncum</i> Linnaeus	20
Tabla 5:	Principales constituyentes del <i>Piper reticulatum</i> Linnaeus	21
Tabla 6:	Propiedades de los principales constituyentes del <i>Piper aduncum</i> Linnaeus.....	25
Tabla 7:	Ubicación de puntos de muestreo de especies estudiadas.....	36
Tabla 8:	Identificación de especies estudiadas	42
Tabla 9:	Grado de trituración para las hojas	43
Tabla 10:	Condiciones de trabajo para las destilaciones	44
Tabla 11:	Condiciones cromatográficas	46
Tabla 12:	Diseño experimental.....	47
Tabla 13:	Caracterización sensorial de los aceites esenciales	49
Tabla 14:	Poder Rotatorio Específico por Especie	58
Tabla 15:	Principales Compuestos identificados en el aceite esencial de la especie <i>Piper aduncum</i> Linnaeus	59
Tabla 16:	Compuestos identificados en el aceite esencial de la especie <i>Piper</i> <i>glabribaccum</i> Trelease	61
Tabla 17:	Compuestos identificados en el aceite esencial de la especie <i>Piper</i> <i>reticulatum</i> Linnaeus.....	63
Tabla 18:	Potencial económico por hectárea	65

Índice de figuras

Figura 1:	Elementos básicos del metabolismo primario en relación al metabolismo secundario de las plantas.....	4
Figura 2:	<i>Piper aduncum</i> Linnaeus.....	13
Figura 3:	<i>Piper glabribaccum</i> Trelease.....	16
Figura 4:	<i>Piper reticulatum</i> Linnaeus	19
Figura 5:	Fórmula estructural de la miristicina	21
Figura 6:	Fórmula estructural de β -Cariofileno.....	22
Figura 7:	Fórmula estructural de Germacreno-B y Germacreno-D.....	23
Figura 8:	Fórmula estructural de β -Pinoeno.....	23
Figura 9:	Fórmula estructural de β -Elemeno.....	24
Figura 10:	Fórmula estructural de α -Felandreno.....	24
Figura 11:	Evolución de exportaciones de aceites esenciales y resinoides a nivel mundial - Anual FOB USD.	26
Figura 12:	Evolución de importaciones de aceites esenciales y resinoides a nivel mundial - Anual FOB USD.	27
Figura 13:	Evolución de exportaciones de aceites esenciales y resinoides en el Perú - Anual FOB USD.	28
Figura 14:	Evolución de exportaciones por países de aceites esenciales y resinoides en el Perú - Anual FOB USD.	29
Figura 15:	Evolución de importaciones de aceites esenciales y resinoides en el Perú - Anual FOB USD.	30
Figura 16:	Evolución de importaciones y exportaciones de aceites esenciales y resinoides en el Perú - Anual FOB USD.	31
Figura 17:	Ubicación del área de estudio	34
	Zonas de Vida en el área de estudio.....	35
Figura 18:	Ubicación puntos de muestreo de especies estudiadas	37
Figura 19:	Flujograma de la metodología experimental	41
Figura 20:	Rendimientos de las destilaciones por especie.....	51
Figura 21:	Medias marginales del rendimiento por especie y grado de trituración	52
Figura 22:	Densidad Relativa del aceite esencial por especie	54
Figura 23:	Medias marginales de Densidad relativa por especie y grado de trituración	55
Figura 24:	Índice de Refracción del aceite esencial por especie	56

Figura 25:	Medias marginales del Índice de Refracción por especie y grado de trituración.....	57
Figura 26:	Cromatograma de aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> Linnaeus	60
Figura 27:	Cromatograma de aceite esencial de <i>Piper glabribaccum</i> Trelease.....	62
Figura 28:	Cromatograma de aceite esencial de <i>Piper reticulatum</i> Linnaeus.....	64

Índice de anexos

Anexo 1 Fotografía de los procedimientos	75
Anexo 2 Constancia de identificación dendrológicas.....	79
Anexo 3 Fotografía de especies estudiadas.....	80
Anexo 4 Densidad relativa (NTP 319.075: 1974)	85
Anexo 5 Índice de refracción (NTP 319.084: 1984)).....	88
Anexo 6 Rotación óptica (NTP 319.076: 1974)	90
Anexo 7 Resultados de rendimiento	95
Anexo 8 Prueba ANOVA factorial rendimiento	96
Anexo 9 Resultados de densidad relativa	104
Anexo 10 Prueba ANOVA factorial densidad relativa	105
Anexo 11 Resultados de índice de refracción.....	114
Anexo 12 Prueba de ANOVA factorial de índice de refracción	115
Anexo 13 Cromatografía de gases	123

I. INTRODUCCIÓN

Los Productos Forestales No Maderables (PFNM) son bienes de origen biológico, provenientes de bosques, que pueden recolectarse en forma silvestre o producirse en plantaciones forestales. Actualmente, el interés en los PFNM ha aumentado con la creciente conciencia sobre la deforestación de los bosques y a la necesidad de diversificar e incrementar el valor de los recursos forestales.

Dentro de estos productos no maderables se encuentran los extractivos que incluyen a los aceites esenciales. Estos últimos, presentan una gran importancia ecológica, debido a que se les atribuye la protección de la planta frente a nemátodos, herbívoros (insectos y mamíferos), defensa al ataque por microorganismos (virus, bacterias y hongos), la adaptación frente al estrés hídrico, además de ser atractivos para la polinización (Sépulveda-Jimenez, 2004). Además, son usados como insumos en la industria farmacéutica, alimentaria, aromaterapéutica, cosmética, etc.

Los aceites esenciales son productos de alto valor que pueden proporcionar ingresos a los pobladores siempre y cuando haya conocimiento técnico sobre la composición química, posibles usos y el control de calidad durante el proceso de elaboración. En el Perú existen varias especies forestales que contienen aceites esenciales en alguna de sus partes como pueden ser las hojas, las flores, los frutos e incluso las ramas.

Adicionalmente, es de conocimiento que los compuestos químicos y su concentración de los aceites esenciales varían de acuerdo a las características del sitio, la edad de la planta y la estación; por esa razón los resultados que se obtienen en un lugar no necesariamente pueden ser extrapolados.

Uno de los recursos con potencial económico en la selva central son a los árboles y arbustos del género Piper de olor característico, que son utilizados por los pobladores locales de forma tópica como antiinflamatorio, antiséptico y en algunos casos como digestivo.

En la presente investigación se realizó la caracterización fisicoquímica de los aceites esenciales de tres especies *Piper aduncum* Linnaeus, *Piper glabribaccum* Trelease y *Piper reticulatum* Linnaeus provenientes de la selva central del Perú, específicamente del distrito de San Ramón, provincia Chanchamayo, departamento Junín; dichos aceites fueron obtenidos mediante destilación por arrastre de vapor. El objetivo general es contribuir al conocimiento de los aceites esenciales de interés económico presentes en las tres especies del género *Piper* (*P. aduncum*, *P. glabribaccum* y *P. reticulatum*); los objetivos específicos fueron: (1) Extraer los aceites esenciales de las tres especies del género *Piper*. (2) Caracterización física, y de compuestos químicos de los aceites esenciales de las especies del género *Piper*.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

1. METABOLISMO SECUNDARIO EN LAS PLANTAS

El metabolismo comprende una serie de reacciones químicas, realizadas en las células de las plantas para sintetizar sustancias complejas a partir de sustancias simples, o para degradar las complejas y obtener sustancias más simples. El metabolismo primario en las plantas está relacionado a la síntesis de su propio alimento dada la condición de autótrofas (Ávalos & Pérez-Urria, 2009). Asimismo las plantas, como parte de la defensa química contra el daño que ocasionan las heridas y el ataque de organismos patógenos, también cuentan con un metabolismo secundario, mediante el cual sintetizan metabolitos secundarios, los cuales cumplen la función de: protección contra nemátodos, herbívoros (insectos y mamíferos); defensa al ataque por microorganismos (virus, bacterias y hongos); protección del exceso de luz solar y; competencia con otras plantas (Sepúlveda-Jiménez 2004)

Los metabolitos secundarios, pueden ser nitrogenados y no nitrogenados. Los que contienen nitrógeno agrupan a los alcaloides, aminoácidos no proteicos, aminas, glúcidos cianogénicos y glucosinolatos (se sintetizan a partir de aminoácidos). En tanto, los que no contienen nitrógeno (se sintetizan a partir de Acetil-Coenzima A) incluyen a los terpenoides, poliacetilenos, policétidos y fenilpropanoides, tal como se puede observar en la Figura 1 (Ávalos & Pérez-Urria 2009). La síntesis de algunos alcaloides y terpenos se realiza en los plástidos; los esteroides, sesquiterpenos en el retículo endoplasmático, mientras que las aminas y alcaloides en las mitocondrias. Los compuestos solubles en agua se almacenan en vacuolas, mientras que los solubles en lípidos se almacenan en estructuras especializadas como ductos de resinas, laticíferos, pelos glandulares, tricomas o en la cutícula. (Sepúlveda-Jiménez 2004)

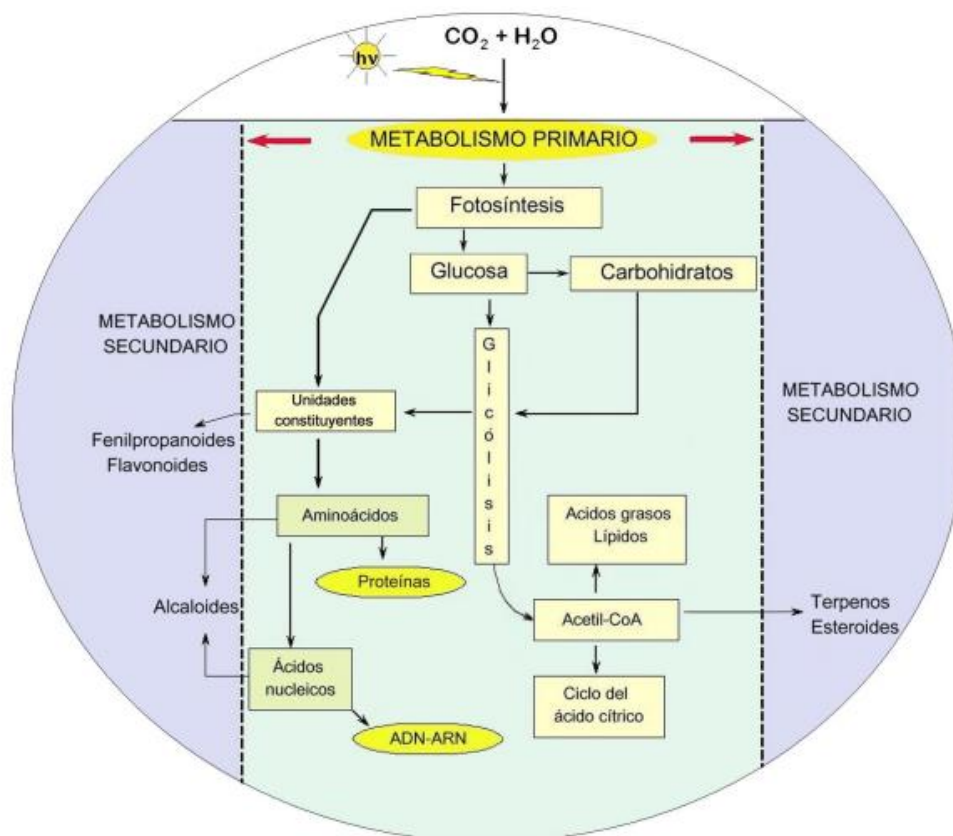


Figura 1: Elementos básicos del metabolismo primario en relación al metabolismo secundario de las plantas.

FUENTE: Ávalos & Pérez-Urria, 2009

2. ACEITES ESENCIALES

2.1. DEFINICIÓN

Los aceites esenciales son compuestos odoríficos volátiles de naturaleza oleosa, generados por el metabolismo secundario de ciertas especies. Según Bruneton (2001), “los géneros capaces de elaborar los constituyentes que lo componen los aceites esenciales están repartidos en un grupo limitado de familias, como por ejemplo: *Myrtaceae*, *Lauraceae*, *Rutaceae*, *Laminaceae*, *Asteraceae*, *Apiaceae*, *Cupressaceae*, *Poaceae*, *Zingiberaceae*, *Piperaceae*, etc”. Estos aceites esenciales, pueden almacenarse en diversos órganos vegetales como flores, hojas y aunque es menos habitual en cortezas, leños, raíces, rizomas, frutos y semillas.

Bruneton (2001) menciona que los aceites esenciales son productos generalmente olorosos, obtenidos bien por arrastre de vapor de agua de vegetales o de partes de vegetales, o bien por expresión del pericarpio fresco. Continúa diciendo que esta definición es restrictiva ya

que excluye tanto los productos obtenidos por extracción con ayuda de disolventes, como los obtenidos por cualquier otro procedimiento (gas a presión, “enfleurage”, disolución en grasas, etc.).

Según Cano (1980), los aceites esenciales pueden localizarse por toda la planta o en sólo determinadas partes de ella como raíz, tronco, corteza, hojas, flores y frutos. En algunos casos una misma planta posee aceites esenciales de composición química diferente en órganos diferentes como ocurre por ejemplo en los cítricos. Bruneton (2001), menciona como ejemplo al “naranja amargo (*C. aurantium* ssp. *Aurantium*, *Rutaceae*), el pericarpio fresco del fruto, proporciona el aceite esencial de naranja amarga o *esencia de Curacao*, la flor produce *esencia de Neroli* y la hidrodestilación de la hoja, ramitas y pequeños frutos da lugar a la *esencia de petit grain*, siendo la composición de estos aceites esenciales diferente”.

2.2. COMPOSICIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

Domínguez (1973) señala que los aceites esenciales, aceites etéreos, aceites volátiles o esencias vegetales son mezclas de un número variable de sustancias orgánicas olorosas, que químicamente están formados por la mayoría de los monoterpenos, algunos sesquiterpenos y compuestos aromáticos.

Bruneton (2001) menciona los aceites esenciales son mezclas complejas y muy variables de constituyentes que pertenecen –de forma casi exclusiva- a dos series, caracterizadas por orígenes biosintéticos distintos: la serie terpénica y la serie, mucho menos frecuente, de los compuestos aromáticos, derivados del fenilpropano. Además menciona que los factores de variabilidad de los aceites esenciales son: el origen botánico, el quimiotipo, el ciclo vegetativo, los factores del entorno y el procedimiento de obtención.

Según Bakkali *et al.* (2008), los aceites esenciales están compuestos por una variedad de constituyentes químicos volátiles, principalmente terpenoides, así como compuestos aromáticos y alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, y ésteres y ácidos) que le proporcionan características como olor, sabor y actividad biológica. Son biosintetizados por plantas aromáticas y tienen gran aplicación en la industria farmacéutica, sanitaria, cosmética, agrícola y de alimentos.

Romero (2004) menciona que todas las moléculas encontradas en los aceites esenciales extraídos, particularmente, por arrastre de vapor de agua están constituidas por moléculas

cuya estructura base son las cadenas carbonadas (entre 7 y 20 átomos de carbonos), hidrógeno y oxígeno. Afirma que las moléculas con menor número de carbonos son más volátiles, pero no hidrosolubles sobre todo si poseen un átomo de oxígeno, éstas quedan en el agua de destilación; por el contrario un elevado número de carbonos las hace poco volátiles. Los compuestos más importantes luego de la destilación son los monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, fenilpropanos y derivados:

- **Monoterpenos;** es la molécula más pequeña está formada por $C_{10}H_{15}$, son hidrocarburos acíclicos, monocíclicos o policíclicos. Van acompañados de sus derivados oxigenados: alcoles, aldehídos, cetonas, ésteres y éteres. Los más representativos son: limoneno, α -pineno, nerol, mentol y eucaliptol.
- **Sesquiterpenos;** formados por quince carbonos (C_{15}) al aumentar el número de ciclaciones y de modificaciones hace que aparezcan millares de compuestos relacionados relacionados con una centena de esqueletos carbonados como el: β -cariofileno, Germacreno-B, Germacreno-D y β -Elemeno.
- **Diterpenos,** son los que contienen más de veinte carbonos (C_{20}), el más abundante es el esclareol. Cabe mencionar que, los terpenos de 30 a 40 carbonos, existen en las plantas pero no en los aceites esenciales.
- **Fenilpropanos,** compuestos aromáticos; los elementos de la estructura fenilpropano están compuestos por un radical fenil aromático con cadena de tres carbonos radical fenil-benceno. Partiendo del metabolismo del ácido sikímico. Contiene ciertos alcoholes, aldehídos y ácidos, otros compuestos azufrados y nitrogenados. Ejemplo: Apiol, safrol, etc.

2.2.1. CARACTERIZACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

La caracterización de los aceites esenciales comprende todos aquellos métodos que permiten la identificación de un compuesto puro o de tipos de compuestos presentes en una mezcla. (Valencia, 1995). Asimismo, es importante pues permite estandarizar el producto, lo que comprende la composición química, y propiedades físicas. El conocimiento de las características del producto facilita su comercialización y uso.

Peralta (1998) indica que los métodos de análisis de los aceites esenciales quedan comprendidos en: examen organoléptico, propiedades físico-químicas y valoraciones

químicas infrarrojas específicas, el análisis por cromatografía gas-líquido y la espectroscopia infrarroja.

- Examen organoléptico.- En primer lugar se observa el color, claridad, viscosidad, presencia de sedimentos, las ceras separadas y el agua. Comprende en sí, el estudio del aroma y del sabor.
- Propiedades físico-químicas.- Densidad, rotación óptica, solubilidad de etanol, de determinada concentración, punto de congelación, índice de refracción.
- Valoraciones químicas específicas.- Índice de acidez, índice de éster, índice carbonilo, contenido de alcoholes, fenoles. Índice de yodo, etc.

Gutiérrez (2008) menciona que la cromatografía de gases es una técnica separativa que consigue la separación de mezclas muy complejas; sin embargo, aunque los componentes individuales de estas mezclas estén separados, detectados, e incluso cuantificados; éstos no pueden ser identificados, debido a que el único dato que se tiene es el de la retención de los picos cromatográficos. En contraposición, la espectrometría de masas puede identificar de manera casi inequívoca cualquier sustancia pura, pero normalmente no es capaz de identificar los componentes individuales de una mezcla sin separar previamente sus componentes.

Debido a lo antes mencionado, la asociación de las dos técnicas CG (“Gas Chromatography”) y MS (“Mass Spectrometry”) da lugar a la técnica combinada CG-MS que permite la separación e identificación de mezclas complejas como los aceites esenciales. (Gutiérrez 2008).

2.3. MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

Existen varios métodos de obtención de los aceites esenciales, los cuales serán descritos a continuación:

2.3.1. POR ARRASTRE CON VAPOR DE AGUA

Bruneton (2001) menciona que en la destilación con vapor saturado, el vegetal no está en contacto con el agua, el vapor de agua se inyecta a través de la masa vegetal dispuesta en placas perforadas. Se puede trabajar a sobrepresión moderada (1 a 3 bar), para acortar el tiempo de tratamiento, limitar la alteración de los constituyentes del aceite esencial y economizar energía.

Asimismo, Staskenko (2009) indica que la destilación por arrastre de vapor de agua se lleva a cabo con un vapor seco sobrecalentado, que puede ser generado por una caldera, este vapor penetra el material vegetal a una presión mayor que la atmosférica, rompiendo las células oleíferas, canales secretorios, tricomas o glándulas en el material vegetal, arrastrando la mezcla volátil, para luego condensar mediante un refrigerante.

2.3.2. HIDRODESTILACIÓN

Staskenko (2009) indica que la hidrodestilación consiste en sumergir el material vegetal directamente en agua, la cual se calienta a hervor, este método es usado en materiales delicados como rosas o flores.

2.3.3. POR EXPRESIÓN DE LOS EPICARPIOS FRESCOS

Bruneton (2001) anota que el principio de este caso es muy sencillo: los epicarpios se escarifican y el contenido de las glándulas secretoras que se han roto, se recupera manual o mecánicamente; consiste en ejercer una acción abrasiva sobre la superficie del fruto bajo una corriente de agua.

2.3.4. PROCEDIMIENTO QUE UTILIZAN ACEITES Y GRASAS PARA LA OBTENCIÓN DE ESENCIAS CONCRETAS

Estos métodos aprovechan la liposolubilidad de los componentes de los aceites esenciales en las grasas. En la técnica llamada “enfleurage”, la extracción se realiza en frío. Este consiste en depositar los órganos vegetales (en general flores) sobre placas de vidrio recubiertas de una capa delgada de grasa. El perfume que exhala de las flores, se disuelve en la grasa. Periódicamente las flores se eliminan y se reemplazan por flores nuevas.

Por otro lado, Shimabukuro y Torres (1992), concluyen en su estudio técnico que el método más adecuado para la extracción de aceites esenciales en *Piper aduncum* L. es la destilación con vapor (Ver Tabla 1), debido a que tiene un mayor rendimiento, produce un aceite más claro, limpio y de mejores propiedades organolépticas.

Tabla 1: **Obtención de aceite esencial de matico a nivel laboratorio**

Método	Rendimiento %	Apariencia
Destilación con agua	0.54	Aceite amarillo claro cristalino
Destilación con agua y vapor	0.74	Aceite amarillo claro cristalino
Destilación con vapor	1.04	Aceite amarillo claro cristalino

Fuente: Shimabukuro y Torres, 1992.

3. ASPECTOS BOTÁNICOS

3.1. FAMILIA PIPERACEAE

La familia *Piperaceae*, está compuesta por cinco géneros (*Verhuellia*, *Piper*, *Peperomia*, *Zippelia* y *Manekia*) y tres sub-familias (*Verhuellioideae*, *Piperoideae* y *Zippelioideae*), tiene una distribución pantropical y sub tropical, abarcando el norte, centro y sur de américa, además de Asia y Malasia filogénicamente pertenecen al orden Piperales, dentro de las Magnoliideas, según APG IV (2016).

Según Sauñe y Reynel (2013), “la familia presenta porte herbáceo, arbustivo o arbóreo, y hojas alternas simples, a menudo con glándulas de aceites aromáticos. Las inflorescencias son densas espigas carnosas, en casos umbeladas. Las flores son muy pequeñas, bracteadas, bisexuales o unisexuales. Tienen 1 – 10 estambres y carecen de pétalos y sépalos. El fruto es una baya carnosa indehiscente, con una sola semilla.”

3.2. GÉNERO PIPER

Las plantas del género *Piper* son herbáceas, arbustos, o árboles pequeños, frecuentemente aromáticos, con las superficies a veces cubiertas por pelos simples, dendríticos o estrellados. Presentan un prófalo lateral, que aparece usualmente en los nudos floríferos. Las hojas son simples, alternas y esparcidas, pecioladas, enteras o lobuladas sólo en la base, iguales en la base foliar. La inflorescencia es tener márgenes angostos o con trayecto hasta la base foliar. La inflorescencia es pedunculada, con una espiga solitaria, sencilla, opuesta a la hoja lineal, cilíndrica, erecta, ascendente, o péndula, recta o raramente recurvada o arqueada. Las flores son numerosas, usualmente agrupadas densamente o con menos frecuencia, más aisladas y distantes, principalmente sésiles. El fruto tiene una semilla, carnoso o seco, globoso, piramidal invertido, cilíndrico, redondo o anguloso, a veces comprimido lateralmente,

trígono o cuadrangular, liso glabro o pubescente, especialmente hacia arriba y alrededor del ápice (Trelease y Yuncker, 1950; Burguer, 1972; Steyermark, 1984; Vásquez, 1997.).

Tabla 2: **Clasificación taxonómica de las especies**

Reino	Plantae
División	Angiospermae
Clade	Mesangiospermas
Clase	Magnoliidae
Orden	Piperales
Familia	Piperaceae
Género	Piper
Especies	<i>Piper aduncum</i> Linnaeus, <i>Piper glabribaccum</i> Trelease, <i>Piper reticulatum</i> Linnaeus

Fuente: APG IV, 2016.

3.3. PIPER ADUNCUM LINNAEUS

Sauñe y Reynel (2013) describieron las características morfológicas, distribución y usos de la especie *Piper aduncum* Linnaeus proveniente del valle de Chanchamayo:

Especie: *Piper aduncum* Linnaeus

Sinónimos botánicos: *Artanthe elongata* (M. Vahl) Miquel, *Piper angustifolium* R. & P., *Piper elongatifolium* Trelease, *Piper elongatum* var. *pampayacusum* Trelease, *Piper lineatum* var. *hirtipetiolatum* Trelease, *Piper purpurescens* D. Dietrich, *Piper reciprocum* Trelease, *Steffensia elongata* (M. Vahl) Kunth

Descripción:

Árbol de 3 - 5 m de alto y 8 - 15 cm de diámetro, ramificado en el segundo tercio, con el fuste nudoso.

Corteza externa de color verde o gris pálido, con anillos horizontales en todo el fuste, distanciados unos 20 cm entre sí, con pequeñas fisuras separadas 1- 2 cm entre sí, y lenticelas poco protuberantes y equidimensionales, alargadas horizontalmente, de 0,2 - 0,5 cm de longitud, regularmente distribuidas, del mismo color que la corteza externa.

Corteza interna homogénea, color verde o blanquecino; oxida a color marrón oscuro luego de unos cinco minutos de expuesta al aire; tiene olor fuerte, algo dulce y picante.

Ramita terminal con sección circular, de 5 - 6 mm de diámetro, lenticelada, levemente fisurada, glabra o pubérula, provista de nudos notables en la zona de inserción de cada hoja, los entrenudos de 2 - 5 cm de longitud; prófalo ligulado - lanceolado, de 1,5 - 3 cm de longitud.

Hojas simples, alternas y dísticas, de 12 - 17 cm de longitud y 3,5 - 5 cm de ancho, color verde o verde amarillento en el haz, verde más pálido en el envés, lanceoladas hasta oblongo - elípticas, el ápice acuminado, la base rotunda y en casos desigualmente cordulada, con uno de los lados 3 - 10 mm más corto que el otro, nervios secundarios 6 - 7(8) pares, pinnados, curvos, prolongados hasta la parte media o $\frac{2}{3}$ de la lámina, el par superior fuertemente ascendente en ángulo de 60° con respecto al nervio principal, los nervios terciarios moderadamente reticulados; láminas papirácea, haz pubérulo con pelos simples y cortos, envés con pelos simples y medianos; peciolo corto, de 3 - 6 mm de longitud, levemente pubescente, vaginado solamente en la base.

Ramita terminal con sección circular, de 5 - 6 mm de diámetro, lenticelada, levemente fisurada, glabra o pubérula, provista de nudos notables en la zona de inserción de cada hoja, los entrenudos de 2 - 5 cm de longitud; prófalo ligulado - lanceolado, de 1,5 - 3 cm de longitud.

Inflorescencias en espigas de color blanco hasta verde, péndulas, de unos 8 - 15 cm de longitud y 4 mm de diámetro, las flores densamente agrupadas en bandas transversales; pedúnculo de 12 - 15 mm de longitud, esparcidamente pubescente hasta glabrado.

Flores pequeñas, rodeadas por brácteas irregularmente oblongas, densamente fimbriadas con pelos blanco, amarillentos en los márgenes, anteras con tecas de 0,2 mm de longitud, lateralmente dehiscentes. **Fruto** obovoide, algo redondeado a tetragonal visto desde arriba; estigmas 3, cortos y sésiles.

Observaciones para el reconocimiento de la especie: *Piper aduncum* Linnaeus es una especie de porte arbóreo, con hojas con láminas cartáceas, lanceoladas hasta oblongo - elípticas, desigualmente corduladas y redondeadas en la base, pinnatinervias curvas, con el peciolo vaginado solamente en la base.

Sitios de ocurrencia en la zona de estudio:

Suelo: Usualmente en suelos de textura arcillo-arenosa, con pedregosidad media a alta.

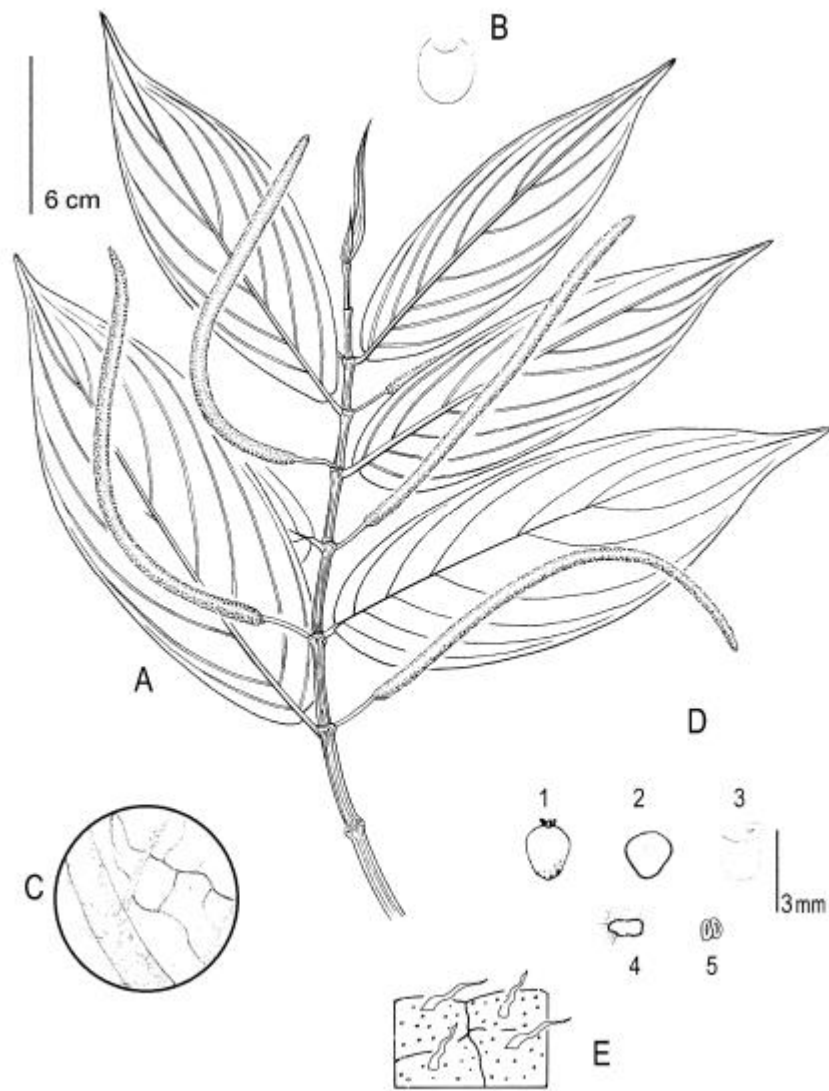
Estadío de sucesión: En bosques secundarios, áreas alteradas y riberas.

Distribución geográfica: Neotrópico: Antillas, América Central y América del Sur (Steyermark, 1984).

En el Perú: Departamentos de Amazonas, Ayacucho, Cuzco, Huánuco, Junín, Loreto, Madre de Dios, San Martín, Ucayali, Cajamarca, Lima, Lambayeque, Pasco y Piura, 0-3000 msnm (Brako & Zarucchi, 1993).

Fenología en la zona. Floración registrada en el mes de enero (2011).

Usos. La madera es usada eventualmente como combustible. Las hojas y ramitas tiernas en infusión se emplean en la Amazonía peruana como un tónico para mitigar la fiebre, inflamaciones, afecciones urinarias, amigdalitis, cistitis, diarreas y estreñimiento; también como diurético (IIAP, 2010).



A. Ramita con hojas e inflorescencias. B. Sección transversal del peciolo. C. Hoja, detalle de la nervación terciaria por el envés. D. Detalle de flores y frutos: 1. Ovario, vista lateral. 2. íd., visto desde arriba. 3. Fruto, vista lateral. 4. Bráctea. 5. Antera. E. Detalle de pelos en el haz de la lámina.

Figura 2: **Piper aduncum Linnaeus**

FUENTE: Sauñe y Reynel, 2013.

3.4. PIPER GLABRIBACCUM TRELEASE

Sauñe y Reynel (2013) describieron las características morfológicas, distribución y usos de la especie *Piper glabribaccum* Trelease proveniente del valle de Chanchamayo:

Especie: *Piper glabribaccum* Trelease

Nombre común: Matico macho (Selva central del Perú)

Descripción:

Árbol de unos 3 - 5 m de alto y 3 ó más cm de diámetro, con el fuste recto y nudoso, ramificado en el tercer tercio.

Corteza externa de color gris pálido, levemente fisurada, con anillos horizontales en todo el fuste, distanciados unos 10 cm entre sí, y con lenticelas poco protuberantes, redondas, dispuestas horizontalmente.

Corteza interna homogénea; oxida a color marrón oscuro después de 5 minutos de expuesta al aire y tiene un olor fuerte, algo dulce, agradable.

Ramita terminal con sección subpoligonal, de 4 - 5 cm de diámetro, finamente fisurada; entrenudos de 6 - 8 cm de longitud, la ramita pubérula.

Hojas simples, alternas y dísticas, de color verde oscuro en el haz, verde grisáceo en el envés, ovadas, el ápice acuminado, la base truncada o cordulada, en casos inequilátera, las láminas de 11 - 35 cm de longitud y 7- 20 cm de ancho; nervios secundarios pinnados, oblicuos, 4 - 5 pares, prolongados hasta la parte media o casi, el par superior ascendente en ángulo de 60° respecto al nervio principal, ligeramente pubescentes, ferruginosos, los nervios terciarios moderadamente reticulados; láminas papiráceas, haz glabrado, envés pubescente con pelos trífidos y simples; peciolo de 15 - 25 mm de longitud, vaginado y alado desde la base de la lámina, pubérulo.

Inflorescencias en espigas de color blanco o verde blanquecino, erguidas, de 8 - 9 cm de longitud y 3 - 5 mm de diámetro; flores densamente agrupadas en bandas transversales; pedúnculo de 10 mm de longitud, pubérulo.

Flores pequeñas, rodeadas por brácteas angostamente poligonales o redondas, corta pero densamente fimbriadas en los márgenes; anteras con tecas de 0,3 mm de longitud, lateralmente dehiscentes; estigmas 3, cortos con un estilo largo.

Observaciones para el reconocimiento de la especie:

Piper glabribaccum Trelease es un arbolito con hojas ovadas hasta elípticas, el peciolo vaginado y alado hasta la base de la lámina, los nervios y peciolos ligeramente pubescentes, ferruginosos.

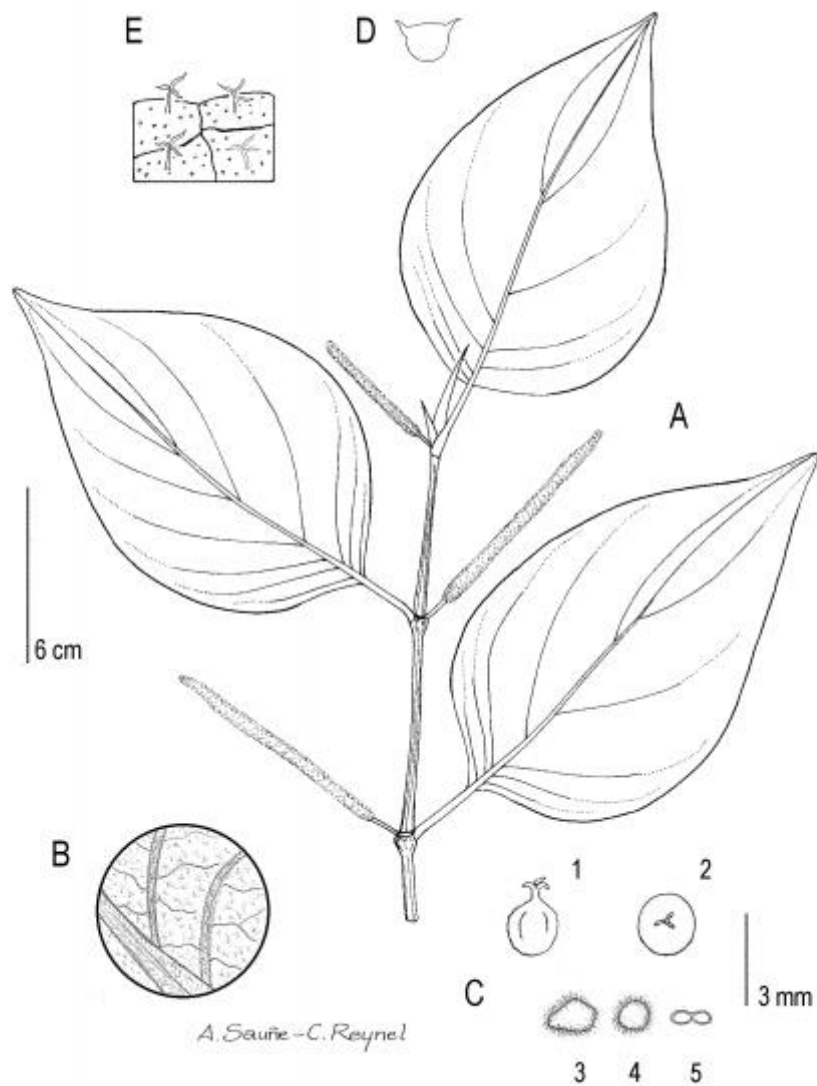
Sitios de ocurrencia en la zona de estudio:

Suelo: Usualmente en suelos de textura arcillo-arenosa, con pedregosidad media a alta.
Estadío de sucesión: En bosques secundarios.

Distribución geográfica: Especie endémica del Perú, con registros en el Departamento de Junín, 500-1000 msnm.

Fenología en la zona: Floración registrada en el mes de enero (2011).

Usos: La infusión de las hojas es empleada en la medicina local para aliviar dolores estomacales y como diurético.



A. Ramita con hojas e inflorescencias. B. Hoja, detalle de la nervación terciaria por el envés. C. Detalle de flores y fruto: 1. Ovario, vista lateral. 2. íd., visto desde arriba. 3-4. Brácteas. 5. Antera. E. Detalle de los pelos en el haz de la lámina. D. Sección transversal del peciolo.

Figura 3: **Piper glabribaccum Trelease**

FUENTE: Sauñe y Reynel, 2013.

3.5. PIPER RETICULATUM LINNAEUS

Sauñe y Reynel (2013) describieron las características morfológicas, distribución y usos de la especie *Piper reticulatum* proveniente del valle de Chanchamayo:

Especie: *Piper reticulatum* L.

Sinónimos botánicos: *Artanthe ruiziana* Miquel, *Enckea reticulata* Kunth, *Piper pangoense* C.DC., *Piper smilacifolium* H.B.K., *Piper tarapotanum* C. DC., *Piper latum* H.B.K.

Descripción:

Árbol glabrado, de 2 - 6 m de alto y 3 ó más cm de diámetro, nudoso.

Corteza externa de color verde pálido, con anillos horizontales en todo el fuste, distanciados unos 10 cm entre sí, y lenticelas poco protuberantes, alargadas horizontalmente, regularmente distribuidas, del mismo color que la corteza externa.

Corteza interna homogénea; oxida a color marrón oscuro después de 5 minutos de expuesta al aire y tiene un olor fuerte, algo dulce, agradable.

Ramita terminal con sección poligonal, glabra, de 5 - 6 mm de diámetro, lenticelada, levemente agrietada, los entrenudos de 11 - 15 cm de longitud.

Hojas simples, alternas y dísticas, de color verde oscuro en el haz y verde más pálido en el envés, ampliamente ovadas, el ápice agudo a cortamente acuminado, la base obtusa, rotunda, subtruncada, usualmente equilátera, las láminas de 15 - 35 cm de longitud y 7- 28 cm de ancho; nervios primarios 7 - 8(-9) pares, palmeados, prominentes en el envés, los nervios secundarios numerosos, interconectando transversalmente los nervios primarios, la nervación terciaria finamente reticulada; láminas cartáceas, glabras; peciolo de 1 - 3 cm de longitud, glabro, vaginado en la base.

Inflorescencias en espigas de color blanco a verdoso, erguidas, de 5,5 - 10 cm de longitud y 2 - 4 mm de diámetro, con las flores congestionadas; pedúnculo de 10 - 22 mm de longitud, pubescente.

Flores pequeñas, rodeadas por brácteas ovaladas, diminuta y esparcidamente fimbriadas en los márgenes; anteras con tecas de 0,2 - 0,3 mm de longitud, verticalmente dehiscentes, los estigmas 4, diminutos y sésiles.

Observaciones para el reconocimiento de la especie:

Piper reticulatum Linnaeus es un arbolito con hojas ampliamente ovadas, cartáceas, palmeadamente nervadas, y el peciolo vaginado en la base.

Sitios de ocurrencia en la zona de estudio Suelo: Usualmente en suelos de textura arcillo-arenosa, con pedregosidad media a alta. Estadío de sucesión: En bosques secundarios.

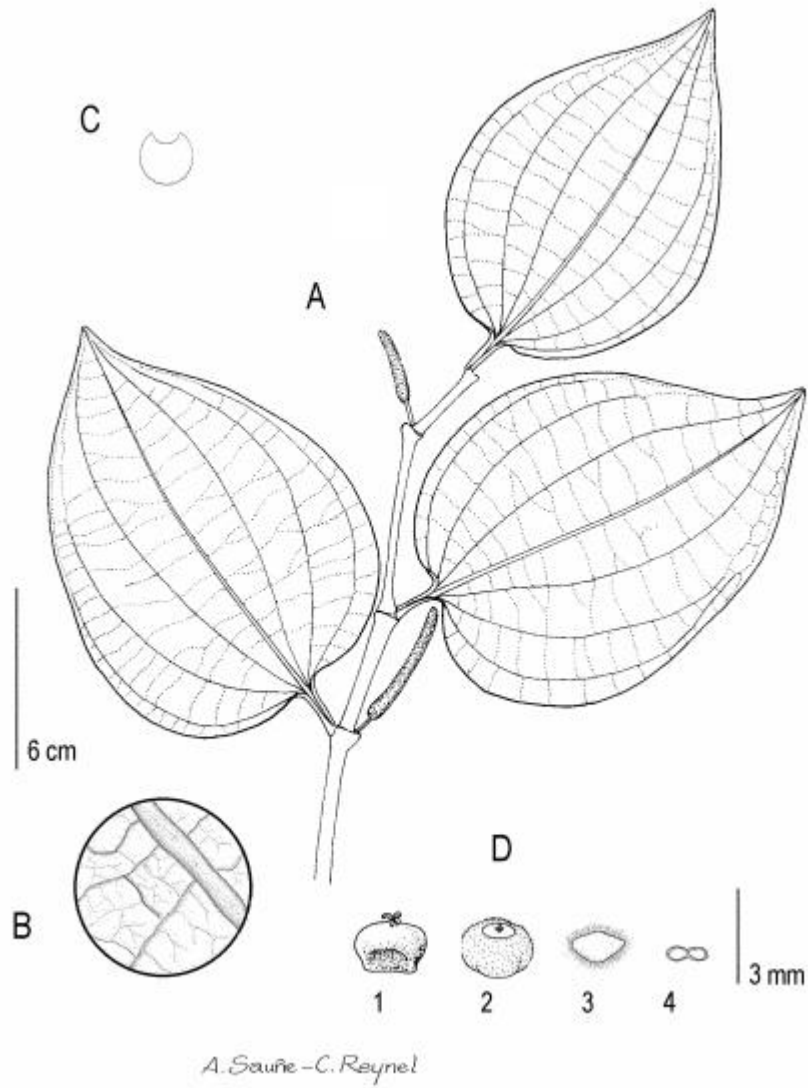
Distribución geográfica:

Neotrópico: Antillas, América Central (Panamá y Nicaragua) y América del Sur (Venezuela, Ecuador, Colombia, Brasil y Perú) (Steyermark, 1984).

En el **Perú**: Departamentos de Amazonas, Huánuco, Junín, Loreto, Madre de Dios, San Martín y Ucayali, 100-1000 msnm (Brako & Zarucchi, 1993).

Fenología en la zona: Floración registrada en el mes de noviembre (2012).

Usos: La infusión de las hojas es empleada en la medicina tradicional como diurético (IIAP, 2010).



Ramita con hojas e inflorescencias. B. Hoja, detalle de la nervación terciaria por el envés. C. Sección transversal del peciolo. D. Detalle de flores y fruto: 1. Ovario, vista lateral. 2. Fruto, vista lateral. 3. Bráctea. 4. Antera.

Figura 4: **Piper reticulatum Linnaeus**

FUENTE: Sauñe y Reynel, 2013.

4. ASPECTOS QUÍMICOS

Las especies del género *Piper* están compuestas por numerosos tipos de metabolitos resaltando las amidas, flavonoides, kavapirona, lignanos, neolignanos, piperolidos, propenilfenoles y terpenos, entre los más conocidos (Parmar *et al.*, 1997).

Se han efectuado investigaciones para determinar los compuestos químicos de los aceites esenciales de especies del género *Piper*. A continuación se detallan los principales constituyentes reportados para las especies *Piper aduncum* Linnaeus y *Piper reticulatum* Linnaeus de diferentes procedencias:

4.1. PIPER ADUNCUM LINNAEUS

En la Tabla 3, se muestran los principales constituyentes definidos mediante la Cromatografía (CG-MS) de *Piper aduncum* Linnaeus obtenido por el método de arrastre con vapor identificados por Albarracín y Gallo (2003) en una zona cafetera en Colombia.

Tabla 3: **Principales constituyentes del *Piper aduncum* Linnaeus**

Constituyente	Porcentaje en la muestra (%)
Apiol	47.319
Miristicina	3.96
Germacreno D	21.6
Cariofileno	6.037
Gama elemeno	7.773

FUENTE: Albarracín y Gallo, 2003.

Asimismo, Maia *et al.* (1998) reportan como principales constituyentes del aceite esencial de *Piper aduncum* Linnaeus al diapiol, piperitona, beta-cimeno y miristicina como se observa en la Tabla 4. Dichas plantas, fueron obtenidas en Belém, Brazil y el aceite esencial fue obtenido mediante hidrodestilación por cinco horas.

Tabla 4: **Principales constituyentes del *Piper aduncum* Linnaeus**

Constituyente	Porcentaje en la muestra %
Dillapiole	82.2
Piperitona	2.1
(E)- β -Ocimene	1.8
Myristicin	1.2

FUENTE: Maia *et al.* (1998)

4.2. PIPER RETICULATUM LINNAEUS

Luz *et al.*, (2003), reportaron como principales componentes del aceite esencial de la especie *Piper reticulatum* Linnaeus a los siguientes compuestos: β -Elemeno (24.6 por ciento) y β -Cariofileno (16.7 por ciento). Dicho aceite esencial fue obtenido mediante destilación por vapor y analizado por Cromatografía GC/MS, con muestras provenientes del norte de Brazil.

Tabla 5: Principales constituyentes del *Piper reticulatum* Linnaeus

Constituyente	Porcentaje en la muestra %
β -Elemene	24.6
β -Caryophyllene	16.7
β -Pinene	7.5
Oxygenated sesquiterpenes	7.2
Hydrocarbon sesquiterpenes	6.3
Nerolidol	6.3
Dilapiolle	0.1

FUENTE: Luz *et al.*, (2003)

4.3. DESCRIPCIÓN DE LOS PRINCIPALES COMPONENTES

4.3.1. MIRISTICINA (C₁₁ H₁₂ O₃),

La miristicina es un fenilpropano que contiene metilendioxfenil (MDP) (Berenbaum y Neal, 1985) es el principal constituyente en los aceites esenciales de frutos y hojas de *Myristica fragrans* (nuez moscada), *Pimpinella anisum* (anís) y *Petroselinum crispum* (Perejil).

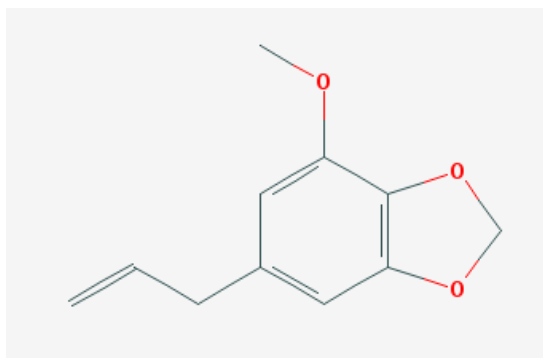


Figura 5: Fórmula estructural de la miristicina

FUENTE: PubChem (2017)

Se ha reportado que a miristicina tiene efectos en el sistema nervioso central, ésta tiene propiedades anticolinérgicas y psicotrópicas; además puede causar un efecto alucinógeno que se asemeja a la embriaguez (Lee, *et al.*, 2005). De la misma manera se ha comprobado que este compuesto se comporta cómo oxitócico, actuando como inhibidor de la monoaminoxidasa y puede comportarse como un antidepresivo (Bernard, *et al.*, 1995).

4.3.2. B-CARIOFILENO (C₁₅H₂₄)

El sesquiterpeno β-Cariofileno se encuentra en grandes cantidades en los aceites esenciales de las especias como el *Origanum vulgare* L. (“orégano”), *Cinnamomum* sp. (“Canela”) y *Piper nigrum* L. (“Pimienta negra”). Asimismo ha sido registrado como el principal componente del aceite esencial de la especie *Cannabis sativa* (Cáñamo) (Gertsch, *et al.* 2008).

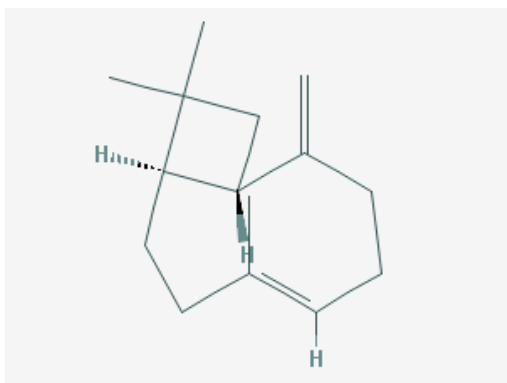


Figura 6: Fórmula estructural de β-Cariofileno

FUENTE: PubChem (2017)

4.3.3. GERMACRENO-B (C₁₅H₂₄) Y GERMACRENO-D (C₁₅H₂₄)

Los isómeros Germacreno-B y Germacreno-D, han sido reportados en los aceites esenciales de *Pistacia lentiscus* “lentisco” (Anacardiaceae) (Magiatis, *et al.*, 1999). Además el germacreno-D, ha sido identificado como el principal componente del aceite esencial de la especie *Lamium purpureum* (“ortiga”) (Famini, *et al.*, 2005). El germacreno D, es también componente minoritario en los aceites esenciales del *Piper nigrum*, *Piper guineense* (Jirovetz, *et al.*, 2002), *Piper aduncum* Linnaeus (Maia, *et al.*, 1997). El Germacreno-D tiene propiedades antimicrobianas contra *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli*, entre otras (Magiatis, *et al.*, 1999)

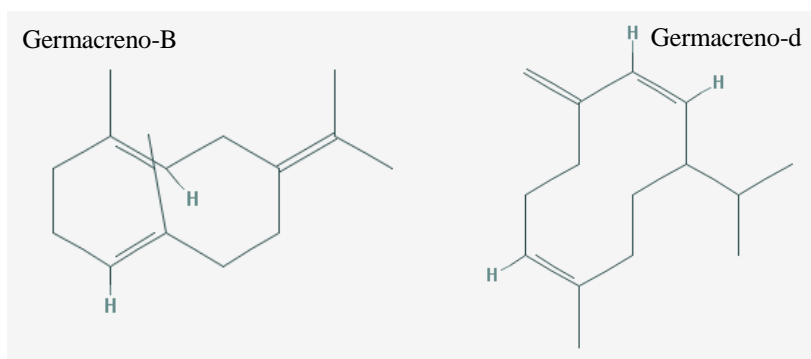


Figura 7: **Fórmula estructural de Germacreno-B y Germacreno-D**

FUENTE: PubChem (2017)

4.3.4. B-PINENO (C₁₀H₁₆)

El monoterpeno β-Pineno (C₁₀H₁₆) ha sido reportado en el aceite esencial de la especie *Myroxylon balsamum* (“Estoraque”); a este componente se le atribuyen propiedades larvicidas contra *Aedes aegypti* o “mosquito del dengue” (Siamas *et al.* 2004)

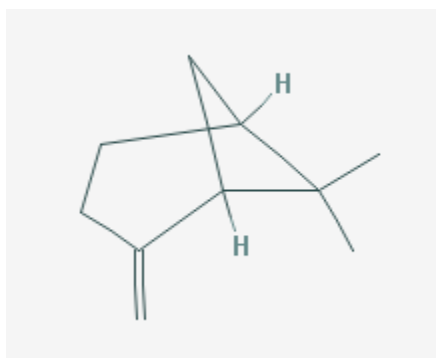


Figura 8: **Fórmula estructural de β-Pineno**

FUENTE: PubChem (2017)

4.3.5. B-ELEMENO (C₁₅H₂₄)

El sesquiterpeno del β-Elemeno, también ha sido reportado, aunque en trazas (de 0.1 por ciento a 0.3 por ciento), en el aceite esencial de *Piper aduncum* Linnaeus. Respecto a las propiedades del **β-Elemeno**, la más resaltante es el efecto antitumoral encontrado por Zhu *et al.* (2015), inhibiendo la proliferación, fomentando la apoptosis, además de la alteración de la capacidad de invasión, en células glioblastoma (tumor maligno de humanos).

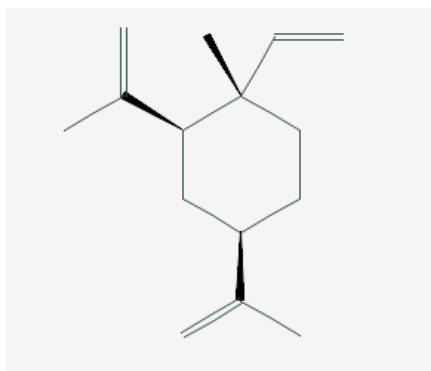


Figura 9: **Fórmula estructural de β -Elemeno**

FUENTE: PubChem (2017)

4.3.6. **A -FELANDRENO (C₁₀H₁₆)**

Al monoterpeneo α -Felandreno ha sido reportado en como componente minoritario (1.9 por ciento) del aceite esencial de la especie *Eucalyptus dives*, con propiedad antibacterial, por ejemplo inhibe la proliferación de *Escherichia coli* (Delaquis, *et al.* 2002)

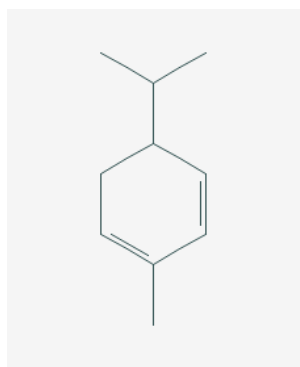


Figura 10: **Fórmula estructural de α -Felandreno**

FUENTE: PubChem, 2017.

4.4. **APLICACIONES DE LOS ACEITES ESENCIALES EN EL GÉNERO PIPER**

Peredo *et al.* (2009) señalan que el uso de los aceites esenciales en la industria farmacéutica y de alimentos es cada vez más generalizado, debido a la homogeneidad del aroma y a la minimización de posibilidades de contaminación microbiana, cuando se compara con el uso directo de tales especies.

A lo largo de los años las plantas del género *Piper* han sido utilizadas en la medicina tradicional para el tratamiento de vaginitis, desordenes intestinales, y como antimicrobiano y citotóxico. (Mesa *et al.* 2007)

La evaluación in vitro de extractos de estas plantas, muestran propiedades antifúngica y antibacteriana. Los aceites esenciales de *Piper* spp. inhiben el crecimiento de una amplio grupo de microorganismos que causan infecciones importantes en humanos como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*, *E.coli*, y los hongos *Trichophyton mentagrophytes*, *C. albicans*, *A. flavus* y *A. fumigatus* (Mesa et al. 2007).

Los principales constituyentes del aceite esencial de *Piper aduncum* Linnaeus tienen propiedades que han sido recopiladas por Albarracín y Gallo (2003), la información se muestra en la siguiente Tabla 6.

Tabla 6: **Propiedades de los principales constituyentes del *Piper aduncum* Linnaeus**

Constituyente	Propiedad
Apiol	Irritante, en dosis altas causa daño hepático y renal
Miristicina	Insecticida y acaricida
Piperitona	Antipruriginoso, antiséptico, desinfectante y fungicida
Germacreno D	Plaguicida, feromona que estimula la comunicación entre insectos
Cariofileno	Antiespasmático , sedante, fungicida, pesticida e insecticida
Fenaldreno	Aromatizante
Beta Pineno	Antiinflamatorio, antiséptico, antiespasmódico, herbicida, insecticida, pesticida
Linalol	Aromatizante

FUENTE: Albarracín y Gallo, 2003.

5. COMERCIO DE LOS ACEITES ESENCIALES

A continuación, se presenta un análisis del comercio de los aceites esenciales a nivel mundial y posteriormente a nivel nacional.

5.1. COMERCIO MUNDIAL DE LOS ACEITES ESENCIALES

En los últimos años el comercio mundial de los aceites esenciales ha mantenido una importante presencia, las exportaciones mundiales durante el periodo del 2012 al 2016 superan los 4 100 000 dólares, en promedio por año.

El principal proveedor de aceites esenciales es Estados Unidos, que en los últimos cinco años, ha concentrado el 13,7 por ciento de las exportaciones totales, seguido de China que exportó 11,8 por ciento, India 10,2 por ciento, Francia 8,2 por ciento y Brasil 6,3 por ciento; estos cinco países concentran más del 50 por ciento de las exportaciones totales mundiales, como se puede observar en la Figura 11.

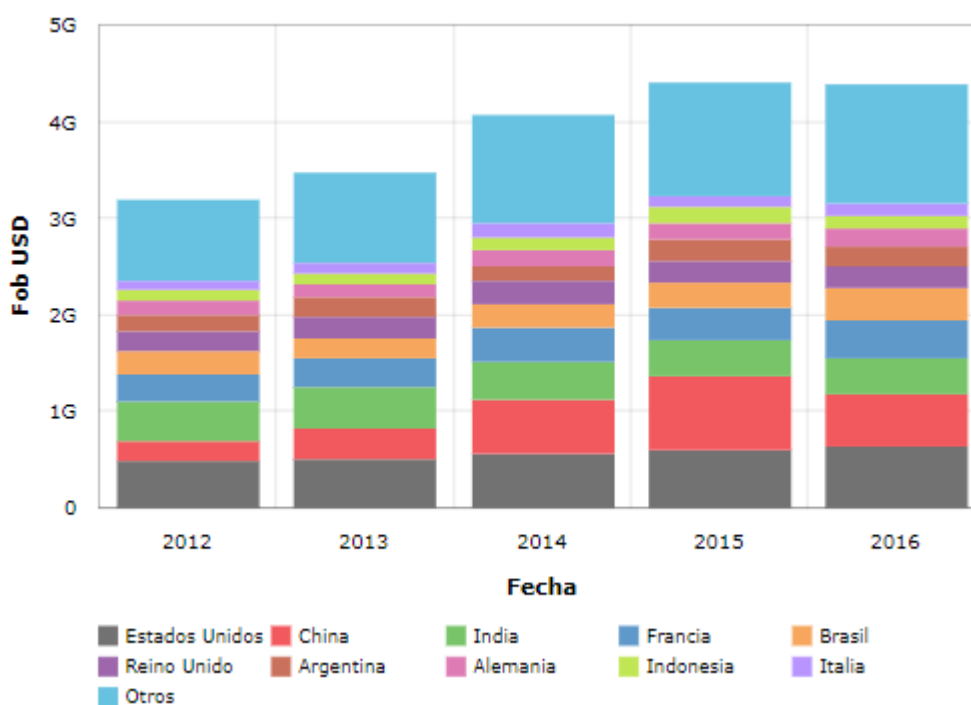


Figura 11: Evolución de exportaciones de aceites esenciales y resinoides a nivel mundial - Anual FOB USD.

FUENTE: NOSIS – EXI: Importaciones y exportaciones (2017)

Estados Unidos exporta aceites esenciales por valor de más de 554 000 000 de dólares en promedio anualmente, logrando superar en el 2016 los 630 000 000 de dólares y hasta el mes de mayo del 2017 superaba los 307 000 000 de dólares, por lo que se espera que en el presente año exceda los 700 000 000 de dólares. Los mercados compradores más importantes de Estados Unidos son Canadá, China, Reino Unido, Japón y México.

El flujo de las importaciones mundiales de aceites esenciales durante los últimos cinco años se ha mantenido estable alrededor de 4 100 000 de dólares anuales, llegando a superar en el 2016 los 3 9 000 000 de dólares.

El principal país importador de aceites esenciales es Estados Unidos, que a la vez es el mayor exportador, concentrando en los últimos 5 años el 20.7 por ciento de las importaciones mundiales, seguido muy por detrás de Francia con el 8,3 por ciento, Alemania 6.9 por ciento, Reino Unido 6,3 por ciento, y Canadá 3,7 por ciento; tal como se aprecia en la Figura 12.

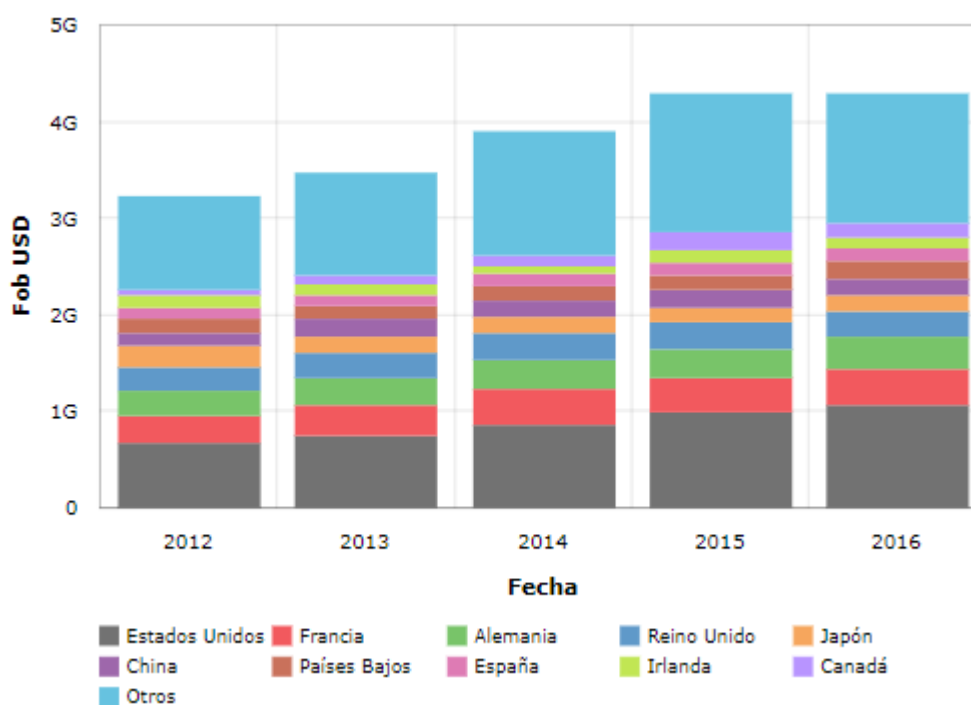


Figura 12: Evolución de importaciones de aceites esenciales y resinoideas a nivel mundial - Anual FOB USD.

FUENTE: NOSIS – EXI: Importaciones y exportaciones (2017)

La importación de aceites esenciales en Estados Unidos fluctúa entre 860 000 000 anualmente, superando en el 2016 los 1 000 000 000 de dólares; además, hasta mayo del 2017 las importaciones exceden los 460 000 000 de dólares, por lo que se espera superar los 1 100 000 000 de dólares de importaciones al finalizar el 2017. La provisión de aceites esenciales se encuentra diversificada, por orden de importancia, en India, Francia, Argentina, Brasil y China, entre otros.

5.2. COMERCIO NACIONAL DE LOS ACEITES ESENCIALES

Las exportaciones peruanas de aceites esenciales son poco significativas si se compara con la totalidad de exportaciones peruanas, 0,04 por ciento de participación durante el periodo del 2012 al 2016; sin embargo, los aceites esenciales pueden considerarse como un producto exportable con potencial de desarrollo, ya que se observa un flujo creciente durante los últimos cinco años, llegando a superar en el 2016 los 19 000 000 de dólares. Asimismo, las exportaciones peruanas de aceites esenciales desde enero hasta julio del año 2017 superan los 11 000 000 de dólares, tal como se muestra en la Figura 13.

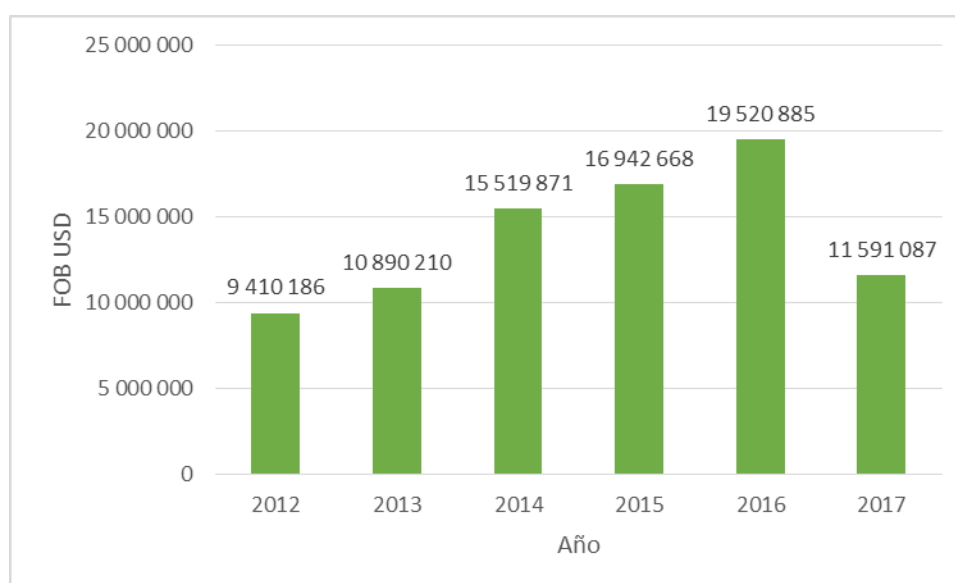


Figura 13: **Evolución de exportaciones de aceites esenciales y resinoides en el Perú - Anual FOB USD.**

FUENTE: NOSIS – EXI: Importaciones y exportaciones (2017)

El principal comprador de aceites esenciales al Perú es Reino Unido, que en los últimos cinco años, ha sido destino del 35,9 por ciento de las exportaciones peruanas, seguido de Estados Unidos con 21,3 por ciento, Países Bajos con 17 por ciento, México con 16,9 por

ciento; sólo estos cuatro países concentran el 91,1 por ciento de las exportaciones peruanas, tal como se aprecia en la Figura 14.

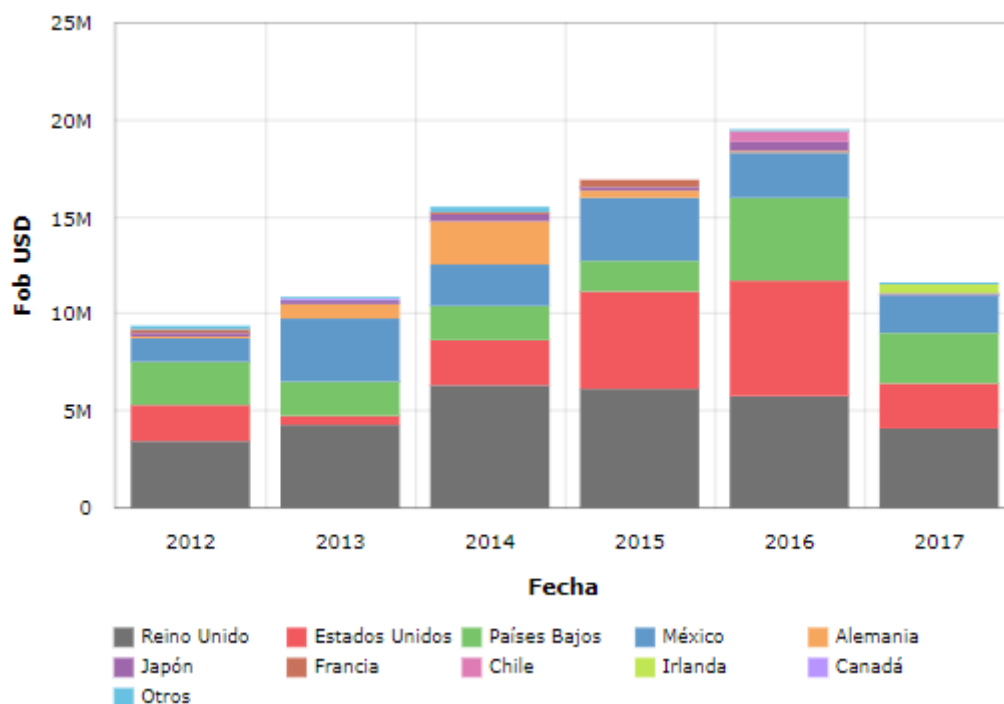


Figura 14: **Evolución de exportaciones por países de aceites esenciales y resinoides en el Perú - Anual FOB USD.**

FUENTE: NOSIS – EXI: Importaciones y exportaciones (2017)

Por otro lado, las importaciones peruanas de aceites esenciales fluctúan alrededor de 2 800 000 de dólares anuales durante el periodo del 2012 al 2016; llegando a superar, el último año (2016), los 3 900 000 de dólares anualmente. Sólo en lo que respecta al año 2017 (enero a julio), las importaciones peruanas de aceites esenciales superan los 2 000 000 de dólares, tal como se muestra en la Figura 15.

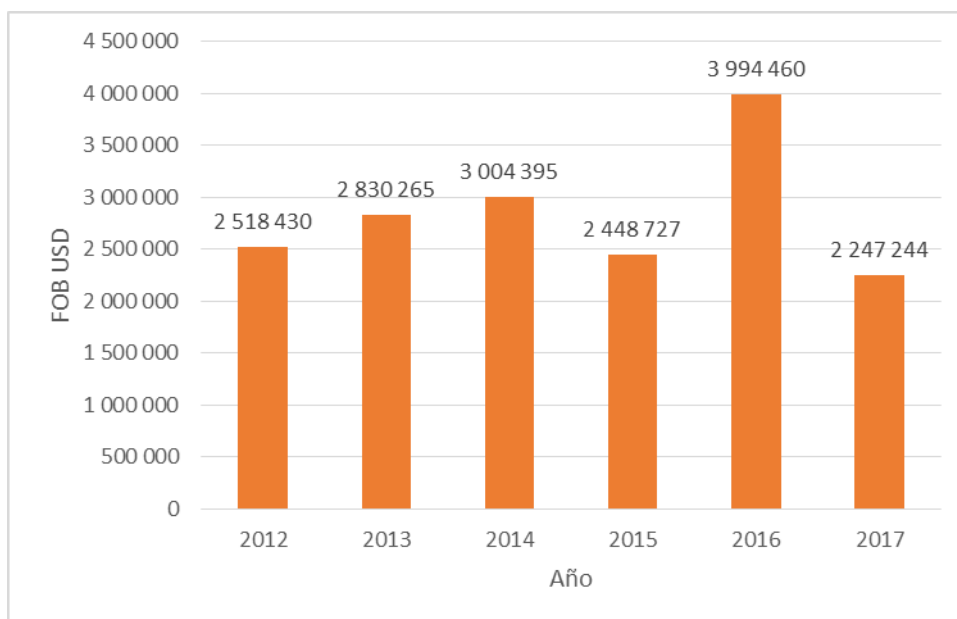


Figura 15: Evolución de importaciones de aceites esenciales y resinoides en el Perú - Anual FOB USD.

FUENTE: NOSIS – EXI: Importaciones y exportaciones (2017)

El principal país proveedor de aceites esenciales para el Perú es Estados Unidos, concentrando en los últimos cinco años el 18,4 por ciento de las importaciones peruanas, seguido inmediatamente de Alemania con el 17.1 por ciento, Reino Unido con 12,1 por ciento, Brasil 10,2 por ciento, y China 8,4 por ciento; estos 5 países agrupan el 66,3 por ciento del total de importaciones. Más rezagados se puede apreciar a la India con 7,2 por ciento, España 6,8 por ciento, Argentina 3,8 por ciento, entre otros, tal como se aprecia en la Figura 16

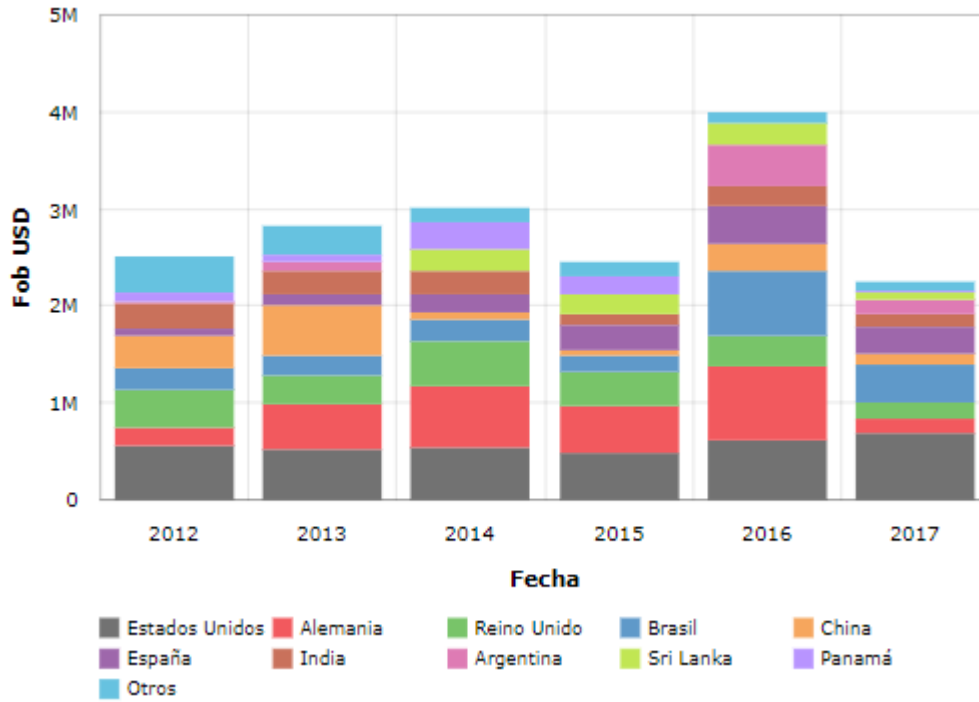


Figura 16: Evolución de importaciones y exportaciones de aceites esenciales y resinoides en el Perú - Anual FOB USD.

FUENTE: NOSIS – EXI: Importaciones y exportaciones (2017)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

1. ÁREA DE ESTUDIO

La colección de materia prima se realizó en la estación para la investigación y producción de la Universidad Nacional Agraria-La Molina (UNALM), Fundo La Génova, ubicado en el Distrito de San Ramón, Provincia de Chanchamayo, Departamento de Junín. (Figura 17)

El Fundo la Génova, según el Dr. Leslie R. Holdridge – ONERN, abarca Zona de Vida de: Bosque Húmedo Premontano Tropical (bh-PT). El relieve varía entre ondulado y empinado. El escenario edáfico es bastante variado y, por lo general, está constituido por suelos profundos. De textura media a pesada y ácidos, donde hay influencia de materiales calcáreos o calizos (Figura 18).

Palacios y Reynel (2011) mencionan lo siguiente respecto a la zona de estudio: “el rango de altitud es 800-1500 msnm; el valle tiene cabeceras de bosque montano nublado en sus partes altas. En cuanto a los parámetros básicos del clima, la Temperatura es alta, con pocos meses de temperatura templada. La media anual es de 23.1 °C; la máxima promedio ocurre entre octubre y noviembre, con 30.1 °C, y la mínima es de 16.7 °C en el mes de julio. La precipitación total anual promedio en la ciudad de San Ramón fluctúa entre 1970- 2101 mm, con un promedio de 2000 mm; en función a la precipitación, se define una estación de baja precipitación entre junio y agosto (llegando a 75 mm en Julio), y otra con abundante precipitación de diciembre a mayo (Galdó, 1985)”.

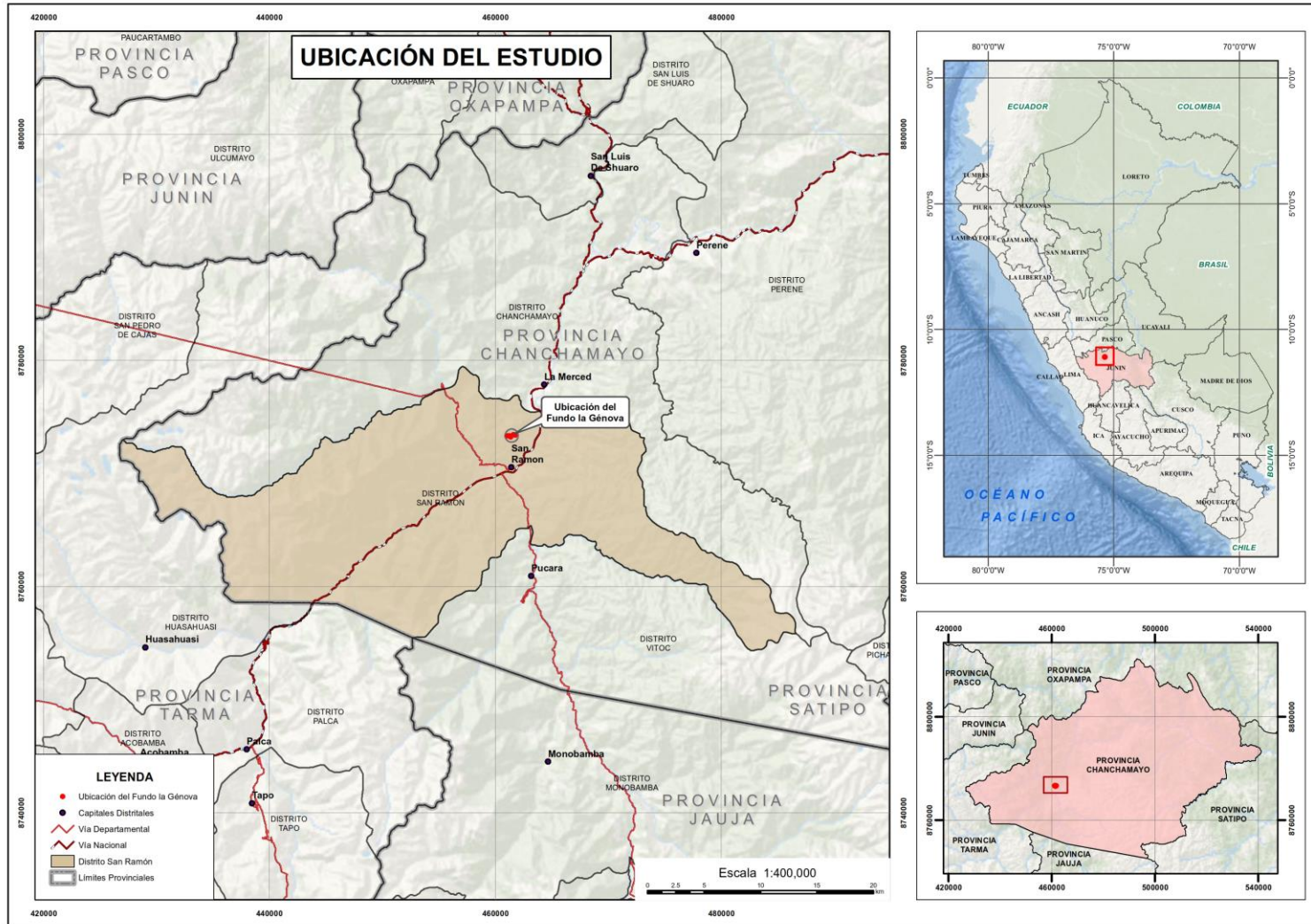
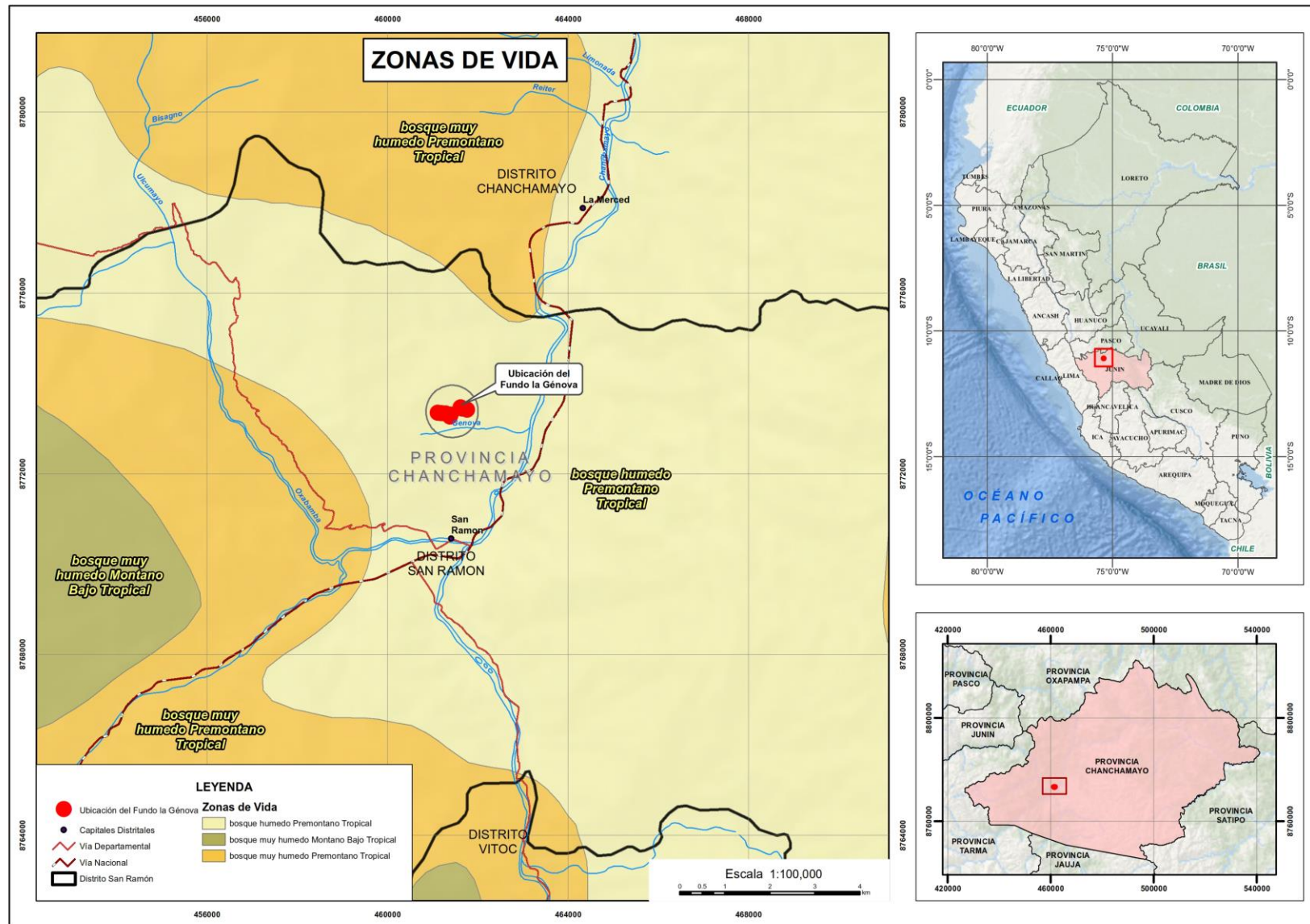


Figura 17: Ubicación del área de estudio



Zonas de Vida en el área de estudio

Se colectó de ocho puntos referenciales, barriendo 25 metros a la redonda desde cada punto, en la Tabla 7 se pueden apreciar las coordenadas UTM en WGS-84 de los puntos de muestreo con la respectiva especie colectada.

Tabla 7: **Ubicación de puntos de muestreo de especies estudiadas**

Código	Coordenadas UTM WGS 84		Especie colectada
	Este	Norte	
01-Pa	461191	8773345	<i>Piper aduncum</i> Linnaeus
02-Pa	461290	8773341	<i>Piper aduncum</i> Linnaeus
03-Pa	461401	8773317	<i>Piper aduncum</i> Linnaeus
01-Pg	461620	8773475	<i>Piper glabribaccum</i> Trelease
02-Pg	461119	8773351	<i>Piper glabribaccum</i> Trelease
03-Pg	461391	8773268	<i>Piper glabribaccum</i> Trelease
01-Pr	461770	8773426	<i>Piper reticulatum</i> Linnaeus
02-Pr	461658	8773449	<i>Piper reticulatum</i> Linnaeus

FUENTE: *Elaboración propia*

En la Figura 19, se puede apreciar la distribución de los puntos de muestreo sobre el área de estudio. Cabe mencionar que la especie se localizan en las riberas de los ríos, siendo una condición no limitante para la especie *Piper aduncum* Linnaeus, (distribución abundante), en tanto las especies *Piper glabribaccum* Trelease y *Piper reticulatum* Linnaeus, sólo fueron encontradas al borde de quebrada Génova.

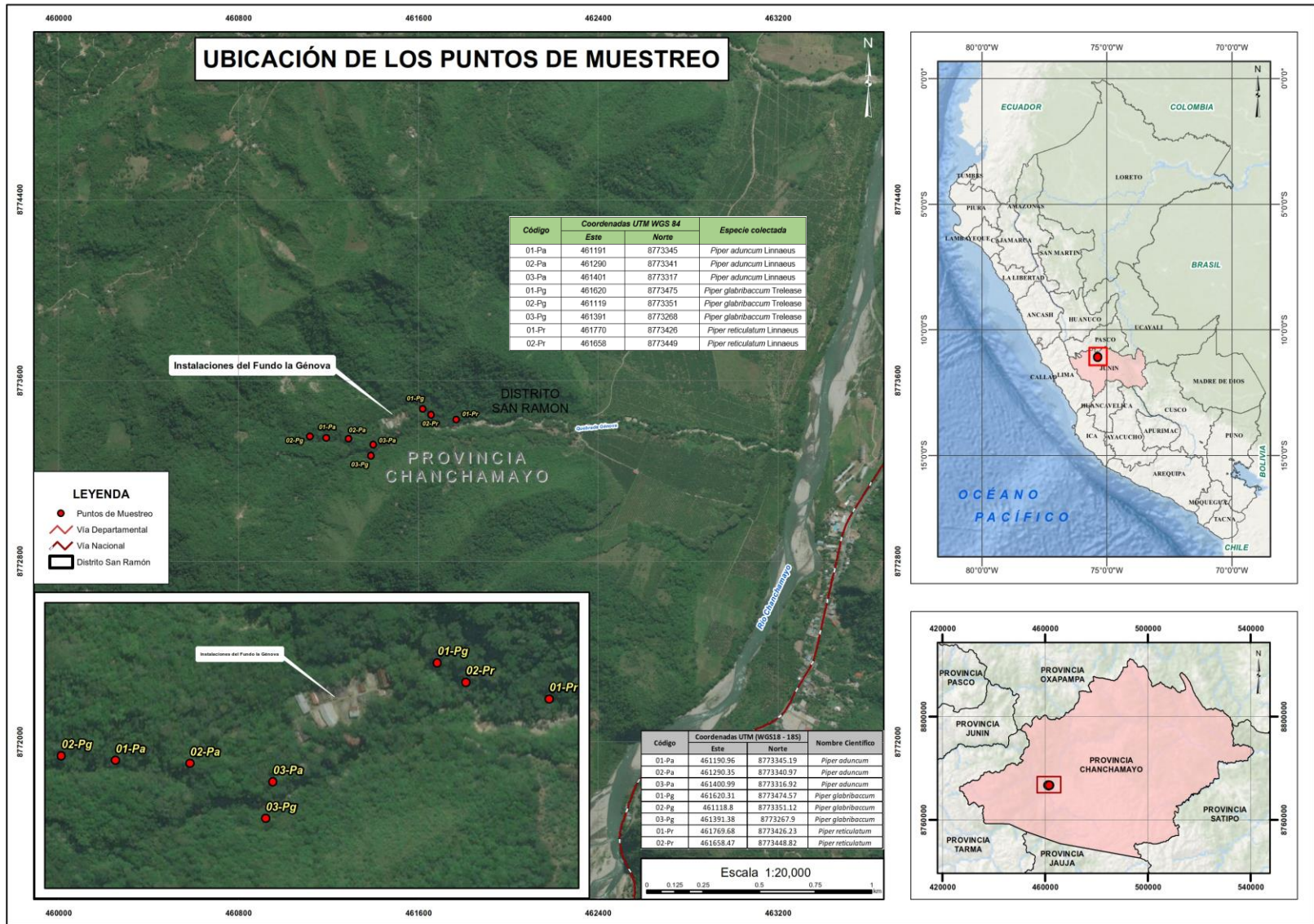


Figura 18: Ubicación puntos de muestreo de especies estudiadas

2. MATERIALES Y EQUIPOS

2.1. MATERIALES

- Materia prima
 - Hojas de Piper aduncum Linnaeus, Piper glabribaccum Trelease y Piper reticulatum Linnaeus
- Materiales para la colección, identificación dendrológica y acondicionamiento
 - Prensa botánica
 - Papel periódico
 - Tijeras de podar
 - Plumón indeleble
 - Alcohol
 - Libreta de campo
 - Lápiz
 - Machete
 - Costales
 - Balanza romana
 - Plumón indeleble
 - Plástico
 - Libreta de campo
 - GPSmap 60. Garmin
- Reactivos químicos
 - Agua destilada
 - Alcohol etílico absoluto anhidro al 99,9 por ciento (v/v)
 - Sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4)
- Materiales de vidrio
 - Kitasato 2000 ml. marca Pyrex
 - Vaso florentino 2000 ml. marca Normax
 - Matraces, 500 ml., 1000ml. marca Pyrex
 - Pera de decantación 25 mL marca Normax
 - Buretas graduadas de 25 mL marca Pyrex

- Tubos de ensayo
- Pipeta graduada de 25 mL
- Picnómetro de 1 mL
- Frascos de vidrio 25 mL color ámbar.
- Otros materiales
 - Bolsas de plástico
 - Baldes de plásticos
 - Jeringas de 5 mL
 - Soporte universal
 - Pinzas
 - Etiquetas
 - Papel Karft
 - Guantes quirúrgicos
 - Hojas bond
 - Materiales de escritorio
 - USB de 16 GB

2.2. EQUIPOS

- Equipos de laboratorio
 - Estufa eléctrica de calentamiento marca Heraeus; temperatura regulable de 0° a 300°C.
 - Equipo de destilación por arrastre de vapor Hechiza, con capacidad de 10 kg.
 - Balanza analítica marca OHAUS; modelo AP105, capacidad máxima 200g; sensibilidad 0,0001 g.
 - Balanza analítica Denver Instrument con sensibilidad de 0,1 mg.
 - Balanza marca Sauter; modelo Toppan, capacidad máxima 1000g; sensibilidad 0,1g.
 - Centrífuga de laboratorio. Marca selecta, capacidad 10 tubos.
 - Refractómetro. RHB Series . For han Held Brix Refractometer
 - Polarímetro Manual 404-LED
 - Cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890 con detector espectrómetro de masas Agilent Technologies 5975C.

3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Para la realización de esta investigación se desarrollaron actividades que va desde la colección de la muestra, hasta el análisis estadístico, en la Figura 20 se puede observar el flujo de estas actividades. Asimismo en el Anexo 1 se pueden visualizar las fotografías del desarrollo de las actividades.

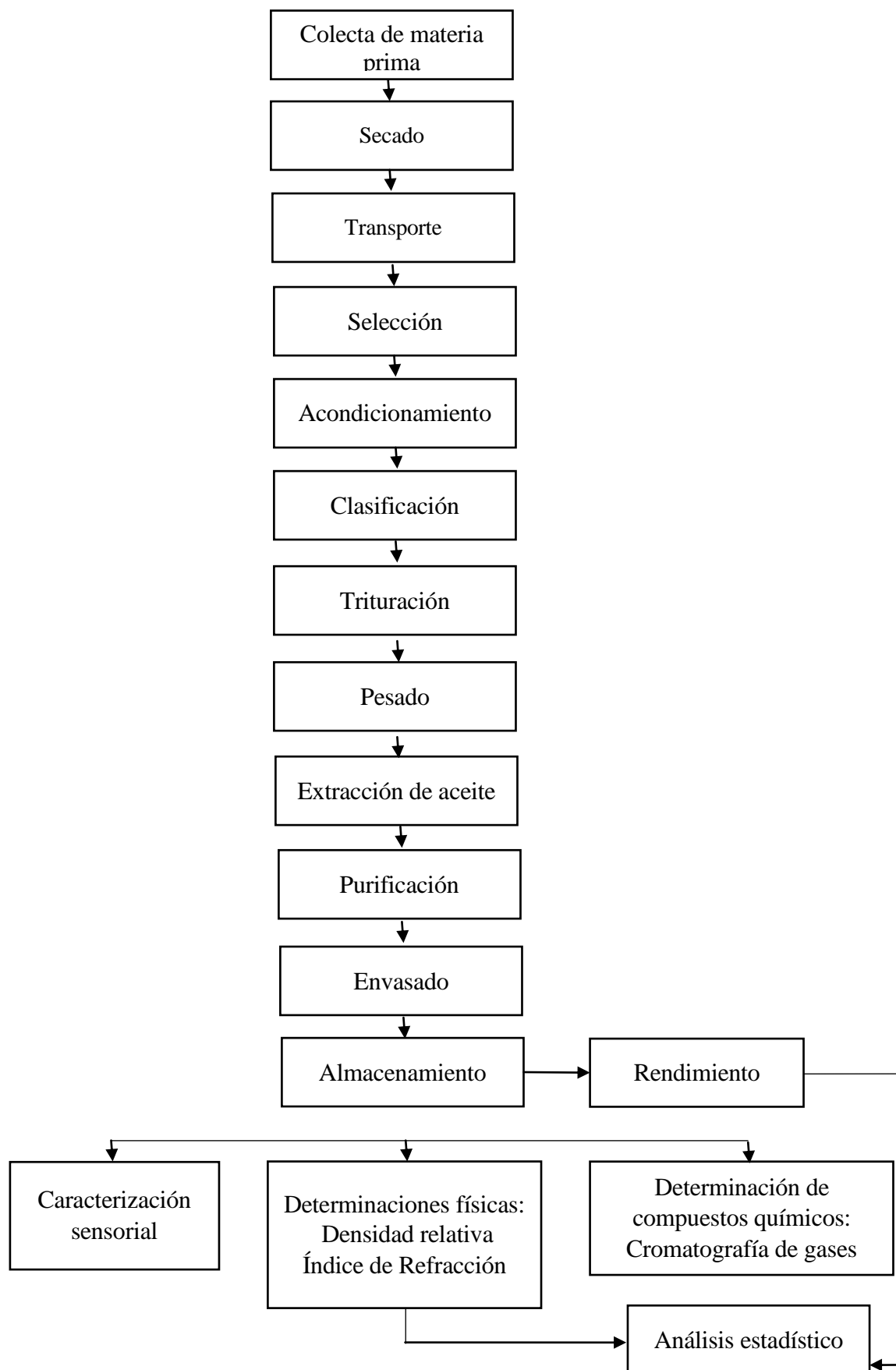


Figura 19: **Flujograma de la metodología experimental**

3.1. IDENTIFICACIÓN DE MUESTRAS DENDROLÓGICAS

Se colectó un aproximado de 50 kg de material vegetal (peso húmedo) por cada especie. Se tomó una muestra por especie y se ingresó al Herbario de la Facultad de Ciencias Forestales (MOL) para su posterior identificación como se puede visualizar en la Tabla 8.

Tabla 8: **Identificación de especies estudiadas**

Nombre Científico	Nombre Común	Familia
<i>Piper aduncum</i> Linnaeus	Matico	Piperaceae
<i>Piper glabribaccum</i> Trelease	Matico hembra	Piperaceae
<i>Piper reticulatum</i> Linnaeus	Matico hembra	Piperaceae

FUENTE: Herbario MOL

En el Anexo 1 se puede observar la Constancia de Identificación expedida por el Dr. Carlos Reynel Rodríguez, Director del Herbario MOL y en el Anexo 2 se pueden apreciar fotografías de las especies estudiadas.

3.2. OBTENCIÓN DE MUESTRAS PARA ENSAYO

El muestreo realizado fue completamente al azar, se procedió a cosechar las hojas tiernas y maduras de individuos en estado de floración, de las especies del género *Piper* seleccionadas. Se obtuvieron aproximadamente 50 kg de muestra de hojas por especie, lo que corresponde a una cantidad de 16 a 24 individuos, según sea el follaje de los individuos.

Las hojas se lavaron y se orearon bajo sombra por 3 días, que fue el tiempo que duró la colecta. Pasado el tiempo, el material fue embalado, codificado y trasladado al laboratorio del Área de Transformación Química de la Facultad de Ciencias Forestales de la UNALM.

En el laboratorio, se seleccionaron las ramas en buen estado descartando las que se encontraban en mal estado, asimismo se extendieron las muestras en bandejas. Posteriormente, se retiraron las hojas de las ramas y se trituró manualmente por tamaños tal como se muestra en la Tabla 9, esto con el fin de aumentar la superficie de contacto y de esta manera favorecer la salida del aceite. Finalmente, se pesó 1 kilogramo de material seco para realizar la destilación.

Tabla 9: **Grado de trituración para las hojas**

Grado de trituración	Tamaño de hoja
Tamaño 1	Mayor o igual a 1 cm; pero menor a 2,5 cm
Tamaño 2	Mayor o igual a 2,5 cm; pero menor a 5 cm
Tamaño 3	Mayor o igual a 5 cm

FUENTE: Adaptación de Shimabukuro y Torres, 1992.

3.3. **EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL, PURIFICACIÓN, ENVASADO Y ALMACENAMIENTO**

Este procedimiento se llevó a cabo en el Área de Transformación Química, Laboratorio de Pulpa y Papel de la Facultad de Ciencias Forestales de la UNALM. Consistió en extraer el aceite esencial mediante el método de destilación por arrastre con vapor de agua, método de extracción más efectivo según Shimabukuro y Torres (1992), los pasos desarrollados se describen a continuación:

- Se agregó 3 litros de agua en el cilindro del equipo de destilación, seguidamente se colocó la canastilla que contenía 1 kg de muestra seca y acondicionada. Cabe mencionar que el agua no tuvo contacto con la muestra, la muestra estuvo separada aproximadamente unos 10 cm. de la parte inferior de la canastilla.
- Una vez colocada la canastilla al interior del tanque de destilación, se cerró herméticamente, para luego conectar la manguera que conduciría el vapor de agua y el aceite al refrigerante y se colocó un matraz kitasato (en el caso de las especies *Piper glabribaccum* Trelease. y *Piper reticulatum* Linnaeus) o un vaso florentino (para la destilación de la especie *Piper aduncum* Linnaeus)
- Se encendió el equipo durante 3 horas, debido a que para llegar a la destilación de la primera gota se necesitó 1 hora aproximadamente.
- Concluido el tiempo, se desconectó el equipo, luego se retiró el vaso florentino o matraz kitasato, dejándolo reposar hasta el día siguiente, esto con el fin de segregar las moléculas de los líquidos inmiscibles.
- El contenido del matraz kitasato o vaso florentino fue vertido a una pera de decantación, en la cual por medio de un grifo de cierre se separó el aceite esencial.

- El aceite esencial obtenido, fue envasado en un frasco de vidrio color ámbar (para evitar oxidación de las moléculas) debidamente etiquetado.
- Una vez que se obtuvieron todas las destilaciones por especie, se procedió a purificar el aceite esencial para lo cual se vertió dicho aceite esencial a unos tubos de ensayo, en donde se agregó de 0.5 g a 1 g de sulfato de sodio anhidro, se agitó suavemente y posteriormente se introdujo los tubos de ensayo a la centrífuga, centrifugando por 10 minutos.
- Transcurrido el tiempo, se desconectó el equipo y se retiraron los tubos de ensayo y se vertió el contenido a unos frascos color ámbar, herméticamente cerrados y debidamente etiquetados con el código de destilación correspondiente, luego fueron almacenados en refrigeración (2°C a 4°C).
- Finalmente, se procedió a realizar las pruebas de cromatografía, físicas y químicas.

Las condiciones generales de trabajo se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10: **Condiciones de trabajo para las destilaciones**

Lugar	Laboratorio del Área de Transformación Química de la Facultad de Ciencias Forestales
Distrito	La Molina
Presión atmosférica (mbar)	980 a 990
Altitud (m.s.n.m)	246
Humedad (por ciento)	74 a 84
Temperatura media (°C)	de 17 a 23
Tiempo de destilación (minutos)	180 minutos

FUENTE: Datos de la estación meteorológica Alexander Von Humboldt, SENAMHI (2016)

3.4. MÉTODOS DE ANÁLISIS FÍSICO – QUÍMICOS E INSTRUMENTALES

Con las muestras obtenidas se evaluarán los siguientes resultados:

3.4.1. RENDIMIENTO DE OBTENCIÓN DE ACEITE ESENCIAL

Para la determinación del rendimiento se empleará la siguiente fórmula:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Masa del aceite esencial (g)}}{\text{Masa seco de la muestra (g)}} \times 100$$

3.4.2. DENSIDAD RELATIVA

Según la Norma Técnica Peruana NTP 319.075: 1974 (ANEXO 4)

La densidad P_{20} , en gramos por mililitro, se da por la siguiente fórmula:

$$P_{20} \left(\frac{\text{g}}{\text{ml}} \right) = 0.99718 \times \frac{P_2 - P}{P_1 - P}$$

La densidad relativa d_{20}^{20} se da por la fórmula siguiente:

$$d_{20}^{20} = \frac{P_2 - P}{P_1 - P}$$

La densidad relativa d_4^{20} se da por la fórmula siguiente:

$$d_4^{20} = 0.99823 \times d_{20}^{20}$$

Donde:

P: El peso, en gramos del picnómetro

P_1 : El peso, en gramos, del picnómetro lleno con agua destilada a 20°C

P_2 : El peso, en gramos, del picnómetro lleno con agua destilada a 20°C

3.4.3. ÍNDICE DE REFRACCIÓN

Según la Norma Técnica Peruana NTP 319.084: 1984 (ANEXO 5)

Sea $n_D^{t'}$ el valor de la lectura a la temperatura t' , el índice de refracción n_D^t a la temperatura de t , es dado por la siguiente fórmula:

$$n_D^{t'} = n_D^t + a (t' - t)$$

Donde:

$$a = 0.0004$$

3.4.4. ROTACIÓN ÓPTICA

La prueba de rotación óptica se realizó en el Laboratorio N° 14 de la Facultad de Ingeniería Química y Textil de la Universidad Nacional de Ingeniería y LID Laboratorio 209, según Norma Técnica Peruana NTP 319.076: 1974. (ANEXO 6)

Desviación polarimétrica de un aceite esencial

$$\alpha_D^{20^\circ C} = \frac{A}{l}$$

Donde:

A: es el ángulo de observado, expresado en grados

l : es el espesor del aceite esencial, expresado en decímetros

Poder rotatorio específico de un aceite esencial

$$[\alpha]_D^{20^\circ C} = \frac{A \times V}{l \times P}$$

A: es el ángulo de rotación observado, en grados.

l: es el espesor atravesado en decímetros

V: es el volumen de la solución, en milímetros.

P: es el peso de la sustancia disuelta, en gramos.

3.4.5. CROMATOGRAFÍA DE GASES CON ESPECTROMETRÍA DE MASAS

El procedimiento se realizó en la Unidad de Investigación en Productos Naturales del LID-Laboratorio 209, Unidad de Investigación en Productos Naturales de la UPCH, las condiciones se describen en la Tabla 11.

Tabla 11: **Condiciones cromatográficas**

Equipo	Cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890 con detector espectrómetro de masas Agilent Technologies 5975C.
Columna	DB-5ms, 325 °C: 60 m x 250 µm x 0.25 µm
Rampa de temperatura	Empieza en 80 °C y sube a 10 °C/min hasta 180 °C, 2.5 °C/min hasta 200 °C por 5 min, 2.5 °C/min hasta 240 °C y finalmente 5 °C/min hasta 300 °C por 3 minutos.
Tiempo de corrida	54 min
Volumen de Inyección	1 µL
Split	20:1
Gas portador	He, 1 mL/min
Temperatura Puerto de inyección	250 °C
Muestra	Se diluyó 10 µL de muestra en 1 mL de diclorometano

FUENTE: Unidad de investigación de productos naturales UPCH, 2016.

3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL

Cada destilación se realizó en base a dos variables que corresponden a la *especie* y el *grado de trituración de la hoja* (T); cada una con sus respectivos niveles (tres repeticiones por variable) como se puede observar en la Tabla 12.

El diseño estadístico empleado fue un diseño factorial, en el siguiente arreglo:

$$3sp \times 3gt \times 3repeticiones = 27 \text{ resultados}$$

Tabla 12: **Diseño experimental**

Variables independientes		Variables dependientes			N° Repeticiones
Especie (Sp)	Grado de Trituración (T)	Rendimiento (Rnd)	Densidad (d)	Índice de Refracción (IR)	
Sp1	T1				3 repeticiones
	T2				
	T3				
Sp2	T1				
	T2				
	T3				
Sp3	T1				
	T2				
	T3				

El modelo propuesto es:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \varepsilon_{ij}; \quad i = 1,2,3; \quad j = 1,2,3$$

Donde:

Y_{ij} : Representa la observación del nivel (i) del factor *especie* y al nivel (j) del factor *grado de trituración de la hoja*.

μ : Efecto constante denominado media global.

A_i : Efecto producido por el nivel i-ésimo del factor *especie*,

B_j : Efecto producido por el nivel j-ésimo del factor *grado de trituración de la hoja*.

$(AB)_{ij}$: Efecto producido por la interacción entre *especie* x *grado de trituración de la hoja*.

ε_{ij} : Parte de la respuesta que no es explicada por el modelo. Muestras independientes con distribución $N(0, \sigma)$.

Para el análisis estadístico se empleó el programa estadístico SPSS ("Statistical Product and Service Solutions") versión 24.0, con el análisis ANOVA factorial se comprobó la significancia entre las variables dependientes y las variables independientes.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. CARACTERIZACIÓN SENSORIAL

Las características organolépticas como color, aspecto, sabor y olor contribuyen a la caracterización, además de orientar el posible uso del aceite esencial. Los aceites esenciales obtenidos de las especies *Piper aduncum* Linnaeus, *Piper glabribaccum* Trelease y *Piper reticulatum* Linnaeus por el método de destilación arrastre con vapor, presentaron características sensoriales, las cuales se muestran en el Tabla 13.

Tabla 13: Caracterización sensorial de los aceites esenciales

<i>Especie</i>	<i>Característica sensorial</i>	<i>Aceite esencial</i>
<i>Piper aduncum</i> Linnaeus	Color	Amarillento cristalino
	Aspecto	Líquido oleoso
	Olor	Similar a la menta
	Sabor	Astringente
<i>Piper glabribaccum</i> Trelease	Color	Amarillento cristalino
	Aspecto	Líquido oleoso
	Olor	Similar a la menta intenso
	Sabor	Amargo y astringente
<i>Piper reticulatum</i> Linnaeus	Color	Amarillento a verdoso cristalino
	Aspecto	Líquido oleoso
	Olor	Alimonado con menta
	Sabor	Astringente a dulce

Visualmente el color de los aceites esenciales del *Piper aduncum* Linnaeus y *Piper glabribaccum* Trelease son similares, ambos son amarillento cristalino, el aceite esencial *Piper reticulatum* Linnaeus se diferencia debido a la tonalidad verdosa que presenta. Los tres aceites esenciales tienen en aspecto líquido oleoso. El olor de los aceites esenciales del *Piper aduncum* Linnaeus y *Piper glabribaccum* Trelease se parecen a la menta siendo el de este último más intenso, mientras que en el aceite esencial del *Piper reticulatum* Linnaeus llama la atención el olor alimonado fácilmente distinguible. Respecto al sabor, la dulzura del

aceite esencial del *Piper reticulatum* Linnaeus se diferencia de los otros presentando un sabor astringente y hasta amargo en el caso del aceite del *Piper glabribaccum* Trelease.

De acuerdo a las características organolépticas el aceite esencial de las especies *Piper aduncum* Linnaeus y *Piper glabribaccum* Trelease podrían ser utilizados como repelentes, considerando su fuerte olor. Mientras que el aceite esencial del *Piper reticulatum* Linnaeus podría utilizarse en la industria de perfumes, debido al agradable olor alimonado que presenta.

2. RENDIMIENTO

De acuerdo a la prueba ANOVA factorial, se pueden identificar que existen diferencias significativas en el rendimiento del aceite esencial en la especies utilizadas (p value = 0), además existen diferencias significativas entre el rendimiento del aceite esencial (p value = 0) y el grado de trituración de las hojas, de la misma manera el rendimiento es afectado por la interacción de la especie y el grado de trituración de la hojas (p value = 0). En el Anexo 7 se muestran los resultados completos, mientras que en el Anexo 8 se muestran los resultados estadísticos para el rendimiento.

2.1. ANÁLISIS DE LA INFLUENCIA DE LA VARIABLE *ESPECIE* EN LOS VALORES DE RENDIMIENTO

La prueba ANOVA factorial, demuestra que existen diferencias significativas en el rendimiento del aceite esencial según la especies utilizada. Es así que la especie *Piper aduncum* Linnaeus presentó un mayor rendimiento de aceite esencial, (1,87 por ciento, 1,65 por ciento y 1,21 por ciento)¹ para los tres grados de trituración de las hojas T1, T2 y T3 respectivamente. Estos resultados están dentro del rango del rendimiento de aceites esenciales obtenidos a partir de la especie *Piper angustifolium* R & P, quien muestra un rango de 0,3 a 6 por ciento; son superiores si se compara con el resultado obtenido por Shimabukuro y Torres (1992), quienes reportan un rendimiento de 1.04 por ciento en la destilación por arrastre con vapor de agua.

Los rendimientos de aceite esencial obtenidos en las destilaciones para las especies *Piper glabribaccum* Trelease (0,33 por ciento, 0,19 por ciento y 0,12 por ciento) y *Piper reticulatum* Linnaeus (0,26 por ciento, 0,14 por ciento y 0,11 por ciento) fueron menores

¹ Medias de las tres repeticiones según tamaño

sustancialmente para los tres tamaños T1, T2 y T3, como se puede apreciar en las Figuras 21 y 22.

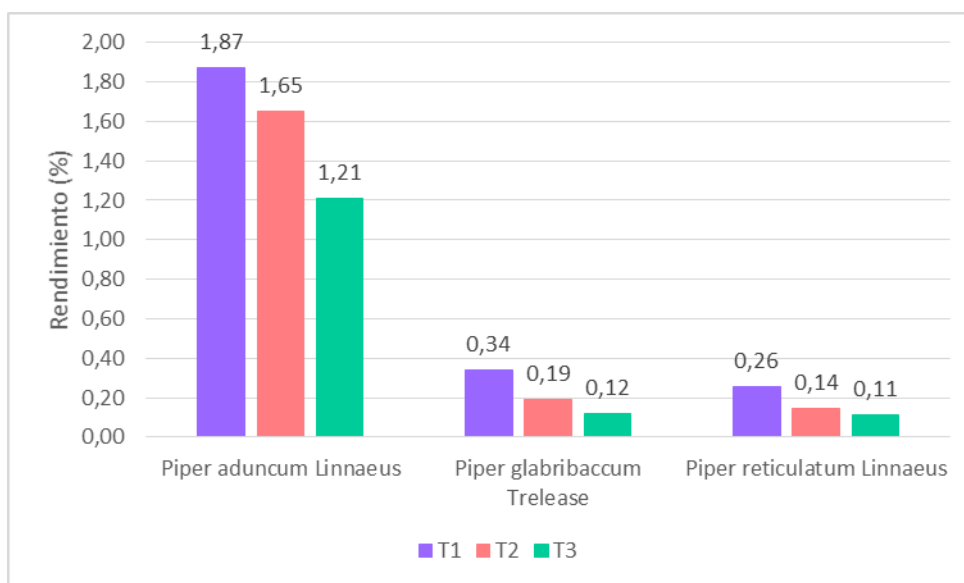
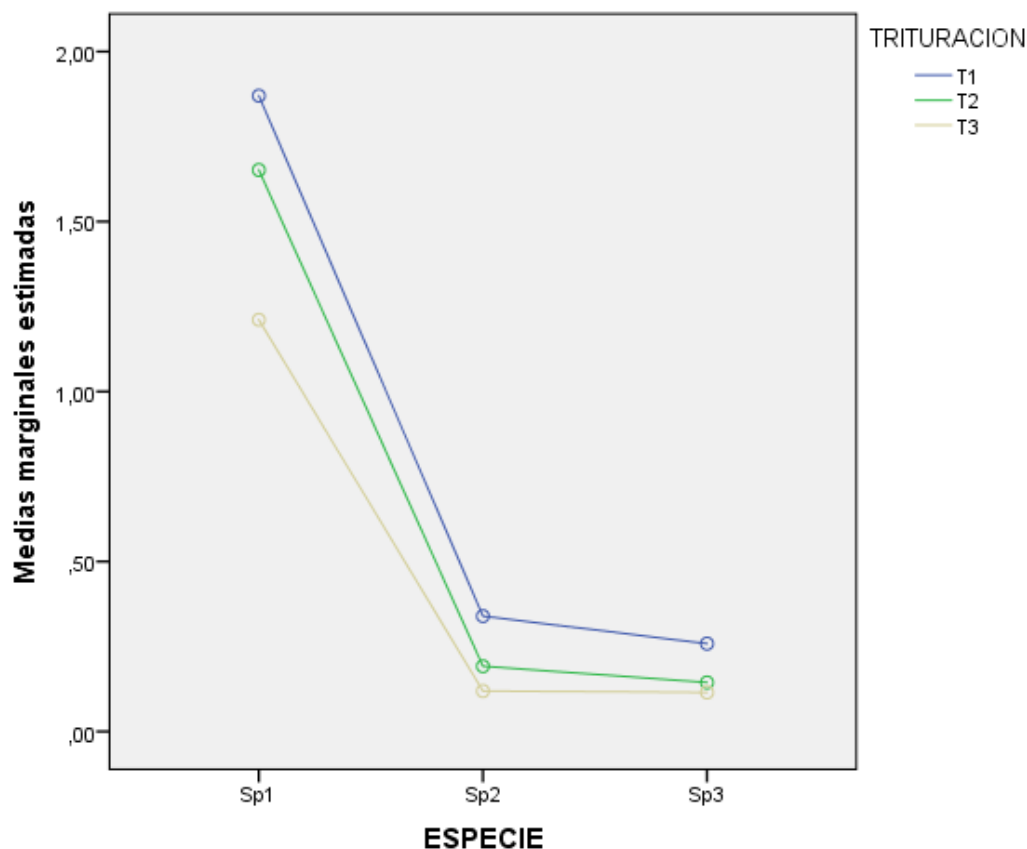


Figura 20: Rendimientos de las destilaciones por especie

El mayor rendimiento del aceite esencial de la especie *Piper aduncum* Linnaeus se debe a la carga genética de la especie considerando que las condiciones físicas (tipo de suelo, humedad, temperatura, radiación, entre otros) son similares. El tamaño de las hojas puede estar relacionado al rendimiento debido a que las hojas de *Piper aduncum* Linnaeus son más pequeñas (de 12 a 17 cm) comparadas con las de la especie *Piper glabribaccum* Trelease (de 11 a 35 cm) y la especie *Piper reticulatum* Linnaeus (de 15 a 35 cm), por ende son más numerosas en una misma cantidad de peso, es decir, en un kilogramo puedo tener más del doble de número de hojas de *Piper aduncum* Linnaeus, que en un kilogramos de las demás especies. Incluso se observó mayor cantidad de inflorescencias en esta especie.

El rendimiento del aceite esencial es una característica muy importante debido a que está ligada a la rentabilidad de elaboración del mismo. En ese sentido, el aceite esencial de la especie *Piper aduncum* Linnaeus sería mucho más rentable que el de las especies *Piper glabribaccum* Trelease y la especie *Piper reticulatum* Linnaeus.



Sp1: *Piper aduncum* Linnaeus
 Sp2: *Piper glabribaccum* Trelease
 Sp3: *Piper reticulatum* Linnaeus
 T1: Grado de trituración "Tamaño 1"
 T2: Grado de trituración "Tamaño 2"
 T3: Grado de trituración "Tamaño 3"

Figura 21: **Medias marginales del rendimiento por especie y grado de trituración**

De acuerdo con Guenther (1952) el rendimiento del aceite esencial depende en gran medida de la edad de las plantas sometidas a destilación, así como de del almacenamiento, transporte, dado que se pierde una cantidad considerable de aceite volátil por evaporación. Para el caso de la presente investigación, se recolectó materia prima en individuos en estado vegetativo en floración maduros en todos los muestreos. Sin embargo, el rendimiento de estos aceites puede ser mayor debido a pérdida de aceites volátiles que habría ocurrido durante el transporte desde el Fundo La Génova hasta el Área de transformación Química Laboratorio de Pulpa y Papel Lima.

2.2. ANÁLISIS DE LA INFLUENCIA DE LA VARIABLE GRADO DE TRITURACIÓN DE LAS HOJAS EN LOS VALORES DE RENDIMIENTO

Tal como se comprobó en la prueba ANOVA, el grado de trituración de las hojas influye en el rendimiento del aceite esencial.

El grado de trituración de la hoja “Tamaño 1”, mayor o igual a 1 cm pero menor a 2.5 cm, presentó mayor rendimiento de aceite esencial (1,87 por ciento, 0.34 por ciento y 0.26 por ciento) para las especies *Piper aduncum* Linnaeus, *Piper glabribaccum* Trelease y *Piper reticulatum* Linnaeus respectivamente. Los rendimientos de aceite esencial para el grado de trituración “Tamaño2” (1,65 por ciento, 0,19 por ciento y 0,14 por ciento) y “Tamaño 3” (1.21 por ciento, 0.12 por ciento y 0.11 por ciento) fueron menores para las tres especies *Piper aduncum* Linnaeus, *Piper glabribaccum* Trelease y *Piper reticulatum* Linnaeus respectivamente.

Por lo antes mencionado y tal como pudo apreciar en las Figuras 23 y 24, a mayor grado de trituración aumenta el rendimiento, esto se debe a que al disminuir el tamaño de las hojas se tiene una mayor superficie de contacto al momento de la destilación. Además al cortar las hojas se estimula a las glándulas para una mayor liberación de aceites esenciales.

3. DENSIDAD RELATIVA

La prueba ANOVA factorial demuestra que existen diferencias significativas (p value = 0) entre la especie y la densidad relativa del aceite esencial. De igual manera, existen diferencias significativas (p value = 0) entre el grado de trituración de la hoja y la densidad relativa del aceite esencial. También, existen diferencias significativas (p value = 0) en la interacción de las variables especie y grado de trituración de la hoja.

Las Figuras 18 y 19 muestran la densidad relativa del aceite esencial y según la especie y el grado de trituración de las hojas. En el ANEXO 9 se encuentran los resultados completos y en el ANEXO 10 se presenta la prueba estadística para la densidad relativa.

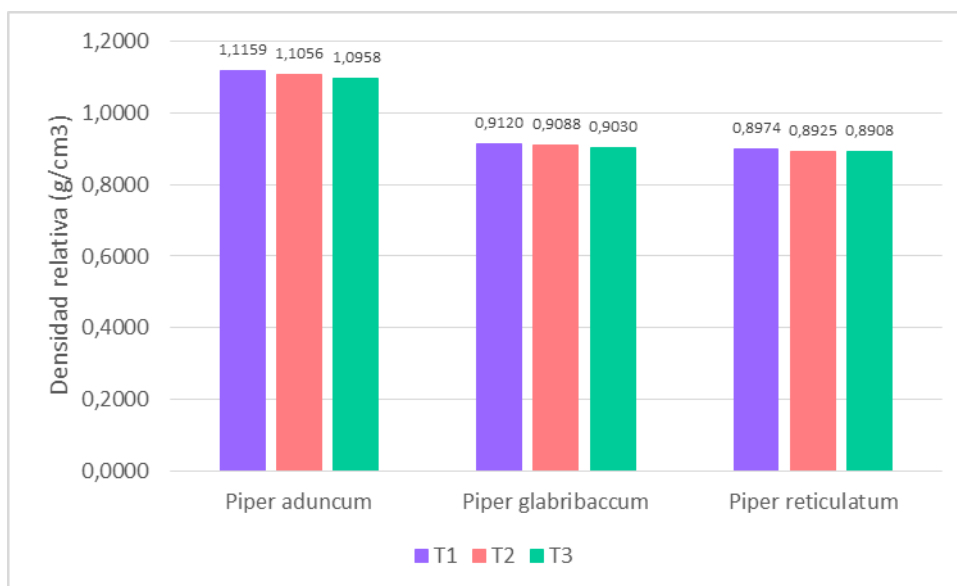


Figura 22: **Densidad Relativa del aceite esencial por especie**

La prueba ANOVA factorial, demuestra que existen diferencias significativas entre las especies y la densidad relativa del aceite esencial. Es así que para la especie *Piper aduncum* Linnaeus la densidad relativa promedio fue $1,1058 \text{ g/cm}^3$, para todos los grados de trituración y repeticiones se evidenció que el aceite esencial es más denso que el agua, esto fue fácilmente visible debido a que el aceite esencial se precipitó al fondo del vaso florentino.

El motivo de que la densidad del aceite de *Piper aduncum* Linnaeus supere a la del agua es que el principal constituyente la Miristicina (91.631 por ciento) presenta una densidad también elevada 1.1416^2 g/cm^3 , de acuerdo a los resultados obtenidos en la identificación de los compuestos químicos del aceite esencial de la especie *Piper aduncum* Linnaeus (ver ítem 4.6.1).

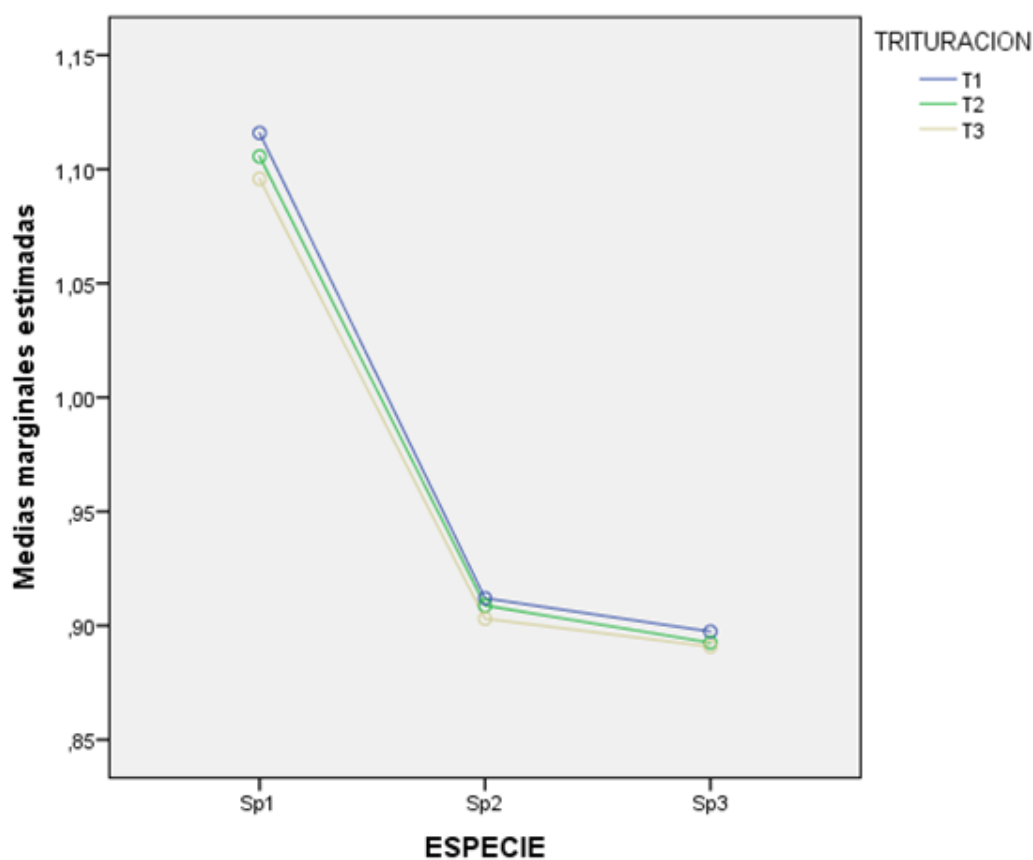
En contraposición, para las especies *Piper glabribaccum* Trelease y *Piper reticulatum* Linnaeus los valores de densidad relativa son $0,9079 \text{ g/cm}^3$ y $0,8936 \text{ g/cm}^3$ respectivamente. Esto se debe a la composición química de la especie *Piper glabribaccum* Trelease, la cual tiene como principal constituyente al β -Cariofileno, cuya densidad 0.9075^3 g/cm^3 , de la

² PubChem: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Myristicin#section=Kovats-Retention-Index>

³ PubChem: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/beta-caryophyllene#section=Top>

misma manera la especie *Piper reticulatum* Linnaeus tiene como principal constituyente al β -Elemeno, cuya densidad es 0.862^4 g/cm^3 .

Cabe mencionar que si bien es común observar densidades bajas de los aceites esenciales, algunas especie como: *Piper aduncum* Linnaeus (“matico macho”), *Syzygium aromaticum* presentada (“Clavo de olor”) tienen densidad elevada. Estos valores se encuentran en el rango de densidad relativa de aceites esenciales de *Piper angustifolium* R & P establecido por Guenther (1952), los cuales van desde $0,940 \text{ g/cm}^3$ hasta $1,135 \text{ g/cm}^3$.



Sp1: *Piper aduncum* Linnaeus
 Sp2: *Piper glabribaccum* Trelease
 Sp3: *Piper reticulatum* Linnaeus

T1: Grado de trituración "Tamaño 1"
 T2: Grado de trituración "Tamaño 2"
 T3: Grado de trituración "Tamaño 3"

Figura 23: **Medias marginales de Densidad relativa por especie y grado de trituración**

⁴ ChemicalBook: https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB2979913_EN.htm

La prueba ANOVA factorial, demuestra que existen diferencias significativas entre el grado de trituración de la hoja y la densidad relativa del aceite esencial. Es así que para el tamaño 1 (de 1cm a 2,5cm) las densidades relativas promedio fueron 1,1159g/cm³, 0,9120g/cm³ y 0,8974g/cm³, para el tamaño 2 (de 2,5cm a 5cm) las densidades relativas promedio fueron 1,1056g/cm³, 0,9088g/cm³ y 0,8925g/cm³ y para el tamaño 3 (mayor de 5cm) las densidades relativas promedio fueron 1,0958g/cm³, 0,9030g/cm³ y 0,8908g/cm³ para las especies *Piper aduncum* Linnaeus, *Piper glabribaccum* Trelease y *Piper reticulatum* Linnaeus respectivamente. Por lo anteriormente descrito se observa que al aumentar en el grado de trituración de la hoja, la densidad relativa del aceite esencial aumenta.

4. ÍNDICE DE REFRACCIÓN

La prueba ANOVA factorial demuestra que existen diferencias significativas (p value = 0) entre la especie y el índice de refracción del aceite esencial. Sin embargo, no existen diferencias significativas (p value = 0,339) entre el grado de trituración de la hoja y el índice de refracción del aceite esencial. De la misma manera, no existen diferencias significativas (p value = 0,102) entre la interacción de las variables especie y grado de trituración de la hoja. Las Figuras 25 y 26 muestran la densidad relativa del aceite esencial y según la especie y el grado de trituración de las hojas. Los resultados completos se encuentran en el ANEXO 11, mientras que la prueba estadística para rendimiento se puede apreciar en el ANEXO 12.

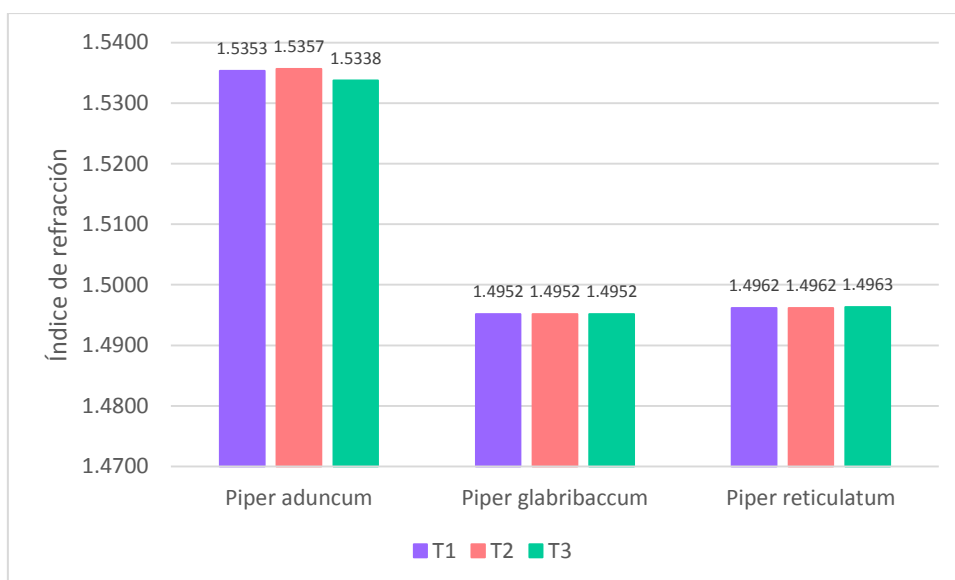
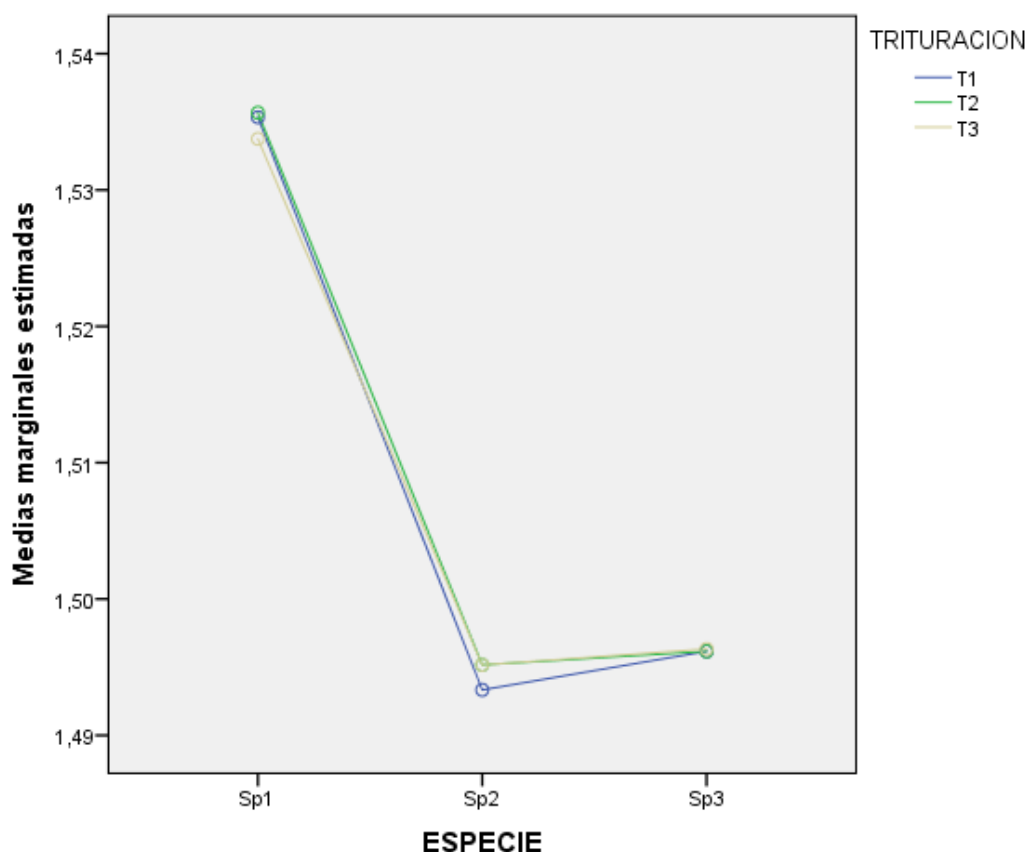


Figura 24: Índice de Refracción del aceite esencial por especie

La prueba ANOVA factorial, demuestra que existen diferencias significativas entre las especies y el índice de refracción del aceite esencial. Es así que para la especie *Piper aduncum* Linnaeus índice de refracción promedio fue 1,5349; mientras que para las especies *Piper glabribaccum* Trelease y *Piper reticulatum* Linnaeus los valores del índice de refracción fueron 1,4952 y 1,4962 respectivamente. Estos valores se encuentran en el rango del índice de refracción de aceites esenciales de *Piper angustifolium* R & P establecido por Guenther (1952), los cuales van desde 1,496 hasta 1,529.



Sp1: *Piper aduncum* Linnaeus. T1: Grado de trituración "Tamaño 1"
 Sp2: *Piper glabribaccum* Trelease T2: Grado de trituración "Tamaño 2"
 Sp3: *Piper reticulatum* Linnaeus T3: Grado de trituración "Tamaño 3"

Figura 25: **Medias marginales del Índice de Refracción por especie y grado de trituración**

El índice de refracción del aceite esencial, al igual que la densidad relativa, es determinado por los principales constituyentes, en el caso del *Piper aduncum* Linnaeus a la Miristicina (91.631 por ciento) cuyo índice de refracción es 1,54035 g/cm³, mientras el principal

⁵ PubChem: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Myristicin#section=Kovats-Retention-Index>

constituyente del aceite esencial de la especie *Piper glabribaccum* Trelease es el β -Cariofileno, cuyo índice de refracción es 1,5006.

5. PODER ROTATORIO ESPECÍFICO

Los valores de poder rotatorio específicos obtenidos fueron 127,5° (L), 114° (L) y 115,85 (L) para las especies *Piper aduncum* Linnaeus, *Piper glabribaccum* Trelease y *Piper reticulatum* Linnaeus, tal como se muestra en la Tabla 14.

Tabla 14: Poder Rotatorio Específico por Especie

Especie	Poder Rotatorio Específico
<i>Piper aduncum</i> Linnaeus	$[\alpha]_d^{20} = 127,5^\circ$ (L)
<i>Piper glabribaccum</i> Trelease	$[\alpha]_d^{20} = 114^\circ$ (L)
<i>Piper reticulatum</i> Linnaeus	$[\alpha]_d^{20} = 115,85^\circ$ (L)

El poder rotatorio específico es una característica del aceite esencial, los resultados obtenidos no se asemejan a los valores obtenidos por Guenther (1952) en su análisis del aceite esencial de *Piper angustifolium* R & P, quien menciona que el poder rotatorio específico de 27° 05 (D) a 5° 34 (L). Asimismo, los resultados difieren de lo obtenido por Shimabukuro y Torres (1992) quienes encontraron un poder rotatorio específico de 104° (D) para el aceite esencial de *Piper aduncum* Linnaeus provenientes de Ucayali.

6. CROMATOGRAFÍA DE GASES – MASA (CG-MS)

En seguida se describen los compuestos identificados en el aceite esencial de las tres especies estudiadas. Asimismo, los resultados del laboratorio se adjuntan en el Anexo 13.

6.1. COMPUESTOS IDENTIFICADOS PARA PIPER ADUNCUM

El análisis de CG-MS del aceite esencial de la especie *Piper aduncum* Linnaeus permitió la identificación de 10 componentes; sin embargo, siete no fueron identificados, en el ANEXO 13 se muestra la totalidad de compuestos identificados, mientras que en la Figura 22 y en la Tabla 15 se muestran los principales constituyentes del aceite esencial.

⁶ ChemicalBook: http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB3414149.htm

Tabla 15: **Principales Compuestos identificados en el aceite esencial de la especie *Piper aduncum* Linnaeus**

N°	Nombre del compuesto (NIST08.L)	TR (Min)	% en la muestra
6	Pentadecano	16,2	1,359
7	Miristicina	16,6	91,631
8	Biciclogermacreno	16,8	1,168
-	Otros	-	5,842

FUENTE: LID-Laboratorio 209, Unidad de Investigación en Productos Naturales de la UPCH.

En la Figura 27 se puede apreciar que el cromatograma CG-MS presenta un compuesto representativo del 91,631 por ciento de la muestra en un tiempo de retención de 16,6 minutos.

El principal compuesto identificado en el aceite esencial de la especie *Piper aduncum* Linnaeus es la **miristicina**, con un abordante 91,631 por ciento del total de la muestra.

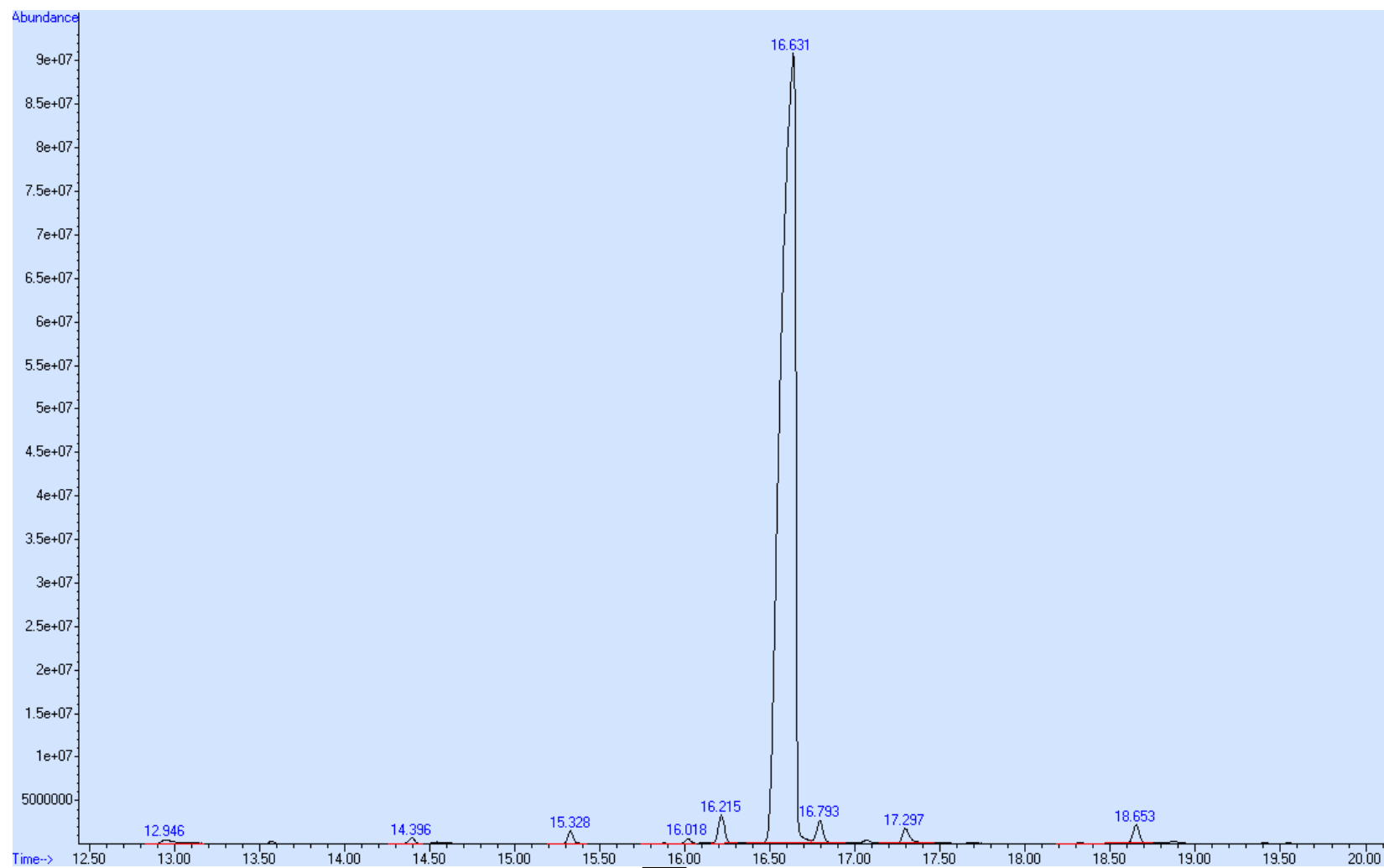
La miristicina fue reportada por Albarracín y Gallo (2003), Maia *et al.* (1998) y, Potzernheim *et al.* (2012) como constituyente del aceite esencial de la especie *Piper aduncum* Linnaeus provenientes de una zona cafetera en Colombia⁷, región amazónica de Brasil⁸ y, distrito federal de Brazil⁹; con un porcentaje en la muestra del 5.12 por ciento, 2.0 por ciento y, 2.88 por ciento respectivamente, valores que difieren categóricamente respecto a lo reportado en la presente investigación.

Esto refuerza la premisa de que la composición de los aceites esenciales varía de acuerdo a las características del sitio, como horas de sol, evapotranspiración, estrés hídrico, tipo de suelo y nutrientes disponibles en el suelo, entre otros, lo que hace una especie de determinado lugar tenga características químicas diferentes (“quimiotipo”) con respecto a las misma especie pero localizada en otro ámbito de ubicación.

⁷ Aceite esencial obtenido mediante el método de arrastre con vapor (Albarracín y Gallo, 2013)

⁸ Aceite esencial obtenido mediante hidrodestilación, ubicación exacta de las muestras en la región amazónica de Brasil: Serra do Navio, Melgaco, Belém, Manaus y Cruzeiro do Sul (Maia et al, 1997)

⁹ Aceite esencial obtenido mediante hidrodestilación (Potzernheim et al 2012)



7

Figura 26: **Cromatograma de aceite esencial de Piper aduncum Linnaeus**

FUENTE: LID-Laboratorio 209, Unidad de Investigación en Productos Naturales de la UPCH.

6.2. COMPUESTOS IDENTIFICADOS PARA *PIPER GLABRIBACCUM* TRELEASE

El análisis de CG-MS del aceite esencial de la especie *Piper glabribaccum* Trelease permitió la identificación de 34 componentes; sin embargo, tres no fueron identificados, en el ANEXO 13 se muestra la totalidad de compuestos identificados, mientras que en la Figura 28 y en la Tabla 16 se muestran los principales constituyentes del aceite esencial.

Tabla 16: **Compuestos identificados en el aceite esencial de la especie *Piper glabribaccum* Trelease**

N°	Nombre del compuesto (NIST08.L)	TR (Min)	% en la muestra
2	β -Pineno	16,7	7,3
14	β -Elemeno	28,8	7,4
17	β -Cariofileno	29,9	17,2
18	Germacreno-D	31,5	8,7
27	Germacreno-B	31,9	14,4

FUENTE: LID-Laboratorio 209, Unidad de Investigación en Productos Naturales de la UPCH.

El aceite esencial de la especie *Piper glabribaccum* Trelease está constituido principalmente por los sesquiterpenos β -Cariofileno, Germacreno-B, Germacreno-D y β -Elemeno, además del monoterpeno β -Pineno; estos cinco componentes agrupan el 55 por ciento de la muestra de aceite esencial.

En la Figura 28 se puede observar que el cromatograma CG-MS presenta varios compuestos representativos, el primer pico representativo es β -Pineno con un tiempo de retención de 16,7 minutos, el segundo pico representa al β -Elemeno con un tiempo de retención de 28,8 minutos, el tercer componente y más alto pico es el β -Cariofileno, el cuarto es el Germacreno-D con un tiempo de retención de 31,5 minutos y el quinto pico es el Germacreno-B con un tiempo de retención de 32,4 minutos.

Los compuestos del aceite esencial de la especie *Piper glabribaccun* Trelease han sido publicados hasta el momento, por lo que no se puede comparar la composición.

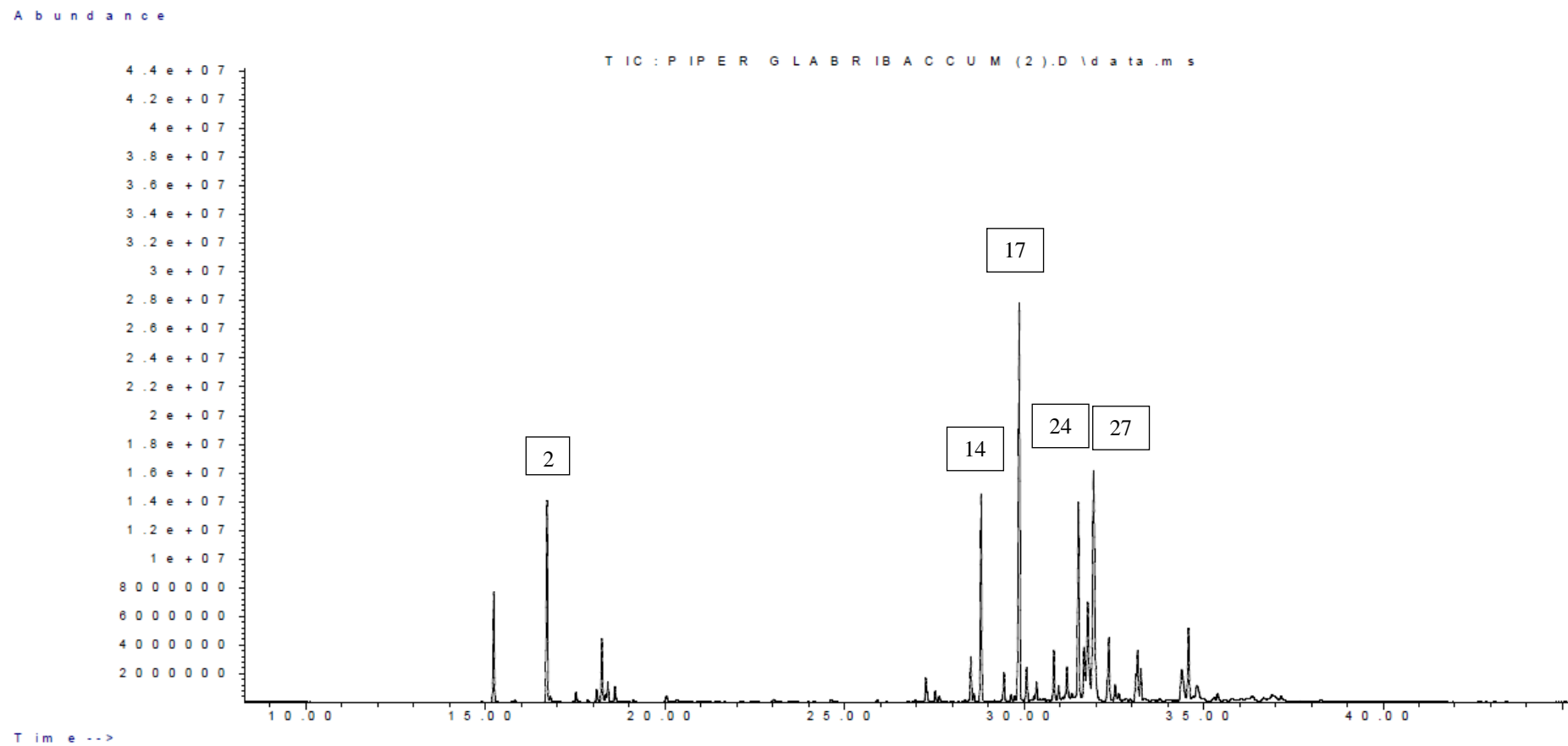


Figura 27: **Cromatograma de aceite esencial de Piper glabribaccum Trelease**

FUENTE: LID-Laboratorio 209, Unidad de Investigación en Productos Naturales de la UPCH

6.3. COMPUESTOS IDENTIFICADOS PARA *PIPER RETICULATUM* LINNAEUS

El análisis de CG-MS del aceite esencial de la especie *Piper reticulatum* Linnaeus permitió la identificación de 28 componentes; sin embargo, cuatro no fueron identificados, en el ANEXO 13 se muestra la totalidad de compuestos identificados, mientras que en la Figura 29 y en la Tabla 17 se muestran los principales constituyentes del aceite esencial.

Tabla 17: **Compuestos identificados en el aceite esencial de la especie *Piper reticulatum* Linnaeus**

N°	Nombre del compuesto	TR (Min)	% en la muestra
5	α -Felandreno	17,5	10,6
18	β -Elemeno	28,8	35,2
20	β -Cariofileno	29,8	7,5
24	Germacreno-D	31,5	7,6

Fuente: LID-Laboratorio 209, Unidad de Investigación en Productos Naturales de la UPCH.

Se identificó que el aceite esencial de la especie *Piper reticulatum* Linnaeus está constituido principalmente por los sesquiterpenos β -Elemeno (35.2 por ciento), Germacreno-D (7.6 por ciento), β -Cariofileno (7.6 por ciento), además del monoterpeno α -Felandreno (10.6 por ciento); estos cuatro componentes agrupan el 60.9 por ciento de la muestra de aceite esencial.

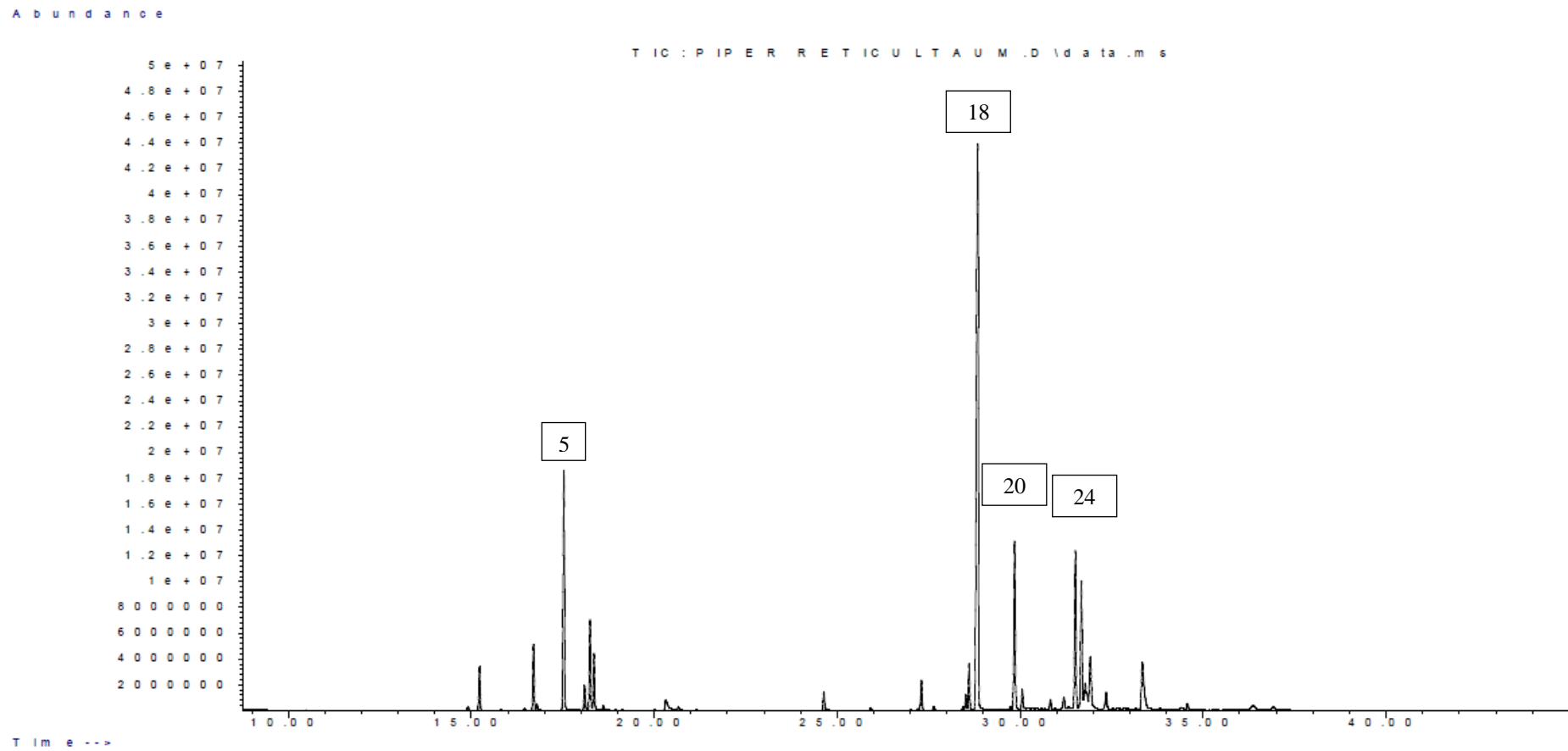


Figura 28: Cromatograma de aceite esencial de *Piper reticulatum* Linnaeus

Fuente: LID-Laboratorio 209, Unidad de Investigación en Productos Naturales de la UPCH.

En la Figura 29 se puede observar que el cromatograma CG-MS presenta varios compuestos representativos, el primer pico representativo es α -Felandreno con un tiempo de retención de 17,5 minutos, el segundo compuesto y más alto pico es el β -Elemeno con un tiempo de retención de 28,8 minutos, el tercer pico es el β -Cariofileno, con un tiempo de retención de 29, 8 minutos y el cuarto pico es el GermacrenoD con un tiempo de retención de 31,5 minutos

Este resultado coincide, en cierto modo, con lo reportado por Luz, *et al.* (2003), quien identificó al β -Elemeno y β -Cariofileno como principales componentes del aceite esencial de la especie *Piper reticulatum* Linnaeus, con el 24,6 por ciento y 16,7 por ciento respectivamente

7. POTENCIAL DE PRODUCCIÓN

En base a la experiencia en campo se calculó el potencial de producción en kilogramos de aceite esencial por hectárea. Este potencial de producción depende del rendimiento de aceite esencial, número de hojas por individuo, kilogramo por número de hojas y número de árboles por hectárea. La especie con mayor potencial de producción es *Piper aduncum* Linnaeus con 18 kg/ha, debido a su mayor rendimiento, además de ser más abundante, se estima unos 2000 árboles por hectárea, como se puede observar en la Tabla 18.

Tabla 18: **Potencial económico por hectárea**

<i>Especie</i>	<i>Rendimiento</i>	<i>Hojas/árbol</i>	<i>árboles/hectárea</i>	<i>kg/hoja</i>	<i>Kilogramos /hectárea</i>
<i>Piper aduncum</i> Linnaeus	1.87%	400	2000	0.00125	18.700
<i>Piper glabribaccum</i> Trelease	0.33%	180	1600	0.00500	4.752
<i>Piper reticulatum</i> Linnaeus	0.26%	150	400	0.00833	1.300

V. CONCLUSIONES

- 1) De las tres especies evaluadas, *Piper aduncum* Linnaeus sería la especie con mayor potencial económico debido a que presenta un mayor rendimiento, además es más abundante en la zona de estudio.
- 2) El rendimiento de aceite esencial es mayor cuando el grado de trituración de las hojas es de “Tamaño 1” (de 1cm a 2,5 cm) para las tres especies estudiadas.
- 3) El aceite esencial varía en las tres especies, siendo el de la especie *Piper aduncum* Linnaeus más densa que el agua.
- 4) Además la densidad relativa aumenta conforme el grado de trituración de las hojas, es decir se obtuvo una mayor densidad relativa para el “Tamaño 1” (de 1cm a 2,5 cm), en las tres especies estudiadas.
- 5) El índice de refracción varía para las tres especies y no está influenciado por el grado de trituración de las hojas.
- 6) El principal componentes del aceite esencial de la especie *Piper aduncum* Linnaeus es la Miristicina (91,6 por ciento)
- 7) Los principales componentes del aceite esencial de la especie *Piper glabribaccum* Trelease son β -Cariofileno (17,2 por ciento), Germacreno-B (14,4 por ciento), Germacreno-D (8,7 por ciento), β -Elemeno (7,4 por ciento) y β -Pino (7,3 por ciento).
- 8) Los principales componentes del aceite esencial de la especie *Piper reticulatum* Linnaeus son β -Elemeno (35,2 por ciento), α -Felandreno (10,6 por ciento) y Germacreno-D (7,6 por ciento).

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda extraer aceites esenciales de en plantas de diferentes edades para comparar el rendimiento.
- Se recomienda buscar un método efectivo de propagación de plantas del género *Piper* para poder industrializar la producción de aceite esencial.
- Para que sea factible económicamente, se recomienda que el proceso de destilación hasta el envasado del producto se realice en la misma zona de estudio, dado que es posible perder aceites esenciales al trasladar las muestras. Así también los traslados aumentan los costos de producción.
- Se recomienda, en caso de realizar una extracción de aceites esenciales con fines industriales, utilizar el tratamiento de trituración de la hoja, siendo el tamaño recomendado es de 1cm a 2,5cm.
- Informar a pobladores sobre las cualidades de los aceites esenciales de las especies estudiadas, con el fin de fomentar el aprovechamiento sostenible del recurso forestal, además de ser una fuente de ingresos para las familias.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albarracín M, GC; Gallo P, SG. 2003 Comparación de dos métodos de extracción de aceite esencial utilizando *Piper aduncum* (cordoncillo) procedente de la zonas cafetera. Trabajo de grado (Ing. Qui). Caldas, CO. Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales. 103 p.
- Ávalos & Pérez-Urria, 2009. Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. 2 (3): 119-145 p.
- Bakkali, F; Averbeck, S; Averbeck, D; Idaomar; M. 2008. Biological effects of essential oils – A review. Science Direct. Food and chemical toxicology 446-475 p.
- Berenbaum, M & Neal, J. 1985. Synergism between Myristicin and xanthotoxin, a naturally cooccurring plant toxicant Journal of chemical ecology. Vol. 11. N° 10
- Bernard, H.G. Krishnamurty, D. Chauret, T. Durst, I.R. Philogine, P; Sanchez-Vindas, 3 C. Hasbun, (1995) Insecticidal defenses of Piperaceae from the neotropics. Journal of Chemical Ecology, Vol. 21, No. 6.
- Bruneton, J. 2001. Farmacognosia Fitoquímica de plantas medicinales. Editorial ACRIBIA. Zaragoza. España. 478 p.
- Cano Vela, M. 1980. Diagnóstico y posibilidades de la industria de Aceites Esenciales en el Perú. Tesis (Ing. Ind. Ali.). Lima, PE. Universidad Nacional Agraria La Molina. 347 p.
- Decreto Supremo N°010-2012-AG. 2012 Lima, PE
- Domínguez, X. 1973. Métodos de Investigación Fitoquímica. Centro Regional de Ayuda Técnica. Agencia para el Desarrollo Internacional (AID) Editorial Limusa. México.
- Flores, E. 2006. (en línea) Metabolitos secundarios bioactivos de especies del género Piper de la flora boliviana. Consultado 15 feb 2017. Disponible en: <ftp://tesis.bbt.ull.es/ccppytec/cp300.pdf>

- Gertsch; Leonti; Raduner, Racz, Chen; Xie; Altmann; Karsak, y Zimmer. 2008. Beta-caryophyllene is a dietary cannabinoid. Edited by L. L. Iversen, University of Oxford, Oxford, United Kingdom, and approved May 6,
- Guenther, E. 1952. The Essential Oils. Individual essential oils of the plant families. Vol 5. USA. 135 – 161 p.
- Gutiérrez G, ML. 2008. Caracterización e identificación de componentes del aceite esencial del Cedrón (*Aloysia triphylla*). Tesis para optar el grado de Magister Scientiae. Lima, PE. Universidad Nacional Agraria La Molina. 59 p.
- Holdridge, LR. 2000. Ecología basada en zonas de vidas. Quinta reimpresión, Instituto de Cooperación para la Agricultura (HCA), 219p.
- Lee, BK; Kim, JH; Jung JW; Choi JW; Han, ES; Lee, SH; Ko, KH; Kyu, JH. 2015. Myristicin-induced neurotoxicity in human neuroblastoma SK-N-SH cell. *Toxicology Letters* 157. 49–56 p
- Maia J; Zohhbi, Eloisa, A; Andrade, E; Santos, A; da Silva, M; Luz, A; Bastos, C. 1998. Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* L. growing wild in the Amazon region. *FLAVOUR AND FRAGRANCE JOURNAL*. Flavour Fragr. J., 13, 269 - 272 p.
- Mesa, A; Montiel, J; Martínez, C; Zapata, B; Pino, N; Bueno, J; Stashenko, E. 2007. Actividad in vitro anti-candida y anti-aspergillus de aceites esenciales de plantas de la familia Piperaceae. *Pereira, CO. Scientia et technica* Año XIII, N° 33.
- MINCETUR 2007. (en línea) Asistencia técnica para los Planes Operativos de Producto. Proyecto de cooperación UE-Perú en materia de asistencia técnica relativa al comercio apoyo al programa estratégico Nacional de Exportaciones. Consultado 20 dic 2016. Disponible en: <http://www.mincetur.gob.pe/comercio/ueperu-licitacion/pdfs/informes/57.pdf>
- Norma Técnica Peruana NTP 319.075: 1974. Aceites esenciales: Determinación del Índice de refracción.
- Norma Técnica Peruana NTP 319.076: 1974. Aceites esenciales: Determinación del poder rotatorio específico y desviación polarimétrica.
- Norma Técnica Peruana NTP 319.081: 1974. Aceites esenciales: Determinación de la densidad y densidad relativa.

- Nosis 2016. (en línea) EXI: Información de importaciones y exportaciones. Consultado 20 ago 2017. Disponible en: <http://trade.nosis.com/es/Comex/Importacion-Exportacion/Peru/aceites-esenciales-y-resinoides-preparaciones-de-perfumeria-de-tocador-o-de-cosmetica/PE/33>
- Palacios, S y Reynel, C. 2011. Una formación vegetal Subxerófila en el valle de Chanchamayo. Departamento Junín. UNALM – Herbario de la Facultad de Ciencias Forestales.
- Parmar, V. S., Jain, S. C., Bisht, K. S., Jain, R., Taneja, P., Jha, A., Tyagi, O. D., Prasad, A. K., Wengel, J., Olsen, C. E., Boll, P. M., 1997. Phytochemistry of the genus Piper. *Phytochemistry* 46: 597-673.
- Parra, E. 2011. (En línea) Contribución al estudio fotoquímico de la parte aérea de Piper cf. Cumanense Kunt (Piperaceae). Trabajo de investigación presentado como requisito parcial (Mg Sc. Quim). Bogotá, CO. Universidad Nacional de Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Consultado 22 ene 2017. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/8097/1/197504.2011.pdf>
- Peralta, V. 1998. Aceites esenciales extracción, análisis y su potencial industria. Tesis para optar el Título de licenciado en química. Pontificia Universidad Católica del Perú. 103-104p.
- Peredo, H; Palou, E; López, A. 2009. (en línea) Aceites esenciales: Métodos de extracción. Departamento de Ingeniería Química y Alimentos. Universidad de las Américas Puebla San Andrés Cholula, Pue., México. Consultado 22 nov 2016. Disponible en: [http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf](http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf)
- Potzernheim, M; Bizzo H; Silva J, Roberto y Vieira, R. 2012. Chemical characterization of essential oil constituents of four populations of Piper aduncum L. from Distrito Federal, Brazil. *Biochemical Systematics and Ecology* 42. 25–31 p.
- Romero, MD. 2004. Plantas aromáticas tratado de aromaterapia científica. Primera edición. Buenos Aires; Kier; 232 p.
- Sauñe, A.; Reynel, C. 2013. Árboles y arbustos de Piper (“Matico”) del valle de Chanchamayo, Dp. De Junín (PERÚ). Universidad Nacional Agraria La Molina. Herbario de la Facultad de Ciencias Forestales. 102 p.

- Sepúlveda-Jiménez, G; Porta-Ducoing, H; Rocha-Sosa, M. 2004. La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. Vol. 21. Núm 3. 355-363 pp. Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C. Texcoco, México.
- Shimabukuro, D; Torres, E. 1992. Estudio Técnico de la extracción de aceite esencial de *Piper Aduncum* L. “Matico” y diseño de planta piloto. Tesis (Ing. Qui) Lima, PE. Universidad Nacional de Ingeniería. Facultad de Ingeniería Química y Manufactura. 93 p.
- Soltis, P; Soltis, D; Chase, M. 1999. Angiosperm phylogeny inferred from multiple genes as a tool for comparative biology. *Nature* 402, 402-404.
- Staskenko, E. 2009. Aceites Esenciales. Universidad Industrial de Santander. CENIVAM Primera Edición. 17p.
- APG IV. The Angiosperm Phylogeny Group. 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 181, 1–20.
- Valencia, C. 1995. Fundamentos de Fitoquímica. Editorial Trillas. México. 235 p.
- Walpole, RE; Myers, RH; Myers, SL; Ye, K. 2012. Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias. Octava edición. Pearson Educación, México. 840 p.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1

FOTOGRAFÍA DE LOS PROCEDIMIENTOS



Cosecha de materia prima

FUENTE: Elaboración propia

Acondicionamiento



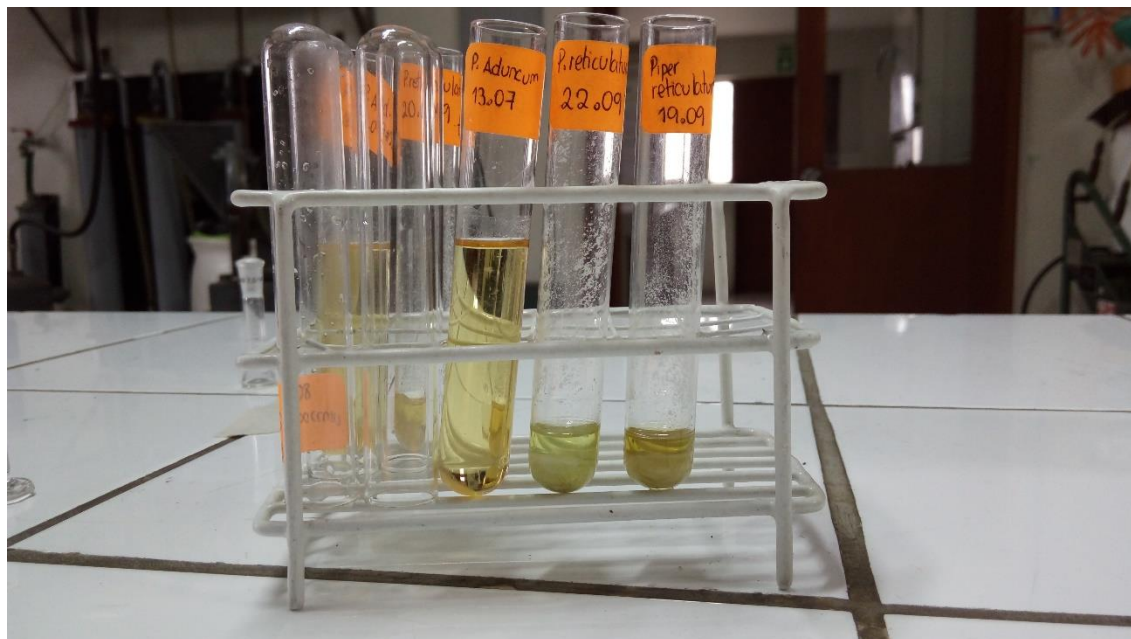
FUENTE: Elaboración propia

Extracción de aceite



FUENTE: Elaboración propia

Purificación



FUENTE: Elaboración propia

Almacenamiento



FUENTE: Elaboración propia

ANEXO 2

CONSTANCIA DE IDENTIFICACIÓN DENDROLÓGICAS



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES

"Año del buen servicio al ciudadano"



CONSTANCIA DE DETERMINACIÓN BOTÁNICA

A solicitud de la Srita. **Rocío Magaly Díaz Calderón**, se proporciona la identidad del espécimen indicado.

La información proporcionada por el solicitante sobre las muestras es:

Proyecto : Tesis: "Aceites esenciales con potencial económico en tres especies del Género *Piper* en la Selva Central del Perú".
Zona de colección : Distrito: San Ramón
Provincia : Chanchamayo
Región : Junín
Colector : Rocío Díaz Calderón

Nº COL	NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	FAMILIA
RDC-P-01	<i>Piper aduncum</i> L.	"Matico macho"	PIPERACEAE
RDC-P-02	<i>Piper glabribaccum</i> Trelease	"Matico hembra"	PIPERACEAE
RDC-P-03	<i>Piper reticulatum</i> L.	"Matico hembra"	PIPERACEAE

Determinado por:

Carlos Reynel Rodríguez Ph. D.
Profesor Principal Dpto. Manejo Forestal
Director del Laboratorio de Dendrología
y Herbario Forestal UNALM (MOL)



La Molina, 14 de Diciembre 2017

ANEXO 3

FOTOGRAFÍA DE ESPECIES ESTUDIADAS

Piper aduncum L



FUENTE: Elaboración propia

Piper aduncum L



FUENTE: Elaboración propia

Piper glabribaccum T



FUENTE: Elaboración propia

Piper glabribaccum T



FUENTE: Elaboración propia

Piper reticulatum L.



FUENTE: Elaboración propia


Piper reticulatum L.



FUENTE: Elaboración propia

ANEXO 4

DENSIDAD RELATIVA (NTP 319.075: 1974)

PERU NORMA TECNICA NACIONAL	<u>ACEITES ESENCIALES</u> Determinación de la Densidad y de la Densidad Relativa	ITINTEC 319.081 Diciembre 1974
		
<u>NORMAS A CONSULTAR</u>		
ITINTEC 319.077	Aceites Esenciales. Preparación de la Muestra para Análisis	
ITINTEC 319.079	Aceites Esenciales. Extracción de Muestras	
1.- <u>OBJETO</u>		
1.1 La presente Norma establece el método para determinar la densidad y la densidad relativa de los aceites esenciales, líquidos a la temperatura de 20°C.		
2.- <u>DEFINICIONES Y CLASIFICACION</u>		
2.1 Densidad a 20°C de un aceite esencial.- Es la relación entre el peso (masa) de un volumen dado de aceite esencial y su volumen, determinados a 20°C.		
2.1.1 Esta cantidad se expresa en gramos por mililitro y su símbolo es ρ_{20} .		
2.2 Densidad relativa a 20°C ó a 4°C de un aceite esencial.- Es la relación entre la densidad del aceite a 20°C y la del agua destilada a 20°C ó a 4°C.		
2.2.1 Esta cantidad no tiene dimensión y su símbolo es d_{20}^{20} ó d_4^{20} .		
2.2.2 Todas las pesadas se hacen en aire.		
3.- <u>METODOS DE ENSAYO</u>		
3.1 <u>Principio del método</u>		
3.1.1 Esta Norma requiere de valores con una precisión de tres cifras decimales: Se usa un picnómetro para pesar volúmenes iguales del líquido en ensayo, con el objeto de obviar el uso de grandes cantidades de éste.		
3.2 <u>Aparatos</u>		
3.2.1 Balanza analítica, con una precisión de 0,5 mg		

20 DIC. 1975

3 páginas

INSTITUTO DE INVESTIGACION TECNOLOGICA INDUSTRIAL Y DE NORMAS TECNICAS (ITINTEC) LIMA PERU

- 3.2.2 Baño de agua, mantenido a $20^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$
- 3.2.3 Embudos y sifones para picnómetros
- 3.2.4 Picnómetro de 50 ml, 25 ml ó 10 ml de capacidad, de acuerdo al volumen de aceite esencial disponible.
- 3.2.5 Termómetro normalizado, dividido en quintos o décimos de grados Celsius para determinaciones de temperatura entre 10°C y 30°C .

3.3 Procedimiento

- 3.3.1 La preparación de la muestra para el análisis se efectúa según la Norma ITINTEC 319.077.
- 3.3.2 Se lava cuidadosamente el picnómetro, se escurre, se enjuaga sucesivamente con etanol y eter diatílico y se seca el interior por medio de una corriente de aire seco.
 - 3.3.2.1 Se seca la parte externa del picnómetro con una tela seca ó un papel de filtro y se inserta el tapón.
 - 3.3.2.2 Se coloca el picnómetro en la balanza y se le deja durante 30 minutos, luego se pesa.
- 3.3.3 Se llena el picnómetro con agua destilada a aproximadamente 20°C y recientemente hervida, teniendo cuidado de evitar la presencia de burbujas de aire.
 - 3.3.3.1 Se coloca el picnómetro en un baño de agua a $20^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ durante 30 minutos. Se comprueba la temperatura del baño de agua por medio del termómetro normalizado y se enrasa con agua destilada hasta la marca.
 - 3.3.3.2 Se inserta el tapón al picnómetro y se seca la parte exterior con una tela seca o un papel de filtro.
 - 3.3.3.3 Se coloca el picnómetro en la balanza, y se deja durante 30 minutos, luego se pesa con el contenido (P_1).
- 3.3.4 Se vacía el picnómetro, se lava con etanol y después con eter diatílico y se seca por medio de una corriente de aire seco.
- 3.3.5 Se llena el picnómetro con el aceite esencial, que debe estar a aproximadamente 20°C , evitando la presencia de burbujas de aire.
 - 3.3.5.1 Se vuelve a colocar el picnómetro en el baño de agua a $20^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ y se le deja durante 30 minutos. Se enrasa con aceite esencial hasta la marca y se procede como en 3.3.3.2 y 3.3.3.3 obteniéndose un peso (P_2)

3.4 Expresión de resultados

3.4.1 Sea:

i el peso, en gramos, del picnómetro vacío

P_1 el peso, en gramos, del picnómetro lleno con agua destilada a 20°C

P_2 el peso, en gramos, del picnómetro lleno con aceite esencial a 20°C

3.4.2 La densidad ρ_{20} , en gramos por mililitro, se da por la siguiente fórmula:

$$0,99718 \frac{P_2 - P}{P_1 - P}$$

3.4.3 La densidad relativa d_{20}^{20} se da por la fórmula siguiente:

$$\frac{P_2 - P}{P_1 - P}$$

3.4.4 La densidad relativa d_4^{20} se da por la fórmula siguiente:

$$0,99823 \times d_{20}^{20}$$



3.5 Precisión de los resultados

La densidad ρ_{20} , la densidad relativa d_{20}^{20} y la densidad relativa d_4^{20} de un aceite esencial se expresan con una precisión de por lo menos tres cifras decimales.

ANEXO 5

ÍNDICE DE REFRACCIÓN (NTP 319.084: 1984)

Field 5 INSTITUTO DE INVESTIGACION TECNOLÓGICA INDUSTRIAL Y DE NORMAS TÉCNICAS-ITINTEC-LIMA-PERU	PERU	ACEITES ESENCIALES	ITINTEC
	NORMA TECNICA NACIONAL	Determinación del índice de refracción	319.075 3/ Diciembre, 1974

1. OBJETO

1.1 La presente Norma establece el método para determinar el índice de refracción de los aceites esenciales.

2. DEFINICIONES Y CLASIFICACION

2.1 Índice de refracción de un aceite esencial.- Es la relación del seno del ángulo de incidencia al seno del ángulo de refracción de un rayo luminoso de longitud de onda determinada, que pasa del aire al aceite esencial mantenido a una temperatura constante.

3. METODO DE ENSAYO

3.1 Principio del método.

3.1.1 Consiste en la medición del ángulo de refracción del aceite esencial mantenido en condiciones de transparencia e isotropismo siendo la longitud de onda de la luz de 589,3 nm (*), que corresponde a la línea D del sodio y siendo la temperatura de 20°C. (Nota 1).

Nota 1.- Cuando el aceite esencial no se encuentra al estado sólido a 20°C ó de 30°C, según el valor presumido de su punto de fusión.

3.2 Aparatos

3.2.1 Refractómetro clásico que permite la lectura directa de los índices de refracción comprendidos entre 1,3000 y 1,7000 con precisión de $\pm 0,0002$ y calibrado de manera a obtener, a la temperatura de 20°C, los siguientes índices de refracción. (Nota 2).

Nota 2.- Ciertos aparatos se pueden graduar por medio de una lámina de vidrio de índice de refracción conocido de acuerdo a las indicaciones del fabricante.

1,3330	para el agua destilada
1,5011	para el benceno de uso crioscópico
1,6585	para el bromo - naftaleno

(*). Conocido también como longitud de onda.

R.D. Nº 409-74 ITINTEC DG/DN 74-12-30 2 Páginas.

3.2.2 Dispositivo regulador de la temperatura, que mantiene el aparato en una temperatura constante a $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$.

3.2.3 Fuente luminosa.- Luz de sodio (longitud de onda 589,3 nm) o, si el refractómetro está provisto de un dispositivo óptico compensador, luz difusa de día o de una lámpara eléctrica.

3.3 Procedimiento.

3.3.1 Preparación de la muestra destinada al laboratorio.

Se efectúa de acuerdo a la Norma correspondiente.

3.3.2 Determinación.-

3.3.2.1 Se verifica que la temperatura a la cual se efectúan las mediciones, no difiera más de 2°C de la temperatura de referencia y que se mantenga constante a $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ durante la operación.

3.3.2.2 Se lleva el aceite esencial a una temperatura aproximadamente igual a aquella en que se debe hacer la medición y se coloca en el dispositivo del aparato.

3.3.2.3 Se espera a que la temperatura se estabilice y se efectúa entonces la lectura

3.3.3 Expresión de resultados.

3.3.3.1 Sea $n_D^{t'}$ el valor de la lectura a la temperatura t' , el índice de refracción n_D^t a la temperatura de referencia t , es dado por la siguiente fórmula.

$$n_D^{t'} = n_D^t + a (t' - t)$$

3.3.3.2 En general y salvo indicaciones contrarias, se menciona $a = 0,0004$.

3.3.3.3 El índice de refracción del aceite esencial se expresa por un número con cuatro decimales.

3.3.4 Informe

3.3.4.1 El informe debe, además de los resultados, mencionar todas las condiciones del ensayo, los detalles del procedimiento no previstos en la Norma o facultativos, así como todos los incidentes que puedan influir en los resultados.

ANEXO 6

ROTACIÓN ÓPTICA (NTP 319.076: 1974)

<p>PERU NORMA TECNICA NACIONAL</p>	<p><u>NORMAS ESPECIALES</u> Determinación del Poder Rotatorio Específico y de la Desviación Polarimétrica (*)</p>	<p>ITINTEC 319.076 Diciembre 1974</p>
<p><u>NORMAS A CONSULTAR</u></p> <p>ITINTEC 319.077 Aceites Esenciales. Preparación de la Muestra para Análisis</p>		
<p>1.- <u>OBJETO</u></p> <p>1.1 La presente Norma establece el método de determinación del poder rotatorio específico y de la desviación polarimétrica de los aceites esenciales.</p> <p>1.2 La determinación de la desviación polarimétrica se efectúa generalmente sobre el aceite esencial al natural y la determinación del poder rotatorio específico, sobre el aceite esencial diluido en un solvente.</p>		
<p>2.- <u>DEFINICIONES Y CLASIFICACION</u></p> <p>2.1 <u>Desviación polarimétrica de un aceite esencial.</u>- Es el ángulo sobre el cual gira el plano de polarización de la luz cuando esta atraviesa cierto espesor de aceite esencial en condiciones determinadas. Por convención en la presente Norma, la desviación polarimétrica es aquella que se mide a través de un espesor de 1 dm, o a través de un espesor diferente convertido a 1 dm; dicha desviación se expresa en grados y minutos, temperatura conocida, generalmente 20°C y en relación a una longitud de onda de luz señalada. Esta dada por la expresión:</p> $\alpha_D^{20^\circ\text{C}} = \frac{A}{l}$ <p>Dónde:</p> <p>A es el ángulo de rotación observado, expresado en grados.</p> <p>l es el espesor de aceite esencial, expresado en decímetros.</p> <p>(*) De esta expresión existe otra equivalente que es la rotación polarimétrica (referencia Bruhat). La desviación polarimétrica es, por otra parte, llamada impropriamente "poder rotatorio", expresión que es también utilizada como sinónimo de poder rotatorio específico, lo que da origen a numerosas confusiones.</p>		
<p>31 OCT. 1988</p>		
<p>R.D. Nº 409-74 ITINTEC-DG/DN del 74-12-30</p>		<p>5 páginas</p>
<p>R.D.U. 668.5</p>		<p>REPRODUCCION PROHIBIDA</p>

2.1.1 Para facilitar los cálculos, la desviación polarimétrica y el poder rotatorio específico, puedan expresarse igualmente en grados y en centésimos de grado.

2.2 Poder rotatorio específico de un aceite esencial.- Es igual al ángulo sobre el cual rotaría el plano de polarización de la luz si esta atravesara un espesor de 1 dm de una solución convencional de aceite esencial que contuviera 1 g de sustancia activa por mililitro. Se expresa en grados y minutos, a una temperatura conocida, generalmente 20°C, y en relación a una longitud de onda de luz señalada. Está dado por la expresión:

$$\left[\alpha \right]_D^{20^\circ\text{C}} = \frac{A \times V}{l \times p}$$

Donde:

- A es el ángulo de rotación observado, en grados.
- l es el espesor atravesado en decímetros.
- V es el volumen de la solución, en mililitros.
- p es el peso de la sustancia disuelta, en gramos.

3.- MÉTODOS DE ENSAYO

3.1 Principio del método

Es la medida de la rotación del plano de polarización de la luz, a una longitud de onda definida, al atravesar un espesor determinado de aceite esencial. La longitud de onda es generalmente aquella correspondiente a la línea D del sodio.

3.2 Aparatos

- 3.2.1 Polarímetro cuya precisión debe ser por lo menos igual a ± 2 minutos ó $0,03^\circ$
- 3.2.2 Fuente luminosa: mecanismo que permita la obtención de luz monocromática de una longitud de onda de $589,3 \text{ nm} \pm 0,3 \text{ nm}$, correspondiendo sensiblemente a la línea D del sodio o de cualquier otra longitud de onda escogida.
- 3.2.3 Tubo de observación de longitud apropiada según la coloración del aceite esencial, por ejemplo:
 - L = $100 \text{ mm} \pm 0,05 \text{ mm}$ para los aceites de coloración mediana.
 - L = $200 \text{ mm} \pm 0,05 \text{ mm}$ para los aceites de coloración débil.
 - L = $50 \text{ mm} \pm 0,05 \text{ mm}$ para los aceites de coloración intensa.

Los tubos de observación deben llevar de preferencia un dispositivo que permita la determinación de la temperatura.

En caso de que la medida deba efectuarse exactamente a 20°C en particular cuando el poder rotatorio específico o la desviación polarimétrica a medir son superiores a 35°C, el polarímetro o los tubos de observación deben estar en lo posible provistos de un sistema termostático, de manera de mantener la sustancia a la temperatura de 20°C \pm 0,1°C durante todo el tiempo de la operación.

- 3.2.4 Termómetro de precisión que permita la lectura de temperaturas cercanas a 2°C o de aquellas indicadas en la Norma del producto.
- 3.2.5 Matraces aforados de precisión, con capacidad correspondiente a la del tubo de observación utilizado.

1.3 Procedimiento

- 3.3.1 Se prepara la muestra a ensayar según la Norma ITINTEC 319.077
- 3.3.2 Se enciende el dispositivo de iluminación y se espera hasta obtener una buena luminosidad. Se regula el polarímetro con el tubo de observación vacío.
- 3.3.3 Para aceites esenciales al natural
 - 3.3.3.1 Se llena el tubo de observación con el aceite esencial que previamente debe haberse llevado a una temperatura de 20°C \pm 1°C ó a otra temperatura especificada.
 - 3.3.3.2 Se debe asegurar que el tubo también esté a la misma temperatura del aceite esencial.
 - 3.3.3.3 Se verifica que no haya dentro del tubo ninguna burbuja de aire.
 - 3.3.3.4 Se coloca el tubo en el polarímetro y se mide la rotación polarimétrica dextrógira o levógira del aceite esencial.
 - 3.3.3.5 Se efectúan varias mediciones y se asegura que los resultados de tres muestras no difieran entre ellas en más de 5 minutos. Se calcula el promedio de estos tres resultados.
- 3.3.4 Para aceites esenciales en solución
 - 3.3.4.1 Se pesa con una precisión de 0,5 mg la cantidad de aceite esencial a analizar.
 - 3.3.4.2 Se coloca en un matraz aforado y se disuelve en el solvente apropiado indicado en la Norma correspondiente.
 - 3.3.4.3 Se coloca el matraz en un baño termostático a 20°C \pm 1°C, se completa a volumen con el solvente y se homogeneiza.

3.3.4.4 Se continúa luego según lo indicado en 3.3.3.2

3.4 Expresión de resultados

3.4.1 Para aceites esenciales al natural

3.4.1.1 Sea:

A el valor del ángulo de rotación expresado en grados y minutos.

l la longitud del tubo expresado en decímetros.

P el peso del aceite esencial a 20°C, en gramos por mililitro..

3.4.1.1.1 Los datos sobre constantes analíticas de los aceites esenciales₂₀ solo indican frecuentemente la densidad relativa d₂₀; es posible en este caso deducir el peso con la ayuda de la expresión

$$\rho = 0,99843 \times d_{20}^{20}$$

3.4.1.2 La desviación polarimétrica expresada en grados y minutos está dada por la siguiente fórmula:

$$\alpha_D^{20^\circ\text{C}} = \frac{A}{l}$$

3.4.1.3 El poder rotatorio específico expresado en grados y minutos está dado por la fórmula:

$$\left[\alpha \right]_D^{20^\circ\text{C}} = \frac{A}{l \times x}$$

3.4.1.4 Las desviaciones polarimétricas y los poderes rotatorios específicos dextrógiros o levógiros son afectados respectivamente del signo + y del signo - que preceden al valor numérico. Ejemplo:

$$\alpha_D^{20^\circ\text{C}} = + 73^\circ 45' \quad \text{ó} \quad + 73,75'$$

3.4.2 Para aceites esenciales en solución

3.4.2.1 Sea:

A el valor del ángulo de rotación, expresado en grados.

l la longitud del tubo, expresado en decímetros.

V el volumen de la solución, en mililitros.

P el peso de la sustancia disuelta, en gramos.

3.4.2.2 El poder rotatorio específico, expresado en grados y minutos está dado por la expresión:

$$\left[\alpha \right]_D^{20^\circ\text{C}} = \frac{A \times V}{l \times P}$$

3.5 Informe

3.5.1 El informe sobre el ensayo debe mencionar además de los resultados, todas las condiciones del ensayo (en especial la longitud del tubo empleado, el solvente y la concentración del aceite esencial en el solvente), todos los detalles operatorios no previstos en la Norma o facultativos, así como todos los incidentes susceptibles de haber influido sobre los resultados.

ANEXO 7

RESULTADOS DE RENDIMIENTO

Especie (Sp)	Grado de Trituración (T)	Repetición	Masa seca de la muestra (g)	Masa del Aceite esencial (g)	Rendimiento (Rnd)	Rendimiento Promedio
Sp1: <i>Piper aduncum</i> Linnaeus	T1	R1	1000	18.8767	1.88767	1.87011
		R2	1000	18.7687	1.87687	
		R3	1000	18.4579	1.84579	
	T2	R1	1000	16.5315	1.65315	1.65168
		R2	1000	16.2345	1.62345	
		R3	1000	16.7845	1.67845	
	T3	R1	1000	12.0323	1.20323	1.21108
		R2	1000	12.4321	1.24321	
		R3	1000	11.8679	1.18679	
Sp2: <i>Piper glabribaccum</i> Trelease	T1	R1	1000	3.5974	0.35974	0.33939
		R2	1000	3.3119	0.33119	
		R3	1000	3.2723	0.32723	
	T2	R1	1000	1.9227	0.19227	0.19188
		R2	1000	1.8767	0.18767	
		R3	1000	1.9571	0.19571	
	T3	R1	1000	1.1056	0.11056	0.11902
		R2	1000	1.1368	0.11368	
		R3	1000	1.3283	0.13283	
Sp3: <i>Piper reticulatum</i> Linnaeus	T1	R1	1000	2.6936	0.26936	0.25847
		R2	1000	2.5874	0.25874	
		R3	1000	2.4732	0.24732	
	T2	R1	1000	1.4341	0.14341	0.14428
		R2	1000	1.5589	0.15589	
		R3	1000	1.3354	0.13354	
	T3	R1	1000	1.2514	0.12514	0.11495
		R2	1000	1.0894	0.10894	
		R3	1000	1.1076	0.11076	

ANEXO 8

PRUEBA ANOVA FACTORIAL RENDIMIENTO

ANOVA del rendimiento de aceite esencial de acuerdo a la especie y el grado de trituración de la hoja

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Nivel de Significancia
Modelo corregido	12,271 ^a	8	1,534	4802,195	0
Intersección	11,607	1	11,607	36339,314	0
ESPECIE	11,484	2	5,742	17977,882	0
TRITURACION	0,524	2	0,262	820,042	0
ESPECIE * TRITURACION	0,262	4	0,066	205,429	0
Error	0,006	18	0		
Total	23,883	27			
Total corregido	12,276	26			

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = ,999)

Fuente: SPSS, versión 24.0

A. Especie

Ho: No existen diferencias entre el rendimiento del aceite esencial de cada especie estudiada (*Piper aduncum*, *Piper glabribaccum*, *Piper reticulatum*)

H_a: Existen diferencias significativas en el rendimiento del aceite esencial de cada especie estudiada (*Piper aduncum*, *Piper glabribaccum*, *Piper reticulatum*)

(*p value = 0*)

Conclusión:

Se rechaza la hipótesis nula. Es decir, existen diferencias significativas entre el rendimiento del aceite esencial de las tres especies estudiadas.

B. Trituración

Ho: No existen diferencias entre el rendimiento del aceite esencial según el grado de trituración de la hoja.

H_a: Existen diferencias significativas en el rendimiento del aceite esencial según el grado de trituración de la hoja.

(*p value = 0*)

Conclusión:

Se rechaza la hipótesis nula. Es decir, existen diferencias significativas entre el rendimiento del aceite esencial y el grado de trituración de las hojas.

C. Interacción: Especie y grado de trituración de la hoja

H₀: No existen diferencias entre el rendimiento del aceite esencial según la interacción de la especie y grado de trituración de la hoja.

H_a: Existen diferencias significativas en el rendimiento del aceite esencial según la interacción de la especie y el grado de trituración de la hoja.

(p value = 0)

Conclusión:

Se rechaza la hipótesis nula. Es decir, existen diferencias significativas entre el rendimiento del aceite esencial de acuerdo a la interacción de las especie estudiadas y el grado de trituración de las hojas.

Datos del SPSS:

```

UNIANOVA RENDIMIENTO BY ESPECIE TRITURACION
  /METHOD=SSTYPE(3)
  /INTERCEPT=INCLUDE
  /POSTHOC=ESPECIE TRITURACION(TUKEY)
  /PLOT=PROFILE(ESPECIE*TRITURACION)
  /PRINT=HOMOGENEITY
  /CRITERIA=ALPHA(.05)
  /DESIGN=ESPECIE TRITURACION ESPECIE*TRITURACION.
  
```

Análisis univariado de varianza

Notas

Salida creada		09-FEB-2017 16:17:13
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos0
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	27
Control de valores perdidos	Definición de ausencia	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.
	Casos utilizados	Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.
Sintaxis	UNIANOVA RENDIMIENTO BY ESPECIE TRITURACION /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /POSTHOC=ESPECIE TRITURACION(TUKEY) /PLOT=PROFILE(ESPECIE*TRITURACION) /PRINT=HOMOGENEITY /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=ESPECIE TRITURACION ESPECIE*TRITURACION.	
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00.14
	Tiempo transcurrido	00:00:00.14

Factores inter-sujetos

		N
ESPECIE	Sp1	9
	Sp2	9
	Sp3	9
TRITURACION	T1	9
	T2	9
	T3	9

Prueba de igualdad de Levene de varianzas de error^a

Variable dependiente: RENDIMIENTO

F	df1	df2	Sig.
1,746	8	18	,155

Prueba la hipótesis nula que la varianza de error de la variable dependiente es igual entre grupos.^a

a. Diseño : Intersección + ESPECIE + TRITURACION + ESPECIE * TRITURACION

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: RENDIMIENTO

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	12,271 ^a	8	1,534	4802,195	,000
Intersección	11,607	1	11,607	36339,314	,000
ESPECIE	11,484	2	5,742	17977,882	,000
TRITURACION	,524	2	,262	820,042	,000
ESPECIE * TRITURACION	,262	4	,066	205,429	,000
Error	,006	18	,000		
Total	23,883	27			
Total corregido	12,276	26			

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = ,999)

De acuerdo con el ANOVA factorial se puede identificar que hay diferencias en el rendimiento del AE de acuerdo con la especie y grado de trituración $p < 0.01$

Pruebas post hoc

ESPECIE

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: RENDIMIENTO

HSD Tukey

(I) ESPECIE	(J) ESPECIE	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95% Límite inferior
Sp1	Sp2	1,3609*	,00842	,000	1,3394
	Sp3	1,4051*	,00842	,000	1,3836
Sp2	Sp1	-1,3609*	,00842	,000	-1,3824
	Sp3	,0442*	,00842	,000	,0227
Sp3	Sp1	-1,4051*	,00842	,000	-1,4266
	Sp2	-,0442*	,00842	,000	-,0657

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: RENDIMIENTO

HSD Tukey

(I) ESPECIE	(J) ESPECIE	Intervalo de confianza al 95% Límite superior
Sp1	Sp2	1,3824
	Sp3	1,4266
Sp2	Sp1	-1,3394
	Sp3	,0657
Sp3	Sp1	-1,3836
	Sp2	-,0227

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = ,000.

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.

Subconjuntos homogéneos

RENDIMIENTO

HSD Tukey^{a,b}

ESPECIE	N	Subconjunto		
		1	2	3
Sp3	9	,1726		
Sp2	9		,2168	
Sp1	9			1,5776
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = ,000.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 9,000.

b. Alfa = .05.

TRITURACION

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: RENDIMIENTO

HSD Tukey

(I) TRITURACION	(J) TRITURACION	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95% Límite inferior
T1	T2	,1600 [*]	,00842	,000	,1385
	T3	,3410 [*]	,00842	,000	,3195
T2	T1	-,1600 [*]	,00842	,000	-,1815
	T3	,1809 [*]	,00842	,000	,1594
T3	T1	-,3410 [*]	,00842	,000	-,3625
	T2	-,1809 [*]	,00842	,000	-,2024

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: RENDIMIENTO

HSD Tukey

(I) TRITURACION	(J) TRITURACION	Intervalo de confianza al 95% Límite superior
T1	T2	,1815
	T3	,3625
T2	T1	-,1385
	T3	,2024
T3	T1	-,3195
	T2	-,1594

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = ,000.

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.

Subconjuntos homogéneos

RENDIMIENTO

HSD Tukey^{a,b}

TRITURACION	N	Subconjunto		
		1	2	3
T3	9	,4817		
T2	9		,6626	
T1	9			,8227
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

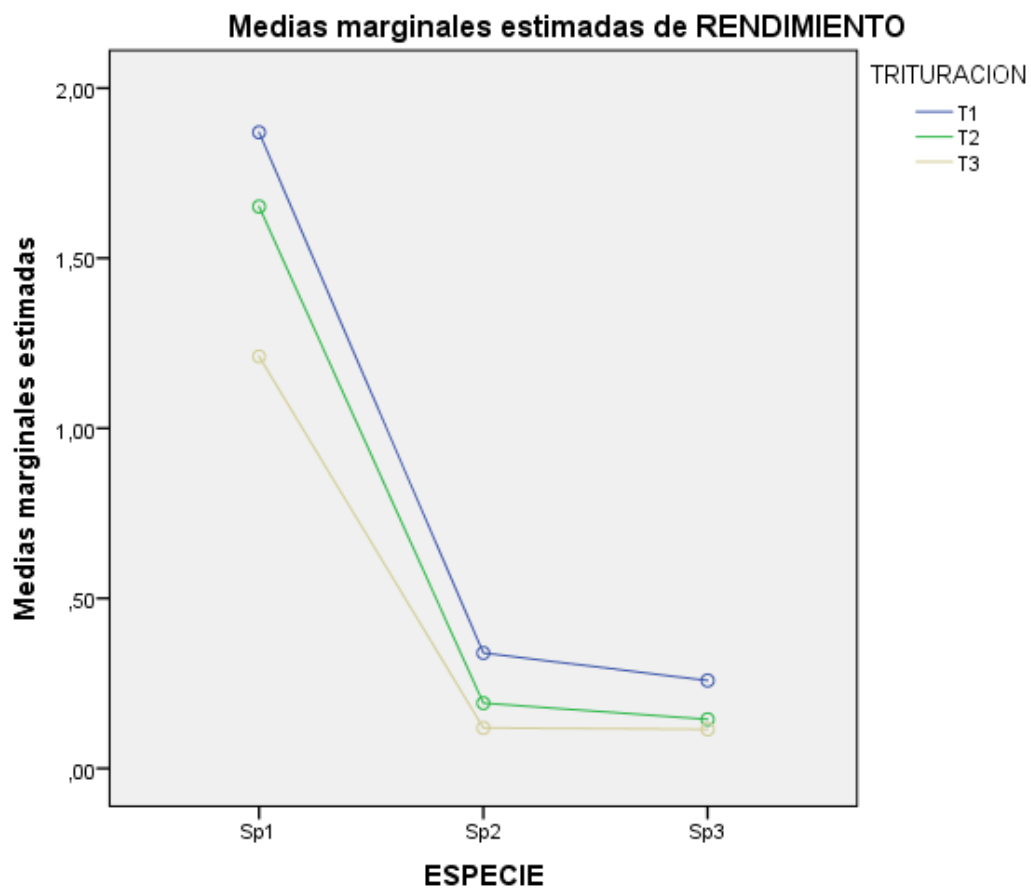
Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = ,000.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 9,000.

b. Alfa = .05.

Gráficos de perfil



ANEXO 9
RESULTADOS DE DENSIDAD RELATIVA

Especie (Sp)	Grado de Trituración (T)	Repetición	Masa picnómetro (g)	Masa pic + aceite (g)	Masa pic + agua destilada (g)	Masa aceite (g)	Masa agua desilada (g)	Densidad aceite (g/cm³)
Sp1: <i>Piper aduncum</i> Linnaeus	T1	R1	6.1828	7.3284	7.2057	1.1468	1.0229	1.116017
		R2	6.183	7.3287	7.2061	1.1469	1.0231	1.115897
		R3	6.1832	7.3287	7.2062	1.1467	1.023	1.115779
	T2	R1	6.1831	7.3179	7.206	1.1360	1.0229	1.105517
		R2	6.1829	7.3176	7.2059	1.1359	1.023	1.105275
		R3	6.1826	7.3182	7.2057	1.1368	1.0231	1.106021
	T3	R1	6.183	7.3077	7.2061	1.1259	1.0231	1.095390
		R2	6.1835	7.3085	7.2064	1.1262	1.0229	1.095960
		R3	6.1831	7.3083	7.2061	1.1264	1.023	1.096019
Sp2: <i>Piper glabribaccum</i> Trelease	T1	R1	6.183	7.1191	7.206	0.9371	1.023	0.911836
		R2	6.1828	7.1189	7.2059	0.9371	1.0231	0.911756
		R3	6.1832	7.1198	7.2062	0.9376	1.023	0.912345
	T2	R1	6.1827	7.1159	7.2058	0.9342	1.0231	0.908943
		R2	6.1825	7.1159	7.2055	0.9344	1.023	0.909189
		R3	6.183	7.1154	7.206	0.9334	1.023	0.908223
	T3	R1	6.1838	7.1113	7.2068	0.9285	1.023	0.903465
		R2	6.1832	7.1094	7.2063	0.9271	1.0231	0.902043
		R3	6.1833	7.1109	7.2062	0.9286	1.0229	0.903630
Sp3: <i>Piper reticulatum</i> Linnaeus	T1	R1	6.1824	7.1035	7.2053	0.9220	1.0229	0.897265
		R2	6.183	7.1059	7.2061	0.9238	1.0231	0.898843
		R3	6.1832	7.1031	7.2062	0.9209	1.023	0.896077
	T2	R1	6.1829	7.0988	7.2058	0.9169	1.0229	0.892236
		R2	6.1835	7.0999	7.2064	0.9174	1.0229	0.892753
		R3	6.1837	7.1000	7.2066	0.9173	1.0229	0.892646
	T3	R1	6.1833	7.0978	7.2064	0.9155	1.0231	0.890733
		R2	6.1831	7.0975	7.2061	0.9153	1.023	0.890654
		R3	6.1826	7.0973	7.2056	0.9157	1.023	0.890974

ANEXO 10

PRUEBA ANOVA FACTORIAL DENSIDAD RELATIVA

Tabla: ANOVA de la densidad relativa de aceite esencial de acuerdo a la especie y el grado de trituración de la hoja

<i>Origen</i>	<i>Tipo III de suma de cuadrados</i>	<i>gl</i>	<i>Media cuadrática</i>	<i>F</i>	<i>Nivel de Significancia</i>
Modelo corregido	,254 ^a	8	0,032	83440,189	0
Intersección	25,357	1	25,357	66665811,1	0
ESPECIE	0,253	2	0,127	332709,381	0
TRITURACION	0,001	2	0	835,489	0
ESPECIE * TRITURACION	0	4	0,00004106	107,944	0
Error	6,846E-06	18	3,804E-07		
Total	25,611	27			
Total corregido	0,254	26			

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = ,999)

Fuente: SPSS, versión 24.0

D. Especie

Ho: No existen diferencias entre la densidad relativa del aceite esencial de cada especie estudiada (*Piper aduncum*, *Piper glabribaccum*, *Piper reticulatum*)

Ha: Existen diferencias significativas en la densidad relativa del aceite esencial de cada especie estudiada (*Piper aduncum*, *Piper glabribaccum*, *Piper reticulatum*)

(p value = 0)

Conclusión: Se rechaza la hipótesis nula. Es decir, existen diferencias significativas entre la densidad relativa del aceite esencial de las tres especies estudiadas.

E. Trituración

Ho: No existen diferencias entre la densidad relativa del aceite esencial según el grado de trituración de la hoja.

Ha: Existen diferencias significativas en la densidad relativa del aceite esencial según el grado de trituración de la hoja.

(p value = 0)

Conclusión:

Se rechaza la hipótesis nula. Es decir, existen diferencias significativas entre la densidad relativa del aceite esencial y el grado de trituración de las hojas.

F. Interacción: Especie y grado de trituración de la hoja

H₀: No existen diferencias entre la densidad relativa del aceite esencial según la interacción de la especie y grado de trituración de la hoja.

H_a: Existen diferencias significativas en la densidad relativa del aceite esencial según la interacción de la especie y el grado de trituración de la hoja.

(p value = 0)

Conclusión:

Se rechaza la hipótesis nula. Es decir, existen diferencias significativas entre el rendimiento del aceite esencial de acuerdo a la interacción de las especie estudiadas y el grado de trituración de las hojas.

Datos del SPSS: Análisis univariado de varianza

Notas

Salida creada		17-FEB-2017 16:05:22
Comentarios		
Entrada	Datos	F:\TESIS\ESTADISTICA 2\SPSS\DENSIDAD.sav
	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos1
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	27
	Control de valores perdidos	Definición de ausencia
	Casos utilizados	Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.

Sintaxis	<pre> UNIANOVA DENSIDAD BY ESPECIE TRITURACION /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /POSTHOC=TRITURACION ESPECIE(TUKEY) /PLOT=PROFILE(ESPECIE*T RITURACION) /EMMEANS=TABLES(ESPEC IE*TRITURACION) /EMMEANS=TABLES(ESPEC IE) /EMMEANS=TABLES(TRITU RACION) /PRINT=HOMOGENEITY /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=ESPECIE TRITURACION ESPECIE*TRITURACION. </pre>	
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:04.17
	Tiempo transcurrido	00:00:02.28

[ConjuntoDatos1] F:\TESIS\ESTADISTICA 2\SPSS\DENSIDAD.sav

Factores inter-sujetos

		N
ESPECIE	Sp1	9
	Sp2	9
	Sp3	9
TRITURACION	T1	9
	T2	9
	T3	9

Prueba de igualdad de Levene de varianzas de error^a

Variable dependiente: DENSIDAD

F	df1	df2	Sig.
2,977	8	18	,026

Prueba la hipótesis nula que la varianza de error de la variable dependiente es igual entre grupos.^a

a. Diseño : Intersección + ESPECIE + TRITURACION + ESPECIE * TRITURACION

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: DENSIDAD

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	,254 ^a	8	,032	83440,189	,000
Intersección	25,357	1	25,357	66665811,140	,000
ESPECIE	,253	2	,127	332709,381	,000
TRITURACION	,001	2	,000	835,489	,000
ESPECIE * TRITURACION	,000	4	4,106E-5	107,944	,000
Error	6,846E-6	18	3,804E-7		
Total	25,611	27			
Total corregido	,254	26			

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)

Medias marginales estimadas

1. ESPECIE * TRITURACION

Variable dependiente: DENSIDAD

ESPECIE	TRITURACION	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
Sp1	T1	1,116	,000	1,115	1,117
	T2	1,106	,000	1,105	1,106
	T3	1,096	,000	1,095	1,097
Sp2	T1	,912	,000	,911	,913
	T2	,909	,000	,908	,910
	T3	,903	,000	,902	,904
Sp3	T1	,897	,000	,897	,898
	T2	,893	,000	,892	,893
	T3	,891	,000	,890	,892

2. ESPECIE

Variable dependiente: DENSIDAD

ESPECIE	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
Sp1	1,106	,000	1,105	1,106
Sp2	,908	,000	,908	,908
Sp3	,894	,000	,893	,894

3. TRITURACION

Variable dependiente: DENSIDAD

TRITURACION	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
T1	,975	,000	,975	,976
T2	,969	,000	,969	,969
T3	,963	,000	,963	,964

Pruebas post hoc

TRITURACION

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: DENSIDAD

HSD Tukey

(I) TRITURACION	(J) TRITURACION	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95% Límite inferior
T1	T2	,0061 [*]	,00029	,000	,0054
	T3	,0119 [*]	,00029	,000	,0111
T2	T1	-,0061 [*]	,00029	,000	-,0069
	T3	,0058 [*]	,00029	,000	,0050
T3	T1	-,0119 [*]	,00029	,000	-,0126
	T2	-,0058 [*]	,00029	,000	-,0065

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: DENSIDAD

HSD Tukey

(I) TRITURACION	(J) TRITURACION	Intervalo de confianza al 95% Límite superior
T1	T2	,0069
	T3	,0126
T2	T1	-,0054
	T3	,0065
T3	T1	-,0111
	T2	-,0050

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 3,804E-7.

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.

Subconjuntos homogéneos

DENSIDAD

HSD Tukey^{a,b}

TRITURACION	N	Subconjunto		
		1	2	3
T3	9	,9632		
T2	9		,9690	
T1	9			,9751
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 3,804E-7.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 9,000.

b. Alfa = .05.

ESPECIE

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: DENSIDAD

HSD Tukey

(I) ESPECIE	(J) ESPECIE	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95% Límite inferior
Sp1	Sp2	,1978*	,00029	,000	,1971
	Sp3	,2122*	,00029	,000	,2114
Sp2	Sp1	-,1978*	,00029	,000	-,1986
	Sp3	,0144*	,00029	,000	,0136
Sp3	Sp1	-,2122*	,00029	,000	-,2129
	Sp2	-,0144*	,00029	,000	-,0151

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: DENSIDAD

HSD Tukey

(I) ESPECIE	(J) ESPECIE	Intervalo de confianza al 95% Límite superior
Sp1	Sp2	,1986
	Sp3	,2129
Sp2	Sp1	-,1971
	Sp3	,0151
Sp3	Sp1	-,2114
	Sp2	-,0136

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 3,804E-7.

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.

Subconjuntos homogéneos

DENSIDAD

HSD Tukey^{a,b}

ESPECIE	N	Subconjunto		
		1	2	3
Sp3	9	,8936		
Sp2	9		,9079	
Sp1	9			1,1058
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

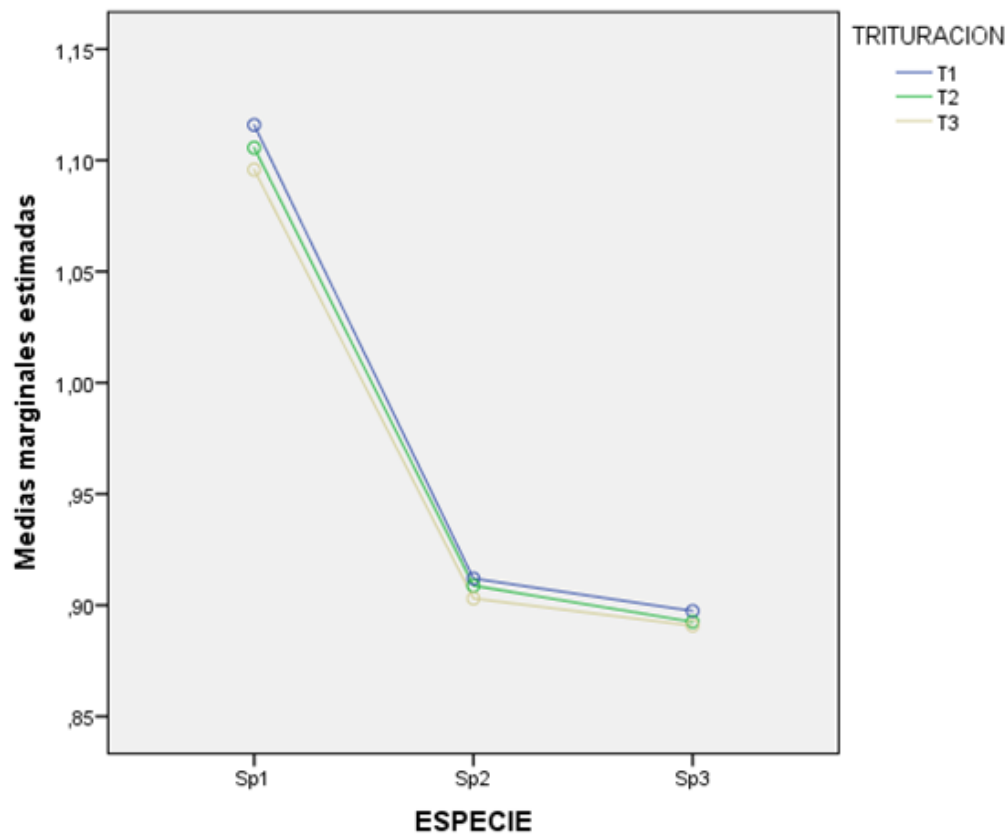
El término de error es la media cuadrática(Error) = 3,804E-7.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 9,000.

b. Alfa = .05.

Gráficos de perfil

Medias marginales de densidad



ANEXO 11

RESULTADOS DE ÍNDICE DE REFRACCIÓN

<i>Especie (Sp)</i>	<i>Grado de Trituración (T)</i>	<i>Repetición</i>	<i>Índice de Refracción (IR)</i>
Sp1: <i>Piper aduncum</i> Linnaeus	T1	R1	1.5355
		R2	1.5355
		R3	1.535
	T2	R1	1.536
		R2	1.536
		R3	1.535
	T3	R1	1.535
		R2	1.533
		R3	1.53325
Sp2: <i>Piper glabribaccum</i> Trelease	T1	R1	1.495
		R2	1.49
		R3	1.495
	T2	R1	1.4955
		R2	1.495
		R3	1.495
	T3	R1	1.4955
		R2	1.495
		R3	1.495
Sp3: <i>Piper reticulatum</i> Linnaeus	T1	R1	1.4965
		R2	1.496
		R3	1.496
	T2	R1	1.4965
		R2	1.496
		R3	1.496
	T3	R1	1.4965
		R2	1.4965
		R3	1.496

ANEXO 12

PRUEBA DE ANOVA FACTORIAL DE ÍNDICE DE REFRACCIÓN

Tabla: ANOVA del Índice de Refracción del aceite esencial de acuerdo a la especie y el grado de trituración de la hoja

<i>Origen</i>	<i>Tipo III de suma de cuadrados</i>	<i>gl</i>	<i>Media cuadrática</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>
Modelo corregido	,009 ^a	8	0,001	1021,354	0
Intersección	61,446	1	61,446	53409568,7	0
ESPECIE	0,009	2	0,005	4079,736	0
TRITURACION	2,644E-06	2	1,322E-06	1,149	0,339
ESPECIE * TRITURACION	0,00001043	4	2,606E-06	2,266	0,102
Error	0,00002071	18	0,00000115		
Total	61,455	27			
Total corregido	0,009	26			

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = ,999)

Fuente: SPSS, versión 24.0

G. Especie

Ho: No existen diferencias entre el IR del aceite esencial de cada especie estudiada (*Piper aduncum*, *Piper glabribaccum*, *Piper reticulatum*)

Ha: Existen diferencias significativas en el IR del aceite esencial de cada especie estudiada (*Piper aduncum*, *Piper glabribaccum*, *Piper reticulatum*)

(p value = 0)

Conclusión: Se rechaza la hipótesis nula. Es decir, existen diferencias significativas entre el índice de refracción (IR) del aceite esencial de las tres especies estudiadas. No se rechaza la hipótesis nula. Es decir, No existen diferencias significativas entre el IR del aceite esencial y el grado de trituración de las hojas. No se rechaza la hipótesis nula. Es decir, no existen diferencias significativas en el IR del aceite esencial de acuerdo a la interacción de la especie estudiada y el grado de trituración de las hojas.

H. Trituración

Ho: No existen diferencias entre el IR del aceite esencial según el grado de trituración de la hoja.

Ha: Existen diferencias significativas en la densidad relativa del aceite esencial según el grado de trituración de la hoja.

(p value = 0,339)

Conclusión:

No se rechaza la hipótesis nula. Es decir, no existe relación entre el IR del aceite esencial y el grado de trituración de las hojas.

I. Interacción: Especie y grado de trituración de la hoja

H₀: No existen diferencias entre en el IR del aceite esencial según la interacción de la especie y grado de trituración de la hoja.

H_a: Existen diferencias significativas en el IR del aceite esencial según la interacción de la especie y el grado de trituración de la hoja.

(*p value* = 0,102)

Conclusión:

No se rechaza la hipótesis nula. Es decir, existen diferencias significativas entre el IR del aceite esencial de acuerdo a la interacción de las especie estudiadas y el grado de trituración de las hojas.

Datos del SPSS:

```
UNIANOVA IR BY ESPECIE TRITURACION
  /METHOD=SSTYPE(3)
  /INTERCEPT=INCLUDE
  /POSTHOC=ESPECIE TRITURACION(TUKEY)
  /PLOT=PROFILE(ESPECIE*TRITURACION)
  /PRINT=HOMOGENEITY
  /CRITERIA=ALPHA(.05)
  /DESIGN=ESPECIE TRITURACION ESPECIE*TRITURACION.
```

Análisis univariado de varianza

Notas

Salida creada		09-FEB-2017 17:15:07
Comentarios		
Entrada	Datos	F:\TESIS\ESTADISTICA 2\DENSIDAD.sav
	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos0
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	27
	Control de valores perdidos	Definición de ausencia
Casos utilizados		Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.
Sintaxis	UNIANOVA IR BY ESPECIE TRITURACION /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /POSTHOC=ESPECIE TRITURACION(TUKEY) /PLOT=PROFILE(ESPECIE*T RITURACION) /PRINT=HOMOGENEITY /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=ESPECIE TRITURACION ESPECIE*TRITURACION.	
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00.13
	Tiempo transcurrido	00:00:00.13

Factores inter-sujetos

		N
ESPECIE	Sp1	9
	Sp2	9
	Sp3	9
TRITURACION	T1	9
	T2	9
	T3	9

Prueba de igualdad de Levene de varianzas de error^a

Variable dependiente: IR

F	df1	df2	Sig.
10,235	8	18	,000

Prueba la hipótesis nula que la varianza de error de la variable dependiente es igual entre grupos.^a

a. Diseño : Intersección + ESPECIE + TRITURACION + ESPECIE * TRITURACION

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: IR

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	,009 ^a	8	,001	1021,354	,000
Intersección	61,446	1	61,446	53409568,660	,000
ESPECIE	,009	2	,005	4079,736	,000
TRITURACION	2,644E-6	2	1,322E-6	1,149	,339
ESPECIE * TRITURACION	1,043E-5	4	2,606E-6	2,266	,102
Error	2,071E-5	18	1,150E-6		
Total	61,455	27			
Total corregido	,009	26			

a. R al cuadrado = .998 (R al cuadrado ajustada = .997)

Existen diferencias significativas entre el IR del AE

Pruebas post hoc

ESPECIE

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: IR

HSD Tukey

(I) ESPECIE	(J) ESPECIE	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95% Límite inferior
Sp1	Sp2	,0404*	,00051	,000	,0391
	Sp3	,0387*	,00051	,000	,0374
Sp2	Sp1	-,0404*	,00051	,000	-,0417
	Sp3	-,0017*	,00051	,011	-,0030
Sp3	Sp1	-,0387*	,00051	,000	-,0400
	Sp2	,0017*	,00051	,011	,0004

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: IR

HSD Tukey

(I) ESPECIE	(J) ESPECIE	Intervalo de confianza al 95% Límite superior
Sp1	Sp2	,0417
	Sp3	,0400
Sp2	Sp1	-,0391
	Sp3	-,0004
Sp3	Sp1	-,0374
	Sp2	,0030

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 1.15E-006.

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.

Subconjuntos homogéneos

IR

HSD Tukey^{a,b}

ESPECIE	N	Subconjunto		
		1	2	3
Sp2	9	1,4946		
Sp3	9		1,4962	
Sp1	9			1,5349
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 1.15E-006.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 9.000.

b. Alfa = .05.

TRITURACION

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: IR

HSD Tukey

(I) TRITURACION	(J) TRITURACION	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95% Límite inferior
T1	T2	-,0007	,00051	,348	-,0020
	T3	-,0001	,00051	,959	-,0014
T2	T1	,0007	,00051	,348	-,0006
	T3	,0006	,00051	,495	-,0007
T3	T1	,0001	,00051	,959	-,0012
	T2	-,0006	,00051	,495	-,0019

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: IR

HSD Tukey

(I) TRITURACION	(J) TRITURACION	Intervalo de confianza al 95% Límite superior
T1	T2	,0006
	T3	,0012
T2	T1	,0020
	T3	,0019
T3	T1	,0014
	T2	,0007

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 1.15E-006.

Subconjuntos homogéneos

IR

HSD Tukey^{a,b}

TRITURACION	N	Subconjunto 1
T1	9	1,5083
T3	9	1,5084
T2	9	1,5090
Sig.		,348

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

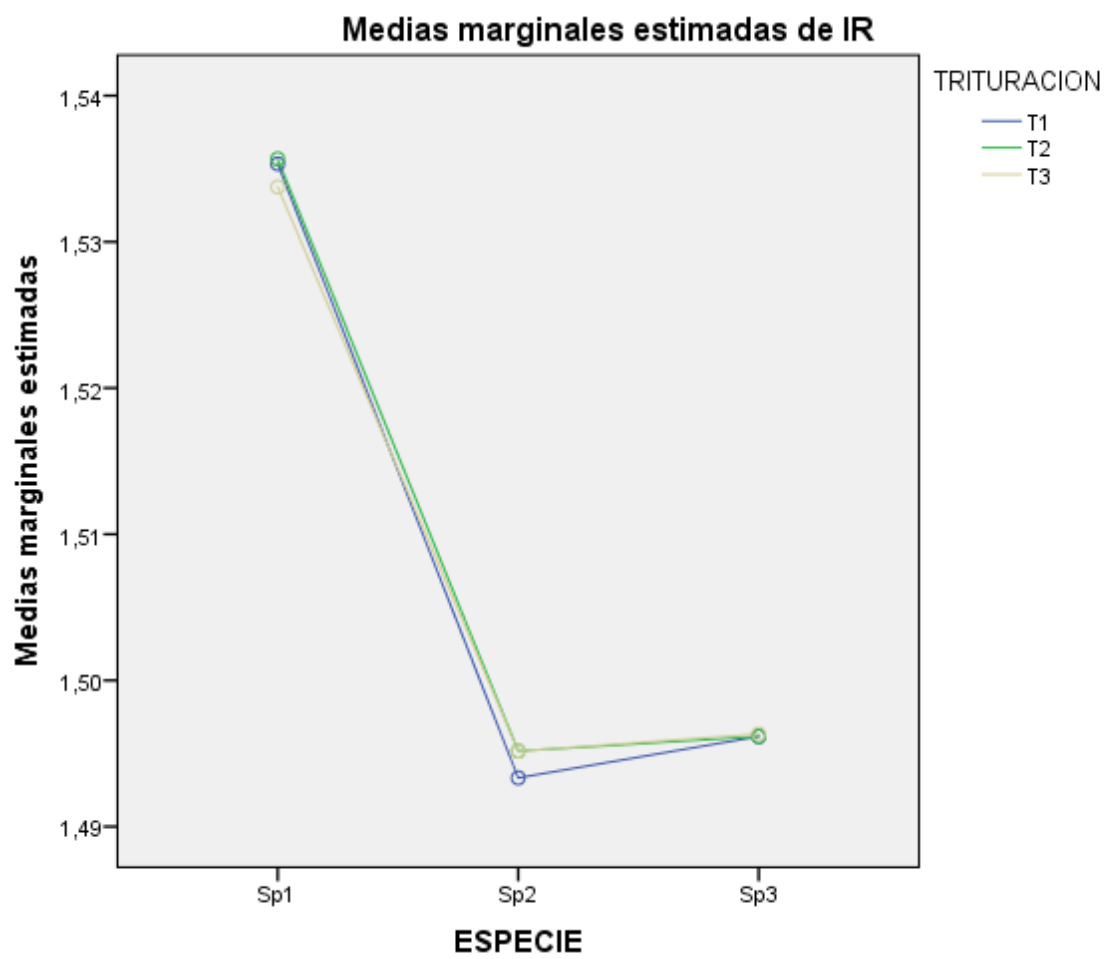
Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 1.15E-006.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 9.000.

b. Alfa = .05.

Gráficos de perfil



ANEXO 13

CROMATOGRAFÍA DE GASES



**UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA**

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN PRODUCTOS NATURALES

Informe de resultados

Solicitante: Rocío Díaz Calderón, Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM)

Muestras: 1 aceite esencial de Matico

Análisis: Composición química de aceite esencial por Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

Fecha: 12 Agosto 2016

RESULTADOS

En las páginas 2 a 3 del presente informe.

Atentamente,

Dra. Rosario Rojas Durán
Unidad de Investigación en Productos Naturales
LID-Laboratorio 209
e-mail: rosario.rojas@upch.pe
página web: www.uipn-upch.pe
Teléfono: 51-1-3190000 Anexo 2705

Av. Honorio Delgado 430, Urb. Ingeniería, San Martín de Porres
Telef.: 319-0000 / 482-0252 / 482-1130
<http://www.upch.edu.pe>

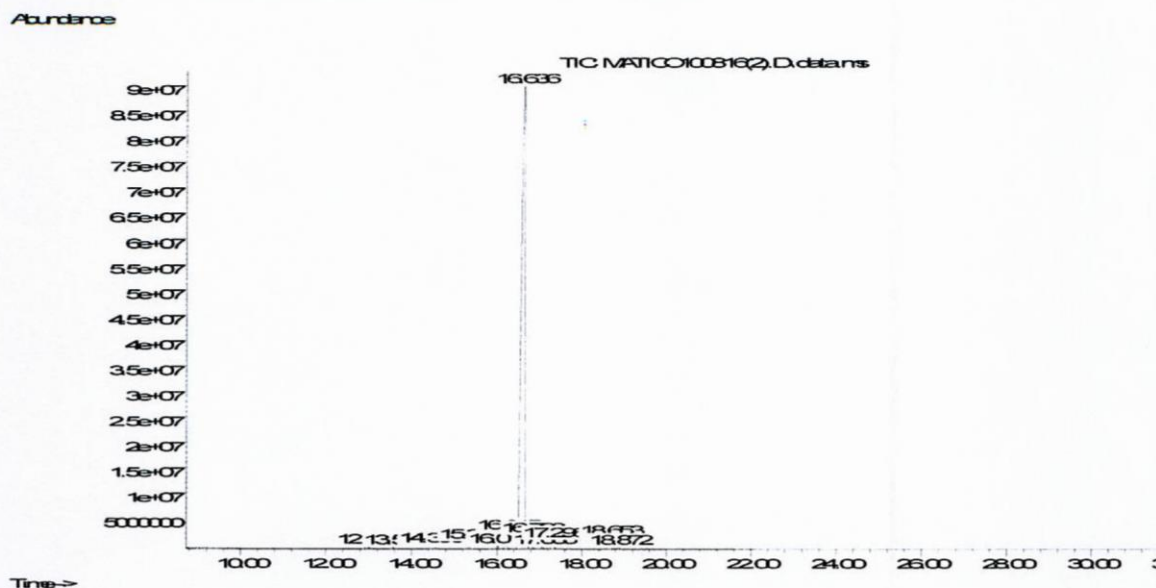
ACEITE ESENCIAL DE MATICO

Se identificaron 17 compuestos que comprenden el 100% de la composición total del aceite esencial.

Número	Nombre del compuesto (NIST08.L)	t _R (min)	% en la muestra (áreas relativas)
1	Safrol	12.9	0.3
2	Desconocido (C ₁₅ H ₂₄)	13.6	0.092
3	α-Cubebeno	14.4	0.264
4	β-Cariofileno	15.3	0.513
5	α-Cariofileno	16.0	0.195
6	Pentadecano	16.2	1.359
7	Miristicina	16.6	91.631
8	Biciclogermacreno	16.8	1.168
9	δ-Cadineno	17.1	0.137
10	Elemicina	17.3	0.819
11	Desconocido (C ₁₅ H ₂₄ O)	18.6	0.966
12	Oxido de cariofileno	18.9	0.185
13	Desconocido (C ₂₄ H ₃₈ O ₄)	32.5	0.805
14	Desconocido (C ₂₄ H ₃₈ O ₄)	48.5	0.994
15	Desconocido (C ₁₆ H ₅₀ O ₇)	50.9	0.155
16	Desconocido (C ₂₄ H ₃₈ O ₄)	51.1	0.214
17	Desconocido (C ₂₄ H ₃₈ O ₄)	52.4	0.178

RR
Dra. Rosario Rojas
Unidad de Investigación en Productos Naturales
Universidad Peruana Cayetano Heredia

Cromatograma GC-MS del aceite esencial de Matico



Condiciones cromatográficas (aceite esencial de "Matico"):

Equipo: Cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890 con detector espectrométrico de masas Agilent Technologies 5975C.

Columna: DB-5ms, 325 °C: 60 m x 250 µm x 0.25 µm

Rampa de temperatura: Empieza en 80 °C y sube a 10 °C/min hasta 180 °C, 2.5 °C/min hasta 200 °C por 5 min, 2.5 °C/min hasta 240 °C y finalmente 5 °C/min hasta 300 °C por 3 min

Tiempo de corrida: 54 min

Volumen de Inyección: 1 µL

Split: 20 : 1

Gas portador: He, 1 ml/min

Temperatura Puerto de inyección: 250 °C

Muestra: se diluyó 10 µl de muestra en 1 ml de diclorometano

RR
Dra. Rosario
Unidad de Investigación en P
Universidad Peruana C



UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN PRODUCTOS NATURALES

Informe de resultados

1

Solicitante:	Rocío Díaz Calderón, Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM)
Muestras:	1 aceite esencial de <i>Piper glabribaccum</i> 1 aceite esencial de <i>Piper reticulatum</i>
Análisis:	Composición química de aceites esenciales por Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas
Fecha:	5 octubre 2016

RESULTADOS

En las páginas 2 a 7 del presente informe.

Atentamente,

Dra. Rosario Rojas Durán

Unidad de Investigación en Productos Naturales

LID-Laboratorio 209

e-mail: rosario.rojas@upch.pe

página web: www.uipn-upch.pe

Teléfono: 51-1-3190000 Anexo 2705

ACEITE ESENCIAL DE *Piper glabribaccum*

Se identificaron 37 compuestos que comprenden el 100% de la composición total del aceite esencial.

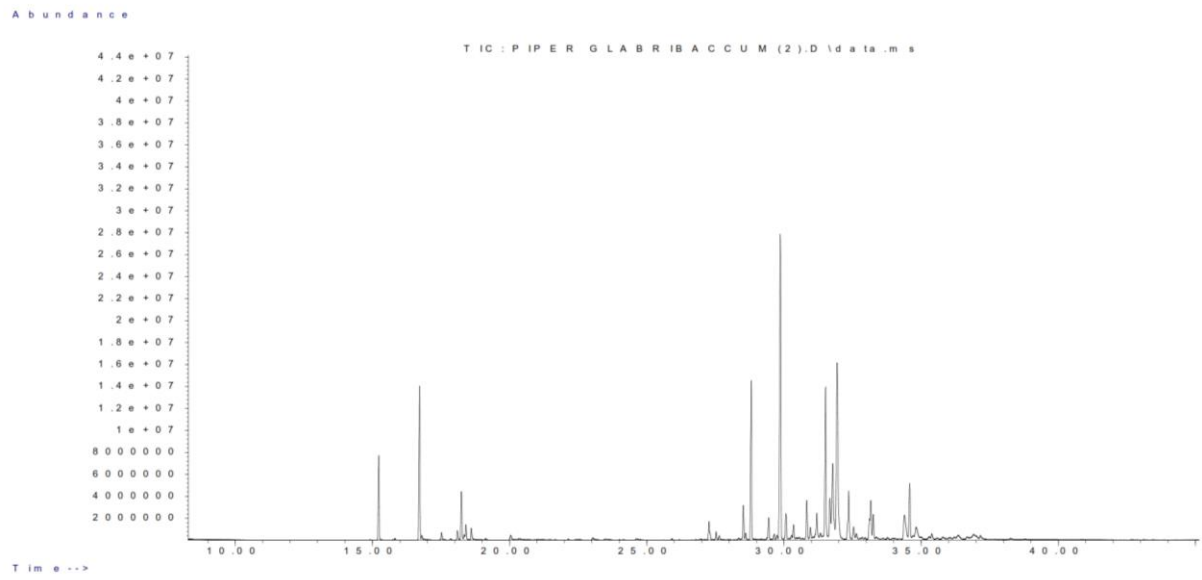
Número	Nombre del compuesto (NIST08.L)	t_R (min)	% en la muestra (áreas relativas)
1	α-Pineno	15.2	3.8
2	β-Pineno	16.7	7.3
3	α-Felandreno	17.5	0.3
4	β-Cimeno	18.1	0.5
5	1-metil-5-(1-metiletetil)-Ciclohexeno	18.2	2.4
6	β-Tujeno	18.3	0.2
7	Eucaliptol	18.4	0.7
8	Ocimeno	18.6	0.6
9	Desconocido (C ₁₀ H ₁₄ O)	20.0	0.3
10	1,5,5-trimetil-6-metilen-ciclohexeno	27.3	1.1
11	2-Careno	27.5	0.4
12	α-Cubebeno	28.5	1.7
13	Desconocido(C ₁₅ H ₂₄)	28.6	0.3
14	β-Elemeno	28.8	7.4
15	α-Gurjuneno	29.4	1.1
16	Desconocido(C ₁₅ H ₂₄)	29.6	0.3
17	β-Cariofileno	29.9	17.2
18	α-Guaieno	30.1	1.4
19	Decahidro-1,1,7-trimetil-4-metilen-1H Cicloprop[e]azuleno	30.3	0.7

2

20	α -Cariofileno	30.8	1.9
21	Alloaromadendreno	31.0	0.6
22	τ -Muoreleno	31.2	1.8
23	α -Muoreleno	31.3	0.4
24	Germacreno-D	31.5	8.7
25	Miristicina	31.7	2.6
26	Eremofileno	31.8	6.2
27	Germacreno-B	31.9	14.4
28	δ -Cadineno	32.4	3.1
29	Calameneno	32.5	0.8
30	β -Guaieno	32.6	0.3
31	Valenceno	33.1	0.8
32	α -Calacoreno	33.2	2.2
33	Eudesma-3,7(11)-dieno	33.3	1.3
34	Espatunelol	34.4	2.6
35	Óxido de Cariofileno	34.6	3.1
36	Guaiol	34.8	1.2
37	1,5,5,8-tetrametil-, [1-(1,3E,7E,11)]-12-Oxabiciclo[9.1.0]dodeca-3,7-dieno	35.4	0.3

3

Cromatograma GC-MS del aceite esencial de *Piper glaberrimum*



ACEITE ESENCIAL DE *Piper reticulatum*

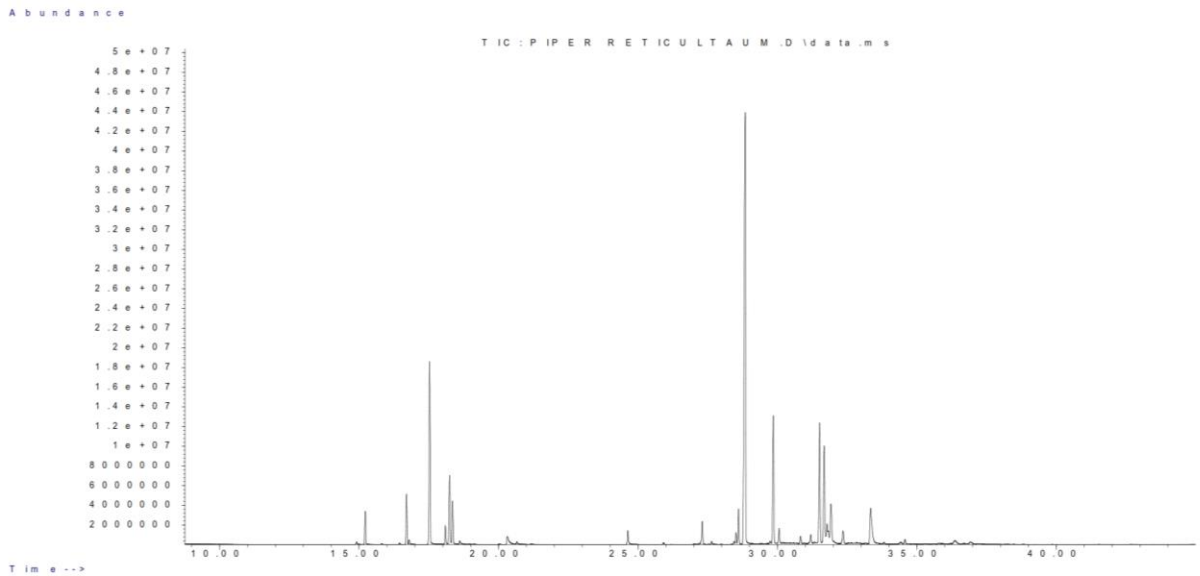
Se identificaron 32 compuestos que comprenden el 100% de la composición total del aceite esencial.

Número	Nombre del compuesto (NIST08.L)	t_R (min)	% en la muestra (áreas relativas)
1	Desconocido (C ₁₀ H ₁₆)	14.9	0.1
2	α-Pineno	15.2	1.8
3	β-Pineno	16.7	2.7
4	β-Felandreno	16.8	0.3
5	α-Felandreno	17.5	10.6
6	β-Cimeno	18.1	1.1
7	Limoneno	18.2	4.0
8	β-Tujeno	18.3	2.3
9	Ocimeno	18.6	0.2
10	Linalol	20.3	0.9
11	Desconocido (C ₁₁ H ₁₈)	20.7	0.1
12	β- <i>cis</i> -Ocimeno	24.6	0.8
13	δ-Elemeno	27.3	1.3
14	α-Cubebeno	27.6	0.2
15	Ciclosativeno	28.4	0.2
16	Copaeno	28.5	0.6
17	Desconocido(C ₁₅ H ₂₄)	28.6	2.0
18	β-Elemeno	28.8	35.2
19	β-Gurjuneno	29.7	0.2
20	β-Cariofileno	29.8	7.5

21	β -Cubebeno	30.1	0.9
22	α -Cariofileno	30.8	0.4
23	β -Maaleno	31.2	0.7
24	Germacreno-D	31.5	7.6
25	Miristicina	31.7	6.6
26	Eremofileno	31.8	1.4
27	α -Muorelano	31.8	0.7
28	Germacreno-B	31.9	3.7
29	δ -Cadineno	32.4	0.9
30	Nerolidol 2	33.3	4.2
31	Óxido de Cariofileno	34.6	0.3
32	Desconocido (C ₁₅ H ₂₆ O)	36.4	0.5

6

Cromatograma GC-MS del aceite esencial de *Piper reticulatum*



Condiciones cromatográficas (aceites esenciales de *Piper glabibraccum* y *Piper reticulatum*):

Equipo: Cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890 con detector espectrómetro de masas Agilent Technologies 5975C.

Columna: DB-5ms, 325 °C: 60 m x 250 µm x 0.25 µm

Rampa de temperatura: Empieza en 80 °C y sube a 10 °C/min hasta 180 °C, 2.5 °C/min hasta 200 °C por 5 min, 2.5 °C/min hasta 240 °C y finalmente 5 °C/min hasta 300 °C por 3 minutos.

Tiempo de corrida: 54 min

Volumen de Inyección: 1 µL

Split: 20 : 1

Gas portador: He, 1 ml/min

Temperatura Puerto de inyección: 250 °C

Muestra: se diluyó 10 µl de muestra en 1 ml de diclorometano

