

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Facultad de Ciencias Agropecuarias

**Escuela Académica Profesional de Ingeniería en Industrias
Alimentarias**

**“EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE
ESENCIAL DE MOLLE (*Schinus molle* L.)”**

Tesis

Presentada por:

Bach. SHEPANIE KAREN LLANOS ARAPA

Para optar el Título de:

Ingeniero en Industrias Alimentarias

Tacna - Perú

2012

**UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE
INGENIERÍA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS**

TESIS

**“EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE
ESENCIAL DE MOLLE (*Schinus molle* L.)”**

Tesis sustentada y aprobada el 07 de setiembre del 2012; estando el
Jurado Calificador integrado por:

PRESIDENTE:

Dra. LILIANA LANCHIPA BERGAMINI

SECRETARIO:

Mgr. LUIS MARIN ALIAGA

VOCAL:

Mgr. NICOLÁS SEQUEIROS FLORES

ASESOR:

M. Sc. SAMUEL CERRO RUIZ

DEDICATORIA

Dedicado a Dios, mi principal ayudador y sustento; a mi familia, quienes me brindaron su amor y apoyo en todo momento; y a mis amigos, quienes también mostraron preocupación e interés en la culminación de la presente investigación.

AGRADECIMIENTO

Expreso mis más sinceros agradecimientos a todas aquellas personas que fueron de valiosa ayuda para la realización del presente trabajo; al M. Sc. Samuel Cerro Ruiz, por su importante participación como asesor y maestro, al M. Sc. Guillermo Salazar, por su apoyo incondicional en el trabajo de laboratorio, a la Ing. Amelia Castro, por sus acotaciones en las técnicas microbiológicas, a la Srta. Rufina Gladys Ale, por su apoyo como guía rural en la provincia de Tarata y el distrito de Los Palos; y a todas las personas que extendieron un apoyo emocional a mi persona durante el desarrollo de esta investigación, muchas gracias.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Conceptos generales y definiciones	3
2.1.1. Aceites esenciales	3
2.1.1.1. Concepto	3
2.1.1.2. Composición química general de los aceites esenciales	4
2.1.1.3. Propiedades físico-químicas de los aceites esenciales	4
2.1.1.4. Propiedades biológicas de los aceites esenciales	6
2.1.1.4.1. Actividad antioxidante	7
2.1.1.4.2. Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales	7
2.1.1.5. Aplicaciones de los aceites esenciales en la industria	8
2.1.1.6. Mercado mundial de los aceites esenciales	10
2.1.2. <i>Schinus molle</i> L.	13
2.1.2.1. Antecedentes históricos del molle	13
2.1.2.1.1. Molle en las zonas altas de Los Andes	13
2.1.2.1.2. Molle en Las Misiones	14
2.1.2.2. Taxonomía	15
2.1.2.3. Nombres comunes	15
2.1.2.4. Botánica	16

2.1.2.5. Origen y extensión	18
2.1.2.6. Dispersión en el Perú	18
2.1.2.7. Hábitat	19
2.1.2.8. Aspectos fisiológicos	19
2.1.2.9. Cultivo	20
2.1.2.10. Propagación	20
2.1.2.11. Tolerancias	21
2.1.2.12. Susceptibilidad	21
2.1.2.13. Utilidad	21
2.1.2.13.1. Reforestación y medio ambiente	21
2.1.2.13.2. Uso etnomedicinal	22
2.1.2.13.3. Otros usos populares	24
2.1.2.14. Composición fitoquímica del <i>Schinus molle</i> L.	26
2.1.2.14.1. Metabolitos secundarios no volátiles	26
2.1.3. Aceite esencial de <i>Schinus molle</i> L.	27
2.1.3.1. Metabolitos secundarios volátiles reconocidos	29
2.1.3.2. Actividad biológica	33
2.1.3.3. Aplicaciones comerciales	35
2.1.3.4. Propiedades físicas	36
2.1.4. Métodos de obtención de aceites esenciales	38
2.1.4.1. Extracción por extrusión	38
2.1.4.2. Hidrodestilación	39
2.1.4.3. Destilación por arrastre con vapor	39

2.1.4.4. Hidrodestilación asistida por radiación de microondas	40
2.1.5. Equipos de extracción	41
2.1.5.1. A nivel de laboratorio	41
2.1.5.2. A nivel intermedio o banco (bench)	42
2.1.5.3. A nivel piloto	44
2.1.5.4. A nivel industrial	46
2.1.6. Métodos de análisis y control de calidad de los aceites esenciales	48
2.1.6.1. Cromatografía en fase gaseosa	49
2.1.6.2. Espectrometría de masas	50
2.1.6.3. Cromatografía en fase gaseosa acoplada a espectrometría de masas	51
2.1.6.4. Cromatografía de gases con detector de ionización de llama	52
III. MATERIALES Y MÉTODOS	54
3.1. Lugar de ejecución	54
3.2. Materia prima	54
3.2.1. Naturaleza de la materia prima	54
3.2.2. Características de la materia prima	56
3.3. Materiales y equipos	58
3.3.1. Materiales	58
3.3.2. Aparatos y equipos	60
3.3.3. Reactivos	61
3.4. Metodología	61
3.4.1. Acondicionamiento de la materia prima	63

3.4.1.1. Secado	63
3.4.1.2. Desgrane y molienda	64
3.4.2. Pesado y codificación de la materia prima	66
3.4.3. Extracción de aceite esencial por arrastre de vapor	67
3.4.4. Recepción y almacenamiento de los aceites	70
3.5. Métodos de análisis	71
3.5.1. Análisis físico - químicos	71
3.5.1.1. Caracterización físico-química de la materia prima	71
3.5.1.1.1. Tamaño y estructura	71
3.5.1.1.2. Determinación de humedad	72
3.5.1.1.3. Determinación de cenizas	72
3.5.1.1.4. Determinación de proteínas	72
3.5.1.2. Caracterización físico-química de los aceites esenciales	72
3.5.1.2.1. Rendimiento	72
3.5.1.2.2. Índice de refracción	73
3.5.1.2.3. Densidad y densidad relativa	73
3.5.1.2.4. Punto de congelación	73
3.5.1.2.5. Índice de acidez	74
3.5.1.2.6. Índice de éster	74
3.5.1.2.7. Análisis cromatográfico	75
3.5.1.2.8. Evaluación sensorial	76
3.5.2. Prueba de actividad antimicótica	77
3.5.3. Procesamiento estadístico de datos	82

3.5.3.1. Influencia del lugar de origen en el rendimiento del aceite esencial de molle	82
3.5.3.2. Influencia del lugar de origen en las características sensoriales del aceite esencial de molle	83
IV. HIPÓTESIS E IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES	86
4.1. Formulación de hipótesis	86
4.2. Identificación de variables e indicadores	86
4.2.1. Variables	86
4.2.2. Indicadores	87
4.2.2.1. Indicadores para características físico-químicas	88
4.2.2.2. Indicadores para características microbiológicas	88
V. RESULTADOS Y DISCUSIONES	90
5.1. Caracterización físico-química de la materia prima	90
5.1.1. Tamaño y estructura	90
5.1.2. Caracterización química	93
5.1.2.1. Determinación de humedad	93
5.1.2.2. Determinación de cenizas	94
5.1.2.3. Determinación de proteínas	95
5.2. Influencia del lugar de origen en el rendimiento del aceite esencial de molle	97
5.3. Influencia del lugar de origen en las características sensoriales del aceite esencial de molle	99
5.3.1. Color	99

5.3.2. Olor	101
5.3.3. Sabor	102
5.4. Caracterización físico-química de los aceites esenciales	104
5.4.1. Rendimiento	106
5.4.1.1. Rendimiento del aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 01 (Los Palos)	106
5.4.1.2. Rendimiento del aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 02 (Tarata)	111
5.4.2. Índice de refracción	116
5.4.3. Densidad y densidad relativa	117
5.4.4. Punto de congelación	119
5.4.5. Índice de acidez	121
5.4.6. Índice de éster	122
5.4.7. Análisis cromatográfico	124
5.4.7.1. Metabolitos volátiles secundarios del aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 01 (“Los Palos”)	124
5.4.7.2. Metabolitos volátiles secundarios del aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 02 (“Tarata”)	126
5.4.7.3. Descripción e importancia de los metabolitos volátiles hallados en los aceites esenciales de molle	127
5.4.8. Evaluación sensorial	132
5.5. Prueba de actividad antimicótica	132

5.5.1. Actividad antimicótica del aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 01 (“Los Palos”)	133
5.5.2. Actividad antimicótica del aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 02 (“Tarata”)	136
VI. CONCLUSIONES	141
VII. RECOMENDACIONES	145
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	147
ANEXOS	164

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro N° 01.- Grupos funcionales de las moléculas constituyentes de los aceites esenciales.	4
Cuadro N° 02.- Ranking de aceites esenciales exportados por el Perú - año 2007.	12
Cuadro N° 03.- Usos de molle en medicina tradicional del Cuzco (Perú).	23
Cuadro N° 04.- Contenido porcentual de aceite esencial en <i>S. molle</i> L. (registrado por varios autores).	28
Cuadro N° 05.- Propiedades físicas del aceite esencial de <i>S. molle</i> L., registradas en varios países.	37
Cuadro N° 06.- Codificación de muestras.	58
Cuadro N° 07.- Peso y codificación de muestras.	67
Cuadro N° 08.- Rendimiento porcentual (%) del aceite de acuerdo al lugar de origen de la muestra vegetal (MV).	82
Cuadro N° 09.- Comparación múltiple de olor entre tres muestras diferentes de aceite esencial.	84
Cuadro N° 10.- Indicadores y respectivos valores.	88
Cuadro N° 11.- Valores de altura y diámetro del fruto del molle.	90
Cuadro N° 12.- Descripción de las principales partes del fruto del molle.	91
Cuadro N° 13.- Características químicas del fruto del molle.	93
Cuadro N° 14.- Rendimiento porcentual en relación volumen/peso (V/P)	

del aceite esencial de acuerdo al lugar de origen de la muestra vegetal (MV).	97
Cuadro N° 15.- Evaluación de color en tres muestras de aceite esencial de molle.	100
Cuadro N° 16.- Evaluación de olor en tres muestras de aceite esencial de molle.	101
Cuadro N° 17.- Evaluación de sabor en tres muestras de aceite de molle.	103
Cuadro N° 18.- Características físico-químicas del aceite esencial de molle.	105
Cuadro N° 19.- Rendimiento porcentual (%R) de aceite esencial de molle para el lote N° 01.	106
Cuadro N° 20.- Rendimiento porcentual (%R) con respecto al tiempo de extracción.	109
Cuadro N° 21.- Rendimiento porcentual (%R) de aceite esencial de molle para el lote N° 02.	111
Cuadro N° 22.- Rendimiento porcentual (%R) con respecto al tiempo de extracción.	114
Cuadro N° 23.- Tiempos de retención e identificación de los metabolitos secundarios aislados por GC-FID de la muestra de aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 01 (Los Palos).	125
Cuadro N° 24.- Tiempos de retención e identificación de los metabolitos secundarios aislados por GC-FID de la muestra de aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 02 (Tarata).	126

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura N° 01.- Principales áreas de aplicación de los aceites esenciales	9
Figura N° 02.- Importaciones de USA, en aceites esenciales por miles de dólares. Periodo 2003 – 2007.	10
Figura N° 03.- Estructura molecular de los componentes volátiles más comunes del aceite esencial de molle.	32
Figura N° 04.- Equipo <i>Clevenger</i> .	42
Figura N° 05.- Equipo de vidrio, 6 L.	43
Figura N° 06.- Equipo de cobre, 10 L.	44
Figura N° 07.- Equipo de acero, 25 L.	44
Figura N° 08.- Equipos a nivel piloto de acero inoxidable para la extracción de aceites esenciales.	45
Figura N° 09.- Remolque-alambique de acero comercial de 1600 L.	46
Figura N° 10.- Equipos verticales de 5000 L.	47
Figura N° 11.- Cromatógrafo de gases con detector FID, modelo AGILENT-6890	52
Figura N° 12.- Árbol de molle del centro poblado menor Los Palos, racimos de fruto.	55
Figura N° 13.- Árbol de molle del distrito de Tarata, racimo de frutos.	56
Figura N° 14.- Frutos maduros y secos de molle del CPM Los Palos (acercamiento).	57

Figura N° 15.- Frutos maduros y secos de molle del distrito de Tarata (acercamiento).	57
Figura N° 16.- Diseño experimental para el proceso de extracción y caracterización del aceite esencial de molle (<i>Schinus molle</i> L.).	62
Figura N° 17.- Secado de racimos de frutos de molle del CPM de Los Palos.	63
Figura N° 18.- Desgrane de frutos de molle del CPM Los Palos: a) frutos sanos, b) tallos, c) impurezas.	64
Figura N° 19.- Desgrane de frutos de molle del distrito de Tarata: a) frutos sanos, b) tallos, c) impurezas.	65
Figura N° 20.- Frutos triturados de molle del CPM Los Palos.	65
Figura N° 21.- Frutos triturados de molle del distrito de Tarata.	66
Figura N° 22.- Equipo de extracción por arrastre de vapor (partes).	68
Figura N° 23.- Acumulación de aceite esencial, división de fases el aceite esencial en la parte superior (acercamiento).	70
Figura N° 24.- Recepción de aceite esencial y almacenamiento en un frasco de vidrio ámbar.	71
Figura N° 25.- Microcultivo de <i>Penicillium italicum</i> por el método de Ridell.	77
Figura N° 26.- Micelio de <i>Penicillium italicum</i> desarrollado en un portaobjeto (método de Ridell).	78
Figura N° 27.- Identificación al microscopio del hongo <i>Penicillium italicum</i> (acercamiento).	79

Figura N° 28.- Aislamiento del <i>Penicillium italicum</i> en tubos de agar inclinado.	79
Figura N° 29.- Incubación de los tubos de agar inclinado, y desarrollo micelial del <i>Penicillium italicum</i> en la superficie del agar (acercamiento).	80
Figura N° 30.- Diferenciación de partes del fruto del molle.	92
Figura N° 31.- Balance masa para el proceso extractivo del aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 01 (Los Palos).	108
Figura N° 32.- Porcentaje de rendimiento (%R) de aceite esencial “Los Palos” frente al tiempo de extracción en minutos t (min).	109
Figura N° 33.- Balance masa para el proceso extractivo del aceite esencial de molle, perteneciente al lote N° 02 (Tarata).	113
Figura N° 34.- Porcentaje de rendimiento (%R) de aceite esencial “Tarata” frente al tiempo de extracción en minutos (t min).	114
Figura N° 35: Estructura molecular del limoneno.	127
Figura N° 36: Estructura molecular del α -pineno.	128
Figura N° 37: Estructura molecular del β -pineno.	129
Figura N° 38: Estructura molecular del β -mirceno.	130
Figura N° 39: Estructura molecular del α -felandreno.	131
Figura N° 40: Placa “A (aceite LP)”, presentó halo de inhibición frente a <i>Penicillium italicum</i> .	133
Figura N° 41: Placa “Testigo (alcohol)” no presentó halo de inhibición frente a <i>Penicillium italicum</i> .	134

Figura N° 42: Placa "A (aceite LP)", la corona de aceite contuvo el desarrollo del <i>Penicillium italicum</i> .	135
Figura N° 43: Placa "Testigo (agua)" el <i>Penicillium italicum</i> rebasó la corona de agua.	135
Figura N° 44: Placa "B (aceite T)", presentó halo de inhibición frente a <i>Penicillium italicum</i> .	137
Figura N° 45: Placa "Testigo (alcohol)" no presentó halo de inhibición frente a <i>Penicillium italicum</i> .	138
Figura N° 46: Placa "B (aceite T)", la corona de aceite redujo el desarrollo del <i>Penicillium italicum</i> .	139
Figura N° 47: Placa "Testigo (agua)" el <i>Penicillium italicum</i> rebasó la corona de agua.	139

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo N° 01.- Figura N° 01.- Partes de la planta del molle: a) Árbol, b) flores, c) hojas, y d) frutos del <i>Schinus molle</i> L.	165
Anexo N° 02.- Figura N° 01.- Germinación de semillas de molle en almácigos.	166
Figura N° 02.- Plantado del brote de molle en tierra.	166
Anexo N° 03.- Cuadro N° 01.- Información etnomedicinal de <i>Schinus molle</i> .	167
Anexo N° 04.- Cuadro N° 01.- Metabolitos secundarios no volátiles en <i>S. molle</i> L.	169
Anexo N° 05.- Componentes porcentualmente mayoritarios del aceite esencial de <i>Schinus molle</i> L. (en seis países de Latinoamérica).	171
Anexo N° 06.- Actividades biológicas del aceite esencial de <i>Schinus molle</i> L. (identificadas por varios autores).	173
Anexo N° 07.- Fichas de evaluación utilizada en la prueba de comparación múltiple para evaluar las características sensoriales de color, olor y sabor en el aceite esencial de molle.	175
Anexo N° 08.- Influencia del lugar de origen en el rendimiento del aceite esencial.	179

Anexo N° 09.-	Influencia del lugar de origen sobre las características sensoriales del aceite esencial de molle (color).	182
Anexo N° 10.-	Influencia del lugar de origen sobre las características sensoriales del aceite esencial de molle (olor).	186
Anexo N° 11.-	Influencia del lugar de origen sobre las características sensoriales del aceite esencial de molle (sabor).	190
Anexo N° 12.-	Figura N° 01.- Cromatograma de picos para la muestra de aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 01 “Los Palos”.	194
	Figura N° 02.- Leyenda descriptiva para el cromatograma de picos.	194
Anexo N° 13.-	Figura N° 01.- Cromatograma de picos para la muestra de aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 02 “Tarata”.	195
	Figura N° 02.- Leyenda descriptiva para el cromatograma de picos.	195
Anexo N° 14.-	Norma Técnica Peruana (NTP-ITINTEC) con código: ICS 71.100.60, para aceites esenciales.	196

RESUMEN

El estudio estuvo orientado a la extracción de aceite esencial del fruto del *Schinus molle* L. de la Región Tacna, así como a la caracterización físico-química e identificación de los componentes principales de dicho aceite; probándose también su actividad antimicótica ante *Penicillium italicum*.

Los puntos de recolección de materia prima fueron el CPM de Los Palos en la Provincia de Tacna, y el distrito de Tarata en la Provincia de Tarata. Se determinó el contenido de humedad (18,158%), cenizas (3,785%) y proteínas (5,28%) para los frutos de Los Palos; y el contenido de humedad (21,875%), cenizas (3,353%) y proteínas (5,56%) para los de Tarata, además de el tamaño y estructura de los mismos. Se secó la materia prima a condiciones de 11,1-27,9°C; 66-84% HR; 948,4-954,1 mb y bajo sombra. Se tomaron muestras de 100 g que fueron trituradas gruesamente y sometidas a arrastre de vapor de agua, cada corrida de extracción duró una hora, obteniéndose aceites esenciales con rendimiento promedio de 6,575% (v/p) para las muestras de Los Palos, y 7,705% (v/p) para las de Tarata. El tratamiento estadístico demostró que el lugar de origen de la materia prima no tiene influencia significativa sobre el rendimiento del aceite esencial de molle, ni sobre sus

propiedades sensoriales. Las características físico-químicas del aceite esencial del lote N° 01 (Los Palos) fueron: índice de refracción (1,478), densidad (0,846 g/cm³), densidad relativa (0,847), punto de congelación (-35°C), índice de acidez (6,023 mg KOH/g) e índice de éster (17,008); y para el aceite esencial del lote N° 02 (Tarata) fueron: índice de refracción (1,477), densidad (0,831 g/cm³), densidad relativa (0,832), punto de congelación (-35°C), índice de acidez (12,718 mg KOH/g) e índice de éster (23,148). Ambos aceites se analizaron por cromatografía de gases con detector FID, identificándose los monoterpenos: limoneno, α -pineno, β -pineno, β -mirceno, y α -felandreno. Las propiedades sensoriales de los aceites fueron: color transparente y ligeramente amarillo, olor herbáceo, penetrante y ligeramente mentolado, y sabor de tipo herbáceo, persistente y ligeramente amargo. Las pruebas de actividad antimicótica indicaron que los aceites esenciales de ambos lotes inhiben el desarrollo del hongo *Penicillium italicum*.

Palabras Claves: *Schinus molle*, frutos del molle, aceites esenciales, arrastre de vapor.

I. INTRODUCCIÓN

Las plantas han sido siempre una fuente indispensable para la obtención de productos beneficiosos en la historia de la humanidad (Bandoni *et al.*, 2009). Las antiguas civilizaciones usaron las especies vegetales tanto para fines alimenticios, como en medicina y cosmética. En ese sentido, algunos de los productos con mayor relevancia histórica son las especias aromáticas, sus esencias y fragancias figuran en escritos tan memorables como el *Génesis* de la Biblia (RVR, 1960), que hace referencia de mercaderes madianitas que comercializaban aromas, bálsamo y mirra, posiblemente su peso en oro o plata; también, los egipcios, mesopotámicos, hindúes y chinos tenían vastos conocimientos sobre la extracción y uso de las esencias con las que fabricaban pomadas, bálsamos mortuorios e infusiones. Incluso, el médico griego Hipócrates recomendaba masajes con aceites esenciales (Díaz, 2007).

En la actualidad, se ha revalorado el campo de aplicación de las plantas y especias aromáticas, en farmacología y biotecnología; la investigación científica le abre un nuevo espacio a los aceites esenciales, evaluando su efecto anti-infeccioso, antimicótico e insecticida, por medio de pruebas *in-vitro* y evaluaciones en tejidos vivos.

El Perú es uno de los países con mayor biodiversidad en el mundo, muchas de sus especies vegetales pueden ser aprovechadas de forma sostenible por la industria, una clara alternativa es el *Schinus molle* L., un árbol nativo con aplicaciones medicinales, cuyo aceite esencial presenta propiedades insecticidas, antibacterianas y antifúngicas, demostradas con un amplio espectro (Chirino *et al.*, 2001; Zeng Yueqin, 2006).

El objetivo general de este trabajo, fue extraer y caracterizar el aceite esencial de los frutos del molle de la región de Tacna (CPM de Los Palos y distrito de Tarata). Los objetivos específicos fueron, caracterizar físico-químicamente la materia prima; determinar la influencia del lugar de origen de la materia prima sobre el rendimiento y en las características sensoriales del aceite esencial de molle; caracterizar físico-químicamente los aceites extraídos de acuerdo a las técnicas de análisis establecidas en la Norma Técnica Peruana, y comprobar la actividad antimicótica de los aceites frente a *Penicillium italicum*.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. CONCEPTOS GENERALES Y DEFINICIONES

2.1.1. ACEITES ESENCIALES

2.1.1.1. Concepto

Son mezclas complejas de componentes volátiles, que resultan del metabolismo secundario de plantas; están compuestos por hidrocarburos del grupo de los terpenos, y por compuestos oxigenados de bajo peso molecular como los son los alcoholes, aldehídos, cetonas, esterres y ácidos, éstos son los que le dan a los aceites esenciales el aroma que los caracteriza (Díaz, 2007).

Los aceites esenciales se acumulan en estructuras secretoras especializadas ubicadas en diferentes partes de la anatomía de las plantas; por ejemplo, se biosintetizan en los tricomas glandulares (hojas) o en glándulas (cáscaras), en las plantas se pueden ubicar en general, en pelos glandulares del tallo y hojas (menta, lavanda, salvia), en las células modificadas del parénquima como en las piperáceas (pimienta), en tubos oleíferos (canela), en tubos esquizógenos (anís, hinojo), o canales lisígenos (pino), entre otros (Díaz, 2007; Vargas y Bottia, 2008).

2.1.1.2. Composición química general de los aceites esenciales

Los metabolitos secundarios volátiles que componen los aceites esenciales se pueden clasificar en base a los grupos funcionales que contienen sus moléculas, como se muestra en cuadro N° 01.

Cuadro N° 01.- Grupos funcionales de las moléculas constituyentes de los aceites esenciales.

Grupo funcional	Naturaleza química	Ejemplo
Hidrocarburos	Terpénicos	Limoneno, α -terpineno
	Aromáticos	Cumeno, <i>p</i> -cimeno
	Sesquiterpénicos	<i>Trans</i> - β -cariofileno
Aldehídos	Monoterpénicos	Citral,
	Alifáticos	Nonanal, octadecanal
	Aromáticos	Cinamaldehído
Alcoholes	Monoterpénicos	Geraniol, citronelol
	Alifáticos	3-decanol
	Sesquiterpénicos	Espatulenol, cedrol
	Aromáticos	Alcohol bencílico
Fenoles	Aromáticos	Timol, carvacrol

Fuente: Díaz (2007).

2.1.1.3. Propiedades físico-químicas de los aceites esenciales

Tienen la propiedad en común, de generar diversos aromas agradables y perceptibles al ser humano, pero siempre pronunciados y penetrantes, que nos recuerdan el olor del vegetal del que provienen. Poseen un color en la gama del amarillo, hasta ser transparentes en algunos casos.

Tienen sabor cáustico, acre e irritante y a veces aromático, dulce y delicado (Cerpa, 2007; Albarracín y Gallo, 2003; Bandoni, 2000).

Según su consistencia los aceites esenciales se clasifican en esencias fluidas, bálsamos y oleorresinas. Las esencias fluidas son líquidos volátiles a temperatura ambiente. Los bálsamos son más espesos, son poco volátiles y propensos a sufrir reacciones de polimerización (el bálsamo de copaiba, el de tolú, estoraque, etc.). Las oleorresinas tienen el aroma de las plantas en forma concentrada y son típicamente líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas (caucho, gutapercha, chicle, oleorresina de paprika, etc.). A condiciones ambientales, son líquidos menos densos que el agua, pero más viscosos que ella. Son solubles en los disolventes orgánicos comunes. Casi inmiscibles en disolventes polares asociados (agua, amoníaco). Tienen propiedades de solvencia para los polímeros con anillos aromáticos presentes en su cadena (Albarracín y Gallo, 2003; Cerpa, 2007).

Sufren degradación química en presencia de la luz solar, del aire, del calor, de ácidos y álcalis fuertes, generando oligómeros de naturaleza indeterminada. En algunos casos, a consecuencia de la oxidación, se llega a producir ácido carbónico, como en la esencia de anís; otras veces ácido benzoico, como en la esencia de almendra y también ácido cinámico, como en la de canela (Albarracín y Gallo, 2003).

Además, los aceites esenciales refractan la luz polarizada, propiedad que se usa para su control de pureza, pues tienen por ello un índice de refracción característico (Albarracín y Gallo, 2003).

Son inflamables, no son tóxicos, aunque pueden provocar alergias en personas sensibles a determinados terpenoides (Cerpa, 2007).

Los aceites esenciales no son inocuos mientras la dosis suministrada no supere los límites de toxicidad. Y son aceptados como sustancias seguras (GRAS) por la Agencia de Drogas y Alimentos (FDA) de E.E.U.U. (Cerpa, 2007).

2.1.1.4. Propiedades biológicas de los aceites esenciales

Desde la antigüedad, las especies aromáticas y sus aceites esenciales se han empleado en preparaciones culinarias no sólo como agentes saborizantes y aromatizantes, sino también como conservantes naturales en alimentos y en otros productos, donde los aceites esenciales pueden detener, prevenir o inhibir el deterioro oxidativo y los daños causados por bacterias, hongos u otros microorganismos. De esta manera, y debido a la creciente presión de los consumidores, actualmente las industrias de alimentos y cosméticos han disminuido el uso de conservantes sintéticos en sus productos, reemplazándolos por sustancias de origen natural (Vargas y Bottia, 2008).

2.1.1.4.1. Actividad antioxidante

En muchos estudios sobre especies vegetales se ha aislado una amplia variedad de compuestos antioxidantes fenólicos lo cual los coloca en la categoría de los antioxidantes más interesantes y promisorios, en general flavonoides. Estos antioxidantes son sustancias importantes en el área de farmacología, principalmente por su capacidad de contrarrestar la formación de radicales, cuya influencia se ve reflejada en las propiedades que poseen, así como antivirales, antialérgicas, anti-inflamatorias, antimicrobianas, etc. (Díaz, 2007).

Cabe resaltar que la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en las plantas aromáticas depende de su estructura y, particularmente, del número y la posición el grupo hidroxilo (Díaz, 2007).

2.1.1.4.2. Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales

Desde hace más de tres décadas se ha descrito a los fungicidas de origen natural, como agentes de gran capacidad biodegradable y de efectos secundarios menores, en comparación a los fungicidas comúnmente comercializados (Dikshit *et al.*, 1986). Así por ejemplo, se ha comprobado que al incorporar aceite esencial de árbol de té en recubrimientos a base de polímeros derivados de la celulosa constituye una alternativa eficaz para el control en postcosecha de *Penicillium*

italicum en naranjas (Sánchez *et al.*, 2007). También, el aceite esencial de jengibre puede ejercer una acción antimicrobiana sobre el *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus faecalis* (Vásquez *et al.*, 2001). Y el aceite esencial de la “hierba de limón” (*Cymbopogon citratus*) mostró una notable actividad antifúngica frente a *Trichophyton rubrum* (la formulación desarrollada resultó no irritante y se propuso usar como antidermatofítica) (Guerra *et al.*, 2004).

Para la evaluación de las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales se aplican los métodos convencionales de ensayo para antibióticos. Existen dos técnicas básicas usadas, el método de difusión en agar y el método de diluciones (Vargas y Bottia, 2008).

2.1.1.5. Aplicaciones de los aceites esenciales en la industria

Los aceites esenciales tienen un amplio rango de aplicación en la industria. La figura N° 01, proporciona una vista general de su uso en las diferentes ramas de consumo. El tipo de aceite esencial y su calidad final determinarán en qué producto será incorporado; los aceites pueden ser empleados como materia prima en diferentes tipos de industria en general, cosmética, alimenticia, bebidas, textil, etc.; mientras que en otras industrias, como la farmacéutica, se pueden usar productos aislados de las mismas esencias (Díaz, 2007).

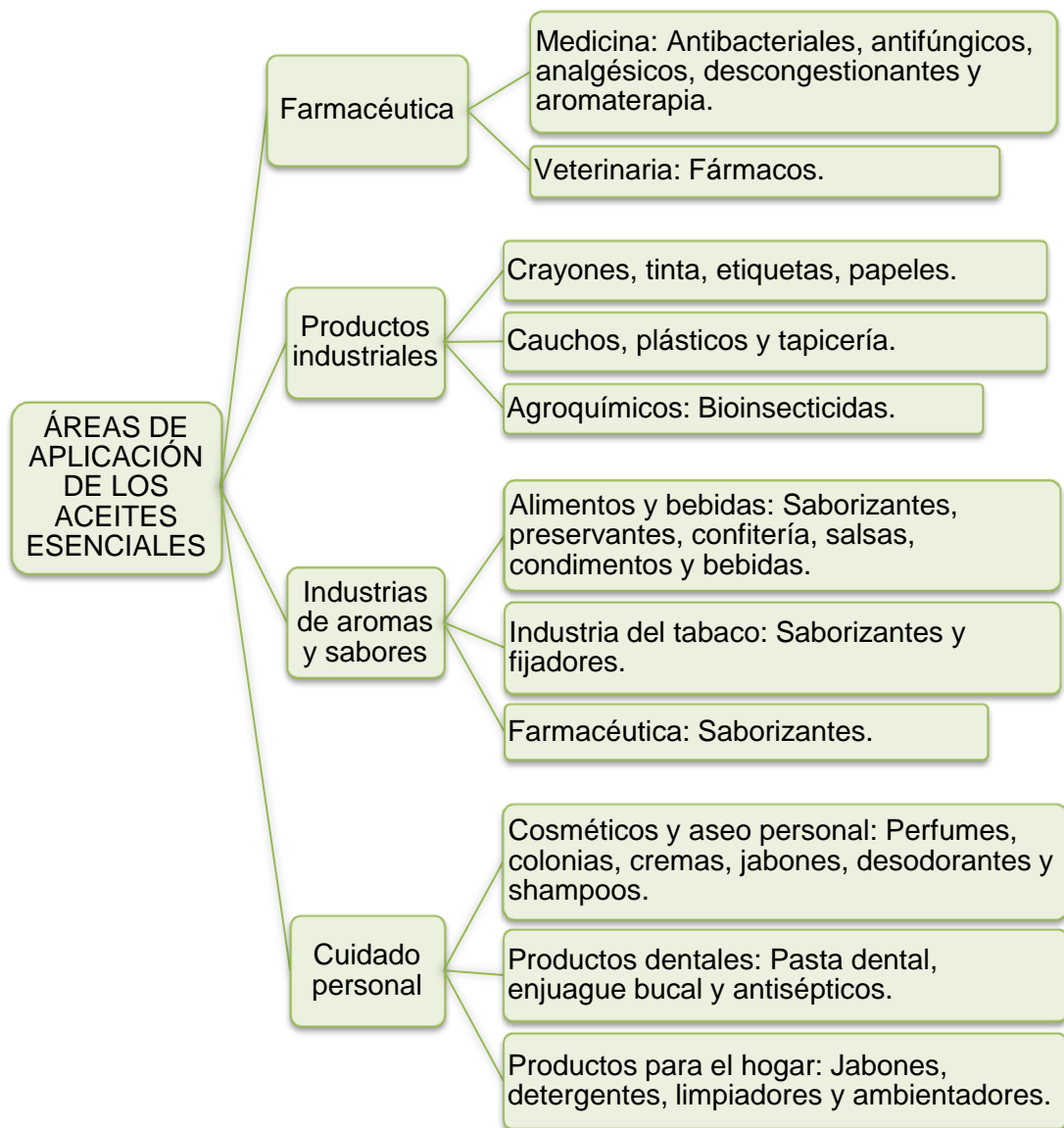


Figura Nº 01.- Principales áreas de aplicación de los aceites esenciales.

Fuente: Vargas y Bottia (2008), Díaz (2007).

2.1.1.6. Mercado mundial de los aceites esenciales

Estados Unidos es el principal mercado de las exportaciones de aceites esenciales de la región sudamericana, el registro de compras en el año 2007 fue por US\$ 463,69 millones, de los cuales el 24% es decir US\$ 111,29 millones provenían de Sudamérica (figura N° 02).

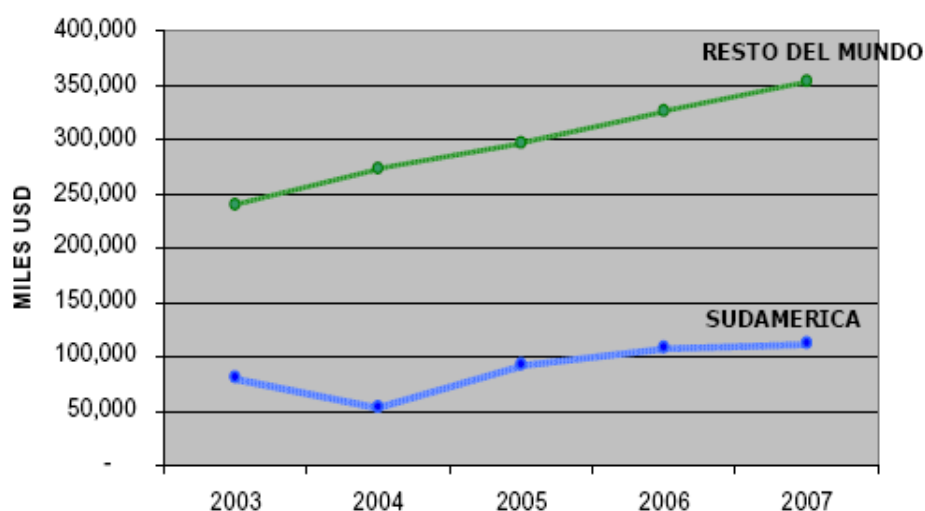


Figura N° 02.- Importaciones de USA, en aceites esenciales por miles de dólares. Periodo 2003 – 2007.

Fuente: Veritrade L.T.D. (2007).

Los principales orígenes de las importaciones de Estados Unidos son India, Argentina, Francia, Brasil, México y China. Finalmente los aceites esenciales con más demanda en los Estados Unidos son: naranja, rosas y limón, en ese orden, y representan más de 60% del volumen importado.

Como lo muestra el cuadro N° 02, en el año 2007 Perú exportó una cantidad total de 483 451,98 kg netos de aceites esenciales por el valor de 12 218 392,46 US\$ FOB total, teniendo como principales destinos a los Estados Unidos, al Reino Unido y a Los Países Bajos.

También se puede apreciar en el cuadro N° 02, que el segundo lugar en exportaciones peruanas de esencias, lo ocupa el aceite esencial de molle, con un valor de US\$ 25 164,86 FOB total registrado por cada 168,60 kg netos de aceite esencial, para el año 2007 (Veritrade L.T.D., 2007).

Cuadro Nº 02.- Ranking de aceites esenciales exportados por el Perú - año 2007.

Descripción del producto	US\$ FOB Total	Kilogramos netos
Aceite esencial destilado de limón	12 146 623,70	480 806,92
Aceite esencial de molle	25 164,86	168,60
Aceite esencial de arrayan	11 545,33	44,03
Esencia de menta natural para golosinas	8 133,98	181,40
Aceite esencial de arrayan – cedroncillo	7 693,38	11,96
Aceites esenciales muña, hinojo, molle,...	6 040,00	13,00
Esencia limón california 00519	3 500,00	100,00
Esencia de vainilla	3 314,92	1 520,11
Sentiva Suav Bar (barra facial)	2 319,49	264,98
Aceite de jojoba	1 811,70	79,10
Aceites esenciales de naranja	1 522,50	150,00
Esencias de aceites aromáticos	365,20	85,64
Aceite/resina de copaiba	330,00	20,00
Aceites aromáticos para masajes	27,40	6,24
Total general (Kg.)	12 218 392,46	483 451,98

Fuente: Veritrade L.T.D. (2007).

2.1.2. *Schinus molle* L.

2.1.2.1. Antecedentes históricos del molle

El árbol de molle es originario de Sudamérica. “Molle” deriva de la voz quechua “mulli”. Este árbol fue citado por muchos naturalistas y viajeros de la época de la conquista de América. Existen referencias de árboles de “molle” en las zonas altas de Los Andes y también hay registros de “molle” o “aguaribay” en la zona de Las Misiones (Noroeste de Argentina, Sur de Brasil y Norte de Uruguay) (Viturro *et al.*, 2010).

2.1.2.1.1. Molle en las zonas altas de Los Andes

Según los escritos de Garcilaso de la Vega (VIII), el molle era el árbol sagrado de los incas quienes lo hacían plantar y regar en el contorno de sus palacios, templos y edificios públicos. También gran parte de los caminos reales que construyeron eran sombreados por éstos árboles aún en lugares desiertos donde el agua para regarlos había que traerla desde los cerros por largas acequias o canales.

De la resina que exuda el tronco hacían una goma líquida que servía para embalsamar, las momias debían su estado de conservación al empleo de esta goma antiséptica. En Perú y Bolivia se usaba en aquellos tiempos los frutos para preparar “chicha”.

Tenía cierta importancia para el aborigen precolombino como árbol medicinal. Los cronistas se referían al molle como el “árbol de mucha virtud” y “las yerbas más conocidas de que los indios usan para sus enfermedades son resina y hojas del árbol que llaman molle, y el fruto de él” (Viturro *et al.*, 2010). Girault (1984) da como nombres comunes para los kallawayas: “mulli” y “árbol de la vida”; los mismos que daban usos medicinales a distintas partes de la planta, las hojas en cataplasmas para el reumatismo y ciática, el jugo de las hojas con leche para curar conjuntivitis, los frutos en infusión para la retención de orina, la resina como cicatrizante y para caries dentarias (Viturro *et al.*, 2010).

2.1.2.1.2. Molle en Las Misiones

El padre jesuita Segismundo Asperger dice que los habitantes de los alrededores de la provincia de Las Misiones (Argentina) hervían las hojas del molle en agua o vino hasta que suelten la resina, y seguían calentando hasta que quede un jarabe, llamándolo “bálsamo de aguaribai” o “de las misiones”. Y declara que cada pueblo de Las Misiones enviaba a la botica real de Madrid un kilogramo por año de este bálsamo, sin saber el por qué. Sin embargo, explica muy bien el uso dado en América -entre otras cosas- en heridas, y para el dolor de cabeza untando en las sienas (Viturro *et al.*, 2010).

2.1.2.2. Taxonomía¹

Reino: Plantae

Phyllum: Spermatophyta

Subphyllum: Magnoliophytina

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidas

Orden: Sapindales

Familia: Anacardiaceae

Género: Schinus

Especie: *Schinus molle* L.

2.1.2.3. Nombres comunes

Existen más de 70 000 nombres habitualmente usados para nominar a esta especie (Chirino *et al.*, 2001). En América, algunos son: “molle”, “mulli”, “huiñan”, “cullash”, “aguaribay”, “falsa pimienta” (Perú); “aroeira”, “bálsamo sanalotodo” (Colombia); “bálsamo”, “terebinto”, “aguaribay” (Argentina); “anacahuita”, “aroeira vermelha” (Brasil); “árbol del Perú”,

¹ Sistema Nacional de Información Forestal de México (2010).
http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/3-anaca4m.pdf

“pirwi”, “pirú”, (México); “pippertree” (Estados Unidos). De todos ellos los más difundidos son "aguaribay" y "molle" (Palacios, 1993; Chirino *et al.*, 2001; Viturro, *et al.*, 2010).

2.1.2.4. Botánica

El molle es un árbol perennifolio, de 4 m a 8 m de altura, pero puede alcanzar hasta los 15 m; con un diámetro a la altura del pecho de 25 cm a 35 cm. De copa redondeada y abierta, proporcionando sombra moderada. La raíz posee un sistema radical, tipo extendido y superficial. El tronco es nudoso, de corteza rugosa y fisurada de color marrón o pardo oscuro, madera dura y compacta. Ramas flexibles, colgantes (tipo cortina) y abiertas. Las ramas y el tronco exudan una resina blanquecina si sufren una herida.

Hojas compuestas, alternas, de 15 a 30 cm de largo, colgantes (con savia lechosa); imparipinnadas, de 15 a 41 folíolos, generalmente apareados, alternos u opuestos, de 0,85 a 6 cm de largo, de 4 a 8 mm de ancho, estrechamente lanceolados, de color verde ceniciento a verde amarillento, y verde claro en la cara posterior (ver Anexo N° 01).

Flores con panículas axilares en las hojas terminales, el ramillete de flores mide de 10 a 15 cm de largo, son muy pequeñas y numerosas, pentámeras, uni o bisexuales, de color amarillento, cada una mide 6 mm

transversalmente (ver Anexo N° 01). Regularmente, las flores brotan en primavera y verano, luego los frutos aparecen en otoño y perduran durante el invierno.

Los frutos son drupas dispuestas en racimos colgantes (ver Anexo N° 01), cada fruto tiene de 5 a 9 mm de diámetro, son de color rosado o rojizo; el exocarpo es coriáceo y lustroso, seco en la madurez; el mesocarpo es delgado y resinoso, y puede contener una o dos semillas, éstas son de tipo ortodoxa y poseen un embrión bien diferenciado que llena toda la cavidad, su testa y endospermo son delgados.

La dispersión de las semillas es de tipo zoócora, donde las aves son las principales dispersoras, éstas consumen los frutos y expulsan las semillas sin que pierdan su poder germinativo; el tiempo promedio en germinar es de 20 días. El número de semillas por kilogramo puede ser de 14 000 a 44 000, y tienen un porcentaje de germinación de 40 a 80%. Es de sexualidad monoica.

Para este género, se han identificado tres especies, *S. molle*, *S. aroeira* y *S. terebinthifolius*, existiendo cierta confusión entre ellas a la hora de cultivarlas, ya que las tres tienen características y propiedades similares (Palacios, 1993; Zeng Yueqin, 2006; Sistema Nacional de Información Forestal de México, 2010).

2.1.2.5. Origen y extensión

El molle es originario de la región andina de Sudamérica, principalmente Perú, aunque se extiende a Ecuador, Chile y Bolivia. Y ampliamente distribuido en México, Centroamérica, el sur de California y oeste de Texas (Estados Unidos); además, se ha aclimatado bien en países tropicales y subtropicales de los cinco continentes (Zeng Yueqin, 2006; Sistema Nacional de Información Forestal de México, 2010).

2.1.2.6. Dispersión en el Perú

En el Perú se le encuentra hasta los 3 300 msnm en los andes del sur, a los 3 000 msnm en los andes de Centro, e incluso hasta los 3 350 msnm en el valle de Chiquián. Habita en quebradas cálidas y abrigadas de los valles interandinos y vertientes occidentales de los andes (Sistema Nacional de Información Forestal de México, 2010; Palacios, 1993).

En la región de Tacna, se puede encontrar grupos de ejemplares muy bien desarrollados, principalmente en la zona sierra de Tacna (Tarata y Candarave) y en las tierras templadas de Los Palos y Calana, lugares donde los árboles molle crecen de manera silvestre. Se puede encontrar también árboles centenarios en la misma ciudad de Tacna, en parques y avenidas. Cabe resaltar que la presencia de esta especie en el Perú es

principalmente por su uso ornamental y etnomedicinal, no existen niveles de producción y mercado estables de la planta.

2.1.2.7. Hábitat

Prospera en forma natural a orilla de caminos, en zonas con vegetación secundaria, en pedregales y lomeríos, terrenos agrícolas y pendientes (20 a 40%). Se desarrolla muy bien en clima entre subtropical, cálido-templado, semiárido, templado seco y templado húmedo. No tiene exigencias en cuanto a suelo, pero prefiere suelos arenosos, tolera texturas pesadas, suelos muy compactados y pedregosos. Es capaz de desarrollarse en zonas ecológicas del tipo árida y semiárida (Sistema Nacional de Información Forestal de México, 2010).

2.1.2.8. Aspectos fisiológicos

Es una especie de fácil adaptación, alta sobrevivencia y con buena capacidad competitiva ya que captura nutrientes, agua y luz eficientemente. Presenta crecimiento rápido cuando es joven, alcanzando 3 m de altura en un año; y puede vivir alrededor de cien años. Su descomposición foliar es lenta y moderadamente lenta en madera y frutos, es buen productor de abono verde (mantillo). Presenta alelopatía, inhibiendo el crecimiento y/o desarrollo de plantas vecinas (Sistema Nacional de Información Forestal de México, 2010).

2.1.2.9. Cultivo

El árbol tolera bien la poda, se aconseja practicar poda de formación en árboles jóvenes y poda sanitaria en adultos. Conviene cortar la corteza en primavera para promover su crecimiento. El riego es importante en las primeras etapas. No requiere fertilización.

La siembra debe hacerse en sustratos permeables para que las sustancias inhibitorias de la germinación se lixivien. Las semillas remojadas por varios días, se siembran en almácigos (ver Anexo N° 02) y luego se trasplantan con raíz a envases. En tierra, se planta a una distancia mínima de 8 m entre cada árbol, en lugares con suficiente espacio y luz, lejos de construcciones e instalaciones subterráneas (Sistema Nacional de Información Forestal de México, 2010).

2.1.2.10. Propagación

Básicamente se realiza la propagación de dos formas, la reproducción de tipo asexual, que se puede realizar mediante brotes o retoños (tocón), por injerto, en rizoma, y por estacas o esquejes; y la segunda forma es la reproducción de tipo sexual, la cual se lleva a cabo mediante la semilla (plántulas), por acodo aéreo y por regeneración natural (Sistema Nacional de Información Forestal de México, 2010).

2.1.2.11. Tolerancias

Es una planta muy resistente a la sequía y al daño por termitas. Soporta también la inundación periódica o permanente, resiste el rocío salino, la contaminación ambiental y la exposición constante al viento. Aunque es una especie demandante de luz, tolera la semi-sombra pero no el sombreado total. Tolerancia los suelos compactados y pedregosos (texturas pesadas), los suelos pobres, los suelos ácidos, los suelos yesosos, también los suelos con metales pesados, los suelos calizos y los alcalinos (Sistema Nacional de Información Forestal de México, 2010).

2.1.2.12. Susceptibilidad

La planta es sensible a las heladas prolongadas, al daño por insectos, a la escama de la cochinilla cerosa (*Ceroplaste ssp.*), y a las orugas de la palomilla (*Rothschildia orizabae*) -que ocasionan defoliaciones, aunque su daño no es importante (Sistema Nacional de Información Forestal de México, 2010; Carrere, 2009).

2.1.2.13. Utilidad

2.1.2.13.1. Reforestación y medio ambiente

Al desarrollarse la planta crea un efecto restaurador en el medio, promueve la conservación de suelo y el control de la erosión. Se trata de

uno de los pocos árboles que prosperan en pedregales y lomeríos. Mejora la fertilidad del suelo, ya que las hojas, ramas y frutos caen al suelo abundantemente y así constituyen una buena materia orgánica.

Además, juega un rol importante en la recuperación de terrenos degradados, como cerca viva en los agro-hábitats, y como barrera rompe vientos. Se acostumbra su uso ornamental, se planta a orilla de caminos, en calles, parques y jardines; por ejemplo, es una de las plantas de sombra y ornato más comunes en el sur de Europa, en el sur de California y en el Valle de México. Además, proporciona sombra y refugio para la vida silvestre y para el ganado (Sistema Nacional de Información Forestal de México, 2010; Carrere, 2009).

2.1.2.13.2. Uso etnomedicinal

Los indígenas usaban su resina, corteza, hojas y fruto en infusión, cocimiento, polvos y emplastos; como antiinflamatorio, antirreumático, depurativo, astringente, catártico, hemostático, y vermífugo (Palacios, 1993). Yelasco - Negueruela *et al.* (1995), registraron en Cuzco, diversos empleos tradicionales de la planta, principalmente de sus hojas y frutos, para uso externo e interno (ver cuadro N° 03).

En Toluca (México), se usan los frutos pulverizados para el tratamiento de la gonorrea, allí también es usada una emulsión de la

goma para el tratamiento de problemas oculares y bronquitis, y como purgante. También en México, los frutos, gomas exudadas y hojas, son usados con propósitos medicinales. Y en Argentina, se cita que las hojas son empleadas en medicina popular como estimulante del flujo sanguíneo, y la gomo-resina del árbol contra la bronquitis (Viturro *et al.*, 2010).

Cuadro N° 03.- Usos de molle en medicina tradicional del Cuzco (Perú).

Parte de la planta	Forma de preparar	Uso	Descripción terapéutica
Planta entera	Decocción	Ext*	Antipirético (hervido en baños)
Hojas	Decocción	Ext*	Aplicado en fracturas
Ramas jóvenes	Emplastos	Ext*	Antiséptico veterinario
Hojas	Decocción	Int**	Antiséptico de la cavidad oral
Hojas	Decocción	Int**	Hipotensiva para gonorrea
Hojas	Infusión	Int**	Antirreumático, condimento
Hojas, frutos	Decocción	Int**	----
Frutos	Decocción	----	----

Donde: *Ext: Externo; **Int: Interno.

Fuente: Viturro *et al.* (2010).

En el Anexo N° 03 se hace un registro de información etnomedicinal, recopilado de diversos autores por Viturro *et al.* (2010), que hace referencia a distintas partes de la planta del molle empleadas para fines medicinales. La mayoría de las citas, corresponden a un uso oral de los

diferentes extractos acuosos, cubriendo un amplio espectro de descripciones terapéuticas.

En la actualidad, todas las partes del árbol son utilizadas en medicina popular, incluyendo hojas, cortezas, frutos, semillas y oleorresina. En América, los frutos macerados en almíbar o vinagre se emplean también en la preparación de diferentes bebidas para el tratamiento de procesos inflamatorios, como afecciones reumáticas y patologías inflamatorias de la piel (Zeng Yueqin, 2006).

2.1.2.13.3. Otros usos populares²

a) Base para chicle:

Su resina blanquecina (exudado) es usada en América del Sur como goma de mascar, se dice que fortalece las encías y sana las úlceras de la boca.

b) Combustible:

La madera se usa como leña y carbón debido a que son buenos combustibles. Según Viturro *et al.* (2010), su madera arde bien, aunque al encender chispea bastante, después de encendido guarda fuego hasta convertirse en ceniza.

² Sistema Nacional de Información Forestal de México (2010).
http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/3-anaca4m.pdf

c) Colorante:

El cocimiento de hojas, ramas, corteza y raíz se emplea como colorante para el teñido amarillo pálido de tejidos de lana.

d) Comestible:

En México se prepara una bebida refrescante con los frutos del molle, el “tolonze” que es un fermentado con pulque (bebida alcohólica), también se elabora el atole (bebida tradicional).

e) Condimento:

Los frutos secos se han empleado en algunos países como sustituto de la pimienta negra por su sabor semejante.

f) Cosmético e higiene personal:

De las hojas se extrae un aceite aromatizante que se usa en enjuagues bucales y como dentífrico. Las semillas también contienen aceites, de los cuales se obtiene un fijador que se emplea en la elaboración de perfumes, lociones, talcos y desodorantes.

g) Curtiente:

Se extraen pigmentos de la corteza para teñir pieles y lana.

h) Forrajero:

El fruto es un importante alimento para los pájaros.

i) Implementos de trabajo:

La madera se usa para fabricar mangos de herramientas, estacas, enseres rurales y fustes de sillas de montar.

j) Industrializable:

El exudado (resina) se podría utilizar en la fabricación de barnices. Y su ceniza -rica en potasa- se le usa como blanqueador de ropa; así mismo, en la purificación del azúcar.

k) Insecticida:

Algunos pobladores rurales de Etiopía adornan sus cabezas con ramas y hojas del molle para repeler las moscas caseras, incluso, las hojas son desplegadas en las mesas a la hora de comer y ocasionalmente en los mataderos y áreas de procesamiento de carne (Chirino *et al.*, 2001).

2.1.2.14. Composición fitoquímica del *Schinus molle* L.

2.1.2.14.1. Metabolitos secundarios no volátiles

Según Yelasco - Negueruela (1995), el análisis fitoquímico del molle revela que la planta contiene taninos, alcaloides, flavonoides, saponinas esteroidales, esteroides, terpenos, gomas, resinas y aceites esenciales (Chirino *et al.*, 2001). Sin embargo, en U.S.A. se reportó ausencia de

alcaloides en un estudio anterior realizado por Smolenski *et al.* (1974). En 1976, a partir de la fracción ácida de la oleorresina de los frutos, fueron aislados los triterpenoides: ácido isomasticadienonalico y también el ácido isomasticadienoico. En 1978 se obtuvo el 3-epi-isomasticadienolálico, en ese mismo año, se demostró la presencia de laccasa, una enzima polifenoloxidasas, que podría tener valor quimiotaxonómico, posteriormente en 1981 se purifica y caracteriza la enzima (Viturro *et al.*, 2010).

En el Anexo N° 04, se muestra un cuadro elaborado por Viturro *et al.* (2010) donde se recopila información sobre un gran número de metabolitos secundarios no volátiles determinados en extractos de distintas partes del molle.

2.1.3. ACEITE ESENCIAL DE *Schinus molle* L.

Si bien la composición química del molle es compleja y varía en función del órgano o parte de la planta estudiados, múltiples estudios reflejan que la variabilidad se puede atribuir en gran medida a factores intrínsecos de quimiotipo (estado de desarrollo fenológico de la especie, parte de la planta estudiada, etc.), y a factores de naturaleza extrínseca (condiciones climáticas, labores culturales, tratamiento de postcosecha, etc.) además de los métodos y condiciones de extracción usados (Zeng Yueqin, 2006; Vargas y Bottia, 2008).

Cuadro Nº 04.- Contenido porcentual de aceite esencial en *S. molle* L. (registrado por varios autores).

Lugar de estudio	Parte de la planta	Contenido de aceite esencial (%)
Kramer (1957)* Universidad de Nevada, EE.UU.	Hojas	Hasta 2%
Dikshit <i>et al.</i> (1986) Instituto Central de Plantas Medicinales y Aromáticas, India.	Hojas frescas	Hasta 0,8%
	Hojas secas	Hasta 2%
Zeng Yueqin (2006) Universidad de Valencia, España.	Frutos	De 3 a 5%
	Hojas	De 0,2 a 1%
Figmay S.R.L. Argentina.	Frutos secos	De 5 a 7%
Sistema Nacional de Información Forestal de México (2010).	Frutos	Hasta 5%
	Hojas	Hasta 2%
Viturro <i>et al.</i> (2010) Proyecto CYTED IV.20, Pontificia Universidad Católica Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.	Hojas secas	De 1 a 3,04%
	Frutos frescos	De 2,6 a 5,6%
	Frutos secos	De 5,3 a 5,6%

Fuente: Adaptado de Chirino (2001) (*), Dikshit *et al.* (1986), Zeng Yueqin (2006), Figmay S.R.L., Sistema Nacional de Información Forestal de México (2010), y Viturro *et al.* (2010).

2.1.3.1. Metabolitos secundarios volátiles reconocidos

Dikshit *et al.* (1986) reconoció la presencia de mirceno, α -felandreno, β -felandreno, *p*-cimeno, β -cariofileno y D-limoneno, como componentes mayoritarios del aceite esencial obtenido de las hojas del molle. Posteriormente, Zeng Yueqin (2006) encontró que el aceite esencial de los frutos, presentaba como componentes predominantes a los compuestos α - y β -felandreno, β -espatuleno, D-limoneno, mirceno, silvestreno, α - y β -pineno, perillaldehído, carvacrol, canfeno, *o*-etil-fenol, *p*-cimeno y *p*-cimol.

Algunos de los primeros trabajos identificaron al carvacrol como uno de los componentes volátiles principales del aceite esencial, aunque en trabajos modernos sólo se encontraron vestigios (Viturro *et al.*, 2010). Los datos son bastante dispersos y no es posible encasillar la composición volátil del aceite esencial de molle; no existe una composición única o general, pero si, en base a las referencias, se puede enunciar los constituyentes volátiles más comunes.

En el Anexo N° 05, se hace un resumen de los componentes encontrados por Viturro *et al.* (2010) en muestras de aceite esencial de molle de Costa Rica, Brasil, Ecuador, Perú, Bolivia y Argentina; en dicho resumen se puede notar que los compuestos α - felandreno, β -felandreno,

α -pineno, β -pineno, limoneno, *p*-cimeno y mirceno son los más comunes, estos mismos se describirán a continuación.

a) *α -felandreno:*

- Fórmula química: C₁₀H₁₆
- Nombre IUPAC: 2-methyl-5-(1-methylethyl)-1,3-cyclohexadiene

b) *β -felandreno:*

- Fórmula química: C₁₀H₁₆
- Nombre IUPAC: 1-isopropil-4-metil-2,4-ciclohexadieno

c) *α -pineno:*

- Fórmula química: C₁₀H₁₆
- Nombre IUPAC: 2, 6, 6-trimetilbicyclo [3.1.1] hept-2- en

d) *β -pineno:*

- Fórmula química: C₁₀H₁₆
- Nombre IUPAC: 6,6-dimetil-2-metilenebicyclo [3.1.1] heptano

e) *Limoneno:*

- Fórmula química: C₁₀H₁₆
- Nombre IUPAC: 4-isopropenil-1-metilciclohexeno

f) *p-cimeno*:

- Fórmula química: $C_{10}H_{14}$
- Nombre IUPAC: 6,6-dimetil-2-metilenebicyclo [3.1.1] heptano

g) *Mirceno*:

- Fórmula química: $C_{10}H_{16}$
- Nombre IUPAC: 7-metil-3-metileno-1,6-octadieno

Las estructuras moleculares de los elementos descritos anteriormente se pueden apreciar en la figura N° 03, que se muestra a continuación.

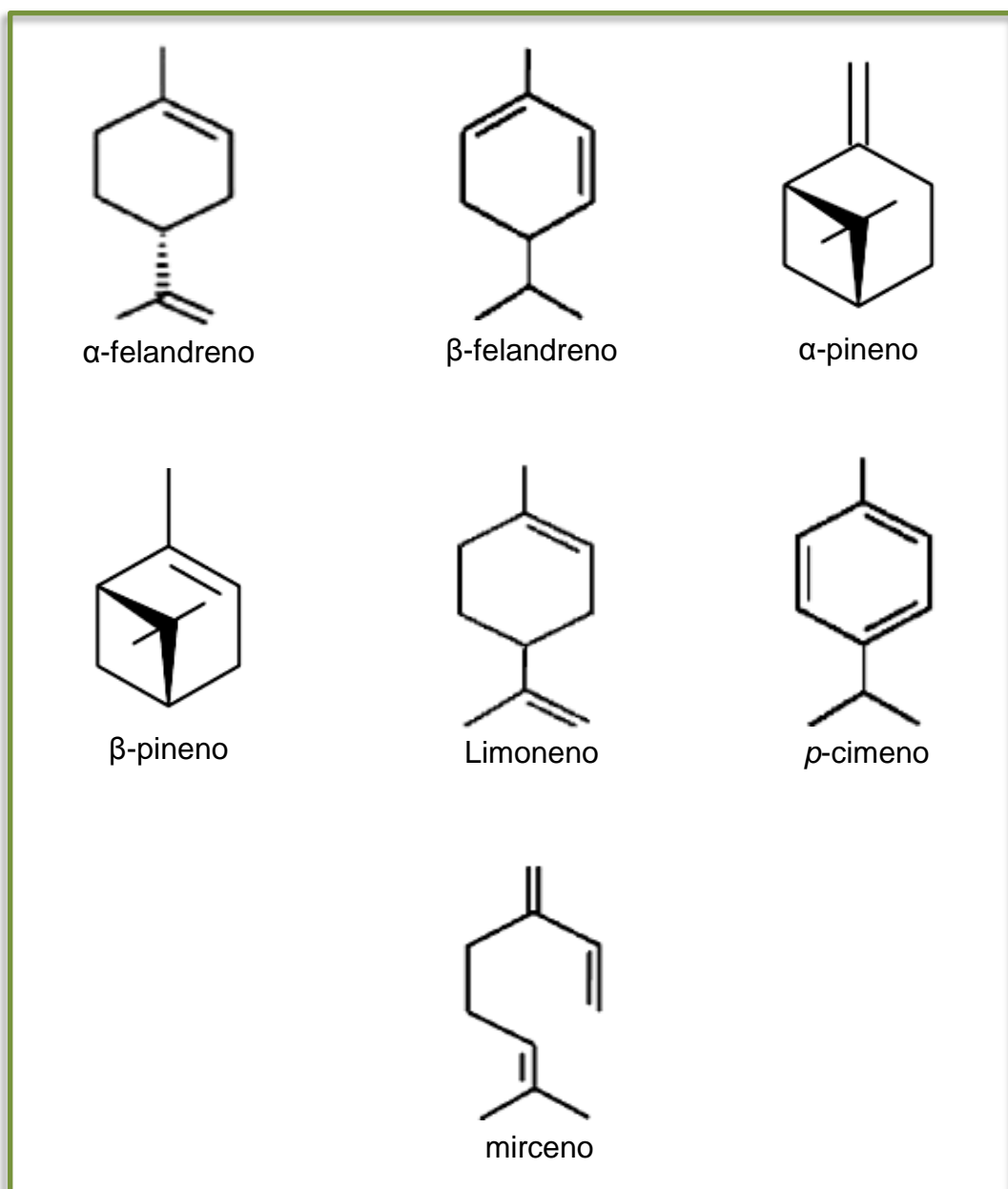


Figura N° 03.- Estructura molecular de los componentes volátiles más comunes del aceite esencial de molle.

Fuente: Nobre *et al.* (2000), Palá (2002), Quiminet (2009).

2.1.3.2. Actividad biológica

Diversos ensayos realizados han demostrado las propiedades antibacterianas y antifúngicas del aceite esencial de molle, y ratificaron con un amplio espectro algunas de las propiedades anti-infecciosas de los preparados de esta especie, que han sido empleados en países sudamericanos como Brasil y Perú (Zeng Yueqin, 2006).

Un estudio en 1986, demostró que el aceite esencial de molle, frente a otros aceites ensayados, fue el más efectivo contra los hongos patógenos en animales: *Microsporium grypseum*, *Trichosphyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum*, y mostró actividad moderada frente a los contaminantes *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus* y *Penicillium italicum*, comunes en condiciones de almacenamiento (Dikshit *et al.*, 1986). En otro estudio similar, las especies fúngicas *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium culmorum* y *Alternaria alternata*, exhibieron también una sensibilidad significativa ante este aceite esencial (Chirino *et al.*, 2001). Incluso en 1996, se patentó un medicamento cuya base es el aceite esencial de molle, este producto se utiliza para el tratamiento de infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* en humanos y animales. También, en 1997, se concedió una patente para un medicamento similar, de tipo antiséptico, de aplicación local en heridas abiertas (Zeng Yueqin, 2006).

Se registró una alta actividad cicatrizante del aceite esencial (en pomada y teniendo como base vaselina sólida) en heridas infectadas del ganado vacuno. Así mismo, los experimentos llevados a cabo en ratones, corroboraron este poder cicatrizante frente a la pododermatitis y mastitis subclínicas (Alba *et al.*, 2009).

Datos más recientes, informan su actividad insecticida; en Bahía Blanca (Argentina) el aceite esencial de los frutos produjo un efecto antialimentario fuerte (62%) y el de hojas leve (40,6%) sobre el gorgojo del arroz (*Sitophilus oryzae*. L.). En Santa Fe (Argentina) el aceite esencial ejerció un mayor efecto mortal sobre el ácaro *Varroa destructor* (que ataca los colmenares de abejas produciendo varroasis) en comparación al efecto producido por dos productos sintéticos (Viturro *et al.*, 2010; Benzi *et al.*, 2008). En otro estudio, el aceite fue microencapsulado y suministrado *in vitro* a abejas melíferas y ácaros del *Varroa destructor*, la mortalidad de los ácaros alcanzó valores cercanos al 90% cuando se utilizó la dosis de 1 g (Ruffinengo *et al.*, 2007).

También en Santa Fe, se estudió el efecto sobre la enfermedad “mosca de los cuernos”, producida por el *Haematobia irritans* (que se aloja en el testuz del ganado vacuno y puede producirle la muerte), en los ensayos se advierte claramente que los animales infectados, después de aplicación del aceite esencial, no presentan más moscas (Viturro *et al.*,

2010). Así mismo, los aceites esenciales de *Schinus molle* y *Tagetes terniflora*, demostraron actividad fumigante sobre adultos de *Pediculus humanus capitis*, aunque ambos aceites demostraron una gran eficacia, fue el aceite esencial de molle el que demostró mayor actividad (Gutiérrez *et al.*, 2009). En el Anexo N° 06, Viturro *et al.* (2010) recopila algunas de las actividades biológicas más resaltantes del aceite esencial.

2.1.3.3. Aplicaciones comerciales

a) Medicina natural:

La empresa Inka Natural S.A. (dedicada a la elaboración y comercio de productos terapéuticos de origen natural), tiene entre sus productos al aceite esencial de molle en presentaciones de 10 ml y 500 ml, recomendándolo como: “*efectivo para todas las enfermedades de las vías respiratorias, sirven además como poderosos antibióticos y anti-inflamatorios cutáneos y musculares...*” (Inka Natural S.A., 2010). Estos productos se venden sin indicación médica previa.

b) Pomada corporal:

La crema corporal humectante “*Sumaq*” elaborada por Rossana Alberca y Vanessa Jiménez (Universidad del Pacífico de Perú), está compuesta por un 80% de ingredientes naturales entre ellos el aceite de molle (primordialmente) y un 20% de preservantes artificiales aprobados

por el FDA; y ya se aplicó para el tratamiento del reumatismo (El Comercio S.A, 2007).

c) Gel “Capsaidol” contra el dolor:

“Capsaidol” es en sí, una pomada de uso tópico cuya fórmula fue desarrollada en el Centro de Tecnología Agroindustrial de la Universidad Mayor de San Simón y es fabricada desde hace siete años por INQUIBOL (Industria Química Boliviana). Este producto contiene principios activos de plantas como el *capssicum* (locoto), eucalipto y aceite esencial de molle (“Los Tiempos”, 2007).

Si bien es cierto, el aceite esencial de molle no presenta mayores aplicaciones en la industria de alimentos sino como producto terapéutico de uso oral siendo expendido como tal en empresas dedicadas al rubro de la medicina alternativa; su comprobada bioactividad propone diversas aplicaciones en la industria agroalimentaria, principalmente como producto de control fúngico, insecticida orgánico y en el tratamiento dermatológico del ganado vacuno.

2.1.3.4. Propiedades físicas

Las propiedades comúnmente estudiadas son rendimiento, densidad relativa e índice de refracción, ya que son indicadores que permiten identificar al aceite y fomentar la aplicación de esta especie aromática,

además de contribuir al proceso de normalización, el ajuste de la producción y la valorización del aceite (Viturro *et al.*, 2010). En el estudio que presentaron Viturro *et al.* (2010), se evaluaron las propiedades físicas más importantes de los aceites esenciales de molle obtenidos de ejemplares de Perú, Argentina, Bolivia, Brasil, Ecuador y Costa Rica, los resultados se observan en el cuadro N° 05.

Cuadro N° 05.- Propiedades físicas del aceite esencial de *S. molle* L., registradas en varios países.

País	Parte de la planta	Rendimiento (%)	Índice de refracción 20°C	Densidad (g/cm ³) 20°C
Argentina	Frutos	2,6%	1,4750 a 1,4850	0,8500 a 0,9000
Bolivia	Frutos maduros	5,6%	1,4780	0,8449
	Frutos verdes	1,1%	1,4780	0,8548
	Hojas y ramas	0,5%	1,4900	0,8531
Brasil	Hojas secas	1,0 a 2,0%	-----	-----
Costa Rica	Hojas secas	0,8%	-----	-----
Ecuador	Frutos maduros secos	3,3 a 5,6%	1,4741 a 1,4788	0,8292 a 0,8390
Perú	Hojas	1,8%	1,4951 a 1,5032	-----
	Frutos	5,15%	1,4951 a 1,4980	-----

Fuente: Viturro *et al.*, 2010

2.1.4. MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES

Son muy variados y diferentes los métodos utilizados para la obtención de aceites esenciales y extractos aromáticos; a continuación se describen por orden de complejidad sólo los métodos de mayor difusión en el mundo, los más usados para obtener aceites esenciales a partir de plantas aromáticas.

2.1.4.1. Extracción por extrusión

La extrusión es un método simple por medio del cual es posible obtener un aceite esencial de características muy cercanas al producto natural, porque no se realizan tratamientos térmicos. Sin embargo, esta técnica sólo es aplicable a materiales vegetales que contienen la esencia en grandes cantidades en las células superficiales, por lo general el pericarpio de los frutos cítricos.

Este proceso puede ser efectuado manualmente (prensa) o por medios mecánicos "*cold pressing*" e involucra la perforación de las glándulas aceiteras en el pericarpio del fruto, la extrusión mecánica y el lavado con agua. El producto como emulsión agua-aceite es impuro debido a la presencia de sustancias proteicas y mucilaginosas, lo que implica una posterior centrifugación (Marín y Ordoñez, 2008; Vargas y Bottia, 2008).

2.1.4.2. Hidrodestilación

Es común en el aislamiento de esencias florales. En la hidrodestilación el material vegetal se sumerge en el agua, la cual se lleva a ebullición para que penetre los tejidos de la planta y disuelva una parte del aceite esencial contenido en las estructuras, la disolución acuosa se difunde a través de las membranas de las células, y el aceite se vaporiza inmediatamente desde la superficie. El proceso continúa hasta remover todo el aceite contenido en las glándulas de la planta, a fin de que los vapores puedan ser condensados y colectados. Aquí un factor importante es el calentamiento, si el alambique se calienta con fuego directo, el agua contenida en él debe ser suficiente para llevar a cabo toda la destilación; es necesario evitar el sobrecalentamiento y la carbonización del material vegetal, entonces se requiere de tiempos de calentamiento largos y adición de agua en grandes cantidades, lo cual incrementa el costo y el tiempo de operación (Marín y Ordoñez, 2008; Vargas y Bottia, 2008).

2.1.4.3. Destilación por arrastre con vapor

Es el método más usado a nivel industrial, permite obtener aceite esencial con buenos rendimientos, y además se pueden procesar grandes cantidades de material vegetal. Aquí, la materia prima vegetal es cargada de manera que forme un lecho fijo compactado; su estado puede ser

molido, cortado, entero o la combinación de éstos. El vapor de agua es inyectado mediante un distribuidor interno, próximo a su base y con la presión suficiente para vencer la resistencia hidráulica del lecho (Vargas y Bottia, 2008).

La generación del vapor puede ser local (hervidor), remota (caldera) o interna (base del recipiente). Conforme el vapor entra en contacto con el lecho, la materia prima se calienta y va liberando el aceite esencial, el cual debido a su alta volatilidad se evapora y al ser soluble en el vapor circundante es “arrastrado” corriente arriba hacia el tope del destilador. La mezcla, vapor saturado y aceite esencial, fluye hacia un condensador mediante una prolongación curvada del conducto de salida del destilador. En el condensador, la mezcla es enfriada hasta la temperatura ambiental, a su salida, se obtiene una emulsión líquida inestable la cual es separada en un decantador dinámico o florentino, éste equipo está lleno de agua fría al inicio de la operación y el aceite esencial se va acumulando debido a su casi inmiscibilidad en el agua y a la diferencia de densidad con la misma (Cerpa, 2007).

2.1.4.4. Hidrodestilación asistida por radiación de microondas

La técnica de Hidrodestilación asistida por radiación de Microondas (MWHD) fue patentada por J. Paré *et al.*; en este método, el material

vegetal se sumerge al agua (aproximadamente una tercera parte del material) en un equipo de destilación tipo “Clevenger” y se somete a la acción de la radiación de microondas (Vargas y Bottia, 2008; Díaz, 2007). En este método los aceites esenciales se encuentran libres de los productos de combustión y de otros contaminantes, lo que favorece especialmente a la obtención de las esencias de interés en la perfumería (Vargas y Bottia, 2008).

2.1.5. EQUIPOS DE EXTRACCIÓN

No se han realizado modificaciones severas al proceso original y básico de la hidrodestilación, las mayores modificaciones en los diseños han sido de carácter mecánico, buscando un mayor contacto entre el vapor de agua y el material vegetal, y que la materia prima sea calentada lo más rápidamente posible; teniendo esto en consideración, se describirán a continuación los tipos de equipos (por escala) usados en extracción de esencias.

2.1.5.1. A nivel de laboratorio

El más conocido es el equipo “Clevenger”, usado en muchos laboratorios y considerado en varios estándares internacionales como el más adecuado para la determinación del contenido total del aceite esencial de una planta aromática.

Está compuesto (ver figura N° 04) de un balón, donde se deposita la materia prima molida y una cantidad conocida de agua pura, y se aporta calor constantemente, de modo que el aceite esencial y el agua presente se evaporen continuamente. Un condensador va acoplado al balón y una conexión en forma de D, permite acumular y separar el aceite esencial de la mezcla condensada. El agua floral condensada regresa al balón por el rebose de la conexión (Cerpa, 2007).



Figura N° 04.- Equipo *Clevenger*.
Fuente: Cerpa (2007).

2.1.5.2. A nivel intermedio o banco

Existen numerosos y variados modelos de este tipo, la mayoría de ellos poseen capacidades entre 5 a 50 litros.

Son contruidos en vidrio Pyrex (figura N° 05), acero inoxidable (figura N° 06) o cobre (figura N° 07).

Dichos equipos están dotados de un hidroddestilador-generador, es decir el vapor de agua se genera en el mismo recipiente donde se almacena el material vegetal, separados por medio de una rejilla o cesta. La tapa suele ser del tipo “cuello de cisne” o plana.

Los condensadores son de doble tubo o de serpentín sumergido en un tanque o con alimentación constante, a contracorriente, de agua fría. El aceite esencial es obtenido en un florentino, a la salida del condensador (Cerpa, 2007).



Figura N° 05.- Equipo de vidrio, 6 L.
Fuente: Cerpa (2007).



Figura N° 06.- Equipo de cobre, 10 L.
Fuente: Cerpa (2007).

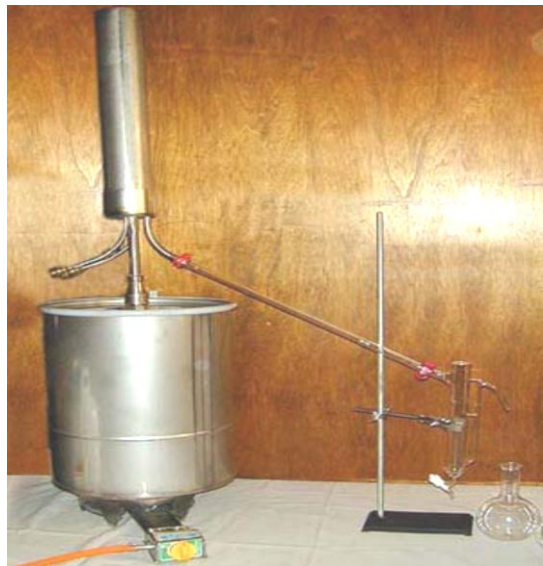


Figura N° 07.- Equipo de acero, 25 L.
Fuente: Cerpa (2007).

2.1.5.3. A nivel piloto

Son equipos que poseen una capacidad de 50 a 500 litros, contruidos en acero comercial, inoxidable o cobre. Pueden ser de dos tipos: con generador externo o acoplado al hidroddestilador (Fig. N° 08).



Figura N° 08.- Equipos a nivel piloto de acero inoxidable: con generador externo de 150 L. (izquierda), modelo *SIT integral* con generador acoplado al hidroddestilador de 500 L. (derecha).

Fuente: Cerpa (2007).

El vapor de agua es inyectado por los fondos del equipo. La materia prima suele estar compactada y almacenada en una cesta para su mejor carga y descarga. Los condensadores pueden tener coraza y varios tubos internos o un doble serpentín sumergido en el tanque de agua. Los florentinos son decantadores en acero inoxidable, con cuerpo cónico o cilíndrico y de fondo cónico. El aceite esencial es recogido del florentino y

almacenado en otro decantador. Se realiza esta segunda separación dinámica para que la emulsión aceite-agua se rompa suele ser mayor a la medida en la escala intermedia (Cerpa, 2007).

2.1.5.4. A nivel industrial

Poseen una capacidad mayor a 500 litros. Están contruidos en acero comercial; aunque si se usan diferentes materias primas, son contruidos en acero inoxidable para realizar una fácil limpieza y evitar la contaminación del producto con los aceites remanentes. Pueden ser de dos tipos: móviles o estáticos. Los remolques-alambiques pertenecen al primer tipo (figura N° 09) y son los más usados en EE.UU. y Europa (Cerpa, 2007).



Figura N° 09.- Remolque-alambique de acero comercial de 1600 L.

Fuente: Cerpa (2007).

Los remolques son recipientes donde se acumula la planta fresca recién cosechada, en su interior poseen un conjunto de tubos paralelos por donde se inyecta el vapor saturado, con el cual se calienta la carga y arrastra el aceite contenido. El remolque es cerrado con una tapa conectada al condensador que puede ser vertical, de tubos y coraza o de serpentín, y esta sumergido en un tanque de agua cuya salida está dirigida hacia un florentino industrial de tipo cilíndrico, con ramales laterales para la entrada de la mezcla aceite-agua condensada y para la salida del agua floral. El aceite esencial acumulado en los florentinos es removido periódicamente a los cilindros de almacenamiento. En cambio, los hidrodestiladores verticales (figura N° 10) son de tipo estático y suelen encontrarse en Asia, África y Latinoamérica (Cerpa, 2007).



Figura N° 10.- Equipos verticales de 5000 L.

Fuente: Cerpa (2007).

2.1.6. MÉTODOS DE ANÁLISIS Y CONTROL DE CALIDAD DE LOS ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales son mezclas fragantes cuya calidad y precio en el mercado están determinados principalmente por su composición química, por el contenido de las sustancias de interés, y por las propiedades fisicoquímicas y organolépticas que posee. De esta manera, el control de calidad de un aceite esencial tiene como objetivo garantizar que la esencia conserve determinadas características analíticas.

Las determinaciones analíticas para establecer la identidad y pureza de los materiales fragantes involucran el empleo de métodos fisicoquímicos, que son de tiempo de análisis corto e incluyen la determinación de propiedades macroscópicas (densidad, índice de refracción, solubilidad en etanol, rotación óptica, entre otras); y de métodos analíticos instrumentales, que son ampliamente utilizados para determinar la composición química de diversos materiales fragantes y que comprenden técnicas de separación como cromatografía de gases (GC), cromatografía líquida de alta presión (HPLC), electroforesis capilar (EC), espectroscopías de infrarrojo (IR), de resonancia magnética nuclear, espectrometría de masas (MS) y técnicas acopladas como cromatografía de gases con espectro de masas (GC-MS), cromatografía de gases con espectroscopia infrarroja de transformada de fourier (GC-FTIR) y

cromatografía líquida de alta presión con espectro de masas (HPLC-MS(n)) (Vargas y Bottia, 2008). Siendo los métodos comúnmente empleados GC, MS y el método acoplado de GC-MS (Gutiérrez y Droguet, 2002).

2.1.6.1. Cromatografía en fase gaseosa

El principio de la GC está basado en la volatilización de la muestra en el puerto del inyector y la separación de los componentes en una columna que soporta la fase estacionaria, mientras que los componentes de la muestra son arrastrados por la fase móvil; a la salida de la columna cada componente es registrado por un detector bajo la forma de picos, que deben ser simétricos y sin superposición. La separación de componentes se lleva a cabo en virtud de la diferencia de sus coeficientes de distribución entre dos fases, los cuales dependen de su estructura, de la naturaleza de las fases (móvil o estacionaria) y de la temperatura de la columna cromatográfica. Los resultados son cuantitativos y se obtienen en un espacio de tiempo relativamente corto. Las únicas desventajas radican en que los componentes de las muestras deben ser estables a la temperatura de operación y de naturaleza volátil, para lo cual es necesario hacer un tratamiento preliminar de las muestras, lo que puede convertir el proceso en difícil y complejo (Vargas y Bottia, 2008).

2.1.6.2. Espectrometría de masas

La ES o MS es una de las técnicas analíticas más completas que existen, ya que proporciona un espectro característico de cada molécula, permite medir la concentración de las sustancias y proporciona información estructural sobre la molécula analizada.

Dentro del espectrómetro de masas, se procede a la ionización de la muestra mediante diferentes métodos. El sistema de ionización más frecuente es el de impacto electrónico que bombardea las moléculas con electrones de una cierta energía, capaces de provocar la emisión estimulada de un electrón de las moléculas y así ionizarlas. Además de moléculas ionizadas o iones moleculares (M^+) también se forman iones fragmento, debido a la descomposición de los iones moleculares con exceso de energía, el tipo y proporción relativa de cada uno de estos fragmentos es característico de las moléculas analizadas y de las condiciones del proceso de ionización. Una vez ionizadas las moléculas, se aceleran y se conducen hacia el sistema colector mediante campos eléctricos o magnéticos. La velocidad alcanzada por cada ión será dependiente de su masa. La detección consecutiva de los iones formados produce el espectro de masas de la sustancia, que es diferente para cada compuesto químico y que constituye una identificación del compuesto analizado. El espectro de masas puede almacenarse en la memoria del

ordenador para compararse con los espectros de una colección de espectros (o librería) y proceder a su identificación o puede estudiarse para averiguar la naturaleza de la molécula que le dio origen (Gutiérrez y Droguet, 2002).

2.1.6.3. Cromatografía en fase gaseosa acoplada a espectrometría de masas

Para la plena identificación de los compuestos presentes en una mezcla compleja de sustancias volátiles es conveniente acoplar la cromatografía de gases con una técnica espectroscópica como la espectrometría de masas, de tal forma que la esencia es inyectada directamente en el cromatógrafo, sin ningún tratamiento previo, lo cual elimina posibles modificaciones en la composición de la muestra o en la estructura de sus constituyentes debido al pre-tratamiento (Marín y Ordóñez, 2008; Albarracín y Gallo, 2003).

En el cromatógrafo, los componentes de la esencia se separan, tras lo cual penetran en el espectrómetro de masas, que permite registrar el espectro de cada una de las sustancias separadas. Los constituyentes del aceite esencial se identifican gracias a los diferentes patrones de fragmentación que se observan en sus espectros de masas. La GC-MS permite realizar en conjunto, el análisis cualitativo y la cuantificación de

las proporciones de los componentes de una muestra empleando 1 μL de ella. Cuando se dispone de patrones, la calibración del equipo permite un análisis cuantitativo exacto de la muestra (Albarracín y Gallo, 2003).

2.1.6.4. Cromatografía de gases con detector de ionización de llama

El detector de ionización de llama, FID (*Flame Ionization Detector*), es uno de los detectores más usados y versátiles (figura N° 11).



Figura N° 11.- Cromatógrafo de gases con detector FID, modelo AGILENT-6890.

Fuente: Universidad de Huelva (2010)³.

Básicamente, es un quemador de hidrógeno/oxígeno, donde se mezcla el efluente de la columna (gas portador y analito) con hidrógeno. Inmediatamente, este gas mezclado se enciende mediante una chispa

³ http://www.uhu.es/scid/uni_cromatografia.html.

eléctrica, produciéndose una llama de alta temperatura. La mayoría de compuestos orgánicos al someterse a altas temperaturas se pirolizan y producen iones y electrones, que son conductores eléctricos; este hecho se aprovecha estableciendo una diferencia de potencial de unos centenares de voltios entre la parte inferior del quemador y un electrodo colector situado por encima de la llama. La corriente generada es baja (del orden de los 10^{-12} A), por lo tanto debe ser amplificada mediante un amplificador de alta impedancia.

El proceso de ionización que se da en la llama es complejo, pero se puede aproximar el número de iones producidos al número de átomos de carbono transformados en la llama que salen de la columna. Esto produce que sea un detector sensible a la masa más que a la concentración, por lo tanto no afectan demasiado los cambios en el flujo de salida. Existen algunos grupos funcionales que no dan respuesta en este detector, como el carbonilo, alcohol, halógeno y amina, tampoco responden gases no inflamables como el CO_2 , SO_2 , agua y óxidos de nitrógeno; este hecho más que limitar el ámbito de aplicación del detector, permite el análisis de muestras contaminadas con alguno de los compuestos mencionados. La aplicación de este método permite una alta sensibilidad de 10^{-13} g/s, un gran intervalo lineal de respuesta (de 10^7), y un bajo ruido. Por lo general, es resistente, de bajo mantenimiento, y fácil de utilizar (Villa, 2011).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

Las pruebas y ensayos, se realizaron en los laboratorios de Análisis y Composición de los Alimentos, Análisis Sensorial de los Alimentos, y Microbiología de los Alimentos, pertenecientes a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann de Tacna. A excepción del análisis de cromatografía de gases con detector de ionización de llama (FID), que se ejecutó en el Laboratorio de Química N° 12 de la Facultad de Ingeniería Química perteneciente a la Universidad Nacional de Ingeniería (UNI) de Lima.

3.2. MATERIA PRIMA

3.2.1. NATURALEZA DE LA MATERIA PRIMA

Las muestras vegetales para este estudio estuvieron conformadas por los frutos maduros de árboles adultos del molle (*Schinus molle* L.).

Se escogieron los frutos debido a que éstos poseen mayor contenido en aceites esenciales en comparación a los otros órganos de esta planta (ver cuadro N° 04, pág. 30), según Viturro *et al.* (2010) los frutos secos son los que registran mayores rendimientos de aceite.

Dichos frutos fueron tomados de árboles de molle pertenecientes a la región de Tacna, específicamente de dos puntos de recolección: del Centro Poblado Menor de Los Palos en la Provincia de Tacna (figura N° 12), y del distrito de Tarata (sector de andenería “Chacawira”) en la Provincia de Tarata (figura N° 13); los cuales formaron así el Lote N° 01 y el Lote N° 02 respectivamente y de acuerdo al lugar de origen, la población de cada lote fue de 1,5 kg. aproximadamente, entre tallos, hojas y racimos de fruto.

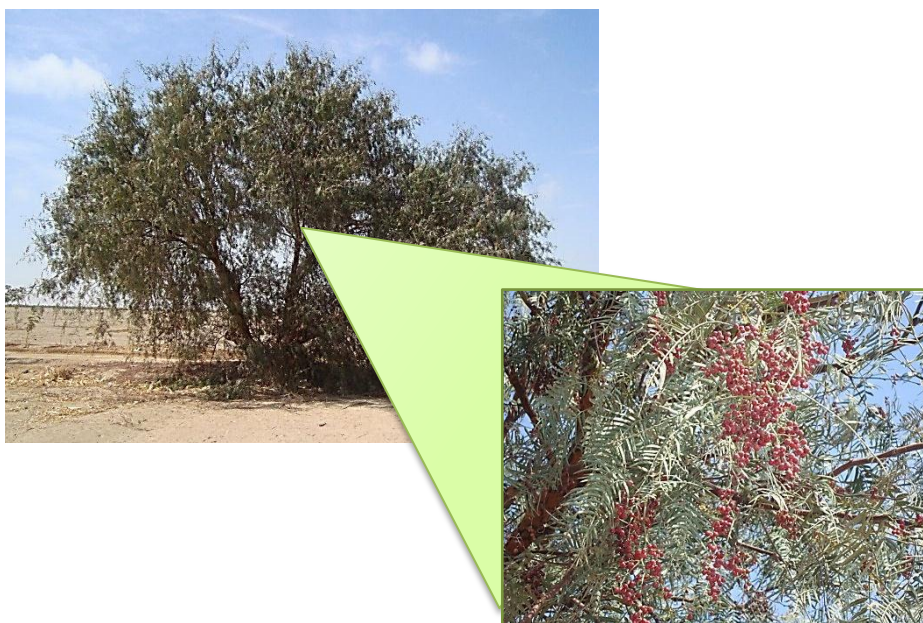


Figura N° 12.- Árbol de molle del centro poblado menor Los Palos, racimos de fruto (acercamiento).
Fuente: Elaboración propia (2012).



Figura N° 13.- Árbol de molle del distrito de Tarata, racimo de frutos (acercamiento).

Fuente: Elaboración propia (2012).

3.2.2. CARACTERÍSTICAS DE LA MATERIA PRIMA

En este trabajo se empleó como materia prima solamente a los frutos maduros del árbol de molle, es decir que luego de la recolección se realizó la separación de hojas, tallos y cualquier otro material diferente como insectos, racimos infestados por plagas o frutos inmaduros (se corrobora madurez de acuerdo a la coloración rojiza, resquebrajamiento y delgadez del pericarpio). Después, se realizó el secado de los racimos (ver las condiciones en apartado 3.4.1.1. *Secado*, pág. 63). Entonces, la materia prima escogida y empleada para la extracción del aceite esencial

fueron los frutos maduros y secos de esta planta (Fig. N° 14 y N° 15). Consecuentemente, los frutos se trituraron gruesamente para facilitar el desprendimiento de los aceites esenciales y su transferencia al vapor.



Figura N° 14.- Frutos maduros y secos de molle del CPM Los Palos (acercamiento).

Fuente: Elaboración propia (2011).



Figura N° 15.- Frutos maduros y secos de molle del distrito de Tarata (acercamiento).

Fuente: Elaboración propia (2011).

Se formaron cuatro grupos por lote, cada grupo constituyó una repetición y en cada una de ellas se usaron 100 g de frutos triturados (ver diseño experimental en figura N° 16, pág. 62). Se trabajó la extracción a nivel de laboratorio, donde la capacidad del equipo destilador fue mínima, por lo cual se tomó una cantidad de muestra de 100 g apropiada a la capacidad disponible del equipo de arrastre de vapor.

La codificación de la materia prima se realizó según el número de muestra y el tipo de lote al que pertenece (cuadro N° 06).

Cuadro N° 06.- Codificación de muestras.

Código de Muestra Vegetal	Descripción
LP-01 LP-02 LP-03 LP-04	Frutos secos pertenecientes al centro poblado menor de Los Palos (Lote N° 01)
T-05 T-06 T-07 T-08	Frutos secos pertenecientes al distrito de Tarata (Lote N° 02)

Fuente: Elaboración propia (2011).

3.3. MATERIALES Y EQUIPOS

3.3.1. MATERIALES

- Tubos de ensayo: 5 ml y 10 ml
- Matraces Erlenmeyer: 100 ml, 250 ml y 500 ml

- Picnómetro: 10 ml
- Pipetas volumétricas: 0,5 ml, 1 ml, 5 ml y 10 ml
- Probetas: 25 ml y 50 ml
- Balones de vidrio (Pirex ®) de fondo plano: 250 ml, 500 ml y 2 000 ml
- Vasos de precipitado: 10 ml, 50 ml, 250 ml y 500 ml
- Buretas con llave: 25 ml y 50 ml
- Condensador tipo serpentín
- Colector de aceite tipo pipeta volumétrica
- Recipientes de vidrio color ámbar: 10 ml y 20 ml
- Desecador
- Placas Petri medianas y grandes con tapa
- Cubreobjetos y portaobjetos
- Asa de Kolle
- Tubos de vidrio para vapor
- Perlas de ebullición
- Cápsulas de porcelana para cenizas
- Pinzas metálicas largas
- Gradillas de metal y madera
- Bandejas de plástico
- Pizeta de plástico
- Corchos y peras de jebe

3.3.2. APARATOS Y EQUIPOS

- Autoclave Presicion Cientific Group ®; modelo 3737; hecho en Chicago, Illinois, USA.
- Balanza analítica, Mettler ®; modelo AJ 150; sensibilidad 0,0001 g; cap. máx. 130 g; hecho en Germany.
- Baño maría P. Selecta ®; modelo Precistern.
- Cocinilla eléctrica de una sola hornilla tipo espiral.
- Cuenta colonias Bio – Technologies ®; serie 001733.
- Estufa Memmert ®; rango de temperatura 30°C – 200°C; hecho en Germany.
- Incubadora Memmert ®; rango de temperatura 0°C – 70°C; hecho en Germany.
- Microscopio óptico; uni-ocular; no registra marca.
- Molino manual Landers y Cia. S.A. ®; modelo Corona.
- Mufla Thermolyne ®; modelo 1500 Furnace.
- Refractómetro ABBE: PZO – Warszawa ®; modelo RL3.
- Refrigerador Inresa ®.
- Túnel de congelamiento tipo industrial; CEPROTEP-Tacna.
- Secadora manual eléctrica AKITA ®; modelo Super Turbo - 1500 W.
- Termómetros de graduación -5°C a 50°C, 100°C y 200°C.

3.3.3. REACTIVOS

- Sulfato de magnesio (p. a.)
- Etanol 95% (V/V) neutro
- Hidróxido de potasio (0,1 N)
- Hidróxido de potasio (0,5 N) en etanol
- Hidróxido de sodio (50%)
- Ácido clorhídrico (0,5 N)
- Ácido sulfúrico concentrado (p. a.)
- Ácido bórico
- Rojo de fenol
- Fenolftaleína
- Agua destilada
- Agar suero naranja (ASN)

3.4. METODOLOGÍA

El desarrollo de este estudio se llevó a cabo según el diseño experimental que aparece en la figura N° 16, donde se refleja el proceso de extracción y caracterización del aceite esencial de molle (*Schinus molle* L.).

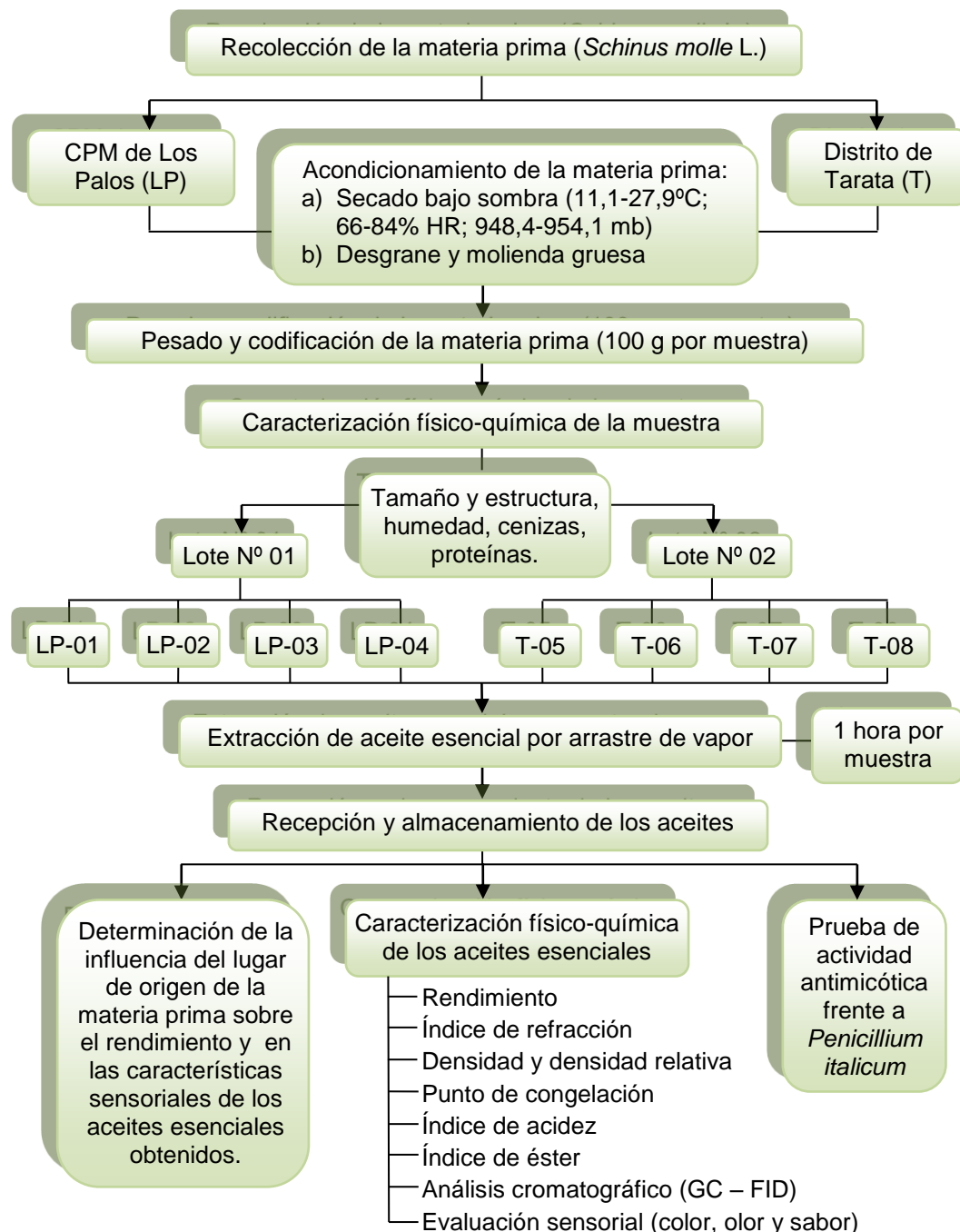


Figura N° 16.- Diseño experimental para el proceso de extracción y caracterización del aceite esencial de molle (*Schinus molle* L.).

Fuente: Elaboración propia (2011).

3.4.1. ACONDICIONAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA

3.4.1.1. Secado

Después del deshoje, los racimos enteros fueron extendidos sobre una superficie de cartón en el piso de cemento (figura N° 17) por un tiempo de cuatro semanas, a condiciones atmosféricas normales: temperatura ambiental en el rango de 11,1 - 27,9°C, humedad relativa de 66 - 84%, y presión atmosférica de 948,4 - 954,1 mb (SENAMHI-Tacna, 2011), y bajo sombra (para evitar que la exposición constante de los rayos solares produzca la modificación de los aceites contenidos).



Figura N° 17.- Secado de racimos de frutos de molle del CPM de Los Palos.

Fuente: Elaboración propia (2011).

3.4.1.2. Desgrane y molienda

Debido a que los frutos se desarrollan en racimos, fue necesario separarlos drupa por drupa, descartando así los tallos. Paralelamente, se realizó un control sanitario de las muestras por inspección visual de las mismas, allí fueron eliminadas aquellas que se encontraban huecas o infestadas por alguna plaga, así mismo, se separó cualquier tipo de impureza presente (figura N° 18 y N° 19).

Luego, los frutos secos del molle fueron triturados en forma grosera, utilizando un molino manual de acero inoxidable (figura N° 20 y N° 21). El producto se recibió en una bandeja de plástico, luego fue pesado y codificado.



Figura N° 18.- Desgrane de frutos de molle del CPM Los Palos: a) frutos sanos, b) tallos, c) impurezas.

Fuente: Elaboración propia (2011).



Figura N° 19.- Desgrane de frutos de molle del distrito de Tarata: a) frutos sanos, b) tallos, c) impurezas.

Fuente: Elaboración propia (2011).



Figura N° 20.- Frutos triturados de molle del CPM Los Palos.

Fuente: Elaboración propia (2011).



Figura N° 21.- Frutos triturados de molle del distrito de Tarata.

Fuente: Elaboración propia (2011).

3.4.2. PESADO Y CODIFICACIÓN DE LA MATERIA PRIMA

Se formaron cuatro grupos por lote, cada grupo constituyó una repetición y en cada una de ellas se usaron 100 g de frutos triturados (ver diseño experimental en figura N° 16, pág. 62).

Es decir que en cada corrida de extracción se utilizaron 100 g de muestra. Dichas muestras fueron codificadas mediante siglas, las cuales corresponden al lugar de origen y al número de muestra (cuadro N° 07), así por ejemplo: las siglas “LP-01” se refieren a la muestra número uno perteneciente al centro poblado menor de Los Palos; de la misma forma las siglas “T-01” aluden a la muestra número uno originaria del distrito de Tarata.

Cuadro N° 07.- Peso y codificación de muestras.

Código de Muestra Vegetal	Peso de muestra	Descripción
LP-01	100 g	Frutos secos pertenecientes al centro poblado menor de Los Palos (Lote N° 01)
LP-02	100 g	
LP-03	100 g	
LP-04	100 g	
T-05	100 g	Frutos secos pertenecientes al distrito de Tarata (Lote N° 02)
T-06	100 g	
T-07	100 g	
T-08	100 g	

Fuente: Elaboración propia (2011).

3.4.3. EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL POR ARRASTRE DE VAPOR

Antes iniciar el proceso se verificó el correcto armado del equipo de extracción (figura N° 22), el cual estuvo compuesto por un generador de vapor (balón de fondo plano de 2 000 ml de capacidad), un generador de calor eléctrico, tubos de tránsito para el flujo de vapor, un destilador que actuó también como contenedor de la materia prima (balón de 500 ml de capacidad), un condensador de vidrio tipo serpentín, un colector de líquidos dispuesto inmediatamente a la salida del condensador, y un equipo de baño maría graduado a 45°C.

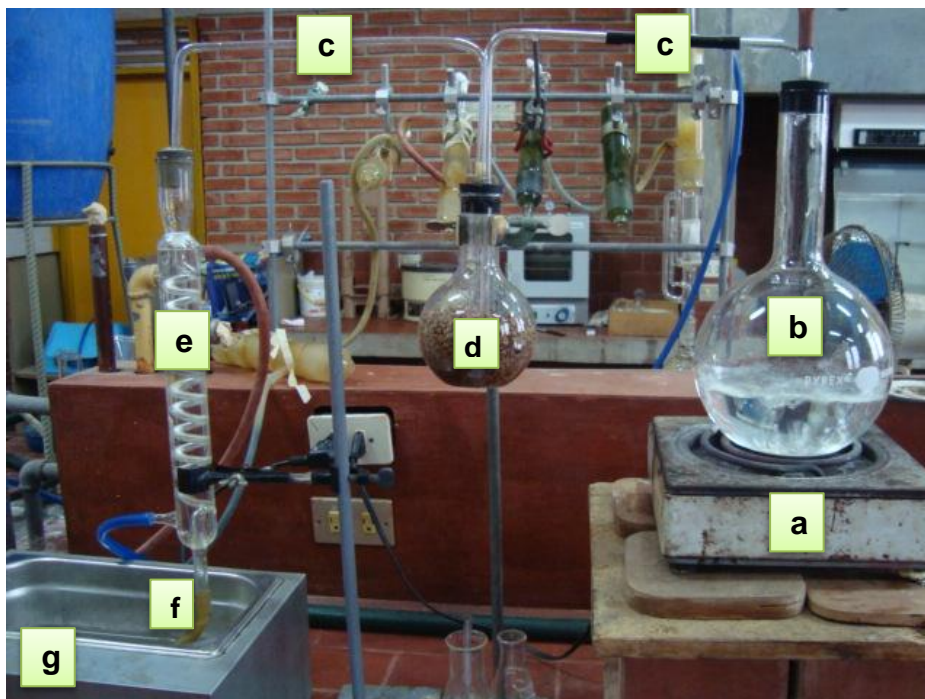


Figura N° 22.- Equipo de extracción por arrastre de vapor, que consta de las siguientes partes: a) generador eléctrico de calor, b) generador de vapor, c) tubos de tránsito de vapor, d) contenedor de materia prima y destilador, e) condensador, f) colector de aceite, g) equipo de baño maría.

Fuente: Elaboración propia (2011).

Por consiguiente, se depositaron 1 000 ml de agua destilada en el generador de vapor, agua que entró en ebullición cuando alcanzó la temperatura de 96°C.

Luego 100 g de muestra vegetal fueron colocados en el destilador, una vez que el vapor fue inyectado mediante un distribuidor interno la muestra fue sometida (durante una hora) al flujo de vapor producido, así,

conforme el vapor entra en contacto directo con el lecho la materia prima se calienta y va liberando el aceite esencial contenido, dicho aceite debido a su alta volatilidad se evapora, y al ser soluble en el vapor circundante es “arrastrado” corriente arriba hacia el tope del destilador.

La mezcla de vapor saturado y aceite esencial fluye a través del ducto de vidrio y es dirigida hasta el serpentín interno del condensador, donde es precisamente condensada y enfriada por efecto del intercambio de calor con el agua corriente que lo circunda, dicho líquido de refrigeración es inyectado al condensador con un caudal de 0,016 l/s y sale del mismo con un caudal de 0,004 l/s.

A la salida del condensador se obtuvo una emulsión líquida inestable que fue recibida en un colector de vidrio volumétrico, donde ocurre la división de fases a causa de la diferencia de densidades, entre el agua y el aceite.

Mientras el agua descendió a la parte inferior del colector y fue expulsada (por efectos de presión y acumulación), el aceite esencial se mantiene en la cima de la acumulación de líquidos, hasta finalizado el tiempo de proceso (figura N° 23).

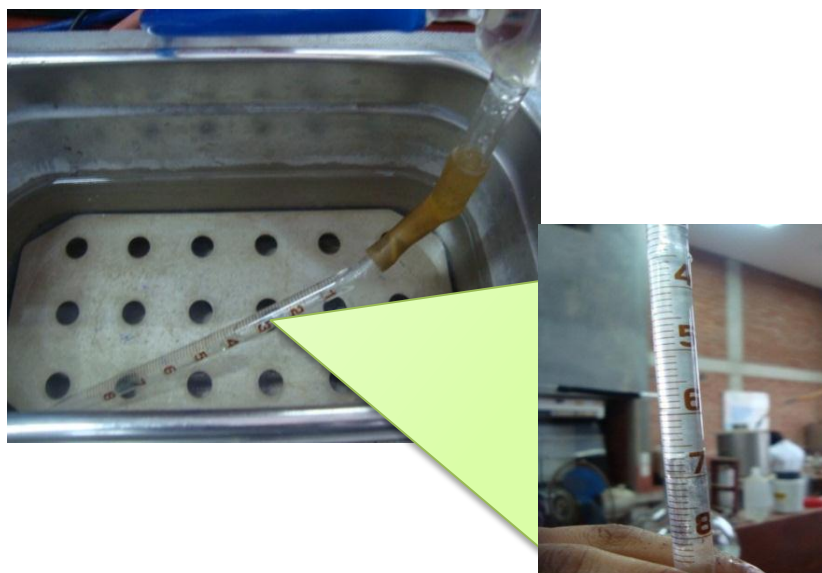


Figura N° 23.- Acumulación de aceite esencial, división de fases el aceite esencial en la parte superior (acercamiento).

Fuente: Elaboración propia (2011).

3.4.4. RECEPCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LOS ACEITES

Al completar el tiempo de extracción, se detuvo el proceso y registró el volumen final de los aceites esenciales en mililitros, los cuales fueron recibidos en un colector volumétrico de donde son retirados y almacenados en frascos de vidrio color ámbar (fig. N° 24).

Se taparon los depósitos y fueron aislados en un lugar fresco, seco y oscuro, en este caso, el almacén de materiales perteneciente al Laboratorio de Análisis y Composición de Alimentos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias (Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann).



Figura N° 24.- Recepción de aceite esencial y almacenamiento en un frasco de vidrio ámbar.

Fuente: Elaboración propia (2011).

3.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS

3.5.1. ANÁLISIS FÍSICO - QUÍMICOS

3.5.1.1. Caracterización físico-química de la materia prima

En todas las determinaciones, con excepción de tamaño y estructura, se empleó materia prima seca, triturada y pesada.

3.5.1.1.1. Tamaño y estructura

Se determinó la altura y el diámetro promedio de los frutos en centímetros, para cada uno de los dos lotes, haciendo uso del instrumento de medición llamado vernier o “pie de rey”. Así mismo, se realizaron cortes longitudinales en los frutos, para evaluar visualmente su estructura interna (Sánchez C., 2007).

3.5.1.1.2. Determinación de humedad

Se determinó mediante el método de pérdida de peso propuesto por la A.O.A.C. (2005); la muestra se sometió a calentamiento en la estufa a $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, hasta mantener peso constante.

3.5.1.1.3. Determinación de cenizas

Residuo obtenido por incineración primero en una cocinilla eléctrica y luego en un horno mufla, a una temperatura de $550^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$, hasta combustión completa de la materia orgánica, y obtención de un peso constante (A.O.A.C., 2005).

3.5.1.1.4. Determinación de proteínas

Se determinó mediante el método de micro kjeldahl propuesto por la A.O.A.C. (2005); el resultado expresa la cantidad de proteína bruta de la materia prima.

3.5.1.2. Caracterización físico-química de los aceites esenciales

3.5.1.2.1. Rendimiento

Se determinó el rendimiento del aceite esencial para cada lote, promediando los rendimientos encontrados en cada corrida de extracción, para esto se evaluó la relación entre el volumen de aceite esencial

obtenido y la masa de la muestra vegetal. Además, se realizaron dos corridas de extracción, una para el lote de los Palos y otra para el de Tarata, cada corrida tuvo la duración de dos horas; se tomaron las lecturas de los rendimientos obtenidos durante cada proceso y se insertaron en gráficas, de esta forma se evaluó el rendimiento del aceite esencial de molle en función al tiempo de extracción. Se realizó también un balance de materia correspondiente al proceso extractivo de cada lote.

3.5.1.2.2. Índice de refracción

De acuerdo como lo establece la Norma Técnica Peruana, NTP-ITINTEC con código 319.075 (ver anexo N° 14). Se empleó el refractómetro tipo ABBE, que determina la relación entre el seno del ángulo de incidencia y el seno del ángulo de refracción del aceite.

3.5.1.2.3. Densidad y densidad relativa

Las determinaciones se realizaron de acuerdo a lo establecido por la Norma Técnica Peruana, NTP-ITINTEC con código 319.081 (ver anexo N° 14), que se basa en el método de la picnometría.

3.5.1.2.4. Punto de congelación

Se cumplieron con los parámetros establecidos por la Norma Técnica Peruana, NTP-ITINTEC con código 319.082 (ver anexo N° 14).

Sin embargo, no se ajustaron al tipo de muestra con la que se trabajó, ya que en ningún momento del ensayo se evidenció el congelamiento de los aceites esenciales, aunque estos alcanzaron la temperatura interna de -23°C , en consecuencia, se modificaron parcialmente las condiciones de experimentación; se usaron tubos de plástico cerrados con tapa, en lugar de tubos de ensayo, y en lugar de agua con hielo para enfriar las muestras, éstas se ingresaron a un túnel de congelamiento (tipo industrial) perteneciente al Centro de Producción Tecnológica Pesquera (CEPROTEP) de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann de Tacna, por el periodo de 8 horas a -35°C . El CEPROTEP se encuentra ubicado en el parque industrial de Tacna.

3.5.1.2.5. Índice de acidez

Según lo establecido por la Norma Técnica Peruana, NTP-ITINTEC con código 319.085 (ver anexo N° 14), se neutralizaron los ácidos libres contenidos en 1 g de aceite esencial mediante una alícuota de la solución alcohólica de hidróxido de potasio (0,1 N).

3.5.1.2.6. Índice de éster

De acuerdo a lo establecido en la Norma Técnica Peruana, NTP-ITINTEC con código 319.088 (ver anexo N° 14). El método se basó principalmente, en la determinación del número de miligramos de

hidróxido de potasio (0,5 N) necesarios para neutralizar los ácidos liberados por la hidrólisis de los ésteres contenidos en 1 g de aceite esencial.

3.5.1.2.7. Análisis cromatográfico

La identificación de los compuestos químicos presentes en las muestras de aceite esencial de Los Palos (AE-LP) y de aceite esencial de Tarata (AE-T), se realizó íntegramente en el Laboratorio de Química Inorgánica N° 12, en la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería de Lima, a cargo de la Msc. Otilia Acha de la Cruz.

Para realizar esta determinación, se inyectó la muestra en un cromatógrafo de gases equipado con detector de ionización de llama (FID). El equipo empleado ha sido un Varian modelo 450GC; la separación cromatográfica se ha realizado a través de una columna capilar SUPELCOWAX T10 (de 30 m de longitud, 530 µm de diámetro interno, 1 µm de espesor, y de fase estacionaria) con inyector tipo split: 1/20, y el software usado fue el Galaxie versión 1.9.302.952.

La operación de inyección fue en modo split (partición de la muestra antes que ingrese a la columna); el gas portador fue helio cuya velocidad o flujo de gas de arrastre fue de 5 ml/min; con temperaturas del horno programadas de 70°C a 160°C (con una pendiente o razón de incremento

de 4°C/min), y la temperatura del inyector fue de 250°C. Las condiciones ambientales en las que se llevó a cabo la determinación fueron, 23°C y 68% de humedad relativa.

3.5.1.2.8. Evaluación sensorial

En base a las características sensoriales se evaluó el grado de diferencia existente entre el aceite esencial de molle perteneciente al Lote N° 01 de Los Palos, el perteneciente al Lote N° 02 de Tarata, y un aceite esencial de molle tipo comercial (adquirido de un comerciante naturista) cuyo lugar de origen es la ciudad de Lima.

La evaluación se realizó sometiendo las muestras a una prueba de comparación múltiple, donde los aceites fueron comparados utilizando las hojas de evaluación descritas en el Anexo N° 07 (Wittig, 2001).

Las características sensoriales que se compararon fueron: color, olor y sabor (una ficha para cada propiedad). En esta prueba se presentó al juez una muestra patrón (aceite esencial de molle tipo comercial) y tres muestras codificadas al azar: la muestra 2953 (aceite esencial de molle de Los Palos), la muestra 8147 (aceite esencial de molle de Tarata) y la muestra 6032 (aceite esencial de molle proveniente de Lima). Para evaluar adecuadamente el olor de la muestra se proporcionó al juez un vaso con agua mineral; así mismo en la prueba de sabor, se suministraron

a los jueces trozos de manzana para eliminar el sabor entre cada muestra. Cabe resaltar también, que las evaluaciones de olor y sabor se realizaron en cabinas con iluminación de color rojo.

3.5.2. PRUEBA DE ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA

Para evaluar la actividad antimicótica del aceite esencial de molle frente a uno de los hongos más comunes de la naranja, el *Penicillium italicum*, fue necesario primero, el reconocimiento de dicho microorganismo mediante la técnica de microcultivo por el método de Ridell (figura N° 25 y N° 26), esto se realizó a partir de esporas provenientes de colonias aisladas en placas que fueron producto de la “siembra por raspado” de una naranja (variedad Valencia) aparentemente contaminada por el hongo *Penicillium*.



Figura N° 25.- Microcultivo de *Penicillium italicum* por el método de Ridell.

Fuente: Elaboración propia (2011).



Figura N° 26.- Micelio de *Penicillium italicum* desarrollado en un portaobjeto (método de Ridell).

Fuente: Elaboración propia (2011).

Una vez terminada la incubación del microcultivo, se sustrajo el portaobjeto que contenía el micelio fúngico y se llevó al microscopio óptico (figura N° 27), pudiéndose identificar visualmente que el género del hongo en cuestión era efectivamente *Penicillium italicum*, debido a su morfología, ya que se caracteriza por formar conidios en una estructura ramificada semejante a un pincel que termina en células conidiógenas llamadas fiálides (Carrillo, 2003).

En consecuencia, se procedió a aislar dicho microorganismo en tubos de agar suero naranja (ASN) de tipo inclinado (figura N° 28).

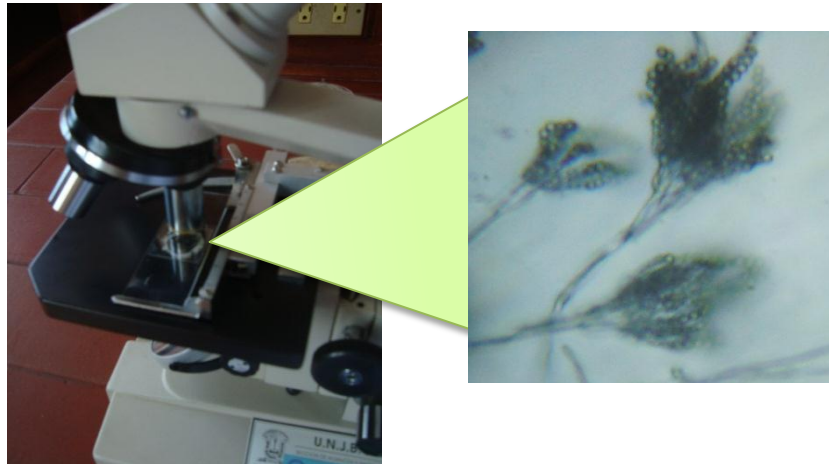


Figura N° 27.- Identificación al microscopio del hongo *Penicillium italicum* (acercamiento).

Fuente: Elaboración propia (2011).



Figura N° 28.- Aislamiento de *Penicillium italicum* en tubos de agar inclinado.

Fuente: Elaboración propia (2011).

Los tubos fueron cerrados y se llevaron a incubación por 24 horas a 35°C (figura N° 29).

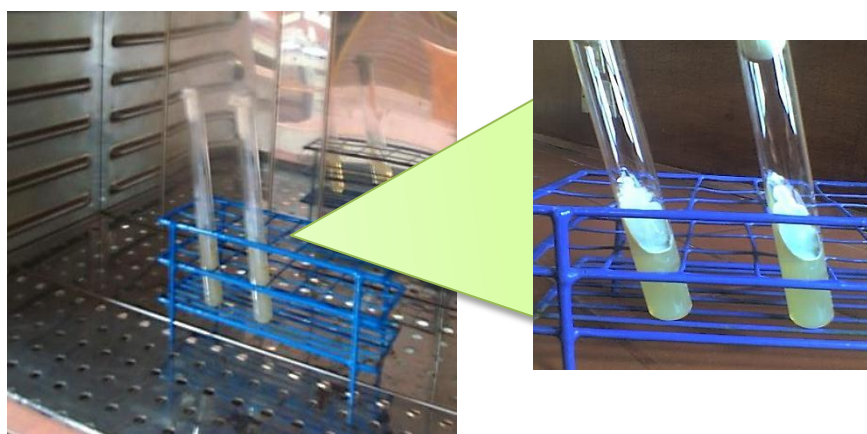


Figura N° 29.- Incubación de los tubos de agar inclinado, y desarrollo micelial del *Penicillium italicum* en la superficie del agar (acercamiento).

Fuente: Elaboración propia (2011).

Una vez que el hongo se hubo desarrollado en la superficie del agar, se introdujo (en el mismo tubo de ensayo) 2 ml de agua destilada y autoclavada, en seguida, se agitó el recipiente hasta que se obtuvo una suspensión de esporas necesaria para desarrollar el método de agar en difusión (Cano *et al.*, 2008), éste método consiste en mezclar en una placa Petri 1 ml de la suspensión de esporas con el agar ASN fundido a 45°C aprox., luego se dejó solidificar a temperatura ambiente; de esta forma, la siembra del hongo se hizo en dos placas, en el centro de las cuales se cavó un pozo de aproximadamente 1,45 cm de diámetro, en la

placa "A" se depositó 0,1 ml de aceite esencial de molle, y en la placa "T" (que es el testigo) se colocó 0,1 ml de alcohol puro de 96°; ambas placas reposaron por 30 minutos, se taparon y señalizaron (LP para "Los Palos" y T para "Tarata", cada cual con su respectiva placa testigo) luego, fueron puestas en incubación durante ocho días a temperatura ambiente, finalizado este periodo se registró el área del halo de inhibición.

Paralelamente, se desarrolló un método empírico para evaluar la capacidad inhibitoria del aceite esencial de molle frente al desarrollo del *Penicillium italicum*; en dos placas también, se solidificó el agar ASN, en el centro de la placa "A" se sembraron superficialmente esporas del hongo dentro de un círculo de 1 cm aprox. de diámetro, alrededor de esta área se dejó libre una distancia de 0,7 cm aprox. hasta la siguiente corona que es de 0,025 ml de aceite esencial de molle esparcido con una pipeta. De la misma forma, se trabajó con la placa "T" que es el testigo, con la diferencia de que en esta última, en lugar de una corona de aceite esencial, se esparció 0,025 ml de agua destilada. Ambas placas se taparon, señalizaron e incubaron a temperatura ambiente por ocho días.

Cabe resaltar que estos ensayos se realizaron tanto para la muestra de aceite esencial de molle "Los Palos" como para la muestra de aceite esencial de molle "Tarata".

3.5.3. PROCESAMIENTO ESTADÍSTICO DE DATOS

3.5.3.1. Influencia del lugar de origen en el rendimiento del aceite esencial de molle

Para comprobar si el lugar de origen ejerce una influencia significativa sobre el rendimiento del aceite esencial, se realizó una comparación entre los rendimientos registrados para ambos lotes. Para evaluar esta influencia se aplicó el diseño experimental completamente aleatorizado, y se trabajó con dos tratamientos y cuatro réplicas de acuerdo al número de muestras tomadas, en total ocho ensayos de extracción. Los datos experimentales logrados se ordenan en el cuadro N° 08 para su tratamiento.

Cuadro N° 08.- Rendimiento porcentual (%) del aceite de acuerdo al lugar de origen de la muestra vegetal (MV).

	Lugar de origen de MV		Total	Media
	Lote N° 01 CPM Los Palos	Lote N° 02 Provincia de Tarata		
	X_{11}	X_{12}		
	X_{21}	X_{22}		
	X_{31}	X_{32}		
	X_{41}	X_{42}		
Totales	$T_{.1}$	$T_{.2}$	$T_{..}$	
Medias	$\bar{X}_{.1}$	$\bar{X}_{.2}$		$\bar{X}_{..}$

Fuente: Elaboración propia (2011).

Para lo cual se formuló el modelo de trabajo:

$$X_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

Para responder a la pregunta planteada: ¿El lugar de origen de la muestra vegetal (MV) tendrá influencia significativa sobre el rendimiento de aceite esencial de molle?, se formularon las siguientes hipótesis ($\alpha=0,05$):

- El lugar de origen de la muestra no tiene influencia significativa sobre el rendimiento de aceite esencial de molle:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

- El lugar de origen de la muestra tiene influencia significativa sobre el rendimiento de aceite esencial de molle:

$$H_1: \mu_1 \neq \mu_2$$

3.5.3.2. Influencia del lugar de origen en las características sensoriales del aceite esencial de molle

Para evaluar el efecto que ejerce el lugar de origen sobre las características sensoriales del aceite esencial se trataron los datos hallados en la evaluación sensorial con el diseño experimental en bloque completamente aleatorizado (diseño de dos factores), donde se trabajó con el análisis de variancia a un nivel de confianza del 95%,

complementado por la prueba de Tukey. Para esto, los datos experimentales se ordenaron en el cuadro modelo N° 09, donde figuran tres tratamientos representados por códigos que simbolizan el lugar de origen de la muestra vegetal, estos códigos fueron asignados al azar de acuerdo al lugar de procedencia de la materia prima, así el código 2953 representa a la muestra de “Los Palos”, el código 8147 a la muestra de “Tarata” y el código 6032 a la muestra de “Lima” que es también la muestra comercial.

Cuadro N° 09.- Comparación múltiple de olor entre tres muestras diferentes de aceite esencial.

Decisión de los jueces	Origen de muestra vegetal			Total	Media
	2953	8147	6032		
Más olor que “P” (patrón)	X_{11}	X_{12}	X_{13}		
Igual olor que “P”	X_{21}	X_{22}	X_{23}		
Menos olor que “P”	X_{31}	X_{32}	X_{33}		
Ligeramente diferente	X_{41}	X_{42}	X_{43}		
Moderadamente diferente	X_{51}	X_{52}	X_{53}		
Muy diferente	X_{61}	X_{62}	X_{63}		
Extremadamente diferente	X_{71}	X_{72}	X_{73}		
Totales	$T_{.1}$	$T_{.2}$	$T_{.3}$	$T_{..}$	
Medias	$\bar{X}_{.1}$	$\bar{X}_{.2}$	$\bar{X}_{.3}$		$\bar{X}_{..}$

Fuente: Elaboración propia (2011).

Consecuentemente se formuló el modelo de trabajo para evaluar la característica de olor:

$$X_{ij} = \mu + \beta_i + T_j + e_{ij}$$

El mismo diseño experimental y el modelo de trabajo se aplicaron para las características sensoriales de color y sabor. Se aplicó también el análisis de variancia mediante la prueba F a un nivel de significancia de 5%, que indica si el efecto de los jueces es significativo o no, de la misma forma se hizo para evaluar el efecto de las muestras. Si se hubiera registrado alguna diferencia significativa entre los jueces o entre las muestras, se habría establecido cuál es la diferencia mínima significativa (DMS) y para ello se habría aplicado la prueba de Tukey.

IV. HIPÓTESIS E IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES

4.1. FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS

- Es factible la extracción y caracterización físico-química del aceite esencial de molle, mediante el diseño experimental propuesto.

4.2. IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES E INDICADORES

4.2.1. VARIABLES

4.2.1.1. Variable independiente

- Origen de la materia prima (centro poblado menor de Los Palos en la provincia de Tacna y distrito de Tarata en la provincia de Tarata).

4.2.1.2. Variables dependientes

Variables dependientes cuantitativas:

- Rendimiento del aceite esencial de molle.
- Características sensoriales de los aceites esenciales obtenidos.

Variables dependientes cualitativas:

- Elementos constituyentes volátiles del aceite esencial de molle.

- Propiedades sensoriales del aceite esencial de molle en cuanto a color, olor y sabor.
- Actividad antimicótica del aceite esencial de molle frente a *Penicillium italicum*.

4.2.2. INDICADORES

Los resultados de los ensayos fisicoquímicos, sensoriales y microbiológicos fueron considerados como indicadores de calidad del producto. Estos análisis han sido regulados por métodos establecidos, ya sea por la Norma Técnica Peruana para aceites esenciales (NTP-ITINTEC) con código: ICS 71.100.60, cuyas directrices (normas en Anexo N° 14) se citan a continuación.

- Determinación de densidad (NTP-ITINTEC/ 319.081)
- Determinación del índice de refracción (NTP-ITINTEC/319.075)
- Determinación del índice de acidez (NTP-ITINTEC/319.085)
- Determinación del índice de éster (NTP-ITINTEC/319.088)
- Determinación del punto de congelación (NTP-ITINTEC/319.082)

O en su defecto, los análisis fueron regulados por técnicas pertenecientes a la bibliografía consultada; aunque para algunas variables no se halló indicadores establecidos aún.

4.2.2.1. Indicadores para características físico-químicas

En el cuadro N° 10 se aprecian los indicadores para caracterizar la materia prima y principalmente al aceite esencial de molle (AE).

Cuadro N° 10.- Indicadores y respectivos valores.

Indicadores	Valores
Tamaño y estructura del fruto maduro	5 a 9 mm de diámetro
Tiempo de extracción	60 a 480 min
Rendimiento de AE, fruto maduro	5,15% (v/p)
Índice de refracción de AE	1,495 1 – 1,498 0
Densidad y densidad relativa de AE	0,844 9 g/cm ³
Características sensoriales de AE	Color, olor y sabor
Componentes cromatográficos mayoritarios en el AE	α - y β -felandreno, β -espatuleno, α - y β -pineno

Fuente: Viturro *et al.* (2010), Zeng Yueqin (2006), Albarracín y Gallo (2003), Sistema Nacional de Información Forestal de México.

4.2.2.2. Indicadores para características microbiológicas

El estudio “*Schinus molle*: a New Source of Natural Fungitoxicant” (Dikshit *et al.*, 1986) demostró la capacidad antimicótica del aceite esencial del molle frente a *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus* y *Penicillium italicum*, que son contaminantes comunes de los alimentos en condiciones de almacenamiento. En este estudio se trabajó con aceite

esencial de las hojas del molle, en los ensayos se registró un porcentaje de inhibición de 53,5% para el crecimiento miceliar del hongo *Penicillium italicum*.

Aunque Dikshit y su equipo denominaron esta actividad biológica como “moderada”, los resultados de sus ensayos sirvieron como indicadores para este trabajo.

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LA MATERIA PRIMA

5.1.1. TAMAÑO Y ESTRUCTURA

En el cuadro N° 11 se encuentran los valores promedio de altura y diámetro de los frutos maduros del molle, con exocarpio y sin exocarpio. Todas las mediciones se hicieron en centímetros usando el vernier.

Cuadro N° 11.- Valores de altura y diámetro en centímetros del fruto del molle.

	Ejemplar	Frutos de “Los Palos”	Frutos de “Tarata”
Altura (cm)	CE	0,52	0,39
	SE	0,39	0,27
Diámetro (cm)	CE	0,47	0,36
	SE	0,29	0,28

Donde: CE: Con exocarpio; SE: Sin exocarpio.

Fuente: Elaboración propia (2011).

Los frutos de Los Palos presentaron mayores valores de altura y diámetro que los de Tarata (aunque las diferencias fueron pequeñas y se hallaron algunos frutos del mismo tamaño). Sin embargo, los valores registrados son inferiores a los de la bibliografía española, con valores

de 5 a 9 mm de diámetro para cada fruto (Zeng Yueqin, 2006), estas diferencias se deben aparentemente a las condiciones geobotánicas (suelo, luz, humedad y altitud) del lugar de origen de la planta.

Con respecto a la estructura, los resultados de las observaciones se resumen en el cuadro N° 12. Donde constan las principales partes del fruto y la semilla; se reconocieron las mismas partes en las muestras de ambos lotes y fueron representadas en la figura N° 30.

Cuadro N° 12.- Descripción de las principales partes del fruto del molle.

Parte del fruto	Tipo y estructura	Color
Exocarpio	Delgado y quebradizo	Rojizo a rosáceo y marrón bermejo
Mesocarpio	Delgado y agrietado; contiene pequeños depósitos de aceite esencial libre	Beige
Endocarpio	Poco leñoso y duro; de forma globosa y hueca	Mostaza
Semilla	Testa: Muy delgada, lisa y membranosa; de forma oblonga	Crema a amarillento
	Embrión: Ligeramente ovalada y carnosa	Amarillento

Fuente: Elaboración propia (2011).

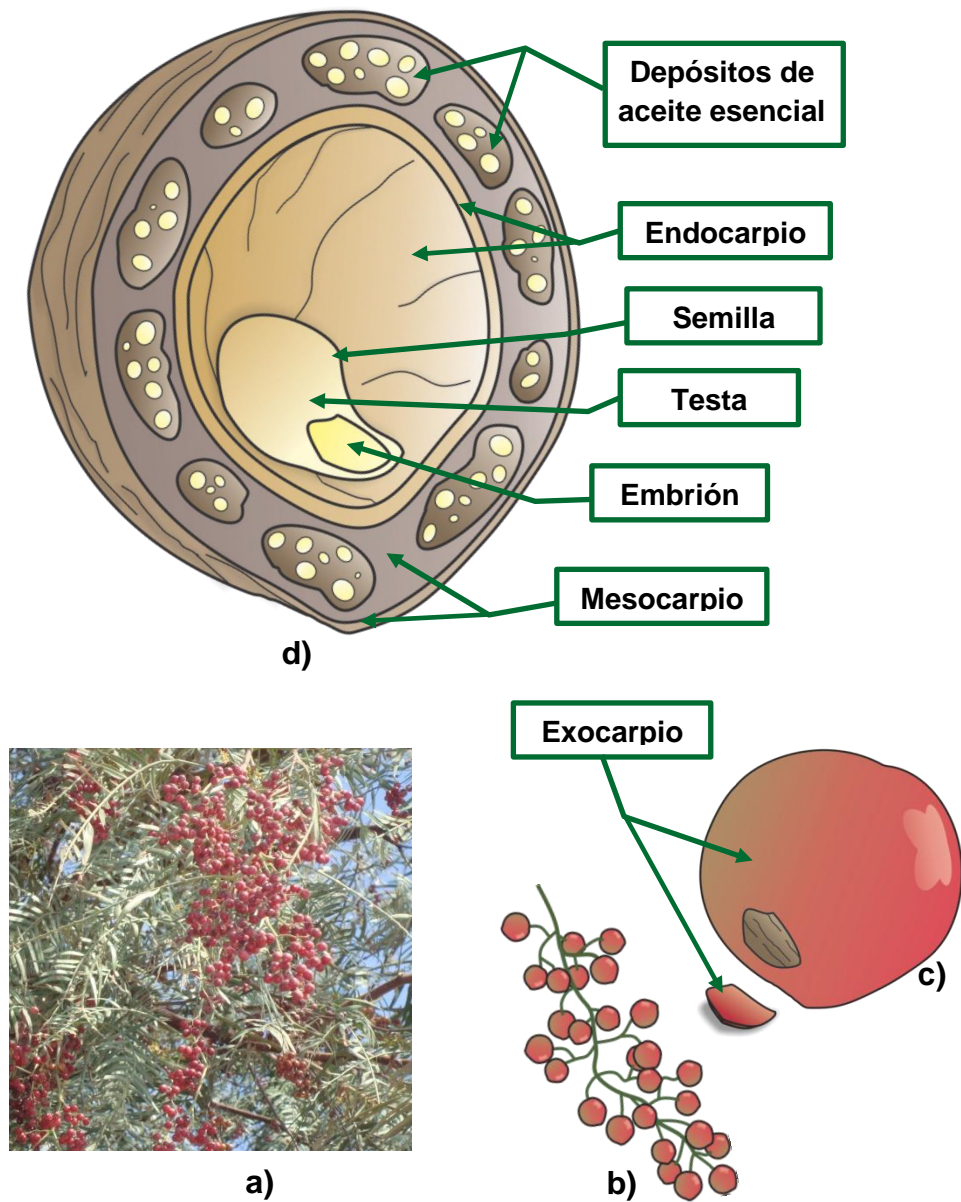


Figura N° 30.- Diferenciación de partes del fruto del molle:
 a) Vista general del fruto del molle en el árbol;
 b) Racimo de frutos; c) Vista externa del fruto;
 d) Corte transversal, partes internas del fruto y de la semilla del molle.

Fuente: Elaboración propia (2011).

5.1.2. CARACTERIZACIÓN QUÍMICA

Se determinó el porcentaje de humedad, cenizas y proteínas de los frutos del molle para ambos lotes. En el cuadro N° 13 figuran los resultados de las determinaciones.

Cuadro N° 13.- Características químicas del fruto del molle.

Característica	Frutos “Los Palos”	Frutos “Tarata”
Humedad	18,158%	21,875%
Cenizas	3,785%	3,353%
Proteínas	5,280%	5,560%

Fuente: Elaboración propia (2011).

5.1.2.1. Determinación de humedad

Las muestras del lote N° 01, perteneciente al centro poblado menor de Los Palos, presentaron una humedad promedio de 18,158%; mientras que para las muestras del lote N° 02, originario del distrito de Tarata, la humedad fue de 21,875%.

Aunque estos porcentajes de humedad son relativamente altos, con respecto a otras experiencias como las de Viturro *et al.* (2010), en donde las semillas de molle se trataron en una cámara de secado con aire circulante a 30°C, hasta llegar a 6,50% de humedad; hay que considerar,

sin embargo, que en el presente estudio ambos lotes de materia prima estuvieron conformados por frutos enteros (incluyendo el exocarpo que dificulta la liberación de agua), y que dichos frutos fueron deshidratados a condiciones atmosféricas normales y bajo sombra, es decir, que el secado no fue forzado por procesos mecánicos, tal como lo realizarían los recolectores primarios de estos frutos en el campo.

Los porcentajes de humedad hallados, también son relativamente altos en relación al deterioro fúngico, ya que alrededor del 14% es cuando el crecimiento fúngico comienza. Incluso, las humedades relativas de 70% a más favorecen el desarrollo de los mohos, y Tacna presenta humedades relativas entre 66 y 84% (Morantes, 2005; Wyrztz⁴; SENAMHI-Tacna, 2011).

5.1.2.2. Determinación de cenizas

El porcentaje promedio de cenizas para el lote N° 01 (Los Palos) fue de 3,785%; y para el lote N° 02 (Tarata) resultó en 3,353%.

Estos porcentajes son bajos con respecto a la humedad y proteínas del fruto del molle (ver cuadro N° 13); en gran parte, esto refleja que el control sanitario de las muestras (realizado en la etapa de desgrane y molienda) fue eficaz, ya que allí no solo se eliminaron los frutos huecos o

⁴ No especifica fecha de publicación.

infestados por plagas, sino que también se descartaron las impurezas existentes (tierra, pelos, excremento de aves, etc.).

Por otro lado, los árboles de los que proviene este fruto fueron cultivados en suelos aptos para la agricultura y absorben los minerales que proveen estos suelos, sin embargo, la planta del molle es de naturaleza resinosa y tanto ésta como sus frutos poseen gran cantidad de compuestos volátiles en su estructura, especialmente porque los frutos se encuentran en estado de madurez, que es cuando incrementan su contenido en aceites; cabe resaltar también la cantidad de humedad presente en ambos lotes, que sobrepasa un importante 18%, y aunque no se haya realizado el análisis de fibra bruta, en la evaluación visual (cuadro N° 12 "*Descripción de las principales partes del fruto del molle*", pág. 91) se pudo reconocer que el fruto está constituido estructuralmente en su mayoría de fibra vegetal (Sistema Nacional de Información Forestal de México, 2010).

5.1.2.3. Determinación de proteínas

Para el lote N° 01 (Los Palos), el porcentaje hallado de proteína bruta fue de 5,28%. Y para el lote N° 02 (Tarata), el porcentaje determinado fue de 5,56% también en proteína bruta.

Aunque estos porcentajes son mayores a los de ceniza, no superan el 10%. El contenido de proteínas en el fruto del molle es relativamente bajo, esto se debe a que las proteínas de las semillas tienen primordialmente misión estructural, forman parte de paredes celulares y membranas (Fenema, 1993), en el molle, el fruto es hueco (como ya se ha visto en la figura N° 30, pág. 92), el mesocarpio es carnoso (que es donde se ubican la mayor parte de proteínas) pero también es delgado y resinoso, el exocarpio y endocarpio son principalmente fibrosos, y su semilla es muy pequeña; por tanto, las fuentes de proteína son escasas dentro del fruto, lo que se ve reflejado en los porcentajes.

Los frutos pertenecientes al lote de Tarata registraron mayor contenido de proteínas en relación a los provenientes de Los Palos, esto se puede atribuir al estrés por sequía que sufrieron los árboles en Los Palos, donde la disponibilidad del recurso hídrico es notablemente menor que en Tarata, esta situación durante el desarrollo de la semilla (y del fruto en sí) ocasiona la reducción de la calidad de la misma (Minuzzi *et al.*, 2007).

Sin embargo, estos frutos pueden ser agregados en los suplementos nutritivos para animales o en abonos orgánicos, debido a los componentes estructurales y biológicos que posee la planta (Civantos, 2008; Zeng Yueqin, 2006).

5.2. INFLUENCIA DEL LUGAR DE ORIGEN EN EL RENDIMIENTO DEL ACEITE ESENCIAL DE MOLLE

Los rendimientos de aceite esencial obtenidos para las muestras de molle pertenecientes al centro poblado menor (CPM) de Los Palos y al distrito de Tarata, fueron ordenados en el cuadro N° 14 para su tratamiento, éstos rendimientos se encuentran en relación volumen/peso (volumen del aceite esencial y peso de la muestra).

Cuadro N° 14.- Rendimiento porcentual en relación volumen/peso (V/P) del aceite esencial de acuerdo al lugar de origen de la muestra vegetal (MV).

Rendimiento porcentual en relación V/P	Lugar de origen de MV		Total	Media
	CPM Los Palos	Provincia de Tarata		
	5,10	7,42		
	6,80	6,00		
	6,00	8,66		
	8,38	8,80		
Totales	26,280	30,820	57,10	
Medias	6,570	7,705		7,137

Fuente: Elaboración propia (2011).

El procesamiento estadístico de los datos se encuentra en el anexo N° 08, a raíz del cual se acepta la hipótesis $H_0: \mu_1 = \mu_2$, que sostiene que el lugar de origen de la muestra vegetal no tiene influencia significativa sobre el rendimiento de aceite esencial de molle.

Por ende, al observar el cuadro anterior (cuadro N° 14) y comparar los totales y las medias para cada lote, se aprecia que el lote proveniente de la provincia de Tarata registra mayores valores que el lote del CPM de Los Palos, aunque estadísticamente la diferencia no sea significativa, es lógico pensar en la dependencia de la calidad de un aceite esencial con sus múltiples variables extrínsecas (clima, suelo, radiación solar, requerimiento hídrico, momento de cosecha del material vegetal y fundamentalmente la técnica utilizada para su obtención) (Bandoni *et al.*, 2009); en este caso, las condiciones de altitud en las zonas de recolección: 550 m.s.n.m. (Los Palos) y 3100 m.s.n.m. (Tarata), que significan mayor incidencia de luz solar y precipitaciones fluviales abundantes para el distrito de Tarata, pudieron incrementar los porcentajes de rendimiento en los frutos, lo cual habría fijado la diferencia en el rendimiento de los aceites favoreciendo al lote de Tarata (SENAMHI-Tacna, 2009; Acosta de la Luz, 2003).

Pese a ello, el tratamiento estadístico evidencia que la influencia de estos factores no es significativa, esto corrobora el estudio realizado por Viturro *et al.* (2010), quienes fijaron como reales factores de variabilidad de la calidad del aceite esencial de molle latinoamericano, al tiempo de extracción, al método de extracción y a la parte extraída de la planta; por lo cual, el lugar de origen de la materia prima (CPM de Los Palos y distrito

de Tarata) no es un factor que influye de manera significativa sobre el rendimiento del aceite esencial de molle.

5.3. INFLUENCIA DEL LUGAR DE ORIGEN EN LAS CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DEL ACEITE ESENCIAL DE MOLLE

La evaluación se realizó sometiendo las muestras a una prueba de comparación múltiple, donde tres muestras de aceites esenciales de molle, el aceite del lote N° 01 (Los Palos), del lote N° 02 (Tarata) y la muestra comercial proveniente de Lima, fueron comparados en cuanto a color, olor y sabor, utilizando las hojas de evaluación descritas en el anexo N° 07 (Wittig, 2001).

Debido a que se realizaron diez pruebas para cada propiedad sensorial, los resultados se describen a continuación por separado.

5.3.1. COLOR

Los datos hallados en la prueba de comparación múltiple para el color se encuentran ordenados en el cuadro N° 15.

Cuadro N° 15.- Evaluación de color en tres muestras de aceite esencial de molle.

Decisión de los jueces	Origen de muestra vegetal			Total	Media
	2953	8147	6032		
Más color que "P" (patrón)	0	0	1	1	1,00
Igual color que "P"	0	2	7	9	3,00
Menos color que "P"	10	8	2	20	6,66
Ligeramente diferente	2	5	2	9	3,00
Moderadamente diferente	5	4	0	9	3,00
Muy diferente	2	1	0	3	1,00
Extremadamente diferente	1	0	1	2	0,66
Totales	20	20	13	53	
Medias	2,85	2,85	1,85		2,61

Donde: 2953: Aceite esencial "Los Palos"; 8147: Aceite esencial "Tarata", y 6032: Patrón (aceite esencial comercial "Lima").

Fuente: Elaboración propia (2011).

En consecuencia del procesamiento de datos (Anexo N° 09), se determinó que no había diferencia significativa entre el color de la muestra de Los Palos y el color de la muestra de Tarata, ambos aceites son transparentes y ligeramente amarillos. Según Viturro *et al.* (2010) el aceite esencial de molle tiene un color característico, es ligeramente amarillo y límpido, de lo contrario es incoloro. La variación del color se debe principalmente al tiempo y técnica de extracción, ya que éstos son condicionantes de la transmisión de calor a la que se expone el aceite esencial, el cambio de color se daría en el momento de la acumulación del aceite, aquí el producto puede sufrir degradación química en presencia de

la luz solar, del aire, y del calor (Albarracín y Gallo, 2003). De esta manera la razón predominante para la variación del color en el aceite esencial de molle es la oxidación, más no el factor de origen.

5.3.2. OLOR

Los datos hallados en la prueba de comparación múltiple para el olor se encuentran ordenados en el cuadro N° 16.

Cuadro N° 16.- Evaluación de olor en tres muestras de aceite esencial de molle.

Decisión de los jueces	Origen de muestra vegetal			Total	Media
	2953	8147	6032		
Más olor que "P" (patrón)	3	4	4	11	3,66
Igual olor que "P"	1	1	4	6	2,00
Menos olor que "P"	6	5	2	13	4,33
Ligeramente diferente	2	5	2	9	3,00
Moderadamente diferente	5	0	3	8	2,66
Muy diferente	2	4	1	7	2,33
Extremadamente diferente	0	0	0	0	0,00
Totales	19	19	16	54	
Medias	2,71	2,71	2,28		2,57

Donde: 2953: Aceite esencial "Los Palos"; 8147: Aceite esencial "Tarata"; 6032: Patrón (aceite esencial comercial "Lima").

Fuente: Elaboración propia (2011).

Como resultado del procesamiento estadístico de los datos (Anexo N° 10), se aceptó la hipótesis H_0 que indica, no existe diferencia significativa entre el olor de cada muestra; los aceites de ambos lotes, de

Tarata y de Los Palos, poseen olor herbáceo penetrante y ligeramente mentolado. La característica primordial en cuanto al olor del aceite esencial de molle, es que es muy aromático, y esto se debe principalmente a la presencia de compuestos volátiles del tipo monoterpenoide que posee, como describe el cuadro N° 18 (*“Características físico-químicas del aceite esencial de molle”*, pág. N° 105), los compuestos identificados para ambos lotes fueron los mismos, por lo cual ambas muestras presentaron un aroma semejante, cuyas diferencias no fueron perceptibles por los panelistas semi-entrenados que participaron en la prueba. Lo que quiere decir que el lugar de origen no influyó en forma significativa en el olor del aceite esencial de molle. Sin embargo, la bibliografía consultada (Viturro *et al.*, 2010) registra en el país de México y el estado de California, que el aceite esencial de molle posee olor a especias, cercano al de la pimienta; esta variación es dable ya que el factor de influencia no es necesariamente el lugar de origen, sino el taxón botánico de la planta y su consecuente variación en la composición volátil de la misma, además del método de extracción usado (no especificado).

5.3.3. SABOR

Los datos hallados en la prueba de comparación múltiple para el olor se encuentran ordenados en el cuadro N° 17.

Cuadro N° 17.- Evaluación de sabor en tres muestras de aceite esencial de molle.

Decisión de los jueces	Origen de muestra vegetal			Total	Media
	2953	8147	6032		
Más sabor que “P” (patrón)	6	6	2	14	4,66
Igual sabor que “P”	1	2	3	6	2,00
Menos sabor que “P”	3	2	5	10	3,33
Ligeramente diferente	2	0	4	6	2,00
Moderadamente diferente	2	1	2	5	1,33
Muy diferente	4	4	0	8	2,66
Extremadamente diferente	1	3	1	5	1,66
Totales	19	18	17	54	
Medias	2,71	2,57	2,42		2,52

Donde: 2953: Aceite esencial “Los Palos”; 8147: Aceite esencial “Tarata”; 6032: Patrón (aceite esencial comercial “Lima”).

Fuente: Elaboración propia (2011).

Luego del procesamiento estadístico de datos (Anexo N° 11), se aceptó la hipótesis H_0 , determinando que no hay diferencia significativa entre el sabor de cada muestra, ambos aceites pertenecientes al lote N° 01 de Los Palos, y al Lote N° 02 de Tarata, poseen sabor herbáceo persistente y ligeramente amargo.

Se sabe que el sabor y olor de las materias orgánicas se deben a las sustancias químicas poseen (Cerutti y Neumayer, 2004), en este caso el sabor herbáceo de las muestras se debe al contenido de ésteres y a los elementos volátiles encontrados en los ellas (ver cuadro N° 18 “*Características físico-químicas del aceite esencial de molle*”, pág. 105),

ambos aceites poseen una presencia similar de estos metabolitos volátiles secundarios, lo cual da a lugar a la semejanza en el sabor de las mismas; por lo cual, el lugar de origen no pudo influenciar de manera significativa en el sabor del aceite esencial de molle; la principal causa de variabilidad en el sabor sería la formación de otros compuestos como producto de la oxidación.

5.4. CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LOS ACEITES ESENCIALES

Las características evaluadas fueron rendimiento, índice de refracción, densidad y densidad relativa, punto de congelación, índice de acidez, índice éster, identificación de elementos volátiles (por análisis cromatográfico), y análisis sensorial.

En el cuadro N° 18 se resumen los valores resultantes de las evaluaciones realizadas.

Cuadro N° 18.- Características físico-químicas del aceite esencial de molle.

Característica		Aceite esencial “Los Palos”	Aceite esencial “Tarata”
Rendimiento (V/P)		6,575%	7,705%
Índice de refracción		1,478	1,477
Densidad	Densidad (g/cm ³)	0,846	0,831
	Densidad relativa	0,847	0,832
Punto de congelación		-35°C	-35°C
Índice de acidez (mg KOH/g) en ácido linoleico		6,023	12,718
Índice de éster		17,008	23,148
Metabolitos volátiles secundarios, identificados en el análisis cromatográfico GC-FID		Limoneno, α-pineno, β-pineno, β-mirceno, α-felandreno	Limoneno, α-pineno, β-pineno, β-mirceno, α-felandreno
Características sensoriales	Color	Transparente, ligeramente amarillo	Transparente, ligeramente amarillo
	Olor	Herbáceo, penetrante y ligeramente mentolado	Herbáceo, penetrante y ligeramente mentolado
	Sabor	Herbáceo, persistente y ligeramente amargo	Herbáceo, persistente y ligeramente amargo

Fuente: Elaboración propia (2011).

5.4.1. RENDIMIENTO

5.4.1.1. Rendimiento del aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 01 (Los Palos)

Los rendimientos de aceite esencial alcanzados por las muestras vegetales de molle, se expresan en el cuadro N° 19. La relación con la que se trabajó fue de volumen de aceite/peso de muestra vegetal (V/P).

Cuadro N° 19.- Rendimiento porcentual (%R) de aceite esencial de molle para el lote N° 01.

Código de muestra	%R (V/P)
LP - 01	5,10
LP - 02	6,80
LP - 03	6,00
LP - 04	8,40

Fuente: Elaboración propia (2011).

Los rendimientos de aceite esencial obtenidos se encuentran dentro de los rangos registrados para frutos maduros y secos, que según Viturro *et al.* (2010) son de 5,3 a 5,6%; y según Figmay S.R.L. va de 5 a 7%.

En la figura N° 31 (pág. 108), se presenta el balance de masa para el proceso extractivo del aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 01 (Los Palos). Este es un proceso continuo, donde se obtuvo un

5,34% en aceite esencial del total de la materia prima entrante al sistema; este balance también brinda una perspectiva de rendimiento.

Según el balance de masa realizado, la materia prima que son los frutos del molle, el agua generadora de vapor, y el agua de refrigeración, son los únicos insumos que ingresan al proceso de extracción de aceite, en donde el agua de refrigeración se puede recuperar y el agua del vapor condensado también, esta última bajo el nombre de agua floral útil también en formulaciones farmacológicas y en bio-preparados para el control de plagas (Aldana, 2005).

Así mismo, la “torta” resultante de la extracción, compuesta por frutos hidratados del molle, no se puede recuperar para darle un uso directo, sin embargo, puede intervenir en mezclas de alimento para ganado o de abono orgánico, como por ejemplo, en la elaboración de compost y purines (fertilizantes orgánicos) (IPES / FAO, 2010).

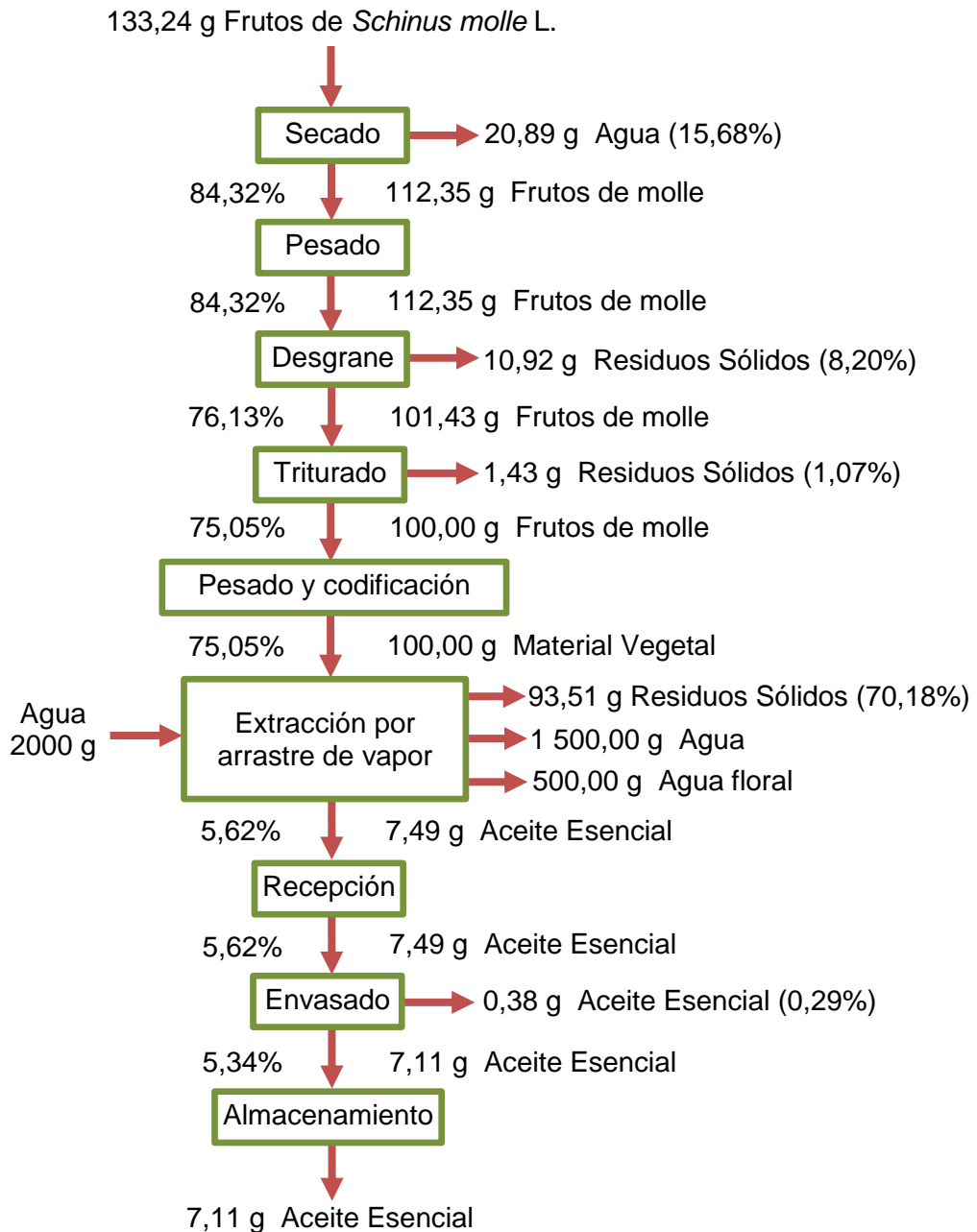


Figura N° 31.- Balance masa para el proceso extractivo del aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 01 (Los Palos).

Fuente: Elaboración propia (2011).

También se evaluó el rendimiento porcentual del aceite, en función al tiempo de extracción, por un periodo de 2 horas. Las lecturas se encuentran en el cuadro N° 20 a partir del cual se genera la gráfica “%R” versus “t (min)” (figura N° 32).

Cuadro N° 20.- Rendimiento porcentual (%R) con respecto al tiempo de extracción.

Tiempo (min)	%R (V/P)
10	5,50
20	2,50
30	0,30
40	0,15
50	0,25
80	0,39
120	0,21

Fuente: Elaboración propia (2011).

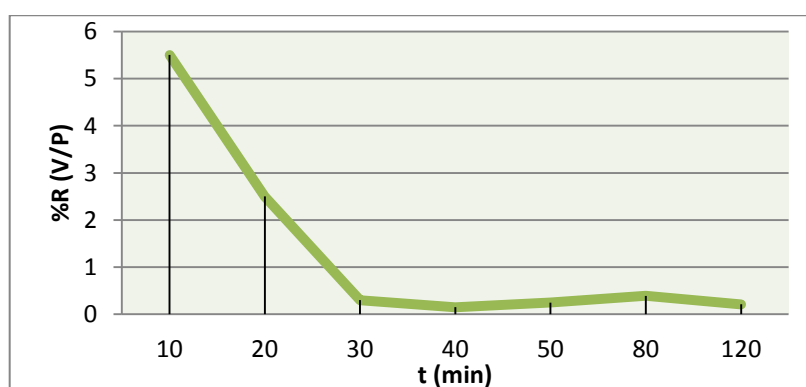


Figura N° 32.- Porcentaje de rendimiento (%R) de aceite esencial “Los Palos” frente al tiempo de extracción en minutos t (min).

Fuente: Elaboración propia (2011).

De acuerdo a este modelo de rendimiento versus tiempo de extracción, se puede apreciar que el mayor rendimiento se registró en los primeros 10 min del proceso de extracción, que en comparación al total, vendría a significar un 59,78% del volumen total de aceite obtenido en un periodo de 2 h. Pero al evaluar este porcentaje para un periodo de 1 h de extracción (que fue el tiempo adoptado para la obtención de muestras de aceite esencial en este estudio) el aceite obtenido en los primeros 10 min representan el 61,94% del total de aceite extraído.

Este fenómeno se debe principalmente a que los frutos del molle se encontraban triturados, esto favoreció la influencia del tratamiento térmico en el primer tiempo del proceso de extracción, basado en que las gotitas de aceite, de dimensiones ultramicroscópicas que están repartidas en la masa de la semilla (mayormente en el mesocarpio), por efecto de la elevación de la temperatura se unen entre ellas para originar gotitas más grandes, que salen más fácilmente de la masa del fruto por encontrarse éste fragmentado (IIAP, 2012). A los diez primeros minutos se transfieren al vapor con mayor rapidez las gotitas de aceite libre que se encuentran en los depósitos resinosos del mesocarpio del fruto, después de este rango de tiempo, el rendimiento decrece ya que los aceites contenidos en el endocarpio y en la misma semilla se encuentran bastante dispersos y en menor cantidad, existe un porcentaje de este aceite que está contenido

en estado de emulsión con las proteínas, y toma mayor tiempo calentar la masa para provocar la desnaturalización de estas proteínas, con la consiguiente rotura de la emulsión, y por tanto la separación del aceite.

5.4.1.2. Rendimiento del aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 02 (Tarata)

Los rendimientos de aceite esencial alcanzados por las muestras, figuran en el cuadro N° 21. Se trabajó en relación volumen de aceite/peso de muestra vegetal.

Cuadro N° 21.- Rendimiento porcentual (%R) de aceite esencial de molle para el lote N° 02.

Código de muestra	%R (V/P)
T - 05	7,42
T - 06	6,00
T - 07	8,60
T - 08	8,80

Fuente: Elaboración propia (2011).

Los rendimientos obtenidos de aceite esencial para el lote N° 02 (Tarata), se encuentran dentro de los rangos registrados para frutos maduros y secos de molle, que según Viturro *et al.* (2010) es de 5,3 a 5,6%; y según Figmay S.R.L. va de 5 a 7%; incluso, en este caso se

superó la expectativa, llegando a obtener hasta 8,8%. Aparentemente el lote de Tarata no solo supera en rendimiento a los registros bibliográficos, sino también al lote de Los Palos, las principales razones son la mayor incidencia de luz solar y las abundantes precipitaciones fluviales que hay en el distrito de Tarata, sin embargo la influencia de estos factores se explica mejor en el apartado 5.2. *“Influencia del lugar de origen en el rendimiento del aceite esencial de molle”* (págs. 97 y 98).

En la figura N° 33, se presenta el balance de masa para el proceso extractivo del aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 02 (Tarata), que es continuo y de donde se obtuvo un 5,62% en aceite, del total de la materia prima entrante al sistema. En este caso (como se acotó para el proceso extractivo del aceite esencial de Los Palos), el agua de refrigeración, el agua del vapor condensado y la “torta” resultante de la extracción, pueden ser reciclados para incluirlos en la elaboración de otros productos (Aldana, 2005; IPES / FAO, 2010).

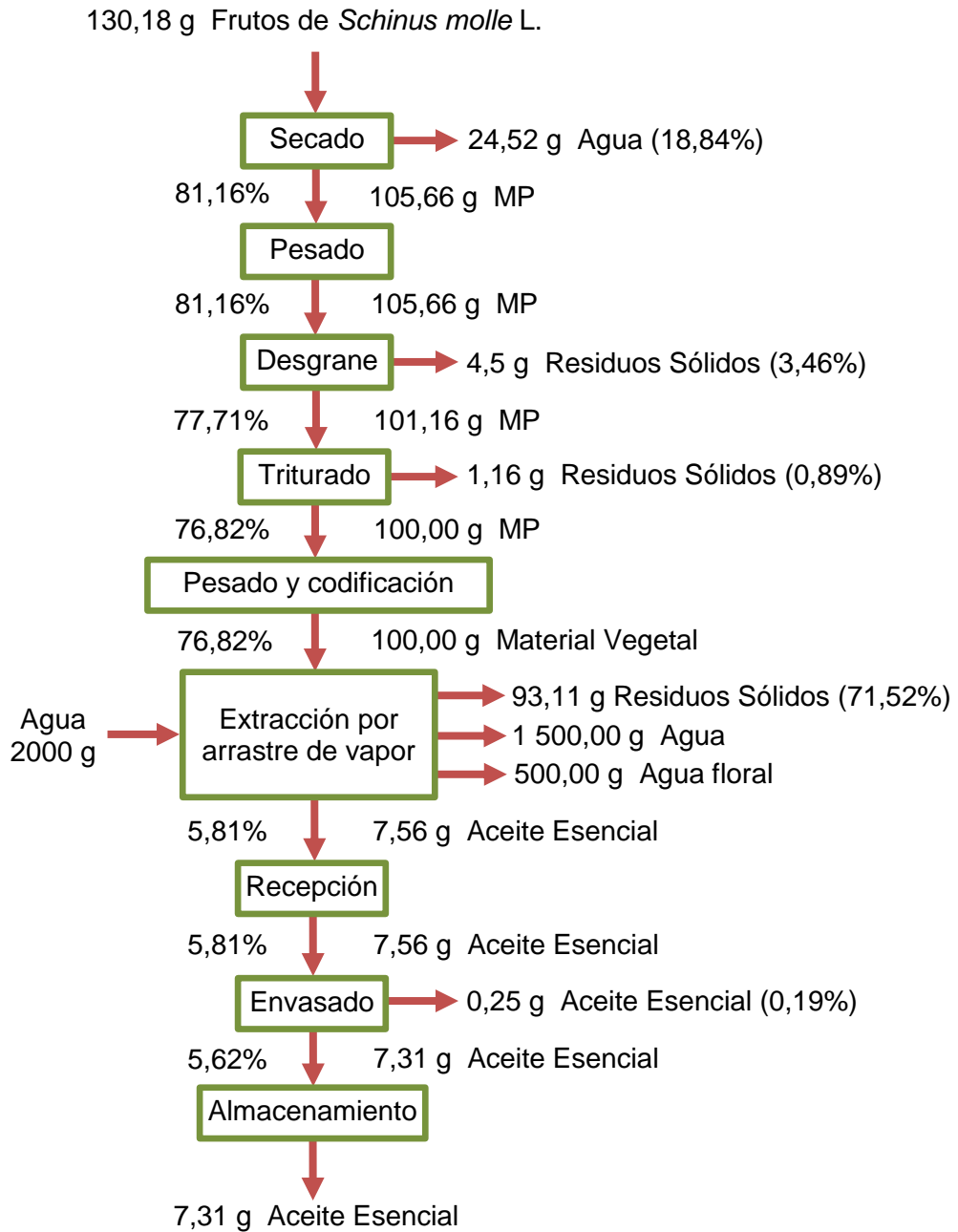


Figura N° 33.- Balance masa para el proceso extractivo del aceite esencial de molle, perteneciente al lote N° 02 (Tarata).

Fuente: Elaboración propia (2011).

De igual forma, se evaluó el porcentaje de rendimiento (%R) de este aceite, en función al tiempo de extracción (t), por un periodo de 2 horas. Las lecturas se registran en el cuadro N° 22, a partir del cual se ha elaborado la gráfica “%R” versus “t (min)” (figura N° 34).

Cuadro N° 22.- Rendimiento porcentual (%R) con respecto al tiempo de extracción.

Tiempo (min)	%R (V/P)
10	1,30
20	4,10
30	1,00
40	0,40
50	0,45
80	0,15
120	1,00

Fuente: Elaboración propia (2011).

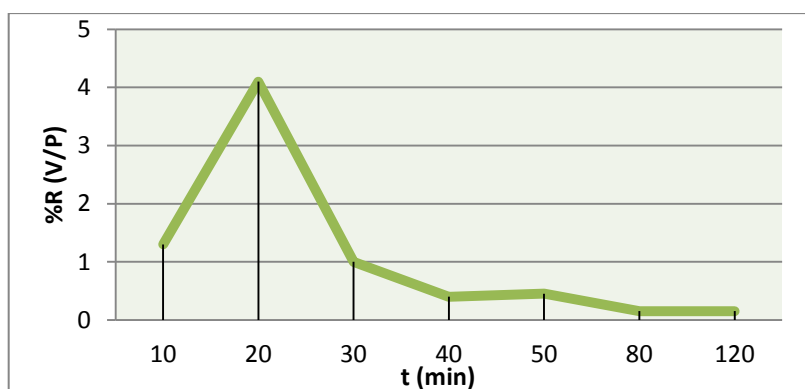


Figura N° 34.- Porcentaje de rendimiento (%R) de aceite esencial “Tarata” frente al tiempo de extracción en minutos (t min).

Fuente: Elaboración propia (2011).

Conforme a la gráfica anterior, el mayor rendimiento se registró a los 20 min de iniciado el proceso de extracción, este volumen de aceite obtenido representa un 47,13% del total, para un tiempo de extracción de 2 h; pero al evaluar este porcentaje para un periodo de 1 h de extracción (que es el tiempo adoptado para la obtención de muestras de aceite esencial en este estudio) el aceite obtenido a los 20 min representan el 61,94% del total de aceite extraído.

De la misma manera que para el aceite esencial del lote N° 01 de Los Palos, para el lote N° 02 de Tarata, la ruptura previa de los frutos también facilitó en gran manera el desprendimiento de los aceites esenciales, sin embargo, en este caso no se obtuvo el mayor rendimiento a los primeros 10 min del proceso, sino que fueron durante los 10 min siguientes cuando se acumuló la mayor parte de aceite esencial, este comportamiento se explica a que los árboles de Tarata desarrollaron mejor sus tejidos vegetales, por lo cual sus tejidos son más firmes y compactos, de tal forma que la salida de los aceites al exterior de las cavidades que los contienen es más dificultosa; esto gracias a que el agua es uno de los recursos más importantes que se pueden encontrar en esa provincia ya que tiene mayor incidencia de precipitaciones fluviales en comparación con el CPM de Los Palos lo que le da una potencialidad para el desarrollo agropecuario (INDECI, 2004).

5.4.2. ÍNDICE DE REFRACCIÓN

5.4.2.1. Índice de refracción del aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 01 (“Los Palos”)

El índice de refracción leído es igual a 1,475 a una temperatura de medición de 27,5°C, este resultado fue corregido a la temperatura de 20°C, dando un valor final de 1,478.

Según Viturro *et al.* (2010), el índice de 1,478 se encuentra dentro de un rango común de 1,474 -1,478, registrado para el aceite esencial de molle (obtenido de frutos maduros) en Latinoamérica. Así mismo, este valor es ligeramente elevado en comparación a los índices de refracción de otros aceites vegetales, como el aceite de sachá inchi (1,48), algodón (1,463-1,472), palma (1,433-1,456), o el de girasol (1,472-1,474) (IIAP, 2012). Fennema (1993) dice que el índice de refracción de las grasas aumenta con la longitud de la cadena hidrocarbonada y el número de enlaces dobles de la cadena, entonces, en el aceite de molle existe una considerable cantidad de cadenas de ácidos grasos largos insaturados, esto se corrobora con el resultado hallado para el índice de acidez, cuadro N° 18 (Pág. 105), donde se muestra que el aceite esencial de molle de Los Palos tiene un elevado índice de acidez de 6,023 mg KOH/g en ácido linoleico.

5.4.2.2. Índice de refracción del aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 02 (“Tarata”)

El índice de refracción leído fue de 1,476 9 a una temperatura de medición de 19,4°C, este resultado fue corregido a la temperatura de 20°C, dando un índice de refracción final de 1,477. El índice hallado, según Viturro *et al.* (2010) se encuentra dentro del rango de 1,474 - 1,478, común para los aceites esenciales de molle (de frutos maduros) en Latinoamérica. De la misma forma que ocurrió con el aceite esencial del lote N° 01 (Los Palos), en este caso, el valor del índice de refracción 1,477 también es ligeramente elevado en comparación a los índices registrados para otros aceites vegetales.

5.4.3. DENSIDAD Y DENSIDAD RELATIVA

5.4.3.1. Densidad y densidad relativa del aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 01 (“Los Palos”)

El aceite esencial presenta una densidad de 0,846 g/cm³ y una densidad relativa de 0,847.

Donde el valor de la densidad se encuentra dentro del rango registrado por la bibliografía, de acuerdo con Viturro *et al.* (2010) el aceite esencial de frutos maduros del molle en Latinoamérica, puede ir desde

0,829 2 g/cm³ a 0,844 9 g/cm³. En comparación con la densidad de otros aceites esenciales, como los de sachá inchi (0,926 9 g/cm³) y linaza (0,931 g/cm³), los valores de densidad del aceite esencial de molle de Los Palos, son bajos, debido al alto contenido en hidrocarburos terpénicos (los diterpenos poseen densidades más elevadas) y en general a la predominante presencia de componentes volátiles (Gorriti *et al.*, 2010; Albaladejo, 1999).

5.4.3.2. Densidad y densidad relativa del aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 02 (“Tarata”)

El valor determinado para la densidad del aceite fue de 0,831 g/cm³ y la densidad relativa fue de 0,832.

En cuanto a la densidad, Viturro *et al.* (2010) registra un rango de 0,829 2 g/cm³ a 0,844 9 g/cm³ para el aceite esencial de frutos maduros del molle en Latinoamérica por lo cual, los valores hallados en esta determinación también se encuentran dentro de un rango común.

Al igual que sucedió con el aceite esencial de molle de Los Palos, los valores de densidad hallados son bajos con respecto a otros aceites esenciales, debido a su alto contenido en hidrocarburos terpénicos y a la presencia de componentes volátiles (Gorriti *et al.*, 2010; Albaladejo, 1999). No obstante el aceite esencial de molle de Tarata, obtuvo valores

inferiores en densidad ($0,831 \text{ g/cm}^3$) y densidad relativa (0,832), en comparación a su similar de Los Palos, densidad ($0,846 \text{ g/cm}^3$) y densidad relativa (0,847); esto obedece a la relación registrada por Albaladejo (1999), que supone que el índice de refracción es directamente proporcional a la densidad del aceite (en algunos tipos de aceites), ya que este valor de índice de refracción fue superior en el caso de Los Palos (1,478) en comparación al de Tarata (1,477).

5.4.4. PUNTO DE CONGELACIÓN

5.4.4.1. Punto de congelación del aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 01 (“Los Palos”)

En el túnel de congelación se registró la mínima temperatura de -35°C , límite en el cual se observó cambios en la muestra, como solidificación y precipitación de ceras, acompañado de un leve enturbiamiento del aceite.

Entonces, para alcanzar el punto de congelamiento de este aceite se necesitan temperaturas menores a -35°C , ya que a esta temperatura solo se logró un leve enturbiamiento, y el punto de congelación se alcanza siempre a temperatura inferior a la del enturbiamiento, ahora bien, el punto de enturbiamiento se alcanza cuando las parafinas y otras sustancias disueltas en el aceite se separan del mismo y forman cristales,

adquiriendo así un aspecto turbio, lo siguiente es que los cristales crecen y forman mallas que impiden el flujo del aceite (Tormos, 2005); en la experiencia que se tuvo con el aceite esencial de molle de Los Palos, fue una cantidad muy pequeña de ceras (que no se pudo cuantificar) la que llegó a cristalizarse y sedimentar a -35°C , éste es un indicativo de que la presencia de residuos sólidos no volátiles o viscosos es muy baja en el aceite estudiado y por tal, es necesario someter el aceite a temperaturas mucho más bajas para determinar el punto de congelación; esta característica le ofrece una ventaja operacional al aceite esencial de molle, ya que puede participar de procesos que se efectúen a muy bajas temperaturas ambientales.

5.4.4.2. Punto de congelación del aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 02 (“Tarata”)

De igual manera, la temperatura mínima a la que se manifestaron los cambios físicos en la muestra fue de -35°C , estos cambios fueron la solidificación y precipitación de ceras, leve enturbiamiento e intensificación de color (de amarillento a naranja), éste último, debido a la oxidación del aceite esencial a causa del ingreso de oxígeno al contenedor de la muestra o por contaminación de la misma en el manipuleo. Al igual que para el aceite esencial de Los Palos, en este

caso, también se necesita temperaturas inferiores a -35°C para lograr cambios físicos más drásticos que evidencien el congelamiento del aceite.

5.4.5. ÍNDICE DE ACIDEZ

5.4.5.1. Índice de acidez del aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 01 (“Los Palos”)

El índice de acidez que se halló para la muestra fue de 6,023 mg KOH/g en ácido linoleico (Carrere, 2009), no se halló otro referente bibliográfico para definir el ácido graso predominante, sin embargo, la presencia de este ácido linoleico (que es un ácido graso insaturado) es común en grasas y aceites de origen vegetal, y en muchos casos proviene de semillas (Fennema, 1993). Además, las grasas menos saturadas tienden a ser líquidas a temperatura ambiente (Wilmore y Costill, 2004), y el aceite esencial de molle de Los Palos es notoriamente líquido a temperaturas superiores a -35°C y posee una densidad baja ($0,846\text{ g/cm}^3$).

Según el Codex 19-1981 (enmienda del 2009) el valor del índice de acidez para los aceites comestibles, los aceites vírgenes, y los prensados en frío es de 4,0 mg de KOH/g, lo cual es indicativo de que el aceite esencial de molle Los Palos no es apto para el consumo humano.

5.4.5.2. Índice de acidez del aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 02 (“Tarata”)

El índice de acidez determinado fue de 12,718 mg KOH/g, en ácido linoleico (Carrere, 2009). Sin mayores referentes bibliográficos para hacer comparaciones.

De igual manera, que para el aceite esencial “Los Palos” -en este caso- también hubo un alto contenido de ácidos grasos del tipo insaturado; así mismo el aceite no es apto para el consumo humano, según el Codex 19-1981 (enmienda del 2009) donde el valor del índice de acidez para los aceites comestibles, los aceites vírgenes, y los prensados en frío es de 4,0 mg de KOH/g.

5.4.6. ÍNDICE DE ÉSTER

5.4.6.1. Índice de éster del aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 01 (“Los Palos”)

El valor determinado para el índice de éster fue de 17,008, que es menor al índice de éster hallado para el aceite esencial de molle de Tarata (23,148), lo que permitió corroborar la presencia de mayor cantidad de ácidos grasos libres en el aceite esencial de molle de Los Palos, debido a que en el ensayo se saponifican los lípidos completamente

esterificados. No hay registros bibliográficos sobre el contenido de ésteres en el aceite esencial de molle, sin embargo en el estudio realizado por Viturro *et al.* (2010) se halló la presencia de ácidos y compuestos aromáticos en el aceite que poseen radicales éster como el octanoato de metilo, también conocido como caprilato de metilo, este compuesto aislado y en su forma líquida tiene una densidad de 0,8700 - 0,8850 g/cm³ y posee un olor penetrante, afrutado (Lluch Essence s.l., 2011).

Aunque el aceite esencial de molle tiene una mezcla compleja de compuestos aromáticos volátiles (terpenos en general), sus ésteres como el octanoato de metilo, también son componentes que le confieren al aceite esencial el fuerte aroma que lo caracteriza.

5.4.6.2. Índice de éster del aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 02 (“Tarata”)

El índice de éster para este aceite es de 23,148, que es mayor al índice de éster hallado para el aceite esencial de molle de Los Palos (17,008), de ahí que el aceite esencial de molle de Tarata contiene menos ácidos grasos libres y más ácidos esterificados que su similar de Los Palos. Por ende, el aceite esencial del lote N° 02 (Tarata), posee mayor cantidad de compuestos con cualidades aromáticas y enlaces éster, entre los cuales se encuentra el caprilato de metilo.

5.4.7. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

5.4.7.1. Metabolitos volátiles secundarios del aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 01 (“Los Palos”)

De acuerdo al análisis de cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC-FID), el cromatograma resultante (Anexo N° 13) registró cinco picos que representan los cinco metabolitos volátiles mayoritarios presentes en la muestra de aceite. Para identificar tales compuestos fue necesario comparar el tiempo de retención experimental en minutos, con el tiempo de retención teórico también en minutos; ya que en el ensayo, a la salida de la columna cada componente es registrado por el detector en un determinado tiempo y bajo la forma de picos; estos tiempos fueron comparados con tiempos de retención estándares establecidos para cada tipo de compuesto (estándares pertenecientes al laboratorio N° 12 de la Universidad Nacional de Ingeniería de Lima, Perú).

El tiempo de retención experimental, el tiempo de retención teórico y el área de cada pico, se registran en el cuadro leyenda del mismo cromatograma (Anexo N° 12). Los elementos identificados según su tiempo de retención, se registran en el cuadro N° 23.

Cuadro N° 23.- Tiempos de retención e identificación de los metabolitos secundarios aislados por GC-FID de la muestra de aceite esencial de molle para el lote N° 01 (Los Palos).

N°	TRE (min)	TRT (min)	% Área	Identificación
1	3,26	3,26	0,022	Limoneno
2	5,15	5,01	0,100	α -pineno
3	5,76	5,88	0,035	β -pineno
4	5,97	6,25	0,031	β -mirceno
5	7,25	6,62	0,010	α -felandreno

Donde: TRE (min): Tiempo de retención experimental en minutos; TRT (min): Tiempo de retención teórico en minutos; GC-FID: cromatografía de gases con detector de ionización de llama FID.

Fuente: Universidad Nacional de Ingeniería (2012).

De acuerdo a los estudios precedentes, como los de Viturro *et al.* (2010), los elementos identificados en el cuadro anterior, pertenecen al grupo de componentes característicos del aceite esencial de molle peruano (Ayacucho), a excepción del β -mirceno; no obstante Viturro *et al.* (2010) lograron reconocer otros compuestos como el *p*-cimeno, Δ -cadineno, T-cariofileno, D-germacreno, B-germacreno, aunque en proporciones muy bajas.

5.4.7.2. Metabolitos volátiles secundarios del aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 02 (“Tarata”)

El análisis cromatográfico de gases con detector FID, produjo un cromatograma que también registró cinco picos (Anexo N° 13), éstos corresponden a los cinco elementos más relevantes que componen la muestra de aceite esencial. La identificación de los compuestos se realizó mediante la comparación del tiempo de retención experimental con el tiempo de retención teórico para cada elemento. Así mismo, tales elementos se registran en el cuadro N° 24.

Cuadro N° 24.- Tiempos de retención e identificación de los metabolitos secundarios aislados por GC-FID de la muestra de aceite esencial de molle para el lote N° 02 (Tarata).

N°	TRE (min)	TRT (min)	% Área	Identificación
1	3,26	3,26	0,049	Limoneno
2	5,15	5,01	0,103	α -pineno
3	5,75	5,88	0,029	β -pineno
4	5,96	6,25	0,028	β -mirceno
5	7,25	6,62	0,004	α -felandreno

Donde: TRE (min): Tiempo de retención experimental en minutos; TRT (min): Tiempo de retención teórico en minutos; GC-FID: cromatografía de gases con detector de ionización de llama FID.

Fuente: Universidad Nacional de Ingeniería (2012).

Así como sucedió con el aceite esencial del lote N° 01 (Los Palos), para el aceite del lote N° 02 (Tarata) los elementos identificados en la muestra también concuerdan con el grupo de componentes característicos para el aceite esencial del molle peruano (Ayacucho) registrado por Viturro *et al.* (2010), a excepción del β -mirceno. De igual manera hay que resaltar que los metabolitos secundarios volátiles identificados para ambos lotes son solamente los mayoritarios, por ende, existen muchos otros componentes que forman parte de los aceites, que no han podido ser reconocidos por el equipo de cromatografía de gases con detector FID perteneciente a la Universidad Nacional de Ingeniería.

5.4.7.3. Descripción e importancia de los metabolitos volátiles hallados en los aceites esenciales de molle

a) *Limoneno*:

- Fórmula química: $C_{10}H_{16}$
- Nombre IUPAC: 4-isopropenil-1-metilciclohexeno
- Estructura molecular:

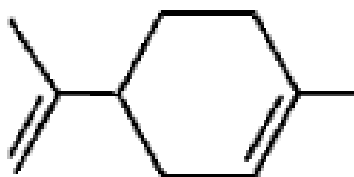


Figura N° 35: Estructura molecular del limoneno.

Fuente: Quiminet (2009).

El limoneno tiene un amplio uso en la industria farmacéutica y alimentaria como aromatizante y para dar sabor. Es usado, por ejemplo, en la obtención de sabores artificiales y en la fabricación de dulces, bebidas o goma de mascar. También es empleado como disolvente de resinas, pigmentos, tintas, pinturas, en la fabricación de adhesivos o como aditivo en fragancias. Otro de sus usos es el de insecticida porque no es tóxico para los seres humanos y animales domésticos, ni perjudicial para la jardinería. Estudios recientes apuntan a que el limoneno tiene efectos anticancerígenos, los últimos experimentos demuestran que el limoneno en la dieta reduce el crecimiento tumoral en mamíferos. Donde el limoneno actúa como inhibidor de la reacción de isoprenilación, como un mecanismo para prevenir la expresión oncogénica y controlar de esa manera el crecimiento celular (Citrotecno, 2011; Chasquibol *et al.*, 2003).

b) α -pineno:

- Fórmula química: $C_{10}H_{16}$
- Nombre IUPAC: 2, 6, 6-trimetilbicyclo [3.1.1] hept-2-en
- Estructura molecular:

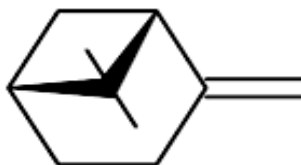


Figura N° 36: Estructura molecular del α -pineno.

Fuente: Palá (2002).

El α -pineno es un monoterpeno muy frecuente, que está presente en la mayoría de los olores de los frutos y de la madera; y se emplea como desodorante por su agradable olor a pino, y se encuentra en la mayoría de los limpiadores y desodorantes de uso cotidiano (AiroCide, 2006).

c) β -pineno:

- Fórmula química: C₁₀H₁₆
- Nombre IUPAC: 6,6-dimetil-2-metilenebicyclo [3.1.1] heptano
- Estructura molecular:

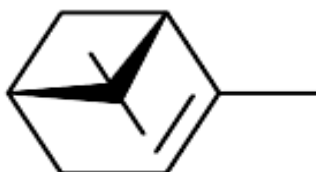


Figura N° 37: Estructura molecular del β -pineno.

Fuente: Palá (2002).

El β -pineno es un monoterpeno bicíclico, empleado principalmente en la producción de mirceno y geraniol, resinas terpénicas, y como precursor para producir acetato de nopilo, el cual se utiliza para la elaboración de perfumes; así mismo, el β -pineno reacciona con paraformaldehído para formar el nopol, un alcohol utilizado en diversos productos de uso doméstico y como materia prima para la obtención de otros compuestos sintéticos (Alarcón *et al.*, 2005).

En general, los pinenos son de gran valor como precursores de fragancias; precisamente la industria de fragancias y saborizantes consume aproximadamente 30 000 toneladas por año de pinenos, los cuales se usan para producir un amplio rango de compuestos, siendo el 84% de ellos obtenidos por síntesis química. Sus productos de oxidación más frecuentes son verbenol (se usa directamente como aditivo o para producir variedad de compuestos fragantes y vitaminas), verbenona y aldehído camfolénico; ya sea para su uso directo o como intermediarios de otros químicos finos, por ejemplo, citral, mentol, taxol y vitaminas A y E (Rojas *et al.*, 2009; Castellanos, 2007).

d) *β*-mirceno:

- Fórmula química: C₁₀H₁₆
- Nombre IUPAC: 7-metil-3-metileno-1,6-octadieno
- Estructura molecular:



Figura Nº 38: Estructura molecular del *β*-mirceno.

Fuente: Nobre *et al.* (2000).

El dicho *β*-mirceno es un intermediario para la producción de diversas fragancias; también se demostraron sus efectos tóxicos en

ratones y se están desarrollando estudios preclínicos en humanos sobre su utilización como analgésico.

También se ha demostrado que el β -mirceno produce inducción de mono-oxigenasas hepáticas y del citocromo P450, por lo tanto sería un inductor enzimático para el metabolismo de xenobióticos (Zeinsteger *et al.*, 2003).

e) α -felandreno:

- Fórmula química: $C_{10}H_{16}$
- Nombre IUPAC: 2-methyl-5-(1-methylethyl)-1,3-cyclohexadiene
- Estructura molecular:

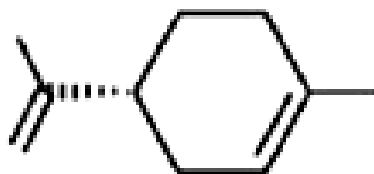


Figura N° 39: Estructura molecular del α -felandreno.

Fuente: Nobre *et al.* (2000).

El α -felandreno tiene aplicaciones industriales mayormente como un producto químico para síntesis; participando en mezclas con otros metabolitos volátiles como el pineno y limoneno, para aromatizar bebidas, licores, perfumes, dentífricos, jabones y cremas cosméticas (Ortuño, 2006).

5.4.8. EVALUACIÓN SENSORIAL

Se describieron las propiedades de color, aroma y sabor de los aceites esenciales de molle del lote N° 01 (Los Palos) y del lote N° 02 (Tarata). Primero se observó el aceite en un tubo de ensayo de 5 ml y se determinó que el color de las muestras para ambos lotes, es ligeramente amarillo y transparente.

Luego, se percibió el olor de las muestras, y resultó ser de tipo herbáceo (que recuerda a la planta del molle), penetrante y ligeramente mentolado, de igual manera para ambos lotes. Después se saboreó 0,5 ml de aceite esencial de cada muestra, y se percibió que el sabor era de tipo herbáceo persistente y ligeramente amargo. Las características sensoriales que manifestaron los aceites esenciales de molle son producto de la mezcla compleja de compuestos que posee, de ácidos (linoléico), ésteres (octanoato de metilo) y metabolitos volátiles (Limoneno, α -pineno, β -pineno, β -mirceno y α -felandreno).

5.5. PRUEBA DE ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA

Se evaluó la actividad antimicótica de los aceites frente a uno de los hongos más comunes de la naranja, el *Penicillium italicum*, responsable de la podredumbre de cítricos en almacenamiento.

5.5.1. ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE MOLLE PERTENECIENTE AL LOTE N° 01 (“LOS PALOS”)

En la primera prueba (método de agar en difusión), cuando hubo finalizado el periodo de incubación, únicamente la placa señalizada como “A (aceite LP)” evidenció un halo de inhibición del crecimiento del hongo *Penicillium italicum*, cuya área se registró en 3,496 cm² (figura N° 40), es decir, que el micelio fúngico no se desarrolló en el área situada alrededor inmediato del pozo que contenía aceite esencial de molle de Los Palos, aunque el hongo haya sido inoculado en toda la placa.

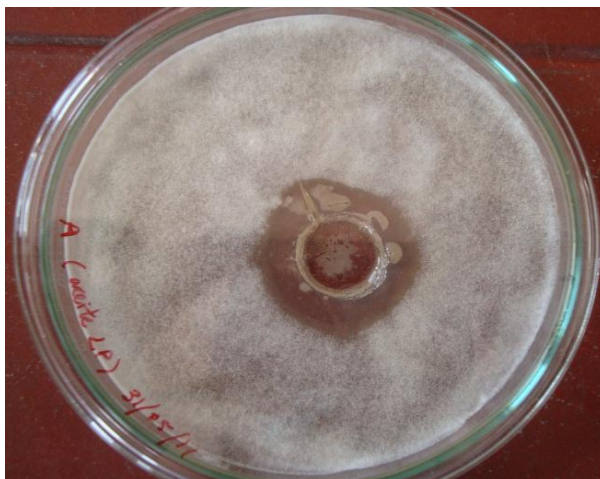


Figura N° 40: Placa “A (aceite LP)”, presentó halo de inhibición frente a *Penicillium italicum*.

Fuente: Elaboración propia (2011).

La placa “Testigo (alcohol)” en cambio, no presentó halo de inhibición, muy por el contrario, el micelio del hongo ingresó al pozo donde se había colocado inicialmente el alcohol (figura N° 41).



Figura N° 41: Placa “Testigo (alcohol)” no presentó halo de inhibición frente a *Penicillium italicum*.

Fuente: Elaboración propia (2011).

Así mismo, para la segunda prueba (de tipo empírica), en la placa señalizada como “A (aceite LP)”, se observó que el aro de aceite esencial de molle de Los Palos contuvo de manera visualmente significativa el desarrollo del hongo *Penicillium italicum* (figura N° 42), a comparación de la placa “Testigo (alcohol)”, donde el micelio fúngico rebasó la corona de agua destilada que se había colocado alrededor del área de inoculación (figura N° 43).

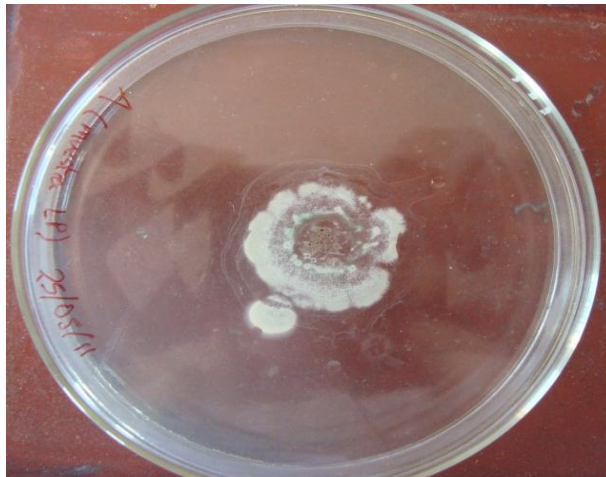


Figura N° 42: Placa "A (aceite LP)", la corona de aceite contuvo el desarrollo del *Penicillium italicum*.

Fuente: Elaboración propia (2011).

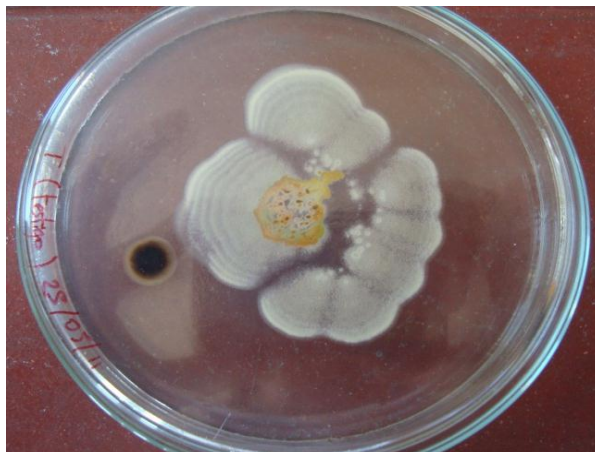


Figura N° 43: Placa "Testigo (agua)" el *Penicillium italicum* rebasó la corona de agua.

Fuente: Elaboración propia (2011).

Los resultados de este ensayo, de tipo *in vitro*, demuestran la actividad antimicótica del aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 01 (Los Palos), y concuerdan con el estudio precedente realizado por Dikshit *et al.* (1986), donde se había registrado una actividad antimicótica moderada de los aceites volátiles del molle sobre el *Penicillium italicum*.

Aunque estudios anteriores reportaron la actividad antimicrobiana del aceite esencial de molle obtenido a partir de hojas frescas (Dikshit *et al.*, 1986; Zeng Yueqin, 2006), este es el primer caso en el que se registró la actividad antifúngica del aceite esencial de los frutos del molle frente al *Penicillium italicum*, un hongo que ocasiona la podredumbre del moho azul en la postcosecha de frutos cítricos (Vero *et al.*, 2004).

Para explicar esta actividad biológica es necesario considerar la gran variedad de compuestos químicos presentes en los aceites esenciales, es muy probable que su actividad antimicrobiana no sea atribuible a un mecanismo específico, sino a la acción combinada de varios de ellos sobre distintas localizaciones de la célula microbiana (Vero *et al.*, 2004).

5.5.2. ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE MOLLE PERTENECIENTE AL LOTE N° 02 (“TARATA”)

Al finalizar el periodo de incubación, se realizaron las observaciones, primero en las placas trabajadas con el método de agar en difusión; de las

dos placas, solamente la señalizada como “B (aceite T)” presentó un halo de inhibición alrededor del pozo donde se había depositado inicialmente el aceite esencial, el área del halo fue de 5,161 cm² (figura N° 44), donde el hongo *Penicillium italicum* no pudo desarrollarse a pesar de haber sido inoculado en toda la placa.

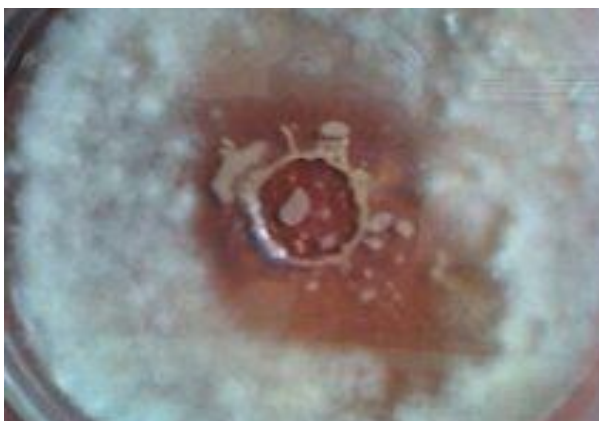


Figura N° 44: Placa “B (aceite T)”, presentó halo de inhibición frente a *Penicillium italicum*.

Fuente: Elaboración propia (2011).

Se evaluó también el crecimiento del hongo en la placa “Testigo (alcohol)”, en donde el micelio se desarrolló con normalidad en la superficie de toda la placa, no registrándose halo de inhibición alguno, (figura N° 45).

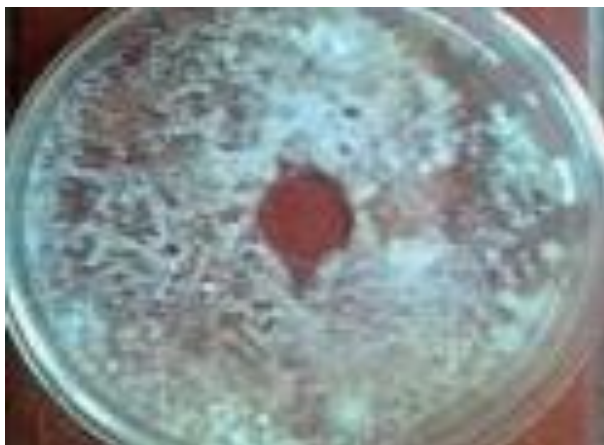


Figura N° 45: Placa “Testigo (alcohol)” no presentó halo de inhibición frente a *Penicillium italicum*.

Fuente: Elaboración propia (2011).

También se realizaron las observaciones para las placas trabajadas con el método empírico; en donde la placa señalizada como “B (aceite T)”, presentó menor desarrollo miceliar del hongo, alrededor de la corona de aceite (figura N° 46), en comparación con la placa testigo trabajada con agua destilada (figura N° 47).

Es posible que la mezcla y concentración de los componentes del aceite esencial de molle, en especial de sus componentes volátiles, alteren la permeabilidad de la membrana plasmática de la célula fúngica, haciéndola más vulnerable a los cambios del medio y susceptible al envejecimiento. Así mismo, los aceites esenciales provocan la modificación del pH del medio impidiendo el normal desarrollo del micelio.



Figura N° 46: Placa “B (aceite T)”, la corona de aceite redujo el desarrollo del *Penicillium italicum*.

Fuente: Elaboración propia (2011).



Figura N° 47: Placa “Testigo (agua)” el *Penicillium italicum* rebasó la corona de agua.

Fuente: Elaboración propia (2011).

Al igual que con el aceite “Los Palos”, el aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 02 (Tarata) demostró poseer actividad antimicótica tipo *in vitro*, frente al hongo *Penicillium italicum*. Sin embargo, el aceite esencial de molle de Tarata registró un mayor halo de inhibición para el hongo (5,161 cm²), en comparación al registrado por el aceite esencial de molle de Los Palos (3,496 cm²); esta diferencia se debe a la variabilidad en la concentración de los compuestos mayoritarios que forman el aceite esencial, incluso, algunos estudios demuestran que los componentes de menor proporción tienen un papel crítico en la actividad microbiana, posiblemente debido a un efecto sinérgico entre ellos, de forma que el aceite esencial entero tiene una mayor actividad que la mezcla de sus principios activos mayoritarios (Vero *et al.*, 2004).

VI. CONCLUSIONES

1. Los frutos maduros del molle (con exocarpio) de Los Palos poseen un tamaño ligeramente mayor de altura (0,52 cm) y diámetro (0,47 cm), que los de originarios de Tarata, altura (0,39 cm) y diámetro (0,36 cm); aunque no supera al rango registrado por la bibliografía española (Zeng Yueqin, 2006) que es de 5 a 9 mm en diámetro para cada fruto.
2. Los frutos del molle provenientes del CPM de Los Palos y los del distrito de Tarata poseen una estructura semejante que consta de: exocarpio delgado y quebradizo de color rojizo a rosáceo y marrón bermejo; mesocarpio resinoso, delgado y agrietado de color beige; endocarpio hueco, poco leñoso y duro de color mostaza; y una pequeña semilla de testa muy delgada y embrión carnoso.
3. Las características físico-químicas de los frutos de molle del CPM de Los Palos y del distrito de Tarata, definieron a la materia prima como de elevada humedad, medianamente propensa al ataque fúngico, buen estado sanitario, y bajo contenido en proteína bruta y cenizas.

4. Se probó la hipótesis central de la investigación, ya que la metodología utilizada en este trabajo permitió la extracción eficaz del aceite esencial de molle, logrando rendimientos de 6,575% (aceite esencial de Los Palos) y 7,705% (aceite esencial de Tarata), coincidentes con los valores bibliográficos que son de 5,3 - 5,6% (Viturro *et al.*, 2010) y de 5 - 7% (Figmay S.R.L., 2007), e incluso superiores como en el caso del aceite esencial de molle de Tarata.
5. Como resultado del tratamiento estadístico, se aceptaron las hipótesis: 1) El lugar de origen de los frutos del molle (CPM de Los Palos y distrito de Tarata) no es un factor que influye de manera significativa sobre el rendimiento de los aceites esenciales; 2) el lugar de origen de los frutos del molle no influye de manera significativa sobre las características sensoriales (color, olor y sabor) de los mismos aceites.
6. El conjunto de las características físico-químicas de los aceites esenciales de molle definieron sus propiedades de calidad: son de naturaleza insaturada, con alto contenido de hidrocarburos terpénicos y de componentes volátiles, no corren peligro de enturbiamiento o precipitación de ceras a temperaturas mayores de -35°C, la oxidación de estos aceites se da por contaminación, por

contacto permanente con el oxígeno o por incidencia de los rayos solares, no son aptos para el consumo humano ya que superan el límite de acidez de 4,0 mg de KOH/g en ácido linoleico (Codex 19-1981, enmienda 2009), y el aceite esencial de Tarata contiene más ácidos esterificados que su similar de Los Palos.

7. El análisis de cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC-FID) permitió identificar cuatro monoterpenos cíclicos: Limoneno, α -pineno, β -pineno y α -felandreno; y un monoterpeno acíclico: el β -mirceno; que son los metabolitos volátiles secundarios presentes mayoritariamente en la composición de los aceites esenciales de molle de ambos lotes (de Los Palos y de Tarata).
8. Los aceites esenciales de molle del CPM de Los Palos y del distrito de Tarata son de: color transparente y ligeramente amarillo, de olor herbáceo, penetrante y ligeramente mentolado, y de sabor también herbáceo, persistente y ligeramente amargo. El olor y sabor son característicos de la planta del molle.
9. Se demostró *in vitro*, la actividad antimicótica de los aceites esenciales de molle pertenecientes al lote N° 01 (Los Palos) y al lote N° 02 (Tarata), los cuales inhibieron el desarrollo del hongo *Penicillium italicum*, en las dos pruebas desarrolladas.

10. El alto porcentaje de rendimiento del aceite esencial de molle y la presencia de compuestos de actividad biológica importante (en ácidos y monoterpenos) le brindan a esta especie un alto potencial para ser parte de futuros programas de aprovechamiento en diferentes usos y aplicaciones, como una alternativa para lograr el desarrollo sostenible de pobladores de escasos recursos de las comunidades de Tacna.

VII. RECOMENDACIONES

1. Optimizar el secado de los frutos del molle mediante equipos de secado específicos para granos y semillas; es necesario realizar estudios sobre los métodos más adecuados para reducir la humedad de la materia prima cuidando de no provocar pérdidas excesivas en aceite esencial por efecto de la vaporización.
2. Realizar la extracción del aceite esencial de molle empleando equipos más específicos para aceites esenciales, como el equipo de Clevenger que es considerado por varios estándares internacionales como el más adecuado para la determinación del contenido total del aceite esencial de una planta aromática (Cerpa, 2007); así se lograría obtener mayores rendimientos y mejor calidad del aceite.
3. Complementar este estudio con el análisis de cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas (GC-MS), que es una técnica más completa y específica, la cual no solo permite la separación e identificación de los compuestos, sino que también cuantifica la concentración de los mismos.

4. Debido a la creciente importancia económica que presentan los aceites esenciales en el mercado mundial, y al interés que han despertado los aceites esenciales de plantas nativas del Perú en la comunidad científica nacional, se sugiere continuar con estudios similares a este, a fin de mejorar el aprovechamiento de las especies.

5. También sería muy provechoso realizar nuevos trabajos de investigación sobre el aprovechamiento y aplicación del aceite esencial de molle en el campo alimentario y agroindustrial, teniendo como base este estudio, ya que las propiedades fisico-químicas del aceite y la mezcla de sus componentes químicos, hacen de este un producto potencialmente industrializable.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acosta de la Luz, L. (2003). *Principios agroclimáticos básicos para la producción de plantas medicinales*. Centro de investigación y desarrollo de medicamentos. Recuperado el 15 de abril de 2012, de http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol8_1_03/pla08103.htm
2. Adames, M., Mendoza, E. y Ospina, L. (no figura fecha). *Estudio del aceite esencial de eucaliptus (Citriodora bailey)*. Universidad Nacional de Colombia. Recuperado el 21 de enero de 2012, de <http://www.ciencias.unal.edu.co/>
3. Alarcón, E., Villa, A. y Montes, C. (2005). *Síntesis de nopol a partir de β -pineno y aceite de trementina con el catalizador Sn-MCM-41*. Universidad de Antioquia. Recuperado el 30 de mayo de 2012, de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-623
4. Alba, A., Bonilla, P. y Arroyo, J. (2009). *Actividad cicatrizante de una pomada con aceite esencial de Schinus molle L. en ganado vacuno con heridas infectadas y en ratones*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Recuperado el 14 de agosto de 2010, de <http://es.scribd.com/doc/104060254/CIENCIA-E-INVES-2009-1>

5. Albaladejo, Q. (1999). *El Aceite Esencial de limón producido en España. Contribución a su evaluación por Organismos Internacionales*. Universidad de Murcia. Recuperado el 26 de mayo de 2012, de <http://digitum.um.es/xmlui/bitstream/10201/121/1/Albaladejo.pdf>
6. Albarracín, G. y Gallo, S. (2003). *Comparación de dos métodos de extracción de aceite esencial de Piper aduncum (cordoncillo) procedente de la zona cafetera*. Universidad Nacional de Colombia. Recuperado el 27 de mayo de 2010, de <http://www.digital.unal.edu.co/dspace/bitstream/10245/1574/1/gloriacristinaalbarracinmontoya.2003.pdf>.
7. Aldana, A. (2005). *Agricultura Orgánica*. Universidad Nacional Abierta y a Distancia de Bogotá. Recuperado el 22 de mayo de 2012, de <http://es.scribd.com/doc/88979717/112/Purin-de-helecho-marranero>
8. A.O.A.C. (2005). *Official Methods of Analysis International*. Recuperado el 21 de enero de 2012, de http://www.cequimap.com.ar/Requisitos_Tecnicos_0043.pdf
9. Arcila, C., Loarca, G., Lecona, S. y González, E. (2003). *El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes*.

Universidad Autónoma de Querétaro. Recuperado el 04 de marzo de 2012, de

http://www.alanrevista.org/ediciones/2004-1/oregano_propiedades_composicion_actividad_biologica.asp

10. Bandoni, A., Retta, D., Di Leo Lira, P. y Van Baren, C. (2009). *¿Son realmente útiles los aceites esenciales?* Sociedad Latinoamericana de Fitoquímica. Recuperado el 21 de junio de 2010, de <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/856/85611977001.pdf>.
11. Benzi, V., Stefanazzi, N. y Ferrero, A. (2008). *Bioactividad de aceites esenciales de hojas y frutos del aguaribay (Schinus molle L.) en el gorgojo del arroz (Sitophilus oryzae L.)*. Universidad Nacional del Sur de Bahía Blanca. Recuperado el 24 abril de 2012, de http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-58392009000200004&script=sci_abstract
12. Cano, A., Bonilla, P., Roque, M. y Ruiz, J. (2008). *Actividad antimicótica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de Minthostachys mollis (muña)*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Recuperado el 26 mayo de 2011, de <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v25n3/a08v25n3>

13. Carrere, R. (2009). *Anacahuita (Schinus molle)*. Grupo Guayubira. Recuperado el 08 junio 06 de 2010, de <http://www.rapaluruaguay.org/organicos/articulos/Anacahuita.pdf>.
14. Carrillo, L. (2003). *Los hongos de los alimentos y forrajes*. Universidad Nacional de Salta. Recuperado el 02 junio de 2012, de <http://www.unsa.edu.ar/matbib/micologia.htm>
15. Carvajal, G. (2001). *Valor nutricional de la carne de: res, cerdo y pollo*. Corporación de Fomento Ganadero de San José. Recuperado el 01 de marzo de 2012, de <http://www.corfoga.org/images/public/documentos/pdf/Corfoga2001.pdf>
16. Castellanos, F. (2007). *Biotransformación de limoneno, α -pineno y aceites esenciales de naranja y mandarina empleando *Aspergillus niger**. Universidad Industrial de Santander. Recuperado el 30 de mayo de 2012, de <http://es.scribd.com/doc/74728621/8/%CE%B1-pineno>
17. Cerpa, M. (2007). *Hidrodestilación de aceites esenciales: Modelado y caracterización*. Universidad de Valladolid. Recuperado el 22 de junio de 2010, de <http://www.slideshare.net/cercman/hidrodestilacion-de-aceites-esenciales-modelado-y-caracterizacion-13866893>

18. Cerutti, M. y Neumayer, F. (2004). *Introducción a la obtención de aceite esencial de limón*. Universidad del Centro Educativo Latinoamericano de Rosario. Recuperado el 15 de mayo de 2012, de <http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema7.pdf>
19. Chasquibol, N., Lengua, L., Delmás, I., Rivera, D., Bazán, D., Aguirre, R. y Bravo, M. (2003). *Alimentos funcionales o fitoquímicos, clasificación e importancia*. Universidad Mayor de San Marcos. Recuperado el 30 mayo de 2012, de http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/publicaciones/ing_quimica/vol5_n2/a02.pdf
20. Chirino, M., Cariac, M. y Ferrero, A. (2001). *Actividad insecticida de extractos crudos de drupas de Schinus Molle L. (Anacardiaceae) sobre larvas neonatas de Cydia Pomonella L.* Universidad Nacional del Sur de Bahía Blanca. Recuperado el 03 de mayo de 2010, de <http://www.mapa.es/ministerio/pags/biblioteca/plagas/BSVP-27-03-305-314.pdf>.
21. Citrotecno. (2011). *Subproductos / D-Limoneno*. Universidad Politécnica de Valencia. Recuperado el 30 de mayo de 2012, de http://citrotecno.com/subproductos_dlimoneno.php

22. Civantos, L. (2008). *Cultivo del Olivo*. Consejería de Agricultura y Pesca de Madrid. Recuperado el 29 de febrero de 2012, de <http://books.google.com.pe/books?id=RR4KttgSc7oC&pg=PA168&lpg=PA168&dq=porcentaje+de+proteinas+de+la+semilla+de+aceituna>
23. Clearline. (2006). *Ensayo del equipo AiroCide y su capacidad de eliminar contaminantes del aire*. Universidad Politécnica de Cartagena. Recuperado el 30 de mayo de 2012, de <http://www.upct.es/infoalumno/centros/departamentos-upct-16.htm>
24. Codex Stan 19-1981. (2009). *Norma del Codex para grasas y aceites comestibles no regulados por normas individuales*. Recuperado el 22 de enero de 2012, de www.codexalimentarius.net/download/standards/74/CXS_019s.pdf
25. Díaz, O. (2007). *Estudio comparativo de la composición química y evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial de Aloysia triphylla (L' Her) Britton, cultivada en tres regiones de Colombia*. Universidad Industrial de Santander. Recuperado el 10 de julio de 2010, de <http://cromatografia.uis.edu.co/cromatografia/investigacion/cibimol/tesis%20cibimol/Olga%20Liliana%20D%C3%ADaz.pdf>

26. Dikshit, A., Naqvi, A. y Husain, A. (1986). *Schinus molle: a New Source of Natural Fungitoxicant*. Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants of India. Recuperado el 08 de octubre de 2010.
<http://aem.asm.org/cgi/reprint/51/5/1085.pdf>.
27. Fennema, O. (1993). *Química de los alimentos*. 2º Ed. Zaragoza: Editorial Acribia S.A.
28. Figmay S.R.L. (no especifica fecha). Recuperado el 04 junio de 2012, de
http://www.figmay.com.ar/pdf/Extractor_de_aceites_esenciales_por_arastre_por_vapor_Escala_Laboratorio.pdf
29. Giambastiani, G. y Rubiolo, O. (2002). *Efecto del almacenaje y el secado sobre la calidad de los granos*. Universidad Nacional de Córdoba. Recuperado el 01 marzo de 2012, de
<http://www.agro.unc.edu.ar/~paginafacu/principal.html>
30. Gorriti, A., Arroyo, J., Quispe, F., Cisneros, B., Condor M., Almora, Y. y Chumpitaz, V. (2010). *Toxicidad oral a 60 días del aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) y linaza (*Linum usitatissimum* L.) y determinación de la dosis letal 50 en roedores*. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública. Recuperado el 27 mayo de

2012, de

[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-46342010000300007
&script=sci_arttext](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-46342010000300007&script=sci_arttext)

31. Guala, S., Elder, H., Perez, G. y Chies, A. (2009). *Evaluación del poder antioxidante de fracciones de aceite esencial crudo de Schinus molle L. obtenidas por destilación al vacío*. Universidad Nacional del Litoral de Santa Fe. Recuperado el 09 de junio de 2010, de <http://www.scielo.cl/pdf/infotec/v20n2/art11.pdf>
32. Guerra, M., Rodríguez, J., García, G. y Llerena, C. (2004). *Actividad antimicrobiana del aceite esencial y crema de Cymbopogon citratus (DC). Stapf*. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos de La Habana. Recuperado el 11 de mayo de 2010, de http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol9_2_04/pla05204.htm
33. Gutiérrez, M. y Droguet, M. (2002). *La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor*. Universidad Politécnica de Catalunya. Recuperado el 18 de noviembre de 2011, de <http://www.mendeley.com/research/la-cromatografa-gases-y-la-espectrometra-masas-rsum/#page-1>

34. Gutiérrez, M., Stefanazzi, N., Werdin, J., Benzi, V. y Ferrero, A. (2009). *Actividad fumigante de aceites esenciales de Schinus molle y Tagetes terniflora sobre adultos de Pediculus humanus capitis*. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. Recuperado el 04 de marzo de 2011, de <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/856/85611774012.pdf>
35. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana – IIAP. (2012). *Tecnología de extracción de aceite de Sacha inchi*. Centro de Promoción de la Biodiversidad Amazónica. Recuperado el 22 mayo de 2012, de <http://www.promamazonia.org.pe/SBiocomercio/Upload%5CLineas%5CDocumentos/541.pdf>
36. Instituto Nacional de Defensa Civil – INDECI. (2004). *Plan de usos del suelo y medidas de mitigación ante desastres - Tarata*. Proyecto INDECI - PNUD PER/02/051. Recuperado el 24 de mayo de 2012, de http://bvpad.indeci.gob.pe/doc/estudios_CS/Region_Tacna/tarata.pdf
37. Instituto de Investigación Tecnológica Industrial y de Normas Técnicas – ITINTEC. (1987). *Norma Técnica Peruana (NTP-ITINTEC) con código: ICS 71.100.60, para aceites esenciales*. Lima: Biblioteca ITINTEC.

38. Inka Natural S.A. (2010). *Aceites esenciales andinos de molle y eucalipto*. Recuperado el 04 de marzo de 2011, de http://www.inkanatural.com/es/aceites_esenciales/molle_eucalipto.html
39. IPES - Promoción del Desarrollo Sostenible, FAO - Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, y Fundación RUAFA. (2010). *Biopreparados para el manejo sostenible de plagas y enfermedades en la agricultura urbana y periurbana*. Recuperado el 22 de mayo de 2012, de http://www.rlc.fao.org/uploads/media/Biopreparados_para_el_manejo_sostenible_de_plagas.pdf
40. Lluch Essence, S.L. (2011). *Ficha de datos de seguridad (según el reglamento (CE) N° 1907/2006) - Producto: Caprilato metilo*. Recuperado el 29 mayo de 2012, de http://www.lluche.com/cas/pdf/00433QQQL_ES.pdf
41. Los Tiempos. (2007). *Locoto para el dolor y antiséptico de menta*. Recuperado el 18 octubre de 2011, de http://www.lostiempos.com/diario/actualidad/vida-y-futuro/20070610/locoto-para-el-dolor-y-antiseptico-de-menta_12793_14524.html
42. Marín, N. y Ordóñez, S. (2008). *Determinación de metabolitos secundarios volátiles y semi volátiles, y ácidos aristolóquicos en*

Aristolochia ringens Vahl. Universidad Industrial de Santander.
Recuperado el 08 julio de 2010, de
<http://cenivam.uis.edu.co/cenivam/infraestructura/cibimol/tesis%20cibimol/sergio%20ordo%C3%B1ez.pdf>

43. Minuzzi, A., Sedrez, M., De Lucca, A. y Scapim, A. (2007). *Características fisiológicas, contenido de aceite y proteína en genotipos de soya, evaluadas en diferentes sitios y épocas de cosecha, Brasil*. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Recuperado el 21 de mayo de 2012, de
http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0365-28072007000400003&script=sci_arttext&tIng=es
44. Morantes, G. (2005). *Preservación de la calidad de los granos y alimentos balanceados para animales*. Recuperado el 29 de febrero de 2011, de
<http://www.midiatecavipec.com/alibal/alibal300406.htm>
45. Nobre, F., De Paula, P. y De Andrade, J. (2000). *Razones de ozonizar las olefinas en fase gaseosa*. Universidad Federal da Bahía. Recuperado el 07 de julio de 2010, de
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-4042200000600013

46. Ortuño, M. (2006). *Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes*. Recuperado de <http://books.google.com.pe/books?id=cW5TsDKqx9wC&dq=AROMAS+felandreno&hl=es&sitesec=reviews>
47. Palá, J. (2002). *Contribución al conocimiento de los aceites esenciales del género "eryngium" L. en la Península Ibérica*. Universidad Complutense de Madrid. Recuperado el 07 de julio de 2010, de <http://www.ucm.es/BUCM/tesis/bio/ucm-t26240.pdf>
48. Palacios, J. (1993). *Plantas Medicinales Nativas del Perú I*. Lima: Editorial A&B S.A.
49. Quiminet. (2009). *El D-limoneno o Terpenos de la naranja*. Recuperado el 07 julio de 2010, de http://www.quiminet.com/ar1/ar_vcdAAssvcdvcd-el-d-limoneno-o-
50. Rojas, J., Perea, J. y Ortiz, C. (2009). *Evaluación de la biotransformación de geraniol y (R)-(+)-a-pineno empleando células de Rhodococcus opacus DSM 44313*. Universidad Industrial de Santander. Recuperado el 30 de mayo de 2012, de <http://www.unicauca.edu.co/biotecnologia/ediciones/vol7-2/EVALUACION%20DE%20LA%20BIOTRANSFORMACION%20DE%20GERANIOL.pdf>

51. Ruffinengo, S., Maggi, N., Damiani, N., Faverin, C. y Eguaras, M. (2007). *Eficacia del aceite esencial micro encapsulado de Schinus molle sobre Varroa Destructor*. Dirección Nacional de Alimentos de Buenos Aires. Recuperado el 18 octubre de 2011, de [http://www.alimentosargentinos.gov.ar/0-3/apicola/01_info/a_sintesis/ lista/122.pdf](http://www.alimentosargentinos.gov.ar/0-3/apicola/01_info/a_sintesis/lista/122.pdf)
52. Sánchez, C. (2007). *Caracterización fisicoquímica y nutracéutica de la semilla de Amarantho (Amaranthus hypochondriacus) cultivado en San Luis Potosí*. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica. Recuperado el 07 diciembre de 2011, de <http://www.ipicyt.edu.mx/storage-sipicyt/materialbiblioteca/020014SilvaSanchez.pdf>
53. Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú – SENAMHI. (2011). *Reporte de temperatura, presión y humedad relativa del ambiente en Tacna, meses de enero-julio del 2011*. Dirección Regional de Tacna: Ministerio del Ambiente del Perú.
54. Sistema Nacional de Información Forestal. (2010). *Schinus molle L.* Recuperado el 08 junio de 2010, de http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/3-anaca4m.pdf

55. Tormos, B. (2005). *Diagnóstico de motores Diesel mediante el análisis del aceite usado*. Editorial Reverté S.A. Recuperado el 27 de mayo de 2012, de <http://www.reverte.com/catalogo/ficha?idcategoria=2&idsubcategoria=16&idlibro=153>
56. Universidad Nacional de Ingeniería – UNI. (2012). *Determinación de la composición química del aceite esencial de molle, muestra N° 01 AE-LP* (Informe Técnico N° 1562-11-LAB12). Lima: Facultad de Ciencias.
57. Universidad Nacional de Ingeniería – UNI. (2012). *Determinación de la composición química del aceite esencial de molle, muestra N° 02 AE-T* (Informe Técnico N° 1563-11-LAB12). Lima: Facultad de Ciencias.
58. Vargas, A. y Bottia, E. (2008). *Estudio de la composición química de los aceites esenciales de seis especies vegetales cultivadas en los Municipios de Bolívar y el Peñón*. Universidad Industrial de Santander. Recuperado el 27 de mayo de 2010, de <http://cromatografia.uis.edu.co/cromatografia/investigacion/cibimol/tesis%20cibimol/Edwin%20Bottia%20y%20Adriana%20Vargas.pdf>.
59. Vasco, V. (2008). *Determinación de parámetros físico-químicos de zanahoria amarilla (Daucus carota) como base para el establecimiento*

de la norma de requisitos. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Recuperado el 01 marzo de 2012, de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/204/1/56T00176.pdf>

60. Vásquez, O., Alva, A. y Marreros, J. (2001). *Extracción y caracterización del aceite esencial de jengibre (Zingiber officinale).* Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Recuperado el 28 de diciembre de 2010, de <http://www.unapiquitos.edu.pe/links/facultades/alimentarias/v1/6.pdf>

61. Veritrade L.T.D. (2007). *Estudio de Aceites Esenciales.* Recuperado el 30 mayo de 2010, de <http://www.amcham.org.pe/tradecenter/veritrade/samples/Customized%20Reports%20Sample%20-%20A.pdf>

62. Vero, S., Garmendia, G., Garat, F., Alaniz, S., De Aurrecochea, I., Wozniak, A. y Silvera, E. (2004). *Alternativas al tratamiento convencional de poscosecha de citrus.* Recuperado el 01 junio de 2012, de <http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/publica/conferencia15.pdf>

63. Villa, C. (2011). *Aparato de Orsat.* Recuperado el 22 de enero de 2012, de http://es.scribd.com/ccaceres_7

64. Viturro, C., Bandoni, A., Dellacassa, E., Serafini, L. y Elder, H. (2010). *Normalización de productos naturales obtenidos de especies de la flora aromática latinoamericana - Problemática Schinus en Latinoamérica*. Proyecto CYTED IV.20. Recuperado el 09 de agosto de 2011, de <http://www.pucrs.br/edipucrs>
65. Werdin, J., Murray, A. y Ferrero, A. (2008). *Bioactividad de aceites esenciales de Schinus molle var. "areira" en ninfas II de Nezara viridula*. Universidad de la Rioja. Recuperado el 18 de octubre de 2011, de <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2741272>
66. Wilmore, J. y Costill, D. (2004). *Fisiología del esfuerzo y del deporte*. Recuperado el 27 de mayo de 2012, de http://books.google.com.pe/books/about/FISIOLOG%C3%8DA_DEL_ESFUERZO_Y_DEL_DEPORTE_C.html?id=RXmtpVxDZXQC&redir_esc=y
67. Wittig, E. (2001). *Evaluación sensorial una metodología actual para tecnología de alimentos*. Recuperado el 22 de enero de 2012, de <http://www.captura.uchile.cl/jspui/handle/2250/5556>
68. Wyrztz, F. (no especifica fecha). *Algo sobre semilla y el secado de la*

misma. Recuperado el 29 de febrero de 2011, de
<http://www.los-seibos.com/paginas/teoria.html>

69. Zeinsteger, P., Romero, A., Montenegro, M., Ríos, E., Acosta O. y Jorge, N. (2003). *Toxicidad de la planta Ipomoea fistulosa (aguapeí o mandiyurá) en ratones*. Recuperado el 30 de mayo de 2012, de
<http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/cyt/2003/comunicaciones/04-Veterinarias/V-018.pdf>
70. Zeng Yueqin. (2006). *Identificación y actividad farmacológica de principios de especies antiinflamatorias*. Universidad de Valencia. Recuperado el 11 de mayo de 2010, de
http://www.tesisenxarxa.net/TESIS_UV/AVAILABLE/TDX-0403108-115541/yueqin.pdf.

ANEXOS

ANEXO N° 01



a)



b)



c)



d)

Figura N° 01.- Partes de la planta del molle: a) Árbol, b) flores, c) hojas, y d) frutos del *Schinus molle* L.

Fuente: Zeng Yueqin (2006).

ANEXO Nº 02



Figura Nº 01.- Germinación de semillas de molle en almácigos⁵.



Figura Nº 02.- Plantado del brote de molle en tierra⁶.

⁵ <http://imagensubir.infojardin.com/subidos/images/jdv1276560483d.JPG>

⁶ <http://pablofelipe09.blogspot.com/search/label/molle>

ANEXO N° 03

Cuadro N° 01.- Información etnomedicinal de *Schinus molle*.

País	Forma de preparación	Uso	Descripción terapéutica	Parte de la planta
Argentina	Extracción con agua caliente	E/HA	Edema de pies antiséptico	Hojas
	Infusión (20 g de hojas en 1 litro de agua caliente)	O/HA-M	Para provocar menstruación demorada	Hojas
	Decocción	O/HA	Diarrea, infecciones del tracto respiratorio, tratamiento de infecciones urinarias	Hojas
	Extracción con agua caliente	Oral/HA	Purgativo	Resina
	Decocción	E/HA O/HA-M	Antiinflamatorio Emenagogo	Entera Entera
Brasil	Hojas + corteza (Extracción con agua caliente)	O/HA	Purgativo, estimulante	Hojas
	Hojas + ramas	E/HA	Tratamiento de hemorragias	Hojas, tallos
Iraq	Hojas + frutos (Extracto acuoso)	O/HA-M	Emenagogo	Hojas, frutos

Donde: E: Externo; O: Oral; HA: Hombre Adulto; M: Mujer.

(Continúa)

Cuadro N° 01.- Información etnomedicinal de *Schinus molle*.

País	Forma de preparación	Uso	Descripción terapéutica	Parte de la planta
Sud África	Extracto acuoso caliente	O/HA	Gota y reumatismo	Hojas
	Decocción	I/HA	Tratamiento de resfríos, analgésico, antiinflamatorio, hipotensivo, antiarrítmico	Hojas
Uruguay	Extracción con agua caliente	O/HA-M	Amenorrea, dismenorrea	Hojas
	Infusión	O/HA E/HA	Antirreumático, antiséptico, cicatrizante	Hojas
	No especifica	O/HA-M	Amenorrea, dismenorrea	Frutos
España	Hojas secas	O/HA	Diurético, antihipertensivo	Hojas
	Infusión	O/HA	Hipotensivo	Hojas
Perú		E/HA	Cicatrizante	Resina
	Extracción con agua caliente	O/HA	Dolor de dientes	Resina
		O/HA	Reumatismo, enfermedad denominada "susto"	Resina
	Decocción	E/HA	Antiséptico	Entera
	No especifica	O/ HA	Purgativo, diurético	-----

Fuente: Viturro *et al.* (2010).

ANEXO Nº 04

Cuadro Nº 01.- Metabolitos secundarios no volátiles en *S. molle* L.

País	Parte de la planta	Compuestos informados	Familia química
Egipto	Planta entera	α-amirina	Triterpeno
	Corteza-hojas	Fisetin Fructosa , sacarosa Ácido gálico	Flavonol Carbohidratos Bencenoide
	Hojas	Quercetina Rafinosa	Flavonol Carbohidrato
Italia	Frutos	Ácido behénico	Lípido
		Ácido masticadienónico	Triterpeno
		Ácido isomasticadienónico	Triterpeno
		Ácido isomasticadienoico	Triterpeno
		Ácido isomasticadienólico	Triterpeno
		Ácido iso-3-epimasticadienólico	Triterpeno
		Ácido iso3-epimasticadienonálico	Triterpeno
		Ácido octacosanoico	Lípido
		Ácido pentacosanoico	Lípido
España	Hojas	Lanosta-8(cis), 24-dien-26-oicoácido, 3αhidroxi-21-oxo, 13α, 14,3-17-α (20R) lanosta-8(cis)	Triterpeno
		24-dien-26-oicoácido, 3αhidroxi, 21-oxo 13α, 14, 3-17-α, (20S)	Triterpeno

(Continúa)

Cuadro N° 01.- Metabolitos secundarios no volátiles en *S. molle* L.

País	Parte de la planta	Compuestos informados	Familia química
México	Semillas	Ácido β -eleménico Ácido isomasticadienónico Ácido isomasticadienónico Ácido iso3-epimasticadienolálico	Triterpeno Triterpeno Triterpeno Sesquiterpeno
	Hojas + tallos	Ácido iso-3-epimasticadienólico	Triterpeno
Australia	Semillas	Ácido linoleico	Lípido
	Semillas (aceite)	Ácido oleico Ácido palmítico	Lípido Lípido
Uruguay	Goma	Peroxidasa	Prótido
Israel	Brotes	lLaccase	Prótido
Argentina	Hojas	Quercitrina Isoquercitrina	Flavonol Flavonol
	-----	Rutina	Flavonol
Perú	Frutos	Taninos	Taninos

Fuente: Viturro *et al.* (2010).

ANEXO Nº 05

Cuadro Nº 01.- Componentes porcentualmente mayoritarios del aceite esencial de *Schinus molle* L. (en seis países de Latinoamérica).

País	Provincia	Parte de la planta	Componentes mayoritarios (%)
Costa Rica	Alajuela	Hojas frescas	α -pineno (22,7%), β -pineno (31,1%), γ -cadineno (6,0%), epi- α -cadinol (5,6%)
Ecuador	Cotopaxi	Frutos maduros secos	α -felandreno (23,8%), sabineno + β -pineno (23,5%), β -felandreno (21,8%), α -pineno (5,0%)
	Azuay	Frutos maduros secos	α -felandreno (16,4%), β -felandreno (16,2%), β -mirceno (13,9%), <i>p</i> -cimeno (6,7%)
	Loja	Frutos maduros secos	α -felandreno (24,5%), β -felandreno (23,8%), mirceno (20,5%), α -pineno (5,4%)
Perú	Ayacucho	Frutos secos	α -felandreno (30,9%), β -pineno (27,5%), limoneno (15,3%), β -felandreno (12,5%)
		Hojas	Sabineno (19,1%), Δ -cadineno (8,2%), <i>p</i> -cimeno (7,9%), β -felandreno (7,2%)
Brasil	Caçapava do Sul 1	Hojas secas	α -pineno (32,9%), β -pineno (14,4%), δ -cadineno (9,4%), α -cadinol (13,3%)
	Caçapava do Sul 2	Hojas secas	Limoneno (36,2%), α -pineno (12,9%), β -cariofileno (8,7%), biciclogermacreno (8,4%)
	São Lourenço	Hojas secas	β -pineno (26,4%), biciclogermacreno (17,6%), α -pineno (17,2%), limoneno (16,9%)

(Continúa)

Cuadro N° 01.- Componentes porcentualmente mayoritarios del aceite esencial de *Schinus molle* L. (en seis países de Latinoamérica).

País	Provincia	Parte de la planta	Componentes mayoritarios (%)
Bolivia	Cochabamba	Frutos maduros	Mirceno (33,0%), α -felandreno (27,5%), β -felandreno (10,7%), limoneno (10,5%)
		Frutos verdes	α -felandreno (35,4%), mirceno (26,9%), β -felandreno (14,4%), limoneno (8,1%)
		Hojas y ramas	germacreno D (21,7%), β -pineno (16,9%), mirceno (13,7%), α -pineno (11,4%)
Argentina	Santa Fe	Frutos verdes	Sabineno (31,4%), terpinen-4-ol (13,3%), β -cariofileno (5,3%), germacreno D (3,7%)
		Frutos maduros	Sabineno (43,1%), α -pineno (14,3%), β -pineno (12,9%), limoneno (10,8%)
		Hojas y tallos	Sabineno (63,0%), β -pineno (5,6%), α -pineno (5,1%), limoneno (4,1%)

Fuente: Viturro *et al.* (2010).

ANEXO Nº 06

Cuadro Nº 01.- Actividades biológicas del aceite esencial de *S. molle* L. (identificadas por varios autores).

País	Parte de la planta	Actividad
Egipto	Hojas	Antibacteriana frente a <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Penicillium cyclopium</i> . Inactivo frente a <i>Bacillus cereus</i> , <i>Pseudomonas herbicola</i> , <i>Trichoderma viridis</i>
	Aérea	Antibacteriana frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> . Inactivo frente a <i>Bacillus aureus</i> , <i>Aspergillus aegyptiacus</i> , <i>Trichoderma viridis</i> .
Etiopía	Hojas	Insecticida y repelente frente a <i>Musca domestica</i> .
India	Hojas	Antifúngica en concentraciones de 400 ppm frente a <i>Microsporium gypseum</i> (fuerte actividad), <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , <i>T. rubrum</i> y otros.
(No indica)	Frutos	Irritante inactivo frente a conejos y humanos adultos Fototóxico inactivo Sensibilización de piel inactivo Toxicidad (Intubación gástrica) LD ₅₀ 5,0 mg/kg (ratas) Toxicidad (Intradermal) LD ₅₀ 5,0 mg/kg (ratas)

(Continúa)

Cuadro N° 01.- Actividades biológicas del aceite esencial de *S. molle* L. (identificadas por varios autores).

País	Parte de la planta	Actividad
Bolivia	Frutos	<p>Insecticida (1 mg/insecto) frente a <i>Triatoma infestans</i>.</p> <p>Inactivo frente a larvas de <i>Aedes aegypti</i> en dosis de 50 mg/l</p>
Zimbawe	Hojas	<p>Antibacteriana frente a <i>Brevibacterium lines</i>, <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>, <i>Aeromonas hydrophyla</i>, <i>Alcaligenes faecalis</i>, <i>Bacillus subtilis</i>, <i>Beneckea natriegens</i>, y otros.</p> <p>Antifúngica frente a <i>Alternaria alternata</i>, <i>Aspergillus flavus</i>, <i>A. niger</i>, <i>A. ochraceus</i>, <i>A. parasiticus</i>, <i>Chaetomium ssp.</i>, <i>Fusarium culmorum</i>, <i>Geotrichum candidum</i>, <i>Penicillium citrinum</i>, <i>Candida albicans</i>.</p> <p>Inactivo frente a <i>Staphulococcus aureus</i>, <i>Streptococcus faecalis</i>.</p> <p>Débilmente activo frente a <i>Aenterobacter aerogenes</i>, <i>Erwinia carotovora</i>.</p>

Fuente: Viturro *et al.* (2010).

ANEXO N° 07

Fichas de evaluación utilizadas en la prueba de comparación múltiple para evaluar las características sensoriales de color, olor y sabor en el aceite esencial de molle.

PRUEBA DE COMPARACIÓN MÚLTIPLE - COLOR

Nombre del juez:

Fecha: **Hora:**..... **N° de cabina:**

Producto: Aceite esencial de molle

Ud. Va a recibir una muestra patrón marcada con “P” y tres muestras con códigos numéricos. Colocar a la cabeza de cada columna el código de la muestra que se evalúa. Compare, de izquierda a derecha, cada muestra con el patrón “P” e indique con una “X” si tiene más, igual o menos COLOR que “P”. Si resulta diferente a “P”, marque con una “X” el grado de diferencia de acuerdo con la escala.

	Código de muestra:		
	2953	8147	6032
Más color que “P”
Igual color que “P”
Menos color que “P”
Grado de diferencia:			
Ligeramente diferente
Moderadamente diferente
Muy diferente
Extremadamente diferente

Comentarios:.....

Muchas Gracias

PRUEBA DE COMPARACIÓN MÚLTIPLE - OLOR

Nombre del juez:

Fecha: Hora:..... N° de cabina:

Producto: Aceite esencial de molle

Ud. Va a recibir una muestra patrón marcada con "P" y tres muestras con códigos numéricos. Colocar a la cabeza de cada columna el código de la muestra que se evalúa. Compare, de izquierda a derecha, cada muestra con el patrón "P" e indique con una "X" si tiene más, igual o menos OLOR que "P". Si resulta diferente a "P", marque con una "X" el grado de diferencia de acuerdo con la escala.

Código de muestra:

	2953	8147	6032
Más olor que "P"
Igual olor que "P"
Menos olor que "P"
Grado de diferencia:			
Ligeramente diferente
Moderadamente diferente
Muy diferente
Extremadamente diferente

Comentarios:.....
.....

Muchas Gracias

PRUEBA DE COMPARACIÓN MÚLTIPLE - SABOR

Nombre del juez:

Fecha: **Hora:**..... **N° de cabina:**

Producto: Aceite esencial de molle

Ud. Va a recibir una muestra patrón marcada con "P" y tres muestras con códigos numéricos. Colocar a la cabeza de cada columna el código de la muestra que se evalúa. Compare, de izquierda a derecha, cada muestra con el patrón "P" e indique con una "X" si tiene más, igual o menos SABOR que "P". Si resulta diferente a "P", marque con una "X" el grado de diferencia de acuerdo con la escala.

	Código de muestra:		
	2953	8147	6032
Más sabor que "P"
Igual sabor que "P"
Menos sabor que "P"
Grado de diferencia:			
Ligeramente diferente
Moderadamente diferente
Muy diferente
Extremadamente diferente

Comentarios:.....

Muchas Gracias

ANEXO N° 08

Influencia del lugar de origen en el rendimiento del aceite esencial:

- Procesamiento estadístico de los datos de rendimiento del aceite esencial de molle.

a) Modelo propuesto:

$$X_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

Donde: $i = \overline{1,4}$; $j = \overline{1,2}$

b) Hipótesis planteadas ($\alpha=0,05$):

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

$$H_1: \mu_1 \neq \mu_2$$

c) Sumatoria de cuadrados:

c.1) Sumatoria de cuadrados entre (SC_E):

$$SC_E = \sum_{j,i}^k \frac{T \cdot j^2}{nj} - \frac{T \cdot \cdot^2}{N}$$

$$SC_E = \frac{1\ 640,510\ 8}{4} - \frac{3\ 260,410\ 0}{8}$$

$$SC_E = 410,127\ 7 - 407,551\ 25$$

$$SC_E = 2,576\ 45$$

c.2) Sumatoria de cuadrados dentro (SC_D):

$$SC_D = \sum_{i=j}^n \sum_{j=i}^k X_j^2 - \sum_{j=i}^k \frac{T \cdot j^2}{nj}$$

$$SC_D = 420,9308 - 410,1277$$

$$SC_D = 10,8031$$

c.3) Sumatoria de cuadrados total (SC_T):

$$SC_T = \sum_{i=j}^n \sum_{j=i}^k X_j^2 - \sum_{j=i}^k \frac{T \cdot .^2}{N = nk}$$

$$SC_T = 420,9308 - 407,55125$$

$$SC_T = 13,37955$$

- Análisis de varianza y descarte de hipótesis.

Cuadro Nº 01.- Análisis de variancia para el rendimiento.

FV	SC	GI	CM	F exp	F t (α=0,05)
Entre	2,57645	2 - 1=1	2,57646	1,43	5,99
Dentro	10,80310	8 - 2=6	1,80052		
Total	13,37550	8 - 1=7			

Donde: FV: Fuente de variación; SC: Suma de cuadrados;
GI: Grados de libertad; CM: Cuadrados medios;
F exp: F experimental; F t: F tabla.

Fuente: Elaboración propia (2011).

El valor de F_{exp} es igual a 1,43, el cual resultó ser menor al valor de F_t que es de 5,99. Por tanto, se rechaza la hipótesis $H_1: \mu_1 \neq \mu_2$, la cual atribuía una influencia significativa del lugar de origen de la muestra vegetal sobre el rendimiento de aceite esencial de molle.

Y se acepta la hipótesis $H_0: \mu_1 = \mu_2$, que sostiene que el lugar de origen de la muestra vegetal no tiene influencia significativa sobre el rendimiento de aceite esencial de molle.

ANEXO N° 09

Influencia del lugar de origen sobre las características sensoriales del aceite esencial de molle:

- Procesamiento estadístico de los datos pertenecientes a la prueba de comparación múltiple para el color.

a) Modelo propuesto:

$$X_{ij} = \mu + \beta_i + T_j + e_{ij}$$

Donde: $i = \overline{1,7}$; $j = \overline{1,3}$

b) Hipótesis planteadas ($\alpha=0,05$):

b.1) Para bloques (decisión de los jueces):

$$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3 = \beta_4 = \beta_5 = \beta_6 = \beta_7$$

$$H_1: \beta_1 \neq \beta_2 \neq \beta_3 \neq \beta_4 \neq \beta_5 \neq \beta_6 \neq \beta_7$$

b.2) Para tratamientos (muestras codificadas):

$$H_0: T_1 = T_2 = T_3 = T_4 = T_5 = T_6 = T_7$$

$$H_1: T_1 \neq T_2 \neq T_3 \neq T_4 \neq T_5 \neq T_6 \neq T_7$$

c) Sumatoria de cuadrados:

c.1) Sumatoria de cuadrados valor de C:

$$C = \frac{T_{..}^2}{N = nk}$$

$$C = \frac{53^2}{21}$$

$$C = 133,761\ 90$$

c.2) Sumatoria de cuadrados bloque (SC_B):

$$SC_B = \frac{\sum Ti.^2}{k} - C$$

$$SC_B = \frac{657}{3} - 133,761\ 90$$

$$SC_B = 85,238\ 10$$

c.3) Sumatoria de cuadrados de tratamiento (SC_{tr}):

$$SC_{tr} = \frac{\sum T.j^2}{n} - C$$

$$SC_{tr} = \frac{969}{7} - 133,761\ 90$$

$$SC_{tr} = 4,666\ 67$$

c.4) Sumatoria de cuadrados total (SC_T):

$$SC_T = \sum_{i=j}^n \sum_{j=i}^k X_{ij}^2 - C$$

$$SC_T = (134 + 110 + 59) - 133,761\ 90$$

$$SC_T = 169,238\ 10$$

c.5) Sumatoria de cuadrados error (SC_e):

$$SC_e = SC_T - SC_B - SC_{tr}$$

$$SC_e = 169,238\ 10 - 85,238\ 10 - 4,666\ 67$$

$$SC_e = 79,333\ 3$$

c.6) Comprobación de sumatoria de cuadrados total (SC_T):

$$SC_T = SC_B + SC_{tr} + SC_e$$

$$SC_T = 85,238\ 10 + 4,666\ 67 + 79,333\ 33$$

$$SC_T = 169,238\ 10$$

- Análisis de varianza y descarte de hipótesis.

Cuadro Nº 01.- Análisis de varianza para el color.

FV	GI	SC	CM	F exp	F t ($\alpha=0,05$)
Decisión de los jueces	6,0	85,238 10	14,206 35	2,149	3,00
Muestras	2,0	4,666 67	2,333 33	0,353	3,89
Error	12,0	79,333 33	6,511 11		
Total	20,0	169,238 10			

Donde: FV: Fuente de variación; GI: Grados de libertad;
SC: Suma de cuadrados; CM: Cuadrados medios;
F exp: F experimental; F t: F tabla.

Fuente: Elaboración propia (2011).

a) Efecto de la decisión de los jueces:

El valor de F_{exp} es de 2,149, el cual es menor al valor de F_t que es igual a 3,00; entonces, se acepta la hipótesis H_0 que indica que el efecto de la decisión de los jueces no tiene influencia significativa sobre el ensayo. Por ende, no hay diferencia significativa entre las evaluaciones que realizaron los jueces. En este caso, es necesario determinar el efecto de las muestras.

b) Efecto de las muestras:

Aquí también, el valor de F_{exp} que equivale 0,353, es inferior a F_t que es de 3,89; entonces, se acepta la hipótesis H_0 .

La hipótesis aceptada, concluye que no existe diferencia significativa entre el color de cada muestra, lo cual indica que el lugar de origen no influye de manera significativa en el color del aceite esencial de molle.

ANEXO N° 10

Influencia del lugar de origen sobre las características sensoriales del aceite esencial de molle:

- Procesamiento estadístico de los datos pertenecientes a la prueba de comparación múltiple para el olor.

a) Modelo propuesto:

$$X_{ij} = \mu + \beta_i + T_j + e_{ij}$$

Donde: $i = \overline{1,7}$; $j = \overline{1,3}$

b) Hipótesis planteadas ($\alpha=0,05$):

b.1) Para bloques (decisión de los jueces):

$$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3 = \beta_4 = \beta_5 = \beta_6 = \beta_7$$

$$H_1: \beta_1 \neq \beta_2 \neq \beta_3 \neq \beta_4 \neq \beta_5 \neq \beta_6 \neq \beta_7$$

b.2) Para tratamientos (muestras codificadas):

$$H_0: T_1 = T_2 = T_3 = T_4 = T_5 = T_6 = T_7$$

$$H_1: T_1 \neq T_2 \neq T_3 \neq T_4 \neq T_5 \neq T_6 \neq T_7$$

c) Sumatoria de cuadrados:

c.1) Sumatoria de cuadrados valor de C:

$$C = \frac{T_{..}^2}{N = nk}$$

$$C = \frac{54^2}{21}$$

$$C = 138,857\ 14$$

c.2) Sumatoria de cuadrados bloque (SC_B):

$$SC_B = \frac{\sum Ti.^2}{k} - C$$

$$SC_B = \frac{520}{3} - 138,857\ 14$$

$$SC_B = 34,476\ 19$$

c.3) Sumatoria de cuadrados de tratamiento (SC_{tr}):

$$SC_{tr} = \frac{\sum T.j^2}{n} - C$$

$$SC_{tr} = \frac{978}{7} - 138,857\ 14$$

$$SC_{tr} = 0,857\ 15$$

c.4) Sumatoria de cuadrados total (SC_T):

$$SC_T = \sum_{i=j}^n \sum_{j=i}^k X_{ij}^2 - C$$

$$SC_T = (79 + 83 + 50) - 138,857\ 14$$

$$SC_T = 73,142\ 86$$

c.5) Sumatoria de cuadrados error (SC_e):

$$SC_e = SC_T - SC_B - SC_{tr}$$

$$SC_e = 73,142\ 86 - 34,476\ 19 - 0,857\ 15$$

$$SC_e = 37,809\ 52$$

c.6) Comprobación de sumatoria de cuadrados total (SC_T):

$$SC_T = SC_B + SC_{tr} + SC_e$$

$$SC_T = 34,476\ 19 + 0,857\ 15 + 37,809\ 52$$

$$SC_T = 73,142\ 86$$

- Análisis de varianza y descarte de hipótesis.

Cuadro N° 01.- Análisis de variancia para el olor.

FV	GI	SC	CM	F exp	F t ($\alpha=0,05$)
Decisión de los jueces	6,0	34,476 19	5,746 03	1,824	3,00
Muestras	2,0	0,857 15	0,428 58	0,136	3,89
Error	12,0	37,809 52	3,150 79		
Total	20,0	73,142 86			

Donde: FV: Fuente de variación; GI: Grados de libertad;
SC: Suma de cuadrados; CM: Cuadrados medios; F
exp: F experimental; F t: F tabla.

Fuente: Elaboración propia (2011).

a) Efecto de la decisión de los jueces:

El valor de F_{exp} es 1,824, el cual es menor a F_t que es 3,00; por tanto, se acepta la hipótesis H_0 que indica que no hay diferencia significativa entre las evaluaciones que realizaron los jueces. En consecuencia se determina el efecto de las muestras.

b) Efecto de las muestras:

El valor de F_{exp} es 0,136, que es inferior a F_t que equivale a 3,89; entonces, se acepta la hipótesis H_0 que indica, no existe diferencia significativa entre el olor de cada muestra, lo que quiere decir que el lugar de origen no influye en forma significativa en el olor del aceite esencial de molle.

ANEXO N° 11

Influencia del lugar de origen sobre las características sensoriales del aceite esencial de molle:

- Procesamiento estadístico de los datos pertenecientes a la evaluación sensorial del sabor.

a) Modelo propuesto:

$$X_{ij} = \mu + \beta_i + T_j + e_{ij}$$

Donde: $i = \overline{1,7}$; $j = \overline{1,3}$

b) Hipótesis planteadas ($\alpha=0,05$):

b.1) Para bloques (decisión de los jueces):

$$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3 = \beta_4 = \beta_5 = \beta_6 = \beta_7$$

$$H_1: \beta_1 \neq \beta_2 \neq \beta_3 \neq \beta_4 \neq \beta_5 \neq \beta_6 \neq \beta_7$$

b.2) Para tratamientos (muestras codificadas):

$$H_0: T_1 = T_2 = T_3 = T_4 = T_5 = T_6 = T_7$$

$$H_1: T_1 \neq T_2 \neq T_3 \neq T_4 \neq T_5 \neq T_6 \neq T_7$$

c) Sumatoria de cuadrados:

c.1) Sumatoria de cuadrados valor de C:

$$C = \frac{T_{..}^2}{N = nk}$$

$$C = \frac{54^2}{21}$$

$$C = 138,857\ 14$$

c.2) Sumatoria de cuadrados bloque (SC_B):

$$SC_B = \frac{\sum Ti.^2}{k} - C$$

$$SC_B = \frac{482}{3} - 138,857\ 14$$

$$SC_B = 21,809\ 53$$

c.3) Sumatoria de cuadrados de tratamiento (SC_{tr}):

$$SC_{tr} = \frac{\sum T.j^2}{n} - C$$

$$SC_{tr} = \frac{974}{7} - 138,857\ 14$$

$$SC_{tr} = 0,285\ 72$$

c.4) Sumatoria de cuadrados total (SC_T):

$$SC_T = \sum_{i=j}^n \sum_{j=i}^k X_{ij}^2 - C$$

$$SC_T = (71 + 70 + 59) - 138,857\ 14$$

$$SC_T = 61,172\ 86$$

c.5) Sumatoria de cuadrados error (SC_e):

$$SC_e = SC_T - SC_B - SC_{tr}$$

$$SC_e = 61,142\ 86 - 21,809\ 53 - 0,285\ 72$$

$$SC_e = 39,047\ 61$$

c.6) Comprobación de sumatoria de cuadrados total (SC_T):

$$SC_T = SC_B + SC_{tr} + SC_e$$

$$SC_T = 21,809\ 53 + 0,285\ 72 + 39,047\ 61$$

$$SC_T = 61,142\ 86$$

- Análisis de varianza y descarte de hipótesis.

Cuadro N° 01.- Análisis de variancia para el sabor.

FV	GI	SC	CM	F exp	F t ($\alpha=0,05$)
Decisión de los jueces	6,0	21,809 53	3,634 92	1,117	3,00
Muestras	2,0	0,285 72	0,142 86	0,044	3,89
Error	12,0	39,047 61	3,253 97		
Total	20,0	61,142 86			

Donde: FV: Fuente de variación; GI: Grados de libertad; SC: Suma de cuadrados; CM: Cuadrados medios; F exp: F experimental; F t: F tabla.

Fuente: Elaboración propia (2011).

a) Efecto de la decisión de los jueces:

F exp equivale a 1,117, valor inferior al de F t que es 3,00; por tanto, se acepta la hipótesis H_0 que sostiene, no hay diferencia significativa entre las evaluaciones que realizaron los jueces. Por ende se determina el efecto de las muestras.

b) Efecto de las muestras:

El valor de F exp es de 0,044, el cual es menor al valor de F t que es de 3,89; por tanto, se acepta la hipótesis H_0 .

De acuerdo a la hipótesis aceptada, no hay diferencia significativa entre el sabor de cada muestra, lo cual indica que el lugar de origen no influye de manera significativa en el sabor del aceite esencial de molle.

ANEXO N° 12

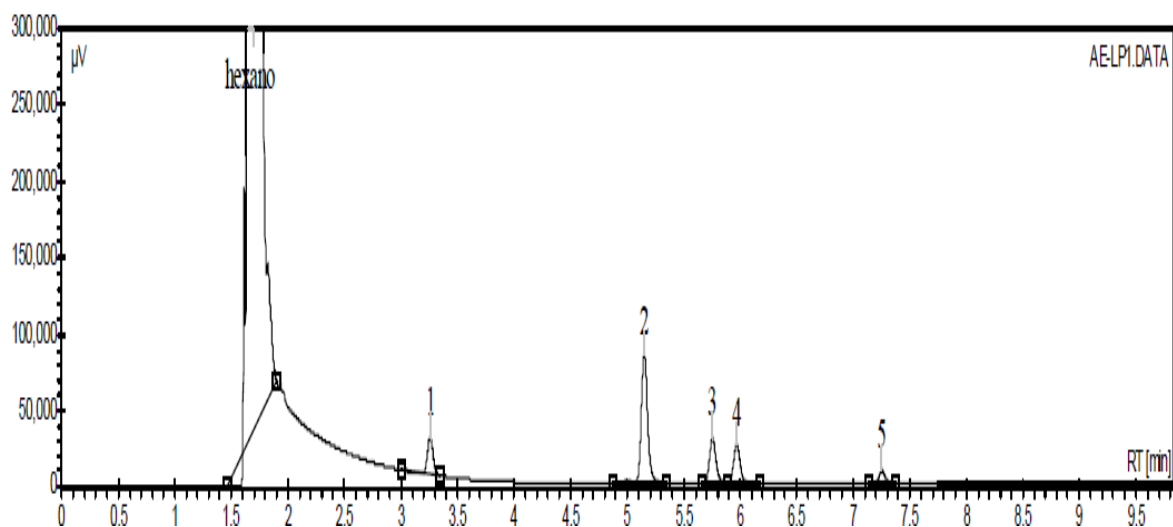


Figura N° 01.- Cromatograma de picos para la muestra de aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 01 “Los Palos”.

Fuente: Universidad Nacional de Ingeniería (2012).

AE-LP1.DATA [Middle (FID)]

Index	Name	Time [Min]	Quantity [% Area]	Height [µV]	Area [µV.Min]	Area % [%]
1	hexano	1.65	99.80	180680512.1	5693541.4	99.802
2	1	3.26	0.02	24624.9	1281.5	0.022
3	2	5.15	0.10	84614.1	5676.9	0.100
4	3	5.76	0.03	29672.1	1984.9	0.035
5	4	5.97	0.03	25929.7	1754.3	0.031
6	5	7.25	0.01	8715.8	595.0	0.010
Total						
			100.00	180854068.8	5704833.9	100.000

Figura N° 02.- Leyenda descriptiva para el cromatograma de picos.

Fuente: Universidad Nacional de Ingeniería (2012).

ANEXO N° 13

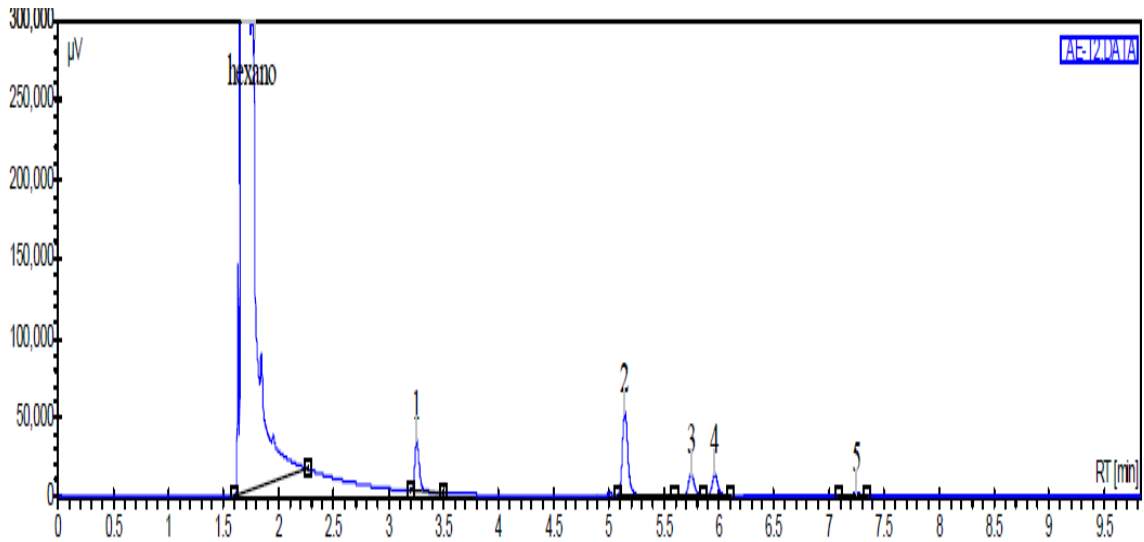


Figura N° 01.- Cromatograma de picos para la muestra de aceite esencial de molle perteneciente al lote N° 02 “Tarata”

Fuente: Universidad Nacional de Ingeniería (2012).

AE-T2.DATA [Middle (FID)]

Index	Name	Time [Min]	Quantity [% Area]	Height [µV]	Area [µV.Min]	Area % [%]
1	hexano	1.67	99.79	174898250.8	3000358.5	99.787
2	1	3.26	0.05	31569.3	1458.8	0.049
3	2	5.15	0.10	52522.1	3099.2	0.103
4	3	5.75	0.03	14472.1	876.3	0.029
5	4	5.96	0.03	13626.7	852.3	0.028
6	5	7.25	0.00	2029.5	129.1	0.004
Total						
			100.00	175012470.4	3006774.2	100.000

Figura N° 02.- Leyenda descriptiva para el cromatograma de picos.

Fuente: Universidad Nacional de Ingeniería (2012).

ANEXO N° 14

Norma Técnica Peruana (NTP-ITINTEC) con código: ICS 71.100.60, para aceites esenciales. 