

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
DIRECCIÓN GENERAL DE INVESTIGACIÓN
FACULTAD DE INGENIERÍA
CENTRO DE INVESTIGACIONES DE INGENIERÍA

OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE
TOMILLO (THYMUS VULGARIS) CULTIVADO EN GUATEMALA,
UTILIZADO EN DIVERSIDAD DE PRODUCTOS FITOFARMACÉUTICOS.

Nombre de los integrantes del equipo de investigación:

Inga. Telma Maricela Cano Morales, Coordinadora del proyecto

Ing. Jorge Emilio Godínez Lemus, Investigador Titular I

Inga. Blanca Luz Chávez Quiñónez de Pérez, Investigador Titular I

Br. Carol Elizabeth Barrientos Rojas, Auxiliar de Investigación

Guatemala, Octubre de 2001

INDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
ANTECEDENTES.....	3
JUSTIFICACIÓN.....	5
OBJETIVOS.....	6
REVISIÓN DE LITERATURA.....	7
Referente Teórico.....	7
Aceites Esenciales panorama general.....	7
Tomillo (Thymus vulgaris L.).....	10
Producción Mundial.....	11
Usos medicinales atribuidos.....	11
Otros usos populares.....	12
Farmacología.....	12
Composición química.....	13
Farmacognosia.....	14
Toxicología.....	15
Indicaciones Terapéuticas.....	16
Extracción (Destilación por arrastre de vapor).....	16
Caracterización Química.....	17
Cromatografía gaseosa.....	18
Métodos para extraer aceite esencial:.....	18
METODOLOGÍA.....	22
Metodología experimental:.....	22
Manejo del experimento:.....	23
Métodos para extraer aceite esencial:.....	23
PRESENTACIÓN DE RESULTADOS.....	25
DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	29
CONCLUSIONES.....	33
RECOMENDACIONES.....	34
BIBLIOGRAFÍA.....	35
APENDICES.....	38

RESUMEN

En la presente investigación se llevó a cabo la extracción y caracterización del aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) en la planta piloto de extracción-destilación del Centro de Investigaciones de Ingeniería de la Universidad San Carlos de Guatemala, evaluando el rendimiento y la calidad en función de dos factores: altitud y método de extracción. Para el primer factor se utilizaron 2 niveles: Santiago Sacatepéquez que está ubicado a una altitud de 1500 msnm y Chaquijyá Sololá ubicado a una altitud de 2380 msnm; y para el segundo factor se utilizaron 3 niveles: destilación con agua, destilación con vapor y destilación con vapor y agua. A las muestras de aceite esencial de tomillo se les midió el índice de refracción y densidad como parte de las pruebas físicas a evaluar, además de realizarles cromatografía gaseosa en la Unidad de Análisis Instrumental de la Facultad de Farmacia para cuantificar el timol y el carvacrol los cuales son los trazadores de la calidad del aceite esencial de tomillo. Los resultados obtenidos de porcentaje de rendimiento de aceite esencial obtenidos se interpretaron por medio de un análisis de varianza, llegando a concluir que: los dos factores estudiados influyen en el porcentaje de rendimiento de aceite esencial obtenido y además no existe efecto significativo en la interacción de ambos factores. La altitud y el método de extracción no influyen en el porcentaje de timol y el porcentaje de carvacrol del aceite esencial de tomillo.

De esta manera se logró determinar las condiciones para la obtención de aceite esencial de tomillo, y se estableció la metodología apropiada para la optimización del proceso de extracción en la planta piloto, esto es, el mejor método de Extracción es destilación con agua y vapor de agua y un tiempo de extracción de 2 horas, obteniéndose con esta metodología un valor óptimo de porcentaje de rendimiento de aceite esencial de tomillo de 0.40490% y para una altura de 2380 msnm, correspondiente a Chaquijyá, sololá.

Uno de los logros mas relevantes de éste proyecto fue la interacción con agricultores guatemaltecos dedicados al cultivo de plantas medicinales los cuales fueron de gran ayuda como proveedores de materia prima y al mismo tiempo generarles nuevas alternativas de fortalecimiento en la economía de pequeña escala.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años el uso de productos naturales ha cobrado importancia en la medicina, nutrición y control de plagas agrícolas, debido a que es una alternativa muy viable tanto desde el punto de vista económico como social, ya que Guatemala es un país que posee excelente biodiversidad y la explotación de productos naturales conlleva a un desarrollo científico y tecnológico, así como a un desarrollo social y económico, generando fuentes de trabajo.

El tomillo es uno de los productos agrícolas de Guatemala que tiene interés comercial con fines medicinales en la industria fitofarmacéutica y culinarios. Puesto que en nuestro país existen condiciones climatológicas que permiten el desarrollo de diversos cultivos, fue posible realizar el presente proyecto que trata sobre la extracción y caracterización del aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*), para lo cual se realizó un experimento bifactorial en el que se utilizaron dos altitudes, 1700 y 2380 msnm, y tres métodos de extracción a nivel planta piloto: destilación con agua, destilación con vapor y destilación agua-vapor de agua y determinar cuales son las combinaciones de las variables que permitan obtener rendimientos más altos de aceite esencial.

Actualmente no existe información con respecto a la optimización de la extracción del aceite esencial de tomillo y a su posible exportación como alternativa económica para los agricultores guatemaltecos que se dedican al cultivo del mismo, por lo tanto los resultados obtenidos del presente proyecto son de gran importancia para el desarrollo económico de nuestro país.

ANTECEDENTES

La búsqueda de nuevos fármacos de origen vegetal ha ocupado el interés de farmacognostas y fotoquímicos por mucho tiempo. Exploraciones para recolectar especímenes vegetales, y análisis fotoquímicos, se han enfocado a la búsqueda de sustancias con posible actividad farmacológica sobre trastornos de diversa índole. La medicación naturista ha dado origen al estudio científico de las plantas medicinales. Es la naturaleza la que ha proporcionado muchos medicamentos (digoxina, colchicina, vinblastina, atropina, etc.) y sigue proporcionando el punto de partida para los futuros medicamentos. Guatemala es poseedora de una riqueza de especies medicinales, de las cuales unas han sido sobreexplotadas sin ningún manejo y otras esperan que se les investigue para incorporarlas al sistema de salud del sector más necesitado de la población guatemalteca. En las últimas investigaciones se ha encontrado que muchas de las plantas medicinales tienen propiedades insecticidas, fungicidas y bactericidas para uso en el control de plagas y enfermedades agrícolas, lo que nos guía hacia la importancia de cultivar y manejar aquellas especies que tienen valor medicinal, nutricional y plaguicida.

En Guatemala existe una única especie de tomillo el cual es el *Thymus vulgaris*, el cual es de origen mediterráneo e introducido en el siglo XVIII, la distribución en nuestro país es en el altiplano central y occidental; se desarrolla en clima templado, templado-cálido y suelo arcilloso; tiene amplia demanda nacional, regional e internacional tanto fresco como seco.

Los aceites esenciales comprenden las esencias vegetales y las resinas. Las esencias son volátiles y a menudo con un olor muy pronunciado, encontrándose la mayor parte en hojas y flores. Los aceites esenciales están constituidos por una gran variedad de compuestos orgánicos dentro de los cuales sobresalen los terpenoides, están distribuidos en un gran número de familias de plantas superiores e inferiores y cumplen funciones ecológicas, como son la de atracción de polinizadores y la de causar efectos alelopáticos. Desde el punto de vista taxonómico, el estudio de los aceites esenciales ha servido como una ayuda en la definición de especies, en la detección de híbridos existentes en poblaciones naturales y en la confirmación de razas geográficas dentro de una misma especie. Los aceites esenciales se localizan en determinados sitios de la estructura vegetal, en células normales o modificadas o también en estructuras especializadas tales como, cavidades esquizógenas, vasos secretores, pelos

glandulares, canales lisígenos, etc.. Pueden, asimismo, estar depositados en tejidos específicos como en el pericarpio de los frutos cítricos y en los tubos oleíferos de ellos, en la corteza del tallo y en hojas.

Por lo anterior, la obtención de aceites esenciales debe realizarse de acuerdo a las condiciones en las cual se presenta en la planta, en el caso del *Thymus vulgaris*, el aceite esencial se extrae por destilación de las hojas y flores y contiene alrededor del 1.0-2.5%, contiene timol, carvacrol, p-cimeno, alcanfor, cimol, borneol, y otros constituyentes volátiles.

A nivel laboratorio se tiene datos de rendimiento de tomillo de distintos niveles altitudinales, pero a nivel planta piloto es la primera investigación realizada, por lo cual el presente proyecto reviste suma importancia para aportar información sobre parámetros de operación para una mejor extracción de aceite esencial de tomillo así como de otras especies vegetales afines como las plantas que pertenecen a la misma familia como lo son la menta y la lavanda.

Todo éste trabajo se ha podido realizar por contar con una planta piloto de extracción-destilación donada por el Programa de la Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial, PNUD, a la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Asimismo se han realizado distintos proyectos de investigación dentro del marco de extracción de aceites esenciales y oleorresinas, para promover vinculación con la industria guatemalteca.

JUSTIFICACIÓN

El uso de la medicina natural y en especial el uso de plantas medicinales es tan antiguo como nuestras culturas, sin embargo, no se ha valorizado todo ese conocimiento ancestral en el manejo y uso de plantas medicinales, por lo que a la fecha poco se conoce sobre el mismo. El tema de los extractos vegetales ha cobrado vigencia en los últimos años, utilizar plantas para curar distintas enfermedades está demostrado que es una alternativa, no solo para los países poco desarrollados, sino para los desarrollados. En Guatemala se cuenta con una diversidad de plantas que han sido utilizadas por nuestros ancestros por sus propiedades curativas, sin embargo tiene un uso empírico, sin conocimiento de dosificación, efectos secundarios, pruebas in vitro e in vivo de los principios activos de las mencionadas plantas. Por aparte, en los países donde se cuenta con tecnología avanzada procesan las materias primas provenientes de la flora de los países que no cuenta con la tecnología del caso y regresan a éstos ya los medicamentos y alimentos envasados con una presentación atractiva pero con altos precios.

Además la materia prima en bruto no tiene muchas veces un precio apetecible en el mercado y tiene que cumplir con los requerimientos rigurosos de calidad, tamaño, forma y color que exige el mercado internacional, es imperante entonces que en Guatemala se conozca y aplique la metodología para la extracción sustancias provenientes de las plantas: aceites esenciales, oleorresinas, taninos, colorantes, etc..

Este proyecto cubre una parte de la línea de investigación que se está fomentando en la Sección de Química Industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería en donde contamos con una planta piloto donada por el programa de la Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial y en la que en los últimos 5 años hemos realizado diversidad de proyectos y atendiendo las necesidades de empresarios que lo han requerido. Necesitamos como investigadores continuar en esta línea y poder brindar a la comunidad guatemalteca, asesoría, apoyo y que se cuente con metodologías validadas para que las personas interesadas puedan aprovecharla, por ésta razón para el presente proyecto interaccionamos con empresarios agroindustriales guatemaltecos a través de su entidad representativa AGEXPRONT así como con agricultores guatemaltecos para que sean ellos los que utilicen las metodologías validadas por la Universidad y puedan procesar su materia prima en productos con más alto valor en el mercado.

OBJETIVOS

GENERALES

- a.** Generar información sobre metodología de extracción de aceite esencial de tomillo cultivado en Guatemala.
- b.** Interactuar con el sector privado agroindustrial guatemalteco para tener una aplicación inmediata del conocimiento generado.

ESPECÍFICOS

- a.** Obtener y caracterizar el aceite esencial del tomillo cultivado en dos regiones de Guatemala, Sacatepéquez y Sololá.
- b.** Extraer el aceite esencial de tomillo en la planta piloto de extracción-destilación, utilizando tres métodos de extracción.
- c.** Caracterizar el aceite esencial de tomillo realizando análisis fisicoquímicos y cromatografía gaseosa.

REVISIÓN DE LITERATURA

Referente Teórico

La investigación de los principios activos en los extractos fitoquímicos de plantas medicinales se aplica al estudio de la actividad antimicrobiana de los mismos, así como aplicaciones en la industria de cosméticos y otros; se centra este estudio en la obtención del aceite esencial del Tomillo (*Thymus vulgaris*), el cual se utiliza en la industria cosmética, aromaterapia, y en la industria de medicamentos. La extracción de fitoquímicos es el proceso en el que se basa la obtención del aceite esencial. A continuación se describen las etapas de este proceso así como las definiciones más importantes.

Aceites Esenciales panorama general

Los aceites esenciales han sido durante mucho tiempo y hasta cierto punto continúan siendo las materias primas básicas de los fabricantes de perfumes. También son materias básicas para los que elaboran sustancias saporíferas, aunque quizás en menor medida ya que desde hace largo tiempo disponen de una amplia gama de otros tipos de productos (e.g. jugos). Estos aceites constituyen una valiosa fuente de ingresos, aunque de carácter más bien secundario, para gran número de pequeños agricultores y negociantes en pequeña escala en países en desarrollo, aunque existe también una producción más organizada a escala de plantaciones. Tanto los aceites esenciales como las oleorresinas de especias, por estar altamente concentrados, son productos de reducido volumen y elevado valor cuya preparación en muchos casos no presenta dificultades técnicas y cuyo transporte a los puntos de destino de ultramar es invariablemente barato.

Pero, en muchos aspectos, los aceites esenciales naturales están sometidos a una presión creciente. De una parte, los productores en países en desarrollo tratan de mantener, mediante aumentos de precios, el valor real de sus productos frente a la inflación general. Por otra parte, los que controlan financieramente las principales empresas de elaboración y composición de mezclas obligan a sus técnicos en perfumes y saporíferos a mantener o incluso a reducir el costo de las fórmulas que utilizan, lo que les obliga a utilizar ingredientes, ahora más abundantes y baratos, de origen sintético.

Las fuertes y repetidas alzas en el precio del petróleo durante el decenio de 1970 hizo aumentar grandemente el costo de producción de los aceites esenciales. Asimismo, la creciente escasez y alto costo de los combustibles vegetales, de los que depende la mayor parte de la producción en pequeña escala, ha alterado apreciablemente la economía de la producción. Un efecto adverso, aunque no sorprendente, de estas presiones de los costos, en particular cuando las condiciones de mercado impiden un incremento compensador en el precio del producto en la destilería, ha sido inducir a los productores a reducir su dependencia de los abonos o de otros insumos, con los riesgos inherentes de una reducción en los rendimientos de las cosechas o de la calidad del producto, lo que hace empeorar aún más las perspectivas a largo plazo para sus productos.

Otro problema planteado es el costo cada vez mayor de las piezas de repuesto del equipo de destilación, cuyo diseño tradicional era barato, en su origen, especialmente porque en algunas regiones ciertos oficios tradicionales están empezando a desaparecer. Además, el equipo moderno, a pesar de su mayor duración en general que la del equipo tradicional, puede resultar tan costoso que sea totalmente incompatible con los precios en destilería del producto que corresponden a los sistemas tradicionales. Los efectos de los incrementos de precios han quedado mitigados en algunas zonas merced al lanzamiento de empresas cooperativas, en las que comparten el costo del equipo moderno varios antiguos propietarios de los equipos de destilación tradicionales. Sin embargo, para prevenir desengaños, esas empresas tienen que estar bien administradas y la tasa de utilización de la maquinaria debe ser elevada. Existen varios casos de fracaso de este tipo de empresas. No obstante, a pesar de estas reservas, empresas conjuntas administradas competentemente pueden representar los métodos más prometedores para detener el descenso en la producción de muchos aceites esenciales. En un futuro previsible, sin embargo, es probable que el tradicional agricultor-destilador continúe desempeñando un papel importante, a pesar de las dificultades mencionadas.

Es también de vital importancia que la utilización de equipo moderno no provoque un cambio inaceptable en las características odoríferas del producto, como es sabido que ha ocurrido ya. Incluso aunque el producto sea de calidad menos variable como resultado del control de calidad más estricto que hace posible el equipo moderno, cabe esperar reacciones adversas de los compradores ante un producto que difiere en grado suficiente en sus características del

producto tradicional como para hacer necesaria una reelaboración costosa de las fórmulas. Tampoco interesa, por lo general, a los pequeños productores y cooperativas intentar incrementar el valor de sus productos mediante la refinanciación o la modificación, o mediante la extracción de ciertos elementos componentes de importancia clave. Aunque una o dos empresas productoras multinacionales han emprendido esas operaciones en los países productores, los pequeños productores se encuentran en situación mucho más desventajosa, en lo que se refiere al conocimiento del mercado, para hacer otro tanto. La mayoría de las empresas de elaboración necesitan recibir sus materias primas en la forma más básica posible para conseguir así la máxima flexibilidad en las operaciones posteriores de elaboración y mezcla; un aceite reelaborado podría no poseer las propiedades fisicoquímicas exactas necesarias ni ofrecer demasiado margen para una modificación subsiguiente. Lo más conveniente para los intereses de los productores es sin duda una negociación paciente con los negociación paciente con los clientes para obtener precios equitativos y competitivos de las materias primas básicas, una atención creciente a la calidad y estabilidad del producto y el cumplimiento de las fechas de entrega.

Los aumentos de los costos del fueloil y de los productos petroquímicos han afectado, hasta cierto punto, a los precios de las sustancias aromáticas sintéticas. Por lo que se refiere a la industria del petróleo, esto ha permitido al parecer que otros productos distintos de los de perfumería y sustancias saporíferas, probablemente aquellos con una baja elasticidad comparativa de precios de demanda, soportar el peso principal del alza de los precios de los crudos. Por consiguiente, la competencia que tienen que afrontar los aceites esenciales naturales se ha intensificado en lugar de aminorarse. En cualquier caso, la trementina, que es la otra fuente importante para los productos sintéticos, se obtiene de recursos renovables. No atraviesa una creciente escasez como los recursos no renovables ni es probable que su precio aumente a largo plazo a una tasa superior a la de la inflación general. Su presión competitiva frente a los aceites esenciales ciertamente no disminuirá. Las sustancias aromáticas sintéticas gozan de reputación por su calidad constante, por su corriente adecuada y regular de suministros y por estar exentas de fuertes fluctuaciones de precios, a las que son tan propensos los aceites esenciales. Nunca ha sido mayor la necesidad de que los productores de aceites esenciales naturales compensen las ventajas mencionadas.

Tomillo (*Thymus vulgaris* L.)

(Lamiaceae/Labiatae)

Descripción botánica

Hierba aromática perenne, 20-50 cm de alto, tallo recto, muy ramificado, ligeramente leñoso. Hojas abundantes, 4-10 mm de largo, opuestas, obtusas, agudas, pecíolos cortos, lanceoladas. Flores terminales numerosas, púrpura pálido o blancas, 7-8 mm de largo, tubulares, bilabiadas, grupos de 2-3 florecitas; flores bisexuales de mayor tamaño, estambres protubulares, femeninas más pequeñas. Semilla lisa, ovalada, 0.7-1.0 mm de largo .

Hábitat

Nativa del Mediterráneo en alturas de 0-1800 msnm y del oeste de Asia en alturas de 1500-4000 , ampliamente cultivada en clima montañoso, templado y subtropical de América y Caribe. En Guatemala se cultiva en el altiplano central y occidental en lugares secos y soleados.

Historia

Según Font Quer “Probablemente, los grandes de la Antigüedad clásica no llegaron a conocer el tomillo común, porque es planta que apenas alcanza Grecia, propia de España y de otros países mediterráneos occidentales “ . Discórides ya lo prescribía, entró en las farmacopeas desde el siglo XVI, formando parte de varios preparados galénicos; Plinio lo recomendaba como antídoto para mordeduras de serpientes; *T.vulgaris* es la forma cultivada de su forma silvestre (*T. serpyllum*) . Según Culpeper, sus propiedades están regidas por Venus .

Agricultura

Requiere suelo ligero, rico, calcáreo y fértil, en suelos pesados y húmedos la planta es menos aromática y se seca antes. Se propaga por semilla (1000 semillas pesan 0.265 g), germina el 90% en 16 días en obscuridad, en un suelo muy fino y limpio ; o división de plantas adultas (20-30/planta) que al enraizar se transplantan a distancia de 30-45 cm entre surco y 60 cm entre planta, fertilizar orgánica y químicamente; las principales plagas son nematodos

(Meloidogyne hapla). Colectar ramas de 15 cm de largo durante 4-6 años; para aceite esencial se procesa inmediatamente, para uso doméstico se seca la planta a la sombra o medios artificiales hasta 40°C . Se esperan rendimientos de 4-5 ton/ha de planta fresca, al secar se pierde 60-65%; la destilación rinde 20-25 kg/ha .

Producción Mundial

Aunque el tomillo crece abundantemente en Europa, Africa del Norte, el Oriente Medio y Asia Menor, la producción del aceite está limitada hoy Principalmente a España. Pequeñas cantidades pueden producirse ocasionalmente en Marruecos, Turquía y Francia. Este último país, que en tiempo producía aceite de tomillo con regularidad, hoy reexporta aceite importado. El volumen de la producción mundial es de 20 a 30 toneladas anuales aproximadamente, que en su mayor parte es objeto de comercio internacional y se destina, en cantidades repartidas poco más o menos por igual, a los mercados de los Estados Unidos y de Europa Occidental. Debido a que cada vez se dispone de mayores cantidades de timol sintético, ha disminuido la importancia del aceite de tomillo natural en los últimos 25 años. Sin embargo, esta tendencia se ha atenuado ahora. Los costos en alza de la mano de obra y otras dificultades de producción en España sugieren que este país proveedor no podrá satisfacer un resurgimiento de la demanda de aceite natural. Cualquier aumento de esa clase ofrecería por consiguiente una oportunidad de importancia menor a un nuevo productor. Sin embargo, en tanto que el consumo se mantenga más o menos estable, es probable que los suministros actuales sigan siendo adecuados.

Usos medicinales atribuidos

La infusión de hojas por vía oral se usa para tratar afecciones digestivas (cólico, diarrea, disepsia, flatulencia, gastritis, inapetencia, parásitos, vómitos) y respiratorias (amigdalitis, asma, bronquitis, catarro, laringitis, refrió ronquera, tos, tos ferina), anemia diabetes, fiebre, gota, lepra, reumatismo, desórdenes esplénicos y uterinos, neuralgia y ciatica; el vino se toma contra cáncer y tumores.

Por vía tópica se aplica en la cicatrización de heridas; en enema para las lombrices, en baño para la debilidad de los niños y el reumatismo, en enjuague para la halitosis y gingivitis; los lavados se aplican en eczema, leucorrea, quemaduras, soriasis y tineas; las cata plasmas, emplastos y ungüentos se aplican en cáncer, induraciones, tumores, úlceras y verrugas.

Se le atribuye propiedad antiséptica, antitusiva, astringente, carminativa, cicatrizante, colerética, depurativa, desodorante, digestiva, diurética, enemagoga, espasmolítica, estimulante, expectorante, secretolítica, sudorífica, tónica y vermífuga. Tópicamente tiene propiedad antiséptica, cicatrizal, emoliente, vulneraria y aumenta el flujo sanguíneo del área.

Otros usos populares

Se cultiva ampliamente en huertos y jardines como planta de compañía, para sazonar comidas, preservar carnes, embutidos y pescado y en la industria alimenticia y cosmética por su olor y sabor. Hay dos tipos de aceite en el mercado, el primero es el aceite de tomillo crudo, conocido generalmente como aceite de tomillo rojo, el segundo es el aceite de tomillo blanco, que puede ser una redestilación del aceite de tomillo rojo o, lo que quizás es más corriente, una mezcla discrecional de aceite de tomillo rojo con varios compuestos derivados. Ninguna hierba produce aceite de tomillo blanco en la primera destilación. El aceite de tomillo rojo se emplea como saporífero en embutidos, carnes envasadas y enlatadas y en ciertos tipos de salsas, así como en fórmulas de Perfumería de calidad media y baja para jabones y detergentes. El aceite de tomillo blanco tiene más probabilidades de ser utilizado en perfumería de mejor clase o en aplicaciones que exigen fórmulas de mayor precisión.

Farmacología

Experimental

Estudios antimicrobianos demuestran que el extracto de hojas inhibe *S. Aureus*. El aceite esencial es activo contra *C. Diptherheriae*, *E.coli*, *S. Typhi*, *S. Pneumoniae* y *S. Pyogenes*. El aceite esencial tiene efecto fungistático y fungicida contra *M. Canis* y *M gypseum* (CIM de

25 ppm); es activo contra hongos fitopatógenos (*Alternaria tenuis*, *Botrytis allii*, *Ceratocystis ulmi*, *Cladosporium fulvum*, *Claviceps purpúrea*, *Diplodia maydis*, *Fusarium spp.*, *Fusicladium effusum*, *Gibberella fujikuroi*, *Lentinus lapideus*, *Lenzites trabea*).

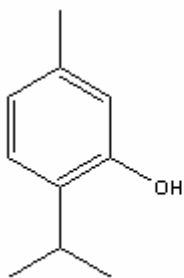
Estudios farmacológicos demuestran que el extracto metanólico no tiene actividad antiinflamatoria en el edema de la oreja del ratón inducido por acetato de tetradecanoilforbol .

Clínica

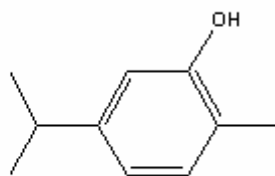
Existen varios estudios sobre el uso de preparaciones galénicas con extracto de tomillo o timol, por su propiedad antiséptica y desinfectante para afecciones respiratorias y de la piel y mucosas .

Composición química

La planta contiene aceite esencial (1.0-2.5%), saponinas triterpenoides, flavonoides(derivados apigenina y lutenol), ácido ursólico (1.5%) y caféico, taninos, resinas y sustancias amargas. el aceite esencial contiene timol (40%), p-cimeno (15-50%), alcanfor (11-16%), carvacrol, cimol borneol, camfeno, limonelo, linalol, α - y β -, citral, mirceno, α -felandreno, 1,8-cineol, geraniol, β -cariofileno, δ -cadineno, β -terpineol, terpinoleno, verbenona y otros constituyentes volátiles.



Timol



Carvacrol

El análisis proximal de 100 g de hojas frescas contiene: 276 calorías, agua(7.8g), proteína(9g),grasa (7.4g), carbohidratos (63.9g), fibra (18.6g), ceniza (11.7g), calcio (1.890 mg), fósforo (201mg), hierro (123mg), sodio (55mg), potasio (814mg), caroteno (2.260 µg), tiamina (0.5g), riboflavina (0.4mg), niacina (4.9mg); las semillas tienen proteína (28.2g) y grasa (38.9g) .

Farmacognosia

La materia médica son las hojas y las flores secas. Macroscópicamente presenta tallos cuadrangulares, hojas ovadas, flores axilares, rosa claro, olor y sabor aromático. Microscópicamente presenta células epidérmicas prolongadas en tricomas unicelulares, 60µm de largo, tricomas glandulares abundantes, tallo unicelular, cabezuelas esféricas unicelulares de 20 µm de diámetro . La ceniza no debe ser mayor de 12%, ceniza insoluble en ácido no más de 4% y no más de 15% de tallos menores de 1mm de diámetro .

(1a) Epidermis superior con estoma diáctico; (1b) Tricoma glandular multicelular; (1c) Tricoma de cobertura cónico; (2) Lámina con tricomas cónicos (u.ep.); (3) Tricomas de cobertura en la epidermis (ep.); (4) Epidermis inferior; (5) Fibras del tallo; (6) Epidermis externa; (7) Granos de polen; (8) Epidermis externa del cáliz; (11) y (12) Tricoma glandular multicelular; (13) Epidermis del tallo con cicatrices (cic)

El aceite esencial tiene una gran heterogeneidad en cuanto a sus componentes, es un líquido rojo de olor característico que se extrae por destilación de las hojas y flores frescas (2%), tiene densidad 0.910-0.935, índice de refracción 1.4950-1.5050, soluble en etanol, rotación óptica -8 a +5, tiene propiedad antiespasmódica, carminativa , antiséptica, aperitiva, eupéptica, colerética, antitusiva y expectorante. Ha sido oficial desde el siglo XVI por vía oral como germicida, antiséptico y antitusígeno y por vía tópica como rubefaciente y contrairritante para aliviar neuralgia y reumatismo.

La actividad antiséptica se atribuye al timol y flavonoides. El carvacrol y el timol presentan actividad neurotrópica y musculotrópica, por reducción de la disponibilidad de Ca^{+2} ; poseen una débil actividad relajante de la tráquea, que no es resultado de la excitación de receptores β_2 , el valor terapéutico depende de los fenoles del aceite esencial.

El extracto aumenta la secreción bronquial y es espasmolítico. Los flavonoides le confieren propiedad diurética. La planta contiene moderadas cantidades de ácido rosmarínico (2.6% del peso seco) y derivados hidroxicinámicos totales (3.8% del peso seco), los cuales con responsables de su moderada actividad antioxidante ($\text{EC}_{50}=35\mu\text{g/ml}$).

El timol es un cristal blanco, peso molecular 150, punto de fusión 51.5°C , punto de ebullición 233°C , olor característico, picante, densidad 0.9699, índice de refracción 1.5227, soluble en agua (1g/l), alcohol (1g/ml), con propiedades antisépticas y antihelmínticas por vía oral o tópica. El carvacrol es un líquido, peso molecular 150, densidad 0.976, punto de ebullición $237\text{-}238^\circ\text{C}$, índice de refracción 1.5229, insoluble en agua, soluble en éter, uso farmacéutico como desinfectante y nematicida. Para la información de carvacrol de remite al lector al Orégano.

Es oficial en varios países, por lo que se encuentra en muchas de las farmacias. Se comercializan productos fitofarmacéuticos como infusión, enjuague bucal, tintura, jarabe, aceite y extractos¹⁰. Los compuestos se pueden autenticar por TLC con diclorometano como disolvente y reactivo de anisaldehído como revelador.

Toxicología

El aceite es venenoso y puede causar hiperemia e inflamación severa, en dosis elevadas por vía oral puede causar convulsiones; la planta y el aceite pueden ser estimulantes uterinos, por lo que deben ser evitados por las embarazadas; el timol puede causar dermatitis en los dentistas y quelitis y glositis cuando se usa como dentrífico. La DL_{50} del timol por vía oral en ratas es 980mg/kg; la DL del carvacrol en conejos por vía oral es 100mg/kg.

Indicaciones Terapéuticas

Por su acción carminativa, espasmolítica, antitusiva, expectorante, secretoria, bactericida, antihelmíntica y astringente, está indicado su uso oral en afecciones respiratorias (asma, catarro, gripe, bronquitis, efisema, tos) y digestivas (disquinesia biliar, digestión lenta, gastritis, meteorismo, espasmos, parasitosis, colitis, inapetencia) y astenia; en dosis de 300-400 cc/día de infusión de 1-4 g/taza, 3-4 gotas de esencia, 20-40 gotas/día de tintura 1:5 en alcohol de 45%.

El aceite y el timol están indicados tópicamente como antibacteriano y antifúngico en lociones, cremas y ungüentos en concentración de 0.1-1.0% , o bien en decocción de 50g/l para baños .

Extracción (Destilación por arrastre de vapor)

El uso de vapor como arrastre en la extracción, da como resultado la separación de porciones medicinalmente activas provenientes de tejidos vegetales, de todos aquellos componentes inactivos o inertes que sean volátiles. Cuando se tiene un sistema de dos líquidos inmiscibles entre sí, cada uno actúa como si el otro no estuviera presente. La presión arriba de este sistema será igual a la suma de las presiones de cada uno de estos líquidos puros a la temperatura en cuestión. Cuando el sistema hierve, la presión total será igual a la presión barométrica, que es igual a la suma de las presiones de cada uno de los líquidos puros a la temperatura de ebullición. La temperatura a la que los dos líquidos hierven será por lo tanto menor que la temperatura de ebullición de cada uno de los líquidos independientes. Un líquido ayuda al otro a destilarse(se suman sus presiones para igualar a la presión barométrica):

$$P_T = P_A^0 + P_B^0$$

De la ley de Dalton:

$$P_A^o = X_A P_T, \quad P_B^o = X_B P_T$$

P_T es la presión total, P_A^o , P_B^o son las presiones de los dos líquidos puros a la temperatura de ebullición de la mezcla, X_A , X_B son las fracciones mol de cada líquido.

$$P_A^o/P_B^o = n_A/n_B$$

n_A , n_B representan el número de moles de los líquidos A y B.

La composición del destilado será constante mientras las dos fases líquidas estén presentes (la temperatura de ebullición del sistema debe permanecer constante siempre y cuando P_T no cambie), ya que P_A^o y P_B^o son constantes a una temperatura dada.

Uno de los líquidos empleados es comúnmente agua y el otro un líquido inmiscible con agua. A este proceso se le llama destilación con vapor de agua o destilación por arrastre de vapor. El método es muy usado en la purificación de líquidos orgánicos (la mayoría inmiscibles en agua).

El extracto obtenido se separa en tres fases claramente definidas, la fase no soluble en agua, la fase parcialmente soluble en agua y el agua, producto de la condensación del vapor utilizado para la extracción. La parte parcialmente soluble en agua se puede separar totalmente con la adición de una sal la cual deja finalmente dos fases. Entonces la fase no soluble se decanta y se puede luego destilar para luego hacer un fraccionamiento y caracterización.

Caracterización Química

La utilización de técnicas de Química Orgánica y de Selección Fitoquímica (tamizaje fitoquímico semimicro, aplicable en general a todo tipo de productos naturales) y la utilización de cromatografía de capa fina; son herramientas necesarias para la caracterización de un producto obtenido de la extracción por arrastre de vapor. Se utiliza un medio de comparación

para determinar el contenido de ciertos grupos funcionales en el extracto, por medio de la respuesta reactiva de estándares

Cromatografía gaseosa

La cromatografía en fase gaseosa es una técnica que permite la separación de sustancias volatilizables. La separación tiene como base la distribución diferencial de las sustancias entre una fase estacionaria(sólida o líquida) y una fase móvil (gaseosa).

La muestra es introducida en una columna que contiene la fase estacionaria, a través del sistema de inyección. Temperaturas apropiadas en el sitio de la inyección y en la columna, posibilitan la volatilización de los componentes de la muestra los cuales, de acuerdo con sus propiedades y las de la fase estacionaria, son retenidos por tiempos variables y legan al final de la columna en tiempos diferentes. Un detector adecuado, a la salida de la columna, permite la detección y la cuantificación de las sustancias.

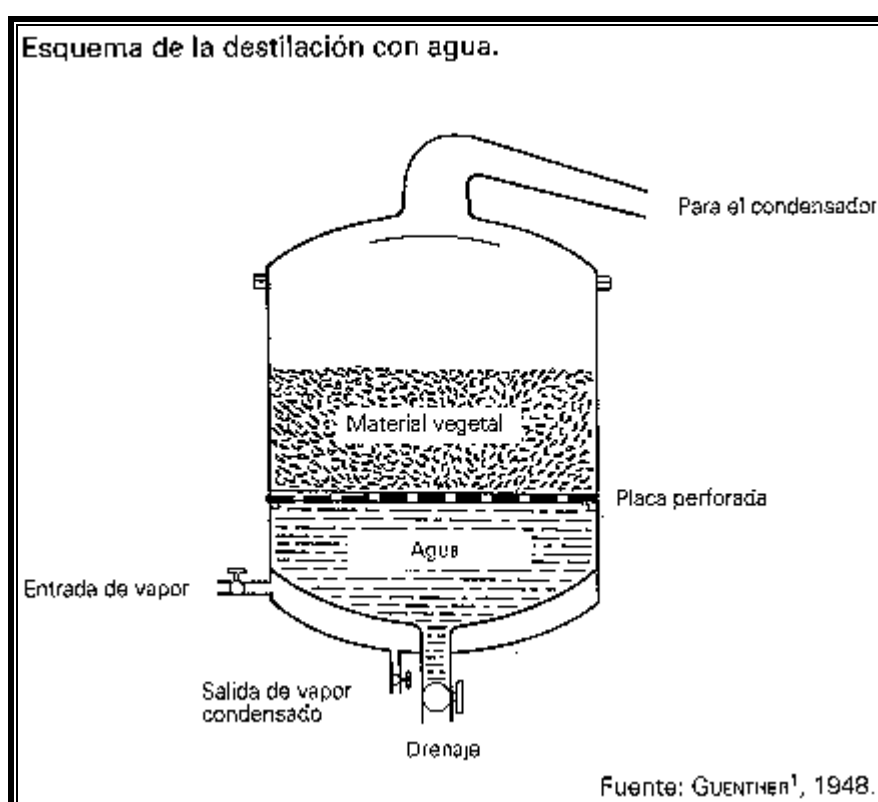
Métodos para extraer aceite esencial:

Destilación con agua.

Consiste en hervir una suspensión de la planta aromática con agua, condensando los vapores. El aceite, no miscible con el agua, se separa al condensarse debido a la diferencia de densidades. El agua se calienta generalmente a través de fuego directo, o por medio de un serpentín o camisa de vapor La cantidad de agua debe ser suficiente para generar el proceso de destilación; en caso contrario, el material vegetal puede sufrir recalentamiento y quemarse. La degradación térmica del material vegetal puede producir aromas indeseables en el producto, volviendo el aceite impropio para el uso para el que era destinado. El material vegetal en suspensión debe mantenerse en agitación para evitar su aglomeración en el fondo del recipiente y que se degrade en contacto directo con superficies calientes. Para que la dispersión del material vegetal en la suspensión sea uniforme se recomienda que se pulverice.

Este proceso presenta una serie de desventajas. Los aceites esenciales obtenidos por destilación con agua tienen, en general, un color más oscuro y una calidad inferior en relación

con los aceites obtenidos utilizando otros procesos. Algunos componentes de los aceites esenciales, como los ésteres, pueden sufrir hidrólisis, mientras otros (aldehídos y los hidrocarburos monoterpénicos acíclicos) pueden sufrir polimerizaciones. Los componentes oxigenados, como los fenoles, pueden ser disueltos y no son removidos completamente por la destilación. Algunos equipos permiten el retorno del agua condensada, minimizando de esta manera el riesgo de falta de agua en el proceso (figura 2). La única ventaja de este proceso es el bajo costo del equipo y la posibilidad de que sea realizado en áreas rurales, usando leña como combustible, cuando otras fuentes de energía no están disponibles.



Destilación con vapor

Este proceso es similar al anterior, con la única diferencia de no existir agua en el fondo del recipiente. El vapor de agua, saturado o super-calentado, y frecuentemente a una mayor presión que la atmosférica, es introducido atravesando el material colocado sobre un soporte. La gran ventaja de este proceso consiste en que la cantidad de vapor de agua puede ser controlada. El proceso de destilación con vapor da como resultado riesgos menores de degradación térmica y constituye el proceso más utilizado por la industria de aceites esenciales,

principalmente cuando se trata de la producción de aceites esenciales para la fabricación de perfumes. La figura 3 muestra el esquema de un destilador a vapor.

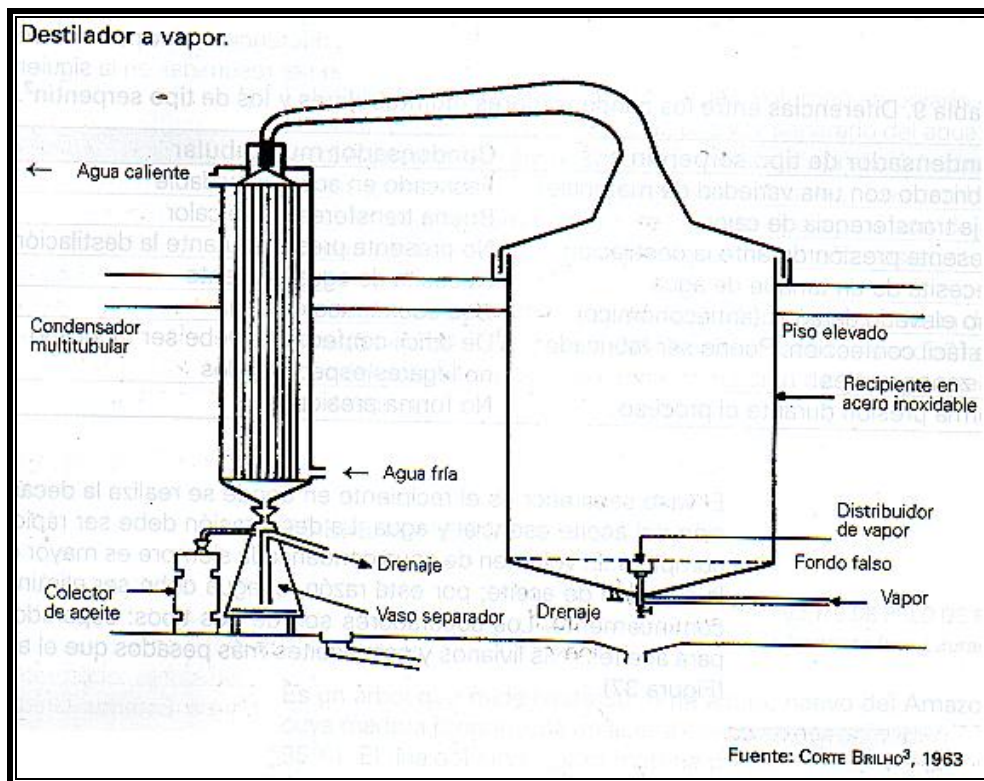


Figura 2.

Destilación con agua y vapor de agua

En este proceso la planta se coloca sobre una placa perforada, situada un poco arriba del fondo del recipiente. Se agrega agua hasta un nivel cercano al de la placa. El agua se calienta y el vapor húmedo atraviesa el material, de tal modo que la planta no está en contacto directo con el agua. El agua, después de condensada y separada del aceite, puede regresar al recipiente, de la misma manera descrita para el proceso de destilación con agua. La figura 2 muestra el esquema de una destilación con agua y con vapor de agua y el dispositivo que permite el retorno del agua condensada al proceso.

La destilación con agua y vapor de agua, comparada con el proceso de destilación con agua, resulta en un mayor rendimiento en aceite esencial, en pérdidas menores por hidrólisis y

por polimerización, y, si el reflujo es controlado, resulta también en una pérdida menor de sustancias polares. Este proceso es más rápido y consume menos energía.

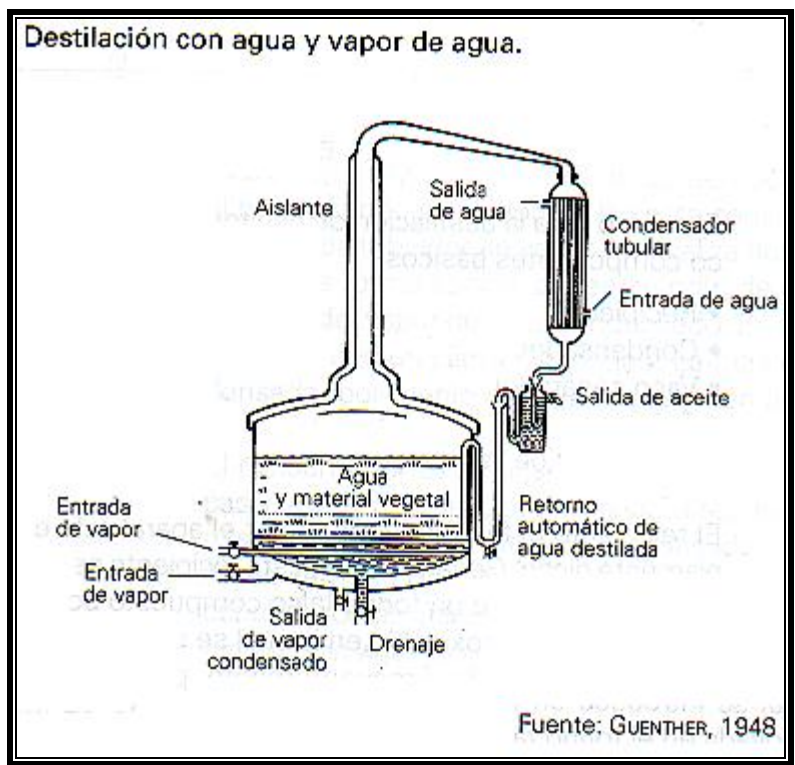


Figura 3.

METODOLOGÍA

Localización:

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

1. Planta piloto de extracción-destilación de aceites esenciales de la sección de Química Industrial, del Centro de Investigaciones de Ingeniería.
2. Laboratorio de ensayo físico químico de la Sección de Química Industrial, del Centro de Investigaciones de Ingeniería.
3. Unidad de Análisis Instrumental de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
4. Unidad de secado del área de Ciencias Biológicas, Facultad de Agronomía.

Metodología experimental:

Diseño de tratamientos:

Para la obtención del aceite esencial de tomillo se sometió la materia prima seca a tres procesos, seleccionados por su eficiencia: destilación con agua, destilación con vapor directo y destilación con agua y vapor de agua. Se escogió un tamaño de lote constante, siendo éste de 8.34 libras.

Para la evaluación estadística se utilizó un diseño completamente al azar con un arreglo combinatorio, por lo que se evaluó 6 tratamientos, con tres repeticiones cada uno, haciendo un total de 18 determinaciones. Los resultados fueron tratados por medio del análisis de varianza, utilizando del paquete estadístico SAS, comparando las medias de los tratamientos, utilizando la prueba de Tukey y Duncan, a un nivel de confianza del 95%, evaluando la interacción entre las variables, a saber, nivel altitudinal y método de extracción del aceite esencial.

Manejo del experimento:

La materia prima vegetal se obtuvo de Santiago Sacatepéquez, a través de la Empresa Palo Blanco y se viajó a la aldea Chaquijyá, Sololá para realizar la compra de tomillo fresco proveniente de ésta región, el Ing. José Saucedo del proyecto MAGA-AGEXPRONT fue la persona que nos hizo el contacto con ésta comunidad.

El tomillo fresco se procedió a trasladarlo al secador solar de la Facultad de Agronomía para obtener una humedad constante y controlada. El proceso de secado duró alrededor de 4 días para cada lote. Cuando la materia prima estaba totalmente seca se procedió a limpiarla de la siguiente manera: cortando lo más posible los tallos del tomillo y así conseguir una reducción en volumen.

La materia prima fue pesada con exactitud para cada tratamiento (8.34 lbs.); la misma fue colocada dentro del extractor para los métodos de destilación utilizados, para todas las determinaciones el tiempo de extracción fue de dos horas, desalojando el aceite esencial del tomillo y mezclándose con el vapor, la mezcla vapor-aceite esencial pasó a través de un condensador con agua de enfriamiento a 5°C, y se recolectó en un vaso florentino ó esenciero, se separó el aceite esencial del hidrolato por decantación para luego recolectarlo en viales color ámbar y proceder a centrifugarlo y filtrarlo.

Métodos para extraer aceite esencial:

DESTILACIÓN CON AGUA:

Se coloca una parrilla perforada en el extractor y se le agrega agua hasta que el nivel éste debajo de ésta, luego se coloca el tomillo. El vapor se introduce al extractor por la parte inferior del mismo; una vez establecido el equilibrio, el vapor vivo forma, en el aceite esencial contenido en la planta un sistema no miscible. El aceite esencial se calienta por medio del vapor proveniente de la caldera y es desalojado del tejido vegetal, mezclándose con el vapor. La ventaja principal del método de destilación con agua es la reducción de la temperatura de ebullición y la desventaja es que si no se aplica bien el método se puede quemar la planta y producir un aceite esencial de baja calidad. Después la mezcla de vapor-aceite esencial se hace pasar por una superficie fría donde se condensa, obteniéndose en forma líquida en los recipiente destinados para el efecto (vaso florentino o esenciero).

DESTILACIÓN CON VAPOR DIRECTO

En este método se introdujo la materia vegetal dentro del extractor, luego se inyectó vapor por la parte de abajo, hasta formar el equilibrio entre la materia vegetal y el vapor. El aceite esencial junto con el vapor se pasa a través de un condensador, obteniendo el aceite esencial en el vaso florentino, luego se separó por medio de decantación.

DESTILACIÓN CON AGUA Y VAPOR DE AGUA

Este método es similar a la destilación con agua con la variante de que se coloca la materia dentro del extractor y luego se agrega agua sólo para humedecer la materia vegetal, se coloca la parrilla perforada y el agua tiene que estar por debajo de la parrilla para luego hacer pasar vapor por debajo del extractor.

Determinación de la densidad:

La determinación de la densidad se realizó midiendo el volumen de aceite esencial de tomillo a una temperatura de 22°C con una pipeta de 1 ml. y en una balanza analítica medir el peso de éste volumen para los 18 tratamientos. La densidad se obtuvo al dividir el peso en gramos en un mililitro de volumen.

Determinación del índice de refracción:

Las muestras de aceite esencial se procedieron a centrifugarlas y filtrarlas con vacío a través de un filtro tipo gooch, para eliminar cualquier impureza y trazas de humedad. Se utilizó un refractómetro Abbe. Se limpió el prisma con xilol y se vertió una gota del aceite esencial a una temperatura de 23°C en el prisma, tomando nota de la lectura del aparato.

Análisis cromatográfico:

Las muestras obtenidas de aceite esencial de tomillo, fueron colocadas en viales ámbar de 8 ml. de capacidad. Posteriormente fueron llevadas a la Unidad de Análisis Instrumental (UAI) de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la USAC, donde se les realizó el análisis químico por medio de cromatografía de gases. (Ver sección de resultados). Una copia de los cromatogramas se presentan en el apéndice.

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

I. RENDIMIENTOS DEL ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO

El siguiente cuadro compila los rendimientos obtenidos de la investigación de extracción de aceite esencial del tomillo.

Tabla No. 1			
Rendimiento Porcentual De Aceite Esencial De Tomillo Proveniente De Santiago Sacatepequez			
Rendimiento De Extracciones Según Método de Extracción			
Repetición	Destilación con Agua	Destilación con vapor de Agua	Destilación con agua y vapor de agua
1	0.036	0.1757	0.2543
2	0.0715	0.1698	0.226
3	0.0978	0.1206	0.1966

Tabla No. 2

Rendimiento Porcentual De Aceite Esencial De Tomillo Proveniente De Chaquijyá Sololá			
Rendimiento De Extracciones Según Método de Extracción			
Repetición	Destilación Con Agua	Destilación Con Vapor De Agua	Destilación Con Agua Y Vapor De Agua
1	0.2844	0.3346	0.630
2	0.275	0.337	0.565
3	0.2599	0.289	0.668

Tabla No.3

Análisis de Varianza Para los Rendimientos Porcentuales de Aceite Esencial de Tomillo					
Fuente	G.L.	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Valor de F	Pr>F
Altitud	1	0.29281654	0.29281654	280.52	0.0001
Método	2	0.20574133	0.10287067	98.55	0.0001
Interacción	2	0.04571805	0.02285903	21.9	0.0591
Error	12	0.01252622	0.00104385		
Total Corregido	17	0.55680214	.		

Coefficiente de Determinación	Coefficiente de Variación (C.V.)	Raíz cuadrada del error estándar	Rendimiento promedio
0.977503	11.64884	0.03230869	0.27735556

Tabla No. 4

Propiedades Físicas del Aceite Esencial de Tomillo de Dos Niveles Altitudinales		
	Aceite Esencial de tomillo de Santiago Sacatepéquez	Aceite esencial de Tomillo de Chaquijyá, Sololá
Densidad (g/ml)	0.888845±0.0092796	0.8858496±0.01712698
Índice de Refracción	1.4911096±0.00220479	1.49122082±0.00216667

Tabla No. 5			
Composición Química del Aceite Esencial de Tomillo de Santiago Sacatepequez			
Métodos	% Timol	% Carvacrol	% p-cimeno
Destilación Con Agua	23.55	4.71	16.26
	25.96	5.05	14.73
	26.24	5.56	16.1
Destilación Con Vapor de Agua	31.38	4.99	15.77
	24.72	2.34	12.46
	34.31	6.47	14.59
Destilación Con Agua y Vapor de Agua	25.19	4.94	16.25
	32.25	5.49	13.26
	23.14	4.03	18.65

Tabla No. 6			
Composición Química del Aceite Esencial de Tomillo de Chaquijyá Sololá			
Métodos	% Timol	% Carvacrol	% p-cimeno
Destilación Con Agua	28.43	3.89	11.7
	28.08	4.84	13.93
	32	4.92	12.48
Destilación Con Vapor de Agua	23.49	4.61	16.49
	21.23	4.05	14.92
	25.87	4.45	12.18
Destilación Con Agua y Vapor de Agua	26.51	5.05	17.37
	26.1	4.22	17.4
	27.15	4.45	17.90

Tabla No.7**Análisis de Varianza para los porcentajes de timol de Aceite Esencial de Tomillo**

Fuente	G.L.	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Valor de F	Pr>F
Altitud	1	3.44968889	3.44968889	0.35	0.5664
Método	2	1.46831111	0.73415556	0.07	0.9291
Interacción	2	89.27071111	44.63535556	4.50	0.6549
Error	12	119.0950000	9.92458333		
Total Corregido	17	213.28371111			

Coefficiente de Determinación	Coefficiente de Variación (C.V.)	Raíz cuadrada del error estándar	Rendimiento promedio
0.441612	11.67750	3.15033067	26.97777778

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La realización de una investigación del aceite esencial de *Thymus vulgaris* cultivado en Guatemala, es de gran interés, tanto para agricultores como industriales guatemaltecos ya que proporciona una metodología que ayuda a dar una opción de comercialización de una materia prima procesada que tenga un precio apetecible en el mercado nacional e internacional. Además se obtienen datos sobre efectos de factores geográficos (altitud) que influyen en el rendimiento de aceite esencial.

Existen varios factores post cosecha que se deben controlar para mejorar las características físicas, químicas, organolépticas y farmacológicas de las fracciones extractables de las plantas. Un tratamiento post cosecha inadecuado significa una materia prima de mala calidad con pérdida de principios activos así como un aumento microbiano, para evitar estos resultados indeseables se prefiere utilizar una materia prima seca que una fresca, por lo tanto el secado es una parte del procesamiento muy importante y decisivo para obtener resultados buenos de rendimiento. Por tal razón se decidió comprar tomillo fresco y secarlo en el secador solar de la Facultad de Agronomía para facilitar su conservación y manejo para las extracciones en la planta piloto. La humedad se redujo de un 85% que tenía originalmente a un 15% que se logró obtener en el secador. La reducción de la humedad conlleva un aumento de volumen de tomillo ya éste es una planta con tallos y hojas y del cual el aceite esencial se encuentra atrapado solamente en las hojas (Ref. 25), la capacidad que tiene el extractor de la planta piloto, según especificaciones, es de 20lbs., pero debido al aumento de volumen del tomillo solo tuvo una capacidad de 8.34lbs., ya que a pesar de lo referido en la literatura y descrito anteriormente, se decidió por conveniencia de manejo, no solo utilizar las hojas del tomillo sino que parte del tallo, decisión que se consultó con el Dr. Nikolai Sharapin, decano de la Facultad de Farmacia de la Universidad Federal Fluminense de Brasil, quién apoyó esta decisión y refirió que en la industria se maneja igual y resulta un aceite de muy buena calidad.

El tiempo de extracción se fijó en dos horas y se observó que en este lapso de tiempo se logró agotar la materia prima, si se deja por más tiempo, la cantidad de aceite recuperada

es mínima y afecta en el aspecto económico por el aumento del costo de operación de la planta piloto.

Los métodos de extracción utilizados son los métodos comunes de destilación para obtener aceites esenciales y son tres tipos: destilación con agua, destilación con vapor y destilación con vapor y agua.

Basándose en el análisis de varianza para el porcentaje de rendimiento de aceite esencial (ver tabla No.3) se observa que existe diferencia significativa en el factor altitud, al 5% del nivel de significancia. Tanto la prueba de Duncan como la de Tukey indican que la diferencia está entre las dos altitudes, es decir, las dos difieren significativamente. Entonces, a una altitud de 2380 msnm que corresponde a Chaquijyá, Sololá, tiene significativamente mayor porcentaje de rendimiento (0.40490%) que la que se obtiene del tomillo cultivado a una altitud de 1700 msnm que corresponde a Santiago, Sacatepéquez (0.14981%).

A nivel de interacción, no existe diferencia significativa entre los dos factores estudiados, es decir que la altitud a la que fue cultivado el tomillo, no influye en el rendimiento de aceite esencial por efecto del método de extracción utilizado; así, por ejemplo, para el tomillo cultivado en Chaquijyá, Sololá, el rendimiento de aceite esencial es mayor utilizando el método de destilación con agua y vapor de agua, y para el tomillo cultivado en Santiago Sacatepéquez, la tendencia es la misma, el rendimiento de aceite esencial es mayor utilizando el método de destilación con agua y vapor de agua.

Se observa en la gráfica 1, que en general se obtiene mayor porcentaje de rendimiento utilizando el método de destilación con agua y vapor de agua, para Santiago Sacatepéquez, al igual que para Chaquijyá Sololá (gráfica 2), igualmente se observa que en promedio el método de destilación con agua presenta un porcentaje de rendimiento menor de los tres métodos utilizados, lo cual coincide con lo esperado (ref. 25), el método de destilación con agua y vapor de agua puede ser aplicado con un reflujo controlado y así obtener una pérdida menor de sustancias polares y obtener un mayor porcentaje de rendimiento.

En el caso de los aceites esenciales, el proceso de extracción puede afectar los parámetros físicos y la composición química de los aceites esenciales. La variación de

los constituyentes en extractos de plantas medicinales pueden resultar del uso de procedimientos no estandarizados en los procesos de extracción. Se efectuaron estudios acerca de la composición química del aceite esencial de *Thymus vulgaris*, encontrándose como constituyente predominante el timol, variando su contenido entre un 20 y 28 por ciento (ref 4), le sigue el p-cimeno, carvacrol entre otros. Por lo tanto el aceite esencial obtenido se sometió al análisis de cromatografía gaseosa en la Unidad de Análisis Instrumental de la Facultad de Farmacia, los cromatogramas se muestran en el apéndice; comparando los porcentajes de timol obtenidos por medio de un análisis de varianza se puede observar que no existe diferencia significativa en el factor altitud, al 5% de nivel de significancia, es decir que a la altitud a la que fue cultivado el tomillo no influye en el % de timol obtenido, así se puede observar en la tabla No. 5 los % promedios de contenido de los principales componentes químicos encontrados en el aceite esencial de tomillo proveniente de Santiago Sacatepéquez, y en la tabla No. 6 los porcentajes promedios de contenido de los principales componentes químicos encontrados en el aceite esencial de tomillo proveniente de Chaquijyá Sololá. Así se observa que el porcentaje promedio de contenido de timol del tomillo proveniente de Santiago Sacatepéquez es de 27.416, y de 26.540 para el tomillo proveniente de Chaquijyá Sololá. Para el factor método tampoco existe diferencia significativa en el porcentaje de timol obtenido, al 5% del nivel de significancia. Tanto la prueba de Duncan como la de Tukey indican que no existe diferencia, es decir, los tres métodos no difieren significativamente uno del otro con respecto al % de timol obtenido. Entonces, para el método de destilación con agua se tiene un porcentaje medio obtenido de 27.377 el cual no difiere significativamente del obtenido con el método de destilación con vapor (26.833%) ni del obtenido con el método de destilación con agua y vapor de agua (26.723%). Además no existe diferencia significativa entre la interacción de ambos factores para el porcentaje de contenido de timol.

Se obtuvo bajos porcentajes de rendimiento de aceite esencial comparados con los de la bibliografía, esto es debido a que el porcentaje aceite esencial en las plantas de la especie del tomillo, deben recolectarse cuando se inicia la floración, además influyen que cuando en el área de cultivo hay períodos secos y lluviosos muy definidos, la recolección se debe hacer durante el período seco, lo que permite que la planta se regenere durante el período

de las lluvias. (Ref. 26) Además los expertos en aceites esenciales refieren que después de las lluvias el porcentaje de aceite esencial aumenta y además los aceites esenciales alcanzan su máxima concentración alrededor del mediodía. Todos estos factores no se pudieron controlar debido a que los proveedores de la materia prima para la presente investigación son agricultores que necesitan asesoramiento de parte de expertos en la materia como pueden ser Ingenieros agrónomos que les den técnicas de manejo pre y post cosecha. Los agricultores de la Cooperativa de Chaquijyá Sololá son un grupo de personas organizadas y asesoradas por el Ing. José Saucedo del proyecto MAGA-AGEXPRONT, quienes manejan buenas prácticas de pre y post-cosecha como es buena agua para el riego, secado controlado y almacenaje correcto.

Además, se debe tomar en cuenta que el porcentaje de eficiencia de la planta piloto es de un 80% y si los resultados obtenidos a nivel laboratorio fueron de 0.6979% entonces se esperaba que en planta piloto el porcentaje de rendimiento fuera de 0.5583% , el resultado óptimo obtenido es menor de este valor esperado debido a la influencia de todos los factores ya analizados.

CONCLUSIONES

1. El mayor de rendimiento de aceite esencial obtenido es de 0.40490%, correspondiente al tomillo cultivado en Chaquijyá, Sololá.
2. La altitud estudiada (1700 y 2380 msnm) con las condiciones agronómicas (pH, nivel de fertilizante, tipo de suelo) y el método de extracción utilizado influyen en el rendimiento de aceite esencial obtenido.
3. El más alto porcentaje de rendimiento de aceite esencial obtenido en función del método de extracción fue de 0.42352 para el método de destilación con agua y vapor de agua.
4. No existe diferencia significativa en los parámetros fisicoquímicos independiente del método de extracción del aceite esencial del tomillo.
5. No existe interacción entre el factor altitud y condiciones agronómicas (pH, nivel de fertilizante, tipo de suelo) y el método de extracción utilizado para la extracción de aceite esencial de tomillo en la planta piloto, es decir, que de las dos altitudes y los tres métodos utilizados no interesa la combinación de éstos, pues el rendimiento no se ve afectado por dichas combinaciones.

RECOMENDACIONES

1. Se debe tener un control en los factores de manejo pre-cosecha(riego, fertilización, pH de suelo) y post-cosecha de la materia prima, los cuales son determinantes en el porcentaje de rendimiento obtenido de los extractos vegetales.
2. Hacer estudios con materia que tenga mayor porcentaje de hoja que de tallos.
3. Evaluar otra diversidad de parámetros en el proceso de extracción que influyen en el porcentaje de rendimiento, entre ellos: tiempo de destilación, tamaños de lote y comparar los resultados de rendimiento y calidad de aceite con los resultados de ésta investigación.
4. Realizar otras investigaciones con plantas medicinales o aromáticas y específicamente con especies nativas de Guatemala, para tener caracterizada la flora de este país, así como poder ofrecer a los agricultores e industriales alternativas de producción y explotación de nuestros recursos naturales.
5. Publicar los resultados de las investigaciones realizadas en la Universidad de San Carlos de Guatemala y propiciar un mayor acercamiento con los usuarios de la investigación.
6. Buscar en todas las investigaciones a realizar un involucramiento del sector agrícola e industrial y que éstas sean producto de la necesidad encontrada por estos entes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Santander, S., A Perfume and flavor material of natural origin, Editorial Elizabeth, New Jersey, 1980.
2. Asociación de Productores de Aceites Esenciales, Cuadragésima y quincuagésima memoria, Guatemala C.A.
3. Austin, George T Manual de Procesos Químicos en la Industria, Quinta edición en inglés, primera en español editorial Mc-Graw Hill, Tomo II, trad. Matilde Eva Espinoza, México, 1,980
4. Cáceres, Armando. Plantas Medicinales de Guatemala. primera edición. Editorial Universitaria. 1990.
5. DeRafols, W.Á Aprovechamiento industrial de los productos Agrícolas primera edición, editores SALVAT S. A. Barcelona, 1,981
6. Ester, H., Importancia de los aceites esenciales naturales y sus perspectivas para el futuro, Dragoco Report, año diciembre de 1,971.
7. Guenther, E. A The essential oils, pag 744,11, D. Van Nostrand Co. Inc, New York, 1,956
8. Hampel, C. Hawley G. The encyclopedia of chemistry, Van Nostrand, Reinhold Co. New York, 1,973.
9. Hiscox, G. D. Hopkins A. A. Gran enciclopedia de recetas industriales y formulas domésticas, Ediciones Gustavo Gili S. A. de CV, 2da edición, tomo 5, México 1,992.
10. L. H., Análisis de los aceites esenciales de cítricos por cromatografía en fase vapor, perfumería moderna, #45 y #47, al IV, 1,973.
11. Ortiz, H. Segio, A La producción de aceites esenciales en Guatemala y sus posibilidades de ensanchamiento, Tesis de Ingeniero Agrónomo, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía, Guatemala, 1,959
12. Progress in essential oil research, Editor F. Bunke, editorial Walter de Gruyter, Germany, 1,985.

13. Quer, Font P. Plantas Medicinales, 9na edición, editorial Alson, España, 1,985
14. The domestic production of essential oils from aromatics plants bulletin, national farmchemurgic Council, Columbus, Ohio, 1,968.
15. Revista de la gremial de exportadores de Guatemala, Agosto de 1,997.
16. Uriquiza . destilación por arrastre con vapor de agua. Experimento No. 13, Guatemala, 1,992.
17. Perry & Chilton, Manual del Ingeniero Químico, editorial Mc Graw Hill, sexta edición.
18. Noriega Leo Amado, Determinación del conjunto de variables, apropiadas para el proceso de extracción aceite de pulpa de aguacate con solventes, a partir de pruebas a nivel de laboratorio y a nivel de planta piloto. Tesis de Ingeniero Químico, noviembre de 1,994, USAC, Facultad de Ingeniería.
19. Piedrasanta Batz, Ramón Benjamín. Extracción de aceite esencial de Romero a partir de pruebas a nivel de planta piloto y de laboratorio, aplicando el método de arrastre con vapor, variando los distintos tamaños de batch. Tesis de Ingeniero Químico, noviembre de 1,997, USAC, Facultad de Ingeniería.
20. Solís Xicará, Gabriel, Elaboración de los manuales de seguridad, operación y mantenimiento del equipo de la planta piloto de extracción destilación de aceites esenciales de plantas medicinales instalado en la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de San Carlos. Tesis de Ingeniero Químico, octubre de 1,991, USAC, Facultad de Ingeniería
21. Ulrich, G. Procesos de Ingeniería Química. Editorial Mc Graw-Hill, segunda edición México 1,991.
22. Joint Symposium, Scaling Up of chemical plant and processes, Church House, London 1,957. S.W.I.
23. EOA. Book of stand and specifications. association of USA. Inc. bulletin No. 155, and 192. USA. essential oils
24. Medinilla Aldana, Beatriz Eugenia. Manual de Laboratorio de Farmacognoscia Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Escuela de Químicas y Farmacéutica, 1,996.

- 25.** Jamieson, George. Vegetable Fats and Oils. Second Edition. American Chemical Society. Reinhold Publishing Corporation. New York, U.S.A. 1943.
- 26.** Sharapin, Nikolai. Fundamentos de Tecnología de Productos Fitorerapéuticos. Primera edición. Santafé de Bogotá, D. C. Colombia, 2000.

APENDICES

APENDICE A

ALEATORIZACION DE TRATAMIENTOS

TABLA 8

Distribución aleatoria de los tratamientos

SECUENCIA	TRATAMIENTO
1	A2M3R1
2	A2M1R2
3	A1M2R2
4	A1M3R2
5	A1M2R3
6	A1M1R2
7	A1M1R3
8	A2M2R2
9	A2M3R3
10	A1M2R1
11	A2M3R2
12	A1M3R3
13	A2M2R1
14	A1M3R1
15	A2M1R1
16	A1M1R1
17	A2M1R3
18	A2M2R3

APENDICE B
DATOS CALCULADOS

TABLA 9

Densidades de aceite esencial de tomillo para cada tratamiento.

TRATAMIENTO	DENSIDAD (g/ml)
A1M1R1	0.89
A1M1R2	0.90
A1M1R3	0.89
A1M2R1	0.90
A1M2R2	0.87
A1M2R3	0.89
A1M3R1	0.89
A1M3R2	0.89
A1M3R3	0.88
A2M1R1	0.90
A2M1R2	0.89
A2M1R3	0.90
A2M2R1	0.88
A2M2R2	0.91
A2M2R3	0.87
A2M2R3a	0.89
A2M3R1	0.85
A2M3R2	0.89
A2M3R3	0.88

TABLA 10

Indices de refracción del aceite esencial de tomillo para cada tratamiento

TRATAMIENTO	INDICE DE REFRACCION
A1M1R1	1.490
A1M1R2	1.490
A1M1R3	1.495
A1M2R1	1.490
A1M2R2	1.490
A1M2R3	1.490
A1M3R1	1.490
A1M3R2	1.495
A1M3R3	1.490
A2M1R1	1.490
A2M1R2	1.495
A2M1R3	1.490
A2M2R1	1.490
A2M2R2	1.490
A2M2R3	1.495
A2M2R3a	1.490
A2M3R1	1.490
A2M3R2	1.491
A2M3R3	1.490

TABLA 11

Porcentaje de rendimiento de aceite esencial para cada tratamiento-

SECUENCIA	TRATAMIENTO	RENDIMIENTO
1	A2M3R1	0.630
2	A2M1R2	0.275
3	A1M2R2	0.170
4	A1M3R2	0.226
5	A1M2R3	0.121
6	A1M1R2	0.072
7	A1M1R3	0.098
8	A2M2R2	0.337
9	A2M3R3	0.668
10	A1M2R1	0.176
11	A2M3R2	0.566
12	A1M3R3	0.197
13	A2M2R1	0.335
14	A1M3R1	0.254
15	A2M1R1	0.284
16	A1M1R1	0.036
17	A2M1R3	0.260
18	A2M2R3	0.289

APENDICE C
HOJA DE RESULTADOS SAS

APENDICE D
TABLAS Y CROMATOGRAMAS DEL ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO

Rendimiento de Timol en el Aceite Esencial de Tomillo Cultivado en Chaquijyá, Sololá, en Función del Método de Extracción y Repetición

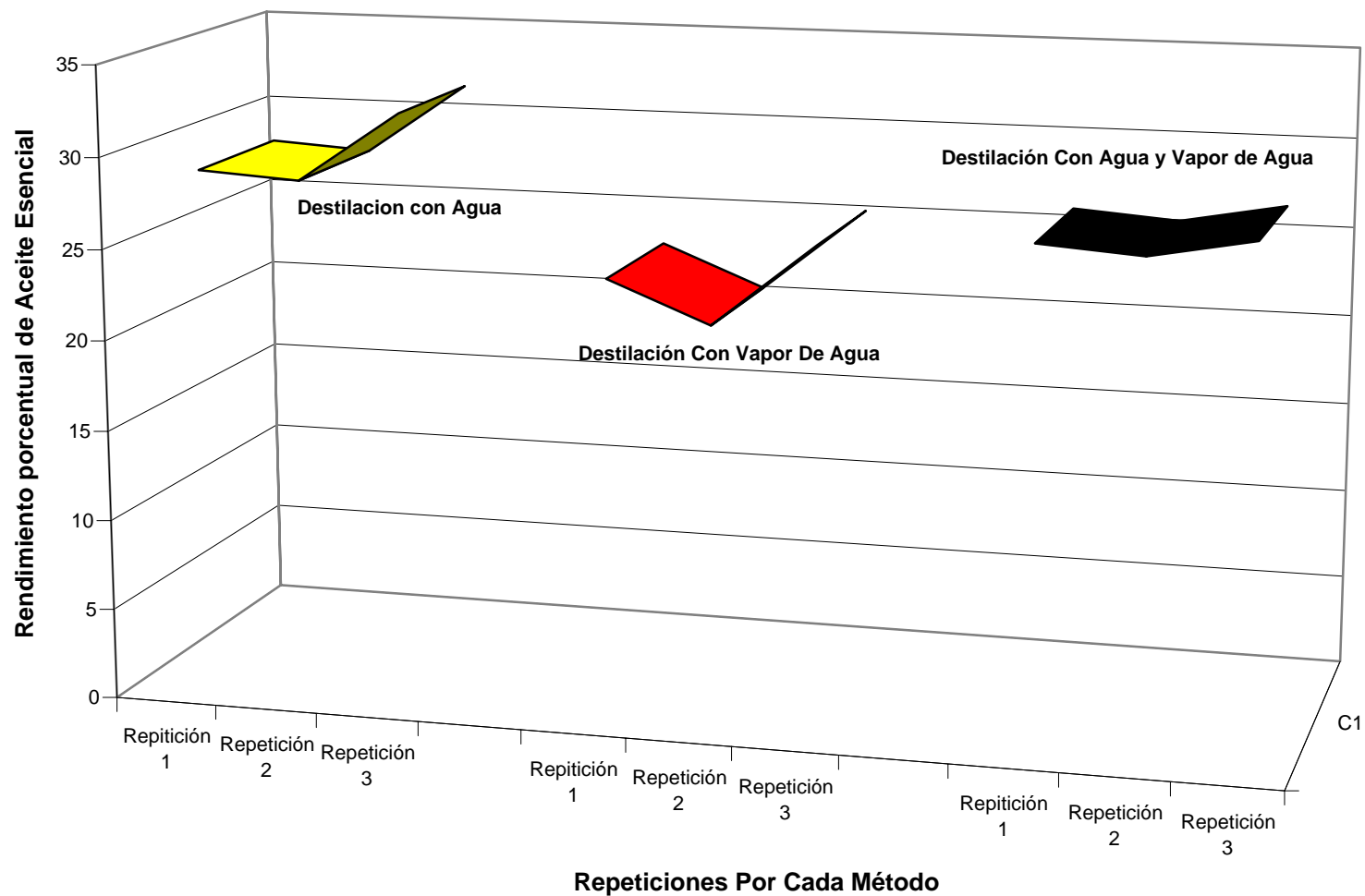


Grafico No. 4

Fuente: Tabla No. 6,
Sección de Resultados

Rendimiento de Timol en el Aceite Esencial de Tomillo Cultivado en Santiago Sacatepequez, Chimaltenango, en Función del Método de Extracción y Repetición

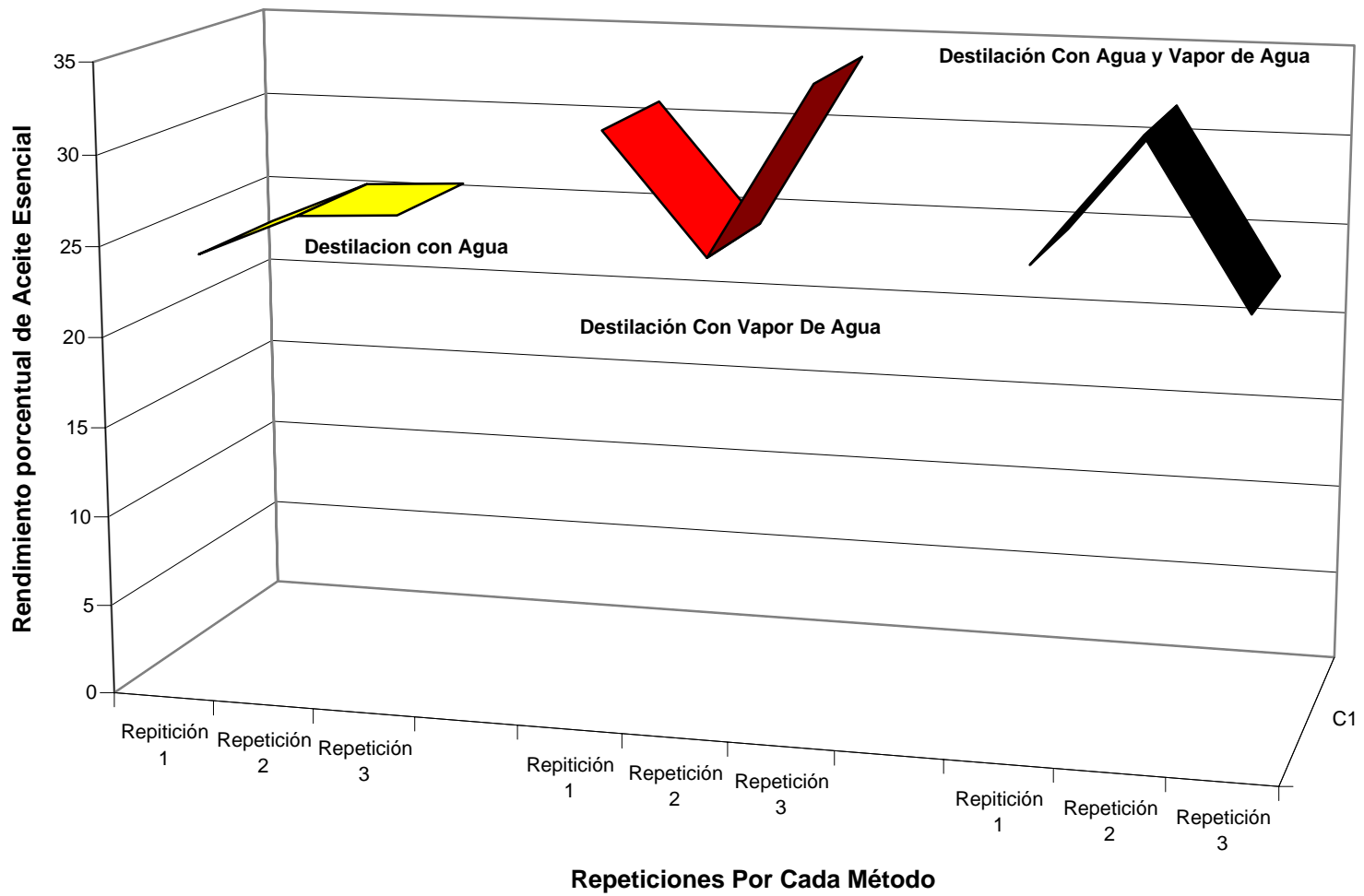


Gráfico No. 3
 Fuente: Tabla No. 5,
 Sección de Resultados

Rendimiento de Aceite Esencial de Tomillo Cultivado en Chaquijyá, Sololá, en Función del Método de Extracción y Repetición

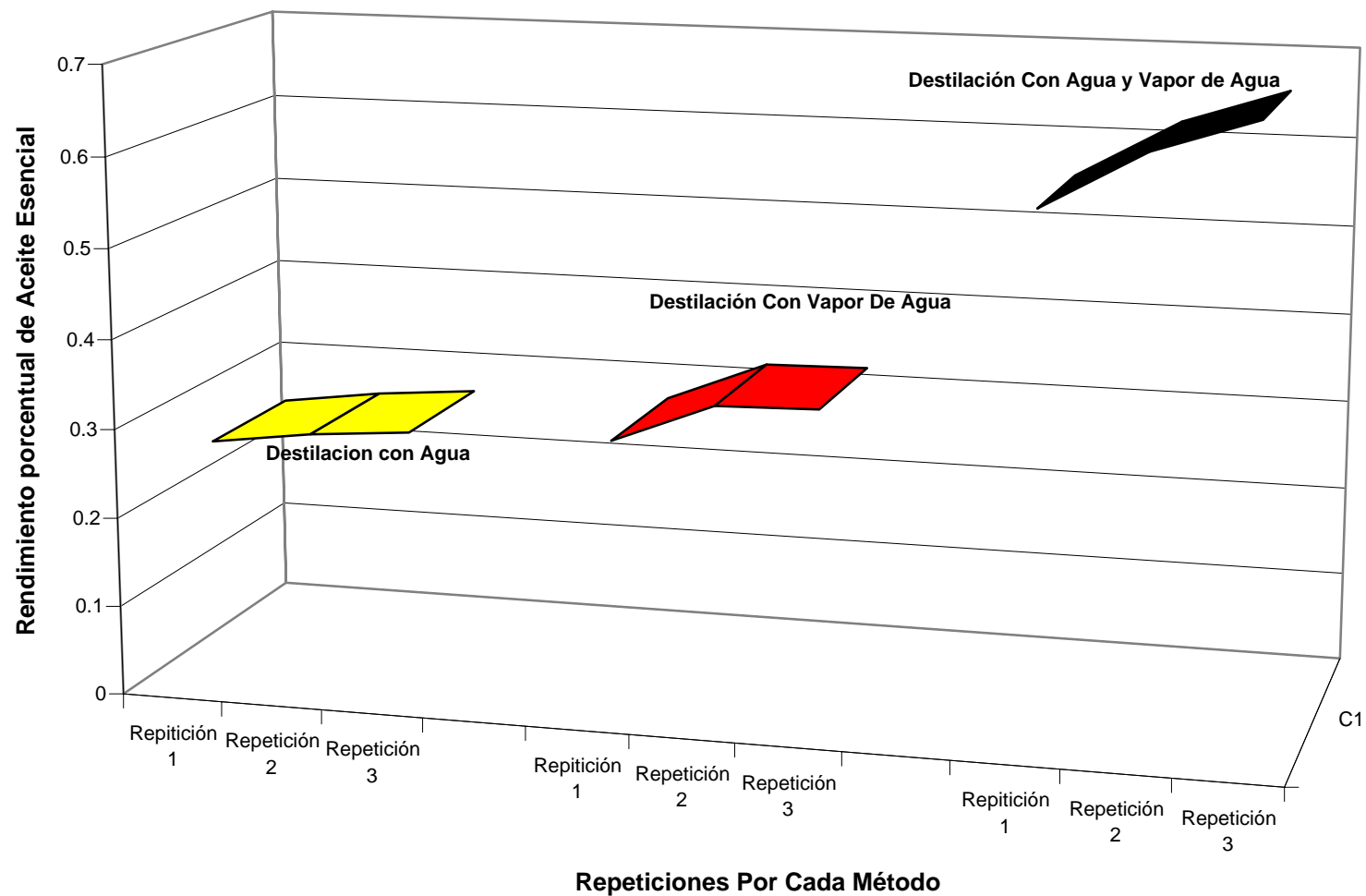


Gráfico No. 2

Fuente: Tabla No. 2,
Sección de Resultados

Rendimiento de Aceite Esencial de Tomillo Cultivado en Santiago Sacatepequez, Chimaltenango, en Función del Método de Extracción y Repetición

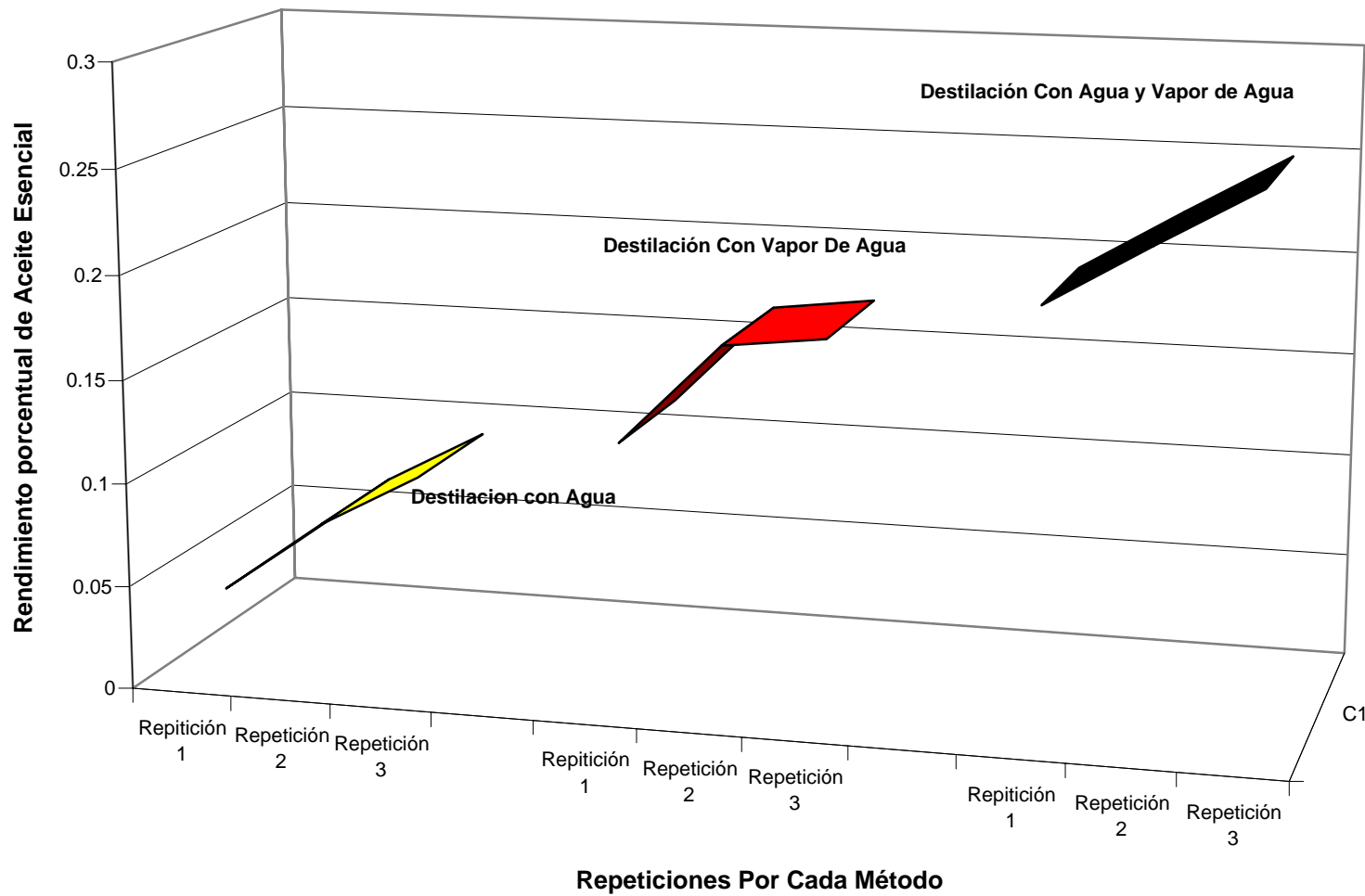


Gráfico No. 1

Fuente: Tabla No. 1,
Sección de Resultados