



**FACULTAD DE INGENIERÍA
CENTRO DE INVESTIGACIONES DE INGENIERÍA (CII)**

**OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL Y
OLEORRESINA DE LA PIMIENTA NEGRA (*Piper nigrum L.*) CULTIVADA EN
GUATEMALA. UNA ALTERNATIVA DE DESARROLLO AGROINDUSTRIAL
PARA EL AGRICULTOR GUATEMALTECO**

Nombre de los integrantes del equipo de investigación :

Inga. Telma Maricela Cano Morales Coordinadora del proyecto

Inga. Blanca Luz Chávez Quiñónez Investigador Titular I

Ing. Jorge Emilio Godínez Lemus Investigador Titular I

Br. David Estuardo Monzón Lara Auxiliar de Investigación I

GUATEMALA, FEBRERO - NOVIEMBRE DE 2002

ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCION	3
OBJETIVOS	6
REVISIÓN BIBLIOGRAFICA	7
METODOLOGÍA	30
RESULTADOS OBTENIDOS	41
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	58
CONCLUSIONES	63
RECOMENDACIONES.....	65
BIBLIOGRAFÍA	67
APÉNDICE	69

1. RESUMEN

La presente investigación dentro del marco del Programa Universitario de Investigación en Desarrollo Industrial – PUIDI –, se llevó a cabo en el laboratorio de análisis fisicoquímicos y la planta piloto de Extracción-Destilación de la Sección de Química Industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala –CII/USAC– conllevó el realizar un estudio sobre la obtención de la oleorresina y aceite esencial a nivel de planta piloto de pimienta negra (*Piper nigrum L.*) cultivada en Guatemala, evaluando el rendimiento obtenido mediante el proceso de destilación atmosférica por arrastre con vapor para obtener el aceite esencial, evaluando el rendimiento en función del factor tamaño de lote; y como proceso consecutivo la extracción de oleorresina por maceración con solvente alcohólico, evaluando el rendimiento en función de dos factores: tamaño de lote y concentración del solvente para 3 diferentes tiempos de maceración. Además se realizó una evaluación de las propiedades fisicoquímicas de ambos extractos, así como cromatografía gaseosa (CG) al aceite esencial para cuantificar los componentes del mismo, encontrándose 2 componentes mayoritarios: canfeno y mirceno. Se realizó cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) a las muestras de oleorresina para cuantificar la piperina, la cual es el principio activo y determina la calidad del aceite esencial y oleorresina respectivamente.

Se evaluó previamente a nivel de laboratorio mediante técnica de maceración la capacidad extractiva de los distintos factores a evaluar en la oleorresina y por medio del equipo para la determinación de aceites esenciales denominado Neo Clevenger, se realizó extracciones de aceite esencial a nivel laboratorio.

Para obtener el material de estudio se contactó al Lic. Edmundo Bermúdez, Gerente de la Empresa Palo Blanco, quien informó que podía proveer pimienta negra proveniente de Fray Bartolomé De Las Casas, Alta Verapaz. Se realizó una visita a ésta localidad y conocer las plantaciones existentes de pimienta negra. Se logró llegar al convento de FUNDEMI (Fundación desarrollo de las mujeres indígenas) ubicada a 34 km. de Fray Bartolomé De Las Casas en la población de Sechajtí ubicado a una altura de 170 msnm, donde existen plantaciones de pimienta negra y de la cual se obtuvo la materia prima para el presente

proyecto. Se logró la colaboración del Herbario “José Ernesto Carrillo” de la Facultad de Agronomía para la caracterizar botánicamente la planta.

Los resultados obtenidos de porcentaje de rendimiento de aceite esencial se interpretaron por medio de una análisis de varianza, llegando a concluir que: el factor tamaño de lote influye en el porcentaje de rendimiento de aceite esencial, obteniendo un porcentaje medio de 0.802%. Asimismo se realizó el análisis de varianza para los porcentajes de rendimiento de oleorresina, llegando a concluir que: los dos factores estudiados: tamaño de lote y concentración de solvente influyen significativamente en el rendimiento de oleorresina obtenido, el cual fue un valor promedio de 5.57, siendo el lote de 10 libras y el etanol al 70% los niveles más favorables para obtener el más alto rendimiento porcentual de oleorresina a nivel planta piloto con pimienta negra molida de 15% de humedad, el valor reportado por Farrell(1975) es de 6%, para pimienta negra cultivada en otros países.

Fueron determinadas las propiedades fisicoquímicas de los extractos, densidad e índice de refracción, con lo que se completó la información que se deseaba obtener en la investigación.

El porcentaje Promedio de piperina contenida en la oleorresina fue de 56.48, valor que se encuentra dentro del rango reportado por Farrell(1975) que es de 53 – 57 %.

2.2. INTRODUCCIÓN

Desde hace milenios las drogas provenientes de plantas han sido utilizadas para aliviar o curar enfermedades del hombre, siendo en tiempos remotos la única fuente de medicina para el género humano. En nuestros días se estima que un 80% de la población que vive en países en desarrollo depende fundamentalmente de la práctica de la medicina tradicional para sus necesidades de cuidados primarios de salud. Existen en el país varias especies nativas que se emplean para extraer su aceite esencial y aceite fijo para usos como aromas en perfumería, en medicamentos ó en la industria alimenticia. De igual manera especies aclimatadas en el país se emplean con éxito en este mismo rubro, tal es el caso de la Pimienta negra (*Piper nigrum L.*). Por su historia y por su potencial actual, en las industrias medicinal y alimenticia, el género *Piper* es un importante recurso que pueda ser adaptado a nuestra biodiversidad.

El aprovechamiento de las plantas medicinales y aromáticas siempre debe ser considerado con un enfoque multidisciplinario por involucrar diversos tipos de conocimientos que son necesarios a través del largo camino a ser recorrido desde las plantaciones como productos agrícolas a las plantas de procesado como materia prima y de allí a la farmacia en forma de medicamentos ó en los alimentos.

Las plantas medicinales y aromáticas son tema de interés para agricultores, agrónomos, químicos, médicos, farmacéuticos, ingenieros químicos, biólogos, botánicos, ecólogos pues se define que son los profesionales responsables en garantizar un producto desde su identidad y cultivo hasta su uso correcto, trabajando conjuntamente para que los medicamentos producidos a partir de las plantas puedan ser usados con eficacia y sin riesgo.

La Pimienta negra (*Piper nigrum L.*), es una planta lisa que trepa por medio de sus raíces adhesivas. Los tallos son redondos, con nudos muy engrosados, opacos y de color verde claro o verde amarillento. Las inflorescencias son colgantes o con espigas patentemente curvadas, de tallo corto y de 2-15 cm de largo. Las bayas son sésiles, globosas, rojas cuando maduras, negras cuando secas y de 0,3-0,6 cm de diámetro. A

diferencia de lo que sucede con otras especies, la producción es muy estable en un plazo relativamente corto.

El presente proyecto de investigación realizó un estudio del rendimiento y caracterización del aceite esencial y oleorresina de las bayas de la Pimienta negra (*Piper nigrum L.*) cultivada en Guatemala. Evaluando tres distintos tamaños de lote para la extracción de aceite esencial basado en el rango de operación de la planta piloto de extracción del Centro de Investigaciones de Ingeniería (CII/USAC). La extracción de aceite esencial, se realizó en triplicado con un tiempo de extracción de 4 horas, un tamaño de partícula entre 1190 y 841 micrones y 15% de humedad. Para la extracción de oleorresina se evaluaron dos factores: 3 tamaños de lote (15, 10 y 9 libras) y dos concentraciones de solvente (etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) al 95% y 70%). Se realizaron extracciones sucesivas a diferentes tiempos de maceración de la materia prima (36 horas, 48 horas y 72 horas), hasta llegar a agotamiento de la materia prima.

En el estudio también se evaluó las propiedades fisicoquímicas del aceite esencial y oleorresina.

La presente investigación aporta una alternativa productiva para las comunidades rurales, y ayuda a promover el cultivo de la pimienta negra, por ejemplo, en Fray Bartolomé De Las Casas, Alta Verapaz, a pesar de ser un área ganadera la especie estudiada es una de las plantas que está en proceso de desarrollo para su cultivo debido a que el clima favorece su crecimiento y los pobladores la ven con un potencial agrario, ya que poseen las condiciones apropiadas y riqueza forestal, como lo es el árbol de Madre Cacao especie forestal útil para el alimento del ganado, y también uno de los mejores tutores para la pimienta negra que se reporta..

Las variables de procesamiento utilizadas durante las extracciones servirán de referencia para los procesamientos que se deseen realizar a nivel industrial.

La implementación de técnicas de monitoreo de las extracciones, permite dar seguimiento a la evolución de estos procesos extractivos a nivel de planta piloto, así por técnicas cromatográficas se monitorea el mircenol y canfeno presentes en el aceite esencial y la piperina presente en la oleorresina. Los metabolitos secundarios monitoreados en éste estudio, así como

las normas de análisis fueron seleccionados de diversidad de bibliográfica disponible relacionada con la temática.

2.3. OBJETIVOS

2.3.1. Generales

- 2.3.1.1 Generar información sobre metodología de extracción de aceite esencial y oleoresina de pimienta negra cultivada en Guatemala.
- 2.3.1.2 Interactuar con el sector privado agroindustrial guatemalteco para tener una aplicación inmediata del conocimiento generado.

2.3.2 Específicos

- 2.3.2.1 Obtener y caracterizar el aceite esencial y oleoresina de pimienta negra cultivada en Guatemala.
- 2.3.2.2 Obtener el aceite esencial y oleoresina de la pimienta negra en la planta piloto de extracción destilación que cumpla los estándares de calidad requeridos en el mercado.
- 2.3.2.3 Determinar por medio de cromatografía líquida de alta resolución HPLC, la calidad de la oleoresina obtenida, determinando el porcentaje del respectivo principio activo
- 2.3.2.4 Determinar el porcentaje del rendimiento de la oleoresina y aceite esencial obtenida.

2.4. REVISIÓN DE BIBLIOGRAFÍA

Pimienta (*Piper nigrum* L.)

(Piperaceae)

Descripción botánica

La familia de la pimienta contiene más o menos doce géneros y mil cuatrocientas especies de hierbas, arbustos, guías y árboles nativos de las áreas tropicales y subtropicales del mundo.

El género *Piper* incluye de 600 a 700 especies, muchas de las cuales tienen propiedades aromáticas. Los parientes de la pimienta negra con valor económico u ornamental son nuez – betel (*Piper betel* L.), cubeba (*P. cubeba* L. f.), kava (*P. methysticum* Forst.) y las peperonimias (*Peperomia* spp.). Los pimientos (chiles) rojo y verde de las hortalizas pertenecen al género *Capsicum* de la familia de las Solanáceas.

Piper nigrum L, es una planta lisa que trepa por medio de sus raíces adhesivas. Los tallos son redondos, con nudos muy engrosados, opacos y de color verde claro o verde amarillento. Las hojas son dísticas, de peciolo corto, ampliamente ovadas – elípticas u ovadas – oblongas, con la base oblicua, obtusa o redondeada y el ápice abruptamente acuminado, coriáceo, de color verde oscuro y brillante por arriba, verde blanquecino o verde mar, opaco y densamente provisto de puntos blancos peludos por debajo, generalmente de 5 a 7 nervaduras rara vez 9 nervaduras, de 5-18 cm de largo y 2-12,5 cm de ancho. El peciolo está surcado en su lado anterior, envainada la mitad inferior y es de 1-4 cm de largo. Las inflorescencias son colgantes o con espigas patentemente curvadas, de tallo corto y de 2-15 cm de largo. Las flores son pequeñas, generalmente unisexuales – dioicas, pero frecuentemente polígamas y levemente olorosas. Las brácteas de las flores femeninas son ampliamente ovadas, carnosas y adheridas al raquis. Las flores masculinas tienen dos estambres. Las flores femeninas tienen un ovario redondo, de tres a cuatro y rara vez cinco estigmas lanceolados. Las espigas de fructificación son de 5-20 cm de largo. Las bayas son sésiles, globosas, rojas cuando maduras, negras cuando secas y de

0,3-0,6 cm de diámetro.

A diferencia de lo que sucede con otras especies, la producción es muy estable en un plazo relativamente corto.

El rendimiento esperado varía con la edad de la planta y por otros factores; para la pimienta verde, en el primer año de producción el rendimiento esperado es de 2,6 t/ha, en el segundo año 5,2 t/ha, en el tercer año 10,3 t/ha, y el cuarto año 12,9 t/ha. Después el rendimiento se estabiliza. El rendimiento en pimienta seca corresponde aproximadamente a una cuarta parte de la producción de pimienta verde.

La pimienta es casi única entre los cultivos tropicales, en cuanto a que sólo un pequeño número de variedades han mostrado valor como para cultivarse. Además de las características de productividad bajo condiciones de suelo y clima especializados, y resistencia a la pudrición de la raíz de *Phytophthora*, un dato importante para la selección de una variedad comercial es la uniformidad de maduración, puesto que la espiga de la fruta se debe cosechar entera y sólo las bayas completamente maduras producen pimienta de la mejor calidad. En Indonesia se cultivan tres variedades, tres en Sumatra (Lada Korintji, Lada Djambi y Lada Belantug) y dos en las Islas de Bangka y Billiton (Lamong y Muntok).

Se recomienda el uso de variedades de alto rendimiento y resistentes a la pudrición radical: Kudarivalli y Belantung de Sumatra, así como Balamkota, la cual es la variedad cultivada comercialmente en la actualidad y otras como Kuching y Singapur que tienen altos rendimientos.

Las plantas de la variedad Lada Korintji tienen hábito reptante en su desarrollo, dando a los ejemplares maduros una forma más o menos cónica. Las espigas de fruta rara vez exceden a 8 cm de largo. Las bayas individuales son las más grandes conocidas de todas las variedades. El amarre del fruto es más regular que con la variedad Lada Djambi. Es la menos resistente de la variedades de Sumatra a la pudrición de la raíz ocasionada por *Phytophthora*. Las plantas de Lada Djambi son similares en muchos aspectos excepto por sus espigas fructificantes más largas, las cuales generalmente miden más o menos 10 cm

de longitud, producen bayas pequeñas, el amarre del fruto es menos regular y tienen moderada susceptibilidad a la pudrición de la raíz. Las plantas de la variedad Lada Belantung son de crecimiento mucho más rápido que cualquiera de las anteriores, obteniendo una forma más erecta y cilíndrica. El tamaño de las espigas de fructificación y de las bayas es similar a las de Lada Djambi, aunque el amarre de la fruta es más regular. Son más o menos resistentes a la pudrición de la raíz. Las plantas de pimienta Lampong producen semillas grandes de color brillante, de tamaño uniforme y son bastante susceptibles a la pudrición de la raíz, mientras que las plantas Muntok tienen semilla de color oscuro, de tamaño regular y son moderadamente susceptibles a la pudrición de la raíz. Las variedades de Sumatra se cultivan generalmente por su pimienta negra, en tanto que las variedades Bangka, por su pimienta blanca.

Las principales variedades cultivadas en varias otras áreas productoras de pimienta son British Indian (Malabar, Costa de la India), Cambodia (Indochina) y Atjeh (Sumatra). La calidad de la British Indian pepper es superior a la pimienta Lampong de Bangka, mientras que las dos últimas variedades son inferiores.

El género *Piper* pertenece a la clase de las Dicotiledóneas, del orden de los Piperales y de la familia de las Piperáceas. Este género comprende a más de 600 especies, en donde la mayoría da productos que son utilizables en la mayoría de industrias alimenticias, ya sea como especias o drogas medicinales.

El *piper nigrum*, cuyo número cromosómico es de $2n = 52$, se presenta como forma de liana aparente, que trepa al rededor de un tutor y llega a medir aproximadamente 10 metros de altura.

El sistema radicular está en general compuesto por un número de raíces que varía en el número de tres a seis, que llevan una cabellera lateral de subraíces y constituyen la fuente vital para alimentación de dichas plantas. Este sistema de raíces es poco profundo, ya que la mayoría de raíces o conjunto de subraíces, se encuentra a una profundidad aproximada de 30 a 60 centímetros enterradas en la tierra o superficies arenosas.

La parte aérea comprende 3 clases de madera; los estolones que corren al ras de la planta los tallos ortótopos y las ramas plagiótropas.

La flor amarillo-verdosa está desprovista de periantio, el androceo está compuesto de 2 y raramente de cuatro pequeños estambres de un milímetro de longitud aproximadamente, dispuestos a cada lado del ovario. Cada una de estas forma un hilillo carnoso.

Otro aspecto importante de la planta de la pimienta es de que en la mayoría de casos acepta una acidez bastante elevada y algunas se hallan plantadas en suelos donde su acidez no pasa de un pH de 5.5.

Hábitat

Nativa de la India

Historia

La pimienta es una de las especies que se conoce desde tiempos antiguos. Teofrasto la cita en el siglo 4 antes de Jesucristo; habla incluso de 2 especies que corresponden sin duda a la pimienta negra y a la pimienta larga. Dioscorides y Plinio la nombran en sus escritos.

La primera descripción somera de la planta de pimienta se debe a Cosmas Indicopleustes que visitó la costa de Malabar hacia el año 540. La pimienta era de la edad media la más cara de las especias y el monopolio de su comercio se encontraba entre 2 ciudades Italianas como lo eran Venecia y Génova.

Pero la demanda que era tan alta, incitó a los Portugueses a buscar vías alternas para poder entrar y conseguir de una forma más fácil la deseada pimienta, por ello se buscó una vía alterna para llegar a la India, consiguieron su objetivo, y se apoderaron del mercado de la pimienta hasta el siglo XVII.

El cultivo de la pimienta estaba extendido en varias naciones como las islas de Malasia, por ello el monopolio no se pudo mantener debido a que otras especies como el clavo y la nuez moscada si lo pudieron ser en un momento determinado de la historia.

Agricultura

La pimienta es un cultivo de la zona tropical húmeda y se adapta a altitudes inferiores a 1.000 msnm; los mejores resultados se obtienen en altitudes inferiores a 600 msnm.

Requiere un clima caliente y húmedo, con precipitaciones anuales entre 1.500 a 2.500 mm, bien distribuida durante el año, ya que no soporta períodos prolongados de sequía. La temperatura anual media óptima varía entre 25 y 30°C y la humedad entre 60-93%.

Prefiere los suelos de origen aluvial, sueltos y con buen drenaje, por lo que los suelos arcillosos pesados e impermeables no son recomendados. Se recomienda un pH de 5,5, a 6,5 con buen contenido de materia orgánica. Deben ser suelos de excelente fertilidad natural.

Se prefieren terrenos ligeramente inclinados que tengan drenaje natural. También se puede sembrar en terrenos planos pero bien drenados; en este último caso se debe sembrar en lomillos bien altos. En el caso de que se siembre en áreas con pendiente, los camellones se deben orientar según curvas de nivel, a fin de evitar la erosión del terreno.

Análisis De los suelos de las plantaciones de pimienta

	TRIVANDRUM	PATTAMBI
Análisis Físicos		
Humedad	3.06	2.07
Arenas Gruesas	33.79	48.40
Arenas Finas	19.97	16.22

Limo	8.65	8.77
Arcilla	33.35	26.61
Análisis Químico		
Pérdida por fuego	9.63	7.84
Insolubles	67.83	62.86
Fe ₂ O ₃ + Al ₂ O ₃	-----	28.64
N	0.10	0.084
P ₂ O ₅ total	0.04	0.293
K ₂ O Total	0.05	0.191
P ₂ O ₅ Asimilable	0.0004	0.0058
K ₂ O Asimilable	0.002	0.02
CaO	0.04	0.129
MgO	-----	0.146
Na ₂ O	-----	0.126
PH	7.00	5.75

Como se pueden observar los análisis de cultivo de las tierras de trivandrum y pattambi provincias occidentales de la India, difieren por pocas unidades en los aspectos tanto físicos como químicos, en donde la cantidad de pH en los suelos si es distinta ya que en la primera tierra el pH es neutro y en la segunda el pH es ácido favoreciendo grandemente a la producción de la pimienta en esa región.

Analizando las tierras expuestas anteriormente, nos damos cuenta de que dichas tierras poseen o son pobres en nutrientes para la manutención y crecimiento de la planta de pimienta, pero en realidad si se pueden cosechar grandes cantidades de pimienta en dichas tierras, debido a que son tierras pronunciadas con grandes pendientes, lo que facilita un drenaje de nutrientes por medio del riego o lluvia que nitrificaría de una forma aceptable y fácil a la planta de pimienta.

Por ello en países que poseen una topografía quebrada (en donde atraviesan cordilleras y montañas), la producción de pimienta se facilita independientemente si las tierras poseen alta

calidad en nutrientes, por ello los países centroamericanos y países del Sur en donde atraviesa la cordillera de los andes y sierras variada, son aptas para el cultivo de la pimienta y sus especies derivadas.

Preparación

La pimienta negra es el fruto completo deseado; contiene por tanto todas las partes que la maduración de pimienta puede generar.

A continuación se enumeran las partes que constituyen a la pimienta negra:

Pericarpio	Semilla
Epicarpio	Tegumentos Seminales
Mesocarpio externo	Perispermo
Mesocarpio Interno	Cavidad seminal +/- desarrollada
Haces	Albumen
Libero	Embrión con 2 cotilenoideas
Leñoso	
Endocarpio	
Seudo pedúnculo	
Micrópilo	

Para la preparación de la pimienta negra se recolectan racimos cuando las semillas empiezan a amarillentarse o a enrojecer; el ideal sería esperar hasta que todas las bayas lleguen a la madurez total, pero se deben de tomar en cuenta los perjuicios que los pájaros puedan llegar a ocasionar.

Corrientemente los racimos cosechados se ponen en canastos y se llevan al centro de explotación para someterlos al secado en eras expuestas al sol. Al secarse se ponen negros los granos y el pericarpio del fruto se arruga. Bajo un sol fuerte basta con dejar secando las semillas 3 días para que el secado sea considerado perfecto, pero comúnmente se espera hasta una semana para que el secado llegue a ser perfecto.

Cuando los granos llegan a su punto se separan del escobajo del racimo estrujándolos con el pie y luego se eliminan los desechos por tamizado.

Una nueva exposición de los granos al sol permite perfectamente al tirar los granos eliminar una gran cantidad de humedad dejándola únicamente en un 11 a 12%, con frecuencia se hace otra operación de tamizado antes del envasado.

La pimienta negra del comercio representa un tercio de la pimienta que haya servido para la preparación; se calcula que 100 kg de pimienta negra en racimo dan 35 kg de pimienta negra seca, pero el proceso mencionado anteriormente sufre alteraciones debido a cambios en los factores de fabricación o de obtención de la materia prima.

A veces se colocan las bayas en agua hirviendo durante diez minutos antes de ser expuestas al sol, esta practica acelera tanto al ennegrecimiento de las bayas como al secado total de la especie. Otras veces la separación de los granos del escobajo se hace en el producto fresco; Esto particularmente se realiza en la India, donde los grano huecos, bien ya sea por una recolección precoz o por agentes de Pollu, alterarían la cofección de la pimienta negra, ya que si se estruja y tamiza de esta forma, se volverían inmediatamente polvo, perdiéndose la gran mayoría de pimienta y el proceso sería malo generando grandes perdidas debido a la perdida del polvo.

Por lo mencionado anteriormente, se separan en fresco ya que de esta forma no hay grandes cantidades de perdida en la separación.

En la mayoría de ocasiones el producto en fresco se vende a pequeños comerciantes y compradores, para que ellos hagan el proceso de secado; otras de las técnicas como secados artificiales se practican muy raras veces ya que son procesos onerosos y que solo se utilizan cuando hay fenómenos climáticos en los lugares de secado, de lo contrario el proceso de secado es natural, para luego poder envasar y colocar en sacos para la exportación.

Para el desgranado antes del secado se pueden utilizar diversos métodos mecánicos, algunos plantadores han modificado y adoptado los descortezadores de café, que dan muy buen resultado.

Especies comerciales

En el comercio sólo se conocen pimientas negras y blancas; entre las dos mencionadas anteriormente la más comercializada es la pimienta negra, la cual posee una diversidad de clases, que se dividen según su color, sabor propiedades químicas y físicas.

Las primeras especies comercializadas en el mundo son las que aparecen en el siguiente cuadro:

Lugar de cultivo de las primeras especies comercializadas:

Nombre	Lugar de cultivo
Lampong	Lanpong, Indonesia
Singapore	Malasia, Singapur
Penang	Sumatra
Malabar	Malabar
Tellichery	Tellichery
Allepy	India
Mangalore	Tellichery
Saigon	Vietnam
Siam	Singapur
Brasil	Brasil
Madagascar	Nossié-Bé

Composición

La pimienta negra se presenta en forma de granos casi esféricos cuyo diámetro se encuentran comprendidos entre 3 y 6 mm, de superficie reticulada y más o menos rugosa. El color va del color rojo oscuro al marrón o gris. El olor es característico, penetrante y aromático, el sabor es cálido picante y muy ardiente.

El peso de cien granos depende no solamente de la dimensión de los granos si no que también de su densidad, en donde solo da una vaga idea de las especies que se comercializaran, si tenemos en cuenta que se obtienen resultados variables, se pueden clasificar los pesos medios de varios tipos de pimentas.

Peso de varias clases de pimientos negros:

Variedad	Peso de 100 gramos
Mangalore	6.4
Ceilán	5.7
Tellichery	74.8
Lampong	3

Otro cuadro comparativo de peso contra masa por litro se muestra en el cuadro siguiente:

Peso y masa por litro de varias especies de Pimientos Negros

Variedad	Peso de 100 Gr.	Masa(g) por litro
Mangalore	8.6	574
Malabar	5.7	570
Lampong	3.6	511
Singapur	4.9	476
Acheen A	3.4	432
Acheen B	3.3	407
Acheen C	3.1	330

Usos medicinales atribuidos

La pimienta es la especie empleada más comúnmente y la más apreciada en la cocina para la condimentación. En pequeñas cantidades dosis tónicas y estomacal, aumenta las secreciones gástricas y pancreáticas.

También se usaba antes para proteger las pieles contra los ataques de los insectos, pero ha sido destronada por los insecticidas sintéticos.

También ocupa un lugar en la perfumería gracias a su aceite esencial, la piperina que contiene, da por hidrólisis el ácido pipérico que suministra por oxidación, el piperonal o heliotropina artificial, en el medio de las drogas medicinales la pimienta es una de las sustancias más antiguas en utilizarse, además últimamente es fuente abundante de aceites obtenidos por la resina que posee la planta de pimienta negra.

A continuación se presenta una clasificación de las principales plantas medicinales que poseen cantidades considerables de oleorresinas:

Producto	Fuente Botánica	Orígenes principales	Volumen de producción (T/Año)	Precio(\$/Kg)
Pimienta Negra	Piper Nigrum	India, Singapur	400	23.4
Páprika	Capsicum Annum	Estados Unidos Canadá	400-500	28.85
Cápsico	Capsicum Frutescens	Estados Unidos Europa Occidental	100-140	22.20
Jengibre	Zingiber Officinable	Estados Unidos Europa Occidental	150	29.00
Cúrcuma	Cúrcuma domestica	Estados Unidos Europa Occidental	100	31.00

Nuez Moscada	Myristica Fragans	Singapur Estados Unidos Reyno Unido	75-100	15.60
Clavero	Syzygium aromaticum	Estados Unidos Reyno Unido	15	18.00

Composición química de la pimienta negra

La planta contiene alrededor de 3% de aceite esencial, cuyo aroma es dominado (80% máximo) por los monoterpenos: sabineno y alfa-pineno, además contiene los terpenos, beta-pineno, mirceno, limoneno, delta-3-careno y los derivados de los monoterpenos borneol, carvona, carvacrol, 1,8-cineol, linalool. Los sesquiterpenos representan 20% del aceite esencial: beta-cariofileno, humeleno, beta-bisabolone, y óxidos y cetonas derivadas del cariofileno. También contiene trazas de eugenol, miristiceno, safrol.

El principio pungente en la pimienta es un compuesto alcaloide análogo, piperina

Composición Química de la Pimienta Negra

	Máxima	Mínima
Humedad	15.6	9.56
Proteínas	12.66	10.80
Aceites Esenciales	2	1
Almidón e Hidratos de carbono	50	32.1
Celulosa	15.5	11.9
Cenizas	5.9	3.4
Extractos de alcohol seco	13.3	6.5
Resinas	1.58	1.16

Caracterización química de extractos

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 gaseosa; 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

Para la caracterización de oleorresinas se utiliza la cromatografía líquida de alta presión.

Métodos de extracción de aceite esencial

Destilación atmosférica por arrastre con vapor

Esta representa el tipo más común de técnica de aislamiento de metabolitos. Las citas bibliográficas refieren que la droga vegetal es mezclada con agua y la temperatura de la mezcla es aumentada al punto de ebullición mediante la inyección directa de vapor saturado o mediante el calentamiento externo por un enchaquetado en la marmita. Los volátiles emitidos de la droga vegetal son entonces condensados mediante el uso de un condensador de agua enfriada.

Diversos problemas pueden asociarse a este procedimiento. Por ejemplo, la relación de droga respecto al agua es crítica debido principalmente a la posible formación de compuestos de pirólisis resultantes del sobrecalentamiento de la droga vegetal. Así para materiales frescos con alto contenido de agua el procedimiento de destilación puede resultar favorable ya que la relación de droga seca respecto al agua total resulta favorecida.

También, aunque los metabolitos sean completamente volátiles, estos también pueden ser bastante solubles en agua.; así los investigadores tienen que decidir entre la cantidad de destilado a coleccionar en términos de asegurar la completa remoción de los metabolitos volátiles de la droga vegetal. Algunos investigadores podrían rehusar utilizar este procedimiento desde

el punto de vista de argumentar excesivo calentamiento lo que representa una técnica no adecuada en el normal procesado o preparación de un fitofármaco. La razón podría ser que aunque los metabolitos pueden ser encontrados, ellos pueden estar modificados. El método puede consumir bastante tiempo dependiendo del equipo de destilación disponible, y así requerir varias horas para calentar y colectar el destilado de una muestra grande. Las ventajas del método incluye su fácil operación y no necesitar otro solvente mas que el agua.

Destilación al vacío por arrastre con vapor

Esencialmente este método es el mismo que el discutido anterior excepto que se le ha aplicado vacío al sistema. Sin embargo, para resultados cuantitativos o también en evaluaciones cualitativas de resultados, especialmente de metabolitos altamente volátiles, mucho cuidado se debe ejercer a través de prever una serie de trampas frías para la colección de los destilados. De otro modo, algunos metabolitos pueden ser perdidos del destilado. Otra posible dificultad en utilizar este método con determinadas drogas vegetales es el problema de excesiva espuma producida. Sin embargo, esto puede evitarse mediante desgasificar el sistema bajo vacío positivo a temperatura ambiente, o por la adición de antiespumantes comerciales (octanol). Sin embargo debe hacerse notar que agentes antiespumantes comerciales podrían contener cantidades de volátiles que podrían interferir en los análisis cromatográficos consiguientes.

La ventaja primaria de este sistema es que la destilación con agua procede a temperaturas mucho menores que bajo vacío parcial, con lo que existe menos posibilidad de sobrecalentamientos y subsecuentes formación de metabolitos degradados producidos a temperaturas cercanas al punto de ebullición del agua a presión atmosférica. Normalmente la destilación al vacío es realizada entre 40°C a 60°C. Sin embargo, mediante el uso de un eficiente sistema de destilación al vacío, las operaciones de destilación pueden ser realizadas a temperatura ambiente. Así, para drogas vegetales que no deban sufrir calentamientos antes de su consumo este procedimiento provee un efectivo método de aislamiento y recuperación de extractos.

Destilación molecular

Esta técnica trabaja especialmente bien donde fuentes concentradas de aceites volátiles están presentes. Por ejemplo en materiales sujetos a tostación previa como café tostado o cúrcuma deshidratada. Por aparte de la ventaja referida a la destilación por arrastre con vapor al vacío, este método tiene la ventaja adicional de que ningún solvente entra en contacto con el extracto concentrado. El proceso puede llevarse a cabo en un condensador equipado con fuelles expansores con un flujo de vapor sirviendo de medio de calentamiento o en un equipo de evaporación de película descendente.

Sin embargo la relación de flujo es crítica ya que si bastante droga vegetal es admitida al sistema de una vez, la remoción completa de volátiles no es realizada y por otro lado si no hay suficiente droga vegetal introducida, puede resultar en sobrecalentamiento y quemados (caramelizaciones).

Maceración seguida por destilación atmosférica por arrastre con vapor

Si se asume que los metabolitos son fácilmente solubles en agua (ejemplo taninos), no hay necesidad de destilar por arrastre con vapor la droga vegetal. Así la lixiviación de los metabolitos afuera de la droga vegetal se efectúan a través de permitir que el agua entre en contacto con materiales como cortezas por una hora aproximadamente y a 66°C y entonces se realiza la filtración.

Este proceso permitirá proceder a continuación con una destilación por arrastre con vapor del filtrado. El utilizar esta técnica, permite minimizar las posibilidades de sobrecalentar o quemar la droga vegetal ya que al destilar no habrá ninguna partícula de esta presente en la marmita de destilación. Sin embargo, el procedimiento de maceración puede no ser eficiente en la remoción de todos los metabolitos de la droga vegetal original. También, precursores de metabolitos secundarios tales como aminoácidos libres y azúcares son también solubles en agua y así podrían formar otros metabolitos secundarios no presentes, especialmente con el uso de la destilación atmosférica por arrastre con vapor.

Rota evaporación

Una suspensión acuosa de una droga vegetal puede ser evaporada bajo presión reducida utilizando un evaporador rotatorio el cual puede operar a temperaturas menores de los 45°C. Como este equipo posee diversas trampas frías (condensadores con agua fría, hielo seco, etc) conectadas en línea entre el evaporador rotando y la bomba de vacío para coleccionar el destilado. La destilación así se realiza en aproximadamente una hora de proceso destilatorio.

Destilación atmosférica con solvente

Como una alternativa al aislamiento utilizando agua para la extracción de principios activos, varios solventes orgánicos pueden referirse. Estos incluyen el éter dietílico, diclorometano, hexano, pentano, bisulfuro de carbono y etanol.

La primera ventaja de utilizar una técnica de extracción por destilación con solvente es que la temperatura de destilación es mas baja que con la utilización de agua; así existe menos oportunidad de inducir calentamientos. El tiempo de extracción pueden elevarse hasta 20 horas. Sin embargo, algunos investigadores pueden considerar que la destilación con solvente puede resultar en alteraciones de la droga vegetal o parte de ella, y considerar que la información obtenida no sea completamente válida. Una variante de esta técnica puede referir el uso de la destilación con solvente al vacío usando el equipo de destilación denominado neo cleveger.

Destilación al vacío con solvente

Se puede teorizar el incremento en la efectividad y disminuir la posibilidad de formación de residuos por calentamiento mediante la aplicación de vacío a un proceso de destilación por arrastre con vapor modificado.

Columna de extracción con solvente a temperatura ambiente

Un proceso de aislamiento de metabolitos secundarios referido describe un procedimiento relativamente burdo de colocar la droga vegetal en un tubo de vidrio para cromatografía líquida y pasar solvente a través de la columna a temperatura ambiente. Así, no existe

posibilidad de formación de residuos por calentamiento. El método es referida también como uno de las más rápidas técnicas de aislamiento. Sin embargo, se debe estimar la eficiencia de remoción de los metabolitos de la droga vegetal.

Técnicas de concentración (Maceración)

Como se ha discutido previamente, las técnicas directrices de aislamiento, también sirven como un medio de concentración. Sin embargo, muchas de las técnicas de destilación por arrastre con vapor definidas resultan en un destilado diluido que a la vez es normal concentrarlo en volumen y/o extraerlo como tal. También, algunos métodos existen para extraer y fraccionar los metabolitos directamente desde el destilado.

Todos los procedimientos de concentración que refiere la literatura están relacionados con el uso de solventes utilizados para extracción. El extracto con solvente puede ser fácilmente concentrado por rotaevaporación, por destilación fraccionada, o por el uso de nitrógeno.

Otro factor a considerar es clasificar la técnica del agotamiento sin agitación o sea solo por difusión de los metabolitos de la droga vegetal inmóvil al solvente (maceración estática) y el otro método es procurar el agotamiento auxiliado por la agitación de la droga vegetal en el seno del solvente (maceración dinámica) obviamente esto dependerá de disponer de un medio de agitación continuo (mecánico) o discontinuo (manual) . A continuación se enumeran ejemplos típicos.

Extracción con éter dietílico

El éter dietílico es el solvente mas comúnmente utilizado. Naturalmente que cuando se usan solventes orgánicos es importante el grado de pureza y en todos los casos redestilar previamente el solvente es recomendable. También con el uso de solventes de extracción el número de extracciones realizadas es crítico, especialmente si los resultados deseados deben ser cuantitativos.

Algunos investigadores refieren número de extracciones desde dos hasta ocho veces. El número de extracciones requeridas para una completa remoción dependerá en parte del tipo de droga vegetal, pero la eficiencia de extracción puede ser fácilmente verificada mediante colocar una gota de del extracto etéreo en un dedo. Si cualquier olor residual característico mas que el propio del éter permanece, será recomendable continuar el proceso de extracción.

Extracción con diclorometano

Existen referencias de la preferencia de utilizar diclorometano como solvente de extracción, aunque la problemática ambiental ha restringido su uso. La ventaja primaria de utilizar diclorometano es que los lípidos no son completamente solubles en este solvente. Así, si un producto o extracto tiene un apreciable contenido de lípidos, la mayoría de estos no serán extraído con éste. Esta técnica de extracción puede entonces ser utilizada como un tratamiento directo para el aislamiento y concentración de metabolitos secundarios volátiles de materiales con alto contenido de materia grasa.

Extracción con alcohol

La selectividad del etanol es mas relevante por su naturaleza polar (es miscible en hexanos como en agua) lo que permite la extracción exhaustiva de materiales hidrófilos e hidrófobos con lo que se facilita agotamientos de la droga vegetal en forma amplia. Un aspecto a considerar al considerarlo como solvente orgánico es que su punto de ebullición es relativamente mayor que otros solventes orgánicos referidos debido a ser un liquido asociado por los puentes de hidrógeno que se establecen entre las moléculas de etanol.

Extracción con doble solvente

Existen reportes acerca de el uso de mezclas de solventes como medios más eficientes que con un solventes exclusivamente. Tablas de referencia se incluyen y se adjunta la propiedad mejorada.

Extracción con solventes misceláneos

En este caso las referencias impulsan a desarrollar el uso de otros compuestos orgánicos no

polares y polares requiriéndose sopesar sus ventajas y desventajas al tenor del tipo de droga vegetal y considerando la volatilidad alta o baja de los metabolitos secundarios que aparecerán en el extracto. Algunos de ellos serían los hexanos (sustitutos del éter dietílico), pentanos, acetato de etilo, bisulfuro de carbono.

Técnicas de fraccionamiento

Esencialmente existen dos métodos para el fraccionamiento de metabolitos de otros materiales volátiles y que pueden estar presentes en el destilado obtenido de una droga vegetal.

Separación por cromatografía de gases

El primer procedimiento a discutir relacionando a la cromatografía de gases con la separación de mezclas complejas volátiles. En forma sencilla se dice que el extracto concentrado con o sin solvente del destilado es inyectado así en el cromatógrafo de gases. Generalmente la mezcla esta compuesta por componentes ácidos y básicos y así se encontrara cierta dificultad en la interpretación del cromatograma. Sin embargo, cuando se compara con el segundo procedimiento descrito a continuación, este representa una técnica relativamente sencilla. Una ventaja de la inyección directa en cromatografía de gases es que puede dar una referencia de la concentración relativa de metabolitos presentes en función de las áreas respectivas y por los tiempos de elusión.

Fraccionamiento ácido-base

Este segundo procedimiento involucra la separación química de la mezcla compleja de volátiles en fracciones de naturaleza ácida y básica antes de la inyección al cromatógrafo de gases. Este proceso implica el ajuste del pH del extracto a 1.00 o menos con HCl. La mezcla acidificada es entonces multiextraída con solvente para remover compuestos ácidos y neutros. A continuación el pH se reajusta entre 8.00 y 9.00 y otra vez se extrae con solvente para remover la fracción básica deseada. La fracción de extracto básico en el solvente puede entonces ser concentrada y el concentrado inyectado al cromatógrafo de gases.

La inyección de solo la fracción básica usualmente resulta en un cromatograma menos disperso. Sin embargo, debe notarse que compuestos como furfurales y piridinas pueden también estar presentes en la fracción básica. Así debe tenerse especial cuidado en la interpretación de los cromatogramas

Técnicas de identificación y separación

Las primeras investigaciones dan cuenta en el uso de la rotación óptica, el análisis elemental, la conversión en derivados, los puntos de fusión, la destilación fraccionada para identificar y separar metabolitos. Con los recientes desarrollos en el análisis instrumental, la fitoquímica moderna puede potenciar el uso de la cromatografía gas líquido, espectrometría de masa, espectrometría ultravioleta e infrarrojo, espectrofotometría visible, resonancia magnética nuclear para determinar la composición de extractos con cantidades traza de metabolitos inclusive.

Cromatografía de gases

Aunque en forma breve esta técnica (CG) ya ha sido descrita como técnica de fraccionamiento pero es útil como técnica de identificación también.

Cromatografía en capa fina

La cromatografía en capa fina (TLC) ha demostrado ser un medio de separación de algunos componentes de estas mezclas complejas de metabolitos. Esta técnica permite en primera instancia una identificación cualitativa de metabolitos específicos así como una confirmación por la propiedad de su relación de recorrido (rf) que resulta siendo una propiedad característica dependiente de la fase inmóvil y del solvente transportador.

Además se puede lograr una separación de otros metabolitos mediante retirar de la cromatoplaça la mancha específica y realizar un microanálisis en posterior proceder.

Espectrofotometría visible

Un gran número de técnicas analíticas se basan en la capacidad que poseen algunas sustancias para emitir o absorber radiación electromagnética. Puede establecerse una relación entre la capacidad de una sustancia (curcuminoídes) para absorber radiación a un valor de longitud de onda (420 nm) y la concentración de la misma en el medio involucrado (oleoresina). Los absorciómetros de luz visible que se emplean con más frecuencia, o, como se les denomina, fotómetros o espectrofotómetros, utilizan como fuente de luz una lámpara de filamento de tungsteno. La radiación emitida cubre en su totalidad el espectro visible

Nomenclatura y clasificación de los extractos

La apariencia física de un extracto (sólido, líquido, semisólido, etc) puede ser considerada como el primer criterio de clasificación, este concepto queda sumariado en el cuadro a continuación. También, los metabolitos pueden clasificarse por su efecto singular o sinérgico en dos tipos simple o complejo. Así el timol puede considerarse como un principio activo simple, mientras que una mezcla de isómeros como los curcuminoídes sería un principio activo complejo. Los ingredientes simples pueden ser clasificados por sus grupos funcionales – aldehídos, cetonas, alcoholes, mercaptanos, etc.- Existiendo relaciones generales entre los miembros de cada familia, tales como las siguientes:

1. Los componentes más livianos son más volátiles, más agudos en su olor, más solubles en agua. En contraposición los miembros más pesados son menos volátiles, su olor es menos intenso, más solubles en aceites.
2. Las ramificaciones pueden contribuir a darle más olor y sabor característico respecto a los isómeros menos ramificados.
3. Los estereoisómeros pueden dar respuestas muy diferentes en olor, sabor y respuestas fisiológicas. Por ejemplo el l mentol tiene un efecto refrescante en la piel y la boca mientras que este efecto es menos con el d o el racemato dl.

Así también la naturaleza del solvente en el extracto utilizado como vehículo puede ser de primordial importancia tanto por razones técnicas como comerciales. El etanol (usualmente

llamado alcohol) es sujeto de regulación en Guatemala y por eso puede afectar el costo aunque para propósitos técnicos implica una materia prima “nacional” lo que reduce el costo que implica la importación de otros solventes. El metanol es prohibido mundialmente por su toxicidad. El propilenglicol, glicerol, butanodiol, aceites vegetales, ester como el triacetato de glicerilo, dibutirato de glicerilo y otros vehículos funcionales pueden ser utilizados, aunque no son mundialmente aceptado por las instancias reguladoras estatales y o privadas.

Es así que el enfoque de la clasificación reviste mayor importancia en general mediante el aspecto de las características físicas de las mezclas complejas o extracto de metabolitos ordenados así:

1. Extractos sólidos: cristales, polvos secos (liofilizados, atomizados, deshidratados) , coberturas, encapsulados.
2. Extractos líquidos: aceites esenciales (rectificados, desterpenizados, sesquidesterpenizados), oleorresinas, absolutos, extractos fluidos, compuestos oleosos, alcoholatos, tinturas, infusiones, destilados, espíritus, esencias solubles, emulsiones, fracciones y aislados, concentrados.
3. Pastas o semisólidos: extractos suaves, resinas, resinoides concretos, emulsiones, bálsamos, gomas resinas, gomas.

2.5. METODOLOGÍA

Desarrollo

El proyecto se desarrolló tomando en consideración las siguientes etapas:

Colección del material de estudio

Se realizó la compra de 150 libras de pimienta negra seca cultivada en el convento de FUNDEMI (Fundación desarrollo de las mujeres indígenas) ubicada en la población de Sechajtí, a 34 km de Fray Bartolomé De Las Casas, Alta Verapaz ubicada a una altitud de 170 msnm, material al cual se le realizó el estudio propuesto en el presente proyecto.

Molido

Los distintos lotes de pimienta negra se molieron en un molino manual en el área de la planta piloto del Centro de Investigaciones de Ingeniería (CII) . ,

Evaluación de extracción a nivel de laboratorio

- a) Preparación de las bayas de pimienta negra seca para las extracciones a nivel de laboratorio. El material fue reducido de tamaño mediante un molino manual a un tamaño de partícula fino por tamizaje (-tamiz 20/+ tamiz 60) y se le evaluó el contenido de humedad.
- b) Realización de extracciones tipo soxleth con etanol absoluto utilizado como parámetro de comparación.
- c) Realización de maceraciones estáticas a nivel laboratorio para poder comparar el rendimiento porcentual a nivel piloto.

Localización

La parte experimental de la investigación se llevó a cabo en la Universidad de San Carlos, 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 (CII).

2. Laboratorio de ensayo físico-químico de la Sección de Química Industrial, del Centro de Investigaciones de Ingeniería.
3. Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT) de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
4. Unidad de Análisis Instrumental, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

Metodología experimental

Diseño de Tratamientos

Para la obtención del aceite esencial de pimienta negra se sometió la materia prima al proceso de arrastre con vapor directo. Se escogieron tres tamaños de lote: 9 lbs, 10 lbs y 15 lbs.

Realización de las extracciones

Se ejecutó el proceso extractivo discontinuo o por lotes de la materia seca y molida a través de la secuencia diagrama 1.

La materia prima fue pesada con exactitud para cada tratamiento; la misma fue colocada dentro del extractor y se le aplicó el método de arrastre con vapor, la materia agotada de aceites esenciales se sometió a maceración con etanol a dos distintas concentraciones (70% Y 95%) a 36, 48 y 72 horas, para cada tiempo de maceración se procedió a realizar una concentración.

Método para extraer aceite esencial

Arrastre con vapor directo:

En este método se introduce la materia vegetal dentro del extractor, distribuyendo la misma en parrillas, luego se inyecta vapor por la parte de abajo, hasta formar el equilibrio entre la materia vegetal y el vapor, el vapor reblandece o rompe las paredes de las glándulas aceitosas, libera el aceite y lo arrastra, entonces el aceite esencial junto con el vapor se pasa a través de un condensador, obteniendo el aceite esencial, hidrolato y agua en el vaso florentino, luego se separa por medio de decantación. El hidrolato está formado por la parte del aceite esencial que es parcialmente soluble en agua y la cual se separa por la adición de una sal, se determina la cantidad de aceite obtenida y se realizan los análisis pertinentes.

Extracción de oleoresina

Una vez la materia está agotada en aceite esencial, se procedió a macerarla con etanol a dos distintas concentraciones, siendo éstas 70% y 95%, para luego filtrar y proceder a recuperar el etanol en el concentrador de la planta piloto y obtener la oleoresina concentrada. Se varió además 3 tiempos de maceración para cada lote.

Purificación del aceite esencial y la oleoresina

Se realizó mediante la eliminación de agua en el aceite esencial obtenido por destilación (Diagrama 5) y la eliminación de agua en la oleoresina obtenida por maceración, se ejecutó por reconcentración al vacío a temperaturas menores de 35 °C para eliminar el etanol y el agua posteriormente por decantación y mediante una posterior rota evaporación se eliminó el etanol, como se detalla en los diagramas 2, 3 y 4.

Determinación de densidad

La determinación de la densidad se realizó con un picnómetro de 5 mililitros.

Determinación del Índice de refracción

Se filtró el aceite esencial por medio de embudo con filtro al vacío. Se utilizó un refractómetro Abbe.

Análisis Cromatográfico

Las muestras a ser caracterizadas se colocaron en recipientes limpios, herméticamente sellados, color ámbar de 5 mL para evitar su descomposición, y fueron llevadas a la Unidad de Análisis Instrumental (UAI) de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala donde se les realizó el análisis químico por medio de cromatografía de gases para el aceite esencial y HPLC para las muestras de oleorresina.

Análisis de datos

Para la evaluación estadística se utilizó un diseño completamente al azar con un arreglo combinatorio, por lo que se evaluó 3 tratamientos para la extracción de aceite esencial, con tres repeticiones cada uno, haciendo un total de 9 determinaciones, luego para la extracción de oleorresina se utilizó un diseño completamente al azar para los 3 tratamientos de aceite esencial, con tres distintos tiempos de extracción y 2 distintas concentraciones de solvente con triplicado, haciendo un total de 54 determinaciones. Los resultados fueron tratados por medio del análisis de varianza, utilizando el paquete estadístico SAS, comparando las medias de los tratamientos, utilizando la prueba de Tukey, a un nivel de confianza del 95%, evaluando la interacción entre las variables, a saber, tamaño del lote, tiempo de maceración y concentración del solvente. También se realizó la prueba de normalidad de los datos.

Diagramación

A continuación se describen los diagramas de los diseños de tratamientos experimentales, así como el flujograma del proceso de obtención de las fracciones extractables a nivel de planta piloto:

DIAGRAMAS DE LOS DISEÑOS DE TRATAMIENTOS EXPERIMENTALES

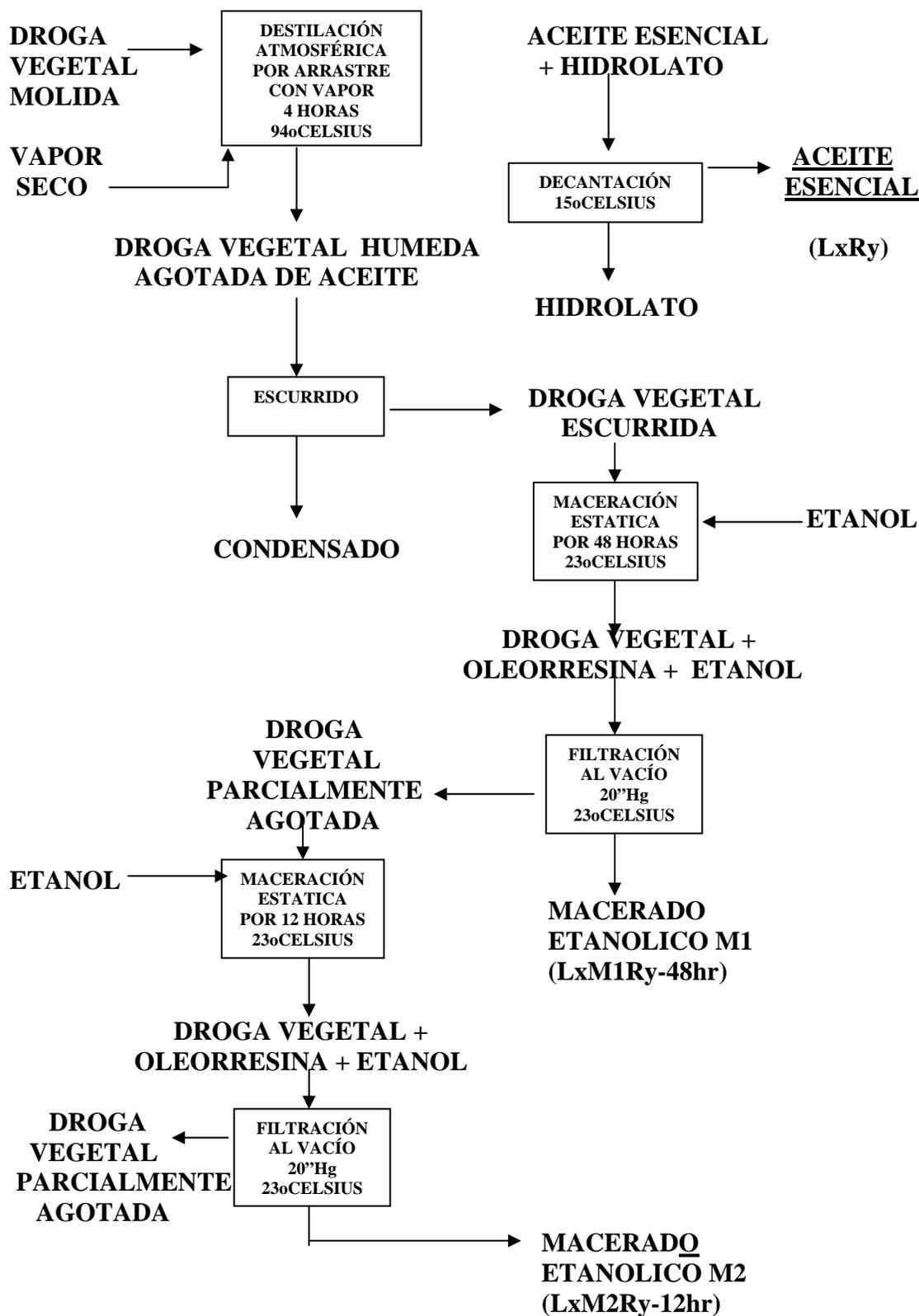
DIAGRAMA 1.

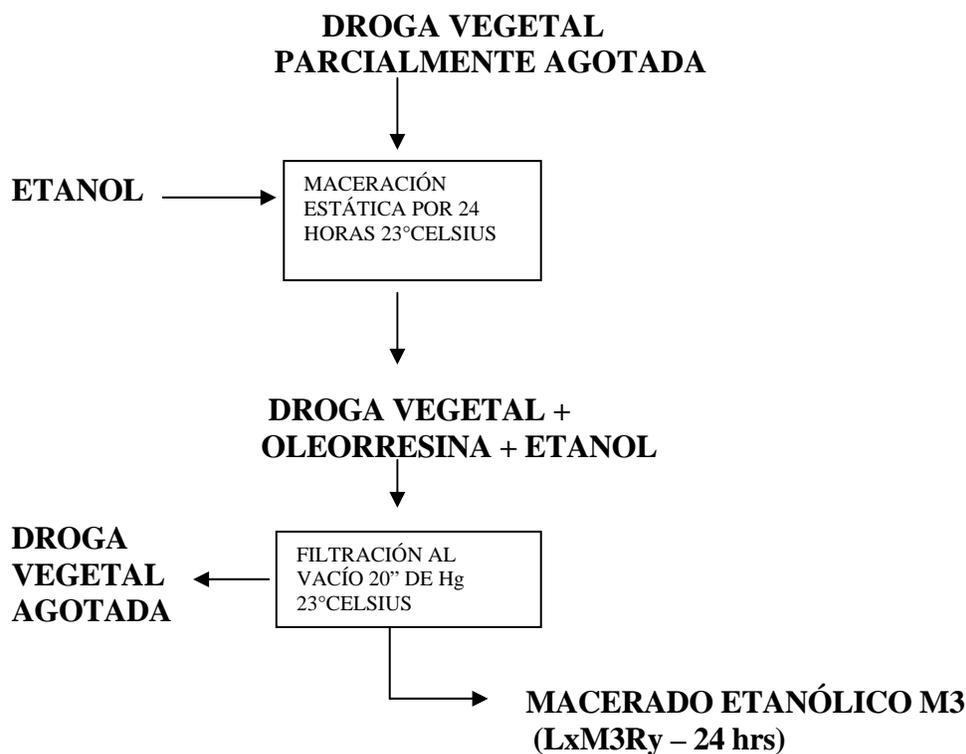
Destilación atmosférica por arrastre con vapor			
Aceite esencial			
tratamientos	R1	R2	R3
L9			
L10			
L15			

DIAGRAMA 2.

Maceración estática con etanol																		
Oleorresina																		
	M1 (36)						M2 (12)						M3(24)					
	S1			S2			S1			S2			S1			S2		
tratamientos	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
L9																		
L10																		
L15																		

DIAGRAMA 1
PROCESO DE EXTRACCION DE ACEITE ESENCIAL Y OLEORRESINA DE
PIMIENTA NEGRA (*Piper nigrum L.*)





El diagrama anterior se repite con etanol a distinta concentración.

La maceración estática se llevó cabo en recipientes plásticos, agregándoles solvente con una relación masa de droga agotada / volumen de solvente(etanol) de 3:1, lo que significa que por cada 3 libras de pimienta negra agotada se agregó 1 galón de etanol al 95% ó al 70% según fuera el caso, quedando así el volumen de etanol agregado por lote. Esta relación fue seleccionada en base a las pruebas preliminares que se hicieron a nivel de laboratorio y que definieron el seleccionar el alcohol como solvente:

Lote de pimienta negra molida (lbs.)	volumen de etanol agregado (gal)
9	3
10	3.33
15	5

DIAGRAMA 2
PROCESO DE CONCENTRACIÓN Y REFINACIÓN DE LOS MACERADOS DE
PIMIENTA NEGRA (*Piper nigrum L.*)

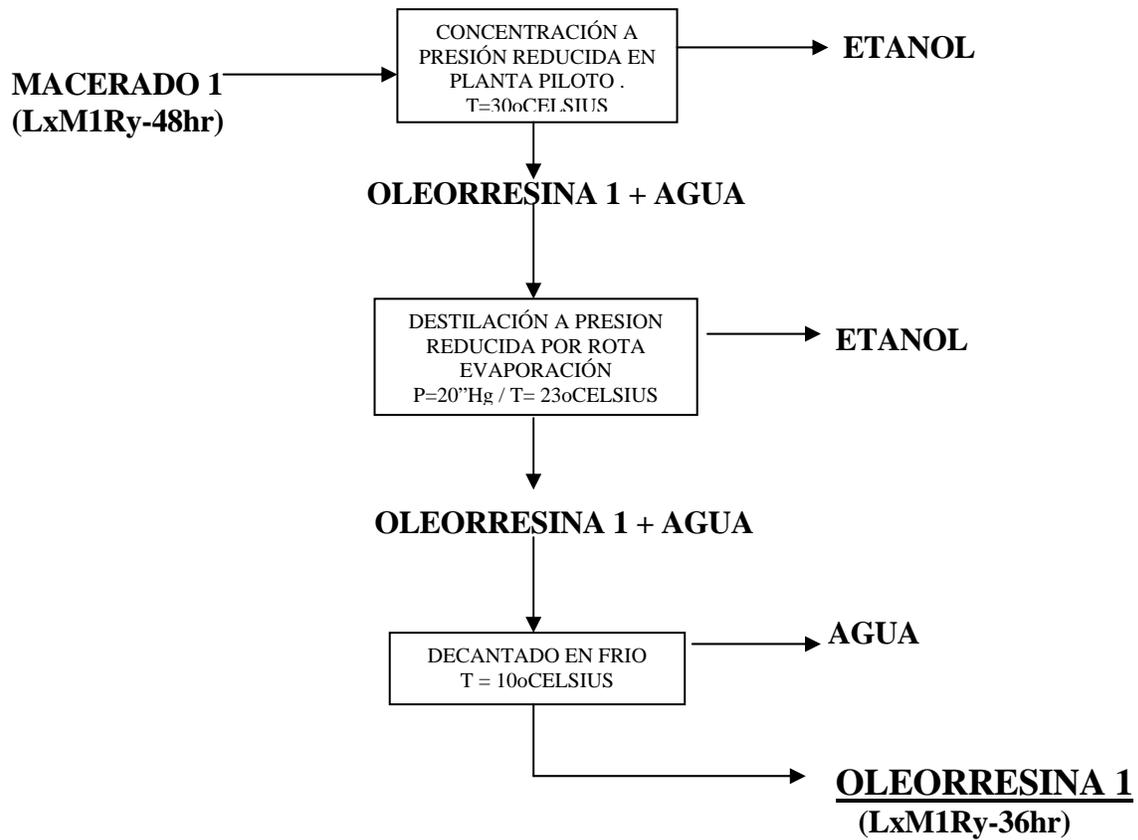


DIAGRAMA 3
PROCESO DE CONCENTRACIÓN Y REFINACIÓN DE LOS MACERADOS DE
PIMIENTA NEGRA (*Piper nigrum L.*)

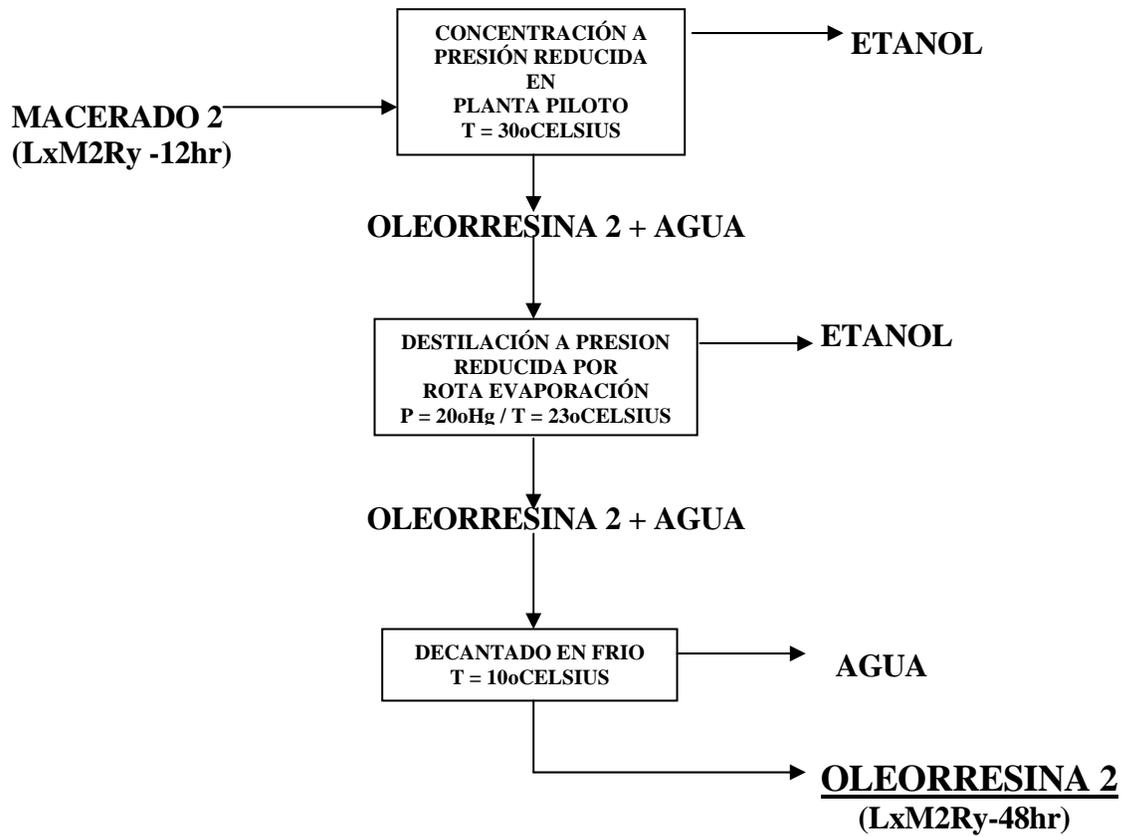


DIAGRAMA 4
PROCESO DE CONCENTRACIÓN Y REFINACIÓN DE LOS MACERADOS DE
PIMIENTA NEGRA (*Piper nigrum L.*)

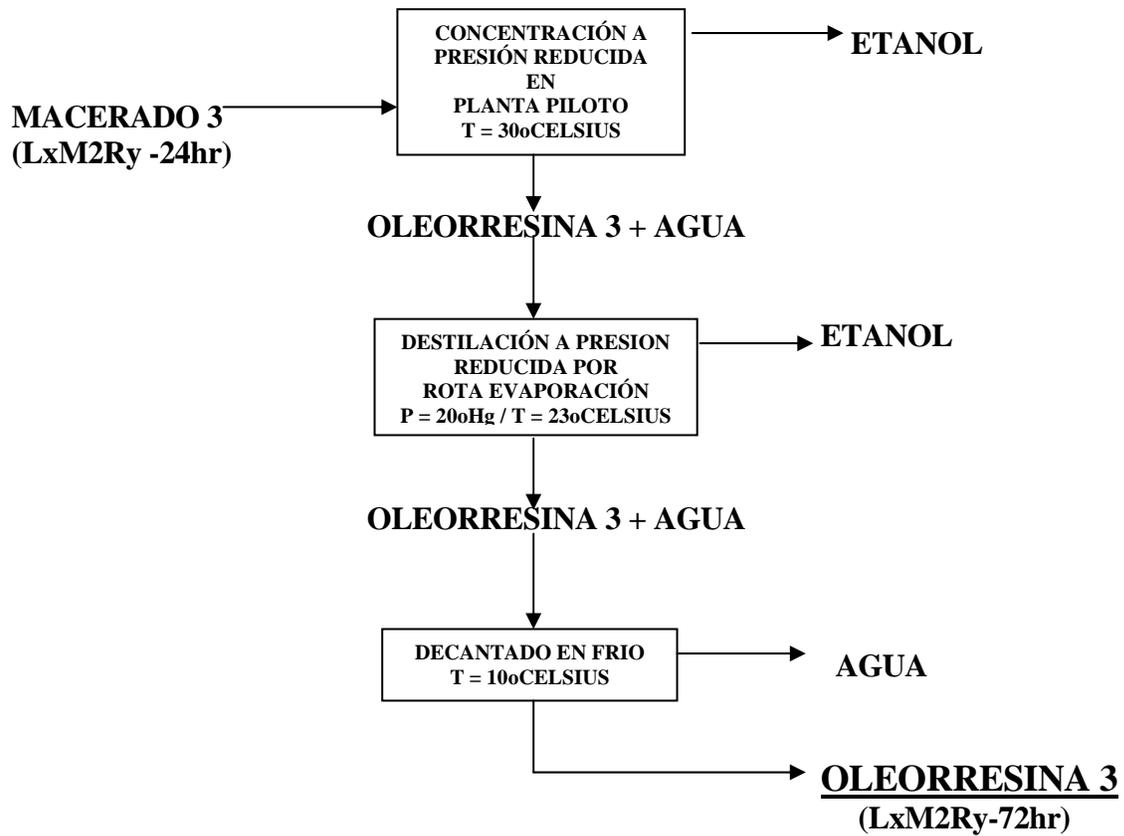
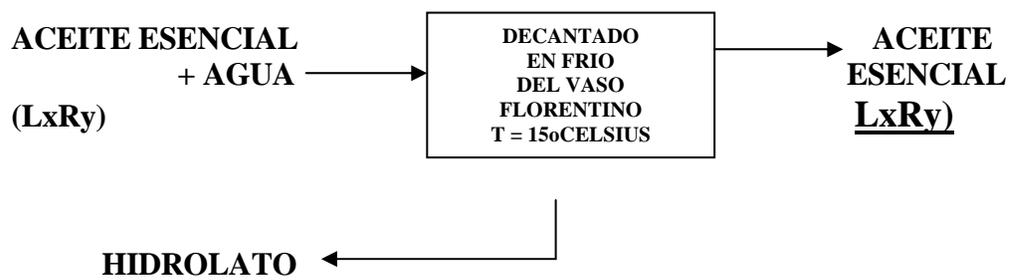


DIAGRAMA 5
PROCESO DE REFINACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL EXTRAIDO DE PIMIENTA
NEGRA (*Piper nigrum L.*)



2.6. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

En base a los objetivos planteados en el proyecto y como consecuencia de la metodología aplicada en cada uno de los procedimientos planteados se obtuvo un conjunto de resultados que reflejan los alcances logrados en el desarrollo del proyecto de investigación. En la siguientes tablas se presentan los resultados logrados:

Fracción extractable de pimienta negra aceite esencial

Cuadro 1 Rendimiento porcentual de aceite esencial de pimienta negra extraído a nivel laboratorio *

Tratamiento	Porcentaje
1	0.86
2	1.01

*Destilación atmosférica con solvente (pentano)

Equipo: neo clevenger

Cuadro 2 Rendimiento porcentual de aceite esencial de pimienta negra seca extraído a nivel planta piloto*

Tratamientos**	Repeticiones			
	R1	R2	R3	MEDIA
L9	0.6541	0.6761	0.6881	0.6728
L10	0.7744	0.7379	0.8069	0.7731
L15	1.071	0.9060	0.903	0.960

* Destilación atmosférica por arrastre con vapor
planta piloto de extracción tournier
presion: 640 mm de hg, temperatura 94° celsius
tiempo de extracción: 4.0 horas

** L9 = 9 libras L10 =10 libras L15 = 15 libras

Cuadro 3. Análisis de varianza para los rendimientos porcentuales de aceite esencial de Pimienta negra (*Piper nigrum L.*) a nivel planta piloto.

Fuente	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrados Medios	Valor de F	Pr >F
Lote (L)	2	0.1275	0.06375	17.82	0.0030
Error	6	0.0215	0.0036		
Total corregido	8	0.1489			

Coefficiente de determinación	Coefficiente de variación (C.V.)	Raíz cuadrada del error estándar	Rendimiento promedio
0.8559	7.4582	0.059	0.8019

Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial extraído a nivel de planta piloto de pimienta negra seca mediante destilación atmosférica por arrastre con vapor

Cuadro 4 Densidad (g/ml) de aceite esencial*

Tratamientos**	Repeticiones			
	R1	R2	R3	MEDIA
L9	0.859	0.853	0.859	0.857
L10	0.857	0.857	0.859	0.858
L15	0.859	0.858	0.856	0.858

*Temperatura 23ocelsius

** L9 = 9 libras L10 =10 libras L15 = 15 libras

Cuadro 5 Índice de Refracción de aceite esencial de pimienta negra (*Piper nigrum L.*)

Tratamientos*	Repeticiones			
	R1	R2	R3	MEDIA
L9	1.4775	1.4780	1.4779	1.4778
L10	1.4785	1.4789	1.4779	1.4784
L15	1.4796	1.4774	1.4765	1.4778

* L9 = 9 libras L10 =10 libras L15 = 15 libras

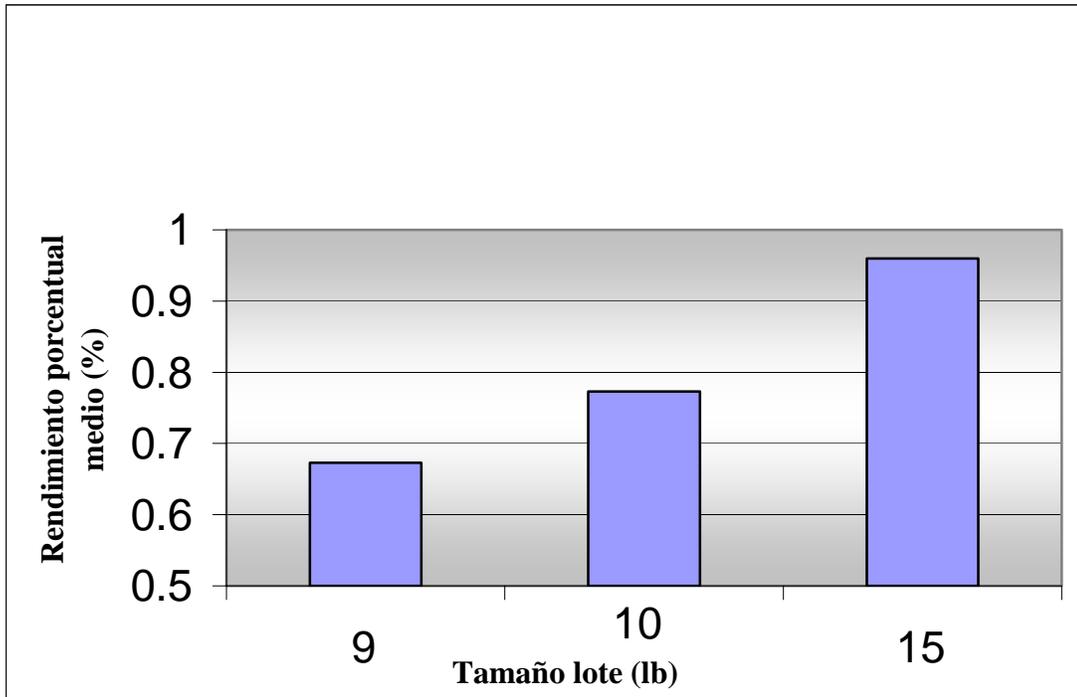


Figura 1 Porcentaje de rendimiento de aceite esencial a nivel de planta piloto de pimienta negra (*Piper nigrum* L.)

Fracción extractable de pimienta negra
oleorresina

Rendimiento porcentual de oleorresina obtenida a nivel de planta piloto de la pimienta negra seca mediante maceración estática con etanol

Cuadro 6 Rendimiento porcentual de oleorresina obtenida por maceración estática, concentración al vacío y refinación por rotaevaporación.

1ª. Maceración*	RENDIMIENTO PORCENTUAL MEDIO***	
	S ₁	S ₂
L9 **	1.5819 ±0.324	2.3883 ±0.379
L10	2.0083±0.1894	4.4869 ±0.304
L15	1.9948 ±0.2061	3.5881 ±0.0299

* primer tiempo de maceración estatica: 36 hrs

** L9= lote de 9lbs L10 = lote de 10 lbs L15 = lote de 15 lbs

*** S1 = solvente 1, etanol al 95% S2 = solvente 2, etanol al 70%

Cuadro 7 Rendimiento porcentual de oleorresina obtenida por maceración estática, concentración al vacío y refinación por rotaevaporación.

2ª. Maceración*	RENDIMIENTO PORCENTUAL MEDIO***	
	S ₁	S ₂
L9**	0.9473 ±0.2120	1.9699 ±0.1096
L10	1.3036±0.2837	2.0235 ±0.0909
L15	1.7144 ±0.1820	2.4355 ±0.1576

*segundo tiempo de maceración estatica: 48 hrs

** L9= lote de 9lbs L10 = lote de 10 lbs L15 = lote de 15 lbs

*** S1 = solvente 1, etanol al 95% S2 = solvente 2, etanol al 70%

Cuadro 8 Rendimiento porcentual de oleorresina obtenida por maceración estática, concentración al vacío y refinación por rotaevaporación.

3ª. Maceración*	RENDIMIENTO PORCENTUAL MEDIO***	
	S ₁	S ₂
L9**	0.4944 ±0.1502	1.5131 ±0.0589
L10	1.0534±0.2416	1.7741 ±0.0137
L15	1.2690 ±0.1564	1.3047 ±0.0371

* tercer tiempo de maceración estatica: 72 hrs

** L9= lote de 9lbs L10 = lote de 10 lbs L15 = lote de 15 lbs

*** S1 = solvente 1, etanol al 95% S2 = solvente 2, etanol al 70%

Cuadro 9 Rendimiento porcentual total de oleoresina (suma de las tres maceraciones estáticas), obtenida por concentración al vacío y refinación por rotaevaporación, en función del tamaño del lote utilizando dos diferentes solventes.

TAMAÑO LOTE (lb)	RENDIMIENTO PORCENTUAL TOTAL*	
	S ₁	S ₂
9	3.02	5.87
10	4.36	8.28
15	4.97	7.33

* S₁ = solvente 1, etanol al 95% S₂ = solvente 2, etanol al 70%

Cuadro 10 Análisis de varianza para los rendimientos porcentuales de oleoresina de Pimienta Negra (*Piper nigrum L.*)

Fuente	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrados Medios	Valor de F	Pr >F
Lote (L)	2	11.8097	5.90487	19.34	0.0004
Solvente (S)	1	37.7940	37.794	123.78	0.0001
Interacción (L * S)	2	2.9817	1.491	4.88	0.0332
Error	10	3.0534	0.3053		
Total corregido	17	56.2104			

Coefficiente de determinación	Coefficiente de variación (C.V.)	Raíz cuadrada del error estándar	Rendimiento promedio
0.94567	9.9181	0.5526	5.5714

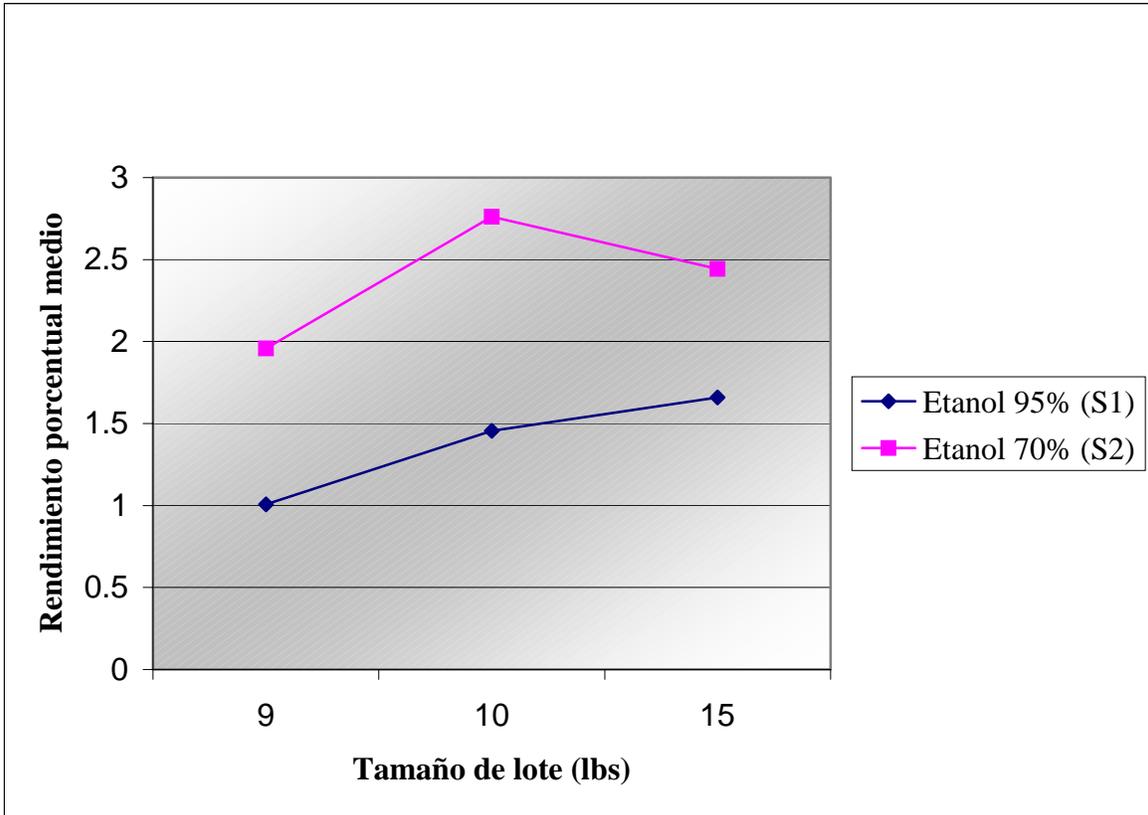


Figura 2. Rendimiento porcentual de oleorresina de Pimienta Negra en función de la concentración del solvente

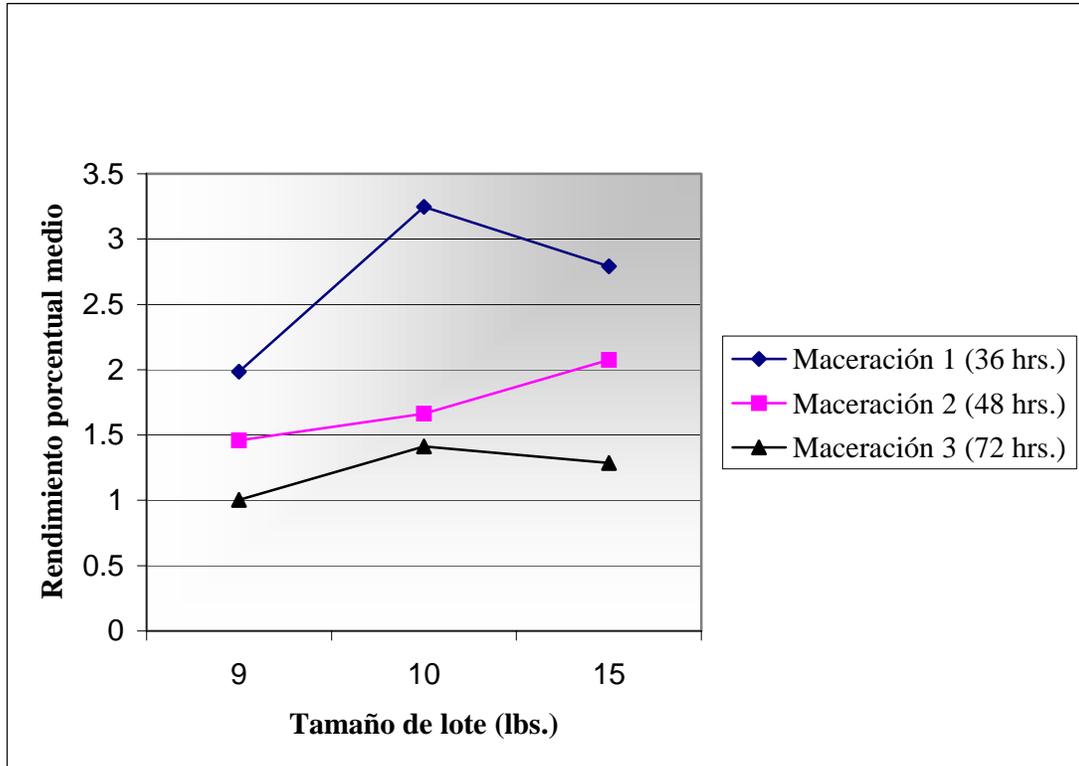


Figura 3. Rendimiento porcentual de oleorresina de Pimienta Negra en función del tamaño del lote para las diferentes maceraciones

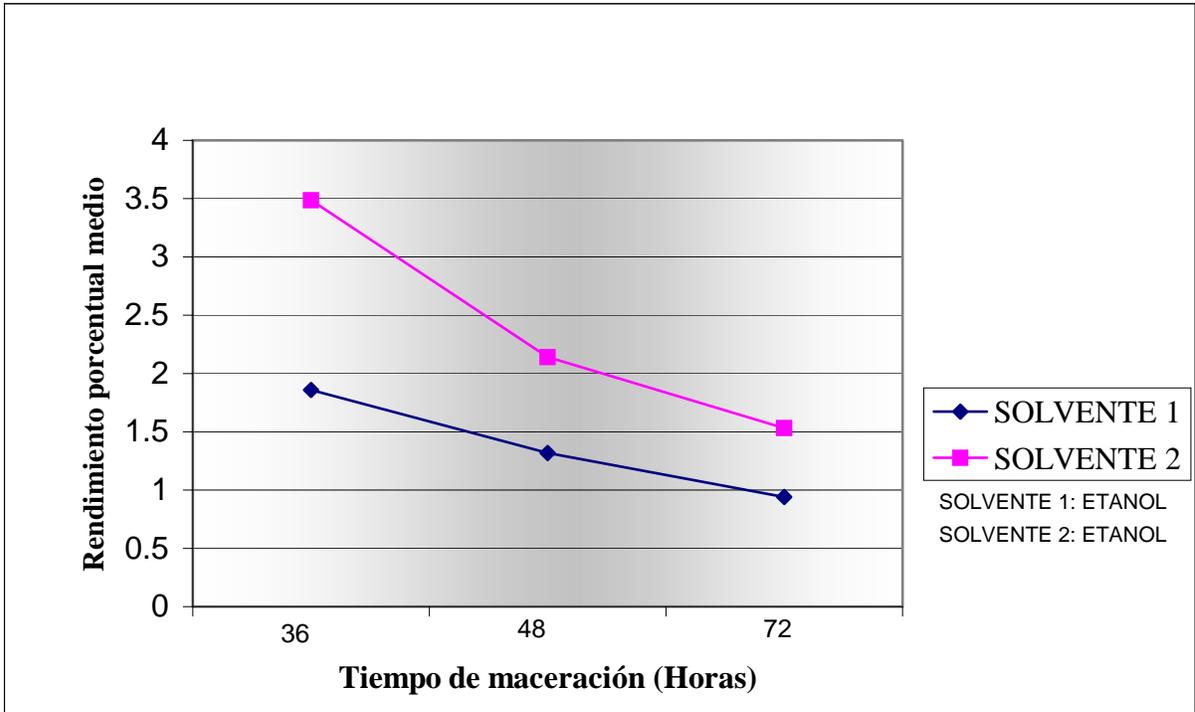


Figura 4. Rendimiento porcentual de oleoresina de Pimienta Negra en función de las horas de maceración, independiente del tamaño de lote

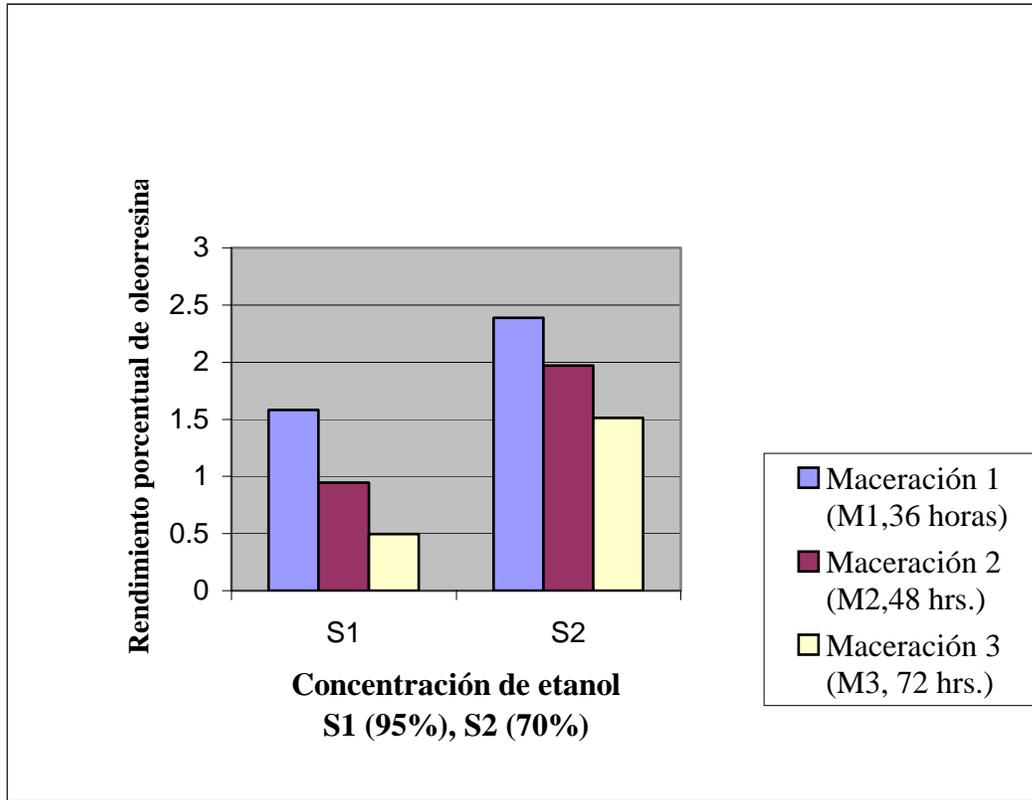


Figura 5. Rendimiento porcentual de oleorresina de Pimienta negra (*Piper nigrum L.*) para un tamaño de lote de 9 libras.

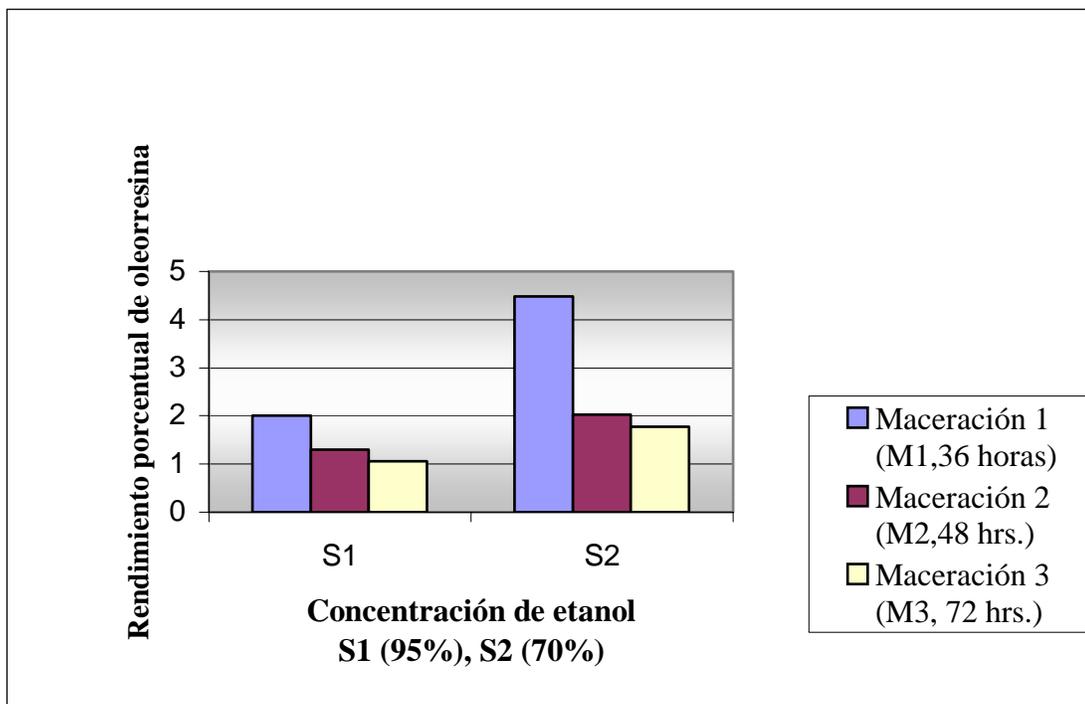


Figura 6. Rendimiento porcentual de oleorresina de Pimienta negra (*Piper nigrum* L.) para un tamaño de lote de 10 libras

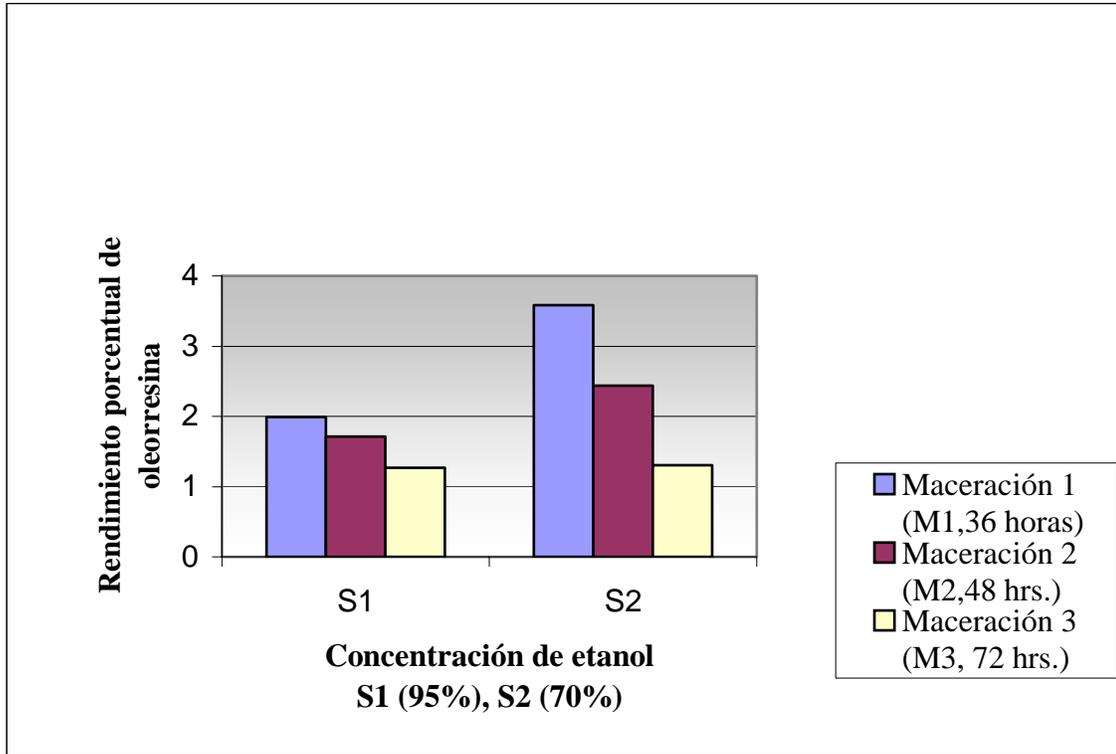


Figura 7. Rendimiento porcentual de oleorresina de Pimienta negra (*Piper nigrum* L.) para un tamaño de lote de 15 libras

**PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LA OLEORRESINA
OBTENIDA A NIVEL DE PLANTA PILOTO DE PIMIENTA NEGRA SECA
MEDIANTE MACERACIÓN ESTÁTICA CON ETANOL**

Cuadro 10 Solubilidad de oleorresina *

Solvente	Resultado
➤ Agua	-
➤ Etanol	+

*TEMPERATURA 23oCELSIUS

Cuadro 11 Densidad de las oleorresinas, primera maceración*

Tamaño lote (lb)	DENSIDAD (g/cm ³)
9	0.987
10	0.994
15	0.979

*TEMPERATURA 27oCELSIUS

Cuadro 12 Densidad de las oleorresinas, segunda maceración*

Tamaño lote (lb)	DENSIDAD (g/cm ³)
9	0.970
10	1.033
15	0.981

*TEMPERATURA 27oCELSIUS

Cuadro 13 Densidad de las oleorresinas, tercera maceración*

Tamaño lote (lb)	DENSIDAD (g/cm ³)
9	0.9505
10	0.9490
15	0.9860

* TEMPERATURA 27oCELSIUS

Cuadro 14 Componentes principales del aceite esencial de pimienta negra cultivada en Guatemala detectados por cromatografía gaseosa en la unidad de análisis instrumental (UAI) Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.USAC.

MUESTRA*	Canfeno (%)	Mirceno (%)	Limoneno (%)	Felandreno (%)	Alfa-pineno (%)	4-Alilanisol (%)	Anetol (%)
L9R1	12.53	9.39	X	X	X	1.17	X
L9R2	15.53	3.25	1.89	X	X	X	X
L9R3	13.00	18.38	21.82	1.10	7.78	19.46	X
L10R1	15.00	8.76	X	X	X	X	1.29
L10R2	11.91	2.20	1.61	24.91	X	X	X
L10R3	16.35	9.08	X	X	X	X	1.28
L15R1	15.40	9.05	X	X	X	X	1.35
L15R2	11.20		X	X	X	X	X
L15R3	17.70	9.70	X	X	X	1.04	X

* L9 = lote de 9 lbs L10 = lote de 10 lbs L15 = lote de 15 lbs
R1 = repetición 1 R2 =Repetición 2 R3 = Repetición 3

Cuadro 15 Contenido promedio de piperina en la oleoresina de pimienta, obtenida por maceración estática de 36 horas, concentración al vacío y por cromatografía líquida de alta presión (HPLC), refinación por rotaevaporación.

TAMAÑO LOTE (lb)	RENDIMIENTO PORCENTUAL % (p/p) *	
	S ₁	S ₂
9	66.16	69.8
10	58.97	62.9
15	67.25	56.63

* S1= SOLVENTE 1 (ETANOL 95%)
S2= SOLVENTE 2 (ETANOL 70%)

Cuadro 16 Contenido promedio de piperina en la oleoresina de pimienta, obtenida por maceración estática de 48 horas, concentración al vacío y por cromatografía líquida de alta presión (HPLC), refinación por rotaevaporación.

TAMAÑO LOTE (lb)	RENDIMIENTO PORCENTUAL % (p/p)*	
	S ₁	S ₂
9	56.86	63.63
10	27.40	53.90
15	55.36	65.93

*S1= SOLVENTE 1 (ETANOL 95%)
S2= SOLVENTE 2 (ETANOL 70%)

Cuadro 17 Contenido promedio de piperina en la oleoresina de pimienta, obtenida por maceración estática de 72 horas, concentración al vacío y por cromatografía líquida de alta presión (HPLC), refinación por rotaevaporación.

TAMAÑO LOTE (lb)	RENDIMIENTO PORCENTUAL % (p/p)*	
	S ₁	S ₂
9	64.47	41.9
10	47.63	61.07
15	57.13	54.77

*S1= SOLVENTE 1 (ETANOL 95%)
S2= SOLVENTE 2 (ETANOL 70%)

Cuadro 18 Contenido de piperina en la oleoresina de pimienta, en función del tamaño del lote y el solvente utilizado.

TAMAÑO LOTE (lb)	SOLVENTE UTILIZADO*	
	S₁	S₂
9	62.5	58.44
10	44.66	58.42
15	55.72	59.11

*SOLVENTE 1: ETANOL 95%
SOLVENTE 2: ETANOL 70%

Cuadro 19 Contenido de piperina en la oleoresina de pimienta, en función del tamaño del lote y método de maceración.

TAMAÑO LOTE (lb)	METODO DE MACERACIÓN *		
	MACERACIÓN 1	MACERACIÓN 2	MACERACIÓN 3
9	67.98	60.25	53.18
10	55.18	40.65	58.79
15	55.65	60.65	55.95

*Maceración 1= 36 hrs
Maceración 2 = 48 hrs
Maceración 3= 72 hrs

Cuadro 20 Contenido de piperina en la oleoresina de pimienta, en función del tamaño del lote y solvente utilizado.

MACERACION (Horas)	SOLVENTE UTILIZADO*	
	S₁	S₂
36	59.93	59.28
48	46.54	61.16
72	56.41	55.54

*SOLVENTE 1: ETANOL 95%
SOLVENTE 2: ETANOL 70%

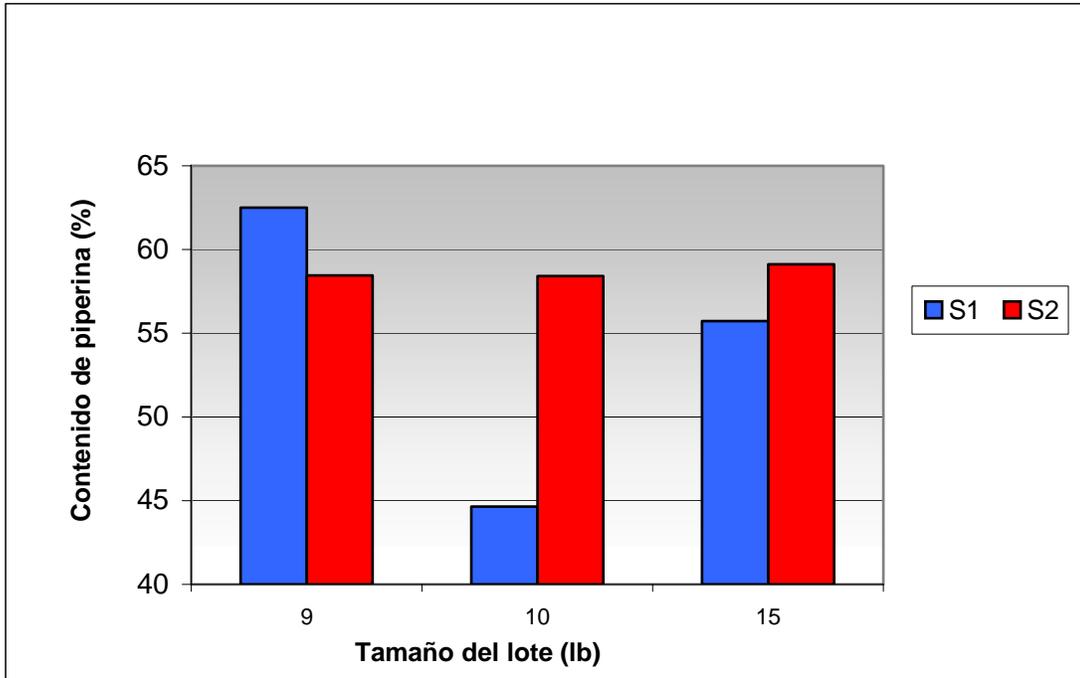


Figura 8. Contenido porcentual Piperina según tamaño de lote solvente utilizado

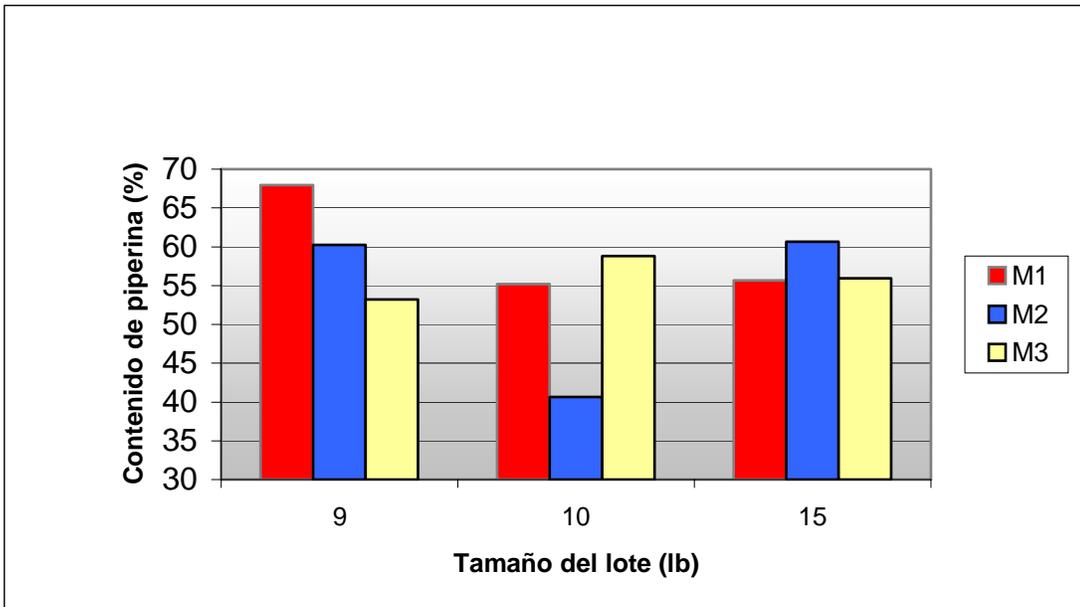


Figura 9. Contenido de piperina según tamaño del lote y método de maceración

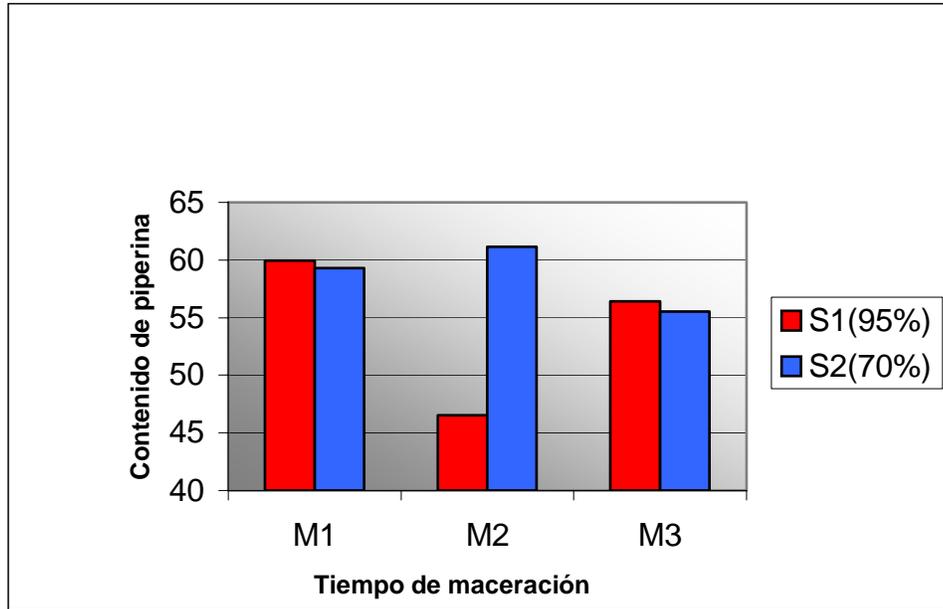


Figura 10. Contenido de Piperina en función del método de maceración y del solvente utilizado

2.7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la última década se ha reconocido la importancia de las especies vegetales y la necesidad de aprender a manejar éstos recursos, en beneficio de los agricultores y agroindustriales. La realización de una investigación en la Extracción de aceite esencial y oleorresina de pimienta negra (*Piper nigrum* L.) es de gran interés, ya que el cultivo, comercialización y procesamiento de la pimienta negra es una de las alternativas de producto no tradicional que podría fomentarse en Guatemala. Actualmente esta especie es importada y se están haciendo los primeros intentos en el área de las Verapaces de introducirse en este cultivo. Las especies de éste género son utilizadas como condimento, en especial por sus frutos aromáticos y picantes, y muchas de ellas se emplean en la medicina natural. La realización del presente proyecto es de interés ya que podría proporcionar parámetros de operación para extraer oleorresina y aceite esencial de pimienta negra para su posterior industrialización.

Se hicieron dos extracciones de aceite esencial a nivel laboratorio de bayas de pimienta negra seca , utilizando el método de destilación con agua a presión atmosférica en el aparato denominado Neo Clevenger facilitado por el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT) de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, y en el cual se reportó un rendimiento porcentual medio de aceite esencial de 0.8019% (Cuadro 1).

Para la extracción de aceite esencial de pimienta negra(*Piper nigrum* L.) en la planta piloto de extracción-destilación, el tiempo de extracción se fijó en cuatro horas para todas las extracciones y se varió el tamaño de lote, se utilizó el Método de Extracción de Arrastre con Vapor Directo.

Basándose en el análisis de varianza para el porcentaje de rendimiento de aceite esencial de pimienta negra (*Piper nigrum* L.), de acuerdo a la prueba de Tukey, se tiene que en los resultados obtenidos existe diferencia significativa entre el factor tamaño de lote y los porcentajes de rendimiento de aceite esencial, se observa que con el lote de 15 libras se obtiene significativamente el mayor porcentaje de rendimiento de aceite esencial (0.96%) como se muestra en el cuadro 2 y figura 1.

El rendimiento reportado por Fenaroli's (Ref. No. 12.9), es entre 1-2.6% para la pimienta negra seca. El valor de rendimiento porcentual promedio obtenido para la pimienta negra cultivada en Guatemala a nivel planta piloto, 0.935%, es muy cercano al límite inferior

reportado por Fenaroli's(1975). Se considera que el valor bajo obtenido para el aceite esencial puede deberse a varios factores: La molienda de la materia prima se realizó en seco, utilizando un molino de martillos, procediendo posteriormente a tamizar, utilizando tamices entre un rango de No. 16-20, según Sharapin(2000), se recomienda realizar la molienda de la pimienta con el método de enfriamiento utilizando Nitrógeno líquido para evitar que el aceite esencial se pierda por la fricción provocada en el molino de martillos. Otro de los factores que puede influir es el tiempo de extracción ya que se considera que en el caso de la pimienta negra cuya forma y consistencia son bayas duras es mas difícil que el vapor arrastre las partículas de aceite.

En los resultados del análisis de cromatografía gaseosa(Cuadro 14), para la evaluación de los niveles de metabolitos secundarios contenidos en la fracción extraída de aceite esencial, se observa que los componentes detectados en todas las muestras son canfeno y mirceno. Los valores para el Canfeno están entre los valores promedios de 13.69%- 14.77% para el lote de 9 libras y el de 15 libras respectivamente.

Los valores para Mirceno están entre los valores promedios de 13.88%-9.37% para el lote de 9 libras y 15 libras respectivamente.

Los otros componentes inyectados al cromatógrafo son: Limoneno, Felandreno, Alfa-pineno, 4-Alilanol y Anetol, éstos fueron detectados en 2 ó 3 muestras del total de 9, por lo que no es posible verificar si están presentes en todas las muestras como principios activos. Para el limoneno por ejemplo, se reporta en una muestra 24.91% pero en las otras 2 muestras donde se detectó se reportan valores menores del 2%, de igual forma el Felandreno y el 4-Alilanol.

Fenarolis(1975) reporta para el aceite esencial alfa y beta pineno, beta cariofileno, l-limoneno, d-hidrocarveol, piperidina y piperina.

Farell(1985) reporta que el aceite esencial de pimienta negra es una mezcla de hidrocarburos consistente en 70-80% de monoterpenos, 20-30% de sesquiterpenos y menos del 4% de compuestos oxigenados.

Con relación a la caracterización del aceite esencial extraído en sus propiedades fisicoquímicas se tiene que:

La media de los índices de refracción (Cuadro 5) obtenida de los nueve extractos de aceite esencial fue de 1.478 a 20°C. Al revisar la bibliografía (Ref. 12.9) reporta un índice de

refracción para el aceite esencial de pimienta negra obtenido con el mismo procedimiento extractivo en rango de valores entre 1.4800 y 1.5020 a 20°C y con una apariencia similar a la que presentaron los extractos obtenidos en el proyecto, como lo son: líquido color amarillo pálido con olor característico a la especie pimienta negra (*Piper nigrum* L.).

Otra propiedad fisicoquímica evaluada al aceite esencial extraído fue la densidad (Cuadro 4), la cual en los nueve tratamientos realizados no presentó diferencia significativa, la densidad media es 0.8577 a 25°C. Fenarolis(1975), reporta una densidad en el rango de 0.860 a 0.904 g/cc a 20°C .

Con relación a los valores obtenidos para el rendimiento porcentual de oleorresina a nivel de planta piloto (Cuadros 6, 7 y 8, figuras 2, 3 y 4), se observa lo siguiente:

- a) Utilizando el solvente, S1(alcohol etílico al 95%) se tiene un rendimiento de oleorresina en el rango de 1.5819%-2.0083% y para el solvente S2 (alcohol etílico al 70%), los valores de rendimiento están en el rango de 2.3883% a 4.4869%, para un tiempo de maceración de 36 horas. El comportamiento observado con los dos solventes es que para el lote de 10 libras se obtiene el mayor rendimiento de oleorresina y disminuye para el lote de 15 libras, mientras que los valores para los tiempos de maceración estática de 48 horas y 72 horas muestran un comportamiento ascendente del porcentaje de rendimiento en función del tamaño de lote, para los dos solventes utilizados. Puede observarse que para los 3 tiempos de maceración: 36 horas, 48 horas y 72 horas los valores de porcentaje de rendimiento de oleorresina son mas altos utilizando alcohol etílico al 70% que al 95% (figura 2).
- b) Los valores de rendimiento de oleorresina en función de los tiempos de maceración estática tienen un comportamiento descendente(Figura 3), conforme aumenta el tiempo de maceración, esto es razonable tomando en cuenta que la materia prima utilizada en las tres maceraciones para un tamaño fijo de lote fue la misma y ésta se llevó a agotamiento, por lo que se esperaba que la cantidad de oleorresina extraída disminuyera al aumentar el numero de horas de maceración.

Por lo tanto, se esperaba que los mayores valores de rendimiento de oleorresina se tuvieran en el primer tiempo de maceración de 36 horas y disminuyeran para los tiempos de maceración de 48 y 72 horas (Figuras 5, 6 y 7).

- c) Al efectuar la sumatoria de los porcentajes de oleorresina obtenidos en los 3 tiempos de maceración para un lote fijo de 9 libras se tiene un valor de 3.02%, utilizando alcohol etílico al 95% y un valor de 5.87% utilizando alcohol etílico al 70%, este valor, es muy cercano al valor reportado por Farell(1985) que es de 6%. De igual manera al realizar la sumatoria de los porcentajes de rendimiento obtenidos en los 3 tiempos de maceración para un lote fijo de 10 libras se tiene un valor de 4.36%, utilizando alcohol etílico al 95% y un valor de 8.28% utilizando alcohol etílico al 70%, este último valor es superior al reportado por Farell(1985) que es de 6%. De igual forma los valores obtenidos de la sumatoria de los porcentajes de rendimiento de oleorresina para los 3 tiempos de maceración, para un lote fijo de 15 libras son 4.97% utilizando alcohol etílico al 95% y 7.33%, utilizando alcohol etílico al 70%, éste último valor es superior al reportado por Farell(1985) que es de 6%.
- d) En relación a las propiedades fisicoquímicas de la oleorresina obtenida se observa que ésta es soluble en etanol, no así en agua (Cuadro 10). Los valores de densidad de la oleorresina obtenidos en el primer tiempo de maceración de 36 horas es de un valor promedio de 0.9866 g/mL y los valores obtenidos a diferentes tamaños de lote son muy cercanos entre sí. De igual forma sucede para el tiempo de maceración de 48 horas en donde se tiene un valor promedio de 0.9947 g/mL y para el tiempo de maceración de 72 horas que se obtiene un valor promedio de densidad de 0.9618 g/mL. Farell(1985) reporta que la oleorresina de pimienta negra decolorada es un producto verde amarillo claro, semisólido y la oleorresina no decolorada es un producto de color verde oscuro semisólido, no reporta los valores de densidad de la oleorresina.
- e) En relación con el valor obtenido del principio activo Piperina, en la oleorresina de pimienta negra (*Piper nigrum* L.), análisis realizado por medio de Cromatografía líquida de alta resolución(HPLC), se observa que el valor promedio obtenido es de 54.29% (Cuadro 18), utilizando alcohol etílico al 95% y un valor promedio de 58.65% utilizando alcohol etílico al 70%. Según el análisis de varianza, aplicando la prueba de Tukey los valores obtenidos de porcentaje de piperina en la oleorresina en función del tamaño de lote y el solvente utilizado no difieren significativamente.

El porcentaje de rendimiento de piperina en la oleorresina en función del tamaño de lote se encuentra en el rango de 53.85%-59.60%(Cuadro No. 19), los 9 valores obtenidos no difieren significativamente por lo que según el análisis de varianza, aplicando la prueba de Tukey, el % de piperina en la oleorresina de pimienta negra (*Piper nigrum* L.) no difiere significativamente en relación con el tamaño de lote, tiempo de maceración y solvente utilizado. El valor promedio de porcentaje de piperina en la oleorresina para un tiempo de maceración de 36 horas fue de 59.61%, para un tiempo de maceración de 48 horas fue de 53.85% y para un tiempo de maceración de 72 horas fue de 55.98%. Estos valores son similares a los reportados por Farell(1985) que establece que la oleorresina decolorada contiene un 55% de piperina y la oleorresina no decolorada contiene entre un 53-57% de piperina. La oleorresina obtenida en el presente proyecto de investigación fue no decolorada por lo que el rango de valores obtenidos está dentro del reportado por Farell(1985), el color del producto obtenido fue verde oscuro y la consistencia semisólida.

2.8 CONCLUSIONES

1. El valor mas alto de porcentaje de rendimiento de aceite esencial de la pimienta negra cultivada en Guatemala fue de 0.96% para un lote de 15 libras, valor cercano al límite inferior que reporta la literatura que está en el rango entre 1-2.3%.
2. El valor promedio del índice de refracción del aceite esencial de pimienta negra obtenido es de 1.478 a 20°C, valor similar al que reporta la literatura que se encuentra en el rango de 1.4800 y 1.5020 a 20°C.
3. El valor promedio de la densidad del aceite esencial de pimienta negra obtenido es de 0.8577 g/mL a 25°C, valor cercano al que reporta la literatura que se encuentra en el rango de 0.860 a 0.904 g/mL a 20°C.
4. El valor mas alto de porcentaje de rendimiento total de oleorresina, efectuando la sumatoria de los rendimientos de las diferentes maceraciones para un tamaño fijo de lote fue de 6.3249%, para un lote de 10 libras, utilizando como solvente alcohol etílico al 70%. Este valor obtenido es mayor que el reportado en la literatura que es de 6%.

5. Los valores de porcentaje de rendimiento total de oleorresina obtenidos utilizando alcohol etílico al 95% son menores que los obtenidos utilizando alcohol etílico al 70%.
6. El valor medio de porcentaje de rendimiento total de oleorresina utilizando alcohol etílico al 95% es de 4.122.
7. El valor medio de porcentaje de rendimiento total de oleorresina utilizando alcohol etílico al 70% es de 7.0204, valor mayor al reportado en la literatura que es de 6%.
8. Los valores promedio obtenidos del principio activo piperina en la oleorresina de pimienta negra son de 54.29% utilizando alcohol etílico al 95% y 58.65% utilizando alcohol etílico al 70%, valores cercanos al reportado en la literatura que está en el rango de 53-57%.
9. No existe diferencia significativa en los valores obtenidos de porcentaje de piperina en la oleorresina en función del tamaño de lote , tiempo de maceración y solvente utilizado.

2.9 RECOMENDACIONES

1. Para la extracción de aceite esencial de pimienta negra, implementar la metodología de molienda en frío para evitar la pérdida del mismo por la fricción ocasionada en el molino de martillos.
2. Evaluar la influencia del tiempo de extracción en el rendimiento del aceite esencial de pimienta en la planta piloto, ya que esta materia prima es de consistencia dura por lo que se tiene dificultad para que el vapor penetre a la misma y arrastre el aceite esencial.
3. Evaluar la calidad de oleorresina de pimienta negra obtenida sin extraerle a la materia prima el aceite esencial.
4. Realizar un estudio de Comparación del aceite esencial y oleorresina de pimienta negra cultivada en Guatemala, con materia prima proveniente de diferentes niveles altitudinales y con condiciones diferentes de manejo pre y post cosecha.
5. Comparar el rendimiento y la calidad del aceite esencial y oleorresina de pimienta negra cultivada en Guatemala con la que existe actualmente en el mercado proveniente de otros países.
6. Divulgar los resultados obtenidos de la investigación y propiciar un acercamiento con agroindustriales dedicados a las extracciones vegetales, así como con los agricultores para promover el cultivo de la pimienta negra que representa una alternativa de producto agrícola altamente cotizado tanto en forma bruta como procesado.
7. Propiciar un proyecto conjunto con otras Facultades de la Universidad de San Carlos, Instituciones Gubernamentales y no Gubernamentales con el fin de promover el cultivo y procesamiento de la pimienta negra con el consiguiente beneficio para varios sectores .

12. BIBLIOGRAFÍA

1. **ARTECHE G., A.** 1998. **FITOTERAPIA, Vademecum de Prescripción. Plantas Medicinales** , Editorial MASSON, S.A., Primera Edición.
2. **AUSTIN, G. T.** 1980. **MANUAL DE PROCESOS QUÍMICOS EN LA INDUSTRIA.** Quinta Edición; Editorial McGraw Hill, Volumen II.
3. **BENAVIDES, R.** 1998. **TÉCNICAS CROMATOGRAFICAS DE SEPARACIÓN.** Memoria del Curso Propedéutico de Técnicas de Extracción de Aceites Esenciales y Manejo de la Planta Piloto de Extracción- Destilación. CII/USAC-CONCYT.
4. **BROWN, G. G.** **OPERACIONES BASICAS DE LA INGENIERIA QUÍMICA.** Primera edición. Editorial Marin, S.A.
5. **CÁCERES, A.** 1996. **PLANTAS DE USO MEDICINAL EN GUATEMALA.** Editorial Universitaria / USAC.
6. **DAY, R.A.** 1990. **COMO ESCRIBIR Y PUBLICAR TRABAJOS CIENTÍFICOS.** Publicación científica 526 Organización Panamericana de la Salud.
7. **DOMINGUEZ, X.A.** 1973. **METODOS DE INVESTIGACIÓN FITOQUIMICA,** Editado por Centro Regional de Ayuda Técnica, Primera Edición.
8. **FARELL, K.T.** 1985. **SPICES, CONDIMENTS AND SESONINGS,** The AVI Publishing Co., Inc, First Edition.
9. **FURIA, T. E. & BELLANCA, N.** 1975. **FENAROLI'S HANDBOOK OF FLAVOR INGREDIENTS.** Second Edition, Volumen I; Published by CRC PRESS, Inc. Ohio, USA.
10. **GUENTHER, E. A.** 1956 **THE ESSENTIAL OILS.** Editorial D. van Nostrand Co. Inc.; New York, USA.
11. **HUSAIN, A. et al.** 1988. **MAJOR ESSENTIAL OIL-BEARING PLANTS OF INDIA;** Institute of Medicinal and Aromatic Plants, India.
12. **JAMIENSON, G.** 1943. **VEGETABLE FATS AND OILS.** second Edition; American Chemical Society; Reinhold Publishing Corporation; New York, USA.
13. **NOLLER, C. R.** 1968. **QUÍMICA ORGANICA,** Editorial Interamericana, S.A., Tercera Edición, México.
14. **ORTIZ, H. S.** 1959. **LA PRODUCCION DE ACEITES SENCIALES EN GUATEMALA Y SUS POSIBILIDADES DE ENSANCHAMIENTO.** Tesis de Ingeniero Agrónomo; Fac. de Agronomía, USAC.

- 15. PAVIA, F. 1995. EL MUNDO DE LOS PERFUMES; Editorial Ultramar Editores, S.A. primera edición, Barcelona, España.**
- 16. SHARAPIN, N. 2000. FUNDAMENTOS DE TECNOLOGÍA DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS, Convenio Andrés Bello 2000, RIPROFITO,CYTED, Primera Edición. Colombia.**
- 17. TALLY, W. 1999. MEMORIAS, Seminario Mesoamericano Metabolitos de Interes Nutricional en Plantas Comestibles de la Región, Editado por USAC/MENUPLAN, Guatemala.**
- 18. WAGNER, H., BLANDT, S. 1984. PLANT DRUG ANALYSIS. Primera edición. Springer-Verlag; Berlin, Alemania.**