

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA
FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS



**“OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE
MANZANILLA (*Matricaria recutita* L.) MEDIANTE MICROONDAS Y
ARRASTRE CON VAPOR”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO EN
INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

CLAUDIA FERNANDA PACHECO FERRER

Lima- Perú

2021

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA
FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**“OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE
MANZANILLA (*Matricaria recutita* L.) MEDIANTE MICROONDAS Y ARRASTRE
CON VAPOR”**

Presentado por:

CLAUDIA FERNANDA PACHECO FERRER

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS**

Sustentado y aprobado ante el siguiente jurado:

**Dr. Edwin Baldeón Chamorro
PRESIDENTE**

**Dr. Eduardo Morales Soriano
MIEMBRO**

**Mg.Sc. Diana Nolzco Cama
MIEMBRO**

**Dr. Luis Vargas Delgado
ASESOR**

**Mg.Sc. Beatriz Hatta Sakoda
CO-ASESOR**

Lima- Perú

2021

DEDICATORIA

A mi papá, por su amor y apoyo incondicional.

A mi mamá, que aunque no esté conmigo físicamente siempre está en mis pensamientos y corazón

AGRADECIMIENTOS

- Al equipo del CITEalimmenta, especialmente al Dr. Esteban Herrera y a Amanda Córdova por las enseñanzas y apoyo a lo largo de la realización de la tesis
- A la Ing. Liz Ávila, por su apoyo en el laboratorio de biotecnología de alimentos de la UNALM
- A mis asesores , PhD Fernando Vargas y Mg.Sc Beatriz Hatta
- A mis amigos de la facultad, especialmente a mi promoción ISO 12-2 y Mermelachix
- A mis amigos de toda la vida: Sandra, Thais y Víctor
- A mi familia, que siempre ha estado para mí.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN

ABSTRACT

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| I. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| II. REVISIÓN DE LITERATURA..... | 4 |
| 2.1. ANTECEDENTES..... | 4 |
| 2.2. MANZANILLA..... | 6 |
| 2.2.1. CLASIFICACIÓN BOTÁNICA..... | 6 |
| 2.2.2. MANZANILLA COMÚN (<i>MATRICARIA RECUTITA</i> L.)..... | 7 |
| 2.3. ACEITES ESENCIALES..... | 8 |
| 2.4. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES..... | 9 |
| 2.4.1. DESTILACIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR..... | 10 |
| 2.4.2. EXTRACCIÓN POR MICROONDAS..... | 12 |
| 2.5. CARACTERIZACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES..... | 17 |
| 2.5.1. DENSIDAD RELATIVA..... | 17 |
| 2.5.2. ÍNDICE DE REFRACCIÓN..... | 17 |
| 2.5.3. SOLUBILIDAD EN ETANOL..... | 18 |
| 2.5.4. ÍNDICE DE ACIDEZ..... | 19 |
| 2.6. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS ACEITES ESENCIALES..... | 19 |
| 2.6.1. TERPENOS..... | 20 |
| 2.6.2. COMPUESTOS AROMÁTICOS..... | 24 |
| 2.7. PRINCIPALES COMPONENTES DEL ACEITE ESENCIAL DE MANZANILLA (<i>MATRICARIA RECUTITA</i> L.)..... | 25 |
| 2.7.1. CHAMAZULENO..... | 25 |
| 2.7.2. BISABOLOL..... | 26 |
| 2.7.3. OTROS TERPENOS..... | 28 |
| 2.7.4. FLAVONOIDES..... | 29 |
| 2.8. TÉCNICAS DE ANÁLISIS..... | 29 |
| 2.8.1. CROMATOGRAFÍA DE GASES..... | 30 |
| 2.8.2. CROMATOGRAFÍA DE GASES- ESPECTROMETRÍA DE MASAS..... | 31 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| III. METODOLOGÍA..... | 33 |
| 3.1. LUGAR Y DURACIÓN DEL ESTUDIO..... | 33 |
| 3.2. MATERIA PRIMA..... | 33 |
| 3.3. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS..... | 34 |
| 3.4. MÉTODOS DE ANÁLISIS..... | 35 |
| 3.5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL..... | 35 |
| 3.5.1. OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL..... | 35 |
| 3.5.2. DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO..... | 37 |
| 3.5.3. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL..... | 37 |
| 3.5.4. ANÁLISIS E IDENTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS DEL ACEITE ESENCIAL DE MANZANILLA..... | 39 |
| 3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO..... | 40 |
| 3.7. DISEÑO EXPERIMENTAL..... | 41 |
| IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 43 |
| 4.1. EFECTO DE LOS FACTORES DE POTENCIA DE RADIACIÓN Y TIEMPO DEL PROCESO EN EL RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN POR EL MÉTODO DE MICROONDAS LIBRE DE SOLVENTE..... | 43 |
| 4.2. RENDIMIENTO DEL ACEITE ESENCIAL DE MANZANILLA OBTENIDO POR LOS MÉTODOS DE MICROONDAS LIBRE DE SOLVENTE Y DESTILACIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR..... | 50 |
| 4.3. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE MANZANILLA..... | 53 |
| 4.4. IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS DEL ACEITE ESENCIAL DE MANZANILLA..... | 56 |
| V. CONCLUSIONES..... | 61 |
| VI. RECOMENDACIONES..... | 62 |
| VII. BIBLIOGRAFÍA..... | 63 |
| VIII. ANEXOS..... | 83 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla 1: Relación densidad vs índice de refracción en aceites esenciales..... | 18 |
| Tabla 2: Efecto del poder de radiación de microondas y tiempo en el rendimiento de extracción del aceite esencial de manzanilla..... | 43 |
| Tabla 3: Rendimientos de extracción en porcentaje (vol./p) de los métodos de arrastre con vapor y microondas libre de solvente..... | 50 |
| Tabla 4: Características fisicoquímicas del aceite esencial de manzanilla (<i>Matricaria recutita</i> L.) extraído por microondas libre de solvente y destilación por arrastre con vapor..... | 53 |
| Tabla 5: Principales componentes presentes en el aceite esencial de manzanilla obtenido mediante arrastre con vapor y microondas libre de solvente..... | 57 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1: Manzanilla común o <i>Matricaria recutita</i> L..... | 8 |
| Figura 2: Equipo de destilación mediante arrastre con vapor..... | 10 |
| Figura 3: Equipo de extracción por microondas sin solvente..... | 14 |
| Figura 4: Mecanismo de extracción por microondas sin solvente..... | 15 |
| Figura 5: Biosíntesis de terpenos..... | 22 |
| Figura 6: Ruta de síntesis de fenilpropanoides..... | 25 |
| Figura 7: Estructura química del chamazuleno..... | 26 |
| Figura 8: Estructura química del bisaboleno..... | 27 |
| Figura 9: Productos de oxidación del $-\alpha$ -bisabolol..... | 27 |
| Figura 10: Monoterpenos en las flores de manzanilla..... | 28 |
| Figura 11: Diagrama de bloques de un cromatógrafo de gases típico..... | 31 |
| Figura 12: Flujograma para la obtención de aceite esencial de manzanilla (<i>Matricaria recutita</i> L.)..... | 35 |
| Figura 13: Esquema experimental para obtener aceite esencial de manzanilla (<i>Matricaria recutita</i> L.)..... | 42 |
| Figura 14: Efecto de la potencia de radiación sobre el rendimiento de extracción en el método microondas libre de solvente..... | 44 |
| Figura 15: Interacción del tiempo de extracción x potencia de radiación, con intervalos Tukey sobrepuestos..... | 46 |
| Figura 16: Efecto del tiempo del proceso sobre el rendimiento de extracción en el método microondas libre de solvente..... | 47 |
| Figura 17: Interacción de la potencia de radiación x tiempo de extracción, con intervalos Tukey sobrepuestos..... | 49 |
| Figura 18: Rendimiento de extracción de aceite esencial para los métodos de microondas libre de solvente y destilación por arrastre con vapor..... | 52 |
| Figura 19: Porcentaje de los principales componentes del aceite esencial de manzanilla extraído por destilación por arrastre con vapor y microondas libre de solvente..... | 58 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ANEXO 1: CAMPO DE MANZANILLA (<i>MATRICARIA RECUTITA</i> L.) EN INCAHUASI (FERREÑAFE- LAMBAYEQUE)..... | 83 |
| ANEXO 2: MANZANILLA (<i>MATRICARIA RECUTITA</i> L.) UTILIZADA EN EL PRESENTE ESTUDIO..... | 84 |
| ANEXO 3: CONSTANCIA DE IDENTIFICACIÓN DE LA ESPECIA EN ESTUDIO..... | 85 |
| ANEXO 4: EQUIPO DE EXTRACCIÓN POR MICROONDAS LIBRE DE SOLVENTE..... | 86 |
| ANEXO 5: EQUIPO DE DESTILACIÓN MEDIANTE ARRASTRE CON VAPOR..... | 87 |
| ANEXO 6: ALMACENAMIENTO DEL ACEITE ESENCIAL DE MANZANILLA (<i>MATRICARIA RECUTITA</i> L.)..... | 87 |
| ANEXO 7: DATOS DE LOS RENDIMIENTOS DEL ACEITE ESENCIAL DE MANZANILLA EXTRAÍDO POR MICROONDAS LIBRE DE SOLVENTE..... | 88 |
| ANEXO 8: DATOS DE LOS TRES MÁS ALTOS RENDIMIENTOS DEL ACEITE ESENCIAL DE MANZANILLA EXTRAÍDO POR MICROONDAS LIBRE DE SOLVENTE..... | 88 |
| ANEXO 9: ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EL RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN MEDIANTE EL MÉTODO DE MICROONDAS LIBRE DE SOLVENTE..... | 89 |
| ANEXO 10: PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS PARA RENDIMIENTO (%) POR POTENCIA (W) PARA EL MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE MICROONDAS LIBRE DE SOLVENTE..... | 89 |
| ANEXO 11: PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS PARA RENDIMIENTO (%) POR TIEMPO (MIN), PARA EL MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE MICROONDAS LIBRE DE SOLVENTE..... | 90 |
| ANEXO 12: DATOS DE LOS RENDIMIENTOS DEL ACEITE ESENCIAL DE MANZANILLA EXTRAÍDO POR DESTILACIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR A NIVEL LABORATORIO..... | 90 |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ANEXO 13: PRUEBA DE COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LOS RENDIMIENTOS DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN..... | 91 |
| ANEXO 14: COMPONENTES QUÍMICOS DEL ACEITE ESENCIAL DE MANZANILLA EXTRAÍDO POR MICROONDAS LIBRE DE SOLVENTE..... | 92 |
| ANEXO 15: COMPONENTES QUÍMICOS DEL ACEITE ESENCIAL DE MANZANILLA EXTRAÍDO POR DESTILACIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR A NIVEL LABORATORIO..... | 93 |
| ANEXO 16: CROMATOGRAMA DE CG-MS MUESTRA DE ACEITE ESENCIAL DE MANZANILLA EXTRAÍDO POR MICROONDAS LIBRE DE SOLVENTE..... | 94 |
| ANEXO 17: CROMATOGRAMA DE CG-MS MUESTRA DE ACEITE ESENCIAL DE MANZANILLA EXTRAÍDO POR DESTILACIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR A NIVEL LABORATORIO..... | 95 |

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo obtener aceite esencial a partir de las flores de manzanilla (*Matricaria recutita* L.) utilizando dos métodos de extracción: microondas libre de solvente y destilación por arrastre con vapor a nivel laboratorio, estos se compararon mediante rendimiento, características fisicoquímicas y composición. Para conseguir aceite esencial de manzanilla por el método no convencional se combinaron 3 niveles del factor potencia de radiación (1000 watts, 1200 watts y 1400 watts) con 3 niveles del factor tiempo (20 min, 40 min y 60 min), con el objetivo de obtener el tratamiento que logre el mayor contenido de aceite esencial. Los datos se sometieron a un ANOVA bajo un Diseño Completamente al Azar con arreglo factorial 3^2 . El tratamiento que presentó mayor rendimiento de extracción fue el de 1200 watts con 60 minutos, ya que tuvo 0.081 por ciento, este valor fue superior significativamente en comparación a 0.032 por ciento de rendimiento por el método de arrastre con vapor. Asimismo, se caracterizó al aceite esencial de manzanilla de ambos métodos. El obtenido por microondas libre de solvente presentó una coloración azul, una densidad relativa de 0.929 g/ml, 1.5013 de índice de refracción, solubilidad en etanol al 70 por ciento (v/v) de 4 e índice de acidez de 6.2333; y el obtenido por destilación por arrastre con vapor tuvo coloración azul, una densidad relativa de 0.925 g/ml, 1.4790 de índice de refracción, solubilidad en etanol al 70 por ciento (v/v) de 4 e índice de acidez 3.4284. Respecto a los componentes químicos mayoritarios, el obtenido por microondas libre de solvente presentó α -bisabolol (20.6 %), β -cariofileno (13.18 %), óxido B α -bisabolol (12.18 %) y β -elemeno (5.89 %); mientras que el método convencional α -bisabolol (24.72%), β -cariofileno (17.47 %), óxido B α -bisabolol (10.88 %) y germacreno-D (5.49 %).

Palabras clave: aceite esencial de Manzanilla, microondas libre de solvente, arrastre por vapor, α -bisabolol, β -cariofileno

ABSTRACT

The purpose of this research was to obtain essential oil from chamomile flowers (*Matricaria recutita* L.) using two methods of extraction: microwave solvent-free and steam distillation at laboratory conditions, their yield, physico-chemical and composition was compared. To achieve chamomile essential oil by microwave solvent-free method, three levels of irradiation power were combined (1000 watts, 1200 watts and 1400 watts) with three levels of time (20 min, 40 min and 60 min), with the aim of obtaining the treatment that yields highest concentration of essential oil. Data was submitted to an ANOVA in a Complete Random Design with factorial arrange 3^2 . The treatment that presented the best yield of extraction was with 1200 watts and 60 minutes, yielding 0.081 per cent, this value was significantly higher compared to 0.032 per cent yielded by steam distillation method. Also, essential oil extracted through both methods was characterized. Essential oil obtained by microwave solvent-free method presented blue coloration, a relative density of 0.929 g/ml, a refraction index of 1.5013, solubility in ethanol at 70 per cent (v/v) of 4 and acidity index of 6.2333; meanwhile, the oil obtained by steam distillation was blue colored, had a relative density of 0.925 g/ml, refraction index of 1.4790, solubility in ethanol at 70 per cent (v/v) of 4 and acidity index of 3.4284. Regarding the major chemical components, the one obtained by solvent-free microwaves presented α -bisabolol (20.6%), β -caryophyllene (13.18%), B-oxide α -bisabolol (12.18%) and β -elemene (5.89%); while the conventional method α -bisabolol (24.72%), β -caryophyllene (17.47%), B- α -bisabolol oxide (10.88%) and germacrene-D (5.49%).

Key words: Chamomile essential oil, solvent-free microwave, steam distillation, α -bisabolol, β -caryophyllene

I. INTRODUCCIÓN

Los productos naturales vienen siendo utilizados con mayor frecuencia en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica durante los últimos años debido al incremento de su demanda por parte de los consumidores, los cuales están tomando mayor conciencia acerca de la importancia de sus propiedades y beneficios.

MINAM (2012) menciona que el Perú es uno de los países con mayor diversidad genética de plantas medicinales y aromáticas; ellas son de gran importancia para la salud de la población, ya que se le atribuyen propiedades analgésicas, antirreumáticas, antiinflamatorias y carminativas. A pesar de sus beneficios, todavía no existen numerosos estudios de su incorporación en la agroindustria.

La manzanilla (*Matricaria recutita* L.) es una planta herbácea medicinal nativa de Europa y del norte y oeste de Asia. Es cultivada especialmente en Hungría, España, Egipto, Turquía y Sudamérica (Cano *et al.* 2002). En el Perú no hay información suficiente de alguna entidad gubernamental respecto a sus hectáreas sembradas, producción o rendimiento, pese a ser una planta con propiedades tales como antiinflamatoria, fungicida, bactericida, etc. Sin embargo, sí hay ciertos datos en las agencias agrarias en provincias y empresas públicas/ privadas tales como la Agencia Agraria de Tarma y Sierra Exportadora; gracias a ello Aliaga y Acevedo (2017) pudieron estimar la producción de la manzanilla, que asciende a más de 8000 toneladas por año, cuyas principales regiones productoras son Lambayeque, Apurímac y Junín.

Se conoce que los aceites esenciales son líquidos oleosos y aromáticos que presentan actividad antioxidante, gracias a sus componentes capaces de reaccionar con los radicales peroxilo, capacidad antifúngica, antibacteriana, etc. Por todo lo expuesto, los aceites esenciales son incorporados en los alimentos principalmente como conservantes naturales.

El mercado internacional de aceites esenciales según INDEC (2016), supera los 1.300 millones de dólares anuales, siendo Estados Unidos, Francia, Alemania y China los principales países consumidores. La tendencia de este comercio se rige en la búsqueda de nuevas materias primas aromáticas para su transformación en aceites y concentrados. Este comportamiento refleja una gran oportunidad de negocio nacional e internacional para el Perú, debido a su amplia variedad floral, teniendo siempre en consideración un uso y manejo sostenible de las plantas medicinales. De este modo, la manzanilla (*Matricaria recutita* L.) cultivada en el Perú, representa una materia prima con propiedades beneficiosas para ser transformada en aceite esencial y destinada hacia industrias de bebidas, lácteas y sabores.

El aceite esencial de manzanilla se utiliza con relativa frecuencia en la industria alimentaria, como conservante, saborizante, colorante, etc. (Raal *et al.* 2003). Alvarado (2007) y Cano *et al.* (2002) informaron sobre el rendimiento de este aceite extraído mediante el método de arrastre con vapor a nivel laboratorio; mientras que González (2012), Schulz *et al.* (2003) y Reverchon y Senatore (1994) realizaron su caracterización y análisis respectivamente. Aun así, hasta el momento ha sido el objeto de un reducido número de investigaciones en el Perú en relación a nuevas tecnologías de extracción, como microondas libre de solventes, y caracterización fisicoquímica. Esto puede deberse a la falta de información acerca de nuevas técnicas de extracción de aceites esenciales que permitan obtener mejores resultados en cuanto a rendimiento y características, así como también a una débil y reciente organización gremial entre productores de manzanilla.

La destilación es el método más usado para extraer aceites esenciales, no obstante, presenta una serie de inconvenientes, tales como la formación de componentes indeseables debido a una larga exposición con agua hirviendo, bajos rendimientos de extracción y consumos del 70 % de la energía total del proceso utilizado, tal como lo mencionan Farhat *et al.* (2011). Estas deficiencias han llevado a la consideración de nuevas técnicas de extracción, como es el caso del método asistido por microondas, el cual ofrece varias ventajas que han sido descritas por Cravotto *et al.* (2008), entre las cuales destacan la reducción considerable del tiempo y del consumo de energía, tamaño reducido del equipo y aumento del rendimiento del extracto. Naranjo y Chávez (2015) realizaron un análisis comparativo entre el método de extracción asistido por microondas y el de destilación por arrastre con vapor para obtener

aceites esenciales de eucalipto y pino chaquiro, logrando mejores resultados de rendimiento mediante la primera técnica; de igual manera sucedió con el aceite esencial de lavandin investigado por Périno-Issartier *et al.* (2013).

Con base a lo anterior, la presente investigación fue necesaria para corroborar la eficiencia del método por microondas sin solvente frente a la destilación por arrastre con vapor a nivel laboratorio, usando como materia prima a la manzanilla (*Matricaria recutita* L.) y de este modo lograr beneficiar a los agricultores de dicha planta, como también a entidades tales como Sierra Exportadora, FB Agrobusiness, El Consorcio Muchick, entre otras; y por último a las diversas empresas dedicadas a la extracción de aceites esenciales en el Perú.

En este contexto, la presente tesis tuvo como objetivo principal la obtención de aceite esencial de manzanilla (*Matricaria recutita* L.) utilizando dos métodos de extracción: microondas sin solvente y arrastre con vapor a nivel laboratorio.

Los objetivos específicos fueron:

- Determinar la mejor combinación de niveles de los factores de potencia de radiación y tiempo de extracción, que obtenga el mayor rendimiento del aceite esencial de Manzanilla (*Matricaria recutita* L.) extraído por microondas libre de solvente.
- Comparar el método de extracción por microondas libre de solvente con el de arrastre con vapor a nivel laboratorio en cuanto al rendimiento de extracción del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria recutita* L.)
- Comparar el método de extracción por microondas libre de solvente con el de arrastre con vapor a nivel laboratorio en cuanto a las características fisicoquímicas (índice de refracción, densidad relativa, solubilidad en etanol al 70 por ciento, índice de acidez) del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria recutita* L.) obtenido.
- Comparar el método de extracción por microondas libre de solvente con el de arrastre con vapor a nivel laboratorio en cuanto a los componentes químicos mayoritarios presentes en el aceite esencial de manzanilla (*Matricaria recutita* L.) obtenido

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES

En Guatemala se han hecho diferentes investigaciones acerca de plantas medicinales y sus aceites esenciales. Entre los estudios realizados para la obtención de aceite esencial de manzanilla destacan los efectuados en la Universidad de San Carlos de Guatemala. Cano *et al* (2002) realizaron un estudio con el objetivo de obtener y caracterizar aceite esencial de 4 plantas medicinales cultivadas a diferentes niveles altitudinales de Guatemala. Una de dichas plantas fue la manzanilla (*Matricaria recutita* L.), los autores concluyeron que no se observó una tendencia específica del rendimiento de aceite esencial de manzanilla con relación a la altitud donde se cultivó la planta. En cuanto a sus componentes, se determinó que el bisabolol aumentaba con el incremento de altitud del terreno en el cual se cultivaba la manzanilla.

El trabajo de investigación anterior, sirvió como base para que Alvarado (2007) realice su estudio en la determinación del rendimiento del aceite esencial de las flores de manzanilla (*Matricaria recutita* L.) en función de la altura sobre el nivel del mar que está cultivada, aplicando el método de extracción por arrastre con vapor a nivel laboratorio. En este trabajo se estudió la influencia de la altitud en el rendimiento de extracción del aceite esencial de manzanilla, para ello, compararon los rendimientos del aceite esencial de manzanilla cultivada en 4 regiones de diferentes niveles altitudinales de Guatemala; asimismo caracterizaron el aceite por medio de cromatografía gaseosa. Alvarado (2007), concluyó que la ubicación altitudinal del terreno en el cual es cultivada la manzanilla no influye significativamente en el rendimiento de su aceite esencial extraído mediante arrastre con vapor; por otro lado, acetato de terpinilo y β -cariofileno fueron los compuestos más representativos en las muestras de aceite esencial de manzanilla.

Por otro lado, existen diversos artículos científicos a nivel mundial acerca del contenido y composición del aceite esencial de manzanilla. Raal *et al* (2003) estudiaron las variaciones

en la composición de aceites esenciales de manzanilla (*Matricaria recutita* L.) cultivadas en distintos países de Europa; concluyendo que existen diferencias cuantitativas evidentes entre los compuestos activos del aceite esencial y su lugar de procedencia. Dichos autores realizaron una investigación similar en el 2010, donde obtuvieron las mismas conclusiones acerca de la composición del aceite esencial de manzanilla.

De otro lado, Rahmati et al (2011), Jamalian et al (2012), Stanojevic et al (2016), estudiaron sobre la composición del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria recutita* L.); mientras Bucko et al (2007) y Gawde et al (2014) sobre el contenido, donde estos últimos investigaron el efecto del tiempo de extracción por arrastre con vapor sobre el rendimiento y composición del aceite esencial de manzanilla, revelando que el tiempo de destilación es un determinante crucial.

Cabe mencionar que en todos los trabajos de investigación mencionados, usaron como método de extracción al arrastre con vapor. Por otra parte, existen diversas publicaciones científicas donde emplean el método por microondas libre de solventes para extraer aceites esenciales; así estudios de Lucchesi et al (2004), Filly et al (2014), Khalili et al (2018), Farhat et al (2017) analizaron diferentes plantas aromáticas tales como, albahaca, menta, romero, toronjil y tomillo; sin embargo ninguno de ellos emplearon a la manzanilla como materia prima.

Saied et al (2016) emplearon un método de extracción para el aceite esencial de manzanilla proveniente de Irán similar al de microondas libre de solventes, el cual consistió en un método convencional como la hidrodestilación asistido por un microondas común. Los autores concluyeron que dicho método alcanzó mayores rendimientos en comparación al arrastre con vapor a nivel laboratorio.

En el Perú, los trabajos de investigación con relación a los aceites esenciales son escasos. Así, se ha logrado extraer aceite esencial de lanche, eucalipto, muña, cítricos, chincho por Fontenla (2006), Quilca (2011), Quinte (2015), Saldaña (2015) y Segovia (2010), respectivamente. Los métodos de extracción empleados en dichos estudios se centraron en la hidrodestilación y arrastre con vapor. A nivel nacional, no hay estudios referidos a la extracción de aceite esencial de manzanilla (*Matricaria recutita* L.), ni al uso del método de

extracción por microondas libre de solventes, siendo la presente investigación la primera en desarrollar

2.2. MANZANILLA

La manzanilla o camomila es un nombre genérico empleado para denominar diferentes especies botánicas de la familia de las compuestas (*Compositae* o *Asteraceae*). La mayoría de las plantas de esta familia crecen como hierbas, arbustos, rara vez como árboles, y se distinguen por sus flores reunidas en cabezuelas sobre un receptáculo común (Sukhwani, 1995, Pardo y Morales, 2006).

Según Páez (1943), citado por Aliaga y Acevedo (2017), la manzanilla se originó en regiones de clima templado de Europa, el norte de Asia, Medio Oriente y en Asia Menor; al Perú fue traída por los conquistadores españoles a mitad del siglo XVII y se la incorporó a la herbolaria indígena precedida por una lista de estimadas propiedades curativas. En la actualidad se la cultiva principalmente en Europa, en el norte de África, oeste de Asia y Sudamérica (Escobar, 2008; Muñoz, 1993).

2.2.1. CLASIFICACIÓN BOTÁNICA

La clasificación botánica y nomenclatura de la manzanilla fue descrita inicialmente por Hipócrates (460-337 a.c) y Dioscórides (primer siglo d.c), donde mencionaron solo tres especies de dicha planta; luego, en 1753, el botánico sueco Carlos Linneo clasificó a la manzanilla en cinco especies pertenecientes al género *Matricaria* L; sin embargo, cometió errores en la nomenclatura, que trajo consigo numerosas controversias por más de 2 siglos.

Posterior a ello, varios botánicos, tales como Grierson, Dandy, Pobedimova, Greuter, y Rauschert, sostuvieron diversos argumentos para establecer la nomenclatura correcta de la manzanilla (Xifreda, 1985; Franke, 2005).

Actualmente, se conoce que la familia de las compuestas (*Compositae* o *Asteraceae*) es conformada por un gran número de especies de manzanilla, las cuales forman parte de diferentes géneros, como *Anthemis*, *Matricaria* y *Chamaemelum*, siendo estos tres los que se cultivan en mayor cantidad (Pardo y Morales, 2006; Franke, 2005).

Según Aliaga y Acevedo (2017), la especie más utilizada en el Perú es la *Matricaria recutita*, también llamada manzanilla común o alemana.; sin embargo, ésta es confundida con la manzanilla romana o *Chamaemelum nobile*, ya que dichas especies demuestran una notoria semejanza morfológica externa; por lo que diversos autores mencionan un peligro de adulteración, inclusive Amat (1982) y Ladero *et al* (1985), sostienen que con frecuencia la manzanilla alemana es mezclada con flores de la especie romana.

2.2.2. MANZANILLA COMÚN (*MATRICARIA RECUTITA* L.)

Según la International Compositae Alliance (TICA) a través de Smithsonian Institution y en colaboración con el Centro Nacional de Datos de Plantas del USDA (2019):

Nombre científico: *M. chamomilla*, *M. recutita*

Familia: *Asteraceae* (*Compositae*)

Género: *Matricaria*

Especie: *Matricaria recutita* L.

Sinónimo: *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert

Nombres comunes: manzanilla alemana, manzanilla común, manzanilla azul

La manzanilla es una planta herbácea anual con raíces delgadas en forma de huso que solo penetran de manera plana en el suelo. Crece hasta 50 cm de altura y tiene hojas sésiles y alternas. Presenta inflorescencias en capítulos, los cuales están apoyados por pedúnculos grandes, con un receptáculo cónico y hueco (característica distintiva del género *Matricaria*). La planta de manzanilla tiene un receptáculo donde se disponen las flores centrales hermafroditas, actinomorfas, de color amarillo, forma tubular; y flores femeninas, zigomorfas, blancas y liguladas que rodean a la anterior (Pardo y Morales, 2006; Bruneton, 2001, citado por Gonzalez, 2016; Murti *et al*, 2012; Singh *et al*, 2011; Pereira, 2008). En la Figura 1, se muestra la manzanilla común o *Matricaria recutita* L.

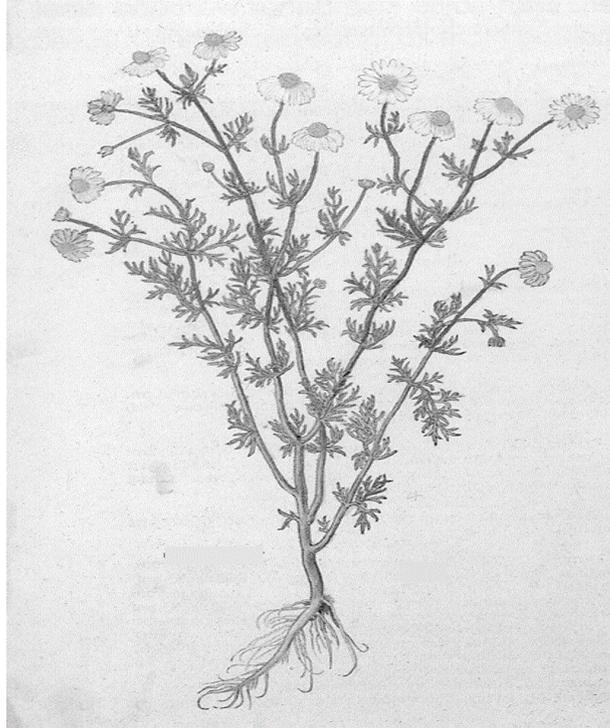


Figura 1: Manzanilla común o *Matricaria recutita* L.

FUENTE: Kohler1 (1987), citado por Franke (2005)

2.3. ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales son sustancias complejas volátiles, generalmente odoríferas y líquidas, procedentes del metabolismo secundario de plantas aromáticas. El término esencial deriva de la palabra “esencia”, lo cual significa que se puede oler o degustar (Simoes & Spitzer, 2004; Millezi *et al.*, 2014; Bakkali *et al.*, 2008; Polin *et al.*, 2014; Burt, 2004). Es por ello que la Farmacopea Europea, los definen como un producto oloroso, de composición compleja y obtenido de una materia prima vegetal, ya sea por conducción de vapor de agua, destilación en seco o por una mecánica adecuada (Asbahani *et al.*, 2015).

Debido a su naturaleza hidrofóbica y su densidad a menudo más baja que la del agua, generalmente, los aceites esenciales son lipófilos, solubles en solventes orgánicos, e inmiscibles en agua. Cabe mencionar, que los aceites esenciales, comúnmente se separan de la fase acuosa por un método físico que no conduce a un cambio significativo en su composición química (Asbahani *et al.*, 2015)

La concentración y tipo de aceite esencial varía por especie y parte utilizada (hojas, flores, frutos, semillas, raíces, rizomas, cortezas) de la planta. Es así que Svoboda y Greenaway (2003), citados por Asbahani *et al* (2015), sostienen que los aceites esenciales son biosintetizados y acumulados en estructuras histológicas especializadas de la planta, llamadas glándulas secretoras.

Shaaban *et al* (2011) y Sonwa (2000) mencionan que, además de la materia prima, el rendimiento de aceite esencial dependerá de la región geográfica y prácticas agronómicas.

Los aceites esenciales son materias primas o insumos, y pueden formar parte de las industrias de fragancias, aromas y sabores, medicina complementaria y con otras actividades químicas. Se estima que se conocen 3000 aceites esenciales, de los cuales alrededor de 300 son comercialmente destinados a los principales mercados de la industria alimentaria, ya que actúan como aditivos naturales por ser agentes antimicrobianos, antifúngicos y antioxidantes (Tongnuanchan y Benjakul, 2014; Flores, 2010; Burt, 2004).

2.4. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES

La elección del método depende de la cantidad o características del aceite (volatilidad, punto de ebullición de los componentes, etc.), como de la planta o su parte de la cual se va a extraer el aceite esencial (Díaz *et al.*, 2007).

El método de extracción más usado es el método de destilación, durante este proceso los materiales vegetales se exponen a agua hirviendo o vapor para liberar el aceite esencial dentro de ellos por evaporación. Aunque la extracción por destilación parece ser un proceso directo, tiene muchos inconvenientes, ya que, debido a que los aceites esenciales se exponen a agua hirviendo durante largos periodos de tiempo, la formación de otros compuestos es un posible problema debido a la alta temperatura o la acidez del agua; esto puede conducir a diferencias en la composición de los aceites volátiles que se extraen (Stratakos y Koidis, 2016; Crupi y Rispoli, 2002). Las tecnologías de extracción mencionadas tienen considerables cuellos de botella tecnológicos y científicos que superar y, a menudo requieren más del 70 % de la energía total del proceso utilizado.

Estas deficiencias han llevado a la consideración del uso de una nueva técnica “verde” en la extracción de aceites esenciales, que normalmente utiliza menos solventes y energía; como fluidos supercríticos, ultrasonidos y microondas (Farhat *et al.*, 2011; Ferhat *et al.*, 2007).

2.4.1. DESTILACIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR

Según Armijo *et al.* (2012) la destilación por arrastre con vapor se basa en vaporizar dos líquidos inmiscibles a temperaturas inferiores a las de ebullición de cada uno de los componentes volátiles por efecto de una corriente directa de vapor de agua. A su vez, Peredo *et al.* (2009) mencionan que en la destilación por arrastre con vapor se lleva a cabo la vaporización selectiva del componente volátil de una mezcla formada por este y otros “no volátiles”. Lo anterior se logra por medio de la inyección de vapor de agua directamente en el seno de la mezcla, cuya función es condensarse formando otra fase inmiscible que cederá su calor latente a la mezcla a destilar para lograr su evaporación. Este método de extracción consiste en colocar el material vegetal en el interior del alambique sobre un falso fondo que lo aísla del agua, haciendo hervir ésta con fuego directo, vapor en camisa o serpentín. De esta forma el agua desprende vapores saturados húmedos y el material vegetal es sometido a una corriente de vapor de agua, la mezcla de agua y aceite esencial es arrastrada, posteriormente es condensada, recolectada y separada de la fracción acuosa, tal como se observa en la Figura 2. (Cerpa, 2007; Austin, 1990 citado por Tineo, 2012).

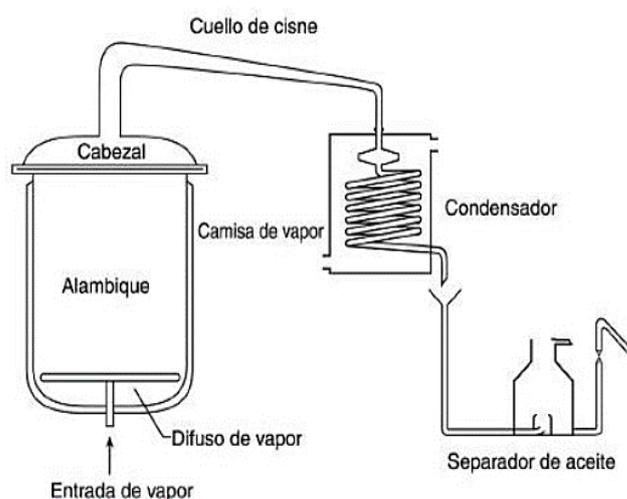


Figura 2: Equipo de destilación mediante arrastre con vapor

FUENTE: Bandoni (2003)

El fundamento de la destilación por arrastre con vapor de dos sustancias inmiscibles, es que, a medida que aumenta la temperatura, cada una de las sustancias va aumentando su presión de vapor que se opone a la presión atmosférica. Debido a la falta de solubilidad, o lo que es igual a que cada una de ellas no es diluida por la otra, cada sustancia ejerce independientemente su presión de vapor, siendo la presión de vapor total la suma de las presiones de cada componente, según lo establece la ley de Dalton (Fieser y Fieser 1985).

Así mismo Rassem *et al.* (2016) mencionan que el principio de esta técnica es que la presión de vapor combinada es igual a la presión ambiente, por lo que los componentes volátiles con puntos de ebullición que van de 150 a 300 ° C pueden evaporarse a una temperatura cercana a la del agua. Además, esta técnica también se puede realizar bajo presión dependiendo de la dificultad de extracción de los aceites esenciales.

Si consideramos un sistema heterogéneo, formado por dos líquidos no miscibles tales como el agua y un aceite esencial, los vapores emitidos por cada uno de ellos no pueden ser modificados por la presencia del otro debido a que no existen afinidades mutuas entre sus moléculas gaseosas, y por tanto sus presiones de vapor se adicionan al ir calentando dicho sistema heterogéneo. Llegará un momento en el cual, la presión de vapor total es igual a la presión ejercida sobre la superficie libre de ambos líquidos, entonces el sistema se encuentra en ebullición. La presión parcial de cada componente es en este momento inferior a la presión atmosférica, de forma que los líquidos se encuentran hirviendo a una temperatura inferior a sus puntos de ebullición normales.

En conclusión, todo líquido no miscible con el agua puede ser arrastrado por aquella, hirviendo a una temperatura más baja que su punto de ebullición, y de todo sistema homogéneo es posible aislar sus componentes por destilación, siempre que haya suficiente diferencia entre sus presiones de vapor (al menos una diferencia de 3 a 5°C entre sus puntos de ebullición para poder separarlos mediante destilación). Cuando la diferencia es pequeña, se hace necesario volver a destilar, partiendo del líquido más rico en volátil obtenido en la primera destilación, y repetir el proceso hasta conseguir el resultado buscado (Tineo, 2012).

2.4.2. EXTRACCIÓN POR MICROONDAS

En los últimos años, ha habido una demanda creciente de nuevas técnicas de extracción, con tiempos de trabajo más cortos y consumo reducido de solventes orgánicos, para prevenir la contaminación. Impulsados por estos objetivos, la energía de microondas como fuente de calor alternativa, sin contacto, se está utilizando eficientemente en dicho campo. Varias clases de compuestos como aceites esenciales, aromas, pigmentos y antioxidantes se han extraído sucesivamente consumiendo solo una fracción de energía en comparación con los métodos de extracción convencionales (Chemat *et al.* 2017).

Según Rodríguez *et al.* (2017) los efectos de la radiación de microondas en los procesos de extracción se basan principalmente en los efectos térmicos que conducen a propiedades fisicoquímicas y de transporte mejoradas de solventes y solutos. Es por ello que, el uso de microondas es una gran alternativa para la extracción de aceites esenciales.

Los procesos de extracción por microondas pueden operar en diferentes configuraciones. Así, dependiendo de la presión del trabajo, los sistemas de microondas se pueden clasificar en recipientes abiertos, si la operación se realiza a presión atmosférica, o recipientes presurizados cerrados con disolvente por encima de su punto de ebullición.; dependiendo de la distribución de radiación en el equipo, la operación puede realizarse en modo monomodo, cuando la radiación se enfoca proporcionando una distribución homogénea en una zona restringida o en multimodo, cuando la radiación se refleja en las paredes y produce una dispersión aleatoria de radiación (Camel, 2000; Kaufmann y Christen, 2002).

Chemat *et al.*(2017) mencionan diferentes técnicas de extracción por microondas, como la hidrodestilación asistida por microondas (MAHD), destilación de vapor asistida por microondas (MASD,MSD), extracción de microondas sin solventes (SFME), etc. Siendo ésta última, la técnica más ecológica ya que hay una ausencia de solventes a base de petróleo. Por otro lado, Peredo *et al.* (2009) afirman que la extracción por microondas se puede utilizar asistiendo un método convencional como la hidrodestilación o adaptando un equipo para establecerlo como un método independiente, como la extracción por microondas sin disolvente

a. PRINCIPIO DE CALENTAMIENTO POR MICROONDAS

Las microondas son ondas electromagnéticas con frecuencias de 0.3 a 300 GHz; debido a dicha naturaleza, las microondas poseen campos eléctricos y magnéticos que son perpendiculares entre sí.

Esta energía actúa como una radiación no ionizante que causa movimientos moleculares de iones y rotación de los dipolos, pero no afecta la estructura molecular (Camel, 2001; Kaufmann y Christen, 2002; Chemat *et al.* 2017).

El principio del calentamiento con energía de microondas se basa en los efectos directos de las microondas sobre las moléculas del material. La transformación de la energía electromagnética en energía calorífica se produce por dos mecanismos: la conducción iónica y la rotación dipolar en la muestra. El primero genera calor a través de las pérdidas por fricción, que tienen lugar a través de la migración de los iones disueltos cuando se someten a la acción de un campo electromagnético; por otro lado, el segundo mecanismo se debe a la alineación en el campo eléctrico de las moléculas que poseen un momento dipolar (permanente o inducido por el campo eléctrico) en la muestra; esta oscilación produce colisiones con las moléculas circundantes y, por lo tanto la liberación de energía térmica en el medio (Perreux, 2005, citado por Fonseca, 2013; Kaufmann y Christen, 2002).

Por otro lado, Chemat *et al.* (2017) mencionan que el calentamiento por microondas resulta de la disipación de las ondas electromagnéticas en el medio irradiado. Por lo tanto, existe una diferencia fundamental entre el calentamiento convencional y el microondas; en el primero, las transferencias de calor se producen desde el dispositivo de calentamiento al medio, mientras que en el segundo, no se limita a la conducción térmica o las corrientes de convección. Así, Venkatesh y Raghavan (2004), citados por Rodriguez *et al.* (2017), sostienen que en el procesamiento térmico convencional, gran parte de la energía se pierde en el medio ambiente; mientras que, en el calentamiento por microondas, la energía se entrega directamente a los materiales a través de la interacción molecular con el campo electromagnético y prácticamente no se pierde calor en el ambiente.

b. EXTRACCIÓN POR MICROONDAS LIBRE DE SOLVENTE (SFME)

La extracción por microondas sin solvente, está basada en un principio relativamente simple, el cual consiste en la destilación en seco asistida por microondas de una matriz de planta fresca sin agregar agua ni disolventes orgánicos. Así mismo el proceso implica colocar el material vegetal en un reactor de microondas sin disolvente, luego se da el calentamiento interno del agua dentro del material vegetal lo cual disgrega las glándulas y los receptáculos oleíferos. Este proceso libera así aceite esencial que es evaporado por el agua in situ del material vegetal por destilación azeotrópica.

El vapor luego pasa a través de un condensador fuera de la cavidad de microondas donde se condensa, así el destilado se recoge continuamente en el matraz receptor, donde el exceso de agua se calienta a reflujo y recircula al recipiente de extracción mediante cohobación para restaurar la humedad del material vegetal. Finalmente el aceite esencial se recoge directamente (Li *et al.* 2013; Lucchesi *et al.* 2007).

El equipo de extracción por microondas libre de solventes (SFME), es ilustrado en la Figura 3.

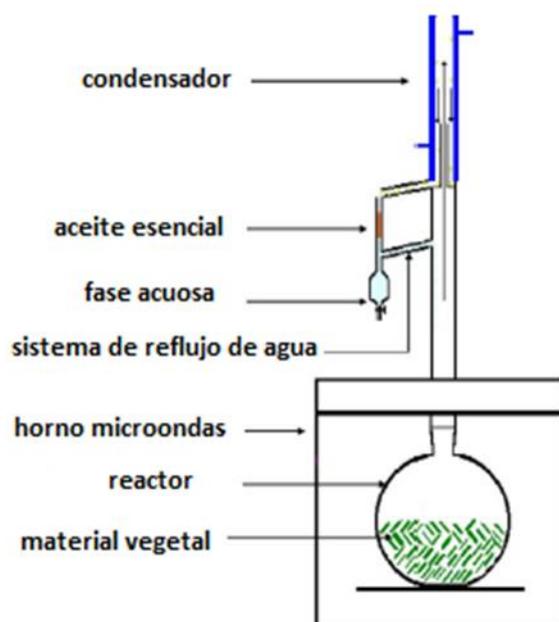


Figura 3: Equipo de extracción por microondas sin solvente

FUENTE: Lucchesi *et al.* (2007)

Para la extracción por microondas sin solvente, el agua in situ en las células de la planta se estimula para que gire con la radiación de microondas, por lo que el interior se traduce en un aumento posterior de la presión dentro de las células de la planta, lo que conduce a la descomposición y liberación de moléculas. Este método permite la transferencia de masa y calor desde el interior de la célula de la planta hacia el exterior (Ferhat *et al.*, 2007; Lucchesi *et al.* 2007).

Asimismo, Chemat *et al.* (2017) mencionan que, en el caso de SFME, la célula de la planta de agua es estimulada para rotar bajo radiación de microondas, por lo que el cambio interno inmediato resulta en un aumento de la presión y temperatura dentro de la célula de la planta, lo que conduce a la ruptura de las paredes celulares y la liberación de moléculas objetivo, tal como se observa en la Figura 4.

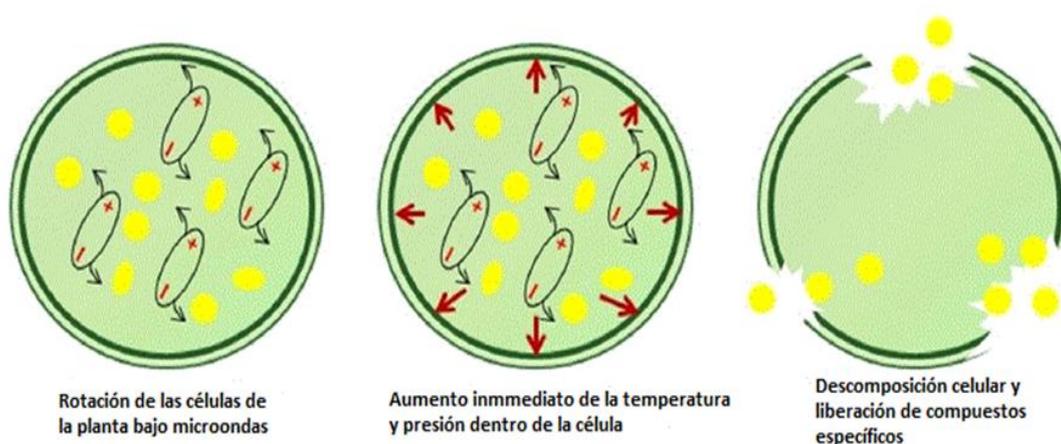


Figura 4: Mecanismo de extracción por microondas sin solvente

FUENTE: Chemat (2017)

Por otro lado, Li *et al.* (2013) y Filly *et al.* (2014) afirman que el contenido de agua de los materiales vegetales naturales, la potencia de microondas y el tiempo de extracción influyen en los parámetros para el rendimiento de compuestos bioactivos tales como los aceites esenciales. Dado que el agua es un excelente absorbente de energía de microondas, su contenido en la muestra proporcionará aumento de energía dentro de ella lo que conducirá a la expansión de células.

La potencia de entrada de microondas requerida está directamente relacionada con el tamaño y el peso de la muestra; debe ser suficiente para alcanzar el punto de ebullición del agua (100 ° C), que fija la temperatura de extracción. Sin embargo, la potencia no debe ser demasiado alta, de lo contrario se produciría una pérdida de compuestos volátiles y una degradación de los compuestos bioactivos. Por otra parte, el tiempo es un factor importante afectando directamente el rendimiento de extracto. Por último, los parámetros de funcionamiento, que deben optimizarse en el SFME, pueden controlarse fácilmente.

Chemat *et al.* (2017) indican que el método SFME puede ayudar a obtener extractos de alta calidad de diferentes materiales de plantas aromáticas naturales, que pueden analizarse directamente mediante cromatografía y métodos espectrométricos sin ninguna limpieza preliminar, intercambio de solventes o pasos de centrifugación.

Desai *et al.* (2010) mencionan que el método SFME, es superior a las extracciones convencionales; y a continuación se presentan algunas ventajas manifestadas por ellos.

- En comparación con otras técnicas de extracción, la cantidad de solvente utilizado es nula.
- Permite un control total de los parámetros de extracción como el tiempo, la potencia y la temperatura.
- Reduce el tiempo de extracción en gran medida.
- Es un método de eficiencia energética con una mayor eficiencia de extracción y naturaleza amigable con el ambiente.
- Permite mejorar el rendimiento, la calidad del extracto, reducir los costos de producción y los riesgos relacionados con el proceso en comparación con los métodos convencionales.
- El aceite esencial obtenido por el método de microondas sin solvente ha aumentado las actividades antimicrobianas y antioxidantes en comparación con el aceite obtenido por arrastre por vapor.

2.5. CARACTERIZACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

2.5.1. DENSIDAD RELATIVA

La densidad es una propiedad característica, única para cada material y depende de sus características internas, lo cual permite diferenciar a una sustancia de otra. Así, la densidad es una medida que nos dice cuánta materia hay de esa sustancia en cierto espacio. Para averiguar dicha propiedad se divide la masa entre el volumen o espacio que ocupa esa sustancia, generalmente se usan las unidades de g/cm^3 (Díaz *et al.* 2013; Paredes *et al.* 2010).

Para los aceites esenciales, la densidad relativa es la relación entre la masa de un volumen dado del aceite esencial y la masa del mismo volumen de agua destilada; medida a una temperatura estándar (normalmente 20 o 25°C). Generalmente se mide usando un hidrómetro (Boukhobza y Goetz, 2014).

2.5.2. ÍNDICE DE REFRACCIÓN

La velocidad de la luz depende del medio que atraviesa, así la relación de velocidades de la luz en el vacío y en cualquier sustancia se conoce como índice de refracción absoluto de dicha sustancia. Es posible demostrar que el índice de refracción también viene dado por la relación del seno del ángulo de incidencia al seno del ángulo de refracción de un rayo luminoso de longitud de onda determinada que pasa del aire a la esencia mantenida a una temperatura constante (Mansard, 2016; Connors, 1981).

Asimismo, Pearson (1976) menciona que el índice de refracción al ser el grado de desviación de un haz de luz que ocurre cuando pasa de un medio transparente a otro; aumenta con la longitud de las cadenas y con el número de átomos de carbono presentes. Por lo tanto, el índice de refracción determina evidencias de que la muestra podría ser una cadena de carbono larga insaturada.

Esta constante física es utilizada con fines de identificación de compuestos, y detección de impurezas en aceites volátiles y otras sustancias líquidas (Fontenla, 2006).

En la siguiente Tabla, se presenta información en base a los estudios de Domínguez (1973), citado por Fontenla (2006).

Tabla 1: Relación densidad vs. Índice de refracción en aceites esenciales

| Densidad (g/mL) | Índice de refracción | Posibles componentes presentes |
|-----------------|----------------------|---------------------------------------------------------------------|
| Menor a 0.9 | Menor a 1.47 | Alto porcentaje de hidrocarburos terpénicos o compuestos alifáticos |
| Mayor a 0.9 | Menor a 1.47 | Compuestos oxigenados alifáticos |
| Menor a 0.9 | Mayor a 1.47 | Hidrocarburos aromáticos |
| Mayor a 0.9 | Mayor a 1.47 | Compuestos oxigenados aromáticos o alicíclicos |

FUENTE: Domínguez (1973), citado por Fontela (2006)

2.5.3. SOLUBILIDAD EN ETANOL

Los aceites esenciales son básicamente liposolubles, por lo que se disuelven bien en hexano, benceno, éter, tolueno y en aceites fijos y lípidos en general. Sin embargo tienen una particularidad que los diferencia de los aceites fijos, y es que son solubles en etanol. La solubilidad en etanol está regulada por dos factores: el porcentaje de monoterpenos presentes en el aceite esencial por un lado, y la graduación alcohólica por el otro. La solubilidad en alcohol de un aceite esencial es inversamente proporcional a su contenido de monoterpenos, y al contenido de agua en el alcohol. Es importante considerar además que algunos aceites esenciales contienen constituyentes que es algo solubles en agua (Ferraro *et al.* 2015).

Para este ensayo se preparan mezclas alcohol/agua en concentraciones del 0 a 100 %, o al 96 % de alcohol. A cada mezcla se añade la misma cantidad de aceite esencial y se agita cada tubo. La presencia de diminutas gotas dispersas por todo el tubo y que se desplazan hacia la zona superior, o dos fases bien diferenciadas, indica que esta mezcla alcohol/agua no disuelve bien el aceite esencial (Ortuño, 2006).

2.5.4. ÍNDICE DE ACIDEZ

El índice de acidez es el número de miligramos de hidróxido de potasio necesarios para la neutralización de los ácidos libres contenidos e 1 g de aceite esencial, aunque a veces también se expresa como el porcentaje de ácido oleico presente en la muestra (ISO 1242:1999; citado por Mansard, 2016).

Deman (1990) sostiene que el índice de acidez es una importante propiedad fisicoquímica del aceite, ya que determina la calidad, la edad y la idoneidad para su uso industrial. Este valor se usa para medir la extensión de los glicéridos en el aceite, que han sido descompuestos por diversos factores como la luz y el calor.

2.6. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales se localizan en el citoplasma de ciertas secreciones de células vegetales, que se encuentran en uno o más órganos de la planta (los pelos o tricomas secretores, las células epidérmicas, las células secretoras internas y los bolsillos secretores); estos aceites esenciales son mezclas naturales muy complejas que pueden contener entre 20 y 60 elementos a concentraciones diferentes (Sell, 2006). Los componentes de los aceites esenciales son orgánicos volátiles, generalmente de bajo peso molecular (por debajo de 300). Estos compuestos volátiles pertenecen a varias clases químicas: alcoholes, éteres u óxidos, aldehídos, cetonas, ésteres, aminas, amidas, fenoles, heterociclos y principalmente los terpenos. Asimismo, los alcoholes, aldehídos y cetonas ofrecen una amplia variedad de notas aromáticas, como frutales, florales, cítricos y herbales (Dhifi *et al.* 2016).

Por su parte, Bakkali *et al.* (2008) y Croteau *et al.* (2000) mencionan que los aceites esenciales se caracterizan por tener dos o tres componentes principales a concentraciones altas (20-70%) en comparación con otros en cantidades traza. En general, estos constituyentes principales determinan las propiedades biológicas de los aceites esenciales. Los componentes incluyen dos grupos de origen biosintético distinto; el grupo principal está compuesto por terpenos y terpenoides y el otro por constituyentes aromáticos y alifáticos, todos caracterizados por bajo peso molecular.

Así, Fernández *et al.* (2012), citados por Moghaddam y Mehdizadeh (2017), mencionan que los constituyentes de los aceites esenciales de las plantas se clasifican principalmente en dos clases químicas distintas: terpenos y fenilpropanoides. Los compuestos terpénicos se pueden dividir en dos categorías principales : terpenos con una estructura de hidrocarburo, principalmente los mono, sesqui y diterpenos y sus derivados oxigenados, por ejemplo, alcoholes, óxidos, aldehídos, cetonas, fenoles, ácidos, ésteres y lactonas. Por otro lado los fenilpropanoides son los compuestos que proporcionan un olor y sabor específicos a las plantas según Sangwan *et al.* (2001).

Biogenéticamente, los terpenos y fenilpropanoides tienen diferentes precursores metabólicos primarios y se generan a través de diferentes rutas biosintéticas. Las vías involucradas en los terpenos son las vías mevalonato y mevalonato independiente (fosfato de desoxilulosa), mientras que los fenilpropanoides se originan a través de la vía shikimato (Litchenthaler, 1999; Dewick, 2002).

Por otro lado, los factores que determinan el rendimiento y composición de los aceites esenciales son numerosos. En algunos casos, es difícil aislarlos, ya que están interrelacionados e influyen entre sí. Estos parámetros incluyen las variaciones estacionales, el órgano de la planta, el grado de madurez de la planta, el origen geográfico y la genética (Marotti *et al.*, 1994; Hussain *et al.*, 2008; Anwar *et al.*, 2009).

2.6.1. TERPENOS

Los terpenos son el grupo más importante de productos naturales en lo que respecta a los aceites esenciales. Están formados por varias unidades isoprénicas, $(C_5H_8)_n$, cuyo número n sirve como criterio para su clasificación.

Los terpenos principales y los únicos que se pueden extraer mediante destilación son los monoterpenos (C10) y sesquiterpenos (C15), pero también existen hemiterpenos (C5), diterpenos (C20), triterpenos (C30) y tetraterpenos (C40) (Bakkali, 2008; Montoya, 2010; Sell, 2010; Zuzarte y Salgueiro, 2015).

Los terpenos resultan de la condensación del isopreno, una unidad de pentacarbonato con dos enlaces insaturados, y por lo tanto muchas veces se llaman isoprenoides.

Los compuestos terpénicos tienen muchas estructuras isoméricas, cíclicas o lineales, y diversos grados de insaturación, sustituciones y derivados oxigenados, generalmente llamados terpenoides. Algunos autores reservan el nombre de terpeno para los monoterpenos y llaman terpenoides al grupo general (Berger, 2007, citado por Moghaddam y Mehdizadeh, 2017; Zuzarte y Salgueiro, 2015).

Aunque, estructuralmente, los terpenos están formados por unidades de isopreno, su biosíntesis no se realiza por la polimerización de este, sino, según Ávalos y Pérez-Urria (2009) y Primo (2007), es a partir de metabolitos primarios mediante dos rutas (Figura 5): la del ácido mevalónico (activada en el citosol), en la que tres moléculas de acetil-CoA se condensan para formar ácido mevalónico que reacciona hasta formar isopentenil difosfato (IPP), o bien la ruta del metileritritol fosfato (MEP) que funciona en cloroplastos y genera también IPP. El isopentenil bifosfato y su isómero dimetilalil difosfato (DMAPP) son los precursores activados en la biosíntesis de terpenos en reacciones de condensación catalizadas por prenil transferasas para dar lugar a prenil bifosfatos como geranil difosfato (GPP), precursor de monoterpenos, farnesil difosfato (FPP) precursor de sesquiterpenos y geranilgeranil difosfato (GGPP) precursor de diterpenos. A su vez Eisenreich *et al.* (2001) mencionan que los sesquiterpenos, triterpenos y politerpenos se producen en el citosol y en el retículo endoplásmico, mientras que los monoterpenos, diterpenos, tetraterpenos y algunas quinonas preniladas se originan en los plástidos

Los monoterpenos y sesquiterpenos, son los terpenos más abundantes en los aceites esenciales y pueden ser hidrocarburos u oxigenados; sin embargo, también pueden ser derivados alifáticos o alicíclicos, inclusive pueden tener estructuras aromáticas; siendo los primeros las moléculas más representativas que constituyen el 90% de los aceites esenciales, entre ellos se encuentran el geraniol, linalol, menota, borneol, timol, etc. Por otro lado los sesquiterpenos incluyen al azuleno, cadinenos, curcumenos, bisabol, cedrol, etc. (Couic-Marinié y Lobstein, 2013).

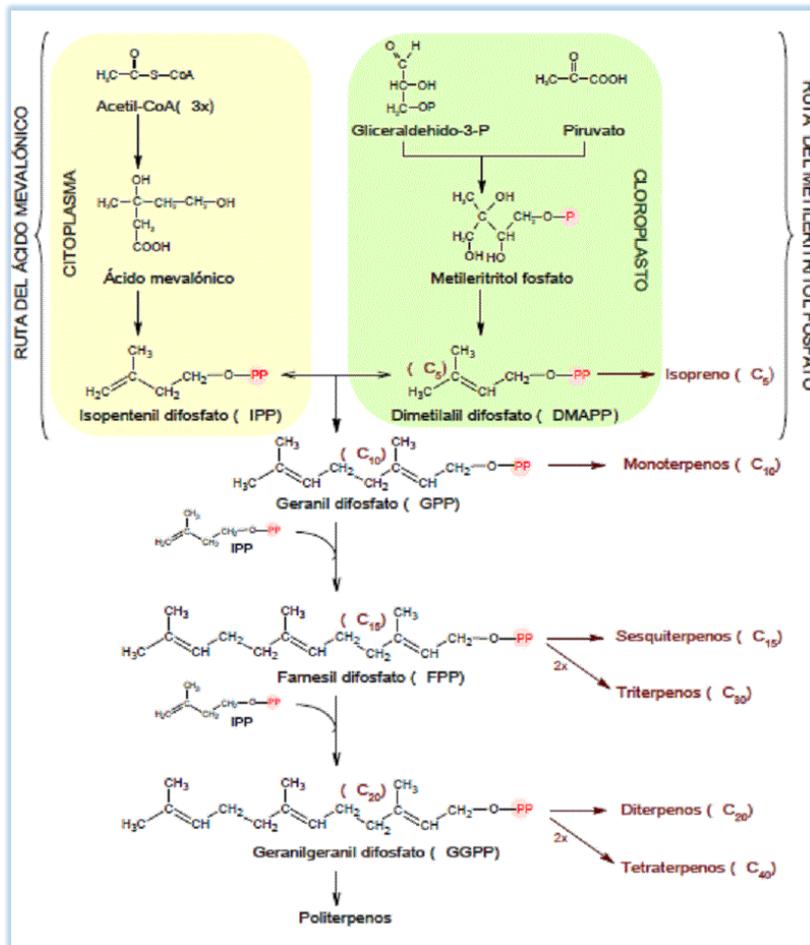


Figura 5: Biosíntesis de terpenos

FUENTE: Ávalos y Pérez-Urria (2009)

a. MONOTERPENOS

La combinación catalizada por enzimas de DMAPP e IPP produce geranil difosfato (GPP), precursor de los monoterpenos. Éstos son hidrocarburos alicíclicos, monocíclicos, bicíclicos o policíclicos; van acompañados de sus derivados oxigenados como alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y éteres (Dewick, 2009; Romero, 2004).

Los monoterpenos permiten una gran variedad de estructuras y consisten en varias funciones según las mencionan Bakkali *et al.* (2008):

Carburos:

acíclicos: mirceno, ocimeno, etc.

monocíclicos: terpinenos, p-cimeno, felandrenos, etc.

bicíclicos: pinenos, -3-careno, camfeno, sabineno, etc.

Alcoholes:

acíclicos: geraniol, linalol, citronelol, lavandulol, nerol, etc.

monocíclicos: mentol, α -terpineol, carveol

bicíclicos: borneol, fenchol, crisantenol, etc.

Aldehídos:

acíclicos: geranial, neral, citronelal, etc.

Cetona:

acíclicos: tegetona, etc.

monocíclicos: mentona, carvona, pulegona, piperitona, etc.

bicíclicos: alcanfor, fenchone, fuyona, ombelulona, pinocamfona pinocarvona, etc.

Esteres:

acíclicos: acetato o propionato de linalilo, acetato de citronelilo, etc.

monocíclicos: mentilo o acetato de α -terpinilo, etc.

bicíclicos: acetato de isobornilo, etc.

Éteres: 1,8-cineol, mentofurano, etc.

Peróxidos: ascaridol, etc.

Fenoles: timol, carvacrol, etc.

b. SESQUITERPENOS

Los sesquiterpenos se forman a partir del ensamblaje de tres unidades de isopreno, contienen 15 átomos de carbono y esto da como resultado que tengan volatilidades más bajas y, por lo tanto, puntos de ebullición más altos que los monoterpenos. Por eso, menos de ellos contribuyen al olor de los aceites esenciales (Sell, 2010).

Las enzimas específicas preniltransferasas, catalizan al IPPP y DMAPP, para formar precursores específicos, tal es el caso del farnesil difosfato (FPP), precursor de los sesquiterpenos. Éstos se sintetizan generalmente, a través de la vía del mevalonato, en lugar de la ruta MEP (Dewick, 2009; Buchanan *et al.* 2002, citado por Zacarés, 2008). La extensión de la cadena aumenta el número de ciclaciones, lo que permite una gran variedad de estructuras como los terpenos.

Así, Beyer y Wolfgang (1987) mencionan que estas moléculas se pueden unir formando cadenas hidrocarbonadas alifáticas abiertas y sistemas cíclicos. Entre los últimos son especialmente conocidos tres tipos, los sesquiterpenos mono-, bi- y tricíclicos. Entre los sesquiterpenos destacan el azuleno, β - bisaboleno, cedrol, curcumenos, farnesenos, óxido de cariofileno, etc. (Bakkali *et al.* 2008).

2.6.2. COMPUESTOS AROMÁTICOS

Algunas plantas aromáticas tienen aceite esencial formado principalmente por compuestos aromáticos, tales como fenilpropanoides. Los compuestos aromáticos derivados del fenilpropano son mucho menos comunes en los aceites esenciales que los monoterpenos y los sesquiterpenos (Ríos, 2016). Los fenilpropanoides (también conocidos como ácidos cinámicos) son metabolitos secundarios, que se biosintetizan mediante la vía del ácido shikímico, a través del aminoácido l-fenilalanina por la acción de la fenilalanina amoniaco liasa (PAL), que elimina la función del nitrógeno para generar ácido trans- cinámico, tal como se observa en la Figura 6.

Asimismo una amplia gama de fenilpropanoides son sintetizadas por la acción de varias enzimas, incluidas las hidrolasas, (etil) transferasas, oxidoreductasas y ligasas (Stevenson y Aslam, 2006; Can y Demirci, 2007).

Los fenilpropanoides contienen una o más unidades de C₆-C₃, siendo C₆ un anillo de benceno. Por lo general, tienen un grupo funcional metil éter unido al anillo y una cola de propenilo. La mayoría de fenilpropanoides que se encuentran en los aceites esenciales son fenoles o éteres fenólicos, estos incluyen al ácido cinámico, aldehído cinámico, eugenol, anetol, etc. (Bakkali *et al.* 2008; Couic- Marinier y Lobstein, 2013; Tisserand y Young, 2014).

Bakkali *et al.* (2008) mencionan que las principales fuentes de plantas para estos compuestos son el anís, canela, clavo, hinojo, nuez moscada, perejil, sazafrán y algunas familias botánicas

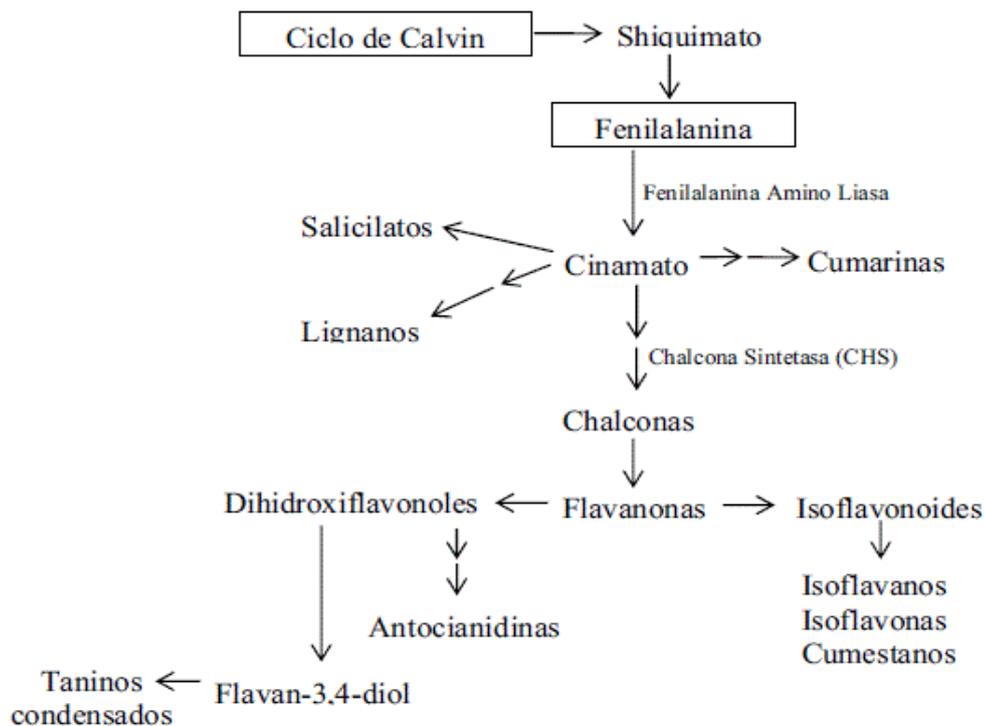


Figura 6: Ruta de síntesis de fenilpropanoides

FUENTE: Bruneton (1991), citado por Leyva *et al.* (2011)

2.7. PRINCIPALES COMPONENTES DEL ACEITE ESENCIAL DE MANZANILLA (*MATRICARIA RECUTITA* L.)

El aceite esencial de manzanilla (*Matricaria recutita* L.) se compone principalmente de derivados de sesquiterpenos (75-90%) y trazas de monoterpenos.

2.7.1. CHAMAZULENO

El chamazuleno es un hidrocarburo bicíclico insaturado con la fórmula molecular $C_{14}H_{16}$ (Figura 7). Es un azuleno, que son compuestos derivados de sesquiterpenos (Clarke, 2008).

El primer precursor del chamazuleno es la matricina, ésta se encuentra en los capítulos florales de la manzanilla y su contenido, depende de la variedad de la planta.

La matricina es muy inestable y se descompone visiblemente al volverse azul durante el proceso de destilación.

El precursor inmediato del chamazuleno es el ácido chamazuleno carboxílico (CCA); y su transición a chamazuleno es mediante la eliminación de agua, ácido acético y descarboxilatos.

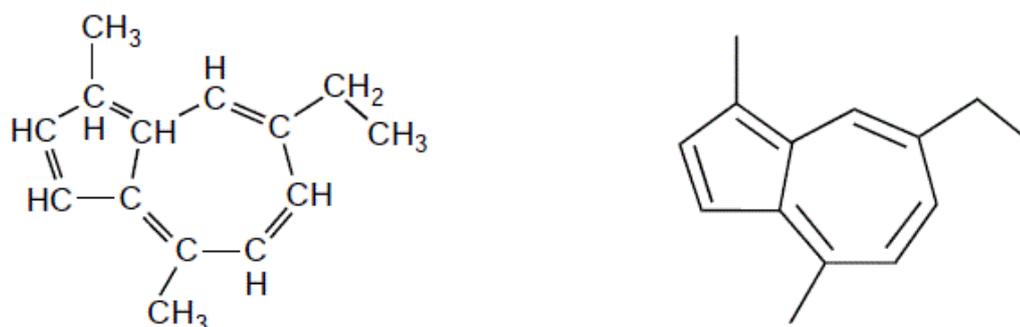


Figura 7. Estructura química del chamazuleno

FUENTE: Clarke (2008)

Por otro lado, Capuzzo *et al.* (2014) mencionan que el chamazuleno posee propiedades tanto de eliminador de radicales, como una poderosa capacidad antioxidante.

2.7.2. BISABOLOL

El bisabolol (α - Bisabolol) tiene una estructura cíclica (con un anillo de carbono en la molécula) y es un alcohol sesquiterpénico con la fórmula química C₁₅H₂₀O₆ (Figura 8). Es un líquido incoloro con una densidad relativamente baja (0.93); el bisabolol es una sustancia muy lipofílica, con tendencia a oxidarse (Clarke, 2008; Perbellini *et al.* 2004, citado por Kamatou y Viljoen, 2009).

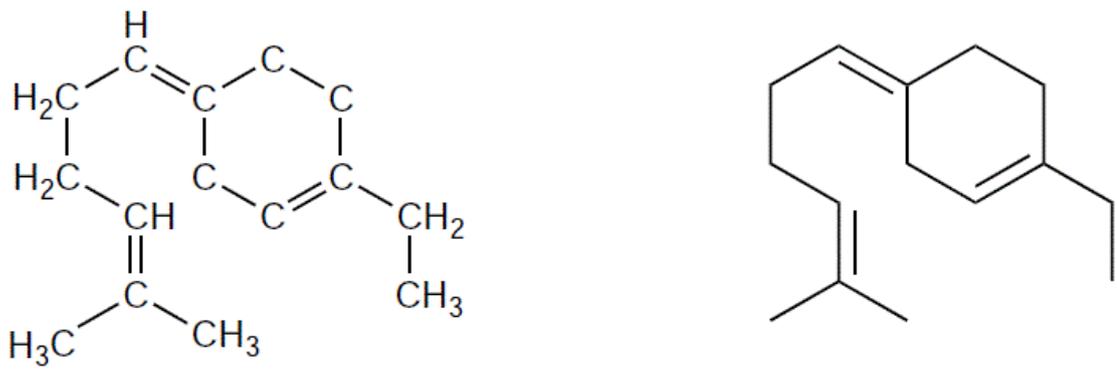


Figura 8: Estructura química del bisabolenio

FUENTE: Clarke (2008)

Los productos de oxidación son principalmente óxido de bisabolol A y B, tal como se visualiza en la Figura 9 (Waleczek *et al.* 2003, citado por Kamatou, 2009). De igual modo Schilcher *et al.* (2005) mencionan que el óxido de bisabolol A y B son los componentes mayoritarios en el aceite esencial de manzanilla y el óxido de bisabolol C se encuentra en pequeñas cantidades.

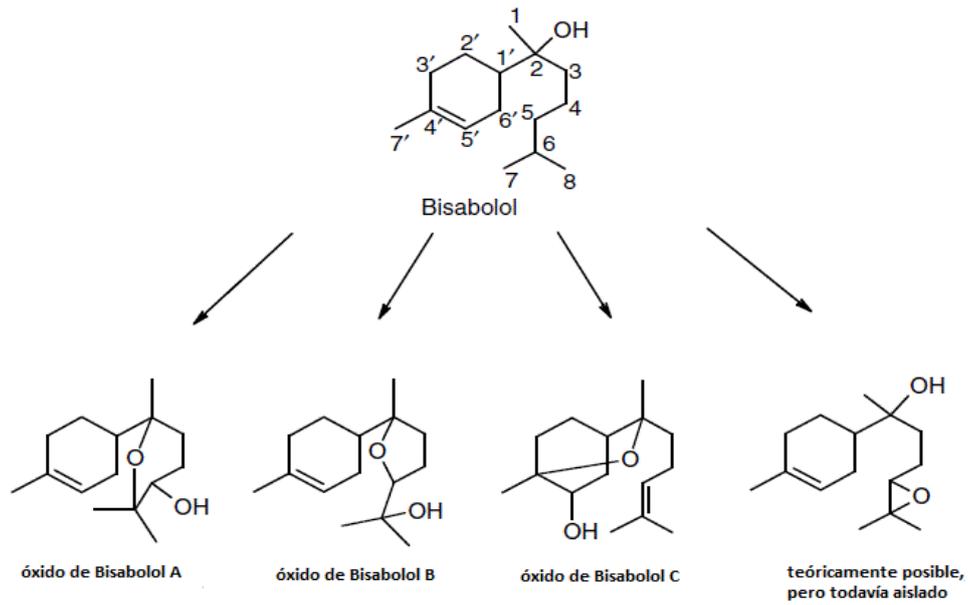


Figura 9: Productos de oxidación del α - bisabolol

FUENTE: Schilcher *et al.* (2005)

Por otra parte, las actividades biológicas más importantes del bisabolol son las antiinflamatorias, antiirritantes y antibacterianas; y propiedades no alergénicas. (Kamatou y Viljoen, 2009).

2.7.3. OTROS TERPENOS

Entre otros carburos terpénicos destacan el farneseno, cadineno, cis-espiroéter y trans-espiroéter (Padilla, 2015).

El farneseno, presenta dos principales isómeros: trans- β -farneseno y trans- α -farneseno; siendo el primero el que se encuentra en mayor cantidad en el aceite esencial de manzanilla (Schilcher *et al.* 2005).

La Figura 10, muestra los principales monoterpenos presentes en las flores de manzanilla

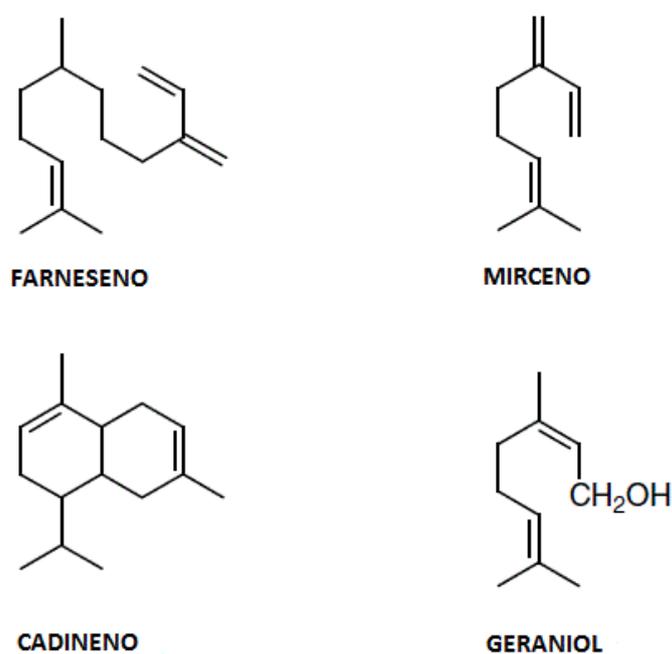


Figura 10: Monoterpenos en las flores de manzanilla

FUENTE: Schilcher *et al.* (2005)

2.7.4. FLAVANOIDES

Son compuestos visibles (principalmente amarillos) que absorben la luz en un rango de 250 a 380 nm. Presentes como flavonoides libres con 36 reconocidos en la manzanilla alemana (Mann y Staba, 1992).

Los flavanoides representan la fracción principal de componentes solubles en agua en la manzanilla y se encuentran entre un 1-3%. En el aceite esencial de manzanilla, fueron identificadas numerosas flavonas y flavonoles metoxilados, entre ellos apigenina (mayoritaria) y quercetina, con sus correspondientes glucósidos (7-glucosil-apigenina y 7-glucosil-quercetina); entre otros están la luteolina, patuletina, etc. (Alonso, 2004; Padilla, 2015).

Schilcher *et al.* (2005) sostienen que, los flavonoides de la manzanilla, son de gran interés, ya que se los reconoce como espasmolíticos y antiflogísticos.

2.8. TÉCNICAS DE ANÁLISIS

La necesidad imperativa de identificar inequívocamente los componentes de una mezcla compleja fue el motor para el desarrollo de diferentes métodos que se basan en procedimientos cromatográficos, que ofrecen información sobre identidad, posibles impurezas o falsificaciones (D'Acampora Zellner *et al.* 2010; Stashenko y René, 2010).

La cromatografía es un método analítico para la purificación y separación de sustancias orgánicas e inorgánicas que resulta de particular utilidad en el fraccionamiento de mezclas complejas, aislamiento de sustancias inestables y separación de compuestos de estructuras muy semejantes (Skoog *et al.* 2008; Cisneros, 2017).

En todas las separaciones cromatográficas la muestra se disuelve con una fase móvil (que puede ser un gas, un líquido o un fluido supercrítico) la cual se hace pasar a través de una fase estacionaria inmisible fija en una columna o en una superficie sólida. De esta manera, según la polaridad de las moléculas de la muestra a analizar, se establecen interacciones más fuertes con una de las dos fases, por lo que un número mayor de moléculas de un mismo tipo se encuentra en dicha fase.

Como consecuencia, los componentes de la muestra se separan en bandas o zonas distintas que se pueden analizar en forma cualitativa y cuantitativa (Skoog *et al.* 2008; Roca *et al.* 2003).

La clasificación general de los métodos cromatográficos según Skoog *et al.* (2008) se basa en los tipos de fases móviles y estacionarias, y en la clase de equilibrios involucrados en la transferencia de los solutos entre las fases; así hay tres categorías generales de cromatografía: cromatografía de gases (CG), cromatografía de líquidos (CL) y cromatografía de fluidos supercríticos (CFS).

Las técnicas cromatográficas son utilizadas generalmente para analizar mezclas complejas, ya que permiten obtener un perfil cromatográfico que proporciona una estimación de varios compuestos característicos contenidos en la muestra analizada.

Actualmente la cromatografía de gases representa el método de elección para escudriñar la mezcla compleja de un aceite esencial (ANSM, 2008; citado por Mansard, 2016; Turek y Stintzing, 2012).

2.8.1. CROMATOGRAFÍA DE GASES (GC)

Según Aquino y Núñez (2003), citados por Rincón (2015), la cromatografía de gases es un método físico de separación de componentes de una mezcla por medio de una fase móvil gaseosa a través de una fase estacionaria líquida. El principio de funcionamiento es la distribución de los compuestos a separar entre las dos fases mencionadas. La fase estacionaria se encuentra impregnado un soporte reticulado inerte, contenido en una columna de vidrio o acero inoxidable. A través de la columna circula la fase móvil, que es un gas inerte (nitrógeno, helio o argón). La separación de los componentes de la mezcla se realiza en función de su afinidad por las dos fases, que en este caso vienen determinada por su volatilidad, de manera que cuanto más volátil es el compuesto, más afinidad tiene por la fase móvil (Roca *et al.* 2003). A continuación se muestra el diagrama de bloques de un cromatógrafo de gases típicos.

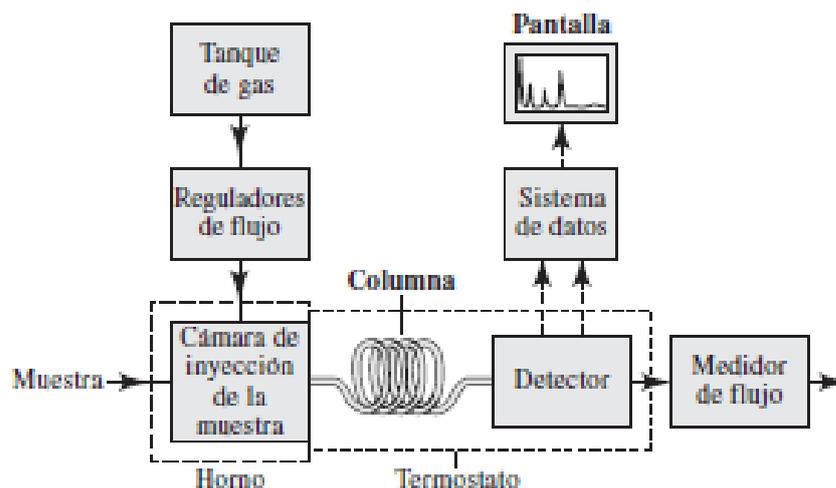


Figura 11: Diagrama de bloques de un cromatógrafo de gases típicos

FUENTE: Skoog *et al.* (2008)

Durante las separaciones mediante cromatografía de gases se han investigado y utilizado docenas de detectores, basados generalmente en la medida de una determinada propiedad física de los componentes a analizar. Algunos de ellos son universales, mientras que otros resultan más selectivos y responden únicamente a algunos de los componentes de una mezcla.

En este sentido, la espectrometría de masas acoplada a la cromatografía de gases puede resultar un detector universal para la cuantificación de sustancias orgánicas, y permite la separación e identificación de mezclas complejas (Skoog *et al.* 2008; Gutiérrez y Droguet, 2002).

2.8.2. CROMATOGRAFÍA DE GASES-ESPECTROMETRÍA DE MASAS (GC-MS)

En este proceso, una mezcla de compuestos inyectada en el cromatógrafo de gases se separa en la columna cromatográfica obteniendo la elución sucesiva de los componentes individuales aislados que pasan inmediatamente al espectrómetro de masas, donde sufren diversos procesos de ionización, fragmentación y detección. Cada uno de estos componentes se registra en forma de pico cromatográfico y se representan en un cromatograma.

Este aporta la información sobre los porcentajes relativos de cada uno de los componentes en la mezcla, al mismo tiempo que la información espectral de cada pico permite identificar a las diversas sustancias que la forman (Gutiérrez y Droguet, 2002; Pérez, 2005).

De esta manera los componentes de los aceites esenciales se pueden separar simultáneamente e identificar con base en sus tiempos e índices de retención y los espectros de masas.

III. METODOLOGÍA

3.1. LUGAR Y DURACIÓN DEL ESTUDIO

La presente investigación se llevó a cabo en la planta piloto de alimentos y en el laboratorio de biotecnología de alimentos, pertenecientes a la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina; como también en el laboratorio de aceites esenciales de la empresa Esencias Químicas (ESQUISA) SAC. Por otro lado, los componentes químicos del aceite esencial de manzanilla se identificaron por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en el laboratorio de análisis de la empresa del Grupo Carinsa, en Barcelona, España.

Las pruebas preliminares, la extracción y el análisis fisicoquímico del aceite esencial de manzanilla del presente estudio tuvieron una duración total de 9 meses. Estos ensayos experimentales se llevaron a cabo desde enero hasta septiembre del 2019.

3.2. MATERIA PRIMA

La materia prima utilizada fueron las flores de manzanilla. Se utilizaron plantas provenientes del centro poblado de Marayhuaca del distrito de Incahuasi, de la provincia de Ferreñafe, departamento de Lambayeque; cultivadas a una altura de 3200 msnm (ver Anexo 1 y 2).

La manzanilla fue identificada taxonómicamente en el Herbario del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por especialistas genéticos. Se concluyó que la materia prima pertenece al género de *Matricaria*, y es de la especie de *Matricaria chamomilla* o *Matricaria recutita* L (ver Anexo 3).

3.3. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

3.3.1. MATERIALES

- Beakers de 50 ml, 100 ml, 200ml
- Erlenmeyers de 150 ml, 200ml
- Viales de vidrio ámbar de 1ml
- Bowls de acero
- Probetas de 10 ml, 50 ml
- Pipetas de 5ml, 1 ml
- Bureta de 25 ml
- Tubos de ensayo
- Pipetas pasteur de 5 ml
- Fiolas de 10ml, 25 ml, 100ml

3.3.2. REACTIVOS

- Agua destilada (Suministros científicos E. I.R.L)
- Alcohol etílico 96° (Suministros científicos E. I.R.L)
- Hidróxido de potasio (Suministros científicos E. I.R.L)
- Fenoltaleína (Suministros científicos E. I.R.L)

3.3.3. EQUIPOS

- Sistema de extracción asistida por microondas modelo ETHOS X, marca Milestone (Anexo 4)
- Equipo de extracción de aceite esencial por arrastre con vapor (Anexo 5) y pera de separación
- Balanza analítica, marca Sartorius, modelo C- 2105
- Refractómetro ABBE, marca Ausjena, modelo I
- Picnómetro 5 ml, marca Isolab, n° 21
- Cromatógrafo de gases marca Agilent, modelo Intuvo 9000, acoplado a un espectrómetro de masas marca Agilent, modelo 5977B

3.4. MÉTODOS DE ANÁLISIS

- Densidad. Método NTP ISO 279:2011
- Solubilidad en etanol. Método NTP 319.084: 1974
- Índice de Refracción. Método NTP ISO 280: 2011
- Índice de Acidez. Método NTP 319.085: 1974
- Análisis cromatográfico por GC/MS. Cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas

3.5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.5.1. OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL

En la Figura 12 se muestra el Flujograma para la obtención del aceite esencial de manzanilla, el cual se describe a continuación:

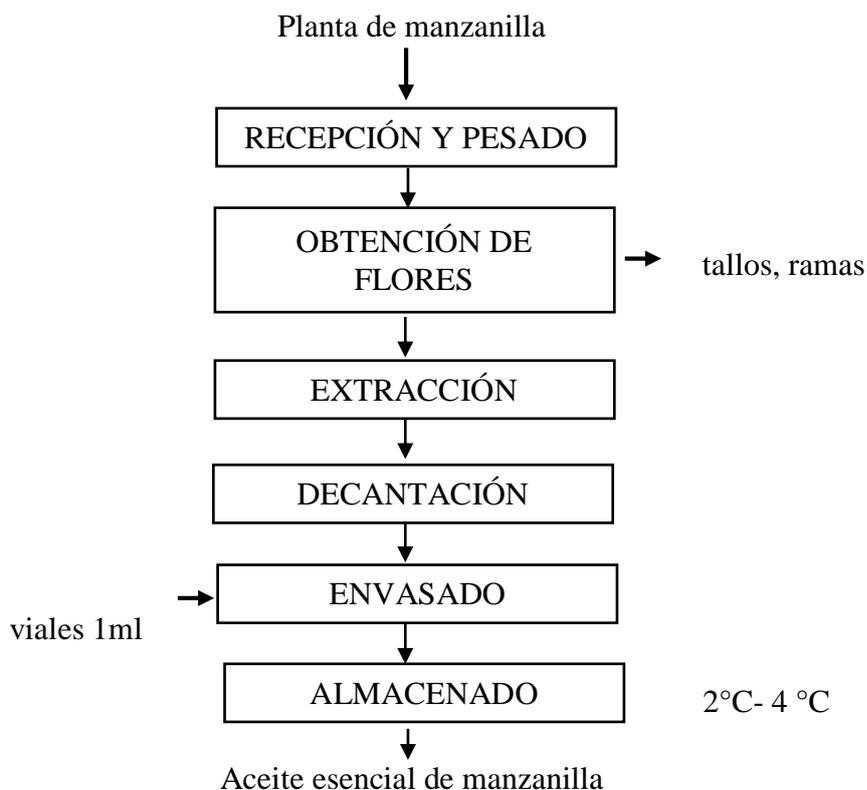


Figura 12: Flujograma para la obtención de aceite esencial de manzanilla (*Matricaria recutita* L)

a. RECEPCIÓN Y PESADO DE MATERIA PRIMA

La manzanilla fue recibida en bolsas de papel procedente de Incahuasi (Lambayeque). Durante la recepción se llevó a cabo el pesado con la finalidad de calcular posteriormente el rendimiento de la planta.

b. OBTENCIÓN DE LAS FLORES

Se retiró toda materia vegetal que presentó signos de degradación y plantas de naturaleza ajena a la manzanilla; posterior a ello, se procedió a separar las flores de las ramas y tallos en forma manual. Por último, se pesaron las flores para calcular más adelante el rendimiento tanto de la planta como del aceite.

c. EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL

El aceite esencial de manzanilla se extrajo a partir de sus flores, las cuales tuvieron 75% de humedad, mediante dos métodos, los cuales fueron:

- MICROONDAS SIN SOLVENTE

La extracción de aceite esencial se llevó a cabo en un equipo de extracción por microondas modelo ETHOS X; se probó diferentes potencias (1000, 1200 y 1400 watts) con distintos tiempos (20, 40 y 60 minutos) con la finalidad de obtener el tratamiento que logre el mayor rendimiento porcentual del aceite esencial de manzanilla. Cabe señalar que para cada extracción se utilizaron 600 gramos de flores de manzanilla.

- DESTILACIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR

Se llevó a cabo en un destilador por arrastre con vapor. Se utilizó 600 gramos de flores y para generar el vapor dentro de la olla de extracción se utilizó 2L de agua, que estuvo separada de las flores de manzanilla mediante una rejilla. Cabe mencionar que este método se realizó considerando parámetros fijos tales como temperatura a 100° C, presión atmosférica y a 60 minutos. (González, 2012).

d. DECANTACIÓN

Se realizó para separar el aceite esencial del agua con la cual se extrajo después de la extracción por ambos métodos. El aceite esencial tuvo una densidad menor a la del agua, por lo que se pudo separarse fácilmente de ésta.

e. ENVASADO Y ALMACENADO

El aceite esencial de manzanilla obtenido por ambos métodos se envasaron en viales de vidrio ámbar de 1 ml (ver Anexo 6) y se almacenaron en refrigeración entre 2°C- 4°C.

3.5.2. DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO

Para calcular el rendimiento de extracción para ambos métodos, se hizo en base al volumen (ml) de aceite esencial obtenido y el peso (g) de las flores de manzanilla, empleándose la siguiente fórmula:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Volumen del aceite esencial (ml)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} * 100$$

3.5.3. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL

La caracterización físicoquímica del aceite esencial consistió en los siguientes análisis físicoquímicos: densidad relativa, índice de refracción, índice de acidez y solubilidad en etanol al 70 por ciento.

a. DENSIDAD RELATIVA

La densidad relativa según la NTP ISO279:2011, es la relación entre la densidad del aceite esencial a 20°C y la del agua destilada a la misma temperatura. Se determinó utilizando un picnómetro y empleando la siguiente fórmula:

$$d = \frac{P2 - P}{P1 - P}$$

Dónde:

- d: densidad relativa
- P: peso en gramos del picnómetro a 20°C
- P1: peso en gramos del picnómetro lleno con agua destilada a 20°C
- P2: peso en gramos del picnómetro lleno con la esencia a 20°C

b. ÍNDICE DE REFRACCIÓN

El índice de refracción es la relación entre el seno del ángulo de incidencia y el seno del ángulo de refracción cuando un rayo de luz de longitudes de onda definidas pasa desde el aire hacia el aceite esencial conservado a temperatura constante. Para su determinación se colocó la muestra de ensayo en el refractómetro, se esperó hasta que la temperatura sea estable y se realizaron las mediciones. (NTP ISO 280: 2011).

El índice de refracción n_D^t , a la temperatura especificada t (20°C), está dado por la siguiente ecuación:

$$n_D^t = n_D^{t'} + 0.0004 (t' - t)$$

Dónde:

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

c. SOLUBILIDAD EN ETANOL

Es la solubilización alcohólica del aceite esencial al ser diluido en un volumen determinado de etanol de cierta graduación (NTP 319.084: 1974).

Consistió en la adición, a un volumen determinado de aceite esencial, de volúmenes de solución de etanol de 70 por ciento hasta que el aceite se disolvió completamente, agitándose frecuente y vigorosamente durante la adición del solvente (NTP 319.084: 1974).

$$S = \frac{V}{V_1}$$

Dónde:

- S: solubilidad en etanol
- V: volumen en ml de la solución en etanol (70%)
- V1: volumen en ml del aceite esencial

d. ÍNDICE DE ACIDEZ

Es el número de mg de hidróxido de potasio necesarios para neutralizar los ácidos libres contenidos en 1 g de aceite esencial. (NTP 319.085: 1974). Para ello, se colocó la muestra, previamente pesada, en un matraz Erlenmeyer, luego se procedió a añadir 5 ml de etanol (95%) y 5 gotas de fenolftaleína; finalmente se neutralizó la solución con hidróxido de potasio (0.1 N) hasta un cambio de color que persistió por unos segundos. Para calcular el índice de acidez, se empleó la siguiente fórmula:

$$IA = \frac{5.61 * V}{P}$$

Dónde:

- IA: índice de acidez
- V: volumen gastado en mililitros de KOH
- P: peso en gramos de la muestra de aceite

3.5.4. ANÁLISIS E IDENTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS DEL ACEITE ESENCIAL DE MANZANILLA

Se extrajeron los compuestos volátiles de la muestra de aceite esencial de manzanilla (*Matricaria recutita* L.) mediante disolvente (etanol), disolución al 1%. La separación de dichos compuestos se realizó por cromatografía de gases (GC) usando gradiente de temperaturas (30 °C a 250 °C), y la detección se realizó por espectrometría de masas (MS). Por otro lado, las condiciones cromatográficas que se emplearon se mencionan a continuación:

a. CROMATÓGRAFO DE GASES

- Temperatura de inyección : 250°C
- Temperatura de detección: 230°C
- Helio gas portador
- Columna capilar J&W HP-INNOWax 60m, 0.25 mm, 0.25 µm

b. ESPECTRÓMETRO DE MASAS (MS)

- Modo TIC, 70eV Energía de ionización (EI)

Los analitos se separaron en el cromatógrafo e ingresaron al detector de masas que proporcionó el espectro, identificando así a la mezcla compleja de aceites esenciales, mediante las señales producidas por las especies generadas durante la ionización y la fragmentación de cada sustancia (Stashenko y René, 2010).

3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para determinar si existe efecto de los factores sobre la variable respuesta (rendimiento), se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y para determinar diferencias significativas entre las medias de los niveles de los factores se usó la prueba estadística Tukey a un nivel de significancia de $\alpha= 0.05$. Lo expuesto se desarrolló en el software Statgraphics Centurion 18.

El modelo aditivo lineal de efectos para este diseño fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + E_{ijk}$$

Donde:

- Y_{ijk} : Variable respuesta del i-ésimo tratamiento del factor α (potencia) en el j-ésimo tratamiento del factor β (tiempo) de la k-ésima unidad experimental.
- μ : Efecto de la media poblacional
- α_i :Efecto del nivel i del factor α (potencia)
- β_j : Efecto del nivel j del factor β (tiempo)
- $(\alpha\beta)_{ij}$: Efecto de la interacción

- E_{ijk} : Efecto del error experimental de la i -ésima potencia en la j -ésima temperatura y la k -ésima unidad experimental.

$i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3; k = 1, 2, 3$

3.7. DISEÑO EXPERIMENTAL

En la Figura 13, se observa el esquema experimental que se ejecutó en la presente investigación, este partió desde la materia prima, flores de manzanilla con un 75% de humedad, para luego extraer su aceite esencial empleando dos métodos de extracción: destilación por arrastre con vapor y microondas libre de solvente.

El producto obtenido de la primera técnica y el mejor tratamiento respecto al mayor rendimiento de extracción en porcentaje del segundo método, fueron caracterizados.

Cabe mencionar que para determinar el mejor tratamiento de la extracción por microondas libre de solvente se utilizó un Diseño Completamente al azar con arreglo Factorial, donde los factores fueron:

- Factor A: potencia; niveles: 1000, 1200 y 1400 watts
- Factor B: tiempo; niveles: 20, 40 y 60 minutos

Al combinar los niveles de los factores, se tuvieron $3 \times 3 = 9$ tratamientos para ser evaluados, con tres repeticiones cada uno, dando un total de 27 unidades experimentales.

Una vez caracterizadas las muestras de aceite esencial mediante los controles de densidad relativa (g/ml), índice de refracción, solubilidad en etanol al 70 % (v/v) e índice de acidez, se procedió a analizarlas por cromatografía de gases con espectrometría de masas (CG-MS) para identificar sus componentes químicos mayoritarios. Finalmente los resultados de los controles fueron comparados.

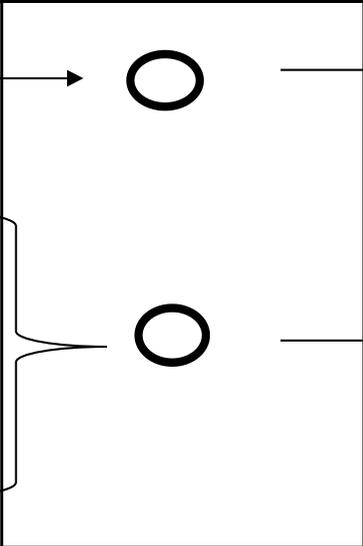
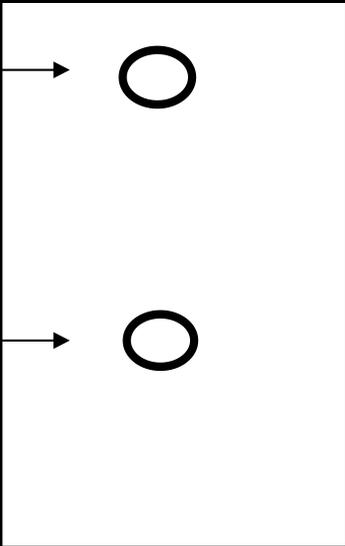
| MATERIA PRIMA | OBTENCIÓN DE ACEITE ESENCIAL (AE) | CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL AE | ANÁLISIS E IDENTIFICACIÓN DE COMPONENTES DEL AE |
|----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| flores de manzanilla | <p>Destilación por Arrastre por Vapor: E0 (temperatura de 100 °C a presión atmosférica)</p> <p>Extracción por microondas sin disolventes:</p> <p>E1: Potencia de 1000 W por 20 min. E2: Potencia de 1000 W por 40 min. E3: Potencia de 1000 W por 60 min. E4: Potencia de 1200 W por 20 min. E5: Potencia de 1200 W por 40 min. E6: Potencia de 1200W por 60 min. E7: Potencia de 1400 W por 20 min. E8: Potencia de 1400 W por 40 min. E9: Potencia de 1400 W por 60 min.</p> |  |  |
| | CONTROLES | CONTROLES | CONTROLES |
| Humedad : 75% | -Rendimiento | -Densidad relativa -Índice de refracción -Solubilidad en etanol (70%) - Índice de acidez | - Componentes principales de los aceites esenciales mediante CG-MS |

Figura 13: Esquema experimental para obtener aceite esencial de manzanilla (*Matricaria recutita* L.)

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. EFECTO DE LOS FACTORES DE POTENCIA DE RADIACIÓN Y TIEMPO DEL PROCESO EN EL RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN POR EL MÉTODO DE MICROONDAS LIBRE DE SOLVENTE

Para obtener el mayor rendimiento de aceite esencial de manzanilla expresado en porcentaje por el método de microondas libre de solvente, se encontró la mejor combinación de niveles de los factores, los cuales fueron la potencia del microondas y tiempo de extracción, ya que según Lucchesi *et al.* (2007) son los más significantes. Asimismo, Chempakan y Sindhu (2008), Farhat *et al.* (2009) y Filly *et al.* (2014) manifiestan que es vital estudiar el efecto del tiempo de extracción para maximizar eficiencias del proceso, y que un ajuste apropiado de la potencia de radiación de microondas asegurará que el aceite esencial se extraiga rápidamente y sea de calidad.

En la Tabla 2, se observan los rendimientos de extracción promedio de las tres repeticiones para cada nivel de potencia de radiación y tiempo del proceso, mientras que los Anexos 7 y 8, muestran los rendimientos del aceite esencial de todas las unidades experimentales y los tres más altos rendimientos del aceite esencial de manzanilla extraído por microondas libre de solvente, respectivamente.

Tabla 2: Efecto de la potencia del microondas y tiempo en el rendimiento de extracción del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria recutita* L.)

| Potencia (watts) | Rendimiento vol. /peso (%) | | |
|------------------|----------------------------|----------------|----------------|
| | Tiempo (min) | | |
| | 20 | 40 | 60 |
| 1000 | 0.0000 | 0.05 ± 0.0000 | 0.067 ± 0.0000 |
| 1200 | 0.008 ± 0.0000 | 0.067 ± 0.0000 | 0.081 ± 0.0017 |
| 1400 | 0.017 ± 0.0000 | 0.058 ± 0.0000 | 0.073 ± 0.0029 |

Al realizar un análisis de varianza (Anexo 9) para la variable respuesta, se identificó un efecto estadísticamente significativo ($p < 0.05$) para los factores estudiados y su interacción, sobre el rendimiento en aceite esencial.

La potencia en el proceso de extracción del aceite esencial de manzanilla mediante microondas libre de solvente, tuvo un efecto significativo en el rendimiento, al igual que en los estudios de Septya *et al.* (2017) y Liang *et al.* (2008), ya que se observó un cambio significativo en la variable respuesta al cambiar de nivel en el factor potencia de radiación. En la Figura 14, se muestra dicho efecto.

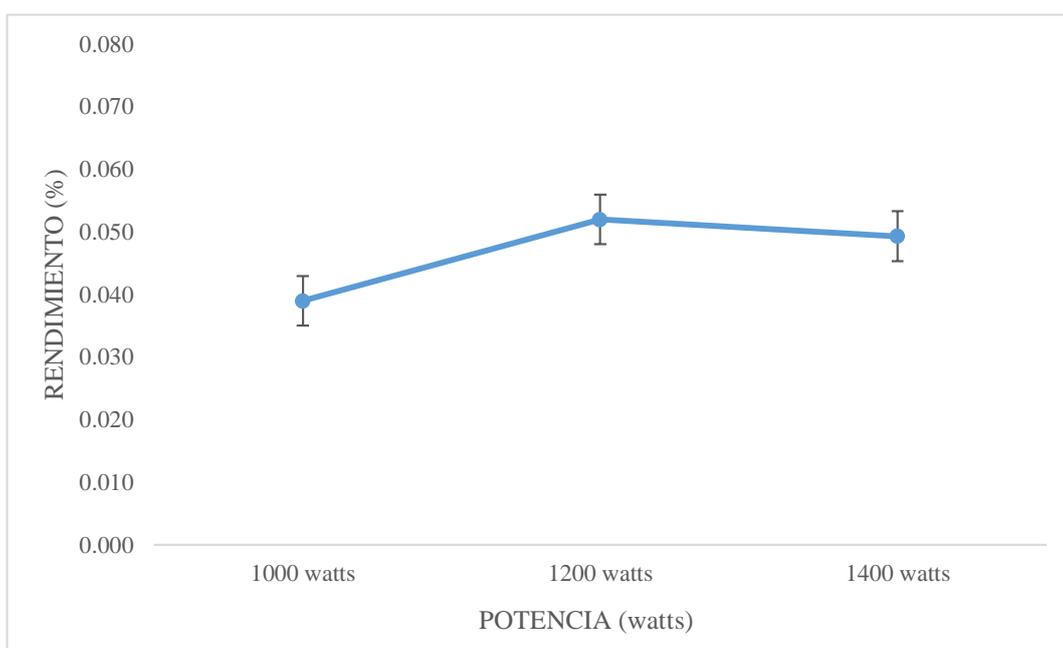


Figura 14: Efecto de la potencia de radiación sobre el rendimiento de extracción por el método microondas libre de solvente

Como se observa en la Figura 14, en la presente investigación se partió de 1000 watts de potencia, no considerándose valores inferiores debido a que no se llegaba al punto de ebullición del agua y esto hacía que la temperatura de extracción sea baja, menor a 100 °C, trayendo como consecuencia que casi no se extrajera aceite esencial, ya que según Singh *et al.* (2019) y Septya *et al.* (2017) al presentar una baja temperatura de extracción, la fuerza motriz para romper la estructura de las membranas celulares de la planta es débil.

Asimismo, los estudios de Veggi *et al.* (2013) indican que la temperatura está controlada por la potencia de microondas incidente, ya que es ésta la que controla la cantidad de energía proporcionada a la matriz, y debido a las interacciones moleculares de los componentes del material a extraer con el campo electromagnético se genera calor lo que se traduce en un aumento de temperatura.

De acuerdo a Chang *et al.* (2011) la potencia proporciona un calentamiento en la muestra que actúa como una fuerza impulsora para que destruya la matriz de la planta; por lo tanto, aumentar la potencia generalmente mejorará el rendimiento de extracción. Así, en la presente investigación, al aumentar la potencia de radiación a 1200 watts los rendimientos de extracción crecieron de una manera lineal, ajustándose a lo reportado por Benmoussa *et al.* (2018), quienes realizaron estudios acerca del aceite esencial de comino y sostuvieron que la potencia del microondas tiene una influencia lineal en el rendimiento. Sin embargo, cuando se aumentó la potencia a 1400 watts, el rendimiento porcentual disminuyó, teniendo una tendencia decreciente a partir del nivel medio del factor en cuestión; esto es apoyado por las investigaciones de Ma *et al.* (2011), Lucchesi *et al.* (2007) y Mandal *et al.* (2007) quienes indican que altas potencias da como resultado la descomposición de paredes celulares del vegetal y degradan compuestos térmicamente sensibles como los volátiles, disminuyendo el contenido de su aceite esencial.

Como se mencionó anteriormente, esto se debió a la interrelación entre la potencia de microondas y la temperatura de extracción, donde el sobrecalentamiento interior por efecto de altas potencias, puede causar que compuestos orgánicos del aceite se descompongan, obteniendo productos de baja calidad y contenido (Yii *et al.* 2017, y Liang *et al.* 2008). Es por ello que tampoco se consideraron potencias mayores a 1400 W, ya que la temperatura de extracción era mayor a 100°C y los rendimientos se volvieron insignificantes.

Al realizar las pruebas de múltiple rangos para rendimiento (%) por potencia (W) para determinar qué pares de niveles de dicho factor no son iguales estadísticamente mediante el método Tukey (Anexo 10), se determinó que todos los niveles del factor potencia fueron diferentes significativamente entre sí.

Además se tomó en cuenta el efecto de interacción de los factores (potencia y tiempo), ya que este también fue significativo según el análisis de varianza; por ello se analizó la Figura 15.

Dicha figura muestra las medias de los niveles de la potencia dentro de cada nivel del factor tiempo, con los intervalos Tukey sobrepuestos. Se puede notar que en los tres niveles del tiempo de extracción, los intervalos de confianza para las medias de las tres potencias de radiación no se traslapan, lo que indica que son estadísticamente diferentes.

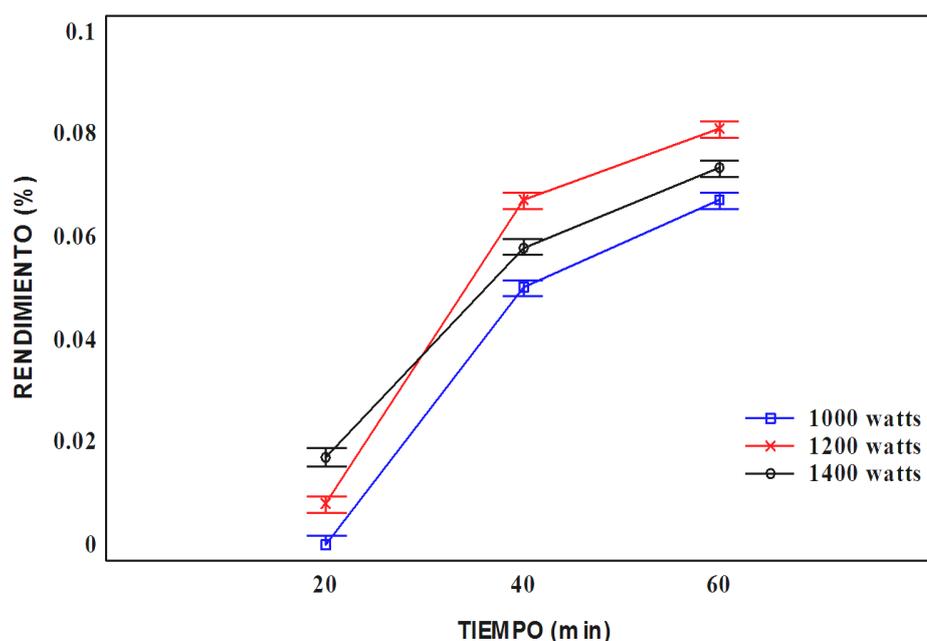


Figura 15: Interacción del tiempo de extracción x la potencia de radiación, con intervalos Tukey sobrepuestos

Asimismo, se puede observar que para los niveles de 40 y 60 minutos del factor tiempo, los niveles medio del otro factor presentaron los mayores valores de rendimiento de extracción. Al ver que todos los pares de niveles del factor potencia son diferentes estadísticamente y lo que interesa es obtener el mayor contenido de aceite esencial, se concluyó que 1200 watts es el nivel de potencia que conviene utilizar.

Con respecto al tiempo de extracción, este factor presentó mayor efecto sobre el rendimiento de extracción que la potencia de radiación y la interacción de dichos factores según el análisis de varianza, coincidiendo con Lucchesi *et al.* (2004), Tran *et al.* (2018), Filly *et al.* (2014) y Liu *et al.* (2018), que indican que el tiempo es el factor predominante en el proceso de extracción por microondas libre de solvente, ya que al variar los niveles de dicho factor el contenido de aceite esencial presente en el material vegetal cambia de manera significativa.

La Figura 16, muestra el efecto que existe entre los diferentes niveles del tiempo de extracción sobre el rendimiento del aceite esencial.

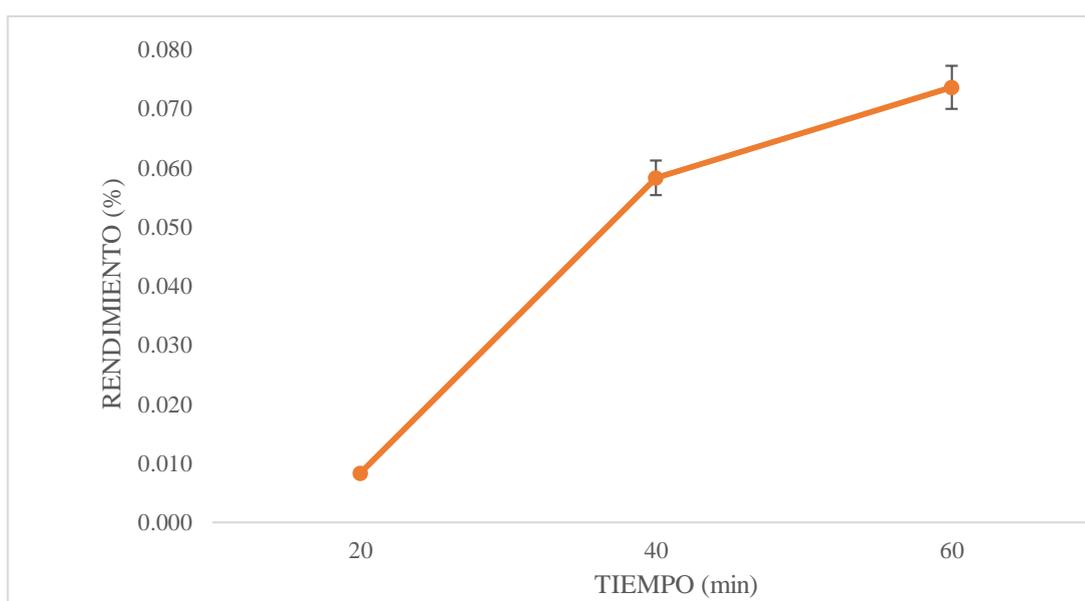


Figura 16: Efecto del tiempo del proceso sobre el rendimiento de extracción en el método microondas libre de solvente

En la Figura 16 se observa que a medida que aumentaron los minutos el rendimiento de extracción se incrementó, coincidiendo con las literaturas de Mandal *et al.* (2007) y Lucchesi *et al.* (2007), donde sostienen que la relación de dichos parámetros es directamente proporcional; sin embargo, Veggi *et al.* (2013) mencionan que una sobreexposición a la radiación de microondas, incluso a una baja potencia operativa, el rendimiento de extracción disminuye.

Por otro lado, Li *et al.* (2013) afirman que el rendimiento del aceite esencial se incrementa de una manera lineal con el aumento del tiempo de extracción; no obstante, al contrastar con los resultados de la presente investigación, la línea de tendencia que mejor se ajustó, ya que presentó como coeficiente de determinación la unidad, fue la polinómica de segundo orden con pendiente negativa, lo que indicó que el tiempo de extracción que presentó mayor rendimiento fue a los 60 minutos, y valores más altos a este, el contenido de aceite esencial extraído podría decrecer; ya que diversos autores, tales como Marqués (2009), Haeusslet *et al.* (2003) y Rojas *et al.* (2012) mencionan que una línea de tendencia polinómica de orden 2 suele tener sólo un máximo o un mínimo valor de la variable respuesta, dependiendo de su pendiente, así si esta es negativa habría solamente un punto máximo. Lo expuesto, está apoyado por las investigaciones de Wang *et al.* (2008) y Veggi *et al.* (2013) quienes manifiestan que tiempos prolongados del proceso causará pérdida de la estructura química de los compuestos activos del aceite, trayendo como consecuencia menores rendimientos de extracción. Por lo dicho, se optó por no incrementar tiempos para evitar pérdidas tanto de la calidad del producto como energéticas por parte del equipo.

Para elegir el nivel del tiempo de extracción que obtuvo mayor rendimiento se precisó a realizar la comparación múltiple de medias de los niveles de dicho factor, mediante el método Tukey (Anexo 11). Este análisis ayudó a concluir que los pares de medias de los niveles del tiempo son estadísticamente distintos entre sí. Asimismo, también se tomó en cuenta el efecto de interacción de los factores (tiempo y potencia), por dicho motivo se analizó la Figura 17.

La Figura 17 muestra como los intervalos de Tukey sobrepuestos para las medias de cada nivel del tiempo de extracción no se traslapan dentro de cada nivel de potencia, indicando de una manera gráfica, que cada nivel del tiempo es diferente significativamente. Además, se puede apreciar que para cualquier valor de potencia evaluada el contenido de aceite esencial fue mayor en el nivel más alto del factor tiempo (60 minutos), y este al tener diferencias significativas con sus otros niveles se concluyó que es el que conviene utilizar.

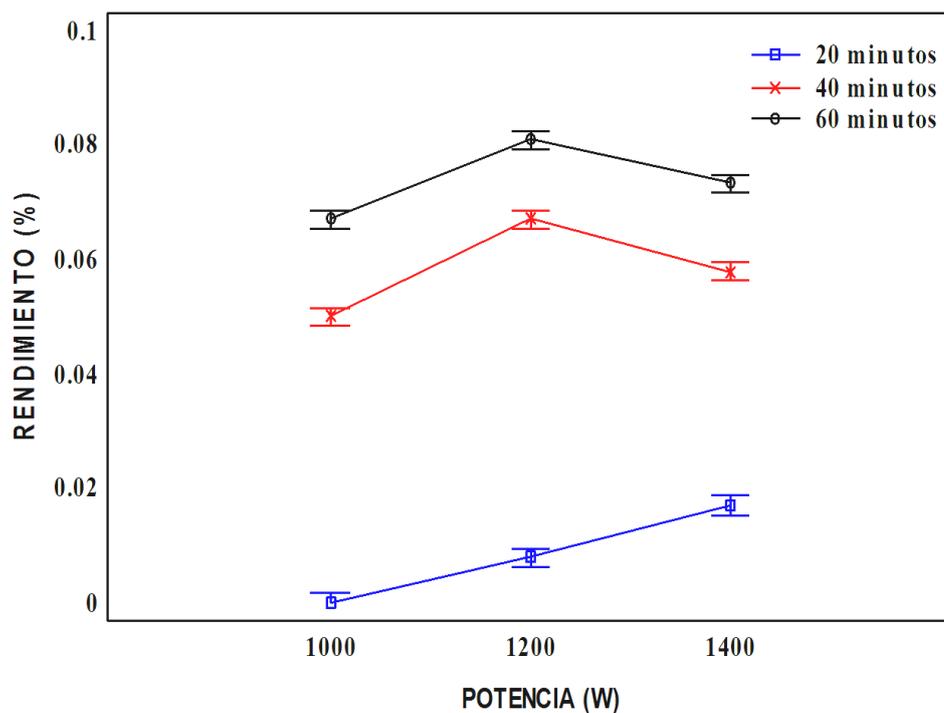


Figura 17: Interacción de la potencia de radiación x tiempo de extracción, con intervalos Tukey sobrepuestos

Para Tran *et al.* (2018) es importante conocer la potencia del microondas y tiempo del proceso que maximicen el rendimiento de extracción, siempre y cuando dichos valores no descompongan los compuestos del aceite esencial, afectando así su calidad; y además que no perjudiquen el costo de producción debido a un elevado consumo de energía. De tal forma, en la presente investigación, la combinación de los niveles de los factores, la cual obtuvo mayor rendimiento de extracción sobre la región experimental fue 1200 watts de potencia con 60 minutos de tiempo de extracción. Cabe resaltar que el valor de la potencia no fue elevado, evitando así pérdidas energéticas.

4.2. RENDIMIENTO DEL ACEITE ESENCIAL DE MANZANILLA OBTENIDO POR LOS MÉTODOS DE MICROONDAS LIBRE DE SOLVENTE Y DESTILACIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR

El aceite esencial de manzanilla se obtuvo a partir de las flores frescas de la planta, ya que es ahí donde se sintetizó y acumuló dicho producto, pues en otras partes de la planta el contenido de aceite fue nulo. Los estudios de Djilani y Dicko (2012) indican que los aceites esenciales se almacenan en estructuras secretoras frágiles especiales; así, investigaciones anatómicas de Das (2015), Ortuño (2006) y Schilcher *et al.* (2005) revelaron que el aceite esencial de manzanilla está presente en todos los órganos de la planta; sin embargo, en las cabezuelas que constituyen la flor el contenido de aceite esencial es mayor, coincidiendo con lo encontrado en la presente investigación.

En la Tabla 3 se muestran los rendimientos de extracción expresados en porcentaje (volumen/peso) de los métodos de arrastre con vapor y microondas libre de solvente.

Tabla 3: Rendimientos de extracción en porcentaje (vol. /p) de los métodos de arrastre con vapor y microondas libre de solvente

| Procedencia de las flores de Manzanilla | Método de extracción | Rendimiento vol/peso (%) |
|-----------------------------------------|------------------------------------|--------------------------|
| Incahuasi-Lambayeque | Destilación por arrastre con vapor | 0.032 ± 0.0023 * |
| Incahuasi-Lambayeque | Microondas libre de solventes | 0.081 ± 0.0017 * |

*: indica diferencia estadística, $p < 0.05$ T de Student

Como se puede observar, los rendimientos de ambos métodos de extracción no superan el 0.1 %, similar a lo encontrado por Gennari (1996), Bowles (2003) y Montoya (2010), quienes mencionan que el contenido total de aceite esencial en las plantas generalmente es muy bajo, siendo la cantidad media de 0.01 a 2%, donde la mayoría no excede al 1%.

El rendimiento del aceite esencial obtenido por destilación por arrastre con vapor, fue el promedio de realizar tres repeticiones (ver Anexo 12) y fue similar al alcanzado por Cano *et al.* (2002), donde a partir de flores de manzanilla de Huehuetenango (Guatemala), y empleando el mismo método lograron obtener 0.032% de aceite. Por otro lado, Hiramatsu *et al.* (1996) y Cosco (2010) obtuvieron valores algo diferentes al reportado, tales como 0.1% y 0.06 %, a partir de flores frescas provenientes de Argentina y Perú, respectivamente. Estas diferencias pueden deberse a las distintas características de la manzanilla empleada en los diversos estudios, tales como especie y lugar de procedencia, tal como lo explica Das (2015).

Asimismo, Kiplagat (1997), McKay y Blumberg (2006), Formisano *et al.* (2014), Mohammad *et al.* (2010), Alvarado (2007), Vinicius *et al.* (2008), Scalia *et al.* (1999) y Matsushita *et al.* (2018) en sus investigaciones indican que el porcentaje de aceite esencial de manzanilla obtenido por métodos convencionales, tales como arrastre con vapor y clevenger varía entre 0.2-2%; estos datos difieren con el obtenido en la presente investigación, esto hace suponer que las flores de manzanilla provenientes de Incahuasi (Lambayeque- Perú) presentan bajo contenido de aceite esencial, pudiéndose deber a factores genéticos o ambientales. Esto está respaldado por Salamon (2007) y Tradent *et al.* (2016), que estudiaron los factores que influyen en el contenido de aceite esencial de la manzanilla, y concluyeron que el rendimiento de extracción está relacionado con la localidad, floración de la planta y prácticas agrícolas, tales como esparcimiento de la planta, programas de riego, fertilizantes y tiempo de cosecha.

En cuanto al rendimiento obtenido por microondas libre de solvente (0.081 %), este fue cercano a los reportados por Saied *et al.* (2016), Gawde *et al.* (2014) y Das (2015), los cuales fueron 0.06%, 0.075 % y 0.08%, respectivamente; pese a que dichos autores emplearon el método convencional de extracción.

En los últimos años diversos autores, tales como Filly *et al.* (2014), Lucchesi *et al.* (2004) y Uysal *et al.* (2009) han extraído aceites esenciales a partir de diversas plantas aromáticas con el método de extracción por microondas libre de solvente, en los que obtuvieron rendimientos que variaron entre 0.029 % y 0.6%. Sin embargo, solo en los estudios de Saied

et al. (2016) emplearon a la manzanilla para extraer su aceite esencial con una técnica similar a la mencionada. Este método fue la hidrodestilación asistida por microondas, donde usaron como solvente al agua; y obtuvieron un rendimiento de extracción de 0.08%, valor cercano al alcanzado en la presente investigación por microondas libre de solvente.

Al realizar una comparación de medias de los rendimientos obtenidos por los métodos en estudio, por la prueba estadística T de student a un nivel de confianza del 95% (Anexo 13), se evidenció diferencia estadística, siendo el método de microondas libre de solvente el que obtuvo mayor cantidad de aceite esencial a partir de flores de manzanilla. Lo reportado se asemeja a lo obtenido por Lucchesi *et al.* (2004), Uysal *et al.* (2009), Okoh *et al.* (2010), Berka-Zougali *et al.* (2012) y Filly *et al.* (2014), quienes compararon los métodos convencionales con el microondas libre de solventes para extraer aceites esenciales, y concluyeron que con este último se obtienen aceites de mayor calidad cuantitativa en un menor tiempo que al emplear destilación por arrastre con vapor e hidrodestilación. Esto respalda los resultados obtenidos, ya que según se puede visualizar en la Figura 18, el rendimiento porcentual (vol./peso) del método por microondas libre de solvente fue más efectivo, ya que superó en más del 50 % al método de destilación por arrastre con vapor.

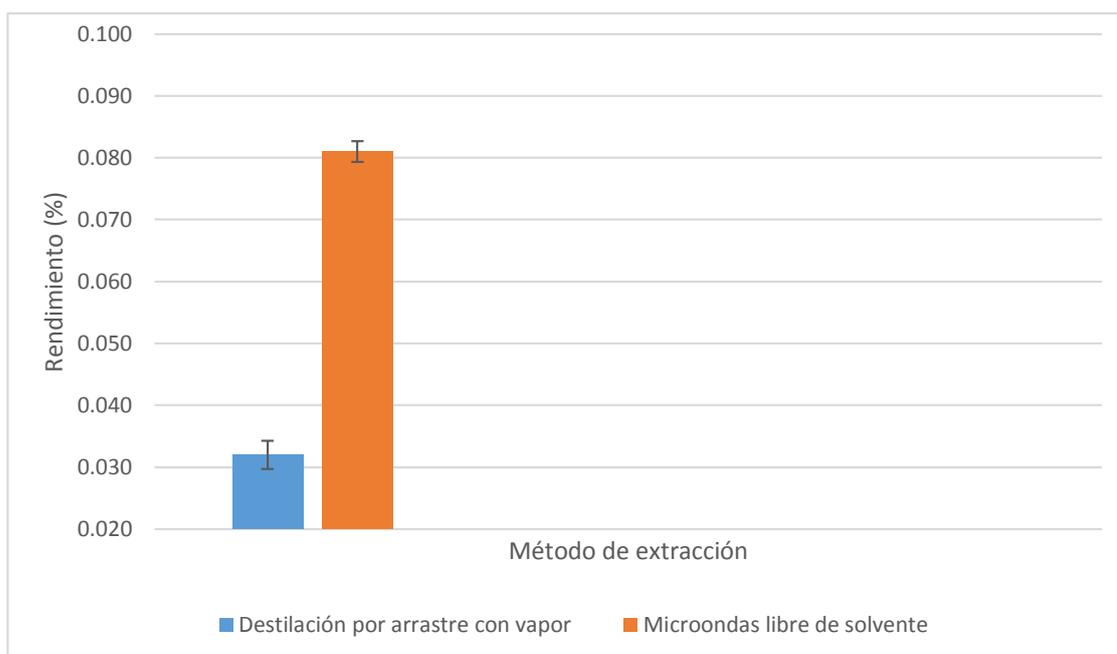


Figura 18: Rendimiento de extracción de aceite esencial para los métodos de microondas libre de solvente y destilación por arrastre con vapor

El método por microondas libre de solvente, proporcionó mayor rendimiento de aceite esencial y hubo ahorro de energía ya que para su uso no se utilizó agua y ningún tipo de solvente, por su parte Li *et al.* (2013) mencionan que este método es más viable comparándolo con la destilación por arrastre con vapor e hidrodestilación, desde el punto de vista económico y medioambiental.

4.3. CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DEL ACEITE ESENCIAL DE MANZANILLA

Las características fisicoquímicas del aceite esencial extraído por los métodos de microondas libre de solvente y destilación por arrastre con vapor, se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4: Características fisicoquímicas del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria recutita L*) extraído por microondas libre de solvente y destilación por arrastre con vapor

| Característica fisicoquímica | Microondas libre de solvente | Destilación por arrastre con vapor |
|------------------------------|------------------------------|------------------------------------|
| Color | Azul | Azul |
| Índice de refracción | 1.5013 ± 0.0001* | 1.4790 ± 0.0000* |
| Densidad relativa (g/ml) | 0.929 ± 0.0028 | 0.925 ± 0.0138 |
| Solubilidad en etanol al 70% | 4 | 4 |
| Índice de acidez | 6.2333 ± 0.0780* | 3.4284 ± 0.1031* |

*: indica diferencias significativas entre los métodos de extracción, $p < 0.05$ T de Student

Respecto al color, ambos métodos extrajeron aceites de color azul, coincidiendo con los resultados de Hiramatsu *et al.* (1996), Raal *et al.* (2003), Singh *et al.* (2011) y Das (2015). Asimismo, Srivastava *et al.* (2010) y Buckle (2015) mencionan que es posible obtener aceite esencial de manzanilla azul brillante, verde o amarillo, y esto dependerá de la cantidad de chamazuleno presente en el aceite y de la variedad de la planta utilizada.

Es por ello que Man y Staba (1992) y Singh *et al.* (2011) sostienen que la coloración del aceite esencial de manzanilla dependerá de su composición, ya que son los terpenoides, básicamente el chamazuleno, el encargado de dar el color azul profundo al aceite, principalmente al de la variedad alemana; justamente la especie que se utilizó en la presente investigación

En cuanto al índice de refracción (IR), se puede notar que el valor obtenido por el método de microondas libre de solvente fue mayor en comparación al de arrastre con vapor a nivel laboratorio, los datos presentaron diferencias significativas; sin embargo, ambos se encuentran en el rango planteado por D' Acampora *et al.* (2010), que sostienen que dicho parámetro para el aceite esencial de manzanilla oscila entre 1.4500 a 1.5900. Torrenegra *et al.* (2015), mencionan que valores mayores a 1, indican que el aceite esencial es rico en terpenos y además presenta compuestos aromáticos. Según este criterio el aceite esencial de manzanilla extraído tanto por microondas libre de solvente y arrastre con vapor a nivel laboratorio, está constituido principalmente por compuestos terpénicos y esto se puede evidenciar en las tablas de los Anexos 14 y 15.

El IR del aceite obtenido por microondas libre de solvente coincide al reportado por Bottcher *et al.* (2005) y Ristic *et al.* (2007), pero no al alcanzado por Torrenegra *et al.* (2017), que empleando el método de hidrodestilación asistida por microondas obtuvo un aceite con índice de refracción 1.3800. Por otro lado, el IR del aceite esencial obtenido por destilación por arrastre con vapor fue similar al reportado por Burdock (2010), y cercano al especificado por Johnson *et al.* (2017).

El valor de la densidad relativa para el aceite esencial de manzanilla extraído por microondas libre de solvente fue de 0.929 g/ml y por destilación por arrastre con vapor fue 0.925 g/ml, estos no tuvieron diferencias significativas; encontrándose ambas densidades dentro de los rangos mencionados por D' Acampora *et al.* (2010) y Mann y Staba (1992), los cuales son de 0.696 a 1.118 g/ml y de 0.91 a 0.95 g/ml, respectivamente.

Por su parte, Bottcher *et al.* (2005) reportan una densidad relativa similar a la de los aceites esenciales obtenidos en la presente investigación; sin embargo, Cano *et al.* (2002) y Torrenegra *et al.* (2017) indican valores muy diferentes (1.200 g/ml y 1.093 g/ml para el aceite esencial de manzanilla), pudiéndose deber a la diferente materia prima utilizada por dichos autores, ya que ellos usaron manzanilla procedente de Guatemala y Colombia, respectivamente. Con ello se puede deducir que las diversas especies de manzanilla, como su lugar de procedencia, manejo agronómico, etc., influyen en los componentes presentes en su aceite esencial, que a su vez trae desigualdades en sus propiedades fisicoquímicas, tal como lo mencionan Salamon *et al.* (2010) y Salamon (2004) en sus investigaciones con manzanilla cultivada en diferentes zonas de Irán y Eslovaquia, respectivamente.

Husnu *et al.* (2007) afirman que los aceites esenciales con un menor valor del índice de refracción y densidad están relacionados con una menor cantidad de fenoles. Asimismo, Granados *et al.* (2012) señalan que los aceites esenciales con índices de refracción mayores a 1.47 y densidades superiores a 0.9 g/mL tienen en su composición cantidades importantes de compuestos oxigenados aromáticos. Según el criterio planteado, el aceite esencial de manzanilla extraído por microondas libre de solvente y destilación por arrastre con vapor presentarían cantidades de compuestos oxigenados en su composición.

Respecto a la prueba de solubilidad en etanol al 70%, el aceite esencial de manzanilla extraído por ambos métodos presentó el mismo valor de solubilidad (4 volúmenes), ajustándose a lo reportado por Torrenegra *et al.* (2017). Asimismo, D' Acampora *et al.* (2010) y Tellez (2017) indican que el contenido de compuestos oxigenados en aceites esenciales, además de proveer las notas aromáticas agradables, aumentan su solubilidad en etanol, esto es debido a que los aldehídos y alcoholes aromáticos poseen la capacidad de formar puentes de hidrógeno. Por otro lado, los aceites envejecidos o almacenados incorrectamente con frecuencia presentan una solubilidad disminuida. Con lo mencionado, se pudo evidenciar la presencia de compuestos oxigenados en el aceite esencial de manzanilla extraído por los métodos de microondas libre de solvente y destilación por arrastre con vapor, también que los aceites esenciales se almacenaron de una forma correcta; por otra parte, al observar la Tabla 4, los valores de índice de acidez que se obtuvieron para ambos métodos de extracción presentaron diferencias significativas, siendo el de microondas libre de solvente mayor.

Dicha diferencia se puede deber al distinto porcentaje de compuestos aromáticos de los aceites esenciales obtenidos por microondas y destilación por arrastre con vapor; ya que Mattisek *et al.* (1998) indican que el índice de acidez es una medida del contenido de ácidos libres presentes en el aceite y en ocasiones, permite tener conclusiones acerca del tratamiento o reacciones de degradación que se hayan producido; en el caso de los aceites esenciales, éstos contienen varios compuestos aromáticos y a menudo son ácidos grasos libres

Kumar (2014) menciona que un aceite esencial con alto índice de acidez se considera defectuoso, porque se degrada rápidamente o se vuelve rancio; en la presente investigación, pese a que el valor de acidez del aceite esencial de manzanilla extraído por microondas libre de solvente resultó ser mayor al de arrastre con vapor, no se le consideró un índice alto, ya que se encontró dentro del rango recomendado por Mann y Staba (1992), el cual va de 5 a 50, asimismo dicho índice de acidez fue similar al reportado por Bottcher *et al.* (2005), los cuales también mencionan que dicho parámetro no debe superar los 15.

4.4. IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS DEL ACEITE ESENCIAL DE MANZANILLA

La Tabla 5, muestra los principales compuestos activos del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria recutita* L.) extraído por destilación por arrastre con vapor y microondas libre de solvente. Por su parte, los Anexos 16 y 17 presentan los cromatogramas del aceite esencial de manzanilla extraído por los métodos en estudio; ambos presentaron los mismos componentes mayoritarios, siendo estos el α -bisabolol, β -cariofileno, óxido B α -bisabolol, β -elemeno y germacreno- D. Los estudios de Torrenegra *et al.* (2017), Saied *et al.* (2016), Raal *et al.* (2011) y Falzari y Menary (2003) reportan que los elementos abundantes en el aceite esencial de manzanilla son el α -bisabolol y el óxido B de bisabolol, coincidiendo con lo reportado.

Por otro lado, Orav *et al.* (2001), Costescu *et al.* (2008), Wesolowska *et al.* (2015) y Stanojevic *et al.* (2016) en sus investigaciones sobre la composición química del aceite esencial de manzanilla alemana, sostienen que aparte de los componentes ya mencionados, el chamazuleno (5 %- 20%), β -farneseno (4 %-30%), espatulenol (14%) y espiroéter (5%) son compuestos que se encuentran en cantidades representativas.

Si bien es cierto el chamazuleno y farneseno están en los aceites analizados en la presente investigación, pero estos se hallan en menor porcentaje a los mencionados por los autores citados. Estas diferencias se pueden deber a la materia prima utilizada, ya que la manzanilla se encuentra creciendo en forma silvestre en muchos países y esta variabilidad de lugar de procedencia influye en la composición química de su aceite esencial porque hay efecto del medio ambiente y manejo agronómico donde es cosechada. Todo lo mencionado está corroborado con las investigaciones de Formisano *et al.* (2015), Orav *et al.* (2010) y Tradent *et al.* (2016) donde analizaron aceites esenciales de manzanilla proveniente de Italia, distintos países de Europa, Asia y África, respectivamente, y concluyeron que el cambio de lugar influye en la composición química.

Tabla 5: Principales componentes presentes en el aceite esencial de manzanilla obtenido mediante arrastre con vapor y microondas libre de solvente

| Compuestos | Porcentaje de abundancia (%) | |
|-----------------------------|----------------------------------------------------------------|------------------------------|
| | Aceite esencial de manzanilla (<i>Matricaria recutita</i> L.) | |
| | Destilación por arrastre con vapor | Microondas libre de solvente |
| α -bisabolol | 24.72 | 20.6 |
| Óxido B α -bisabolol | 10.88 | 12.18 |
| β -cariofileno | 17.47 | 13.18 |
| β -elemeno | 4.76 | 5.89 |
| Germacreno- D | 5.49 | 4.11 |
| Óxido A α -bisabolol | 1.53 | 2.88 |
| Chamazuleno | 4.46 | 2.27 |
| α -farneseno | 2.99 | 3.09 |
| Cis- β -farneseno | 1.75 | 1.93 |

Los aceites esenciales de manzanilla extraídos por destilación por arrastre con vapor y microondas libre de solvente presentaron los mismos componentes, sin embargo se diferenciaron en sus porcentajes de abundancia (Tabla 5); por lo que se puede inferir que el método de extracción influye en las cantidades de los compuestos químicos del aceite esencial. Lo expuesto está apoyado por la investigación de Saied *et al.* (2016) donde analizaron la composición química de muestras de aceites esenciales de manzanilla extraídos por arrastre con vapor e hidrodestilación asistida por microondas, y estas presentaron diferencias cuantitativas. El último método obtuvo aceite con porcentajes más altos de óxido B α -bisabolol, óxido A α -bisabolol y α -farneseno, al igual que el aceite de manzanilla obtenido por microondas libre de solvente que se analizó en la presente investigación.

Respecto a las diferencias en los porcentajes de los componentes de las muestras estudiadas en esta investigación, se pudo notar que el aceite obtenido por el método convencional presentó mayor abundancia de α -bisabolol, β -cariofileno, germacreno- D y chamazuleno en comparación al de microondas libre de solvente. Por otro lado, el extraído por este último mostró mayor porcentaje para el óxido B α -bisabolol, β -elemeno, óxido A α -bisabolol, α -farneseno y cis- β -farneseno. La Figura 19, muestra los porcentajes de los principales componentes del aceite esencial de manzanilla obtenido por los dos métodos.

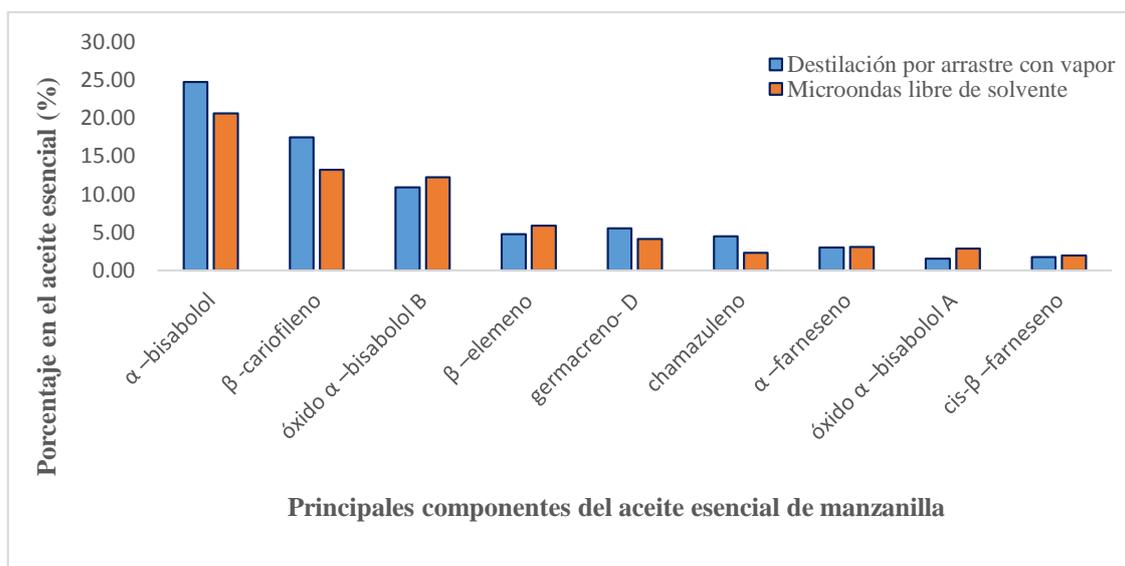


Figura 19: Porcentaje de los principales componentes del aceite esencial de manzanilla extraído por destilación por arrastre con vapor y microondas libre de solvente

Los componentes presentados en la Figura 19 fueron los más representativos del aceite esencial de manzanilla, aparte de estar en cantidades considerables la mayoría son considerados antibacteriales, antiinflamatorios y antioxidantes. Tal es el caso del α – bisabolol, donde estudios de Cavalieri *et al.* (2004) y Darra *et al.* (2008) han demostrado un fuerte efecto citotóxico dependiente del tiempo y la dosis en líneas celulares de glioma y carcinoma pancreático humano y de ratas altamente malignas; por otra parte Leite *et al.* (2011) evidenciaron actividad antiinflamatoria en dicho componente, ya que inhibió la dermatitis inducida por agentes nocivos en ratones. En el presente estudio, el aceite esencial de manzanilla obtenido por el método de destilación por arrastre con vapor fue el que obtuvo mayor porcentaje (24.72 %) de α –bisabolol que el extraído por microondas libre de solvente (20.6 %), sin embargo, ambos valores fueron cercanos y no tan bajos. Por otro lado, el aceite del método no convencional fue el que presentó mayor cantidad de óxidos A y B del α – bisabolol, siendo estos compuestos antiinflamatorios y antimicrobianos, puesto que análisis confirmaron su poder para inhibir el crecimiento de *S. aureus*, *S. epidermis*, *E. coli*, *S. setubal*, *K. pneumoniae* y *M.luteal* (Simionatto *et al.* 2006; Issac, 1979).

Respecto al compuesto de chamazuleno, autores como Singh *et al.* (2011), Fejer y Salamon (2016) afirman que junto al α –bisabolol y sus óxidos, son los más valiosos y representativos del aceite esencial de manzanilla de la variedad alemana; debido a que el chamazuleno es el responsable de dar la coloración azul al aceite esencial, aparte de tener características antiinflamatorias, analgésicas y antioxidantes. Así Buckle (2003) menciona que el precio del aceite esencial de manzanilla alemana generalmente está relacionado con la presencia del chamazuleno. Según se observa la Figura 19, los aceites esenciales de ambos métodos de extracción presentaron dicho compuesto activo, estando en mayor porcentaje en la muestra obtenida por destilación por arrastre con vapor. Asimismo, ambos datos se encuentran en el rango típico mencionado por Clarke (2008) dónde indica que el chamazulene generalmente se encuentra entre 2 %-7.5 % en el aceite esencial de manzanilla de variedad alemana.

Además de los constituyentes ya mencionados, investigadores como Bruce *et al.* (2005) y Zhang *et al.* (2011) aseveran que componentes volátiles del aceite esencial de manzanilla tales como α –farneseno, germacreno-D, β –elemeno, tienen efectos en el control de plagas, propiedades antimicrobianas y anticancerígenas, respectivamente.

Siendo el método de microondas libre de solvente el que extrajo aceite esencial con mayor porcentaje del elemento α -farneseno y β -elemeno, siendo este último un compuesto valioso por ser inhibidor del ciclo celular e inducir a la apoptosis en estudios in vitro e in vivo combinado con métodos moleculares (Zhai *et al.* 2019).

El β -cariofileno fue el segundo compuesto más abundante en el aceite esencial extraído por ambos métodos. El aceite obtenido por destilación por arrastre con vapor presentó mayor porcentaje (17.47 %) en comparación al extraído por microondas libre de solvente (13.18 %). Sin embargo, no es considerado como componente marcador para la autenticación del aceite esencial de manzanilla de la variedad alemana, inclusive no se encuentra presente en diversas investigaciones donde analizan la composición química de dicho aceite esencial. No obstante, puede ser valorado, ya que según las investigaciones de Fidyt *et al.* (2016), Klauke *et al.* (2014) y Calleja *et al.* (2013) el compuesto posee actividades anticancerígenas significativas, pues afectan al crecimiento y proliferación de numerosas células cancerígenas. Asimismo, tiene efectos analgésicos en ratones con dolor inflamatorio y neuropático y propiedades antioxidantes ya que es un eliminador de radicales libres.

Por todo lo expuesto se podría indicar que el aceite esencial de manzanilla (*Matricaria recutita*), extraído tanto por destilación por arrastre con vapor y microondas libre de solvente muestra propiedades destacadas, tales como antioxidante, antimicrobiana, analgésica y anticancerígena, por lo que tendría aplicación en la industria alimentaria ya que según Bhavaniramy *et al.* (2019), los aceites esenciales son capaces de usarse como conservantes alternativos para aumentar la vida útil de los alimentos por sus propiedades antes mencionadas, dadas por sus terpenos y compuestos volátiles aromáticos presentes.

V. CONCLUSIONES

1. La mejor combinación de los niveles de los factores de potencia de radiación y tiempo del proceso, que obtuvo el mayor valor de rendimiento de extracción en el método de microondas libre de solvente fue 1200 watts y 60 minutos.
2. Los métodos de extracción mostraron diferencias significativas en cuanto a su rendimiento de extracción del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria recutita* L.); el obtenido por microondas sin solvente presentó un valor mayor (0.081%) en comparación al obtenido por arrastre con vapor (0.032%).
3. El aceite esencial de manzanilla (*Matricaria recutita* L.) extraído por microondas libre de solvente presentó una coloración azul, una densidad relativa de 0.929g/ml, un índice de refracción de 1.5013, solubilidad en etanol (70 %) de 4 volúmenes e índice de acidez de 6.2333; mientras que el obtenido por arrastre con vapor, tuvo una coloración azul, una densidad relativa de 0.925g/ml, un índice de refracción de 1.4790, solubilidad en etanol (70 %) de 4 volúmenes e índice de acidez de 3.4284.
4. El aceite esencial de manzanilla (*Matricaria recutita* L.) obtenido por microondas libre de solvente tuvo como componentes mayoritarios a : α -bisabolol (20.6 %), β -cariofileno (13.18 %), óxido B α -bisabolol (12. 18 %) y β -elemeno (5. 89 %); mientras que el obtenido por arrastre con vapor presentó, α -bisabolol (24. 72 %), β -cariofileno (17. 47 %), óxido B α -bisabolol (10. 88 %) y germacreno- D (5. 49 %).

VI. RECOMENDACIONES

- Determinar la vida útil del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria recutita* L.).
- Realizar la aplicación del aceite esencial de manzanilla en la Industria Alimentaria.
- Realizar un estudio de prefactibilidad para el aceite esencial de manzanilla obtenido por microondas libre de solvente.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Aliaga, E. & Acevedo, J. (2017). Estudio de pre-factibilidad para la instalación de una planta de producción de bolsas filtrantes de manzanilla común (*Chamomilla recutita* L. Rauschert) (Tesis de pregrado, Universidad de Lima). Recuperado de <http://repositorio.ulima.edu.pe/handle/ulima/5832>
- Alonso, J. (2004). Tratado de fitofármacos y nutraceuticos. Rosario, Argentina: Corpus.
- Alvarado, G. (2007) Determinación del rendimiento del aceite esencial de las flores de manzanilla (*Matricaria recutita* L.) en función de la altura sobre el nivel del mar en que está cultivada, aplicando el método de extracción por arrastre con vapor a nivel laboratorio (Tesis de pregrado, Universidad de San Carlos de Guatemala). Recuperado de http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_1016_Q.pdf
- Amat, A. (1982). Morfología y anatomía comparadas de *Chamaemelum nobile* L, *Chamomilla recutita* L y especies adulterantes. Acta Farmacéutica Bonaerense, 1 (2): 81-94. Recuperado de <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/7421>
- Anwar, F; Hussain, A; Sherazi, S; Bhangar, M. (2009). Changes in composition and antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) fruit at different stages of maturity. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants, 15: 1-16. doi: [10.1080/10496470903139488](https://doi.org/10.1080/10496470903139488)
- Armijo, J; Vicuña, E; Romero; Otiniano, P; Condorhuamán, C; Hilario, B. (2012). Modelamiento y simulación del proceso de extracción de aceites esenciales mediante la destilación por arrastre con vapor. Revista Peruana de Química e Ingeniería Química, 15(2):19-27. Recuperado de <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/quim/article/view/4967>
- Asbahani, A.E; Miladi, K; Badri, W; Sala, M; Ait Addi, E.H; Casabianca, H; Mousadik, A.E; Hartmann, D; Jilale, A; Renaud, F.N; Elaissari, A. (2015). Essential oils: from extraction to encapsulation. International Journal of Pharmaceutics, 483: 220-243. doi: [10.1016 / j.ijpharm.2014.12.069](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.12.069)
- Ávalos, A & Pérez-Urria, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. Revista Reduca (Serie Fisiología Vegetal), 2(3): 119-145

- Bakkali, F; Averbeck, S; Averbeck, D; Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils-a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 446- 475. doi: [10.1016/j.fct.2007.09.106](https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106)
- Bandoni, A. (2003). *Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica: su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores* (2° ed.). La Plata, Argentina: CYTED.
- Benmoussa, H; Elfalleh, W; H.E, S; Romdhane, M; Benhamou, A; Chawech, R. (2018). Microwave hydrodiffusion and gravity for rapid extraction of essential oil from Tunisian cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds: optimization by response surface methodology. *Industrial Crops & Products*, 124:633-642. doi: [10.1016/j.indcrop.2018.08.036](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.036)
- Berka-Zougali, B; Ferhat, M; Hassani, A; Chemat, F; Allaf, K. (2012). Comparative study of essential oils extracted from Algerian *Myrtus communis* L. leaves using microwaves and hydrodistillation. *International Journal of Molecular Sciences*, 13: 4673-4695. doi: [10.3390/ijms13044673](https://doi.org/10.3390/ijms13044673)
- Beyer, H & Wolfgang, W. (1987). *Manual de química orgánica*. Málaga, España: Editorial Reverté.
- Bhavaniramy, S; Vishnupriya, S; Saleh, M; Vijayakumar, R; Baskaran, D. (2019). Role of essential oils in food safety: antimicrobial and antioxidant applications. *Grain & Oil Science and Technology*, 2 (2): 49-55. doi: [10.1016/j.gaost.2019.03.001](https://doi.org/10.1016/j.gaost.2019.03.001)
- Bruce, T; Birkett, M; Blande, J; Hooper, A; Martin, J; Khambay, B; Prosser, I; Smart, L; Wadhams, L. (2005). Response of economically important aphids to components of *Hemizygia petiolata* essential oil. *Pest Management Science*, 61: 1115–1121. doi: [10.1002/ps.1102](https://doi.org/10.1002/ps.1102)
- Bottcher, H; Gunther, I; Carle, R; Heindl, A. (2005). Processing of raw material. In R. Franke & H. Schilcher (Eds.), *Chamomile industrial profile* (p. 185-207). Florida, Estados Unidos: Taylor & Francis.
- Boukhobza, F; Goetz, P. (2014). *Phytothérapie en odontologie*. Francia: CDP.
- Bowles, E: (2003). *The chemistry of aromatherapeutic oils* (3° ed.). Australia: Allen & Unwin.
- Buckle, J. (2003). *Clinical Aromatherapy: essential oils in practice* (2° ed.). Londres, Reino Unido: Churchill Livingstone.
- Buckle, J. (2015). *Clinical aromatherapy: essential oils in healthcare* (3° Ed.).Londres, Reino Unido: Elsevier.

- Burdock, G. (2010). Flavor ingredients. (6° ed.). Florida, Estados Unidos: CRC Press.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potencial applications in foods: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3): 223-253. doi: [10.1016 / j.ijfoodmicro.2004.03.022](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022)
- Calleja, M; Vieites, J; Montero, T; Torres, M; Faus, M; Gil, A; Suárez, A. (2013). The antioxidant effect of b-caryophyllene protects rat liver from carbon tetrachloride-induced fibrosis by inhibiting hepatic stellate cell activation. *British Journal of Nutrition*, 109: 394-401. doi: [10.1017 / S0007114512001298](https://doi.org/10.1017 / S0007114512001298)
- Camel, V. (2000). Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 19 (4): 229-248. doi: [10.1016/S0165-9936\(99\)00185-5](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(99)00185-5)
- Camel, V. (2001). Recent extraction techniques for solid matrices supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: their potential and pitfalls. *The Royal Society of Chemistry*, 126: 1182-1193. doi: [10.1039 / B008243K](https://doi.org/10.1039 / B008243K)
- Cano, T; Saravia, J; Aguilar, B; Cifuentes, R; Chavez, B; Hernandez, M. (2002). Obtención y caracterización de aceite esencial de 4 plantas medicinales cultivadas a diferentes niveles altitudinales de Guatemala. Guatemala, s.e. 57 p. Proyecto n.º 77-00. Universidad de San Carlos de Guatemala, CONCYT, SENACYT, FONACIT.
- Capuzzo, A; Occhipinti, A; Maffei, M.E; Massimo, E. (2014). Antioxidant and radical scavenging activities of chamazulene. *Natural Product Research*, 28(24): 2321-2323. doi: [10.1080 / 14786419.2014.931393](https://doi.org/10.1080 / 14786419.2014.931393)
- Cárdenas, M. (2012). Extracción de aceites esenciales de la flor de jazmín (*Jasminum officinale*) para la elaboración de una formulación de interés agroindustrial (Tesis de pregrado, Universidad de San Buenaventura). Recuperado en <http://repositorios.rumbo.edu.co/handle/123456789/96533>
- Cavalieri, E; Mariotto, S; Fabrizi, C; Carcereri de Prati, A; Gottardo, R; Leone, S; Valentino, L; Lauro, G; Ciampa, A; Suzuki, H. (2004). α -Bisabolol, a nontoxic natural compound, strongly induces apoptosis in glioma cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 315: 589-594. doi: [10.1016 / j.bbrc.2004.01.088](https://doi.org/10.1016 / j.bbrc.2004.01.088)
- Cerpa, M. (2007). Hidrodestilación de aceites esenciales: modelo y caracterización (Tesis doctoral, Universidad de Valladolid). Recuperado en https://www.researchgate.net/publication/235356074_Hidrodestilacion_de_aceites_esenciales_Modelado_y_Caracterizacion

- Chamorro, E; Zambón, S; Morales, W; Sequeira, A; Velasco, G. (2012). Study of the chemical composition of essential oils by gas chromatography. In B, Salih; O, Celikbicak (Eds.). Gas chromatography in plant science, wine technology, toxicology and some specific applications (p.307-322). Rijeka, Croacia: Intech Open. doi: [10.5772 / 33201](https://doi.org/10.5772/33201)
- Chan, C; Yusoff; R; Ngoh, G; Kung, F. (2011). Microwave-assisted extractions of active ingredients from plants. Journal of Chromatography A, 218(37):6213–6225. doi: [10.1016 /j.chroma.2011.07.040](https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.07.040)
- Chemat, F; Rombaut, N; Meullemiestre, A; Turk, M; Perino, S; Fabiano, A; Abert, M. (2017). Review of green food processing techniques: preservation, transformation, and extraction. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 41: 357-377. doi: [10.1016/j.ifset.2017.04.016](https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.04.016)
- Chempakan, B; Sindhu, S. 2008. Large Cardamon. In V, Parthasarathy; B, Chempakan; J, Zachariah (Eds.). Chemistry of spices (p. 59-70). Londres, Reino Unido: Cabi.
- Cisneros, M. 2017. Purificación de péptidos bioactivos de quinua (*Chenopodium quinoa*) con capacidad antioxidante y antihipertensiva (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima, Perú.
- Clarke, S. (2008). Essential chemistry for aromatherapy (2° ed.). Londres, Reino Unido: Churchill Livingstone.
- Connors, K. (1981). Curso de análisis farmacéutico: ensayo del medicamento. Barcelona, España: Editorial Reverté.
- Cosco, D. (2010). Actividad inhibitoria del crecimiento de *Streptococcus mutans* y de flora mixta salival por acción del aceite esencial de la Matricaria chamomilla manzanilla (Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos). Recuperado en <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/2149>
- Costescu, C; Hadaruga, N; Ravis, A; Hadaruga, D; Lupea, A; Parvu, D. (2008). Antioxidant activity evaluation of some Matricaria chamomilla L. extracts. Journal of Agroalimentary Processes and Technologies, 14: 417-432. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/266505194_Antioxidant_activity_evaluation_of_some_Matricaria_chamomilla_L_extracts
- Couic-Marinier, F; Lobstein, A. (2013). Chemical composition of essential oils (original en francés). Actualités pharmaceutiques, (525): 22-25. Recuperado de <https://www.journals.elsevier.com/actualites-pharmaceutiques>

- Cravotto, G; Boffa, L; Mantegna, S; Perego, P; Avogadro, M; Cintas, P. (2008). Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15: 898-902. doi: [10.1016 / j.ultsonch.2007.10.009](https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2007.10.009)
- Croteau, R., Kutchan, T.M., Lewis, N.G. (2000). Natural products (secondary metabolites). In B, BUCHANAN; W, GRUISSEM; W, JONESR (Eds.), *Biochemistry and molecular biology of plants* (p. 1250-1318). Estados Unidos: American Society of Plant Physiologists.
- Crupi, F; Rispoli, G. (2002). Citrus juices technology. In G, Dugo; A, Di Giacomo. *The Genus Citrus* (p. 76-113). Londres, Reino Unido: Taylor & Francis.
- D'Acampora Zellner, B; Dugo, P; Dugo, G; Mondello, L. (2010). Analysis of essential oils. In K, HUSNU CAN; G, BUCHBAUER (Eds.). *Handbook of essential oils: science, technology, and applications* (p.195-228). Florida, Estados Unidos: Taylor & Francis.
- Darra, E; Abdel, S; Manara, A; Shoji, K; Maréchal, J; Mariotto, S; Cavalieri, E; Perbellini, L; Pizza, C; Perahia, D; Crimi, M; Suzuki, H. (2008). Insight into the apoptosis-inducing action of a-bisabolol towards malignant tumor cells: Involvement of lipid rafts and Bid. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 476: 113- 123. doi: [10.1016 / j.abb.2008.02.004](https://doi.org/10.1016 / j.abb.2008.02.004)
- Das, M. (2015). *Chamomile: medicinal, biochemical and agricultural aspects*. Florida, Estados Unidos: Taylor & Francis.
- Demian, J. (1990). *Principles of food chemistry* (2 ° ed.). Londres, Reino Unido: Van Nostrand Reinhold.
- Desai, M; Parikh, J; Parikh, P. (2010). Extraction of natural products using microwaves as a heat source. *Separation & Purification Reviews*, 39: 1-32. doi: [10.1080/15422111003662320](https://doi.org/10.1080/15422111003662320)
- Dewick, P. (2002). The biosynthesis of C5-C-25 terpenoid components. *Natural Product Report*, 19: 181-222. doi: [10.1039/B002685I](https://doi.org/10.1039/B002685I)
- Dewick, P. (2009). *Medicinal natural products* (3 °ed.). Reino Unido: Wiley.
- Dhifi, W; Bellili, S; Jazi, S; Bahloul, N; Mnif, W. (2016). Essential oils chemical characterization and investigation of some biological activities: a critical review. *Medicines*, 3(25):2-16. doi: [10.3390 / medicinas3040025](https://doi.org/10.3390 / medicinas3040025)
- Díaz, J. (2013). Cantidad y calidad de aceites esenciales en hojas de cuatro especies del género Eucalyptus- el mantaro (Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Centro del Perú). Recuperado en <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/UNCP/3397>

- Díaz, O; Duran, D; Martínez, J; Stashenko, E. (2007). Estudio Comparativo de Composición Química de los Aceites Esenciales de *Aloysia triphylla* L' Her Britton cultivada en diferentes regiones de Colombia. *Scientia et Technica*, 13(33): 351-353. doi: [10.22517/23447214.6119](https://doi.org/10.22517/23447214.6119)
- Djilani, A; Dicko, A. (2012). The Therapeutic Benefits of Essential Oils. In J, Bouayed; T, Bohn (Eds.). *Nutrition, well-being and health* (p.155-178). Rijeka, Croacia: Intech. doi: [10.5772 / 25344](https://doi.org/10.5772/25344)
- Eisenreich, W; Rohdich, F; Bacher, A. (2001). Deoxyxylulose phosphate pathway to terpenoids. *Trends in Plant Science*, 6(2): 80-83. doi: [10.1016 / s1360-1385 \(00\) 01812-4](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(00)01812-4)
- Escobar, K. (2008). La manzanilla: una forma de consumo global. *Revista de Ciencias Sociales de la Universidad Iberoamericana*, 3(6): 37-57. Recuperado de <https://ibero.mx/iberoforum/6/pdf/karlam.pdf>
- Falzari, L; Menary, R. (2003). Chamomile for oil and dried flowers. Rural Industries Research and Development Corporation. Publication No. 02/156. Project No. UT-28^a, Canberra.
- Farhat, A; Fabiano-Tixier, A; Elmanataoui, M; Maingonnat, J; Romdhane, M; Chemat, F. (2011). Microwave steam diffusion for extraction of essential oil from orange peel: kinetic data, extract's global yield and mechanism. *Food Chemistry*, 125:255-261. doi: [10.1016 / j.foodchem.2010.07.110](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.110)
- Farhat, A; Benmoussa, H; Bachoual, R; Nasfi, Z; Elfalleh, W; Romdhane, M; Bouajilla, J. (2017). Efficiency of the optimized microwave assisted extractions on the yield, chemical composition and biological activities of Tunisian *Rosmarinus officinalis* L. essential oil. *Food and Bioproducts Processing*, 105:224-233. doi: [10.1016/j.fbp.2017.07.011](https://doi.org/10.1016/j.fbp.2017.07.011)
- Fejer, J; Salamon, I. (2016). Breeding of German chamomile, *Matricaria recutita* L., with a high content of α -bisabolol. *Acta Horticulturae*, 1125 (36): 287- 292. doi: [10.17660/ActaHortic.2016.1125.36](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1125.36)
- Ferhat, M; Meklati, B; Chemat, F. (2007). Comparison of different isolation methods of essential oil from citrus fruits: cold pressing, hydrodistillation and microwave “dry” distillation. *Flavour and Fragrance Journal*, 22: 494-504. doi: [10.1002/ffj.1829](https://doi.org/10.1002/ffj.1829)
- Fernandez, X; Chemat, F. (2012). *La chimie des huiles essentielles: tradition et innovation*. Francia: Vuibert.

- Ferraro, G; Martino, V; Bandoni, A; Nadinic, J. (2015). Fitocosmética: fitoingredientes y otros productos naturales. Buenos Aires, Argentina: Eudeba.
- Fieser, L; Fieser, M. (1985). Química orgánica fundamental. Barcelona, España: Editorial Reverté.
- Fidyt, K; Fiedorowicz, A; Strzadala, L; Szumny, A. (2016). β -caryophyllene and β -caryophyllene oxide—natural compounds of anticancer and analgesic properties. *Cancer Medicine*, 1-11. doi: [10.1002 / cam4.816](https://doi.org/10.1002/cam4.816)
- Filly, A; Fernandez, X; Minuti, M; Visinoni, F; Cravotto, G; Chemat, F. (2014). Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: from laboratory to pilot and industrial scale. *Food Chemistry*, 150: 193-198. doi: [10.1016 / j.foodchem.2013.10.139](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.139)
- Flores, M. (2010). Investigación de los aceites esenciales, sus características y finalidad de uso: análisis del estado de su regulación en Chile y el mundo. (Tesis de pregrado, Universidad de Chile). Recuperado en <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/105352>
- Fonseca, P. (2013). Síntesis de glicerolformal asistida de energía por microondas. (Tesis de pregrado, Universidad Central del Ecuador). Recuperado en <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/1991>
- Fontenla, G. (2006). Caracterización del aceite esencial de “lanche” (*Myrcianthes rhopaloides* (H.B.K) Mc Vaugh) proveniente del distrito de Chalaco, provincia de Morropón Piura, obtenido por dos métodos de destilación (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima, Perú
- Formisano, C; Delfino, S; Oliviero, F; Tenore, G; Rigano, D; Senatore, F. (2015). Correlation among environmental factors, chemical composition and antioxidative properties of essential oil and extracts of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) collected in Molise (South-central Italy). *Industrial Crops and Products*, 1- 8. doi: [10.1016 / j.indcrop.2014.09.042](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.09.042)
- Franke, R. (2005). Introduction. In R, Franke H; Schilcher. Chamomile industrial profile (p.10-15). Florida, Estados Unidos: Taylor & Francis.
- García, C; Chacón, G; Molina, M. (2011). Evaluación de la vida útil de una pasta de tomate mediante pruebas aceleradas por temperatura. *Ingeniería*, 21(2): 31-38. doi: [10.15517/ring.v21i2.2683](https://doi.org/10.15517/ring.v21i2.2683)

- Gawde, A; Cantrell, C; Zheljzkov, V; Astatkie, T; Schlegel, V. (2014). Steam distillation extraction kinetics regression models to predict essential oil yield, composition, and bioactivity of chamomile oil. *Industrial Crops and Products*, 58: 61-67. doi: [10.1016 / j.indcrop.2014.04.001](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.04.001)
- Gennari, V. (1996). *Aromatherapy: a lifetime guide to healing with essential oils*. New York, USA: Prentice Hall Press.
- González, A. (2012). Aceite de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) y su potencial de producción sustentable para uso medicinal. (Tesis de pregrado, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro). Recuperado en <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/7243?show=full>
- Gonzalez, V. (2016). Efecto antimicrobiano de la infusión de manzanilla sobre el actinomicetes odontolyticus y el actinomicetes viscosus: estudio in vitro. (Tesis de pregrado, Universidad Central del Ecuador). Recuperado en <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/5702>
- Granados, C., Yáñez, Y., Santafé, G. (2012). Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar de *Calycolpus moritzianus* y *Minthostachys mollis* de Norte de Santander. *Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, 10(1):12-23. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6939162>
- Gutiérrez, M & Droguet, M. (2002). La Cromatografía de Gases y la Espectrometría de Masas: Identificación de Compuestos Causantes de Mal Olor. *Boletín Intexter del Instituto de Investigación Textil y de Cooperación Industrial*, (122): 35-41
- Hiramatsu, K; Pizzi, D; Mei, A; Gascon, A. (1996). Flores, polen y aceite esencial de manzanilla: perspectivas económicas de su producción en Mendoza. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 3 (1): 33-39. Recuperado de <https://bdigital.uncu.edu.ar/app/navegador/?idobjeto=10054>
- Husnu Can, K; Demirci, F. (2007). Chemistry of essential oils. In R, BERGER (Ed.). *Flavours and fragrances* (p.43-83). Hannover, Alemania: Springer.
- Hussain, A; Anwar, F; Sherazi, S; Przybylsky, R. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*, 108 (3): 986-995. doi: [10.1016 / j.foodchem.2007.12.010](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.010)

- INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA Y CENSOS (INDEC). 2016. Anuario Estadístico de la República Argentina. Buenos Aires, Argentina. Informe vol.31. Recuperado de https://www.indec.gob.ar/ftp/cuadros/sociedad/Anuario_Estadistico_2016.pdf
- Issac, O. (1979). Pharmacological investigations with compounds of chamomile. I. On the pharmacology of (-)- α -bisabolol and bisabolol oxides (review). *Plant Medical* 35:118–124. doi: [10.1055 / s-0028-1097193](https://doi.org/10.1055/s-0028-1097193)
- Johnson, W; Heldreth, B; Andersen, F. (2017). Safety assessment of *Anthemis nobilis* derived ingredients as used in cosmetics. *International Journal of Toxicology*, 36(1): 575-665. doi: [10.1177 / 1091581817705620](https://doi.org/10.1177/1091581817705620)
- Kamatou, G; Viljoen, A. (2009). A review of the application and Pharmacological properties of α -bisabolol and α -bisabolol- rich oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87:1-7. doi: [10.1007 / s11746-009-1483-3](https://doi.org/10.1007/s11746-009-1483-3)
- Kaufmann, B & Christen, P. (2002). Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction. *Phytochemical Analysis*, 13(2): 105-113. doi: [10.1002 / pca.631](https://doi.org/10.1002/pca.631)
- Khalili, G; Mazloomifar, A; Larijani, K; Saber, M; Aberoomand, P. (2018). Solvent-free microwave extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. and *Melissa officinalis* L. *Industrial Crops and Products*, 119:214-217. doi: [10.1177/1934578X1000500127](https://doi.org/10.1177/1934578X1000500127)
- Kiplagat, P. (1997). Extraction of essential oils, and active compounds from *Matricaria chamomilla* L. and their application in toilet soap (Tesis de maestría, Universidad de Nairobi). Recuperado en <https://pdfs.semanticscholar.org/9539/f35463d3eabc61e32eb7eeb9791608343d9a.pdf>
- Klauke, A; Racz, I; Pradier, B; Marker, A; Zimmer, A; Gertsch, J; Zimmer, A. (2014). The cannabinoid CB₂ receptor- selective phytocannabinoid beta-caryophyllene exerts analgesic effects in mouse models of inflammatory and neuropathic pain. *European Neuropsychopharmacology*, 24: 608-620. doi: [10.1016 / j.euroneuro.2013.10.008](https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2013.10.008)
- Kumar, A. (2014). Physicochemical and natural products investigations of essential oil from the rhizomes of *Kaempferia galanga* L. *Pelagia Research Library*, 5(2): 91-94. Recuperado de <https://www.imedpub.com/articles/physicochemical-and-natural-products-investigations-of-essential-oil-from-the-rhizomes-of-kaempferia-galanga-l.pdf>
- Ladero, M; Valle, C; Santos, M; Ruiz, T; Fernández, M. (1985). Estudio botánico de las manzanillas españolas. *Studia Botánica*, 4: 179-196

- Leite, G; Leite, L; Sampaio, R; Araruna, M; Menezes, I; Da Costa, J; Campos, A. (2011). (-)- α -Bisabolol attenuates visceral nociception and inflammation in mice. *Fitoterapia* 82: 208-211. doi: [10.1016/j.fitote.2010.09.012](https://doi.org/10.1016/j.fitote.2010.09.012)
- Leyva, E; Navarro-Tovar, G; Loredó-Carrillo, S; Santos, M. (2011). Biosíntesis y actividad biológica de fitoestrógeno y fitoesteroides. *Boletín de la Sociedad Química de México*, 5(2,3): 35-43
- Li, Y; Fabiano-Tixer, A; Abert- Vian, M; Chemat, F. (2013). Solvent-free microwave extraction of bioactive compounds provides a tool for green analytical chemistry. *Trends in Analytical Chemistry*, 47:1-11. doi: [10.1016/j.trac.2013.02.007](https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.02.007)
- Litchenthaler, H. (1999). The 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50: 47-65. doi: [10.1146/annurev.arplant.50.1.47](https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.47)
- Liang, H., Hu, Z., Cai, M., (2008), Desirability function approach for the optimization of microwave-assisted extraction of saikosaponins from *Radix Bupleuri*. *Separation and Purification Technology* 61(3): 266-275. doi: [10.1016/j.seppur.2007.10.016](https://doi.org/10.1016/j.seppur.2007.10.016)
- Liu, Z; Deng, B; Li, S; Zou, Z. (2018). Optimization of solvent-free microwave assisted extraction of essential oil from *Cinnamomum camphora* leaves. *Industrial Crops & Products*, 124: 353-362. doi: [10.1016/j.indcrop.2018.08.016](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.016)
- Lucchesi, M; Chemat, F; Smadja, J. (2004). Solvent free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography A*, 1043: 323-327. doi: [10.1016/j.chroma.2004.05.083](https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.05.083)
- Lucchesi, M; Smadja, J; Bradshaw, S; Louw, W; Chemat, F. (2007). Solvent free microwave extraction of *Elletaria cardamomum* L.: a multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. *Journal of Food Engineering*, 79: 1079-1086. doi: [10.1016/j.jfoodeng.2006.03.029](https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.03.029)
- Ma, C., Liu, T., Yang, L., Zu, Y., Chen, X., Zhang, L; Zhang, Y; Zhao, C. (2011). Ionic liquid-based microwave-assisted extraction of essential oil and biphenyl cyclooctene lignans from *Schisandra chinensis* Baill fruits. *Journal of the Chromatography A*, 1218 (48): 8573–8580. doi: [10.1016/j.chroma.2011.09.075](https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.09.075)
- Mandal, V., Mohan, Y; Hemalatha, S. (2007). Microwave assisted extraction: an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacognosy Reviews*, 1: 7-18.

- Mann, C; Staba, EJ. (1992). The chemistry pharmacology and commercial formulations of chamomile. In J, Simon, J; L, Craker (Eds.). Herbs spices and medicinal plants: recent advances in botany horticulture and pharmacology (p. 235-280) New York, Estados Unidos: Food Product Press.
- Mansard, M. (2016). Le camphrier: étude botanique, chimique et biologique de ses huiles essentielles (Tesis doctoral, Université de Lorraine). Recuperada en http://www.aubonheur-dessences.com/stor/2016/11/These_finale_MANSARD_Michael.pdf
- Marqués, F. (2009). Modelos para la economía y la empresa a través de Excel. Madrid, España: Grupo RC.
- Marotti, M; Piccaglia, R; Giovanelli, E. (1994). Effects of variety and ontogenic stage on the essential oil composition and biological activity of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). Journal of Essential Oil Research, 6: 57-62. doi: [10.1080/10412905.1994.9698325](https://doi.org/10.1080/10412905.1994.9698325)
- Matsushita, M; Deschamps, C; Correa, C; Machado, M. (2018). Análisis de la producción de capítulos florales y aceite esencial de cultivares de manzanilla (*Chamomilla recutita*) en diferentes épocas de cosecha. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas, 12(2): 484-490. doi: [10.17584/rcch.2018v12i2.7518](https://doi.org/10.17584/rcch.2018v12i2.7518)
- Mattisek, R., Schnepel, F., Steiner, G. (1998). Análisis de los alimentos: fundamentos, métodos aplicaciones. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A.
- Mckay, D; Blumberg, J. (2006). A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). Phytotherapy Research, 20(7): 519-530. doi: [10.1002/ptr.1900](https://doi.org/10.1002/ptr.1900)
- Millezi, A; Baptista, N; Caixeta, D; Rossoni, D; Cardoso, M; Piccoli, R.(2014). Caracterização química e atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas condimentares e medicinais contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, 16(1): 18-24. doi: [10.1590/S1516-05722014000100003](https://doi.org/10.1590/S1516-05722014000100003)
- MINISTERIO DEL AMBIENTE DEL PERÚ (MINAM). 2012. Memoria descriptiva del Mapa de Cobertura Vegetal del Perú. Lima. Perú. Recuperado en <http://www.minam.gob.pe/patrimonio-natural/wp>
- Moghaddam, M; Mehdzadeh, L. (2017). Chemistry of essential oils and factors influencing their constituents. In A, MIHAI; A, HOLBAN (Eds.) Handbook of food bioengineering: soft chemistry and food fermentation (p.379-419). Reino Unido: Academic Press.

- Mohammad, R; Hamid, S; An, A; Norbert, DK; Patrick, V. (2010). Effects of planting date and seedling age on agro-morphological characteristics, essential oil content and composition of German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) grown in Belgium. *Industrial Crops and Products*, 31: 145-152. doi: [10.1016/j.indcrop.2009.09.019](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.09.019)
- Montoya, G. (2010). Aceites esenciales: una alternativa de diversificación para el eje cafetero. Caldas, Colombia, s.e. Recuperado en <http://bdigital.unal.edu.co/50956/7/9588280264.pdf>
- Muñoz, F. (1993). Plantas medicinales y aromáticas: estudio, cultivo y procesado. Madrid, España: Mundi-Prensa.
- Murti, K; Panchal, M; Gajera, V; Solanki, J. (2012). Pharmacological properties of *Matricaria recutita*: a review. *Pharmacologia*, 3(8): 348-351. doi: [10.5567 / Pharmacologia.2012.348.351](https://doi.org/10.5567/Pharmacologia.2012.348.351)
- Naranjo, J; Chávez, A. (2015). Análisis comparativo entre dos métodos de extracción de aceites esenciales. *Boletín Semillas Ambientales*, 9(2): 15-19. Recuperado de <https://revistas.udistrital.edu.co/index.php/bsa/article/view/9735>
- NTP-ISO 279 Aceites esenciales: determinación de la densidad y densidad relativa a 20°C. INACAL (Instituto Nacional de Calidad). Lima, Perú. 2016
- NTP-ISO 280 Aceites esenciales: determinación del índice de refracción. INACAL (Instituto Nacional de Calidad). Lima, Perú. 2016
- NTP 319.085 Aceites esenciales: determinación del índice de acidez. INACAL (Instituto Nacional de Calidad). Lima, Perú. 2016
- NTP 319.084 Aceites esenciales: determinación de la solubilidad en alcohol. INACAL (Instituto Nacional de Calidad). Lima, Perú. 1984
- Orav, A; Kailas, T; Ivask, K. (2001). Volatile constituents of *Matricaria recutita* L. from Estonia. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences Chemistry*, 50 (1): 39-45. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/242216870_Volatile_constituents_of_Matricaria_recutita_L_from_Estonia
- Orav, A; Raal, A; Arak, E. (2010). Content and composition of the essential oil of *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert from some European countries. *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*, 24 (1): 48-55. doi: [10.1080 / 14786410802560690](https://doi.org/10.1080/14786410802560690)

- Ortuño, M. (2006). Manual Práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. Madrid, España: Aiyana.
- Padilla, E. (2015). Formulación y control de calidad de un enjuague bucal elaborado a partir de los extractos totales de *Matricaria recutita* L. (manzanilla) y de *Salvia officinalis* L. (salvia) (Tesis de pregrado, Universidad central del Ecuador). Recuperado en <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6321>
- Pardo, M; Morales, R. (2006). Manzanillas ibéricas: historia y usos tradicionales. Revista de Fitoterapia, 6(2): 143-163
- Paredes, D; Quinatoa, F. (2010). Desarrollo de un sistema de extracción de aceites esenciales. (Tesis de pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo). Recuperado en <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1710/1/15T00453.pdf>
- Pearson, D. (1976). The chemical analysis of food. New York, Estados Unidos,: Churchill Livingstone.
- Peredo- Luna, H; Palou, E; López, A. (2009). Aceites esenciales: métodos de extracción. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos, 3(1): 24-32
- Pereira, N. (2008). Estudo fitoquímico do óleo da semente de (*Camomilla recutita* (L.) Rauschert) camomila, com avaliação de propriedades físico-químicas, biológicas e funcionais em emulsões (Tesis doctoral, Universidad Federal de Paraná). Recuperado en <https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/15698/NEILA%20DE%20PAULA%20PEREIRA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Pérez, P. (2005). *Slavia Lavandulaefolia vahl ssp. Oxyodon*: evaluación de su aceite esencial e incidencia en el medio ambiente según intensidades de recolección (Tesis doctoral, Universidad de Granada). Recuperada en <https://www.semanticscholar.org/paper/Salvia-lavandulaefolia-vahl-ssp.-oxyodon%3A-de-su-e-Galindo-Pilar/055abcc5236b6971b3a8b62881a3c69c229b98d3>
- Périno-Issartier, S; Ginies, C; Cravotto, G; Chemat, F. (2013). A comparison of essential oils obtained from lavandin via different extraction processes: ultrasound, microwave, turbohydrodistillation, steam and hydrodistillation. Journal of Chromatography A, 1305: 41-47. doi: [10.1016 / j.chroma.2013.07.024](https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.07.024)
- Polin, L; Muro, A; Díaz, L. (2014). Aceites esenciales modificadores de perfiles de fermentación ruminal y mitigación de metano en rumiantes. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias, 5(1): 25-47.

- Primo, E. (2007). Química orgánica básica y aplicada: de la molécula a la industria. (2° ed.). Barcelona, España: Reverté.
- Quilca, C. (2011). Rendimiento de aceites esenciales en hojas y opérculos de *Eucalyptus globulus* L-bosque el dorado El Tambo, Huancayo. (Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Centro del Perú). Recuperada en <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/UNCP/2603>
- Quinte, H. (2015). Estudio de compuestos bioactivos del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) por cromatografía de gases-espectrometría de masas en tres niveles altitudinales del distrito de Huando. (Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Huancavelica). Recuperada en <http://repositorio.unh.edu.pe/handle/UNH/116>
- Raal, A; Arak, E; Orav, A; Ivask, K. (2003). Comparison of essential oil content of *Matricaria recutita* L. from different origins. *Ars Pharmaceutica*, 44(2): 159-165. Recuperado de <https://farmacia.ugr.es/ars/pdf/257.pdf>
- Raal, A; Kaur, H; Orav, A; Arak, E; Kailas, T; Muurisep, M. (2011). Content and composition of essential oils in some Asteraceae species. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences*, 60(1): 55- 63. doi: [10.3176/proc.2011.1.06](https://doi.org/10.3176/proc.2011.1.06)
- Rahmati, M; Azizi, M; Hasanzadeh, M; Nemati, H; Asili, J. (2011). Yield and oil constituents of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) flowers depending on nitrogen application, plant density and climate conditions. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 14(6): 731-741. doi: [10.1080/0972060X.2011.10643996](https://doi.org/10.1080/0972060X.2011.10643996)
- Rassem, H; Nour, A; Yunus, R. (2016). Techniques for extraction of essential oils from plants: a review. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 10(16): 117-127. Recuperado de <http://www.ajbasweb.com/old/ajbas/2016/November/117-127.pdf>
- Renaud, F; Elaissari, A. (2015). Essential oils: from extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 483: 220- 243. doi: [10.1016 / j.ijpharm.2014.12.069](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.12.069)
- Reverchon, E; Senatore, F. (1994). Supercritical carbon dioxide extraction of chamomile essential oil and its analysis by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42 (1): 154-158. doi: [10.1021/jf00037a027](https://doi.org/10.1021/jf00037a027)
- Ricaldi, J; Martínez, A. (2014). Cromatografía de gases-espectrometría de masas de compuestos fitobioactivos del aceite esencial de Satureja incana. *Apuntes de ciencias y sociedad*, 4 (2):280-287. doi: [10.18259/acs.2014033](https://doi.org/10.18259/acs.2014033)

- Rincón, J. (2015). Determinación, mediante GC, del contenido de CO₂ y H₂S para el control de calidad del gas natural. (Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos). Recuperada en <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/5788>
- Ristic, M; Dordevic, S; Dokovic, D; Tasic, S. (2007). Setting a standard for the essential oil of chamomile originating from Banat. *Acta Horticulturae*, (749): 127-140. doi: [10.17660 / ActaHortic.2007.749.13](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2007.749.13)
- Ríos, J. (2016). Essential oils: what they are and how the terms are used and defined. In V, Preedy. *Essential oils in food preservation, flavor and safety* (p.3-10). Londres, Reino Unido: Elsevier
- Roca, P; Olier, J; Rodríguez, A. (2003). *Bioquímica: técnicas y métodos*. Madrid, España: Editorial Hélice.
- Rodríguez, P; Flórez-Fernández, N; Conde, E; Domínguez, H. (2017). Microwave-assisted water extraction. In H, DOMINGUEZ; M.J, GONZÁLES. *Water extraction of bioactive compounds* (P. 163-198) Amsterdam, Países Bajos: Elsevier.
- Romero, M. (2004). *Plantas aromáticas: tratado de aromaterapia científica*. Buenos Aires, Argentina: Kier.
- Rojas, C; Restrepo, C; León, D; Castrillón, E; Córdoba, F; Ortiz, H; Herrera, ...; Arrabla, M. (2012). *Función Lineal: cuadrática y volúmenes*. Medellín, Colombia: Fondo editorial ITM.
- Saied, S; Jaimand, K; Bagher, M; Afzaizadeh, R. (2016). Comparative studies of different extraction methods of essential oil from *matricaria recutita* in Iran. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 61(2): 2982-2984. doi: [10.4067/S0717-97072016000200026](https://doi.org/10.4067/S0717-97072016000200026)
- Salamon, I. (2007). Effect of the internal and external factors on yield and qualitative-quantitative characteristics of chamomile essential oil. *Acta Horticulturae*, 749: 45-64. doi: [10.17660 / ActaHortic.2007.749.3](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2007.749.3)
- Salamon, I; Ghavanati, M; Khazaei, H. (2010). Chamomile biodiversity and essential oil qualitative-quantitative characteristics in Egyptian production and Iranian landraces. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 22(1): 59-64. doi: [10.9755 / ejfa.v22i1.4907](https://doi.org/10.9755/ejfa.v22i1.4907)
- Saldaña, H. (2015). Estudio comparativo y evaluación del rendimiento de dos tecnologías de extracción de aceites esenciales de naranja, mandarina y tangelo. (Tesis de pregrado, Universidad ESAN). Recuperado en <https://repositorio.esan.edu.pe/handle/ESAN/666>

- Sangwan, N; Farooqi, A; Shabih, F; Sangwam, R. (2001). Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regulation*, 34 (1): 3-21. doi: [10.1023/A:1013386921596](https://doi.org/10.1023/A:1013386921596)
- Scalia, S; Giuffreda, L; Pallado, P. (1999). Analytical and preparative supercritical fluid extraction of Chamomile flowers and its comparison with conventional methods. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 21(3): 549-558. doi: [10.1016 / s0731-7085 \(99\) 00152-1](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(99)00152-1)
- Schilcher, H; Imming, P; Goeterters, S. (2005). Active chemical constituents of *Matricaria chamomilla* L. syn. *Chamomilla recutita* (L) Rauschert. In R, FRANKE; H, SHILCHER. *Chamomile industrial profiles* (p. 55-76). Florida, Estados Unidos: Taylor & Francis
- Schulz, H; Quilitzsch, R; Kruger, H. (2003). Rapid evaluation and quantitative analysis of thyme, origano and chamomile essential oils by ATR-IR and NIR spectroscopy. *Journal of Molecular Structure*, 661-662: 299-306. doi: [10.1016 / S0022-2860 \(03\) 00517-9](https://doi.org/10.1016/S0022-2860(03)00517-9)
- Segovia, I. (2010). Composición química del aceite esencial de *Tagetes elliptica* Smith “chincho” y determinación de su actividad antioxidante, antibacteriana y antifúngica (Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos). Recuperado en <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/3231>
- Sell, C. (2006). *The chemistry of fragrance from perfumer to consumer*. Cambridge, Reino Unido: The royal society of chemistry.
- Sell, C. (2010). *Chemistry of Essential Oils*. In K, Husnu Can; G, BUCHBAUER (Eds.). *Handbook of essential oils: science, technology, and applications* (p. 121-150). Estados Unidos: Taylor & Francis.
- Septya, H; Altway, A; Mahfud, M. (2017). Solvent free microwave extraction of essential oil from dried patchouli (*Pogostemon cablin* Benth) leaves. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 58: 343-348. doi: [10.1016 / j.jiec.2017.09.047](https://doi.org/10.1016/j.jiec.2017.09.047)
- Shaaban, H; El-Ghorab, A; Shibamoto, T. (2011). Bioactivity of essential oils and their volatile aroma components: review. *Journal of Essential Oil Research*, 24(2): 203-212. doi: [10.1080 / 10412905.2012.659528](https://doi.org/10.1080/10412905.2012.659528)
- Simoës, C; Spitzer, V. (2004). Óleos voláteis. In C, SIMOES; E, SCHENKE; G, GOSMANN; J, MELLO; L, MENTZ; P, PETROVICK. *Farmacognosia: da planta ao medicamento* (p. 467-495). Porto Alegre, Brasil: UFRGS.

- Simionatto, E; Farias, A; Dalcol, I; Da Silva, Stuker, C; Porto, C. (2006). Óxido de bisabolol-A e Óxido de bisabolol-B: isolamento, identificação e atividade antimicrobiana. Sociedade Brasileira de Química 29: 29-31. Recuperado de <http://sec.s bq.org.br/cdrom/29ra/resumos/T0334-1.pdf>
- Singh, K; Tandey, R; Kumar, K; Mehta, R. (2019). Critical analysis of microwave hydrodiffusion and gravity as a green tool for extraction of essential oils: time to replace traditional distillation. Trends in Food Science and Technology, 92: 12-21. doi: [10.1016/j.tifs.2019.08.006](https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.08.006)
- Singh, O; Khanam, Z; Misra, N; Srivastava, M. (2011). Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): an overview. Pharmacognosy Reviews, 5(9): 82-95. doi: [10.4103/0973-7847.79103](https://doi.org/10.4103/0973-7847.79103)
- Skoog, D; Holler, F; Crouch, S. (2008). Principios de análisis instrumental. (6° ed) México: Cengage Learning Editores.
- Sonwa, M. (2000). Isolation and structure elucidation of essential oil constituents: comparative study of the oils of *Cyperus alopecuroides*, *Cyperus papyrus*, and *Cyperus rotundus* (Tesis PhD, University of Hamburg). Recuperado en <https://ediss.sub.uni-hamburg.de/volltexte/2000/372/pdf/diss.pdf>
- Srivastava, J; Shankar, E; Gupta, S. (2010). Chamomile: a herbal medicine of the past with a bright future (Review). Molecular Medicine Reports, 3: 895-901
- Stanojevic, L; Marjanovic-Balaban, Z; Kalaba, V; Stanojevic, J; Cvetkovic, D. (2016). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of chamomile flowers essential oils. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 19 (8): 2017-2028. doi: [10.1080/0972060X.2016.1224689](https://doi.org/10.1080/0972060X.2016.1224689)
- Stashenko, E & René, J. (2010). Algunos aspectos prácticos para la identificación de analitos por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Scientia Chromatographica, 2(1): 29-47. Recuperado de <https://www.iicweb.org/scientiachromatographica.com/files/v2n1a3.pdf>
- Stevenson, P & Aslam, S. (2006). The chemistry of the genus *Cicer* L. Studies in Natural Products Chemistry, 33: 905-956. doi: [10.1016/S1572-5995\(06\)80043-8](https://doi.org/10.1016/S1572-5995(06)80043-8)
- Stratakos, A & Koidis, A (2016). Methods for extracting essential oils. In V, Preedy (Ed.). Essential oils in food preservation, flavor and safety (p. 31-38). Reino Unido: Academic Press.
- Sukhwani, A. (1995). Patentes naturistas. Madrid, España: Oficina Española de Patentes y Marcas.

- Tellez, L. (2017). Caracterización de los aceites esenciales de sus ecotipos de orégano (*Origanum vulgare* ssp.) procedente del valle de Urubamba-Cuzco, Perú. (Tesis de maestría). Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima, Perú.
- Tineo, F (2012). Estudio experimental y modelamiento matemático para el proceso de extracción por lotes por arrastre con vapor de agua del aceite esencial libre del Schinus molle Linneo (Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Ingeniería). Recuperado en https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/SSSU_d50d22e546bc2689938bac72c2734c4a
- Tisserand, R & Young, R. (2014). Essential oil safety: a guide for health care professionals. Londres, Reino Unido: Churchill Livingstone.
- Tongnuanchan, P; Benjakul, S. (2014). Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. Journal of Food Science, 79(7): 231-249. doi: [10.1111 / 1750-3841.12492](https://doi.org/10.1111/1750-3841.12492)
- Torrenegra, M; Granados, C; Osorio, M; León, G. (2015). Method comparison of hydrodistillation microwave radiation-assisted (MWHHD) front hydrodistillation (HD) in the extraction of essential oil of *Minthostachys mollis*. Information Technological, 26(1):117-22.doi: [10.4067/S0718-07642015000100013](https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000100013)
- Torrenegra, M; Granados, C; Pajaro, N; León, G; Tejada, C. (2017). Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* L. Revista Cubana de Farmacia, 51(1): 1-15. Recuperado de <http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/195/156>
- Tradent, W; Kabouche, A; Touzani, R; Kabouche, Z. (2016). Chemotypes investigation of essential oils of Chamomile herbs: a short review. Journal of Materials and Environmental Science, 7(4): 1229- 1235. Recuperado de https://www.researchgate.net/profile/Zahia_Kabouche4/publication/297561780_Chemotypes_investigation_of_essential_oils_of_Chamomile_herbs_A_short_review/links/56dfdc6f08aec4b3333b826a/Chemotypes-investigation-of-essential-oils-of-Chamomile-herbs-A-short-review.pdf
- Tran, T; Hao, H; Chinh, D; Quang, T; Tan, H; Hong, L;...Duy, T. (2018). Optimization of microwave-assisted extraction of essential oil from Vietnamese Basil (*Ocimum basilicum* L.) using response surface methodology. Processes, 6 (206): 4-12. doi: [10.3390/pr6110206](https://doi.org/10.3390/pr6110206)

- Turek, C & Stintzing, F. (2012). Impact of different storage conditions on the quality of selected essential oils. *Food Research International*, 46:341–53.
- USDA (United States Department of Agriculture, Estados Unidos). 2019. Plants database (en línea, sitio web). Recuperado de <https://plants.sc.egov.usda.gov/java/>
- Uysal, B; Sozmen, F; Buyuktas, B. (2009). Solvent-free microwave extraction of essential oils from *Laurus nobilis* and *Melissa officinalis*: comparison with conventional hydro-distillation and ultrasound extraction. *Natural Product Communications*, 5 (1): 111-114. doi: [10.1177/1934578X1000500127](https://doi.org/10.1177/1934578X1000500127)
- Veggi, P; Martinez, J; Meireles, M. (2013). Fundamentals of microwave extraction. In F, CHEMAT; G, CRAVOTTO (Eds.). *Microwave assisted extraction for bioactive compounds*. New York, USA: Springer.
- Vinicius, A; Doni-Filho, L; Cristina, L; Cezar, E. (2008). Rendimento e composicao quimica do óleo essencial de camomila (*Chamomilla recutita*) extraído por arrastre de vapor d' água, em escala comercial. *Semina: Ciencias Agrárias*, 29(1): 129-136. Recuperado de <https://www.redalyc.org/comocitar.oa?id=445744087012>
- Wang, Y; You, J; Yu, Y; Qu, C; Zhang, H; Ding, L; Zhang, H; Li, X. (2008). Analysis of ginsenosides in *Panax ginseng* in high-pressure microwave-assisted extraction. *Food Chemistry*, 110: 161-167. doi: [10.1016/j.foodchem.2008.01.028](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.01.028)
- Wesolowska, A; Grzeszczuk, M; Kulpa, D. (2015). Propagation method and distillation apparatus type affect essential oil from different parts of *Matricaria recutita* L. *Plants. Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18 (1): 179-194. doi: [10.1080/0972060X.2014.895210](https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.895210)
- Xifreda, C. (1985). Sobre el nombre correcto de la manzanilla (*Matricaria recutita* L., Asteraceae). *Revista Darwiniana*, 26: 373-375
- Yii, I; Chan, Y; Nandong, J. (2017). Comparison of microwave extraction technology of garlic essential oil: SFME and MAE. In *Proceedings of the International Conference on Materials Technology and Energy*, Miri, Malasia. Recuperado en https://www.researchgate.net/publication/318760325_Comparison_of_microwave_extraction_technology_of_garlic_essential_oil_SFME_and_MAE
- Zacarés, L. (2008). Nuevas aportaciones al metabolismo secundario del tomate: identificación y estudio de moléculas implicadas en la respuesta a la infección con *Pseudomonas syringae* pv. tomato (Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Valencia). Recuperada en <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=18191>

- Zhai, B; Zhang, N; Han, X; Li, Q; Zhang, M;...Sui, X. (2019). Molecular targets of β -elemene, a herbal extract used in traditional Chinese medicine, and its potential role in cancer therapy: a review. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 114: 108812. doi: [10.1016/j.biopha.2019.108812](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108812)
- Zhang, R; Tian, A; Zhang, H; Zhou, Z; Yu, H; Chen, L. (2011). Amelioration of experimental autoimmune encephalomyelitis by β -elemene treatment is associated with Th17 and Treg cell balance. *Journal of Molecular Neuroscience*, 44: 31-40. doi: [10.1007/s12031-010-9483-1](https://doi.org/10.1007/s12031-010-9483-1)
- Zuzarte, M; Salgueiro, L. (2015) Essential oils chemistry. In D, Pergentino De Sousa (Ed.). *Bioactive essential oils and cancer* (p. 18-69). Suiza: Springer

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: Campo de manzanilla (*Matricaria recutita* L.) en Incahuasi (Ferreñafe-Lambayeque)



ANEXO 2: Manzanilla (*Matricaria recutita* L.) utilizada en el presente estudio



ANEXO 3: Constancia de identificación de la especie en estudio

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL

“Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad”

CONSTANCIA N° 363-USM-2019

LA JEFA (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (ramas con hojas e inflorescencia) recibida de **Claudia Fernanda Pacheco Ferrer**, estudiante la Universidad Nacional Agraria La Molina, ha sido estudiada y clasificada como: ***Matricaria chamomilla* L.** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ASTERIDAE

ORDEN: ASTERALES

FAMILIA: ASTERACEAE

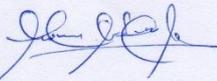
GENERO: *Matricaria*

ESPECIE: *Matricaria chamomilla* L

Nombre vulgar: “manzanilla”
Determinado por: Mg. María Isabel La Torre Acuy

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que considere conveniente.

Lima, 30 de octubre de 2019

 
Dra. Mónica Arakaki Makishi
JEFE (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

MAM ddb

ANEXO 4: Equipo de extracción por microondas libre de solvente



ANEXO 5: Equipo de destilación mediante arrastre con vapor a nivel laboratorio



ANEXO 6: Almacenamiento del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria recutita* L.)



ANEXO 7: Datos de los rendimientos del aceite esencial de manzanilla extraído por microondas libre de solvente

| | Flores manzanilla (gr) | Potencia (W) | Tiempo (min) | Aceite esencial obtenido (ml) | Rendimiento (%) |
|---|------------------------|--------------|--------------|-------------------------------|-----------------|
| 1 | 600 | 1000 | 20 | 0 | 0 |
| 1 | 600 | 1000 | 40 | 0.3 | 0.05 |
| 1 | 600 | 1000 | 60 | 0.4 | 0.067 |
| 1 | 600 | 1200 | 20 | 0.05 | 0.008 |
| 1 | 600 | 1200 | 40 | 0.4 | 0.067 |
| 1 | 600 | 1200 | 60 | 0.5 | 0.083 |
| 1 | 600 | 1400 | 20 | 0.1 | 0.017 |
| 1 | 600 | 1400 | 40 | 0.35 | 0.058 |
| 1 | 600 | 1400 | 60 | 0.42 | 0.07 |
| 2 | 600 | 1000 | 20 | 0 | 0 |
| 2 | 600 | 1000 | 40 | 0.3 | 0.05 |
| 2 | 600 | 1000 | 60 | 0.4 | 0.067 |
| 2 | 600 | 1200 | 20 | 0.05 | 0.008 |
| 2 | 600 | 1200 | 40 | 0.4 | 0.067 |
| 2 | 600 | 1200 | 60 | 0.48 | 0.08 |
| 2 | 600 | 1400 | 20 | 0.1 | 0.017 |
| 2 | 600 | 1400 | 40 | 0.35 | 0.058 |
| 2 | 600 | 1400 | 60 | 0.45 | 0.075 |
| 3 | 600 | 1000 | 20 | 0 | 0 |
| 3 | 600 | 1000 | 40 | 0.3 | 0.05 |
| 3 | 600 | 1000 | 60 | 0.4 | 0.067 |
| 3 | 600 | 1200 | 20 | 0.05 | 0.008 |
| 3 | 600 | 1200 | 40 | 0.4 | 0.067 |
| 3 | 600 | 1200 | 60 | 0.48 | 0.08 |
| 3 | 600 | 1400 | 20 | 0.1 | 0.017 |
| 3 | 600 | 1400 | 40 | 0.35 | 0.058 |
| 3 | 600 | 1400 | 60 | 0.45 | 0.075 |

ANEXO 8: Datos de los tres más altos rendimientos del aceite esencial de manzanilla extraído por microondas libre de solvente

| | Flores manzanilla (gr) | Potencia (W) | Tiempo (min) | Aceite esencial obtenido (ml) | Rendimiento (%) |
|--|------------------------|--------------|--------------|-------------------------------|-----------------|
| | 600 | 1200 | 60 | 0.5 | 0.083 |
| | 600 | 1200 | 60 | 0.48 | 0.08 |
| | 600 | 1200 | 60 | 0.48 | 0.08 |

ANEXO 9: Análisis de varianza para el rendimiento de extracción mediante el método de microondas libre de solvente

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|-----------------------------|-------------------|-----------|----------------|---------|---------|
| EFFECTOS PRINCIPALES | | | | | |
| A:POTENCIA (W) | 0.000996963 | 2 | 0.000498481 | 395.85 | 0.0000 |
| B:TIEMPO (min) | 0.019481 | 2 | 0.00974048 | 7735.09 | 0.0000 |
| INTERACCIONES | | | | | |
| AB | 0.000282593 | 4 | 0.0000706481 | 56.10 | 0.0000 |
| RESIDUOS | 0.0000226667 | 18 | 0.00000125926 | | |
| TOTAL (CORREGIDO) | 0.0207832 | 26 | | | |

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

ANEXO 10: Pruebas de múltiple rangos para rendimiento (%) por potencia (W). para el método de extracción de microondas libre de solvente

Método Tukey, nivel de confianza 95%

| POTENCIA (W) | Casos | Media LS | Sigma LS | Grupos Homogéneos |
|--------------|-------|-----------|-------------|-------------------|
| 1000 | 9 | 0.039 | 0.000374056 | x |
| 1400 | 9 | 0.0494444 | 0.000374056 | x |
| 1200 | 9 | 0.052 | 0.000374056 | x |

| Contraste | Sig. | Diferencia | +/- Límites |
|-------------|------|------------|-------------|
| 1000 - 1200 | * | -0.013 | 0.00135072 |
| 1000 - 1400 | * | -0.0104444 | 0.00135072 |
| 1200 - 1400 | * | 0.00255556 | 0.00135072 |

* indica una diferencia significativa

ANEXO 11: Pruebas de múltiple rangos para rendimiento (%) por tiempo (min), para el método de extracción de microondas libre de solvente

Método Tukey, nivel de confianza 95%

| TIEMPO (min) | Casos | Media LS | Sigma LS | Grupos Homogéneos |
|--------------|-------|------------|-------------|-------------------|
| 20 | 9 | 0.00833333 | 0.000374056 | x |
| 40 | 9 | 0.05833333 | 0.000374056 | x |
| 60 | 9 | 0.0737778 | 0.000374056 | x |

| Contraste | Sig. | Diferencia | +/- Límites |
|-----------|------|------------|-------------|
| 20 - 40 | * | -0.05 | 0.00135072 |
| 20 - 60 | * | -0.0654444 | 0.00135072 |
| 40 - 60 | * | -0.0154444 | 0.00135072 |

* indica una diferencia significativa.

ANEXO 12: Datos de los rendimientos del aceite esencial de manzanilla extraído por destilación por arrastre con vapor a nivel laboratorio

| | Flores manzanilla (gr) | Presión manométrica (kg/cm ²) | Tiempo (min) | Aceite esencial obtenido (ml) | Rendimiento (%) |
|---|------------------------|-------------------------------------------|--------------|-------------------------------|-----------------|
| 1 | 600 | 1000 | 60 | 0.2 | 0.033 |
| 1 | 600 | 1000 | 60 | 0.2 | 0.033 |
| 1 | 600 | 1000 | 60 | 0.18 | 0.029 |

ANEXO 13: Prueba de comparación de medias de los rendimientos de los métodos de extracción

Prueba estadística T de Student, nivel de confianza 95%

| Nivel | Casos | Media | Grupos Homogéneos |
|------------------------------------|-------|-------|-------------------|
| Destilación por arrastre con vapor | 3 | 0.032 | ^x |
| Microondas libre de solvente | 3 | 0.081 | ^x |

| Contraste | Sig. | Diferencia |
|-------------------------------------------------------------------|------|------------|
| Destilación por arrastre con vapor - Microondas libre de solvente | * | -0.049 |

| |
|-------------|
| +/- Límites |
| 0.0039265 |

* indica una diferencia significativa.

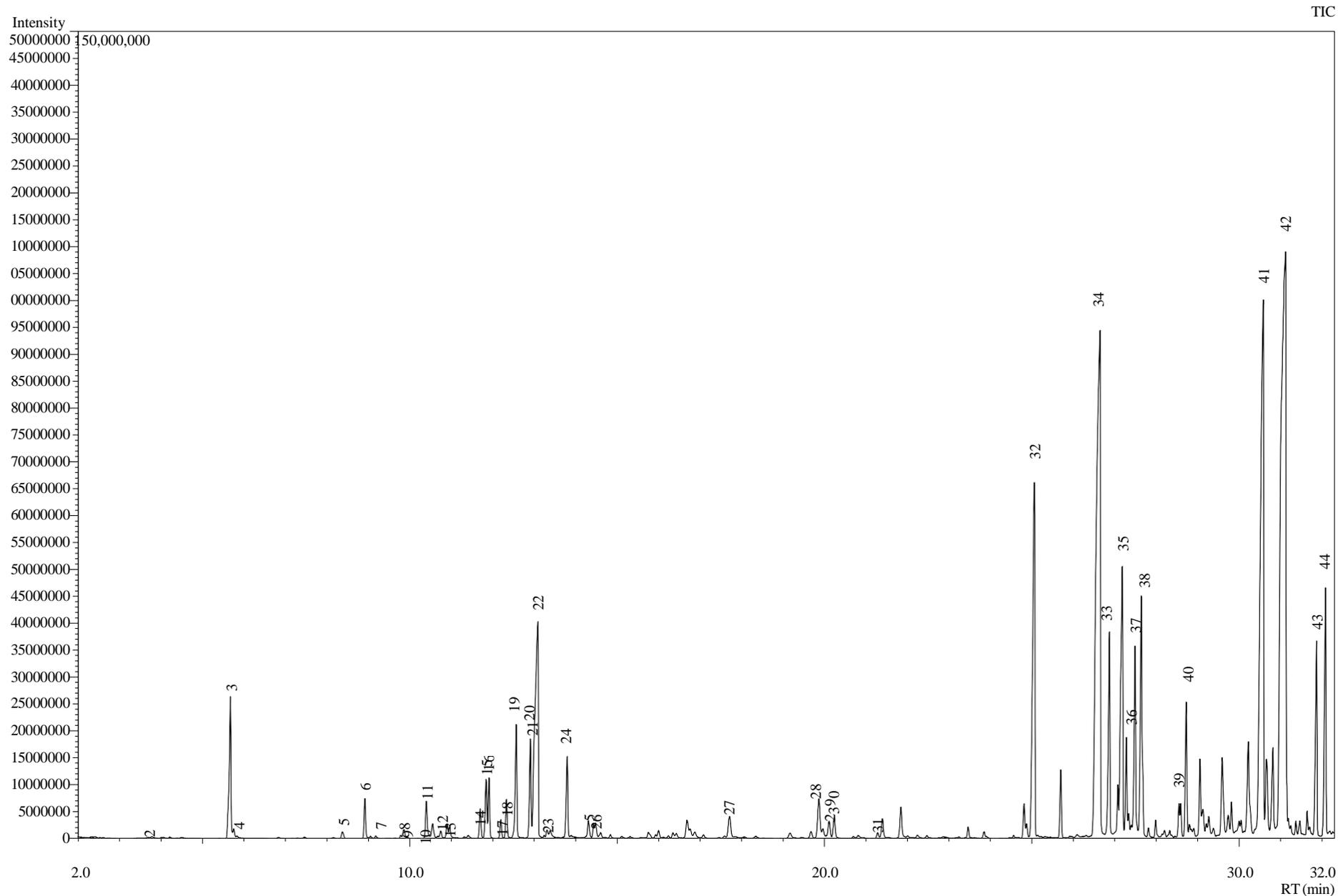
ANEXO 14: Componentes químicos del aceite esencial de manzanilla extraído por microondas libre de solvente

| Pico # | R.Tiempo | Area% | Nombre en inglés |
|--------|----------|--------|--------------------------------------------|
| 1 | 1.663 | 13.53 | Solvents |
| 2 | 3.721 | 0.00 | Ethyl isobutyrate (Traces) |
| 3 | 5.689 | 1.74 | Ethyl 2-methylbutyrate |
| 4 | 5.771 | 0.04 | Ethyl 3-methylbutyrate (Ethyl isovalerate) |
| 5 | 8.390 | 0.10 | .alpha.-Pinene |
| 6 | 8.930 | 0.44 | Propyl 2-methylbutyrate |
| 7 | 9.193 | 0.03 | Butyl isobutyrate |
| 8 | 9.869 | 0.12 | Sabinene |
| 9 | 9.956 | 0.01 | .beta.-Pinene |
| 10 | 10.208 | 0.01 | 1-Octen-3-ol |
| 11 | 10.412 | 0.44 | 6-Methyl-5-hepten-2-one |
| 12 | 10.561 | 0.19 | 2-pentylfuran (2-Amylfuran) |
| 13 | 10.758 | 0.07 | cis-.beta.-Ocimene I |
| 14 | 11.708 | 0.36 | p-Cymene |
| 15 | 11.851 | 0.72 | Limonene |
| 16 | 11.920 | 0.60 | Eucalyptol (1,8-Cineole) |
| 17 | 12.205 | 0.20 | trans-.beta.-Ocimene |
| 18 | 12.342 | 0.43 | Butyl 2-methylbutyrate |
| 19 | 12.578 | 1.39 | cis-.beta.-Ocimene II |
| 20 | 12.917 | 1.10 | .gamma.-Terpinene |
| 21 | 13.000 | 0.45 | Artemisia ketone A (CAS:546-49-6) |
| 22 | 13.097 | 4.67 | trans-2-pentenal |
| 23 | 13.321 | 0.09 | trans-2-Octenol |
| 24 | 13.806 | 0.94 | Artemisia alcohol CAS:27644 -04-8 |
| 25 | 14.325 | 0.10 | Linalol |
| 26 | 14.489 | 0.15 | Isoamyl isovalerate |
| 27 | 17.597 | 0.05 | Artemisia ketone B (CAS:546-49-6) |
| 28 | 19.873 | 0.69 | cis-3-Hexenyl valerate |
| 29 | 20.119 | 0.21 | Hexyl isovalerate |
| 30 | 20.242 | 0.27 | trans-2-Hexenyl valerate |
| 31 | 21.287 | 0.08 | Methyl trans-2-nonenoate |
| 32 | 25.063 | 5.89 | .beta.-Elemene |
| 33 | 26.533 | 1.93 | cis-.beta.-Farnesene |
| 34 | 26.647 | 13.18 | .beta.-Caryophyllene |
| 35 | 27.184 | 4.11 | Germacrene-D |
| 36 | 27.282 | 1.02 | .beta.-Selinene |
| 37 | 27.491 | 2.14 | bicyclogermacrene |
| 38 | 27.641 | 3.09 | .alpha.-Farnesene |
| 39 | 28.550 | 0.00 | Nerolidol (Traces) |
| 40 | 28.724 | 1.47 | Caryophyllene oxide |
| 41 | 30.579 | 12.18 | .alpha.-Bisabolol oxide B |
| 42 | 31.121 | 20.60 | .alpha.-Bisabolol |
| 43 | 31.865 | 2.27 | Chamazulene |
| 44 | 32.081 | 2.88 | .alpha.-Bisabolol oxide A |
| | | 100.00 | |

ANEXO 15: Componentes químicos del aceite esencial de manzanilla extraído por destilación por arrastre con vapor a nivel laboratorio

| Pico # | R.Tiempo | Area% | Nombre en inglés |
|--------|----------|--------|--------------------------------------------|
| 1 | 1.635 | 13.55 | Solvents |
| 2 | 3.792 | 0.00 | Ethyl isobutyrate (Traces) |
| 3 | 5.674 | 0.11 | Ethyl 2-methylbutyrate |
| 4 | 5.763 | 0.02 | Ethyl 3-methylbutyrate (Ethyl isovalerate) |
| 5 | 8.391 | 0.03 | .alpha.-Pinene |
| 6 | 8.926 | 0.08 | Propyl 2-methylbutyrate |
| 7 | 9.194 | 0.01 | Butyl isobutyrate |
| 8 | 9.869 | 0.04 | Sabinene |
| 9 | 9.956 | 0.01 | .beta.-Pinene |
| 10 | 10.134 | 0.00 | 1-octen-3-ol (Traces) |
| 11 | 10.412 | 0.06 | 6-Methyl-5-hepten-2-one |
| 12 | 10.561 | 0.15 | 2-Pentylfuran (2-Amylfuran) |
| 13 | 10.757 | 0.03 | cis-.beta.-Ocimene I |
| 14 | 11.701 | 0.18 | p-Cymene |
| 15 | 11.845 | 0.51 | Limonene |
| 16 | 11.914 | 0.06 | Eucalyptol (1,8-Cineole) |
| 17 | 12.203 | 0.09 | trans-.beta.-Ocimene |
| 18 | 12.332 | 0.13 | Butyl 2-methylbutyrate |
| 19 | 12.560 | 0.58 | cis-.beta.-Ocimene II |
| 20 | 12.900 | 0.50 | .gamma.-Terpinene |
| 21 | 13.030 | 2.38 | Artemisia ketone A (CAS:546-49-6) |
| 22 | 13.326 | 0.00 | trans-2-Octenol (Traces) |
| 23 | 13.772 | 0.11 | Artemisia alcohol CAS:57590-19-9 |
| 24 | 14.308 | 0.03 | Linalol |
| 25 | 14.476 | 0.09 | Isoamyl isovalerate |
| 26 | 17.605 | 0.01 | Artemisia ketone B (CAS:546-49-6) |
| 27 | 19.863 | 0.39 | cis-3-Hexenyl valerate |
| 28 | 20.112 | 0.11 | Hexyl isovalerate |
| 29 | 20.236 | 0.10 | trans-2-Hexenyl valerate |
| 30 | 21.286 | 0.02 | Methyl trans-2-nonenoate |
| 31 | 25.046 | 4.76 | .beta.-Elemene |
| 32 | 26.525 | 1.75 | cis-.beta.-Farnesene |
| 33 | 26.654 | 17.47 | .beta.-Caryophyllene |
| 34 | 27.189 | 5.49 | Germacrene-D |
| 35 | 27.291 | 2.22 | .beta.-Selinene |
| 36 | 27.487 | 2.14 | bicyclogermacrene |
| 37 | 27.637 | 2.99 | .alpha.-Farnesene |
| 38 | 28.548 | 0.43 | Nerolidol |
| 39 | 28.727 | 1.77 | Caryophyllene oxide |
| 40 | 30.558 | 10.88 | .alpha.-Bisabolol oxide B |
| 41 | 31.121 | 24.72 | .alpha.-Bisabolol |
| 42 | 31.880 | 4.46 | Chamazulene |
| 43 | 32.060 | 1.53 | .alpha.-Bisabolol oxide A |
| | | 100.00 | |

ANEXO 16: Cromatograma de CG-MS muestra de aceite esencial de manzanilla extraído por microondas libre de solvente



ANEXO 17: Cromatograma CGMS muestra de aceite esencial de manzanilla extraído mediante destilación por arrastre con vapor a nivel laboratorio

