

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
CUAUTITLAN



ESTUDIO DEL ACEITE ESENCIAL DE
PIMIENTA GORDA MEXICANA
(PIMENTA OFFICINALIS)

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
Q U I M I C O
P R E S E N T A

VICTORIA ORALIA HERNANDEZ PALACIOS

DIRECTOR DE TESIS
DR. JOSE LUIS GALVAN MADRID

1 9 7 9



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

C O N T E N I D O

1. INTRODUCCION.	1
2. LA PIMIENTA GORDA	3
2.1 Botánica y Cultivo de la Planta.	3
2.2 Zonas de Producción.	5
2.3 Comercialización.	5
3. LOS ACEITES ESENCIALES.	9
3.1 Generalidades.	9
3.2 Composición Química.	9
3.2.1. Compuestos Hidrocarbonados.	10
3.2.2. Compuestos Oxigenados.	10
3.2.3. Residuo no Volátil.	11
3.3 Métodos de Obtención.	11
3.3.1. Destilación por Arrastre de Vapor.	11
3.3.1.1. Destilación con agua.	12
3.3.1.2. Destilación con agua y vapor.	13
3.3.1.3. Destilación con vapor directo.	13
3.3.2. Expresión.	13
3.3.3. Extracción.	14
3.4. El Aceite Esencial de Pimienta Gorda.	15
3.4.1. Propiedades Organolépticas.	16

3.4.2. Propiedades Físicoquímicas. 16

3.4.3. Composición Química. 17

3.4.4. Adulteración. 20

3.4.5. Usos. 20

3.4.6. Comercialización. 21

4. TECNICAS ANALITICAS EN ACEITES ESENCIALES.

22

4.1 Determinaciones Organolépticas. 22

4.1.1. Aspecto. 22

4.1.2. Color. 23

4.1.3. Olor. 23

4.1.4. Sabor. 23

4.2. Determinaciones Físicas. 23

4.2.1. Índice de Refracción. 24

4.2.2. Densidad Relativa. 24

4.2.3. Rotación Óptica. 24

4.2.4. Solubilidad en Etanol. 25

4.2.5. Residuo a la Evaporación. 25

4.3. Determinaciones Químicas. 26

4.4. Métodos Instrumentales. 27

4.4.1. Espectroscopía de Infrarrojo. 27

4.4.2. Cromatografía en Fase de Vapor. 29

- 4.4.2.1. Tecnología de las columnas. 33
 - 4.4.2.1.1. Material y tamaño de la columna. 33
 - 4.4.2.1.2. Soporte. 33
 - 4.4.2.1.3. Fase líquida. 34
 - 4.4.2.1.4. Columnas capilares. 34
- 4.4.2.2. Métodos de Identificación. 35
 - 4.4.2.2.1. Índices de retención de Kovats. 35
 - 4.4.2.2.2. Reacciones previas a cromatografía gas-líquido. 37
 - 4.4.2.2.3. Método de adición. 37
 - 4.4.2.2.4. Separaciones previas a cromatografía gas-líquido. 38
 - 4.4.2.2.5. Acoplamientos posteriores a cromatografía gas-líquido. 38

5. PARTE EXPERIMENTAL.

40

- 5.1. Determinaciones Analíticas en la Especia. 40
 - 5.1.1. Determinación de Cenizas. 40
 - 5.1.2. Determinación de Pérdida por Desecación. 41
 - 5.1.3. Determinación del Contenido de Humedad. 41
 - 5.1.4. Determinación del Contenido de Aceite Esencial. 43
- 5.2. Obtención en el Laboratorio del Aceite Esencial de Pimienta Gorda. 45
 - 5.2.1. Equipo Empleado. 46
 - 5.2.1.1. Molino. 46

- 5.2.1.2. Equipo de destilación. 46
 - 5.2.1.2.1. Fuente de calor. 46
 - 5.2.1.2.2. Destilador. 46
 - 5.2.1.2.3. Condensador. 47
 - 5.2.1.2.4. Separador o vaso florentino. 47
 - 5.2.1.2.5. Recipiente para colectar el agua de destilación. 49
- 5.2.2. Método. 49
- 5.3. Análisis del Aceite Esencial de Pimienta Gorda Obtenido. 51
 - 5.3.1. Determinaciones organolépticas. 51
 - 5.3.2. Determinaciones Físicas y Químicas. 51
 - 5.3.2.1. Índice de refracción. 52
 - 5.3.2.2. Densidad relativa. 52
 - 5.3.2.3. Rotación óptica. 53
 - 5.3.2.4. Solubilidad en etanol. 53
 - 5.3.2.5. Contenido de fenoles. 54
 - 5.3.3. Espectroscopía de Infrarrojo. 55
 - 5.3.3.1. Eliminación selectiva de eugenol. 56
 - 5.3.3.2. Adición de metil eugenol. 56
 - 5.3.4. Cromatografía en Fase de Vapor. 57
 - 5.3.4.1. Índices de retención. 58
 - 5.3.4.2. Identificación de eugenol, metil eugenol y cariofileno. 60

6. RESULTADOS.	62
7. DISCUSION.	71
8. CONCLUSIONES.	76
9. BIBLIOGRAFIA.	77
10. APENDICE.	87

Espectros de infrarrojo y cromatogramas de las muestras de aceite esencial de pimienta gorda.

1. INTRODUCCION.

Las investigaciones que se realizan con el fin de lograr un mejor aprovechamiento de los recursos naturales, son de gran importancia para el desarrollo de los pueblos; por lo que cualquier contribución a este fin, debe considerarse de gran valor.

Los aceites esenciales, son unos de los múltiples productos que es posible obtener de las plantas y que no están aprovechándose adecuadamente, - ya que en algunos casos, se exporta la materia prima para importar posteriormente los productos elaborados a un precio notablemente mayor.

México es uno de los principales países productores de pimienta gorda, la producción nacional se destina casi totalmente a su exportación como grano, siendo posible extraer de ella un aceite esencial que es apreciado por su fino olor y sabor característico y que alcanza un elevado precio en el mercado. El presente trabajo, tiene como objetivo, hacer un estudio de la calidad del aceite esencial de pimienta gorda cultivada en el país, con la finalidad de ver si ésta es la adecuada para el mercado internacional de aceites esenciales.

Para llevar a cabo este estudio, se consideró necesario realizar una revisión de las técnicas analíticas de control de calidad en aceites esenciales, que se incluye en la parte teórica del trabajo y que son aplicables

al estudio de cualquiera de ellos; esta parte teórica comprende además, - consideraciones generales de la planta de pimienta y de los aceites esenciales, especialmente el de pimienta gorda.

La parte experimental comprende, algunas determinaciones de importancia para la pimienta, la obtención en el laboratorio del aceite esencial, la aplicación de las técnicas analíticas de control de calidad en el mismo y la comparación de los resultados con los de una muestra comercial de importación, del aceite esencial de pimienta gorda y con las especificaciones de su norma.

2. LA PIMIENTA GORDA.

2.1. Botánica y Cultivo de la Planta.

La pimienta gorda (*Pimenta officinalis* Lindley, *Pimenta dióica*) es el fruto de un árbol originario del hemisferio occidental, perteneciente a la familia de las Mirtáceas, género *Pimenta*, especie *officinalis*; se conoce con diferentes nombres vulgares, de acuerdo a la región donde se produce: Pimienta de Jamaica, pimienta de Tabasco, pimentón, malagueta, patolote, etc. Esta especia era usada por los antiguos mexicanos con fines medicinales (12) - (32).

El árbol alcanza una altura de 9 a 13 metros, presenta fuerte olor característico tanto en sus hojas como en sus frutos; sus hojas son alargadas, coriáceas y de borde entero, de 9 a 15 cm. de largo; sus flores en grupos terminales, son blancas y pequeñas, con 4 pétalos, 4 sépalos y numerosos estambres. El fruto es una baya con cáliz persistente, antes de madurar es de color verde y conforme avanza su maduración se va tornando morado hasta adquirir un color pardo rojizo, mide de 4 a 9 mm. de diámetro, tiene fama globular y superficie rugosa (14) (32).

La planta se adapta a los suelos más pobres y áridos siempre que sean permeables, para permitir un buen drenaje; no prospera en suelos arcillosos y pantanosos; el clima debe ser cálido, seco y sin vientos fuertes (32) (38).

2. LA PIMIENTA GORDA.

2.1. Botánica y Cultivo de la Planta.

La pimienta gorda (*Pimenta officinalis* Lindley, *Pimenta dióica*) es el fruto de un árbol originario del hemisferio occidental, perteneciente a la familia de las *Mirtáceas*, género *Pimenta*, especie *officinalis*; se conoce con diferentes nombres vulgares, de acuerdo a la región donde se produce: Pimienta de Jamaica, pimienta de Tabasco, pimentón, malagueta, patolote, etc. Esta especie era usada por los antiguos mexicanos con fines medicinales (12) - (32).

El árbol alcanza una altura de 9 a 13 metros, presenta fuerte olor característico tanto en sus hojas como en sus frutos; sus hojas son alargadas, coriáceas y de borde entero, de 9 a 15 cm. de largo; sus flores en grupos terminales, son blancas y pequeñas, con 4 pétalos, 4 sépalos y numerosos estambres. El fruto es una baya con cáliz persistente, antes de madurar es de color verde y conforme avanza su maduración se va tornando morado hasta adquirir un color pardo rojizo, mide de 4 a 9 mm. de diámetro, tiene fama globular y superficie rugosa (14) (32).

La planta se adapta a los suelos más pobres y áridos siempre que sean permeables, para permitir un buen drenaje; no prospera en suelos arcillosos y pantanosos; el clima debe ser cálido, seco y sin vientos fuertes (32) (38).

Esta planta crece en forma silvestre, su semilla es propagada por las aves; generalmente comienza a fructificar a los 7 años de edad alcanzando su producción máxima entre los 18 y 20 años, en los que puede llegar a ser de 34 a 45 kilogramos anuales por árbol (17) (56). La productividad del árbol depende de las condiciones de cultivo, de la región y de la forma de explotación, una deficiente técnica de explotación determina una baja productividad o variación en la producción para un mismo árbol.

La época de cosecha depende de la zona de cultivo, ésta comienza cuando el fruto, verde aún, ha alcanzado su mayor tamaño, una vez cortado se va extendiendo en costales o petates para secarlos al sol. El secado dura de 3 a 12 días según las condiciones climatológicas, el grado de desecación se reconoce en la apariencia rugosa de las bayas, en su color oscuro y en el ruido característico que hacen sus semillas al moverlas; una vez secas, se limpian de materiales extraños quedando listos para su envasado. Con el secado pierden aproximadamente, una tercera parte de su peso (14) (38).

En el estado de Tabasco, en la República Mexicana, los árboles comienzan a producir a los 4 años de edad dando aproximadamente un kilogramo por árbol, la producción a los 10 años es de 11 kilogramos y en algunos casos llega a los 30 kilogramos anuales por árbol; la cosecha se inicia en el mes de julio finalizando en octubre y noviembre (20).

2.2. Zonas de Producción.

La pimienta gorda se cultiva en las Antillas, siendo Jamaica el principal productor, también crece en México y en varios países de Centro y Sudamérica, como Guatemala, Honduras, Venezuela, etc. (17) (20) (38). Las zonas de cultivo pueden apreciarse en la figura No. 1.

En la República Mexicana su cultivo se extiende por la vertiente del Golfo de México, desde el norte de Puebla y Veracruz hasta la Península de Yucatán, abarcando los estados de: Veracruz, Tabasco, Campeche, Quintana Roo, Chiapas, San Luis Potosí y Yucatán (20); como puede apreciarse en la figura No. 2. De estos estados Tabasco es el principal productor de pimienta en el país.

2.3. Comercialización.

Siendo Jamaica el principal productor y exportador de la pimienta, es también el que regula su precio en el mercado mundial, éste está determinado por la apariencia del grano así como por su contenido en aceite esencial. La pimienta de Jamaica alcanza un precio mayor en el mercado internacional que el de los demás países productores (7); en 1978 su precio Nueva York



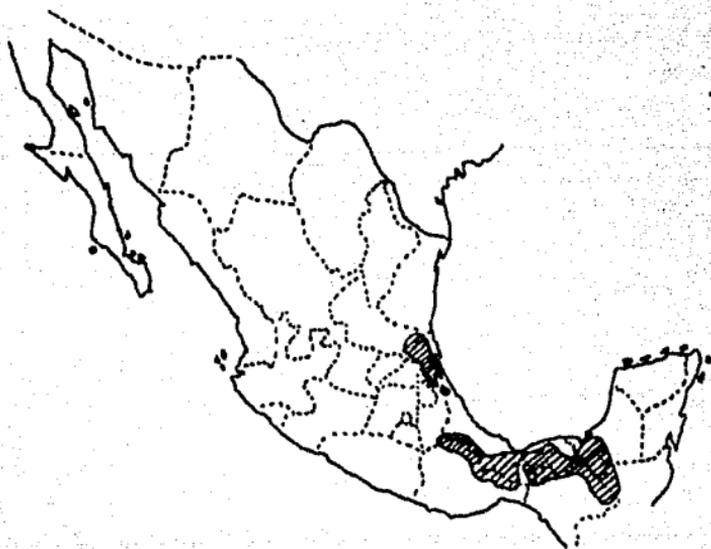


Fig. No. 2  DISTRIBUCION GEOGRAFICA DE LA PIMIENTA GORDA EN MEXICO.

fué de .95 dólares por libra, en tanto que el precio para la pimienta de Guatemala y Honduras fué de .75 dólares por libra. A principios de 1979 la libra se cotizaba a 1.03 dólares la de Jamaica, .88 dólares la de Honduras y Guatemala y a .71 dólares la de México (8).

La producción nacional de pimienta gorda se destina prácticamente a la exportación; no hay datos precisos de la cantidad que se produce anualmente, se estima sin embargo, que la cantidad exportada representa aproximadamente el 90% de la producción anual, considerando que el consumo interno de la especia se limita a utilizarla como tal en condimentos y que no se extrae su aceite esencial. (20)

Como producto de exportación la pimienta gorda mexicana tiene un buen mercado internacional, la tabla No. 1 muestra los datos de las exportaciones en los últimos años a países como: Alemania Federal, Holanda, Gran Bretaña, Estados Unidos, URSS, Países Bajos, etc. (6) (49).

Tabla No. 1 Exportación de pimienta gorda mexicana.

Año	Cantidad Kg.	Valor en pesos.
1974	1 145 623	25 262 459
1975	1 238 189	28 797 369
1976	1 619 266	40 222 964

3. LOS ACEITES ESENCIALES.

3.1 Generalidades.

Los aceites esenciales se definen, de acuerdo a la norma oficial mexicana (44), como "la sustancia volátil obtenida por un proceso físico, de material vegetal oloroso y/o sávido de un solo género y especie botánico, del cual - posee las características olorosas y/o sápidas y del que generalmente lleva el nombre".

Los aceites esenciales se extraen de hojas, flores, frutos, cortezas, troncos y raíces; son usados principalmente por sus cualidades sensoriales, pero en algunos casos se emplean por su acción bactericida y fungicida. Se usan ampliamente en la elaboración de sabores y aromas para la industria alimentaria y farmacéutica, en la preparación de fragancias para la industria de cosméticos y perfumes, etc. (50)

Son muchas las plantas que producen aceites esenciales, aunque no todas son explotadas comercialmente, entre las más importantes se pueden mencionar las de: anís, alcanfor, clavo, eucalipto, geranio, limón, naranja, palmarosa, lavanda, vainilla, rosa, menta, pimienta, etc. (50).

3.2 Composición Química.

Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos químicos como -

el aceite destilado de la madera de alcanfor donde se han encontrado 75 componentes (50). Algunos aceites esenciales están formados básicamente por un solo componente, como el caso del aceite de anís, constituido en un 90% de anetol (50)

Los componentes químicos de los aceites esenciales se pueden clasificar en tres grupos:

3.2.1. Compuestos Hidrocarbonados.

Principalmente monoterpenos y sesquiterpenos que constituyen la mayor proporción en los aceites. Los terpenos son compuestos cuyo esqueleto carbonado está formado por unidades de isopreno $\text{H}_2\text{C}=\underset{\text{CH}_3}{\text{C}}-\text{CH}=\text{CH}_2$ unidades cabeza a cola en forma regular; se clasifican en monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, etc., según tengan 2, 3, 4, 6 unidades de isopreno; pueden ser acíclicos, monocíclicos, bicíclicos, etc. (28).

3.2.2. Compuestos Oxigenados.

Constituidos principalmente por alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, éteres de los monoterpenos y sesquiterpenos (26). En menor cantidad se pueden encontrar compuestos oxigenados no terpénicos, como alcoholes alifáticos, butílico, hexílico, etc. o cetonas como diacetilo (50).

3.2.3. Residuo no Volátil.

Formado básicamente por ceras de naturaleza parafínica y ácidos grasos (23) (26).

De estos componentes, los oxigenados son los que contribuyen en mayor grado al aroma del aceite esencial, los monoterpenos y sesquiterpenos - contribuyen en algún grado al olor y el sabor, pero se pueden oxidar y resinificar por la acción del oxígeno, luz o por inadecuadas condiciones de almacenamiento; por lo que en algunos casos se prefiere concentrar - los compuestos oxigenados eliminando los hidrocarbonados o el residuo no volátil, para obtener: aceite esencial descerado, concentrado, desterpinado o desesquiterpenado (23) (25).

3.3 Métodos de Obtención.

Se usan varios métodos para la obtención de aceites esenciales, los más - comunes son:

3.3.1 Destilación por Arrastre de Vapor.

El proceso de destilación por arrastre de vapor se basa en el hecho de que el agua y el aceite, por ser dos líquidos no miscibles, forman un sistema - heterogéneo donde cada uno de ellos ejerce una presión de vapor que correspondería a la del líquido puro a una temperatura dada, la presión total de - vapor sobre la mezcla será la suma de las presiones de los constituyentes.

La destilación por arrastre de vapor se hace, en primer lugar, porque el aceite esencial por la acción del vapor abandona más fácilmente el material vegetal y en segundo lugar, porque una vez aislado destila a una temperatura inferior a su punto de ebullición (19).

Al ir calentando el sistema (agua-aceite) llegará el momento en que la presión de vapor iguale a la presión de confinamiento y el sistema entra en ebullición. Como los dos líquidos alcanzan juntos una presión total, dada a una temperatura más baja que la de cualquiera de los dos solos, la ebullición se lleva a cabo a una temperatura inferior al punto de ebullición de cualquiera de los dos componentes por separado (19).

El procedimiento utilizado consiste generalmente, en colocar el material vegetal en un destilador o alambique de donde salen los vapores, mezcla de agua y aceite, que pasan a un refrigerante donde se conducen para, finalmente separarse en un vaso florentino por diferencia de densidad (19).

La destilación se puede hacer de tres formas:

3.3.1.1. Destilación con agua.

El material vegetal se pone en contacto directo con el agua hirviendo dentro del alambique de donde salen los vapores que posteriormente se condensan y separan (23), como ya se mencionó.

3.3.1.2. Destilación con agua y vapor.

El material de las plantas se sostiene en un plato perforado o rejilla a una cierta distancia del fondo del alambique, la parte inferior de éste se llena con agua hasta un nivel inferior a la rejilla, el vapor que se produce al calentar el agua se pone en contacto con el material sin que éste - entre en contacto con el agua hirviendo (23) (19).

3.3.1.3. Destilación con vapor directo.

El vapor se genera por separado y se introduce a una presión ligeramente superior a la atmosférica, por los orificios de un serpentín situado bajo la carga (23) (19).

Otras formas de obtención, además de la destilación son:

3.3.2. Expresión.

Se aplica principalmente a los frutos cítricos. El método básicamente consiste en la ruptura mecánica de las celdillas que contienen el aceite, localizadas en el epicarpio del fruto; se exprime el fruto en una prensa, donde la presión hace estallar las celdillas del aceite esencial, este sale junto con el jugo y otros residuos, por lo que es necesario separarlo, empleando: filtración, decantación, destilación por arrastre de vapor, centrifugación, etc. (26) (50).

3.3.3. Extracción.

Este método se emplea para aquel material que por destilación da un aceite de baja calidad o cantidad, cuyos componentes por la acción del calor, se hidrolizan, polimerizan, resinifican o simplemente se pierden con el agua de destilación; generalmente, se emplea con las flores delicadas como el jazmín, la gardenia, la violeta, etc. (23).

Esta extracción se basa en la propiedad que tienen algunas grasas de absorber el perfume de los pétalos de las flores o la propiedad de algunos disolventes como el éter de petróleo o benceno de penetrar y disolver el perfume natural de los pétalos.

La extracción con grasas se lleva a cabo poniendo en contacto los pétalos de las flores con la grasa fría, enfloración, o sumergirlos en grasa caliente, maceración, renovándolos constantemente; se obtiene así una grasa saturada de perfume llamada "pomada", a su extracto alcohólico se le llama "extracto" y cuando se elimina el alcohol de éste, se obtienen los "absolutos de enfloración" o "absolutos de maceración" (23) (50).

La extracción con disolventes ha reemplazado prácticamente a los métodos de enfloración y maceración; en este caso, las flores frescas son extraídas varias veces con disolventes purificados, se obtiene así un disolvente saturado de perfume que se destila, generalmente, al vacío dejando un residuo sólido llamado "concreto de flores" que tratado con alcohol da los "extractos" y

posteriormente los "absolutos" (23) (50).

3.4. El Aceite Esencial de Pimienta Gorda.

A partir de la planta de pimienta gorda (*Pimenta Officinalis*) se obtienen dos tipos de aceite esencial, uno de los frutos o bayas y otro de las hojas, el primero es más apreciado por su fino olor y sabor característico de la especia (23). Al aceite obtenido de los frutos se le conoce con los siguientes nombres: en inglés, oil of pimento, pimenta berry oil y oil of allspice; en italiano, oleo essenziale di pimento; en francés, essence de piment. Al aceite de las hojas se le conoce, en inglés, como pimenta leaf oil (23) (18).

El nombre de "allspice" que se le da y que significa "todas las especias" proviene de que su olor y sabor característico recuerdan una mezcla o combinación de los de clavo, canela y nuez moscada (23) (33).

El aceite de bayas de pimienta, que a través del presente trabajo se le llamará simplemente aceite esencial de pimienta, se obtiene empleando una destilación por arrastre de vapor. Los frutos deben quebrarse o triturarse primero e inmediatamente vaciarse al destilador para evitar pérdidas de aceite o componentes por evaporación (23).

La destilación dura aproximadamente 10 horas, tiempo que varía de acuerdo a las condiciones de la destilación y la calidad de los frutos. En el -

agua de destilación queda cierta cantidad de aceite en forma emulsionada, por lo que se suele destilar ésta para concentrar el aceite (23).

El rendimiento en aceite esencial es del orden de 3.0 a 4.3% (23) (45) - que varía dependiendo de la calidad del fruto, de su origen y de las condiciones de la destilación.

3.4.1. Propiedades Organolépticas.

El aceite esencial de pimienta gorda, de un color que va del amarillo claro al rojizo, tiene según Arctander (3): "un aroma cálido especiado, dulce, - que presenta una nota de salida peculiar fresca y limpia, un cuerpo perdurable, dulce y balsámico especiado con una subnota parecida a la del té. Tiene una cierta similitud al aceite de clavo de especia en la nota de salida, ligeramente amarga, fresca y frutal"; respecto a su sabor menciona que: "es igualmente cálido, dulce, no quemante, ligeramente a pimienta negra, pero no seco". Su color se oscurece con el tiempo y es afectado por la luz (3).

3.4.2. Propiedades Fisicoquímicas.

Presenta las siguientes propiedades físicas y químicas (33) (15).

Densidad relativa a 25° C 1.018 - 1.048

Índice de refracción a 20° C 1.5270 - 1.5400

agua de destilación queda cierta cantidad de aceite en forma emulsionada, por lo que se suele destilar ésta para concentrar el aceite (23).

El rendimiento en aceite esencial es del orden de 3.0 a 4.3 % (23) (45) - que varía dependiendo de la calidad del fruto, de su origen y de las condiciones de la destilación.

3.4.1. Propiedades Organolépticas.

El aceite esencial de pimienta gorda, de un color que va del amarillo claro al rojizo, tiene según Arctander (3): "un aroma cálido especiado, dulce, - que presenta una nota de salida peculiar fresca y limpia, un cuerpo perdurable, dulce y balsámico especiado con una subnota parecida a la del té. Tiene una cierta similitud al aceite de clavo de especia en la nota de salida, ligeramente amarga, fresca y frutal"; respecto a su sabor menciona que: "es igualmente cálido, dulce, no quemante, ligeramente a pimienta negra, pero no seco". Su color se oscurece con el tiempo y es afectado por la luz (3).

3.4.2. Propiedades Físicoquímicas.

Presenta las siguientes propiedades físicas y químicas (33) (15).

Densidad relativa a 25° C 1.018 - 1.048

Índice de refracción a 20° C 1.5270 - 1.5400

Rotación óptica a 20° C	-4° a 0°
Solubilidad en etanol	soluble en 2 volúmenes de alcohol etílico al 70%
Contenido de fenoles	no menos del 65% en volumen

Es soluble en todas proporciones en benzoato de bencilo, dietil ftalato y propilen glicol. Es inestable con los álcalis y estable en presencia de ácidos débiles. Se debe envasar preferentemente en vidrio, aluminio o acero inoxidable, llenando los envases y colocándolos en un lugar fresco protegidos de la luz (15).

3.4.3. Composición Química.

Se encuentran informados en la literatura los siguientes componentes que se han encontrado en el aceite esencial de pimienta gorda, en los dos primeros casos (23) (36) se trata de pimienta originaria de Jamaica, en el último (33) no se menciona el origen de la muestra.

Compuestos informados por:

Clave	Nombre	Guenther (23) 1950	Nabney (36) 1972 %	Masada (33) 1976
3	α-Pineno	1	[0.4]	2
3	Thujeno	1	[]	1

Clave	Nombre	Guenther	Nobney	Masada
3	β -Pinoeno	1	[0.3]	2
3	Δ^1 Careno	1	[]	1
3	Mirceno	1	0.8	1
3	α Felandreno	2	1.0	2
3	α Terpinoeno	1	0.4	1
3	Limoneno	1	0.4	2
5	1,8 Cineol	2	2.3	2
5	α Terpineol	1	[]	1
4	β Humuleno	1	[2.7]	1
4	α Humuleno	1	[]	1
4	γ Muuroleno	1	0.6	1
4	β Selineno	1	[0.6]	1
4	α Selineno	1	[]	1
4	γ Cadineno	1	1.2	1
4	Ar-curcumeno	1	0.3	1
4	Calameneno	1	0.2	1
5	Metil eugenol	2	8.8	2
3	γ Terpinoeno	1	0.3	1
3	p-Cimeno	1	1.4	2
3	Terpinoleno	1	0.7	2

Clave	Nombre	Guenther	Nabney	Masada
5	Oxido 4-8 de terpinoleno	1	0.2	1
5	Linalool	1	0.2	2
4	Elemeno	1	[0.6]	1
5	Terpinen 4-ol	1		1
4	Isocariofileno	1	[4.2]	1
4	Cariofileno	2		2
4	Alloaromadendrono	1	0.8	1
5	Oxido de cariofileno	1	[0.5]	1
5	Aldehido cariofileno	1		1
5	Alcohol cariofileno	1	0.7	1
5	Eugenol	2	68.6	2
5	Chavicol	1	0.3	1
5	Cis-isoeugenol	1	1	2
5	Farnesol	1	1	2
6	Acido palmítico	2	1	1

Claves:

- 1 Compuesto no identificado en el aceite.
- 2 Compuesto presente, no se especifica su porcentaje.
- 3 Monoterpeno hidrocarbonado.
- 4 Sesquiterpeno hidrocarbonado.
- 5 Compuesto oxigenado.
- 6 Compuesto no terpenico.

3.4.4. Adulteración.

El aceite de pimienta puede encontrarse frecuentemente adulterado con el aceite de hojas de pimienta que le da un alto contenido de fenoles y un alto valor de densidad relativa, otro adulterante comunmente usado es el aceite de clavo o ciertas fracciones de éste (23).

3.4.5. Usos.

En aplicaciones domésticas se usa el grano de pimienta gorda como tal o - molido, pero en aplicaciones industriales se prefiere el aceite esencial ya que concentra el olor y sabor de la especia, es más homogéneo y puede - ser dosificado más fácilmente.

Su principal aplicación es en productos alimenticios, como aromatizantes y saborizantes en: embutidos, salchichas, aderezos de carne en general, -

sopas, salsas, ensaladas, etc. (52) (23).

Arctander (3), menciona que dado la característica especial del aceite de pimienta de que "el aire sobre el líquido saborizado con él es inicialmente ligero y fresco, se usa extensivamente en sabores frutales del tipo pesado como la ciruela, piña, cereza, grosella, etc". En perfumería su uso está limitado a ser un modificador de fragancias masculinas y ocasionalmente para dar una nota cálida y dulce especiada característica. Se mezcla excelentemente con otro tipo de aceites y productos (3). Puede emplearse como fuente de eugenol que es su principal constituyente.

3.4.6. Comercialización.

Existen en Jamaica destilerías que producen el aceite esencial de pimienta, algunas veces se aprovechan las instalaciones para producir también el aceite de las hojas, pero la mayor cantidad se produce en destilerías de Estados Unidos y de Europa, a partir de la pimienta que importan de los países productores (23). Se estima que la producción mundial excede las 100 toneladas métricas por año (3).

En México no se produce actualmente, la demanda se satisface importándolo, principalmente de Estados Unidos. El consumo anual, calculado en base a los datos proporcionados por compañías nacionales que se encargan de su comercialización (9) (10), es de aproximadamente 100 a 150 kilogramos y su precio a octubre de 1978, fue de aproximadamente 3,500.00 pesos por kg.

4. TECNICAS ANALITICAS EN ACEITES ESENCIALES.

El análisis de un aceite esencial puede hacerse con el fin de identificar y cuantificar todos sus componentes, llevándose generalmente a cabo con fines de investigación, o bien, con el objeto de detectar adulteraciones y evaluar la calidad de aceites comerciales, situación más frecuente.

En su artículo "El control de calidad en las materias primas aromáticas", Peyron (46) menciona: "controlar no consiste solo en analizar, siempre es la comparación de un producto escogido como testigo, con las normas analíticas o cuantitativas". El control de calidad en aceites esenciales se basa en la comparación de sus propiedades sensoriales, físicas y químicas, así como en los rendimientos que se obtengan, con patrones de calidad reconocida.

De acuerdo a lo anterior, las determinaciones más frecuentes a las que se somete un aceite esencial son las siguientes:

4.1. Determinaciones Organolépticas.

4.1.1. Aspecto.

Se determina visualmente, observando si el líquido presenta turbidez, precipitados, ceras y agua (26).

4.1.2. Color.

Se determina visualmente.

4.1.3. Olor.

Es una determinación muy importante, ya que el valor comercial de un aceite esencial se debe principalmente a su olor; se determina, generalmente, introduciendo en el aceite una tira de papel secante de aproximadamente 10 centímetros de largo por 1 o 2 de ancho, se puede ir comparando con un aceite patrón, se va oliendo a intervalos de tiempo. Una vez conocido el olor típico, cualquier olor extraño puede dar una idea de su causa, olor a "quemado", "rancho", etc. (26).

4.1.4. Sabor.

Es también una determinación importante, al igual que el olor, cualquier sabor extraño puede dar idea de su causa (26).

4.2. Determinaciones Físicas.

Entre las más importantes, de acuerdo a las normas oficiales mexicanas, se pueden mencionar las siguientes:

4.2.1. Índice de Refracción.

Es la relación que existe entre el seno del ángulo de incidencia y el seno del ángulo de refracción de un rayo luminoso, que pasa del aire a la sustancia en examen mantenida a una temperatura de 20 °C. Se utiliza para su determinación un refractómetro que permita lectura directa del índice de refracción entre 1.3000 y 1.7000 con una precisión de ± 0.0002 ; la lectura se expresa hasta la cuarta cifra decimal (40).

4.2.2. Densidad Relativa.

Es la relación del peso de un volumen dado de una sustancia, entre el peso de un volumen igual de agua en las mismas condiciones de presión y temperatura; el método básicamente consiste en pesar volúmenes iguales de agua y aceite en un picnómetro limpio a una temperatura de 25 ± 2 °C, en la mayoría de los casos, o a la temperatura indicada en la norma del aceite en cuestión (39).

4.2.3. Rotación Óptica.

Se entiende por rotación óptica de un aceite esencial el ángulo que gira el plano de polarización de la luz cuando ésta atraviesa un espesor de 10 centímetros de la muestra a analizar, en condiciones determinadas de temperatura, generalmente a 20 °C. El método se basa en la propiedad que tienen los

aceites de modificar el plano de vibración de la luz polarizada, de tal forma que el rayo emergente tiene un valor angular medible con respecto al plano formado por la luz incidente (42).

Se utiliza para su determinación un polarímetro de una precisión cuando menos de 0.03° (42).

4.2.4. Solubilidad en Etanol.

Los aceites esenciales de acuerdo a su composición pueden ser más o menos solubles en alcohol etílico. Esta determinación consiste en medir un volumen de aceite esencial e ir agregando poco a poco etanol diluido de una cierta concentración, observando los cambios que se vayan produciendo en la solución y anotando los volúmenes de etanol a los cuales se obtiene una solución límpida, una turbidez o una opalescencia, esto se hace manteniendo una temperatura de 20°C (43).

4.2.5. Residuo a la Evaporación.

Se basa en la medición de la diferencia de pesos que sufre la muestra al pasar por un proceso de calentamiento controlado en el cual se evaporan las sustancias volátiles. Se pesa una cantidad determinada de muestra en una cápsula de porcelana tarada, se coloca en un baño de vapor el tiempo correspondiente, según la norma del aceite, se saca del baño, se seca y pesa la

cápsula, anotando la pérdida de peso (41).

El índice de refracción varía generalmente poco, con la calidad del aceite; la densidad relativa y la rotación óptica dan cierta información del contenido de terpenos, más alto o más bajo del normal, de la presencia de adulterantes, etc. (26). Respecto a la solubilidad en etanol, en general, aceites más ricos en compuestos oxigenados son más rápidamente solubles en alcohol etílico diluido que los aceites ricos en terpenos (23) (26).

4.3. Determinaciones Químicas.

Estas determinaciones varían según el tipo de aceite esencial que se esté analizando, consisten básicamente en la determinación del porcentaje de los componentes mayoritarios presentes en el aceite, así por ejemplo, para aquellos que tienen como componentes principales a los aldehídos, (aceite esencial de limón) se determina el porcentaje de compuestos carbonílicos. Para el caso del aceite de pimienta gorda cuyo componente mayoritario es el eugenol, se determina el porcentaje de fenoles presentes; las determinaciones se hacen, por lo tanto, de acuerdo a las especificaciones que se den en la norma particular de cada aceite.

4.4. Métodos Instrumentales.

4.4.1. Espectroscopía de Infrarrojo.

El infrarrojo normal es la porción del espectro electromagnético que abarca de 2.5 a 15μ (4000 a 666 cm^{-1} .) (1) (13). Los espectros de infrarrojo son el resultado de la interacción de la radiación infrarroja con los diferentes modos de vibración y rotación de una molécula; para que una determinada vibración resulte en absorción de energía infrarroja debe causar una variación en el momento dipolar de la molécula (13) (37) (55).

Las vibraciones moleculares fundamentales pueden ser: de estiramiento; que es un aumento o disminución de la distancia entre dos átomos a lo largo del enlace o de deformación en la cual la posición de los átomos varía en relación al eje de enlace original, modificando los ángulos de enlace. Cuando luz infrarroja de una cierta frecuencia incide en una molécula, se produce absorción de energía aumentando la amplitud de la vibración, la molécula al regresar a su estado original libera la energía (1) (13) (37).

Un determinado compuesto absorbe luz infrarroja a longitudes de onda específicas de acuerdo a su estructura molecular, de manera que su espectro de infrarrojo, el cual es una gráfica de la intensidad de la absorción con respecto a la longitud de onda, es característico de dicho compuesto.

Este método instrumental es útil en el análisis de aceites esenciales, pues -

ofrece información en corto tiempo, aún cuando la interpretación del espectro resulta laboriosa. Se emplean las llamadas frecuencias características o - bandas de absorción características, que son aquellas bandas que aparecen con una relativamente alta intensidad en un rango característico para un - cierto grupo funcional (37).

Un espectro de infrarrojo de un aceite esencial es una "huella digital" del mismo, de manera que permite detectar cambios en su composición y por consiguiente en su calidad (7) (26).

Carroll y Price (7) han descrito el uso de la espectroscopía de infrarrojo para análisis rutinario de aceites esenciales, indicando brevemente las bandas de - absorción características de los compuestos comunmente encontrados en ellos; describen la aplicación con fines cuantitativos, cosa no muy común ya que - este uso está limitado al conocimiento que se tenga de los coeficientes de extinción de los principales componentes y a la elección de las bandas claves de los mismos para poder determinar su concentración.

Bellanato e Hidalgo (4) han publicado una colección de espectros de infrarrojo de aceites esenciales de diferentes tipo y orígenes, incluyendo en algunos casos, la asignación de las principales bandas a los compuestos que corresponden; estos espectros se pueden emplear tanto para fines de identificación como para observar los cambios de composición de acuerdo al origen del aceite;

se menciona además que la espectroscopía de infrarrojo se puede utilizar en el estudio del proceso de envejecimiento de los aceites por ver las variaciones en el espectro.

El método empleado generalmente, consiste en correr el espectro del aceite completo, compararlo con el de un aceite patrón, determinar a que componentes corresponden las principales bandas para detectar las diferencias que presentan los espectros. Cuando no se encuentra publicado el espectro de un aceite, la asignación de las bandas se puede hacer por comparación con los espectros de los componentes individuales publicados en la literatura, como las colecciones de Wenninger (54) y Mitzner (35).

4.4.2. Cromatografía en Fase de Vapor.

La cromatografía en fase de vapor es una técnica de separación de mezclas de sustancias volátiles por la interacción de una mezcla de gases y una fase estacionaria; cuando la fase estacionaria es un líquido, se habla de la cromatografía gas-líquido (CGL), la separación en este caso, se basa en la distribución relativa o partición de los componentes de la muestra entre la fase gaseosa y el líquido de partición (29) (34).

El líquido, de baja presión de vapor, que actúa como fase estacionaria se -

deposita como una película delgada en un soporte inerte empacado en un tubo de diámetro angosto (columna) (34).

El cromatógrafo consta básicamente, de las siguientes unidades (29) (34) - (48):

- 1.- Fuente y control de gases. Comprende los cilindros de los gases, así como los reguladores y medidores de presión.
- 2.- Unidad de inyección. Provee un medio de introducción de la muestra a la corriente del gas acarreador y por consiguiente a la columna; en ella se localiza la cámara de vaporización donde la muestra pasa a fase de vapor.
- 3.- Unidad cromatográfica. En ella se lleva a cabo el proceso de separación cromatográfica, en esta unidad se encuentra localizada la columna, dentro de un horno de temperatura controlable.
- 4.- Unidad de detección y amplificación. Comprende al detector, que es un aparato por el cual pasa el gas acarreador y que genera una señal eléctrica cuando cambia la composición de dicho gas y del amplificador, que amplifica la señal eléctrica recibida del detector y la transmite al registrador.
- 5.- Unidad de registro y manejo de datos. Consta del registrador, que traza una gráfica sobre una cinta de papel que se mueve a velocidad constante, usualmente milivoltios en función del tiempo; en algunos -

casos incluye además al integrador electrónico que mide los tiempos de retención y el área de los picos correspondientes, dando un registro impreso de los datos.

La figura No. 3 muestra un diagrama de las unidades de que consta un cromatógrafo de gases.

La fase móvil mueve bajo presión una muestra en fase de vapor desde el inyector a través de la fase estacionaria donde se efectúa el proceso cromatográfico, después del cual, los componentes de la mezcla emergen de la columna a diferentes tiempos y pasan al detector donde se convierten en una señal eléctrica que puede medirse en el registrador (48).

Al intervalo de tiempo que transcurre entre la introducción de la muestra en el sistema y la elución de un componente, se le llama tiempo de retención del componente; al volumen de gas acarreador requerido para transportar un compuesto desde el inyector hasta el detector se le llama volumen de retención (29) (48).

Por la complejidad de las mezclas que presentan los aceites esenciales se les ha estudiado por cromatografía gas-líquido empleando preferentemente, temperatura programada (CGLTP). En este método la temperatura de la columna se va incrementando a una velocidad predeterminada durante el proceso, de manera que se comienza a baja temperatura para obtener una buena separación de los componentes más volátiles, aumentándose paulatinamente la temperatura

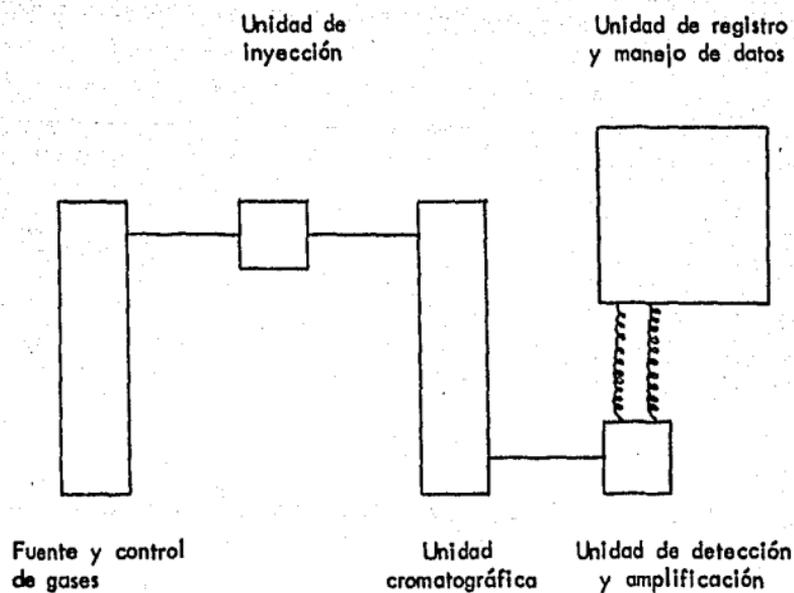


Fig. No. 3 DIAGRAMA ESQUEMATICO DE UN CROMATOGRAFO DE GASES.

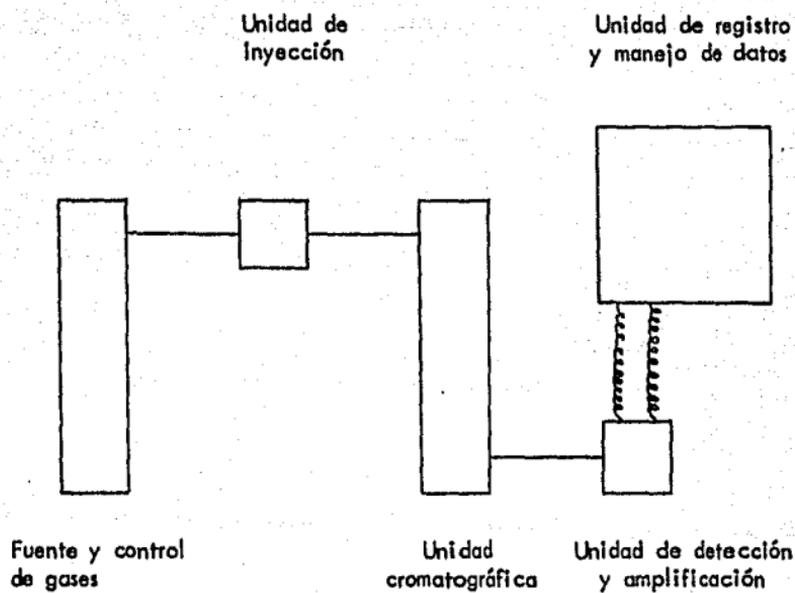


Fig. No. 3 DIAGRAMA ESQUEMATICO DE UN CROMATOGRFO DE GASES.

para acelerar la elución de los picos correspondientes a compuestos de alto punto de ebullición (29).

No existen condiciones generales establecidas que sean aplicables a todos los aceites esenciales, se encuentran informados gran cantidad de trabajos que se han llevado a cabo bajo muy diferentes condiciones (21), a continuación se mencionan las que se emplean más frecuentemente:

4.4.2.1. Tecnología de las columnas.

4.4.2.1.1. Material y tamaño de la columna.

Se usan preferentemente de acero inoxidable o vidrio, teniendo estas últimas la desventaja de su fragilidad (24); para trabajos de control de calidad son adecuadas las columnas menores de tres y medio metros. En columnas empacadas convencionales se ha visto que el incremento en la resolución, que es una medida de la capacidad de la columna para separar dos picos, con el incremento en la longitud de la columna se hace notablemente pequeño más allá de los cuatro a cinco metros (21). Respecto al diámetro las de 1/8 de pulgada son las más utilizadas (24) (48).

4.4.2.1.2. Soporte.

Su objetivo principal es proveer una gran superficie de contacto uniforme sobre la cual se extienda la fase líquida, su principal requerimiento es que sea

inerte; se ha encontrado que los soportes con sitios activos causan descomposiciones e isomerizaciones en los terpenos, por lo que deben ser desactivados por álcali o por silanización (21).

4.4.2.1.3. Fase líquida.

La selección de la fase líquida depende de la composición de la muestra, la elección de la mejor fase líquida para una separación particular se basa principalmente en la experiencia (34). En el caso de aceites esenciales se suelen usar fases líquidas de diferentes polaridades, entre las no polares, que separan los terpenos aproximadamente de acuerdo a su punto de ebullición, están las grasas Apiezon y los aceites y gomas de silicón (SE-30), de las fases polares las más empleadas son los polietilenglicoles (Carbowax y Ucon) (21) (24).

4.4.2.1.4. Columnas capilares.

Las columnas capilares tienen un diámetro interno de 0.01 a 0.03 pulgadas y una longitud de 100 a 150 pies. En estas columnas la superficie interna del tubo se cubre con una delgada capa de fase líquida. Su principal característica es la baja resistencia al flujo del gas acarreador con un consecuente poco descenso en la presión a lo largo de la columna; dando picos estrechos y una alta resolución (29) (34) (48).

Hay también columnas capilares empacadas, que combinan la alta permeabilidad de las columnas capilares comunes con la alta capacidad de muestra de -

inerte; se ha encontrado que los soportes con sitios activos causan descomposiciones e isomerizaciones en los terpenos, por lo que deben ser desactivados por álcali o por silanización (21).

4.4.2.1.3. Fase líquida.

La selección de la fase líquida depende de la composición de la muestra, la elección de la mejor fase líquida para una separación particular se basa principalmente en la experiencia (34). En el caso de aceites esenciales se suelen usar fases líquidas de diferentes polaridades, entre las no polares, que separan los terpenos aproximadamente de acuerdo a su punto de ebullición, están las grasas Aplezon y los aceites y gomas de sílicón (SE-30), de las fases polares las más empleadas son los polietilenglicoles (Carbowax y Ucon) (21) (24).

4.4.2.1.4. Columnas capilares.

Las columnas capilares tienen un diámetro interno de 0.01 a 0.03 pulgadas y una longitud de 100 a 150 pies. En estas columnas la superficie interna del tubo se cubre con una delgada capa de fase líquida. Su principal característica es la baja resistencia al flujo del gas acarreador con un consecuente poco descenso en la presión a lo largo de la columna; dando picos estrechos y una alta resolución (29) (34) (48).

Hay también columnas capilares empacadas, que combinan la alta permeabilidad de las columnas capilares comunes con la alta capacidad de muestra de -

las columnas empacadas convencionales, dando un alto poder de resolución y rapidez en el análisis (29) (48).

Se han utilizado este tipo de columnas capilares en el análisis de aceites esenciales con buenos resultados (21) (33).

4.4.2.2. Métodos de identificación.

Para el propósito de caracterización y control de calidad de aceites esenciales, el uso de los cromatogramas como "huellas digitales" es una técnica útil, consiste en la inyección del aceite completo para obtener un perfil - característico, el cual permite por comparación, detectar adulteraciones y - envejecimiento (21) (24).

Rasquinho (47) ha propuesto normalizar tales perfiles para análisis cualitativo de aceites esenciales, empleando el sistema de índices de retención, estableciendo "rejillas" de la serie homóloga de los ésteres metílicos de los ácidos grasos que permiten localizar los picos del aceite en el cromatograma. Sin embargo, la elección que hizo de FFAP como fase estacionaria universalmente aplicable no parece ser buena, por lo que se ha sugerido emplear Carbowax 20M (21).

4.4.2.2.1. Índices de retención de Kovatz.

Este sistema se basa en una escala de retención donde los puntos fijos son los

máximos de los picos correspondientes a los miembros individuales de una serie homóloga de n-parafinas, de manera que el punto donde una sustancia es eluida se puede medir en esta escala (22)(29).

El índice de retención en CGL en condiciones isotermas para una sustancia x se calcula con la siguiente fórmula:

$$I(x) = 100 \frac{\log V(x) - \log V(n)}{\log V(n+1) - \log V(n)} + 100n$$

Donde:

$I(x)$ es el índice de retención de la sustancia x, para una determinada fase estacionaria y a una temperatura dada.

$V(x)$ es el volumen de retención corregido de la sustancia x.

$V(n)$, $V(n+1)$ son los volúmenes de retención corregidos de las parafinas de la serie C_nH_{2n+2} , con n y n+1 átomos de carbono respectivamente.

El índice de retención de una parafina normal C_nH_{2n+2} se define como $100n$.

En el caso de CGL con temperatura programada, hay una relación lineal entre la temperatura de elución de un compuesto con el número de átomos de carbono de una serie homóloga; por lo que los índices de retención se calculan usando (22)(29):

$$I(x) = 100 \frac{T_r(x) - T_r(n)}{T_r(n+1) - T_r(n)} + 100n$$

Donde:

$Tr(x)$ es la temperatura de retención del compuesto en consideración.

$Tr(n)$, $Tr(n+1)$ son las temperaturas de retención de las parafinas normales con n y $n+1$ átomos de carbono respectivamente.

La temperatura de retención o de elución es la temperatura a la cual el máximo del pico de la substancia en consideración es eluido de la columna (29).

4.4.2.2.2. Reacciones previas a cromatografía gas-líquido.

Se le llama también método de substracción selectiva, consiste en efectuar reacciones que permitan remover de la mezcla una cierta clase de compuestos, de esta manera se realizan reacciones específicas para grupos funcionales en los aceites esenciales; tiene la limitación de que un determinado reactivo puede afectar a otros componentes, además de aquellos que se pretenden eliminar con él, por lo que la interpretación de los resultados debe ser muy cuidadosa (31).

4.4.2.2.3. Método de adición.

Consiste en adicionar a la muestra una determinada cantidad de un compuesto

conocido y determinar, por comparación con el cromatograma del aceite - completo, donde aparece el pico del compuesto adicionado (24).

4.4.2.2.4. Separaciones previas a cromatografía gas-líquido.

Ya que en algunos casos la CGL no logra separar totalmente los compuestos de un aceite, se prefiere hacer una separación previa por grupos, aplicando otras técnicas analíticas como: destilación fraccionada al vacío, cromatografía en columna, etc., para aislar los monoterpenos de los sesquiterpenos y - compuestos oxigenados para separar más eficientemente estas fracciones por - CGL e identificarlos (24) (57).

4.4.2.2.5. Acoplamiento posteriores a cromatografía - gas-líquido.

Básicamente consiste en la recuperación de las fracciones separadas por el cromatógrafo para su identificación posterior por técnicas como:

Identificación química. Análisis funcional orgánico, o sea identificación con reactivos específicos para grupos funcionales (29).

Cromatografía en capa fina. En esta técnica se pueden correlacionar los R_f de las manchas que se obtengan con los de componentes patrón (24) (29).

Espectroscopía de infrarrojo. Es una de las técnicas más útiles y más frecuentemente usadas; el espectro puede obtenerse en la fase gaseosa o bien condensar la muestra y correrse como película líquida (24) (29).

Espectrometría de masas. La combinación CGL - masas es una de las técnicas más útiles y eficiente actualmente en uso para el análisis de aceites esenciales, se ha aplicado con muy buenos resultados (33). Sin embargo, - por lo costoso del equipo, no está al alcance de todos los laboratorios.

Mayor información sobre estas técnicas puede obtenerse en varias obras que las tratan ampliamente (11) (16) (29) (31).

5. PARTE EXPERIMENTAL.

El trabajo experimental se realizó con una muestra de 50 kilogramos de pimienta gorda proporcionada por la Comisión Nacional de Fruticultura, procedente de la zona de Tabasco.

La muestra, antes de emplearse, se homogeneizó para que las porciones que de ella se fueran tomando representaran adecuadamente el total.

5.1 Determinaciones Analíticas en la Especia.

Para cada determinación, la muestra era previamente molida en un molino de mano tipo casero, sin llegar a su pulverización. En todos los casos las determinaciones se hicieron por duplicado y los resultados presentados son un promedio de ambas determinaciones.

5.1.1. Determinación de Cenizas.

En el caso de especias, el contenido de cenizas es un indicador de la limpieza de las mismas. Un alto valor indica que la muestra puede estar contaminada con basura o materiales minerales (30) (52).

Método: Se pesa una cantidad exacta de pimienta gorda molida, aproximadamente 2 gramos, en una cápsula de porcelana tarada, se mete a la mufla a 600 °C por una hora (52).

Cálculos:

$$\% \text{ de cenizas} = \frac{\text{peso del residuo de la ignición (g)}}{\text{peso inicial de la muestra (g)}} \times 100$$

5.1.2 Determinación de Pérdida por Desecación.

El valor que se obtiene en esta determinación corresponde al contenido de agua y de otras sustancias volátiles además del aceite esencial (52).

Método: Se pesa una cantidad determinada de muestra molida en un pesafiltros tarado, se introduce a la estufa a 100-105 °C por dos horas (52).

Cálculos:

$$\% \text{ de pérdida por desecación} = \frac{\text{peso de muestra perdido en el secado (g)} \times 100}{\text{peso inicial de muestra (g)}}$$

5.1.3. Determinación del Contenido de Humedad.

Es uno de los análisis más importantes que se hace a una especia; un alto contenido de agua indica un posible almacenamiento incorrecto (30).

Método: Se efectúa por destilación azeotrópica con una mezcla xilol-tolueno (95:5); en el curso de la destilación se forma una mezcla gaseosa xilol-tolueno-agua, en el seno de la cual, al condensarse se separan dos fases, una orgánica y otra acuosa que por ser más pesada se sitúa en la parte inferior del colector y se puede leer directamente en mililitros (52). 10 gramos de pimienta molida se colocan en un matraz al que se le agraga un litro de la mezcla xilol-tolueno, se adapta el matraz al aparato de destilación, figura No. 4, -

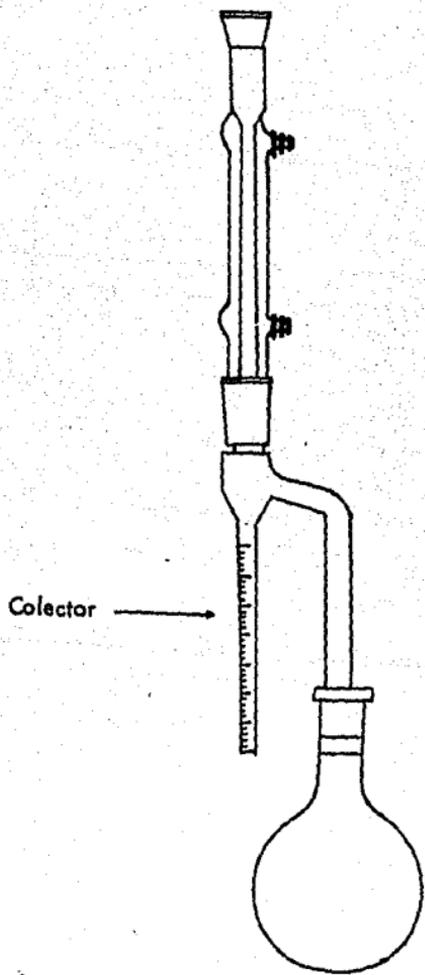


Fig. No. 4 APARATO DE DESTILACION PARA DETERMINACION DEL CONTENIDO DE HUMEDAD.

se destila hasta que dos lecturas consecutivas, tomadas a intervalos de 5 minutos, no den variación, aproximadamente dura 4 horas.

Cálculos:

$$\% \text{ de humedad} = \frac{\text{volumen de agua (ml)}}{\text{peso de muestra (g)}} \times 100$$

5.1.4. Determinación del Contenido de Aceite Esencial.

La determinación del contenido de aceite esencial es, en una especie, el método analítico más útil y frecuentemente usado, ya que el aceite concentra los componentes que le dan su sabor y olor característicos; generalmente se considera que un lote de muestra con un alto contenido de aceite esencial tendrá más "fuerza" en su sabor (30) (52). Además de la cantidad es importante la calidad del aceite obtenido.

Método: Se emplea el método Clevenger modificado (27) (30). 100 gramos de pimienta molida se colocan en un matraz redondo de 500 mililitros, se le añade 1 litro de agua y se adapta el matraz al equipo de destilación, figura No. 5, con la trampa Clevenger para aceites más ligeros que el agua y con una capacidad del colector de 10 mililitros; en el colector de aceite se coloca 1 mililitro de xilol medido con exactitud. La destilación se detiene hasta que dos lecturas consecutivas, con intervalos de una hora no den variación, su duración aproximada es de 5 horas.

La adición de xilol al colector se hace con la finalidad de que ésta disuelva

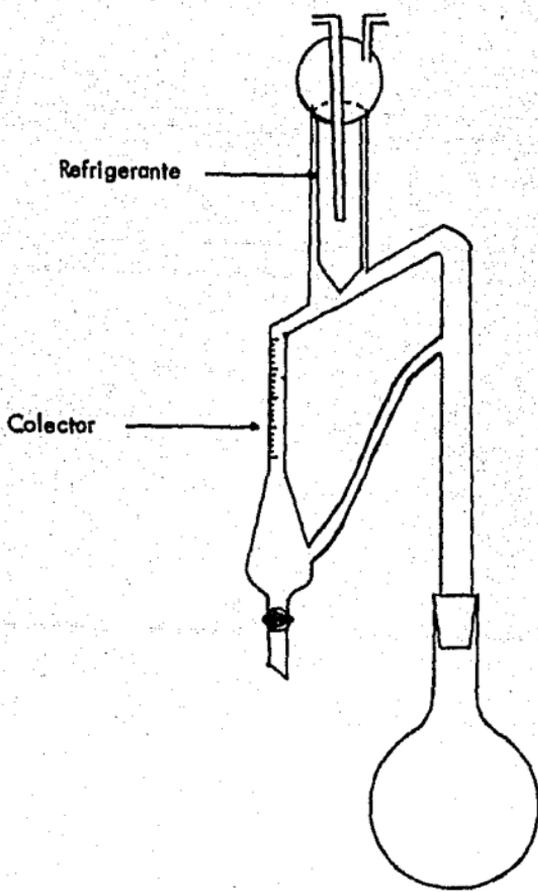


Fig. No. 5 APARATO DE DESTILACION PARA DETERMINACION DEL CONTENIDO DE ACEITE ESENCIAL.

completamente al aceite, se usa cuando la densidad del aceite en consideración es cercana a la del agua, o bien como en este caso, cuando se separa en dos fracciones. Para determinar el volumen total destilado, si se le añadió a la trampa 1 mililitro de xilol, se le resta 0.93 mililitros del volumen total obtenido (30).

Otra muestra se analizó de acuerdo al método recomendado por Ulrich (52), que emplea la misma trampa Clevenger, pero de menor capacidad del colector, de 2 mililitros; a 5 gramos de muestra se le añaden 250 mililitros de agua y se adapta el equipo de destilación, se le añade al colector 0.2 mililitros de geraniol y al volumen total leído se le resta el volumen de geraniol añadido.

Cálculos:

$$\text{Aceite esencial (ml/g) \%} = \frac{\text{volumen de aceite (ml)}}{\text{peso de muestra (g)}} \times 100$$

5.2 Obtención en el Laboratorio del Aceite Esencial de Pimienta Gorda.

Para obtener el aceite en el laboratorio se empleó una destilación con agua y vapor, método ya mencionado antes (3.3.1.2.); que es una de las formas de llevar a cabo una destilación por arrastre de vapor.

5.2.1. Equipo Empleado.

5.2.1.1. Molino.

Se utiliza para triturar ó moler los granos, tiene dos discos, uno de los - cuales está fijo, el otro gira alrededor de un eje horizontal, tocándose por dos caras provistas de una serie de dientes tallados en forma abierta al exterior, se puede regular la separación de los discos que darán el tamaño - del material que se desee; los granos se introducen por la parte de arriba, un gusano los mueve hasta los discos, pasan por ellos y salen por la parte de abajo, se maneja manualmente.

5.2.1.2. Equipo de Destilación.

Consta de las siguientes partes:

5.2.1.2.1. Fuente de calor.

Se utiliza para calentar el agua que va a producir el vapor; se empleó - una parrilla eléctrica común de laboratorio.

5.2.1.2.2. Destilador.

Formado de un recipiente inferior que contiene el agua y el cual se coloca directamente sobre la parrilla; la parte superior es una olla de aluminio, al

Igual que la inferior, que ensambla sobre ella; el fondo de la olla tiene perforaciones pequeñas y sobre él se adapta una malla fina de acero inoxidable para evitar que las partículas pequeñas caigan al agua.

La tapa de la olla tiene dos perforaciones, una en el centro donde se inserta un tubo largo de vidrio que atraviesa la olla en su parte interior y sale al recipiente de agua, la parte superior se conecta a un embudo de separación de un litro que permite ir recuperando el agua; la otra perforación de la tapa tiene una conexión para el refrigerante. Todas las uniones se sellan para evitar que escape el vapor. La figura No. 6 muestra un diagrama del destilador.

5.2.1.2.3. Condensador.

Los vapores producidos en el destilador se condensan por contacto con las partes frías de un refrigerante de rosario que se utilizó para tal fin.

5.2.1.2.4. Separador o vaso florentino.

Su función es ejecutar una rápida, completa y eficiente separación del aceite y agua condensada, la mezcla que sale del condensador se separa por simple reposo debido a su diferencia en densidad (19) (23). El volumen de agua condensada es necesario removerlo constantemente, el separador tiene una adaptación especial que permite esto.

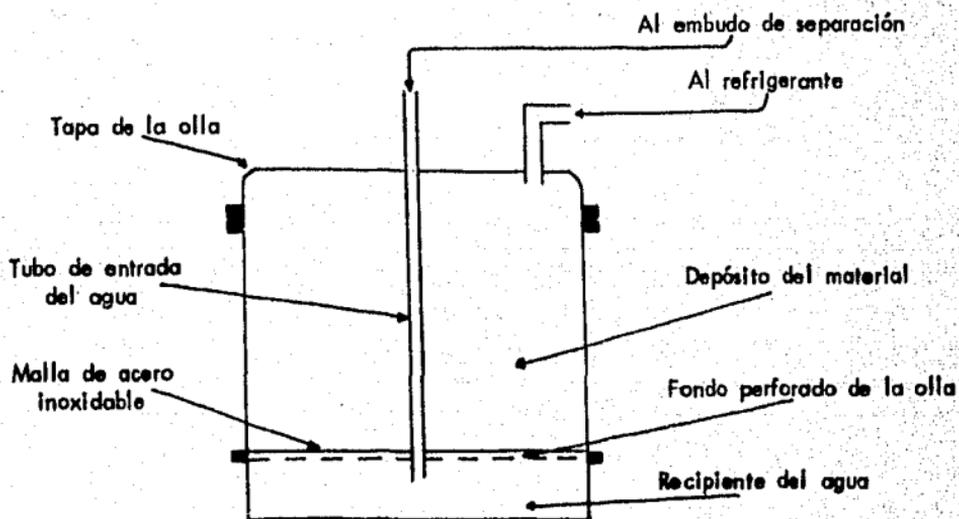


Fig. No. 6 ESQUEMA DEL DESTILADOR.

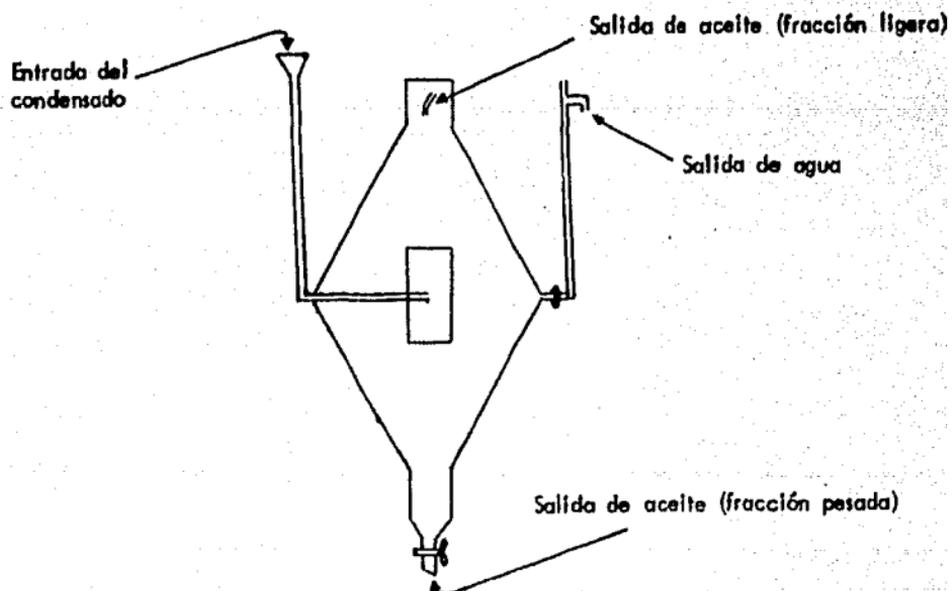


Fig. No. 7 ESQUEMA DEL SEPARADOR.

Se empleó un vaso florentino de vidrio, especialmente diseñado para que permitiera la recuperación de las dos fracciones en las que se separa el aceite esencial de pimienta, una más ligera y la otra más pesada que el agua; en la figura No. 7 se pueden apreciar los detalles de este separador.

5.2.1.2.5. Recipiente para recolectar el agua de destilación.

Se utilizó un matraz erlenmeyer de 1 litro.

La figura No. 8 muestra el equipo completo de destilación.

5.2.3. Método.

La pimienta una vez triturada, se pesa e inmediatamente se vacía en el destilador y se adapta al resto del equipo. La cantidad inicial de agua que se pone es aproximadamente de 3 litros y se va recuperando con agua de la llave en volúmenes más o menos iguales a los del agua de destilación que va saliendo. El vaso florentino se llena de agua para evitar que las primeras gotas de aceite se queden adheridas a las paredes. Se prende la parrilla y se deja que caliente el agua, una vez que comienza a pasar el condensado al vaso florentino se inicia la separación del aceite esencial, conforme avanza la destilación aparece aceite en forma emulsionada con el agua, además de las dos fracciones que se van separando.

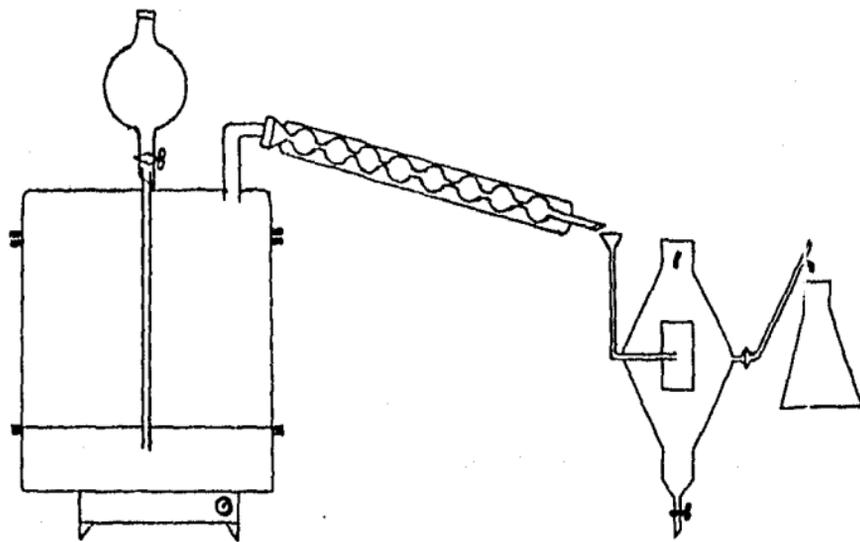


Fig. No. 8 ESQUEMA DEL EQUIPO COMPLETO DE DESTILACION.

Una vez terminada la destilación, se prueba poniendo una cucharita a la salida del refrigerante observando si no aparecen gotitas de aceite, se apaga la parrilla y se procede a sacar el aceite del separador. Las dos fracciones se juntan, se mide el volumen total obtenido, se seca con sulfato de sodio anhidro y se guarda en un frasco ámbar en el refrigerador.

Se realizaron 5 destilaciones en total, para obtener igual número de muestras que se analizaron posteriormente.

5.3. Análisis del Aceite Esencial de Pimienta Gorda Obtenido.

Una muestra comercial de "allspice", aceite esencial de importación, proporcionada por Fritzsche Dodge & Olcott de México, S. A., se utilizó como patrón de referencia en las determinaciones realizadas; de aquí en adelante se hará referencia a ella como muestra FDO.

5.3.1. Determinaciones Organolépticas.

Se refieren a las características generales de las 5 muestras obtenidas.

Método: el aspecto y el color se determinaron visualmente para el olor y sabor se contó con la colaboración de especialistas (9) (10), quienes al estar más familiarizados con el manejo de este tipo de aceites esenciales dieron una descripción más completa del aroma y sabor.

5.3.2. Determinaciones Físicas y Químicas.

5.3.2.1. Índice de Refracción.

Se determinó en un refractómetro de Abbe, a 20 °C.

Método: Antes de depositar la muestra en el refractómetro, se mantiene a una temperatura próxima a los 20 °C. Se hace circular por el aparato una corriente de agua, con el objeto de que el instrumento esté a la temperatura deseada para las lecturas; se coloca la muestra en los prismas limpios y secos, se espera a que la temperatura se estabilice y se hace la lectura (40).

5.3.2.2. Densidad Relativa.

Su determinación se hizo en un densímetro digital DMA 40 Anton Paar, a una temperatura de 25 °C.

Método: Se mantiene el aparato a 25 °C haciendo circular una corriente de agua por él, se inyecta en la celda agua destilada, una vez que la temperatura se estabiliza, se toma la lectura del periodo del agua que da el instrumento; se saca el agua, la celda se seca y enseguida se inyecta el aceite esencial, nuevamente al estabilizarse la temperatura se toma la lectura del periodo del aceite.

Cálculos:

$$\frac{d_{ac}}{d_{ag}} = 1 - \frac{A(T_{ag}^2 - T_{ac}^2)}{d_{ag}}$$

Donde:

d_{ac} = Densidad del aceite esencial.

d_{ag} = Densidad del agua.

T_{ac} = Periodo del aceite esencial.

T_{ag} = Periodo del agua.

A = Constante del aparato a una temperatura determinada.

5.3.2.3. Rotación Óptica.

Se midió en un polarímetro a 20°C, empleando una celda de 10 centímetros de longitud.

Método: Se enciende la fuente luminosa, se espera a que alcance una buena luminosidad; se llena la celda de aceite esencial previamente llevado a una temperatura de 20 °C, evitando que queden burbujas de aire, se coloca la celda en el polarímetro y se toma la lectura de rotación óptica (42).

5.3.2.4. Solubilidad en Etanol.

Método: Un mililitro de aceite esencial se coloca en una probeta de vidrio de 25 mililitros con tapón esmerilado, se introduce en un baño a 20 °C, -

se agrega etanol, al 70%, gota a gota de una bureta hasta disolución del aceite, cuando se obtiene una solución límpida se anota el volumen de etanol, se continúa la adición hasta un volumen máximo de 20 mililitros, agitando vigorosamente después de cada adición (43).

5.3.2.5. Contenido de Fenoles.

Método: Se empleó el método de la AOAC (27) que concuerda con el propuesto por Guenther (23); se basa en que los fenoles reaccionan con los hidróxidos de sodio y potasio dando lugar a fenolatos solubles en agua, ya que las sales de potasio de muchos fenoles son más solubles que las correspondientes sales de sodio, el hidróxido de potasio se prefiere (23).

2 mililitros de aceite, exactamente medidos se colocan en una probeta de 25 mililitros con graduaciones de 0.5 mililitros, se le añade 20 mililitros de KOH al 3%, se agita por 5 minutos, se calienta en baño de agua a ebullición por 10 minutos y se deja enfriar a temperatura ambiente. Cuando los dos líquidos se separan, se mide el volumen de aceite residual.

Cálculos:

$$\% \text{ de fenoles} = \frac{V_i - V_r}{V_i} \times 100$$

Donde:

V_i = volumen inicial de aceite (ml).

V_r = volumen residual de aceite (ml).

5.3.3. Espectroscopía de Infrarrojo.

Este análisis representa un estudio cualitativo del aceite esencial, más bien aplicado con fines comparativos que de identificación.

Todos los espectros fueron obtenidos en un espectrofotómetro de infrarrojo - Pye Unicam SPI 100; la absorción de las muestras se determinó de 4000 a 400 cm^{-1} bajo la forma de película líquida, en celdas de 0.025 mm. de bromuro de potasio, salvo cuando se especifique otra cosa.

Método: Se obtuvieron los espectros de las 5 muestras de aceite esencial - producido en el laboratorio y el de la muestra FDO, se compararon para detectar las diferencias existentes. Al no encontrar publicado en la literatura el espectro del aceite completo, la asignación de las bandas se realizó por comparación con los espectros de infrarrojo de los componentes puros informados en la literatura (15) (51) (54). Se analizaba banda por banda el - espectro de cada componente con el de la muestra FDO, anotando las que no se sobreponen y aquellas en las que están contribuyendo más de 1 componente, haciendo lo mismo para cada compuesto; se eligieron solo aquellos que pueden encontrarse en el aceite en una proporción considerable como para contribuir significativamente al espectro total, éstos fueron: eugenol, metil eugenol, cariofileno, 1,8 cineol, α -terpineol, γ -cadineno y p-cimeno. En el caso en que las bandas aparecen redondeadas, o muy anchas, éstas no pueden ser convenientemente identificadas y la asignación no es total-

mente definitiva.

5.3.3.1. Eliminación Selectiva del Eugenol.

Dado que, según la composición del aceite de pimienta informada en la literatura (3.4.3.), el único fenol presente es el eugenol, se realizó la eliminación selectiva de éste, para estudiar el espectro de la fracción resultante. Se escogió la reacción con KOH, que forma fenolatos solubles en agua y permite la separación de la fase aceitosa.

Método: Similar al empleado por Veek y Russell (53) para la eliminación de eugenol en aceite esencial de hojas de pimienta. Se realizó con una de las muestras del aceite obtenido. Se colocan 2 mililitros de aceite en un vasito de precipitados y se le agregan 2 mililitros de hexano y 7.5 mililitros KOH 2N, se agita con agitador magnético por 5 minutos aproximadamente, se pasa el contenido del vasito a un embudo de separación pequeño y se deja reposar la solución para que se separen las dos fases, se recoge la fase orgánica que se emplea para sacar el espectro; en este caso, el espectro se obtuvo usando una celda de 0.1 mm. de bromuro de potasio con una celda de referencia de 0.05 mm. de bromuro de potasio conteniendo hexano.

5.3.3.2 Adición de Metil Eugenol.

Se añadió a 2 mililitros de aceite esencial de pimienta, mezcla de las 5 muestras obtenidas, metil eugenol en un 5%, para comparar el espectro -

resultante con los anteriores, se corrió en las mismas condiciones ya mencionadas.

5.3.4. Cromatografía en Fase de Vapor.

Todos los cromatogramas fueron obtenidos bajo las siguientes condiciones de operación:

Aparato: Varian Aerograph 2440-10, con doble detector de ionización de flama e integrador electrónico acoplado Varian CDS 101.

Doble columna: Longitud, 3 metros.

Diámetro, 3 mm. (1/8")

Fase estacionaria: SE-30 al 15% en Chromosorb WAW DMCS malla 100/120.

Gas acarreador: Nitrógeno.

Tamaño de la muestra: 0.2 μ l.

Temperatura del inyector: 190 °C.

Temperatura del detector: 250 °C.

Flujo del gas acarreador: 30 ml/min.

Atenuación: x 16, x 1.

Programación de la temperatura: De 75 ° a 250 ° C, a 4 ° C/min.

Velocidad del papel: 4.23 mm/min. (10 "/hr.).

Método: Con los cromatogramas de las 5 muestras y la FDO, se enumeraron los picos en uno de ellos (muestra No. 1), se normalizó esta numeración en

todos los cromatogramas para hacer corresponder los picos y de acuerdo con la información proporcionada por el integrador, se establece la comparación del porcentaje relativo de área de los diferentes picos. Posteriormente, se mezclaron las 5 muestras y se corrió el cromatograma de la mezcla.

5.3.4.1. Índices de Retención.

Con propósitos de identificación se calcularon los índices de retención de los componentes del aceite esencial, para ésto, se inyectó al cromatógrafo una mezcla de hidrocarburos $C_9 - C_{19}$ junto con una muestra de aceite, la No. 1, en una proporción 1:4. Los hidrocarburos forman la "rejilla" que nos va a permitir determinar los índices de retención, se marcan los puntos que corresponden a los picos de cada uno de los componentes de la mezcla y estos puntos se pasan al cromatograma del aceite solo, se trazan líneas verticales sobre esos puntos para medir las distancias de retención, también se marcan los picos del aceite y se miden las distancias correspondientes.

Cálculos:

Como se está trabajando con temperatura programada, los índices de retención se calculan con la siguiente fórmula (4.4.2.2.1.):

$$I(x) = 100 \frac{Tr(x) - Tr(n)}{Tr(n+1) - Tr(n)} + 100n$$

Donde:

$Tr(x)$ es la temperatura de retención del compuesto en consideración.

$Tr(n)$, $Tr(n+1)$ son las temperaturas de elución de las parafinas -
normales con n y $n+1$ átomos de carbono.

En este caso, en vez de temperatura de elución se emplea distancia de retención que viene a ser equivalente ya que está programado un aumento lineal de temperatura, $4\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min.}$, y la gráfica se mueve a una velocidad constante, $4.23\text{ mm}/\text{min.}$ A continuación se presenta el cálculo de un índice de retención, esquematizando en la figura No. 9, parte del cromatograma para mejor comprensión.

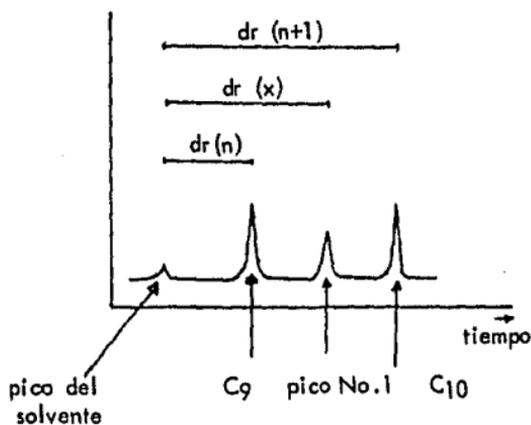


Fig. No. 9 ESQUEMA DE UN CROMATOGRAMA.

Suponiendo que las distancias de retención medidas del cromatograma fueron:

$$dr(n) = 43 \text{ cm.}$$

$$dr(x) = 49 \text{ cm.}$$

$$dr(n+1) = 61 \text{ cm.}$$

$$\text{Donde: } n = 9$$

$$n+1 = 10$$

Para el pico No. 1:

$$I(1) = 100 \frac{49 - 43}{61 - 49} \times 100 (9).$$

$$I(1) = 933.33$$

Este índice de retención es para SE-30, fase estacionaria que se utiliza.

5.3.4.2. Identificación del Eugenol, Metil Eugenol y β Cariofileno.

Para confirmar la identidad de los 3 principales componentes del aceite esencial de pimienta, se hicieron, en el caso de eugenol una substracción selectiva, para el metil eugenol y β cariofileno una adición.

Método: El eugenol se eliminó en la misma forma que para el caso del infrarrojo, (5.3.3.1.), o sea la reacción con KOH 2N del aceite disuelto en un volumen igual de hexano, se corrió el cromatograma de la fase orgánica.

El método de adición empleado para los otros 2 compuestos se realiza, adicionando por separado, 5% de metil eugenol y 3% de β cariofileno a 2 muestras,

mezcla de las 5 obtenidas. Se prepararon 2 mililitros en cada caso y los cromatogramas se obtuvieron bajo las mismas condiciones que los anteriores.

6. RESULTADOS.

Tabla No. 2 Análisis de la especia.

	Muestra	Pimienta de Jamaica (a)
Cenizas %	5.19	1.5 - 3.6
Humedad %	10.50	3.2 - 5.8
Pérdida por desecación %	12.60	9.6 - 13.3
Aceite esencial (ml/g) %	2.00	2.8 - 5.0

(a) Valores informados en la literatura (52).

Tabla No. 3 Principales características de las destilaciones realizadas.

Muestra No.	Carga Kg.	Volumen de agua (a) L	Tiempo (b) Hrs.	Aceite esencial (c) ml.	Rendimiento (d) %peso/peso	Eficiencia de recuperación (e) %
1	2.0	9.30	10.00	20.5	1.036	51.26
2	2.0	7.45	8.25	19.60	0.997	49.00
3	1.4	13.40	11.66	4.3	0.311	15.35
4	2.0	8.30	9.25	18.8	0.946	47.00
5	2.0	5.70	7.00	12.5	0.625	31.25

(a) Se refiere al volumen de agua que se recupera agregándola al destilador, más el agua inicial que se pone, equivale aproximadamente al agua de destilación

gastada.

- (b) El tiempo se mide desde que inicia la destilación, sin contar el que tarda inicialmente en calentarse el agua.
- (c) El aceite esencial se refiere a la cantidad obtenida, al unir las dos fracciones.
- (d) El rendimiento real, se refiere a la cantidad en gramos de aceite obtenido, por cada 100 gramos de muestra.
- (e) La eficiencia de recuperación se calcula tomando en cuenta que la muestra - contiene 2% de aceite esencial, o sea que 2 ml. por cada 100 gramos de pimienta corresponden al 100%.

Tabla No. 4 Propiedades organolépticas del aceite esencial de pimienta gorda obtenido.

Apariencia:	Líquido que no presenta residuos sólidos precipitados, ni agua.
Color:	Inicialmente amarillo claro, con el tiempo se va oscureciendo a un color café rojizo.
Olor:	Característico, difiere de la muestra FDO, en que presenta - notas más secas y cálidas, del tipo cariofileno, que da como resultado una mayor fuerza en su nota de salida; la muestra FDO presenta notas más parejas que asemejan más al aceite de clavo.
Sabor:	Presenta un sabor que es más "fuerte", seco y cálido que el de la muestra comercial FDO.

Tabla No. 5 Propiedades físicas y químicas del aceite esencial de pimienta gorda.

Muestra	Densidad relativa 25 °C	Rotación óptica 20 °C	Índice de refracción 20 °C	Fenoles %
FDO	1.0475	- 0.1	1.5356	70.0
1	1.0116	- 1.0	1.5238	62.5
2	1.0180	- 0.9	1.5255	67.5
3	1.0142		1.5245	57.5
4	1.0069	- 1.4	1.5216	61.5
5	1.0003	- 1.3	1.5205	56.0
Especificaciones:	1.018 - 1.048	0 a -4	1.5270 - 1.5400	> 65.0

Solubilidad:

Aceite obtenido. Soluble en 1.4 volúmenes de etanol al 70%.

Muestra FDO. Soluble en 1.1 volúmenes de etanol al 70%.

Tabla No. 6 Asignación de bandas al espectro de Infrarrojo de la muestra FDO.

Absorción
(cm^{-1})

Compuestos.

3550 eugenol

3470 eugenol + α -terpineol.

3085 eugenol + metil eugenol + β -cariofileno + γ -cadineno

Absorción
(cm⁻¹)

Compuestos.

3070 h	eugenol + γ -cadineno.
3018	eugenol + γ -cadineno.
2975	eugenol + metil eugenol + α -terpineol + γ -cadineno + 1,8 cineol.
2950	eugenol + metil eugenol + p-cimeno + β -cariofileno + 1,8 cineol.
2920	eugenol + p-cimeno + α -terpineol.
2850	eugenol + metil eugenol + β -cariofileno + γ -cadineno.
2075	eugenol
1850	eugenol + metil eugenol.
1655 h	p-cimeno + γ -cadineno.
1640	eugenol + metil eugenol + β -cariofileno + γ -cadineno.
1610	eugenol + metil eugenol.
1520	eugenol + metil eugenol.
1470	eugenol + metil eugenol + γ -cadineno.
1455	eugenol + metil eugenol + p-cimeno + γ -cadineno + β -cariofileno + 1,8 cineol.
1436	eugenol + α -terpineol + γ -cadineno.
1370	eugenol + α -terpineol + β -cariofileno + 1,8 cineol.
1270	eugenol + metil eugenol + β -cariofileno + γ -cadineno.
1240	eugenol + metil eugenol.
1212	eugenol + 1,8 cineol.

Absorción
(cm)

Compuestos.

1200 h	eugenol.
1180 h	eugenol + metil eugenol + β -cariofileno.
1152	eugenol + metil eugenol + α -terpineol + 1,8 cineol.
1125	eugenol
1038	eugenol + metil eugenol + 1,8 cineol.
995	eugenol + metil eugenol + 1,8 cineol.
950	eugenol + metil eugenol.
915	eugenol + metil eugenol + α -terpineol + β -cariofileno + γ -cadineno.
850	eugenol + metil eugenol + γ -cadineno + 1,8 cineol.
818	eugenol + metil eugenol + α -terpineol + p-cimeno.
795	eugenol + α -terpineol + γ -cadineno.
765 h	metil eugenol.
745	eugenol + metil eugenol.
720	eugenol + metil eugenol + p-cimeno.
648	eugenol + β -cariofileno.

h = hombro.

Tabla No. 7 Comparación del porcentaje relativo de área, de los picos cromatográficos para las diferentes muestras.

Pico No.	Muestras						
	1 %	2 %	3 %	4 %	5 %	Mezcla %	FDO %
1	.01	-	-	-	-	-	-
2	.05	.05	-	.07	.09	.06	-
3	.17	.17	.03	.20	.27	.18	.06
4	8.30	7.29	4.00	8.63	10.59	8.30	.08
5	.35	.35	.19	.52	.60	.43	.12
6	.57	.53	.44	.66	.82	.64	.50
7	5.45	4.52	3.75	5.74	6.21	5.41	.74
8	.30	.25	.21	.37	.41	.31	.04
9	1.04	.91	1.06	1.23	1.34	1.09	.24
10	.02	.01	-	.02	.02	.01	-
11	.03	.01	.02	.02	-	.02	-
12	.06	.51	.61	.66	.58	.53	.17
13	2.29	2.09	2.15	2.31	2.24	2.29	.12
14	.03	.02	.03	.02	.02	.02	.05
15	.02	.02	-	.01	-	.02	-
16	.07	.07	.04	.07	.07	.07	-
17	.02	.02	-	.01	.02	.01	-

Pico No.	Muestras						
	1 %	2 %	3 %	4 %	5 %	Mezcla %	FDO %
18	.02	.02	.02	.01	.01	.02	-
19	54.57	57.28	49.02	52.65	47.12	53.58	77.03
20	18.82	19.48	25.10	18.79	23.13	19.97	10.52
21	.22	.19	.42	.22	.20	.22	.31
22	3.45	3.03	6.28	3.84	3.14	3.53	3.25
23	.70	.63	1.25	.78	.66	.70	1.36
24	.15	.17	.30	.16	.15	.16	.46
25	1.03	.77	1.39	1.10	.73	.83	1.63
26	.07	.04	.06	.08	.05	.14	.11
27	.37	.32	.71	.38	.33	.33	.59
28	.20	.15	.35	.20	.15	.14	.27
29	.20	.16	.38	.22	.17	.16	.37
30	.47	.38	.86	.51	.40	.39	.34
31	.09	.02	.20	.11	.03	.01	-
32	.12	.14	.24	.11	.10	.14	-
33	.03	.04	.08	.07	.04	.04	-

Tabla No. 8 Identificación de compuestos por índices de retención.

Pico No.	Mezcla %	Índice de retención calculado	Índice de retención publicado	Compuestos probables
1	-	-	-	-
2	.06	933.33	940	α -pineno
3	.18	944.44	950	thujeno
4	8.30	983.33	983	β -pineno + mirce- no
5	.43	1008.82	1002	δ -felandreno
6	.64	1023.52	1018	p-cimeno
7	5.41	1035.29	1029	1,8 cineol + limo- neno
8	.31	1058.82	1055	γ -terpineno
9	1.09	1091.17	1086	linalol
10	.01	1127.77		
11	.02	1144.44		
12	.53	1177.77		
13	2.29	1186.11	1183	α -terpineol
14	.02	1213.33		
15	.02	1226.66		
16	.07	1236.66	1238	chavicol
17	.01	1280.00		
18	.02	1306.66		

Pico No.	Mezcla %	Indice de retención calculado	Indice de retención publicado	Compuestas probables
19	53.58	1346.66	1344	eugenol
20	19.97	1380.00		
21	.22	1414.28		
22	3.53	1452.14	1430	cariofileno
23	.70	1489.28		
24	.16	1496.42		
25	.83	1519.23		
26	.14	1576.92		
27	.33	1608.33		
28	.14	1633.33		
29	.16	1658.33		
30	.39	1675.00		
31	.01	1737.50		
32	.14	1766.66		
33	.04	1830.76		

7. DISCUSION.

La pimienta gorda analizada presenta diferencias notables con respecto a la pimienta de Jamaica, tiene un alto contenido de cenizas y humedad y un bajo contenido de aceite esencial, como puede observarse en la tabla No. 2; es razonable encontrar este tipo de diferencias en cultivos de diferentes regiones, ya que la calidad del producto depende, entre otros factores, de la zona de producción, o sea del clima, suelo, técnicas de cultivo, tiempo de cosecha, etc. Además es de tomarse en consideración que la muestra - fué adquirida fuera de temporada.

Por lo que respecta a la obtención en el laboratorio del aceite esencial, el rendimiento de la destilación es bajo, por no recuperar el aceite emulsionado en el agua; esta recuperación se trató de hacer en varias formas, se probó saturar el agua con cloruro de sodio y meterla al refrigerador, redestilarla o extraer el aceite con éter de petróleo, pero al no obtener resultados satisfactorios y que la porción recuperada podría afectar desfavorablemente - la calidad del aceite, se decidió desechar definitivamente el agua de destilación y trabajar únicamente con el aceite recuperado del separador. El - rendimiento también depende de otros factores, el excesivo humedecimiento - del material produce aglomeraciones e impide el paso uniforme del vapor, dando

7. DISCUSION.

La pimienta gorda analizada presenta diferencias notables con respecto a la pimienta de Jamaica, tiene un alto contenido de cenizas y humedad y un bajo contenido de aceite esencial, como puede observarse en la tabla No. 2; es razonable encontrar este tipo de diferencias en cultivos de diferentes regiones, ya que la calidad del producto depende, entre otros factores, de la zona de producción, o sea del clima, suelo, técnicas de cultivo, tiempo de cosecha, etc. Además es de tomarse en consideración que la muestra - fué adquirida fuera de temporada.

Por lo que respecta a la obtención en el laboratorio del aceite esencial, el rendimiento de la destilación es bajo, por no recuperar el aceite emulsionado en el agua; esta recuperación se trató de hacer en varias formas, se probó saturar el agua con cloruro de sodio y meterla al refrigerador, redestilarla o extraer el aceite con éter de petróleo, pero al no obtener resultados satisfactorios y que la porción recuperada podría afectar desfavorablemente - la calidad del aceite, se decidió desechar definitivamente el agua de destilación y trabajar únicamente con el aceite recuperado del separador. El - rendimiento también depende de otros factores, el excesivo humedecimiento - del material produce aglomeraciones e impide el paso uniforme del vapor, dando

un bajo rendimiento; ésto probablemente sucedió en la muestra No. 3, Tabla No. 3, donde se obtuvo muy poca cantidad de aceite; en este caso especial se tuvieron problemas además en la separación, ya que se adhirió el aceite a las paredes del separador, por lo que al tratar de recuperarlo hubo pérdida notable.

Un estudio más a fondo del proceso de destilación y de la recuperación del aceite emulsionado se considera conveniente, pero sale de los objetivos trazados en el presente trabajo.

Del análisis del aceite obtenido en el laboratorio, tablas No. 4 y 5, se puede notar que éste presenta ciertas diferencias con respecto a la muestra FDO y a sus especificaciones; en general las muestras tienen una menor densidad e índice de refracción y son menos solubles en etanol al 70%, lo anterior es indicativo de que posiblemente hay un mayor contenido de terpenos hidrocarbonados en ellas. Estas características hacen que el aceite no sustituya totalmente al "allspice" de importación, sino sólo en un cierto porcentaje, por lo que su precio en el mercado sería inferior al de éste.

El estudio comparativo por espectroscopía de infrarrojo de las muestras, nos permite observar, que como se esperaba, hay un predominio en los espectros de las bandas correspondientes al eugenol, que se encuentra en un porcentaje notablemente mayor al de los demás componentes y que enmascara las ban-

das características de los otros e impide sacar conclusiones definitivas en cuanto a composición. Este predominio del eugenol se puede advertir en la asignación de bandas realizada para el espectro de la muestra FDO, tabla No. 6, asignación hecha de acuerdo a la forma como lo sugieren Bellanato e Hidalgo en su obra "Infrared Analysis of Essential Oils" (4).

Los espectros de las muestras No. 1 a 5, figuras No. 10 a 14 respectivamente, no presentan diferencias importantes entre sí; las encontradas con respecto al espectro de la FDO, figura No. 15, son muy pocas, se aprecia la aparición de pequeñas bandas a 1595 cm^{-1} , 1340 cm^{-1} , 1080 cm^{-1} y el aumento de la banda a 765 cm^{-1} , en los espectros de las muestras 1, 2 y 4, más notable esta diferencia en los de las muestras 3 y 5; el resto de las bandas aparecen en la misma posición. Estas diferencias pueden atribuirse a que el aceite de las muestras 1, 2 y 4 tengan un contenido relativamente menor de eugenol y aún menor las 3 y 5, por lo que en estas regiones específicas del espectro se puede apreciar bandas de otros componentes, principalmente metil eugenol, ésto se ve reforzado por el hecho de que la intensidad de las bandas más características de eugenol es menor que en el espectro del aceite FDO.

El que las bandas a 1595 cm^{-1} , 1340 cm^{-1} y 765 cm^{-1} correspondan a metil eugenol es mejor apreciado por el hecho de que en el espectro del aceite al cual se le adicionó 5% de metil eugenol, figura No. 17, aparecen precisamente con una mayor intensidad.

En el espectro de la figura No. 16, que corresponde al aceite esencial del cual se ha eliminado el eugenol, es muy notable la disminución de la banda a 3550 cm^{-1} . correspondiente al OH del eugenol, así como la disminución de las bandas a 1610 cm^{-1} ., 1125 cm^{-1} ., y 820 cm^{-1} ., características del mismo compuesto, lo que muestra que la eliminación es casi cuantitativa; predominan ahora las bandas del metil eugenol y se pueden apreciar otras bandas correspondientes a otros compuestos.

En cromatografía en fase de vapor, de la comparación porcentual que aparece en la tabla No. 7, puede verse que las muestras 1, 2 y 4, figuras Nos. 18, 19 y 21, presentan una relación porcentual muy parecida, la 3 y 5, figuras Nos. 20 y 22 difieren poco de estas, la mayor diferencia se encuentra al compararlas con la muestra FDO, figura No. 24, que presenta un porcentaje superior del componente principal eugenol, por lo tanto, un porcentaje relativamente menor de los demás compuestos, especialmente de los que emergen primero de la columna; se está usando una fase estacionaria no polar SE-30, donde los compuestos se separan más o menos de acuerdo a su punto de ebullición, por lo que la primera fracción corresponde a los monoterpenos de bajo punto de ebullición. Por índices de retención, tabla No. 8, se observa que estos compuestos corresponden a monoterpenos tanto hidrocarbonados, α y β pinoeno, mirceno, α -felandreno, γ -terpineno, etc., como oxigenados, 1,8 cineol, linalol, α -terpineol, etc. Lo que indica que el aceite esencial de pimienta -

obtenido en el laboratorio, es más rico en esta fracción monoterpénica. Finalmente, se comprobó que el pico No. 19 es eugenol, ya que en el cromatograma obtenido del aceite del cual se ha eliminado este compuesto, figura No. 25, se aprecia una notable disminución de este pico. Igualmente se comprobó que los picos Nos. 20 y 22 corresponden a metil eugenol y β -cariofileno respectivamente, por la adición de estos compuestos al aceite, figuras Nos. 26 y 27, en estos cromatogramas no es muy apreciable el aumento de los picos correspondientes, sino más bien se ve una disminución de los demás picos presentes; se detectó ese aumento de los datos proporcionados por el integrador electrónico.

8. CONCLUSIONES.

- 1.- La muestra de pimienta gorda analizada tiene un contenido de aceite esencial del 2% y es de una calidad inferior a la pimienta de Jamaica.
- 2.- Las características organolépticas, físicas y químicas del aceite esencial obtenido, difieren de las de la muestra comercial y de las especificaciones de su norma.
- 3.- Por sus propiedades, el aceite obtenido no substituye al aceite de importación, sino sólo en un determinado porcentaje, por lo que su precio en el mercado sería inferior al de éste.
- 4.- La diferencia principal encontrada entre el aceite obtenido y la muestra comercial, es que el primero es más rico en la fracción monoterpénica, con un contenido menor de eugenol.
- 5.- Por el contenido de aceite de la pimienta analizada, el rendimiento de la destilación y la calidad del aceite esencial, que no podría competir en el mercado internacional, no se considera conveniente su producción, bajo estas condiciones.
- 6.- Es importante señalar, que queda la posibilidad de buscar nuevas muestras así como estudiar otras aplicaciones posibles del aceite que justificaran su producción.

9. BIBLIOGRAFIA.

- 1) Alpert, Nelson L., Keiser, William E., Szymansky, Herman A.
IR. Theory and Practice of Infrared Spectroscopy.
Plenum Publishing Corporation.
N. Y. USA (1970), p. 1-12.
- 2) Andersen, Niels A., Falcon, Mark S. The Identification of sesquiterpene hydrocarbons from gas-liquid chromatography retention data. *Journal of Chromatography*, 44, 52-9 (1969).
- 3) Arctander, Steffen.
Perfume and Flavor Materials of Natural Origin.
Edición del Autor.
Elizabeth, N. J. USA (1960), p. 532-6.
- 4) Ballanato, Juana., Hidalgo, Antonio.
Infrared Analysis of Essential Oils.
Heyden & Son LTD.
USA (1971), v.p.
- 5) Careaga, Virginia. Carta para los exportadores. Instituto Mexicano del Comercio Exterior. IX (22) 4 (1975).
- 6) Carroll, M. F., Price, W. J. Routine analysis of essential oils by infrared spectroscopy. *Perfumery & Essent. Oil Record*. 55, 114-20 (1964).

- 7) Centro de Comercio Internacional.
El mercado de especias en Norteamérica, Europa Occidental y Japón.
C.C.I. Ginebra (1970) v.p.
- 8) Chemical Marketing Reporter. Schnell Publishing Co., Inc. N. Y. USA,
214, 14 (1978) y 215, 22 (1979).
- 9) Comunicación personal. Ing. Arias. FDO de México, S. A.
- 10) Comunicación personal. Sr. Cárdenas. Departamento de sabores, Aceites y
Esencias, S. A.
- 11) Crippen R. C., Smith, C. E. Procedures for the systematic identification
of peaks in gas-liquid chromatographic analysis. Journal of gas chromato-
graphy, 3, 37-42 (1965).
- 12) Díaz, Jose Luis.
Índice y Sinonimia de las plantas medicinales de México.
Monografía Científica No. 1.
IMEPLAM. México (1976).
- 13) Dyer, John R.
Aplicaciones de Espectroscopía de Absorción en Compuestos Orgánicos.
Prentice Hall Internacional.
España (1973), p. 22-40.
- 14) Escalante E., Celerino. Cultivo del pimiento (*Pimenta officinalis*). Gaceta
Agrícola. 20 (529), 21-22 (1976) y 20 (535) 12 (1976).

- 15) Essential Oil Association of USA.
Book of Standards and Specifications.
EOA. USA (1975).
- 16) Eitre, Leslie S., Mc Fadden, W. H.
Ancillary Techniques of Gas Chromatography.
John Wiley & Sons.
USA (1969).
- 17) F. A. O. (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación).
Especias. Tendencias en el Mercado Mundial.
No. 34. Roma, Italia (1972), p. 63-7.
- 18) Fenaroli, Giovanni.
Le Sostanze Aromatiche.
Vol. 1.
Ulrico Hoepli.
Milano, Italy (1963), p. 837-39.
- 19) García Aroez, H.
Esencias Naturales.
Editorial Aguilar, S. A.
Madrid, España (1953), v. p.

- 20) García Estrada, H.
Posibilidades de Desarrollo y Cultivo de la Pimienta Gorda (*Pimenta dioica*)
en el estado de Tabasco.
Tesis. E.N.A. Chapingo, México (1971), v. p.
- 21) Giddings, J. C., Keller, R.A.
Advances in Chromatography.
Vol. 10.
Marcel Dekker, Inc.
N. Y., USA (1974), p. 173-230.
- 22) Giddings, J. C., Keller, R.A.
Advances in Chromatography.
Vol. 1.
Marcel Dekker, Inc.
N. Y., USA (1965), p. 229-47.
- 23) Guenther, Ernest.
The Essential Oils.
Vol. I y IV.
Robert E. Krieger Publishing Co., Inc.
N. Y. USA (1972), v. p.
- 24) Haro Guzmán, Luis. El análisis de los aceites cítricos por cromatografía en
fase vapor. I. *Perfumería Moderna*, (45) 7-15 (1973). II. *Perfumería Moderna*
(46) 7-16 (1973). III. *Perfumería Moderna* (45) 7-15 (1973).

- 25) Haro Guzmán, Luis. La deterpenación de los aceites esenciales. *Perfumería Moderna*, III (26), 2-9 (1971).
- 26) Haro Guzmán, Luis.
Manual Técnico FIDELIM No. 1.
Aceite Esencial de "Limón Mexicano"
Departamento Técnico Industrial del Fideicomiso del Limón.
México (1976), v. p.
- 27) Horwitz, William.
Official Methods of Analysis of the AOAC.
Twelfth Edition.
USA (1975) p. 553-60.
- 28) Ikan, Raphael.
Natural Products.
Academic Press.
Jerusalem, Israel (1969), p. 137-51.
- 29) Jones, R. A.
An Introduction to Gas-liquid Chromatography.
Academic Press, Inc.
London (1970), v. p.

- 30) Kramer, A., Twigg, B. A.
Quality Control for the Food Industry.
Vol. 2. Third Edition.
The Avi Publishing Co., Inc.
USA (1973) p. 353-83.
- 31) Loathard, D. A., Shurlock, B. C.
Identification Techniques in Gas Chromatography.
Wiley-Interscience.
London (1970).
- 32) Martínez, Maximino.
Plantas Útiles de la Flora Mexicana.
Ediciones Botas.
México (1959), p. 478-9.
- 33) Masada, Yoshiro.
Analysis of Essential Oils by Gas Chromatography and Mass Spectrometry.
John Wiley & Sons, Inc.
N. Y. USA (1976), v. p.
- 34) Mc Nair, H. M., Bonelli, E. J.
Basic Gas Chromatography.
Varian Instruments Division Offices.
USA (1968), v. p.

- 35) Mitzner, B. M., Mancini, V. J. Infrared spectra of monoterpenes and - related compounds. I. Applied Spectroscopy, 19, 169 (1965). II. Applied Spectroscopy, 22, 34 (1968).
- 36) Nabney, J., Robinson, F. V. Constituents of pimento berry oil (Pimenta - dioica). Flavor Industry, 3 (1) 50-1 (1972).
- 37) Nakanishi, K., Solomon, P. H.
Infrared Absorption Spectroscopy
Second Edition. Holden - Day Inc.
USA (1977) v. p.
- 38) Nicholls, Alford H.
Manual de Agricultura Tropical.
Segunda Edición. B. Herder.
Alemania (1910) p. 170-3.
- 39) Norma Oficial Mexicana. Determinación de la Densidad Relativa en Aceites Esenciales y Productos Aromáticos. D.G.N. K-420 (1975).
- 40) Norma Oficial Mexicana. Determinación del Índice de Refracción en Aceites Esenciales y Productos Aromáticos. D.G.N. K-129 (1976).
- 41) Norma Oficial Mexicana. Determinación del Residuo a la Evaporación en - Aceites Esenciales. D.G.N. F-77 (1975).
- 42) Norma Oficial Mexicana. Determinación de la Rotación Óptica en Aceites - Esenciales y Productos Aromáticos. D.G.N. F-67 (1975).

- 43) Norma Oficial Mexicana. Determinación de la Solubilidad en Etanol de los Aceites Esenciales. D.G.N. K-81 (1975).
- 44) Norma Oficial Mexicana. Terminología de Aceites Esenciales. D.G.N. - K-90 (1973).
- 45) Parry, J. Ernest.
The Chemistry of Essential Oils and Artificial Perfumes.
Vol. I.
Scott, Greenwood Son.
London (1921), p. 388-9.
- 46) Peyron, Louis. El control de calidad en la industria de las materias primas aromáticas. *Perfumería Moderna*. VIII (86) 31-8 (1976).
- 47) Rasquinho, L. M. A. A practical approach of the qualitative characterization of essential oils by programmed temperature gas chromatography. *Journal of gas chromat*, 47 (2) 475-88 (1964).
- 48) Rowland Fred W.
La Práctica de la Cromatografía de Gases.
Hewlett-Packard Co.
USA (1977), v.p.
- 49) Secretaría de Programación y Presupuestos.
Anuario Estadístico del Comercio Exterior de los Estados Unidos Mexicanos
1975.

Anuario Estadístico del Comercio Exterior de los Estados Unidos Mexicanos
1976.

Coordinación del Sistema Nacional de Información.

México (1977) y (1978).

- 50) Sterrett, S. Frances. The nature of essential oils. I. Journal of Chemical Education 39 (4), 203-5 (1962). II. Journal of Chemical Education 39 (5) 246-51 (1962).
- 51) The Sadtler Standard Spectra.
IR Grating.
Sadtler Research Laboratories, Inc.
USA (1973).
- 52) Ulrich, Gerhardt.
Especias y Condimentos.
Editorial Acribia.
Zaragoza, España (1975) v. p.
- 53) Veek, M. E., Russell, F. G. Chemical and Sensory properties of pimento leaf oil. Journal of Food Science, 38, 1028-31 (1973).
- 54) Wenninger, J. A., Yates, R. L. High resolution infrared spectra of some naturally occurring sesquiterpene hydrocarbons. I. Journal of AOAC, 50 (6), 1313-35 (1976). II. Journal of AOAC, 53 (5) 949-63 (1970).

- 55) Willard, H., Merrit, L.
Métodos Instrumentales de Análisis.
Tercera Edición.
Compañía Editorial Continental.
México (1965) p. 167-195.
- 56) Wood, Cecil R.
Agricultura Tropical.
Centro Regional de Ayuda Técnica. Administración de Cooperación Interna-
cional (ICA).
México (1961), p. 211-12.
- 57) Yates, R. L., Wenninger, J. A. Constituents of olibenum oil: sesquiterpene
hydrocarbons. Journal of AOAC 53 (5), 941-48 (1970).

- 55) Willard, H., Merrit, L.
Métodos Instrumentales de Análisis.
Tercera Edición.
Compañía Editorial Continental.
México (1965) p. 167-195.
- 56) Wood, Cecil R.
Agricultura Tropical.
Centro Regional de Ayuda Técnica. Administración de Cooperación Interna-
cional (ICA).
México (1961), p. 211-12.
- 57) Yates, R. L., Wenninger, J. A. Constituents of olibenum oil: sesquiterpene
hydrocarbons. *Journal of AOAC* 53 (5), 941-48 (1970).

10. APENDICE.

Espectros de infrarrojo y cromatogramas de las muestras de aceite esencial de pimienta gorda.

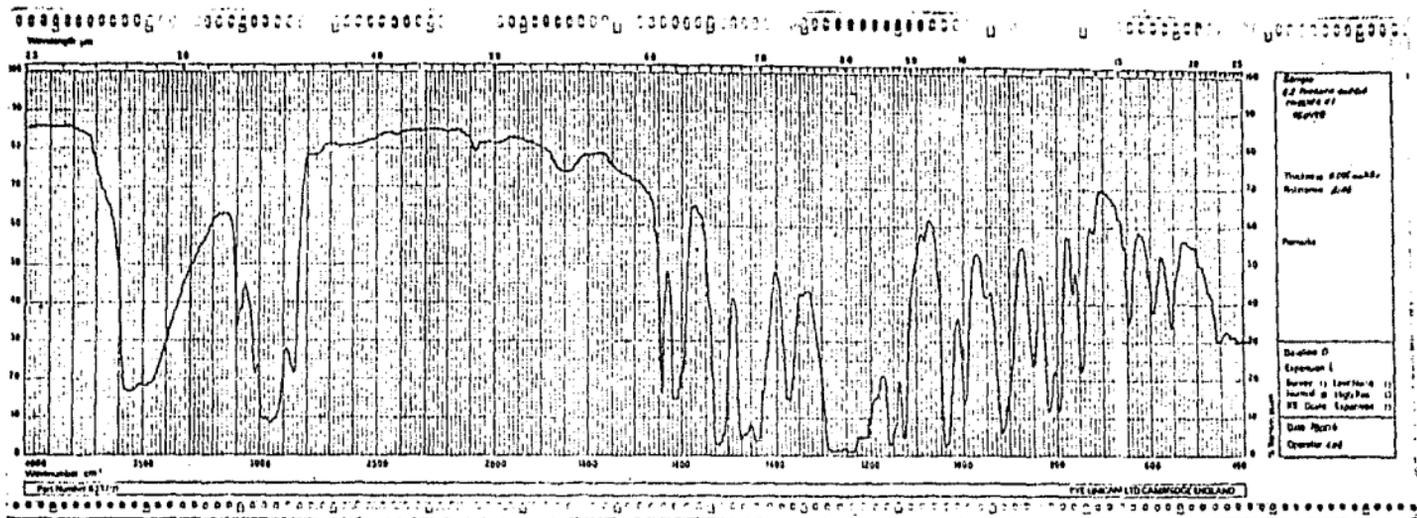


Fig. No. 10 ESPECTRO DE INFRARROJO DEL ACEITE ESENCIAL DE PIMIENTA GORDA.
MUESTRA NO. 1.

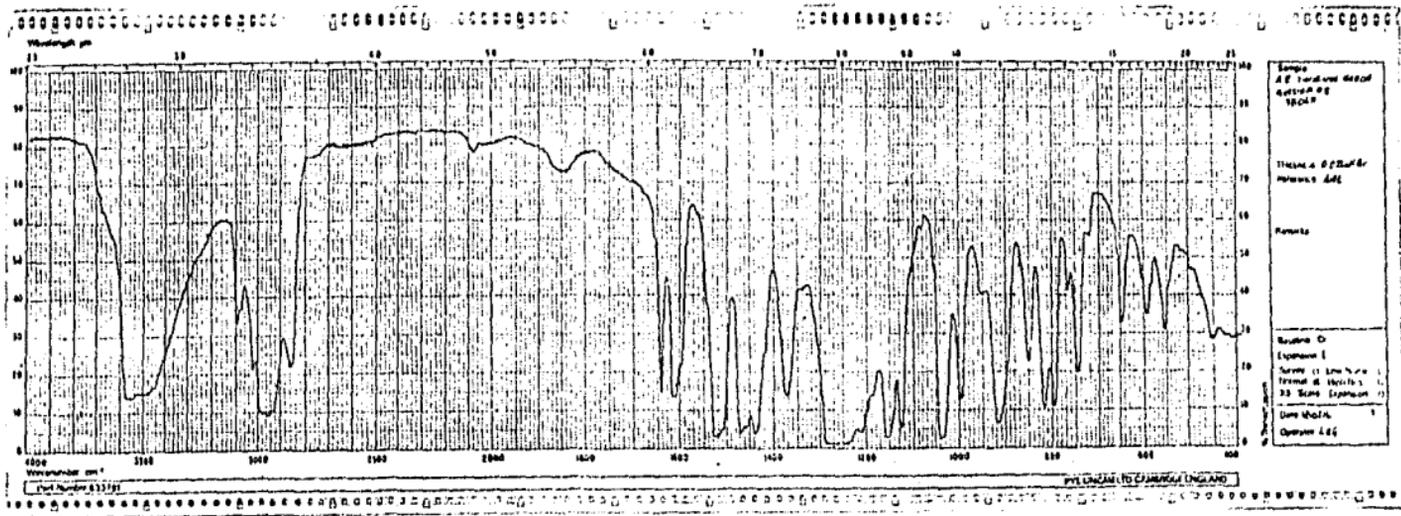


Fig. No. 11 ESPECTRO DE INFRARROJO DEL ACEITE ESENCIAL DE PIMIENTA GORDA, MUESTRA NO. 2.

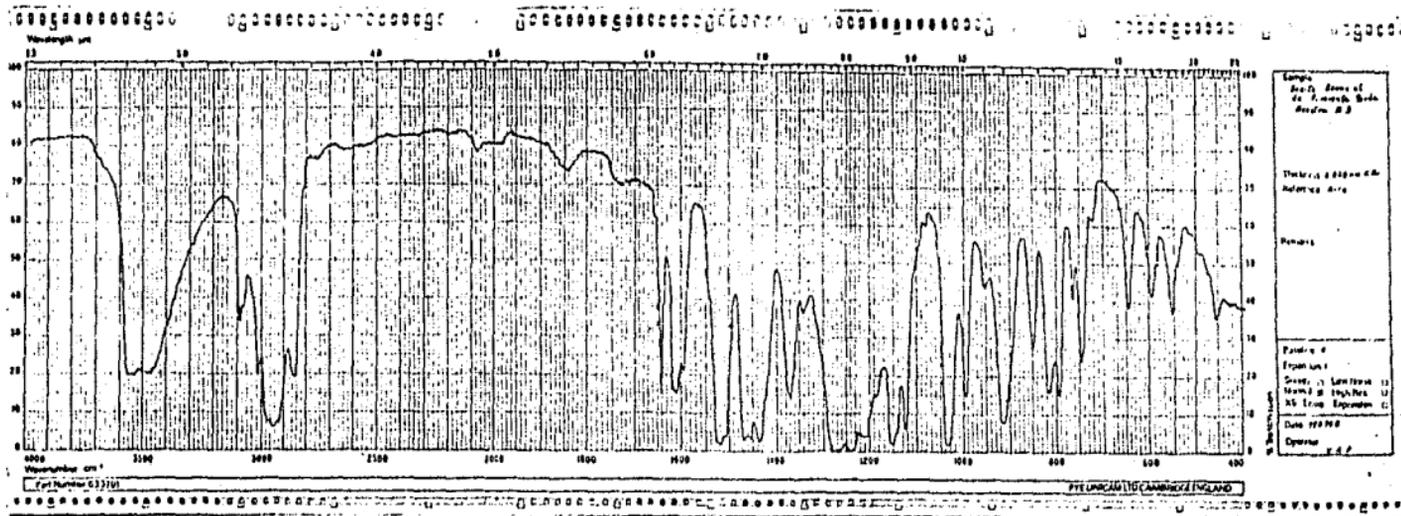


Fig. No. 12 ESPECTRO DE INFRARROJO DEL ACEITE ESENCIAL DE PIMIENTA GORDA.
MUESTRA NO. 3.

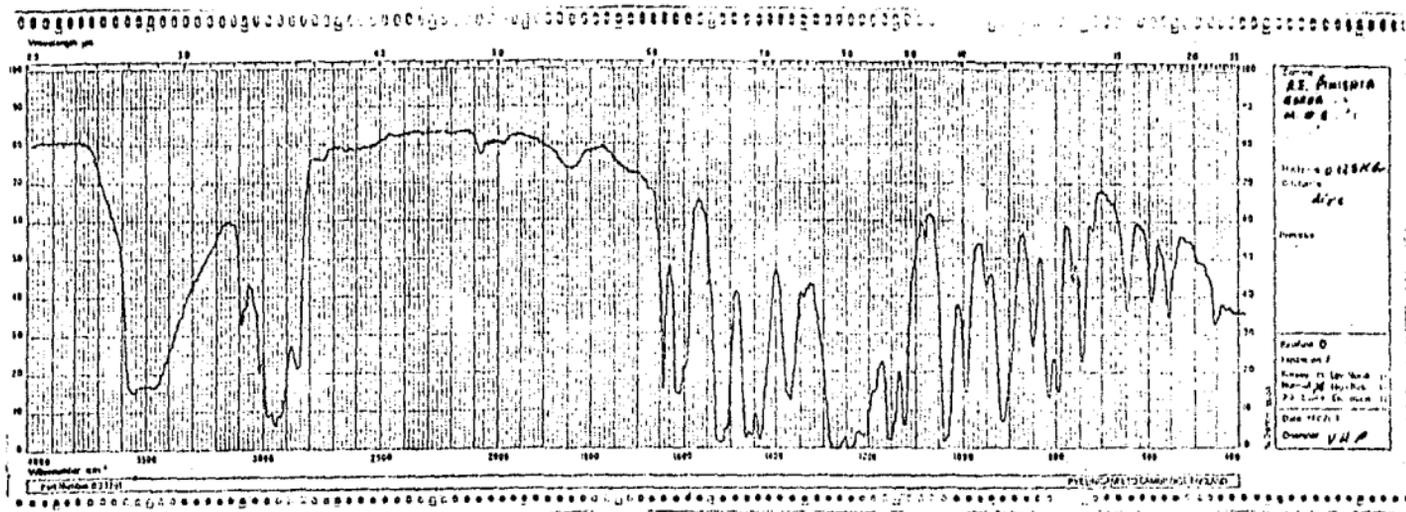


Fig. No. 13 ESPECTRO DE INFRARROJO DEL ACEITE ESENCIAL DE PIMIENTA GORDA.
 MUESTRA NO. 4.

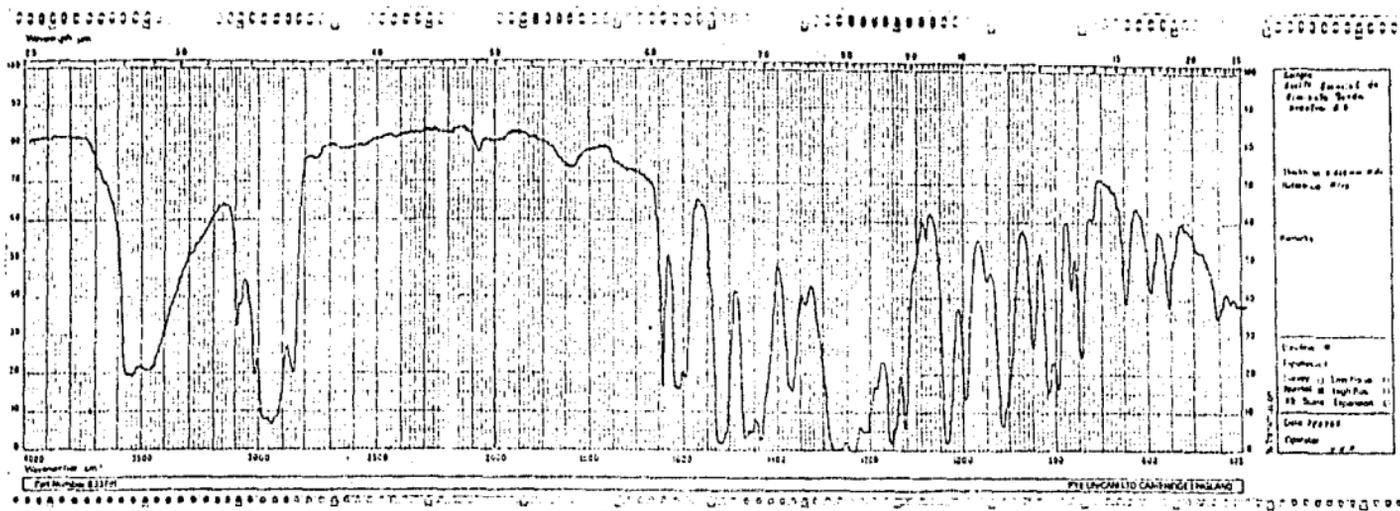


Fig. No. 14 ESPECTRO DE INFRARROJO DEL ACEITE ESENCIAL DE PIMIENTA GORDA.
MUESTRA NO. 5.

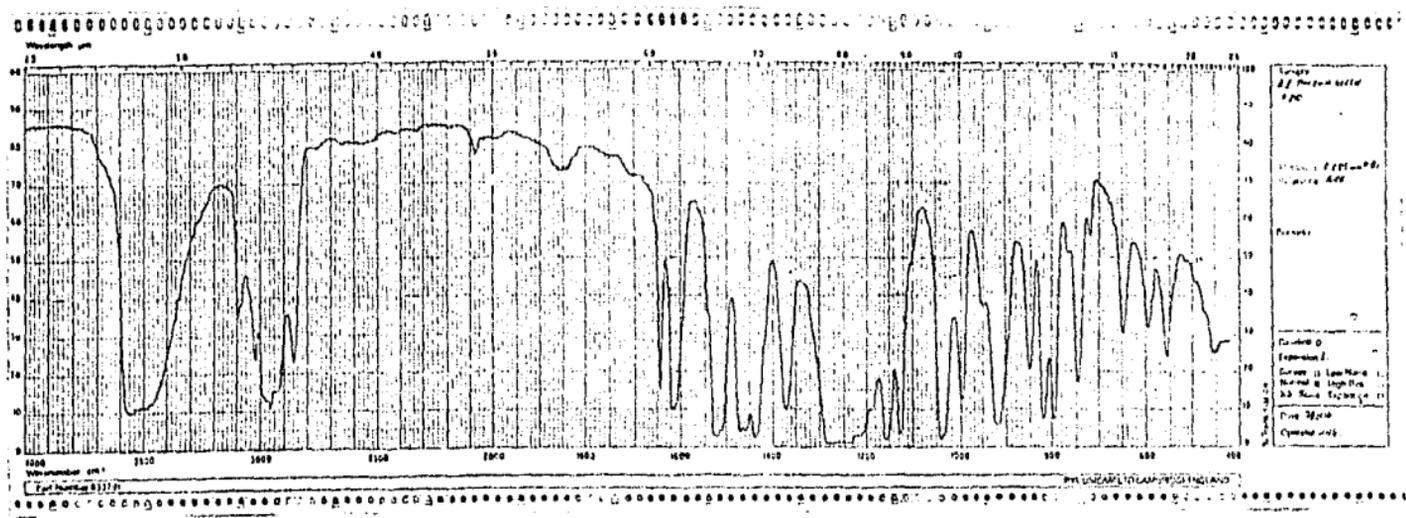


Fig. No. 15 ESPECTRO DE INFRARROJO DEL ACEITE ESENCIAL DE PIMIENTA GORDA.
MUESTRA FDO.

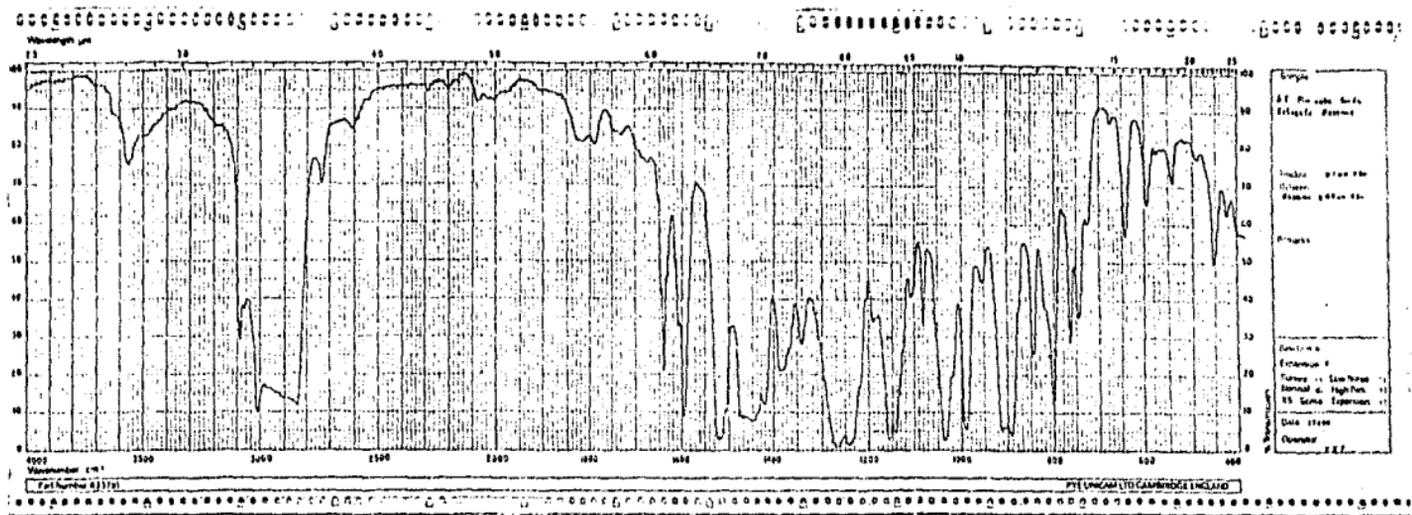


Fig. No. 16 ESPECTRO INFRARROJO DEL ACEITE ESENCIAL DE PIMIENTA GORDA - EUGENOL.

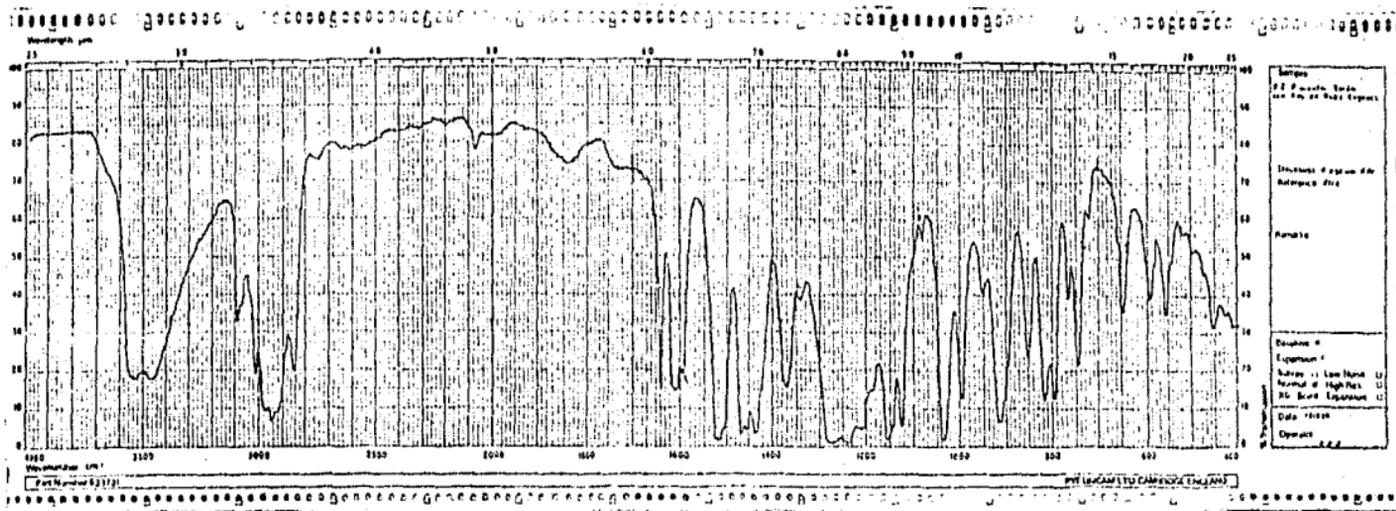


Fig. No. 17 ESPECTRO INFRARROJO DEL ACEITE ESENCIAL DE PIMIENTA GORDA + 5% DE METIL EUGENOL.

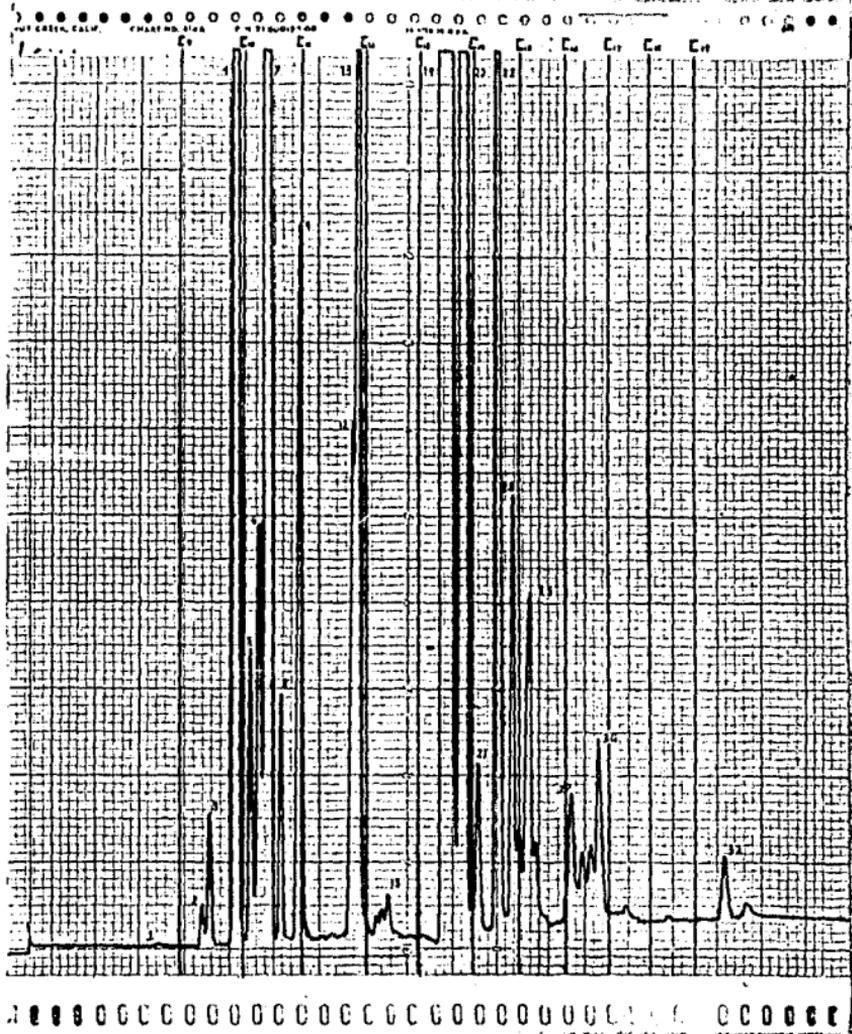


Fig. No. 18 CROMATOGRAMA DEL ACEITE ESENCIAL DE PIMIENTA GORDA MUESTRA NO. 1.

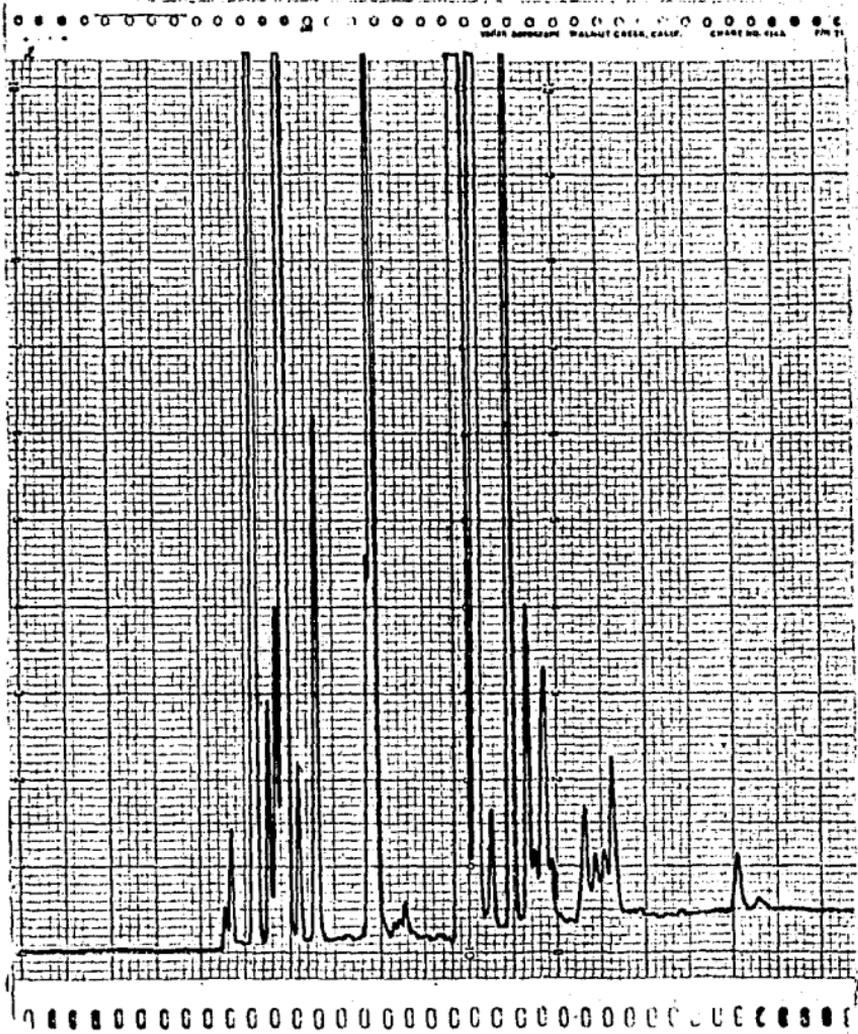


Fig. No. 19 CROMATOGRAMA DEL ACEITE ESENCIAL DE PIMIENTA GORDA.
MUESTRA NO. 2.

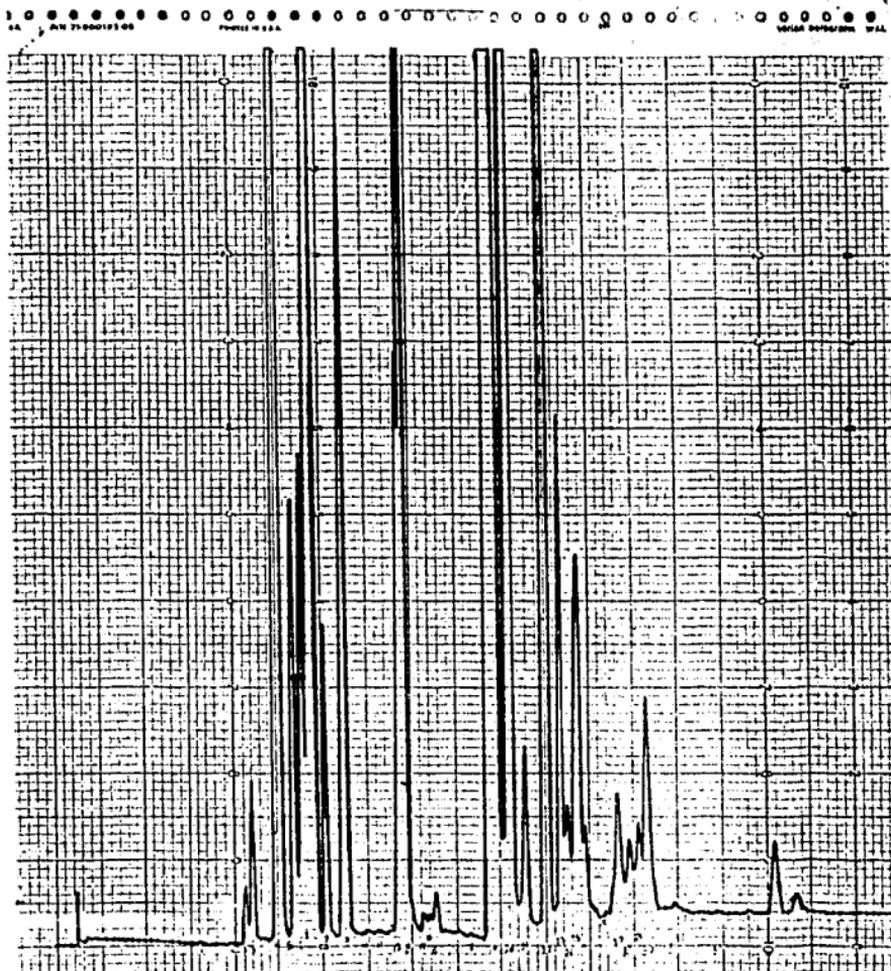


Fig. No. 21 CROMATOGRAMA DEL ACEITE ESENCIAL DE PIMIENTA GORDA.
MUESTRA NO. 4.

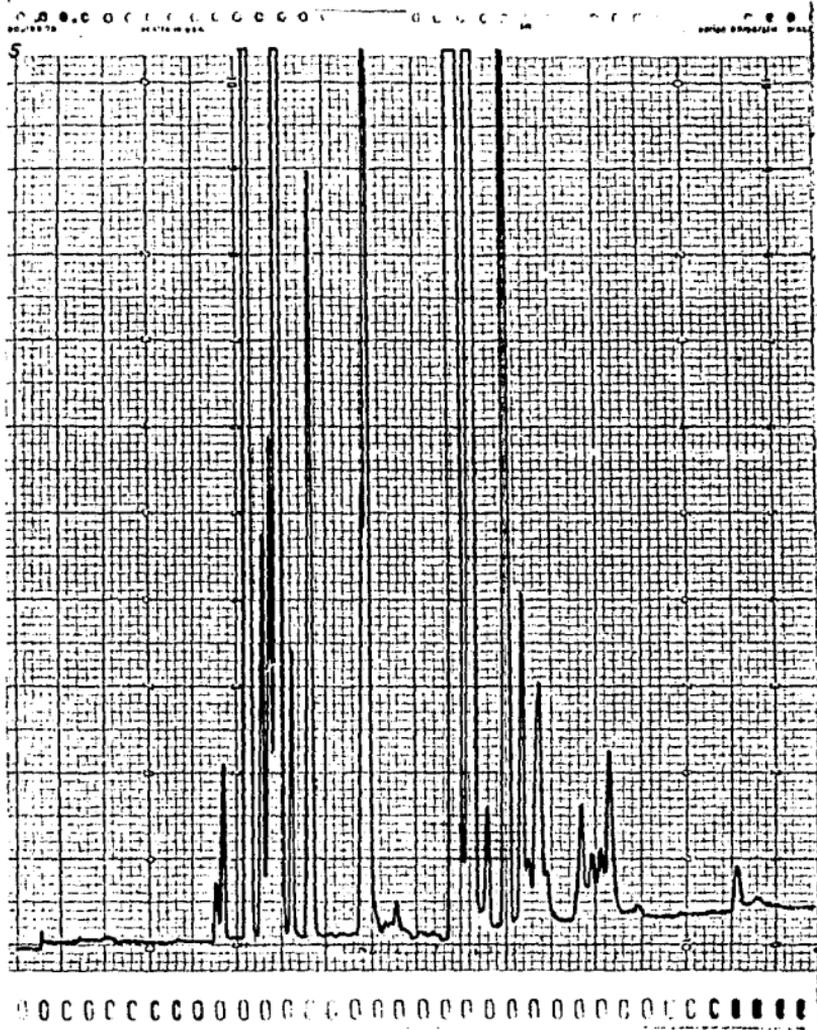


Fig. No. 22 CROMATOGRAMA DEL ACEITE ESENCIAL DE PIMIENTA GORDA.
MUESTRA NO. 5.

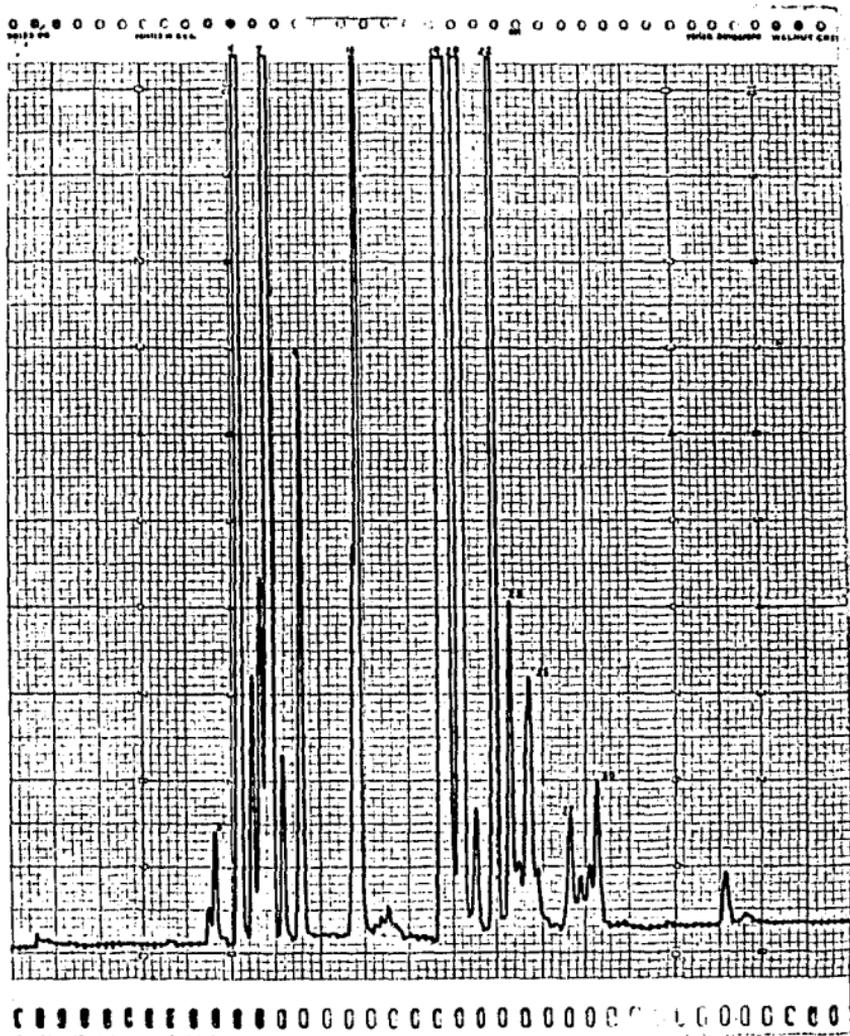


Fig. No. 24 CROMATOGRAMA DEL ACEITE ESENCIAL DE PIMIENTA GORDA.
MEZCLA.

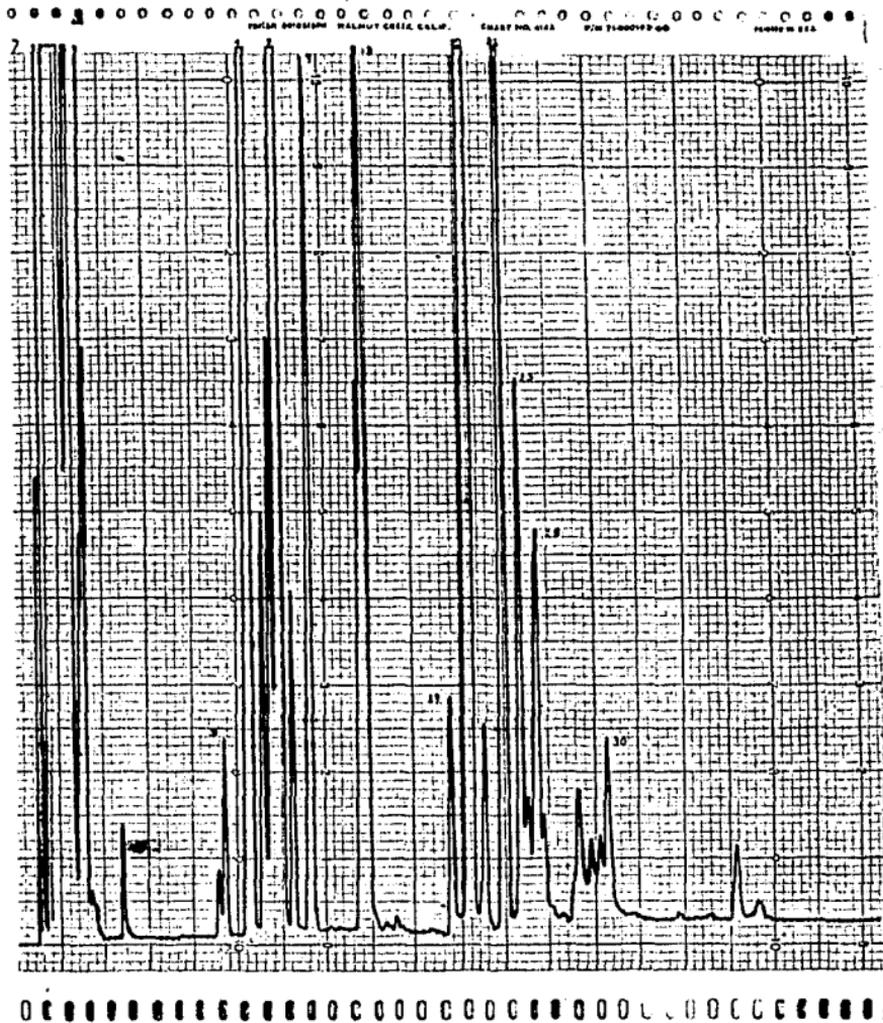


Fig. No. 25 CROMATOGRAMA DEL ACEITE ESENCIAL DE PIMIENTA GORDA
 - EUGENOL.

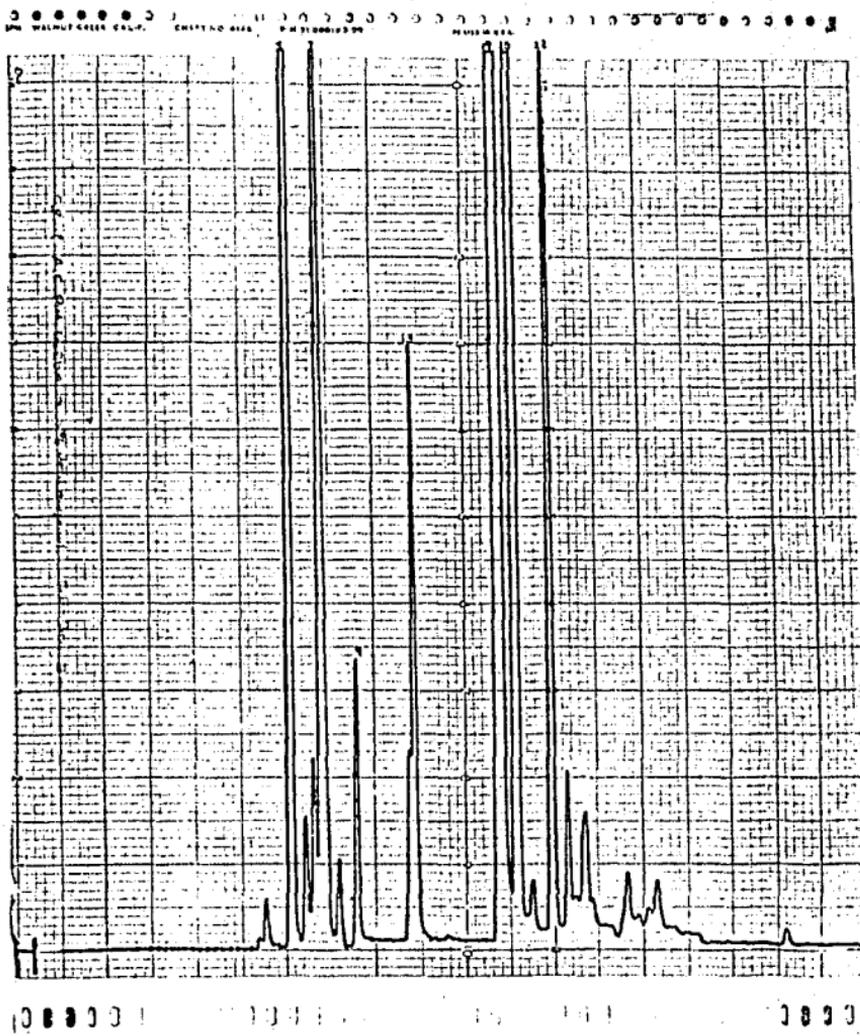


Fig. No. 26 CROMATOGRAMA DEL ACEITE ESENCIAL DE PIMIENTA GORDA.
 MEZCLA + 5% DE METIL EUGENOL.

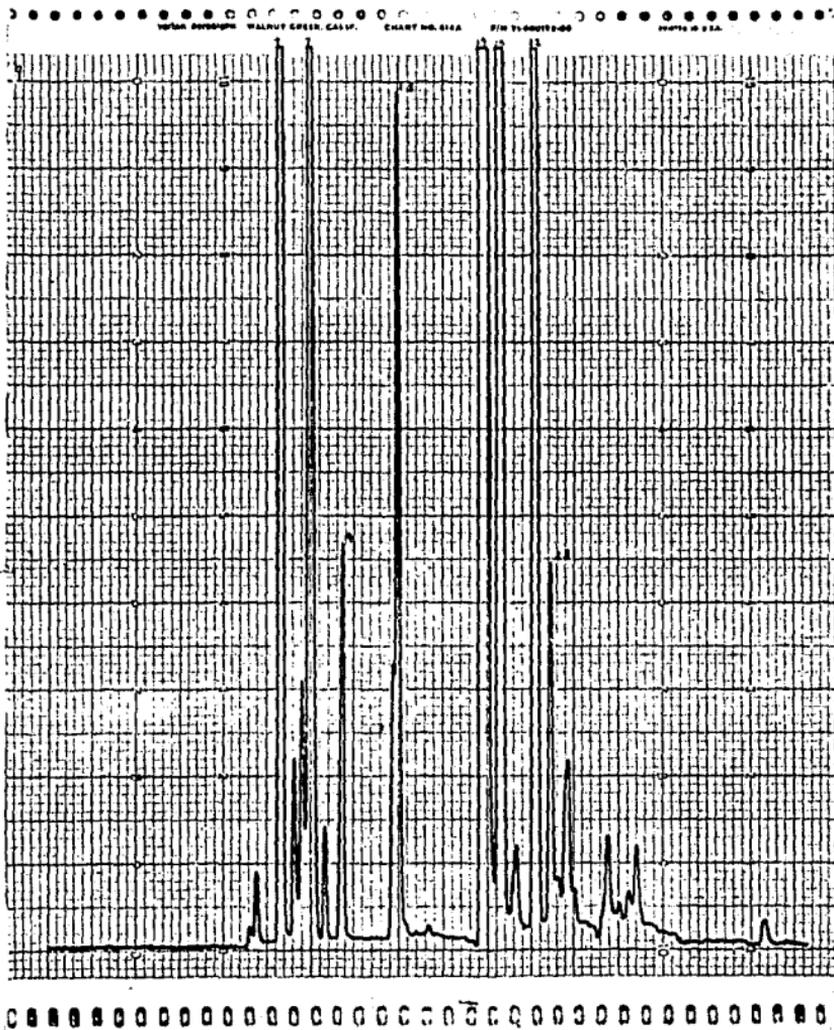


Fig. No. 27 CROMATOGRAMA DEL ACEITE ESENCIAL DE PIMIENTA GORDA.
 MEZCLA + 3% DE CARIOFILENO.