

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas

**Estudio químico de los aceites esenciales extraídos del
Bursera Graveolens para fomentar el desarrollo de
emprendimientos económicamente sostenible de la
comunidad San Marcos - Santa Elena.**

PROYECTO INTEGRADOR

Previo la obtención del Título de:

Ingeniería Química.

Presentado por:

Orellana Sagnay Jeniffer Valeria

Yépez Lema Luis Hernán

GUAYAQUIL - ECUADOR

Año: 2021

DEDICATORIA

El presente proyecto lo dedico a mis padres por el apoyo incondicional, al distinguido MgS. Michael Rendón por el apoyo en el desarrollo de este trabajo, a Dios por permitirme tener la fuerza y valentía y disciplina para haber llegado hasta donde estoy sin Él nada de esto sería posible.

Jeniffer Valeria Orellana Sagnay

Siendo Yahvé mi inspiración, su inagotable misericordia con mi salud y la fortaleza dada por la familia, CEBM y en memoria de mi mejor amiga.

Luis Hernán Yépez Lema

DECLARACIÓN EXPRESA

“Los derechos de titularidad y explotación, nos corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; *Jeniffer Valeria Orellana Sagnay y Luis Hernán Yépez Lema* damos nuestro consentimiento para que la ESPOL realice la comunicación pública de la obra por cualquier medio con el fin de promover la consulta, difusión y uso público de la producción intelectual”



JENIFFER ORELLANA
SAGNAY



LUIS YÉPEZ LEMA

EVALUADORES



Firmado electrónicamente por:
**MICHAEL
GUILLERMO RENDON
MORAN**

.....
Nombre del Profesor

NADIA FLORES MANRIQUE.

.....
Nombre del Profesor

MICHAEL RENDÓN MORÁN.

RESUMEN

El presente proyecto nace como una alternativa para evitar la sobreexplotación de la *Bursera Graveolens* en la Provincia de Santa Elena, lo que permitirá promover la extracción de aceite esencial de partes de la planta no tradicionales, evitando con esto la tala y el uso de la madera, teniendo como objetivo evaluar los extractos obtenidos a partir del fruto fresco, fruto seco y madera por medio de ensayos químicos y espectroscópicos para el establecimiento del perfil de productos bioactivos y la propuesta de su uso en productos de valor agregado.

El análisis y estudio químico se realizó en el laboratorio con la muestra del aceite extraído en madera, fruto seco y fruto fresco, realizado mediante pruebas de caracterización tales como densidad, punto de ebullición, índice de refracción, pH y espectroscopia infrarroja por medio del fruto fresco, fruto seco y madera, lo cual permitirá a la Asociación de Producción Agroforestal Palo Santo conocer la composición química, la calidad de sus extractos y productos.

El estudio de la composición química mediante la caracterización del extracto nos dará a conocer el uso potencial que puede brindar el producto, además los estudios que se realicen contribuirán con la información necesaria del extracto a nivel químico de la especie *Bursera Graveolens*, para la localidad de San Marcos- Santa Elena destacando su producto gracias a las especificaciones de los componentes del extracto de modo que puedan asegurar la calidad del extracto como un producto apto que finalmente le permitan fortalecer su competitividad mediante la diversificación con nuevos productos.

Palabras Clave: *Bursera Graveolens*, Extracto, Análisis, Caracterización.

ABSTRACT

This project was born as an alternative to avoid the overexploitation of Bursera Graveolens in the Province of Santa Elena, which will promote the extraction of essential oil from non-traditional parts of the plant, thus avoiding logging and the use of wood, aiming to evaluate the extracts obtained from the fresh fruit, dried fruit, and wood through chemical and spectroscopic tests to establish the profile of bioactive products and the proposal of its use in value-added products.

The chemical analysis and study were carried out in the laboratory with the sample of oil extracted from wood, dried fruit and fresh fruit, by means of characterization tests such as density, boiling point, refractive index, pH and infrared spectroscopy. by means of fresh fruit, dried fruit, and wood, which will allow the Palo Santo Agroforestry Production Association to know the chemical composition and quality of its extracts and products.

The study of the chemical composition through the characterization of the extract will give us to know the potential use that can provide the product, also the studies carried out will contribute with the necessary information of the extract at chemical level of the species Bursera Graveolens, for the town of San Marcos - Santa Elena highlighting its product thanks to the specifications of the components of the extract so that they can ensure the quality of the extract as a suitable product that finally allow them to strengthen their competitiveness through diversification with new products.

Keywords: Bursera Graveolens, Extract, Analysis, Characterization.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	1
<i>ABSTRACT</i>	2
ABREVIATURAS	5
SIMBOLOGIA.....	6
ÍNDICE DE FIGURAS	7
ÍNDICE DE TABLAS	8
CAPÍTULO 1	9
1. Introducción.....	9
1.1 Descripción del problema	9
1.2 Justificación del problema	10
1.3 Objetivos	11
1.3.1 Objetivo General.....	11
1.3.2 Objetivos Específicos.....	11
1.4 Marco teórico	11
CAPÍTULO 2	20
2. METODOLOGÍA.....	20
2.1 Materiales	21
2.1.1 Materiales	21
2.1.2 Reactivos	21
2.1.3 Equipos.....	21
2.2 Procesos para la caracterización del b. graveolens.....	21
2.3 Diseño experimental.....	25
CAPÍTULO 3	30

3.	Resultados Y ANÁLISIS	30
3.1	Propiedades fisicoquímicas.....	30
3.2	Propiedades organolépticas	30
3.2.1	Extractos previos al análisis de la prueba de espectrometría – CG /EM	31
3.3	Espectroscopia infrarroja del aceite esencial.....	31
3.4	CG – EM del extracto del Bursera Graveolens	34
3.5	Composición química del extracto del Bursera Graveolens por CG – EM ...	36
3.6	Análisis de Resultados	39
3.6.1	Análisis de las propiedades fisicoquímicas del aceite esencial	39
3.6.2	Análisis de las propiedades organolépticas	42
3.6.3	Análisis de la espectrometría infrarroja del extracto	43
3.6.4	Análisis de la CG – EM del extracto del Bursera Graveolens.....	45
3.6.5	Análisis General de calidad.....	46
3.7	Análisis ECONÓMICOS E innovación	47
	CAPÍTULO 4	49
4.	Conclusiones Y Recomendaciones	49
4.1	Conclusiones.....	49
4.2	Recomendaciones.....	50
5.	Bibliografía	51
6.	Anexos	57

ABREVIATURAS

ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral
ECS	Extracción con solvente orgánico
CG	Cromatografía de gases
EM	Espectro de masas
CG – EM	Cromatografía de gas acoplado al espectro de masas
SDS	Safety Data Sheet
MSDS	Material Safety Data Sheet
nD	Índice de refracción
DAP	Diámetro de altura de pecho
IR	Espectroscopia infrarroja

SIMBOLOGIA

ppm	Partes por millón
pH	Potencial de hidrógeno
tr	Trazas
°C	Grados Celcius
T	Temperatura
P	Producción Potencial del aceite en litros
N	Número de árboles/hectáreas
A	Área del bosque en hectáreas
R	Rendimiento en la extracción (kg aceite/ kg fruto)
<i>n</i>	Tamaño de la muestra calculado
<i>N</i>	Tamaño de la población
<i>Z</i>	Nivel de confianza
<i>p</i>	Probabilidad de éxito
<i>q</i>	Probabilidad de fracaso
<i>e</i>	Limite aceptable del error muestral

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Sectores de mayor concentración del Palo Santo en la Provincia de Santa Elena (Caponet & Coba, 2018)	12
Figura 2.1 Metodología General (ASESORIAS MSS, 2020).....	20
Figura 2.2 Procedimiento para hallar la densidad del aceite esencial B.Graveolens	22
Figura 2.3 Procedimiento para hallar el índice de refracción del aceite esencial del B. Graveolens.....	23
Figura 2.4 Procedimiento para hallar el punto de ebullición del aceite esencial del B. Graveolens.....	24
Figura 2.5 Procedimiento para medir el pH de las muestras de aceite esencial del B. Graveolens.....	25
Figura 3.1 Muestras de los extractos del Bursera Graveolens.....	31
Figura 3.2 IR del aceite esencial del Bursera Graveolens	31
Figura 3.3 IR del aceite esencial con emparejamiento del Limoneno	32
Figura 3.4 IR del aceite esencial del Bursera Graveolens	32
Figura 3.5 IR del aceite esencial con emparejamiento a Limoneno	33
Figura 3.6 IR del aceite esencial del Bursera Graveolens	33
Figura 3.7 IR del aceite esencial con emparejamiento del Limoneno	34
Figura 3.8 CG – EM del aceite esencial del fruto fresco del Bursera Graveolens	34
Figura 3.9 CG – EM del aceite esencial del fruto seco del Bursera Graveolens	35
Figura 3.10 CG – EM del aceite esencial de la madera del Bursera Graveolens.....	36

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Taxonomía del Palo Santo situado en San Marcos (Manzano, 2013).....	13
Tabla 1.2 Aceite esencial del Bursera Graveolens de diferentes regiones	14
Tabla 1.3 Principales componentes del aceite esencial del Bursera Graveolens	15
Tabla 1.4 Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial	17
Tabla 1.5 Propiedades organolépticas del aceite esencial	18
Tabla 2.1 Datos para cálculo de densidades del Bursera Graveolens	22
Tabla 2.2 Resultados de densidades del B. Graveolens	22
Tabla 2.3 Índice de refracción del aceite esencial del Bursera Graveolens	23
Tabla 2.4 pH del aceite esencial del Bursera Graveolens	25
Tabla 3.1 Propiedades fisicoquímicas del extracto del Bursera Graveolens (Palo Santo)	30
Tabla 3.2 Propiedades organolépticas del aceite esencial	30
Tabla 3.3 Componentes del aceite esencial del fruto fresco*	36
Tabla 3.4 Componentes del aceite esencial del fruto seco*	37
Tabla 3.5 Componentes del aceite esencial de la madera*	38

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Descripción del problema

La sobreexplotación y la ausencia de un manejo sostenible del Palo Santo de la especie *Bursera Graveolens* de la familia Burseráceas pone en riesgo las 57.540.29 hectáreas ubicadas en la provincia de Santa Elena (Caponet & Coba, 2018).

La especie presenta un tiempo de floración de enero a febrero variando con la estación climática, fructificando en el mes de abril a mayo y posteriormente el fruto fresco se recolecta para la extracción del aceite de forma casi inmediata dado a la volatilidad de este. Debido a que la cosecha no se extiende todo el año, la población se ve forzada a realizar actividad ganadera, maderera para solventarse comprometiendo la sostenibilidad del bosque seco y limitando la resiliencia ecológica (Caponet & Coba, 2018; Morgan & José, 2013; Programa Bioeconomía, 2020).

Únicamente durante la época de cosecha se tiene una mayor disponibilidad de materia prima del fruto fresco, fruto seco y madera. La comunidad de San Marcos aprovecha para producir aceites esenciales mediante la técnica de hidrodestilación. Este aceite esencial no pasa por ninguna caracterización química por parte de la Asociación de Producción Agroforestal Palo Santo, de modo que puedan asegurar la calidad del extracto como un producto apto que finalmente le permitan fortalecer su competitividad mediante la diversificación con nuevos productos.

Además, el aprovechamiento efectivo del recurso provisto por la *Bursera Graveolens* en San Marcos es limitado debido a la ubicación geográfica y condiciones de las instalaciones donde se procesa la materia prima para obtener el extracto, sumado a una necesidad constante de una diversificación que permita la generación de nuevos productos con valor agregado durante todo el año.

1.2 Justificación del problema

El presente proyecto nace como una alternativa para evitar la sobreexplotación de la *Bursera Graveolens* en la Provincia de Santa Elena, lo que permitirá promover la extracción de aceite esencial de partes de la planta no tradicionales, evitando con esto la tala y el uso de la madera de forma viable.

Debido a que la especie *Bursera Graveolens* requiere alrededor de 40 años para ser explotada en su totalidad y con mayores beneficios cuando el árbol muere de manera natural (Eugenio Hurtado, 2014).

Ante las limitaciones de un aprovechamiento completo a corto tiempo sin comprometer la especie *Bursera Graveolens*, es necesario realizar un estudio químico que permita conocer la composición química del aceite esencial extraídos del fruto fresco, fruto seco y madera, lo cual permitirá a la Asociación de Producción Agroforestal Palo Santo conocer la composición química, la calidad de sus extractos y productos. Ya que el estudio de la composición química mediante la caracterización del extracto del fruto seco nos permitirá conocer el uso potencial que se pueda dar a este producto.

La importancia de la caracterización de los aceites extraídos es clave para especificar sus usos y su viabilidad para posibles aprovechamientos fitofármacos vinculando la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria. Únicamente un estudio químico permite identificar los principales componentes de los aceites esenciales, esto facilita el estudio de las principales propiedades fisicoquímicas como: pH, densidad, punto de ebullición, solubilidad, estabilidad en disolventes de tipo orgánico, Datos espectrales (Manzano Santana et al., 2009; Yautibug Naula & Zambrano Sánchez, 2019); y así también el estudio de las propiedades organolépticas. Por lo tanto, el estudio químico de los aceites producidos en la comunidad San Marcos, valida las opciones de explotación a largo plazo y asegura su potencial uso en las industrias dando beneficios económicos a la Asociación Agroforestal Palo Santo.

Todo esto amplía a contribuir con la información a nivel químico de la especie *Bursera Graveolens*, de la localidad de San Marcos, Provincia de Santa Elena, dado que existen estudios de otras localidades de la misma especie de Palo Santo con variación en el contenido de los compuestos, marcando un precedente que indican las partes del árbol que son más rentables en términos económicos.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Evaluar los extractos obtenidos a partir del fruto fresco, fruto seco y madera de la especie *Bursera Graveolens* ubicado en la Provincia de Santa Elena mediante ensayos químicos y espectroscópicos para el establecimiento del perfil de productos bioactivos y la propuesta de su uso en productos de valor agregado.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Realizar la caracterización química del aceite esencial extraído por la Asociación de Producción Agroforestal Palo Santo tanto del fruto fresco, seco y madera para la identificación de los componentes predominantes mediante análisis fisicoquímicos y espectroscópicos.
- Analizar los resultados de los parámetros de los extractos del aceite esencial del *Bursera Graveolens* con miras en la identificación de biomoléculas con interés comercial de las partes no tradicionales de la planta.
- Identificar las propiedades fisicoquímicas y organolépticas de los aceites extraídos por la Asociación de Producción Agroforestal Palo Santo tanto del fruto fresco, seco y madera, para la propuesta de productos de interés comercial.

1.4 Marco teórico

El *Bursera Graveolens* (Palo Santo) crece en los bosques secos en zonas tropicales a nivel del mar hasta los 1500msnm al sur del Ecuador (Cotler & Maass, 1999; Garcia & Castro, 2011). La

especie es productora de resinas terpenoidales desde monoterpenos a triterpenos y en extraordinarias veces diterpenos (Steyermark, 1987). La composición porcentual de monoterpenos varía según la geografía debido a factores climáticos.

Ubicación de la especie

La especie *Bursera Graveolens* se extiende en la provincia de Santa Elena dentro de las 57.540.29 hectáreas (Caponet & Coba, 2018). Siendo la localidad de interés la comunidad San Marcos.

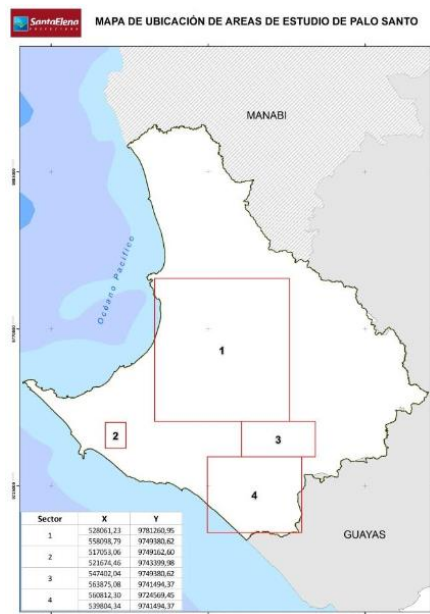


Figura 1.1 Sectores de mayor concentración del Palo Santo en la Provincia de Santa Elena (Caponet & Coba, 2018)

En la siguiente Figura 1.1, el sector 1 abarca las localidades de Colonche, Cerezal, Aguadita, Barbascal, Aguadita, Sube y Baja, Calicanto y la comunidad San Marcos. Siendo esta última el objeto de estudio debido a ubicación del centro de producción de aceites esenciales por parte de la Asociación Agroforestal Palo Santo.

Taxonomía de la especie

La especie de interés es el Palo Santo ubicado en el sector 1.

Tabla 1.1 Taxonomía del Palo Santo situado en San Marcos (Manzano, 2013)

Reino	Vegetal
División	Magnoliophyta
Clase	Dicotiledónea
Orden	Sapindales
Familia	Burseraceae
Genero	Bursera
Especie	Graveolens
Nombre Común	Bursera Graveolens
Nombre Vulgar	Palo Santo
País	Ecuador
Localidad	San Marcos – Santa Elena

Nota: Esta tabla indica la taxonomía del Palo Santo, ubicado en el sector 1. Adaptado de Potencial Fitofármaco De Bursera Graveolens Sp (Palo Santo), Del Bosque Seco Tropical, Península De Santa Elena, Provincia Del Guayas ,(Manzano, 2013) Journal of Chemical Information and Modeling.

Extracto del aceite esencial del Bursera Graveolens

La obtención de los extractos a partir de la Bursera Graveolens, está vinculado de acuerdo con el tipo de materia prima disponible, tanto como el fruto fresco, fruto seco y madera. El tiempo de extracción, el método y el rendimiento de la operación unitaria varían de acuerdo tipo de materia prima usado.

A continuación, en la Tabla 1.2 se indica las regiones donde existe un mayor aprovechamiento de la especie, la técnica principal de extracción y su rendimiento.

Tabla 1.2 Aceite esencial del *Bursera Graveolens* de diferentes regiones

Autor	Origen	Extracción			
		Tipo	Tiempo (h)	Materia	Rendimiento (%)
(Yukawa et al., 2004)	Piura – Perú	Hidrodestilación (CS – éter etílico)	---	Madera	---
(Carmona et al., 2009)	Caimito - Cuba	Hidrodestilación	2	Hoja	---
(Monzote et al., 2012)	La Habana - Cuba	Hidrodestilación	---	Madera	---
(Manzano, 2013)	Ancón - Ecuador	Destilación con arrastre de vapor	---	Madera	---
(Bravo, 2014)	Malva (Loja) – Ecuador	Hidrodestilación	2	Fruto seco	---
(Sotelo Mendez et al., 2017)	Piura - Perú	Hidrodestilación	3	Madera	3.59
(Sotelo Mendez et al., 2017)	Piura - Perú	Arrastre de vapor	3	Madera	1.63
(Caponet & Coba, 2018)	San Marcos (Sector 1) - Ecuador	Hidrodestilación	---	Fruto fresco	---
(Jaramillo-Colorado et al., 2019)	Malagana - Colombia	Hidrodestilación	2	Hoja - Madera	---
(Fon-Fay et al., 2019)	Manabí - Ecuador	Hidrodestilación	3	Madera	---

De acuerdo con la Tabla 1.2, la madera es la materia prima más empleada dado a su disponibilidad durante todo el año; el principal método de extracción es la hidrodestilación, debido a que solvente utilizado, el agua, es económico y de fácil acceso.

Composición del aceite esencial de la *Bursera Graveolens*

El extracto obtenido es una mezcla de alrededor de 100 compuestos químicos en diferentes proporciones porcentuales, esta combinación proporciona aroma y coloración característica según el tipo de materia prima utilizado (Yautibug Naula & Zambrano Sánchez, 2019; Yukawa et al., 2004).

Tabla 1.3 Principales componentes del aceite esencial del *Bursera Graveolens*

Autor	(Monzote et al., 2012)	(Sotelo Mendez et al., 2017)	(Jaramillo-Colorado et al., 2019)	(Fon-Fay et al., 2019)	(Manzano, 2013)		(Bravo, 2014)
Materia	Madera	Madera	Hoja + Madera	Madera	Madera		Fruto seco
Ubicación	Lisa - Cuba	Piura – Perú	Malagana – Colombia	Manabí – Ecuador	Ancón – Ecuador		Loja – Ecuador
Análisis	CG – EM	CG	EM	CG – EM	CG	EM	CG – EM
Componentes							
Limoneno	26.5	0.19	42.2	34.9	62.88	34.60	59.84
β - elemene	14.1	---	---	tr	----	----	----
Pulegona	1.70	---	20.9	0.20	----	----	----
α - pineno	0.10	---	---	0.10	0.700	0.660	1.390
β - pineno	0.20	0.03	---	tr	----	----	----
Carvona	0.10	---	7.50	5.30	3.680	4.050	----
Mentofurano	5.10	---	---	0.90	0.700	6.070	5.950
Terpinen – 4 – ol	---	---	---	---	0.600	0.540	----
α – terpineol	0.30	---	---	tr	23.53	19.67	----
Sesquiterpeno	---	---	---	11.7	3.950	25.53	----
Ácido acético	---	---	---	---	----	0.1360	----

Ácido Guayeretico	---	---	---	---	----	0.007	----
Cariofileno	---	---	4.10	---	----	----	----
Trans – carveol	0.30	---	3.80	3.70	----	----	----
Germacreno D	0.40	0.92	---	0.20	---	----	0.910
3 – octanol	---	1.10	---		---	----	----
α – Terpineno		31.5	---	tr	----	----	----
6 – alil – o – cresol	---	1.53	---	---	----	----	----
β – trans – ocimeno	13.0	4.93	---	---	----	----	----
Piperitona	0.10	5.61	---	tr	----	----	----
Isocariofileno	---	6.61	---		----	----	----
α – mirceno	0.70	0.02	---	0.10	----	----	1.380
β – felandreno	---	0.480	---	---	----	----	24.66
Durenol	---	2.360	---	---	----	----	----

Nota: el tr <0.01% en la composición porcentual del extracto Bursera Graveolens

De la Tabla 1.3, el limoneno es el compuesto químico de mayor porcentaje en el aceite esencial de la especie *Bursera Graveolens*, con la particularidad del extracto obtenido en Perú donde α – Terpineno es el predominante.

Aun siendo de una misma especie la composición del aceite esencial varía conforme a la localidad y a la parte de la planta utilizada como materia prima; por ejemplo, el contenido del Limoneno (59.84%), el fruto seco presenta una mayor cantidad según reporte de (Bravo, 2014), que sitúa la especie en la localidad de Malva provincia de Loja. Este extracto posee un 24.94% más de Limoneno (34.90%) que el obtenido en la Localidad de Manabí, pero un 3.04% menos en comparación con el extracto de la localidad de San José de Ancón

(Comparado con CG). Siendo un indicativo que fruto seco es más viable en términos económicos.

La especie nativa de Palo Santo de San Marcos no cuenta con ningún análisis de tipo químico que permita objetar la composición porcentual de los componentes en el aceite esencial y su viabilidad a nivel comercial. Por lo tanto, es necesario un estudio a los extractos obtenidos en la Comunidad San Marcos – Provincia de Santa Elena poder conocer el porcentaje de los componentes presentes en los extractos.

Propiedades principales del *Bursera Graveolens*.

A continuación, se indican las propiedades disponibles hasta la presente fecha de investigación.

Tabla 1.4 Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial

Parámetros	Valor
Densidad	0.5440 g/cm ³ ±0.0099 ^a
Índice de refracción (a 20 °C)	1.4764 nD ±0.0001 ^b
Solubilidad	Etanol (30%, 50% 80%) ^c , glicerina ^d
pH	4.5 ±0.1 ^e

Nota: ^{a,b}Bravo (2014, p. 26), ^cManzano Santana et al. (2009, p. 47), ^dBravo (2014, p. 26), ^eCarrión – Paldines et al. (2016, p. 2).

En la Tabla 1.4, las propiedades como; densidad, índice de refracción, solubilidad en glicerina con relación al aceite del fruto fresco localizado en Malva – Provincia de Loja. La solubilidad en etanol es en referencia al extracto proveniente a la madera de la localidad San José de Ancón – Provincia de Santa Elena. Otras de propiedades como el pH involucra al extracto del fruto fresco, ubicado en Loja.

Entre las propiedades destacadas también están las Organolépticas

Tabla 1.5 Propiedades organolépticas del aceite esencial

Parámetros	Características		
	Fruto fresco ^a	Fruto seco ^b	Madera ^d
Color	Incoloro	Incoloro Traslucido	Amarillo dorado
Olor	Fragante	Cítrico – amaderado	Amaderado – dulce
Aspecto	Líquido	Líquido viscoso	Líquido

Nota: ^{a,d}Chiado (2017, p. 55 – 56), ^bBravo (2014, p. 26).

En la Tabla 1.5 se indican las principales propiedades organolépticas del *Bursera Graveolens* originarias de Ecuador, el fruto seco proveniente de Malva – Loja, el fruto fresco y madera provisto por el sector 1 de la provincia de Santa Elena. Entre las principales características predomina su aroma amaderado y fragancia (Chiado, 2017).

Potenciales usos del Aceite del Palo Santo (*Bursera Graveolens*)

El potencial uso de la materia prima obtenida de la *Bursera Graveolens* no se limitan solamente a la extracción de aceites esenciales, también es factible el uso de las astillas de la madera para la actividad insecticida (Carrión, 2016), la elaboración de incienso, shampoo, jabones, desinfectantes, fármacos (Bravo, 2014; Bueno & León, 2019).

Debido a su contenido de Limoneno (monoterpeno cíclico) es posible emplearlo en aromaterapias, además de su actividad quimiopreventiva contra ciertos tipos de cáncer, resulta ser un buen antiproliferativo siendo viable para la industria farmacéutica (Monzote et al., 2012; Park et al., 2011; Sun, 2007). También, en el campo culinario tiene un comprometedor uso para la preparación de comidas gourmet e inclusive emplearlo como conservante natural (Fon-Fay et al., 2019; Yautibug Naula & Zambrano Sánchez, 2019).

Los residuos de la extracción también pueden ser aprovechados según indica Carrión, Fries, Caballero, Pérez y García indican en su estudio de *Biodegradation of Residues from Palo Santo (*Bursera Graveolens*) Essential Oil Extraction and Their Potential for Enzyme Production Using Native Xylaria Fungi from Southern Ecuador*, el desecho es apto para

finas biotecnológicas e ideal para producir etanol, metano y el vermicompost como fertilizante combinando con desechos orgánicos de tipo vegetal. Además, un potencial uso mediante hongos específicos en la industria de la biotecnología enzimática. Esto permite optimizar la materia prima y manejar los desechos de forma ecológica, sustentable con el bosque seco y rentable económicamente (Carrión-Paladines et al., 2016).

CAPÍTULO 2

2. METODOLOGÍA

El estudio químico realizado al aceite B. Graveolens es de tipo descriptivo – no experimental, las muestras analizadas se recolectaron en la Asociación de Producción Agroforestal de Palo Santo ubicada en San Marcos – Santa Elena.

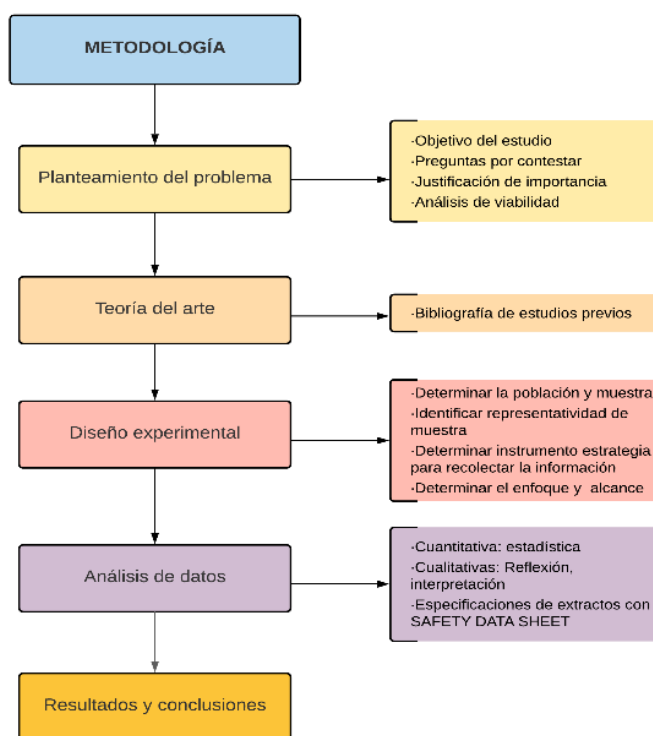


Figura 2.1 Metodología General (ASESORIAS MSS, 2020)

Las muestras de aceite de palo santo extraídas que fueron analizadas pertenecen a partes no tradicionales de la planta, tal como es el fruto fresco, fruto seco y madera, el propósito del estudio es realizar ensayos experimentales con el fin de conocer la caracterización del aceite esencial, y así poder brindar una mejor forma de comercialización a los productores de la asociación por lo cual los ensayos a realizar son:

- Densidad.
- Índice de refracción.
- punto de ebullición.
- análisis de CG-EM.

- pH del aceite esencial.

2.1 Materiales

2.1.1 Materiales

- Picnómetro de Gay-Lussac
- Tirillas medidoras de pH
- Termómetro de mercurio marca de 200°C marca BOECO
- Tubo de ensayo
- Tubo capilar
- Soporte universal
- Pinza de termómetro

2.1.2 Reactivos

- Glicerol
- Agua destilada
- Muestra 1 (aceite esencial de madera)
- Muestra 2 (aceite esencial de fruto fresco)
- Muestra 3 (aceite esencial de fruto fresco)

2.1.3 Equipos

- Balanza analítica marca SARTORIUS ± 0.0001
- Refractómetro marca ATAGO ABBE ± 0.0001
- Plancha de Calentamiento marca HACEB
- Espectrómetro de Infrarrojo marca THERMO FISHER SCIENTIFIC, Modelo NICOLET iS10

2.2 Procesos para la caracterización del b. graveolens.

- Densidad.

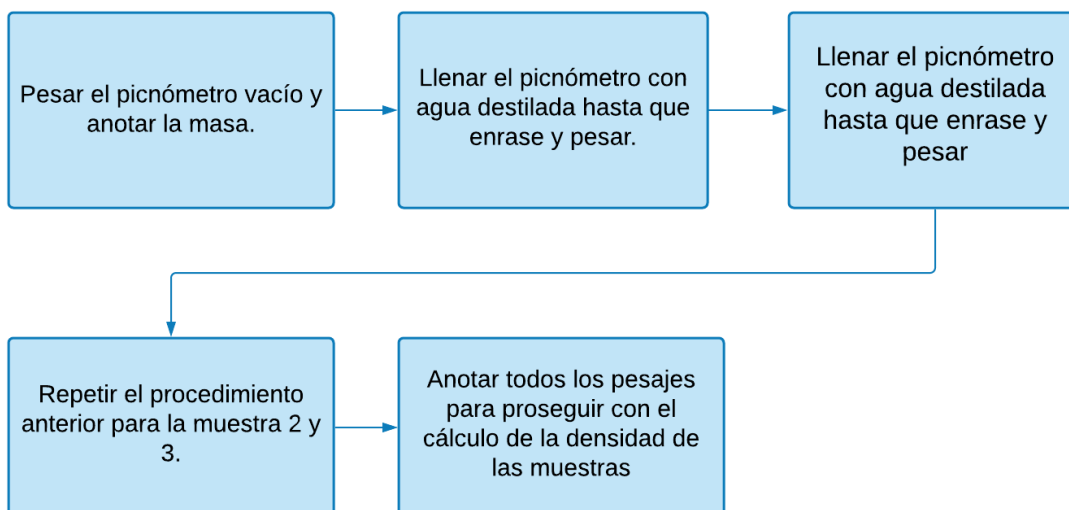


Figura 2.2 Procedimiento para hallar la densidad del aceite esencial B.Graveolens

Tabla 2.1 Datos para cálculo de densidades del Bursera Graveolens

Muestra	$m_{\text{picnómetro (g)}}$	$m_{\text{agua + picnómetro (g)}}$	$m_{\text{aceite + picnómetro (g)}}$
Fruto fresco	8.5753	13.6805	12.9093
Fruto seco	8.5753	13.6805	12.9195
Madera	8.5753	13.6805	12.0992

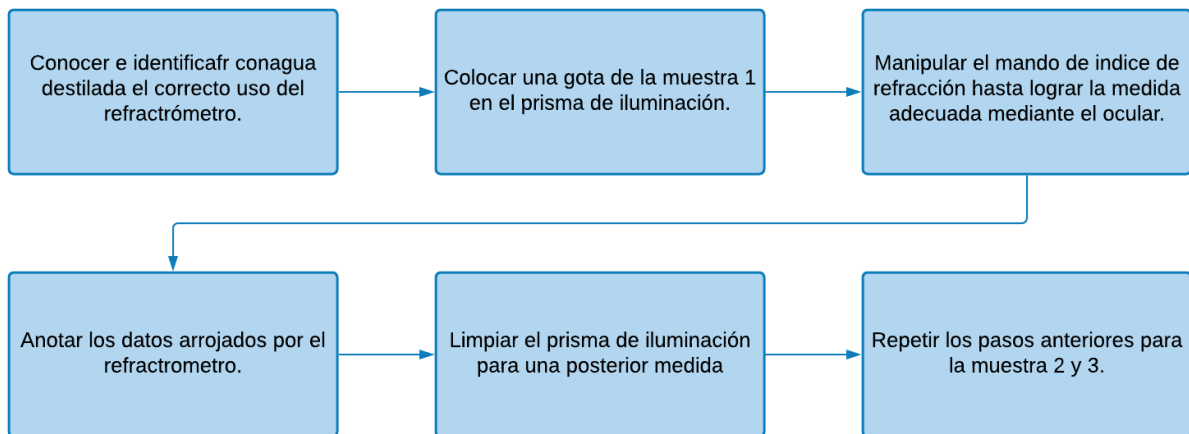
Nota: Elaboración propia

Tabla 2.2 Resultados de densidades del B. Graveolens

Muestra	Densidad (g/cm^3)
Fruto fresco	0.8489
Fruto seco	0.8509
Madera	0.8861

Nota: Elaboración propia

- Índice de refracción.



Índice de Refracción

Figura 2.3 Procedimiento para hallar el índice de refracción del aceite esencial del *B. Graveolens*

Tabla 2.3 Índice de refracción del aceite esencial del *Bursera Graveolens*

Muestra	Índice de refracción	T (°C)	Índice de refracción (a 20°C)
Fruto fresco	1.4709nD ±0.0001	26.2	1.4737 ±0.0001
	1.4709nD ±0.0001	26.3	
	1.4709nD ±0.0001	26.3	
Fruto seco	1.4719nD ±0.0001	26.3	1.4747 ±0.0001
	1.4719nD ±0.0001	26.3	
	1.4718nD ±0.0001	26.2	
Madera	1.4769nD ±0.0001	26.3	1.4797 ±0.0001
	1.4769nD ±0.0001	26.3	
	1.4770nD ±0.0001	26.2	

Nota: IR del agua 1.3322nD ±0.0001 a 26.3°C, calibrado a 20°C. Elaboración propia

- Punto de ebullición

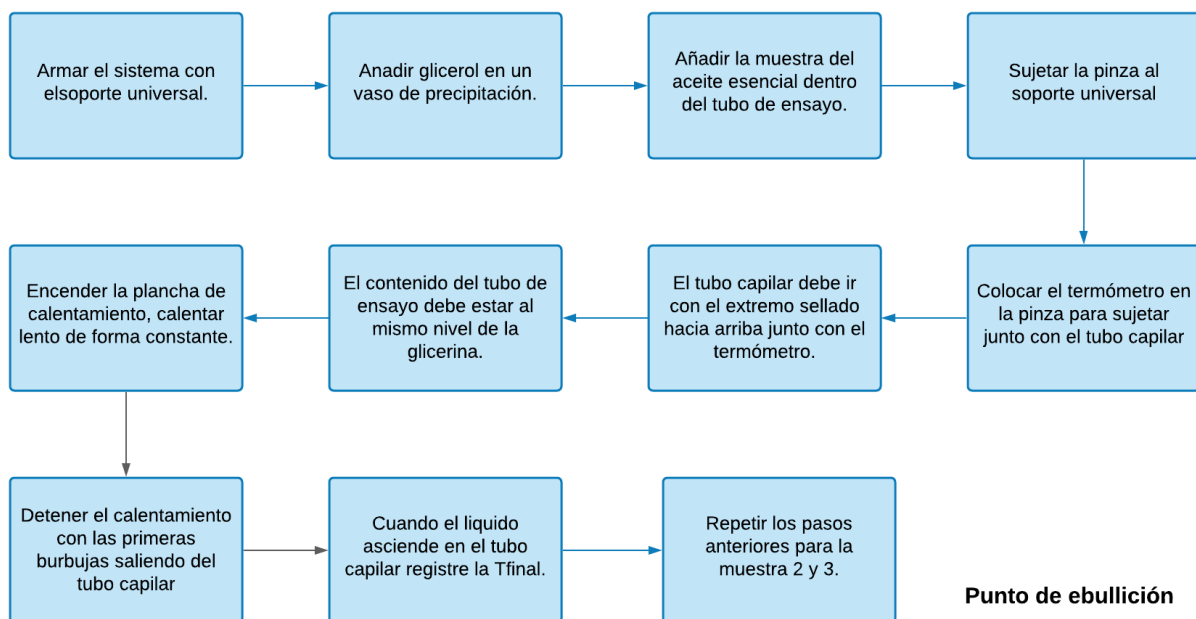


Figura 2.4 Procedimiento para hallar el punto de ebullición del aceite esencial del B. Graveolens.

- pH de muestras del aceite esencial

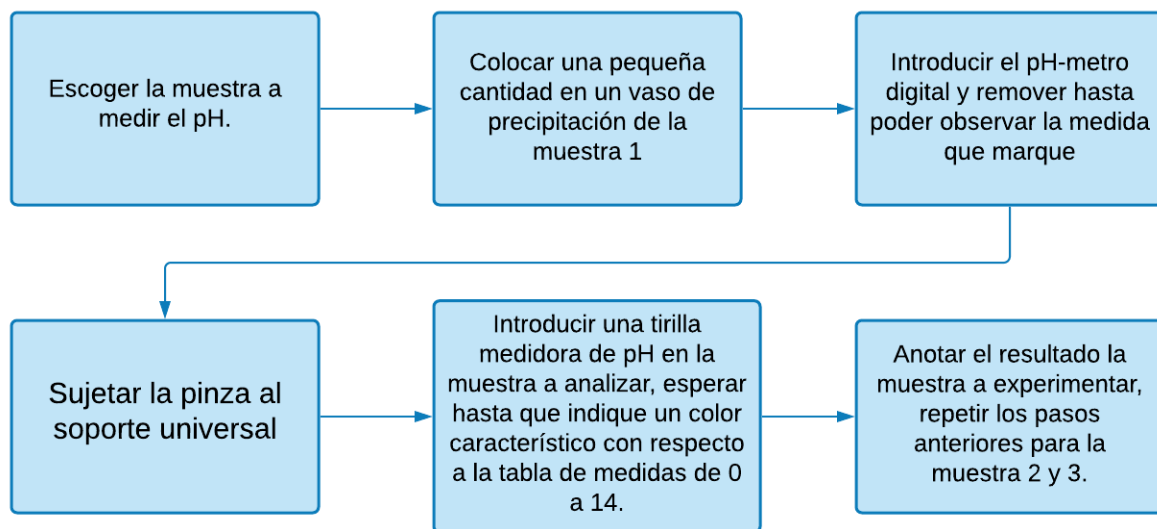


Figura 2.5 Procedimiento para medir el pH de las muestras de aceite esencial del B. Graveolens

Tabla 2.4 pH del aceite esencial del Bursera Graveolens

Muestra	pH
Fruto fresco	5.0
Fruto seco	6.0
Madera	5.0

Nota: mediante tiras de pH. Elaboración propia

- Análisis de CG-EM.

Procedimiento para realizar el análisis de CG-EM

El aceite fue analizado por el sistema acoplado de cromatografía gaseosa por espectrometría de masas, en un equipo Agilent serie 6890N, equipado con un detector selectivo de masas, serie 5973N. La inyección de la muestra se realizó por el modo split con una relación de 1:10, con la temperatura del inyector de 280 °C.

2.3 Diseño experimental

El diseño experimental pertenece a uno no experimental de tipo descriptivo debido a que se realiza la toma de datos en un tiempo único y no se manipula las variables independientes (Hernández-Sampieri & Torres, 2018).

Las tres muestras de extracto a caracterizar, se darán un análisis para determinar si son representativas mediante la distribución normal con un nivel de confianza del 95%. Se considera un 5% de límite aceptable del error muestral (Aguilar-Barojas, 2005). La cantidad de árboles requeridos para los extractos sean representativas de la Localidad de Aguadita - Las Balsas y la comunidad San Marcos donde se extrae el aceite esencial, considerando

su limitada disponibilidad debido a su alto coste de materia prima para la obtención de los extractos.

La distribución de la especie *Bursera Graveolens* en la provincia de Santa Elena abarca 57540.29 hectáreas (100%). Según Caponet y Coba (2018), en su estudio de *Cuantificación y Propiedades de la especie Bursera Graveolens (Kunth) Triana & Planch, en la provincia de Santa Elena* delimitan los tipos de ecosistemas en base a la concentración de población de la especie *Bursera Graveolens*. La especie se distribuye en un ecosistema de tipo Bosque bajo y arbustal deciduo de tierras bajas del Jama - Zapotillo esto representa 33075.59 hectáreas (57.5%) con Palo Santo perteneciente al sector 1 donde se sitúan las localidades de Colonche, Cerezal, Balsas, Barbascal, Aguadita, Sube y Baja, Calicanto y la comunidad San Marcos (Caponet & Coba, 2018).

La densidad poblacional es de 52 árboles/hectáreas, en 33075.59 hectáreas correspondiente al sector 1 existen 1719930 árboles con DAP (Diámetro de altura de pecho) promedio de 13.27cm, con un peso promedio del 50.2kg/árbol verde y 19.1kg/árbol seco. Para la obtención de la materia prima se considera 31405.30 hectáreas (54.58%) que representa 1633075 árboles por parte de la Asociación Agroforestal Palo Santo abarcando las localidades de Aguadita – Las Balsas considerando su centro de operación la Comunidad de San Marcos (Caponet & Coba, 2018).

La provincia de Santa Elena tiene una potencialidad de producción del aceite *Bursera Graveolens* del fruto fresco de 27073.76L/añual, aprovechando 57527.34 hectáreas (99.98%) de las 57540.29 hectáreas (100%). El sector 1 donde está la localidad de Aguadita – Las Balsas las 31405.30 hectáreas (54.58%) aporta con 9689.90L/añual de aceite del fruto fresco, mediante la ecuación 1 es posible estimar los litros a producir.

$$P = 0.224(N)(A)(R) \quad (2.1)$$

Una producción real considerando la resiliencia ecológica, únicamente se aprovecha el 0.8kg (20%) del fruto fresco a pesar de que el árbol en promedio produce 4kg de fruto (Caponet & Coba, 2018).

La muestra provista por la parte de la Asociación Agroforestal Palo Santo es representativa dado que los 57540.29 hectáreas (100%) de bosque en la Provincia de Santa Elena, el

54.58% (31405.30 hectáreas) de las hectáreas de la especie *Bursera Graveolens* están en la localidad de Aguadita – Las Balsas

$$n = \frac{N * Z_{\alpha}^2 * p * q}{e^2 * (N + 1) + Z_{\alpha}^2 * p * q} \quad (2.2)$$

$N = 1633075$ árboles

$e = 5\%$, $Z = 95\%$

Sea N el número de árboles totales en el sector 1, con un nivel de confianza del 95%, e (límite aceptable del error muestral) del 5% para investigaciones, una probabilidad del 50% de que suceda y el 50% que no suceda. El número de muestras a considerar es $n = 384$ árboles.

Acorde a la Asociación Agroforestal Palo Santo obtiene un promedio de 1.5L litro de aceite por extracción de la madera con un lote final de 4.5L/día y total de 22.5L/semana para mantener la homogeneidad del lote. El Fruto fresco produce en promedio 1.2L de aceite un lote final 6L/día y total 18L/semana. A diferencia del fruto seco la misma manera de extraer del fruto fresco, se obtiene 3.5 menos aceite con un lote final de 5.14L/semanas. El volumen del aceite extraído almacenado es 45.64L.

Dado que 1kg de fruto fresco produce 0.02648kg de aceite según la ecuación 1 (despejando R), considerando la resiliencia ecológica se aprovecha únicamente 0.8kg de fruto fresco por árbol. Acorde al número de muestra de 384 árboles esto representa 307.2kg de fruta fresca con densidad de 0.8489kg/L

En el caso del fruto fresco 384 árboles producen 9.5825L de aceite fresco. De los cuales la Asociación Agroforestal Palo Santo asigno 100mL en frascos de vidrio oscuros de 500mL de su lote 18L/semana. Seguido del extracto proveniente del fruto seco y madera de 100mL.

En el caso del aceite proveniente del fruto seco, debido a la pérdida del aceite esencial por el tiempo de secado de 30 días, el volumen (2.7371L) obtenido es 3.5 veces menor al del fruto fresco, de igual forma considerando el mismo análisis para el fruto fresco la muestra tomada es representativa dado que se asignó 100mL de aceite de un lote de 5.14L/semana.

La producción de aceite proveniente de la madera en la localidad se Aguadita – Las Balsas es de 3483.63L(Caponet & Coba, 2018)..

$$P = 0.087(N)(A)(R) \quad (2.3)$$

De la ecuación 3 se determina que 1kg de madera produce 0.02452kg de aceite, se conoce que su densidad es 0.8509kg/L. Considerando una base cálculo de 0.8kg de madera por árbol.

Esta muestra tomada para el análisis también es representativa, dado que únicamente se requiere 384 árboles para producir 8.8488L de aceite proveniente de la madera del *Bursera Graveolens* y el volumen asignado para el análisis fue de 100mL de un lote de 22.5L/semana.

De forma general las muestras son representativas debido que únicamente es necesario 384 árboles para producir cada tipo de aceite, teniendo un total de 1152 árboles a ser analizadas mediante una caracterización química donde se analiza el pH, densidad, punto de ebullición y composición química (por Índice de refracción para pureza, espectroscopia infrarroja, Cromatografía de gases acoplado con espectrometría de masa CG- EM).

Pureza del compuesto

Mediante las propiedades fisicoquímicas como el índice de refracción(IR), densidad y punto de ebullición se determina la pureza de cada extracto comparando con los valores teóricos que índice en la calidad. Seguido del pH que también incide en la calidad del producto con valor agregado tales como jabones, geles u otro producto de uso común sobre la piel.

Composición química

Espectrometría infrarroja:

Mediante la espectrometría infrarroja se identifica la pureza de los extractos mediante el emparejamiento considerando el perfil del limoneno como el compuesto de interés e identificando los principales grupos funcionales presentes mediante el análisis del número de ondas vs transmitancia.

CG- EM

Mediante este análisis se determinó el porcentaje de composición de cada uno de los elementos más abundantes en cada extracto.

Identificación de uso

Mediante el análisis en función de la composición y pureza se identifica los usos eficientes de cada extracto.

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 Propiedades fisicoquímicas.

Tabla 3.1 Propiedades fisicoquímicas del extracto del *Bursera Graveolens* (Palo Santo)

Parámetros	Materia Prima		
	Fruto fresco	Fruto Seco	Madera
Densidad (a 20°C)	0.8459g/cm ³ ±0.0099	0.8478g/cm ³ ±0.0099	0.8829g/cm ³ ±0.0099
Índice de refracción (a 20 °C)	1.4737nD ±0.0001	1.4747nD ±0.0001	1.4798nD ±0.0001
Punto de ebullición	175°C	177°C	176°C
pH	6.0 ±0.1	5.0 ±0.1	5.0 ±0.1

Nota: Elaboración propia

3.2 Propiedades organolépticas

Tabla 3.2 Propiedades organolépticas del aceite esencial

Parámetros	Características		
	Fruto fresco	Fruto seco	Madera
Color	Incoloro (amarillo claro)	Incoloro Traslúcido	Amarillo amaderado
Olor	Cítrico intenso	Cítrico – amaderado	Amaderado – dulce
Aspecto	Líquido	Líquido viscoso	Líquido

Nota: Elaboración propia

3.2.1 Extractos previos al análisis de la prueba de espectrometría – CG /EM



Figura 3.1 Muestras de los extractos del *Bursera Graveolens*

3.3 Espectroscopia infrarroja del aceite esencial

Fruto fresco

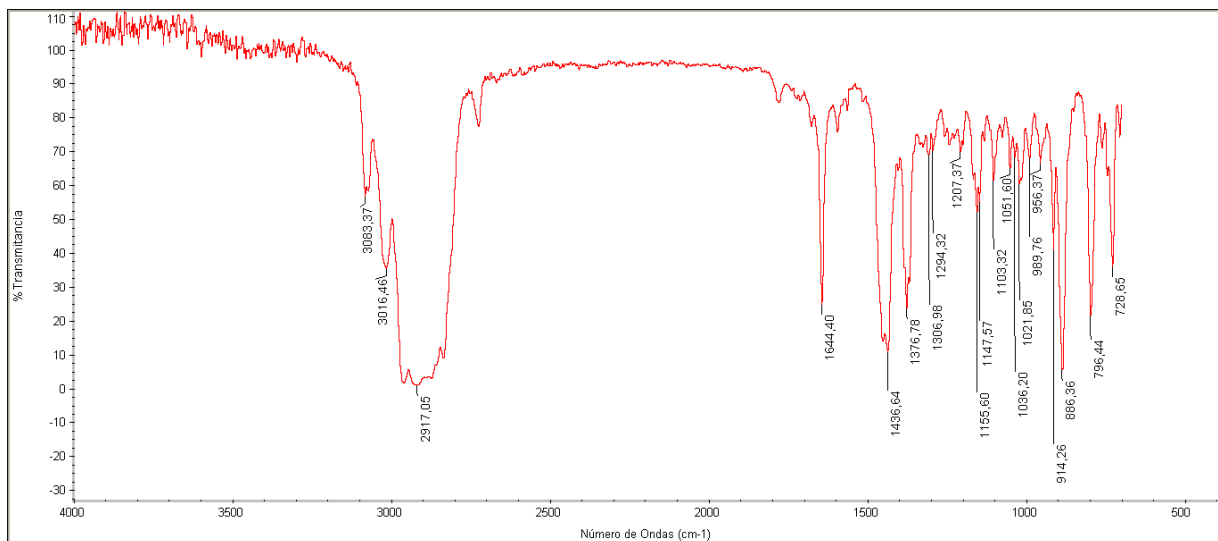


Figura 3.2 IR del aceite esencial del *Bursera Graveolens*

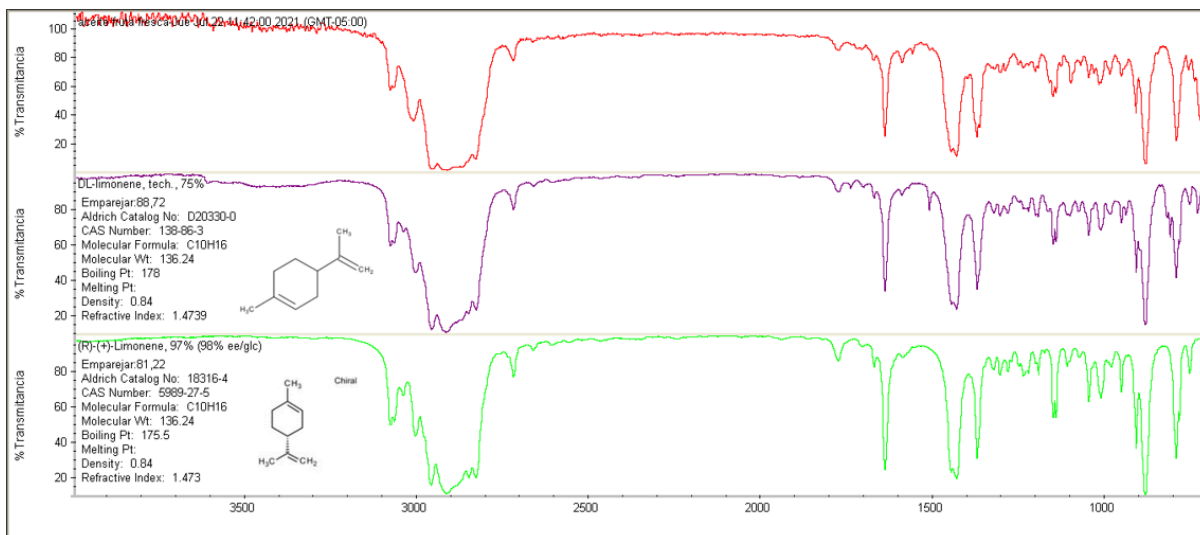


Figura 3.3 IR del aceite esencial con emparejamiento del Limoneno

Fruto seco

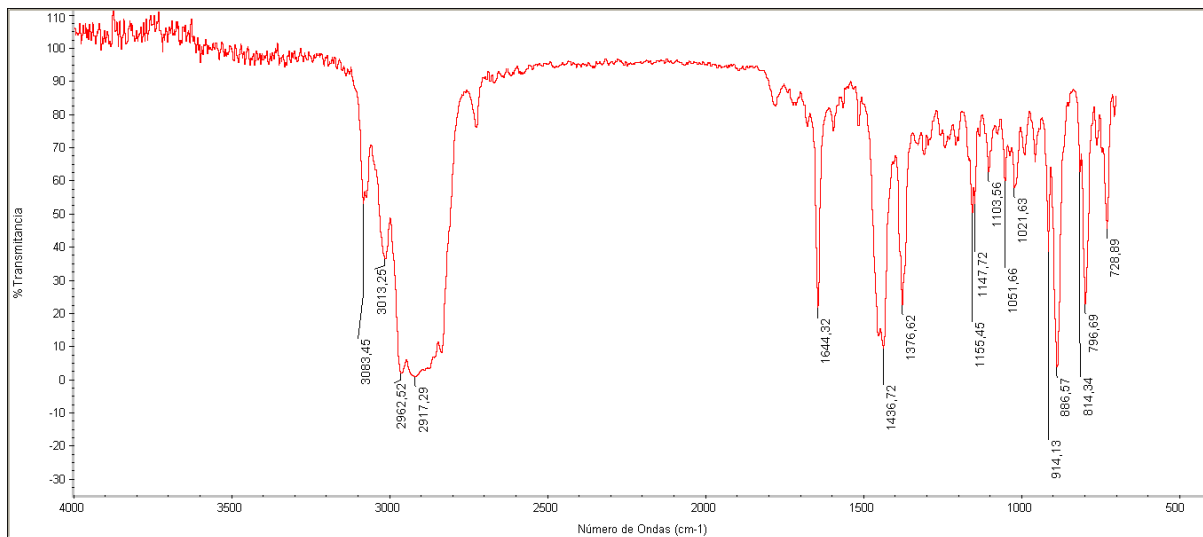


Figura 3.4 IR del aceite esencial del Bursaria Graveolens

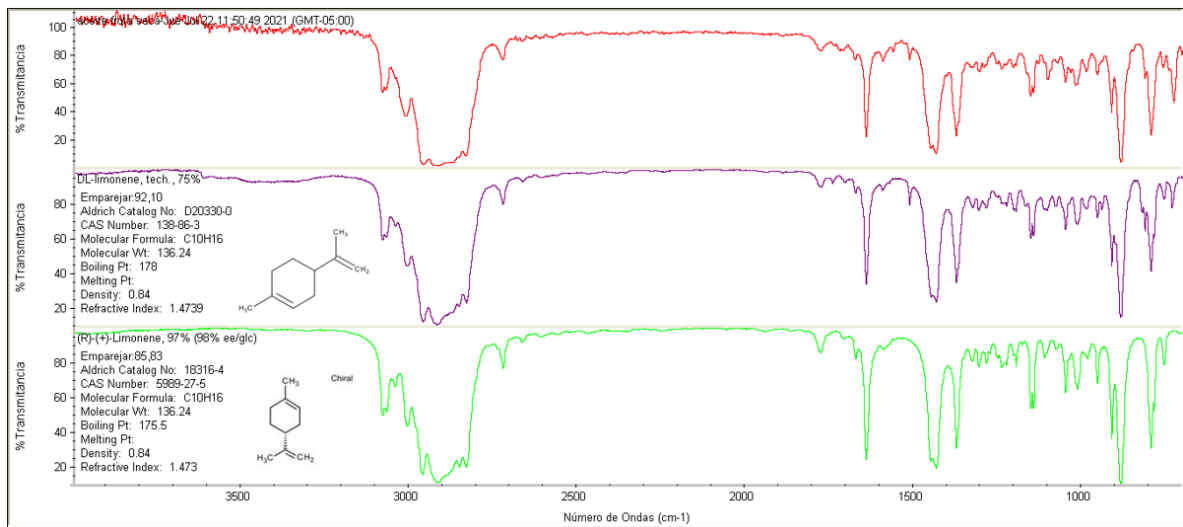


Figura 3.5 IR del aceite esencial con emparejamiento a Limoneno

Madera

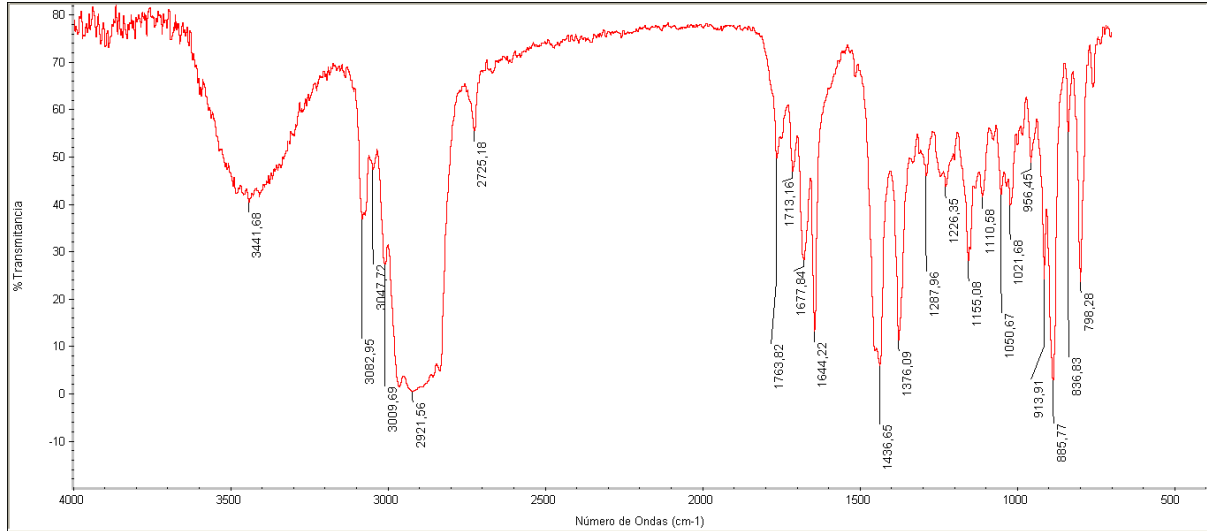


Figura 3.6 IR del aceite esencial del Bursera Graveolens

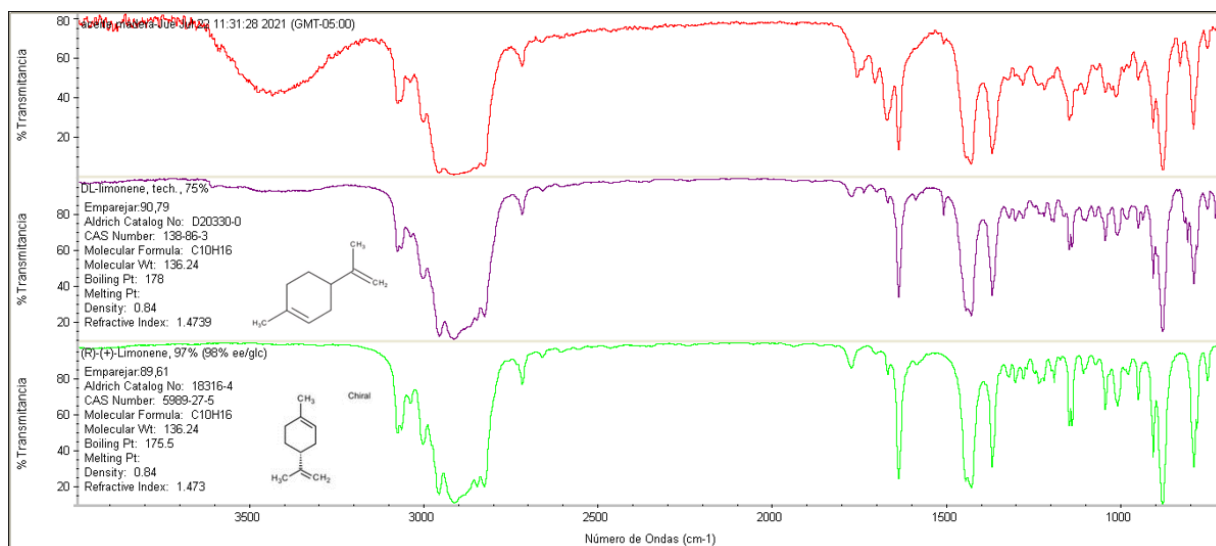


Figura 3.7 IR del aceite esencial con emparejamiento del Limoneno

3.4 CG – EM del extracto del *Bursera Graveolens*

Fruto fresco

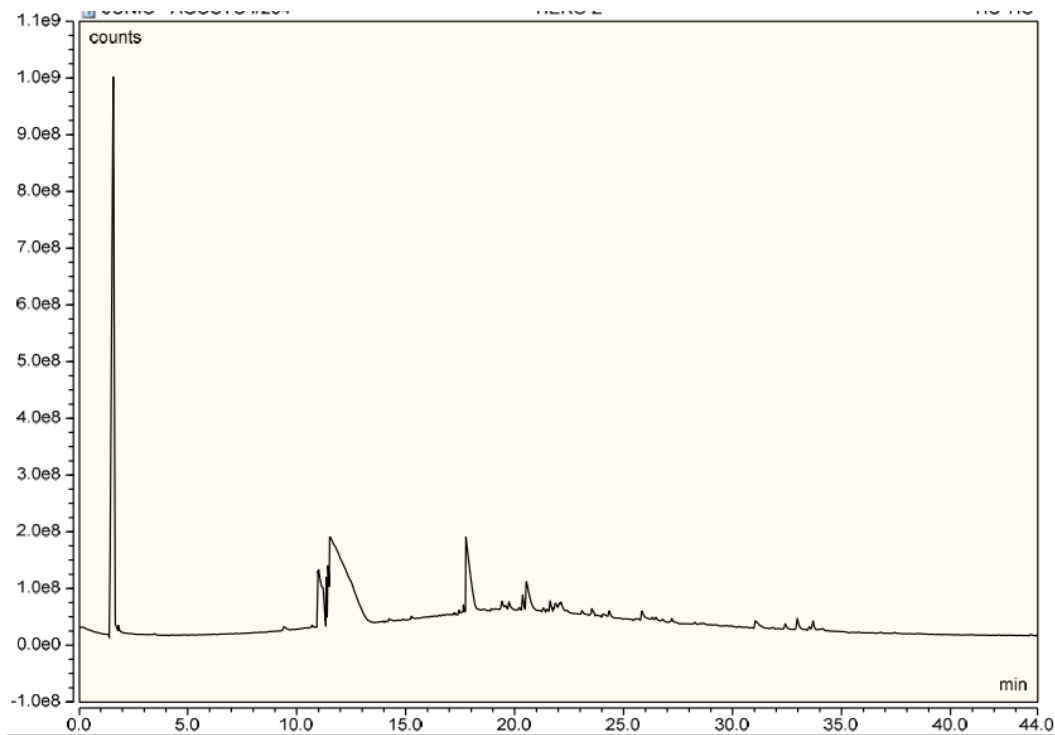


Figura 3.8 CG – EM del aceite esencial del fruto fresco del *Bursera Graveolens*

Fruto Seco

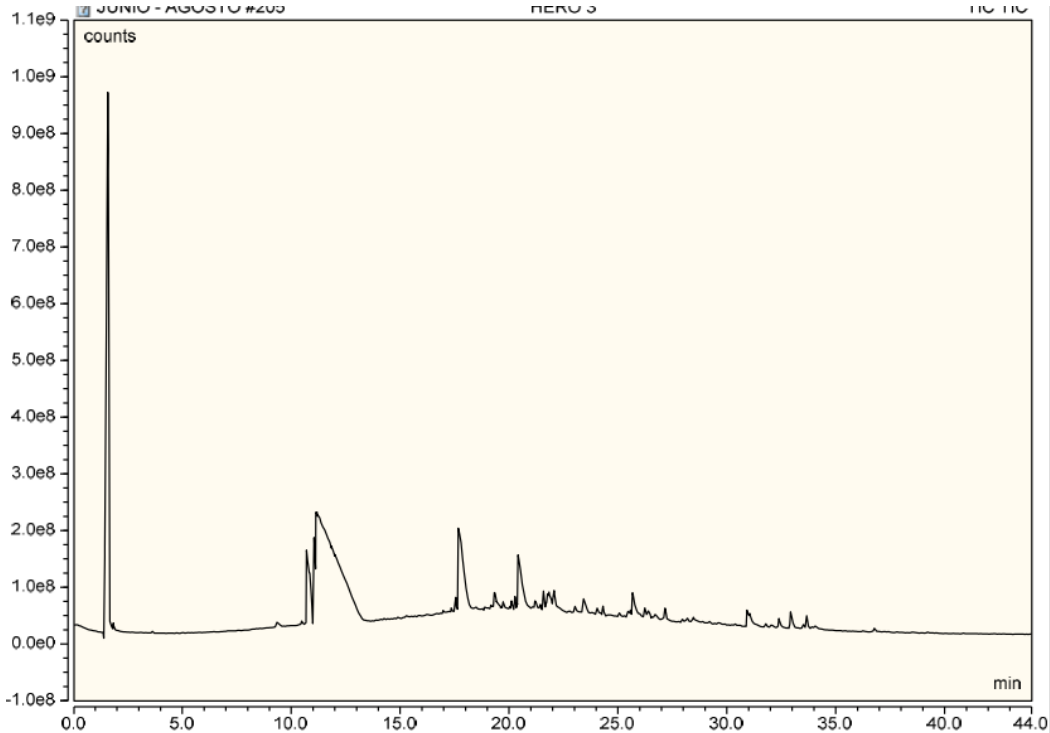


Figura 3.9 CG – EM del aceite esencial del fruto seco del Bursera Graveolens

Madera

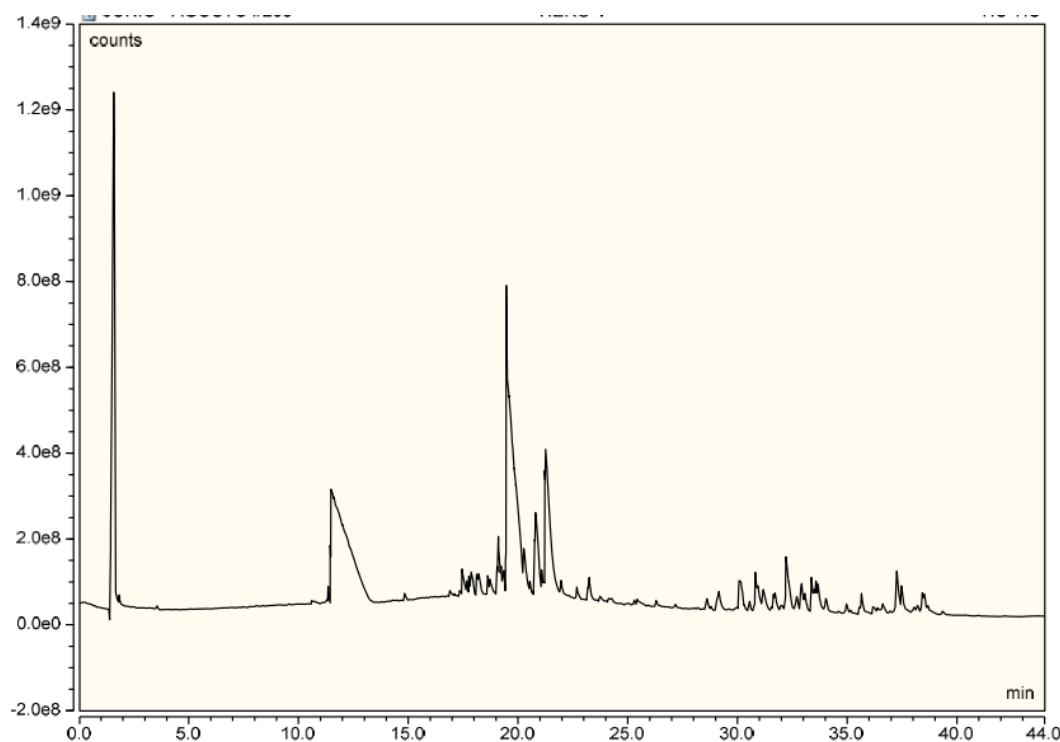


Figura 3.10 CG – EM del aceite esencial de la madera del *Bursera Graveolens*

3.5 Composición química del extracto del *Bursera Graveolens* por CG – EM

Tabla 3.3 Componentes del aceite esencial del fruto fresco*

N°	Tiempo (min)	Componentes	%Peso en Muestra
1	10,999	α – felandreno	9,577
2	11,349	γ – Terpineno	1,149
3	11,428	O – cimeno	3,278
4	11,536	Limoneno	63,855
5	17,761	Mentofurano	12,577
6	20,362	Trans – ocimeno	0,735
7	20,543	Cis – Sabinol	3,319
8	21,621	Propionato de geranilo	0,611
9	23,536	Citronelal	0,512

10	24,335	2,3,7-trimetilpirazolo [1,5-a] piridina	0,249
11	25,825	2-methyl-7-norbornanol	1,112
12	31,035	trans-cis-3-ethylbicyclo[4.4.0]decane	1,268
13	32,413	β – Cedreno	0,379
14	32,960	α – cedreno	1,380
Total (%)			100.0

Nota: * Extractos producidos en la localidad de Aguadita – Las Balsas, con materia prima local

Tabla 3.4 Componentes del aceite esencial del fruto seco*

N°	Tiempo (min)	Componentes	%Peso en Muestra
1	10.700	α – felandreno	7.062
2	11.009	γ – terpineno	0.504
3	11.047	O – cimeno	3.014
4	11.186	D – silvestreno	65.003
5	17.665	Mentofurano	12.159
6	20.414	Cis – sabinol	5.903
7	21.587	Acetato de dihidrocarvilo	0.633
8	23.427	7-isopropil-4a-metiloctahidro-2 (1H) - naftalenona #	0.699
9	25.672	Cis-(-)- óxido de limoneno	1.664
10	27.161	Trans – Carveol	0.475
11	30.923	Trans-cis-3-Ethylbicyclo[4.4.0]decane	0.725
12	32.396	β – cedreno	0.619
13	32.923	α – cedreno	0.945
14	33.668	Cis-muuro-la-3,5-diene	0.398
15	34.093	Methyl 4,7,10,13- hexadecatetraenoate	0.105
16	36.766	Cubenol	0.092

Total (%)	100.0
------------------	-------

Nota: * Extractos producidos en la localidad de Aguadita – Las Balsas, con materia prima local

Tabla 3.5 Componentes del aceite esencial de la madera*

N°	Tiempo (min)	Componentes	%Peso en Muestra
1	11,475	D - Limoneno	35,596
2	18,209	Cis - carveol	1,282
3	18,621	Neocarvomentol	0,868
4	19,468	α – tepineol	34,109
5	20,801	Trans – carveol	3,472
6	21,264	(-) – carvona	11,681
7	23,247	Mentol	0,910
8	28,610	Acorradieno	0,321
9	29,154	α – Cedreno	1,872
10	30,076	β – Elemene	1,799
11	30,552	β – Cedreno	0,269
12	30,807	(-) – mentalactona	1,496
13	31,185	β - barbateno	0,701
14	32,212	γ – amorfeno	2,938
15	32,691	Cubenol	0,396
16	32,923	α – muuroleno	0,322
17	37,256	Junenol	1,286
18	37,470	Farnesol	0,682
Total (%)			100.0

Nota: * Extractos producidos en la localidad de Aguadita – Las Balsas, con materia prima local

3.6 Análisis de Resultados

3.6.1 Análisis de las propiedades fisicoquímicas del aceite esencial

Las propiedades físicas como; densidad, punto de ebullición, índice de refracción permite identificar una sustancia sin alterar su composición química. En términos generales las propiedades físicas en conjunto a las cromatografías de gases posibilitan analizar la calidad del aceite esencial (Devi et al., 2015). Complementando el análisis mediante la medición del pH como una variable de tipo química para clasificar como un ácido o una base.

Fruto fresco

Las propiedades del aceite esencial proveniente del fruto fresco del *Bursera Graveolens* del sector 1 localidad de Aguadita – Las Balsas (centro de operación San Marcos) se indica en la Tabla 3.1. La densidad de $0.8459\text{g/cm}^3 \pm 0.0011$ realizado mediante el método del picnómetro a 24.2°C con corrección a 20°C a 40% de humedad de laboratorio y el índice de refracción a 26.3°C con corrección a 20°C . Comparado con la densidad $0.8385\text{g/cm}^3 \pm 0.0011$ a 20°C del extracto del fruto maduro, índice de refracción 1.4760 ± 0.0011 realizado por (Rey-Valeirón et al., 2017). También New Directions Aromatics (2021), en su reporte de SDS indican un intervalo de densidad del $0.8150 - 0.8650 \text{ g/cm}^3$ a 20°C (New Directions Aromatics, 2021). Según Ospina, Tovar, Flores y Orozco (2016), el índice de refracción de los aceites esenciales está influenciado por los compuestos químicos presentes y sin importar su composición variada es posible encontrar uno de los componentes principales y es considerado como un parámetro de calidad (Ospina et al., 2016).

La madurez del fruto es un factor para considerar debido a que modifica tanto la composición y concentración de los componentes volátiles en el aceite esencial (Combariza et al., 1994). Conforme al SDS, el índice de refracción está en el rango de $1.460 - 1.484$ a 20°C (New Directions Aromatics, 2021), situando al extracto dentro del intervalo del índice de refracción $1.4737\text{nD} \pm 0.0001$.

Considerando el índice de refracción ($1.4737nD \pm 0.0001$) y la densidad del aceite esencial del fruto fresco de la Tabla 3.1 es posible indicar que es un extracto sin cambios o alteraciones debido a mezclas ajenas dado que esta dentro del intervalo de estudios científicos.

Otra de las propiedades físicas a considerar es el punto de ebullición, estudios han establecido un intervalo de $170 - 180 \text{ }^\circ\text{C}$ (Calvache et al., 2018; Januszewicz et al., 2020; Montoya Cadavid, 2010), siendo el limoneno el compuesto guía con el punto de ebullición de $175.5 \text{ }^\circ\text{C}$ (Chemat et al., 2012), en un intervalo de $175 \text{ }^\circ\text{C}$ a 177°C .

Empleando el método de Siwoloboff, el punto de ebullición de $175 \text{ }^\circ\text{C}$ para el extracto del fruto fresco, esta en los intervalos teóricos.

La acidez o basicidad del extracto, estudios indican un pH de 4.5 ± 0.1 del aceite esencial de la madera + fruto (Carrión-Paladines et al., 2016). En contraste al extracto con un pH de 6.0 proveniente del fruto fresco es ligeramente ácido.

Fruto seco

El extracto del fruto seco tiene una alta expectativa de explotación, siendo clave el análisis de sus propiedades fisicoquímicas.

Acorde a la Tabla 3.1, presenta una densidad (0.8478g/cm^3) mayor al del fruto fresco (0.8459g/cm^3), índice de refracción de $1.4747nD \pm 0.0001$, punto de ebullición de 177°C (mayor al del fruto fresco) y pH de 5.0 indicativo de un ácido muy fuerte para el extracto del fruto seco.

Los valores medidos están dentro de los intervalos teóricos como; densidad de $0.8150 - 0.8650 \text{ g/cm}^3$ a 20°C (New Directions Aromatics, 2021), punto de ebullición de $175.5 \text{ }^\circ\text{C}$ (Chemat et al., 2012), índice de refracción $1.460 - 1.484$ a 20°C (New Directions Aromatics, 2021).

La variación de los valores del extracto del fruto fresco posibilita dos escenarios. La primera, el aceite esencial del fruto seco presente impurezas que alteran la densidad, índice de refracción, punto de ebullición y acidez. La segunda, la presencia del isómero D – limoneno (olor: cítrico fresco) y L – Limoneno (olor: penetrante, apinado) según estudios (Falk Filipsson et al., 1998; Peña Carrodegas et al., 2015). Estos isómeros modifican propiedades como el punto de ebullición, donde la presión de vapor más baja vincula al punto de ebullición más bajo del isómero (VALLERO, 2008).

Los valores puntuales medidos catalogan que es un aceite esencial compuesta por isómeros.

Madera

El extracto proveniente de la madera es el más controversiales debido al impacto al ecosistema y la vulnerabilidad de la especie *Bursera Graveolens*.

Las propiedades fisicoquímicas acorde a la Tabla 3.1, este aceite tiene una densidad de 0.8829g/cm^3 a 20°C mayor al del fruto seco (0.8478g/cm^3) y fruto fresco (0.8459g/cm^3). Un estudio realizado por Bravo (2014), reportan una densidad de $0.8554\text{g/cm}^3 \pm 0.0099$ a 20°C para un extracto proveniente de la madera con una composición del limoneno cercana al 60% (Bravo, 2014). Otros estudios reportan un intervalo de $0.965 - 0.975 \text{ g/cm}^3$ a 20°C cuando el extracto presenta trazas insignificantes de limoneno y $0.40 - 0.90$ ppm de hierro (Dellacassa, 2010).

El extracto está dentro de los intervalos teóricos asegurando la presencia del limoneno en su composición y el aumento de la densidad debido a más componentes, haciendo del aceite el más pesado de los tres.

Este extracto presenta un índice de refracción $1.4798\text{nD} \pm 0.0001$ más alto de los tres. Bravo (2014), reportan un valor de $1.4768\text{nD} \pm 0.0001$ a 20°C para un extracto derivado de la madera con presencia de limoneno (Bravo, 2014). En el caso de la presencia de metales pesados como el hierro y ausencia de limoneno el valor asciende hasta $1.5020 - 1.5080$ a 20°C (Dellacassa, 2010). Es indica, que el aceite esencial de la madera está

dentro de los intervalos teóricos de densidad e índice de refracción, acorde a las propiedades físicas y químicas reportados en el MSDS (Nature In Bottle, 2021).

El punto de ebullición de 176°C se acopla al intervalo de 170 – 180 °C (Calvache et al., 2018; Januszewicz et al., 2020; Montoya Cadavid, 2010), donde acotan el rango para aceites esenciales. Un pH de 5.0 indica un extracto ácido muy fuerte.

Los valores altos como: densidad, índice de refracción, punto de ebullición, indican la presencia de compuestos químicos diferentes en cada extracto y la presencia de isómeros.

Los extractos analizados están compuestos principalmente de terpenos y sus derivados. Dichos compuestos forman enlaces con los átomos de C, H, O que a su vez forman cadenas, anillos que proporcionan una densidad inferior al del agua (Sánchez, 2006).

3.6.2 Análisis de las propiedades organolépticas

Las propiedades organolépticas son características físicas y particularidades de cada especie arbórea, cuya sustancia permite diferenciarlos mediante el sabor, color, olor, textura.

El aceite esencial es un líquido volátil oleoso aromático de tipo hidrofóbico cuya concentración presenta un olor fuerte, debido a los terpenos que proporciona un olor específico (Fongang Fotsing & Kezetas, 2020).

La variación del sabor y olor de los aceites esenciales está relacionado al tipo de planta, ubicación geográfica, temporada de cosecha, método de secado y extracción (Burt, 2004; Fongang Fotsing & Kezetas, 2020; Hussain et al., 2008; LAZAR, 2003).

Las propiedades organolépticas del extracto descrita en la Tabla 3.2 proveniente del fruto fresco del *Bursera Graveolens* de color incoloro (amarillo claro), olor a cítrico

intenso y aspecto líquido. Los parámetros de color amarillo claro, olor intenso, aspecto líquido concuerdan con los teóricos (Noel-Martinez et al., 2021).

El extracto del fruto seco presenta una coloración incolora traslúcido debido a una mezcla racémica que no desvía la luz óptica, olor más cítrico – amaderado y de aspecto a líquido viscoso. Las variaciones de las propiedades están relacionadas a los isómeros. En un análisis Bravo (2014), indican propiedades similares como cítrico – especiado - amaderado y la diferencia de las demás propiedades está relacionado a la ubicación geográfica de la materia prima y parte del árbol empleado (Bravo, 2014).

Las diferencias de las propiedades organolépticas del extracto de la madera son evidentes, su coloración amarilla de tono amaderado vincula el isómero óptico de limoneno. El olor amaderado – dulce y aspecto viscoso son típicos de un extracto derivado de la madera.

Un estudio realizado por Yautibug y Zambrano (2019), indican una coloración dorada claro intenso, olor balsámico – dulce – picante y aspecto líquido (Yautibug Naula & Zambrano Sánchez, 2019). Los parámetros indicados concuerdan con lo establecido en la Tabla 3.2 con una ligera variación debido a los isómeros y la materia prima procesada de una ubicación geográfica diferente en la Provincia de Santa Elena (comunidad Tuguadaja) y no del sector 1 acotado en las localidades de Aguadita - Las Balsas.

3.6.3 Análisis de la espectrometría infrarroja del extracto

Fruto fresco

La región de la huella digital comprendido de 1400cm^{-1} a 600cm^{-1} , región debido a la vibración de los enlaces que posee una molécula (Wade, 2011).

La región $>1400\text{cm}^{-1}$ corresponde al grupo funcional, identificando al lípido donde se ubica el terpeno. El lípido incluye variados compuestos pertenecientes a diferentes grupos funcionales debido a esto en la clasificación importante de lípidos sencillos está el terpeno (Wade, 2011).

La región $<1500\text{cm}^{-1}$ caracteriza los enlaces sencillos C – O, C – C, C – X (McMurry et al., 2001). Es visible un pico en 1644cm^{-1} , debido a residuos de agua en el extracto. Las vibraciones estiran el enlace H – O – H, además del enlace C=C. Confirmando la presencia de trazas, los ruidos presentes a partir de 3200cm^{-1} .

La región correspondiente 2000cm^{-1} a 1500cm^{-1} se encuentran los dobles enlaces C = C, C = O. También es visible el enlace -CH- (con estiramiento) entorno a 3080cm^{-1} a 3088cm^{-1} con hibridación sp^2 (Wade, 2011).

En la Figura 3.3 del espectro infrarrojo indica un emparejamiento del 88.72% con el espectro IR teórico del DL- limoneno (mezcla de isómeros), seguido de un emparejamiento del 81.22% con el R – (+) – limoneno. Esto indica la presencia de limoneno en la composición en un mayor porcentaje.

Considerando el índice de refracción y densidad provisto en el análisis de IR comparado con las propiedades fisicoquímicas de la Tabla 3.1 el compuesto predominante es DL- limoneno.

Fruto seco

El análisis del IR es similar al del fruto fresco con ligeras variaciones en el número de ondas de 10 a 15cm^{-1} . Presenta el mismo enlace -CH- con estiramiento entorno a 3080cm^{-1} a 3088cm^{-1} con hibridación sp^2 .

Analizando la Figura 3.5 el emparejamiento del DL – limoneno teórico es del 92.1%, indicando una mayor presencia del limoneno con trazas insignificantes de agua debido la existencia de un ruido mínimo por encima de 3200cm^{-1} .

Madera

El análisis del IR es similar para la región de la huella digital con variaciones de 10 a 15cm^{-1} en el número de ondas. En un intervalo de 3100cm^{-1} a 2000cm^{-1} , también está el enlace -CH- con estiramiento a 3082cm^{-1} con hibridación sp^2 .

Analizando la Figura 3.7, con un emparejamiento del 89.61% con IR teórico el componente principal es el R – (+) – limoneno. Debido a la región de 3700cm^{-1} a 3200cm^{-1} con pico en 3441cm^{-1} indica la presencia de un grupo funcional como el éster, con un pico en 1763cm^{-1} debido al enlace tensionado del C= (L. Wade, 2011). Además, los picos en el intervalo de 1000cm^{-1} a 1200cm^{-1} confirman el enlace estirado del C – O. Mediante las propiedades fisicoquímicas como el punto de ebullición, densidad y análisis de espectro IR presentan estudios previos confirman los picos por encima del 3200cm^{-1} correspondiente al terpeno (R – (+) – limoneno).

3.6.4 Análisis de la CG – EM del extracto del *Bursera Graveolens*

Fruto fresco

Los componentes principales del aceite esencial son; Limoneno (63.855%), Mentofurano (12.577%), α – felandreno (9.577%), Cis – sabinol (3.319%), O – cimeno (3.278%), α – cedreno (1.380%), trans-cis-3-ethylbicyclo[4.4.0]decane (1.268%), Trans – ocimeno (0.735%), propionato de geranilo (0.611%), Citronelal (0.512%) conforme a la Tabla 3.3.

Fruto Seco

El extracto en su composición tiene D – silvestreno (65.003%), mentofurano (12.159%), α – felandreno (7.062%), Cis – sabinol (5.903%), O – cimeno (3.014%), Cis – (-) – óxido de limoneno (1.664%), α – cedreno (0.945%), β – cedreno (0.619%) entre los componentes principales acorde a la Tabla 3.4.

Madera

El extracto en su composición tiene a los siguientes componentes; D – Limoneno (35.596%), α – tepineol (34.109%), (-) – carvona (11.681%), Trans – carveol (3.472%), γ – amorfeno (2.938%), α – Cedreno (1.872%), β – Elemene (1.799%), (-) – mentolactona (1.496%), Cis – carveol (1.282%), Junenol (1.286%), Mentol (0.910%), β - barbateno (0.701%) son los compuestos presente en el aceite esencial acorde la Tabla 3.5.

3.6.5 Análisis General de calidad

Los análisis de las propiedades para el control de calidad se consideran como referencia lo estipulado en ISO 279:1998 para aceites esenciales (International Standard Organization, 1998)

La calidad del aceite esencial considera las propiedades fisicoquímicas, organolépticas, grupo funcional presente y los compuestos químicos en el extracto. El filtro de calidad se lo realiza mediante el color, olor, aspecto y composición de limoneno.

El aceite esencial del fruto fresco no presenta alteraciones en su composición; predominando el DL- limoneno (63.855%) con un olor cítrico intenso, estado líquido homogéneo que contrasta con las propiedades organolépticas de estudios previos efectuados en el sector 1 las Balsas – Aguadita. Todo esto es indicativo de un aceite esencial puro con ínfimas trazas de agua con propiedades similares a parámetros descritos en la SDS.

El extracto del fruto seco presenta una buena calidad con un olor cítrico – amaderado debido a la composición de monoterpenos. Donde el D – silvestreno (65.003%) es el componente principal, Cis – (-) – óxido de limoneno (1.664%), Mentofurano (12.159%) y trazas de agua no significativas, con propiedades organolépticas particularmente homogéneas debido a los isómeros presentes. Un estudio de campo realizado por Chiado (2017), indican que este extracto tiene una mejor calidad y concentración (Chiado, 2017). Complementado por Bravo (2014), la presencia de mentofurano (Bravo, 2014), potenciando su uso en la salud.

El extracto del aceite esencial de la madera de coloración característica de un amarillo amaderado y olor amaderado dulce debido al porcentaje de D – limoneno (35.596%) y α – terpineol (34.109%) en su composición, sin componentes extraños. En general presenta propiedades similares establecidas por el SDS.

La calidad del aceite esencial del fruto fresco en base al contenido del limoneno es mayor en relación al de la madera. Debido a que este componente tiene amplios beneficios destacables como; antiinflamatorias, antiestrés, antitumorales, antioxidantes (Saeidnia & Gohari, 2012).

3.7 Análisis ECONÓMICOS E innovación

Según datos analizados por la carrera de Economía se tiene las ventas de los últimos 5 años en el grafico adjunto.

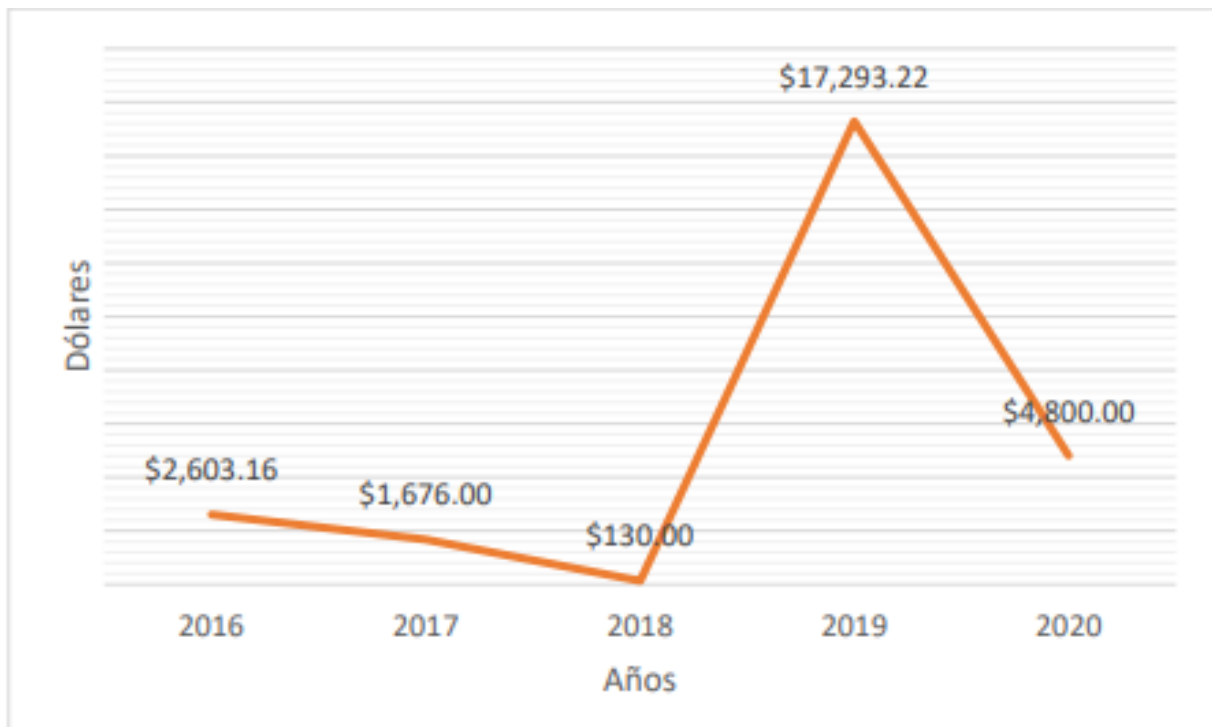


Figura 11 Ventas realizadas por la Asociación Agroforestal de Produccion de Palo Santo.

La Figura 17 nos indica que durante el periodo del año 2016 al 2018 los productores tiene un decrecimiento en ventas, mientras que para el año 2019 las ventas se elevaron a \$17.000 dólares, siendo tan solo el 17.89% las ventas realizadas por extracto de aceite de palo santo. Mientras que en el lapso del año 2020 las ventas

volvieron a decrecer debido a la situación mundial debido a la pandemia de Covid-19 teniendo que suspender la producción en la Asociación Agroforestal de Producción de Palo Santo hasta el presente año 2021, todo esto se dio por la alta demanda en los servicios de primera necesidad y salud.

Además según encuestas realizadas se evidencia que el 90% de las personas desconocen del uso de productos elaborados con aceite de palo santo.

Los estudios realizados indican que la Asociación Agroforestal de Producción de Palo Santo en un año laboral producen la cantidad máxima de 240 litros de aceite de la especie *Bursera Graveolens*, esta cantidad asegura la forestación de la zona tropical del bosque de palo santo, hasta poder implementar un plan de reforestación para la comunidad San Marcos-Santa Elena.

Innovación

Se puede emplear al limoneno de manera segura como un aditivo de tipo alimentario, cosmético, aromatizante (Nikfar & Behboudi, 2014).

CAPÍTULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

La caracterización química ayudaron a establecer el perfil bioactivo del producto tal como es el extracto de aceite del *Bursera Graveolens*, pudiendo saber así de manera exacta las propiedades físicas y químicas del aceite para cada extracto de partes no tradicionales extraídos como es el fruto fresco, fruto seco y madera.

El estudio de las propiedades físicas establece que los componentes que se presentan mayoritariamente en cada presentación del extracto del aceite de palo santo que produce la Asociación Agroforestal de Palo Santo en la provincia de Santa Elena es el compuesto limoneno tabla 3.3, 3.4, y 3.5.

El estudio se lo realizo mediante pruebas experimentales en laboratorios ESPOL por medio de las caracterizaciones como: densidad, punto de ebullición, índice de refracción y pH, donde nos indican que para la materia prima como es el fruto fresco, seco y madera a analizar se obtuvieron valores para densidad de 0.8459 g/cm³, 0.8478 g/cm³, 0.8829 g/cm³ respectivamente, con un margen de error de ± 0.099 , notoriamente podemos afirmar que el aceite de madera es el mas pesado. Seguido del análisis de índice de refracción se obtuvo así mismo para fruto fresco, seco y madera valores de 1.4739 nD, 1.4747nD, 1,4798 nD con un margen de error de ± 0.0001 los mismos fueron estandarizados a una temperatura de 20°C, los valores hallados por medio de refratrometria se encuentran dentro del rango conforme a la SDS.

Para el punto ebullición mediante la experimentación se logro obtener resultados de 175 °C, 177 °C y 176 °C de muestras de fruto fresco, seco y madera, además para valores de pH se obtuvo valores de 6, 5 y 5 respectivamente, lo cual nos indica que estamos trabajando con aceites de comportamiento ácido.

La caracterización química nos permitió analizar la calidad del aceite como tal, su pureza y la variedad de sus componentes, las normas ISO 279:1998 para aceites esenciales nos permiten establecer la calidad del aceite comparando los resultados

obtenidos con respecto a la experimentación, ya que esto es de gran beneficio para la exportación del producto porque la competitividad comercial lo amerita, y la exportación del producto lo requiere en el mercado extranjero para poder así proveer un producto con un alto estándar de calidad.

La CG-EM nos indica los porcentajes de los componentes presentes en los aceites extraídos, teniendo como componente mayoritario al limoneno, para el fruto fresco según el análisis realizado se tiene que el limoneno es el que representa la mayor proporción con respecto a los demás extractos analizados con un valor de 65.855 %, mientras que el extracto de aceite de madera presenta 35.596% de limoneno, además el análisis indica que el extracto del aceite de fruto seco no contiene limoneno como componente principal, por último para el fruto seco nos indica que no presenta limoneno como componente principal, si no que contiene D – silvestreno con un valor de 65.003%, aunque no presente limoneno como componente principal si presenta óxidos pertenecientes al limoneno, el análisis realizado permite dar un valor agregado a mediano y a largo plazo a los aceites extraídos además de proteger a la especie forestal nativa del sector San Marcos Santa-Elena.

Finalmente en base al contenido del compuesto limoneno refiere que la calidad del extracto del aceite de fruto fresco de *Bursera Graveolens* es mayor proporcionalmente en comparación al extracto del aceite de madera y fruto seco, permitiendo obtener amplios.

4.2 Recomendaciones

Se recomienda implementar el estudio químico realizado por medio de experimentaciones en laboratorios ESPOL al aceite esencial *Bursera Graveolens* para así poder tener un estándar de calidad para el producto extraído de Palo Santo con la finalidad de que el producto pueda ser exportado con un alta estándar de calidad pudiendo así mejorar la economía de la Asociación y aumentar la producción del aceite esencial distribuyendo su producto con un alto rango de confiabilidad, todo esto permitirá que los habitantes del sector San

Marcos -Aguadita de la provincia de Santa Elena sean una fuente de empleo para los habitantes del sector.

El aceite esencial posee muchas propiedades curativas y terapéuticas según estudios previos realizados por lo cual se recomienda promover el desarrollo de nuevos productos que permitan su desarrollo y crecimiento en el mercado.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar-Barojas, S. (2005). Fórmulas para el cálculo de la muestra en investigaciones de salud. *Salud en Tabasco*, 11(1-2), 333-338.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48711206>
- ASESORIAS MSS. (2020, July 20). *Cómo plantear la metodología para hacer una tesis*.
<https://asesoriamss.com/servicios/empresa-2/item/83-como-plantear-la-metodologia-para-hacer-una-tesis>
- Bravo, O. F. (2014). *Diseño y desarrollo de un desinfectante para pisos a base del aceite esencial de Palo Santo (Bursera graveolens)*.
<http://dspace.utpl.edu.ec/handle/123456789/10415>
- Bueno, A. A., & León, A. G. (2019). *Plan de exportación de incienso artesanal Bursera Graveolens Palo Santo al mercado de Estados Unidos* [Guayaquil: ULVR, 2019.].
<http://repositorio.ulvr.edu.ec/handle/44000/2797>
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253.
<https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2004.03.022>
- Calvache, D., Rodríguez, R., & Troya, J. (2018). Determinación de propiedades térmicas de aceites esenciales. *Congreso de Ciencia y Tecnología ESPE*, 13(1).
<https://doi.org/10.24133/CCTESPE.V13I1.736>
- Caponet, R. C., & Coba, M. F. (2018). *CUANTIFICACIÓN Y PRÓPIEDADES DE LA ESPECIE: BURSERIA GRAVEÓLENS (KUNTH) TRIANA & PLANCH, EN LA PRÓVINCIA DE SANTA ELENA*.

- Carmona, R., Quijano-Celís, C. E., & Pino, J. A. (2009). Leaf Oil Composition of *Bursera graveolens* (Kunth) Triana et Planch. *Journal of Essential Oil Research*, 21(5), 387–389. <https://doi.org/10.1080/10412905.2009.9700199>
- Carrión, H. V. (2016). *Gestión y participación local para el aprovechamiento sostenible de desechos orgánicos del palo santo (Bursera graveolens), en el bosque seco semideciduo del sur occidente de la provincia de Loja, Ecuador* [Jaén: Universidad de Jaén]. <http://hdl.handle.net/10953/747>
- Carrión-Paladines, V., Fries, A., Gómez-Muñoz, B., & García-Ruiz, R. (2016). Agrochemical characterization of vermicomposts produced from residues of Palo Santo (*Bursera graveolens*) essential oil extraction. *Waste Management*, 58, 135–143. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.09.002>
- Chemat, S., Tomao, V., & Chemat, F. (2012). Limonene as Green Solvent for Extraction of Natural Products. In A. Mohammad (Ed.), *Green Solvents I: Properties and Applications in Chemistry* (pp. 175–186). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-1712-1_5
- Chiado, R. (2017). *Proyecto para la resiliencia al Cambio Climático de las comunidades mediante la gestión forestal del Palo Santo en el marco de la Economía popular y solidaria en la provincia de Santa Elena*. https://biowiki-ecuador.bio › tiki-download_file
- Combariza, M. Y., Tirado, C. B., Stashenko, E., & Shibamoto, T. (1994). Limonene concentration in lemon (*Citrus volkameriana*) peel oil as a function of ripeness. *Journal of High Resolution Chromatography*, 17(9), 643–646. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jhrc.1240170905>
- Cotler, H., & Maass, J. M. (1999). Tree Management in the Northwestern Andean Cordillera of Peru. *Mountain Research and Development*, 19(2), 153–160. <https://doi.org/10.2307/3674256>
- Dellacassa, E. (2010). *Normalización de productos naturales obtenidos de especies de la flora aromática latinoamericana: proyecto CYTED IV. 20*. EdiPUCRS.
- Devi, M. P., Chakrabarty, S., Ghosh, S. K., & Bhowmick, N. (2015). Essential Oil: Its Economic Aspect, Extraction, Importance, Uses, Hazards and Quality. *Value Addition*

- of *Horticultural Crops: Recent Trends and Future Directions*, 269–278.
https://doi.org/10.1007/978-81-322-2262-0_15
- Eugenio Hurtado, M. T. (2014). *LA PRODUCCION DEL ACEITE E INCIENSO DEL PALO SANTO O (BURSERA GRAVEOLENS) EN EL CANTON PUERTO LOPEZ, PROVINCIA DE MANABI*. [Universidad de Guayaquil Facultad de Ciencias Económicas]. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/9612>
- Falk Filipsson, A., Bard, J., Karlsson, S., & Organization, W. H. (1998). *Limonene*. World Health Organization.
<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42039/9241530057.pdf>
- Fon-Fay, F. M., Pino, J. A., Hernández, I., Rodeiro, I., & Fernández, M. D. (2019). Chemical composition and antioxidant activity of *Bursera graveolens* (Kunth) Triana et Planch essential oil from Manabí, Ecuador. *Journal of Essential Oil Research*, 31(3), 211–216.
<https://doi.org/10.1080/10412905.2018.1564381>
- Fongang Fotsing, Y. S., & Kezetas, B. (2020). Terpenoids as Important Bioactive Constituents of Essential Oils. In *Essential Oils - Bioactive Compounds, New Perspectives and Applications* (pp. 1–32). intechopen.
<https://doi.org/10.5772/intechopen.91426>
- García, M. J., & Castro, M. (2011). *Estudio de factibilidad para la producción y comercialización de esencia de aceite de palo santo (Bursera Graveolens) en el cantón de Puerto López [Jipijapa]*. <http://repositorio.unesum.edu.ec/handle/53000/397>
- Hernández-Sampieri, R., & Torres, C. P. M. (2018). *Metodología de la investigación* (6th ed., Vol. 4). McGraw-Hill Interamericana México^ eD. F DF.
- Hussain, A. I., Anwar, F., Hussain Sherazi, S. T., & Przybylski, R. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*, 108(3), 986–995.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.010>
- International Standard Organization. (1998). Essential oils-Determination of relative density at 20 °C-Reference method. *International Standard Organization*, 1998, 1–6.
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4509d520-b116-4e19-a214->

- Januszewicz, K., Kazimierski, P., Suchocki, T., Kardaś, D., Lewandowski, W., Klugmann-Radziemska, E., & Łuczak, J. (2020). Waste rubber pyrolysis: Product yields and limonene concentration. *Materials*, 13(19), 4435.
- Jaramillo-Colorado, B. E., Suarez-López, S., & Marrugo-Santander, V. (2019). Volatile chemical composition of essential oil from *Bursera graveolens* (Kunth) Triana & Planch and their fumigant and repellent activities. *Acta Scientiarum - Biological Sciences*, 41(1). <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v41i1.46822>
- LAZAR, T. (2003). Taiz, L. and Zeiger, E. Plant physiology. 3rd edn. *Annals of Botany*, 91(6), 750–751. <https://doi.org/10.1093/aob/mcg079>
- Manzano, P. (2013). POTENCIAL FITOFÁRMACO DE BURSERIA GRAVEOLENS SP (PALO SANTO), DEL BOSQUE SECO TROPICAL, PENÍNSULA DE SANTA ELENA, PROVINCIA DEL GUAYAS. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9).
- Manzano Santana, P., Miranda, M., Gutiérrez, Y., García, G., Orellana, T., & Orellana, A. (2009). Efecto antiinflamatorio y composición química del aceite de ramas de *Bursera graveolens* Triana & Planch. (palo santo) de Ecuador. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 14, 45–53.
- McMurry, J., Mondragón, C. H., & Pozo, V. G. (2001). *Química orgánica* (8th ed., Issue 547 M2 2000). International Thomson.
- Montoya Cadavid, G. de J. (2010). ACEITES ESENCIALES: una alternativa de diversificación para el eje cafetero. *Departamento de Física y Química*.
- Monzote, L., Hill, G. M., Cuellar, A., Scull, R., & Setzer, W. N. (2012). Chemical Composition and Anti-Proliferative Properties of *Bursera graveolens* Essential Oil. *Natural Product Communications*, 7(11), 1934578X1200701130. <https://doi.org/10.1177/1934578X1200701130>
- Morgan, M., & José, S. (2013). Increasing seed germination of *Bursera graveolens*, a promising tree for the restoration of tropical dry forests. *Tree Planters' Notes*, 56(1), 74–83.
- Nature In Bottle. (2021). *Aceite Esencial de Palo Santo | Aceite Esencial de Madera Santa Orgánica - Naturaleza en Botella*. https://www.natureinbottle.com/product/palo_santo_essential_oil

- New Directions Aromatics. (2021). SAFETY DATA SHEET (SDS). *New Directions Aromatics*, 1–6. www.newdirectionsaromatics.com
- Nikfar, S., & Behboudi, A. F. (2014). Limonene. *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition*, 78–82. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00628-X>
- Noel-Martinez, K. C., Cruz, G. J. F., & Solis-Castro, R. L. (2021). Bursera graveolens essential oil: Physicochemical characterization and antimicrobial activity in pathogenic microorganisms found in Kajikia audax. *Scientia Agropecuaria*, 12(3), 303–309. <https://doi.org/10.17268/SCI.AGROPECU.2021.033>
- Ospina, J. D., Tovar, C. D. G., Flores, J. C. M., & Orozco, M. S. S. (2016). RELACIÓN ENTRE EL ÍNDICE DE REFRACCIÓN Y LA CONCENTRACIÓN DE TIMOL EN ACEITES ESENCIALES DE Lippia organoides Kunth. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences (Ex Agro-Ciencia)*, 32(2), 127–133. <https://revistas.udec.cl/index.php/chjaas/article/view/310>
- Park, H. M., Lee, J. H., Yaoyao, J., Jun, H. J., & Lee, S. J. (2011). Limonene, a natural cyclic terpene, is an agonistic ligand for adenosine A2A receptors. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 404(1), 345–348. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.11.121>
- Peña Carrodeguas, L., González-Fabra, J., Castro-Gómez, F., Bo, C., & Kleij, A. W. (2015). Al (III) -Catalysed Formation of Poly(limonene)carbonate: DFT Analysis of the Origin of Stereoregularity. *Chemistry - A European Journal*, 21(16), 6115–6122. <https://doi.org/10.1002/chem.201406334>
- Programa Bioeconomía. (2020). *Bioeconomía – Ecuador: Cadena de valor del Palo Santo*. <https://www.bivica.org/file/view/id/5664>
- Rey-Valeirón, C., Guzmán, L., Saa, L. R., López-Vargas, J., & Valarezo, E. (2017). Acaricidal activity of essential oils of Bursera graveolens (Kunth) Triana & Planch and Schinus molle L. on unengorged larvae of cattle tick Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari: Ixodidae). *Journal of Essential Oil Research*, 29(4), 344–350. <https://doi.org/10.1080/10412905.2016.1278405>

- Saeidnia, S., & Gohari, A. R. (2012). Trypanocidal Monoterpenes: Lead Compounds to Design Future Trypanocidal Drugs. *Studies in Natural Products Chemistry*, 37, 173–190. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59514-0.00006-7>
- Sánchez, M. F. O. (2006). *Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes* (1st ed.). Aiyana. <https://books.google.com.ec/books?id=cW5TsDKqx9wC>
- Sotelo Mendez, A. H., Figueroa Cornejo, C. G., Césare Coral, M. F., & Alegría Arnedo, M. C. (2017). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of bursera graveolens (burseraceae) from Perú. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 51(3). <https://doi.org/10.5530/ijper.51.3s.62>
- Steyermark, J. A. (1987). Flora of the Venezuelan Guayana-III. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 74(3). <https://doi.org/10.2307/2399329>
- Sun, J. (2007). D-Limonene: safety and clinical applications. *Alternative Medicine Review: A Journal of Clinical Therapeutic*, 12 3, 259–264.
- VALLERO, D. A. (2008). Characterizing Air Pollution. *Fundamentals of Air Pollution*, 199–262. <https://doi.org/10.1016/B978-012373615-4/50008-X>
- Wade, L. (2011). IR Spectroscopy and Mass Spectrometry. In G. M. Cheselka, J. Zalesky, J. Murdzek, & C. McDonald (Eds.), *Organic Chemistry* (8th ed., pp. 513–556). Pearson.
- Yautibug Naula, W. A., & Zambrano Sánchez, K. L. (2019). *Extracción de aceite esencial del árbol de palo santo (Bursera Graveolens) y su aplicación culinaria*. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/42180>
- Yukawa, C., Iwabuchi, H., Kamikawa, T., Komemushi, S., & Sawabe, A. (2004). Terpenoids of the volatile oil of Bursera graveolens. *Flavour and Fragrance Journal*, 19(6), 565–570. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ffj.1356>

6. ANEXOS

Determinando el volumen del aceite esencial del fruto fresco

$$V_{\text{aceite}} = \frac{0.8\text{kg fruto fresco}}{1 \text{ árbol}} * \frac{0.02648\text{kg aceite fresco}}{1\text{kg fruto fresco}} * \frac{1\text{L fruto fresco}}{0.8489\text{kg aceite fresco}}$$

$$V_{\text{aceite}} = \frac{(0.02495\text{L fruto fresco})}{1 \text{ árbol}} * 384 \text{ árbol} = 9.5825\text{L fruto fresco}$$

Determinando el volumen del aceite esencial de la madera

$$V_{\text{aceite}} = \frac{0.8\text{kg madera}}{1 \text{ árbol}} * \frac{0.02648\text{kg aceite madera}}{1\text{kg madera}} * \frac{1\text{L aceite de madera}}{0.8509\text{kg aceite madera}}$$

$$V_{\text{aceite}} = \frac{(0.02304\text{L aceite de madera})}{1 \text{ árbol}} * 384 \text{ árbol} = 8.8488\text{L aceite de madera}$$