

COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE VOLÁTIL DEL CARDAMOMO, *Elettaria cardamomum* (L.) Maton

Ana Luisa Mendizábal de Montenegro¹,
mendiza@uvg.edu.gt

Carlos Rolz²
carlosrolz@uvg.edu.gt

¹ Laboratorio Instrumental de Química
Avanzada, Facultad de Ciencias y
Humanidades

² Centro de Ingeniería Bioquímica, Instituto
de Investigaciones

RESUMEN

Las semillas de cardamomo son un producto agrícola de exportación importante del país. El aceite volátil presente en las semillas le otorgan el aroma característico y único por el cual es apetecido por los consumidores. El aceite está compuesto por terpenos, algunos oxigenados y otros esterificados, originando una variedad amplia de compuestos, la cual depende de varios factores, entre los que están, el país de origen, las características agronómicas del cultivo y del proceso de extracción. En este estudio, en la primera parte, se presentan los datos de la composición del aceite extraído comercialmente de diez regiones productoras localizadas en los departamentos de Quiché y Alta Verapaz en dos cosechas consecutivas. En la primera, del 2018-2019, en cada región se obtuvieron dos muestras obtenidas en extracciones consecutivas. En la segunda, del 2019-2020, se obtuvo una muestra por solamente nueve regiones y el aceite se extrajo en el laboratorio. Las muestras se analizaron químicamente por medio de cromatografía de gases/espectrometría de masas. Los datos de los compuestos identificados se procesaron con métodos de análisis matemático de variables múltiples con el objetivo de identificar grupos de regiones de composición química del aceite, tanto diferente, como similares. En la primera cosecha, se logró la separación de tres grupos de regiones con diferente composición de su aceite volátil para los datos de la primera extracción. El grupo de las regiones VII, VIII, IX y X, las regiones más orientales del departamento de Alta Verapaz, fue el que presentó un aceite volátil de mayor calidad, de acuerdo con los criterios de: a) una mayor concentración de los dos compuestos mayoritarios, 1,8-cineol y acetato de terpenilo, y b) un mayor porcentaje de este último compuesto. La separación de grupos diferentes con los datos de la segunda extracción resultó estadísticamente menos confiable. La concentración de 1,8-cineol disminuyó significativamente en la segunda extracción; y por el contrario, el acetato de terpenilo aumentó en la segunda extracción, también en forma significativa. Los datos de la composición química del aceite volátil obtenidos en este estudio mostraron similitud con datos de semillas de cardamomo provenientes de Guatemala realizados en el pasado por diferentes autores e informadas en la literatura científica. En la segunda parte, se logró identificar dos grupos de regiones cuya composición del aceite volátil en muestras extraídas en el laboratorio, era distinta. El grupo de las regiones I, II, III, y V por un lado, y por el otro, las regiones IV, VI, VII, VIII y IX. Los rendimientos de aceite extraído en el laboratorio fueron relativamente bajos comparados con los valores citados en la literatura para muestras de Guatemala y otros lugares geográficos. Las regiones VI y III mostraron el mayor rendimiento.

PALABRAS CLAVE: Cardamomo, aceite volátil, composición química, Guatemala.

ABSTRACT

CHEMICAL COMPOSITION OF THE ESSENTIAL OIL OF CARDAMOM *Elettaria cardamomum* (L.) Maton

Cardamom seeds are an important export commodity for Guatemala. The volatile oil present in the seeds imparts its unique flavor and aroma characteristics that consumers seek. The oil is composed of a wide variety of terpene compounds, some of them oxygenated and others esterified; mixture that depends on the country of origin, agricultural practice and extraction

methodology. In this study, the chemical composition of oil extracted from producing regions from Quiché and Alta Verapaz for two consecutive harvests is presented. In the first part, 2018-2019 harvest, samples from two consecutive oil extractions at industrial scale were processed for each region. In the second part, 2019-2020 harvest, samples from only nine regions were processed, extraction taking place at the laboratory. Chemical analysis was done employing gas chromatography/mass spectrometry, and the chemical compounds were identified. The data was analyzed by multivariate methodology looking for regions with different and/or similar oil composition. In the first harvest, three regions were identified with different oil composition from the first extraction data. Regions VII, VIII, IX and X from Alta Verapaz eastern part produced the highest quality oil, ranked according to a higher proportion of the major components, 1,8-cyneol and terpenyl acetate, and a higher concentration of the latter. Results for the second extraction data had less significance. The second extraction oil had a significant lower amount of 1,8-cyneol and a higher proportion of terpenyl acetate. The results of this study are in agreement with previous work done by other researchers employing Guatemala cardamom seeds. In the second part, two independent clusters of different oil composition were identified from seeds extracted in the laboratory. Regions I, II, III, y V on one side, and regions IV, VI, VII, VIII y IX, on the other. Oil yield was relatively low compared to literature data. Regions VI and III presented the highest yields.

KEY WORDS: Cardamom, volatil oil, chemical composition, Guatemala.

INTRODUCCIÓN

El aceite volátil del cardamomo está presente en las semillas en proporción de 3 a 8 % dependiendo del lugar de origen, la variedad y el método de extracción (Nair, 2006). Está compuesto por terpenos en su mayoría derivados del isopreno, el cual, las células de las plantas sintetizan en el citoplasma. Las estructuras químicas principales son los mono-(C₁₀H₁₆), y los sesqui-terpenos (C₁₅H₂₄) derivados de la fusión de dos y tres unidades del isopreno, respectivamente. También se encuentran ambos tipos de terpenos en forma oxigenada o como ésteres generando una variedad amplia de compuestos.

De acuerdo con Nair (2006) los compuestos listados en el cuadro 1 son los principales constituyentes del aceite volátil del cardamomo. En dicho cuadro puede observarse lo siguiente: a) existen dos compuestos mayoritarios, el 1,8-cineol y el acetato de terpenilo, en una concentración mayor del 30.00 % y b) existen compuestos que están debajo del 1.0 % (-pineno, felandreno, terpineno, cimeno, terpinoleno, terpinen-4-ol, citronelol, nerol, geraniol y metil eugenol).

Han sido publicados en la literatura resultados similares, siendo la mayoría de muestras de cardamomo de Asia (Noleau y Toulemonde, 1987, Marongiu et al. 2004, Kumar et al. 2005, Kaskoos et al. 2006, Kizhakkayil et al. 2006, Thomas et al. 2006, Lucchesi et al. 2007, Leela et al. 2008, Gochev et al. 2012, Eikani et al. 2013, Kuyumku Savan y Kukukbay 2013, Meyhar et al. 2014, Morsy 2015, Baby y Ranganathan 2016, Teneva et al. 2016, Chegini y Abbasipour 2017, Mani et al. 2017, Mutlu-Ingook y Karbancioglu-Guler 2017, Villada-

Cuadro 1. Compuestos del aceite volátil de cardamomo (Nair, 2006).

Compuesto	Concentración en el aceite %
α-Pineno	1.5
β-Pineno	0.2
Sabineno	2.8
Mirceno	1.6
α-Felandreno	0.2
Limoneno	11.6
1,8-Cineol	36.3
Terpineno	0.7
Cimeno	0.1
Terpinoleno	0.5
Linalool	3.2
Acetato de linalilo	2.5
Terpineno-4-ol	0.9
α-Terpineol	2.6
Acetato de Terpenilo	31.3
Citronelol	0.3
Nerol	0.5
Geraniol	0.5
Metil-eugenol	0.2
Trans-Nerolidol	2.7

Ramirez et al. 2017, Noumi et al. 2018). En cuatro de ellas se incluyeron resultados de semillas provenientes de Guatemala (Kizhakkayil et al. 2006, Thomas et al. 2006, Gochev et al. 2012, Morsy 2015).

Puede decirse, entonces, que existe información abundante sobre la composición del aceite volátil del cardamomo proveniente de varios países productores.

A continuación se presentan los métodos empleados en este estudio, la caracterización de las muestras respecto a la región de cultivo, el análisis químico efectuado para separar e identificar los compuestos volátiles del aceite, el análisis

de los datos experimentales empleando metodologías de variables múltiples. En seguida, se listan los compuestos identificados de las diferentes muestras y aquellas regiones con diferente composición del aceite volátil. Finalmente, y luego de una discusión de los resultados, se ofrecen las conclusiones.

El artículo consta de dos partes. En la primera parte, se trabajaron muestras de aceite de la cosecha 2018-2019 que fue extraído por una empresa comercial. En la segunda parte, muestras de aceite obtenido de las semillas en los laboratorios de la UVG provenientes de la cosecha 2019-2020.

MATERIALES Y MÉTODOS

(Primera Parte)

Muestras del aceite volátil del cardamomo

Las muestras de aceite analizadas fueron obtenidas por destilación por arrastre de vapor en dos extracciones consecutivas provenientes de diez zonas productoras. Fueron procesadas por una empresa comercial y se listan e identifican en el cuadro 2.

Separación e identificación de los compuestos del aceite

Se colocó 1.5 ml de cada muestra en viales para cromatografía color ámbar, los cuales se llevaron al auto-muestreador del equipo. Se trabajó con un cromatógrafo de gases marca Agilent modelo 6850 acoplado a un detector de masas de la misma marca modelo 5975 utilizando una columna Agilent, capilar de polietilenglicol, DB-WAX, de 60 metros.

Método cromatográfico

Las condiciones para la obtención del cromatograma que se utilizaron fueron, temperatura inicial del horno 60°C por 2 minutos, rampa a 3°C/min hasta 235°C por 20 minutos. El inyector se trabajó sin división de flujo a una temperatura de 250°C. La temperatura de la interface se mantuvo en 280°C. Se utilizó Helio como gas acarreador.

Los resultados obtenidos se integraron utilizando el software ChemStation y se analizaron comparando con datos de la base de datos NIST, asociada al equipo.

Análisis de los resultados experimentales

Se emplearon dos procedimientos del análisis de variables múltiples para identificar grupos diferentes en las diez regiones. El primero fue el del árbol de grupos por jerarquía, realizado con Systat 11, el segundo, el de componentes principales, empleando MVSP. Se trabajaron los datos experimentales de las dos extracciones por separado. La información se arregló en una matriz cuyas filas eran las diez regiones productoras y las columnas las concentraciones de

Cuadro 2. Zonas productoras.

Región	Localización geográfica
I	Ixcán, Quiché
II	Chajul y Nebaj, Quiché
III	Cobán, Alta Verapaz
IV	Uspantán y Chicamán, Quiché
V	Chisec, Alta Verapaz
VI	San Pedro Carchá, Alta Verapaz
VII	Chahal y Fray Bartolomé de las Casas, Alta Verapaz
VIII	Lanquín y Cahabón, Alta Verapaz
IX	Tamahú, Tukurú y Senahú, Alta Verapaz
X	Panzós y Santa Catalina La Tinta, Alta Verapaz

los compuestos cuantificados. Los datos numéricos de la matriz se normalizaron con el objetivo de evitar que la variancia encontrada estuviera influenciada por las cifras más altas. La normalización consistió en emplear como base común el valor numérico más bajo de cada columna.

Los compuestos identificados se arreglaron en cinco categorías: la concentración del 1,8-cineol, la concentración del acetato de terpenilo, la suma de las concentraciones de los mono-terpenos, la suma de las concentraciones de los terpenos oxigenados, y la suma de las concentraciones de los terpenos esterificados. El arreglo se ilustra en el cuadro 3.

Luego se realizó un análisis exploratorio de los datos experimentales con el objetivo de indagar sobre las posibles diferencias entre el aceite volátil obtenido en las dos extracciones consecutivas y entre las regiones, enfatizando la identificación de los compuestos causantes de tales diferencias. En este análisis se emplearon *Stata 9* y *Prism*.

Cuadro 3. Arreglo de los dieciocho (18) compuestos identificados. Los componentes mayoritarios, 6 mono-terpenos, 8 terpenos oxigenados, y dos terpenos esterificados

Categoría	Compuesto	Cantidad
Mayoritarios	1,8 Cineol	1
	Acetato de terpenilo	1
Mono-terpenos	α -Pinoeno	6
	β -Pinoeno	
	α -Sabineno	
	β -Mirceno	
	α -Terpineno	
	Limoneno	
Terpenos oxigenados	Linalool	8
	Terpineol	
	4-Terpineol	
	α -Terpineol	
	trans-Geraniol	
	beta-Nerolidol	
	2-Nerolidol	
	Eugenol	
Terpenos esterificados	Acetato de linalilo	2
	Acetato de geraniilo	

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las dos variables del diseño experimental fueron: a) la extracción (primera y segunda) y b) la región productora (diez regiones) Por lo tanto se generaron 20 cromatogramas con la composición de 18 compuestos diferentes, para un total de 360 datos experimentales.

Resultados analíticos

Los resultados obtenidos se encuentran en los cuadros 4-7 en donde se listan de acuerdo al tiempo de retención (min) los 18 compuestos identificados (expresados como % del área del cromatograma) para las dos extracciones y las 10 regiones.

Cuadro 4. Componentes del aceite volátil del cardamomo, primera extracción, regiones I-V (ND: no se detectó en suficiente proporción).

Componente (tiempo de retención (min))	Región I	Región II	Región III	Región IV	Región V
	%				
α -Pino (10.3219)	1.0461	1.4244	1.0235	1.1700	1.0909
β -Pino (12.9146)	1.6197	0.4213	0.23	0.2800	1.2062
α -Sabineno (13.2467)	3.0191	4.2836	3.0427	2.8209	3.1103
β -Mirceno (14.5520)	ND	1.8487	1.5500	1.3800	N D
α -Terpineno (15.4209)	0.1002	ND	0.1400	ND	ND
Limoneno (16.2260)	1.6983	2.5633	ND	ND	1.4716
1,8-Cineol (16.8083)	41.6805	34.5832	38.4524	47.8267	27.0699
Linalool (29.7628)	1.7985	4.3069	2.7912	1.6793	1.7427
β -Terpineol (30.1949)	0.0998	0.7514	0.3718	0.1000	0.2205
Acetato de linalilo (30.4542)	4.0981	8.0110	4.2773	3.9399	3.8165
4-Terpineol (32.4283)	0.5626	1.2093	0.8772	0.6125	0.5329
α -Terpineol (35.9535)	0.8733	1.8643	1.5610	0.7740	0.7626
Acetato de terpenilo (36.4220)	40.0248	32.2695	42.0804	35.9727	24.9740
Acetato de geranilo (38.0778)	0.5953	0.6436	0.4876	0.3998	0.3804
Trans-Geranilol (41.3163)	0.6359	1.1910	0.5840	0.5076	0.4745
β -Nerolidol (47.9255)	0.3605	0.6319	0.4413	0.2759	0.2717
2-Nerolidol (47.9344)	ND	ND	ND	ND	ND
Eugenol (51.7600)	0.0282	0.0230	0.0539	0.3285	0.0846

Cuadro 5. Componentes del aceite volátil del cardamomo, primera extracción, regiones VI-X (ND: no se detectó en suficiente proporción).

Componente (tiempo de retención (min))	Región VI	Región VII	Región VIII	Región IX	Región X
	%				
α -Pino (10.3219)	1.5126	0.3658	0.3187	0.3690	0.3923
β -Pino (12.9146)	2.5845	0.6797	0.1113	0.3700	0.4998
α -Sabineno (13.2467)	4.1794	1.1232	1.3774	1.0783	1.0473
β -Mirceño (14.5520)	ND	ND	ND	ND	ND
α -Terpineno (15.4209)	0.3172	0.1217	0.1100	0.1700	0.1800
Limoneno (16.2260)	2.3842	1.1315	1.2326	0.8030	0.8368
1,8-Cineol (16.8083)	35.8836	33.6097	32.0885	35.1798	36.0738
Linalool (29.7628)	4.9049	5.2017	5.5721	5.2355	5.3254
β -Terpineol (30.1949)	0.1438	0.5032	0.5080	0.3724	0.3733
Acetato de linalilo (30.4542)	4.7840	5.1055	6.9856	5.1558	4.9956
4-Terpineol (32.4283)	1.1284	1.3965	1.0990	1.6690	1.6978
α -Terpineol (35.9535)	1.9948	2.8975	2.1393	3.7839	3.8612
Acetato de terpenilo (36.4220)	36.7979	42.9876	43.1183	40.8657	39.903
Acetato de geranilo (38.0778)	0.3700	0.5281	0.6162	ND	0.3300
Trans-Geraniol (41.3163)	0.6361	1.1085	0.9108	0.6732	0.6793
β -Nerolidol (47.9255)	ND	ND	ND	0.3060	0.2800
2-Nerolidol (47.9344)	ND	0.4550	0.3992	ND	ND
Eugenol (51.7600)	0.0413	0.0615	ND	0.0300	0.0274

Cuadro 6. Componentes del aceite volátil del cardamomo, segunda extracción, regiones I-V (ND: no se detectó en suficiente proporción).

Componente (tiempo de retención (min))	Región I	Región II	Región III	Región IV	Región V
	%				
α -Pino (10.3219)	1.2003	2.6384	0.4900	0.6676	0.6673
β -Pino (12.9146)	1.2582	0.5644	0.1313	ND	1.4523
α -Sabineno (13.2467)	2.5335	6.0641	2.4933	1.4287	0.7612
β -Mirreno (14.5520)	ND	2.5123	ND	ND	ND
α -Terpeno (15.4209)	ND	0.2628	0.1200	ND	0.3900
Limoneno (16.2260)	1.5002	ND	ND	ND	2.7489
1,8-Cineol (16.8083)	43.3089	31.0895	30.4800	32.8901	23.9139
Linalool (29.7628)	1.4940	5.5724	2.7154	2.3381	5.4100
β -Terpineol (30.1949)	0.2227	1.1463	0.2291	0.2121	0.0285
Acetato de linalilo (30.4542)	3.2813	8.7254	4.2787	5.1727	1.1148
4-Terpineol (32.4283)	0.5323	2.0379	1.0113	1.0378	1.8283
α -Terpineol (35.9535)	0.7500	3.0444	1.4407	1.4887	4.0414
Acetato de terpenilo (36.4220)	41.2013	27.2532	52.2085	46.6264	50.5517
Acetato de geranilo (38.0778)	0.5098	0.7983	0.7001	0.8895	1.1358
Trans-Geranilo (41.3163)	0.5192	1.8238	0.8062	1.3885	1.1358
β -Nerolidol (47.9255)	0.3364	1.0988	0.5954	ND	0.7745
2-Nerolidol (47.9344)	ND	ND	ND	1.0150	ND
Eugenol (51.7600)	ND	0.0463	0.2384	1.3224	ND

Cuadro 7. Componentes del aceite volátil del cardamomo, segunda extracción, regiones VI-X (ND: no se detectó en suficiente proporción. La línea indica que en la muestra de la región VII no se detectaron compuestos).

Componente (tiempo de retención (min))	Región VI	Región VII	Región VIII	Región IX	Región X
	%				
α -Pino (10.3219)	1.1109	-	0.2676	0.5494	0.5216
β -Pino (12.9146)	2.0253	-	0.0783	ND	0.8359
α -Sabineno (13.2467)	2.9154	-	0.9277	1.0929	1.1134
β -Mirreno (14.5520)	ND	-	0.6186	0.7900	ND
α -Terpeno (15.4209)	ND	-	ND	ND	0.1954
Limoneno (16.2260)	2.0212	-	0.9925	1.3450	1.2403
1,8-Cineol (16.8083)	31.2089	-	29.6330	27.9147	30.1261
Linalool (29.7628)	4.3517	-	5.4883	4.7342	4.8521
β -Terpineol (30.1949)	0.1248	-	0.2342	0.3337	0.1154
Acetato de linalilo (30.4542)	4.5504	-	5.5151	4.177	3.9993
4-Terpineol (32.4283)	1.0867	-	1.5674	1.9867	1.9171
α -Terpineol (35.9535)	2.2889	-	2.5173	4.5043	4.3162
Acetato de terpenilo (36.4220)	43.6731	-	47.0239	45.1387	43.7105
Acetato de geranilo (38.0778)	0.6318	-	0.7277	0.7087	ND
Trans-Geraniol (41.3163)	0.9418	-	1.2511	1.2102	1.1675
β -Nerolidol (47.9255)	0.3954	-	ND	0.6234	0.5712
2-Nerolidol (47.9344)	ND	-	0.4888	ND	ND
Eugenol (51.7600)	ND	-	0.1744	0.2363	0.1795

Resultados del análisis de variables múltiples

• *Árbol de grupos por jerarquía*

En los cuadros 8 y 10 se presentan los valores de los compuestos mayoritarios y la suma de las tres estructuras químicas diferentes para las diez regiones y la primera y segunda extracción respectivamente.

En los cuadros 9 y 11 se presentan las cifras normalizadas de los valores correspondientes a la primera y segunda extracción. Debe notarse en estos cuadros que los valores normalizados están en la misma dimensión escalar. Además, en cada columna puede observarse la región utilizada como pivote para la normalización, ya que tiene el valor de la unidad.

Los datos normalizados se emplearon en el análisis.

Cuadro 8. Concentraciones de los dos compuestos mayoritarios y la suma de las concentraciones de los mono-terpenos, los terpenos oxigenados y los terpenos esterificados de la primera extracción del aceite volátil del cardamomo de las diez regiones.

Región	Cineol	Acetato de Terpenilo	Mono-terpenos	Terpenos oxigenados	Terpenos esterificados
I	41.68	40.02	7.48	4.36	4.69
II	34.58	32.27	10.54	9.98	8.65
III	38.45	42.08	5.99	6.68	4.76
IV	47.83	35.98	5.65	4.28	4.34
V	27.07	24.97	6.88	4.09	4.20
VI	35.88	36.80	10.98	8.85	5.15
VII	33.61	42.99	3.42	11.62	5.63
VIII	32.09	43.12	3.15	10.63	7.60
IX	35.18	40.87	2.79	12.07	5.16
X	36.07	39.90	2.96	12.24	5.33

Cuadro 9. Matriz normalizada de la primera extracción del aceite volátil del cardamomo de las diez regiones.

Región	Cineol	Acetato de Terpenilo	Mono-terpenos	Terpenos oxigenados	Terpenos esterificados
I	1.54	1.60	2.68	1.07	1.12
II	1.28	1.29	3.78	2.44	2.06
III	1.42	1.68	2.15	1.63	1.14
IV	1.77	1.44	2.03	1.05	1.03
V	1	1	2.47	1	1
VI	1.33	1.47	3.93	2.16	1.23
VII	1.24	1.72	1.23	2.84	1.34
VIII	1.19	1.73	1.13	2.60	1.81
IX	1.30	1.64	1	2.95	1.23
X	1.33	1.60	1.06	2.99	1.27

Cuadro 10. Concentraciones de los dos compuestos mayoritarios y la suma de las concentraciones de los mono-terpenos, los terpenos oxigenados y los terpenos esterificados de la segunda extracción del aceite volátil del cardamomo de las diez regiones.

Región	Cineol	Acetato de Terpenilo	Mono-terpenos	Terpenos oxigenados	Terpenos esterificados
I	43.31	41.20	6.49	3.85	3.79
II	31.09	27.25	12.04	14.77	9.52
III	30.48	52.21	3.23	7.04	4.98
IV	32.89	46.63	2.10	8.80	6.06
V	23.91	50.55	6.02	13.22	2.25
VI	31.21	43.67	8.07	9.19	5.18
VII	29.63	47.02	2.88	11.72	6.24
VIII	27.91	45.14	3.78	13.63	4.89
IX	30.13	43.71	3.91	13.12	4.00
X	43.31	41.20	6.49	3.85	3.79

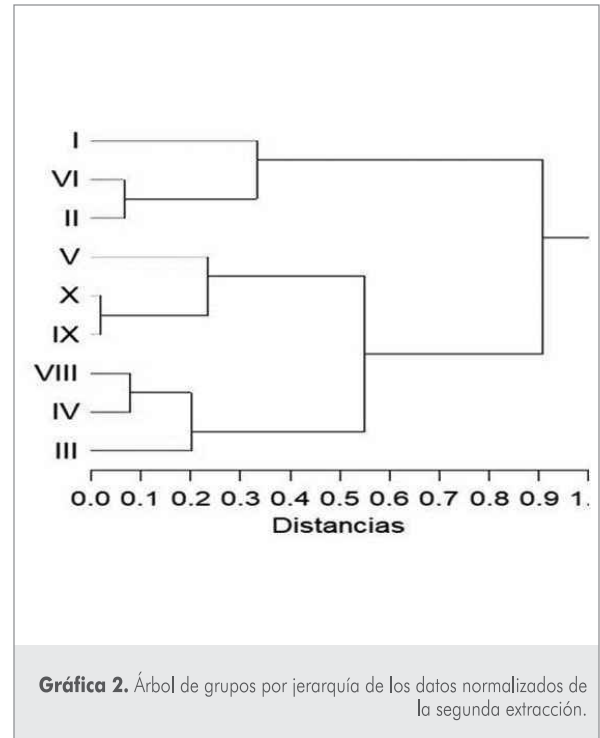
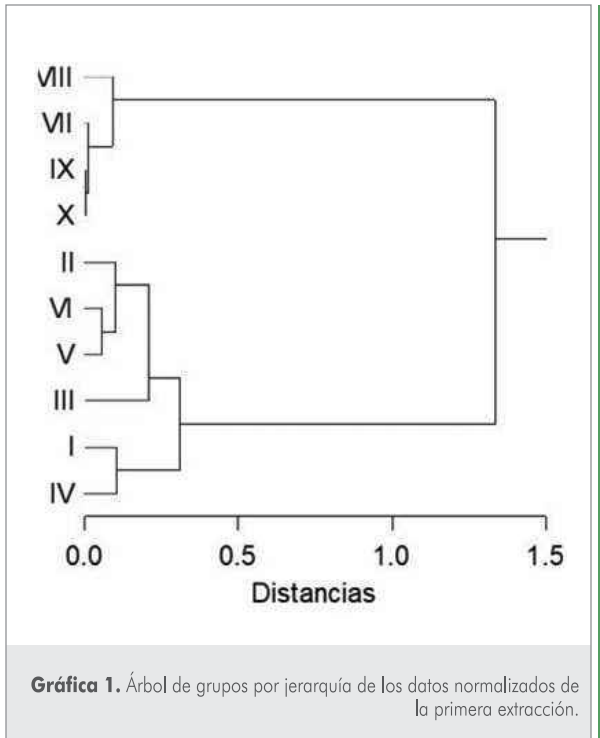
Cuadro 11. Matriz normalizada de la segunda extracción del aceite volátil del cardamomo de las diez regiones.

Región	Cineol	Acetato de Terpenilo	Mono-terpenos	Terpenos oxigenados	Terpenos esterificados
I	1.55	1.51	3.10	1	1.68
II	1.11	1	5.74	3.83	4.23
III	1.09	1.92	1.54	1.83	2.21
IV	1.18	1.71	1	2.28	2.69
V	0.86	1.85	2.87	3.43	1
VI	1.12	1.60	3.85	2.38	2.30
VII	1.06	1.73	1.38	3.04	2.77
VIII	1	1.66	1.80	3.54	2.17
IX	1.08	1.60	1.86	3.40	1.78
X	1.55	1.51	3.10	1	1.68

La gráfica 1 muestra el resultado del análisis para los datos normalizados de la primera extracción. Se seleccionaron distancias promedio y la unión de Pearson, siguiendo las recomendaciones del programa. Se aprecia en la gráfica una separación significativa de dos grupos de regiones: por un lado, de la región I a la VI, por el otro lado, las regiones VII a la X.

La gráfica 2 muestra el resultado del análisis para los datos normalizados de la segunda extracción. En este caso la

separación de los grupos fue menos significativa respecto a la primera extracción, en donde las distancias entre grupos fueron mayores. Sin embargo, de nuevo, pueden observarse dos grupos: Las regiones I, II y VI, y las regiones III, IV, V, VIII, IX, y X. Se recuerda que en la muestra de segunda extracción de la región VII no se detectaron compuestos.



Componentes principales

Para efectuar este análisis se continuó empleando la matriz de datos normalizados con el objetivo de buscar mayor información sobre las posibles diferencias y similitudes del aceite volátil proveniente de las diferentes regiones productoras.

El cuadro 12 presenta las puntuaciones de los dos primeros componentes principales para las diez regiones del estudio obtenidos de los datos experimentales de la primera extracción. La gráfica 3 muestra dichas puntuaciones en un plano con cuatro espacios limitados por dos ejes, el vertical, correspondiente al componente principal 1, y el horizontal, al componente principal 2.

Se observa en el cuadro 12 que el componente principal 1, separa de las demás regiones, las regiones VII a la X con puntuaciones negativas. Estas regiones aparecen en la gráfica 3 en el lado izquierdo del eje vertical del primer componente principal. Dicha separación es causada por el 67.19 % de la variancia de los datos. Luego el eje horizontal del componente principal 2, separa de las demás, las regiones I, III, IV y V, con puntuaciones negativas, colocándolas en la parte inferior derecha del eje horizontal. En total, los dos primeros componentes principales, emplearon cerca del 94 % de la variancia de los datos para lograr las separaciones.

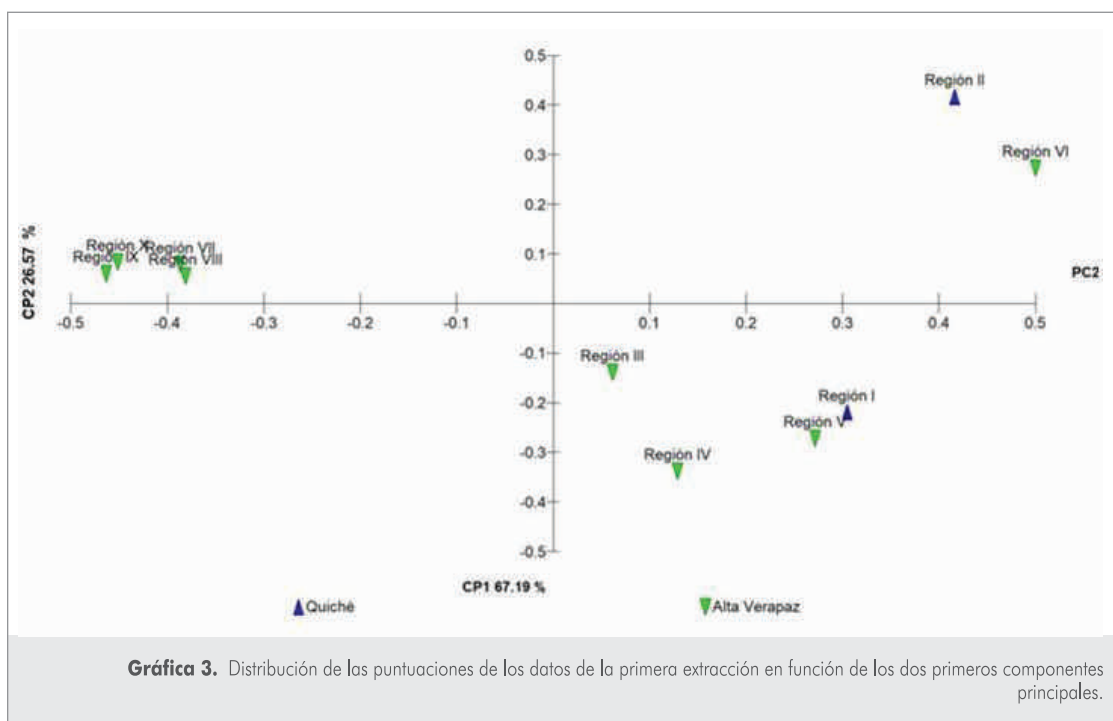
Los resultados de los dos métodos de análisis multi-variable coinciden, lo cual le otorga validez a los resultados. Estos se resumen en la gráfica 4, en donde elipses de diferente color separan a los grupos de regiones con diferente composición del aceite volátil. La separación de grupos diferentes con regiones iguales entre sí, es, entonces: a) grupo de regiones II y VI, b) grupo de regiones I, III, IV y V, y c) grupo de regiones VII, VIII, IX y X.

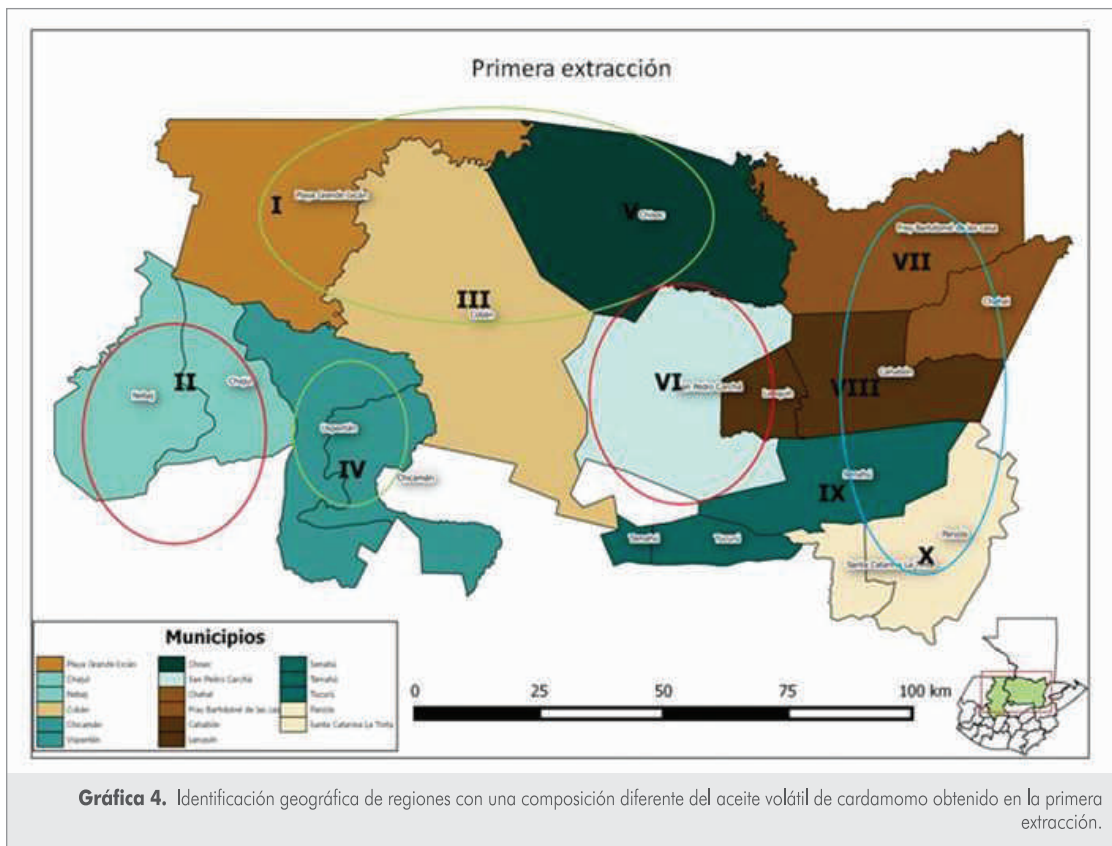
El cuadro 13 presenta las puntuaciones de los dos primeros componentes principales para las diez regiones del estudio obtenidos de los datos experimentales de la segunda extracción. La gráfica 5 muestra dichas puntuaciones en el plano anteriormente descrito.

En este caso, como se anotó en el análisis previo, la separación de regiones diferentes es menos confiable. Puede constatarse en la gráfica 5 que el componente principal 1 diferencia con 68.33 % de la variancia de los datos, y el componente principal 2, con solo el 18.42 %. Por lo tanto, como se ejemplifica en la gráfica 6, se identifican solo dos grupos de regiones diferentes de las demás, el grupo de regiones I y X iguales entre sí, y el grupo de regiones II y VI, iguales entre sí.

Cuadro 12. Puntuaciones de los dos primeros componentes principales obtenidos de la matriz normalizada de los datos de la primera extracción para las diez regiones.

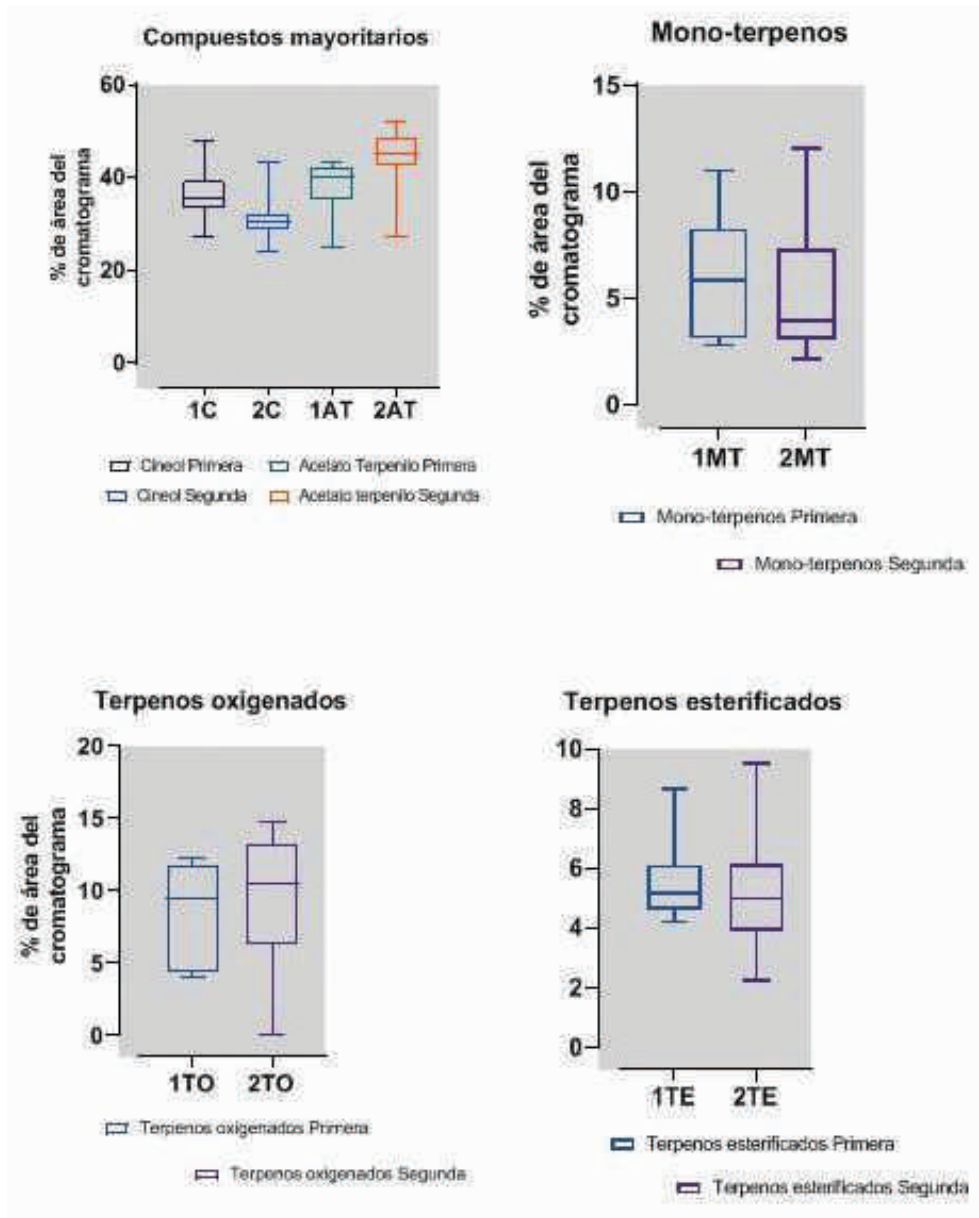
Región	Departamento	Componente Principal 1	Componente Principal 2
I	Quiché	0.312	-0.224
II	Quiché	0.426	0.427
III	Alta Verapaz	0.063	-0.142
IV	Quiché	0.132	-0.346
V	Alta Verapaz	0.278	-0.278
VI	Alta Verapaz	0.512	0.279
VII	Alta Verapaz	-0.396	0.081
VIII	Alta Verapaz	-0.390	0.057
IX	Alta Verapaz	-0.475	0.061
X	Alta Verapaz	-0.462	0.085





Cuadro 13. Puntuaciones de los dos primeros componentes principales obtenidos de la matriz normalizada de los datos de la segunda extracción para las diez regiones.

Región	Departamento	Componente Principal 1	Componente Principal 2
I	Quiché	-0.074	-0.515
II	Quiché	1.373	-0.287
III	Alta Verapaz	-0.252	0.067
IV	Quiché	-0.245	0.300
V	Alta Verapaz	0.129	0.066
VI	Alta Verapaz	0.408	-0.305
VII	Alta Verapaz	-0.026	0.401
VIII	Alta Verapaz	0.059	0.376
IX	Alta Verapaz	-0.005	0.301
X	Alta Verapaz	-1.365	-0.404



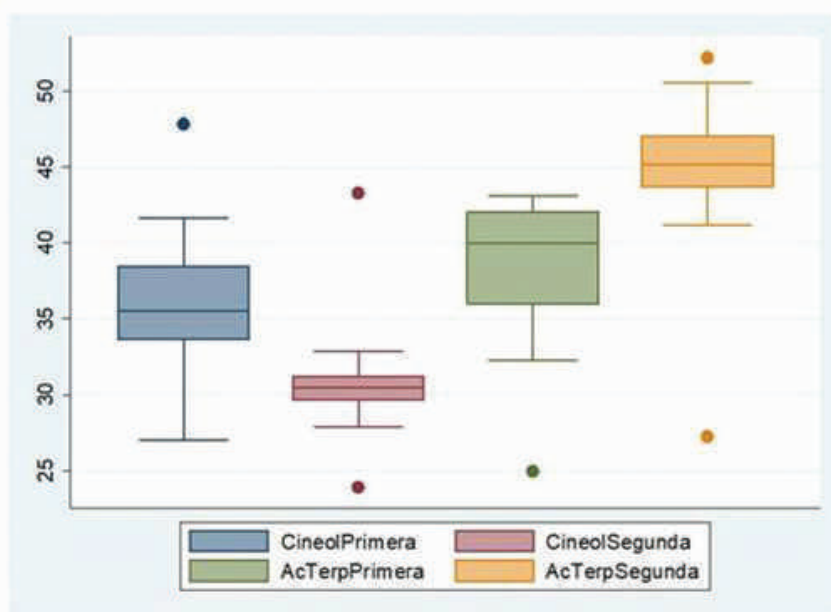
Gráfica 7. Diagramas de caja para las cuatro categorías de compuestos (mayoritarios, mono-terpenos, terpenos oxigenados y terpenos esterificados).

Resultados del análisis exploratorio de datos

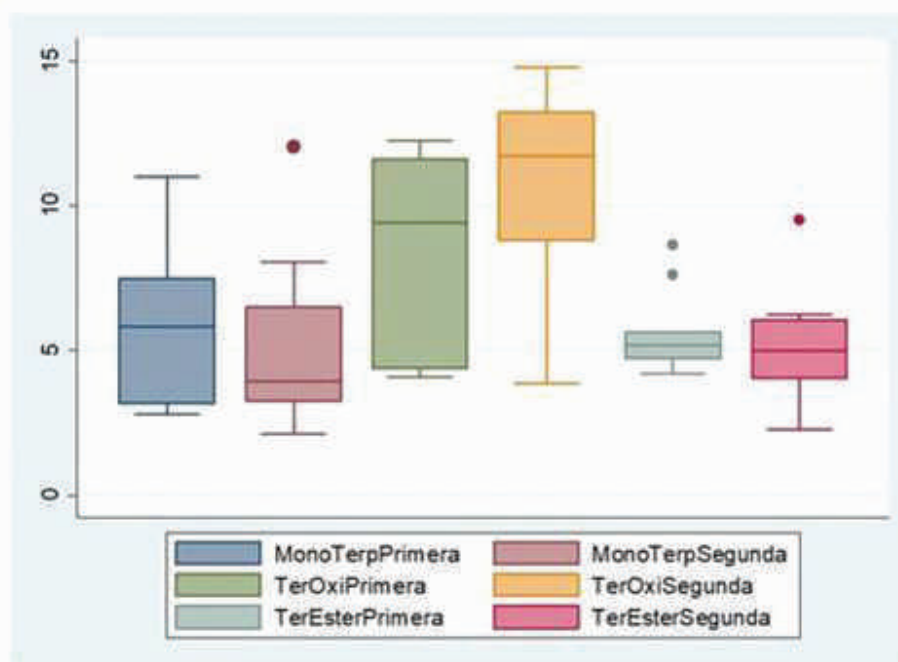
La gráfica 7 muestra la distribución de todos los datos experimentales. Se observa lo siguiente: a) diferencias significativas de la media entre la primera y segunda extracción, en los compuestos mayoritarios y en los mono-terpenos, y

b) presencia de colas en la mayoría de casos, lo cual indica una distribución elongada de los datos experimentales.

Las gráficas 8a y 8b a continuación muestran que en algunas distribuciones de los datos experimentales existían valores atípicos.



Gráfica 8a. Valores experimentales atípicos en los compuestos mayoritarios. 1,8-cineol primera extracción: 47.82 % (región 4); 1,8-cineol segunda extracción: 43.31 % (región 1) y 23.91 % (región 5); acetato de terpenilo primera extracción: 23.91 % (región 5); acetato de terpenilo segunda extracción: 52.21 % (región 3) y 27.25 (región 2).



Gráfica 8b. Valores experimentales atípicos en los compuestos menores. Mono-terpenos segunda extracción: 10.98 % (región 6); terpenos esterificados primera extracción: 8.65 % (región 2) y 7.60 % (región 8); terpenos esterificados segunda extracción: 9.52 % (región 2).

En base a lo anterior los parámetros de la estadística descriptiva se listan en el cuadro 14. En el caso de distribuciones con datos atípicos los parámetros han sido estimados con métodos robustos (*Stata 9*).

Es posible darles significancia estadística a los datos experimentales. Para esto se llevo a cabo una comparación de las diferencias en la composición del aceite entre la primera y segunda extracción, suponiendo que los datos de las diez regiones pudieran ser considerados como réplicas. Primero, se ilustrará en forma gráfica como varió la

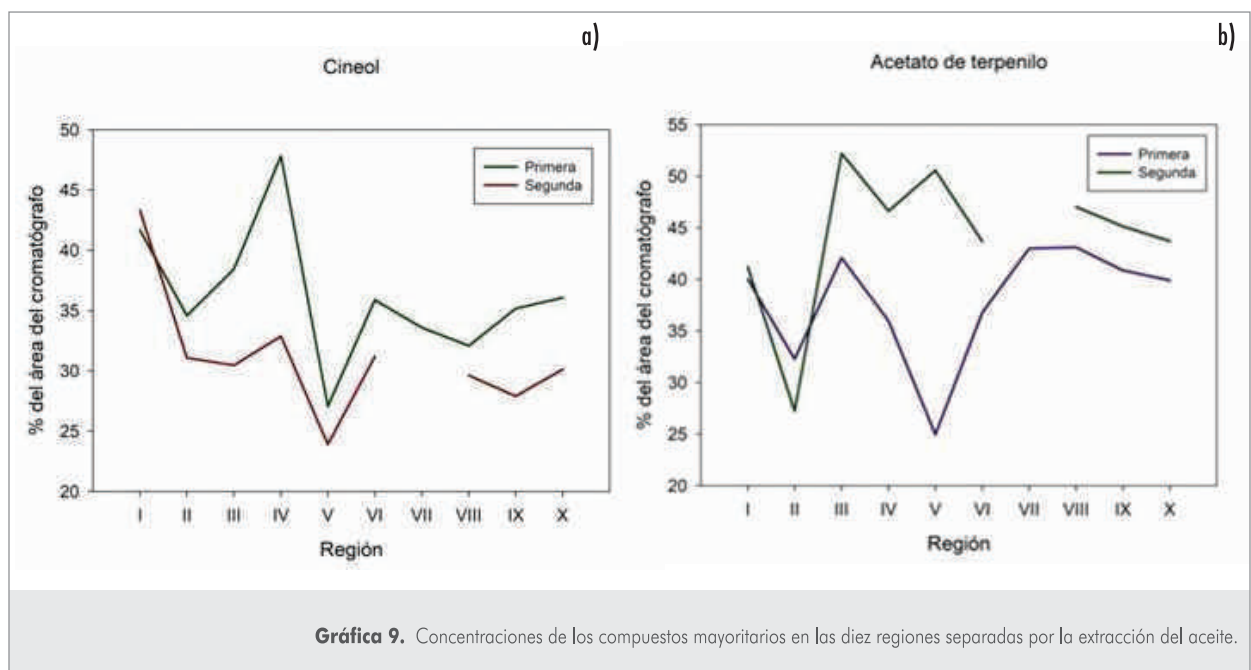
composición de los compuestos mayoritarios en las diez regiones, diferenciando las dos extracciones.

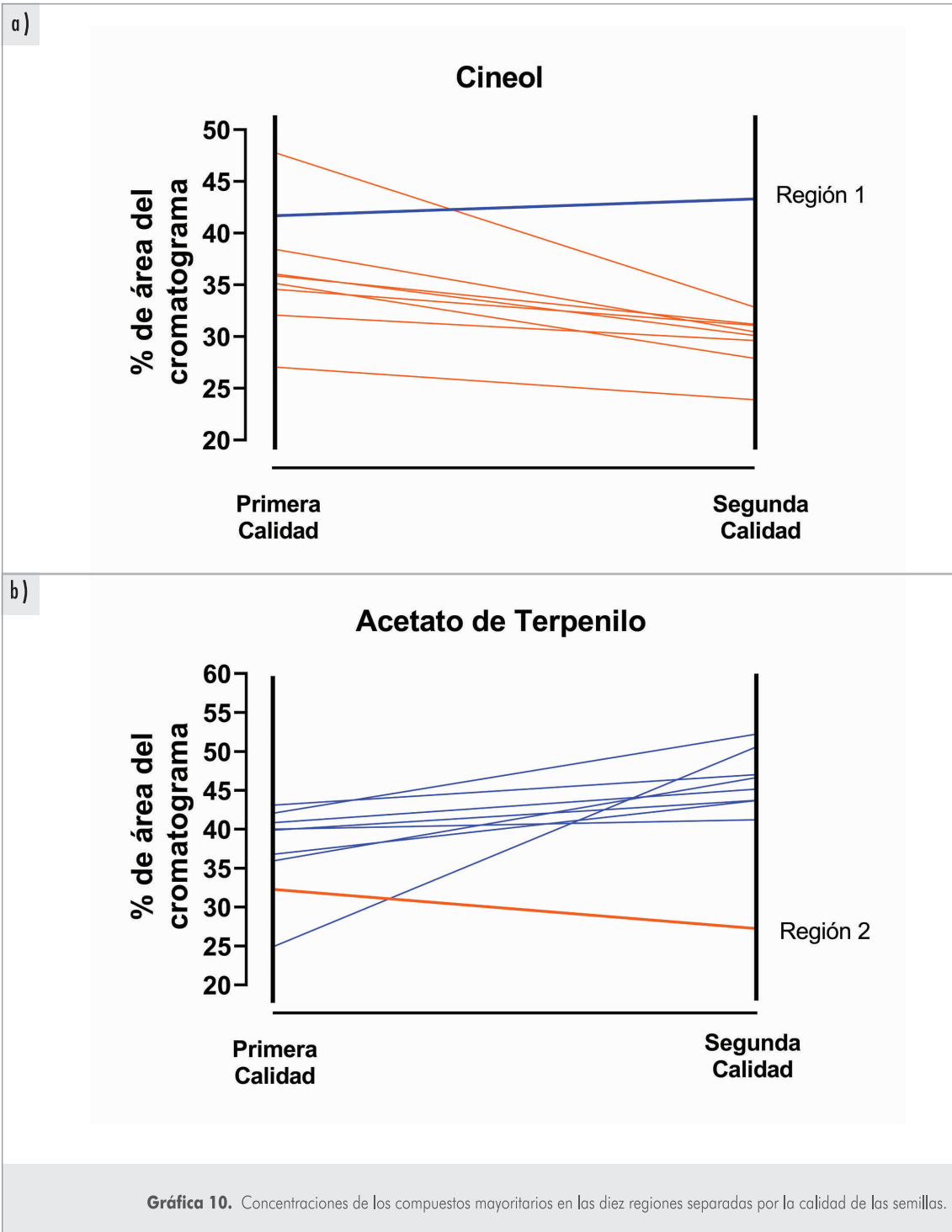
El resultado puede apreciarse en las gráficas 9a y 9b. La concentración del 1,8-cineol fue mayor en el aceite de la primera extracción, con excepción de la primera región. Por otro lado, la concentración del acetato de terpenilo fue menor en el aceite de la primera extracción, con excepción de la segunda región.

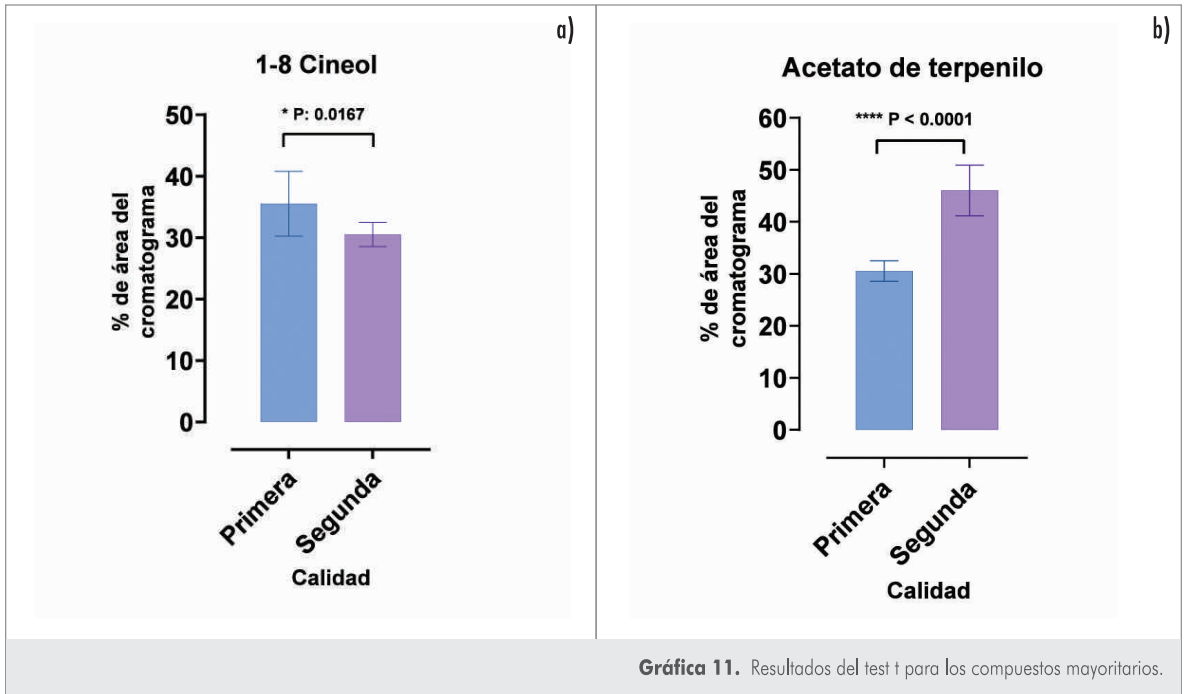
Una forma alterna de visualizar esas tendencias se ilustra en las gráficas 10a y 10b.

Cuadro 14. Parámetros de estadística descriptiva.

Compuesto	Extracción	Promedio	Desviación estándar	Notas
1,8 Cineol	Primera	35.52	5.28	Estimaciones robustas
1,8 Cineol	Segunda	30.51	1.98	Estimaciones robustas
Acetato de terpenilo	Primera	38.87	5.15	Estimaciones robustas
Acetato de terpenilo	Segunda	46.02	4.89	Estimaciones robustas
Mono-terpenos	Primera	5.98	3.04	
Mono-terpenos	Segunda	4.99	3.18	Estimaciones robustas
Terpenos oxigenados	Primera	8.48	3.35	
Terpenos oxigenados	Segunda	10.55	3.79	
Terpenos esterificados	Primera	4.95	0.73	Estimaciones robustas
Terpenos esterificados	Segunda	4.99	1.89	Estimaciones robustas





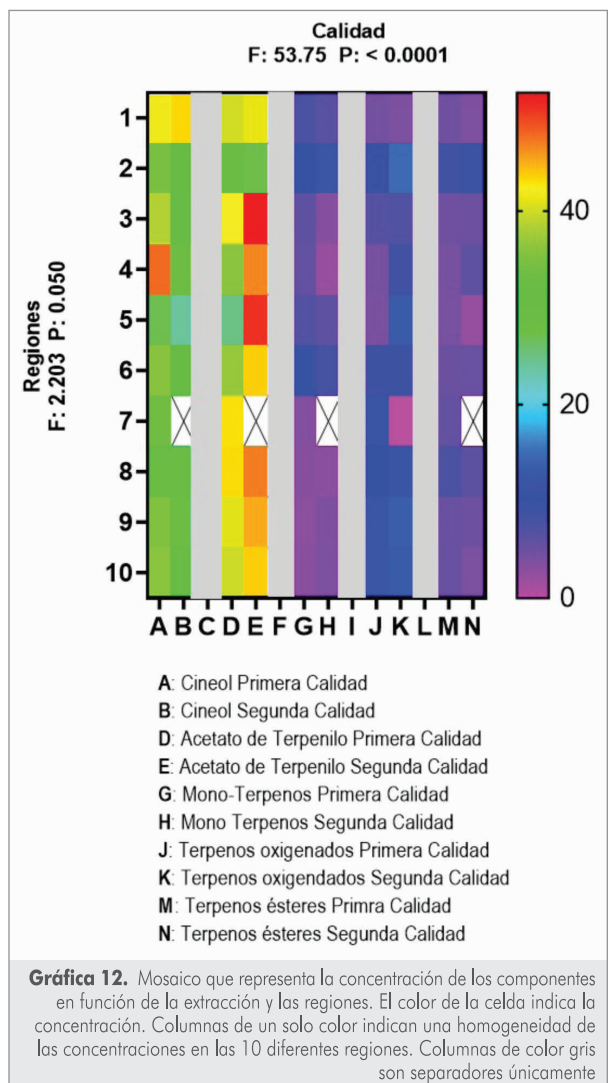


Se esperaba que un test estadístico en donde se ha observado que tanto el promedio, como las mediciones individuales de las diferentes zonas, son diferentes entre la primera y la segunda extracción, de respuesta a la pregunta, si tal diferencia se debe al azar o realmente es real.

El resultado de aplicar el test t con la corrección de Welch para muestras no apareadas se observa en las gráficas 11a y 11b. Puede apreciarse que la diferencia es significativa y por lo tanto puede considerarse como real. Se concluye que, si el muestreo se repitiese, bajo idénticas condiciones, se tiene una probabilidad del 98 % en el caso del 1,8-cineol, y de 99.99 % en el caso del acetato de terpenilo, de obtener el mismo resultado.

Al aplicar el mismo test con los mono-terpenos, los terpenos oxigenados y los terpenos esterificados, se obtuvo que las diferencias en el promedio no eran significativas.

Ahora bien, también es posible efectuar un análisis de variancia doble para contrastar diferencias en el promedio de la composición de los compuestos en relación con la extracción y la región. El resultado de dicho análisis indicó que en ambos casos la diferencia era significativa. La información obtenida se ilustra en la gráfica 12.



Discusión de resultados

Al comparar la lista de componentes del aceite volátil del cardamomo reportada por Nair (2006) (ver cuadro 1) con la correspondiente lista de componentes identificados en este estudio (ver cuadros 4-7) resulta que faltaron los componentes siguientes: felandreno, cimeno, terpinoleno, terpinen-4-ol, citronelol, nerol, y metil eugenol. Es posible que dichos compuestos en la separación analítica obtenida hayan estado sobrepuestos con otros compuestos similares en su estructura química. Por ejemplo, en las muestras fue común identificar al trans-geraniol, por otro lado, el citronelol que no fue identificado, es químicamente un dihidro-geraniol, el cual, pudo haber estar incluido con el trans-geraniol identificado. Creemos que la omisión de dichos compuestos tiene un efecto despreciable en el resultado final, puesto que se trabajó con la sumatoria de las concentraciones de diferentes estructuras químicas.

La identificación de regiones en los departamentos de Quiché y Alta Verapaz con diferencias en la composición del aceite volátil fue detectada por las dos metodologías del análisis de variables múltiples empleadas. Lo anterior fue concluyente para los datos de la primera extracción, sin embargo, la certeza del resultado disminuyó para los datos de la segunda extracción. No hubo separación de regiones por departamentos. Por ejemplo, las regiones II (Quiché) y VI (Alta Verapaz) mostraron una composición del aceite volátil similar. Igualmente, el aceite volátil de las regiones I y IV (Quiché) estuvo en el grupo de las regiones III, y V (Alta Verapaz).

La grafica 13 muestra las concentraciones originales de los compuestos mayoritarios, los mono-terpenos, los terpenos oxigenados y los terpenos esterificados en los diferentes grupos. Se observa lo siguiente: a) el aceite volátil del grupo de las regiones II y VI tuvo menos componentes mayoritarios, 1,8-cineol y acetato de terpenilo, en relación al contenido de los otros dos grupos, b) por el contrario, en dicho grupo se detectó una mayor cantidad de mono-terpenos, y c) el aceite volátil del grupo de las regiones VII, VIII, IX y X, las regiones más occidentales de Alta Verapaz, mostró una mayor cantidad relativa de terpenos oxigenados.

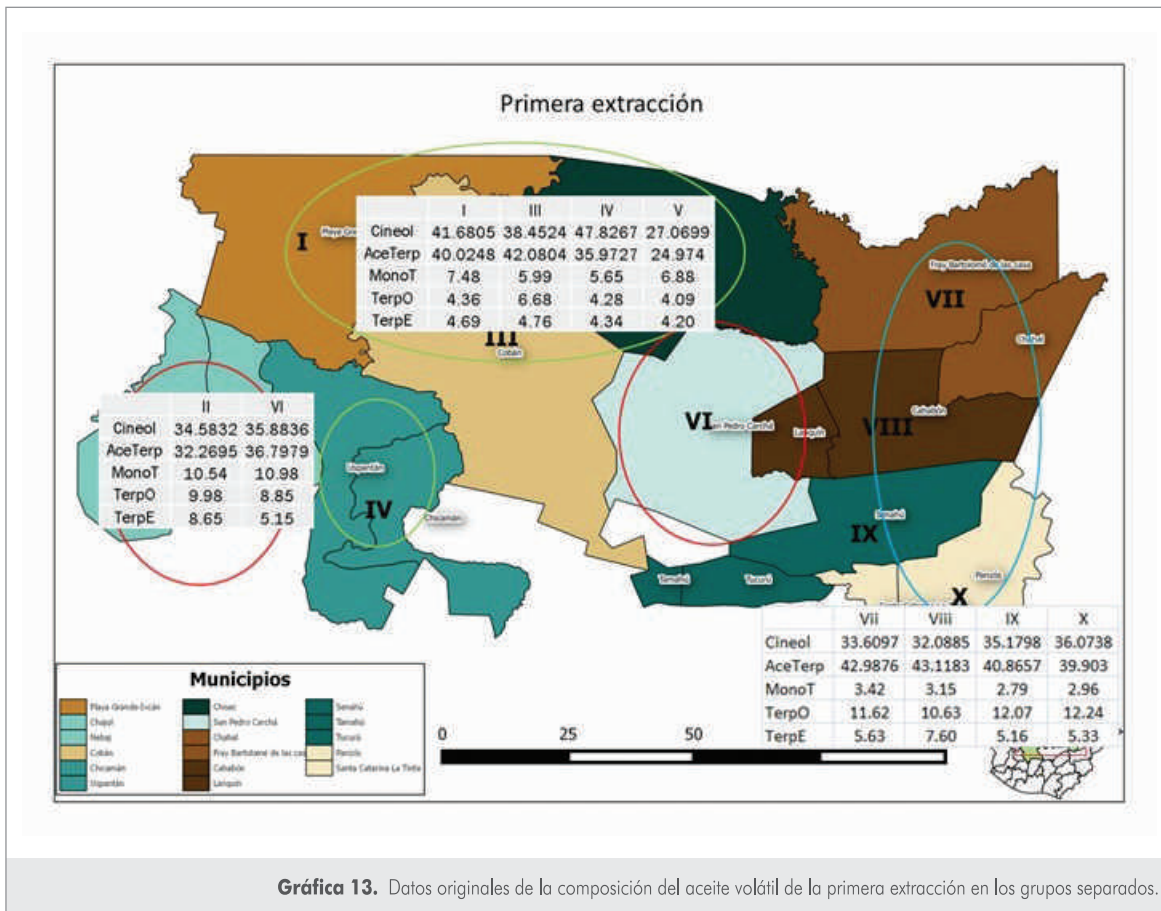
Esto lleva a la pregunta, ¿cuál es el aceite volátil de mejor calidad? De acuerdo con Mani et al. (2017) el 1,8-cineol y el acetato de terpenilo no solo son los componentes mayoritarios, sino los que le imparten las características organolépticas únicas del cardamomo. Mayor proporción de estas en el aceite volátil indicaría, entonces, una mejor calidad. De hecho, Kizhakkahil et al. (2006) concluyó que el aceite volátil de India era de mejor calidad que aquel de Sri Lanka y Guatemala, por poseer mayor proporción de estos componentes mayoritarios. Sin embargo, como ha indicado Leela et al. (2008) los dos componentes mayoritarios

le imparten al aceite volátil diferentes características. Por un lado, el acetato de terpenilo, y otros terpenos esterificados originan aromas dulces y herbáceos, por el otro lado, el 1,8-cineol, causa una aroma alcanforada áspera. Es por eso que Morsy et al. (2015) sugerían que una mayor calidad del aceite volátil se definía por un cociente de las concentraciones de acetato de terpenilo sobre el 1,8-cineol, arriba de la unidad, característica que obtuvieron al acoplar el ultrasonido a la destilación con vapor para la obtención del aceite. Sin embargo, no existe consenso sobre esto todavía. Baby y Ranganathan (2016) utilizaron un tratamiento enzimático de las semillas previa a la destilación con vapor, obteniendo un aceite volátil rico en 1,8-cineol, indicando que el mismo poseía un mejor perfil aromático. Lo mismo informa Lucchesi et al. (2006) quienes acoplaron el calentamiento con microondas a la destilación con vapor.

En base a lo anterior podría decirse que el aceite volátil de las regiones más orientales de Alta Verapaz, o sea el grupo de las regiones VII, VIII, IX y X, es el que presenta una mayor calidad de acuerdo con los criterios de una más alta concentración de los dos compuestos mayoritarios, y un mayor porcentaje de acetato de terpenilo, tal como se muestra en el cuadro 15. Sin embargo, se está asumiendo que, para todas las regiones, las semillas fueron cosechadas en su punto óptimo de madurez, el cual, según Leela et al. (2008) es después de 110 a 124 días de la floración; además, de que el periodo entre cosecha y procesamiento, y las condiciones de operación de la destilación con vapor, fueron similares.

El proceso industrial de la destilación por vapor permite volatilizar a los componentes de los aceites volátiles de materiales vegetales a temperaturas menores a los puntos de ebullición de los componentes. De esta manera se evita la posible degradación térmica de algunos de ellos. Por ejemplo, Mariangu et al. (2004) indican que a temperaturas entre 80-90 °C, el acetato de terpenilo se degrada por esta causa a limoneno, terpenilo y terpinolelo. Las primeras fracciones del aceite condensado serán más ricas en los compuestos de una mayor presión de vapor. A una temperatura estándar el 1,8-cineol tiene un presión de vapor de 252 Pascales, 42 veces la del acetato de terpenilo, que es de 6 Pascales. No es de extrañar, entonces que, la concentración de 1,8-Cineol haya disminuido en la segunda extracción; y por el contrario, que el acetato de terpenilo haya aumentado en la segunda extracción.

Se mencionó en la introducción que en cuatro referencias se encontraron resultados del análisis del aceite volátil de semillas de cardamomo provenientes de Guatemala (Kizhakkayil et al. 2006; Thomas et al. 2006, Gochev et al. (2012), Morsy (2015). En la grafica 14 se ilustra la separación lograda empleando la metodología del árbol de grupos por jerarquía de tres muestras de Guatemala (Kizhakkayil et



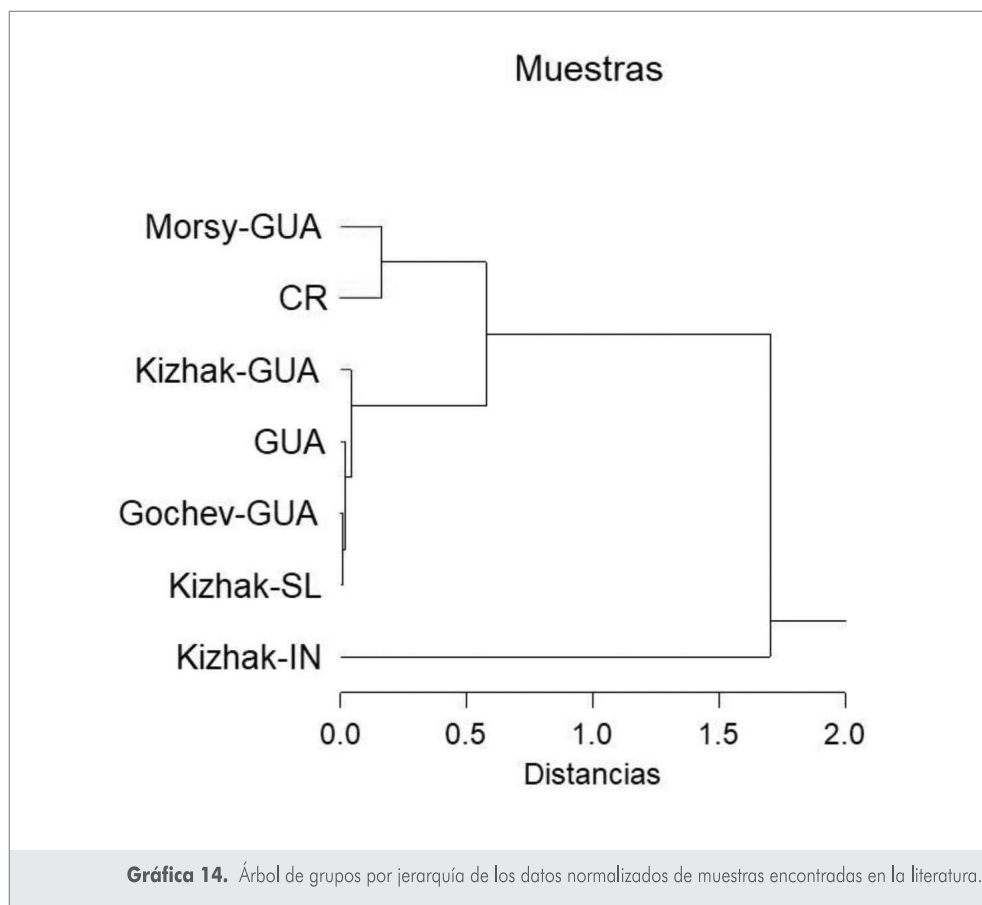
Gráfica 13. Datos originales de la composición del aceite volátil de la primera extracción en los grupos separados.

Cuadro 15. Promedio de las concentraciones de acetato de terpenilo y de 1,8-cineol y el valor del cociente entre ellas para los tres diferentes grupos de regiones diferentes entre sí.

Regiones	Acetato de terpenilo (A)	Cineol (B)	Cociente (A)/(B)
VII, VIII, IX y X	41.72	34.24	1.22
II, VI	35.23	34.53	0.98
I, III, IV, V	38.76	35.76	0.92

al.2006; Gochev et al. 2012, Morsy 2015), una de Costa Rica (Noleau y Toulemonde (1987) y una muestra representativa de este estudio compuesta por el promedio de concentraciones de los datos de la primera extracción. Se observa que la muestra de India (Kizhakkayil et al.2006) es

diferente al resto. Se observa que la muestra de los promedios de las concentraciones de este estudio queda incorporada con muestras de semillas de Guatemala previamente analizadas por otros autores, y con un grado de similitud con la muestra de Costa Rica.



CONCLUSIONES

- Los dos métodos de análisis de variables múltiples lograron la separación de tres grupos de regiones con diferente composición de su aceite volátil para los datos de la primera extracción.
- Los tres grupos diferentes fueron: a) grupo de regiones II y VI, b) grupo de regiones I, III, IV y V, y c) grupo de regiones VI, VIII, IX y X.
- El grupo de las regiones VII, VIII, IX y X, las regiones más orientales del departamento de Alta Verapaz, fue el que presentó un aceite volátil de mayor calidad de acuerdo con los criterios de: a) una mayor concentración de los dos compuestos mayoritarios, y b) un mayor porcentaje de acetato de terpenilo.
- La separación de grupos diferentes con los datos de la segunda extracción resultó estadísticamente menos confiable.
- La concentración de 1,8-cineol disminuyó significativamente en la segunda extracción; y por el contrario, el acetato de terpenilo aumentó, también en forma significativa, en la segunda extracción.
- Los datos de la composición química del aceite volátil obtenidos en este estudio mostraron similitud con datos de semillas de cardamomo provenientes de Guatemala realizados en el pasado por diferentes autores e informadas en la literatura científica.

MATERIALES Y MÉTODOS

(Segunda Parte)

Muestras de semillas

Las muestras de cardamomo, se compraron a productores de cardamomo de las diferentes regiones. Aproximadamente 4.5 kg de semillas recolectadas en 10 a 15 parcelas. Se transportaron al laboratorio y se deshidrataron en un secador de bandejas de laboratorio por 48 h empleando una temperatura de 50 °C. La humedad inicial de la semilla fue de 85%. La humedad final en el secador estuvo entre 8-10 %. La carga en el secador por lote estuvo entre 1,000 y 1,600 g.

Las semillas secas se molieron en una batidora y se colocaron, envueltas en una bolsa de manta, en un recipiente de acero inoxidable. Se hizo pasar vapor de agua introduciéndolo por

la parte inferior durante 150 min. El vapor de salida se condensó y el aceite se separó por decantación.

Método cromatográfico

Se procedió tal como se describió en la primera parte.

• Análisis de variables múltiples

Hubo varias modificaciones en este análisis con respecto al protocolo seguido en la primera parte. Primero, se trabajó con la lista completa de los 29 compuestos, y no se clasificaron por grupos químicos. Segundo, la matriz de datos se normalizó aplicando la transformación del seno hiperbólico a los datos, de manera que todos estuvieran en la misma cifra escalar. Todo lo demás fue igual.

RESULTADOS

Aceite volátil extraído

El rendimiento de aceite de las semillas se encuentra listado en el cuadro 16 para las nueve regiones.

Composición del aceite volátil

Los 29 compuestos identificados se muestran en el cuadro 17. Los compuestos están listados agrupados en el siguiente orden: a) monoterpenos, b) terpenos oxigenados, c) terpenos esterificados, d) sesquiterpenos y e) otros. La primera columna corresponde al tiempo de retención en la columna de cromatografía. La segunda y tercera columna identifica al grupo y al compuesto, respectivamente. En las dos últimas columnas se listan el promedio de la concentración del compuesto en el aceite volátil de las 10 zonas y la desviación estándar correspondiente.

Las concentraciones de los compuestos en las diferentes zonas se muestran en el cuadro 18. La última fila lista el % del área del cromatograma correspondiente a los 29 compuestos identificados.

Cuadro 16. Rendimiento de aceite volátil de las semillas de cardamomo en base seca.

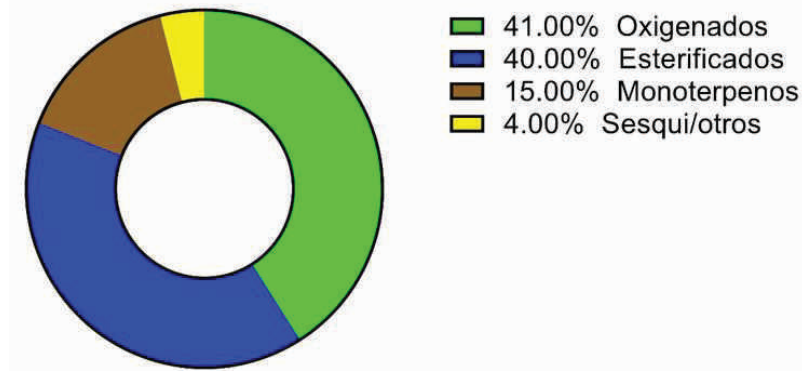
Región	Extracción	Porcentaje de rendimiento en base seca (g de aceite/100 g semilla)
I	1	1.6
	2	1.7
II	1	2.4
	2	2.1
III	1	2.8
	2	3.1
IV	1	2.2
	2	2.6
V	1	
	2	
VI	1	3.0
	2	3.6
VII	1	2.3
	2	2.5
VIII	1	1.8
	2	1.9
IX	1	2.1
	2	2.8

Cuadro 17. Compuestos identificados en el aceite volátil de las 9 zonas productoras muestreadas: concentración promedio y desviación estándar.

Tiempo de retención min	Grupo	Compuesto	Promedio	Desviación estándar
1	Monoterpenos	α -Pino	2.83	0.55
2		β -Pino	0.51	0.08
3		(-)- α -Tujeno	5.35	0.65
4		β -Mirreno	2.49	0.43
5		α -Terpineno	0.24	0.07
6		Limoneno	2.65	0.92
8		β -Ocimeno	0.03	0.01
9		p-Cimeno	0.15	0.07
10		α -Terpinoleno	0.26	0.05
12		3-Careno	0.45	0.14
16		Pseudolimoneno	0.25	0.07
24		2-Careno	0.07	0.02
7	Terpenos oxigenados	1,8-Cineol	27.06	2.59
11		cis- β -Terpineol	0.63	0.08
13		Linalool	6.65	1.25
15		Terpinen-4-ol	1.84	0.29
17		trans-2,7-Dimetil-4,6-l octadien-2-o	0.14	0.03
18		β -Citral	0.45	0.11
19		α -Terpineol	2.76	0.55
21		α -Citral	0.45	0.08
28		2-Nerolidol	0.98	0.36
14	Terpenos Esterificados	Linalil antranilato	8.21	1.30
20		Terpenil acetato	28.81	1.74
23		Geranil acetato	0.51	0.16
27		Neril formato	1.92	0.88
29		Etil- α -isobutiroil-acetato	0.11	0.03
22	Sesquiterpenos	α -Selineno	0.26	0.08
25		α -Amorfeno	0.09	0.03
26	Otros	2-Metil-6-metileno -2-octeno	0.11	0.03

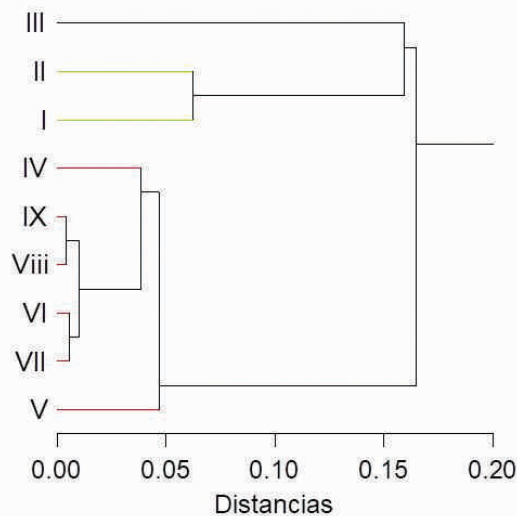
Cuadro 18. Concentraciones de los 29 compuestos en las 9 zonas muestreadas.

Compuesto	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
α -Pinoeno	2.884	2.316	3.268	3.347	3.634	2.413	3.138	1.989	2.508
β -Pinoeno	0.557	0.446	0.548	0.601	0.605	0.433	0.565	0.393	0.448
(-)- α -Tujeno	5.313	4.506	5.724	5.980	6.267	5.229	5.701	4.290	5.146
β -Mirceeno	2.566	2.019	2.700	2.797	3.171	2.295	2.792	1.827	2.218
α -Terpineno	0.323	0.216	0.207	0.205	0.365	0.182	0.228	0.155	0.310
Limoneno	4.071	2.645	3.709	1.230	1.650	2.444	3.297	2.312	2.521
β -Ocimeno	0.020	0.020	0.030	0.034	0.060	0.030	0.030	0.020	0.020
p-Cimeno	0.068	0.121	0.185	0.205	0.064	0.201	0.212	0.221	0.085
α -Terpinoleno	0.284	0.261	0.241	0.264	0.362	0.192	0.236	0.204	0.299
3-Careno	0.561	0.410	0.620	0.557	0.200	0.571	0.400	0.399	0.290
Pseudolimoneno	0.302	0.252	0.246	0.371	0.269	0.173	0.266	0.194	0.145
2-Careno	0.080	0.055	0.089	0.096	0.107	0.042	0.084	0.085	0.036
1,8-Cineol	26.246	27.440	26.836	27.260	28.240	24.746	23.991	25.815	32.991
cis- β -Terpineol	0.678	0.655	0.706	0.661	0.700	0.581	0.652	0.539	0.466
Linalool	5.626	5.493	7.097	5.651	5.334	7.400	6.644	9.041	7.575
Terpinen-4-ol	2.147	1.637	1.851	2.272	1.952	1.538	2.044	1.522	1.555
trans-2,7-Dimetil-4,6-octadien-2-ol	0.161	0.112	0.180	0.176	0.140	0.112	0.165	0.138	0.114
β -Citral	0.506	0.518	0.385	0.659	0.516	0.273	0.416	0.458	0.336
α -Terpineol	2.790	2.212	3.339	3.267	1.633	2.580	3.164	2.912	2.978
α -Citral	0.468	0.517	0.408	0.577	0.518	0.309	0.396	0.466	0.430
2-Neralidol	1.247	0.737	1.090	1.511	0.992	0.745	1.402	0.621	0.462
Linalil antranilato	7.678	8.129	7.409	7.874	8.507	8.763	8.771	10.809	5.950
Terpenil acetato	30.368	29.926	28.728	27.606	24.759	30.262	29.139	29.230	29.287
Geranil acetato	0.798	0.390	0.640	0.464	0.370	0.620	0.553	0.396	0.324
Neril formato	1.961	1.065	1.565	1.830	3.831	2.106	2.590	1.323	1.004
Etil- α -isobutiroil-acetato	0.107	0.090	0.131	0.167	0.058	0.124	0.125	0.113	0.060
α -Selineno	0.334	0.312	0.350	0.230	0.144	0.258	0.343	0.195	0.154
α -Amorfeneno	0.078	0.075	0.128	0.133	0.104	0.062	0.063	0.058	0.074
2-Metil-6-metileno-2-octeno	0.099	0.114	0.164	0.139	0.072	0.117	0.105	0.077	0.105
Total de area del cromatograma %	98.320	92.688	98.575	96.161	94.625	94.801	97.510	95.802	97.891



Gráfica 15. Comparación de la concentración de las diferentes clases de compuestos volátiles en el aceite de cardamomo. La cantidad de compuestos en cada grupo fue: 9 terpenos oxigenados, 5 esterificados, 12 monoterpenos y 3 sesquiterpenos/otros.

Aceite 2019-2020



Gráfica 16. Árbol de grupos por jerarquía de los datos normalizados.

La gráfica 15 muestra la preponderancia de los terpenos oxigenados y los terpenos esterificados en la composición química del aceite. Sin embargo, lo anterior se debe a la mayor concentración relativa de dos compuestos, el 1,8 cineol en los oxigenados y del acetato de terpenilo en los esterificados.

Resultados del análisis de variables múltiples: árbol de grupos por jerarquía

Se originó una nueva matriz de los 29 componentes identificados transformando el valor numérico de la concentración a su valor como seno hiperbólico. Los datos

se normalizaron de esta manera con el objetivo de evitar que la variancia encontrada estuviera influenciada por las cifras más altas correspondientes a los dos compuestos mayoritarios. En el cuadro 19 se presenta las cifras normalizadas de los valores experimentales. Debe notarse que los valores normalizados están en la misma dimensión escalar.

En la gráfica 16 se muestra el resultado de la separación por grupos de las regiones de acuerdo a la composición del aceite volátil. Se seleccionaron distancias promedio y la unión de Pearson, siguiendo las recomendaciones del programa.

Cuadro 19. Valores numéricos de la matriz normalizada de los 29 compuestos en las 9 zonas muestreadas.

Compuesto	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
α -Pino	1.781	1.577	1.900	1.923	2.002	1.615	1.861	1.439	1.650
β -Pino	0.531	0.433	0.524	0.570	0.573	0.421	0.538	0.383	0.434
(-)- α -Tujeno	2.372	2.211	2.445	2.488	2.535	2.356	2.441	2.163	2.341
β -Mirce	1.671	1.452	1.719	1.752	1.871	1.568	1.750	1.364	1.537
α -Terpino	0.318	0.214	0.205	0.203	0.357	0.181	0.226	0.155	0.305
Limoneno	2.112	1.700	2.022	1.035	1.275	1.626	1.908	1.575	1.655
β -Ocimo	0.020	0.020	0.030	0.034	0.060	0.030	0.030	0.020	0.020
p-Cimo	0.068	0.120	0.184	0.204	0.064	0.200	0.210	0.220	0.085
α -Terpinoleno	0.280	0.258	0.239	0.261	0.355	0.191	0.234	0.203	0.295
3-Careno	0.535	0.399	0.586	0.532	0.199	0.544	0.390	0.389	0.286
Pseudolimoneno	0.297	0.250	0.244	0.363	0.266	0.172	0.263	0.193	0.145
2-Careno	0.080	0.055	0.089	0.096	0.107	0.042	0.084	0.085	0.036
1,8-Cineol	3.961	4.005	3.983	3.999	4.034	3.902	3.871	3.944	4.190
cis- β -Terpineol	0.635	0.615	0.657	0.620	0.653	0.553	0.613	0.516	0.451
Linalool	2.428	2.405	2.658	2.433	2.376	2.699	2.593	2.898	2.722
Terpino-4-ol	1.507	1.268	1.375	1.559	1.422	1.216	1.463	1.207	1.225
trans-2,7-Dimetil-4,6-octadien-2-ol	0.160	0.112	0.179	0.175	0.140	0.112	0.164	0.137	0.113
β -Citral	0.487	0.497	0.376	0.618	0.495	0.269	0.405	0.444	0.330
α -Terpineol	1.750	1.535	1.920	1.900	1.266	1.676	1.869	1.790	1.812
α -Citral	0.452	0.497	0.397	0.549	0.498	0.304	0.387	0.451	0.418
2-Nerolidol	1.046	2.736	4.107	0.731	1.426	0.107	0.328	0.078	0.099
Linalil antranilato	2.736	2.792	2.700	2.761	2.838	2.867	2.868	3.076	2.484
Terpenil acetato	4.107	4.092	4.051	4.011	3.903	4.103	4.066	4.069	4.071
Geranil acetato	0.731	0.380	0.603	0.449	0.362	0.586	0.528	0.386	0.319
Neril formato	1.426	0.927	1.230	1.365	2.053	1.490	1.680	1.092	0.884
Etil- α -isobutiroil acetato	0.107	0.090	0.131	0.166	0.058	0.123	0.124	0.113	0.060
α -Selineno	0.328	0.307	0.343	0.228	0.144	0.255	0.336	0.193	0.153
α -Amorfeno	0.078	0.075	0.128	0.133	0.104	0.062	0.063	0.058	0.074
2-Metil-6-metileno-2-octeno	0.099	0.114	0.163	0.139	0.072	0.117	0.105	0.077	0.105

Se observa una separación significativa entre las regiones I, II y III del resto de regiones. Luego, con una certeza menor, la región I es diferente a la región II, y la región V se separa de las demás. Finalmente, la región IV se separa de las regiones VI, VII, VIII, IX, las cuales son iguales.

Resultados del análisis de variables múltiples: componentes principales

La puntuación de los dos primeros componentes principales para las nueve regiones se listan en el cuadro 20. La gráfica 17 ilustra la separación de las regiones lograda. El primer componente PC1 separa las regiones I, II, III y V en lado

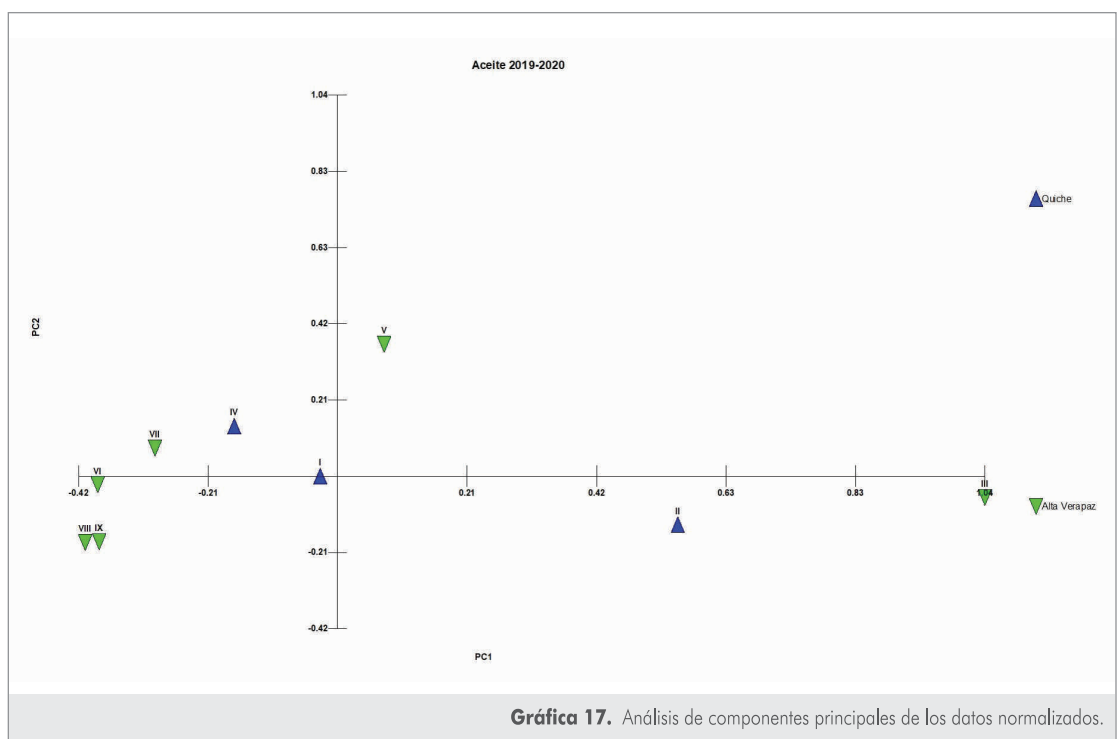
derecho del diagrama (la región I está levemente a la izquierda) de acuerdo con 79.0 % de la variancia de los datos. El segundo componente PC2 separa las regiones IV, V y VII en la parte superior del diagrama de acuerdo con 9.7 % de la variancia de los datos.

Por lo tanto, fue el primer componente principal el más influyente, y dichos resultados coinciden con la conclusión obtenida por el análisis anterior del método de árbol de grupos por jerarquía.

Como conclusión, entonces, puede decirse que el aceite extraído de las regiones I, II, III y V es diferente al aceite de las otras regiones.

Cuadro 20. Puntuaciones de los dos primeros componentes principales obtenidos de la matriz normalizada de los datos.

Región	Departamento	Componente Principal 1	Componente Principal 2
I	Quiché	-0.028	0.000
II	Quiché	0.548	-0.133
III	Alta Verapaz	1.043	-0.058
IV	Quiché	-0.167	0.137
V	Alta Verapaz	0.075	0.361
VI	Alta Verapaz	-0.386	-0.023
VII	Alta Verapaz	-0.294	0.077
VIII	Alta Verapaz	-0.407	-0.181
IX	Alta Verapaz	-0.384	-0.180



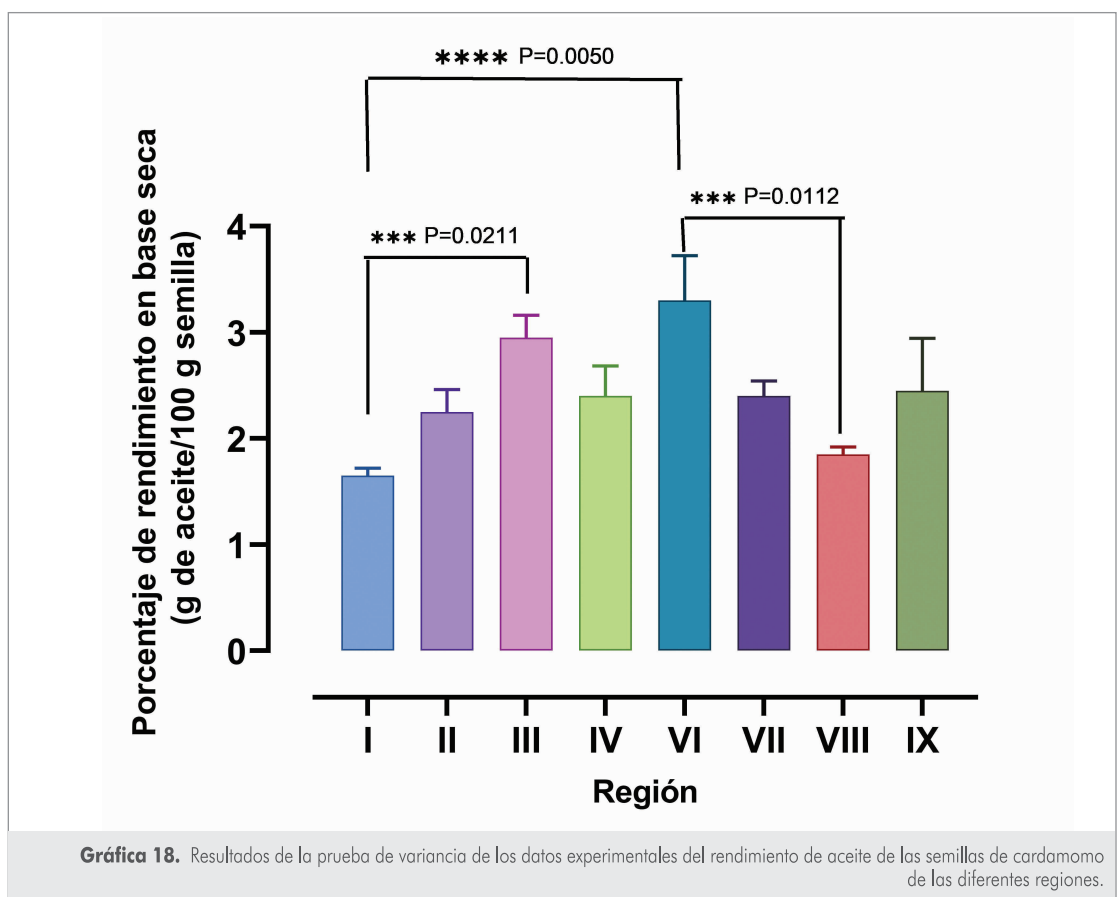
Gráfica 17. Análisis de componentes principales de los datos normalizados.

DISCUSIÓN Y RESULTADOS

Con relación a los datos de extracción del aceite volátil de las semillas de cardamomo de las distintas regiones se deben mencionar dos aspectos. Primero, los datos experimentales mostrados en el cuadro 16 estuvieron abajo del valor mínimo del rango del contenido de aceite reportado en la literatura, que como se expuso en la introducción está entre 3-8 % en peso y base seca de la semilla sin cáscara. Por otro lado, Morsy (2015) reportó para cardamomo de Guatemala un contenido de aceite de 7.05 %. La muestra procesada estaba seca, sin cáscara, molida en un molino de martillos hasta un tamaño de partícula de 0.5 mm. El aceite fue obtenido por destilación con vapor utilizando una trampa Clevenger para recuperar el aceite. Es posible entonces, que la extracción llevada a cabo acá no se haya efectuado en condiciones óptimas, por ejemplo, se empleó una semilla con cáscara, la molienda no fue suficiente para alcanzar un tamaño de partícula adecuado, y posibles pérdidas de aceite en el condensador, al no emplear una trampa Clevenger para retenerlo. Segundo, el análisis de variancia realizado con los

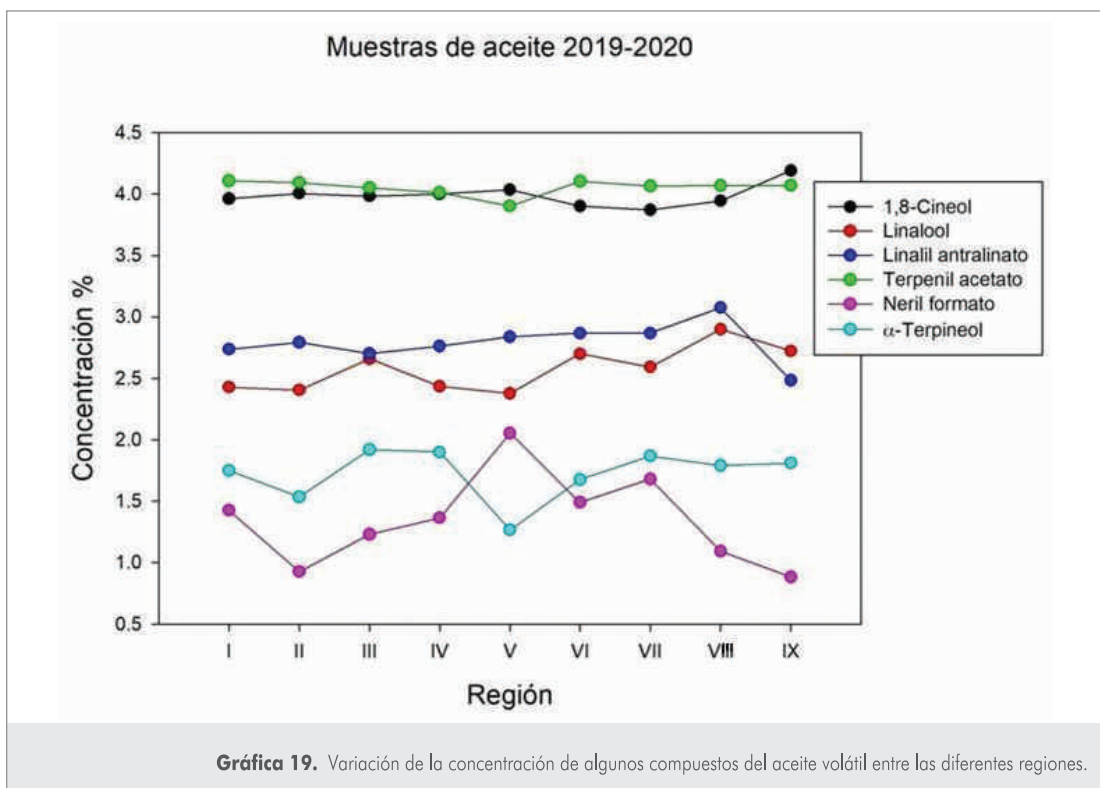
datos reportados mostró diferencias significativas con respecto a las regiones de producción. La grafica 18 muestra los resultados. Se observa que la región VI, con la mayor cantidad de aceite reportada, difirió significativamente de las regiones I y VIII. Además la región III fue diferente a la región I, la cual mostró la menor cantidad de aceite.

La cantidad de compuestos volátiles listados en el cuadro 18 fue mayor que la cifra de volátiles identificados en la primera parte del estudio, listados en el cuadro 4. Pudieron existir varias causas de lo anterior, pero es probable que haya influido el hecho de que el listado del cuadro 4 se refiere a volátiles extraídos industrialmente; en cambio, los del cuadro 18, fueron extraídos a escala de laboratorio. En ambos casos, las condiciones de: a) preparación de las muestras de las semillas y b) la operación de la destilación con vapor pudieron ser diferentes. Sin embargo, la mayoría de compuestos del cuadro 4 -extracción industrial-, también estuvieron listados en el cuadro 18 - extracción a escala del laboratorio-.



Los dos métodos de análisis de variables múltiples empleados lograron identificar grupos de regiones con una composición diferente de su aceite volátil. Como se muestra en la gráfica 19, lo anterior se debió principalmente a las variaciones en la concentración de algunos componentes entre las distintas regiones.

Por otro lado, debe notarse que las concentraciones de los componentes mayoritarios, 1,8-Cineol y Acetato de Terpenilo, prácticamente se mantuvieron relativamente constantes en todas las regiones. Lo anterior, no se observó con los aceites extraídos industrialmente, en donde ambos compuestos variaron significativamente entre las regiones, como se ilustró en las gráficas 9a y 9b.



CONCLUSIONES

- Se identificaron 29 compuestos volátiles en el aceite de cardamomo de nueve regiones productoras de los departamentos de Quiché y Alta Verapaz.
- Empleando la matriz normalizada de los 29 componentes y dos métodos de análisis de variables múltiples se logró identificar dos grupos de regiones cuya composición del aceite volátil era distinta. El grupo de las regiones I, II, III, y V por una lado, y por el otro, las regiones IV, VI, VII, VIII y IX.
- La variación de la concentración de algunos componentes en los aceites de las diferentes regiones fueron la causa de dicha separación. Sin embargo, los componentes mayoritarios, 1-8 Cineol y Acetato de terpenilo se mantuvieron constantes.
- Los rendimientos de aceite extraído en el laboratorio fueron relativamente bajos comparados con los valores citados en la literatura para muestras de Guatemala y otros lugares geográficos.
- Las regiones VI y III mostraron el mayor rendimiento.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Ana Luisa Mendizábal de Montenegro recibió las muestras del aceite volátil, realizó el análisis químico e identificó a los componentes. Carlos Rolz llevó a cabo el análisis matemático de los resultados.

BIBLIOGRAFÍA

- Baby, K.C., Ranganathan, T.V. (2016) *Effect of enzyme pre-treatment on extraction yield and quality of cardamom (Elettaria cardamomum maton.) volatile oil* Industrial Crops and Products 89 (Supplement C): 200-206.
- Eikani, M.H., Golmohammad, F., Amoli, H.S., Sadr, Z.B. (2013) *An Experimental Design Approach for Pressurized Liquid Extraction from Cardamom Seeds* Separation Science and Technology 48(8): 1194-1200.
- Chegini, S.G., Abbasipour, H. (2017) *Chemical composition and insecticidal effects of the essential oil of cardamom, Elettaria cardamomum on the tomato leaf miner, Tuta absoluta* Toxin Reviews 36(1): 12-17
- Gochev, V., Girova, T., Stoilova, I., Atanasova, T., Nenov, N., Stanchev, V., Soyanova, A. (2012) *Low temperature extraction of essential oil bearing plants by liquefied gases. 7. Seeds from cardamom (Elettaria cardamomum (L.) Maton)* Journal of BioScience and Biotechnology 1(2): 135-139.
- Husain, S.S., Ali, M. (2014) *Analysis of volatile oil of the fruits of Elettaria cardamomum (L.) Maton and its antimicrobial activity* World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 3(2): 1798-1808.
- Kaskoos, R.A., Ali, M., Kapoor, R., Akhtar, M.M.S., Mir, S.R. (2006) *Essential oil composition of the fruits of Elettaria cardamomum* Journal of Essential Oil Bearing Plants 9 (1): 81-84.
- Kizhakkahil, J., Thomas, E., Zachariah, T.J., Syamkumar, S., Sasikumar, B. (2006) *A comparative quality appraisal of exported cardamom of India, Sri Lanka and Guatemala* Natural Product Radiance 5(5): 361-365.
- Kumar, A., Tandon, S., Ahmad, J., Yadav, A., Kohal, A.P. (2005) *Essential oil composition of seed and fruit coat of Elettaria cardamomum of South India* Journal of Essential Oil Bearing Plants 8 (2): 204-207.
- Kuyumcu Savan, E., Kucukbay, F.Z. (2013) *Essential Oil Composition of Elettaria cardamomum Maton* Journal of Applied Biological Sciences 7 (3): 42-45.
- Leela, N.K., Prasath, D., Venugopal, M.N. (2008) *Essential oil composition of selected cardamom genotypes at different maturity levels* Indian Journal of Horticulture 65(3): 366-369.
- Lucchesi, M.E., Smadja, J., Bradshaw, S., Louw, W., Chemat, F. (2007) *Solvent free microwave extraction of Elettaria cardamomum L.: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil* Journal of Food Engineering 79(3): 1079-1086.
- Mani, B.J., Murthy, V., Boland, M., Yee, K. (2017) *Analysis of constituents in different fractions collected during distillation of Cardamom oil for flavour and fragrance applications* Journal of Applied Pharmaceutical Science 7 (1): 177-183.
- Marongiu, B., Piras, A. Porcedda, S. (2004) *Comparative Analysis of the Oil and Supercritical CO₂ Extract of Elettaria cardamomum (L.) Maton* Journal of Agricultural and Food Chemistry 52(20): 6278-6282.
- Mehyar, G.F., Al-Isamil, K.M., Al-Ghizzawi, H.M., Holley, R. A. (2014) *Stability of Cardamom (Elettaria cardamomum) Essential Oil in Microcapsules Made of Whey Protein Isolate, Guar Gum, and Carrageenan* Journal of Food Science 79 (10) C1939-C1949.
- Morsy, N.F.S., (2015) *A short extraction time of high quality hydrodistilled cardamom (Elettaria cardamomum L. Maton) essential oil using ultrasound as a pretreatment.* Industrial Crops and Products 65: 287-292.
- Mutlu-Ingok, A., Karbancioglu-Guler, F. (2017) *Cardamom, Cumin, and Dillweed Essential Oils: Chemical Compositions, Antimicrobial Activities, and Mechanisms of Action against Campylobacter spp.* Molecules 22, 1191.
- Nair, K.P.P. (2006) *The Agronomy and Economy of Cardamom (Elettaria cardamomum M.): The "Queen of Spices"*, in: *Advances in Agronomy* Academic Press pp 179-471.
- Noleau, I., Toulemonde, B. (1987) *Volatile constituents of cardamom (Elettaria cardamomum Maton)* Flavour Fragrance Journal 2: 123-127.
- Noumi, E., Snoussi, M., Alreshidi, M.M., Rekha, P.D., Saptami, K., Caputo, L., De Martino, L., Souza, L.F., Msaada, K., Mancini, E., Flamini, G., Al-sieni, A., De Feo, V. (2018) *Chemical and Biological Evaluation of Essential Oils from Cardamom Species* Molecules 23: 2818.
- Villada-Ramírez, M.E., Millán-Cardona, L.J., Peláez-Jaramillo, C.A., Arroyave-Quiceno, C., González-Hurtado, M.I., Gil-Garzón, M.A. (2017) *Caracterización del aceite microencapsulado de cardamomo (Elettaria cardamomum) extraído por fluidos supercríticos a escala semi-industrial* Brazilian Journal of Food Technology, Campinas, 20: e2015099.
- Teneva, D., Denkova, Z., Goranov, B., Denkova, R., Kostov, G., Atanasova, T., (2016) Merdzhanov, P. *Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils From Black Pepper, Cumin, Coriander and Cardamom against some Pathogenic Microorganisms* Acta Universitatis Cibiniensis Series E: Food Technology XX (2): 39-52.
- Thomas, E., Kizhakkahil, J., Zachariah, T.J., Syamkumar, S., Sasikumar, B. (2006) *Comparative quality characterization and molecular profiling of Indian, Sri Lankan and Guatemalan cardamoms* Journal of Food Agriculture and Environment 4(2): 129-133.