



**LA UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE
LOJA**

La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLÓGICA

TÍTULO DE BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

“Determinación de las propiedades físicas, composición química y evaluación de la actividad biológica y antioxidante del aceite esencial de la especie *Ocotea quixos* Kosterm de la provincia de Morona Santiago”

TRABAJO DE TITULACIÓN

AUTORA: Rodríguez Llivigañay, Carla Paola

DIRECTOR: Valarezo Valdez, Benito Eduardo, Ph.D

**LOJA-ECUADOR
2016**



Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NY-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

Septiembre, 2016

APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Ph.D.

Benito Eduardo Valarezo Valdez

DOCENTE DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

De mi consideración:

El presente trabajo de titulación: **“Determinación de las propiedades físicas, composición química y evaluación de la actividad biológica y antioxidante del aceite esencial de la especie *Ocotea quixos* (Marinova) Kosterm de la provincia de Morona Santiago”** realizado por: **Rodríguez Llivigañay, Carla Paola**; ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo.

Loja, Agosto del 2016

f).....

Rodríguez Llivigañay, Carla Paola
1104681463

DECLARACIÓN DE AUTORIA Y CESIÓN DE DERECHOS

“Yo, **Rodríguez Llivigañay Carla Paola** declaro ser autora del presente trabajo de titulación: “**Determinación de las propiedades físicas, composición química y evaluación de la actividad biológica y antioxidante del aceite esencial de la especie *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm de la provincia de Morona Santiago**”, de la titulación de Bioquímica y Farmacia, siendo Benito Eduardo Valarezo Valdéz director del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 88 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”.

f).....

Rodríguez Llivigañay, Carla Paola

1104681463

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a mi Dios quién supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento.

A mis padres por su apoyo, consejos, comprensión, amor, ayuda en los momentos difíciles, y por ayudarme con los recursos necesarios para estudiar. Me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia, mi coraje para conseguir mis objetivos.

A mis hermanas por estar siempre presentes, acompañándome para poderme realizar. A mi esposo Byron y a mi hijo José Emilio quien han sido y son mi motivación, inspiración y felicidad.

“La dicha de la vida consiste en tener siempre algo que hacer, alguien a quien amar y alguna cosa que esperar” **Thomas Chalmers**

AGRADECIMIENTO

Le agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

Le doy gracias a mis padres Amílcar y Sara por apoyarme en todo momento, por los valores que me han inculcado, y por haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de mi vida. Sobre todo por ser un excelente ejemplo de vida a seguir.

A mis hermanas por ser parte importante de mi vida y representar la unidad familiar. A Jhoanna y Fernanda por ser un ejemplo de desarrollo profesional a seguir, a Santiago, Amílcar por llenar mi vida de alegrías y amor cuando más lo he necesitado.

A mis amigas por ser parte significativa de mi vida, y por haber hecho el papel de una familia verdadera en todo momento, gracias por su apoyo, comprensión y sobre todo amistad.

A mi director de Tesis, Ing. Eduardo Valarezo Gracias por creen mí, por su generosidad al brindarme la oportunidad de recurrir a sus conocimientos y experiencia en un ambiente de confianza y sobre todo por haber confiado en mí para llevar a cabo la realización de este proyecto.

Paola

ÍNDICE DE CONTENIDOS

| | |
|---|------|
| CARATULA..... | I |
| APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN..... | II |
| DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS..... | III |
| DEDICATORIA..... | IV |
| AGRADECIMIENTO..... | V |
| ÍNDICE DE CONTENIDOS..... | VI |
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | X |
| ÍNDICE DE TABLAS..... | XIII |
| RESUMEN..... | 1 |
| ABSTRACT..... | 2 |
| INTRODUCCIÓN..... | 3 |
| CAPITULO I | |
| MARCO TEÓRICO..... | 5 |
| 1.1. Aceites Esenciales..... | 6 |
| 1.1.1. Extracción..... | 7 |
| 1.1.2. Clasificación..... | 8 |
| 1.1.3. Caracterización..... | 9 |
| 1.1.3.1. Cromatografía de gases..... | 9 |
| 1.1.4. Propiedades..... | 11 |
| 1.1.5. Uso y aplicación..... | 11 |
| 1.2. Actividad Biológica..... | 12 |
| 1.3. Organismos Biológicos..... | 12 |
| 1.3.1. Bacterias Gram Negativas..... | 12 |
| 1.3.1.1. <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> | 12 |
| 1.3.1.2. <i>Klebsiella Pneumoniae</i> | 13 |
| 1.3.1.3. <i>Proteus Vulgaris</i> | 13 |
| 1.3.1.4. <i>Escherichia Coli</i> | 13 |
| 1.3.1.5. <i>Salmonella Typhimurium</i> | 14 |
| 1.3.2. Bacterias Gram Positivas..... | 14 |
| 1.3.2.1. <i>Enterococcus Faecalis</i> | 14 |
| 1.3.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i> | 15 |
| 1.4. Actividad Antioxidante..... | 15 |

| | |
|---|----|
| 1.4.1. ABTS ⁺ | 16 |
| 1.4.2. Radical DPPH [·] | 16 |
| 1.5. Plantas Aromáticas..... | 16 |
| 1.6. Propiedades físicas..... | 17 |
| 1.6.1. Densidad Relativa..... | 17 |
| 1.6.2. Índice de refracción..... | 17 |
| 1.6.3. Actividad óptica..... | 18 |
| 1.7. Familia Lauraceae..... | 18 |
| 1.7.1. Género <i>Ocotea Aubl.</i> | 18 |
| 1.7.2. <i>Ocotea quixos (Lam.) Kosterm.</i> | 19 |
| 1.7.2.1. Clasificación taxonómica..... | 22 |
| CAPITULO II | |
| MATERIALES Y MÉTODOS..... | 23 |
| 2.1. Diseño experimental..... | 24 |
| 2.2. Recolección de materia vegetal..... | 25 |
| 2.2.1. Selección de la materia vegetal..... | 28 |
| 2.2.2. Determinación de la humedad..... | 28 |
| 2.3. Extracción de aceite esencial..... | 29 |
| 2.3.1. Recolección de aceite esencial..... | 31 |
| 2.3.2. Envasado y almacenamiento del aceite esencial..... | 31 |
| 2.4. Determinación de la composición química del aceite esencial..... | 32 |
| 2.4.1. Corrida cromatográfica en la columna no polar DB5-MS acoplado a espectrometría de masas..... | 33 |
| 2.4.2. Corrida cromatográfica en la columna polar HP-INNOWAX acoplado a espectrometría de masas..... | 34 |
| 2.4.3. Identificación cualitativa y cuantitativa de los compuestos químicos del aceite esencial de <i>Ocotea quixos</i> , tanto en la columna polar como en la columna no polar utilizadas..... | 35 |
| 2.4.4. Corrida cromatográfica en la columna no polar DB5-MS acoplada al detector de ionización de llama (FID)..... | 36 |
| 2.4.5. Corrida cromatográfica en la columna polar HP-INNOWAX acoplada al detector de ionización de llama (FID)..... | 37 |
| 2.4.6. Cuantificación de los compuestos identificados mediante cromatografía de | |

| | |
|--|----|
| gases acoplada al detector de ionización de llama (FID), en ambas columnas polar y no polar..... | 38 |
| 2.5. Determinación de la actividad antibacteriana del aceite esencial..... | 39 |
| 2.5.1. Microdilución en caldo..... | 39 |
| 2.5.1.1. Preparación de la muestra del aceite esencial..... | 40 |
| 2.5.1.2. Preparación del cultivo bacteriano, “Cultivo Overnight”..... | 40 |
| 2.5.1.3. Suspensión de inóculo bacteriano..... | 41 |
| 2.5.1.4. Concentración mínima inhibitoria antibacteriana (CMI)..... | 41 |
| 2.5.1.5. Lectura de las placas e interpretación de los resultados..... | 42 |
| 2.6. Determinación de la actividad antioxidante del aceite esencial de <i>Ocotea quixos</i> ... | 43 |
| 2.6.1. Preparación de la muestra del aceite esencial de <i>Ocotea quixos</i> | 43 |
| 2.6.2. Método Capacidad de atrapamiento del catión – radical ABTS ⁺ | 44 |
| 2.6.2.1. Solución patrón y trabajo de ABTS ⁺ | 45 |
| 2.6.2.2. Estándar Trolox y BHT para ABTS ⁺ | 45 |
| 2.6.2.3. Lectura de las muestras diluidas del aceite esencial..... | 46 |
| 2.6.3. Método radical DPPH [·] | 47 |
| 2.6.3.1. Solución patrón y de trabajo para DPPH [·] | 47 |
| 2.6.3.2. Estándar Trolox y BHT para DPPH [·] | 48 |
| 2.6.3.3. Lectura de las muestras diluidas del aceite esencial..... | 48 |
| 2.6.4. Análisis de los datos obtenidos mediante ABTS ⁺ y DPPH [·] | 49 |
| 2.7. Determinación de las propiedades físicas del aceite esencial..... | 49 |
| 2.7.1. Densidad relativa..... | 49 |
| 2.7.2. Índice de refracción..... | 50 |
| 2.7.3. Actividad óptica..... | 51 |
| CAPITULO III | |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 52 |
| 3.1. Humedad relativa de <i>Ocotea quixos</i> | 53 |
| 3.2. Composición química del aceite esencial <i>Ocotea quixos</i> | 53 |
| 3.2.1. Análisis cualitativo..... | 53 |
| 3.2.2. Análisis cuantitativo..... | 73 |
| 3.3. Actividad biológica del aceite esencial de <i>Ocotea quixos</i> | 82 |
| 3.3.1. Concentración mínima inhibitoria (CMI) antibacteriana..... | 82 |
| 3.4. Actividad Antioxidante..... | 84 |

| | |
|--|-----|
| 3.4.1. Método ABTS ⁺ | 84 |
| 3.4.1.1. Lectura de los estándares Trolox/BHT | 84 |
| 3.4.1.2. Lectura de las muestras del aceite esencial de <i>Ocotea quixos</i> | 85 |
| 3.4.2. Método radical DPPH [·] | 86 |
| 3.4.2.1. Lectura de los estándares Trolox/BHT | 86 |
| 3.4.2.2. Lectura de las muestras del aceite esencial de <i>Ocotea quixos</i> | 88 |
| 3.5. Propiedades Físicas..... | 89 |
| 3.5.1. Densidad Relativa..... | 90 |
| 3.5.2. Índice de Refracción..... | 90 |
| 3.5.3. Actividad óptica..... | 91 |
| CONCLUSIONES..... | 91 |
| RECOMENDACIONES..... | 92 |
| BIBLIOGRAFIA..... | 95 |
| ANEXOS..... | 101 |
| Anexo 1. Determinación de Humedad relativa..... | 102 |
| Anexo 2. Determinación de la densidad relativa a 20°C..... | 104 |
| Anexo 3. Determinación del índice de refracción..... | 106 |
| Anexo 4. Determinación del Actividad Óptica..... | 109 |
| Anexo 5. Tablas de las propiedades Físicas del aceite esencial de <i>Ocotea quixos</i> | 112 |
| Anexo 6. Referencias bibliográficas: Índice de Kovats en la columna no polar DB5-MS..... | 115 |
| Anexo 7. Referencias bibliograficas: Indice de Kovats en la columna polar HP-INNOWAX..... | 116 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Clasificación de aceites esenciales..... | 8 |
| Figura 2. Diagrama esquemático de un cromatógrafo de gases..... | 10 |
| Figura 3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 12 |
| Figura 4. <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 13 |
| Figura 5. <i>Proteus Vulgaris</i> | 13 |
| Figura 6. <i>Escherichia coli</i> | 14 |
| Figura 7. <i>Salmonella typhimurium</i> | 14 |
| Figura 8. <i>Enterococcus Faecalis</i> | 14 |
| Figura 9. <i>Staphylococcus aureus</i> | 15 |
| Figura 10. Muestra de <i>Ocotea quixos</i> , en su habitat natural..... | 20 |
| Figura 11. <i>Ocotea quixos</i> | 20 |
| Figura 12. Muestra del herbario <i>Ocotea quixos</i> – UTPL..... | 22 |
| Figura 13. Esquema metodológico..... | 24 |
| Figura 14. Mapa de ubicación de la comunidad Achuar Juyukamentsa..... | 25 |
| Figura 15. Mapa de ubicación de la comunidad Achuar Wapú..... | 26 |
| Figura 16. Recolección de la especie <i>Ocotea quixos</i> | 27 |
| Figura 17. Ubicación del área de recolección de la especie <i>Ocotea quixos</i> | 27 |
| Figura 18. Proceso para determinar la humedad..... | 29 |
| Figura 19. Explicación gráfica del funcionamiento de un destilador..... | 30 |
| Figura 20. Destilador de la Fundación Chankuap..... | 31 |
| Figura 21. Destilador de las Comunidades de la Fundación Chankuap..... | 31 |
| Figura 22. Aceite envasado y rotulado..... | 32 |
| Figura 23. Parámetros operacionales de la corrida cromatográfica en la columna no polar DB5-MS..... | 33 |
| Figura 24. Parámetros operacionales de la corrida cromatográfica en la columna polar HP-INNOWAX..... | 34 |
| Figura 25. Parámetros operacionales de la corrida cromatográfica en la columna no polar DB5-MS acoplada a un detector de ionización de llama (FID)..... | 37 |
| Figura 26. Parámetros operacionales de la corrida cromatográfica en la columna polar HP-INNOWAX acoplada a un detector de ionización de llama (FID)..... | 38 |
| Figura 27. Dilución del aceite esencial y solvente..... | 40 |
| Figura 28. Caldos de cultivos para las diferentes cepas bacterianas..... | 40 |

| | |
|---|----|
| Figura 29. Modelo de Microplaca TC96 para bacterias con las concentraciones del aceite ($\mu\text{g/mL}$)..... | 42 |
| Figura 30. Frascos color ámbar con las diferentes concentraciones que van a ser utilizadas..... | 44 |
| Figura 31. Muestras del aceite <i>Ocotea quixos</i> , analizadas mediante el método ABTS ⁺ | 47 |
| Figura 32. Muestras del aceite <i>Ocotea quixos</i> , analizadas mediante el método DPPH [•] | 48 |
| Figura 33. Fórmula utilizada para calcular el porcentaje de inhibición..... | 49 |
| Figura 34. Picnómetro con agua destilada..... | 50 |
| Figura 35. Picnómetro con aceite esencial de <i>Ocotea quixos</i> | 50 |
| Figura 36. Refractómetro ABBE..... | 51 |
| Figura 37. Polarímetro Marca Mrc – Automatic Polarimeter P810..... | 51 |
| Figura 38. Perfil cromatográfico del aceite <i>Ocotea quixos</i> en la columna no polar DB5-MS..... | 54 |
| Figura 39. Perfil cromatográfico del aceite <i>Ocotea quixos</i> en la columna polar HP-INNOWAX..... | 55 |
| Figura 40. Compuestos mayoritarios de la Comunidad San Luis en la columna no polar (DB5-MS)..... | 59 |
| Figura 41. Compuestos mayoritarios de la Comunidad San Luis en la columna polar (HP-INNOWAX)..... | 60 |
| Figura 42. Compuestos mayoritarios de la Comunidad Juyukamentsa en la columna no polar (DB5-MS)..... | 63 |
| Figura 43. Compuestos mayoritarios de la Comunidad Juyukamentsa en la columna polar (HP-INNOWAX)..... | 64 |
| Figura 44. Compuestos mayoritarios de la Comunidad Wapú en la columna no polar (DB5-MS)..... | 67 |
| Figura 45. Compuestos mayoritarios de la Comunidad Wapú en la columna polar (HP-INNOWAX)..... | 68 |
| Figura 46. Compuesto mayoritario de la Comunidad San Luis: Methyl cinnamate-E..... | 81 |
| Figura 47. Compuesto mayoritario de la Comunidad Juyukamentsa: 1,8-Cineole..... | 81 |
| Figura 48. Compuesto mayoritario de la Comunidad Wapú: Caryophyllene-E..... | 82 |
| Figura 49. Gráfica de la concentraciones de los estándares de referencia TROLOX/BHT en ABTS ⁺ y su % de Disminución | 85 |
| Figura 50. Gráfica de las concentraciones del aceite <i>Ocotea quixos</i> en ABTS ⁺ y su % | |

| | |
|--|----|
| de Disminución | 86 |
| Figura 51. Gráfica de la concentraciones de los estándares de referencia TROLOX/BHT en DPPH ⁻ y su % de Disminución..... | 87 |
| Figura 52. Gráfica de las concentraciones del aceite <i>Ocotea quixos</i> en DPPH ⁺ y su % de Disminución..... | 88 |

INDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Microorganismos de prueba..... | 39 |
| Tabla 2. Medios de cultivo y condiciones de incubación necesarias para cada bacteria..... | 41 |
| Tabla 3. Volumen necesario para cada dilución en Aceite..... | 44 |
| Tabla 4. Volumen necesario para cada dilución en Trolox y BHT..... | 46 |
| Tabla 5. Porcentaje de humedad de la materia vegetal..... | 55 |
| Tabla 6. Composición química del aceite esencial <i>Ocotea quixos</i> de la Comunidad San Luis..... | 57 |
| Tabla 7. Composición química del aceite esencial <i>Ocotea quixos</i> de la Comunidad Juyukamentsa..... | 61 |
| Tabla 8. Composición química del aceite esencial <i>Ocotea quixos</i> de la Comunidad Wapú..... | 65 |
| Tabla 9. Resumen de la composición química del aceite esencial <i>Ocotea quixos</i> en DB5-MS..... | 69 |
| Tabla 10. Resumen de la composición química del aceite esencial <i>Ocotea quixos</i> en HP-INNOWAX..... | 71 |
| Tabla 11. Comparación de la cantidad relativa (%) de los compuestos determinados por CG-EM y CG-FID en la Comunidad San Luis..... | 74 |
| Tabla 12. Comparación de la cantidad relativa (%) de los compuestos determinados por CG-EM y CG-FID en la Comunidad Juyukamentsa..... | 76 |
| Tabla 13. Comparación de la cantidad relativa (%) de los compuestos determinados por CG-EM y CG-FID en la Comunidad Wapú..... | 78 |
| Tabla 14. CMI antibacteriana (mg/mL) del aceites esencial <i>Ocotea quixos</i> frente a 7 cepas bacterianas..... | 83 |
| Tabla 15. Datos del método ABTS ⁺ para los estándares Trolox y BHT..... | 84 |
| Tabla 16. Datos del método ABTS ⁺ para el aceite esencial <i>Ocotea quixos</i> | 85 |
| Tabla 17. Datos del método DPPH [·] para los estándares Trolox y BHT..... | 87 |
| Tabla 18. Datos del método DPPH [·] para el aceite esencial <i>Ocotea quixos</i> | 88 |

RESUMEN

El aceite esencial de *Ocotea quixos* se obtuvo mediante hidrodestilación. La composición química del aceite esencial se determinó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas CG/EM y al detector de ionización de llama CG/FID. La actividad biológica fue evaluada por el método de microdilución en caldo y la actividad antioxidante mediante dos métodos espectrofotométricos: ABTS+· y DPPH·. También se determinó las propiedades físicas del aceite el cual tiene una densidad de 0,927 g/cm³, índice de refracción de 1.5037 nD y actividad óptica +3.683°. Además se identificaron 45 compuestos que representan el (90,50%) en la Comunidad San Luis, (90,10%) en la Comunidad Juyukamentsa, (91,16%) en la Comunidad Wapú del aceite esencial; los componentes más representativos de las comunidades fueron: Methyl cinnamate-E (26,07%), 1,8-Cineole (34,38%), Caryophyllene-E (14,87%). El aceite esencial no presentó actividad antibacteriana frente a las cepas bacterianas por lo tanto no fueron inhibidas a las dosis probadas. El aceite esencial de esta especie no reveló actividad antioxidante a las concentraciones evaluadas.

Palabras claves: *Ocotea quixos*, composición química, CG/EM, CG/FID, actividad antioxidante, ABTS+·, DPPH·, actividad antibacteriana.

ABSTRACT

The essential oil of *Ocotea quixos* was obtained by hydrodistillation. The chemical composition of the essential oil was determined by gas chromatography coupled with mass spectrometry GC/EM and the flame ionization detector GC/FID. The biological activity was evaluated by broth microdilution method and the antioxidant activity by two spectrophotometric methods: ABTS+⁻ assay, and the DPPH method. Oil physical properties were also determined which has a density of 0.927 g / cm³, refractive index of 1.5037 nD and optical activity + 3.683 °. Forty-five compounds were identified representing (90,50%) in the San Luis Community, (90,10%) in the Juyukamentsa Community, (91,16%) in the Wapú Community of the essential oil. The most representative components were: Methyl cinnamate-E (26,07%), 1,8-Cineole (34,38%), Caryophyllene-E (14,87%). The essential oil has not antibacterial activity against bacterial strains thus were not inhibited at the doses tested. The essential oil of this species do not showed antioxidant activity at various concentrations evaluated.

Key words: *Ocotea quixos*, chemical composition, GC/EM, GC/FID, antioxidant activity, ABTS+⁻, DPPH[·], antibacterial activity.

INTRODUCCIÓN

El presente estudio de investigación está enfocado en *Ocotea quixos*, una especie de la familia Lauraceae. Conocida en el Ecuador con diferentes nombres vernáculos, entre los que se destacan: canelón, ishpink, ispingu y/o ishpingo, su uso es común en dolores estomacales, estrés, reduce los niveles de azúcar y las lesiones internas del cuerpo.

Cabe indicar que el tema a desarrollarse, tiene como punto de partida a las plantas aromáticas las cuales representan alrededor de un 0,7% del total de las plantas medicinales debido a que sus principios activos están constituidos, total o parcialmente, por esencias (Palacio, 2000).

Las plantas aromáticas constituyen la principal fuente de aceites esenciales empleadas en la industria farmacéutica, cosmética y de alimentos. Tradicionalmente los aceites esenciales se han utilizado por sus propiedades como agentes aromatizantes.

En las últimas dos décadas ha crecido notablemente el interés por los productos naturales obtenidos de especies vegetales como: aceites esenciales y oleorresinas, ya que además de su aporte como aromáticos existen numerosos trabajos que avalan su actividad biocida, antioxidante y en muchos casos podrían tener un potencial efecto benéfico para la salud (Gabucci, 2007). Los aceites esenciales se encuentran ampliamente repartidos en las plantas: Labiadas, Lauráceas, Lamiaceas, Mirtáceas, Pináceas, Asteraceas, Rosáceas, Rutaceas, etc.

Los aceites esenciales son sustancias odoríferas de naturaleza oleosa encontradas prácticamente en todos los vegetales; son muy diversas y están ampliamente producidos en distintas partes del mismo vegetal: en las raíces, tallos, hojas, flores y frutos; son mezclas heterogéneas de terpenos, sesquiterpenos, ácidos, ésteres, fenoles, lactonas; todos ellos fácilmente separables ya sean por métodos químicos o físicos, como la destilación, refrigeración, centrifugación, etc. Es por eso que de cada especie es aconsejable hacer un estudio de los diferentes compuestos presentes en la esencia, determinando cual está en mayor o menor cantidad (Briga, 1962).

El objetivo del presente trabajo de investigación que a continuación se detalla está dirigido a la determinación de las propiedades físicas, actividad antioxidante, actividad biológica y composición química, mediante CG/EM y CG/FID, empleando dos tipos diferentes de columnas (DB-5MS y HP-INNOWAX), del aceite esencial de *Ocotea quixos* de la provincia de Morona Santiago.

La investigación está constituida por los siguientes capítulos: en el primer capítulo consta el marco teórico en el cual se indica detalladamente los conceptos utilizados para desarrollar el tema propuesto; en el segundo capítulo denominado: Materiales y métodos, se indican las diferentes técnicas utilizadas a lo largo de la investigación y los materiales que se emplearon y finalmente en el tercer capítulo presenta y analiza los resultados obtenidos.

El trabajo investigativo fue desarrollado en el Departamento de Química de la Universidad Técnica Particular de Loja; destacando que el objetivo general de realizar estos estudios es contribuir al conocimiento de la flora aromática de la Región Amazónica del Ecuador.

CAPITULO I
MARCO TEÓRICO

1.1. Aceites Esenciales

Los “aceites esenciales” se definen como fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables con agua o en corriente de vapor, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), alimentaria (condimentos y saborizantes) y farmacéutica (principios activos y saborizantes). Están constituidos por una variedad de constituyentes químicos volátiles, principalmente terpenoides, así como compuestos aromáticos y alifáticos que le proporcionan características como olor, sabor y actividad biológica (Rodríguez, 2012).

Son mezclas homogéneas de compuestos químicos orgánicos, provenientes de una misma familia química, terpenoides. Tienen la propiedad en común, de generar diversos aromas agradables y perceptibles al ser humano. A condiciones ambientales, son líquidos menos densos que el agua, pero más viscosos que ella. Poseen un color en la gama del amarillo, hasta ser transparentes en algunos casos (Günther, 1948).

Los aceites esenciales se encuentran ampliamente distribuidos en diferentes partes de las plantas: en las hojas (albahaca, eucalipto, hierbabuena, mejorana, menta, romero, salvia, etc.), en las raíces (jengibre, sándalo, safrán, etc.), en el pericarpio del fruto (cítricos como limón, mandarina, naranja, etc.), en las semillas (anís, comino, etc.), en el tallo (canela, etc.), en las flores (lavanda, manzanilla, tomillo, rosa, etc.) o en los frutos (perejil, pimienta, etc.) (Martínez, 2003).

Los aceites esenciales son usados como agentes carminativos, estimulantes, diuréticos y antiartríticos; algunos poseen propiedades insecticidas, antifúngicas y antibacterianas frente a microorganismos patógenos y han sido considerados como ingredientes activos en algunos plaguicidas botánicos por su eficacia frente a un número considerable de plagas, su toxicidad mínima en mamíferos y su disponibilidad general (Sánchez, 2009).

En función de su consistencia, los aceites esenciales se pueden clasificar en: esencias fluidas, bálsamos, oleorresinas o según su origen en: naturales, artificiales y sintéticos (Palá, 2004). Sin embargo, la composición química de una especie puede diferir considerablemente de otra, así sean de la misma familia, por esto es conveniente saber la composición exclusiva de cada especie. Generalmente los aceites esenciales, constituyen

del 0,1 al 1% del peso seco de la planta. Cuando están frescos, a temperatura ambiente, son incoloros, que al oxidarse se resinifican y toman un color amarillento oscuro (lo que se previene depositándolos en recipientes de vidrio de color topacio, totalmente llenos y cerrados perfectamente). Un gran porcentaje de los aceites son menos densos que el agua (salvo excepciones como los aceites esenciales de canela y clavo) y con un alto índice de refracción (Bandoni, 2002).

1.1.1. Extracción

Los aceites esenciales se pueden extraer de las muestras vegetales mediante diversos métodos como son: prensado, extracción con solventes volátiles, destilación con vapor de agua, enflorado y extracción con fluidos supercríticos. Una de las técnicas más utilizadas para la extracción de aceites esenciales es la destilación por arrastre con vapor, en la que factores como el tamaño de partícula del material vegetal, el factor de empaquetamiento y el tiempo de extracción, influyen en la composición y rendimiento de los aceites esenciales obtenidos (Martínez, 2003).

La destilación por arrastre con vapor de agua; se emplea con frecuencia para separar aceites esenciales de tejidos vegetales. Es una destilación de mezcla de dos líquidos inmiscibles, en el cual la materia vegetal se encuentra suspendida sobre un tramado (falso fondo) que impide el contacto de la materia vegetal con el medio líquido en ebullición, este sistema reduce la capacidad neta de carga de materia prima dentro del extractor por lo tanto mejora la calidad del aceite obtenido; consiste en una vaporización a temperaturas inferiores a las de ebullición de cada uno de los componentes volátiles por efecto de una corriente directa de vapor de agua, el cual ejerce la doble función de calentar la mezcla hasta su punto de ebullición y adicionar tensión de vapor a la de los componentes volátiles del aceite esencial; los vapores que salen de la cámara extractora se enfrían en un condensador donde regresan a la fase líquida, los dos productos inmiscibles, agua y aceite finalmente se separan en un dispositivo decantador o vaso florentino (Rodríguez, 2012).

Esta técnica es utilizada especialmente para esencias muy volátiles, por ejemplo las utilizadas para perfumería. Se utiliza a nivel industrial debido a su alto rendimiento, a la pureza del aceite obtenido y porque no requiere tecnología sofisticada (Bandoni, 2000).

Es posible identificar los compuestos volátiles mediante algunos métodos cromatográficos tales como la cromatografía en columna, de capa fina, sin embargo actualmente existen técnicas de separación más eficientes y rápidas como la cromatografía líquida de alta eficacia HPLC y la cromatografía de gases; así como también combinaciones “ON-LINE-HPLC-CG-EM”; esta última técnica gracias al desarrollo de columnas capilares de alta resolución permite analizar mezclas complejas presentes en aceites esenciales, e identificar los componentes a partir de los tiempos de retención a través de los denominados Índice de Retención de Kovats, estos valores son característicos para cada componente y existen bases de datos para la identificación de los componentes química de cada aceite (Martínez, 2003).

1.1.2. Clasificación

Los aceites esenciales se clasifican en base a diferentes criterios de acuerdo a su: consistencia (esencias fluidas, bálsamos y oleorresinas), a su origen (naturales, artificiales y sintéticos) y a la naturaleza química en componentes mayoritarios (Palá, 2004).

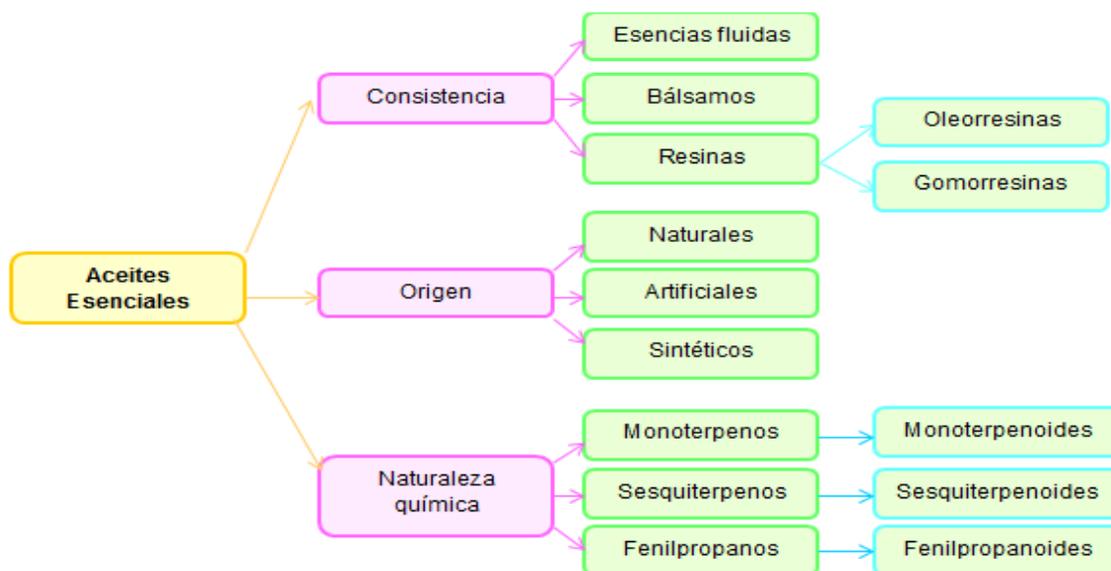


Figura 1. Clasificación de los aceites esenciales
Fuente: Palá, 2004

1.1.3. Caracterización Química

Se basa en la identificación del número de compuestos presentes en el aceite esencial, el porcentaje que representa cada uno de ellos; por lo que el método más utilizado es la cromatografía de gases.

La caracterización química de los aceites esenciales se lleva a cabo por la técnica cromatografía de gases (CG). En el control de calidad, la cromatografía de gases se utiliza para obtener el perfil cromatográfico y cuantificar los principales componentes del aceite esencial, es decir los mayoritarios o aquellos que, sin ser mayoritarios, tengan una especial trascendencia para la calidad (Bandoni, 2002).

1.1.3.1. Cromatografía de gases (CG)

La cromatografía es una técnica analítica de separación que permite cualificar y cuantificar los componentes químicos de una mezcla.

La cromatografía de gases es elegida para la separación de compuestos orgánicos e inorgánicos térmicamente estables y volátiles como los hidrocarburos alifáticos. La cromatografía gas- líquido quido lleva a cabo la separación por medio del reparto de los componentes de una mezcla química, entre una fase gaseosa que fluye (móvil) y una fase líquida estacionaria sujeta a un soporte sólido (F. Castro, 2009).

Por su simplicidad, sensibilidad y efectividad para separar los componentes de mezclas, la cromatografía de gas es una de las herramientas más importantes en química. Es ampliamente usada para análisis cuantitativos y cualitativos, para la purificación de compuestos y para la determinación de constante termoquímicas, como calores de solución y vaporización, presión de vapor y coeficientes de actividad (F. Castro, 2009)

En la cromatografía de gases los componentes de una muestra vaporizada se separan como consecuencia del reparto entre una fase gaseosa y una fase estacionaria contenida en una columna. Al efectuar una separación cromatográfica de gases, la muestra se vaporiza y se inyecta en la cabeza de la columna. La elución se lleva a cabo

mediante el flujo de una fase móvil de gas inerte (como el argón, el helio, nitrógeno). La diferencia de esta técnica cromatográfica consiste que en la fase móvil no interactúa con las moléculas de los compuestos a separar y su única función es transportar los compuestos a través de la columna (Dabrio, 1971).

En la figura 2, se muestra un diagrama esquemático de un cromatógrafo de gases. La muestra del aceite se inyecta a través de un tapón de goma (septum) en una cámara de vaporización situada en la cabeza de la columna. El vapor es arrastrado a través de la columna por el gas portador, en este caso helio; los analitos después de separarse llegan al detector, cuya respuesta aparece en la pantalla del ordenador. La columna utilizada debe estar lo suficientemente caliente para que los analitos alcancen una presión de vapor adecuada y eluyan en un tiempo razonable. El detector se mantiene a una temperatura más elevada que la columna, de forma que los analitos se encuentren en forma gaseosa.

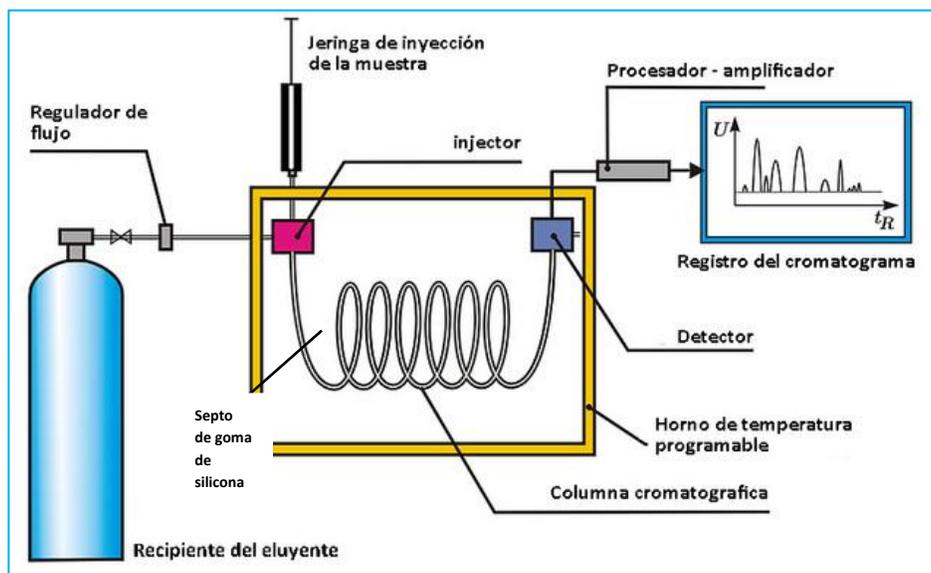


Figura 2. Diagrama esquemático de un cromatógrafo de gases.
Fuente: Dubai, 2011

La cromatografía de gases suele ser utilizada para separar cantidades de hasta cientos de miligramos; pero en este caso la cantidad de aceite esencial a utilizar fue mínima.

1.1.4. Propiedades

Las propiedades físico-químicas de los aceites esenciales o esencias son muy diversas; generalmente son fluidos más livianos que el agua, de olor fuerte y penetrante, incoloros o amarillentos, translúcidos, miscibles en solventes orgánicos e inmiscibles en agua. Son inflamables, no son tóxicos, aunque pueden provocar alergias en personas sensibles a determinados terpenoides (A. Castro, 2008).

Las principales características de los aceites esenciales son:

- Ⓜ Intensamente aromáticos
- Ⓜ Se evaporan con rapidez
- Ⓜ Tienen baja densidad
- Ⓜ Son muy volátiles
- Ⓜ No son grasos
- Ⓜ No son solubles en agua
- Ⓜ Su estructura química se altera fácilmente con la luz

1.1.5. Usos y aplicaciones

Los aceites esenciales se utilizan ampliamente en diferentes ramas de la industria como: perfumería; cosmética; industria farmacéutica, como aditivo e insumo para sintetizar compuestos, como agentes carminativos, estimulantes, diuréticos y antirreumáticos, algunos poseen propiedades insecticidas, antifúngicas y antibacterianas frente a microorganismos patógenos; en la industria alimentaria, como aditivo e insumo para la fabricación de productos de higiene personal y de limpieza doméstica (Sánchez, 2009).

En los últimos años, los aceites esenciales son utilizados ampliamente en la aromaterapia como agentes medicinales naturales. Poseen diversos beneficios para la salud, y han sido investigados cada vez más por la comunidad científica para el tratamiento de distintas enfermedades, como el asma, el cáncer, entre otras enfermedades. La mayoría de los aceites esenciales poseen propiedades antibióticas (Bruneton, 2001).

1.2. Actividad Biológica

La capacidad antimicrobiana de los aceites esenciales ha sido descrita por algunos investigadores por sus propiedades antimicrobianas frente algunas bacterias y hongos. Los aceites esenciales han demostrado capacidad inhibitoria frente a bacterias Gram positiva y Gram negativa, resultando estas últimas más resistentes. Los terpenos que forman parte de los aceites esenciales son los que les confieren sus propiedades biológicas (Demain, 1999).

Estos poseen actividad antimicrobiana por sí mismos, pero no siempre esta actividad concuerda con la del aceite esencial completo; por lo que las mezclas complejas de estos terpenos podrían determinar relaciones sinérgicas o antagónicas entre estos. Se ha observado que los compuestos terpénicos aromáticos son los que poseen mayor actividad inhibitoria. En las plantas, las mezclas de monoterpenos y sesquiterpenos presentes en los aceites constituyen una de las principales barreras de defensa contra los hongos patógenos (Strohl, 2004).

1.3. Organismos biológicos

En el presente estudio se emplearon algunas cepas bacterianas, entre ellas 5 cepas Gram negativas: *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Salmonella tiphymurium*. También dos cepas Gram positivas: *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*.

1.3.1. Bacterias Gram negativas

1.3.1.1. *Pseudomonas aeruginosa* (figura 3): Bacilo aerobio con motilidad unipolar, considerado un patógeno oportunista, que produce pigmentos fluorescentes de colores que pueden variar desde el rojo hasta el negro. Es un microorganismo altamente versátil, capaz de tolerar condiciones bajas de oxígeno. Puede sobrevivir con bajos niveles de nutrientes y crecer en rangos de temperatura de 4 a 42°C (Stover, 2000). Puede encontrarse en el agua,

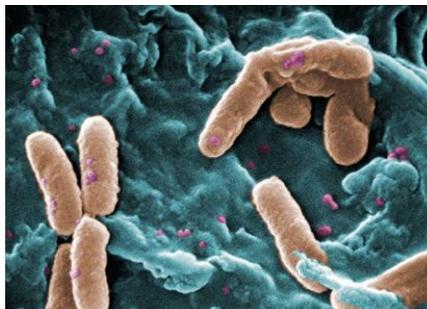


Figura 3. *Pseudomonas aeruginosa*

Fuente: Centers for Disease Control and Prevention. (2007).

la tierra y plantas, ya que sus necesidades alimenticias son mínimas, aunque las enfermedades producidas por esta bacteria están asociadas a su preferencia por los medios húmedos (Hardalo, 1997).

1.3.1.2. *Klebsiella pneumoniae* (figura 4): Bacteria de forma bacilar, anaerobia facultativa, inmóvil y usualmente encapsulada, ampliamente esparcida en el ambiente, presente de manera especial en las superficies mucosas de mamíferos; en los seres humanos coloniza la nasofaringe y el tracto gastrointestinal (Struve, 2004). Estas bacterias, al ser inoculadas en agar MacConkey, fermentan la lactosa donde las colonias son de color rosado y en el medio Kligler o TSI donde son Ácido/Ácido, es decir fermentador de la lactosa más producción de gas y en la fermentación acetónica o prueba de Voges Proskauer son positivos. Es importante mencionar que sus condiciones óptimas de cultivo son en agar nutritivo a 37 °C (Podschun, 1998).

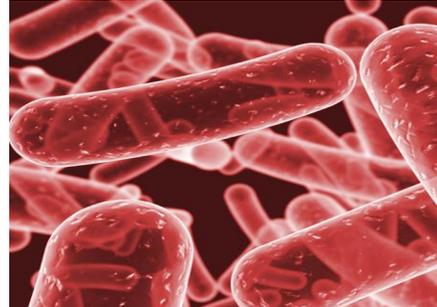


Figura 4. *Klebsiella pneumoniae*
Fuente: Dennis Kunkel Microscopy, (2001).

1.3.1.3. *Proteus vulgaris* (figura 5): Bacteria facultativamente anaeróbica en forma de bacilo que habita en el tracto intestinal (O'Hara, 2000). Es un patógeno oportunista que causa principalmente infecciones urinarias, provoca infecciones en las heridas y en abscesos hepáticos. Uno de los parámetros para su diagnóstico es que se fermenta en glucosa, sucrosa y amigdalina, pero no fermenta la lactosa ni el manitol (Struble, 2009).

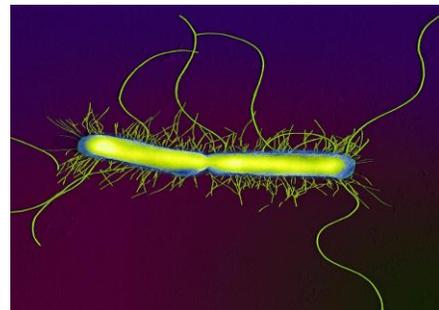


Figura 5. *Proteus vulgaris*
Fuente: Thomas Deerinck, (2013).

1.3.1.4. *Escherichia coli* (figura 6): Bacilo no esporulado, móvil con flagelos peritricos o inmóviles, aerobios-anaerobios facultativos, capaces de crecer en agar MacConkey y en medios simples con o sin agregado de NaCl, fermentadores y oxidativos en medios con glucosa u otros carbohidratos, catalasa positivos, oxidasa negativos, reductores de nitratos a nitritos; además de producir las vitaminas B y K (Ewing, 1985).

Se coloniza el intestino del hombre pocas horas después del nacimiento y se le considera un microorganismo de flora normal, pero hay cepas que pueden ser patógenas y causar daño produciendo diferentes cuadros clínicos, entre ellos diarrea. Son gérmenes de gran ubicuidad y capacidad de proliferación, y a la vez de fácil cultivo e identificación, por lo tanto muy útiles como indicadores de contaminación, pero no son enteropatógenos como grupo (como tampoco lo es E. Coli), y su presencia en alimentos, ambiente o pacientes no certifica la etiología de una infección intestinal o un brote de enfermedades transmitidas por alimentos (Martinez) (Drasar, 1974).

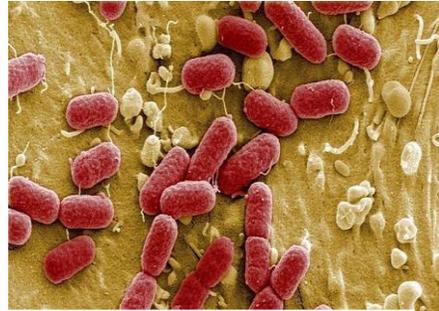


Figura 6. *Escherichia coli*
Fuente: Esther Armora, (2012).

1.3.1.5. *Salmonella typhimurium* (figura 7): Bacteria anaeróbica facultativa, no producen esporas en ocasiones sobreviven en bajas condiciones de oxígeno. La mayoría de las cepas son móviles debido a que poseen flagelos peritricos, que rodean a la célula. La enfermedad se caracteriza por causar diarreas, dolores abdominales, vómitos y náuseas, y suele durar unos siete días (Brooks, 2005).



Figura 7. *Salmonella typhimurium*
Fuente: Science Museum- London, (2009).

1.3.2. Bacterias Gram positivas

1.3.2.1. *Enterococcus faecalis* (figura 8): Bacteria en forma de coco dispuesta en cadenas o pares, anaerobia facultativa, inmóvil y no esporulada. Son catalasa negativa, capaces de crecer en condiciones extremas. Las características bioquímicas sobresalientes incluyen: la habilidad de crecer en presencia de NaCl al 6,5%, a temperaturas entre 10°C y 45°C, y hasta en un pH de 9,6. Tienen la capacidad

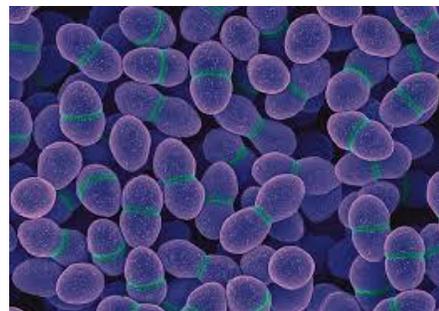


Figura 8. *Enterococcus faecalis*
Fuente: Look for Diagnosis, (2014)

de hidrolizar la esculina, crecer en presencia de bilis, sobrevivir 30 min a 60°C (Martínez, 2007).

Son parte de la flora normal endógena humana y tienen poco potencial patogénico en el huésped normal. Sin embargo, en el anciano o en el paciente inmunocomprometido, estos organismos se vuelven patógenos oportunistas. Las infecciones ocurren cuando las defensas del huésped descienden por una enfermedad y por el uso de dispositivos invasivos (Murray, 1990).

1.3.2.2. *Staphylococcus aureus* (figura 9): Cocos, productores de coagulasa positiva, que se encuentran microscópicamente aislados, en pares, tétradas o formando racimos irregulares. Son inmóviles, facultativamente anaerobios, no formadores de esporas, generalmente no capsulados o con limitada formación de cápsula (Dinges, 2000).

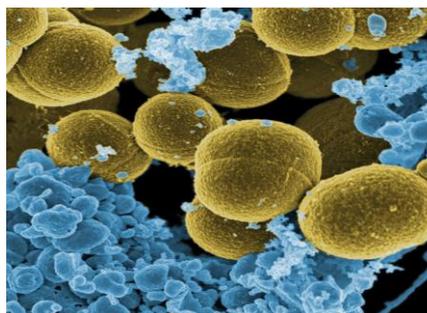


Figura 9. *Staphylococcus aureus*
Fuente: Arturo Juárez, (2008).

Puede producir una amplia gama de enfermedades, infecciones cutáneas como foliculitis, forunculosis o conjuntivitis y enfermedades de riesgo vital como celulitis, abscesos profundos, osteomielitis, meningitis, sepsis, endocarditis o neumonía (Gemmell, 2006).

1.4. Actividad antioxidante

Los antioxidantes son compuestos que inhiben o retrasan la oxidación de otras moléculas, inhibiendo la iniciación o propagación de las reacciones oxidativas en cadena (Barrero, 2004). Una de las estrategias más aplicadas en las medidas in vitro de la capacidad antioxidante total de un compuesto, consiste en determinar la actividad del antioxidante frente a sustancias cromógenas de naturaleza radical; la pérdida de color ocurre de forma proporcional con la concentración. Diversos compuestos cromógenos (ABTS, DPPH) son utilizados para determinar la capacidad de los compuestos fenólicos que contienen los aceites esenciales para captar los radicales libres generados, operando así en contra los efectos perjudiciales de los procesos de oxidación, que implican a especies reactivas de oxígeno (García, 2001).

El interés de encontrar antioxidantes naturales se ha incrementado considerablemente para el uso farmacológico, como en alimentos. Por ello los aceites esenciales extraídos de las especies vegetales aromáticas son utilizados en áreas de medicina, nutrición, como saborizantes en bebidas, repelentes de insectos, fragancias, cosméticos y en diversos propósitos industriales, aprovechando sus propiedades preservantes (Ortuño, 2006).

1.4.1. ABTS⁺

El método ABTS es usado tanto para materiales biológicos, compuestos puros o extractos de plantas de naturaleza hidrófila o lipofílica. El compuesto cromógeno ABTS presenta color azul/verde con máximo de absorción a 734 nm, es muy soluble en agua y químicamente estable (Antolovich, 2002).

Existen varios métodos para determinar la capacidad antioxidante en una esencia, entre ellos se encuentra el ensayo del ácido 2,2-azinobis-3(-etilbenzotioaxolín-6-sulfónico) o ABTS⁺. Este método tiene como principio la captación de los antioxidantes por el radical ABTS⁺, generado en el medio de reacción, usando como patrón el ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-cromán-2-carboxílico o también denominado Trolox, que es un análogo sintético hidrosoluble de la vitamina E (Granados, 2012).

1.4.2. Radical DPPH[·]

Este método se basa en la reducción del radical DPPH[·], (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) por los componentes antioxidantes de la muestra de aceite esencial. Este radical posee una coloración púrpura que se va perdiendo progresivamente cuando la muestra que se añade posee capacidad antioxidante. Esta decoloración se puede medir mediante un espectrofotómetro a una longitud de onda de 515 nm (Conde, 2012).

1.5. Plantas Aromáticas

El aprovechamiento de las plantas aromáticas por el hombre, así como la extracción y utilización de sus esencias, tienen la más remota antigüedad, según consta en los diversos testimonios históricos pertenecientes a distintas civilizaciones y culturas. Las primeras fuentes históricas de las esencias proceden de Egipto, donde 40 siglos antes de Jesucristo ya preparaban esencia de cedro. Los egipcios instruyeron a los griegos que a su vez las transmitieron a los romanos. En la Edad Media los árabes perfeccionaron la

destilación de las plantas aromáticas favoreciendo así el desarrollo de la naciente y rudimentaria farmacia (Moré, 2002).

En el siglo XIII los alquimistas vendían aceites esenciales (romero). En el siglo XV eran conocidas las esencias de almendras amargas, espliego, canela, ginebra, rosa, salvia y lavanda, entre otras. En el siglo XIX se practicaron los primeros análisis químicos de esencias y otros principios activos de los vegetales. Con la aplicación del microscopio y la química analítica nace la farmacoquímica (Moré, 2002).

Las plantas aromáticas constituyen la principal fuente de aceites esenciales empleadas en la industria farmacéutica, cosmética y de alimentos. Tradicionalmente los aceites esenciales se han utilizado por sus propiedades como agentes aromatizantes. En los últimos años, se ha puesto mucho interés en las propiedades antimicrobianas y antioxidantes que estos poseen (Fernandez, 1996).

El efecto antioxidante de las plantas aromáticas resulta muy atractivo, debido a que en los alimentos ricos en lípidos insaturados, previenen o retardan el proceso de enranciamiento. Este efecto es importante, no sólo en términos de preservación, sino que además por sus potenciales beneficios para la salud (Llana, 1998).

1.6. Propiedades Físicas

1.6.1. Densidad relativa

Es una propiedad física característica de cualquier materia. Es la magnitud que expresa la relación entre la masa y el volumen de un cuerpo (m/v); es decir, es la cantidad de materia (masa) que tiene un cuerpo en una unidad de volumen (Gil, 2001). La densidad del aceite esencial se determina tomando como referencia al agua.

1.6.2. Índice de Refracción

Es una magnitud física, que es utilizada, tanto a nivel del laboratorio como a nivel industrial; como una prueba fisicoquímica para el control de impurezas y calidad en aceites puros además su determinación puede señalar adulteraciones y envejecimientos de los aceites (Morales de Godoy, 1996).

Es un parámetro propio de cada medio que indica el comportamiento de la luz al atravesarlo, específicamente cuando entra en contacto con un líquido (Tejero, 2001).

1.6.3. Actividad Óptica

Es la capacidad de una sustancia quiral para rotar el plano de la luz polarizada. Se mide usando un aparato llamado polarímetro. Cuando la luz polarizada pasa a través de una cubeta que contiene una sustancia quiral, se produce una rotación en el plano de polarización. Las sustancias quirales rotan la luz polarizada y se dice de ellas que son ópticamente activas (Skoog, 2001).

Aquellas sustancias que no producen rotación en la luz polarizada son ópticamente inactivas. Cuando un compuesto ópticamente activo, rota la luz polarizada en el sentido de las agujas del reloj, se dice que es dextrógiro y se representa por (+). Las sustancias que rotan la luz en sentido contrario a las agujas del reloj, son levógiras y se representa por (-) (Skoog, 2001).

1.7. Familia *Lauraceae*

Está constituida por árboles y arbustos de distribución tropical y subtropical de todo el mundo. Se han reconocido, aproximadamente, 50 géneros y 2500-3000 especies; 15 géneros están representados en el Ecuador (Richter, 1987).

Es una familia particularmente diversa tiene gran importancia económica, está representada por elementos arbóreos de algunas comunidades vegetales, mismas que son interesantes también desde el punto de vista fitogeográfico y por su diversidad biológica; así como también tienen valor maderable, son ornamentales, producen aceites, condimentos, son medicinales y tienen frutos comestibles. Seis géneros nativos se encuentran en los bosques andinos (Macbride, 1936).

1.7.1. Género *Ocotea Aubl.*

Pertenece a la familia Lauraceae, se caracteriza por sus especies de naturaleza arbórea o arbustiva, con cortezas casi siempre aromática de olores agradables y

penetrantes, algunos desagradables; son arboles utilizados como maderas de excepcional duración (Ballabeni, 2010).

El género *Ocotea* fue identificado por Fusée Aublet en 1775 y fue descrito con la especie *Ocotea guianensis*. Este género cuenta con unas 350 especies aproximadamente, entre las cuales podemos mencionar las siguientes: *O. quixos*, *O. cymbarum*, *O. reflexa*, *O. zulianensis*, *O. auriculata*, *O. fasciculata*, *O. macropoda*, *O. tubulosa*, *O. acutangula*, *O. caparrapi*, *O. cuprea*, *O. aciphylla*, *O. catharinensis*, *O. porosa*, *O. minarum*, *O. puberula*, *O. leucoxyln*, *O. glaziovii*, *O. variabilis*, *O. macrophylla*, *O. cantarirae*, *O. brachybotra*, *O. kulmanii*, *O. venenosa*, *O. rodiaei*, *O. veraguensis*, *O. usambarensis*, *O. pretiosa*, y *O. teleiandra* (Rohwer, 1991).

Numerosas especies del género *Ocotea* han servido al hombre, sobretodo, en el campo de la medicina popular; una revisión hecha al respecto, revela que para 26 especies de este género los usos han sido muy variados; sus extractos se han utilizado como aromáticos, diuréticos, etc (Ortuño, 2006).

1.7.2. *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm

Pertenece a la familia Lauraceae, es conocida en el Ecuador con diferentes nombres vernáculos, entre los que se destacan: canelón, ishpink o ishpingo (Gupta, 1995).

El hábitat natural de este árbol (figura 10), es el bosque húmedo tropical de la Amazonía Ecuatoriana, Putumayo, Amazonia Colombiana, y Peruana, encontrándose entre 310 y 1.250 msnm de altitud y destacándose por ser endémico de este lugar (Rios, 2007)



Figura 10. Muestra de *Ocotea quixos*, en su hábitat natural.

Fuente: Fundación Chankuap, (2006).

La especie *Ocotea quixos* (figura 11), se distingue por ser un árbol perenne de tamaño variado: de 10 a 15 m de altura en la huerta y en estado silvestre alcanza una altura promedio de 20 m a 30 m; lámina de la hoja de 14,5-23,5 cm de longitud x 3,5-6 cm de ancho, olor a canela; flor blanco-verdosa; cáliz persistente de seis sépalos y fruto ovalado de 4 cm de longitud. La especie florece y fructifica cada dos años cuando alcanza mínimo veinte años de madurez (Bruni, 2003).



Figura 11. *Ocotea quixos*

Fuente: Centro de Investigación y Valoración de la Biodiversidad (La Granja), (2008).

Esta planta presenta una diversidad de usos, ya que tradicionalmente se aprovecha las hojas para la extracción del aceite esencial; así como la corteza interna de las ramas, la misma que tiene características organolépticas similares a la canela de oriente, y que es utilizada en la industria de alimentos como especia. De la planta también se utiliza el cáliz de la flor deshidratado o Ishpingo, tanto como especia como para la elaboración de artesanías (Sacchetti, 2006). Este aceite esencial tiene un aroma que es diferente de cualquier canela común. La *Ocotea quixos* tiene el nivel más alto de alfa humuleno (es un compuesto que ayuda con la reacción natural del cuerpo ante la irritación y las molestias) que cualquier aceite esencial y también tiene limpiadores naturales y propiedades limpiadoras (Ballabeni, 2010).

Las capacidades curativas del *Ocotea quixos* vienen a partir de tres tipos básicos de componentes presentes en los aceites esenciales encontrados en la hoja y en la corteza. Estos aceites contienen los componentes activos llamados: cinamaldehído, acetato de cinamilo y alcohol cinámico, más una amplia gama de otras sustancias. Contiene además compuestos fenólicos (antioxidantes), es una fuente excelente de fibra, manganeso, hierro y calcio (Naranjo, 1981).

Es utilizada desde tiempos incaicos por las comunidades que habitan estas zonas con fines culinarios, terapéuticos y medicinales (Naranjo, 1981). Sus aplicaciones medicinales, se ha encontrado que *Ocotea quixos* es útil como eupéptico, desinfectante y anestésico local; su corteza ha sido empleada contra la artritis, el catarro crónico y la hidropesía; además se ha reportado su actividad antimicrobiana y antifúngica; sus cualidades como antiplaquetario, antitrombotico y vasorelajante (Noriega, 2008).

Otro uso que se le da al Ishpingo es de calmante o tranquilizante, debido a esta forma de uso se cree que esta planta podría tener propiedades ansiolíticas similares a la de los fármacos recetados en la medicina occidental para disminuir estados de ansiedad. Para este propósito los médicos tradicionales proporcionan al paciente una preparación hecha con la corteza de Ishpingo. La ciencia nos enseña que los componentes volátiles responsables del aroma se encuentran en los aceites esenciales (Ballabeni, 2010).

1.7.2.1. Clasificación taxonómica

***Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm**

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Laurales

Familia: Lauraceae

Género: *Ocotea*

Especie: *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm



Figura 12. Muestra del herbario *Ocotea quixos* - UTPL

Fuente: La autora

CAPITULO II
MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Diseño experimental

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en dos lugares: Laboratorio del Departamento de Química (DQ) de la Universidad Técnica Particular de Loja y Fundación Chankuap. Consta de un componente químico: determinación de la composición química, componente físico: propiedades físicas; y de un componente biológico: determinación de la actividad antibacteriana y potencial antioxidante. La metodología que se llevó a cabo se puntualiza en el siguiente esquema:

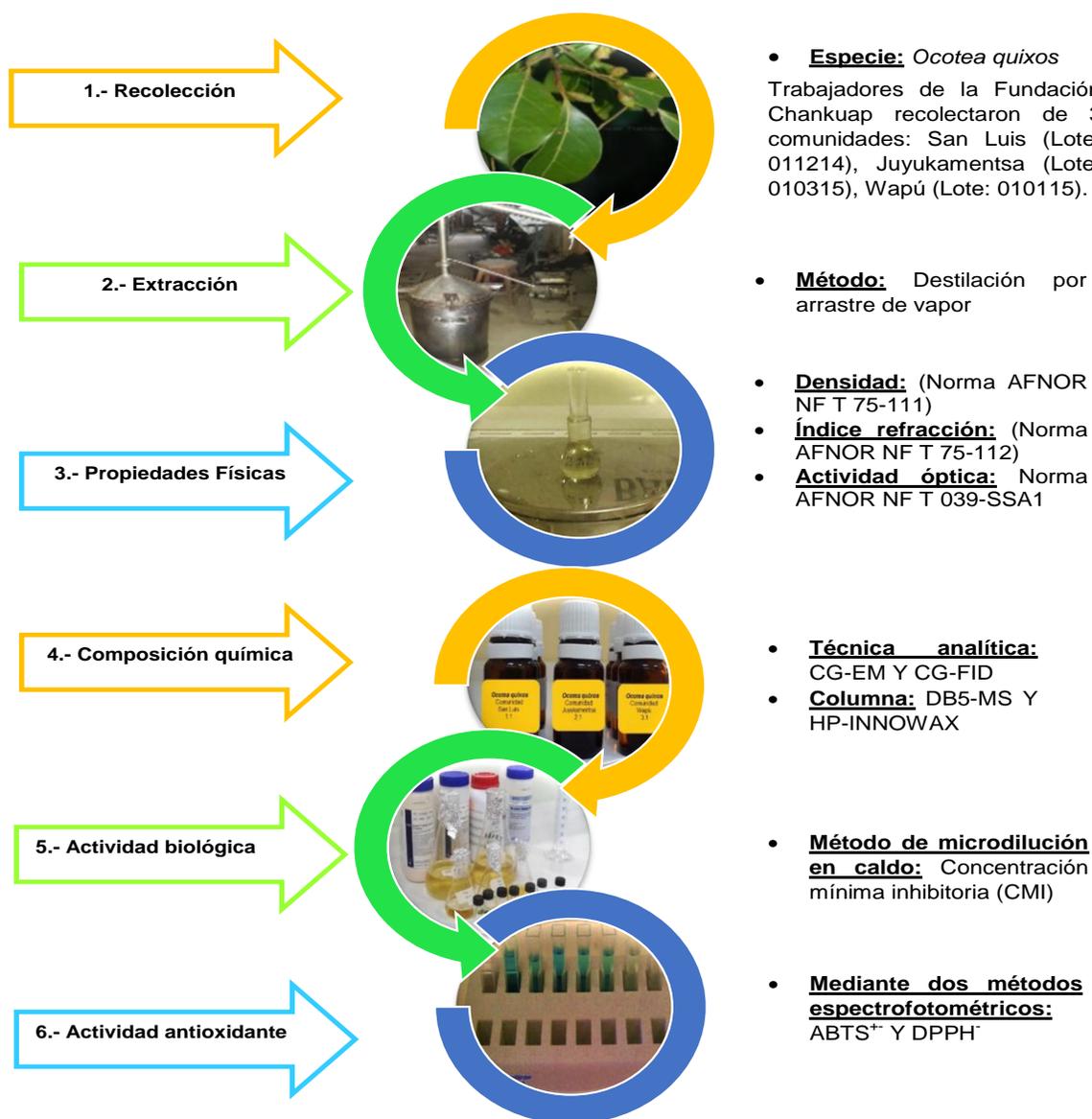


Figura 13. Esquema metodológico

Fuente: La autora

2.2. Recolección de la materia vegetal

La recolección de la materia vegetal se llevó a cabo en la provincia de Morona Santiago en la Amazonia ecuatoriana, en las tres comunidades pertenecientes a la Fundación Chankuap. En la figura 14 y 15 se observa la ubicación geográfica de dicha especie.

- San Luis (coordenadas UTM, Datum WGS-84; Zona 17S; 820883E - 9735767N), Lote: 011214.
- Juyukamentsa (coordenadas UTM, Datum WGS-84; Zona 18S; 250611E - 9699049N), Lote: 010315.
- Wapú (coordenadas UTM, Datum WGS-84; Zona 17S; 825061E - 9759917N), Lote: 010115.

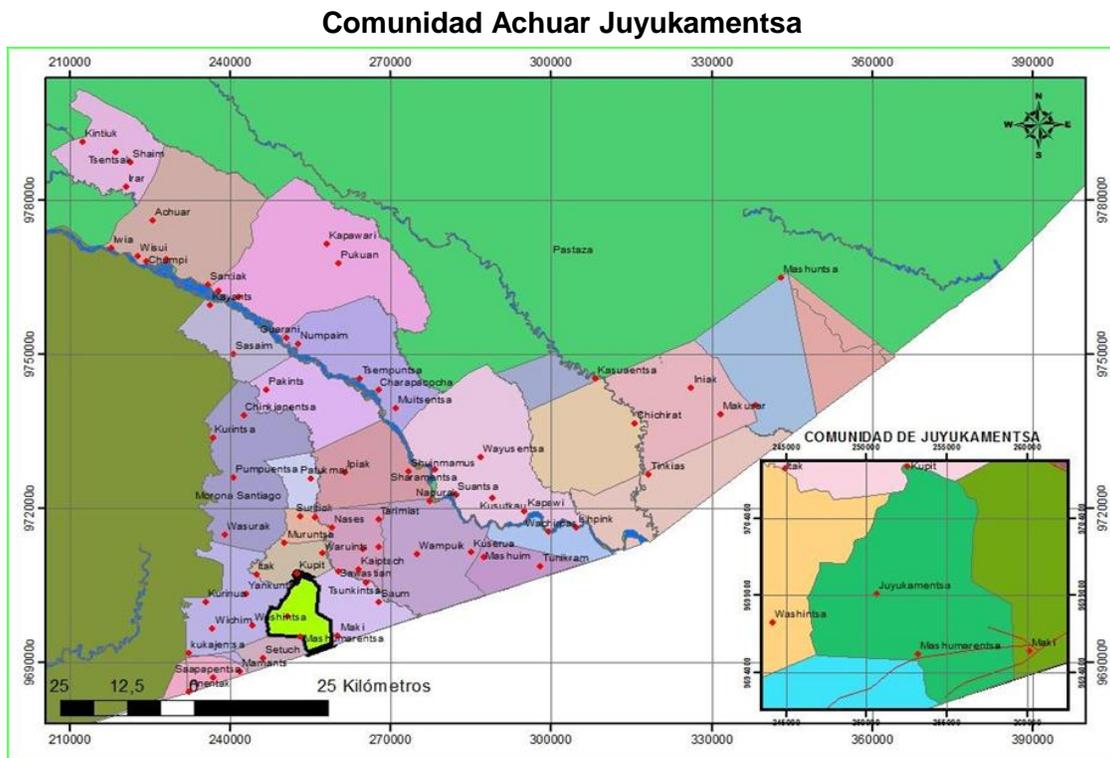


Figura 14. Mapa de ubicación de la comunidad Achuar Juyukamentsa.

Fuente: Ing. Paul Collahuazo, (2012).

Comunidad Achuar Wapú

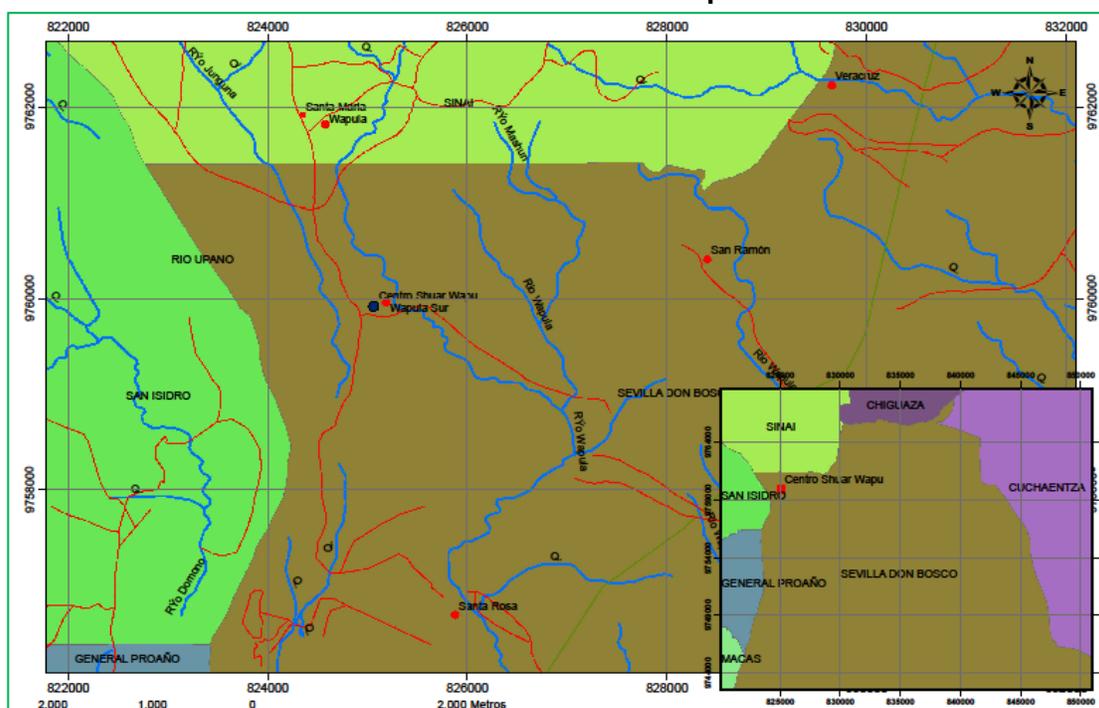


Figura 15. Mapa de ubicación de la comunidad Achuar Wapú.

Fuente: Ing. Paul Collahuazo, (2012).

La materia vegetal fue recolectada por los trabajadores de la Fundación Chankuap, que se encuentran en cada una de las comunidades, la cosecha la realizan seleccionando las hojas maduras, que son aquellas que presentan un color verde más oscuro. Esto lo realizaron arrancando las hojas de las ramillas o cortando las ramas con todas las hojas contenidas, al cortarla siempre dejan un tocón a tres centímetros del tallo, en donde crecerán nuevas ramas. Descartan las hojas que no tienen una madurez adecuada, las que generalmente tienen un color verde más claro y en algunos casos con tonos rojizo (Chankuap, 2006).

La cosecha de las hojas la realizaron cuando la luna se encontraba en fase de luna tierna o creciente, la misma que tiene un efecto potenciador en el crecimiento de nuevos brotes. (Chankuap, 2006).

Luego de la cosecha, las hojas fueron transportadas en el menor tiempo posible al sitio de acopio definitivo para evitar su deterioro y realizar la respectiva destilación (ver figura 16).



Figura 16. Recolección de la especie *Ocotea quixos*.
Fuente: Fundación Chankuap, (2006).

La muestra botánica de la especie *Ocotea quixos*, fue recolectada en la ciudad de Macas, provincia de Morona Santiago; en el terreno del Sr. Ignacio Noguera, cuyo terreno está ubicado en el Barrio La Barranca, en las calles: Avenida de la Ciudad y Desiderio Andramuño. La propiedad está cubierta por vegetación de sucesión secundaria y se encuentra a una altitud de 1.200 m s.n.m. entre las coordenada: 179360 latitud N y 256537 de longitud E; con un clima subtropical (ver figura 17).

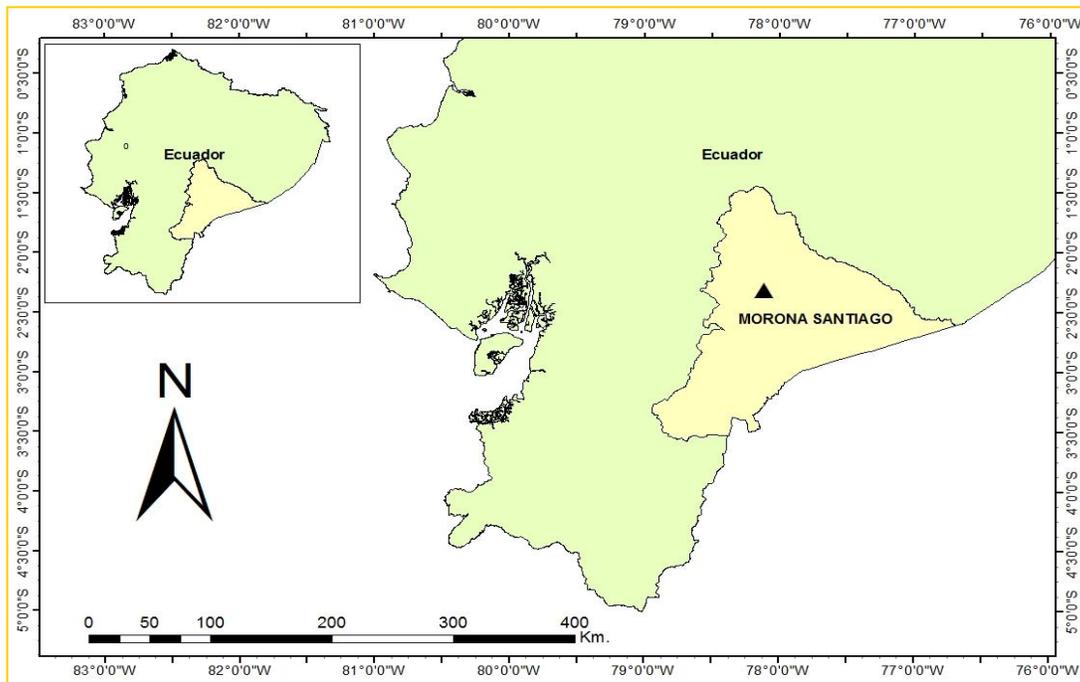


Figura 17. Ubicación del área de recolección de la especie *Ocotea quixos*
Fuente: Mgs. Angel Benitez.

2.2.1. Selección de la materia vegetal

Posterior a la recolección los trabajadores de la Fundación Chankuap, trasladaron la materia vegetal a las 3 Comunidades de estudio: Comunidad San Luis, Comunidad Juyukamentsa, Comunidad Wapú, para continuar con la selección de la materia vegetal más apta para la extracción del aceite esencial.

Eliminaron todo tipo de impurezas, hojas secas, material vegetal que este en descomposición, restos vegetales perteneciente a otras especies, tierra, insectos, o con presencia de enfermedad; eliminando cualquier posible contaminación.

2.2.2. Determinación de la Humedad

Se utilizaron las hojas de *Ocotea quixos* en estado fresco y se procedió a realizar en el Laboratorio del Departamento de Química (DQ) de la Universidad Técnica Particular de Loja:

1. Se cortó en trozos muy pequeños las hojas de *Ocotea quixos*, con el fin de obtener una muestra más compacta y homogénea.
2. Posterior a ello se colocó aproximadamente 1 g de la materia vegetal en cápsulas de porcelana.
3. Luego las cápsulas con el material vegetal fueron colocadas en la lámpara ULTRA X por 45 minutos.
4. Seguidamente a ello se colocó en el desecador por 5 minutos.
5. Finalmente se registró el peso y se expuso nuevamente el materia vegetal a la lámpara por 15 minutos con la finalidad de eliminar el agua presente en la especie estudiada, este proceso se realizó de 3 a 4 veces hasta que el peso se mantenga estable.

La determinación de la humedad (figura 18), se realizó por triplicado con el objetivo de obtener resultados confiables.

Una vez finalizado todo el procedimiento se realizó el cálculo respectivo para determinar la Humedad (Anexo I).

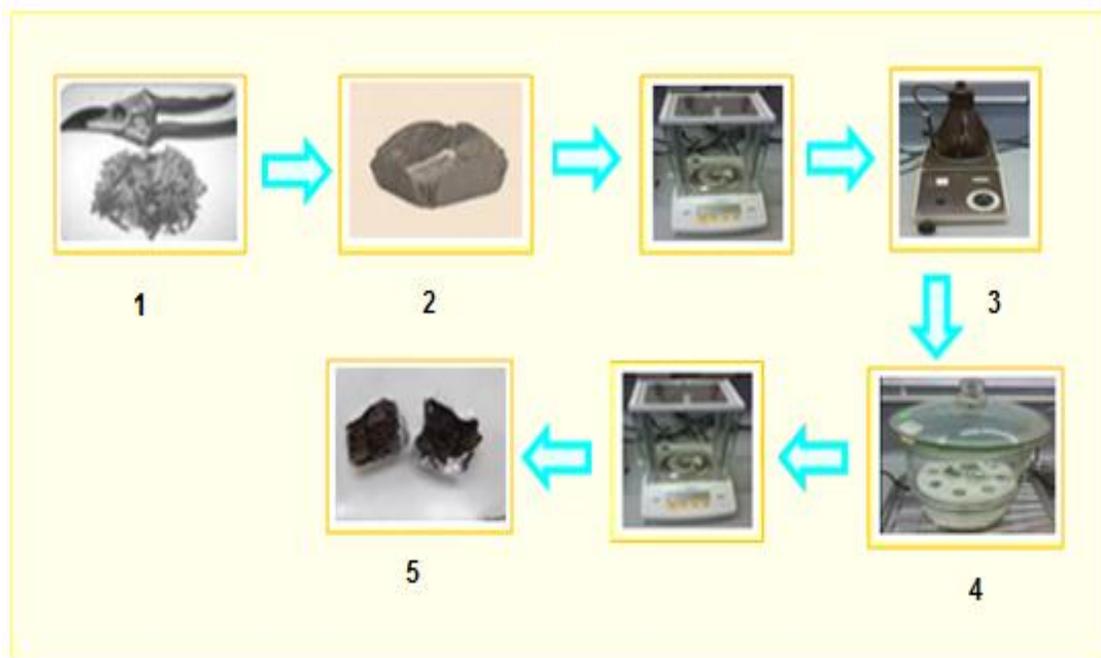


Figura 18. Proceso para determinar la humedad
Fuente: La autora

2.3. Extracción del aceite esencial

El aceite esencial de *Ocotea quixos*, se realizó en cada una de las Comunidades de estudio: San Luis, Juyukamentsa, Wapú, pertenecientes a la Fundación Chankuap; se efectuó por el método de destilación por arrastre con vapor de agua durante un tiempo mínimo de 3 a 4 horas información proporcionada por la Fundación Chankuap.

El equipo utilizado en la destilación de la materia vegetal consta de un tanque de acero inoxidable que posee una tapa del mismo material adaptado para que cierre herméticamente (figura 19). Este equipo de destilación está colocado sobre una fuente de calor.

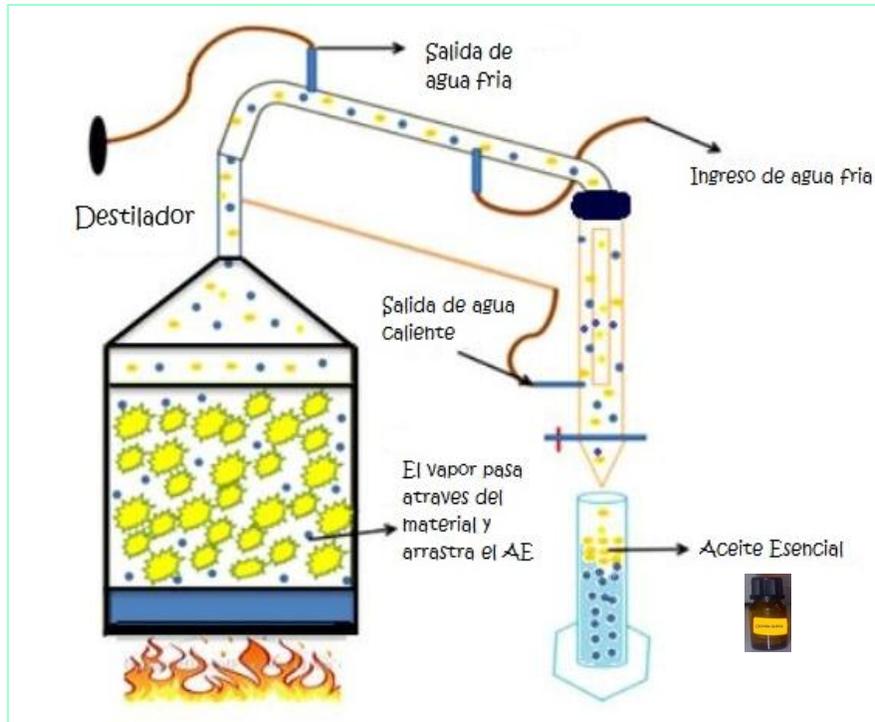


Figura 19. Explicación gráfica del funcionamiento de un destilador.
Fuente: La autora

En el tanque de acero se coloca aproximadamente 20 litros de agua, hasta llegar al límite de la placa perforada, en la cual se coloca la materia vegetal troceada y bien espaciada, para que el vapor de agua pueda circular adecuadamente alrededor de toda la materia vegetal. En el borde del tanque de acero se coloca un sello de agua para evitar que haya escapes de vapor de agua, posteriormente se coloca la tapa de acero y se cierra herméticamente. Las mangueras de entrada y salida se colocan al tapar el tanque, finalmente en el cuello de cisne se coloca el florentino.

Al terminar de armar todo el equipo necesario para la destilación, se expone la base del tanque a la fuente de calor; cuando se observa la primera gota de agua en el florentino, se abren las llaves de agua para el refrigerante para que se produzca el proceso de condensación es decir el paso del estado gaseoso al líquido de la esencia y sea conducido hacia el florentino donde se separa por diferencia de densidades, el aceite obtenido permanece en el florentino hasta que termine la destilación (ver figura 29 y 21).



Figura 20. Destilador de la Fundación Chankuap
Fuente: La autora



Figura 21. Destilador de las Comunidades de la Fundación Chankuap
Fuente: La autora

2.3.1. Recolección del aceite esencial

Posterior al enfriamiento del aceite esencial en el florentino, se eliminó el exceso de agua y se recogió el aceite en una probeta para medir el volumen. Finalmente, el aceite esencial de *Ocotea quixos*, fue transportado al centro de acopio “Fundación Chankuap” para su respectivo envasado y almacenamiento.

2.3.2. Envasado y almacenamiento del aceite esencial

El aceite esencial recolectado por los trabajadores de cada Comunidad, fue envasado en frascos de vidrio de color ámbar para protegerlo de la luz, además el frasco debe contener una tapa hermética. Se rotuló el frasco y se almacenó en el congelador a 4°C para conservarlo adecuadamente para posteriores análisis.

La etiqueta colocada en el contenedor de aceite debe contener información como: nombre o iniciales de la planta, volumen de aceite, nombre de la comunidad o código que identifique el número de destilación (ver figura 22).



Figura 22. Aceite envasado y rotulado
Fuente: La autora

2.4. Determinación de la composición química del aceite esencial

La composición química del aceite esencial de *Ocotea quixos* se determinó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

El equipo dispone de una base de datos “software MSD-Chem station D.01.00 SP1” y un detector de ionización de llama (FID) provisto de un generador de hidrógeno (Gas Generator 9150 Packard).

Se utilizó dos tipos de columnas capilares, una columna no polar que fue DB-5MS y una columna polar que fue HP-INNOWAX. La columna no polar está recubierta internamente de fenilmetilpolisiloxano 5% y la columna polar tiene un recubrimiento interno de polietilenglicol. La temperatura límite para la columna DB-5MS es de 360°C y para la columna HP-INNOWAX la temperatura es de 270°C.

Las muestras de aceites esencial libres de agua que fueron analizadas en el cromatógrafo de gases, se prepararon colocando 990 μL de diclorometano con 10 μL de aceite esencial *Ocotea quixos* en un vial de cromatografía, el vial debe contener un código que indique de que muestra procede la alícuota. La solución tiene una concentración al 1%. Previamente al inyectar la muestra en el cromatógrafo se lava la jeringa con el mismo diluyente que utilizamos para la muestra, es decir diclorometano para evitar que en la corrida cromatografía aparezcan trazas de la muestra corrida anteriormente.

2.4.1. Corrida cromatográfica en la columna no polar DB5-MS acoplado a espectrometría de masas

Además de correr las muestras en esta columna, se analizó también una mezcla de hidrocarburos partiendo desde el decano (C₁₀) hasta el pentacosano (C₂₅). Este conjunto de hidrocarburos comercialmente es conocido como TPH-6RPM de CHEM SERVICE.

Los parámetros operacionales de la corrida cromatográfica en la columna DB5-MS, se exponen en la figura 23. Los hidrocarburos y todas las muestras del aceite esencial *Ocotea quixos* fueron tratadas siguiendo los mismos parámetros mencionados anteriormente.

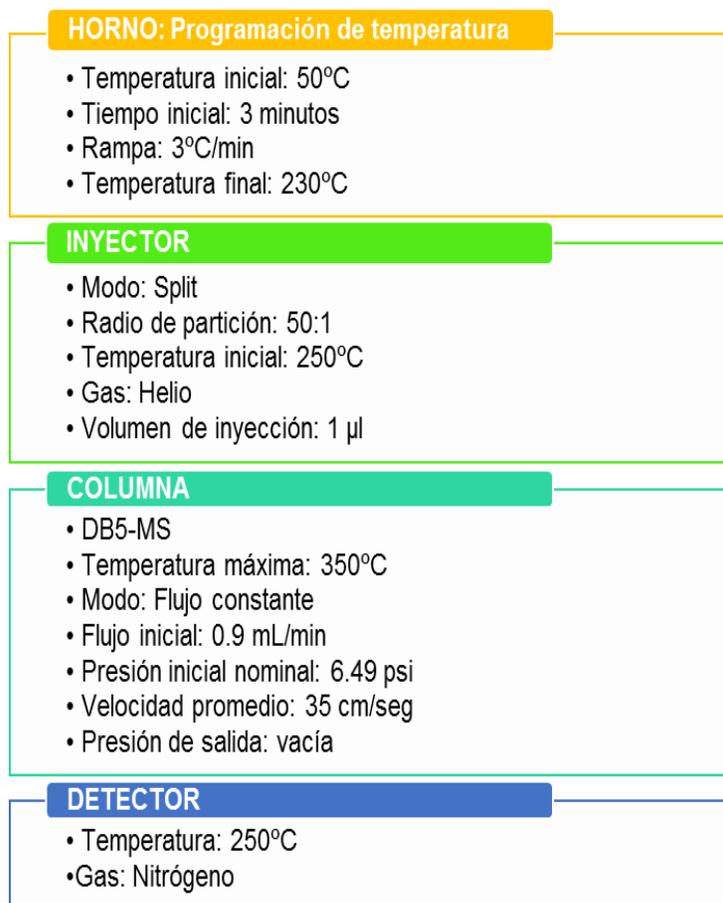


Figura 23. Parámetros operacionales de la corrida cromatográfica en la columna no polar DB5-MS.

Fuente: Scientia Chromatographica Vol.2, N°1, 29-47. Instituto Internacional de Cromatografía ISSN 1984-4433, (2010).

2.4.2. Corrida cromatográfica en la columna polar HP-INNOWAX acoplado a espectrometría de masas

Al igual que en la columna no polar, en esta columna también se inyectó hidrocarburos, siendo los mismos que se utilizaron en el análisis anterior.

Además las muestras del aceite esencial *Ocotea quixos* fueron preparadas siguiendo la metodología descrita anteriormente (sección 2.4.). Los parámetros bajo los cuales se inyectó la muestra en el cromatógrafo se describen en la figura 24.

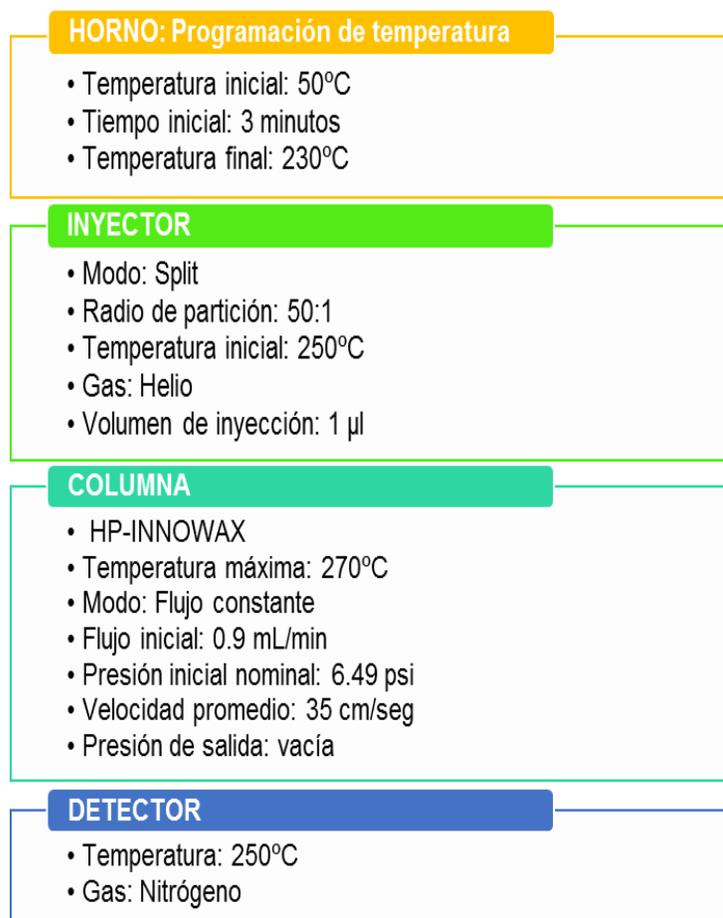


Figura 24. Parámetros operacionales de la corrida cromatográfica en la columna polar HP-INNOWAX.

Fuente: Scientia Chromatographica Vol.2, N°1, 29-47. Instituto Internacional de Cromatografía ISSN 1984-4433, (2010).

2.4.3. Identificación cualitativa y cuantitativa de los compuestos químicos del aceite esencial de *Ocotea quixos*, tanto en la columna polar como en la columna no polar utilizadas

La composición química del aceite esencial comprende tres pasos vitales: 1). Separación de los componentes, 2). Identificación de los componentes por parte del equipo y 3). Cuantificación de los componentes determinados (Rubiolo, 2010).

El resultado final que obtuvimos fue un cromatógrama en el cual se visualiza los compuestos que fueron detectados por el equipo, esta representación gráfica se da por la señal producida en el detector mediante el tiempo y el volumen de elución. Es así que la identificación se da por la posición de picos respecto al tiempo en dicha representación gráfica; mientras que el área de cada pico nos permite analizar la concentración de cada compuesto mediante análisis cuantitativo.

Para el análisis manual de estos picos, se integró el cromatógrama mediante el sistema de integración Chemstation Integrator-autoint 1. e. que es propio del equipo de cromatografía de gases. Posteriormente a realizar la integración de los picos, se determinó el índice de Kovats de cada uno de ellos partiendo del índice de retención de los mismos.

El índice de retención se define como la relación del tiempo de retención de un soluto con los tiempos de retención de los alcanos lineales (hidrocarburos inyectados previamente) (D. Harris, 2007).

Los índices de Kovats experimentales de cada compuesto arrojado por el equipo, se calcula comparando los tiempos de retención de los hidrocarburos anteriormente inyectados con los tiempos de retención de los compuestos aplicando la siguiente fórmula:

$$IK = 100n + 100 * \frac{t_{RX} - t_{Rn}}{t_{RN} - t_{Rn}}$$

Dónde:

IK: Índice de retención de Kovats;

n: Número de átomos de carbono en el n-alcano;

t_{RX}: Tiempo de retención del compuesto analizado, que eluye en el centro de n- alcanos;

t_{Rn}: Tiempo de retención n-alcano que eluye antes del compuesto analizado;

t_{RN}: Tiempo de retención de n-alcano que eluye después del compuesto analizado.

Después de haber calculado el índice de Kovats de cada compuesto detectado en las columnas polar y no polar; dichos valores se compararon con los reportados por Adams (2009), bases de datos electrónicas como Nist (National Institute of Standards and Technology), Phero-base (Database of Insect Pheromones and Semiochemicals) y Taylor and Francis (revistas en línea de tres de las principales editoriales del mundo: Taylor & Francis, Prensa Routledge y Psicología). Se tomó en cuenta que los datos de referencia y los datos experimentales de los índices de Kovats, no tengan una diferencia mayor a 20 unidades.

Además de analizar un compuesto mediante la comparación de los índices de Kovats también se puede utilizar como referencia el espectro de masas característico de cada compuesto, este espectro posee la información estructural de cada analito analizado. Los compuestos que el quipo analiza también poseen un número de registro CAS, que facilita aún más la búsqueda del material bibliográfico de referencia.

2.4.4. Corrida cromatográfica en la columna no polar DB5-MS acoplada al detector de ionización de llama (FID)

La metodología llevada a cabo con el detector de ionización de llama (FID), es igual a la metodología que se llevó a cabo en la cromatografía de gases acoplada al espectrómetro de masas. Las muestras fueron tratadas de igual manera antes de ser analizadas en el cromatógrafo; de igual manera también se inyectó hidrocarburos, previo a la inyección de las muestras de aceite esencial de *Ocotea quixos*. Lo que difiere son los parámetros en los que operó el cromatógrafo, los cuales se exponen en la figura 25.

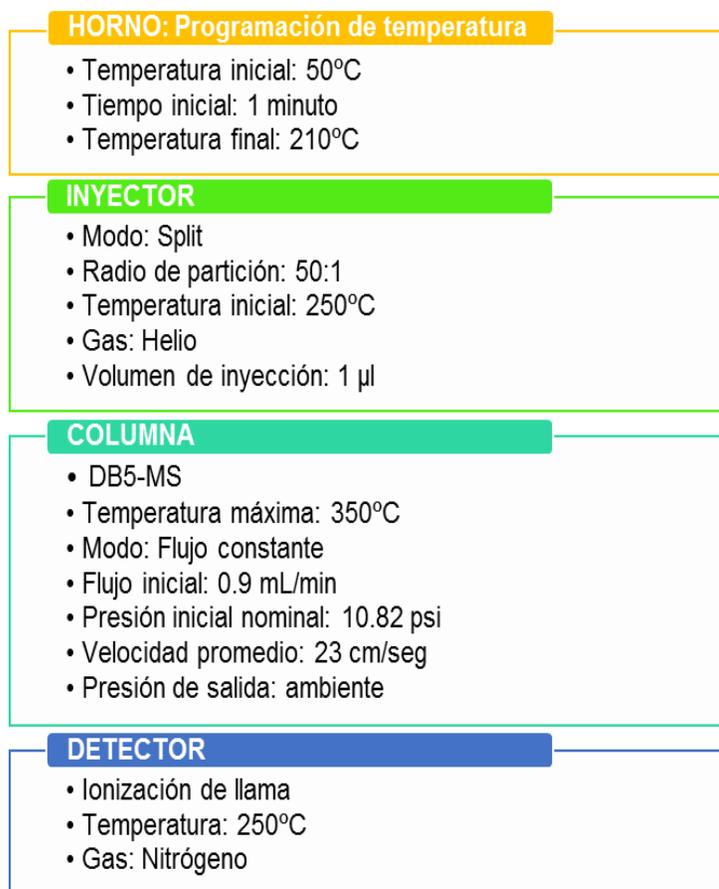


Figura 25. Parámetros operacionales de la corrida cromatográfica en la columna no polar DB5-MS acoplada a un detector de ionización de llama (FID).

Fuente: Scientia Chromatographica Vol.2, N°1, 29-47. Instituto Internacional de Cromatografía ISSN 1984-4433, (2010).

2.4.5. Corrida cromatográfica en la columna polar HP-INNOWAX, acoplada al detector de ionización de llama (FID)

Las muestras inyectadas tuvieron el mismo tratamiento que en las cromatografías realizadas anteriormente y también se inyectó los hidrocarburos, de la misma forma que se llevó a cabo con la columna no polar.

Los parámetros operacionales utilizadas en el tratamiento de estas muestras son las siguientes, (ver figura 26).

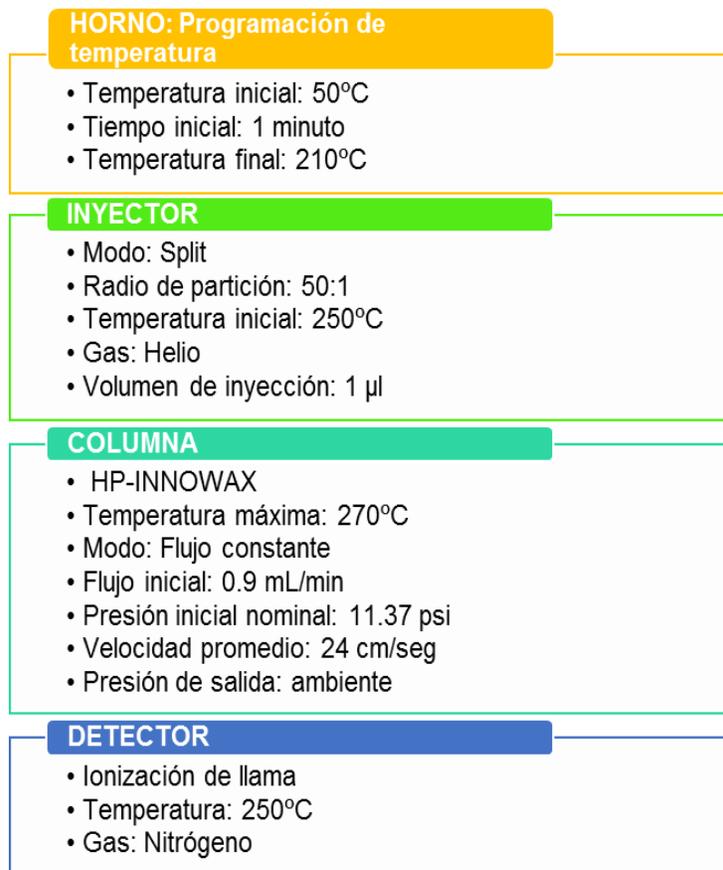


Figura 26. Parámetros operacionales de la corrida cromatográfica en la columna polar HP-INNOWAX acoplada a un detector de ionización de llama (FID).

Fuente: Scientia Chromatographica Vol.2, N°1, 29-47. Instituto Internacional de Cromatografía ISSN 1984-4433, (2010).

2.4.6. Cuantificación de los compuestos identificados mediante cromatografía de gases acoplada al detector de ionización de llama (FID), en ambas columnas polar y no polar

Posteriormente a la elución de los compuestos, se procedió a la cuantificación de los mismos. Los datos de hidrocarburos obtenidos en masas y en FID se utilizaron para calcular una ecuación de la recta con la cual se calcula los tiempos de retención de cada compuesto. Estos tiempos de retención calculados se comparan con los tiempos de retención que el equipo arrojó de cada muestra; los tiempos de retención se van ajustando a los compuestos encontrados en cada columna, polar y no polar.

2.5. Determinación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Ocotea quixos*

La actividad antibacteriana del aceite esencial *Ocotea quixos* fue evaluada frente a cepas bacterianas mediante el método de microdilución en caldo. Este análisis se basó en la inhibición del crecimiento de microorganismos, mediante diluciones a diferentes concentraciones, reportándose finalmente la concentración mínima inhibitoria (CMI) la misma que se define como la concentración más baja que puede tener un antimicrobiano al inhibir el crecimiento de un microorganismo después de su incubación (Andrews, 2001).

Se utilizó siete cepas bacterianas patógenas, para determinar si el aceite de *Ocotea quixos* tiene actividad biológica.

Las cepas utilizadas en esta prueba son de American Type Culture Collection (ATCC), son de referencia internacional y forman parte de una batería mínima de cepas que se emplean para este tipo de estudio (Martínez et al, 1997). En la tabla 1 se detallan los microorganismos de prueba.

Tabla 1. Microorganismos de prueba.

| MICROORGANISMOS EMPLEADOS | |
|---|---|
| Bacterias Gram-negativas | Bacterias Gram-positivas |
| * <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853 | * <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 |
| * <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 9997 | * <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 |
| * <i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427 | |
| * <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | |
| * <i>Salmonella typhimurium</i> LT2 | |

Fuente: La autora

2.5.1. Microdilución en caldo

El procedimiento de microdilución en caldo, es un método que posee la ventaja de utilizar volúmenes mínimos de la muestra a analizar; se utiliza una placa que contiene 96 pocillos, en los cuales se realizan diluciones seriadas y las muestras a utilizar deben ser preparadas con anterioridad (Jorgensen, 1998).

2.5.1.1. Preparación de la muestra del aceite esencial

La muestra de aceite esencial que se va a emplear en este ensayo debe estar diluida y con fines de bioprospección se emplea una solución 100 μ L del aceite esencial de *Ocotea quixos* en 400 μ L de Dimetil sulfóxido (ver figura 27).



Figura 27. Dilución del aceite esencial y solvente.

Fuente: La autora

2.5.1.2. Preparación del cultivo bacteriano, “Cultivo Overnight”

Previo a la preparación del inóculo bacteriano, se prepararon los caldos de cultivo específicos para cada cepa bacteriana (figura 28). Para la siembra en el caldo de cultivo específico, se utilizaron 30 μ L de cada cepa bacteriana, almacenadas en una reserva criogénica a -80°C . Luego de realizar la siembra de cada cepa se procedió a incubar los medios por 14 horas a 16°C , por esta razón el cultivo se denomina overnight.



Figura 28. Caldos de cultivos para las diferentes cepas bacterianas.

Fuente: La autora

Las condiciones necesarias para el crecimiento de cada bacteria y los medios de cultivo necesarios se detallan en la tabla 2.

Tabla 2. Medios de cultivo y condiciones de incubación necesarias para cada bacteria

| BACTERIAS | MEDIO DE CULTIVO | CONDICIONES DE INCUBACIÓN |
|------------------------|--------------------------------|---------------------------|
| Pseudomonas aeruginosa | Caldo Tripticasa Soya | |
| Klebsiella pneumoniae | Caldo Tripticasa Soya | |
| Proteus vulgaris | Caldo Mueller Hinton | Temperatura: 37°C |
| Escherichia coli | Caldo Tripticasa Soya | Tiempo: 14-16 horas |
| Salmonella typhimurium | Caldo Nutritivo Oxoid | |
| Enterococcus faecalis | Caldo Infusión Cerebro-Corazón | |
| Staphylococcus aureus | Caldo Tripticasa Soya | |

Fuente: American Type Culture Collection

2.5.1.3. Suspensión del inóculo bacteriano

Del cultivo overnight incubado la noche anterior se tomaron 150 a 300 µL a un tubo que contenía 7 mL de suero fisiológico estéril ajustando el inóculo a una concentración equivalente a 0,5 en la escala de MacFarland.

De la suspensión anterior se tomaron 140 µL y se inóculo en un vial 6,86 mL de Caldo Mueller Hinton, ajustando a una población bacteriana de 2×10^6 UFC/mL y de esta solución final se transfirieron 100 µL a la placa de cultivo para completar un volumen final de 200 µL, de forma que en cada pocillo la concentración final fue de 5×10^5 UFC/mL.

2.5.1.4. Concentración mínima inhibitoria antibacteriana (CMI)

La prueba se realizó en placas esterilizadas de 96 pocillos, mediante diluciones dobles seriadas; del caldo Mueller Hinton se transfirieron 180 µL a cada pocillo de la primera fila de la placa, en los pocillos restantes se colocaron 100 µL del mismo caldo. A continuación se colocaron 20 µL de la dilución de aceite esencial más Dimetil sulfóxido solo a los pocillos de la primera fila de la placa; excepto a los tres últimos pocillos los cuales van a contener: el primero, 200 µL de caldo Mueller Hinton como control de esterilidad, el segundo, un control negativo con 180 µL de caldo Muller Hinton + 20 µL de DMSO y ultimo un control positivo, que es una mezcla de 180 µL de caldo Muller Hinton + 20 µL de Tetraciclina de 5 mg/mL para todas las bacterias. (Ramirez, 2009).

Para que el medio y la solución de aceite se homogenicen correctamente, se pipeteó de 15 a 20 veces la solución de todos los pocillos de la primera fila y se tomaron 100 μL de la solución homogenizada, luego se diluyó con 100 μL del pocillo siguiente y se continuó este procedimiento hasta obtener 8 diluciones consecutivas; en la última fila de la placa se desechan los 100 μL sobrantes, así la concentración final de cada solución de medio y aceite contenida en cada uno de los pocillos de la placa fue de 1000 a 7,81 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (ver figura 29). El mismo procedimiento fue aplicado con el control positivo, negativo y el control de esterilidad.

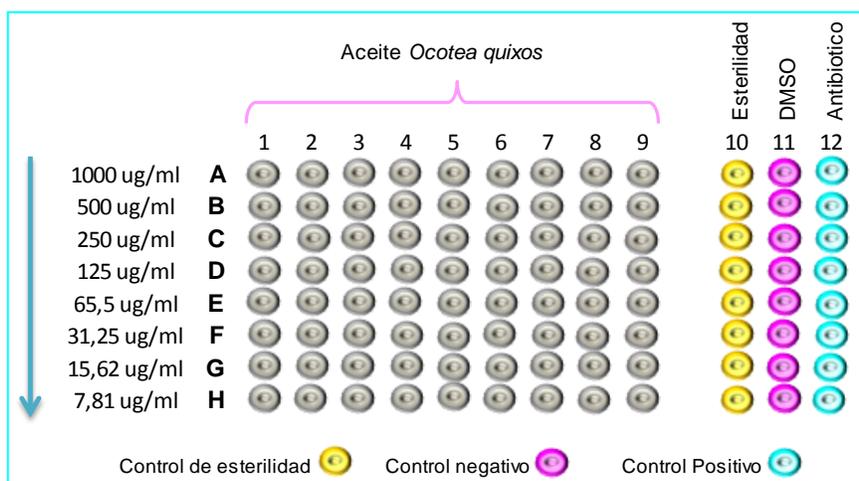


Figura 29. Modelo de Microplaca TC96 para bacterias con las concentraciones del aceite ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

Fuente: La autora

Cabe recalcar que en la concentración mínima inhibitoria antibacteriana el límite de diluciones que se realizaron fue de 8 diluciones es decir solo hasta la fila H.

2.5.1.5. Lectura de las placas e interpretación de los resultados

Posteriormente a retirar las placas de microdilución de la incubadora, se observa detalladamente cada caja utilizando luz reflejada, así podremos examinar el control de esterilidad para descartar cualquier tipo de contaminación; si se diera el caso de que en el control de esterilidad se evidencia contaminación la prueba de CMI no puede ser interpretada y se debe repetir en su totalidad.

Por otro lado el control positivo nos indica que si habido un crecimiento adecuado de las bacterias en la placa de microdilución. El crecimiento en este pocillo se nota como turbidez o un pellet de > 2 mm.

Finalmente en el control negativo no se debe evidenciar ningún rastro de crecimiento, por el contrario debe estar claro y sin turbidez.

Para determinar en qué punto se encuentra la concentración mínima inhibitoria de una muestra, es decir la concentración más baja a la que puede actuar el aceite como antimicrobiano, se debe leer el último pocillo en el cual se distinga turbidez del medio. Es un proceso manual sin ayuda de ningún aparato óptico.

2.6. Determinación de la actividad antioxidante del aceite esencial de *Ocotea quixos*

La evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial de *Ocotea quixos*, se obtuvo mediante dos métodos espectrofotométricos: 1). Capacidad de atrapamiento del catión-radical ABTS⁺ y 2). Radical DPPH.

Las mediciones se determinaron según la absorbancia que leía el equipo de cada muestra. Se utilizó un espectrofotómetro Genesys 10 UV-VIS Scanning 333907. Las longitudes de onda empleadas en cada método fueron 734 nm y 515nm respectivamente.

2.6.1. Preparación de la muestra del aceite esencial de *Ocotea quixos*

Para analizar la muestra se trabajó con 5 mg del aceite esencial *Ocotea quixos*, con el que se procedió a realizar las diluciones respectivas, la primera dilución que se realizó fue partiendo de una concentración máxima inicial de 1000 ppm, hasta llegar a una concentración mínima final de 5 ppm, el blanco únicamente contiene metanol (ver figura 30).



Figura 30. Frascos color ámbar con las diferentes concentraciones que van a ser utilizadas.

Fuente: La Autora

Los volúmenes respectivos de cada dilución deben ser los necesarios para analizar cada muestra por triplicado. En la tabla 3 se explica cómo se realizó cada dilución y cabe destacar que el volumen final de cada dilución es de 5000 μL .

Tabla 3. Volumen necesario para cada dilución en Aceite

| Volumen necesario para cada dilución | |
|---|---|
| Concentración | Volumen de cada dilución |
| Concentración 1 (1000 ppm) | 5000 μL MeOH + 5 mg de aceite esencial |
| Concentración 2 (500 ppm) | 2500 μL MeOH + 2500 μL de concentración 1 |
| Concentración 3 (100 ppm) | 4000 μL MeOH + 1000 μL de concentración 2 |
| Concentración 4 (50 ppm) | 2500 μL MeOH + 2500 μL de concentración 3 |
| Concentración 5 (25 ppm) | 2500 μL MeOH + 2500 μL de concentración 4 |
| Concentración 6 (12.5 ppm) | 2500 μL MeOH + 2500 μL de concentración 5 |
| Concentración 7 (5 ppm) | 3000 μL MeOH + 2000 μL de concentración 6 |
| Concentración 8 (0 ppm) | 5000 μL MeOH |

Fuente: La autora

2.6.2. Método Capacidad de atrapamiento del catión – radical ABTS^{•+}

Se empleó la técnica desarrollada por (Arnao, 2001), , con modificaciones de (Thaipong, 2006). El método se basa en la capacidad de diferentes compuestos para atrapar el radical catión ABTS^{•+}. Con este método se puede medir la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica (Barrero, 2004).

El radical catiónico de color verde azulado, se genera por la interacción del ABTS con persulfato de potasio. Se evalúa la capacidad antioxidante de la muestra en función de la habilidad para disminuir la concentración del radical, es decir el grado de decoloración que se cuantifica midiendo la reducción de la absorbancia a una longitud de onda de 734nm (Pérez, 2013).

2.6.2.1. Solución patrón y de trabajo de ABTS⁺

Para realizar la solución patrón se pesó 40.6 mg de ABTS⁺ y 7.028 mg de persulfato de potasio (K₂S₂O₈), luego se aforó cada uno de los reactivos con 10 mL de agua destilada. Estos dos reactivos se mezclaron y se dejó reposar por 12 horas protegidos de la luz.

Transcurridas las 12 horas de reacción, se tomó de esta solución una alícuota de 1 mL añadida a 60 mL de metanol, hasta obtener una absorbancia de $1,1 \pm 0,02$ a 734 nm. Si la lectura de la absorbancia es menor al resultado que desea obtener se añade más solución de trabajo, si por el contrario la lectura es mayor a la esperada se debe añadir metanol.

Previamente a realizar la lectura de la absorbancia de la solución de trabajo se debe encerrar el equipo con metanol.

2.6.2.2. Estándar Trolox y BHT para ABTS⁺

Trolox (ácido 6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametil-croman-2-carboxílico) y BHT (butil hidroxitouleno), fueron utilizados como estándares de referencia para determinar la capacidad antioxidante del aceite esencial *Ocotea quixos*. Trolox equivalente es un análogo sintético de la vitamina E, que se mide en unidades llamadas Trolox equivalente (Pellegrini, 1999).

Para realizar el estándar de Trolox y BHT, se debe pesar 25 mg de reactivo de Trolox y 11,02 mg de reactivo BHT, se aforan los dos a 50 mL con metanol puro. En la

tabla 4, se explica cómo se realizó cada dilución, cabe destacar que el volumen final de cada uno es de 5000 μL .

Tabla 4. Volumen necesario para cada dilución en Trolox y BHT

| Volumen necesario para cada dilución Trolox y BHT | |
|--|---|
| Concentración | Volumen de cada dilución |
| Concentración 1 (1000 ppm) | 5000 μL Trolox/BHT |
| Concentración 2 (800 ppm) | 1000 μL MeOH + 4000 μL de concentración 1 |
| Concentración 3 (600 ppm) | 1250 μL MeOH + 3750 μL de concentración 2 |
| Concentración 4 (450 ppm) | 1250 μL MeOH + 3750 μL de concentración 3 |
| Concentración 5 (300 ppm) | 1670 μL MeOH + 3330 μL de concentración 4 |
| Concentración 6 (150 ppm) | 2500 μL MeOH + 2500 μL de concentración 5 |
| Concentración 7 (25 ppm) | 4170 μL MeOH + 830 μL de concentración 6 |
| Concentración 8 (0 ppm) | 5000 μL MeOH |

Fuente: La autora

2.6.2.3. Lectura de las muestras diluidas del aceite esencial

Para determinar si el aceite esencial de *Ocotea quixos* posee capacidad antioxidante, se debe evaluar cada muestra con suma precisión, cada dilución que se realizó anteriormente del aceite esencial así como cada alícuota de Trolox deben ser tratadas de la misma manera.

Para establecer la absorbancia de cada alícuota y de cada dilución de aceite esencial de *Ocotea quixos*, se debe colocar en un vial previamente rotulado, 150 μL de cada alícuota de Trolox o de cada dilución de aceite esencial más 2850 μL de la solución de trabajo previamente ajustada a la absorbancia establecida por el método, llevando el volumen a 3 mL.

Posteriormente a la mezcla de la alícuota con la solución de trabajo se deja reposar los viales por dos horas en la oscuridad y después se lee la absorbancia a 734 nm. Previamente a cada lectura se comprueba que el encerado este correcto, para que no altere la lectura de nuestras muestras. Este procedimiento se realizó por triplicado para cada concentración de aceite esencial (ver figura 31).



Figura 31. Muestras del aceite *Ocotea quixos*, analizadas mediante el método ABTS^{•+}
Fuente: La autora

2.6.3. Método Radical DPPH[•]

Se realizó en base a la técnica desarrollada y descrita por (Brand-Williams, 1995), con modificaciones de (Thaipong, 2006). El método de DPPH es considerado como un método rápido, simple, preciso, económico, útil para medir la capacidad antioxidante de diferentes compuestos por la habilidad para atrapar el radical libre (Marinova, 2011). La decoloración del radical se determina a 515 nm y la cuantificación se realizó, empleando soluciones patrón de Trolox y BHT.

2.6.3.1. Solución patrón y de trabajo para DPPH[•]

La solución patrón se realizó pesando 24 mg de reactivo de DPPH y aforando a 100 mL con metanol puro. De esta solución se transfirió 10 mL a un vaso de precipitación con 45 mL de metanol puro para obtener la solución de trabajo. De esta última solución se midió la absorbancia a una longitud de onda de 515 nm, la lectura de la absorbancia establecida previamente por el método es de $1,1 \pm 0,02$. Si esta es mayor se ajusta añadiendo metanol puro y si por el contrario es menor se ajusta añadiendo más solución patrón.

Previo a la lectura de la absorbancia de la solución de trabajo se encera el equipo con metanol, ya que este es el disolvente que estamos usando en todo el método.

2.6.3.2. Estándar Trolox y BHT para DPPH

Como ya se mencionó previamente Trolox y BHT fueron utilizados como estándares de referencia para determinar la capacidad antioxidante del aceite esencial *Ocotea quixos* para ambos métodos.

Para realizar el estándar de Trolox y BHT, se debe pesar 25 mg de reactivo de Trolox y 11,02 mg de reactivo de BHT y se aforan los dos a 100 mL con metanol puro.

2.6.3.3. Lectura de las muestras diluidas del aceite esencial

Al igual que al realizar la parte experimental del método de ABTS, en este método también se utilizó las muestras diluidas a diferentes concentraciones del aceite esencial de *Ocotea quixos*. Además, las alícuotas del estándar de Trolox reciben el mismo tratamiento que las muestras diluidas

Cabe destacar que la parte experimental se realizó por triplicado de cada muestra diluida. Entonces, de cada muestra se transfirió 150 μ L a un vial previamente rotulado y si no es de color ámbar, debe estar protegido de la luz. Este vial contiene también 2850 μ L de la solución de trabajo de DPPH. El volumen final de cada vial debe ser de 3 mL, estos viales se dejan reposar por 24 horas en la oscuridad y posteriormente se lee la absorbancia de cada muestra a 515 nm (ver figura 32).

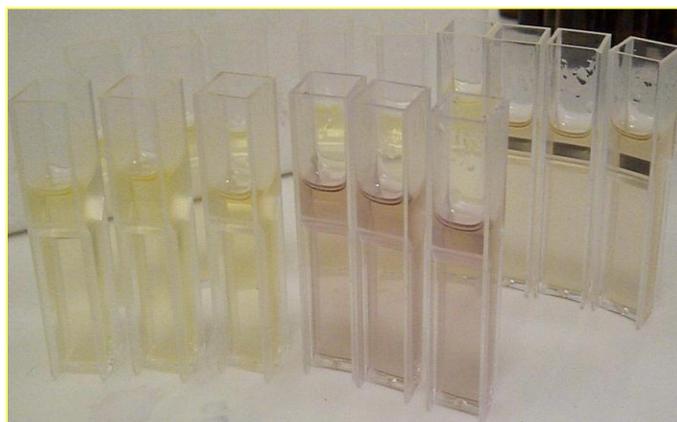


Figura 32. Muestras del aceite *Ocotea quixos*, analizadas mediante el método DPPH
Fuente: La autora

2.6.4. Análisis de los datos obtenidos mediante ABTS⁺ y DPPH[•]

Las absorbancias determinadas para cada muestra mediante el método ABTS⁺ y DPPH[•], permiten calcular el porcentaje de inhibición de cada uno de los radicales. En la figura 33 se observa la fórmula utilizada para calcular el % de inhibición.

$$\% \text{ Inhb.} = \left\{ \left(\frac{\text{Abs. blanco} - \text{Abs. muestra}}{\text{Abs. blanco}} \right) * 100 \right\}$$

Figura 33. Fórmula utilizada para calcular el porcentaje de inhibición
Fuente: Conde et al, 2012

Abs. Blanco= absorción de solución de trabajo (1,1 ± 0,02)

Abs. Muestra= absorción de la muestra de la respectiva solución

Posteriormente con el porcentaje de inhibición se halló el valor de la concentración media inhibitoria (CI₅₀) de cada muestra diluida de aceite esencial. La CI₅₀ se halló realizando una gráfica de concentración versus porcentaje de inhibición, obteniendo así una ecuación para la recta, con la cual se determina la concentración necesaria para que el porcentaje de inhibición sea del 50%.

En ambos métodos (ABTS⁺ y DPPH[•]) se utilizó como estándar el Trolox y BHT, cuya capacidad antioxidante se evaluó en las mismas condiciones de trabajo de las muestras.

2.7. Determinación de las propiedades físicas del aceite esencial

Las propiedades físicas que se determinaron son densidad relativa según la norma AFNOR NF T75-111, índice de refracción según la norma AFNOR NF 75-112 25 y actividad óptica en base a la norma ISO 592 – 1998.

2.7.1. Densidad relativa

La densidad relativa se determinó según la norma ANFOR NF T75-111 (Anexo 2), para ello se empleó materiales como: un picnómetro de vidrio de 1 mL, una balanza y un baño termostático.

Se trabajó con las muestras de las 3 Comunidades, obtenidas de la mezcla de las tres destilaciones realizadas por cada Comunidad (San Luis, Juyukamentsa y Wapú) de la Fundación Chankuap, el primer paso a seguir es obtener el peso inicial del picnómetro vacío, seguido se registra el peso del picnómetro con agua y finalmente con el aceite esencial (ver figura 34 y 35 respectivamente).



Figura 34. Picnómetro con agua destilada
Fuente: La autora



Figura 35. Picnómetro con aceite esencial de *Ocotea quixos*
Fuente: La autora

2.7.2. Índice de Refracción

La determinación del índice de refracción se lo realizó en base a la norma AFNOR NF T 75-112 (ver anexo 3) del aceite esencial *Ocotea quixos*; se utilizó un refractómetro ABBE (figura 36), que es un dispositivo electrónico que mide la velocidad de una propagación de luz en el aceite esencial a una temperatura determinada de 20°C.

Se trabajó con las muestras de las 3 Comunidades, obtenidas de la mezcla de las tres destilaciones realizadas por cada Comunidad (San Luis, Juyukamentsa y Wapú) de la Fundación Chankuap, obteniendo así un valor promedio de cada una de las Comunidades.



Figura 36. Refractómetro ABBE
Fuente: La autora

2.7.3. Actividad Óptica

La determinación de la actividad óptica se realizó en base a la norma ISO 592 – 1998 (Ver ANEXO 4) del aceite esencial *Ocotea quixos*; se utilizó un polarímetro de marca Mrc-Automatic Polarimeter P810 (ver figura 37), que es un dispositivo electrónico que mide la capacidad para desviar la luz polarizada del aceite esencial *Ocotea quixos*.

Se trabajó con las muestras de las 3 Comunidades, obtenidas de la mezcla de las tres destilaciones realizadas por cada Comunidad (San Luis, Juyukamentsa y Wapú) de la Fundación Chankuap, se utilizó como referencia el diclorometano; obteniendo así un valor promedio de cada una de las Comunidades.



Figura 37. Polarímetro marca Mrc-Automatic Polarimeter P810
Fuente: La autora

CAPÍTULO III
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Humedad Relativa de *Ocotea quixos*

En la tabla 5 se muestran los resultados obtenidos de la humedad relativa de la especie *Ocotea quixos*, se realizó por triplicado con una sola muestra de las hojas de dicha especie la misma que fue proporcionada por la Fundación Chankuap para su respectivo análisis en el Laboratorio del Departamento de Química (DQ) de la Universidad Técnica Particular de Loja. Se indican también los valores de la media y del coeficiente de variación.

Tabla 5. Porcentaje de la humedad de la materia vegetal

| | HUMEDAD % | \bar{x} | σ |
|------|-----------|-----------|----------|
| OQ 1 | 72 | | |
| OQ 2 | 70 | 72 | 1.55 |
| OQ 3 | 73 | | |

OQ 1: Primera repetición OQ 2: Segunda repetición OQ 3: Tercera repetición
X̄: Media aritmética correspondiente a las diferentes repeticiones
σ: Desviación estándar

Fuente: La autora

La materia vegetal recolectada tuvo una humedad promedio de 72%, sin embargo se puede apreciar que existe una pequeña variación entre ellas. Estos valores de humedad están en concordancia con lo presentado en la literatura, ya que el contenido de humedad en las plantas aromáticas tienen humedades que oscilan entre un 60% a 80% (Sharapin, 2000).

Esta variabilidad se puede atribuir a varias condiciones que pueden influir en los resultados como: las condiciones climáticas, temperatura del ambiente, luminosidad, viento, CO₂, la cantidad de vapor de agua en el aire, el suelo y los nutrientes (Madejón, 2002).

3.2 Composición química del aceite esencial de *Ocotea quixos*

3.2.1 Análisis cualitativo

La identificación cualitativa de la composición química se llevó a cabo mediante el análisis CG/EM de las muestras de aceite esencial *Ocotea quixos*. Cada compuesto

detectado por el equipo, fue identificado mediante la base de datos, con un porcentaje de coincidencia mayor al 90% para cada compuesto.

Además del porcentaje (%), el equipo arroja los datos necesarios para calcular el índice de Kovats propio de cada compuesto. El cromatógrafo también determina el porcentaje (%) en el que está presente cada compuesto en el aceite esencial *Ocotea quixos*, tanto en la columna polar como no polar.

En la figura 38 y 39 se puede observar el perfil cromatográfico del aceite esencial de *Ocotea quixos*, en la columna no polar o DB-5MS y en la columna polar o HP-INNOWAX respectivamente, mediante la técnica de CG-EM acorde a los parámetros operacionales descritos en el capítulo de metodología.

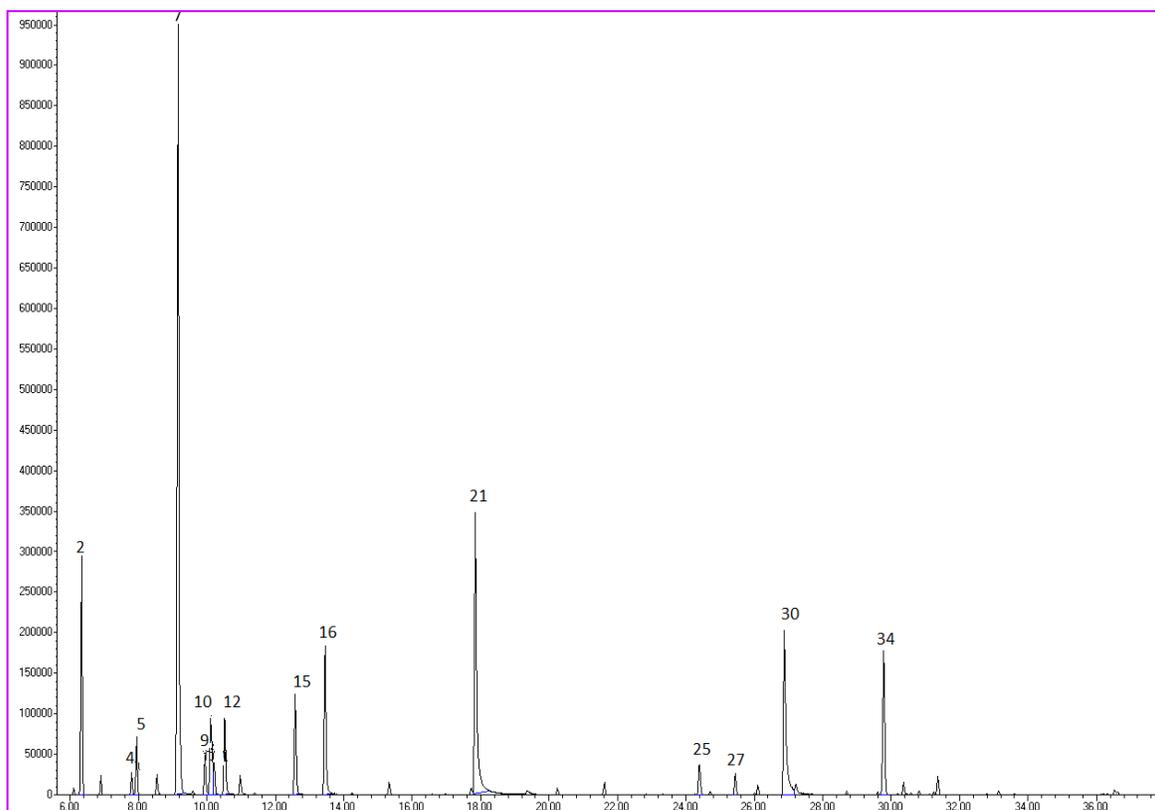


Figura 38. Perfil cromatográfico del aceite *Ocotea quixos* en la columna no polar DB5-MS
Fuente: La autora

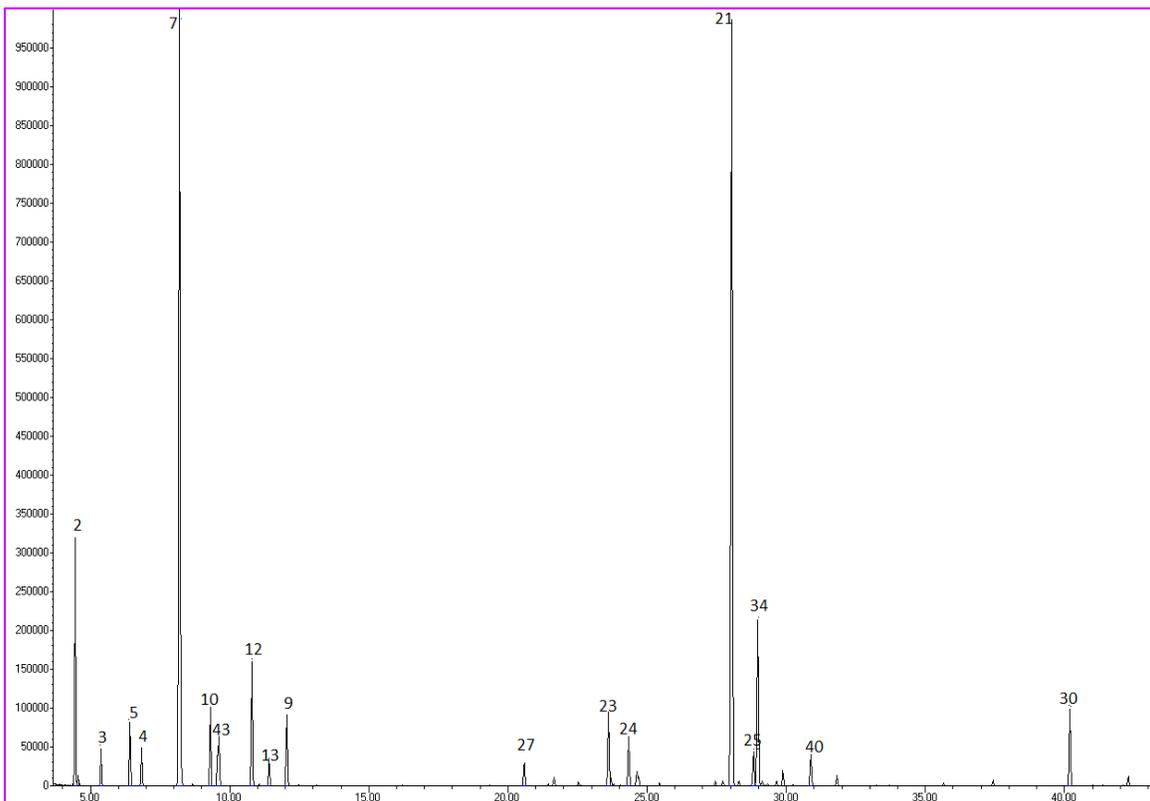


Figura 39. Perfil cromatográfico del aceite *Ocotea quixos* en la columna polar HP-INNOWAX
Fuente: La autora

Los cromatogramas obtenidos muestran diferentes picos que corresponden a cada uno de los compuestos volátiles emitidos (figura 38 y 39), algunos de ellos muy próximos o sobrepuestos, resultando difícil la identificación rápida y fiable de los compuestos de interés de modo que se procedió a la integración de cada uno de ellos.

En el análisis cualitativo, la identificación de los componentes volátiles se la realizó comparando los índices de Kovats para los compuestos analizados determinados en las dos columnas (polar y apolar), frente a los IK reportados en la literatura. Además cada compuesto detectado posee su respectivo espectro de masas el cual fue comparado con los espectros que proporciona la base de datos del equipo biblioteca Wiley 7n.

En la siguientes tablas, se detallan los compuestos químicos que se identificaron en el aceite esencial de *Ocotea quixos* en las columnas DB5-MS y HP-INNOWAX; los mismos que están dispuestos de acuerdo al orden de elución en la columna DB5-MS.

Se indican también los IK calculados y los reportados en la literatura; el porcentaje promedio relativo para cada compuesto correspondiente a cada una de las Comunidades, y el coeficiente de variación.

Tabla 6. Composición química del aceite esencial *Ocotea quixos* de la Comunidad San Luis

| °N | COMPUESTOS | DB5-MASAS | | | | | | | HP-INNOWAX | | | | | | |
|----|------------------------|-------------------|-------------------|-------------------------------------|--------|--------|-------|-------|-------------------|-------------------|-------------------------------------|--------|--------|-------|-------|
| | | IK ^{ref} | IK ^{cal} | % de Cantidad Relativa ^a | | | ̄x | σ | IK ^{ref} | IK ^{cal} | % de Cantidad Relativa ^a | | | ̄x | σ |
| | | | | OQ 1.1 | OQ 1.2 | OQ 1.3 | | | | | OQ 1.1 | OQ 1.2 | OQ 1.3 | | |
| 1 | α-Thujene | 923 ^b | 924 | 0.08 | 0.28 | 0.28 | 0.21 | 0.12 | 1033 ^d | 1042 | | | | | |
| 2 | α-Pinene | 929 ^b | 932 | 0.72 | 2.15 | 2.23 | 1.70 | 0.85 | 1039 ^c | 1038 | 0.59 | 1.99 | 1.98 | 1.52 | 0.81 |
| 3 | Camphene | 944 ^b | 946 | 0.13 | 0.29 | 0.31 | 0.24 | 0.09 | 1058 ^g | 1068 | | 0.23 | 0.23 | 0.23 | 0.00 |
| 4 | Sabinene | 968 ^b | 969 | 0.63 | 0.95 | 0.97 | 0.85 | 0.19 | 1115 ^g | 1114 | 0.55 | 0.88 | 0.88 | 0.77 | 0.19 |
| 5 | β-Pinene | 971 ^b | 974 | 0.90 | 2.11 | 2.20 | 1.74 | 0.72 | 1105 ^h | 1101 | 0.72 | 1.78 | 1.79 | 1.43 | 0.61 |
| 6 | Myrcene | 988 ^b | 988 | | 0.12 | 0.12 | 0.12 | 0.00 | 1157 ^f | 1159 | | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.00 |
| 7 | Benzaldehyde | 996 ^b | 990 | | | | | | 1520 ^c | 1520 | 0.49 | 0.94 | 0.93 | 0.79 | 0.26 |
| 8 | α-Phellandrene | 1003 ^b | 1002 | | | | | | 1155 ^d | 1159 | | | | | |
| 9 | δ-3-Carene | 1004 ^b | 1008 | | | 0.09 | | | 1137 ^d | 1140 | | | | | |
| 10 | α-Terpinene | 1013 ^b | 1014 | | 0.33 | 0.33 | 0.33 | 0.00 | 1168 ^e | 1172 | | 0.31 | 0.31 | 0.31 | 0.00 |
| 11 | Cymene-p | 1017 ^b | 1011 | | | | | | 1258 ^f | 1265 | | | 0.60 | | |
| 12 | Limonene | 1021 ^b | 1024 | 0.36 | 0.72 | 0.74 | 0.61 | 0.21 | 1204 ^c | 1191 | 0.36 | 0.72 | 0.73 | 0.61 | 0.21 |
| 13 | 1,8-Cineole | 1027 ^b | 1026 | 0.19 | 0.96 | 1.04 | 0.73 | 0.47 | 1201 ^f | 1201 | | 0.81 | 0.84 | 0.83 | 0.02 |
| 14 | γ-Terpinene | 1054 ^b | 1054 | 0.15 | 0.61 | 0.65 | 0.47 | 0.28 | 1232 ^f | 1239 | | 0.59 | 0.60 | 0.59 | 0.01 |
| 15 | Z-Decahydronaphthalene | 1057 ^b | 1056 | | | | | | 2032 ^c | 2022 | | 2.26 | 2.29 | 2.27 | 0.02 |
| 16 | Terpinolene | 1081 ^b | 1086 | | 0.11 | 1.66 | 0.89 | 1.10 | 1265 ^f | 1277 | 11.48 | 12.52 | 12.17 | 12.06 | 0.53 |
| 17 | Linalool | 1102 ^b | 1095 | 0.28 | 1.66 | | 0.97 | 0.98 | 1553 ^h | 1553 | 0.51 | 1.90 | 1.90 | 1.44 | 0.80 |
| 18 | Terpinen-4-ol | 1177 ^b | 1174 | 0.33 | 0.83 | 0.82 | 0.66 | 0.28 | 1605 ^g | 1598 | 0.52 | 0.85 | 0.81 | 0.73 | 0.18 |
| 19 | α-Terpineol | 1194 ^b | 1186 | | 0.34 | | | | 1678 ^g | 1696 | 0.45 | 0.47 | 0.48 | 0.47 | 0.02 |
| 20 | Cinnamaldehyde-E | 1279 ^b | 1267 | | | | | | 2043 ^c | 2035 | 2.20 | 3.09 | 3.12 | 2.80 | 0.53 |
| 21 | α-Cubebene | 1339 ^b | 1345 | 0.31 | 0.18 | 0.18 | 0.23 | 0.08 | 1441 ^f | 1447 | 0.79 | 0.21 | 0.21 | 0.41 | 0.33 |
| 22 | α-Copaene | 1367 ^b | 1374 | 10.57 | 0.57 | 0.58 | 3.90 | 5.77 | 1471 ^f | 1482 | 8.96 | | 0.58 | 4.77 | 5.93 |
| 23 | Methyl cinnamate-E | 1384 ^b | 1376 | 22.49 | 28.10 | 27.63 | 26.07 | 3.11 | 2095 ^c | 2077 | 19.21 | 21.32 | 21.39 | 20.64 | 1.24 |
| 24 | β-Cubebene | 1379 ^b | 1387 | 0.20 | 0.06 | | 0.13 | 0.10 | 1542 ^c | 1545 | | | | | |
| 25 | β-Elemene | 1382 ^b | 1389 | | 0.56 | | | | 1617 ^h | 1600 | | | | | |
| 26 | Caryophyllene-E | 1409 ^b | 1417 | 21.94 | 13.63 | 14.09 | 16.55 | 4.67 | 1569 ^f | 1588 | 15.73 | 10.96 | 11.02 | 12.57 | 2.74 |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|--------------------------------------|-------------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|----------------------|------|--------------|-------|-------|-------|-------|
| 27 | Cinnamyl acetate-E | 1450 ^b | 1443 | 1.18 | 1.68 | 1.81 | 1.56 | 0.33 | 2164 ^f | 2151 | 4.24 | 5.08 | 5.12 | 4.81 | 0.50 |
| 28 | Anisyl Acetone | 1453 ^b | 1448 | | | | | | 2149 ^j | 2185 | 5.31 | 5.65 | 5.67 | 5.54 | 0.20 |
| 29 | α-Humulene | 1445 ^b | 1452 | 2.87 | 18.97 | 17.63 | 13.15 | 8.94 | 1664 ^h | 1655 | 2.42 | 12.69 | 12.74 | 9.28 | 5.95 |
| 30 | γ-Selinene | 1484 ^b | 1470 | | | | | | 1690 ^g | 1675 | 6.09 | | | | |
| 31 | β-Selinene | 1478 ^b | 1489 | 7.04 | 0.60 | 0.61 | 2.75 | 3.71 | 1705 ^g | 1701 | | 0.46 | 0.46 | 0.46 | 0.00 |
| 32 | α-Zingiberene | 1489 ^b | 1493 | | | | | | 1712 ^m | 1712 | | | | | |
| 33 | α-Selinene | 1485 ^b | 1495 | | | | | | 1722 ^l | 1709 | 1.56 | 0.49 | 0.49 | 0.85 | 0.61 |
| 34 | Bicycloelemene | 1494 ^b | 1496 | 4.09 | 1.14 | 1.16 | 2.13 | 1.70 | 1778 ^f | 1769 | 0.85 | 0.26 | 0.25 | 0.45 | 0.34 |
| 35 | Methyl isoeugenol-E | 1496 ^b | 1498 | 3.41 | 3.97 | 3.31 | 3.56 | 0.36 | 2023 ⁿ | 2014 | | | | | |
| 36 | Bicyclogermacrene | 1485 ^b | 1500 | 4.09 | 1.14 | 1.16 | 2.13 | 1.70 | 1737 ⁱ | 1718 | 1.32 | | | | |
| 37 | E,E-α-Farnesene | 1502 ^b | 1505 | | | | | | 1640 ^f | 1663 | 0.31 | 0.33 | 0.33 | 0.32 | 0.01 |
| 38 | δ-Cadinene | 1509 ^b | 1522 | 1.15 | 0.50 | 0.60 | 0.75 | 0.35 | 1755 ^g | 1745 | 1.96 | 0.72 | 0.72 | 1.13 | 0.72 |
| 39 | β-Sesquiphellandrene | 1517 ^b | 1521 | | | | | | 1767 ^k | 1764 | | | | | |
| 40 | Z-α-Bisabolene | 1535 ^b | 1516 | | 0.14 | 0.15 | 0.15 | 0.00 | 1778 ^c | 1765 | 0.33 | 0.21 | 0.21 | 0.25 | 0.07 |
| 41 | E-γ-Bisabolene | 1520 ^b | 1529 | 1.79 | 3.50 | 3.69 | 2.99 | 1.05 | 1726 ^c | 1748 | 1.22 | 2.65 | 2.63 | 2.17 | 0.82 |
| 42 | Caryophyllene oxide | 1569 ^b | 1582 | 5.40 | 4.68 | 4.71 | 4.93 | 0.41 | 1979 ^g | 1965 | 3.44 | 2.90 | 2.92 | 3.09 | 0.31 |
| 43 | Spathulenol | 1575 ^b | 1576 | | | | | | 2126 ^g | 2114 | 0.42 | 0.27 | 0.28 | 0.32 | 0.08 |
| 44 | Caryophylla-4(12),8(13) diene 5 β-ol | 1639 ^b | 1628 | | | | | | 2285 ^b | 2288 | 0.85 | 0.51 | 0.50 | 0.62 | 0.20 |
| 45 | Benzyl benzoate | 1762 ^b | 1783 | | | | | | 2655 ^f | 2614 | 0.26 | 0.29 | 0.29 | 0.28 | 0.02 |
| | | | | | | | | | * Total Identificado | | 90.50 | | | | |
| | | | | | | | | | * Total Identificado | | 94.78 | | | | |

a= % promedio calculados en base al % del área de los picos reportados en DB5-MS y HP-INNOWAX

*= Sumatoria del porcentaje relativo de los compuestos identificados en ambas columnas

OQ= *Ocotea quixos*

OQ 1: Comunidad San Luis

OQ 1.1= Primera destilación OQ 1.2= Segunda destilación OQ 1.3= Tercera destilación

Ī= Promedio

σ= Desviación estándar

IKRef= Índice de kóvats reportado en la literatura: *refb, refc, refd, refe, reff, refg, refh, refi, refj, refk, refl, refm, refn* (ver Anexo 6)

IKCal= Índice de kóvats calculado

Fuente: La autora

Los compuestos mayoritarios de la Comunidad San Luis del aceite esencial *Ocotea quixos* en la columna DB5-MS, se pueden observar en la figura 40, entre los cuales tenemos: E-Methyl cinnamate (26,07%), E-Caryophyllene (16,55%), α -Humulene (13,15%), Caryophyllene oxide (4,93%), α -Copaene (3,90), E-Methyl isoeugenol (3,56%), E- γ -Bisabolene (2,99%), β -Selinene (2,75%), Bicyclogermacrene (2,13%) y β -Pinene (1,74%).

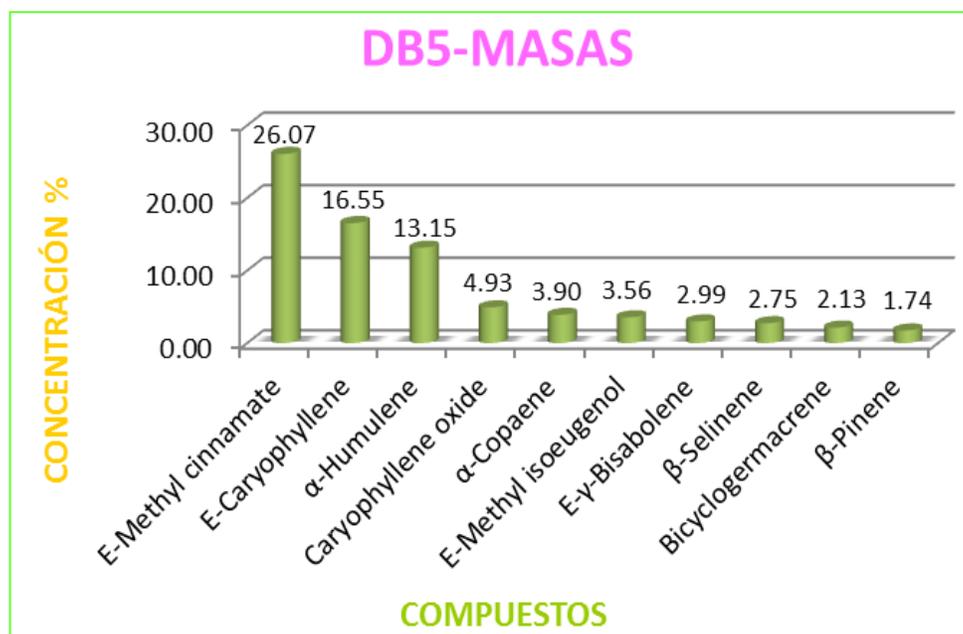


Figura 40. Compuestos mayoritarios de la Comunidad San Luis en la columna no polar (DB5-MS)
Fuente: La autora

Los compuestos mayoritarios de la Comunidad San Luis del aceite esencial *Ocotea quixos* en la columna HP-INNOWAX, se pueden observar en la figura 41, entre los cuales tenemos: E-Methyl cinnamate (20,64%), E-Caryophyllene (12,57%), Terpinolene (12,06%), α -Humulene (9,28%), Anisyl Acetone (5,54%), E-Cinnamyl Acetate (4,81%), α -Copaene (4,77), Caryophyllene oxide (3,09%), Cinnamic aldehyde (2,80%) y Z-Decahydronaphthalene (2,28%).

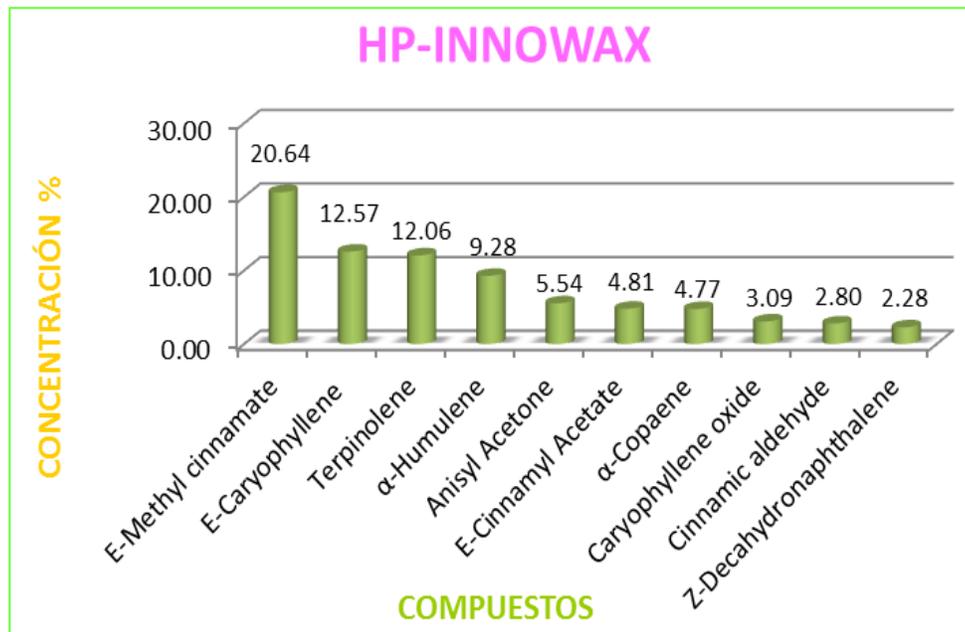


Figura 41. Compuestos mayoritarios de la Comunidad San Luis en la columna polar (HP-INNOWAX)

Fuente: La autora

Tabla 7. Composición química del aceite esencial *Ocotea quixos* de la Comunidad Juyukamentsa

| °N | COMPUESTOS | DB5-MASAS | | | | | | | HP-INNOWAX | | | | | | |
|----|------------------------|-------------------|-------------------|-------------------------------------|--------|--------|-----------|----------|-------------------|-------------------|-------------------------------------|--------|--------|-----------|----------|
| | | IK ^{ref} | IK ^{cal} | % de Cantidad Relativa ^a | | | | | IK ^{ref} | IK ^{cal} | % de Cantidad Relativa ^a | | | | |
| | | | | OQ 2.1 | OQ 2.2 | OQ 2.3 | \bar{x} | σ | | | OQ 2.1 | OQ 2.2 | OQ 2.3 | \bar{x} | σ |
| 1 | α -Thujene | 923 ^b | 924 | 2.25 | 2.98 | 2.52 | 2.58 | 0.37 | 1033 ^d | 1042 | 2.97 | 3.54 | | 3.25 | 0.40 |
| 2 | α -Pinene | 929 ^b | 932 | 8.86 | 9.48 | 8.51 | 8.95 | 0.49 | 1039 ^c | 1038 | 5.68 | 5.85 | 1.45 | 4.33 | 2.49 |
| 3 | Camphene | 944 ^b | 946 | 0.26 | 0.30 | 0.24 | 0.27 | 0.03 | 1058 ^g | 1068 | 0.18 | 0.21 | | 0.19 | 0.02 |
| 4 | Sabinene | 968 ^b | 969 | 5.47 | 4.88 | 6.43 | 5.59 | 0.79 | 1115 ^g | 1114 | 4.74 | 4.15 | 1.16 | 3.35 | 1.92 |
| 5 | β -Pinene | 971 ^b | 974 | 3.22 | 3.53 | 3.10 | 3.29 | 0.22 | 1105 ^h | 1101 | 2.67 | 2.83 | 0.08 | 1.86 | 1.54 |
| 6 | Myrcene | 988 ^b | 988 | 1.08 | 1.33 | 1.32 | 1.24 | 0.14 | 1157 ^f | 1159 | | | | | |
| 7 | Benzaldehyde | 996 ^b | 990 | | | | | | 1520 ^c | 1520 | | 0.07 | | | |
| 8 | α -Phellandrene | 1003 ^b | 1002 | 0.71 | 1.08 | 0.74 | 0.84 | 0.20 | 1155 ^d | 1159 | 2.08 | 2.62 | 4.65 | 3.12 | 1.36 |
| 9 | δ -3-Carene | 1004 ^b | 1008 | 1.82 | 1.93 | 1.73 | 1.83 | 0.10 | 1137 ^d | 1140 | 1.39 | 1.41 | 2.74 | 1.85 | 0.77 |
| 10 | α -Terpinene | 1013 ^b | 1014 | 3.27 | 4.22 | 2.95 | 3.48 | 0.66 | 1168 ^e | 1172 | 3.17 | 3.87 | 2.07 | 3.04 | 0.91 |
| 11 | Cymene-p | 1017 ^b | 1011 | 1.96 | 1.40 | 3.34 | 2.23 | 1.00 | 1258 ^f | 1265 | 11.12 | 11.84 | 15.83 | 12.93 | 2.54 |
| 12 | Limonene | 1021 ^b | 1024 | 3.04 | 3.63 | 2.51 | 3.06 | 0.56 | 1204 ^c | 1191 | 2.96 | 3.31 | 17.47 | 7.91 | 8.28 |
| 13 | 1,8-Cineole | 1027 ^b | 1026 | 34.71 | 30.96 | 37.46 | 34.38 | 3.26 | 1201 ^f | 1201 | 21.11 | 18.86 | 21.27 | 20.41 | 1.34 |
| 14 | γ -Terpinene | 1054 ^b | 1054 | 6.17 | 7.27 | 6.13 | 6.52 | 0.65 | 1232 ^f | 1239 | 5.41 | 6.13 | | 5.77 | 0.51 |
| 15 | Z-Decahydronaphthalene | 1057 ^b | 1056 | | | | | | 2032 ^c | 2022 | | | | | |
| 16 | Terpinolene | 1081 ^b | 1086 | 0.31 | 0.40 | 0.35 | 0.36 | 0.04 | 1265 ^f | 1277 | 0.35 | 0.44 | 3.70 | 1.49 | 1.91 |
| 17 | Linalool | 1102 ^b | 1095 | | | 0.07 | | | 1553 ^h | 1553 | 0.23 | 0.22 | | 0.23 | 0.01 |
| 18 | Terpinen-4-ol | 1177 ^b | 1174 | 3.60 | 3.96 | 2.95 | 3.50 | 0.51 | 1605 ^g | 1598 | 3.26 | 3.44 | 1.02 | 2.57 | 1.35 |
| 19 | α -Terpineol | 1194 ^b | 1186 | 8.02 | 7.08 | 7.95 | 7.68 | 0.53 | 1678 ^g | 1696 | 0.41 | 0.31 | 2.03 | 0.92 | 0.97 |
| 20 | Cinnamaldehyde-E | 1279 ^b | 1267 | | | | | | 2043 ^c | 2035 | 0.61 | 0.55 | 0.72 | 0.62 | 0.08 |
| 21 | α -Cubebene | 1339 ^b | 1345 | | | | | | 1441 ^f | 1447 | | | | | |
| 22 | α -Copaene | 1367 ^b | 1374 | 0.34 | 0.12 | 0.13 | 0.20 | 0.12 | 1471 ^f | 1482 | 15.70 | 14.70 | 14.15 | 14.85 | 0.79 |
| 23 | Methyl cinnamate-E | 1384 ^b | 1376 | | | | | | 2095 ^c | 2077 | 0.54 | 0.95 | 1.32 | 0.94 | 0.39 |
| 24 | β -Cubebene | 1379 ^b | 1387 | | | | | | 1542 ^c | 1545 | | | | | |
| 25 | β -Elemene | 1382 ^b | 1389 | 0.04 | 0.05 | | 0.04 | 0.01 | 1617 ^h | 1600 | | | | | |
| 26 | Caryophyllene-E | 1409 ^b | 1417 | 0.53 | 0.80 | 0.72 | 0.69 | 0.14 | 1569 ^f | 1588 | 0.36 | 0.56 | | 0.46 | 0.14 |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|---------------------------------|-----------------------------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----------------------------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|--|
| 27 | Cinnamyl acetate-E | 1450 ^b | 1443 | | | | | | | 2164 ^f | 2151 | 0.46 | 0.18 | | 0.32 | 0.20 | |
| 28 | Anisyl Acetone | 1453 ^b | 1448 | | | | | | | 2149 ^j | 2185 | 0.28 | 0.12 | | 0.20 | 0.11 | |
| 29 | α-Humulene | 1445 ^b | 1452 | 1.44 | 1.28 | 1.46 | 1.40 | 0.10 | | 1664 ^h | 1655 | 0.53 | 0.37 | | 0.45 | 0.11 | |
| 30 | γ-Selinene | 1484 ^b | 1470 | | | | | | | 1690 ^g | 1675 | | | | | | |
| 31 | β-Selinene | 1478 ^b | 1489 | | 0.55 | 0.84 | 0.69 | 0.20 | | 1705 ^g | 1701 | 0.22 | 0.45 | | 0.33 | 0.17 | |
| 32 | α-Zingiberene | 1489 ^b | 1493 | | | | | | | 1712 ^m | 1712 | | | | | | |
| 33 | α-Selinene | 1485 ^b | 1495 | | | | | | | 1722 ^l | 1709 | | 0.21 | | | | |
| 34 | Bicycloelemene | 1494 ^b | 1496 | | | | | | | 1778 ^f | 1769 | | 0.07 | | | | |
| 35 | Methyl isoeugenol-E | 1496 ^b | 1498 | | | | | | | 2023 ⁿ | 2014 | 0.21 | 0.29 | | 0.25 | 0.05 | |
| 36 | Bicyclogermacrene | 1485 ^b | 1500 | 0.30 | 0.31 | | 0.31 | 0.00 | | 1737 ⁱ | 1718 | 0.22 | 0.20 | | 0.21 | 0.02 | |
| 37 | E,E-α-Farnesene | 1502 ^b | 1505 | | | 0.42 | | | | 1640 ^f | 1663 | | | | | | |
| 38 | δ-Cadinene | 1509 ^b | 1522 | | 0.07 | 0.03 | 0.05 | 0.03 | | 1755 ^g | 1745 | 0.14 | 0.18 | | 0.16 | 0.03 | |
| 39 | β-Sesquiphellandrene | 1517 ^b | 1521 | | | | | | | 1767 ^k | 1764 | | | | | | |
| 40 | Z-α-Bisabolene | 1535 ^b | 1516 | | | | | | | 1778 ^c | 1765 | | | | | | |
| 41 | E-γ-Bisabolene | 1520 ^b | 1529 | 0.30 | | | | | | 1726 ^c | 1748 | 0.32 | 0.12 | 0.22 | 0.22 | 0.10 | |
| 42 | Caryophyllene oxide | 1569 ^b | 1582 | | 0.87 | 0.97 | 0.92 | 0.07 | | 1979 ^g | 1965 | 0.16 | 0.32 | 0.25 | 0.24 | 0.08 | |
| 43 | Spathulenol | 1575 ^b | 1576 | 0.11 | | | | | | 2126 ^g | 2114 | 0.46 | 0.08 | | 0.27 | 0.27 | |
| 44 | Caryophylla-4(12),8(13) diene 5 | 1639 ^b | 1628 | | | | | | | 2285 ^b | 2288 | | 0.13 | | | | |
| 45 | Benzyl benzoate | 1762 ^b | 1783 | | | | | | | 2655 ^f | 2614 | 0.15 | 0.26 | 0.12 | 0.18 | 0.08 | |
| | | * Total Identificado 90.10 | | | | | | | | * Total Identificado 92.91 | | | | | | | |

a= % promedio calculados en base al % del área de los picos reportados en DB5-MS y HP-INNOWAX

***=** Sumatoria del porcentaje relativo de los compuestos identificados en ambas columnas

OQ= *Ocotea quixos*

OQ 2= Comunidad Juyukamentsa

OQ 2.1= Primera destilación **OQ 2.2=** Segunda destilación **OQ 2.3=** Tercera destilación

X̄= Promedio

σ= Desviación estándar

IKRef= Índice de kóvats reportado en la literatura: *refb, refc, refd, refe, reff, refg, refh, refi, refj, refk, refl, refm, refn* (ver Anexo 6)

IKCal= Índice de kóvats calculado

Fuente: La autora

Los compuestos mayoritarios de la Comunidad Juyukamentsa del aceite esencial *Ocotea quixos* en la columna DB5-MS, se pueden observar en la figura 42, entre los cuales tenemos: 1,8-Cineole (34,38%), α -Pinene (8,95%), α -Terpineol (7,68%), γ -Terpinene (6,52%), Sabinene (5,59%), Terpinen-4-ol (3,50%), α -Terpinene (3,48%), β -Pinene (3,29%), Limonene (3,06%) y α -Thujene (2,58%).

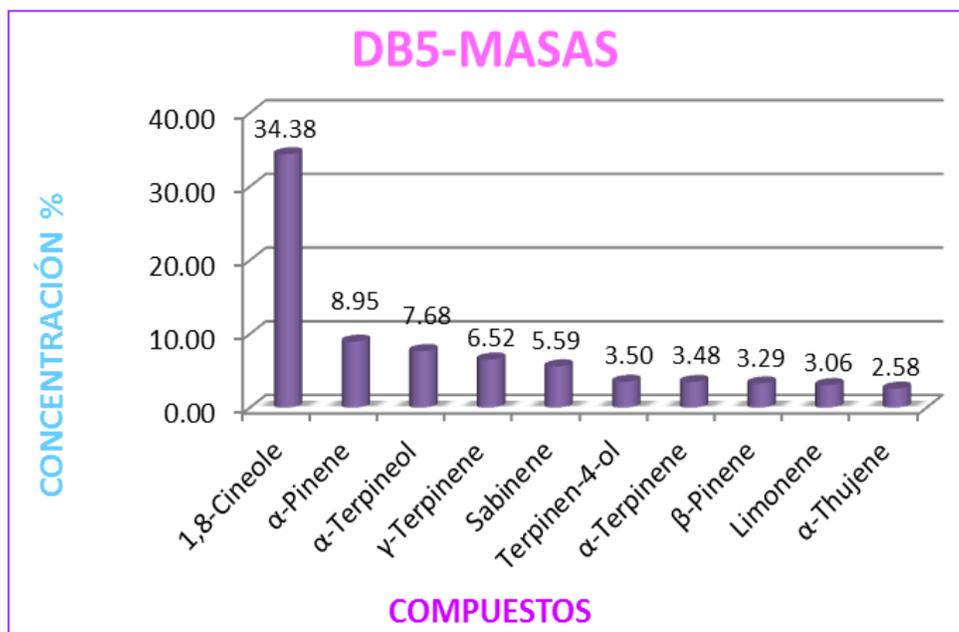


Figura 42. Compuestos mayoritarios de la Comunidad Juyukamentsa en la columna no polar (DB5-MS)
Fuente: La autora

Los compuestos mayoritarios de la Comunidad Juyukamentsa del aceite esencial *Ocotea quixos* en la columna HP-INNOWAX, se pueden observar en la figura 43, entre los cuales tenemos: 1,8-Cineole (20,41%), α -Copaene (14,85%), Cymene-p (12,93%), Limonene (7,91%), γ -Terpinene (5,77%), α -Pinene (4,33%), Sabinene (3,35%), α -Thujene (3,25%), α -Terpinene (3,04%) y Terpineol 4-ol (2,54%).

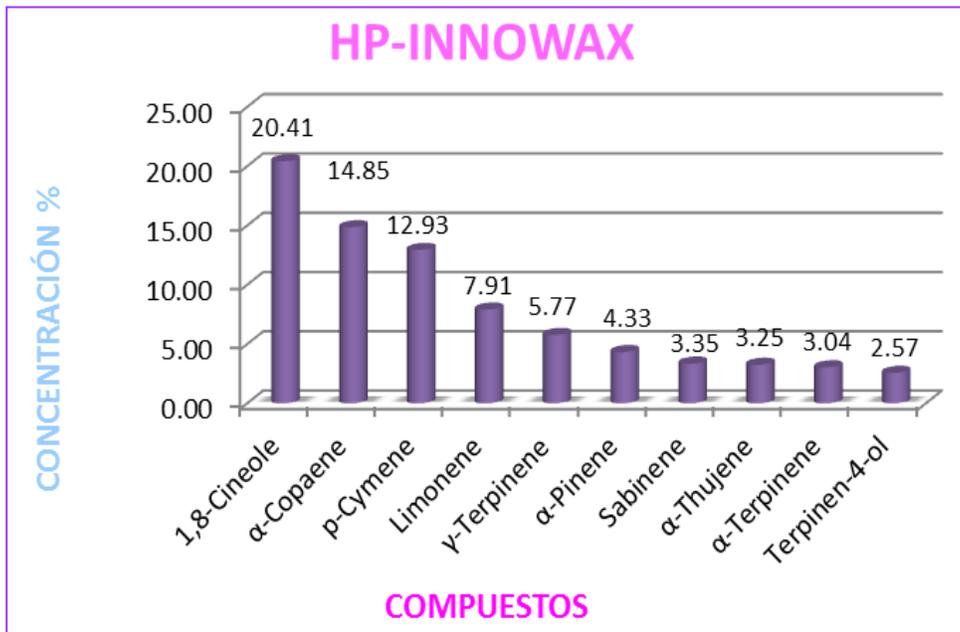


Figura 43. Compuestos mayoritarios de la Comunidad Juyukamentsa en la columna polar (HP-INNOWAX)
Fuente: La autora

Tabla 8. Composición química del aceite esencial *Ocotea quixos* de la Comunidad Wapú

| °N | COMPUESTOS | DB5-MASAS | | | | | | | HP-INNOWAX | | | | | | |
|----|------------------------|-------------------------------------|-------------------|--------|--------|--------|-----------|----------|-------------------------------------|-------------------|--------|--------|--------|-----------|----------|
| | | % de Cantidad Relativa ^a | | | | | | | % de Cantidad Relativa ^a | | | | | | |
| | | IK ^{ref} | IK ^{cal} | OQ 3.1 | OQ 3.2 | OQ 3.3 | \bar{x} | σ | IK ^{ref} | IK ^{cal} | OQ 3.1 | OQ 3.2 | OQ 3.3 | \bar{x} | σ |
| 1 | α -Thujene | 923 ^b | 924 | 0.09 | 0.09 | 0.98 | 0.39 | 0.51 | 1033 ^d | 1042 | | | | | |
| 2 | α -Pinene | 929 ^b | 932 | 1.70 | 1.67 | 5.17 | 2.85 | 2.01 | 1039 ^c | 1038 | 3.50 | 4.50 | 4.58 | 4.19 | 0.60 |
| 3 | Camphene | 944 ^b | 946 | 1.68 | 1.67 | 0.54 | 1.30 | 0.65 | 1058 ^g | 1068 | 1.45 | 1.45 | 1.43 | 1.44 | 0.01 |
| 4 | Sabinene | 968 ^b | 969 | 0.71 | 0.71 | 1.65 | 1.02 | 0.55 | 1115 ^g | 1114 | 0.68 | 0.58 | 1.33 | 0.86 | 0.41 |
| 5 | β -Pinene | 971 ^b | 974 | 1.54 | 1.53 | 2.37 | 1.81 | 0.49 | 1105 ^h | 1101 | 2.31 | 2.31 | 1.82 | 2.15 | 0.28 |
| 6 | Myrcene | 988 ^b | 988 | 0.18 | 0.19 | 0.41 | 0.26 | 0.13 | 1157 ^f | 1159 | 0.37 | 0.47 | 0.68 | 0.51 | 0.16 |
| 7 | Benzaldehyde | 996 ^b | 990 | | | | | | 1520 ^c | 1520 | 0.64 | 0.74 | 0.59 | 0.65 | 0.07 |
| 8 | α -Phellandrene | 1003 ^b | 1002 | | | | | | 1155 ^d | 1159 | | | 0.85 | | |
| 9 | δ -3-Carene | 1004 ^b | 1008 | | | 0.94 | | | 1137 ^d | 1140 | 0.37 | 0.47 | 0.68 | 0.51 | 0.16 |
| 10 | α -Terpinene | 1013 ^b | 1014 | 0.11 | 0.11 | 0.95 | 0.39 | 0.48 | 1168 ^e | 1172 | | | | | |
| 11 | Cymene-p | 1017 ^b | 1011 | | | | | | 1258 ^f | 1265 | | | 3.79 | | |
| 12 | Limonene | 1021 ^b | 1024 | | | 1.89 | | | 1204 ^c | 1191 | 0.62 | 0.32 | 1.52 | 0.82 | 2.19 |
| 13 | 1,8-Cineole | 1027 ^b | 1026 | 3.03 | 2.98 | 6.01 | 4.01 | 1.74 | 1201 ^f | 1201 | 4.04 | 4.03 | 4.25 | 4.10 | 0.88 |
| 14 | γ -Terpinene | 1054 ^b | 1054 | 0.19 | 0.20 | 2.98 | 1.12 | 1.61 | 1232 ^f | 1239 | 0.21 | 0.11 | 2.50 | 0.94 | 0.69 |
| 15 | Z-Decahydronaphthalene | 1057 ^b | 1056 | | | | | | 2032 ^c | 2022 | 1.01 | 1.11 | 1.35 | 1.15 | 0.18 |
| 16 | Terpinolene | 1081 ^b | 1086 | | | 1.02 | | | 1265 ^f | 1277 | | | 0.19 | | |
| 17 | Linalool | 1102 ^b | 1095 | 0.23 | 0.23 | 1.02 | 0.49 | 0.46 | 1553 ^h | 1553 | 0.54 | 0.64 | 1.17 | 0.78 | 0.34 |
| 18 | Terpinen-4-ol | 1177 ^b | 1174 | 0.25 | 0.25 | 1.60 | 0.70 | 0.78 | 1605 ^g | 1598 | 0.33 | 0.23 | 1.38 | 0.65 | 0.63 |
| 19 | α -Terpineol | 1194 ^b | 1186 | 0.27 | 0.27 | 1.14 | 0.56 | 0.51 | 1678 ^g | 1696 | 0.96 | 0.97 | 1.12 | 1.02 | 0.09 |
| 20 | Cinnamaldehyde-E | 1279 ^b | 1267 | 0.19 | 0.89 | | 0.54 | 0.49 | 2043 ^c | 2035 | 4.72 | 4.42 | 4.57 | 4.57 | 0.15 |
| 21 | α -Cubebene | 1339 ^b | 1345 | 0.28 | 0.28 | 0.20 | 0.25 | 0.04 | 1441 ^f | 1447 | 0.34 | 0.24 | 0.20 | 0.26 | 0.07 |
| 22 | α -Copaene | 1367 ^b | 1374 | 4.44 | 4.44 | 1.74 | 3.54 | 1.56 | 1471 ^f | 1482 | 3.97 | 3.87 | 4.48 | 4.11 | 0.33 |
| 23 | Methyl cinnamate-E | 1384 ^b | 1376 | 10.50 | 10.45 | 18.15 | 13.03 | 4.43 | 2095 ^c | 2077 | 10.53 | 10.43 | 15.00 | 11.99 | 2.61 |
| 24 | β -Cubebene | 1379 ^b | 1387 | 0.18 | 0.17 | | 0.18 | 0.00 | 1542 ^c | 1545 | | | | | |
| 25 | β -Elemene | 1382 ^b | 1389 | 0.58 | 0.55 | 0.39 | 0.51 | 0.10 | 1617 ^h | 1600 | | | | | |
| 26 | Caryophyllene-E | 1409 ^b | 1417 | 16.79 | 16.15 | 11.67 | 14.87 | 2.79 | 1569 ^f | 1588 | 12.14 | 13.24 | 13.84 | 13.07 | 0.86 |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|--------------------------------------|-------------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-----------------------------------|------|-------|-----------------------------------|-------|-------|-------|
| 27 | Cinnamyl acetate-E | 1450 ^b | 1443 | 3.10 | 0.20 | 1.03 | 1.45 | 1.49 | 2164 ^f | 2151 | 5.05 | 5.55 | 5.10 | 5.23 | 0.27 |
| 28 | Anisyl Acetone | 1453 ^b | 1448 | | | | | | 2149 ^g | 2185 | | | 4.60 | | |
| 29 | α-Humulene | 1445 ^b | 1452 | 7.49 | 10.82 | 12.58 | 10.30 | 2.58 | 1664 ^h | 1655 | 9.72 | 9.52 | 9.88 | 9.71 | 0.18 |
| 30 | γ-Selinene | 1484 ^b | 1470 | | | | | | 1690 ^g | 1675 | 0.85 | 0.65 | 0.25 | 0.59 | 0.31 |
| 31 | β-Selinene | 1478 ^b | 1489 | 8.21 | 8.13 | 2.06 | 6.13 | 3.53 | 1705 ^g | 1701 | 6.15 | 6.05 | 1.52 | 4.58 | 2.64 |
| 32 | α-Zingiberene | 1489 ^b | 1493 | 5.85 | 5.82 | 0.99 | 4.22 | 2.79 | 1712 ^m | 1712 | 3.92 | 3.95 | 0.87 | 2.91 | 1.77 |
| 33 | α-Selinene | 1485 ^b | 1495 | 3.53 | 3.51 | | 3.52 | 0.01 | 1722 ^l | 1709 | 1.86 | 1.46 | 0.59 | 1.30 | 0.65 |
| 34 | Bicycloelemene | 1494 ^b | 1496 | | | | | | 1778 ^f | 1769 | 0.68 | 0.58 | 0.27 | 0.51 | 0.21 |
| 35 | Methyl isoeugenol-E | 1496 ^b | 1498 | 6.45 | 6.56 | 3.48 | 5.50 | 1.75 | 2023 ⁿ | 2014 | 7.15 | 7.65 | | 7.40 | 0.35 |
| 36 | Bicyclogermacrene | 1485 ^b | 1500 | | | 1.48 | | | 1737 ⁱ | 1718 | 1.71 | 1.74 | 1.81 | 1.75 | 0.06 |
| 37 | E,E-α-Farnesene | 1502 ^b | 1505 | 3.81 | 3.73 | | 3.77 | 0.06 | 1640 ^h | 1663 | | | | | |
| 38 | δ-Cadinene | 1509 ^b | 1522 | 1.13 | 1.12 | 0.54 | 0.93 | 0.34 | 1755 ^g | 1745 | 2.67 | 2.37 | 0.86 | 1.97 | 0.97 |
| 39 | β-Sesquiphellandrene | 1517 ^b | 1521 | 1.84 | 1.84 | 0.28 | 1.32 | 0.90 | 1767 ^k | 1764 | 1.66 | 1.56 | 1.35 | 1.53 | 0.16 |
| 40 | Z-α-Bisabolene | 1535 ^b | 1516 | | | | | | 1778 ^c | 1765 | | | | | |
| 41 | E-γ-Bisabolene | 1520 ^b | 1529 | 1.79 | 1.77 | 2.66 | 2.07 | 0.51 | 1726 ^c | 1748 | 0.73 | 0.73 | 1.90 | 1.12 | 0.67 |
| 42 | Caryophyllene oxide | 1569 ^b | 1582 | 4.41 | 4.36 | 3.66 | 4.14 | 0.42 | 1979 ^g | 1965 | 2.15 | 2.25 | 2.18 | 2.19 | 0.05 |
| 43 | Spathulenol | 1575 ^b | 1576 | | | | | | 2126 ^g | 2114 | 0.30 | 0.30 | 0.16 | 0.25 | 0.08 |
| 44 | Caryophylla-4(12),8(13) diene 5 β-ol | 1639 ^b | 1628 | | | | | | 2285 ^b | 2288 | 0.79 | 0.99 | 0.44 | 0.74 | 0.28 |
| 45 | Benzyl benzoate | 1762 ^b | 1783 | | | | | | 2655 ^f | 2614 | 0.46 | 0.46 | 0.50 | 0.47 | 0.02 |
| | | | | | | | | | * Total Identificado 91.16 | | | * Total Identificado 96.02 | | | |

a= % promedio calculados en base al % del área de los picos reportados en DB5-MS y HP-INNOWAX

***=** Sumatoria del porcentaje relativo de los compuestos identificados en ambas columnas

OQ= *Ocotea quixos*

OQ 3= Comunidad Wapú

OQ 3.1= Primera destilación **OQ 3.2=** Segunda destilación **OQ 3.3=** Tercera destilación

Ā= Promedio

σ= Desviación estándar

IKRef= Índice de kóvats reportado en la literatura: *refb, refc, refd, refe, refg, refh, refi, refj, refk, refl, refm, refn* (ver Anexo 6)

IKCal= Índice de kóvats calculado

Fuente: La autora

Los compuestos mayoritarios de la Comunidad Wapú del aceite esencial *Ocotea quixos* en la columna DB5-MS, se pueden observar en la figura 44, entre los cuales tenemos: E-Caryophyllene (14,87%), E-Methyl cinnamate (13,03%), α -Humulene (10,30%), β -Selinene (6,13%), E-Methyl isoeugenol (5,49), α -Zingiberene (4,22%), Caryophyllene oxide (4,14%), 1,8-Cineole (4,01%), E,E- α -Farnesene (3,77%), y α -Copaene (3,54%).

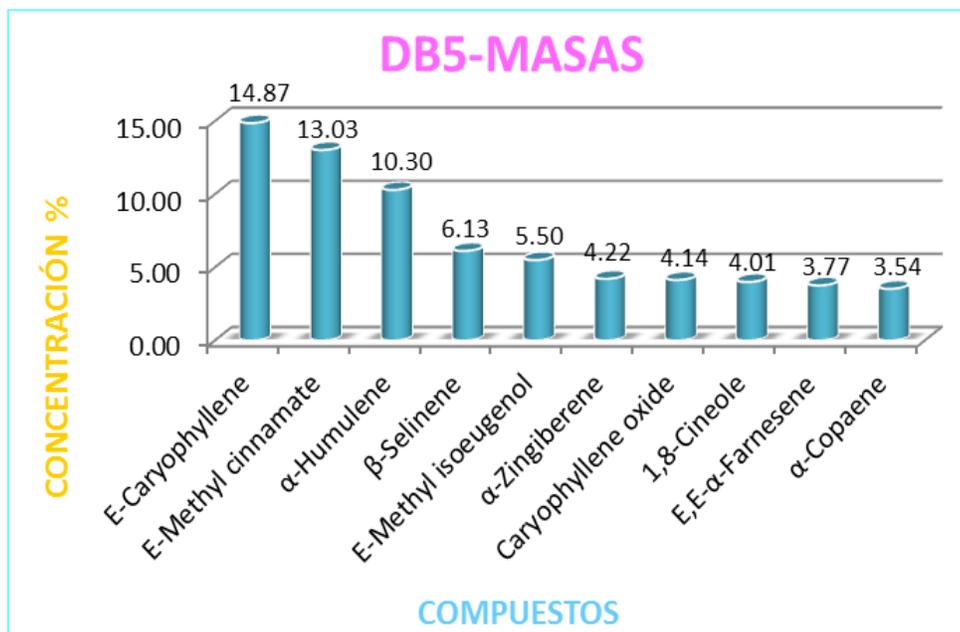


Figura 44. Compuestos mayoritarios de la Comunidad Wapú en la columna no polar (DB5-MS)

Fuente: La autora

Los compuestos mayoritarios de la Comunidad Wapú del aceite esencial *Ocotea quixos* en la columna HP-INNOWAX, se pueden observar en la figura 45, entre los cuales tenemos: E-Caryophyllene (13,07%), E-Methyl cinnamate (11,99%), α -Humulene (9,71%), E-Methyl isoeugenol (7,40%), E-Cinnamyl Acetate (5,23%), β -Selinene (4,58%), E-Cinnamaldehyde (4,57%), α -Pinene (4,19%), 1,8 Cineole (4,10%) y α -Copaene (3,11%).

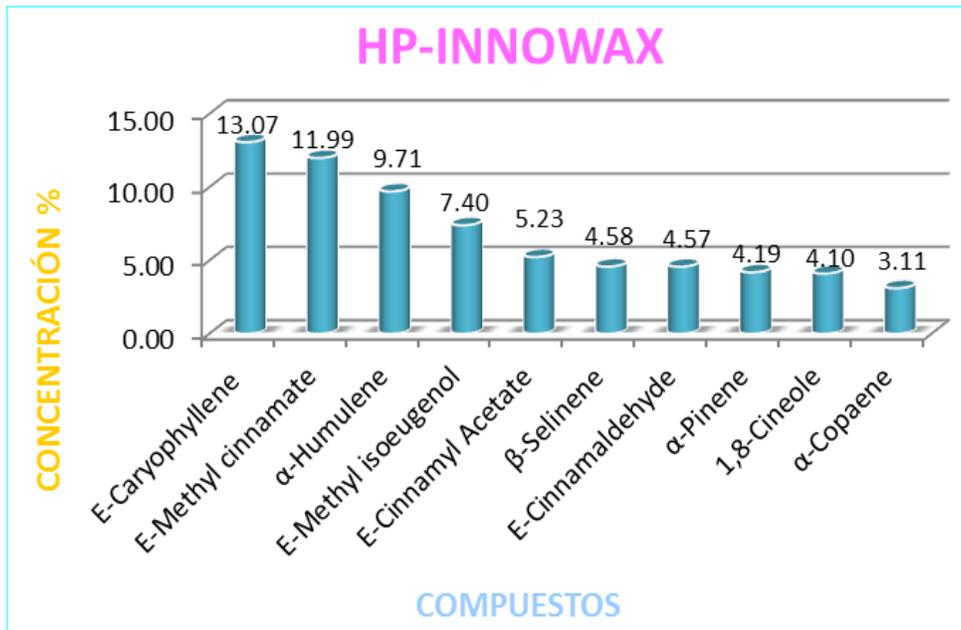


Figura 45. Compuestos mayoritarios de la Comunidad Wapú en la columna polar (HP-INNOWAX)
Fuente: La autora

Tabla 9. Resumen de la composición química del aceite esencial *Ocotea quixos* en DB5-MS

| | | DB5-MASAS | | |
|----|------------------------|--------------------|------------------------|----------------|
| | | Comunidad San Luis | Comunidad Juyukamentsa | Comunidad Wapú |
| °N | COMPUESTOS | OQ 1 (x̄) | OQ 2 (x̄) | OQ 3 (x̄) |
| 1 | α-Thujene | 0.21 | 2.58 | 0.39 |
| 2 | α-Pinene | 1.70 | 8.95 | 2.85 |
| 3 | Camphene | 0.24 | 0.27 | 1.30 |
| 4 | Sabinene | 0.85 | 5.59 | 1.02 |
| 5 | β-Pinene | 1.74 | 3.29 | 1.81 |
| 6 | Myrcene | 0.12 | 1.24 | 0.26 |
| 7 | Benzaldehyde | | | |
| 8 | α-Phellandrene | | 0.84 | |
| 9 | δ-3-Carene | | 1.83 | |
| 10 | α-Terpinene | 0.33 | 3.48 | 0.39 |
| 11 | Cymene-p | | 2.23 | |
| 12 | Limonene | 0.61 | 3.06 | |
| 13 | 1,8-Cineole | 0.73 | 34.38 | 4.01 |
| 14 | γ-Terpinene | 0.47 | 6.52 | 1.12 |
| 15 | Z-Decahydronaphthalene | | | |
| 16 | Terpinolene | 0.89 | 0.36 | |
| 17 | Linalool | 0.97 | | 0.49 |
| 18 | Terpinen-4-ol | 0.66 | 3.50 | 0.70 |
| 19 | α-Terpineol | | 7.68 | 0.56 |
| 20 | Cinnamaldehyde-E | | | 0.54 |
| 21 | α-Cubebene | 0.23 | | 0.25 |
| 22 | α-Copaene | 3.90 | 0.20 | 3.54 |
| 23 | Methyl cinnamate-E | 26.07 | | 13.03 |

| | | | | |
|---|--------------------------------------|--------------|--------------|--------------|
| 24 | β-Cubebene | 0.13 | | 0.18 |
| 25 | β-Elemene | | 0.04 | 0.51 |
| 26 | Caryophyllene-E | 16.55 | 0.69 | 14.87 |
| 27 | Cinnamyl acetate-E | 1.56 | | 1.45 |
| 28 | Anisyl Acetone | | | |
| 29 | α-Humulene | 13.15 | 1.40 | 10.30 |
| 30 | γ-Selinene | | | |
| 31 | β-Selinene | 2.75 | 0.69 | 6.13 |
| 32 | α-Zingiberene | | | 4.22 |
| 33 | α-Selinene | | | 3.52 |
| 34 | Bicycloelemene | 2.13 | | |
| 35 | Methyl isoeugenol-E | 3.56 | | 5.50 |
| 36 | Bicyclogermacrene | 2.13 | 0.31 | |
| 37 | E,E-α-Farnesene | | | 3.77 |
| 38 | δ-Cadinene | 0.75 | 0.05 | 0.93 |
| 39 | β-Sesquiphellandrene | | | 1.32 |
| 40 | Z-α-Bisabolene | 0.15 | | |
| 41 | E-γ-Bisabolene | 2.99 | | 2.07 |
| 42 | Caryophyllene oxide | 4.93 | 0.92 | 4.14 |
| 43 | Spathulenol | | | |
| 44 | Caryophylla-4(12),8(13) diene 5 β-ol | | | |
| 45 | Benzyl benzoate | | | |
| * Total Identificado | | 90.50 | 90.10 | 91.16 |
| OQ= <i>Ocotea quixos</i> OQ 1= Comunidad San Luis OQ 2= Comunidad Juyukamentsa OQ 3= Comunidad Wapú X̄= Promedio de cada Comunidad | | | | |

Fuente: La autora

Tabla 10. Resumen de la composición química del aceite esencial *Ocotea quixos* en HP-INNOWAX

| | | HP-INNOWAX | | |
|----|------------------------|--------------------|------------------------|----------------|
| | | Comunidad San Luis | Comunidad Juyukamentsa | Comunidad Wapú |
| °N | COMPUESTOS | OQ 1 (x̄) | OQ 2 (x̄) | OQ 3 (x̄) |
| 1 | α-Thujene | | 3.25 | |
| 2 | α-Pinene | 1.52 | 4.33 | 4.19 |
| 3 | Camphene | 0.23 | 0.19 | 1.44 |
| 4 | Sabinene | 0.77 | 3.35 | 0.86 |
| 5 | β-Pinene | 1.43 | 1.86 | 2.15 |
| 6 | Myrcene | 0.25 | | 0.51 |
| 7 | Benzaldehyde | 0.79 | | 0.65 |
| 8 | α-Phellandrene | | 3.12 | |
| 9 | δ-3-Carene | | 1.85 | 0.51 |
| 10 | α-Terpinene | 0.31 | 3.04 | |
| 11 | Cymene-p | | 12.93 | |
| 12 | Limonene | 0.61 | 7.91 | 0.82 |
| 13 | 1,8-Cineole | 0.83 | 20.41 | 4.10 |
| 14 | γ-Terpinene | 0.59 | 5.77 | 0.94 |
| 15 | Z-Decahydronaphthalene | 2.27 | | 1.15 |
| 16 | Terpinolene | 12.06 | 1.49 | |
| 17 | Linalool | 1.44 | 0.23 | 0.78 |
| 18 | Terpinen-4-ol | 0.73 | 2.57 | 0.65 |
| 19 | α-Terpineol | 0.47 | 0.92 | 1.02 |
| 20 | Cinnamaldehyde-E | 2.80 | 0.62 | 4.57 |
| 21 | α-Cubebene | 0.41 | | 0.26 |
| 22 | α-Copaene | 4.77 | 14.85 | 4.11 |
| 23 | Methyl cinnamate-E | 20.64 | 0.94 | 11.99 |

| | | | | |
|--|--------------------------------------|--------------|--------------|--------------|
| 24 | β-Cubebene | | | |
| 25 | β-Elemene | | | |
| 26 | Caryophyllene-E | 12.57 | 0.46 | 13.07 |
| 27 | Cinnamyl acetate-E | 4.81 | 0.32 | 5.23 |
| 28 | Anisyl Acetone | 5.54 | 0.20 | |
| 29 | α-Humulene | 9.28 | 0.45 | 9.71 |
| 30 | γ-Selinene | | | 0.59 |
| 31 | β-Selinene | 0.46 | 0.33 | 4.58 |
| 32 | α-Zingiberene | | | 2.91 |
| 33 | α-Selinene | 0.85 | | 1.30 |
| 34 | Bicycloelemene | 0.45 | | 0.51 |
| 35 | Methyl isoeugenol-E | | 0.25 | 7.40 |
| 36 | Bicyclgermacrene | | 0.21 | 1.75 |
| 37 | E,E-α-Farnesene | 0.32 | | |
| 38 | δ-Cadinene | 1.13 | 0.16 | 1.97 |
| 39 | β-Sesquiphellandrene | | | 1.53 |
| 40 | Z-α-Bisabolene | 0.25 | | |
| 41 | E-γ-Bisabolene | 2.17 | 0.22 | 1.12 |
| 42 | Caryophyllene oxide | 3.09 | 0.24 | 2.19 |
| 43 | Spathulenol | 0.32 | 0.27 | 0.25 |
| 44 | Caryophylla-4(12),8(13) diene 5 β-ol | 0.62 | | 0.74 |
| 45 | Benzyl benzoate | 0.28 | 0.18 | 0.47 |
| * Total Identificado | | 94.78 | 92.91 | 96.02 |
| OQ= <i>Ocotea quixos</i> OQ 1= Comunidad San Luis OQ 2= Comunidad Juyukamentsa OQ 3= Comunidad Wapú Ā= Promedio de cada Comunidad | | | | |

Fuente: La autora

Cabe mencionar que en las tablas 9 y 11 se realizó un resumen de la composición química de las 3 comunidades, con el fin de identificar cual de estas tiene mayor similitud entre si, dando como resultado que existe una gran parecido entre la comunidad San Luis y Comunidad Wapú.

3.2.2 Análisis cuantitativo

El análisis cuantitativo de *Ocotea quixos*, se llevó a cabo mediante la comparación del porcentaje de cantidad relativa de cada pico detectado en el detector de ionización de llama (FID) con el porcentaje (%) de cantidad relativa de cada pico identificado en masas, tanto en la columna no polar como polar.

Mediante el análisis cualitativo y cuantitativo se confirma la presencia de los compuestos identificados en el aceite esencial de *Ocotea quixos*.

En las siguientes tablas, se muestran los compuestos identificados en las columnas no polar (DB5-MS) y polar (HP-INNOWAX) con sus respectivos porcentajes (%) de cantidad relativa identificados mediante el cromatógrafo de gases acoplado al espectrofotómetro de masas.

Así como también se presentan los datos de los porcentajes (%) de cantidad relativa proporcionados por el equipo al utilizar el detector de ionización de llama (FID).

De cada compuesto se calculó la media aritmética del porcentaje (%) de cantidad relativa tanto para masas y FID conjuntamente con la desviación estándar en FID.

Tabla 11. Comparación de la cantidad relativa (%) de los compuestos determinados por CG-MS y CG-FID en la Comunidad San Luis

| °N | COMPUESTOS | DB5-MASAS | | | | | | | | | | HP-INNOWAX | | | | | | | | | | |
|----|------------------------|-------------------------------------|-------|---------|-------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------------------------------|-------|---------|-------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | % de Cantidad Relativa ^a | | | | | | | | | | % de Cantidad Relativa ^a | | | | | | | | | | |
| | | O.Q 1.1 | | O.Q 1.2 | | O.Q 1.3 | | x̄ | | σ | | O.Q 1.1 | | O.Q 1.2 | | O.Q 1.3 | | x̄ | | σ | | |
| MS | FID | MS | FID | MS | FID | MS | FID | MS | FID | MS | FID | MS | FID | MS | FID | MS | FID | MS | FID | MS | FID | |
| 1 | α-Thujene | 0.08 | 0.07 | 0.28 | 0.28 | 0.28 | 0.28 | 0.21 | 0.21 | 0.12 | 0.12 | | | | | | | | | | | |
| 2 | α-Pinene | 0.07 | 0.08 | 2.15 | 2.20 | 2.23 | 2.24 | 1.49 | 1.51 | 1.22 | 1.23 | 0.59 | 0.63 | 1.99 | 2.25 | 1.98 | 2.15 | 1.52 | 1.68 | 0.81 | 0.91 | |
| 3 | Camphene | 0.13 | 0.20 | 0.29 | 0.53 | 0.31 | 0.39 | 0.24 | 0.37 | 0.09 | 0.17 | | | 0.23 | 0.22 | 0.23 | 0.13 | 0.23 | 0.17 | 0.00 | 0.06 | |
| 4 | Sabinene | 0.63 | 0.70 | 0.95 | 1.51 | 0.97 | 0.81 | 0.85 | 1.01 | 0.19 | 0.44 | 0.55 | 0.55 | 0.88 | 0.88 | 0.88 | 0.88 | 0.77 | 0.77 | 0.19 | 0.19 | |
| 5 | β-Pinene | 0.90 | 1.56 | 2.11 | 2.18 | 2.20 | 2.19 | 1.74 | 1.97 | 0.72 | 0.36 | 0.72 | 0.76 | 1.78 | 1.08 | 1.79 | 2.11 | 1.43 | 1.31 | 0.61 | 0.71 | |
| 6 | Myrcene | | | 0.12 | 0.07 | 0.12 | 0.06 | 0.12 | 0.06 | 0.00 | 0.01 | | | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.27 | 0.25 | 0.26 | 0.00 | 0.01 | |
| 7 | Benzaldehyde | | | | | | | | | | | 0.49 | 0.48 | 0.94 | 0.90 | 0.93 | 1.00 | 0.79 | 0.79 | 0.26 | 0.28 | |
| 8 | α-Phellandrene | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 9 | δ-3-Carene | | | | | 0.09 | 0.10 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 10 | α-Terpinene | | | 0.33 | 0.40 | 0.33 | 0.35 | 0.33 | 0.37 | 7E-04 | 0.04 | | | 0.31 | 0.31 | 0.31 | 0.40 | 0.31 | 0.35 | 0.00 | 0.06 | |
| 11 | Cymene-p | | | | | | | | | | | | | | 0.60 | 0.56 | | | | | | |
| 12 | Limonene | 0.36 | 0.10 | 0.72 | 0.71 | 0.74 | 0.74 | 0.61 | 0.52 | 0.21 | 0.36 | 0.36 | 0.33 | 0.72 | 0.67 | 0.73 | 0.71 | 0.61 | 0.57 | 0.21 | 0.21 | |
| 13 | 1,8-Cineole | 0.19 | 0.08 | 0.96 | 1.00 | 1.04 | 1.41 | 0.73 | 0.83 | 0.47 | 0.68 | | | 0.81 | 0.96 | 0.84 | 0.83 | 0.83 | 0.90 | 0.02 | 0.09 | |
| 14 | γ-Terpinene | 0.15 | 0.62 | 0.61 | 0.73 | 0.65 | 0.60 | 0.47 | 0.65 | 0.28 | 0.07 | | | 0.59 | 0.59 | 0.60 | 0.69 | 0.59 | 0.64 | 0.01 | 0.07 | |
| 15 | Z-Decahydronaphthalene | | | | | | | | | | | | | 2.26 | 2.31 | 2.29 | 3.21 | 2.27 | 2.76 | 0.02 | 0.64 | |
| 16 | Terpinolene | | | 0.11 | 0.27 | 1.66 | 1.59 | 0.89 | 0.93 | 1.10 | 0.93 | 11.05 | 11.48 | 12.02 | 12.52 | 11.65 | 12.17 | 11.57 | 12.06 | 0.49 | 0.53 | |
| 17 | Linalool | 0.28 | 0.13 | 1.66 | 1.53 | | | 0.97 | 0.83 | 0.98 | 0.99 | 0.51 | 0.31 | 1.90 | 1.16 | 1.90 | 2.15 | 1.44 | 1.21 | 0.80 | 0.92 | |
| 18 | Terpinen-4-ol | 0.33 | 0.32 | 0.83 | 0.71 | 0.82 | 0.68 | 0.66 | 0.57 | 0.28 | 0.22 | 0.52 | 0.59 | 0.85 | 0.43 | 0.81 | 0.94 | 0.73 | 0.65 | 0.18 | 0.26 | |
| 19 | α-Terpineol | | | 0.34 | 0.53 | | | | | | | 0.45 | 0.48 | 0.47 | 0.45 | 0.48 | 0.48 | 0.47 | 0.47 | 0.02 | 0.02 | |
| 20 | Cinnamaldehyde-E | | | | | | | | | | | 2.20 | 2.65 | 3.09 | 3.41 | 3.12 | 3.40 | 2.80 | 3.15 | 0.53 | 0.43 | |
| 21 | α-Cubebene | 0.31 | 0.33 | 0.18 | 0.04 | 0.18 | 0.02 | 0.23 | 0.13 | 0.08 | 0.18 | 0.79 | 0.39 | 0.21 | 0.23 | 0.21 | 0.29 | 0.41 | 0.30 | 0.33 | 0.08 | |
| 22 | α-Copaene | 10.57 | 8.66 | 0.57 | 0.80 | 0.58 | 0.56 | 3.90 | 3.34 | 5.77 | 4.61 | 8.96 | 7.01 | | | 0.58 | 0.54 | 4.77 | 3.77 | 5.93 | 4.57 | |
| 23 | Methyl cinnamate-E | 22.49 | 22.37 | 28.10 | 28.31 | 27.63 | 27.65 | 26.07 | 26.11 | 3.11 | 3.25 | 19.21 | 17.99 | 21.32 | 22.84 | 21.39 | 22.96 | 20.64 | 21.27 | 1.24 | 2.83 | |
| 24 | β-Cubebene | 0.20 | 0.37 | 0.06 | 0.02 | | | 0.13 | 0.20 | 0.10 | 0.24 | | | | | | | | | | | |
| 25 | β-Elementene | | | 0.56 | 0.84 | | | | | | | | | | | | | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|---|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|--|-------|-------|
| 26 | Caryophyllene-E | 21.94 | 20.07 | 13.63 | 13.80 | 14.09 | 13.35 | 16.55 | 15.74 | 4.67 | 3.76 | 15.73 | 14.30 | 10.96 | 9.10 | 11.02 | 12.33 | 12.57 | 11.91 | 2.74 | 2.62 | | | | |
| 27 | Cinnamyl acetate-E | 1.18 | 2.11 | 1.68 | 1.29 | 1.81 | 1.57 | 1.56 | 1.65 | 0.33 | 0.42 | 4.24 | 4.94 | 5.08 | 5.47 | 5.12 | 5.03 | 4.81 | 5.14 | 0.50 | 0.28 | | | | |
| 28 | Anisyl Acetone | | | | | | | | | | | 5.31 | 5.21 | 5.65 | 5.50 | 5.67 | 5.29 | 5.54 | 5.34 | 0.20 | 0.15 | | | | |
| 29 | α -Humulene | 2.87 | 2.78 | 18.97 | 18.31 | 17.63 | 19.92 | 13.15 | 13.67 | 8.94 | 9.47 | 2.42 | 2.80 | 12.69 | 15.33 | 12.74 | 12.01 | 9.28 | 10.05 | 5.95 | 6.49 | | | | |
| 30 | γ -Selinene | | | | | | | | | | | 6.09 | 6.59 | | | | | | | | | | | | |
| 31 | β -Selinene | 7.04 | 6.92 | 0.60 | 0.96 | 0.61 | 0.54 | 2.75 | 2.81 | 3.71 | 3.57 | | | 0.46 | 0.43 | 0.46 | 0.42 | 0.46 | 0.42 | 0.00 | 0.01 | | | | |
| 32 | α -Zingiberene | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 33 | α -Selinene | | | | | | | | | | | 1.56 | 1.70 | 0.49 | 0.41 | 0.49 | 0.48 | 0.85 | 0.86 | 0.61 | 0.73 | | | | |
| 34 | Bicycloelemene | 4.09 | 4.21 | 1.14 | 1.00 | 1.16 | 1.21 | 2.13 | 2.14 | 1.70 | 1.80 | 1.32 | 1.24 | | | | | | | | | | | | |
| 35 | Methyl isoeugenol-E | 3.41 | 2.02 | 3.97 | 3.31 | 3.31 | 3.79 | 3.56 | 3.04 | 0.36 | 0.91 | | | | | | | | | | | | | | |
| 36 | Bicyclogermacrene | 4.09 | 4.21 | 1.14 | 1.00 | 1.16 | 2.21 | 2.13 | 2.48 | 1.70 | 1.62 | 1.32 | 1.24 | | | | | | | | | | | | |
| 37 | E,E- α -Farnesene | | | | | | | | | | | 0.31 | 0.48 | 0.33 | 0.33 | 0.33 | 0.21 | 0.32 | 0.34 | 0.01 | 0.14 | | | | |
| 38 | δ -Cadinene | 1.15 | 0.55 | 0.50 | 0.49 | 0.60 | 0.39 | 0.75 | 0.48 | 0.35 | 0.08 | 1.96 | 1.99 | 0.72 | 0.74 | 0.72 | 0.60 | 1.13 | 1.11 | 0.72 | 0.76 | | | | |
| 39 | β -Sesquiphellandrene | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 40 | Z- α -Bisabolene | | | 0.14 | 0.07 | 0.15 | 0.19 | 0.15 | 0.13 | 0.00 | 0.09 | 0.33 | 0.35 | 0.21 | 0.18 | 0.21 | 0.17 | 0.25 | 0.23 | 0.07 | 0.10 | | | | |
| 41 | E- γ -Bisabolene | 1.79 | 1.32 | 3.50 | 3.98 | 3.69 | 5.03 | 2.99 | 3.44 | 1.05 | 1.91 | 1.22 | 0.99 | 2.65 | 2.60 | 2.63 | 2.15 | 2.17 | 1.91 | 0.82 | 0.83 | | | | |
| 42 | Caryophyllene oxide | 5.40 | 4.28 | 4.68 | 4.69 | 4.71 | 6.09 | 4.93 | 5.02 | 0.41 | 0.95 | 3.44 | 3.22 | 2.90 | 2.35 | 2.92 | 2.40 | 3.09 | 2.66 | 0.31 | 0.49 | | | | |
| 43 | Spathulenol | | | | | | | | | | | 0.42 | 0.48 | 0.27 | 0.18 | 0.28 | 0.27 | 0.32 | 0.31 | 0.08 | 0.15 | | | | |
| 44 | Caryophylla-4(12),8(13) diene 5 β -ol | | | | | | | | | | | 0.85 | 0.70 | 0.51 | 0.51 | 0.50 | 0.52 | 0.62 | 0.58 | 0.20 | 0.11 | | | | |
| 45 | Benzyl benzoate | | | | | | | | | | | 0.26 | 0.26 | 0.29 | 0.29 | 0.27 | 0.28 | 0.27 | 0.02 | 0.02 | 0.02 | | | | |
| | | * Total Identificado | | | | | | | | | | 90.50 | 90.21 | * Total Identificado | | | | | | | | | | 94.78 | 94.23 |

Compuestos según el orden de elución en la columna DB-5MS

*= Sumatoria del porcentaje relativo de los compuestos identificados en DB5-MASAS y DB5-MASAS-FID

*= Sumatoria del porcentaje relativo de los compuestos identificados en HP-INNOWAX y HP-INNOWAX-FID

OQ= *Ocotea quixos*

OQ 1= Comunidad San Luis

OQ 1.1= Primera destilación OQ 1.2= Segunda destilación OQ 1.3= Tercera destilación

\bar{X} = Promedio

σ = Desviación estándar

Fuente: La autora

Tabla 12. Comparación de la cantidad relativa (%) de los compuestos determinados por CG-MS y CG-FID en la Comunidad Juyukamentsa

| °N | COMPUESTOS | DB5-MASAS | | | | | | | | | | HP-INNOWAX | | | | | | | | | |
|----|------------------------|-------------------------------------|-------|---------|-------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------------------------------|-------|---------|-------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | % de Cantidad Relativa ^a | | | | | | | | | | % de Cantidad Relativa ^a | | | | | | | | | |
| | | O.Q 2.1 | | O.Q 2.2 | | O.Q 2.3 | | x̄ | | σ | | O.Q 2.1 | | O.Q 2.2 | | O.Q 2.3 | | x̄ | | σ | |
| MS | FID | MS | FID | MS | FID | MS | FID | MS | FID | MS | FID | MS | FID | MS | FID | MS | FID | MS | FID | MS | FID |
| 1 | α-Thujene | 2.25 | 2.19 | 2.98 | 2.84 | 2.52 | 2.48 | 2.58 | 2.50 | 0.37 | 0.33 | 2.97 | 3.34 | 3.54 | 3.61 | | | 3.25 | 3.48 | 0.40 | 0.20 |
| 2 | α-Pinene | 8.86 | 9.07 | 9.48 | 9.43 | 8.51 | 9.09 | 8.95 | 9.20 | 0.49 | 0.20 | 5.68 | 5.88 | 5.85 | 5.86 | 1.45 | 1.53 | 4.33 | 4.42 | 2.49 | 2.50 |
| 3 | Camphene | 0.26 | 0.40 | 0.30 | 0.31 | 0.24 | 0.22 | 0.27 | 0.31 | 0.03 | 0.09 | 0.18 | 0.19 | 0.21 | 0.20 | | | 0.19 | 0.20 | 0.02 | 0.01 |
| 4 | Sabinene | 5.47 | 5.37 | 4.88 | 5.73 | 6.43 | 7.85 | 5.59 | 6.32 | 0.79 | 1.34 | 4.74 | 3.85 | 4.15 | 4.14 | 1.16 | 1.13 | 3.35 | 3.04 | 1.92 | 1.66 |
| 5 | β-Pinene | 3.22 | 3.28 | 3.53 | 3.94 | 3.10 | 3.05 | 3.29 | 3.42 | 0.22 | 0.47 | 2.67 | 2.33 | 2.83 | 2.98 | 0.08 | 0.10 | 1.86 | 1.80 | 1.54 | 1.51 |
| 6 | Myrcene | 1.08 | 1.82 | 1.33 | 1.41 | 1.32 | 1.40 | 1.24 | 1.54 | 0.14 | 0.24 | | | | | | | | | | |
| 7 | Benzaldehyde | | | | | | | | | | | | | 0.07 | 0.07 | | | | | | |
| 8 | α-Phellandrene | 0.71 | 0.80 | 1.08 | 0.95 | 0.74 | 0.79 | 0.84 | 0.84 | 0.20 | 0.09 | 2.08 | 2.51 | 2.62 | 3.75 | 4.65 | 4.04 | 3.12 | 3.43 | 1.36 | 0.81 |
| 9 | δ-3-Carene | 1.82 | 1.14 | 1.93 | 2.79 | 1.73 | 1.54 | 1.83 | 1.83 | 0.10 | 0.86 | 1.39 | 1.65 | 1.41 | 1.70 | 2.74 | 2.83 | 1.85 | 2.06 | 0.77 | 0.67 |
| 10 | α-Terpinene | 3.27 | 3.17 | 4.22 | 4.67 | 2.95 | 2.65 | 3.48 | 3.50 | 0.66 | 1.05 | 3.17 | 3.34 | 3.87 | 3.91 | 2.07 | 2.99 | 3.04 | 3.41 | 0.91 | 0.47 |
| 11 | Cymene-p | 1.96 | 0.70 | 1.40 | 0.51 | 3.34 | 0.32 | 2.23 | 0.51 | 1.00 | 0.19 | 11.12 | 10.92 | 11.84 | 12.91 | 15.83 | 15.02 | 12.93 | 12.95 | 2.54 | 2.05 |
| 12 | Limonene | 3.04 | 3.66 | 3.63 | 4.13 | 2.51 | 3.22 | 3.06 | 3.67 | 0.56 | 0.45 | 2.96 | 3.62 | 3.31 | 3.23 | 17.47 | 16.02 | 7.91 | 7.62 | 8.28 | 7.27 |
| 13 | 1,8-Cineole | 34.71 | 36.17 | 30.96 | 32.22 | 37.46 | 37.38 | 34.38 | 35.26 | 3.26 | 2.70 | 21.11 | 21.35 | 18.86 | 18.23 | 21.27 | 21.50 | 20.41 | 20.36 | 1.34 | 1.85 |
| 14 | γ-Terpinene | 6.17 | 7.24 | 7.27 | 7.30 | 6.13 | 7.07 | 6.52 | 7.20 | 0.65 | 0.12 | 5.41 | 6.11 | 6.13 | 4.25 | | | 5.77 | 5.18 | 0.51 | 1.32 |
| 15 | Z-Decahydronaphthalene | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 16 | Terpinolene | 0.31 | 0.55 | 0.40 | 0.44 | 0.35 | 0.32 | 0.36 | 0.43 | 0.04 | 0.11 | 0.35 | 0.33 | 0.44 | 0.48 | 3.70 | 3.59 | 1.49 | 1.46 | 1.91 | 1.84 |
| 17 | Linalool | | | | | 0.07 | 0.59 | | | | | 0.23 | 0.24 | 0.22 | 0.25 | | | 0.23 | 0.24 | 0.01 | 0.01 |
| 18 | Terpinen-4-ol | 3.60 | 3.58 | 3.96 | 3.18 | 2.95 | 3.00 | 3.50 | 3.25 | 0.51 | 0.30 | 3.26 | 2.07 | 3.44 | 3.48 | 1.02 | 1.55 | 2.57 | 2.36 | 1.35 | 1.00 |
| 19 | α-Terpineol | 8.02 | 7.28 | 7.08 | 7.22 | 7.95 | 7.69 | 7.68 | 7.40 | 0.53 | 0.26 | 0.41 | 0.40 | 0.31 | 0.32 | 2.03 | 2.57 | 0.92 | 1.10 | 0.97 | 1.28 |
| 20 | Cinnamaldehyde-E | | | | | | | | | | | 0.61 | 0.63 | 0.55 | 0.68 | 0.72 | 0.75 | 0.62 | 0.69 | 0.08 | 0.06 |
| 21 | α-Cubebene | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 22 | α-Copaene | 0.34 | 0.02 | 0.12 | 0.23 | 0.13 | 0.14 | 0.20 | 0.13 | 0.12 | 0.10 | 15.70 | 15.24 | 14.70 | 14.11 | 14.15 | | 14.85 | 14.67 | 0.79 | 0.79 |
| 23 | Methyl cinnamate-E | | | | | | | | | | | 0.54 | 0.42 | 0.95 | 0.95 | 1.32 | 1.10 | 0.94 | 0.83 | 0.39 | 0.36 |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|--------------------------------------|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 24 | β-Cubebene | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 25 | β-Elemene | 0.04 | 0.07 | 0.05 | 0.10 | | | 0.04 | 0.09 | 0.01 | 0.02 | | | | | | | | | | |
| 26 | Caryophyllene-E | 0.53 | 0.60 | 0.80 | 0.64 | 0.72 | 0.32 | 0.69 | 0.52 | 0.14 | 0.17 | 0.36 | 0.33 | 0.56 | 0.56 | | | 0.46 | 0.45 | 0.14 | 0.17 |
| 27 | Cinnamyl acetate-E | | | | | | | | | | | 0.46 | 0.42 | 0.18 | 0.34 | | | 0.32 | 0.38 | 0.20 | 0.06 |
| 28 | Anisyl Acetone | | | | | | | | | | | 0.28 | | 0.12 | | | | 0.20 | | 0.11 | |
| 29 | α-Humulene | 1.44 | 1.57 | 1.28 | 1.13 | 1.46 | 1.52 | 1.40 | 1.41 | 0.10 | 0.24 | 0.53 | 0.52 | 0.37 | 0.34 | | | 0.45 | 0.43 | 0.11 | 0.12 |
| 30 | γ-Selinene | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 31 | β-Selinene | | | 0.55 | 0.51 | 0.84 | 0.20 | 0.69 | 0.35 | 0.20 | 0.22 | 0.22 | 0.21 | 0.45 | 0.48 | | | 0.33 | 0.34 | 0.17 | 0.19 |
| 32 | α-Zingiberene | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 33 | α-Selinene | | | | | | | | | | | | | 0.21 | 0.20 | | | | | | |
| 34 | Bicycloelemene | | | | | | | | | | | | | 0.07 | 0.09 | | | | | | |
| 35 | Methyl isoeugenol-E | | | | | | | | | | | 0.21 | 0.24 | 0.29 | 0.24 | | | 0.25 | 0.24 | 0.05 | 0.00 |
| 36 | Bicyclogermacrene | 0.30 | 0.42 | 0.31 | 0.36 | | | 0.31 | 0.39 | 0.00 | 0.05 | 0.22 | 0.21 | 0.20 | 0.20 | | | 0.21 | 0.21 | 0.02 | 0.00 |
| 37 | E,E-α-Farnesene | | | | | 0.42 | 0.42 | | | | | | | | | | | | | | |
| 38 | δ-Cadinene | | | 0.07 | 0.08 | 0.03 | 0.07 | 0.05 | 0.08 | 0.03 | 0.00 | 0.14 | 0.14 | 0.18 | 0.18 | | | 0.16 | 0.16 | 0.03 | 0.03 |
| 39 | β-Sesquiphellandrene | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 40 | Z-α-Bisabolene | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 41 | E-γ-Bisabolene | 0.30 | 0.35 | | | | | | | | | 0.32 | 0.35 | 0.12 | 0.10 | 0.22 | 0.23 | 0.22 | 0.23 | 0.10 | 0.12 |
| 42 | Caryophyllene oxide | | | 0.87 | 0.36 | 0.97 | 0.20 | 0.92 | 0.28 | 0.07 | 0.11 | 0.16 | 0.16 | 0.32 | 0.32 | 0.25 | 0.36 | 0.24 | 0.28 | 0.08 | 0.10 |
| 43 | Spathulenol | 0.11 | 0.12 | | | | | | | | | 0.46 | 0.21 | 0.08 | 0.16 | | | 0.27 | 0.19 | 0.27 | 0.04 |
| 44 | Caryophylla-4(12),8(13) diene 5 β-ol | | | | | | | | | | | | | 0.13 | 0.14 | | | | | | |
| 45 | Benzyl benzoate | | | | | | | | | | | 0.15 | 0.33 | 0.26 | 0.14 | 0.12 | 0.18 | 0.18 | 0.22 | 0.08 | 0.10 |
| | | * Total Identificado | | | | | | | | | | * Total Identificado | | | | | | | | | |
| | | 90.10 90.42 | | | | | | | | | | 92.91 92.43 | | | | | | | | | |

Compuestos según el orden de elución en la columna DB-5MS

*= Sumatoria del porcentaje relativo de los compuestos identificados en DB5-MASAS y DB5-MASAS-FID

*= Sumatoria del porcentaje relativo de los compuestos identificados en HP-INNOWAX y HP-INNOWAX-FID

OQ= *Ocotea quixos*

OQ 2= Comunidad Juyukamentsa

OQ 2.1= Primera destilación **OQ 2.2=** Segunda destilación **OQ 2.3=** Tercera destilación

Ī= Promedio

Ō= Desviación estándar

Fuente: La autora

Tabla 13. Comparación de la cantidad relativa (%) de los compuestos determinados por CG-MS y CG-FID en la Comunidad Wapú

| °N | COMPUESTOS | DB5-MASAS | | | | | | | | | | HP-INNOWAX | | | | | | | | | | |
|----|------------------------|-------------------------------------|-------|---------|-------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------------------------------|-------|---------|-------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | % de Cantidad Relativa ^a | | | | | | | | | | % de Cantidad Relativa ^a | | | | | | | | | | |
| | | O.Q 3.1 | | O.Q 3.2 | | O.Q 3.3 | | x̄ | | σ | | O.Q 3.1 | | O.Q 3.2 | | O.Q 3.3 | | x̄ | | σ | | |
| MS | FID | MS | FID | MS | FID | MS | FID | MS | FID | MS | FID | MS | FID | MS | FID | MS | FID | MS | FID | MS | FID | |
| 1 | α-Thujene | 0.09 | 0.06 | 0.09 | 0.06 | 0.98 | 0.81 | 0.39 | 0.31 | 0.51 | 0.43 | | | | | | | | | | | |
| 2 | α-Pinene | 1.70 | 2.06 | 1.67 | 1.91 | 5.17 | 5.12 | 2.85 | 3.03 | 2.01 | 1.81 | 3.50 | 3.70 | 4.50 | 4.59 | 4.58 | 3.57 | 4.19 | 3.96 | 0.60 | 0.56 | |
| 3 | Camphene | 1.68 | 1.67 | 1.67 | 1.67 | 0.54 | 0.52 | 1.30 | 1.29 | 0.65 | 0.67 | 1.45 | 1.66 | 1.45 | 0.45 | 1.43 | 0.47 | 1.44 | 0.86 | 0.01 | 0.70 | |
| 4 | Sabinene | 0.71 | 0.86 | 0.71 | 0.81 | 1.65 | 1.60 | 1.02 | 1.09 | 0.55 | 0.45 | 0.68 | 0.64 | 0.58 | 0.59 | 1.33 | 1.45 | 0.86 | 0.89 | 0.41 | 0.48 | |
| 5 | β-Pinene | 1.54 | 1.56 | 1.53 | 1.57 | 2.37 | 2.26 | 1.81 | 1.80 | 0.49 | 0.40 | 2.31 | 2.59 | 2.31 | 2.70 | 1.82 | 1.77 | 2.15 | 2.35 | 0.28 | 0.51 | |
| 6 | Myrcene | 0.18 | 0.06 | 0.19 | 0.10 | 0.41 | 0.50 | 0.26 | 0.22 | 0.13 | 0.24 | 0.37 | 0.37 | 0.47 | 0.40 | 0.68 | 0.65 | 0.51 | 0.48 | 0.16 | 0.15 | |
| 7 | Benzaldehyde | | | | | | | | | | | 0.64 | 0.60 | 0.74 | 0.72 | 0.59 | 0.56 | 0.65 | 0.63 | 0.07 | 0.08 | |
| 8 | α-Phellandrene | | | | | | | | | | | | | | | 0.85 | 0.87 | | | | | |
| 9 | δ-3-Carene | | | | | 0.94 | 0.92 | | | | | 0.37 | 0.48 | 0.47 | 0.56 | 0.68 | 0.78 | 0.51 | 0.61 | 0.16 | 0.16 | |
| 10 | α-Terpinene | 0.11 | 0.11 | 0.11 | 0.06 | 0.95 | 0.80 | 0.39 | 0.32 | 5E-01 | 0.42 | | | | | | | | | | | |
| 11 | Cymene-p | | | | | | | | | | | | | | | 3.79 | 3.27 | | | | | |
| 12 | Limonene | | | | | 1.89 | 2.86 | | | | | 0.62 | 0.73 | 0.32 | 0.36 | 1.52 | 1.49 | 0.82 | 0.86 | 2.19 | 0.58 | |
| 13 | 1,8-Cineole | 3.03 | 2.37 | 2.98 | 2.40 | 6.01 | 6.19 | 4.01 | 3.65 | 1.74 | 2.19 | 4.04 | 4.17 | 4.03 | 4.15 | 4.25 | 5.15 | 4.10 | 4.49 | 0.88 | 0.58 | |
| 14 | γ-Terpinene | 0.19 | 0.13 | 0.20 | 0.10 | 2.98 | 3.35 | 1.12 | 1.19 | 1.61 | 1.87 | 0.21 | 0.22 | 0.11 | 0.19 | 2.50 | 2.54 | 0.94 | 0.99 | 0.69 | 1.35 | |
| 15 | Z-Decahydronaphthalene | | | | | | | | | | | 1.01 | 1.21 | 1.11 | 1.04 | 1.35 | 1.15 | 1.15 | 1.13 | 0.18 | 0.08 | |
| 16 | Terpinolene | | | | | 1.02 | 0.94 | | | | | | | | | 0.19 | 0.19 | | | | | |
| 17 | Linalool | 0.23 | 0.13 | 0.23 | 0.20 | 1.02 | 0.05 | 0.49 | 0.12 | 0.46 | 0.07 | 0.54 | 0.58 | 0.64 | 0.62 | 1.17 | 1.24 | 0.78 | 0.81 | 0.34 | 0.37 | |
| 18 | Terpinen-4-ol | 0.25 | 0.26 | 0.25 | 0.12 | 1.60 | 1.44 | 0.70 | 0.61 | 0.78 | 0.73 | 0.33 | 0.34 | 0.23 | 0.21 | 1.38 | 1.59 | 0.65 | 0.71 | 0.63 | 0.76 | |
| 19 | α-Terpineol | 0.27 | 0.11 | 0.27 | 0.22 | 1.14 | 1.13 | 0.56 | 0.49 | 0.51 | 0.56 | 0.96 | 1.03 | 1.97 | 1.02 | 1.12 | 1.03 | 1.02 | 1.02 | 0.09 | 0.00 | |
| 20 | Cinnamaldehyde-E | 0.19 | 0.02 | 0.89 | 0.88 | | | 0.54 | 0.45 | 0.489 | 0.61 | 4.72 | 4.41 | 4.42 | 5.56 | 4.57 | 4.80 | 4.57 | 4.93 | 0.15 | 0.59 | |
| 21 | α-Cubebene | 0.28 | 0.20 | 0.28 | 0.24 | 0.20 | 0.12 | 0.25 | 0.19 | 0.04 | 0.06 | 0.34 | 0.36 | 0.24 | 0.21 | 0.20 | 0.19 | 0.26 | 0.25 | 0.07 | 0.09 | |
| 22 | α-Copaene | 4.44 | 4.72 | 4.44 | 5.05 | 1.74 | 2.53 | 3.54 | 4.10 | 1.56 | 1.37 | 3.97 | 3.57 | 3.87 | 3.55 | 4.48 | 4.49 | 4.11 | 3.87 | 0.33 | 0.54 | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|---|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------------|--------------|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|--|--------------|--------------|
| 23 | Methyl cinnamate-E | 10.50 | 9.57 | 10.45 | 9.41 | 18.15 | 17.24 | 13.03 | 12.07 | 4.43 | 4.48 | 10.53 | 10.90 | 10.43 | 10.77 | 15.00 | 16.03 | 11.99 | 12.57 | 2.61 | 3.00 | | | | |
| 24 | β -Cubebene | 0.18 | 0.15 | 0.17 | 0.10 | | | 0.18 | 0.12 | 0.00 | 0.03 | | | | | | | | | | | | | | |
| 25 | β -Elemene | 0.58 | 0.72 | 0.55 | 0.73 | 0.39 | 0.47 | 0.51 | 0.64 | 0.103 | 0.14 | | | | | | | | | | | | | | |
| 26 | Caryophyllene-E | 16.79 | 14.90 | 16.15 | 14.83 | 11.67 | 11.61 | 14.87 | 13.78 | 2.789 | 1.88 | 12.14 | 12.89 | 13.24 | 13.13 | 13.84 | 13.25 | 13.07 | 13.09 | 0.86 | 0.18 | | | | |
| 27 | Cinnamyl acetate-E | 3.10 | 2.26 | 0.20 | 0.02 | 1.03 | 0.99 | 1.45 | 1.09 | 1.494 | 1.13 | 5.05 | 5.86 | 5.55 | 5.76 | 5.10 | 4.01 | 5.23 | 5.21 | 0.27 | 1.04 | | | | |
| 28 | Anisyl Acetone | | | | | | | | | | | | | | 4.60 | 5.05 | | | | | | | | | |
| 29 | α -Humulene | 7.49 | 8.32 | 10.82 | 10.18 | 12.58 | 12.39 | 10.30 | 10.29 | 2.58 | 2.04 | 9.72 | 9.49 | 9.52 | 9.06 | 9.88 | 10.93 | 9.71 | 9.83 | 0.18 | 0.98 | | | | |
| 30 | γ -Selinene | | | | | | | | | | | 0.85 | 0.90 | 0.65 | 0.76 | 0.25 | 0.26 | 0.59 | 0.64 | 0.31 | 0.34 | | | | |
| 31 | β -Selinene | 8.21 | 8.83 | 8.13 | 8.55 | 2.06 | 2.95 | 6.13 | 6.78 | 3.53 | 3.32 | 6.15 | 6.12 | 6.05 | 6.44 | 1.52 | 1.73 | 4.58 | 4.76 | 2.64 | 2.63 | | | | |
| 32 | α -Zingiberene | 5.85 | 7.89 | 5.82 | 7.90 | 0.99 | 0.94 | 4.22 | 5.58 | 2.79 | 4.01 | 3.92 | 3.42 | 3.95 | 3.38 | 0.87 | 0.98 | 2.91 | 2.59 | 1.77 | 1.40 | | | | |
| 33 | α -Selinene | 3.53 | 2.82 | 3.51 | 3.79 | | | 3.52 | 3.30 | 0.01 | 0.69 | 1.86 | 1.74 | 1.46 | 1.66 | 0.59 | 0.54 | 1.30 | 1.31 | 0.65 | 0.67 | | | | |
| 34 | Bicycloelemene | | | | | | | | | | | 0.68 | 0.77 | 0.58 | 0.57 | 0.27 | 0.26 | 0.51 | 0.53 | 0.21 | 0.26 | | | | |
| 35 | Methyl isoeugenol-E | 6.45 | 8.02 | 6.56 | 8.33 | 3.48 | 4.13 | 5.50 | 6.83 | 1.75 | 2.34 | 7.15 | 7.10 | 7.65 | 8.08 | | | 7.40 | 7.59 | 0.35 | 0.69 | | | | |
| 36 | Bicyclogermacrene | | | | | 1.48 | 1.51 | | | | | 1.71 | 1.27 | 1.74 | 1.74 | 1.81 | 0.93 | 1.75 | 1.32 | 0.06 | 0.41 | | | | |
| 37 | E,E- α -Farnesene | 3.81 | 3.62 | 3.73 | 3.75 | | | 3.77 | 3.69 | 0.06 | 0.09 | | | | | | | | | | | | | | |
| 38 | δ -Cadinene | 1.13 | 0.88 | 1.12 | 1.53 | 0.54 | 0.59 | 0.93 | 1.00 | 0.34 | 0.48 | 2.67 | 2.50 | 2.37 | 2.25 | 0.86 | 0.79 | 1.97 | 1.85 | 0.97 | 0.92 | | | | |
| 39 | β -Sesquiphellandrene | 1.84 | 2.19 | 1.84 | 2.20 | 0.28 | 0.17 | 1.32 | 1.52 | 0.90 | 1.17 | 1.66 | 1.12 | 1.56 | 1.87 | 1.35 | 1.33 | 1.53 | 1.44 | 0.16 | 0.39 | | | | |
| 40 | Z- α -Bisabolene | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 41 | E- γ -Bisabolene | 1.79 | 1.45 | 1.77 | 1.57 | 2.66 | 2.64 | 2.07 | 1.89 | 0.51 | 0.65 | 0.73 | 0.79 | 0.73 | 0.79 | 1.90 | 1.70 | 1.12 | 1.09 | 0.67 | 0.53 | | | | |
| 42 | Caryophyllene oxide | 4.41 | 5.02 | 4.36 | 4.60 | 3.66 | 4.15 | 4.14 | 4.59 | 0.42 | 0.43 | 2.15 | 2.24 | 2.25 | 2.21 | 2.18 | 2.66 | 2.19 | 2.37 | 0.05 | 0.25 | | | | |
| 43 | Spathulenol | | | | | | | | | | | 0.30 | 0.26 | 0.30 | 0.25 | 0.16 | 0.26 | 0.25 | 0.26 | 0.08 | 0.00 | | | | |
| 44 | Caryophylla-4(12),8(13) diene 5 β -ol | | | | | | | | | | | 0.79 | 0.77 | 0.99 | 0.87 | 0.44 | 0.30 | 0.74 | 0.65 | 0.28 | 0.30 | | | | |
| 45 | Benzyl benzoate | | | | | | | | | | | 0.46 | 0.58 | 0.46 | 0.30 | 0.50 | 0.21 | 0.47 | 0.36 | 0.02 | 0.19 | | | | |
| | | * Total Identificado | | | | | | | | | | 91.16 | 92.02 | * Total Identificado | | | | | | | | | | 96.02 | 96.29 |

Compuestos según el orden de elución en la columna DB-5MS

*= Sumatoria del porcentaje relativo de los compuestos identificados en DB5-MASAS y DB5-MASAS-FID

*= Sumatoria del porcentaje relativo de los compuestos identificados en HP-INNOWAX y HP-INNOWAX-FID

OQ= *Ocotea quixos*

OQ 3= Comunidad Wapú

OQ 3.1= Primera destilación **OQ 3.2=** Segunda destilación **OQ 3.3=** Tercera destilación

X̄= Promedio

σ = Desviación estándar

Fuente: La autora

Del aceite esencial *Ocotea quixos*, se lograron identificar 45 compuestos, de los cuales 32 están presentes en ambas columnas; los mismos que representan un **90.50%** de la Comunidad San Luis, **90.10%** de la Comunidad Juyukamentsa y **91.16%** de la Comunidad Wapú en la columna no polar (DB5-MS). A diferencia de la columna polar (HP-INNOWAX), representa un **94.78%** de la Comunidad San Luis, **92.91%** de la Comunidad Juyukamentsa y **96.02%** de la Comunidad Wapú.

Un estudio realizado de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm, revela que posee compuestos mayoritarios similares a los de la presente investigación como: E-Cinnamic aldehyde (27,9%), E-Methyl cinnamate (21,7%), α -Humulene (10,79%), β -Selinene (2,06%), E-Caryophyllene (1,85%), α -Copaene (1,26%). Los compuestos químicos más abundantes y responsables del olor a canela son principalmente, E-Cinnamic aldehyde y E-Methyl cinnamate, etc. (Naranjo, 1981).

Como lo indica Bruni, (2003), los principales compuestos de identificación del aceite extraído de las hojas de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm, fueron: E-Caryophyllene (19,029%), Humuleno (14,323%) y E-Methyl cinnamate (11,407%).

Las diferencias presentadas en la composición química pueden explicarse considerando las variaciones en las condiciones ecológicas (clima, tipo de suelo, estación del año, lugar geográfico) en que se desarrolla la planta; así como las condiciones de extracción (método de extracción, tiempo, condiciones de la materia prima), pueden producir en el aceite cambios cualitativos y cuantitativos; ya que es casi imposible lograr dos aceites esenciales idénticos. Como resultado del grado de sensibilidad analítica con que se trabaja, siempre se podrá encontrar alguna diferencia entre dos partidas de un mismo aceite esencial (Acevedo, 2013).

El compuesto mayoritario del aceite esencial *Ocotea quixos* de cada comunidad, lo detallo a continuación:

- **Comunidad San Luis:** En esta comunidad el compuesto mayoritario del aceite esencial *Ocotea quixos* fue el Methyl cinnamate-E (26,07%), es el metil éster del ácido cinámico componentes en el sabor del aceite esencial de canela tal como se lo indica en la figura 46, que se lo utiliza en las industrias de los aromas y

perfumes. El sabor es afrutado y el olor es dulce con reminiscencias de canela (Esquivel, 2007).

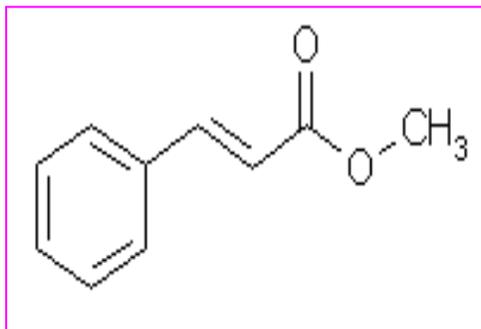


Figura 46. Compuesto mayoritario Methyl cinnamate-E

Fuente: Royal Society of Chemistry, 2015

- **Comunidad Juyukamentsa:** En esta comunidad el compuesto mayoritario del aceite esencial *Ocotea quixos* fue el 1,8-Cineole (34,38%), se lo conoce como eucaliptol es un óxido y un éter (B. Harris, 2007) tal como lo indica la figura 47. Este posee actividad antiviral, efectos antitusivos (alivia la tos), efectos broncodilatadores (ayuda a abrir los bronquios (vías respiratorias) de los pulmones, lo que permite que más aire fluya a través de ellos), mucolítico y efectos mucociliar (mucolíticos se descomponen o se disuelven moco y de este modo facilitan la eliminación más fácil de estas secreciones del tracto respiratorio) y la actividad anti-inflamatoria (asma bronquial). Se utiliza en la medicina tradicional como remedio para bronquitis, sinusitis, y resfriados. (Juergens U, 2003)

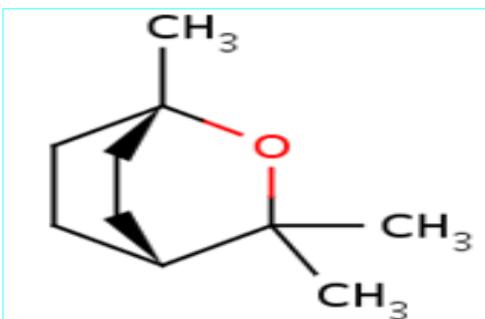


Figura 47. Compuesto mayoritario 1,8-Cineole

Fuente: The School for Aromatic Studies, 2016

- © **Comunidad Wapú:** En esta comunidad el compuesto mayoritario del aceite esencial *Ocotea quixos* fue el Caryophyllene-E (14,87%), es un sesquiterpeno bicíclico natural, un componente de muchos aceites esenciales, cariofileno se destaca por tener un anillo ciclobutano, una rareza en la naturaleza como se indica en la figura 48. Se lo usa como antialérgico, bactericida, repelente, tiene efectos significativos como antiinflamatorio y antitumoral (Stashenko, 2003).

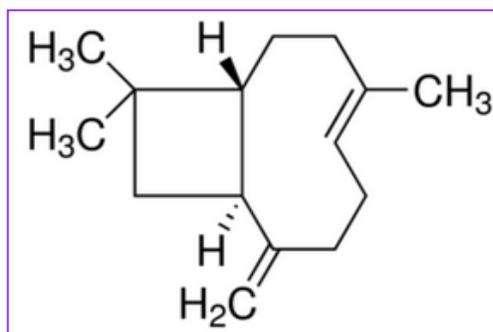


Figura 48. Compuesto mayoritario Caryophyllene-E
Fuente: Glenthams Life Sciences Limited, 2013

3.3 Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Ocotea quixos*

La evaluación biológica se realizó buscando la CMI (Concentración Mínima Inhibitoria), contra bacterias Gram negativas en las que se usó *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*; bacterias Gram positivas: *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*.

3.3.1 Concentración mínima inhibitoria (CMI) antibacteriana

CMI es la mínima concentración de un compuesto capaz de inhibir el crecimiento bacteriano tras 18-24 horas de incubación.

En la tabla 14, se observa la CMI antibacteriana de los aceites obtenidos en cada comunidad frente a 5 cepas bacterianas Gram-negativas y 2 cepas Gram-positivas.

Tabla 14. CMI antibacteriana (mg/mL) del aceite esencial frente a 7 cepas bacterianas

| | GRAM-NEGATIVAS | | | | GRAM-POSITIVAS | | |
|---------------------------------|---------------------------------------|---|--------------------------------------|---|--|--|--|
| | <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 9997 | <i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 | <i>Salmonella typhimurium</i> (LT2) | <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 |
| Unidad | mg/mL | | | | | | |
| Aceites | | | | | | | |
| OQ 1.1 | 10 | 2,5 | 5 | - | 10 | 10 | 5 |
| OQ 1.2 | 10 | 2,5 | 5 | - | 10 | 10 | 5 |
| OQ 1.3 | 10 | 2,5 | 5 | - | 10 | 10 | 5 |
| OQ 2.1 | 10 | 2,5 | - | - | - | - | - |
| OQ 2.2 | - | 5 | - | - | - | - | - |
| OQ 2.3 | 10 | 5 | - | - | - | - | - |
| OQ 3.1 | 5 | 1,25 | 2,5 | 10 | 5 | 5 | 10 |
| OQ 3.2 | 5 | 1,25 | 2,5 | 10 | 5 | 5 | 10 |
| OQ 3.3 | - | 2,5 | 5 | - | 10 | 10 | 10 |
| Antibiótico | 1,953 ug/ml | 1,953 ug/ml | 3,906 ug/ml | 3,906 ug/ml | 1,953 ug/ml | 15,625 ug/ml | 1,953 ug/ml |
| OQ= <i>Ocotea quixos</i> | | | | | | | |
| OQ 1= Comunidad San Luis | | OQ 2= Comunidad Juyukamentsa | | | OQ 3= Comunidad Wapú | | |

Fuente: La autora

Como se puede evidenciar en la tabla 14, el aceite esencial de *Ocotea quixos* no inhibió el crecimiento en ninguna de las bacterias por lo que es importante mencionar que estas pruebas fueron realizadas con concentraciones relativamente bajas debido a la evidencia de la actividad de su aceite esencial en baja proporción, tomando en consideración los parámetros descritos por Holetz, (2002) que se detallan a continuación:

- Ⓢ **Buena:** CMI < 100 µg/mL → < 0,1 mg/mL
- Ⓢ **Moderada:** CMI de 100 a 500 µg/mL → 0,1 a 0,5 mg/mL
- Ⓢ **Débil:** CMI de 500 a 1000 µg/mL → 0,5 a 1 mg/mL
- Ⓢ **Inactiva:** más de 1.000 µg/mL → más de 1 mg/mL

En artículos y publicaciones, se ha encontrado que Noriega y Dacarro, (2008) para la evaluación antimicrobiana de extractos fitoquímicos en la especie de *Ocotea quixos*, usaron concentraciones que van desde los 10 mg/mL hasta los 100 mg/mL lo cual no permite evidenciar actividad antimicrobiana debido a que las concentraciones usadas no fueron lo suficientemente concentradas.

Por otra parte Bruni, (2003) propone la hipótesis de que la actividad biológica se puede ver disminuida por la diferencia en las concentraciones, volumen, condiciones de incubación y variación en la composición química; tal como lo demuestran los resultados

obtenidos en el presente trabajo de investigación, ya que al generarse compuestos como: alfa-humuleno, Cariofileno, α -pinene, linalol, timol, y eugenol no presentaron una actividad antimicrobiana.

3.4 Actividad Antioxidante

3.4.1 Método ABTS⁺

3.4.1.1 Lectura de los estándares Trolox/BHT

Al evaluar la capacidad antioxidante de la muestra de aceite esencial de *Ocotea quixos*, mediante el método de atrapamiento del catión – radical ABTS, las diferentes concentraciones de los estándares de referencia como: Trolox y BHT con las que se trabajó en el equipo de espectrofotometría, arrojaron datos de absorbancia, los cuales se reemplazaron en la fórmula que se encuentra en la figura 33, en el capítulo de metodología.

Los resultados que se obtuvieron al realizar estos cálculos se expresan en la tabla 15 y figura 49 que indica los valores de porcentaje de disminución respectivos para cada concentración.

Tabla 15. Datos del método ABTS⁺ para los estándares TROLOX Y BHT

| DATOS ABTS | | | | |
|--|-------------------------|-------------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| | TROLOX | | BHT | |
| Concentración (ppm) | Absorbancia Determinada | Porcentaje de Disminución (%) | Absorbancia Determinada | Porcentaje de Disminución (%) |
| 1000 | 0.554 | 50.54 | 0.352 | 68.17 |
| 800 | 0.649 | 42.05 | 0.586 | 47.02 |
| 600 | 0.737 | 34.20 | 0.606 | 45.21 |
| 450 | 0.768 | 31.43 | 0.737 | 33.36 |
| 300 | 0.878 | 21.61 | 0.850 | 23.15 |
| 150 | 0.928 | 17.14 | 0.933 | 15.64 |
| 25 | 0.958 | 14.46 | 1.032 | 6.69 |
| 0 | 0.966 | 13.75 | 1.045 | 5.52 |
| Absorbancia de la solución de trabajo | 1.120 | | 1.106 | |

Fuente: La autora

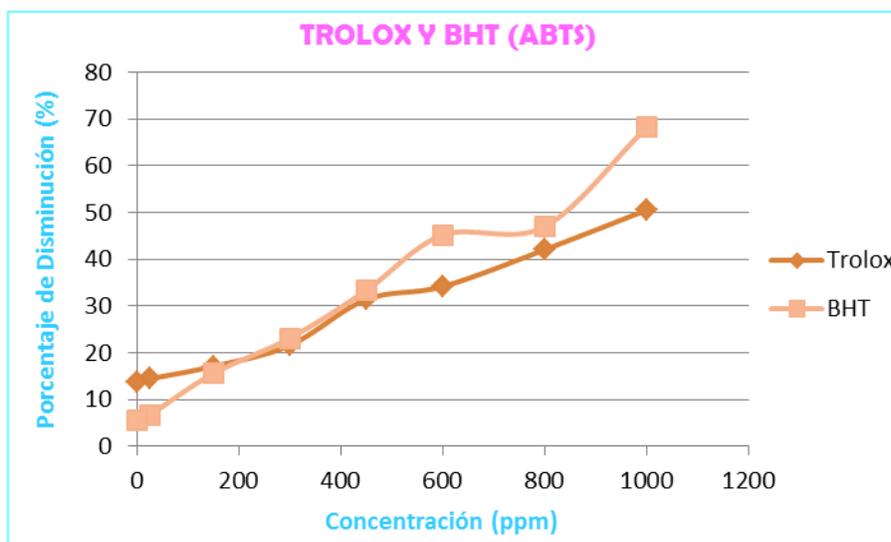


Figura 49. Gráfica de las concentraciones de los estándares de referencia TROLOX / BHT en ABTS⁺ y su % de Disminución.

Fuente: La autora

En el eje “x” se expresa las concentraciones de los estándares de referencia en TROLOX/BHT en (ppm), mientras que en el eje “y” se muestra el porcentaje de disminución determinado para cada concentración establecida para esta muestra.

3.4.1.2 Lectura de las muestras del aceite esencial de *Ocotea quixos*

En la tabla 16, se encuentran los resultados obtenidos de la actividad antioxidante del aceite esencial *Ocotea quixos*, en ella se describe las concentraciones evaluadas, la absorbancia y el cálculo del porcentaje de inhibición obtenido para cada dilución.

Tabla 16. Datos del método ABTS⁺ para el aceite esencial *Ocotea quixos*

| ACEITE (ABTS) | | |
|---------------------|-------------------------|-------------------------------|
| Concentración (ppm) | Absorbancia Determinada | Porcentaje de Disminución (%) |
| 1000 | 0.841 | 24.23 |
| 500 | 0.970 | 12.61 |
| 100 | 1.041 | 6.22 |
| 50 | 1.047 | 5.68 |
| 25 | 1.057 | 4.77 |
| 12.5 | 1.069 | 3.69 |
| 5 | 1.085 | 2.25 |
| 0 | 1.096 | 1.26 |
| Abs. Blanco | 1.110 | |

Fuente: La autora

Luego se elaboró la gráfica con los datos obtenidos; donde en el eje “x” se encuentran los valores de las concentraciones del aceite esencial de *Ocotea quixos* (ppm), y en el eje “y” se muestra el porcentaje de disminución determinado para cada concentración. La gráfica se muestra a continuación en la figura 50.

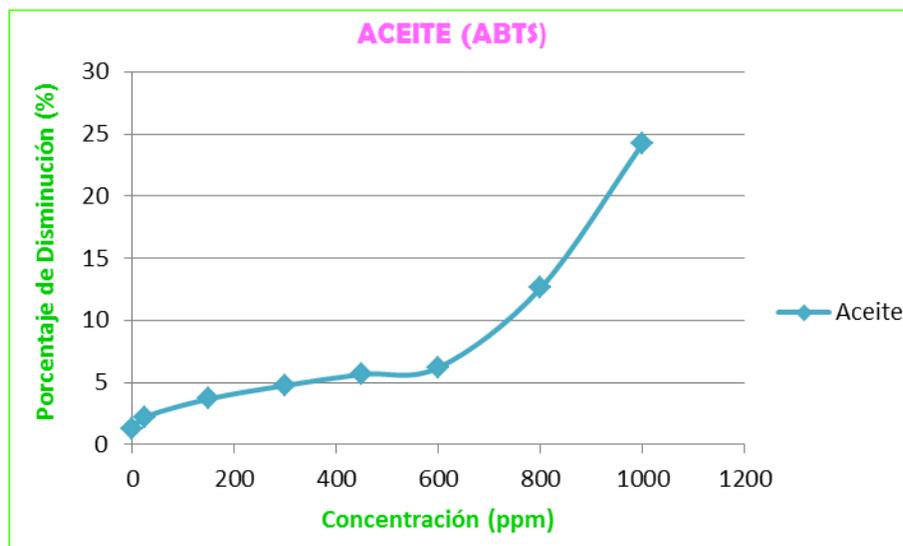


Figura 50. Gráfica de las concentraciones del aceite *Ocotea quixos* en ABTS⁺ y su % de Disminución.

Fuente: La autora

Según los resultados observados en la tabla 16 como en la figura 50, podemos comprobar que el aceite esencial de *Ocotea quixos* evaluado no posee actividad antioxidante a las concentraciones evaluadas frente al radical ABTS⁺, ya que el porcentaje de disminución a una concentración de 1000 ppm fue de 24.2% valores bajos con respecto a Trolox y BHT⁺, ya que los valores esperados deberían ser superiores a 50% de inhibición del radical ABTS⁺.

3.4.2 Método Radical DPPH

3.4.2.1 Lectura de los estándares Trolox/BHT

Los datos obtenidos mediante el método de radical DPPH, fueron analizados de la misma manera que los datos obtenidos por el método ABTS⁺; las concentraciones evaluadas en el espectrofotómetro arrojaron datos de absorbancia, con los cuales se determinó el porcentaje de disminución del aceite esencial para cada concentración

establecida. Para esto se utilizó la fórmula de la figura 33 que se encuentra en el capítulo de metodología.

En la tabla 17 y figura 51 se indican las concentraciones utilizadas, los valores de absorbancia para cada concentración y los porcentajes de disminución de DPPH calculados para cada concentración establecida.

Tabla 17. Datos del método DPPH para los estándares TROLOX Y BHT

| DATOS DE DPPH | | | | |
|--|-------------------------|-------------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| TROLOX | | | BHT | |
| Concentración (ppm) | Absorbancia Determinada | Porcentaje de Disminución (%) | Absorbancia Determinada | Porcentaje de Disminución (%) |
| 1000 | 0.540 | 50.23 | 0.188 | 82.78 |
| 800 | 0.718 | 33.83 | 0.397 | 63.65 |
| 600 | 0.816 | 24.79 | 0.420 | 61.54 |
| 450 | 0.865 | 20.28 | 0.524 | 52.02 |
| 300 | 0.904 | 16.68 | 0.611 | 44.05 |
| 150 | 0.923 | 14.93 | 0.775 | 29.03 |
| 25 | 0.947 | 12.72 | 0.893 | 19.23 |
| 0 | 0.961 | 11.43 | 0.882 | 18.22 |
| Absorbancia de la solución de trabajo | | 1.085 | 1.092 | |

Fuente: La autora

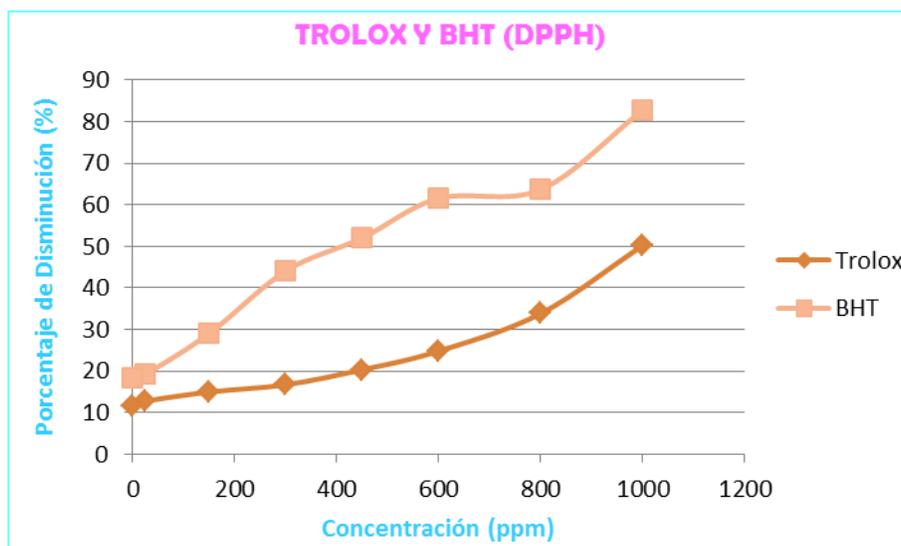


Figura 51. Gráfica de las concentraciones de los estándares de referencia TROLOX / BHT en DPPH y su % de Disminución.

Fuente: La autora

3.4.2.2 Lectura de las muestras del aceite esencial de *Ocotea quixos*

En la tabla 18 y figura 52, se encuentran los resultados obtenidos de la actividad antioxidante del aceite esencial, en ella se describe las concentraciones evaluadas, la absorbancia y el cálculo del porcentaje de inhibición obtenido para cada dilución.

Tabla 18. Datos del método DPPH para el aceite esencial *Ocotea quixos*

| ACEITE (DPPH) | | |
|---------------------|-------------------------|-------------------------------|
| Concentración (ppm) | Absorbancia Determinada | Porcentaje de Disminución (%) |
| 1000 | 0.906 | 16.50 |
| 500 | 0.927 | 14.56 |
| 100 | 0.954 | 12.07 |
| 50 | 0.964 | 11.15 |
| 25 | 0.968 | 10.78 |
| 12.5 | 0.975 | 10.14 |
| 5 | 0.981 | 9.59 |
| 0 | 0.987 | 9.03 |
| Abs. Blanco | 1.085 | |

Fuente: La autora

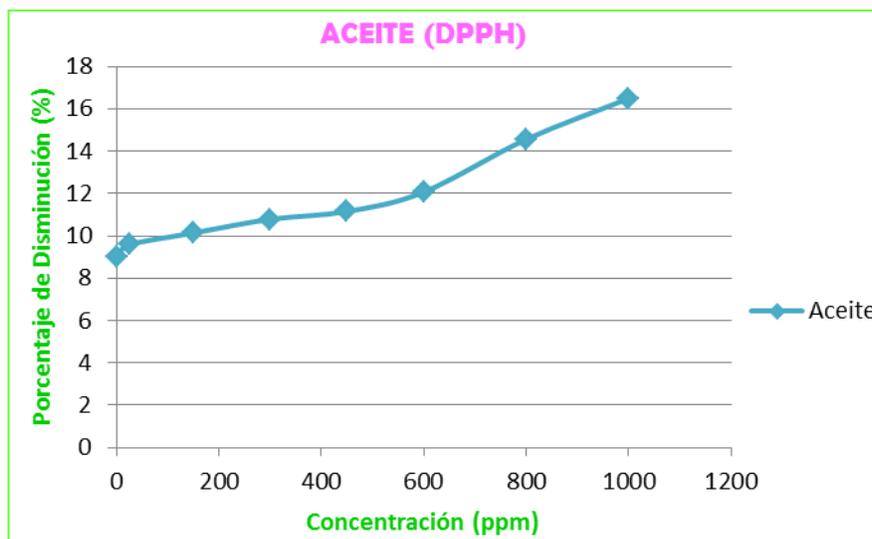


Figura 52. Gráfica de las concentraciones del aceite *Ocotea quixos* en DPPH y su % de Disminución.

Fuente: La autora

Al evaluar las muestras de aceite esencial de *Ocotea quixos*, se observó que a las concentraciones realizadas, el porcentaje de disminución con el método del radical DPPH, en ningún caso se alcanzaron valores superiores al 50%, razón por la cual podemos deducir que en las muestras evaluadas no se encuentran presentes compuestos que

atrapen radicales libres, lo cual puede explicar la baja actividad mostrada frente a este radical.

Sin embargo a pesar de las diferencias metodológicas, los resultados obtenidos con los métodos ABTS⁺ y DPPH[·] revelaron que el aceite esencial de *Ocotea quixos* no presento actividad antioxidante ya que el porcentaje de disminución es bajo comparado con los estándares de referencia Trolox y BHT.

Los resultados obtenidos de actividad antiradical pueden expresarse como IC₅₀ (Concentración Eficaz 50), la cual está definida como la concentración del antioxidante que disminuye la concentración del radical a un 50% de la cantidad inicial. En el presente caso no fue posible calcular el IC₅₀ ya que el porcentaje de disminución fue menor y no superó el 50%.

No se encontraron estudios de actividad antioxidante de las hojas de la especie *Ocotea quixos*, a pesar de tener la presencia de trans-cinamaldehído, benzaldehído, beta-celineno, Terpinen-4-ol y Germacrene D, pero si hay estudios de determinación de actividad antioxidante del cáliz de dicha especie tal como lo indica Bruni (2003) ya que estos compuestos pueden ser los responsables de la actividad antioxidante del aceite esencial.

Tomando como referencia el criterio expuesto por Bathia (2008), y relacionandolo con los resultados obtenidos se puede concluir que los componentes presentes en altas concentraciones no son necesariamente los responsables de gran parte de la actividad antioxidante, debido a que existen componentes minoritarios que pueden contribuir a la actividad del aceite por efectos sinérgicos o anularla por efectos antagónicos.

3.5 Propiedades físicas

El aceite esencial obtenido de *Ocotea quixos* resultó ser líquido ligeramente amarillento con su olor característico a canela. Para definir la calidad de un aceite esencial se determinan las siguientes constantes físicas entre ellas tenemos densidad relativa, índice de refracción y actividad óptica.

3.5.1 Densidad relativa

A continuación, se detallan los valores de la densidad relativa de las tres comunidades, obteniéndose un promedio final de:

- ④ Comunidad San Luis 0,9220 g/cm³.
- ④ Comunidad Juyukamentsa 0.9283 g/cm³.
- ④ Comunidad Wapú 0.9223 g/cm³.

Como se puede observar, la densidad del aceite esencial de *Ocotea quixos* (20°C) de cada comunidad es similar al valor reportado por la literatura de 0,82-0,92 g/cm³ (Fundación Chankuap, 2009).

La composición química del aceite esencial influye mucho en la densidad del mismo, ya que al estar compuesta principalmente por terpenos, sesquiterpenos o monoterpenos, forman cadenas o anillos, que tienen menor densidad que la sustancia que se utilizó como referencia, que en este caso fue el agua (1,00 g/cm³) (Ortuño, 2006).

Esta diferencia de densidades y polaridades es lo que permitió la separación del aceite esencial del agua después de la destilación (Msaada, 2007)

3.5.2 Índice de refracción

A continuación, se detallan los valores de los índices de refracción que corresponden a las tres comunidades obtenidas, obteniéndose un promedio final de:

- ④ Comunidad San Luis 1.5165 nD.
- ④ Comunidad Juyukamentsa 1.5339 nD.
- ④ Comunidad Wapú 1.5191 nD.

El índice de refracción obtenido del aceite esencial *Ocotea quixos* a 20 °C en las tres Comunidades, se encuentra afín al valor reportado por la literatura a la misma temperatura de 1,520-1,530 (Fundación Chankuap, 2009). Este parámetro es

característico de cada aceite y sólo cambia si este se diluye o se mezcla con otras sustancias (Murillo et al. 2014).

3.5.3 Actividad óptica

Para obtener el valor de actividad óptica del aceite esencial de *Ocotea quixos*, se determinó por medio de un polarímetro, que mide la capacidad para desviar la luz polarizada del aceite esencial.

A continuación, se detallan los valores de la actividad óptica de las tres comunidades, obteniéndose un promedio final de:

- Comunidad San Luis +3.5694°
- Comunidad Juyukamentsa +3.4359°
- Comunidad Wapú +3.5629°

La actividad óptica obtenida del aceite esencial *Ocotea quixos* fue +3.683 a una temperatura de 20°C, indicando de esta manera que el aceite esencial posee dicha actividad, cuyo resultado al ser positivo es conocido como dextrógiro (rotación en sentido a las manecillas del reloj).

Por lo antes expuesto la actividad óptica depende de numerosas variables como temperatura y solvente (en ese caso se utilizó diclorometano). Las propiedades biológicas varían dependiendo del lugar y estado fenológico, esto se debe principalmente a la composición química de las muestras de aceite esencial como lo indica Weast (2010),

CONCLUSIONES

- ☉ Las hojas de la especie *Ocotea quixos* recolectada en la ciudad de Macas, Provincia de Morona Santiago presentó una humedad relativa de 72%.
- ☉ En la composición química del aceite esencial *Ocotea quixos* se detectaron 45 compuestos, de los cuales 32 están presentes en ambas columnas; los mismos que representan un **90.50%** de la Comunidad San Luis, **90.10%** de la Comunidad Juyukamentsa y **91.16%** de la Comunidad Wapú en la columna no polar (DB-5MS). A diferencia de la columna polar (HP-INNOWAX), representa un **94.78%** de la Comunidad San Luis, **92.91%** de la Comunidad Juyukamentsa y **96.02%** de la Comunidad Wapú.
- ☉ Se identificaron 3 compuestos mayoritarios principales en cada comunidad en la columna **DB5-MS**; Comunidad San Luis: E-Methyl cinnamate (26,07%), E-Caryophyllene (16,55%), α -Humulene (13,15%); Comunidad Juyukamentsa: 1,8-Cineole (34,38%), α -Pinene (8,95%), α -Terpineol (7,68%); Comunidad Wapú: E-Caryophyllene (14,87%), E-Methyl cinnamate (13,03%), α -Humulene (10,30%).
- ☉ Se identificaron 3 compuestos mayoritarios principales en cada comunidad en la columna **HP-INNOWAX**; Comunidad San Luis: E-Methyl cinnamate (20,64%), E-Caryophyllene (12,57%), Terpinolene (12,06%); Comunidad Juyukamentsa: 1,8-Cineole (20,41%), α -Copaene (14,85%), Cymene-p (12,93%); Comunidad Wapú: E-Caryophyllene (13,07%), E-Methyl cinnamate (11,99%), α -Humulene (9,71%).
- ☉ El aceite esencial de *Ocotea quixos*, no mostró inhibición frente a las bacterias Gram-Negativas y Gram-Positivas.
- ☉ El aceite esencial de *Ocotea quixos*, en los métodos ABTS⁺ y DPPH⁻ no presentó actividad antioxidante en ninguna concentración con las que se trabajó, ya que el aceite de *Ocotea quixos* presentó en su mayor concentración de 1000 ppm un % de inhibición muy bajo de 24,23 que no tiene relevancia.

- Ⓢ El valor de la densidad relativa de las Comunidades fue: Comunidad San Luis: 0,9220 g/cm³, Comunidad Juyukamentsa: 0.9283 g/cm³ y Comunidad Wapú: 0.9223 g/cm³.

- Ⓢ El valor medio del índice de refracción de las Comunidades fue: Comunidad San Luis 1.5165 nD, Comunidad Juyukamentsa 1.5339 nD y Comunidad Wapú 1.5191 nD. El cual se encuentra entre los valores establecidos para aceites esenciales.

- Ⓢ El valor de la actividad optica de las Comunidades fue: Comunidad San Luis +3.5694°, Comunidad Juyukamentsa +3.4359° y Comunidad Wapú +3.5629°; indicando de esta manera que el aceite esencial de *Ocotea quixos* posee dicha actividad.

RECOMENDACIONES

- Ⓢ Previamente a la elección de la especie de estudio, investigar si existen estudios de la especie, que cantidad de estudios hay, las condiciones en las que crece la planta y los usos comunes que le dan a dicha especie.
- Ⓢ Eliminar todo tipo de restos vegetales de otras plantas o contaminantes de la muestra de materia vegetal a destilar.
- Ⓢ En la extracción del aceite esencial se debe investigar y determinar los parámetros que influyen en la obtención de una producción mayor, así como en la composición cualitativa y cuantitativa con la finalidad de asegurar la calidad del aceite.
- Ⓢ Promover la investigación respecto a la composición química de los aceites esenciales analizados para posibles usos en la industria farmacéutica.
- Ⓢ Integrar más microorganismos de estudio de interés en salud humana, para la evaluación antimicrobiana.

BIBLIOGRAFIA

- Acevedo, D., Navarro, M., & Montero, P. . (2013). *Composición Química del Aceite Esencial de las Hojas de Toronjil (Melissa officinalis L.):* Información tecnológica.
- Andrews, J. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48 (vol. 1). p. 5-16.
- Antolovich, M. (2002). *Methods for testing antioxidant activity:* Analyst.
- Arango, O., Pantoja, D., Santacruz, L., Hurtado, A. . (2012). Actividad antioxidante del aceite esencial de orégano (*Lippia origanoides* H.K.K) del Alto Patia. *Rev. Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial*, (vol. 10) No. 2. p. 79-86.
- Arnao, M., Cano, A., & Acosta, M. . (2001). The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Journal Food Chemistry & Biodiversity*, 73, 239-244. .
- Ballabeni, V., Tognolini, M., Giorgio, C., Bertoni, S., Bruni, R., Barocelli, E. . (2010). *Ocotea quixos (Lam.) essential oil: In Vitro and in vivo investigation on its anti-inflammatory properties. :* *Fitoterapia*, 81: 289-295.
- Bandoni, A. (2000). *Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica.* Argentina: Editorial Universidad Nacional de la Plata.
- Bandoni, A. (2002). *Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica. Su aprovechamiento Industrial para la producción de aromas y sabores (Vol. 2):* Corporación Iberoamericana CYTED.
- Barrero, A., Pino, M., Burón, P., Moral, J., & Arteaga, J. (2004). *Nuevas fuentes de antioxidantes.* Universidad de Granada, Granada-España
- Bathia, S., Letizia, C., & Api, A. (2008). Fragrance material review on (-)- α -terpineol. *Food Chem Toxicol* 46, 280-285.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Berset, C. . (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technology*, 28, 25-30. .
- Briga, J. (1962). *Los aromáticos en la industria moderna* (Vol. 2ª edición). España.: Editorial Sintesis ed.
- Brooks, G., Butel, J., & Morse, S.,. (2005). *Microbiología Médica.* Mexico.
- Bruneton, J. (2001). *Farmacognosia* (Z. A. S.A Ed. segunda edición ed.).

- Bruni, R. (2003). Chemical composition and biological activities of Ishpingo essential oil, a traditional Ecuadorian spice from *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm. (Lauraceae) flower calices. *Food Chemistry*, 85 (20): 415-421.
- Castro, A. (2008). Composición química del aceite esencial de las hojas de *Erythroxylum novogranatense* (Morris) "coca", actividad antioxidante y determinación antibacteriana frente a *Streptococcus mutans*. Doctor en Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Retrieved from <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/789>
- Castro, F. (2009). Técnicas cromatográficas. Análisis instrumental: Universidad Tecnológica de Pereira.
- Chankuap, F. (2006). *Recursos para el Futuro. Línea de base y monitoreo de Ocotea quixos (Lam) Kostern en la comunidad de Juyukamentsa*. Macas, Ecuador: Informe Técnico.
- Conde, C. G., Rueda, X. Y., & Patiño, G. S. . (2012). *Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar de Calycolpus moritzianus y Minthostachys mollis de Norte de Santander.*: Facultad de Ciencias Básicas, 12-23.
- Dabrio, M. V. (1971). *Cromatografía de gases* (Vol. I). España: Alahambra, S.A.
- Demain, A. (1999). *Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms*. *Applied Microbiology and Biotechnology*.
- Dinges, M., Orwin, P., Schlievert, P.,. (2000). *Exotoxins of Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology Reviews* (Vol. 13).
- Drasar, B., Hill, MJ.,. (1974). *Human intestinal flora*. London, UK. : Academic Press.
- Esquivel, A. V. P. (2007). Uso de aceites esenciales extraídos por medio de fluidos supercríticos para la elaboración de alimentos funcionales. *Tecnología en Marcha*. 20(4), 41-50
- Ewing, W. (1985). *Identification of Enterobacteriaceae*: 4th. Edition: Elsevier.
- Fernandez, P. J. (1996). *"Cultivo de plantas medicinales, aromáticas y condimenticias"*. Barcelona: Ediciones Omega, S.A. Barcelona: Ediciones Omega, S.A.
- Gabucci, L. (2007). *La esencia de las plantas, Énfasis alimentación online, Dpto. de Ciencias Básicas*. Argentina: Universidad Nacional de Luján.
- García, B., García, G., Rojo, D., & Sánchez, G. . (2001). Plantas con propiedades antioxidantes *Rev Cubana Invest Biomed*, 20(3), 231.

- Gemmell, C., Edwards, DI., Fraise, AP., Gould, FK., Ridgway, GL., Warren, RE.,. (2006). *Guidelines for the prophylaxis and treatment of methicillin-re-sistant Staphylococcus aureus(MRSA) infections in the UK: Anti-microb Chemother*
- Gil, S., Rodríguez, E. . (2001). *Física re-Creativa, Cap. 4*. Buenos Aires: Prentice Hall.
- Granados, C., Yáñez, X., Santafé, G.,. (2012). Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar de *Calycolpus moritzianus* y *Minthostachys mollis* de Norte de Santander. Universidad de Pamplona, Colombia. Bistua. *Revista de la Facultad de Ciencias Básicas, 1 (vol. 10)*, pp. 12-23.
- Günther, E. (1948). *The Essential Oils. History and origin in Plants Production Analysis*. New York, USA., Vol. 1.
- Gupta, M. (1995). *270 Plantas medicinales Iberoamericanas*. Bogotá-Colombia: CYTED-SECAB.
- Hardalo, C., Edberg, SC.,. (1997). *Pseudomonas aeruginosa: Assessment of risk from drinking-water: Critical Reviews in Microbiology*.
- Harris, B. (2007). 1,8 cineol - Un componente de elección para patologías respiratorias. . *International Journal of Clinical Vol4 Aromaterapia (2)*, 3-8.
- Harris, D. (2007). *Análisis químico cuantitativo*. Barcelona, España: Editorial Reverté, p. 578-600.
- Jorgensen, J., Ferraro, M., . (1998). Antimicrobial susceptibility testing. General principles and contemporary practices. *Clin Infect Dis*; 26: 973-980.
- Juergens U, D. T., Steinkamp G, Gillissen A, Regges R (2003). *Anti-inflamatoria de 1,8-cineol (eucaliptol) en el asma bronquial: un ensayo doble ciego controlado con placebo: Neumología*. (Vol. 97), 250-256.
- Llana, A., Vernal, A.,. (1998). *Producción de plantas aromáticas y medicinales en la Unión Europea, Comunitat Valenciana Agraria*.
- Macbride, J. F. (1936). *Lauraceae, en: Flora of Peru: Field Mus. Nat. Hist., Bot Ser*.
- Madejón, E., Díaz, M.J., López, R., Cabrera, F. . (2002). *New approaches to establish optimum moisture content for compostable materials: Biores. Technol*, 85: 73-78.
- Marinova, G., Batchvarov, V. . (2011). Evaluation of the methods for determination of the free radical scavenging activity by DPPH. . *Bulgarian Journal of Agricultural Science, 17(1)*, 11-24.
- Martínez, A. (2003). *Aceites Esenciales*. Medellín-Colombia.

- Martinez, P., Munoz, P., Gutierrez, A., Arriola, P., Montero, E., Ezpeleta, C.,. (2007). Analisis de 182 episodios de bacteriemia por *enterococo*: estudio de la epidemiologia, microbiologia y evolucion clinica.
- Morales de Godoy, V. (1996). Extracción y Caracterización del aceite esencial de Lima Tahití *Citrus aurantiifolia* (Chritms) Swingle. Maracaibo, Venezuela, pp. 18-19.
- Moré, E. A. (2002). *Distribución comercial de plantas aromáticas y comerciales en Cataluña. Investigación Agraria. Producción y protección vegetales.* . Vol. 17 (1) p. 44-66. Abril 2002.
- Msaada, K., Hosni, K., Taarit, M. B., Ouchikh, O. y Marzouk, B. . (2007). Variations in essential oil composition during maturation of coriander (*Coriandrum sativum* L.) fruits. *Journal of Food Biochemistry*, 33: 603–612.
- Murray, B. (1990). The life and times of the *enterococcus*. *Clin Microbiol Rev*, 3: 46–65.
- Naranjo, P. (1981). El ishpingo (*Ocotea quixos* Lam.) jaspectos históricos y etnobotánicos Boletín de Informaciones Científicas Nacionales 16(111): 121-128.
- Noriega, P., Dacarro, C.,. (2008). Aceite foliar de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm: actividad antimicrobiana y antifúngica. *La granja*, 7: 3-8.
- O'Hara, C. (2000). Classification, identification, and clinical significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. *Clin Microbiol Rev* 13: 534-546.
- Ortuño, M. (2006). *Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes (Primera edición ed.)*. España.
- Palá, J. (2004). Contribución al Conocimiento de los Aceites Esenciales del Género *Eryngium* L., en la Península Ibérica. (Tesis inédita Doctoral). Universidad Complutense de Madrid, Madrid
- Palacio, G. L. (2000). Las plantas medicinales y aromáticas una alternativa para el futuro, Boletín económico ICE N° 2652. pp. 20.
- Pellegrini, N., Pannala, A., Yang, M., y Rice, C.,. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol. Med.*, (vol. 26). p. 1231-1237.
- Pérez, V., Lugo, E., Gutiérrez, M., & Del Toro Sánchez, C. . (2013). Extracción de compuestos fenólicos de la cáscara de lima (*Citrus limetta* Risso) y determinación de su actividad antioxidante: *Biocencia*, 15(3), 18-22.
- Podschun, R., Ullmann, U., . (1998). *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev* 11: 589-603.

- Ramirez, L., & Castaño, D. . (2009). Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia et Technica*, 2, 42.
- Richter, G. (1987). *Lauraceae: Mature secondary xylem. In Anatomy of the Dicotyledons* (2da Edición ed. Vol. Vol. III): Editado por C. Metcalfe.
- Rios, M., Koziol, M., Borgtoft, P., Granda G.,. (2007). *Plantas útiles del Ecuador: aplicaciones, retos y perspectivas/Useful plants of Ecuador: applications, challenges, and perspectives*. Quito-Ecuador: Abya-Yala.
- Rodríguez, M., Alcaráz, L., Real, S. (2012). Procedimiento para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas. La Paz, Baja California Sur, México. Edit. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. p. 38
- Rohwer, J. C. (1991). *Borderline cases between Ocotea, Nectandra, and Phoebe (Lauraceae): The "marginal" species of the Ocotea helicterifolia-group, including the O.heydeana-group. Bot. Jahrb. Syst.*
- Rubiolo, P., Sgorbini, B., Liberto, E., Cordero, C., y Bichi, C.,. (2010). Essential oils and volátiles: simple preparation and analysis. *A review. Flavour and Fragrance Journal*. p. 282-290.
- Sacchetti, A., Guerrini, P., Noriega, A., Bianchi, P., Bruni, R.,. (2006). Essential oil of wild Ocotea quixos (Lam.) Kosterm. (Lauraceae) leaves from Amazonian Ecuador. *Flavour and Fragrance Journal*, 21(24): 674-676.
- Sánchez, Y., Pino, O., Correa, T., Naranjo, E., Iglesia, A., . (2009). Estudio Químico y Microbiológico del aceites esenciales. *Rev. Protección Vegetal*, Vol. 1, pp. 39-46.
- Sharapin, N. (2000). *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos*. Colombia: Convenio Andrés Bello (CAB).
- Skoog, D. A., Holler, F.J., Nieman, T.A (2001). *Principio de Analisis Instrumental. Quinta Edicion*. Mexico: Mc Graw Hill. Pags. 322-323, 353-357.
- Stashenko, E., Jaramillo, B. y Martínez, J. (2003). Comparación de la composición química y de la actividad antioxidante in vitro de los metabolitos secundarios volátiles de plantas de la familia *Verbenaceae*. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.*, 27(105): 579-597.
- Stover, C., Pham, XQ., Erwin, AL., Mizoguchi, SD., Warrenner, P., Hickey, MJ., et al. (2000). Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. *Nature*, 406: 959-964.

- Strohl, W. (2004). *Antimicrobials*. Washington D. C. (U. S. A.): Microbial diversity and bioprospecting.
- Struble, K. (2009). "*Proteus Infections: Overview*", and *Medicine*.
- Struve, C., Krogfelt, K., . (2004). *Pathogenic potential of environmental Klebsiella pneumoniae isolates*: Environ Microbiol
- Tejero, A. C., Ruiz, P.M., Meléndez, M. S. (2001). *Apuntes de Óptica II*. p. 42.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros,Zevallos, L., & Hawkins, D. . (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 669-675.
- Weast, R. (2010). *Handbook of Chemistry and Physics*. 90 th ed. USA. : CRC Press.

ANEXOS

ANEXO 1
DETERMINACIÓN DE HUMEDAD RELATIVA

(Método de Referencia)

Según la AFNOR NF V 04-282 JUNIO 1971

PRINCIPIO:

La pérdida de peso de la muestra, debido a que es sometida a altas temperaturas en una estufa durante un tiempo determinado.

MATERIAL:

- Lámpara
- Pinza
- Balanza
- Crisol
- Desecador

PROCEDIMIENTO:

- Pesar en una cápsula o luna de reloj de 0,5 a 1 gr de la muestra; seguidamente colocarla durante 45 minutos en la lámpara ULTRA X a 37 °C.
- Enfriar la cápsula en el desecador por 5 minutos aproximadamente, hasta que la temperatura de la cápsula se iguale a la temperatura ambiente. Luego pesar y anotar el peso.
- Colocar la cápsula nuevamente en la estufa durante 15 minutos, enfriar en el desecador y pesar.
- Repetir el procedimiento hasta que el peso de la cápsula sea constante.

CÁLCULO:

$$Hm = \frac{(m_1 - m_2)}{(m_1 - m)} * 100$$

Dónde:

Hm: %de humedad

m: peso de la cápsula vacía (gr)

m₁: peso de la cápsula + muestra a analizar (gr).

m₂: peso de la cápsula + muestra seca (gr).

ANEXO 2
DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA A 20°C

(Método de Referencia)

Según la AFNOR NF T 75-111 JUNIO 1982

OBJETIVO DE APLICACIÓN:

La presente norma especifica el método referido a la determinación de la densidad relativa a 20°C de los aceites esenciales.

REFERENCIAS:

- NF T 75-003 Aceites esenciales-Reglas generales para la preparación.
- NF T 75-110 Aceites esenciales-Preparación de la muestra previa al análisis.

PRINCIPIO:

La densidad relativa a 20°C de un aceite esencial se define como la masa de un determinado volumen de aceite esencial a 20°C sobre la masa de un volumen igual de agua destilada a 20°C.

NOTA:

- Si es necesario operar a una temperatura diferente debido a la naturaleza del aceite para indicar la norma referente al aceite esencial. La corrección para 20°C es de 0.0007 a 0.0008 por grado centígrado.
- La masa volumétrica a 20°C de un aceite esencial se reporta como la masa de un cierto volumen del aceite esencial a 20°C.

APARATOS:

- Picnómetro de vidrio.
- Baño termostático, mantenido a una temperatura de 20°C ± 0.2°C.
- Termómetro de precisión graduado de 10 a 30°C, con una variación de 0.2°C a 0.1°C.
- Balanza analítica.

PROCEDIMIENTO:

- **Preparación del Picnómetro:** Limpiar rigurosamente y luego enjuagar el picnómetro, lavar con etanol y luego con acetona, pasarlo por una corriente de aire seco. Si es necesario secar el exterior del picnómetro con un trapo seco o con papel filtro. Cuando se equilibre la temperatura en el cuarto de balanza, pesar el picnómetro, con el tapón en su sitio con 1mg de precisión.
- **Peso del agua destilada:** Llenar el picnómetro con agua recién destilada, que esté a una temperatura de 20°C. Coloque el picnómetro en el baño termostático. Durante 30 minutos ajustar el nivel del agua hasta la marca, poner el tapón del picnómetro en su sitio, secar el exterior del picnómetro con un trapo seco o papel filtro. Cuando se equilibre la temperatura con el cuarto de balanzas, pesar el picnómetro lleno con el tapón en su sitio con un mg de precisión lleno igual que en el caso anterior.
- **Peso del aceite esencial:** Vaciar el picnómetro, luego enjuagar y secar como en el inicio. Efectuar las mismas operaciones solo que esta vez será con aceite esencial en lugar de agua.

EXPRESIÓN DE RESULTADOS:

La densidad relativa d_{20}^{20} se la expresa con la siguiente fórmula:

$$d_{20}^{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

Dónde:

d_{20}^{20} : Densidad relativa a 20°C, referido al agua a 20°C.

m_0 : masa en gramos del picnómetro vacío.

m_1 : masa en gramos del picnómetro con agua.

m_2 : masa en gramos del picnómetro con aceite esencial.

Se expresarán los resultados con tres decimales.

ANEXO 3
DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN

(Método de Referencia)
Según la AFNOR NF T 75-112

PRINCIPIO:

Según el tipo de aparato que utilice, la medida directa del ángulo de refracción o la observación del límite de refracción total. El aceite se mantendrá dentro de las condiciones de iso-tropismo y de transparencia.

DEFINICIÓN:

El Índice de Refracción de un aceite esencial es el producto entre el seno del ángulo de incidencia y el seno del ángulo de refracción de un rayo luminoso de longitud de onda determinada, que pasa desde el aire a través del Aceite Esencial, manteniendo la temperatura constante.

La longitud de onda específica es (589.3 ± 0.3) nm, correspondiente a la radiación D1 y D2 del espectro de sodio.

La temperatura de referencia es de 20°C, salvo para los aceites esenciales que no son líquidos a esa temperatura. En este caso se deben adoptar las temperaturas de 25 y 30 °C según el punto de fusión del aceite considerado.

APARATOS:

Refractómetro: Utilicé un refractómetro clásico que permita la lectura de los índices de refracción entre: 1.300 y 1.700 o con una precisión de ± 0.0002 .

Ajusté el aparato de manera que a una temperatura de 20 °C, se tengan los siguientes índices de refracción según:

1.3330 para agua destilada.

1.4906 para el p-cimeno.

1.5685 para el benzoato de bencilo.

1.6585 para el 1-bromo naftaleno.

Los productos patrón deben ser puros, de calidad para refractometría, deben también ajustarse con una lámina de índice de refracción conocida, según las indicaciones de fabricación del equipo.

MODO DE OPERACIÓN:

Determinación

Pasar una corriente de agua en el refractómetro, a fin de mantener el aparato a la temperatura de referencia de 20°C salvo para los aceites esenciales que no son líquidos a esa temperatura. En este caso deben adoptarse las temperaturas de 20°C y 30°C, según el punto de fusión del aceite esencial considerado. Esta temperatura no debe diferir de la temperatura de referencia más de ±0.2°C y debe mantenerse a ±0.2°C.

Antes de poner la muestra en el instrumento, llevarla a una temperatura igual a la que se realizará la medida. Para efectuar la lectura esperar que la temperatura sea estable.

Resultados:

Cálculos. El índice de refracción a la temperatura de referencia está dado por la fórmula.

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

Dónde:

n_D^t = valor de la lectura, obtenida a la temperatura t , o aquella a la que se ha efectuado la determinación.

F = factor de corrección (0.0004)

t' = temperatura a la que se efectuó la lectura

t = temperatura a 20°C

Nota:

Expresar los resultados con cuatro cifras decimales.

La precisión de la determinación es de ± 0.0002 .

ANEXO 4
DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ÓPTICA

(Método de Referencia)

Según la NORMA: NOM-039-SSA1-1993

PRINCIPIO:

Siempre que se trabaje con aceites sólidos o parcialmente sólidos, aceites de alta viscosidad en un rango de temperatura, o aceites de colores fuertes, la determinación transcurre en una solución del aceite.

DEFINICIÓN:

La actividad óptica se define como un conjunto de ondas luminosas que vibran en un solo plano, mientras que en la luz no polarizada el plano de vibración varía rápidamente a razón de cien millones de veces por segundo. Es decir que la luz polarizada es aquella que ha pasado a través de un "polarizador" que fuerza ondas electromagnéticas aleatorias hacia un plano. Cuando esta luz polarizada en un plano pasa a través de una sustancia ópticamente activa, el plano de polarización se gira en una cantidad que es característica de la sustancia que se está examinando. Los polarímetros tienen la capacidad de detectar la posición del plano y de compararla con su posición original siendo la diferencia la rotación, la cual se expresa normalmente en grados angulares (A°). La magnitud que rota al plano varía de un compuesto activo a otro.

Reactivos

Los reactivos deben ser de grado analítico. Use agua destilada o de equivalente pureza.

Solvente

(Solo para aceites esenciales que necesiten ensayarse en solución). Se utilizará preferiblemente Diclorometano, es necesario considerar la rotación óptica del mismo.

Aparatos:

Polarímetro: Con una precisión no menor de $\pm 0.5\text{mrad}$ ($\pm 0.03^\circ$) y ajustado de 0° a 180° con agua.

El polarímetro constará de un plato de cuarzo de rotación óptica conocida, si esto es inaccesible, con una solución acuosa con un contenido de 26g de sacarosa anhidra pura por 100ml de solución. La rotación óptica de esta solución es de +604 m rad en 200mm de pasta a una temperatura de 20°C. El instrumento deberá ser usado en la oscuridad.

La fuente de luz: Comprende un dispositivo a una longitud de onda de $589.3\text{nm} \pm 0.5\text{nm}$ con una lámpara de vapor de sodio.

Tubos polarimétricos: Usualmente de $100\text{mm} \pm 0.5\text{mm}$ de longitud. Para muestras ligeramente coloreadas o de baja rotación óptica se deben usar tubos de más o menos $200\text{mm} \pm 0.5\text{mm}$, tubos de $50\text{mm} \pm 0.05\text{mm}$ o $10\text{mm} \pm 0.05\text{mm}$ o menos si es necesario para muestras fuertemente coloreadas. En la determinación se debe trabajar a 20°C o anotar la temperatura específica, utilice un tubo de ensayo de pared gruesa, equipado con un termómetro, asegurar la circulación del agua a la temperatura requerida. Para la determinación de la temperatura ambiente ver el tipo de tubo de ensayo que se debe utilizar, si bien es aconsejable utilizar los descritos en la parte anterior.

Termómetro: Graduado en 0.2°C o 0.1°C permitiendo la determinación de temperaturas entre 10°C y 30°C.

Procedimiento:

Determinación: Es necesario mantener la temperatura de la muestra a $20^\circ\text{C} \pm 0.2^\circ\text{C}$ o especificar la temperatura, para la muestra que va en el tubo polarimétrico apropiado. Mantener el diclorometano que está circulando con un control termostático, mantener la temperatura especificada durante la determinación. Llenar el tubo con la muestra y asegurarse de la ausencia de burbujas. Coloque el tubo en el polarímetro y lea la dextro rotación (+) o la levo rotación (Brand-Williams) del aceite que en la escala muestra el instrumento.

Nota: Como una regla la determinación será efectuada a 20°C, a excepción de los aceites que especifiquen el rango a trabajar.

Resultados:**Cálculos y fórmulas**

La ecuación utilizada para obtener la rotación específica de un compuesto ópticamente activo es la siguiente:

$$[\alpha]_D^t = \frac{\alpha}{lc}$$

Dónde:

{ α }: Rotación específica en (°ml/g dm)

α = Rotación óptica en grados (°)

l= Longitud de celda en (dm)

c= Concentración en (g/ml de solución)

El cambio de temperatura tiene varios efectos sobre la rotación de una solución o un líquido. Un incremento en la temperatura aumenta la longitud del tubo y también disminuye la densidad, reduciendo así el número de moléculas involucradas causando cambios en el poder rotatorio de las moléculas entre si mismas.

Nota: Los factores de corrección deberán ser dados en las especificaciones para cada aceite.

Precisión:

La precisión del método ensayado es de ± 3 mrda ($\pm 0.17^\circ$).

ANEXO 5

Tablas de las Propiedades físicas del aceite esencial *Ocotea Quixos*

DENSIDAD RELATIVA

☉ Comunidad San Luis:

| Comunidad San Luis | Densidad (g/cm ³) | \bar{x} | σ |
|--------------------|-------------------------------|-----------|----------|
| OQ 1 | 0.9240 | | |
| OQ 2 | 0.9231 | 0.9220 | 0.0027 |
| OQ 3 | 0.9189 | | |

OQ: *Ocotea quixos*

OQ 1: Primera repetición OQ 2: Segunda repetición OQ 3= Tercera repetición

\bar{X} : Promedio de la Comunidad San Luis

σ : Desviación estándar

☉ Comunidad Juyukamentsa:

| Comunidad Juyukamentsa | Densidad (g/cm ³) | \bar{x} | σ |
|------------------------|-------------------------------|-----------|----------|
| OQ 1 | 0.9276 | | |
| OQ 2 | 0.9344 | 0.9283 | 0.0058 |
| OQ 3 | 0.9228 | | |

OQ: *Ocotea quixos*

OQ 1: Primera repetición OQ 2: Segunda repetición OQ 3= Tercera repetición

\bar{X} : Promedio de la Comunidad Juyukamentsa

σ : Desviación estándar

☉ Comunidad Wapú:

| Comunidad Wapú | Densidad (g/cm ³) | \bar{x} | σ |
|----------------|-------------------------------|-----------|----------|
| OQ 1 | 0.9210 | | |
| OQ 2 | 0.9230 | 0.9223 | 0.0011 |
| OQ 3 | 0.9228 | | |

OQ: *Ocotea quixos*

OQ 1: Primera repetición OQ 2: Segunda repetición OQ 3= Tercera repetición

\bar{X} : Promedio de la Comunidad Wapú

σ : Desviación estándar

ÍNDICE DE REFRACCIÓN

Ⓢ Comunidad San Luis:

| Comunidad San Luis | Índice de refracción (nD) | \bar{x} | σ |
|--------------------|---------------------------|-----------|----------|
| OQ 1 | 1.5201 | | |
| OQ 2 | 1.5134 | 1.5165 | 0.0034 |
| OQ 3 | 1.5160 | | |

OQ: *Ocotea quixos*

OQ 1: Primera repetición

OQ 2: Segunda repetición

OQ 3= Tercera repetición

\bar{X} : Promedio de la Comunidad San Luis

σ : Desviación estándar

Ⓢ Comunidad Juyukamentsa:

| Comunidad Juyukamentsa | Índice de refracción (nD) | \bar{x} | σ |
|------------------------|---------------------------|-----------|----------|
| OQ 1 | 1.5256 | | |
| OQ 2 | 1.5376 | 1.5339 | 0.0072 |
| OQ 3 | 1.5385 | | |

OQ: *Ocotea quixos*

OQ 1: Primera repetición

OQ 2: Segunda repetición

OQ 3= Tercera repetición

\bar{X} : Promedio de la Comunidad Juyukamentsa

σ : Desviación estándar

Ⓢ Comunidad Wapú:

| Comunidad Wapú | Índice de refracción (nD) | \bar{x} | σ |
|----------------|---------------------------|-----------|----------|
| OQ 1 | 1.5238 | | |
| OQ 2 | 1.5209 | 1.5191 | 0.0058 |
| OQ 3 | 1.5126 | | |

OQ: *Ocotea quixos*

O.Q 1: Primera repetición

O.Q 2: Segunda repetición

O.Q 3= Tercera repetición

\bar{X} : Promedio de la Comunidad Wapú

σ : Desviación estándar

ACTIVIDAD ÓPTICA

☉ Comunidad San Luis:

| Comunidad San Luis | Actividad óptica (°) | \bar{x} | σ |
|---------------------------------|----------------------|-----------|----------|
| OQ 1 | 3.6814 | | |
| OQ 2 | 3.5704 | 3.5694 | 0.1125 |
| OQ 3 | 3.4565 | | |
| Peso del aceite | | 1.01 | |
| Peso del Diclorometano + Aceite | | 26.24 | |

OQ: *Ocotea quixos*

OQ 1: Primera repetición OQ 2: Segunda repetición OQ 3= Tercera repetición

\bar{X} : Promedio de la Comunidad San Luis

σ : Desviación estándar

☉ Comunidad Juyukamentsa:

| Comunidad Juyukamentsa | Actividad óptica (°) | \bar{x} | σ |
|---------------------------------|----------------------|-----------|----------|
| OQ 1 | 3.3743 | | |
| OQ 2 | 3.6921 | 3.4359 | 0.2316 |
| OQ 3 | 3.2413 | | |
| Peso del aceite | | 1.01 | |
| Peso del Diclorometano + Aceite | | 26.24 | |

OQ: *Ocotea quixos*

OQ 1: Primera repetición OQ 2: Segunda repetición OQ 3= Tercera repetición

\bar{X} : Promedio de la Comunidad Juyukamentsa

σ : Desviación estándar

☉ Comunidad Wapú:

| Comunidad Wapú | Actividad óptica (°) | \bar{x} | σ |
|---------------------------------|----------------------|-----------|----------|
| OQ 1 | 3.6810 | | |
| OQ 2 | 3.5998 | 3.5629 | 0.1402 |
| OQ 3 | 3.4079 | | |
| Peso del aceite | | 1.01 | |
| Peso del Diclorometano + Aceite | | 26.24 | |

OQ: *Ocotea quixos*

OQ 1: Primera repetición OQ 2: Segunda repetición OQ 3= Tercera repetición

\bar{X} : Promedio de la Comunidad Wapú

σ : Desviación estándar

ANEXO 6

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS **INDICES DE KOVAST EN LA COLUMNA DB5-MS**

- b)** Adams, R. (2009) Identification of Essential oil components by chromatography/ MS Spectrometry. Vol. 4.
- c)** De Pooter, H.L., Nicolai, B., De Laet, J., De Buyck, L.F., Schamp, N.M., and Goetghebeur, P. 1986. The essential oils of five *Nepeta* species. A preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by cluster analysis. *Flavour Fragr. J.* 3:155-159.
- d)** Masoudi, S.; Esmaeili, A.; Khalilzadeh, M.A.; Rustaiyan, A.; Moazami, N.; Akhgar, M.R.; Varavipoor, M., *Volatile constituents of Dorema aucheri Boiss., Seseli libanotis (L.) W. D. Koch var. armeniacum bordz. and Conium maculatum L. three Umbelliferae herbs growing wild in Iran*, *Flavour Fragr. J.*, 2006, 21, 5, 801-804.
- e)** Adams, R.P. 1995. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL.
- f)** Da Silva, M.H.L., Andrade, E.H.A., Zoghbi, M.G.B., Luz, A.I.R., Da Silva, J.D., and Maia, J.G.S. 1999b. The essential oils of *Lantana camara* L. occurring in North Brazil. *Flavour Fragr. J.* 14:208-210.
- g)** Tudor, E.; Moldovan, D., *Temperature Dependence of the Retention Index for Perfumery Compounds on a Se-30 Glass Capillary Column. II. The Hyperbolic Equation*, *J. Chromatogr.*, 1999, 848, 1-2, 215-227.

ANEXO 7

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS INDICES DE KOVAST EN LA COLUMNA HP-INNOWAX

- b)** Stashenko, E. E., Jaramillo, B. E., et al. (2003). Comparación de la composición química y de la actividad antioxidante in vitro de los metabolitos secundarios volátiles de plantas de la familia Verbenaceae. *Revista Académica de Colombia Cienc*, 27(105), 579-597.
- c)** Rabehaja, D., Ihandriharison, H., et al. (2011). Combined analysis by GC (RI), GCMS and ¹³C NMR of the essential oil from *Tana bojeriana* (Apiaceae), an endemic species of Madagascar. *Analytical Chemistry Letters*, 1(2), 130-134. doi: 10.1080/22297928.2011.10648211
- d)** Young, G., Chao, S., et al. (2007). Essential oil of *Bursera graveolens* (Kunth) Triana et Planch from Ecuador. *Journal of Essential Oil Research*, 19(6), 525-526. doi: 10.1080/10412905.2007.9699322.
- e)** Pino, J., Rodríguez, D., et al. (2014). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Nectandra antillana* Meisn. Leaves from Cuba. *Journal of Essential Oil Research*, 26(5), 359-362. doi: 10.1080/10412905.2014.933448.
- f)** Ruiz, S., Malagón, O., et al. (2010). Composition of the essential oils of *Artemisia sodiroi* Hieron., *Siparuna eggertii* Hieron., *Tagetes filifolia* Lag. And *Clinopodium nubigenum* (Kunth) Kuntze from Loja Ecuador. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 13(6), 676-691. doi: 10.1080/0972060x.2010.10643879.
- g)** Mecherara, S., Hassani, A., et al. (2008). Composition and chemical variability of the essential oil from *Pistacia lentiscus* L. Growing Wild in Algeria: Part II: Fruit Oil. *Journal of Essential Oil Research*, 20(2), 104-107. doi: 10.1080/10412905.2008.9699965.
- i)** Massarany, S. M., Abbas, F. A., et al. (2008). Chemical composition and biological evaluation of the essential oil of *Commiphora opobalsamum* L. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 13(4), 111-121. doi: 10.1080/10496470801946133.
- j)** Saroglou, V., Marin, P. D., et al. (2007). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of six *Hypericum* species from Serbia. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35(3), 146-152. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bse.2006.09.009>
- k)** Randriamiharisoa, R.P.; Gaydou, E.M., *Composition of Palmarosa (Cymbopogon martinii) essential oil from Madagascar, J. Agric. Food Chem.*, 1987, 35, 1, 62-66.

- l)** Saikia, A. K., Chetia, D., et al. (2013). Screening of fruit and leaf essential oils of *Litsea cubeba* Pers. from north-east India – chemical composition and antimicrobial activity. *Journal of Essential Oil Research*, 25(4), 330-338. doi: 10.1080/10412905.2013.775081
- m)** Niu, L., Bao, J., et al. (2011). Odor properties and volatile compounds analysis of *Torreya grandis* Aril Extracts. *Journal of Essential Oil Research*, 23 (4), 1-6. doi: 10.1080/10412905.2011.9700461
- n)** Hachicha, S., Skanji, T., et al. (2007). Chemical composition of *Teucrium alopecurus* essential oil from Tunisia. *Journal of Essential Oil Research*, 19(5), 413-415. doi: 10.1080/10412905.2007.9699939