

UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

Escuela de Ingeniería Química

**"DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES
FÍSICO-QUÍMICAS DE LOS ACEITES ESENCIALES
DE CUATRO ESPECIES DE LA FAMILIA LAMIACEAE:
Scutellaria volubilis, *Hyptis pectinata*, *Hyptis suaveolens*,
Lepechinia paniculata DE LA PROVINCIA DE LOJA"**

AUTORA: Jackelinne Andrea Castillo Villalta

DIRECTOR: Ing. Benito Eduardo Valarezo Velez

**TESIS DE GRADO PREVIA LA
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERA QUÍMICA**

LOJA - ECUADOR

2010

CESIÓN DE DERECHOS DE TESIS

“Yo, Jackelinnz Andrzea Castillo Villalta declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 67 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 de tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”

Loja, Febrero 2009

Jackelinnz Andrzea Castillo Villalta

CERTIFICACIÓN

Ing. Eduardo Valarezo

DOCENTE INVESTIGADOR DE LA UTPB

DIRECTOR DE LA TESIS:

Certifico:

Haber dirigido la presente investigación **“DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE LOS ACEITES ESENCIALES DE CUATRO ESPECIES DE LA FAMILIA LAMIACEAE: *Scutellaria volubilis*, *Hyptis pectinata*, *Hyptis suaveolens*, *Lepechinia paniculata* DE LA PROVINCIA DE LOJA”,** la misma que ha sido revisada y cumple con todos los requisitos que exige los reglamentos de la Escuela de Ingeniería Química, por lo que autorizo su presentación.

Ing. Marías del Cisne Guamán

Firma por: Ing. Eduardo Valarezo

DIRECTOR DE TESIS

Loja, Febrero 2009

Autoría

Los conceptos, procedimientos, análisis de resultados, así como conclusiones y recomendaciones son responsabilidad directa de la autora

F. Jackeline Andrea Castillo Villata

Agradecimiento

En primer lugar a DIOS por darme la vida y sabiduría para culminar mi carrera.

Mi agradecimiento sincero al Ing. Eduardo Valarzo, director de esta tesis, para mi es un honor haber realizado este trabajo bajo su dirección y le estaré siempre muy agradecida porque ha dedicado su valioso tiempo a la culminación exitosa de la misma.

A todo el personal del Instituto de Química Aplicada, por su apoyo durante el desarrollo de la investigación en especial a la Ing. María del Cisne Guamán.

A personal del laboratorio de Análisis Instrumental por la ayuda brindada.

A Dr. Omar Malagón Director de la Escuela de Ingeniería Química por su comprensión y apoyo para la culminación de una parte de mi vida y comienzo de otras etapas.

Y a todo el personal docente y administrativo de la Escuela de Ingeniería Química por sus conocimientos impartidos.

Finalmente a mi esposo quien estuvo pendiente de cada paso y tarea que debía realizar para la culminación exitosa de este proyecto.

Gracias a todos.

Dedicatoria

Dedico especialmente a Dios y a la Virgen María, por la fuerza y sabiduría para enfrentar y superar los obstáculos que se presentaron día a día para culminar esta etapa de mi vida

A mi padre por ser la luz de mi inspiración y ejemplo de lucha y trabajo.

A mi madre y hermanos, por animarme a seguir adelante, y cumplir mis metas

A mi esposo Juan Carlos Nuqui por su apoyo incondicional y a mis hijos: Juan Andrés, Escarleth Salomé y Camilo Josué quienes estaban pendientes de que mami no estaba a su lado porque se encontraba en la universidad desarrollando su tesis; y por su amor brindado para no flaquear a pocos pasos de la meta.

A mis suegros quienes velaron, por el bienestar de mis hijos durante mis momentos de ausencia.

A la Flia. Herrera Delgado y en especial a las que desde el cielo están contentas por este logro alcanzado la mamita Maruja y la tía Chochita.

Contenido

	Pág.
Cesión de derechos.....	I
Certificación.....	II
Autoría.....	III
Agradecimiento.....	IV
Dedicatoria.....	V
Contenido	VI
Artículo.....	XI
<i>I. FIN, PROPÓSITO Y COMPONENTES DEL PROYECTO</i>	
1.1 Fin del proyecto.....	2
1.2 Propósito del proyecto	2
1.3 Componentes del proyecto.....	2
1.4 Tratamiento estadístico.....	2
<i>II. INTRODUCCIÓN JUSTIFICACIÓN Y ANTECEDENTES</i>	
2.1 Introducción.....	5
2.2 Justificación.....	7
2.3 Antecedentes.....	8
<i>III. MATERIALES Y MÉTODOS</i>	
3.1 Recolección y obtención del aceite esencial de las diferentes especies.....	19
3.1.1 Recolección de la materia vegetal.....	20
3.1.2 Tratamiento pos- cosecha de la materia vegetal.....	21
3.1.2.1 Determinación de humedad.....	21
3.1.3 Destilación – obtención del aceite esencial.....	22
3.1.3.1 Determinación del rendimiento del aceite esencial.....	23
3.1.4 Envasado y almacenamiento del aceite esencial.....	24
3.2 Determinación de las propiedades físicas de los aceites esenciales.....	24
3.2.1 Densidad relativa.....	24
3.2.2 Índice de refracción.....	25
	VI

3.2.3 Actividad óptica.....	26
3.3 Identificación de la composición química del aceite esencial de cada especie vegetal.....	27
3.3.1 Preparación de las muestras.....	29
3.3.2 Corrida cromatográfica de las muestras por CG-EM en la columna capilar DB-5MS.....	30
3.3.3 Corrida cromatográfica de las muestras por CG-EM en la columna capilar HP-INNOWAX.....	31
3.3.4 Obtención de los cromatogramas.....	32
3.3.5 Determinación de los índices de Kovats.....	33
3.3.6 Identificación de los compuestos en CG-EM en las columnas capilares DB-5MS y HP-INNOWAX.....	34
3.3.7 Corrida cromatográfica de las muestras por CG-FID en la columna capilar DB-5MS.....	35
3.3.8 Corrida cromatográfica de las muestras por CG-FID en la columna capilar HP-INNOWAX.....	36
3.3.9 Identificación de los compuestos en CG-FID en las columnas capilares DB-5MS y HP-INNOWAX.....	37
3.3.10 Estudio de reproducibilidad de los tiempos de retención y los índices de Kovats.....	38

IV ANÁLISIS Y RESULTADOS

4.1 Humedad, rendimiento y propiedades físicas.....	40
4.2 Composición química de los aceites esenciales.....	43
4.2.1 Composición química del aceite esencial de la especie <i>Scutellaria volubilis</i>	43
4.2.2 Composición química del aceite esencial de la especie <i>Hyptis suaveolens</i>	48
4.2.3 Composición química del aceite esencial de la especie <i>Hyptis pectinata</i>	54
4.2.4 Composición química del aceite esencial de la especie <i>Lepechinia paniculata</i>	59
4.3 Estudio de la reproducibilidad de los Tiempos de Retención y los Índices de Kovats.....	64
4.4 Espectro de masas.....	68

4.4.1 Datos espectrales de los compuestos mayoritarios de la especie <i>Scutellaria volubilis</i> en las columnas DB-5MS y HP-INNOWAX.....	68
4.4.2 Datos espectrales de los compuestos mayoritarios de la especie <i>Hyptis suaveolens</i> en las columnas DB-5MS y HP-INNOWAX en CG-EM.....	71
4.4.3 Datos espectrales de los compuestos mayoritarios de la especie <i>Hyptis pectinata</i> en las columnas DB-5MS y HP-INNOWAX en CG-EM.....	73
4.4.4 Datos espectrales de los compuestos mayoritarios de la especie <i>Lepechinia paniculata</i> en las columnas DB-5MS y HP-INNOWAX en CG-EM.....	76
 CONCLUSIONES	 80
 RECOMENDACIONES	 83

Lista de figuras, fotografías, tablas, gráficas y anexos

	Pág.
Figura 3.1: Metodología para la obtención de los aceites esenciales de cada especie.....	19
Figura 3.2: Área de estudio de las especies <i>Hyptis suaveolens</i> , <i>Hyptis pectinata</i> , <i>Scutellaria volubilis</i> , <i>Lepechinia paniculata</i> , en la Provincia de Loja..	21
Figura 3.3: Esquema simplificado de las corridas cromatográficas.....	29
Figura 3.4: Parámetros de operación para la columna capilar DB-5MS en CG-MS.....	31
Figura 3.5: Parámetros de operación para la columna capilar HP-INNOWAX en CG-MS.....	32
Figura 3.6: Cromatograma.....	33
Figura 3.7: Parámetros de operación para la columna capilar DB-5MS para CG-FID.....	36
Figura 3.8: Parámetros de operación para la columna capilar HP-INNOWAX en CG-FID.....	37
Figura 4.1: Cromatograma de la especie <i>Scutellaria volubilis</i>	45
Figura 4.2: Cromatogramas de la especie <i>Hyptis suaveolens</i>	51
Figura 4.3: Cromatogramas de la especie <i>Hyptis pectinata</i>	56
Figura 4.4: Cromatogramas de la especie <i>Lepechinia paniculata</i>	60
Fotografía 2.1: <i>Hyptis suaveolens</i>	12
Fotografía 2.2: <i>Hyptis Pectinata</i>	14
Fotografía 2.3: <i>Lepechinia paniculata</i>	16
Fotografía 2.4: <i>Scutellaria volubillis</i>	17
Fotografía 3.1: Destilación: 1.Nivel de agua 2. Rejilla de separación 3. Materia vegetal 4. Destilador montado 5. Recolección del aceite esencial en el florentino.....	23
Fotografía 3.2: Envasado del aceite esencial.....	24
Fotografía 3.3: Picnómetro – Balanza Analítica.....	25
Fotografía 3.4: Refractómetro.....	26

Fotografía 3.5: Polarímetro AUTOPOL 880 Automatic Saccharimeter.....	27
Fotografía 3.6: Cromatógrafo de gases Agilent 6890N.....	28
Fotografía 3.7: Preparación de la muestras en un vial.....	30
Tabla 3.1: Características de las columnas capilares.....	28
Tabla 4.1: Estado fenológico de las plantas.....	40
Tabla 4.2: Humedad, rendimiento y propiedades físicas.....	41
Tabla 4.3: Composición química del aceite esencial de <i>Scutellaria volubilis</i>	47
Tabla 4.4: Composición química del aceite esencial de <i>Hyptis suaveolens</i>	53
Tabla 4.5: Composición química del aceite esencial de <i>Hyptis pectinata</i>	58
Tabla 4.6: Composición química del aceite esencial de <i>Lepechinia paniculata</i>	63
Tabla 4.7: Reproducibilidad de los tiempos de retención de algunos componentes de los aceites esenciales.....	66
Tabla 4.8: Reproducibilidad de los índices de Kovats de algunos compuestos de los aceites esenciales.....	67
Gráfica 4.1: Compuestos mayoritarios la especie <i>Scutellaria volubilis</i>	48
Gráfica 4.2: Compuestos mayoritarios de la especie <i>Hyptis suaveolens</i>	54
Gráfica 4.3: Compuestos mayoritarios de la especie <i>Hyptis pectinata</i>	59
Gráfica 4.4: Compuestos mayoritarios de la especie <i>Lepechinia paniculata</i>	64
ANEXO I Determinación del contenido de humedad.....	85
ANEXO II Determinación de la densidad relativa a 20°C.....	86
ANEXO III Determinación del índice de refracción.....	88
ANEXO IV Determinación de la rotación óptica.....	90
ANEXO V Abreviaturas.....	94

DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE LOS ACEITES ESENCIALES DE CUATRO ESPECIES DE LA FAMILIA LAMIACEAE: *Scutellaria volubilis*, *Hyptis pectinata*, *Hyptis suaveolens*, *Lepechinia paniculata* DE LA PROVINCIA DE LOJA

Jackelinne Castillo¹, Eduardo Valarezo², Omar Malagón², Vladimir Morocho²
e-mail: jacvillalta@hotmail.com

¹ Escuela de Ingeniería Química-Universidad Técnica Particular de Loja,
San Cayetano Alto s/n, Postal Code 11-01-608, Loja, Ecuador

² Instituto de Química Aplicada-Universidad Técnica Particular de Loja, San Cayetano Alto s/n, Postal Code 11-01-608, Loja, Ecuador
e-mail: omalagon@utpl.edu.ec

ABSTRAC

The chemical composition of the essential oils obtained by dragged vapor of the air parts of four species of the Lamiaceae family (*S. volubilis*, *H. pectinata*, *H. suaveolens* y *L. paniculata*) recollected in Loja - Ecuador was analyzed by GC-MS y GC-FID and it was found that in the oil of *S. volubilis* the mayor components are germancrene D (20,42%), β -caryophyllene (17,54%), α -humulene (14,73%), β -phellandrene (6,87%) and β -bisabolene (5,60%) while the oil of *H. suaveolens* contains eucalyptol (39,01%), sabinene (16,65%), fenchone (9,65%), α -pinene (6,74%) and fenchyl alcohol (4,67%) , the most abundants components are identified on the oil of *H. pectinata* were germancrene D (34,13%), β -caryophyllene (21,18%), viridiflorene (8,27%), β -bourbonene (9,29%), α -humulene (2,96%) and the most abundant components on the oil of *L. paniculata* were aromadendrene (24,64%), viridiflorene (12,37%), β -selinene (7,37%), valencene (6,67%) y β -phellandrene (7,72%).

KEY WORDS:

Essential oils, Lamiaceae, gas chromatography, germancrene D, eucalyptol, aromadendrene

INTRODUCTION

Ecuador is one of the countries with bigger number of species by surface area, well occupying a 0.2% of territory on Earth hold 10% of the species of plants that exist on the planet located in the sixth place of world level in mega diversity (1). Some aromatic family plants are traditionally source of aromatic products, as Pináceas, Verbenáceas, Mirtáceas, Lamiáceas, Rutáceas, Lauráceas, Piperáceas, Apiáceas and Asteráceas (2). In this study it realizes the identification of chemical composition and physical properties of the essentials oils of *S. volubilis*, *H. suaveolens*, *H. pectinata* y *L. paniculata*, species of the lamiaceae family.

MATERIALS AND METHODS

The plants were collected in the province of Loja: *S. volubilis* (Villonaco), *H. suaveolens* (La Ceiba), *H. pectinata* (Pindal) and *L. paniculata* (San Lucas). For the obtaining of the essential oil it distillates the air part of the plant by dragged vapor for the period of three hours.

Determination of the physical properties

The essentials oils refracts the polarized light, property that is used for its purity control, while they had an index of characteristic refraction, also it presents a power of rotational characteristic, in reason that possess in its composition a numerous products optically active, it holds a normal minor density than the water. (2). For the density determination it was used as a reference norm ANFOR NF T75, in the index of refraction it measures in a refractometric ABBE using the norm ANFOR NF 75-112 and the optic activity in the polarimetric SACCHARIMETER fallow as a norm of reference ISO 592 -1998.

Chromatographic Analysis

The essential oil was analyzed in a Chromatographer of Gases Agilent serial number 6890N which was linked with a mass spectrometer serial number 5973, under the following conditions: transporting gas, Helium 0.9ml/min; partition ratio, 50:1;

temperature of the injector 250°C; temperature of the detector 250°C and a temperature gradient which begins at 50°C with a ramp of 2.5 ml/min up to 250°C.

Identification and Quantification

The identification of the components were based in the index of Kovats determines in base to a series homologate of lineal hydrocarbon (C10 a C25) and to the visual identification of the spectrum of mass compared with the date base WILEY 7n of the equipment. The quantitative identification was done on the basis of the area of each

chromatographic peak obtained in the two chromatographic columns DB-5 and HP-INNOWAX

RESULT AND DISCUSSION

In the table 1, it shows the humidity values, yield and physical proprieties of the essential oils obtained in the three relations of each species. Should point out that the essential oil of the specie *Lepechinia paniculata* it presents the particularity of to be in a semisolid estate as a different from others.

Table 1: Humidity, yield and physical proprieties

Name of the species	Code*	Hm (%)	R (%)	d_{20}^{20}	n^{20}	α	State of the essential oil
<i>Scutellaria volubilis</i>	SVV1	63.08	0.041	0,892	1,503	-104,250	liquid
	SVV2	51.83	0.021	0,894	1,507	-108,500	liquid
	SVV3	46.03	0.023	0.893	1,502	-99,500	liquid
<i>Hyptis suaveolens</i>	HSC1	52.96	0.059	0,897	1,471	6,625	liquid
	HSC2	56.15	0.092	0,896	1,471	5,375	liquid
	HSC3	48.02	0.167	0,892	1,473	5,625	liquid
<i>Hyptis pectinata</i>	HPP1	58.54	0.027	0,908	1,506	-221,875	liquid
	HPP2	55.54	0.047	0,894	1,506	-225,375	liquid
	HPP3	42.40	0.034	0,893	1,506	-218,250	liquid
<i>Lepechinia paniculata</i>	LPS1	63.94	0.077	0,895	1,493	-90,375	semisolid
	LPS2	63.52	0.078	0,898	1,497	-92,875	semisolid
	LPS3	63.60	0.090	0,899	1,497	-90,625	semisolid

* You use codes for each one of the recollection: SVV for the species *Scutellaria volubilis*, HSC for the species *Hyptis suaveolens*, HPP for the species *Hyptis pectinata* and LPS for the species *Lepechinia paniculata*; and number 1, 2 and 3 for each recollection.

Hm = relative humidity of the sample

R = yield in oil essential

d_{20}^{20} = relative density of the essential oil to 20°C, referred to the water to 20°C

n^{20} = index of refraction of the essential oil to 20°C

α = optic activity calculated to 20°C

In the table 2, it shows the results of the chemical composition of the species *Scutellaria volubilis*, *Hyptis suaveolens*, *Hyptis pectinata* y *Lepechinia paniculata*

In the essential oil *Scutellaria volubilis* it determinates 37 components of those which were identified 22 compound in both columns, having identified the (84,94%, 83,31% and 82,06%) of the chemical composition of the respective oil for each recollection. The majority components for these species are: germancrene D (21,255%; 19,87%; 20,14%), β -caryophyllene (18,94%; 17,08%; 16,0%), α -humulene (15,80%; 13,58%; 14,81%), β -bisabolene (4,70%, 6,46%, 6,24%), belongs to sesquiterpenes y β -

phellandrene (6,35%; 7,76%; 6,49%) belonging to the monoterpenes.

The identified components as majorities for the specie *Hyptis suaveolens* correspond to a group of monoterpenes, which are: eucalyptol (38,44%; 39,53; 39,07%), sabinene (17,32%; 16,71%; 15,92%), fenchone (9,56%; 9,03%; 10,37%), α -pinene (6,75%; 6,64%; 6,83%) and fenchyl alcohol (4,38%; 5,05%; 4,569%). It determinate 28 components of which 20 were identified, corresponding to (87,97%; 88,65% y 88,53%) of the chemical composition from oil in each receptivity recollection. The majority component identified in the present study: eucalyptol

(38,44%; 39,53; 39,07), has been reported in other studies by the same species in different percentages; in the study "Chemical composition of essential oils of two *Hyptis suaveolens* (L.) Poit leaves from Nigeria", it reports (5,2%) (3), in other study "The essential oil of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. And its insect deterrent properties" (29,1%) (4), while the study of "The essential oil of *Hyptis suaveolens* Poit. Grown on Aruba" reports (27-38%) (5). other majority component in the specie of sabinene (17,32; 16,71%; 15,92%), is reported by other studies as majority component but with different percentages, in the study "Chemical composition of essential oils of two *Hyptis suaveolens* (L.) Poit leaves from Nigeria" it reports (13,2% y 30%) (3), other investigation "Aromatic plants of tropical Central Africa. XLVIII. Comparative study of the essential oils of four *Hyptis* species from Cameroon: *H. lanceolata* Poit., *H. pectinata* (L.) Poit., *H. spicigera* Lam. and *H. suaveolens* Poit." Sabinene report with 20,6% (6), likewise other study in Aruba "The essential oil of *Hyptis suaveolens* Poit. Grown on Aruba" (12-18%) (5), by the way the study of "Chemical Composition of *Hyptis pectinata* L., *H. lanceolata* Poit, *H. suaveolens* (L) Poit and *H. spicigera* Lam. Essential Oils from Togo" sabinene (28%) (7). The third identified components to the oil of *Hyptis suaveolens* of the present investigation is the fenchone (9,56%; 9,03%; 10,37%), this component was reported in the study "The essential oil of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. And its insect deterrent properties" with 15,02% (4). A study realized in El Salvador "Chemical Polymorphism Of Essential Oils Of *Hyptis Suaveolens* From El Salvador" (8), it tells us that the south zone a fenchone-fenchol-chemotype was predominant, while on north regions the majority of plants accumulated eucalyptol and the essential oils of two places of recollection of southeast revealed high efficiency of terpinolene and sabinene, in this study does not report

quantitative data of the most abundant component.

It determinates 21 components for the specie *Hyptis pectinata* identification a (88,09%; 88,17% and 88,13%) on the chemical composition respectively for each recollection, that correspond to 16 identified components, which are reported as a majority components the next sesquiterpenes: germancrene D (33,84%; 33,74%; 34,81%), β -caryophyllene (21,24%; 21,33%; 20,96%), α -humulene (2,90%; 2,91%; 3,09%), viridiflorene (8,33%; 8,32%; 8,18%) and β -bourbonene (9,21%; 9,24%; 9,43%). The two components that majority components of abundant in our study are: germancrene D (33,84%; 33,74%; 34,81%) and β -caryophyllene (21,24%; 21,33%; 20,96%) , that reports as a majority components from the same specie with different percentages in the study "Comparative study of the essential oils of four *Hyptis species* from Cameroon: *H. lanceolata* Poit., *H. pectinata* (L.) Poit., *H. spicigera* Lam. and *H. suaveolens* Poit" having germancrene D (28,0%) and β -caryophyllene (22,1%) (6).

It identifies the (80.36%, 80,97% y 81,42%) of the chemical composition of the essential oil from the specie *Lepechinia paniculata*, identified 18 components of 36 obtained. The majority components for these species are: aromadendrene (24,28%; 24,26%; 25,39%), viridiflorene (12,52%; 12,09%; 12,51%), β -selinene (7,29%; 7,26%; 7,547%), valencene (6,44%; 6,53%; 7,044%), which belongs to sesquiterpenes y β -phellandrene (7,76%; 7,77%; 7,62%) which is monoterpene. Occur that is a endemic plant from Ecuador; it was not found studies to this specie In the table 2, it shows the chemical composition of the essential oils of *Scutellaria volubilis*, *Hyptis suaveolens*, *Hyptis pectinata* and *Lepechinia paniculata*.

Table 2: Chemical composition of the essential oils of *Scutellaria volubilis*, *Hyptis suaveolens*, *Hyptis pectinata* y *Lepechinia paniculata*

№	COMPOUND	Index Kovats		SVV* AVERAGE	SVV σ	HSC* AVERAGE	HSC σ	HPP* AVERAGE	HPP σ	LPS* AVERAGE	LPS σ
		DB5	HP- INNOWax								
1	α -pinene	901	1088	0,811	0,155	6,739	0,097	0,396	0,007	1,386	0,348
2	camphene	926	1107	-----	-----	0,292	0,029	-----	-----	2,444	0,395
3	sabinene	965	1138	1,611	0,293	16,648	0,702			0,071	0,007
4	β -pinene	973	1129	1,870	0,018	-----	-----	-----	-----	0,242	0,045
5	sulcatone	988	1337	-----	-----	-----	-----	-----	-----	0,350	0,051
6	mircene	996	1168	0,265	0,010	1,089	0,053	0,075	0,009	-----	-----
7	α -terpinene	1014	1178	-----	-----	0,626	0,056	-----	-----	-----	-----
8	α -phellandrene	1005	1207	0,532	0,062	-----	-----	-----	-----	-----	-----
9	p-cimene	1022	1260	0,301	0,045	-----	-----	-----	-----	1,213	0,051
10	β - phellandrene	1027	1236	6,868	0,772	-----	-----	-----	-----	7,719	0,087
11	eucalyptol	1029	1207	-----	-----	39,015	0,547	0,739	0,051	-----	-----
12	γ -terpinene	1053	1238	-----	-----	0,867	0,099	0,944	0,034	1,214	0,255
13	fenchone	1082	1383	-----	-----	9,654	0,674	-----	-----	-----	-----
14	trans- β -ocimene	1096	1246	-----	-----	0,154	0,012	-----	-----	-----	-----
15	fenchyl alcohol	1118	1595	-----	-----	4,665	0,347	-----	-----	-----	-----
16	camphor	1141	1505	-----	-----	-----	-----	-----	-----	3,879	0,115
17	1-terpinen-4-ol	1174	1602	-----	-----	0,685	0,049	-----	-----	-----	-----
18	α -terpineol	1189	1691	-----	-----	0,453	0,048	-----	-----	-----	-----
19	α -cubebene	1342	1451	-----	-----	-----	-----	0,988	0,035	-----	-----
20	α -copaene	1370	1481	0,706	0,033	-----	-----	-----	-----	0,237	0,033
21	β -burbonene	1377	1509	2,308	0,134	0,645	0,018	9,294	0,122		
22	a-gurjunene	1405	1521	1,434	0,238	0,172	0,017	0,125	0,017	1,424	0,251
23	β -caryophyllene	1414	1592	17,542	1,235	-----	-----	21,177	0,191	4,319	0,077
24	β -cubebene	1424	1568	0,576	0,058	-----	-----	1,114	0,073	-----	-----
25	β -seline	1443	1642	-----	-----	-----	-----	-----	-----	7,367	0,156
26	α -humulene	1450	1666	14,733	1,113	0,233	0,028	2,962	0,107	0,871	0,019
27	allo-aromadendrene	1453	1636	-----	-----	1,025	0,041	-----	-----	-----	-----
28	γ -selinene	1468	1676	-----	-----	-----	-----	-----	-----	0,570	0,057
29	γ -muurolene	1471	1690	0,266	0,045	-----	-----	-----	-----	-----	-----
30	germacrene D	1477	1696	20,418	0,730	3,014	0,118	34,128	0,592	-----	-----
31	valencene	1484	1702	-----	-----	0,230	0,016	-----	-----	6,670	0,327
32	viridiflorene	1490	1725	-----	-----	-----	-----	8,274	0,084	12,374	0,246
33	α -muurolene	1494	1718	0,383	0,067	-----	-----	-----	-----	-----	-----
34	aromadendrene	1500	1696	-----	-----	-----	-----	2,745	0,116	24,642	0,644
35	α -farnesene	1503	1762	-----	-----	-----	-----	-----	-----	4,286	0,391
36	β -bisabolene	1505	1727	5,795	0,959	-----	-----	-----	-----	-----	-----
37	δ -cadinene	1513	1758	2,572	0,384	1,706	0,236	2,144	0,208	-----	-----
38	germacrene B	1551	1814	-----	-----	-----	-----	1,435	0,033	-----	-----
39	caryophyllene oxide	1575	1994	2,751	0,361	-----	-----	1,589	0,092	-----	-----
40	viridiflorol	1598	2159	0,326	0,030	-----	-----	-----	-----	-----	-----
41	α -cadinol	1639	2220	0,560	0,038	-----	-----	-----	-----	-----	-----
42	t-cadinol	1650	2220	-----	-----	0,475	0,023	-----	-----	-----	-----
43	torreyol	1650	2173	0,808	0,070	-----	-----	-----	-----	-----	-----

* You use codes for each one of the recollection: SVV for the species *Scutellaria volubilis*, HSC for the species *Hyptis suaveolens*, HPP for the species *Hyptis pectinata* and LPS for the species *Lepechinia paniculata*.

ACKNOWLEDGEMENTS

To the Instituto de Química Aplicada of the Universidad Técnica Particular de Loja for giving me the academic support, especially the Dr. Omar Malagón and Eng. Eduardo Valarezo

REFERENCES

- (1) L. de la Torre, H. Navarrete, P. Muriel M., M.J. Macía y H. Balslev. Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador. Herbario QCA de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador y Herbario AAU del Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad de Aarhus, 2008.
- (2) A. Bandoni, Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica. Su aprovechamiento Industrial para la producción de aromas y sabores. Corporación Iberoamericana CYTED, Segunda Edición, Argentina, 2002Va el 8
- (3) R. Rivas, D. Valera, J. L. Avila, L. Aubert, M. E. Amelot, L. B. Rojas, A. Usubillaga, The essential oil of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. And its insect deterrent properties, Journal of Essential Oil Bearing Plants, 5(3), December (2002).
- (4) C. Fun, A. Baerheim Svendsen, The essential oil of *Hyptis suaveolens* Poit. Grown on Aruba, Flavour and Fragrance Journal, 5(3): 161-163 (1990).
- (5) F. Tchoumboungang, P. H. Amvam, F. Fekam, M. A. Nyegue, J. M. Bessière y C. Menut, Aromatic plants of tropical Central Africa. XLVIII. Comparative study of the essential oils of four *Hyptis species* from Cameroon: *H. lanceolata* Poit., *H. pectinata* (L.) Poit., *H. spicigera* Lam. and *H. suaveolens* Poit, Flavour and Fragrance Journal, 20 (3): 340-343 (2005).
- (6) K. Koba, C. Raynaud, J. Millet, J.-P. Chaumont, K. Sanda, Chemical Composition of *Hyptis pectinata* L., *H. lanceolata* Poit, *H. suaveolens* (L.) Poit and *H. spicigera* Lam. Essential Oils from Togo, Journal Of Essential Oil Bearing Plants, 10(5), September (2007).
- (7) P. Grassi, M. J. Nuñez, K. Varmuza y C. Franz, Chemical Polymorphism Of Essential Oils Of *Hyptis Suaveolens* From El Salvador, Flavour and Fragrance Journal, 20 (2): 131-135 (2005).

RESUMEN

En la presente investigación, se reporta las propiedades físicas y composición química del aceite esencial de cuatro especies aromáticas de la provincia de Loja, de la familia lamiaceae: *Scutellaria volubilis*, *Hyptis pectinata*, *Hyptis suaveolens*, y *Lepechinia paniculata*; la primera una hierba nativa que se encontró en el cerro Villonaco teniendo su aceite esencial una densidad e índice de refracción promedio de (0,893g/cm³) y (1,504) respectivamente, la segunda una planta introducida con fuerte olor a hierba, se la recolectó en la vía Panamericana a cinco minutos de Pindal, se determinó su densidad promedio (0,898g/cm³) e índice de refracción (1,506), de su aceite esencial; de esta forma la tercera especie, una planta herbácea, se la recolectó en el barrio la Ceiba del cantón Zapotillo, obteniendo (0,900g/cm³) como densidad y (1,470) para el índice de refracción del aceite esencial de la especie *Hyptis suaveolens*. Y finalmente un arbusto endémico del Ecuador, que fue recolectado en el barrio la Acacana – parroquia San Lucas, se extrajo su aceite esencial y se determinó los valores promedios de la densidad (0,897%) a 25°C y su índice de refacción (1,496).

La composición química del aceite esencial de la parte aérea de estas cuatro especies que crecen en la región sur del Ecuador (provincia de Loja), se examinó por análisis en CG-EM. En el aceite esencial de *Scutellaria volubilis*, los sesquiterpenos fueron el principal grupo de constituyentes, el germacreno D (20,42%), β -cariofileno (17,54%) y α -humuleno (14,73%); mientras que en el aceite esencial de *Hyptis pectinata* los principales compuestos fueron germacreno D (34,13%), β -cariofileno (21,18%) y β -bourboneno (9,29%) del grupo de los sesquiterpenos. A diferencia de las anteriores en la especie *Hyptis suaveolens* los monoterpenos predominaron en el aceite esencial eucaliptol (39,01%), sabineno (16,65%) y fenchona (9,65%); en la cuarta y última especie *Lepechinia paniculata*, sus dos compuestos mayoritarios pertenecen a los sesquiterpenos aromadendreno (24,64%) y viridifloreño (12,37%), y el tercero β -felandreno (7,72%) pertenece al grupo de los monoterpenos.

CAPÍTULO I.

*FIN, PROPÓSITO Y COMPONENTES
DEL PROYECTO*

I. FIN, PROPÓSITO Y COMPONENTES DEL PROYECTO

1.1. Fin del proyecto

Contribuir al estudio de los aceites esenciales de las especies aromáticas promisorias de la Zona Sur del Ecuador.

1.2. Propósito del proyecto

Identificar los componentes químicos mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas CG-EM y al detector de ionización de llama CG-FID de los aceites esenciales de: *Scutellaria volubilis*, *Lepechinia paniculata*, *Hyptis pectinata* e *Hyptis suaveolens*; y determinar las propiedades físicas: densidad, índice de refracción y actividad óptica.

1.3. Componentes del proyecto

1. Determinar el rendimiento de los aceites esenciales de cada especie y la humedad respectiva.
2. Identificar los componentes químicos de los aceites esenciales de cada especie: *Scutellaria volubilis*, *Lepechinia paniculata*, *Hyptis suaveolens*, *Hyptis pectinata*; por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas CG-EM y acoplada al detector de ionización en llama CG-FID.
3. Determinar las propiedades físicas: densidad, índice de refracción y actividad óptica.

1.4. Tratamiento estadístico

Se realizó un tratamiento estadístico al conjunto de datos de las tres recolecciones de cada especie; en los cuales se determinó la media aritmética, desviación estándar y varianza a los porcentajes de cantidad relativa, a fin de establecer la variabilidad que presentaron los datos.

CAPÍTULO II.
INTRODUCCIÓN, ANTECEDENTES
Y JUSTIFICACIÓN

II. INTRODUCCIÓN, JUSTIFICACIÓN Y ANTECEDENTES

2.1 Introducción

Los aceites esenciales son mezclas de sustancias obtenidas de plantas, que presentan como características principales su compleja composición química y su carácter fuertemente aromático.

“Aceite esencial” fue un término utilizado por primera vez en el siglo VXI por Paracelso (famoso médico y farmacéutico) quien utilizó aceites esenciales como medicamento y los consideró como la <<quinta esencia>>, o elemento inmaterial presente en todo ser⁴.

Los aceites esenciales se encuentran ampliamente repartidos en las plantas que incluyen: las Compuestas, Labiadas, Lauráceas, Lamiaceas, Mirtáceas, Pináceas, Asteraceas, Rosáceas, Rutáceas, etc. Es así que las plantas aromáticas son las que concentran una mayor cantidad de esencias y por tanto constituyen la materia prima para su obtención, bien sea empleando toda la planta, sólo sus hojas, flores, frutos o raíces, dependiendo de la planta. De los millones de plantas existentes en nuestro planeta, se conocen alrededor de 4000 aceites esenciales distintos, aunque evidentemente, hay las que presentan una concentración tan baja que hace imposible su obtención práctica.

En la actualidad los modernos métodos de análisis, permiten una identificación exhaustiva de los componentes presentes en los aceites esenciales, particularmente de los responsables del perfil aromático, sutileza y finura de los productos naturales, lo que abre nuevas posibilidades en la obtención de productos interesantes. Por otra parte, la utilización de aceites esenciales como sustancias medicinales es una aplicación que actualmente vive un nuevo impulso,

4. M. Ortuño, Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. Ediciones AIYANA, Primera Edición (2006).

al quedar englobada dentro del auge que experimentan los productos naturales desde hace algunas décadas. Así, cada vez ven la luz un mayor número de estudios y trabajos de investigación relacionados con interesantes características y propiedades de los aceites esenciales⁴.

El avance tecnológico ha permitido grandes cambios en el mercado de una economía global, cada día y con mayor frecuencia surge en los países un vivo interés por el estudio y la investigación, el consumo y la producción de las plantas aromáticas y medicinales, que se abre un amplio y creciente campo en la aplicación a las industrias farmacéutica, alimentaria y perfumero-cosmética.

Las plantas en estudio de la presente investigación *Scutellaria volubilis*, *Lepechinia paniculata*, *Hyptis suaveolens* e *Hyptis pectinata*, pertenecen a la familia Lamiaceae, consta de unos 200 géneros y 3200 especies de distribución cosmopolita y mejor representadas en la región mediterránea. En el Ecuador están representados 14 géneros nativos, 5 de ellos con representantes arbustivos se encuentran en la zona andina, además varias hierbas aromáticas introducidas de los géneros *Mentha* y *Rosmarinus Thymus*, entre otros.

Esta investigación, pretende contribuir al estudio de los aceites esenciales de las especies aromáticas promisorias de la zona sur del Ecuador, con el propósito de identificar sus componentes químicos, mediante cromatografía de gases, acoplado a espectrometría de masas, método que permiten la identificación de sustancias complejas como es el caso de los aceites esenciales; y de esta manera, aportar a la base de datos en relación a este tipo de estudios para un futuro uso práctico en el país y en el mundo.

4. M. Ortuño, Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. Ediciones AIYANA, Primera Edición (2006).

2.2 Justificación

La provincia de Loja posee una gran variedad de plantas aromáticas, que han tomado un rumbo de vital importancia a nivel industrial por los principios activos de las mismas y por sus propiedades curativas en la medicina natural; razón por la cual se ha incrementado el interés en la composición química de los aceites esenciales de gran variedad de sus plantas.

Es por esto que el área de Aceites Esenciales del Instituto de Química Aplicada de la Universidad Técnica Particular de Loja, en la actualidad se encuentra investigando la composición química y propiedades físicas de los aceites esenciales de la flora aromática del sur del Ecuador. Y como parte de este proyecto se requiere el aporte de un estudio sobre la composición química, propiedades físicas, y rendimientos de los aceites esenciales de *Scutellaria volubilis*, *Hyptis suaveolens*, *Hyptis pectinata* y *Lepechinia paniculata*, como la ubicación de éstas especies en la provincia de Loja; además de considerar que la U.T.P.L es una de las dos instituciones que a nivel nacional cuenta con un Cromatógrafo de Gases acoplado a espectrometría de masas, equipo necesario para la identificación de la composición química de los aceites esenciales, por ello es conveniente su aprovechamiento, en la investigación de nuevas especies que den lugar a la posibilidad y aplicabilidad de los beneficios de estas, en el emprendimiento de los diferentes campos de la industria, ya sea farmacéutica, alimentaria y perfumero-cosmética en la provincia de Loja.

2.3 Antecedentes

Todo estudio referido a plantas aromáticas y sus aplicaciones industriales, requieren un estricto análisis de la variabilidad intraespecífica del material vegetal. Es sabido que la heredabilidad de una especie aromática es mucho mayor a la de cualquier otra planta de aplicación industrial, lo que indica una muy superior incidencia de la variación genética de la especie, en relación a su variación por factores exógenos. Esto es consecuencia de la complejidad biosintética que participa en la formación y proporcionalidad de los compuestos volátiles en la planta. Generalmente son numerosos los genes que gobiernan estas relaciones, y por ende en una especie taxonómicamente unívoca la probabilidad de que surjan variedades químicas o quimiotipos es muy alta. Si bien esto es una complicación a la hora de definir un material genético para manejar a nivel industrial, resulta una notoria ventaja como mecanismo de diversidad genotípica. Y por esto, que a pesar de los numerosos trabajos existentes sobre la composición química de las fracciones volátiles de especies aromáticas, queda mucho por investigar sobre la potencialidad que cada especie puede aportar⁵.

Existen varios estudios realizados los cuales han sido publicados por medio de la revista: *Flavour and Fragrance Journal* acerca de la composición química del aceite esencial de *Hyptis suaveolens*, de los cuales citamos a continuación algunos de ellos:

Los aceites esenciales de las hojas de *Hyptis suaveolens*, recolectadas en dos lugares diferentes de Nigeria fueron aislados por hidrodestilación, los mismos fueron analizados por CG-EM; el aceite analizado en la Universidad del Estado de Lagos (U.E.L) determina como componentes mayoritarios: α -pineno (13,6%), sabineno (13,2%), p-cimeno (11,7%), terpinen-4-ol (9,8%) y terpinoleno (6,3%); mientras que el sabineno (30,0 %), terpinen-4-ol (11,4%), terpinoleno (5,6%), 1,8-cineol (5,2%), β -pineno (4,4%) y terpineno (4,2%) son los constituyentes mayoritarios del aceite esencial que fueron identificados en la Universidad de

5. P. Jørgensen and S. León-Yañez, Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador. Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, 1999.

Obafemi Awolowo (UOA); los principales sesquiterpenos en ambos aceites estuvieron representados por β -cariofileno (5.1-5.9%) y trans α -bergamoteno (1.6-5.2%)⁸.

Las flores silvestres de *Hyptis suaveolens* de 15 poblaciones de El Salvador se hidrodestilaron para obtener su aceite y ser analizado por CG-EM obteniendo los siguientes resultados: en la zona sur un fenchone-fenchol-quimiotipo fue predominante, mientras que en las regiones del norte la mayoría de las plantas acumularon principalmente 1,8-cineol, los aceites esenciales de dos sitios de recolección del sureste reveló altos rendimientos de α -terpinoleno y sabineno. Algunas poblaciones, sin embargo, puso de manifiesto la inestabilidad de las composiciones, lo que indica que el polimorfismo químico intrapoblacional se produce en el aceite esencial de la especie de *Hyptis suaveolens* en El Salvador⁹.

Otros datos obtenidos de la revista: Journal of Essential Oil Bearing Plants, en un estudio realizado en la Habana – Cuba se identificó al óxido de cariofileno como componente principal del aceite esencial de la hoja de *Hyptis suaveolens*¹⁰. Mientras que en otra investigación de la localidad de Mérida-Venezuela el aceite esencial de las partes aéreas de *Hyptis suaveolens* fue analizado por CG-FID y CG-EM; cuyos componentes mayoritarios fueron 1,8-cineol (29,1%), fenchona (15,2%) y β -pineno (7,5%)¹¹.

Un documento publicado en la revista: Journal of Essential Oil Research acerca del aceite esencial de *Hyptis suaveolens* muestran estudios realizados de las hojas frescas de la especie silvestre, este estudio informa de la composición química del aceite de *Hyptis suaveolens* obtenido en Kitunda-Tanzania el cual fue analizado

-
8. A. Eshilokun, A. Kasali y A. Giwa-Ajeniya, Chemical composition of essential oils of two *Hyptis suaveolens* (L.) Poit leaves from Nigeria, Flavour and Fragrance Journal, 20(5): 528-530 (2005).
 9. P. Grassi, M. J. Nuñez, K. Varmuza y C. Franz, Chemical Polymorphism Of Essential Oils Of *Hyptis Suaveolens* From El Salvador, Flavour and Fragrance Journal, 20 (2): 131-135 (2005).
 10. J. A. Pino, R. Marbot, A. Payo, D. Chao, P. Herrera y M. P. Marti, Leaf Oil of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. from Cuba, Journal Of Essential Oil Bearing Plants, 6(2), Agosto (2003).
 11. R. Rivas, D. Valera, J. L. Avila, L. Aubert, M. E. Amelot, L. B. Rojas, y A. Usubillaga, The essential oil of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. and its insect deterrent properties, Journal Of Essential Oil Bearing Plants, 5(3), Diciembre (2002).

mediante CG-EM determinando como resultado veinticuatro compuestos que representan el 90,3% del aceite, los principales componentes son: β -cariofileno (26.0%), β -elemeno (10.4%), trans- α -bergamoteno (7.7%), espatulenol (7.0%) y biciclogermacreno (6.5%)¹².

En la revista: Journal of Medical Entomology encontramos un estudio realizado en Guinea-Bissau, de varias especies de la familia lamiaceae en la cual se detalla la especie de nuestro interés *Hyptis suaveolens*, obteniendo su aceite por destilación a vapor de agua, en el cual figuran como componentes principales el β -cariofileno (42.4%), bergamoteno (14.6%), y terpinoleno (8.1%)¹³.

Según datos obtenidos de la revista: Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy & Phytopharmacology articles, la planta *Hyptis pectinata* popularmente conocida en Brasil como "sambacaita" o "canudinho" cuyo aceite esencial de las hojas secas de seis genotipos fue obtenido por hidrodestilación y analizados por CG-EM determinando la composición para cada genotipo, obteniendo como compuestos mayoritarios los sesquiterpenos hidrocarbonados y los sesquiterpenos oxigenados para todos los genotipos (aunque varían en porcentaje), excepto el genotipo 3 que tiene como compuestos mayoritarios sesquiterpenos oxigenados y calamusenon¹⁴.

En datos publicados en la revista: Flavour and Fragrance Journal podemos encontrar estudios comparativos del aceite esencial de las especies *Hyptis suaveolens* e *Hyptis pectinata* realizado en Camerún - África Central, en el cual se analizaron sus composiciones por CG-EM, el aceite de *Hyptis suaveolens* era rica en sabineno (20,6%), β -cariofileno (17,5%) y bergamotol (10,9%), mientras que el aceite de *Hyptis pectinata* contenía germacreno D (28,0%) y β -cariofileno (22,1%) como los principales componentes¹⁵. En otro estudio publicado en la

-
12. R. S. Malele, C. K. Mutayabarwa, J. W. Mwangi, G. N. Thoithi, *Et al* Essential oil of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. from Tanzania: Composition and antifungal activity, Journal of Essential Oil Research, Nov/Dec 2003.
 13. T. G. T. Jaenson, K. Palsson, A. K. Borg-Karlson, Evaluation of Extracts and Oils of Mosquito (Diptera: Culicidae) Repellent Plants from Sweden and Guinea-Bissau, Journal of Medical Entomology 43(1):113-119 (2006).
 14. M.F. Arrigoni-Blank, A.R. Antonioli, L.C. Caetano, D.A. Campos, A.F. Blank, P.B. Alves, Antinociceptive Activity Of The Volatile Oils Of *Hyptis pectinata* L. Poit. Genotypes, Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy & Phytopharmacology articles, May (2008).

misma revista: en la cual se determina la composición química de los aceites esenciales de *Hyptis suaveolens* e *Hyptis pectinata* obteniendo su aceite de las hojas y flores secas, se hidrodestilan y analizan por CG-EM, los principales constituyentes de los aceites esenciales fueron óxido de cariofileno (32.7 %), epóxido de humuleno (9.3 %) para *Hyptis pectinata*; mientras que el sabineno (28,0%) y β -cariofileno (25,8%) fueron mencionados como los principales componentes del aceite esencial de *Hyptis suaveolens*¹⁶.

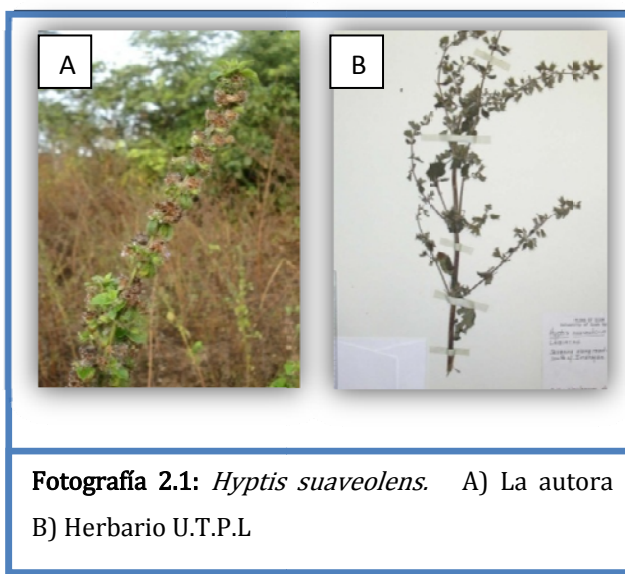
No se encontraron estudios referentes a las especies *Scutellaria volubilis* y *Lepechinia paniculata*

Las muestras de cada especie fueron recolectadas en distintos puntos geográficos de la provincia de Loja, realizaremos una breve recopilación de datos referentes a cada especie en estudio para la presente investigación.

***Hyptis suaveolens*.-**

Clasificación botánica:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Asteridae
Orden: Lamiales
Familia: Lamiaceae
Género: *Hyptis*
Especie: *suaveolens*



Fotografía 2.1: *Hyptis suaveolens*. A) La autora
B) Herbario U.T.P.L

Nombre científico: *Hyptis suaveolens* Kunth.

-
15. F. Tchoumboungang, P. H. Amvam, F. Fekam, M. A. Nyegue, J. M. Bessièrre y C. Menut, Aromatic plants of tropical Central Africa. XLVIII. Comparative study of the essential oils of four *Hyptis* species from Cameroon: *H. lanceolata* Poit., *H. pectinata* (L.) Poit., *H. spicigera* Lam. and *H. suaveolens* Poit, Flavour and Fragrance Journal, 20 (3): 340-343 (2005).
 16. K. Koba, C. Raynaud, J. Millet, J.-P. Chaumont, K. Sanda, Chemical Composition of *Hyptis pectinata* L., *H. lanceolata* Poit, *H. suaveolens* (L) Poit and *H. spicigera* Lam. Essential Oils from Togo, Journal Of Essential Oil Bearing Plants, 10(5), Septiembre (2007).
 1. L. de la Torre, H. Navarrete, P. Muriel M., M.J. Macía y H. Balslev. Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador. Herbario QCA de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador y Herbario AAU del Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad de Aarhus. 2008.

Nombres comunes: chao, hierba de las muelas, hortela de campo¹.

Sinónimos: *Balota suaveolens* L., *Bystropogon suaveolens* (L.) L'Hér, *Hyptis congesta* Leonard, *Mesosphaerum suaveolens* (L.) Kuntze, *Schaueria suaveolens* (L.) Hassk¹⁵.

Estado: introducida y cultivada⁵.

Parte usada: parte aérea.

Descripción botánica: fuerte olor a hierba y 1,5 m de altura, con tallo peludo y cuadrado; las hojas son ovadas; florece en pequeñas cimas a lo largo de la rama y termina con la reducción de las hojas, las flores son de color blancas, azulosas o púrpuras; las semillas son aplanadas, ovals¹⁸.

Hábitat: se favorece en lugares secos y abiertos, a una altura entre 150 y 300m, también se la encuentra como maleza en los bordes de las carreteras¹⁶.

Usos: los habitantes precolombinos del sur de México la utilizaron como alimento¹⁹.

Ubicación: además de la provincia de Loja, en el Ecuador se la puede encontrar en el Oro y Guayas, en los siguientes puntos geográficos donde ha sido recolectada, en los cuales se indica la elevación, las coordenadas, año de recolección y recolector: Guayas: 70 – 205 m, 02°21'00"S 080°30'00"W, 19 Marzo 1973, L.B. Holm-Nielsen

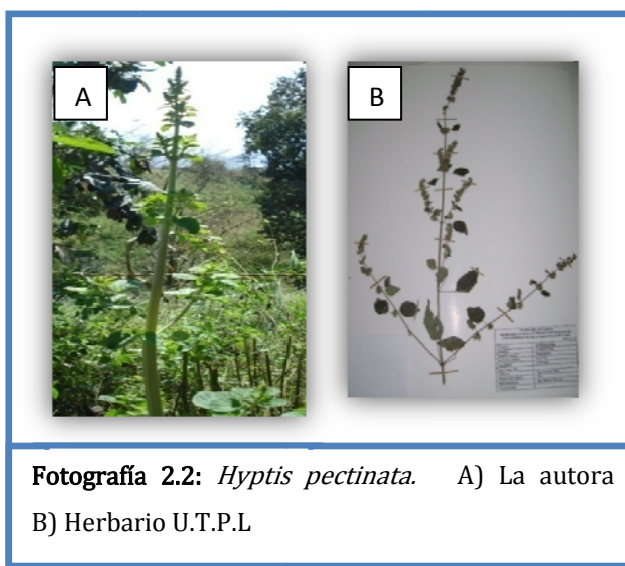
-
5. P. Jørgensen and S. León-Yañez, Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador. Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, 1999.
 15. F. Tchoumboungang, P. H. Amvam, F. Fekam, M. A. Nyegue, J. M. Bessièrè y C. Menut, Aromatic plants of tropical Central Africa. XLVIII. Comparative study of the essential oils of four *Hyptis* species from Cameroon: *H. lanceolata* Poit., *H.*
 16. K. Koba, C. Raynaud, J. Millet, J.-P. Chaumont, K. Sanda, Chemical Composition of *Hyptis pectinata* L., *H. lanceolata* Poit., *H. suaveolens* (L) Poit and *H. spicigera* Lam. Essential Oils from Togo, Journal Of Essential Oil Bearing Plants, 10(5), Septiembre (2007).
 18. B. Stone, The flora of Guam. Micronesica 6:1-659 (1970). R. Montúfar & N. Pi
 19. R. Ayerza, y W. Coates, Nuevos cultivos industriales: Proyecto Regional del Noroeste de Argentina, Progreso en nuevos cultivo, 45-51 (1996).

et al, 50 m, 02°45'00"S, 080°28'00"W, 28 Mar 1973, L.B. Holm-Nielsen et al; El Oro: 700 - 900 m, 04 Mayo de 1974, G. Harling & L. Andersson²⁰.

Hyptis pectinata

Clasificación botánica:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Asteridae
Orden: Lamiales
Familia: Lamiaceae
Género: *Hyptis*
Especie: *pectinata*



Fotografía 2.2: *Hyptis pectinata*. A) La autora
B) Herbario U.T.P.L

Nombre científico: *Hyptis pectinata* (L.) Poit.

Nombres comunes: Kawallu kiwa, eishu, caballo kiwa, azucena, caballo, corta sangre matapasto, pedorrera de campo, poleo tipo de costa, pumín¹; en el Brasil es conocida como sambacaita o canudinho¹⁴.

Sinónimos: *Bystropogon pectinatum* (L.) L'Hér., *Mesosphaerum pectinatum* (L.) Kuntze, *Nepeta pectinata* L.¹⁷.

Estado: nativa de Galápagos, la Costa, los Andes y la Amazonia⁵.

Parte utilizada: parte aérea.

-
5. P. Jørgensen and S. León-Yañez, Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador. Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, 1999. M.F. Arrigoni-Blank, A.R. Antonioli, L.C. Caetano, D.A. Campos, A.F. Blank, P.B. Alves, Antinociceptive Activity Of The Volatile Oils Of *Hyptis pectinata* L. Poit. Genotypes, Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy & Phytopharmacology articles, May (2008).
 14. M.F. Arrigoni-Blank, A.R. Antonioli, L.C. Caetano, D.A. Campos, A.F. Blank, P.B. Alves, Antinociceptive Activity Of The Volatile Oils Of *Hyptis pectinata* L. Poit. Genotypes, Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy & Phytopharmacology articles, May (2008).
 17. R. Montúfar & N. Pitman, 2004. In IUCN 2008. 2008 IUCN Red List of Threatened Species.
 20. Missouri Botanical Garden in: <http://mobot.mobot.org/W3T/Search/vast.html>.

Descripción botánica: es una planta herbácea, con hojas aromáticas, y pequeñas flores bilabiadas⁶.

Usos: Materiales: las semillas quemadas sirven para aromatizar las habitaciones. Social: las ramas, junto con aguardiente se frotran en el cuerpo para curar el mal aire. Medicinal: la infusión se usa para tratar el cólico menstrual y la diarrea; las hojas en infusión, se usan para tratar la tos; las flores en infusión se usan para aliviar el dolor de estómago; las hojas se usan para detener las hemorragias nasales; en infusión se usan para tratar afecciones renales; se usa para tratar heridas; se usa para tratar los dolores reumáticos¹.

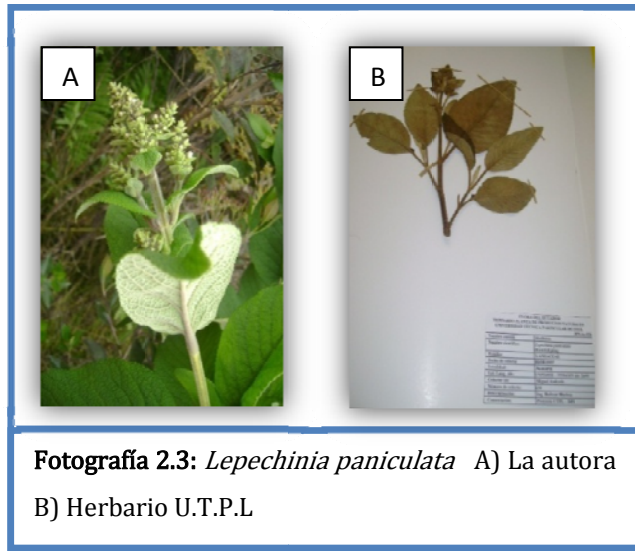
Ubicación: además de la provincia de Loja, en el Ecuador se la puede encontrar en los siguientes puntos geográficos: Bolívar: 1800 - 1850 m, 01°55'00"S 079°05'00"W, 06 de Septiembre de 1987, Vlastimil Zak & Jaime Jaramillo; 500 m, 02°11'00"S 079°07'00"W, 05-06 de Julio de 1979, B. Løjtnant & U. Molau; Guayas: 20 - 150 m, 02°00'00"S 079°58'00"W, 14 de Julio de 1986, Al Gentry & C. Dodson, 0 m, 2°44'00"S 079°55'00"W, 01 de Julio de 1987, Madsen; Guayas - Naranjal, 340 - 370 m, 02°24'00"S 079°36'00"W, 17 de Agosto de 1992, Carlos E. Cerón; Imbabura: 900 - 1100 m, 00°43'00"N 078°13'00"W, 22 de Febrero de 1984, Adrian Juncosa; Los Ríos - Vinces: 70 m, 01°16'00"S 079°42'00"W Dodson et al.; Morona Santiago: 900 - 1000 m, 03°37'00"S 078°34'00"W, 26-27 de Abril de 1973, L.B. Holm-Nielsen et al.; Morona Santiago: 900 - 1000 m, 03°37'00"S 078°34'00"W, 26-27 de Abril de 1973, L.B. Holm-Nielsen et al.; 875 m, 01°40'12"S 078°01'52"W, 26 de Agosto del 2002, Thomas B. Croat & Lynn Hannon; Napo, 450 m, 01°01'00"S 077°30'00"W, 30 de Junio de 1986, James S. Miller & W. Wilbert & S.F.S. Med. Bot. Class; Napo: 440 m, 01°00'00"S 077°40'00"W, 4-10-12/1990, Eduardo Kohn; Pichincha: 650-700 m 00°05'00"N 079°02'00"W, 25 de Septiembre de 1986, M. Rios et al.; Tungurahua: 2400 - 2900 m, 04 de Julio de 1945, Acosta-Solís²⁰.

-
1. L. de la Torre, H. Navarrete, P. Muriel M., M.J. Macía y H. Balslev. Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador. Herbario QCA de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador y Herbario AAU del Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad de Aarhus. 2008.
 6. P. Santos, Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Hyptis pectinata* (L.) Poit, Química Nova Journal, Vol.31, n.7, pp. 1648-1652 (2008).
 19. Missouri Botanical Garden in: <http://mobot.mobot.org/W3T/Search/vast.html>.

Lepechinia paniculata,

Clasificación botánica:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Asteridae
Orden: Lamiales
Familia: Lamiaceae
Género: *Lepechinia*
Especie: *paniculata*



Fotografía 2.3: *Lepechinia paniculata* A) La autora
B) Herbario U.T.P.L

Nombre Científico: *Lepechinia paniculata* (Kunth) Epling

Nombres comunes: llanllun, azul yanllun¹.

Sinónimos: *Alguelagum paniculatum* (Kunth) Kuntze, *Sideritis paniculata* Kunth, *Sphacele paniculata* (Kunth) Benth¹.

Estado: nativa, endémica de Ecuador⁵.

Parte utilizada: parte aérea.

Descripción botánica: arbustos o pequeños árboles. Hojas sagitadas o deltoides, aserruladas, frecuentemente ampollado-rugosas, envés velutino. Flores pequeñas en densos verticilos reunidos en panículas axilares²².

Usos: Social: los brotes se atan en la frente para curar el mal aire, Medicinal: las yemas se usan atadas a la cabeza para tratar el dolor de cabeza, la flor se usa para tratar afecciones de los nervios¹.

-
1. L. de la Torre, H. Navarrete, P. Muriel M., M.J. Macía y H. Balslev. Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador. Herbario QCA de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador y Herbario AAU del Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad de Aarhus. 2008.
 5. P. Jørgensen and S. León-Yañez, Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador. Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, 1999.
 22. C. Epling, A synopsis of the tribe Lepechinieae (Labiatae). Brittonia 6: 352-364 (1948).

Ubicación: además de la provincia de Loja, en el Ecuador la encontramos en los siguientes puntos geográficos: Azuay: 2250 m 03°27'00"S 079°09'00"W 04, Mayo 1973, L.B. Holm-Nielsen et al.; 2850 m, 03°25'00"S 079°10'00"W, 6 de Abril de 1997, G.P. Lewis & B.B. Klitgaard; Cotopaxi: 2000-2300 m, 14 de Mayo de 1980, G. Harling & L. Andersson; Pichincha: 2850 m, 00°12'00"S 078°28'00"W, 5 de Marzo de 1980, L. B. Holm-Nielsen; 2300 m, 00°03'00"N 078°29'00"W, 05 de Abril de 1979, L.B. Holm-Nielsen et al²⁰.

Scutellaria volubilis

Clasificación botánica

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

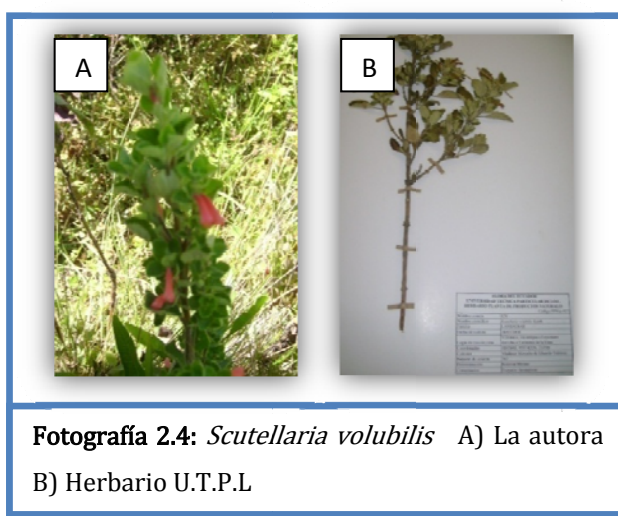
Subclase: Asteridae

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Género: *Scutellaria*

Especie: *volubilis*



Fotografía 2.4: *Scutellaria volubilis* A) La autora
B) Herbario U.T.P.L

Nombre científico: *Scutellaria volubilis* (Kunth)

Sinónimos, *Scutellaria cumanensis* Kunth, *Perilomia cumanensis* (Kunth) Briq, *Perilomia volubilis* (Kunth) Briq, *Perilomia briquetania* Mansf, *Perilomia palamblaënsis* Mansf¹⁷.

Parte utilizada: parte aérea.

Estado: nativa, los Andes⁵.

Descripción botánica: Hierbas, raramente arbustos. Flores solitarias axilares a brácteas. Flores con cáliz sacciforme, comprimido, bilabiado, el labio superior generalmente con una placa transversal plana y escutiforme; corola roja²³.

5. P. Jørgensen and S. León-Yañez, Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador. Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, 1999.

17. R. Montúfar & N. Pitman, 2004. In IUCN 2008. 2008 IUCN Red List of Threatened Species.

20. Missouri Botanical Garden in: <http://mobot.mobot.org/W3T/Search/vast.html>

23. C. Epling, The American species of *Scutellaria*. Univ. Calif. Publ. Bot. 20: 1-146 (1942).

Usos: Medicinales: Se usa para tratar afecciones indeterminadas¹.

Ubicación: además de la provincia de Loja, en el Ecuador la podemos encontrar en los siguientes puntos geográficos: Azuay: 2250 m, 03°27'00"S 079°09'00"W, 04 de Mayo de 1973, L.B. Holm-Nielsen, S. Jeppesen, B. Løjtnant & B. Øllgaard; 2850 m, 03°25'00"S 079°10'00"W, 6 de Abril de 1997, G.P. Lewis & B.B. Klitgaard²⁰.

-
1. L. de la Torre, H. Navarrete, P. Muriel M., M.J. Macía y H. Balslev. Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador. Herbario QCA de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador y Herbario AAU del Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad de Aarhus. 2008.
 20. Missouri Botanical Garden in: <http://mobot.mobot.org/W3T/Search/vast.html>.

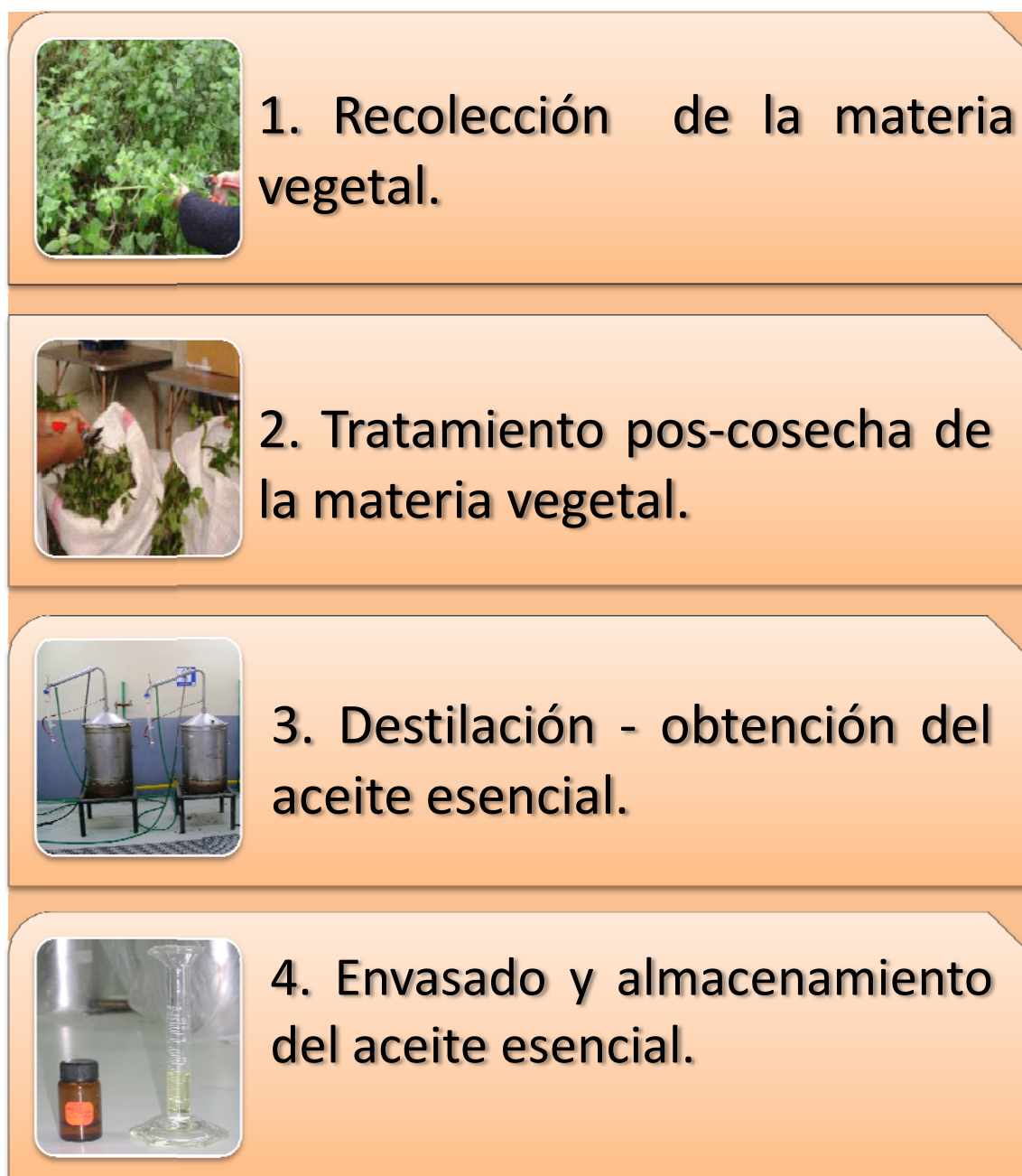
CAPÍTULO III.
MATERIALES Y MÉTODOS

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Recolección y obtención del aceite esencial de las diferentes especies

Para la presente investigación se ha desarrollado la siguiente metodología de trabajo, la cual indicaremos mediante la siguiente figura:

Figura 3.1: Metodología para la obtención de los aceites esenciales de cada especie



Elaboración: La autora

3.1.1 Recolección de la materia vegetal

La recolección de materia vegetal de cada especie se realizó en distintas zonas de la provincia de Loja, previa identificación en el Herbario de la U.T.P.L; una vez recolectadas las diferentes especies se transportaron hasta el Instituto de Química Aplicada para continuar con el proceso de destilación.

La recolección de las especies se realizó en los siguientes puntos geográficos:

La especie *Scutellaria volubilis* fue recolectada en el cerro Villonaco perteneciente al cantón Loja, la cual se encontró a una altitud de 2307 msnm, en las coordenadas 689499E – 9557598N.

La especie *Hyptis pectinata* fue recolectada en Pindal vía Panamericana a San José, a 5 minutos de la zona céntrica, se encontró a una altitud de 790msnm; y, en las coordenadas 588591E – 9545454N, el lugar presentaba un clima cálido; especie que es considerada como maleza para los cultivos.

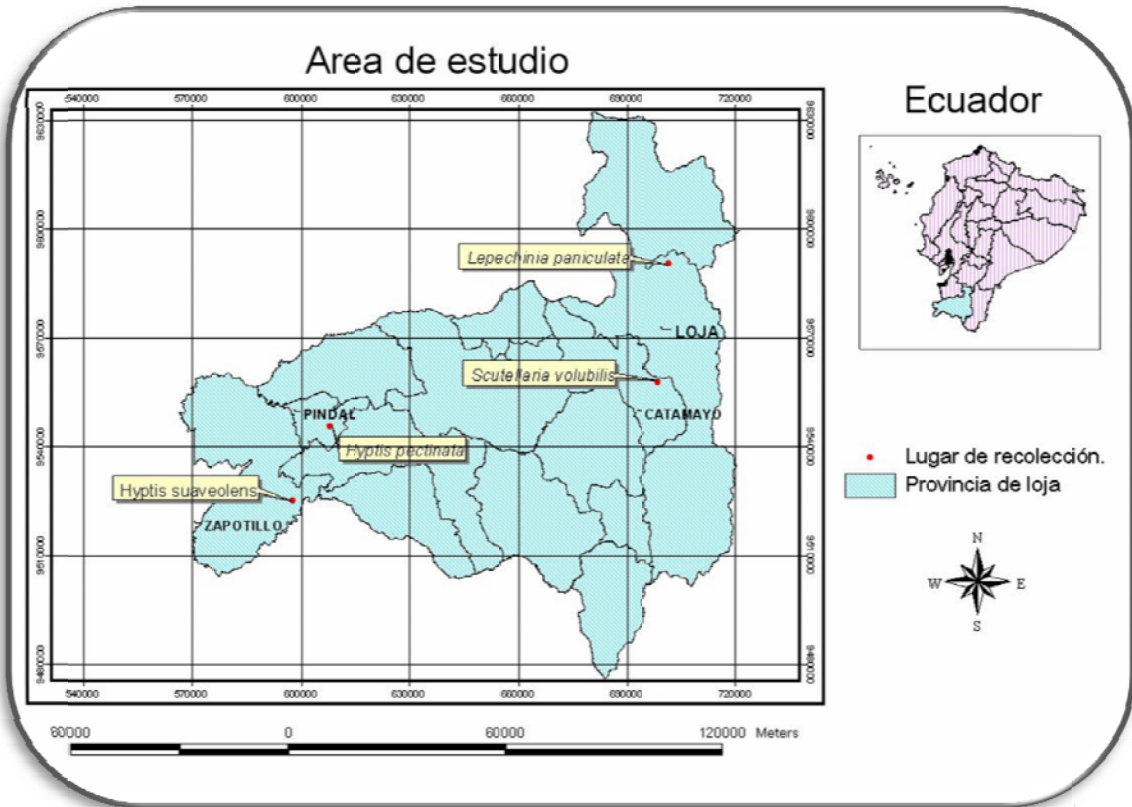
La especie *Hyptis suaveolens* se la pudo encontrar con facilidad en los alrededores de la carretera del barrio La Ceiba, 15 minutos antes de llegar al cantón Zapotillo, es abundante por el sector; e, igualmente es catalogada como maleza para los cultivos, y se la encuentra a una altitud de 249msnm con las siguientes coordenadas 588457E – 9524933N.

La especie *Lepechinia paniculata* se la recolectó a unos 30 minutos del barrio la Acacana, en un páramo que esta a una altitud de 2659 msnm, cuyas coordenadas son: 692602E – 9590410N; perteneciente a la parroquia San Lucas del cantón Loja.

Se realizó una primera recolección por cada especie con el objeto de identificar la materia vegetal y el lugar de hábitat, luego se realizó la segunda y tercera recolección; teniendo un total de 12 muestras recolectadas, tres muestras por

especie. En la figura 3.2 podemos observar los puntos donde se realizó la recolección de las especies en estudio.

Figura 3.2: Área de estudio de las especies *Hyptis suaveolens*, *Hyptis pectinata*, *Scutellaria volubilis*, *Lepechinia paniculata*, en la Provincia de Loja



Fuente: Investigación experimental

Elaboración: La autora

3.1.2 Tratamiento pos cosecha de la materia vegetal

Recolectada la especie se realiza una selección minuciosa de la materia vegetal eliminando impurezas, materia deteriorada y manchada. Las partes fibrosas y gruesas de algunos vegetales se cortan en segmentos pequeños para reducir su tamaño y aumentar la superficie de contacto con el vapor, con el fin de obtener un mejor rendimiento en la destilación.

3.1.2.1 Determinación de humedad

Es necesaria determinar la humedad previa a la destilación, según nos indica la farmacognosia de Miranda²⁴ (ver ANEXO I).

Para determinar la humedad utilizamos una lámpara UV, un desecador y una balanza analítica, se realizan tres repeticiones para obtener la humedad promedio de cada destilación. La fórmula a aplicar para el cálculo de la humedad es la siguiente:

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

Donde:

Hm = % de humedad promedio

m = peso de la cápsula vacía (gr).

m₁ = peso de la cápsula + muestra (gr).

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

3.1.3 Destilación – obtención del aceite esencial

Una vez recolectada y seleccionada la materia vegetal transcurren de 24 a 48 horas como máximo para proceder a la destilación, debido a que los lugares de recolección de cada especie se encuentran alejados de la planta de extracción de Instituto de Química Aplicada.

Con este ligero secado las plantas pierden la tercera parte a la mitad de su peso debido a la evaporación de agua, sin pérdida de componentes del aceite esencial⁴.

Los principales métodos para obtener aceites esenciales son los siguientes: enfleurage; extracción con solventes; extracción por prensado; extracción con fluidos supercríticos; hidrodestilación; extracción por arrastre con vapor.

Para la presente investigación se obtuvieron los aceites esenciales mediante la destilación por arrastre de vapor, además de ser una técnica de bajo costo en

24. M. Miranda, Farmacognosia y Productos Naturales, la Habana – Cuba, 2002.

4. M. Ortuño, Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. Ediciones AIYANA, Primera Edición (2006).

comparación a extracciones con solventes orgánicos; es sencilla y asegura que no se recalienta el aceite esencial. Los equipos del laboratorio constan de un fondo falso (placa perforada) sobre la cual se coloca la materia vegetal, y debajo de ésta va el agua que producirá el vapor que circula a través de la materia vegetal, arrastrando los componentes volátiles del aceite esencial, que toma estado gaseoso; en la tapa o cuello de cisne se recolecta el vapor y es enviado hacia un condensador; el vapor es condensado y la mezcla de agua y aceite se separa naturalmente por diferencia de densidades (en el florentino). En la fotografía 3.1 observamos en detalle los componentes del equipo de destilación por arrastre de vapor.

Fotografía 3.1: Destilación: 1. Nivel de agua 2. Rejilla de separación 3. Materia vegetal 4. Destilador montado 5. Recolección del aceite esencial en el florentino.



Elaboración: La autora

Se determinó luego de varios ensayos que el tiempo más adecuado para la destilación de cada especie es de aproximadamente tres horas, a partir de este tiempo la cantidad de aceite esencial que se obtiene es inapreciable. Para cada destilación pesamos la materia vegetal seleccionada a ser cargada en el destilador y con el volumen obtenido una vez culminada la destilación se determina el porcentaje de rendimiento de dicha destilación; en una relación peso – volumen.

3.1.3.1 Determinación del rendimiento del aceite esencial

Los rendimientos obtenidos en las destilaciones de cada especie (tres destilaciones por especie vegetal) se los determinó con la siguiente fórmula:

—

Donde:

R = rendimiento en %

V = volumen total del aceite esencial obtenido de la destilación (ml)

p = peso total de materia vegetal cargada en el destilador (g)

3.1.4 Envasado y almacenamiento del aceite esencial

Terminada la destilación se recoge en probetas el aceite esencial de la especie; envasamos el aceite esencial en frascos de ámbar debido a que éstos son fotosensibles; y los mantenemos refrigerados a -4°C para evitar la degradación del mismo; etiquetamos el frasco con una codificación que identifique la especie destilada, la fecha de destilación y el volumen total obtenido de la destilación.

Fotografía 3.2: Envasado del aceite esencial



Elaboración: La autora

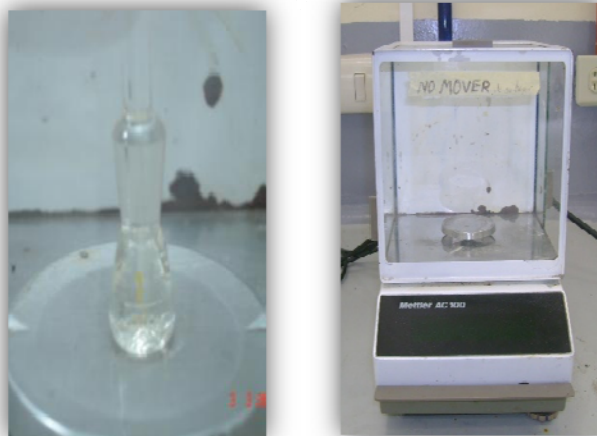
3.2 Determinación de las propiedades físicas de los aceites esenciales

3.2.1 Densidad relativa

La densidad de los aceites esenciales se determina según la norma ANFOR NF T75 – 111 (ver ANEXO II)³⁵, para lo cual se utilizó un picnómetro de 1ml, una balanza analítica y un termómetro.

La densidad de un aceite esencial, bien sea la densidad absoluta o relativa del agua, medida a una temperatura estándar (normalmente 20 o 25 °C), se expresa en unidades de masa/volumen generalmente g/cm³. La mayoría de los aceites esenciales tienen una densidad menor que el agua (densidad menor que 1 g/cm³)⁴. Se realiza tres repeticiones para cada especie obteniendo una densidad promedio para cada especie.

Fotografía 3.3: Picnómetro – Balanza Analítica



Elaboración: La autora

3.2.2 Índice de refracción

El índice de refracción de los aceites esenciales se determinó según la norma ANFOR NF 75-112²⁵, (ver ANEXO III); la determinación de esta propiedad se la

35. M. Salas y R. Zaragocín, Extracción, caracterización físico química y determinación de componentes de aceite esencial de frutos de palo santo (*Bursera graveolens*) de tres lugares diferentes de la provincia de Loja: El empalme, La Ceiba y Yaraco, Universidad Técnica Particular de Loja, 2006

4. M. Ortuño, Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. Ediciones AIYANA, Primera Edición (2006).

25. M. Salas y R. Zaragocín, Extracción, caracterización físico química y determinación de componentes de aceite esencial de frutos de palo santo (*Bursera graveolens*) de tres lugares diferentes de la provincia de Loja: El empalme, La Ceiba y Yaraco, Universidad Técnica Particular de Loja, 2006.

realiza en el refractómetro ABBE (fotografía 3.3) al cual lo encontramos en el laboratorio CETTIA – UTPL.

Fotografía 3.4: Refractómetro



Elaboración: La autora

3.2.3 Actividad óptica

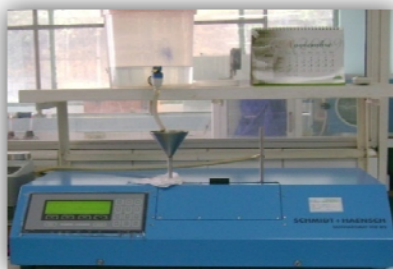
La rotación o actividad óptica de los aceites esenciales se determina según la norma ISO 592-1998(ver ANEXO IV), se utilizó un polarímetro AUTOPOL 880 Automatic Saccharimeter (este equipo lo encontramos en el laboratorio del Ingenio MONTERREY azucarera Loja), con una precisión no menor a de $\pm 0.03^\circ$ y ajustado de 0° a 180° con agua y un termómetro graduado en 0.2°C o 0.1°C permitiendo determinar una temperatura entre 10°C y 30°C ²⁵.

La actividad óptica o poder rotatorio de una sustancia es su capacidad para desviar la luz polarizada. Se mide en grados y es una magnitud específica de cada aceite esencial⁴.

4. M. Ortuño, Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. Ediciones AIYANA, Primera Edición (2006).

25. M. Salas y R. Zaragocín, Extracción, caracterización físico química y determinación de componentes de aceite esencial de frutos de palo santo (*Bursera graveolens*) de tres lugares diferentes de la provincia de Loja: El empalme, La Ceiba y Yaraco, Universidad Técnica Particular de Loja, 2006.

Fotografía 3.5: Polarímetro AUTOPOL 880 Automatic Saccharimeter.



Elaboración: La autora

Para la lectura de la actividad óptica de los aceites esenciales se prepara 1ml de aceite esencial en 25ml de acetato de etilo.

$$c = 1/25 = 0.04 \text{ g/ml}$$

c = concentración de la muestra g/ml

Con el valor de la actividad óptica leída aplicamos la siguiente fórmula para determinar la actividad óptica calculada:

α = actividad óptica calculada

α_L = actividad óptica leída

l = dimensión del tubo (dm) = 2

α_s = actividad óptica del solvente 0°Z

c = concentración de la muestra

3.3 Identificación de la composición química del aceite esencial de cada especie vegetal

La identificación que se realizó mediante una cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas CG-EM, en el cual se obtienen datos cualitativos y cuantitativos; para confirmar estos datos se realiza una cromatografía de gases acoplada a un detector de Ionización de llama CG-FID, obteniendo resultados

cuantitativos; esto se realiza en dos columnas capilares DB-5MS ((5%-Fenil)-metilpolisiloxano) y HP-INNOWAX (Polietilen Glicol).

Se utilizó un cromatógrafo de gases Agilent serie 6890N (véase fotografía 3.6), acoplada a un espectrómetro de masas Agilent serie 5973 inert, dotado con un sistema de datos MSD-Chemstation D.01.00 SP1, cuenta con un inyector automático split/splitless serie 7683, y acoplado a un detector de ionización de llama.

Fotografía 3.6: Cromatógrafo de gases Agilent 6890N



Elaboración: La autora

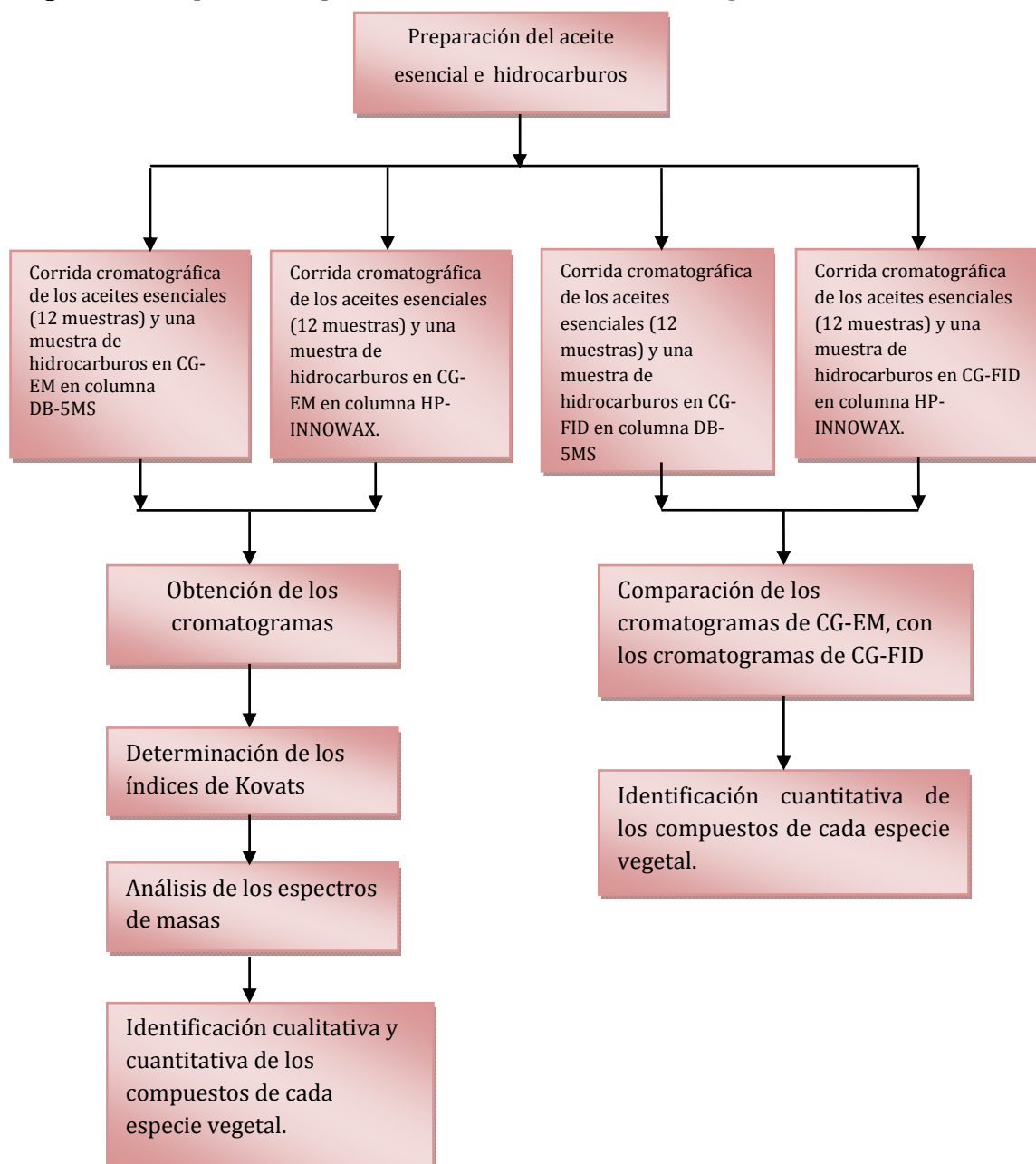
Las características de las columnas capilares con las que se trabajó en el cromatógrafo de gases para la identificación de los compuestos son las siguientes:

Tabla 3.1: Características de las columnas capilares

Columna	Longitud (m)	Diámetro interno DI (mm)	Película (μm)	Temperatura límite ($^{\circ}\text{C}$)
DB-5MS	30	0.25	0.25	325
HP-INNOWAX	30	0.25	0.25	260

Seguidamente presentamos un esquema simplificado de la secuencia de las corridas cromatográficas para la obtención de cromatogramas e identificación química de los componentes del aceite esencial de las especies en estudio.

Figura 3.3: Esquema simplificado de las corridas cromatográficas



Elaboración: La autora

3.3.1 Preparación de las muestras

La preparación de los aceites esenciales para las inyecciones de las corridas cromatográficas se realiza en un vial de 10ml, la muestra es diluida al 1% en diclorometano grado HPLC. Para evitar la contaminación de las muestras se utilizan puntas diferentes en la preparación de cada dilución; se etiqueta el vial con el código correspondiente a la muestra.

Fotografía 3.7: Preparación de la muestras en un vial



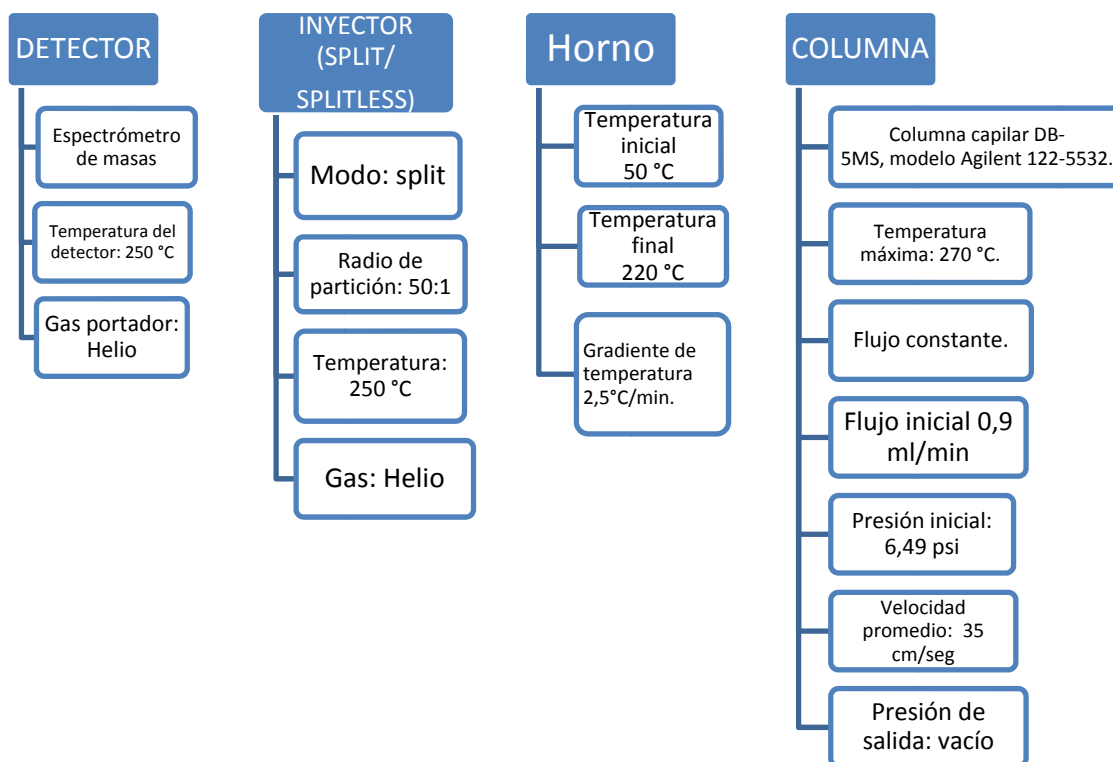
Elaboración: La autora

De igual forma se preparan hidrocarburos del C₁₀ a C₂₅ (conocidas en el mercado como TPH-6RPM de CHEM SERVICE) para inyectar en las columnas DB-5MS y HP-INNOWAX en CG-EM ya que el tiempo de retención de los hidrocarburos nos sirve de base en la determinación de índices de Kovats de cada compuesto.

3.3.2 Corrida cromatográfica de las muestras por CG-EM en la columna capilar DB-5MS

Una vez preparadas las muestras y los hidrocarburos en los viales se procede a la inyección de las mismas en el cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas en la columna DB-5MS, con los siguientes parámetros operacionales:

Figura 3.4: Parámetros de operación en CG-EM para la columna capilar DB-5MS.

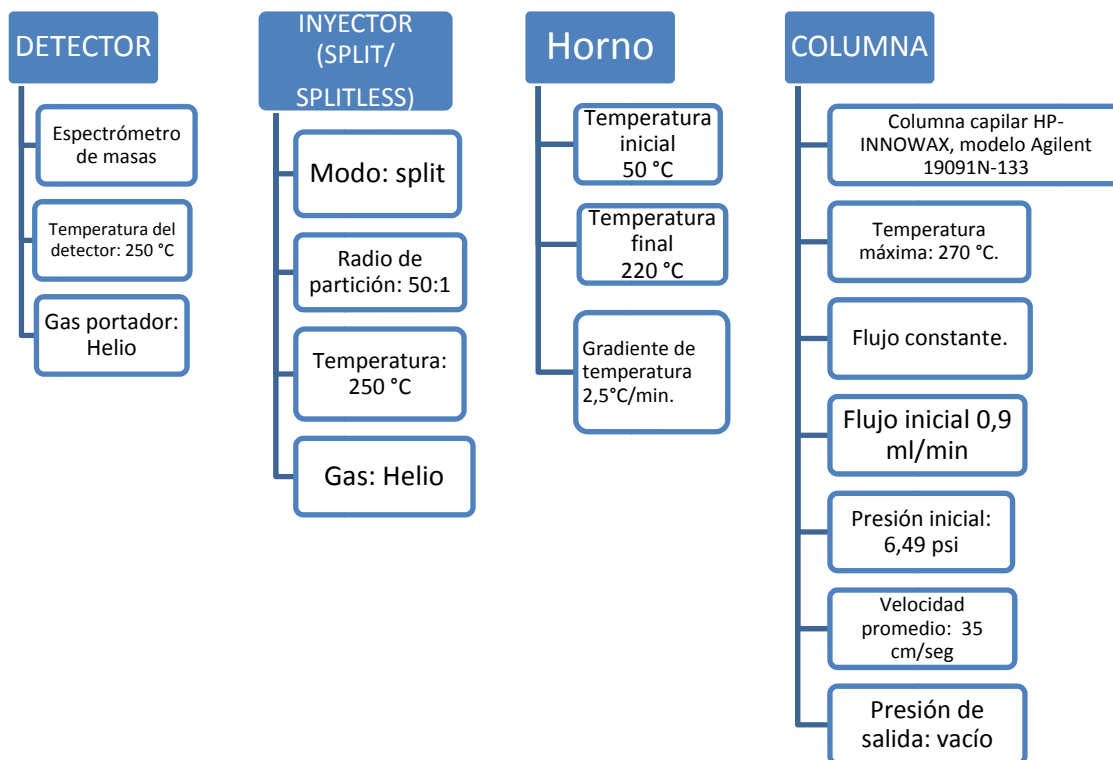


Elaboración: La autora

3.3.3 Corrida cromatográfica de las muestras por CG-EM en la columna capilar HP-INNOWAX

La inyección de las muestras de los aceites esenciales y los hidrocarburos en CG-EM en la columna capilar HP-INNOWAX, se la realiza bajo los siguientes parámetros de operación:

Figura 3.5: Parámetros de operación en CG-EM para la columna capilar HP-INNOWAX.



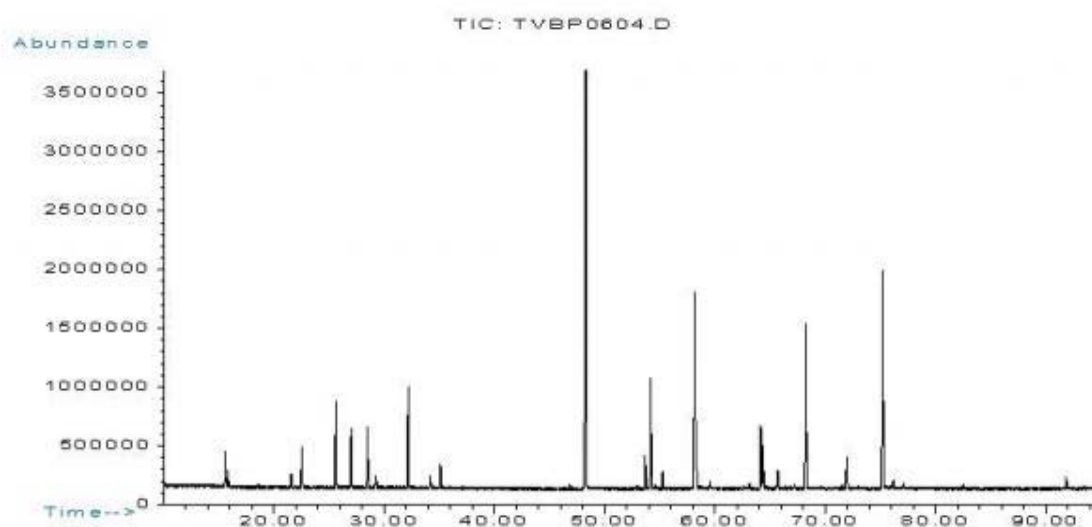
Elaboración: La autora

3.3.4 Obtención de los cromatogramas

Si colocamos un detector al final de la columna que responde a la concentración del soluto y se registra su señal en función del tiempo (o del volumen de fase móvil añadido), se obtiene una serie de picos que representan un gráfico denominado cromatograma. Este gráfico es útil tanto para el análisis cualitativo como cuantitativo. La posición de los picos en el eje del tiempo puede servir para identificar los componentes de la muestra; las áreas bajo los picos proporcionan una medida cuantitativa de la cantidad de cada componente²⁶.

26. D. Skoog, y J. Leary, Análisis Instrumental, Madrid, McGraw-Hill, 1994.

Figura 3.6: Cromatograma



Fuente: D. Skoog, y J. Leary, Análisis Instrumental, Madrid, McGraw-Hill, 1994.

El gráfico resultante de la cromatografía nos indica una serie de picos, cada uno de estos representa una molécula específica, por tanto en cada corrida cromatográfica el equipo nos da un cromatograma específico de la muestra.

3.3.5 Determinación de los índices de Kovats

Para encontrar el índice de Kovats de un determinado compuesto en una fase estacionaria dada, se obtiene el cromatograma de una serie homóloga de hidrocarburos lineales. Con la finalidad de obtener resultados confiables es deseable que los hidrocarburos seleccionados tengan tiempos de retención menores y mayores que el del soluto de interés. De esta forma, en condiciones cromatográficas isoterma, los tiempos de retención crecen en forma logarítmica con el número de carbonos. Por esta razón, para mezclas con un rango amplio de puntos de ebullición, es preferible trabajar en condiciones de temperatura programada. En estas condiciones, los tiempos de retención de una serie homóloga aumentan en forma lineal con el número de carbonos y la ecuación que los relaciona tiene la siguiente expresión:

$$Ik = 100n + 100 * \frac{(t_{Rx} - t_{Rn})}{(t_{RN} - t_{Rn})}$$

Donde

I_k = Índice de Kovats

n = Número de átomos de carbono en el *n*-alcano

t_{Rx} = Tiempo de retención del compuesto estudiado, que eluye en el centro de los *n*-alcanos.

t_{Rn} = Tiempo de retención del *n*-alcano, que eluye antes del compuesto estudiado.

t_{RN} = Tiempo de retención del *n*-alcano, que eluye después del compuesto estudiado.

3.3.6 Identificación de los compuestos en CG-EM en las columnas capilares DB-5MS y HP-INNOWAX

A. Análisis de los espectros de masas

Un espectro es el resultado de la interacción de un compuesto con un tipo de energía. Cada espectro es específico de un compuesto²⁷.

A los espectros obtenidos de cada pico cromatográfico el equipo los compara con la base de datos de la librería WILEY 7n (obteniendo 20 posibilidades), de los cuales se reportan aquellos cuyo grado de coincidencia sea superior al 80%, para luego ser verificados e identificados en la bibliografía con el espectro del compuesto correspondiente.

B. Identificación cualitativa y cuantitativa de los compuestos de cada especie vegetal.

Los datos obtenidos son procesados mediante un sistema computarizado que incluyen un procesamiento posterior (post-run analysis), sofisticado y completo mediante el empleo de un software apropiado; es decir se realiza la integración de los datos de cada cromatograma, para obtener un conjunto de compuestos a identificar.

27. M. Climent, Experimentación en química: Química Orgánica, Ingeniería Química, Universidad Politécnica de Valencia, 2005.

En CG-EM se puede realizar la identificación de los compuestos tanto cuantitativa como cualitativamente. Para el análisis cualitativo la librería WILEY 7n nos da un CAS de cada espectro, es específico para cada compuesto, con el cual realizamos la búsqueda del índice de Kovats leído (en las diferentes bases de datos^{28,29,30,31}) y la diferencia obtenida con el índice de Kovats experimental debe ser menor a 50, para que la identificación del compuesto sea fiable, además a éste análisis se lo realiza para aquellos compuesto cuyo porcentaje de probabilidad sea mayor a 80% y para la confirmación del compuesto identificado se comparan los espectros de masas que nos da el equipo con la bibliografía del espectro identificado.

El porcentaje de área bajo los picos en el cromatograma nos proporciona una medida cuantitativa de cada componente en el aceite esencial. A los compuestos con un porcentaje inferior al 0,05% se los considera trazas.

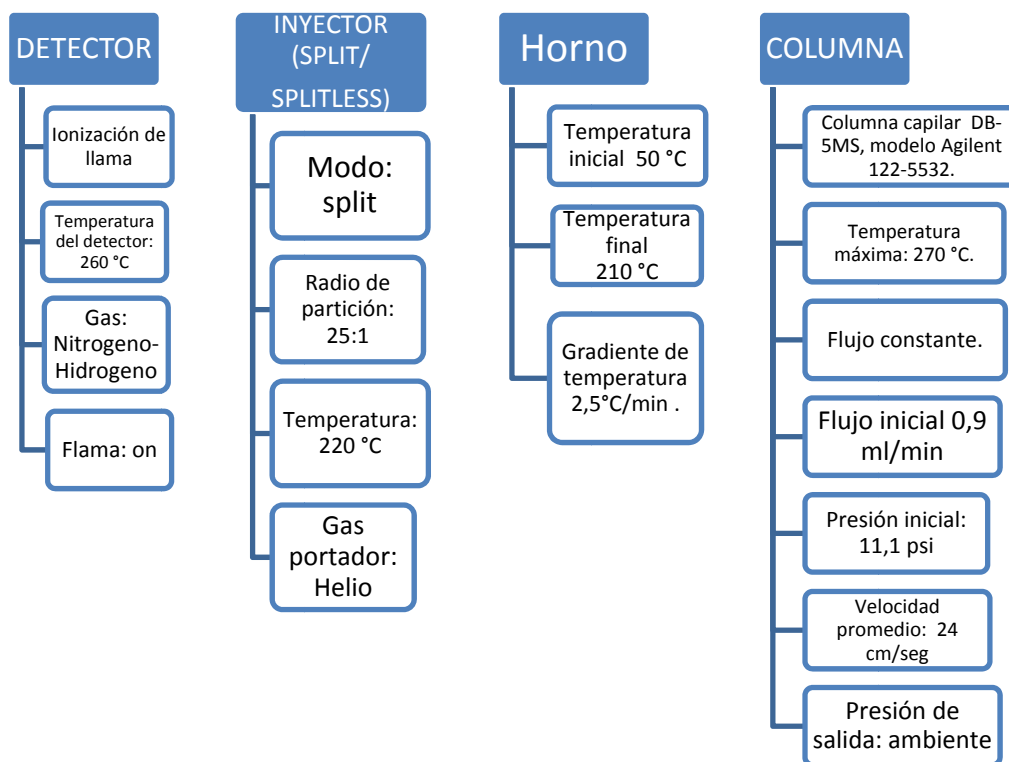
3.3.7 Corrida cromatográfica de las muestras por CG-FID en la columna capilar DB-5MS

Un detector muy utilizado es el detector de ionización de llama FID. En él se mide, registra y amplifica el flujo iónico resultante de la ionización de las moléculas en una llama de hidrógeno (gases de combustión necesarios: hidrógeno y aire comprimido). El FID es un detector de los denominados universales o inespecíficos, especialmente adecuados para medidas cuantitativas. Es un detector dependiente del flujo de masa, es decir, la señal es tanto mayor, cuánta más sustancia se ioniza en la llama en la unidad de tiempo³².

-
28. R. ADAMS, Identification of essential oil components by chromatography/quadrupole mass spectroscopy, Allured Publishing Carol Stream, Illinois, USA.
 29. R. ADAMS, Identification of essential oil components by chromatography/mass spectroscopy, Allured Publishing Carol Stream, Illinois, USA, 1995.
 30. Base de datos Kovats RI disponible en Internet:
<http://www.flavornet.org/flavornet.html>
 31. Base de datos Kovats RI disponible en Internet:
<http://www.pherobase.com/database/kovats/kovats-index.php>
 32. D. Skoog y F. Holler, Principios de Análisis Instrumental, T.A. Nieman. Mc Graw-Hill

Para la corrida de las muestras e hidrocarburos se trabaja con los siguientes parámetros de operación aplicados a la cromatografía de gases acoplado al detector de Ionización de Llama CG-FID en la columna DB-5MS:

Figura 3.7: Parámetros de operación en CG-FID para la columna capilar DB-5MS.

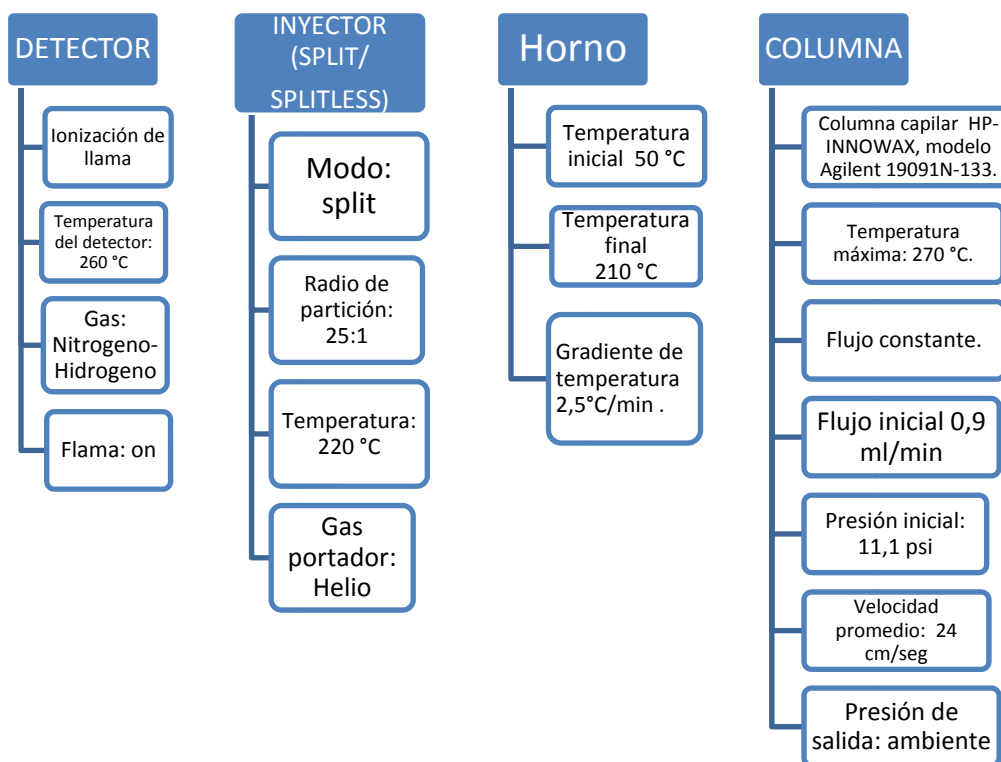


Elaboración: La autora

3.3.8 Corrida cromatográfica de las muestras por CG-FID en la columna capilar HP-INNOWAX

La inyección de las muestras de los aceites esenciales e hidrocarburos en CG-FID en la columna capilar HP-INNOWAX se acopla a los siguientes parámetros de trabajo:

Figura 3.8: Parámetros de operación en CG-FID para la columna capilar HP-INNOWAX.



Elaboración: La autora

3.3.9 Identificación de los compuestos en CG-FID en las columnas capilares DB-5MS y HP-INNOWAX

A. Comparación de los cromatogramas obtenidos en CG-EM con los cromatogramas obtenidos en CG-FID

Obtenidos los cromatogramas en CG-EM, son comparados con los cromatogramas obtenidos en CG-FID, utilizando el tiempo de retención tr de cada uno de los compuestos químicos del aceite esencial identificado en CG-EM.

Los hidrocarburos nos ayudaron como bases de referencia para determinar que no existe una diferencia apreciable entre los tr obtenidos en CG-FID con los tr obtenidos en CG-EM.

C. Identificación cuantitativa de los compuestos en CG-FID de cada especie vegetal

Una vez identificados los compuestos en CG-EM, comparamos que la diferencia del porcentaje de área de cada compuesto en CG-FID sea mínima con respecto a la de CG-EM, corroborando la identificación cuantitativa de la composición química del aceite esencial.

3.3.10 Estudio de reproducibilidad de los tiempos de retención y los índices de Kovats

Se determinó la reproducibilidad de datos a los tiempos de retención e índice de Kovats de algunos compuestos con la finalidad de validar los métodos empleados para la identificación de la composición química de los aceites esenciales, mediante el cálculo de la desviación estándar (σ) y el coeficiente de variación (Cv), utilizando las fórmulas siguientes:

$$\sigma = \sqrt{\frac{n \sum x^2 - \sum [x]^2}{n[n-1]}} \quad cv = \frac{\sigma}{\bar{x}} * 100$$

Donde:

σ = desviación estándar

n = número de mediciones

\bar{x} = valor promedio

x = valor de variable (tiempos de retención e índices de Kovats)

cv = coeficiente de variación

Basándonos en las normas de Buenas Prácticas de Laboratorio nos indica que el coeficiente de variación máximo permitido para la inyección manual es de 2%, lo que se aplicará para los tiempos de retención t_r ; mientras que para verificar la reproducibilidad de los índices de Kovats tenemos en las normas de Buenas Prácticas de Laboratorio³⁶ que la diferencia entre el índice de Kovats calculado y el índice de Kovats leído no debe superar las 50 unidades.

36. Usuary J. P., Good Laboratory Practice Standard, ACS American Chemical Society, 1992.

CAPITULO IV.
ANÁLISIS Y RESULTADOS

IV. RESULTADOS Y ANÁLISIS

4.1 Humedad, rendimiento y propiedades físicas

Los estados fenológicos que presentó la planta al momento de su recolección se muestran a continuación en la tabla 4.1

Tabla 4.1 Estados fenológicos de las plantas.

Nombre de la especie	Código	Estado fenológico
<i>Scutellaria volubilis</i>	SVV1	Foliación
	SVV2	Foliación - Floración
	SVV3	Foliación - Floración
<i>Hyptis suaveolens</i>	HSS1	Floración
	HSS2	Fructificación
	HSS3	Fructificación
<i>Hyptis pectinata</i>	HPC1	Floración
	HPC2	Fructificación
	HPC3	Fructificación
<i>Lepechinia paniculata</i>	LPS1	Floración
	LPS2	Floración
	LPS3	Floración

*Se utilizaron códigos para cada una de las muestras: SVV para la especie *Scutellaria volubilis*, HSC para la especie *Hyptis suaveolens*, HPP para la especie *Hyptis pectinata* y LPS para la especie *Lepechinia paniculata*; y números 1, 2 y 3 para cada recolección.

En la tabla 4.2 se muestran los datos obtenidos de humedad, rendimiento, densidad, índice de refracción y actividad óptica. Debiendo señalar que el aceite esencial de la especie *Lepechinia paniculata* presenta la particularidad de encontrarse en estado semisólido a diferencia de los demás.

Tabla 4.2: Humedad, rendimiento y propiedades físicas

Nombre de la especie	Código*	Hm (%)	R (%)	n_D^{20}	n_D^{20}	α	Esado del aceite esencial
<i>Scutellaria volubilis</i>	SVV1	61,08	0,041	0,892	1,503	-104,25	líquido
	SVV2	51,83	0,021	0,894	1,507	-103,50	líquido
	SVV3	49,03	0,023	0,893	1,502	-99,50	líquido
Promedio		53,98	0,028	0,893	1,504	-102,42	
σ		6,306	0,011	0,001	0,003	2,554	
σ^2		39,767	0,00012	0,00000	0,00001	6,521	
<i>Hyptis suaveolens</i>	HSC1	55,96	0,059	0,897	1,471	6,625	líquido
	HSC2	50,15	0,092	0,896	1,471	5,375	líquido
	HSC3	49,02	0,167	0,892	1,473	5,625	líquido
Promedio		51,71	0,11	0,900	1,470	5,88	
σ		3,724	0,055	0,003	0,001	0,661	
σ^2		13,866	0,00306	0,00001	0,00000	0,438	
<i>Hyptis pectinata</i>	HPP1	58,54	0,027	0,908	1,506	-221,875	líquido
	HPP2	55,54	0,047	0,894	1,506	-225,375	líquido
	HPP3	45,40	0,034	0,893	1,506	-219,250	líquido
Promedio		53,16	0,036	0,898	1,506	-222,167	
σ		6,886	0,010	0,008	0,000	3,073	
σ^2		47,413	0,00010	0,00007	0,00000	9,443	
<i>Lepechinia paniculata</i>	LPS1	63,94	0,077	0,895**	1,493	-90,375	semisólido
	LPS2	63,52	0,078	0,898**	1,497	-92,875	semisólido
	LPS3	63,6	0,090	0,899**	1,497	-90,625	semisólido
Promedio		63,69	0,082	0,897	1,496	-91,292	
σ		0,223	0,007	0,002	0,002	1,377	
σ^2		0,050	0,00005	0,000004	0,00001	1,896	

*Se utilizaron códigos para cada una de las muestras: SVV para la especie *Scutellaria volubilis*, HSC para la especie *Hyptis suaveolens*, HPP para la especie *Hyptis pectinata* y LPS para la especie *Lepechinia paniculata*; y números 1, 2 y 3 para cada recolección.

Hm = humedad relativa de la muestra

R = rendimiento del aceite esencial en porcentaje.

= densidad relativa del aceite esencial a 20°C, referida al agua a 20°C

= índice de refracción del aceite esencial a 20°C

α = actividad óptica calculada a 20°C

**La densidad de la *Lepechinia paniculata* se midió su densidad a 25°C

Fuente: Investigación experimental

Elaboración: La autora

Las humedades determinadas para cada especie se ven afectadas por las condiciones climáticas que prevalecieron el día de la recolección, por lo cual se observa una variación de humedad entre las diferentes cosechas de una misma especie.

Los rendimientos que se obtienen del aceite esencial de una misma especie en las diferentes recolecciones varía debido a las condiciones climáticas y al estado fenológico en que se encuentra la planta el momento de la recolección, lo cual ha sido comprobado en estudios previos a la presente investigación^{33,34}; es por esto que para el caso específico de *Hyptis suaveolens* el rendimiento obtenido del aceite esencial para la primera recolección (0,059%) varía con respecto al obtenido en la segunda (0,092%) y tercera (1,67%) recolección, ya que en estas dos últimas cosechas la especie contenía semillas, las cuales no estuvieron presentes en la primera recolección.

Al aplicar la desviación estándar a las densidades de los aceites esenciales notamos que su variación no es significativa, es decir la desviación estándar en casi nula respecto a su punto central o promedio.

La desviación estándar nos permite observar que la dispersión de los datos respecto a un punto central que en este caso es la media aritmética, que para el caso del índice de refracción la desviación estándar tiende a cero, lo que indica una correcta medición de ésta propiedad.

Para el caso en que se determinó la actividad óptica se tiene una varianza y desviación estándar con datos más significativos, es decir se puede apreciar la dispersión de datos con respecto a su media aritmética, esto se pudo haber dado

33. K. Encarnación, "Determinación de propiedades físico-químicas del aceite esencial de poleo (*Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb) en diferentes estados fenológicos y de tres lugares de la provincia de Loja mediante CG-MS y CG-FID", Universidad Técnica Particular de Loja, 2009.

34. M. Guamán, "Determinación de las propiedades físico-químicas del aceite esencial de esencia de rosas (*Pelargonium graveolens* L'Her), en diferentes estados fenológicos de la especie y provenientes de dos lugares del cantón Loja, Mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas y al detector de Ionización de Llama", Universidad Técnica Particular de Loja, 2008.

por las condiciones del equipo, al cual no se lo pudo adecuar para los parámetros que se especifican en la norma aceites esenciales. Por lo que estos datos solo nos sirven como referencia.

Los aceites esenciales se presentan en estado líquido a temperatura ambiente, atendiendo siempre a las excepciones; encontrando así para la especie *Lepechinia paniculata* la particularidad de que su aceite esencial se solidificó a temperatura ambiente.

4.2 Composición química de los aceites esenciales.

Una vez identificados los compuestos en CG-EM, tanto para la columna DB-5MS y HP-INNOWAX, realizamos la verificación cuantitativa de los compuestos identificados mediante los tiempos de retención obtenidos en CG-FID, que posteriormente se compararon los porcentajes de área obtenidos en CG-EM y CG-FID en las columnas DB-5MS y HP-INNOWAX respectivamente, determinando que no existen diferencias entre los porcentajes de área obtenidos en los dos detectores (en estudios previos en el mismo equipo se llegó a la misma conclusión^{33,34}). Por tal motivo se reporta el porcentaje de área solo en un detector.

4.2.1 Composición química del aceite esencial de la especie *Scutellaria volubilis*.

En la figura 4.1 se presentan los cromatogramas típicos obtenidos en CG-EM las columnas DB-5MS y HP-INNOWAX del aceite de la especie *Scutellaria volubilis*, los números superiores corresponden al número de pico de cada compuesto.

33. K. Encarnación, "Determinación de propiedades físico-químicas del aceite esencial de poleo (*Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb) en diferentes estados fenológicos y de tres lugares de la provincia de Loja mediante gc-ms y gc-fid", Universidad Técnica Particular de Loja, 2009.

34. M. Gumana, "Determinación de las propiedades físico-químicas del aceite esencial de esencia de rosas (*Pelargonium graveolens* L'Her), en diferentes estados fenológicos de la especie y provenientes de dos lugares del cantón Loja, Mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas y al detector de Ionización de Llama", Universidad Técnica Particular de Loja, 2008.

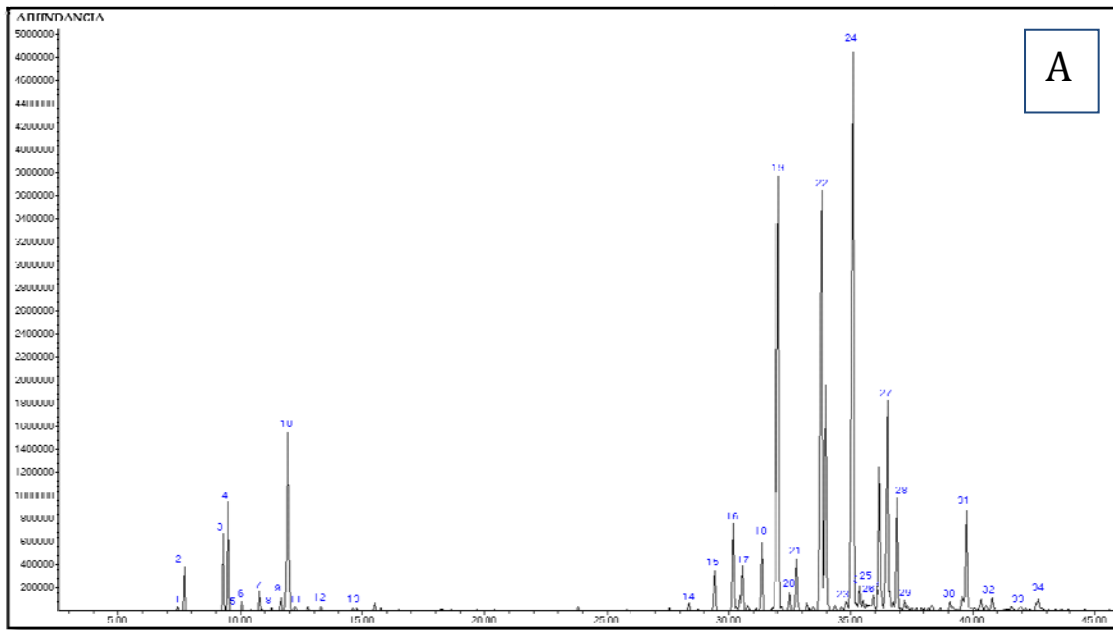
En el aceite esencial de *Scutellaria volubilis* se determinaron 37 compuestos de los cuales se identificaron positivamente 22 compuestos en ambas columnas, teniendo identificado el (84,94%; 83,31% y 82,06%) de la composición química del aceite respectivamente para cada recolección. Los cinco compuestos mayoritarios para esta especie son: germacreno D (20,42%), β -cariofileno (17,54%), α -humuleno (14,73%) y β -bisaboleno (5,60%) pertenecientes a los sesquiterpenos, y β -felandreno (6,87%) del grupo de los monoterpenos.

La desviación estándar es un índice estadístico que nos indica cuánto se desvían cada dato según su media aritmética, así tenemos que para el β -felandreno tiene una desviación de ($\pm 0,77\%$) con respecto a su punto central (6,87%); la varianza es el cuadrado de la desviación estándar, el cual tiene como objetivo destacar las desviaciones más significativas.

Continuando con este análisis, podemos inferir que la variación entre los porcentajes de cantidad relativa determinados para cada compuesto identificado se debe a factores extrínsecos como: tiempo de recolección, clima, fenología, condiciones de extracción entre otros; en la tabla 4.3 se muestra los índices de Kovats, el porcentaje de cantidad relativa, media aritmética o promedio, la desviación estándar y la varianza de cada compuesto reportado para el aceite esencial de *Scutellaria volubilis*.

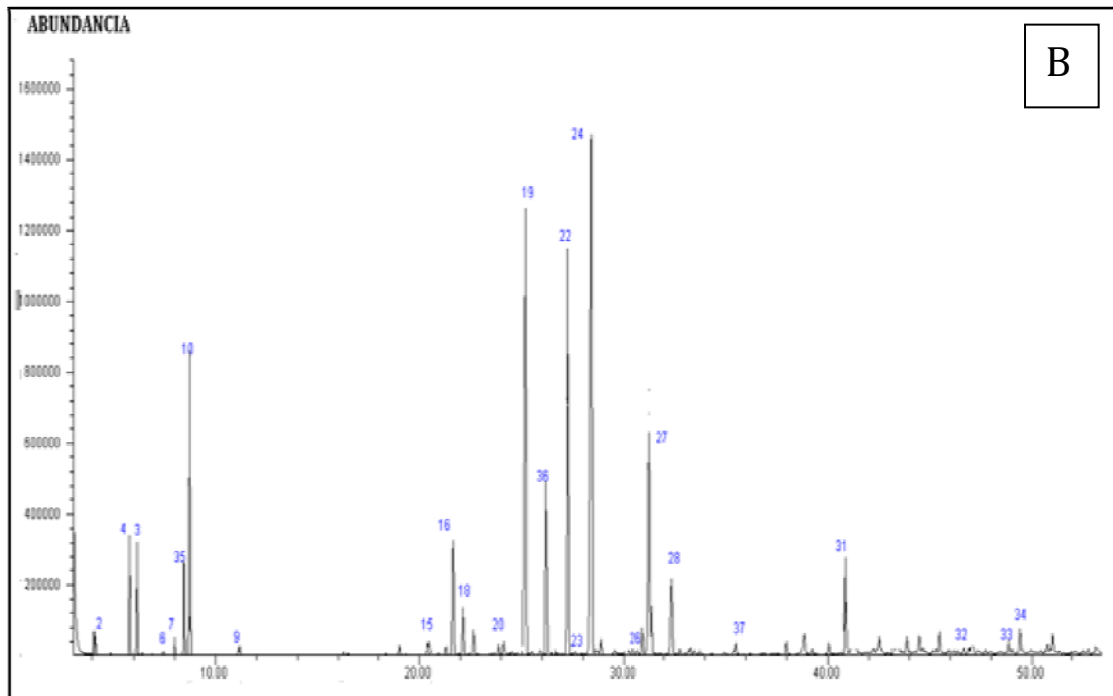
En la gráfica 4.1 representamos los compuestos mayoritarios de cada recolección del aceite esencial de *Scutellaria volubilis*.

Figura 4.1: Cromatograma de la especie *Scutellaria volubilis*. A. En la columna DB-5MS en CG-EM. B. En la columna HP-INNOWAX en CG-EM.



Tiempo de retención→

Elaboración: La autora



Tiempo de retención→

Elaboración: La autora

Tabla 4.3: Composición química del aceite esencial de *Scutellaria volubilis*

Nº	COMPUESTO ^{b)}	ÍNDICES DE KOVATS *						% CANTIDAD RELATIVA ^{a)}					
		DB-5MS			HP-INNOWAX			SVV1	SVV2	SVV3	PROM.	σ	σ ²
		SVV1	SVV2	SVV3	SVV1	SVV2	SVV3						
1	α-tujeno	890	890	890	-----	-----	-----	0,175	0,169	0,195	0,180	0,014	0,00019
2	α-pineno	901	901	901	1088	1088	1088	0,979	0,674	0,780	0,811	0,155	0,02398
3	sabineno	965	965	966	1138	1138	1138	1,826	1,278	1,730	1,611	0,293	0,08564
4	β-pineno	973	973	973	1129	1129	1129	1,882	1,850	1,879	1,870	0,018	0,00031
5	octanol	982	982	982	-----	-----	-----	0,168	0,132	0,197	0,166	0,033	0,00106
6	mirceno	996	996	996	1168	1168	1167	0,268	0,273	0,253	0,265	0,010	0,00011
7	α-felandreno	1005	1005	1005	1207	1207	1207	0,540	0,466	0,589	0,532	0,062	0,00383
8	α-terpineno	1013	1014	1014	-----	-----	-----	0,067	0,058	0,075	0,067	0,009	0,00007
9	p-cimeno	1022	1022	1022	1260	1260	1259	0,343	0,253	0,307	0,301	0,045	0,00205
10	β-felandreno	1027	1027	1027	1236	1237	1237	6,354	7,755	6,494	6,868	0,772	0,59542
11	(E)-β-ocimeno	1043	1033	1043	-----	-----	-----	0,102	0,099	0,165	0,122	0,037	0,00139
12	γ-terpineno	1053	1053	1053	-----	-----	-----	0,109	0,096	0,122	0,109	0,013	0,00017
13	δ-terpineno	1079	1079	1079	-----	-----	-----	0,077	0,061	0,069	0,069	0,008	0,00006
14	α-cubebeno	1342	1342	1342	-----	-----	-----	0,148	0,198	0,198	0,181	0,029	0,00083
15	α-copaeno	1370	1370	1370	1481	1481	1481	0,706	0,674	0,739	0,706	0,033	0,00106
16	β-bourboneno	1377	1377	1377	1509	1509	1509	2,430	2,164	2,329	2,308	0,134	0,01803
17	β-elemeno	1384	1384	1384	-----	-----	-----	1,640	1,427	1,352	1,473	0,149	0,02232
18	α-gurjuneno	1400	1400	1400	1521	1521	1521	1,201	1,676	1,425	1,434	0,238	0,05647
19	β-cariofileno	1414	1414	1414	1592	1593	1594	18,941	17,084	16,602	17,542	1,235	1,52528
20	β-cubebeno	1424	1424	1424	1568	1568	1533	0,512	0,624	0,592	0,576	0,058	0,00333

Continuación Tabla 4.3

21	trans- α -bergamoteno	1429	1429	1429	-----	-----	-----	1,139	1,353	1,570	1,354	0,216	0,04644
22	α -humuleno	1451	1450	1450	1666	1667	1668	15,804	13,583	14,811	14,733	1,113	1,23781
23	γ -muroloeno	1471	1471	1471	1690	1690	1689	0,220	0,310	0,267	0,266	0,045	0,00203
24	germacreno D	1477	1477	1477	1772	1773	1773	21,247	19,871	20,136	20,418	0,730	0,53299
25	allo-aromadendreno	1482	1482	1482	-----	-----	-----	0,807	0,911	0,704	0,807	0,104	0,01071
26	α -muroloeno	1494	1494	1494	1718	1718	1718	0,330	0,458	0,360	0,383	0,067	0,00448
27	β -bisaboleno	1504	1505	1505	1727	1727	1727	4,695	6,455	6,236	5,795	0,959	0,92004
28	δ -cadineno	1513	1513	1513	1758	1758	1759	2,320	3,014	2,383	2,572	0,384	0,14729
29	β -sesquifelandreno	1520	1520	1520	-----	-----	-----	0,460	0,391	0,530	0,460	0,070	0,00483
30	α -farneseno	1561	1561	1562	-----	-----	-----	0,411	0,304	0,358	0,358	0,054	0,00286
31	oxido de cariofileno	1575	1575	1575	1994	1994	1995	2,751	3,112	2,391	2,751	0,361	0,12996
32	viridiflorol	1598	1598	1598	2159	2159	2159	0,297	0,326	0,356	0,326	0,030	0,00087
33	α -cadinol	1639	1639	1639	2220	2220	2220	0,560	0,598	0,523	0,560	0,038	0,00141
34	torreiol	1650	1661	1650	2173	2173	2173	0,737	0,809	0,877	0,808	0,070	0,00490
35	eucaliptol ^{c)}	-----	-----	-----	1199	1206	1207	1,753	1,490	1,677	1,640	0,135	0,01832
36	aromadendreno ^{c)}	-----	-----	-----	1636	1637	1637	3,424	3,054	2,747	3,075	0,339	0,11491
37	calameneno ^{c)}	-----	-----	-----	1826	1826	1826	0,436	0,460	0,280	0,392	0,098	0,00955
Total^{d)}								84,943	83,307	82,059			

*Índices de Kovats experimentales

a) Porcentaje relativo obtenido en la columna DB-5MS

b) Compuestos tabulados de acuerdo al orden de elución en base a la columna DB-5MS

c) Compuestos detectados solo en la columna HP-INNOWAX

d) Sumatoria del porcentaje relativo de los compuestos identificados en ambas columnas

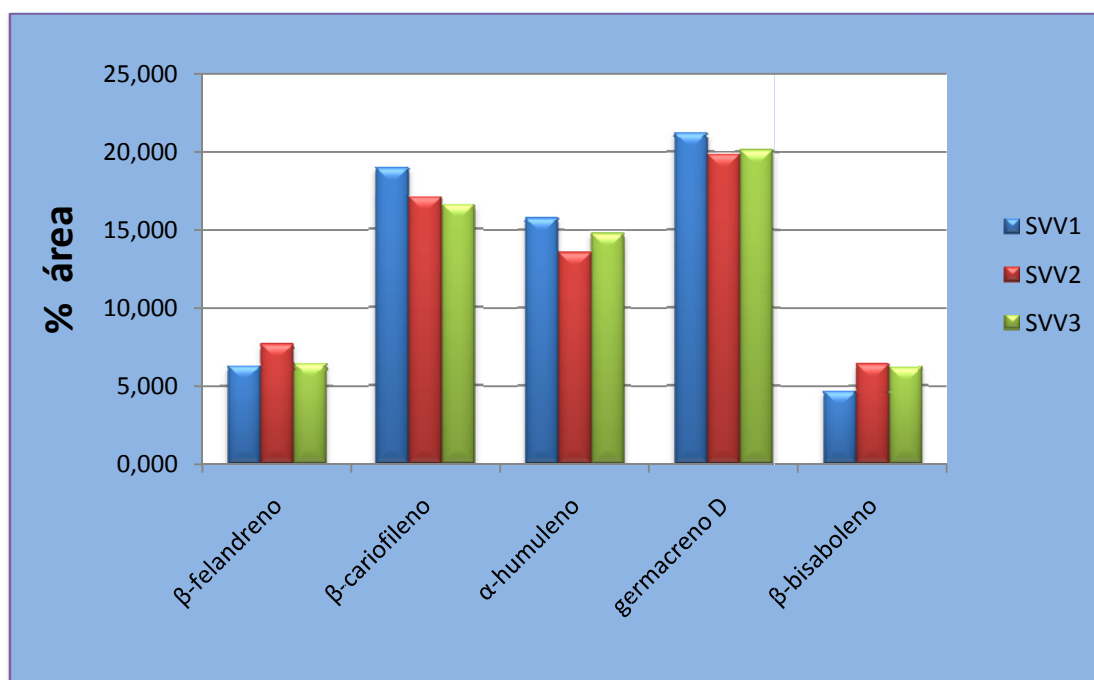
σ =Desviación estándar

σ^2 =Varianza

Fuente: Investigación experimental

Elaboración: La autora

Gráfica 4.1: Compuestos mayoritarios la especie *Scutellaria volubilis*



Fuente: Investigación experimental

Elaboración: La autora

4.2.2 Composición química del aceite esencial de la especie *Hyptis suaveolens*

En la figura 4.2 se muestran los cromatogramas obtenidos del aceite de *Hyptis suaveolens*, en la columna DB-5MS y HP-INNOWAX en CG-EM.

Los compuestos mayoritarios para la especie *Hyptis suaveolens* corresponden al grupo de los monoterpenos, los cuales son: eucaliptol (39,01%), sabineno (16,65%), fenchona (9,65%), α -pineno (6,74%) y fenchil alcohol (4,67%). Se detectaron 28 compuestos de los cuales 20 fueron identificados, correspondiendo al (87,99%; 88,65% y 88,52%) de la composición química del aceite esencial en cada recolección respectivamente.

El compuesto mayoritario identificado en el presente estudio: eucaliptol (39,01%), ha sido reportado en otros estudios para la misma especie en diferentes porcentajes; en el estudio "Chemical composition of essential oils of two *Hyptis*

suaveolens (L.) Poit leaves from Nigeria”, se reporta (5,2%)⁸; en otro estudio “The essential oil of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. and its insect deterrent properties” (29,1%)¹¹, mientras que el estudio de “The essential oil of *Hyptis suaveolens* Poit. Grown on Aruba” reporta (27-38%)⁶. Otro compuesto mayoritario de esta especie es el sabineno (16,65%), es reportado por otro estudio como compuesto mayoritario pero con diferentes porcentaje, es así que en el estudio “Chemical composition of essential oils of two *Hyptis suaveolens* (L.) Poit leaves from Nigeria” se reporta (13,2% y 30%)⁸, otra investigación “Aromatic plants of tropical Central Africa. XLVIII. Comparative study of the essential oils of four *Hyptis* species from Cameroon: *H. lanceolata* Poit., *H. pectinata* (L.) Poit., *H. spicigera* Lam. and *H. suaveolens* Poit.” reporta sabineno con (20,6%)¹⁵, entre tanto que el estudio de “Chemical Composition of *Hyptis pectinata* L., *H. lanceolata* Poit, *H. suaveolens* (L) Poit and *H. spicigera* Lam. Essential Oils from Togo” reporta sabineno (28%)¹⁶. El tercer compuesto identificado en el aceite de *Hyptis suaveolens* de la presente investigación es la fenchona (9,65%), este compuesto se reportó en el estudio “The essential oil of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. and its insect deterrent properties” con (15,02%)¹¹. El estudio realizado en El Salvador “Chemical Polymorphism of Essential Oils of *Hyptis Suaveolens* From El Salvador”⁹, nos indica que en la zona sur una fenchona-fenchol-quimiotipo fue predominante, mientras que en las regiones del norte la mayoría de las plantas acumularon eucaliptol y los aceites esenciales de dos sitios de recolección del sureste reveló altos rendimientos de terpinoleno y sabineno, en este estudio no se muestra datos cuantitativos de los compuestos más abundantes. En el presente estudio los compuestos más abundantes

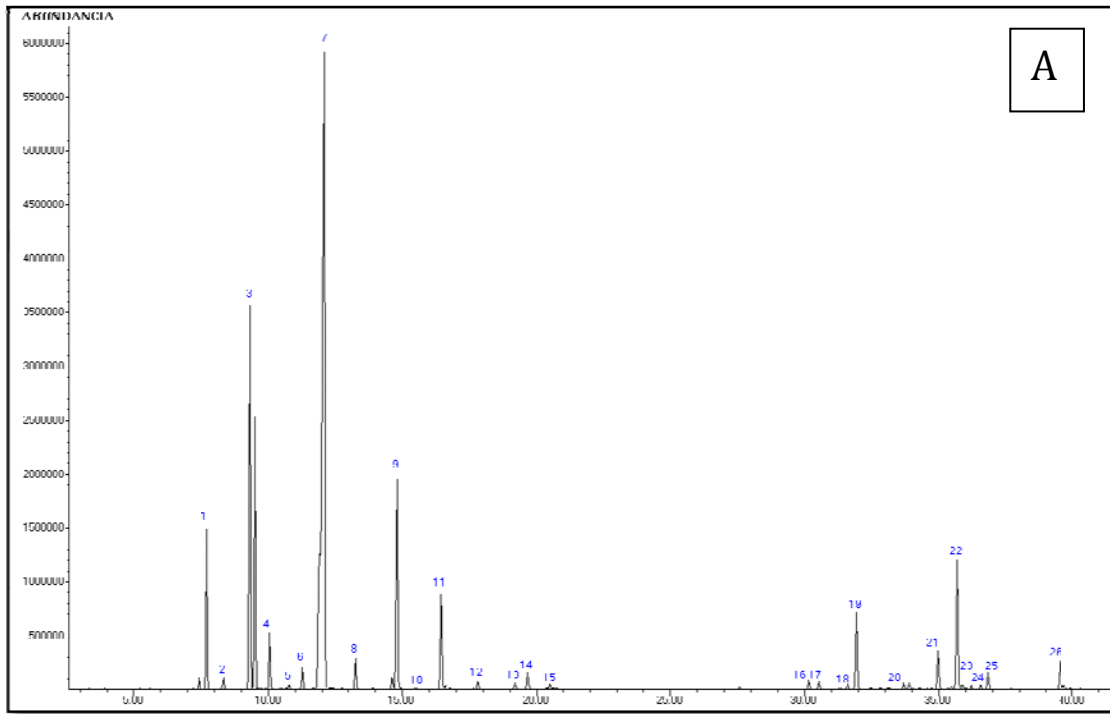
-
8. A. Eshilokun, A. Kasali y A. Giwa-Ajeniya, Chemical composition of essential oils of two *Hyptis suaveolens* (L.) Poit leaves from Nigeria, *Flavour and Fragrance Journal*, 20(5): 528-530 (2005).
 9. P. Grassi, M. J. Nuñez, K. Varmuza y C. Franz, Chemical Polymorphism Of Essential Oils Of *Hyptis Suaveolens* From El Salvador, *Flavour and Fragrance Journal*, 20 (2): 131-135 (2005).
 11. R. Rivas, D. Valera, J. L. Avila, L. Aubert, M. E. Amelot, L. B. Rojas, y A. Usubillaga, The essential oil of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. and its insect deterrent properties, *Journal Of Essential Oil Bearing Plants*, 5(3), December (2002).
 15. F. Tchoumboungang, P. H. Amvam, F. Fekam, M. A. Nyegue, J. M. Bessière y C. Menut, Aromatic plants of tropical Central Africa. XLVIII. Comparative study of the essential oils of four *Hyptis species* from Cameroon: *H. lanceolata* Poit., *H. pectinata* (L.) Poit., *H. spicigera* Lam. and *H. suaveolens* Poit, *Flavour and Fragrance Journal*, 20 (3): 340-343 (2005).
 16. K. Koba, C. Raynaud, J. Millet, J.-P. Chaumont, K. Sanda, Chemical Composition of *Hyptis pectinata* L., *H. lanceolata* Poit, *H. suaveolens* (L) Poit and *H. spicigera* Lam. Essential Oils from Togo, *Journal Of Essential Oil Bearing Plants*, 10(5), Septiembre (2007).

para la especie *Hyptis suaveolens* fueron el eucaliptol (39,01%) y el sabineno (16,65%), coincidiendo solo con la investigación realizada "The essential oil of *Hyptis suaveolens* Poit. Grown on Aruba"³⁵ en la cual se encontró eucaliptol (27-38%) y sabineno (12-18%) aunque en porcentajes diferentes respecto a la presente investigación.

Así como las medidas de tendencia central nos permiten identificar el punto central de los datos, las *medidas de dispersión* nos permiten reconocer que tanto se dispersan los datos alrededor del punto central, es así que se determinó la desviación estándar para conocer cuánto se desvían los porcentajes de cantidad relativa de su promedio y la varianza se determina con la finalidad de observar aquellos valores que están más alejados de la media muestral; así tenemos para el sabineno una desviación de ($\pm 0,70$) de su promedio (16,65%) y siendo su varianza (0,45), es uno de los valores más altos obtenidos, por lo cual se puede inferir que esta desviación del porcentaje de cantidad relativa se debe a factores extrínsecos durante la recolección de la especie; el canfor es el compuesto con la desviación estándar más pequeña ($\pm 0,009$) y un promedio de (0,20%), siendo su varianza (0,00008), es decir que su varianza tiende a cero, lo que hace a ésta desviación poco significativa. En la tabla 4.4 se presenta la composición química del aceite esencial de la especie *Hyptis suaveolens* los índices de Kovats, el porcentaje de cantidad relativa, promedio, desviación estándar y varianza. En la gráfica 4.2 representamos los compuestos mayoritarios identificados en el aceite esencial de *Hyptis suaveolens*.

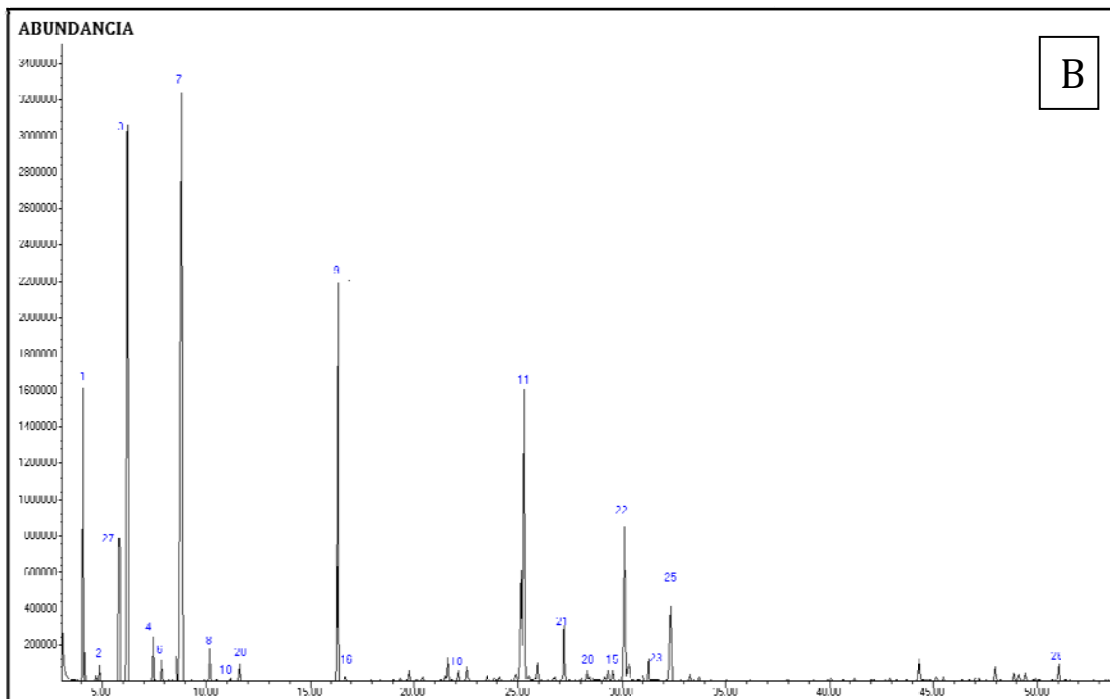
35. C. Fun, A. Baerheim Svendsen, The essential oil of *Hyptis suaveolens* Poit. Grown on Aruba, Flavour and Fragrance Journal, 5(3): 161-163 (1990).

Figura 4.2: Cromatogramas de la especie *Hyptis suaveolens*. **A.** En la columna DB-5MS en CG-EM. **B.** En la columna HP-INNOWAX en CG-EM.



Tiempo de retención→

Elaboración: La autora



Tiempo de retención→

Elaboración: La autora

TABLA 4.4: Composición química del aceite esencial de *Hyptis suaveolens*

Nº	COMPUESTO ^{b)}	ÍNDICE DE KÓVATS *						% CANTIDAD RELATIVA ^{a)}					
		DB-5MS			HP-INNOWAX			HSC1	HSC2	HSC3	PROM.	σ	σ^2
1	α -pineno	901	901	901	1088	1088	1088	6,749	6,637	6,831	6,739	0,097	0,00948
2	canfeno	926	926	926	1107	1107	1107	0,283	0,325	0,269	0,292	0,029	0,00085
3	sabineno	967	966	966	1138	1138	1138	17,317	16,711	15,917	16,648	0,702	0,49295
4	mirceno	996	996	996	1168	1169	1168	1,061	1,057	1,150	1,089	0,053	0,00276
5	α -felandreno	1005	1005	1005	-----	-----	-----	0,182	0,163	0,201	0,182	0,019	0,00036
6	α -terpineno	1014	1014	1014	1178	1178	1178	0,616	0,686	0,575	0,626	0,056	0,00315
7	eucaliptol	1029	1030	1029	1207	1208	1200	38,440	39,530	39,074	39,015	0,547	0,29967
8	γ -terpineno	1053	1053	1065	1238	1238	1238	0,819	0,981	0,802	0,867	0,099	0,00976
9	fenchona	1082	1082	1083	1383	1384	1383	9,558	9,034	10,371	9,654	0,674	0,45385
10	trans- β -ocimeno	1096	1096	1096	1246	1246	1246	0,166	0,154	0,142	0,154	0,012	0,00014
11	fenchil alcohol	1118	1117	1118	1595	1594	1594	4,376	5,049	4,569	4,665	0,347	0,12010
12	canfor	1141	1141	1141	-----	-----	-----	0,192	0,210	0,202	0,201	0,009	0,00008
13	borneol	1166	1166	1166	-----	-----	-----	0,563	0,486	0,513	0,521	0,039	0,00153
14	1-terpinen-4-ol	1174	1174	1174	1602	1602	1602	0,674	0,642	0,739	0,685	0,049	0,00244
15	α -terpineol	1189	1189	1189	1691	1692	1691	0,427	0,424	0,508	0,453	0,048	0,00227
16	β -bourboneno	1377	1377	1377	1508	1507	1508	0,639	0,631	0,665	0,645	0,018	0,00032
17	β -elemeno	1384	1384	1384	-----	-----	-----	0,543	0,607	0,593	0,581	0,034	0,00113
18	α -gurjuneno	1405	1406	1406	1530	1530	1530	0,154	0,175	0,187	0,172	0,017	0,00028
19	β -cariofileno	1413	1412	1413	-----	-----	-----	2,953	2,977	3,101	3,010	0,079	0,00631
20	α -humuleno	1449	1448	1453	1665	1665	1664	0,265	0,215	0,218	0,233	0,028	0,00079

Continuación Tabla 4.4

21	allo-aromadendreno	1453	1452	1453	1636	1636	1636	1,066	1,024	0,985	1,025	0,041	0,00164
22	germacreno D	1475	1475	1475	1694	1694	1694	3,132	3,014	2,896	3,014	0,118	0,01392
23	valenceno	1500	1500	1500	1726	1726	1726	0,246	0,230	0,215	0,230	0,016	0,00024
24	γ -cadineno	1507	1506	1507	-----	-----	-----	0,335	0,351	0,362	0,349	0,014	0,00018
25	δ -cadineno	1513	1512	1513	1758	1758	1758	1,500	1,654	1,964	1,706	0,236	0,05585
26	t-cadinol	1650	1650	1650	2220	220	2220	0,498	0,475	0,452	0,475	0,023	0,00053
27	β -pineno ^{c)}	-----	-----	-----	1129	1130	1129	2,801	2,587	2,709	2,699	0,107	0,01152
28	p-cimeno ^{c)}	-----	-----	-----	1260	1260	1260	0,345	0,323	0,311	0,326	0,017	0,00030
Total^{d)}								87,986	88,648	88,529			

**Índices de Kovats experimentales*

a) Porcentaje relativo obtenido en la columna DB-5MS

b) Compuestos tabulados de acuerdo al orden de elución en base a la columna DB-5MS

c) Compuestos detectados solo en la columna HP-INNOWAX

d) Sumatoria del porcentaje relativo de los compuestos identificados en ambas columnas

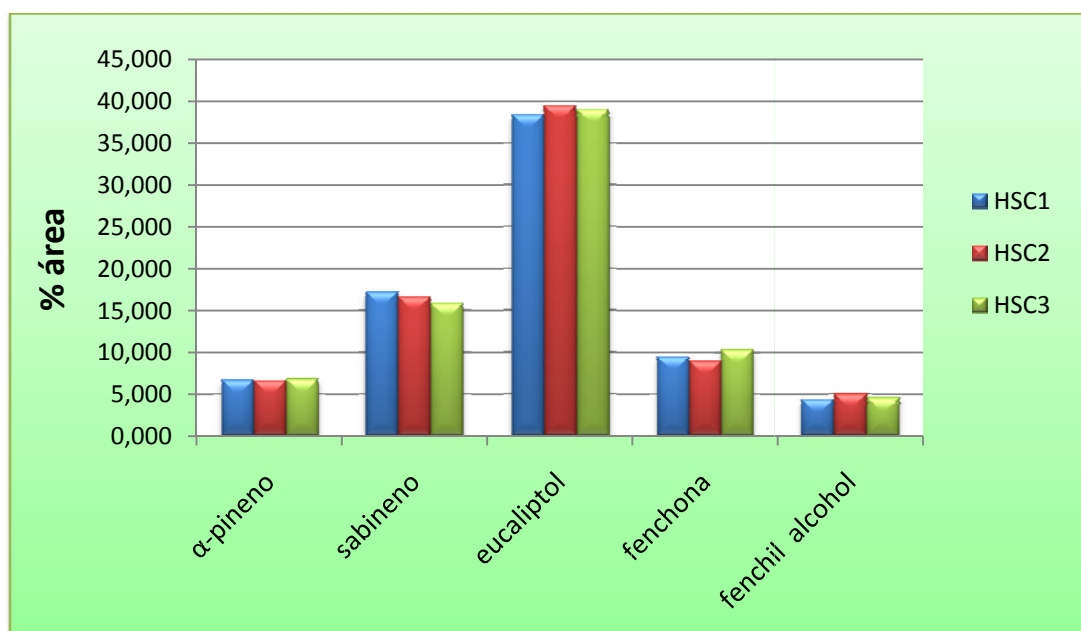
σ =Desviación estándar

σ^2 =Varianza

Fuente: Investigación experimental

Elaboración: La autora

Gráfica 4.2: Compuestos mayoritarios de la especie *Hyptis suaveolens*



Fuente: Investigación experimental

Elaboración: La autora

4.2.3 Composición química del aceite esencial de la especie *Hyptis pectinata*

Los cromatogramas representativos del aceite de *Hyptis pectinata* los mostramos en la figura 4.3.

Se determinaron 21 compuestos para la especie *Hyptis pectinata* identificando el (88,09%; 88,17% y 88,13%) de la composición química respectivamente para cada recolección, que corresponden a 16 compuestos identificados, de los cuales se reportan como compuestos mayoritarios los sesquiterpenos: germacreno D (34,13%), β-cariofileno (21,18%), β-bourboneno (9,29%), viridifloreño (8,27%), y α-humuleno (2,96%).

Los dos componentes de mayor abundancia en nuestro estudio para el aceite esencial de *Hyptis pectinata* son: germacreno D (34,13%) y β-cariofileno (21,18%), coincidiendo con los componentes mayoritarios para la especie *Hyptis pectinata* con porcentajes diferentes en el estudio "Comparative study of the essential oils of four *Hyptis* species from Cameroon: *H. lanceolata* Poit., *H. pectinata* (L.) Poit., *H. spicigera* Lam. and *H. suaveolens* Poit" teniendo germacreno D (28,0%) y β-

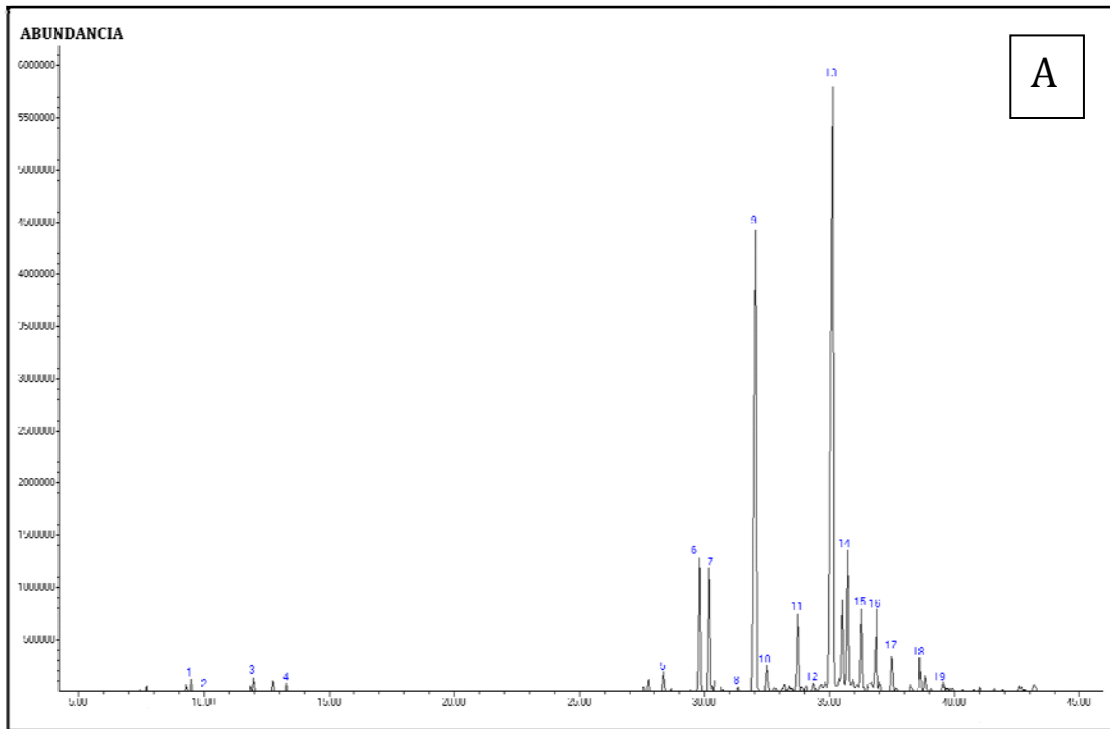
cariofileno (22,1%)¹⁵. En la presente investigación se identificó el β -cariofileno (21,18%) como el segundo compuesto mayoritario, mientras que en el estudio "Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Hyptis pectinata* (L.) Poit."⁶ se reportó el β -cariofileno con (18,34%) como su constituyente principal.

En la tabla 4.5 mostramos la composición química para la especie *Hyptis pectinata*, los índices de Kovats, el porcentaje de cantidad relativa, promedio, la desviación estándar y la varianza, siendo esto índices estadísticos parámetros informativos que nos permiten conocer como los valores de los datos se reparten a través del eje X, mediante un valor numérico que representa el promedio de dispersión de los datos; por ejemplo para el gemacreno D tenemos un promedio de (34,13%) con una desviación estándar de ($\pm 0,59$) y una varianza de (0,35) que comparada con su valor promedio podemos decir que estadísticamente es un valor poco significativo. Los compuestos mayoritarios del aceite esencial de la especie *Hyptis pectinata* están representados en la gráfica 4.3.

6. P. Santos, Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Hyptis pectinata* (L.) Poit, Química Nova Journal, Vol.31, n.7, pp. 1648-1652 (2008).

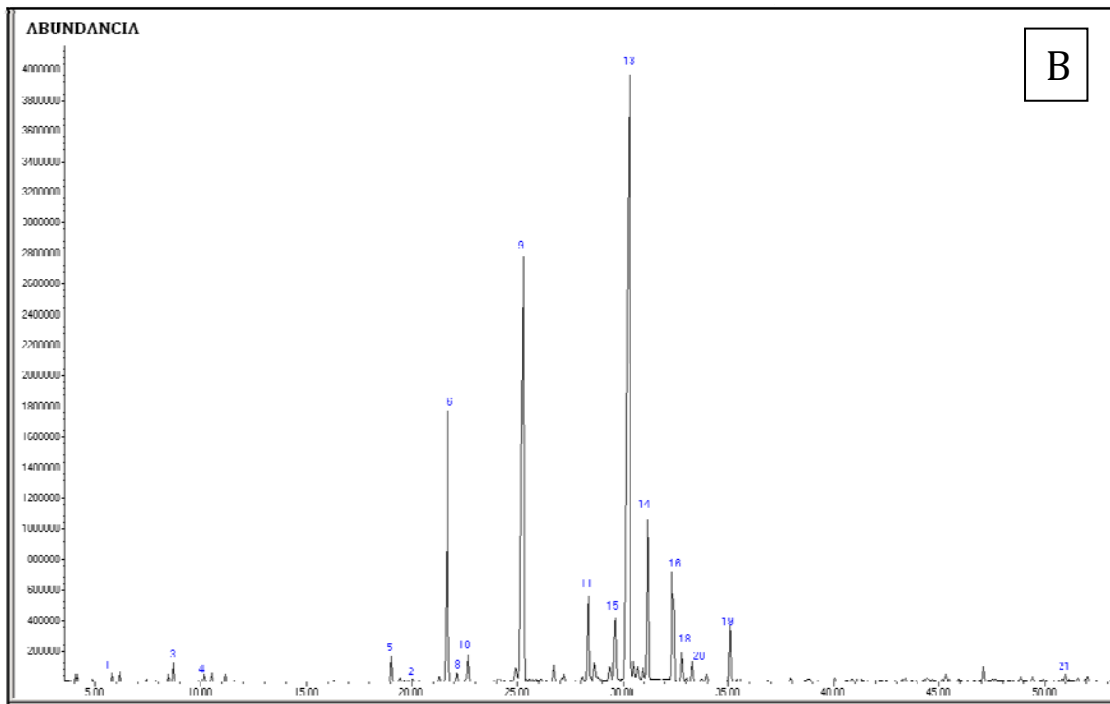
15. F. Tchoumboungang, P. H. Amvam, F. Fekam, M. A. Nyegue, J. M. Bessièrè y C. Menut, Aromatic plants of tropical Central Africa. XLVIII. Comparative study of the essential oils of four *Hyptis* species from Cameroon: *H. lanceolata* Poit., *H. pectinata* (L.) Poit., *H. spicigera* Lam. and *H. suaveolens* Poit, Flavour and Fragrance Journal, 20 (3): 340-343 (2005).

Figura 4.3: Cromatogramas de la especie *Hyptis pectinata*. **A.** En la columna DB-5MS en CG-EM. **B.** En la columna HP-INNOWAX en CG-EM.



Tiempo de retención→

Elaboración: La autora



Tiempo de retención→

Elaboración: La autora

Tabla 4.5: Composición química del aceite esencial de *Hyptis pectinata*

Nº	COMPUESTO ^{b)}	ÍNDICE DE KÓVATS *						% Cantidad Relativa ^{a)}					
		DB-5MS			HP-INNOWAX			HPP1	HPP2	HPP3	PROM.	σ	σ ²
		HPP1	HPP2	HPP3	HPP1	HPP2	HPP3						
1	β-pineno	973	973	973	1129	1129	1129	0,402	0,388	0,397	0,396	0,007	0,00005
2	mirreno	996	996	995	1482	1482	1482	0,065	0,076	0,083	0,075	0,009	0,00008
3	eucaliptol	1028	1028	1028	1198	1198	1198	0,778	0,757	0,681	0,739	0,051	0,00260
4	γ-terpineno	1053	1053	1053	1238	1237	1238	0,910	0,977	0,944	0,944	0,034	0,00112
5	α-cubebeno	1342	1342	1342	1451	1451	1451	1,014	1,002	0,948	0,988	0,035	0,00124
6	β-bourboneno	1377	1377	1377	1509	1509	1509	9,206	9,244	9,433	9,294	0,122	0,01478
7	β-elemeneno	1384	1384	1384	-----	-----	-----	6,337	6,314	5,409	6,020	0,529	0,28012
8	α-gurjuneno	1399	1399	1400	1521	1521	1521	0,140	0,129	0,107	0,125	0,017	0,00028
9	β-cariofileno	1414	1414	1414	1594	1595	1594	21,243	21,326	20,961	21,177	0,191	0,03661
10	β-cubebeno	1423	1423	1423	1533	1533	1533	1,157	1,156	1,030	1,114	0,073	0,00533
11	α-humuleno	1449	1449	1449	1665	1665	1665	2,896	2,905	3,086	2,962	0,107	0,01149
12	γ-muroleno	1462	1462	1462	-----	-----	-----	0,404	0,406	0,478	0,429	0,042	0,00178
13	germacreno D	1477	1477	1477	1696	1699	1699	33,838	33,737	34,810	34,128	0,592	0,35105
14	viridifloreno	1490	1485	1490	1725	1725	1725	8,327	8,317	8,177	8,274	0,084	0,00703
15	aromadendreno	1500	1497	1500	1696	1696	1696	2,797	2,825	2,612	2,745	0,116	0,01340
16	δ-cadineno	1513	1512	1513	1771	1771	1772	2,255	2,274	1,904	2,144	0,208	0,04341
17	δ-selineno	1528	1526	1526	-----	-----	-----	1,253	1,134	1,230	1,206	0,063	0,00398

Continuación Tabla 4.5

18	germacreno B	1551	1551	1551	1814	1815	1815	1,415	1,418	1,473	1,435	0,033	0,00107
19	óxido de cariofileno	1575	1575	1575	1972	1972	1972	1,643	1,641	1,483	1,589	0,092	0,00843
20	calameneno ^{c)}	-----	-----	-----	1827	1827	1827	1,088	0,946	1,288	1,107	0,172	0,02952
21	t-cadineol ^{c)}	-----	-----	-----	2220	2220	2220	0,442	0,427	0,432	0,434	0,008	0,00006
Total^{d)}								88,086	88,172	88,129			

**Índices de Kovats experimentales*

a) Porcentaje relativo obtenido en la columna DB-5MS

b) Compuestos tabulados de acuerdo al orden de elución en base a la columna DB-5MS

c) Compuestos detectados solo en la columna HP-INNOWAX

d) Sumatoria del porcentaje relativo de los compuestos identificados en ambas columnas

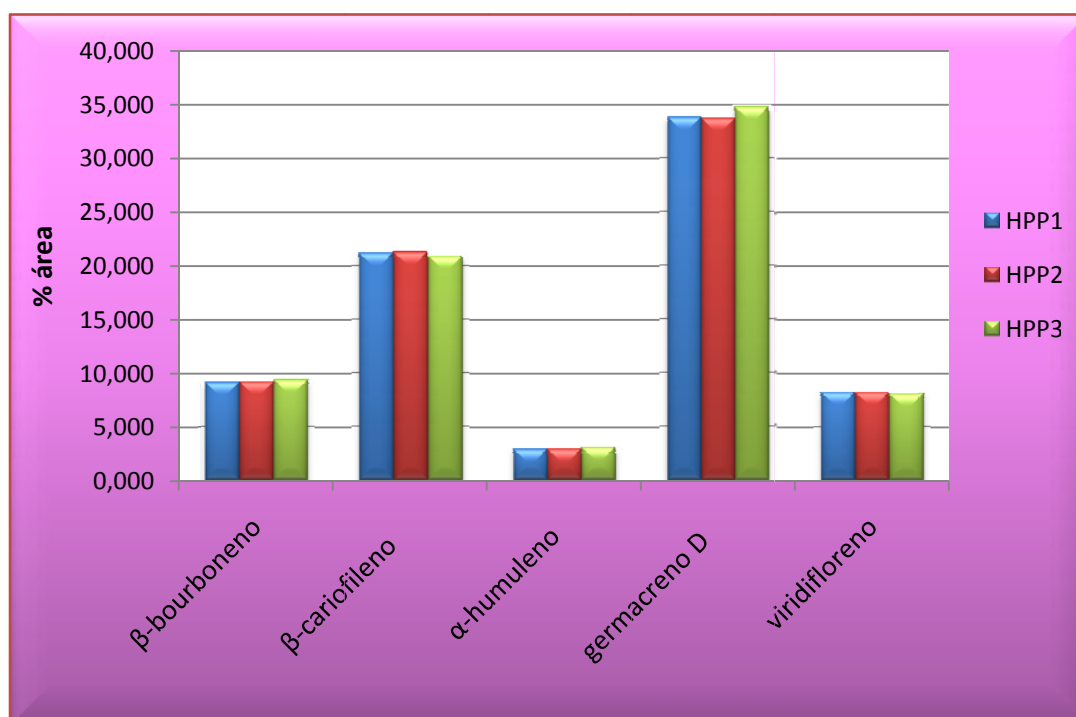
σ =Desviación estándar

σ^2 =Varianza

Fuente: Investigación experimental

Elaboración: La autora

Gráfica 4.3: Compuestos mayoritarios de la especie *Hyptis pectinata*



Fuente: Investigación experimental

Elaboración: La autora

4.2.4 Composición química del aceite esencial de la especie *Lepechinia paniculata*

En la figura 4.4 se representa los cromatogramas obtenidos para la especie *Lepechinia paniculata* en las columna DB-5MS y HP-INNOWAX en CG-EM.

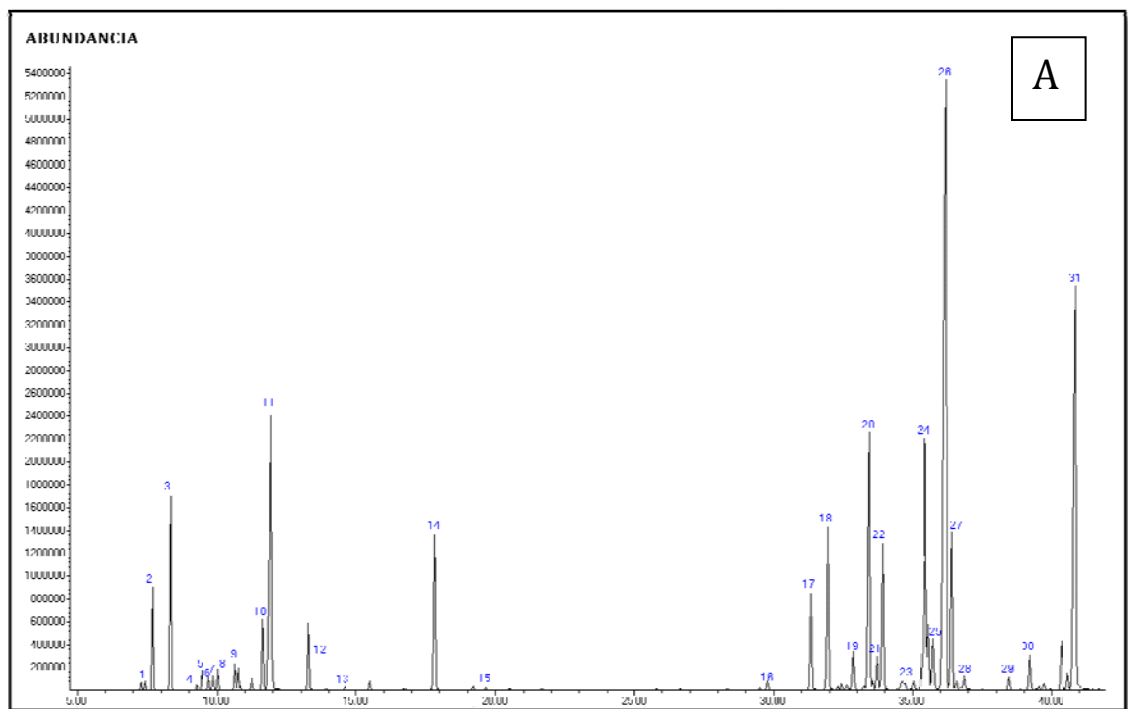
Se determinó el (80,83%; 80,78% y 82,77%) de la composición química del aceite esencial de la especie *Lepechinia paniculata*, identificando 19 compuestos de 35 detectados. Los compuestos de mayor abundancia para esta especie son: aromadendreno (24,64%), viridifloreño (12,37%), β-selineno (7,37%), valenceno (6,67%), los cuales pertenecen al grupo de los sesquiterpenos y β-felandreno (7,72%) que pertenece al grupo de los monoterpenos.

No se encontraron estudios referentes a esta especie, se puede decir que esto se debe a que es una planta endémica de Ecuador.

Tanto la desviación estándar como la varianza es una índice estadístico muy útil para medir la variabilidad de los resultados de una muestra, es así que para esta

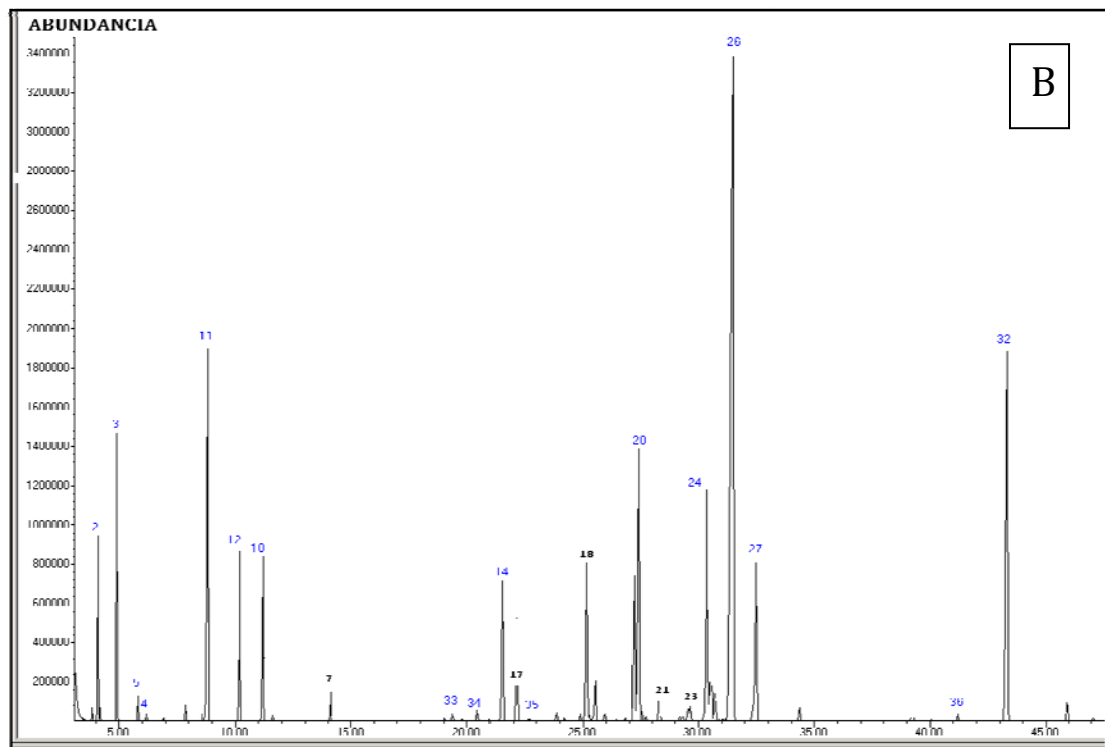
investigación podemos inferir que la variabilidad de los porcentajes de cantidad relativa obtenidos para cada compuesto se debe a factores como el tiempo de recolección, el clima, la fenología, las condiciones de extracción del aceite esencial, entre otros, es decir se debe a factores extrínsecos. El conjunto de datos de la composición química del aceite esencial de la especie en mención, sus índices de Kovats, el porcentaje de cantidad relativa, el promedio, desviación estándar y varianza se reportan en la tabla 4.6, así mismo sus compuestos mayoritarios están representados en la gráfica 4.4.

Figura 4.4: Cromatogramas de la especie *Lepechinia paniculata*. **A.** En la columna DB-5MS en CG-EM. **B.** En la columna HP-INNOWAX en CG-EM.



Tiempo de retención→

Elaboración: La autora



Tiempo de retención→

Elaboración: La autora

Tabla 4.6: Composición química del aceite esencial de *Lepechinia paniculata*

Nº	COMPUESTO ^{b)}	ÍNDICE DE KÓVATS *						% CANTIDAD RELATIVA ^{a)}					
		DB-5MS			HP-INNOWAX			LPS1	LPS2	LPS3	PROM.	σ	σ^2
1	α -tujeno	889	890	890	-----	-----	-----	0,145	0,126	0,174	0,148	0,024	0,00058
2	α -pineno	900	901	901	1088	1088	1088	1,700	1,446	1,011	1,386	0,348	0,12141
3	canfeno	926	927	927	1107	1107	1107	2,337	2,881	2,114	2,444	0,395	0,15566
4	sabineno	964	965	965	1138	1138	1138	0,077	0,064	0,071	0,071	0,007	0,00004
5	β -pineno	972	973	973	1129	1129	1129	0,235	0,290	0,200	0,242	0,045	0,00206
6	octanol	981	982	982	-----	-----	-----	0,253	0,344	0,495	0,364	0,122	0,01494
7	sulcatone	988	988	989	-----	-----	-----	0,303	0,343	0,405	0,350	0,051	0,00264
8	mircenol	995	996	996	-----	-----	-----	0,379	0,346	0,325	0,350	0,027	0,00074
9	pseudolimoneno	1002	1003	1003	-----	-----	-----	0,782	0,876	0,734	0,797	0,072	0,00522
10	p-cimeno	1022	1022	1022	1260	1260	1260	1,213	1,264	1,162	1,213	0,051	0,00260
11	β -felandreno	1027	1027	1027	1201	1207	1207	7,767	7,771	7,619	7,719	0,087	0,00750
12	γ -terpineno	1053	1053	1053	1238	1238	1238	1,389	1,331	0,921	1,214	0,255	0,06508
13	δ -terpineno	1079	1079	1078	-----	-----	-----	0,080	0,078	0,079	0,079	0,001	0,00000
14	canfor	1141	1142	1142	1505	1506	1505	3,747	3,962	3,927	3,879	0,115	0,01331
15	borneol	1166	1166	1166	-----	-----	-----	0,079	0,094	0,094	0,089	0,009	0,00008
16	α -copaeno	1362	1370	1370	1481	1482	1482	0,202	0,244	0,266	0,237	0,033	0,00106
17	α -gurjuneno	1399	1399	1400	1521	1521	1521	1,408	1,683	1,181	1,424	0,251	0,06319
18	β -cariofileno	1413	1413	1413	1592	1593	1593	4,294	4,405	4,257	4,319	0,077	0,00593
19	β -gurjuneno	1423	1423	1423	-----	-----	-----	0,291	0,375	0,327	0,331	0,042	0,00178
20	β -selineno	1443	1443	1443	1642	1642	1642	7,290	7,264	7,547	7,367	0,156	0,02447

Continuación Tabla 4.6

21	α -humuleno	1449	1449	1449	1665	1665	1665	0,851	0,873	0,888	0,871	0,019	0,00035
22	allo-aromadendreno	1453	1453	1453	-----	-----	-----	2,800	2,777	2,825	2,801	0,024	0,00058
23	γ -selineno	1468	1468	1468	1676	1677	1677	0,513	0,570	0,627	0,570	0,057	0,00325
24	valenceno	1484	1484	1484	1702	1702	1702	6,441	6,525	7,044	6,670	0,327	0,10667
25	α -selineno	1490	1490	1490	-----	-----	-----	1,570	1,503	1,753	1,609	0,129	0,01675
26	aromadendreno	1499	1499	1500	1733	1733	1734	24,281	24,260	25,385	24,642	0,644	0,41415
27	α -farneseno	1503	1503	1503	1762	1762	1762	4,087	4,034	4,736	4,286	0,391	0,15280
28	γ -cadineno	1507	1507	1507	-----	-----	-----	0,303	0,490	0,426	0,406	0,095	0,00903
29	δ -cadineno	1513	1513	1513	-----	-----	-----	0,391	0,638	0,557	0,529	0,126	0,01585
30	patchouleno	1563	1563	1563	-----	-----	-----	0,963	0,924	0,953	0,947	0,020	0,00041
31	3,7-selinadieno	1593	1594	1594	-----	-----	-----	0,444	0,636	0,613	0,564	0,105	0,01099
32	viridifloreño	1599	1599	1599	2017	2017	2017	12,524	12,090	12,509	12,374	0,246	0,06069
33	sulcatone ^{c)}	-----	-----	-----	1337	1337	1337	0,125	0,106	0,146	0,126	0,020	0,00040
34	α -cubebeno ^{c)}	-----	-----	-----	1451	1451	1451	0,063	0,068	0,079	0,070	0,008	0,00007
35	β -cadinene ^{c)}	-----	-----	-----	1533	1533	1534	0,095	0,137	0,169	0,134	0,037	0,00138
36	palustrol ^{c)}	-----	-----	-----	1915	1915	1915	0,817	0,745	0,806	0,789	0,039	0,00150
Total^{d)}								80,356	80,957	81,465			

*Índices de Kovats experimentales

a) Porcentaje relativo obtenido en la columna DB-5MS

b) Compuestos tabulados de acuerdo al orden de elución en base a la columna DB-5MS

c) Compuestos detectados solo en la columna HP-INNOWAX

d) Sumatoria del porcentaje relativo de los compuestos identificados en ambas columnas

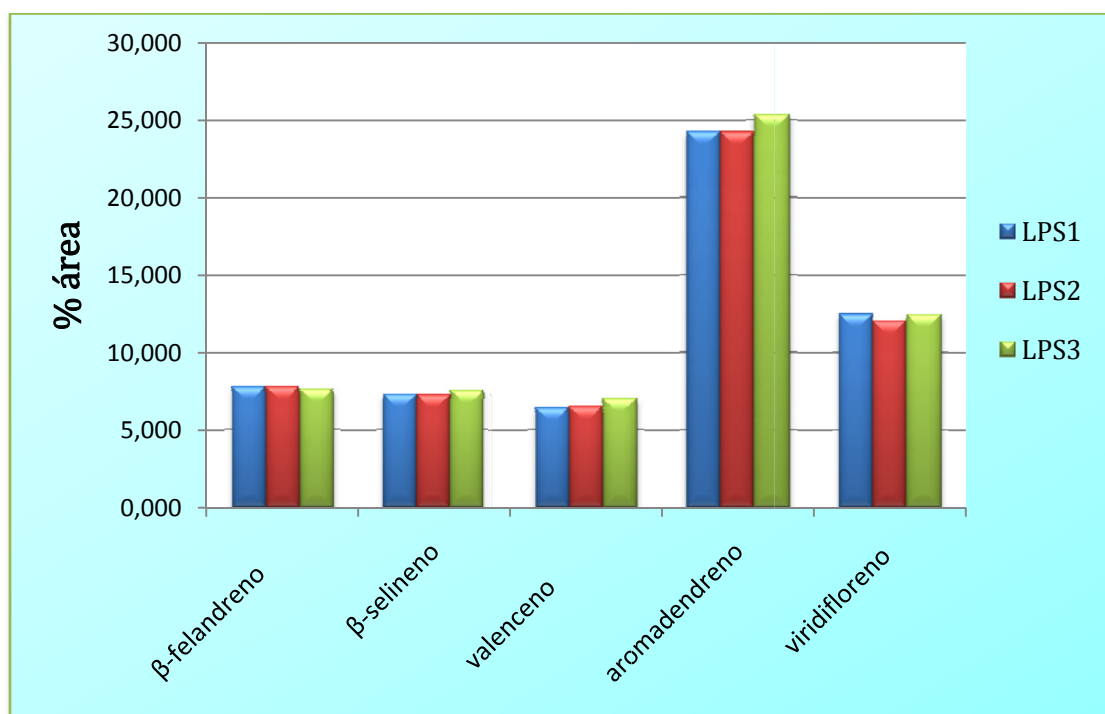
σ = Desviación estándar

σ^2 = Varianza

Fuente: Investigación experimental

Elaboración: La autora

Gráfica 4.4: Compuestos mayoritarios de la especie *Lepechinia paniculata*



Fuente: Investigación experimental

Elaboración: La autora

4.3 Estudio de la reproducibilidad de los Tiempos de Retención y los Índices de Kovats

En la tabla 4.7 se encuentran los valores de tiempo de retención, tiempo de retención promedio, desviación estándar y coeficientes de variación para algunos compuestos de los aceites esenciales.

Los coeficientes de variación para los tiempos de retención no superan el (0,14%), esto nos indica que el grado de reproducibilidad de datos es alto, dado que según las normas de Buenas Prácticas de Laboratorio³⁶, el coeficiente de variación máximo permitido para la inyección manual es de 2%.

36. Usuary J. P., Good Laboratory Practice Standard, ACS American Chemical Society, 1992.

Tabla 4.7: Reproducibilidad de los tiempos de retención de algunos componentes de los aceites esenciales

Compuesto	Tiempos de Retención (n=3)			tr	σ	cv %
	1	2	3	PROMEDIO		
canfeno	8,339	8,335	8,339	8,338	0,002	0,026
sabineno	9,299	9,300	9,303	9,301	0,002	0,025
mirceno	10,047	10,047	10,047	10,047	0,000	0,002
α -terpineno	11,268	11,266	11,270	11,268	0,002	0,017
β -felandreno	11,926	11,926	11,926	11,926	0,000	0,002
eucaliptol	12,040	12,059	12,059	12,053	0,011	0,090
γ -terpineno	13,281	13,281	13,281	13,281	0,000	0,000
fenchona	14,807	14,815	14,826	14,816	0,009	0,064
fenchil alcohol	16,496	16,450	16,481	16,476	0,023	0,141
α -cubebeno	28,357	28,357	28,357	28,357	0,000	0,000
α -copaeno	29,777	29,788	29,788	29,784	0,007	0,022
β -bourboneno	30,171	30,171	30,168	30,170	0,002	0,007
α -gurjuneno	31,333	31,333	31,329	31,331	0,002	0,007
β -cubebeno	32,479	32,479	32,479	32,479	0,000	0,000
α -humuleno	33,716	33,716	33,709	33,714	0,004	0,013
valenceno	35,443	35,455	35,459	35,452	0,008	0,022
aromadendreno	36,176	36,191	36,199	36,189	0,012	0,032
α -farneseno	36,396	36,408	36,411	36,405	0,008	0,022
germacreno B	38,628	38,628	38,624	38,627	0,002	0,006
óxido de cariofileno	39,710	39,706	39,710	39,708	0,002	0,006

tr = Tiempo de retención

σ = Desviación estándar

cv = Coeficiente de variación

Fuente: Investigación experimental

Elaboración: La autora

Los datos de la reproducibilidad de los índices de Kovats experimentales para algunos constituyentes de los aceites esenciales, determinados en dos columnas diferentes DB-5MS y HP-INNOWAX en CG-EM, se reportan en la tabla 4.8.

Se puede observar que los coeficiente de variación para los índices de Kovats oscilan entre (0,00% a 0,68%), esto verifica que la medición de los índices de retención fue altamente reproducible, y que los índices de Kovats obtenidos experimentalmente pueden ser usados con seguridad para identificar los componentes de los cuatro aceites esenciales analizados en la presente investigación. Las normas de Buenas prácticas de Laboratorio³⁶, se considera que

36. Usuary J. P., Good Laboratori Practice Standar, ACS American Chemical Society, 1992.

puede haber una diferencia de hasta 50 unidades entre los índices de Kovats reportados por la literatura y los experimentales, es así que nuestros datos se encuentran dentro de este rango.

Tabla 4.7: Reproducibilidad de los índices de Kovats de algunos compuestos de los aceites esenciales.

Compuesto	Columna DB-5MS							Columna HP-INNOWAX								
	Ik experimentales (n=3)			IK	σ	cv		Ik*	Ik experimentales (n=3)			IK	σ	cv		Ik*
	1	2	3	Promedio		%	1		2	3	Promedio	%				
canfeno	926,2	926,8	926,8	926,6	0,359	0,039	953	1106,9	1107,0	1107,0	1107,0	0,048	0,004	1077		
sabineno	965,5	965,5	965,6	965,5	0,094	0,010	972	1138,6	1138,7	1138,0	1138,4	0,352	0,031	1134		
mirreno	995,8	995,8	995,8	995,8	0,009	0,001	994	1168,5	1168,8	1168,3	1168,5	0,285	0,024	1176		
α -terpineno	1013,5	1014,3	1014,4	1014,0	0,491	0,048	1012	1178,1	1178,4	1178,0	1178,2	0,247	0,021	1208		
β -felandreno	1026,9	1027,0	1027,0	1027,0	0,004	0,000	1053	1200,6	1207,2	1207,0	1204,9	3,736	0,310	1241		
eucaliptol	1029,1	1029,5	1029,5	1029,4	0,209	0,020	1030	1206,9	1207,7	1200,0	1204,9	4,205	0,349	1214		
γ -terpineno	1053,0	1052,8	1065,4	1057,1	7,213	0,682	1074	1238,0	1237,9	1237,9	1237,9	0,050	0,004	1265		
fenchona	1082,2	1082,4	1082,6	1082,4	0,182	0,017	1094	1382,9	1383,6	1382,9	1383,1	0,372	0,027	1402		
fenchil alcohol	1117,9	1117,1	1117,6	1117,5	0,412	0,037	1139	1595,3	1593,8	1594,4	1594,5	0,738	0,046	1574		
α -cubebeno	1342,0	1342,0	1342,0	1342,0	0,000	0,000	1345	1450,9	1451,0	1451,0	1451,0	0,046	0,003	1463		
α -copaeno	1362,3	1369,5	1369,5	1367,1	4,193	0,307	1377	1481,4	1481,6	1481,6	1481,5	0,142	0,010	1536		
β -bourboneno	1376,9	1376,8	1376,9	1376,9	0,042	0,003	1417	1509,3	1509,3	1509,4	1509,4	0,052	0,003	1512		
α -gurjuneno	1399,3	1399,4	1399,5	1399,4	0,113	0,008	1409	1530,3	1530,3	1530,1	1530,2	0,108	0,007	1529		
β -cubebeno	1423,5	1423,4	1423,4	1423,5	0,001	0,000	1389	1533,0	1533,0	1533,1	1533,0	0,090	0,006	1519		
α -humuleno	1448,8	1448,6	1448,8	1448,7	0,089	0,006	1467	1665,6	1666,7	1667,7	1666,7	1,061	0,064	1680		
valenceno	1484,1	1484,3	1484,4	1484,3	0,163	0,011	1490	1726,5	1725,1	1724,8	1725,5	0,889	0,051	1726		
aromadendreno	1499,1	1499,4	1499,6	1499,4	0,240	0,016	1475	1636,4	1636,1	1636,5	1636,3	0,206	0,013	1600		
α -farneseno	1502,8	1503,0	1503,1	1503,0	0,173	0,011	1500	1761,7	1762,0	1762,2	1762,0	0,272	0,015	1725		
óxido de cariofileno	1575,5	1575,2	1575,0	1575,2	0,243	0,015	1573	1972,4	1973,0	1972,9	1972,8	0,294	0,015	1999		

IK = Índices de Kovats

cv = Coeficiente de varianza

**Índices de Kovats leídos*

Fuente: Investigación experimental

Elaboración: La autora

4.4 Espectro de Masas

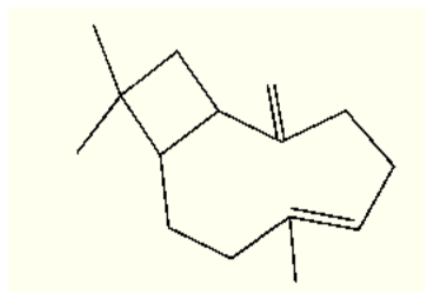
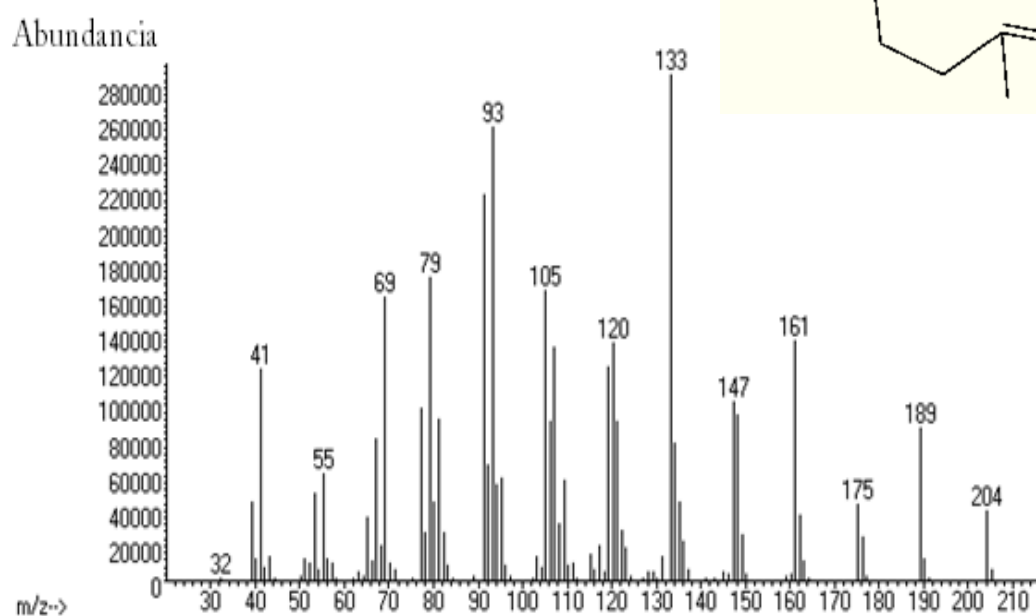
El sistema de datos del equipo genera reportes que permiten la identificación de cada uno de los picos cromatográficos; a continuación se detallan los datos espectrales de los compuestos mayoritarios de cada especie.

En los datos espectrales tenemos que el primer número es la relación masa/carga (m/z) y el número entre paréntesis es la abundancia del ion dado en porcentaje relativo (tomando como base 100% al ion más abundante). El cual se lo interpreta así: 136(16,7), el ión masa/carga 136 tiene una abundancia relativa del 16,7%.

4.4.1 Datos espectrales de los compuestos mayoritarios de la especie *Scutellaria volubilis* en las columnas DB-5MS y HP-INNOWAX en CG-EM.

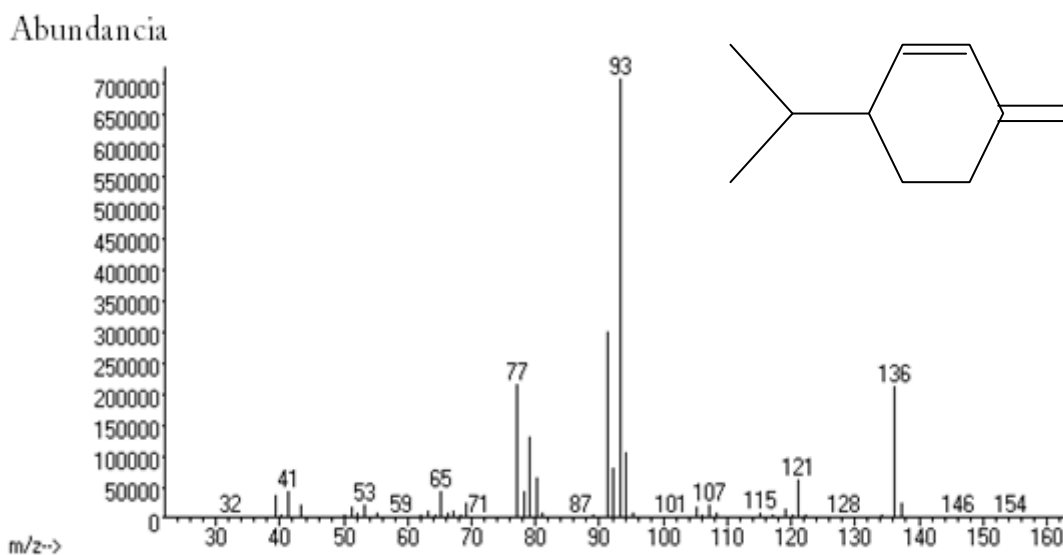
β -cariofileno

32 (0,51); 41 (40,29); 55 (19,94); 69 (54,15); 79 (58,60); 93 (87,81); 105 (56,43); 120 (45,93); 133 (100,00); 147 (34,62); 161 (49,38); 175 (14,44); 189 (31,10); 204 (14,18).



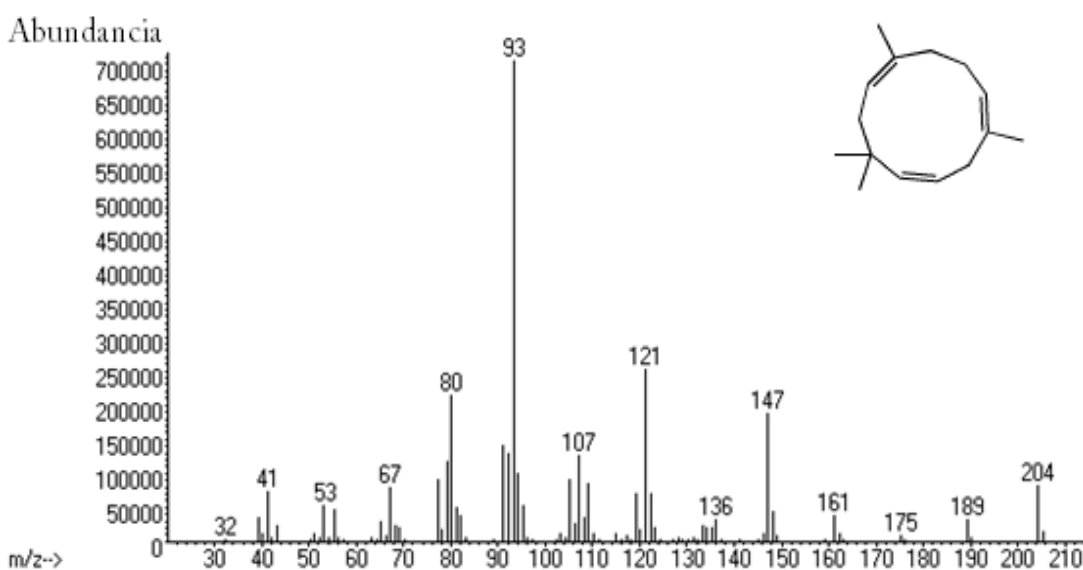
β -felandreno

32 (0,33); 41 (5,88); 53 (2,67); 59 (0,10); 65 (5,61); 77 (29,41); 86 (0,08); 93 (100,00); 102 (0,24); 107 (2,85); 115 (0,87); 121 (8,23); 128 (0,05); 136 (29,29); 146 (0,03); 154 (0,03).



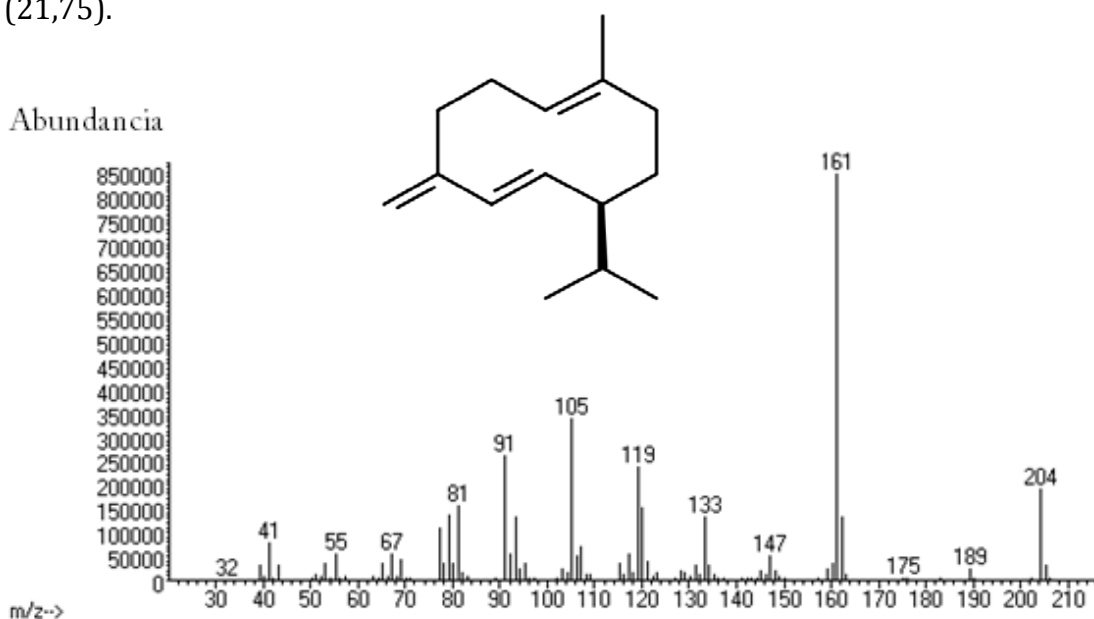
α -humuleno

32 (0,25); 41 (10,25); 53 (7,22); 67 (10,85); 80 (29,96); 93 (100,00); 107 (17,71); 121 (35,08); 136 (4,38); 147 (26,17); 161 (5,24); 175 (1,04); 189 (4,58); 204 (11,51).



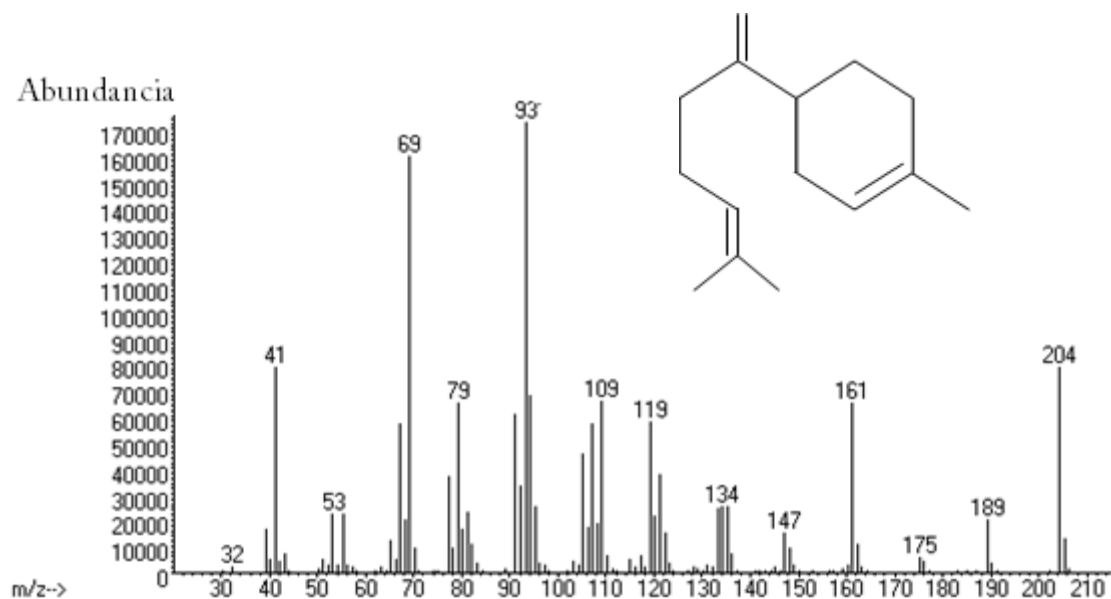
Germacreno D

32 (0,20); 41 (8,99); 55 (6,19); 67 (6,08); 81 (17,50); 91 (29,65); 105 (38,64); 119 (26,79); 133 (14,92); 147 (5,95); 161 (100,00); 175 (0,45); 189 (2,87); 204 (21,75).



β -bisaboleno

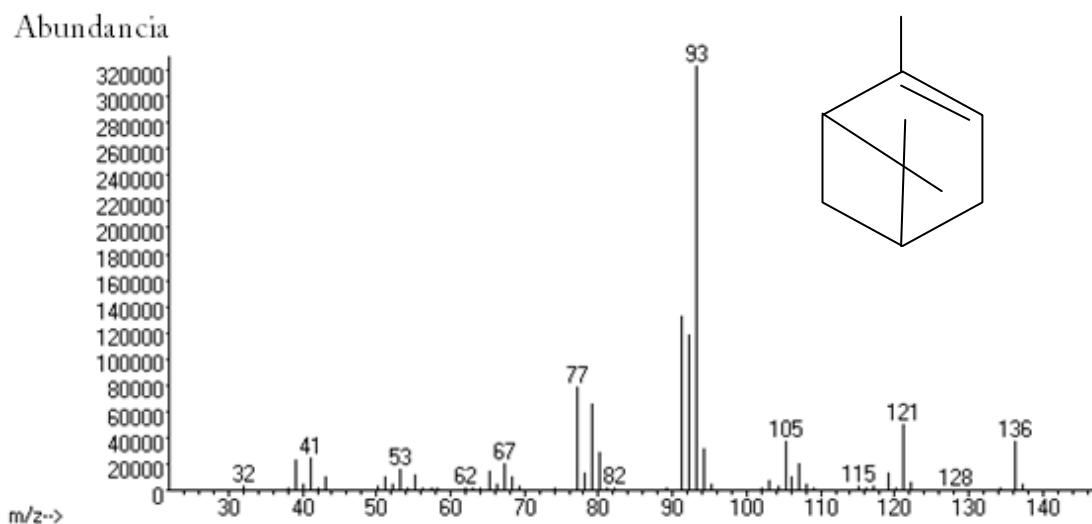
32 (1,24); 41 (44,36); 53 (12,58); 69 (90,57); 79 (36,58); 93 (100,00); 109 (37,24); 119 (32,60); 134 (14,20); 147 (8,51); 161 (36,62); 175 (3,13); 189 (11,45); 204 (44,31).



4.4.2 Datos espectrales de los compuestos mayoritarios de la especie *Hyptis suaveolens* en las columnas DB-5MS y HP-INNOWAX en CG-EM.

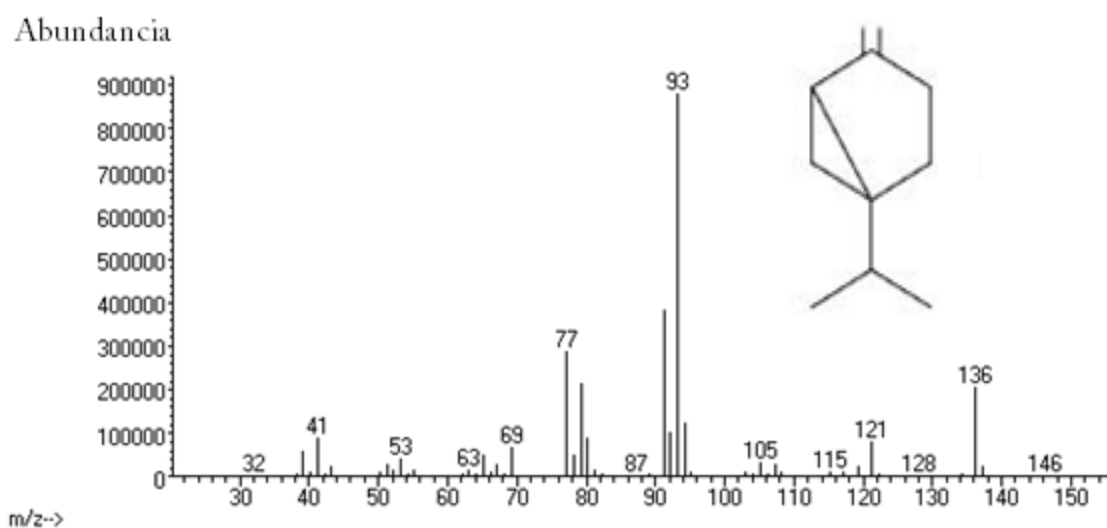
α -pineno

32 (0,73); 41 (7,26); 53 (4,82); 63 (1,42); 67 (5,98); 77 (23,66); 81 (2,75); 93 (100,00); 105 (11,31); 115 (1,02); 121 (15,18); 136 (11,32).



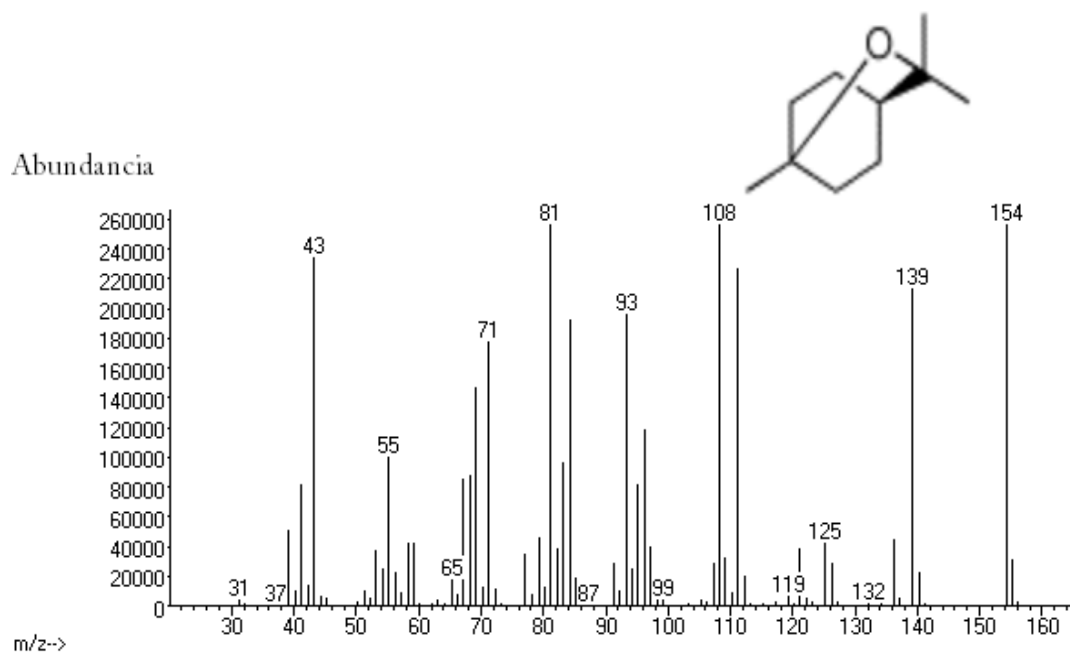
Sabineno

32 (0,19); 41 (9,61); 53 (4,25); 61 (0,11); 69 (7,25); 77 (31,02); 82 (0,54); 93 (100,00); 105 (3,30); 115 (1,02); 121 (8,70); 132 (0,31).



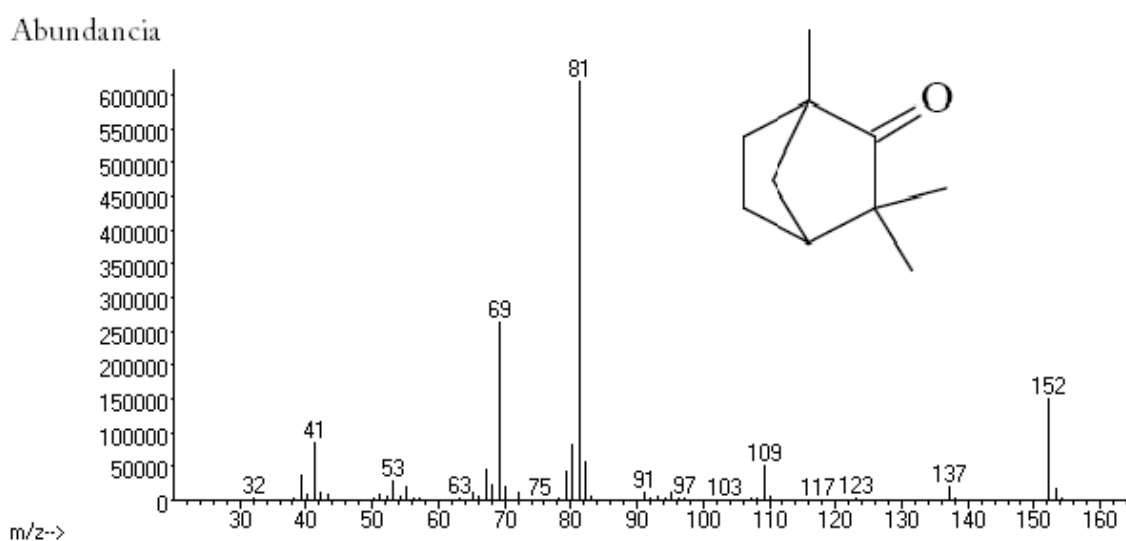
Eucaliptol

31 (1,32); 43 (87,50); 55 (37,43); 65 (6,62); 71 (66,50); 81 (97,84); 93 (73,44); 99 (1,24); 108 (100,00); 125 (15,70); 132 (0,55); 139 (79,48); 154 (98,04).



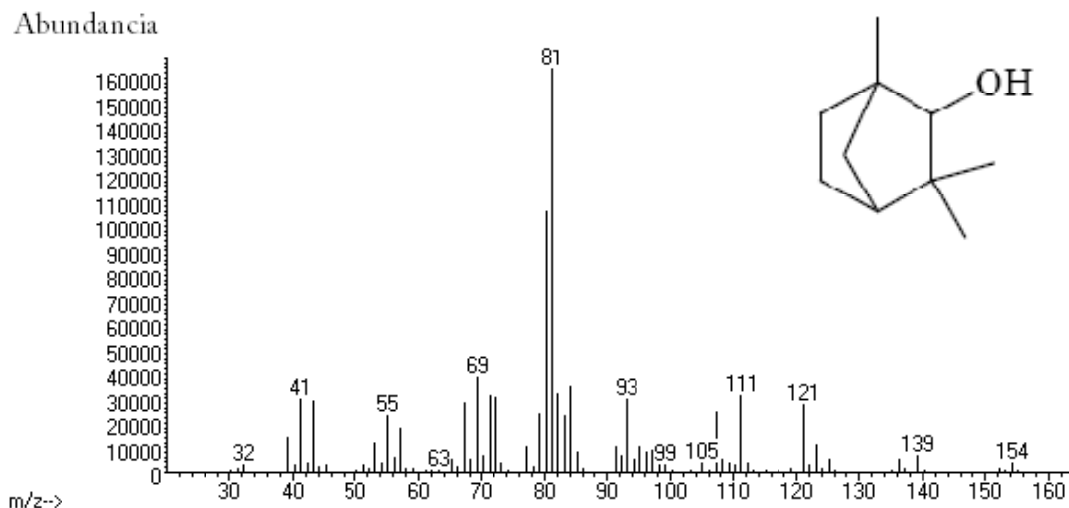
Fenchona

32 (0,34); 41 (13,31); 53 (4,25); 62 (0,12); 69 (41,09); 77 (2,92); 81 (100,00) 91 (1,84); 98 (0,02); 102 (0,03) 109 (7,89) 115 (0,03) 119 (0,14); 123 (0,51) 137 (3,04); 152 (23,46).



Fenchil alcohol

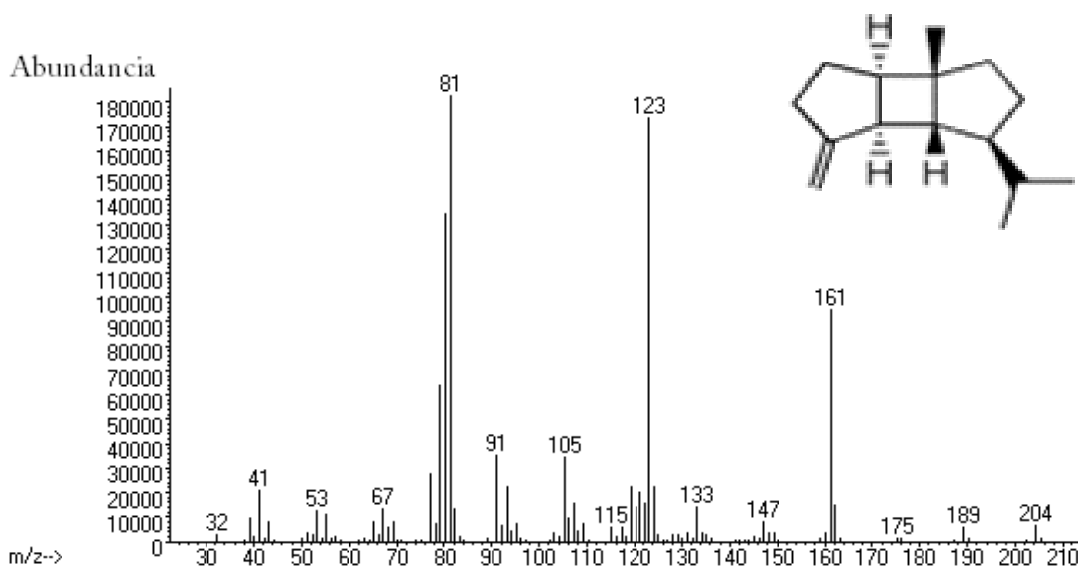
32 (1,53); 41 (17,51) 55 (13,38); 63 (0,54); 69 (22,53) 81 (100,00) 93 (17,67); 105 (2,27); 111 (18,19); 117 (0,17) 121 (16,13) 139 (3,75) 154 (2,05).



4.4.3 Datos espectrales de los compuestos mayoritarios de la especie *Hyptis pectinata* en las columnas DB-5MS y HP-INNOWAX en CG-EM.

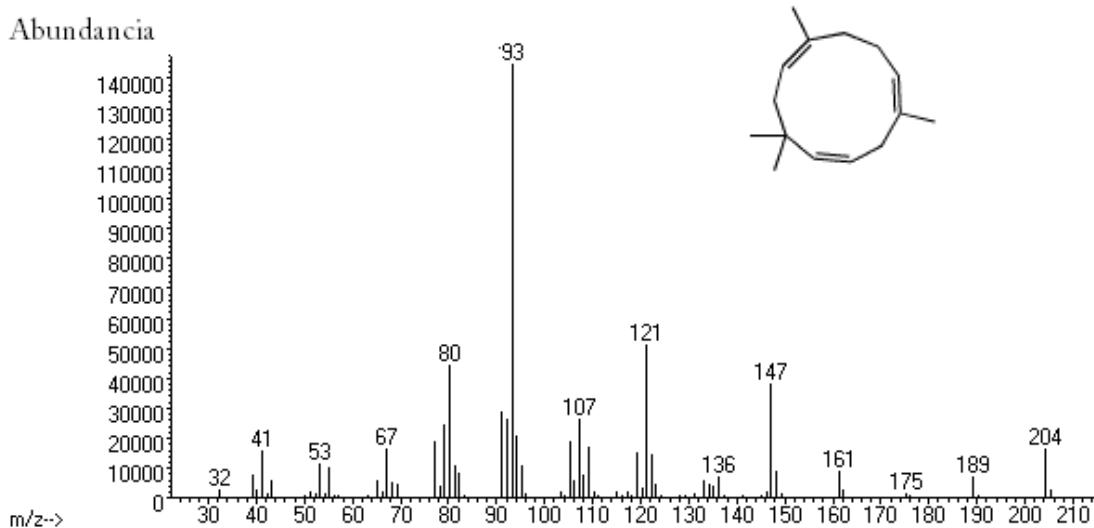
β -bourboneno

32 (1,35); 41 (11,16); 53 (6,84); 57 (1,08) 63 (0,70) 81 (100,00); 91 (18,81); 95 (3,84); 105 (18,47) 115 (2,96); 119 (12,13); 123 (93,33); 133 (7,66); 147 (4,33); 161 (50,95); 175 (0,75); 189 (3,27); 204 (3,30).



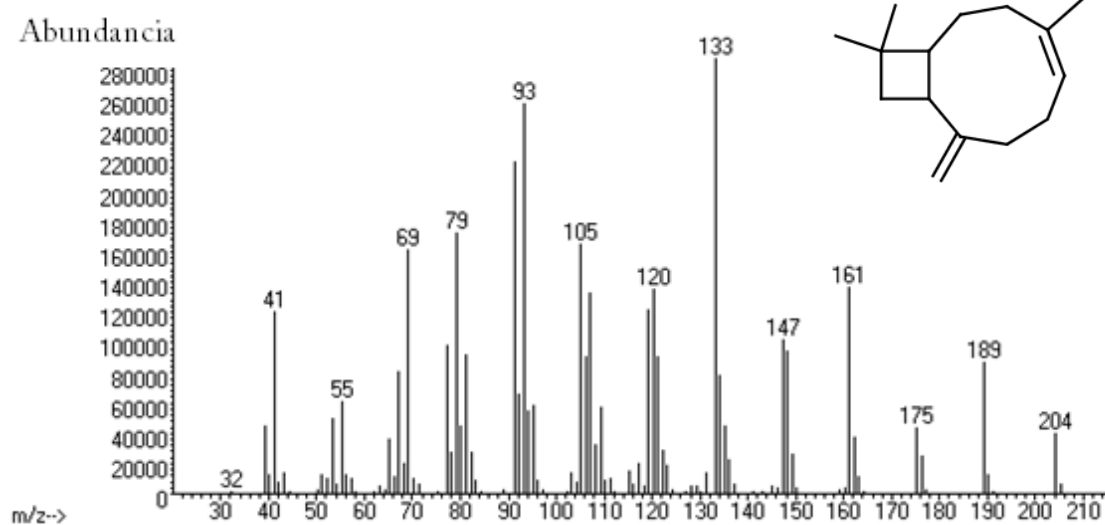
α -humuleno

32 (1,82); 41 (10,80); 53 (7,60); 67 (10,91); 80 (29,77); 93 (100,00); 107 (17,73);
110 (1,46); 121 (34,48); 136 (4,57); 147 (25,51); 161 (6,18) 175 (1,09); 189
(4,73); 204 (11,17).



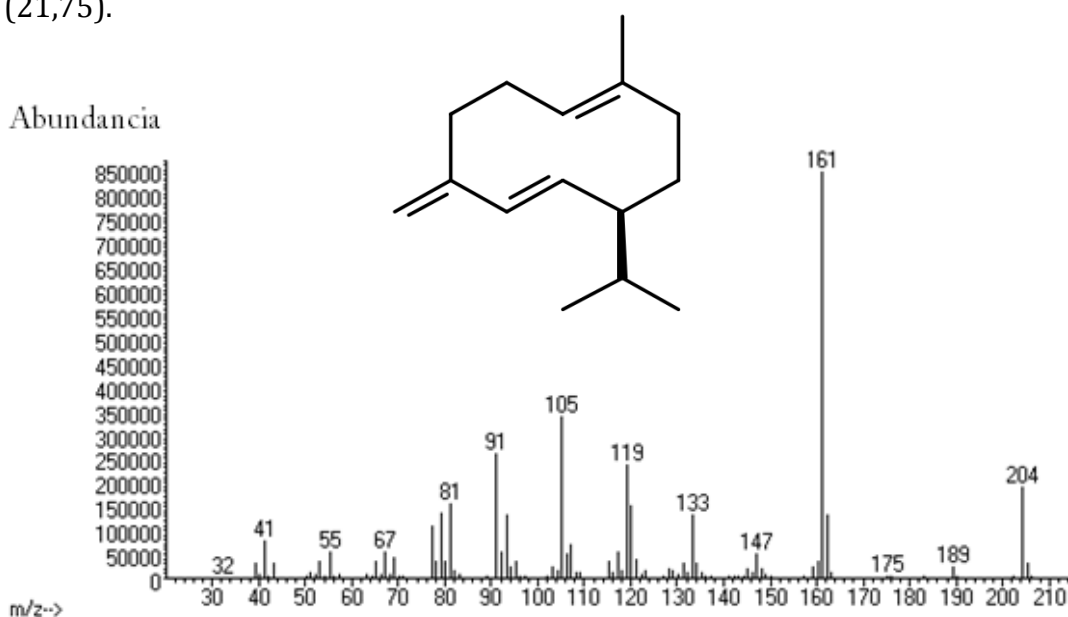
β -cariofileno

32 (0,51); 41 (40,29); 55 (19,94); 69 (54,15); 79 (58,60); 93 (87,81); 105 (56,43);
120 (45,93); 133 (100,00); 147 (34,62); 161 (49,38); 175 (14,44); 189 (31,10);
204 (14,18).



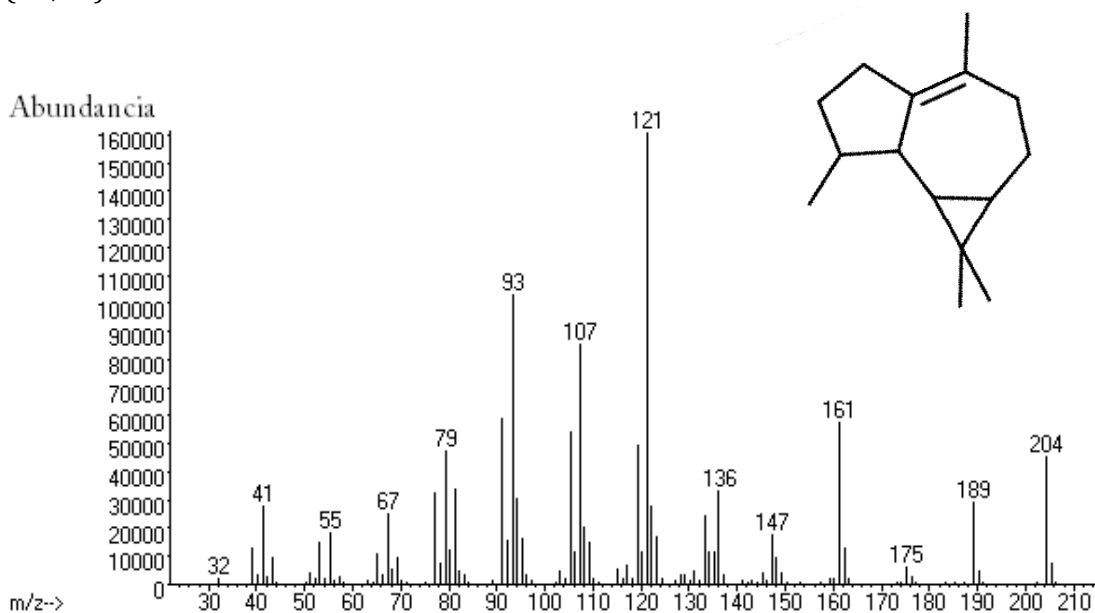
Germacreno D

32 (0,20); 41 (8,99); 55 (6,19); 67 (6,08); 81 (17,50); 91 (29,65); 105 (38,64); 119 (26,79); 133 (14,92); 147 (5,95); 161 (100,00); 175 (0,45); 189 (2,87); 204 (21,75).



Viridifloreno

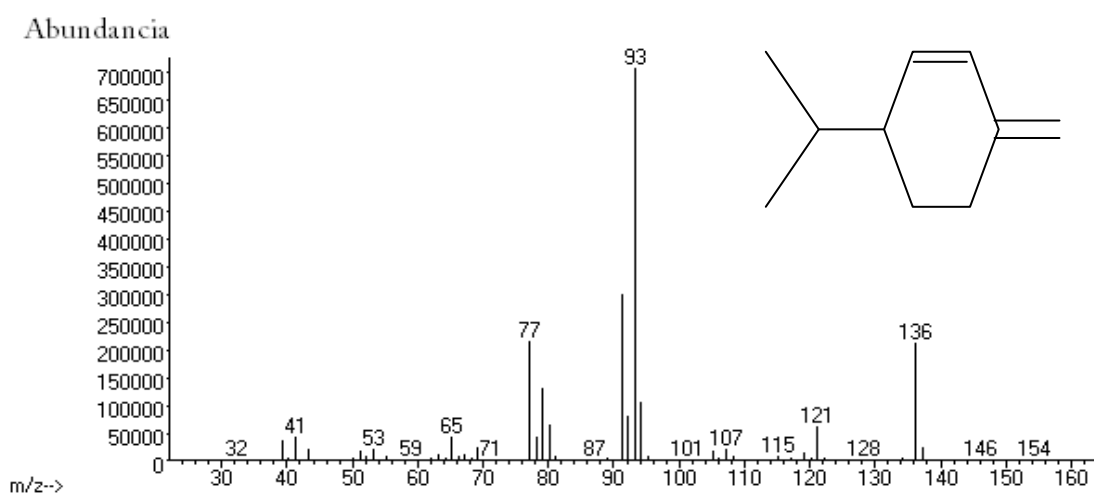
32 (1,40); 41 (16,84); 55 (11,18); 67 (15,39); 79 (28,69); 93 (62,51); 107 (51,79); 121 (100,00); 136 (20,26); 147 (10,62); 161 (35,23); 175 (3,52); 189 (17,70); 204 (27,60).



4.4.4 Datos espectrales de los compuestos mayoritarios de la especie *Lepechinia paniculata* en las columnas DB-5MS y HP-INNOWAX en CG-EM

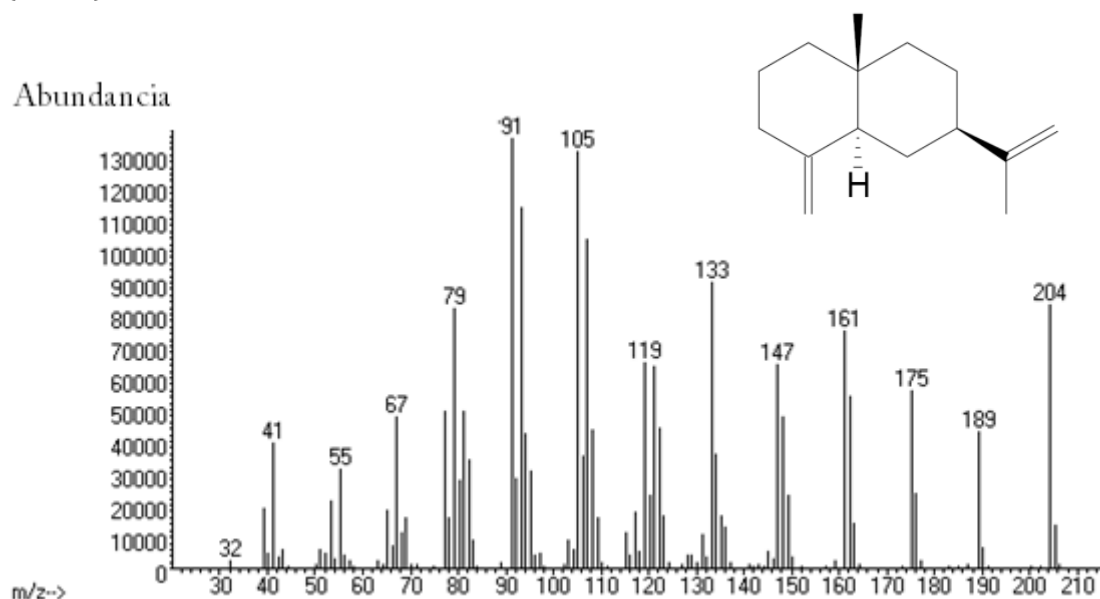
β -felandreno

32 (0,33) 41 (5,88) 53 (2,67) 59 (0,10) 65 (5,61) 69 (3,43) 77 (29,41) 86 (0,08) 93 (100,00) 102 (0,24) 107 (2,85) 115 (0,87) 121 (8,23) 128 (0,05) 136 (29,29) 146 (0,03) 154 (0,03).



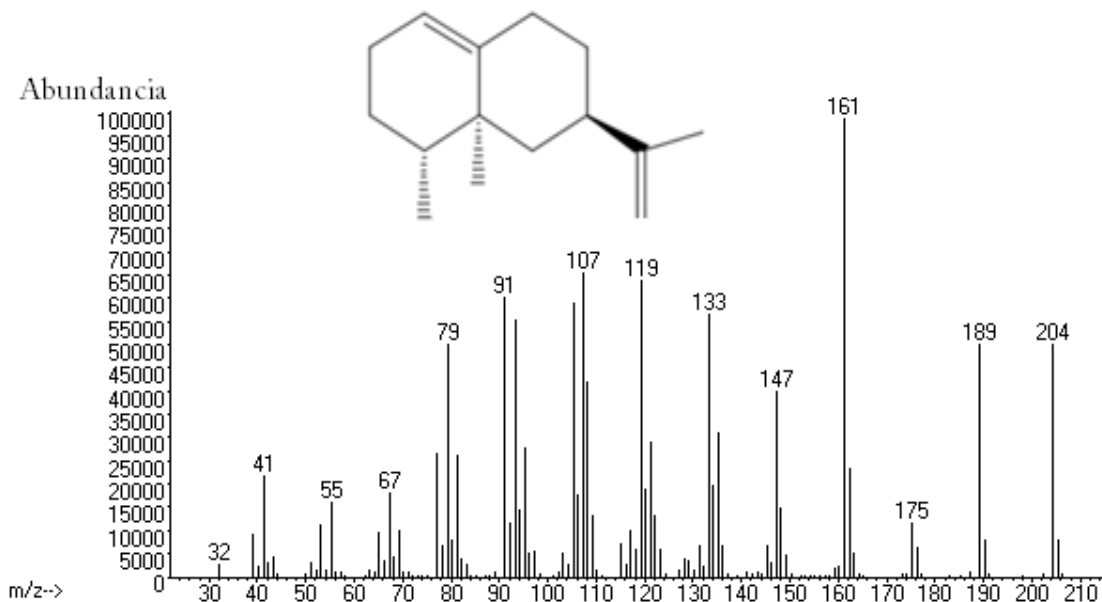
β -selineno

32 (1,58); 41 (28,28) 55 (22,57); 67 (34,32) 79 (59,10); 91 (100,00); 105 (94,37); 119 (46,75); 133 (65,01); 147 (46,35); 161 (53,78); 175 (40,38); 189 (30,86); 204 (60,01).



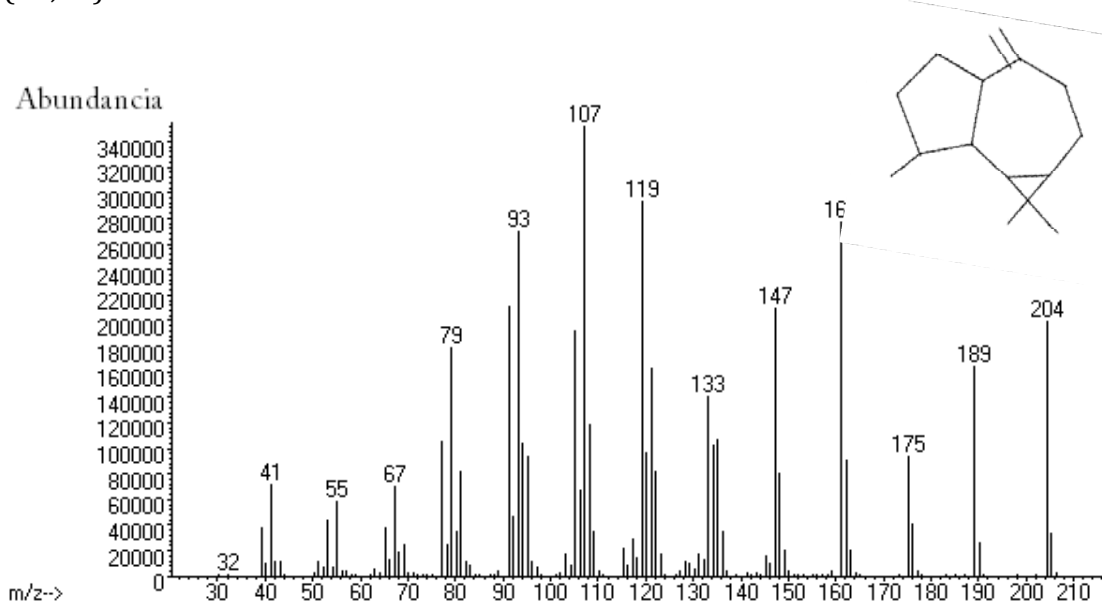
Valenceno

32 (2,47); 41 (21,50); 55 (15,84); 67 (17,99); 79 (49,71); 91 (59,65); 107 (65,02);
119 (63,57); 133 (56,21); 147 (39,71); 161 (100,00); 175 (11,36); 189 (49,51);
204 (49,62).



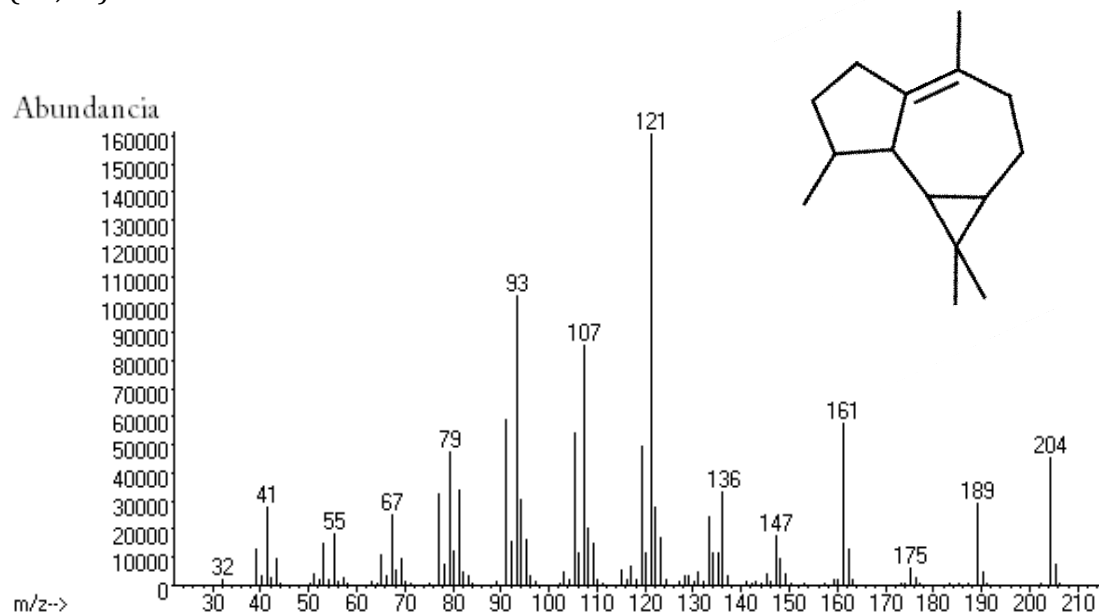
Aromadendreno

32 (0,38); 41 (19,94); 55 (16,40); 67 (19,64); 79 (49,76); 93 (75,21); 117 (8,05);
119 (81,58); 133 (39,25); 147 (58,49); 161 (77,32); 175 (25,99); 189 (45,74); 204
(55,60).



Viridifloreno

32 (1,40); 41 (16,84); 55 (11,18); 67 (15,39); 79 (28,69); 93 (62,51); 107 (51,79);
121 (100,00); 136 (20,26) 147 (10,62); 161 (35,23) 175 (3,52); 189 (17,70) 204
(27,60).



*CONCLUSIONES Y
RECOMENDACIONES*

Conclusiones

- Los rendimientos que se obtienen del aceite esencial de una misma especie varían debido al estado fenológico, el clima, el tiempo, etc., en que se encontró la planta el momento de la recolección; es por esto que para el caso específico de *Hyptis suaveolens* el rendimiento obtenido del aceite esencial para la primera recolección (0.059%) varía con respecto al obtenido en la segunda (0.092%) y tercera (0,167%) recolección, debido a que en estas dos últimas la especie tenía presencia de semillas, las mismas que no estuvieron presentes en la primera recolección.
- El rendimiento del aceite esencial en la especie *Scutellaria volubilis* de la primera recolección (0,041%) presenta una variación con respecto al rendimiento de la segunda (0,021%) y tercera (0,023%), lo cual se puede inferir que se debe a que en la primera recolección se tuvo presencia de planta arbustiva, lo cual no sucedió en la segunda y tercera recolección donde solo se encontró hierba pequeña, se tuvo que realizar la recolección de esta manera por ser una especie silvestre y de baja densidad poblacional.
- Las densidades obtenidas para los aceites esenciales son: *Scutellaria volubilis* (0.892, 0.894, 0.893g/cm³), *Hyptis suaveolens* (0.897, 0.896, 0.892 g/cm³), *Hyptis pectinata* (0.908, 0.894 y 0.893 g/cm³) y *Lepechinia paniculata* (0.895, 0.898, 0.899 g/cm³), datos que confirman que los aceites esenciales son menos densos que el agua.
- El aceite esencial de la especie *Lepechinia paniculata* se presentó en estado semisólido a temperatura ambiente (entre 18-20°C).
- La actividad óptica de los aceites esenciales es levógira (-) para los aceites de las especies *Scutellaria volubilis*, *Hyptis pectinata* y *Lepechinia paniculata*; mientras que para el aceite de *Hyptis suaveolens* es dextrógira (+).

- La composición química identificada de cada especie en las tres recolecciones es: para *Scutellaria volubilis* (84,94%, 83,31% y 82,06%), *Hyptis suaveolens* (87,99%; 88,65% y 88,53%), *Hyptis pectinata* (88,09%; 88,17% y 88,13%) y para *Lepechinia paniculata* es de (80,36%, 80,96% y 81,47%).

- De la composición química del aceite esencial de la especie *Scutellaria volubilis* se determinaron 36 compuestos de los cuales se identificaron 22 y los más abundantes son: germacreno D (21,255%; 19,87%; 20,14%), β -cariofileno (18,94%; 17,08%; 16,60%), α -humuleno (15,80%; 13,58%; 14,81%), β -felandreno (6,35%; 7,76%; 6,49%) y β -bisaboleno (4,70%; 6,46%; 6,24%).

- Para la especie *Hyptis suaveolens* se identificaron 20 compuestos del total de su composición química, siendo los de mayor abundancia eucaliptol (38,44%; 39,53%; 39,07%), sabineno (17,32%; 16,71%; 15,92%), fenchona (9,56%; 9,03%; 10,37%), α -pineno (6,75%; 6,64%; 6,83%) y fenchil alcohol (4,38%; 5,05%; 4,57%).

- Se identificaron al germacreno D (33,84%; 33,74%; 34,81%), β -cariofileno (21,24%; 21,33%; 20,96%), β -bourboneno (9,21%; 9,24%; 9,43%), viridifloreno (8,33%; 8,32%; 8,18%), y α -humuleno (2,90%; 2,91%; 3,09%), como los compuestos mayoritarios del aceite esencial de la especie *Hyptis pectinata*, teniendo un total de 21 compuestos determinados de los cuales se identificaron 16.

- La especie *Lepechinia paniculata* es una especie endémica del Ecuador la cual presenta como los compuestos de mayor abundancia de su aceite esencial al aromadendreno (24,28%; 24,26%; 25,39), viridifloreno (12,52%; 12,09%; 12,51%), β -selineno (7,29%; 7,26%; 7,55%), β -felandreno (7,76%; 7,77%; 7,62%) y valenceno (6,44%; 6,52%; 7,04%), especie en la cual se identificó 19 compuestos de 35 determinados.

- La especie *Hyptis pectinata* y *Scutellaria volubilis* presentan los mismos compuestos mayoritarios en diferentes porcentajes: germacreno D (20,42%) y

β -cariofileno (17,54%) para el aceite de *Scutellaria volubilis*, y para *Hyptis pectinata* germacreno D (34,13%) y β -cariofileno (21,18%).

- Para la especie *Hyptis suaveolens* predominan los monoterpenos como componentes mayoritarios, mientras que para la especie *Hyptis pectinata* sus compuestos mayoritarios son del grupo de los sesquiterpenos.
- La composición química del aceite esencial entre las recolecciones de una misma especie presenta en la parte cuantitativa en una mínima variación, más no en la cualitativa.
- La variación en el porcentaje de cantidad relativa de los aceites esenciales entre las diferentes recolecciones de una misma especie se debe a factores extrínsecos.

Recomendaciones

- ✓ Se debe realizar estudios más detallados de cómo los factores extrínsecos intervienen en la composición química y propiedades físicas de los aceites esenciales.

- ✓ Antes de comenzar un estudio de un aceite esencial de una planta silvestre se debe tener claro si su población es lo suficientemente abundante para empezar una investigación.

- ✓ Adquirir un equipo específico para la determinación de la actividad óptica de aceites esenciales.

- ✓ Continuar con el estudio de los aceites esenciales de la flora aromática de la provincia de Loja.

- ✓ Realizar un estudio más amplio y detallado de los aceites esenciales de las especies *Hyptis suaveolens* y *Lepechinia paniculata*, dado que estas especies tuvieron un mayor rendimiento en sus aceites; y en especial la *Lepechinia paniculata* ya que es una planta endémica del Ecuador.



ANEXOS

ANEXO I
DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD

Principio:

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

Material

- Estufa
- Pinza
- Balanza
- Crisol
- Desecador

Procedimiento

- Pesar en una cápsula o luna de reloj de 2 a 10 gramos de la muestra; seguidamente colocarla durante dos horas en una estufa a 105°C (+/- 5°C).
- Enfriar la cápsula en el desecador por 10 min. 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 una hora, enfriar en el desecador y pesar.
- Repetir el procedimiento hasta que el peso de la cápsula sea constante. Dicho peso se toma como m2.

Cálculo:

$$Hm = \frac{m1 - m2}{m1 - m} * 100$$

Donde:

Hm = porcentaje 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 II

DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA A 20°C

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 esencial 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 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. Cuando se equilibre la temperatura en el cuarto de la 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 a 20°C. Coloque el picnómetro en el baño termostático. Durante 30 min ajustar el nivel del agua hasta la marca, poner el tapón del picnómetro en su sitio, secar el exterior del picnómetro. Cuando se equilibre la temperatura

con el cuarto de balanzas pesar el picnómetro lleno con el tapón en su sitio con 1 mg de precisión lleno igual que en el caso anterior.

- **Peso del aceite esencial:** Vaciar el picnómetro, enjuagar y secar como en el inicio. Efectuar las mismas operaciones pero en lugar de agua hacerlo con aceite esencial.

Expresión de resultados:

La densidad relativa se la expresa con la siguiente fórmula:

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

Donde:

d_{20}^{20} = densidad relativa a 20°C, referido al agua a 20°C.

m_0 = es la masa en gramos del picnómetro vacío.

m_1 = es la masa en gramos del picnómetro con agua.

m_2 = es la masa en gramos del picnómetro con el aceite esencial.

Se expresará los resultados con tres decimales.

ANEXO III

DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN

Principio:

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 D_1 y D_2 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 esencial considerado.

Principio:

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

Aparatos:

- **Refractómetro:** Utilice 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 .
Ajuste 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 y 30°C, según el punto de fusión del aceite esencial considerado. Esta temperatura no debe diferir de la temperatura de referencia más de $\pm 0.2^\circ\text{C}$ y debe mantenerse a $\pm 0.2^\circ\text{C}$.
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.

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

Donde:

$n_D^{t'}$ = valor de la lectura, obtenida a la temperatura t' , o aquella a la que se ha efectuado la determinación.

0.0004 = factor de corrección

t' = temperatura a la que se efectuó la temperatura

t = temperatura a 20°C

Nota:

- Expresar los resultados con cuatro cifras decimales.
- La precisión de la determinación es de ± 0.0002 .

ANEXO IV

DETERMINACIÓN DE LA ROTACIÓN ÓPTICA

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.

Definiciones:

Rotación óptica de un aceite esencial: $\alpha'D$ Ángulo expresado en mili radianes y/o grados del ángulo descrito por la polarización plana de una radiación luminosa cuya longitud de onda es $589.3\text{nm} \pm 0.3\text{nm}$, correspondiente a las D líneas de sodio, cuando el trayecto de luz atraviesa 100nm del espesor de un aceite esencial, a ciertas temperaturas.

Nota: Cuando la determinación ocurre con diferentes espesores el valor de la rotación óptica deberá ser computado en relación al espesor de 100nm . También la medida acordada por el Faraday magneto – óptico en principio es posible. El espesor de la muestra en este caso es de 10nm .

Rotación de un aceite esencial en solución (rotación específica α).

La rotación óptica de una solución de aceite esencial dividida para la masa de aceite esencial por unidad de volumen.

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 etanol al 95% en volumen, 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 $+604\text{mrad}$ 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 agua que está circulando con un control termostático, mantener la temperatura especificada durante la determinación.

Llenar el tubo con la muestra y asegurarse que no existan burbujas. Coloque el tubo en el polarímetro y lea la dextro rotación (+) o la levo rotación (-) del aceite esencial que en la escala muestra el instrumento.

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

Número de determinaciones

Realizar al menos tres repeticiones por muestra. Tome como resultado el valor obtenido de las tres mediciones, de manera que entre ellos no haya una diferencia de más de 1.4mrad (0.08°)

Resultados:

Cálculos y fórmulas

La rotación óptica expresada en miliradianes o en grados del ángulo está dada por la ecuación:

$$\alpha'D = A/l * 100$$

A = es el valor del ángulo de rotación en mrad o grados del ángulo.

l = es la longitud del tubo usado en mm. Marque como (+) la rotación hacia la derecha en el sentido de las manecillas del reloj y como (-), en el sentido contrario a las manecillas del reloj.

Cuando por los tubos de pared gruesa la circulación de agua no es correcta, es necesario aplicar factores de corrección apropiados o de acuerdo al aceite ensayado (para aceites esenciales de cítricos y para otros se conocen factores de corrección específicos).

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

Rotación óptica de un aceite esencial en solución, “Rotación específica”

La rotación específica expresada en mili radianes o grados del ángulo está dada por la ecuación:

$$[\alpha] = \alpha'D/C$$

Donde:

$\alpha'D$ = es la rotación óptica del aceite esencial en solución.

C = concentración de la solución del aceite esencial, en gramos de aceite esencial por ml de solución.

Precisión:

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

ANEXO V
ABREVIATURAS

CG-EM	Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.
CG-FID	Cromatografía de gases acoplado al detector de Ionización de llama.
U.T.P.L	Universidad Técnica Particular de Loja
tr	Tiempo de retención
IK	Índices de Kovats
UEL	Universidad del Estado de Lagos
UOA	Universidad de Obafemi Awolowo
C.E.T.T.I.A	Centro de Transferencia de Tecnología e Investigación Agroindustrial
I.Q.A	Instituto de Química Aplicada.
SVV1	Aceite esencial de la especie <i>Scutellaria volubillis</i> de la recolección 1.
SVV2	Aceite esencial de la especie <i>Scutellaria volubillis</i> de la recolección 2.
SVV3	Aceite esencial de la especie <i>Scutellaria volubillis</i> de la recolección 3.
HSC1	Aceite esencial de la especie <i>Hyptis suaveolens</i> de la recolección 1.
HSC 2	Aceite esencial de la especie <i>Hyptis suaveolens</i> de la recolección 2.
HSC3	Aceite esencial de la especie <i>Hyptis suaveolens</i> de la recolección 3.
HPP1	Aceite esencial de la especie <i>Hyptis pectinata</i> de la recolección 1
HPP2	Aceite esencial de la especie <i>Hyptis pectinata</i> de la recolección 2.
HPP3	Aceite esencial de la especie <i>Hyptis pectinata</i> de la recolección 3.
LPS1	Aceite esencial de la especie <i>Lepechinia paniculata</i> de la recolección 1.
LPS2	Aceite esencial de la especie <i>Lepechinia paniculata</i> de la recolección 2.
LPS3	Aceite esencial de la especie <i>Lepechinia paniculata</i> de la recolección 3.