



Universidad Técnica Particular de Loja

La Universidad Católica de Loja

## ESCUELA DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS AGROPECUARIAS

TEMA:

"DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES FÍSICO – QUÍMICAS DE  
LOS ACEITES ESENCIALES DE CUATRO ESPECIES DE LA  
FAMILIA ASTERACEAE: *Ageratina dendroides*, *Ageratina  
pichinchensis*, *Coreopsis venusta* Kunth y *Gynoxys verrucosa*  
Weed DE LA PROVINCIA DE LOJA"

TESIS DE GRADO PREVIA A LA OBTENCIÓN  
DEL TÍTULO DE: INGENIERO EN INDUSTRIAS  
AGROPECUARIAS

AUTOR:

*Richard Taylor Aguilera Sarmiento*

DIRECTOR:

*Ing. Eduardo Benito Valarezo Valdez*

Loja - Ecuador  
2010

## TEMA

**“DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES FÍSICO – QUÍMICAS DE LOS ACEITES ESENCIALES DE CUATRO ESPECIES DE LA FAMILIA ASTERACEAE: *Ageratina dendroides*, *Ageratina pichinchensis*, *Coreopsis venusta* Kunth y *Gynoxys verrucosa* Weed DE LA PROVINCIA DE LOJA”**

## *CESIÓN DE DERECHOS DE TESIS*

*"Yo, Richard Taylor Aguilera Sarmiento 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, Noviembre del 2010.*

---

*Richard Taylor Aguilera Sarmiento*

# CERTIFICACIÓN

Loja, Noviembre del 2010

Ing. Eduardo Valarezo

**DOCENTE INVESTIGADOR DE LA UTPL**

**DIRECTOR DE LA TESIS:**

CERTIFICO:

Que el presente trabajo de investigación titulado: **“DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES FÍSICO - QUÍMICAS DE LOS ACEITES ESENCIALES DE CUATRO ESPECIES DE LA FAMILIA ASTERACEAE: *Ageratina dendroides*, *Ageratina pichinchensis*, *Coreopsis venusta* Kunth y *Gynoxys verrucosa* Weed DE LA PROVINCIA DE LOJA”** cumple con los requisitos que exige el reglamento de la Escuela de Ingeniería en Industrias Agropecuarias de la Universidad Técnica Particular de Loja, tanto en aspectos de forma y contenido, por lo cual me permito autorizar su presentación para los fines pertinentes.

---

Ing. Eduardo Valarezo

DIRECTOR DE TESIS

# AUTORÍA

Los conceptos, la presentación, y los procedimientos, así como, los resultados y conclusiones vertidos en el presente trabajo de tesis son de responsabilidad absoluta de su autor.

---

*F. Richard Taylor Aquilera Sarmiento*

## AGRADECIMIENTO

Gracias DIOS mío por darme la vida, sabiduría, la confianza en mí mismo que lo puedo lograr y la fuerza de voluntad para terminar mi carrera.

Mi agradecimiento al Ing. Eduardo Valarzo, director de tesis, por haber erizado primeramente en mí que podía hacerlo, gracias por la entrega valiosa de su tiempo para poder culminar la misma, le estaré siempre muy agradecido por haberme abierto las puertas del I.Q.A y por haber terminado con éxito esta tesis.

A al personal del Instituto de Química Aplicada, así como también al personal del laboratorio de Análisis Instrumental por su apoyo durante el desarrollo de la investigación y su ayuda brindada durante el desarrollo de la misma.

A la Ingeniera Ruth Martínez por su valiosa aceptación para poder llevar a cabo el desarrollo de la presente tesis y llegar con éxito a su finalización.

A Dr. Omar Malagón Director de la Escuela de Ingeniería Química por la apertura que me dio y su aceptación del presente tema de tesis para poder graduarme y culminar un punto más de mi vida.

Finalmente a todo el personal del IQA principalmente al Ing. Chabaco Armijos por su apoyo incondicional y por estar siempre pendiente día a día de la culminación de la misma.

Gracias a todos.  
At. Richard Aguilera S.

# DEDICATORIA

Dedico a Dios por la fuerza que cada día me da para culminar las metas empezadas y no dejarme vencer por nada.

A mi padre Richard y a mis abuelitos Ricardo y Vicenta que están en el cielo que son mi fuerza y mi luz que me guían día a día por el camino del bien, quiero decirles que los amo y que los extraño mucho.

A mi esposa Miriam Dolores Rojas por su apoyo incondicional y porque siempre está pendiente de que culmine lo que se empieza, a mi hijo: Junior quien siempre con su amor tierno me da las fuerzas para día a día seguir adelante y que Dios me lo bendiga siempre.

A mi ángel guardián Thalía que es la luz que me indica por donde debo ir para alcanzar mis metas, te extrañamos mucho ñañita.

A mis suegros porque han sido mi guía y mi puntal que me afianzo para lograr mi meta, así como también a mi ñañita Thais que con su llegada a nuestras vidas y su tierna dulzura nos hace que cada día tengamos más fuerzas para seguir adelante y sobre todo ver lo grande que es nuestro padre Dios. .

A mi nana Betty porque siempre está pendiente de mí cada día que pasa y nunca nos olvida.

RICHARD TAYLOR..

# ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>CESIÓN DE DERECHOS</b>	<b>I</b>
<b>CERTIFICACIÓN</b>	<b>II</b>
<b>AUTORÍA</b>	<b>III</b>
<b>AGRADECIMIENTO</b>	<b>IV</b>
<b>DEDICATORIA</b>	<b>V</b>
<b>ÍNDICE</b>	<b>VI</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>XIII</b>
<b>RESÚMEN</b>	<b>XVII</b>
<b>I. FIN, PROPÓSITO Y COMPONENTES DEL PROYECTO</b>	
1.1. Fin del proyecto	02
1.2. Propósito del proyecto	02
1.3. Componentes del proyecto	02
1.4. Diseño Experimental	02
1.5. Diseño Estadístico	03
<b>II. INTRODUCCIÓN, JUSTIFICACIÓN Y ANTECEDENTES.</b>	
2.1. Introducción	05
2.2. Justificación	10
2.3. Antecedentes	11
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	
3.1. Recolección y selección de la materia vegetal	18
3.1.1. Recolección de la materia vegetal	18
3.1.2. Selección de la materia vegetal	20
3.2. Destilación de la materia vegetal	21
3.3. Determinación de propiedades físicas de los aceites esenciales	23
3.3.1. Determinación de la densidad relativa a 20°C.	23
3.3.2. Determinación del índice de refracción	24
3.3.3. Determinación de la rotación óptica.	24
3.4. Determinación de la composición química de los aceites esenciales	25
3.4.1. Cromatografía de gases	25



3.4.2. Preparación de las muestras	28
3.4.2.1. Corrida cromatográfica de las muestras por CG – EM en la columna capilar DB-5MS.	28
3.4.2.2. Corrida cromatográfica de las muestras por CG – EM en la columna capilar HP-INNOWAX.	30
3.4.3. Obtención de los cromatogramas.	31
3.4.4. Determinación de los índices de Kovalts	32
3.4.5. Identificación de los compuestos en CG – EM en las columnas capilares de DB-5MS y HP-INNOWAX.	32
3.4.6. Corrida cromatográfica de las muestras por CG – FID en la columna capilar DB-5MS.	33
3.4.7. Corrida cromatográfica de las muestras por CG – FID en la columna capilar HP-INNOWAX.	35
3.4.8. Identificación de los compuestos de CG– FID en las columnas capilares DB-5MS y capilar HP-INNOWAX.	36

#### **IV. ANÁLISIS Y RESULTADOS**

4.1. Estado fenológico de las especies recolectadas	38
4.2. Humedad, rendimiento y propiedades físicas	38
4.3. Composición química de los aceites esenciales	40
4.3.1. Composición química del aceite esencial de la especie <i>Coreopsis venusta</i> Kunth.	41
4.3.2. Composición química del aceite esencial de la especie <i>Gynoxys verrucosa</i> Weed.	45
4.3.3. Composición química del aceite esencial de la especie <i>Ageratina dendroides</i> .	49
4.3.4. Composición química del aceite esencial de la especie <i>Ageratina pichinchensis</i> .	53
4.4. Estudio de reproductibilidad de los tiempos de retención y de los índices Kovats.	56
4.5. Espectros de masa.	59

V.	CONCLUSIONES	75
VI.	RECOMENDACIONES	77
VII.	BIBLIOGRAFÍA	78
VIII.	ÍNDICE.	80

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO	DESCRIPCIÓN	PÁG.
<b>GRÁFICO 01:</b>	Variables que intervienen en la presente investigación	3
<b>GRÁFICO 02:</b>	Área de estudio de las especies, <i>Coreopsis venusta</i> Kunth, <i>Gynoxys verrucosa</i> Weed, <i>Ageratina dendroides</i> , <i>Ageratina pichinchensis</i> en la provincia de Loja.	20
<b>GRÁFICO 03:</b>	Proceso de destilación por arrastre con vapor	22
<b>GRÁFICO 04:</b>	Esquema simplificado de las corridas cromatográficas	27
<b>GRÁFICO 05:</b>	Parámetros operacionales del CG-EM en la columna DB-5MS	29
<b>GRÁFICO 06:</b>	Parámetros operacionales del CG-EM en la columna HP – INNOWAX.	30
<b>GRÁFICO 07:</b>	Cromatograma	31
<b>GRÁFICO 08:</b>	Datos espectrales del compuesto $\alpha$ -pineno	32
<b>GRÁFICO 09:</b>	Parámetros de operación para la columna capilar DB-5MS para CG-FID	34
<b>GRÁFICO 10:</b>	Parámetros operacionales del CG-FID en la columna HP-INNOWAX	35
<b>GRÁFICO 11:</b>	Cromatograma de la especie <i>coreopsis venusta</i> kunth. a. Columna DB-5MS (muestra 112) en CG-EM y b. Columna HP-INNOWAX (muestra 112) en CG-EM	42

<b>GRÁFICO 12:</b> Compuestos mayoritarios del aceite esencial de la especie <i>Coreopsis venusta</i> Kunth	44
<b>GRÁFICO 13:</b> Cromatograma de la especie <i>Gynoxys verrucosa</i> a. Columna DB-5MS (muestra 223) en CG-EM y b. Columna HP-INNOWAX (muestra 223) en CG-EM.	46
<b>GRÁFICO 14:</b> Compuestos mayoritarios de la especie <i>Gynoxys verrucosa</i> Weed	48
<b>GRÁFICO 15:</b> Cromatograma de la especie <i>Ageratina dendroides</i> a. Columna DB-5MS (muestra 332) en CG-EM y b. Columna HP-INNOWAX (muestra 332) en CG-EM.	50
<b>GRÁFICO 16:</b> Compuestos mayoritarios del aceite esencial de la especie <i>Ageratina dendroides</i>	52
<b>GRÁFICO 17:</b> Cromatograma de la especie <i>Gynoxys verrucosa</i> a. Columna DB-5MS (muestra 441) en CG-EM y b. Columna HP-INNOWAX (muestra 441) en CG-EM.	54
<b>GRÁFICO 18:</b> Compuestos mayoritarios de la especie <i>Ageratina</i> <i>pichinchensis</i>	56
<b>GRÁFICO 19:</b> Datos espectrales del compuesto $\alpha$ -pineno	59
<b>GRÁFICO 20:</b> Datos espectrales del compuesto limoneno	60
<b>GRÁFICO 21:</b> Datos espectrales del compuesto pseudolimoneno	60
<b>GRÁFICO 22:</b> Datos espectrales del compuesto biciclo-hexano	61
<b>GRÁFICO 23:</b> Datos espectrales del compuesto trans-ocimeno	61

<b>GRÁFICO 24:</b> Datos espectrales del compuesto felandreno	62
<b>GRÁFICO 26:</b> Datos espectrales del compuesto benzenol	63
<b>GRÁFICO 27:</b> Datos espectrales del compuesto $\alpha$ -bergamoteno	63
<b>GRÁFICO 28:</b> Datos espectrales del compuesto zingibereno	64
<b>GRÁFICO 29:</b> Datos espectrales del compuesto felandreno	64
<b>GRÁFICO 30:</b> Datos espectrales del compuesto $\alpha$ -cubebeno	65
<b>GRÁFICO 31:</b> Datos espectrales del compuesto $\beta$ -cubebeno	65
<b>GRÁFICO 32:</b> Datos espectrales del compuesto s-cadineno	66
<b>GRÁFICO 33:</b> Datos espectrales del compuesto zingibereno	66
<b>GRÁFICO 34:</b> Datos espectrales del compuesto $\beta$ -cubebeno	67
<b>GRÁFICO 35:</b> Datos espectrales del compuesto $\beta$ -caryopileno	67
<b>GRÁFICO 36:</b> Datos espectrales del compuesto precoceno I	68
<b>GRÁFICO 37:</b> Datos espectrales del compuesto pentanal	68
<b>GRÁFICO 38:</b> Datos espectrales del compuesto bicilogermacreno	69

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>TABLA</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>	<b>PÁG.</b>
<b>TABLA 1:</b>	Características de las columnas capilares	26
<b>TABLA 2:</b>	Estado fenológico de las especies recolectadas	38
<b>TABLA 3:</b>	Humedad, rendimiento y propiedades físicas de los aceites esenciales	39
<b>TABLA 4:</b>	Composición química del aceite esencial de la especie <i>Coreopsis venusta</i>	43
<b>TABLA 5:</b>	Composición química del aceite esencial de la especie <i>Gynoxys verrucosa</i> Weed	47
<b>TABLA 6:</b>	Composición química del aceite esencial de la especie <i>Ageratina dendroides</i>	51
<b>TABLA 7:</b>	Composición química del aceite esencial de la especie <i>Ageratina pichinchensis</i>	55
<b>TABLA 8:</b>	Reproductibilidad de los tiempos de retención de algunos componentes de los 4 aceites esenciales.	57
<b>TABLA 9:</b>	Reproductibilidad de los índices de Kovats de algunos compuestos de los 4 aceites esenciales	58

## ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

<b>FOTOGRAFÍA</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>	<b>PÁG.</b>
<b>FOTOGRAFÍA 01:</b>	Muestra de herbario <i>Ageratina dendroides</i>	12
<b>FOTOGRAFÍA 02:</b>	Muestra de herbario <i>Ageratina pichinchensis</i>	13
<b>FOTOGRAFÍA 03:</b>	Muestra de herbario <i>Gynoxys verrucosa</i> Weed	14
<b>FOTOGRAFÍA 04:</b>	Muestra de herbario <i>Coreopsis venusta</i> Kunth	15
<b>FOTOGRAFÍA 05:</b>	Recolección de la materia prima	18
<b>FOTOGRAFÍA 06:</b>	Selección de la materia vegetal	21
<b>FOTOGRAFÍA 07:</b>	Cromatógrafo de Gases	26
<b>FOTOGRAFÍA 08:</b>	Muestras de aceite esencial, envases de 10 ml y viales para inyección cromatografica	28

# DETERMINATION OF PHYSICAL – CHEMICAL PROPERTIES OF ESSENTIAL OILS OF FOUR SPECIES OF ASTERÁCEAE FAMILY :*Coreopsis venuste* Kunth, *Gynoxys verrucosa* Weed, *Ageratina dendroides* and *Ageratina pichinchensis* OF THE PROVINCE OF LOJA.

Richard Aguilera<sup>1</sup>, Eduardo Valarezo<sup>2</sup>, \*Omar Malagon <sup>2</sup> Vladimir Morocho<sup>2</sup>, María del Cisne Guamán<sup>2</sup>  
Email: micherhank@yahoo.es

<sup>1</sup> Escuela de Ingeniería en Industrias Agropecuarias, Universidad Técnica Particular de Loja

<sup>2</sup> Instituto de Química Aplicada, Universidad Técnica Particular de Loja, San Cayetano Alto, Loja, Ecuador.  
Email: omalagon@utpl.edu.ec

## ABSTRAC

The essential oil from the aerial parts of four species of (*Coreopsis venusta* Kunth, *Gynoxys verrucosa* Weed, *Ageratina dendroides* and *Ageratina pichinchensis*) grown wild in the southern Ecuador (province of Loja), were isolated by hydrodistillation in Clevenger-type apparatus. The chemical composition was determined using gas chromatograph GC-MS and GC-FID, where it was determined that the main compounds of essential oil of the species *Coreopsis venusta* Kunth are: bicyclo-hexane (54.1%),  $\alpha$ - pinene (16.1%), sabinene (8.9%), limonene (6.4%) and pseudo-limonene (3.3%), for the essential oil of the species *Gynoxys verrucosa* Weed, the main compounds are: zingiberene (42.3%), benzene (15.3%), phellandrene (11.7%), 2-heptene (3.9%), and benzenol (3.3%). The main compounds for the essential oil of *Ageratina dendroides* species are:  $\beta$ -cubebene (29.7%), felandreno (9.9), s-cadinene (9.3%), zingiberene (7.2),  $\alpha$ -cubebene (5.4%) and, for the essential oil of *Ageratina pichinchensis* species, the main compounds are: Prococenol (26.0%), pentanal (16.1),  $\beta$ -cubebene (15.7),  $\alpha$ -bergamoteno (9.3%) and bicyclogermacrene (4.3%).

Key Word: Essential oil, Asteráceae, bicyclo-hexane, zingiberene,  $\beta$ -cubebene, prococenol, GC/MS.

## INTRODUCTION

Ecuador is a country harboring a high level of the biodiversity of plants. It has more than 17,000 known species some of them displaying biological activity and aromatic interest(1), some aromatic species families are: Verbenaceae, Lamináceas, Asteráceae, Pináceas, Lauraceae, Rutáceae, Myrtaceae, piperacillin, and Apiaceae(2), Loja is a little province in the Southern Ecuador, it has 3,039 plant species thus representing 19.9% of the plant species known in Ecuador(3). In the present study we proceed to determine the physical and chemical properties of 4 species of the Asteráceae: *Coreopsis Venusta* Kunth, *Gynoxys Verrucosa* Weeder, *Ageratina dendroides* and *Ageratina pichinchensis* (4,5).

## EXPERIMENTAL

### Parts Material

Aerial parts of *Coreopsis Venusta* Kunth, *Verrucosa Gynoxys* Weed, *Ageratina dendroides* and *Ageratina pichinchensis*, were collected from different areas of the province of Loja. In particular, *Ageratina dendroides* and *Ageratina pichinchensis* were collected of Saraguro

(694348E - 9593890N, 693754E-9595873N, *Coreopsis Venusta* Kunth were taken from Chuquiribamba (691220E - 9566943N) and *Gynoxys verrucosa* Weed were collected in Yangana (697323E - 9516060N)

### Determination of Physical Properties

First, we proceeded to determine the moisture percentage yield of essential oils and the relative density at 20°C. Then we proceeded to determine the optical activity, for which we used a polarimeter AUTOPOL 880. Also calculated the refractive index for which BBE refractometer was used. Note that all essential oils obtained had a liquid state(6,7).

### Analysis Chromatographic

Essential oils were analyzed on a gas chromatograph Agilent 6890N serial number, which is attached to a mass spectrometer serial number 5973 under the following parameters: 0.9ml/min carrying helium gas, the partition coefficient is 50:1, the injector temperature is 250 ° C, the detector temperature is 250 ° C, a temperature increase that starts at 50 ° C with a ramp of 2.5ml/min until reaching 250 ° C.

**TABLE. A**  
**Humidity, Performance and Physical properties of Essential Oils**

Nombre de la especie	Código	Hm (%)	R (%)	$d_{20}^{20}$	$n^{20}$	$\alpha$	Estado del AE
<i>Coreopsis venusta</i> Kunth,	111	74.45	0.1011	0,8543	1,3333	4.875	líquido
	112	67.61	0.1154	0,8542	1,3283	4.500	líquido
	113	61.65	0.1071	0.8543	1,3293	4.625	líquido
$\bar{x}$		<b>67,90</b>	<b>0,1079</b>	<b>0,85426</b>	<b>1,3303</b>	<b>4,266</b>	
$\sigma$		6,4050	0,0072	0,4932	0,0025	0,1909	
CV		0,0943	0,0665	0,5773	0,0019	0,0448	
<i>Gynoxys verrucosa</i> Weed	221	70.51	0.0333	0,8890	1,4963	-75.50	líquido
	222	75.72	0.0293	0,8892	1,4953	-75.00	líquido
	223	76.48	0.0313	0,8900	1,4873	-62.875	líquido
$\bar{x}$		<b>74,24</b>	<b>0,0313</b>	<b>0,8894</b>	<b>1,4929</b>	<b>-71,125</b>	
$\sigma$		3,2500	0,0020	0,0005	0,0049	7,1490	
CV		0,0439	0,0639	0,0006	0,0033	0,1005	
<i>Ageratina dendroides</i>	331	67.81	0.0652	0,8717	1,5013	46.875	líquido
	332	64.17	0.0545	0,8717	1,5003	46.500	líquido
	333	56.95	0.0667	0,8716	1,4893	40.625	líquido
$\bar{x}$		<b>62,98</b>	<b>0,0621</b>	<b>0,87166</b>	<b>1,4970</b>	<b>44,667</b>	
$\sigma$		5,5300	0,0067	0,0001	0,0067	3,5052	
CV		0,0878	0,1071	0,0001	0,0044	0,0785	
<i>Ageratina pichinchensis</i>	441	52.37	0.0571	0,8805	1,5133	-121.75	liquido
	442	49.67	0.0500	0,8805	1,5093	-109.25	líquido
	443	43.84	0.0706	0,8804	1,5123	-96.75	líquido
$\bar{x}$		<b>48,63</b>	<b>0,0592</b>	<b>0,88046</b>	<b>1,5116</b>	<b>-109,25</b>	
$\sigma$		4,3597	0,0105	0,0001	0,0021	12,5000	
CV		0,0896	0,1768	0,0001	0,0014	-0,1144	

\*A personal approach proceeded to assign codes to each of the samples: 111 for the species *Coreopsis venusta* Kunth, 221 for the species *Gynoxys verrucosa* Weed, 331 for the species *Ageratina dendroides*, 441 for the species *Ageratina pichinchensis* and 1, 2 and 3 for each of the three collections.

Source: Implementation of the experimental method, Chemistry Laboratory (U.T.P.L.)  
Preparation: The author

#### Identification and Quantification

Identification of essential oil components was based Kovats indices(8,9), which were determined based on a homologous series of hydrocarbons in a line ranging from C10 to C25 and visual identification was made through the spectrometer masses where it could compare the data base team WILEY 7n.

The quantitative identification was made based on the surface of each chromatographic peak. The assessment was conducted in two column chromatography of DB5 and HP-INNOWAX.



## RESULTS AND DISCUSSION

Table A detailing the physical composition of the essential oils of 4 species of Asteraceae family. All essential oils have the same peculiarity is that all are in liquid form.

Table B shows the chemical composition of 4 species of the Asteraceae family: *Coreopsis Venusta* Kunth *Verrucosa Gynoxys* Weed, *Ageratina dendroides* and *Ageratina pichinchensis*.

The Essential Oil of *Coreopsis Venusta* Kunth were identified 16 compounds which are described below:  $\alpha$  pinene, camfene, limonene, pseudo-limonene, bicyclo - hexane, sabinene, Moslene,  $\alpha$ -terpinolene,  $\beta$ -cubebene,  $\beta$ -caryophyllene, *s*-cadinene,  $\beta$ -pinene,  $\alpha$ -cubenene,  $\alpha$ -humulene, curcumene, and bicyclgermacrene.

The Essential Oil of *Gynoxys Verrucosa* Weed were identified 18 compounds which are described below:  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene, phellandrene, benzene, trans-ocimene, benzenol,  $\alpha$ -bergamotene, 2-heptene, zingiberene, cadinol,  $\alpha$  cedrene, sabinene, limonene,  $\alpha$ -humulene, curcumene and  $\beta$  - cubebene.

In the essential oil of *Ageratina dendroides* were identified 23 compounds which are detailed below: camfeno, phellandrene, limonene, ocimene Trans, moslene,  $\alpha$ -terpineol, borneol, elizeno,  $\alpha$ -cubebene,  $\beta$ -cubebene,  $\beta$ -bisabolene, *s*-cadinene, germacrene - b, isodene,  $\alpha$ -amorphene, isolongifolene, zingiberene, aristolone, benzyl benzoate,  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene, eucalyptol, and benzene.

In the essential oil of *Ageratina pichinchensis* were identified 20 compounds which are detailed below:  $\alpha$ -pinene, canfene, benzene, borneol, gurjunene, copaene, bourbonene,  $\beta$ -cubebene,  $\alpha$ -bergamotene, precocinol, pentanal, bicyclgermacrene, *s*-cadinene, caryopehyllene oxide, 1-methyladamantane, phellandrene, limonene, terpinol, trans-ocimene and  $\alpha$ -cubebene.

## ACKNOWLEDGEMENTS

For the Instituto de Química Aplicada (IQA) of the Universidad Técnica Particular de Loja, for his unconditional support for the development of this study. Especially for Dr. Omar Malagon and Ing. Eduardo Valarezo.

## REFERENCES:

- (1) P. Jørgensen and S. León-Yañez, Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador. Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, 1999.
- (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, 2002.
- (3) C. Ulloa, and D. Neill, Cinco Años De Adiciones a La Flora del Ecuador. 1999 – 2004. Missouri Botanical Garden. Universidad Técnica Particular de Loja, Funbotánica, Loja, Ecuador, 2005.
- (4) D.J.N Hind. Moorlands a checklist of the composiae of Humboldt, Bonpland & Kunths Nova genera et species plantarum Compositae news, 3tpp 1-84,2001.
- (5) E. Montufar and N. Pitman, *Ageratina dendroides*, Red List of the species atene downloaded in 20 July 2007
- (6) M. Chambers and R. Zaragocin, Extraction, physical characterization and determination of chemical components of essential oil of fruits of palo santo (*Bursera graveolens*) from three different locations in the province of Loja: splicing, La Ceiba and Yaraco, UTPL, 2006.
- (7) J. Jimenez, Notes on Essential Oils, editors ETSIAM. 2000.
- (8) Database available online Kovats RI: <http://www.pherobase.com/database/kovats/kovats-index.php>
- (9) R. P. Adams, Identification of essential oil components by chromatography/mass spectroscopy, Allured Publishing Carol Stream, Illinois, USA.1995.

**TABLE B.**

Chemical composition of essential oils of species: *Coreopsis venusta* Kunth, *Gynoxys verrucosa* Weed, *Ageratina dendroides* and *Ageratina pichinchensis*.

	COMPOUND	KOVATS INDEX		<i>Coreopsis venusta</i> Kunth	$\sigma$	<i>Gynoxys verrucosa</i> Weed	$\Sigma$	<i>Ageratina dendroides</i>	$\Sigma$	<i>Ageratina pichinchensis</i>	$\sigma$
		DB5	HP-INNOVAX								
				Average <sup>1</sup>		Average		Average		Average	
1	limonene	846	989	6,473	0,152			2,573	0,006		
2	$\alpha$ -Pinene	890	890	16,195	0,170	0,353	0,001	0,622	0	0,313	0,004
3	camphene	909	893	0,057	0,000					0,197	0,001
4	$\beta$ -pinene	954	905			0,302	0,004				
5	pseudo-limonene	1001	940	3,384	0,163						
6	phellandrene	1007	937			11,725	0,145	9,978	0		
7	biciclo-hexane	1019	1007	54,16	0,366						
8	trans ocimene	1033	1035			0,425	0,02	0,149	0		
9	sabinene	1034	1020	8,932	0,000						
10	moslene	1043	1023	0,479	0,000			0,048	0,001		
11	$\alpha$ -terpinolene	1069	1041	0,128	0,006						
12	$\alpha$ -terpinol	1195	1027					0,639	0,832		
13	benzenol	1217	1335			3,346	0,043				
14	borneol	1294	1313					3,991	0,017	0,728	0,002
15	$\beta$ -cubebene	1371	1312	0,448	0,035			29,79	0,095	15,702	0
16	elizeno	1387	1331					1,352	0,043		
17	gurjunene	1388	1331							2,318	0,013
18	$\alpha$ -cubebene	1388	1408					5,486	0		
19	Copaene	1393	1333							1,112	0,007
20	bourbonene	1394	1336							1,27	0,002
21	$\beta$ -caryophyllene	1399	1335	0,209	0						
22	$\alpha$ -bergamotene	1399	1340			3,207	0,055			9,39	0,018
23	2-heptene	1465	1508			3,985	0				
24	zingiberene	1483	1512			42,366	0,572	7,214	0,005		
25	precoceno I	1493	1410							26,091	0,065
26	pentanol	1495	1485							16,192	0,007
27	biciclogermacrene	1497	1517							4,348	0
28	$\beta$ -bisabolene	1499	1425					0,853	0,001		
29	s-cadinene	1500	1517	0,823	0			9,38	0	1,901	0,008
30	cedrene	1530	1518			0,097	0				
31	germacreno B	1593	1506					2,319	0,002		
32	caryophyllene oxide	1596	1807							1,159	0,002
33	isodene	1597	1518					2,353	0		
34	$\alpha$ -zingiberene	1615	1525			0,657	0,025				
35	cadinol	1638	1617			0,099	0,003				
36	$\alpha$ -cedrene	1673	1673			1,064	0,016				
37	$\alpha$ -amorphene	1691	1604					2,886	0,012		
38	isolongifolene	1692	1607					3,427	0,023		
39	aristolone	1698	1680					2,935	0		
40	1-methyldiamantano	1694	1821							2,106	0,001
41	benzyl benzoate	1796	1692					2,388	0,149		

1. Percentages calculated (average of three measuring), % area of peaks reported by CG in HP-5. These values are  $x \pm \sigma$

## RESUMEN

El presente estudio detalla datos referentes a la determinación de las propiedades físicas y composición química de cuatro especies de la familia Asteráceae: *Coreopsis venusta* Kunth, *Gynoxys verrucosa* Weed, *Ageratina dendroides* y *Ageratina pichinchensis*.

Para el desarrollo del presente estudio se aplicó dos métodos: el método experimental y el método estadístico.

En primera instancia se procedió a la recolección de la materia vegetal de cuatro especies en estudio, una vez que las muestras se encontraron en el Instituto de Química Aplicada (IQA) se determinó la humedad, se extrajo el aceite esencial (AE) mediante el método de arrastre con vapor y se calculó el rendimiento. Al AE se le determinó la densidad relativa a 20°C, la actividad óptica, para lo cual se utilizó un polarímetro AUTOPOL 880 y el índice de refracción con el uso de un refractómetro BBE.

Para la identificación de los componentes químicos los aceites esenciales fueron analizados en un Cromatógrafo de Gases Agilent de 6890N, acoplado al Espectrómetro de Masas 5973 bajo los siguientes parámetros: gas transporta helio a 0.9ml/min, la temperatura del inyector es de 250°C, la temperatura del detector es de 250°C, con un incremento de temperatura que inicia en 50°C y una rampa de 2.5ml/min hasta llegar a 250°C.

La identificación de los componentes químicos de los aceites esenciales fue en base a los índices kovats, los cuales se determinaron en base a una serie homóloga de hidrocarburos de C10 a C25. La identificación cuantitativa se la realizó tomando como base la superficie de cada pico cromatográfico. La evaluación se realizó en dos columnas cromatográficas: DB-5MS y HP-INNOWAX.

Las humedades en promedio con las que fueron destiladas las muestras fueron *Coreopsis venusta* Kunth 67,90%, *Gynoxys verrucosa* Weed 74,24%, *Ageratina dendroides* 62.98% y *Ageratina pichinchensis* 48.63%, en lo que se refiere a las propiedades físicas del aceite esencial (AE) el de la especie *Gynoxys verrucosa* Weed

fue el más denso (0.8894) y el de la especie *Coreopsis venusta* Kunth el menos denso (0.8543), el índice de refracción fue 1,3303 para *Coreopsis venusta*, 1,4929 para *Gynoxys verrucosa*, 1,4970 para la *Ageratina dendroides* y 1,5116 para la *Ageratina pichinchensis*, el AE de la especie *Coreopsis venusta* y de la especie *Ageratina dendroides* fueron de carácter dextrógiro y los de las especies *Gynoxys verrucosa* y *Ageratina pichinchensis* de carácter levógiro.

En cuanto a la composición química de los aceites esenciales de las cuatro especies de la familia Asteraceae en estudio, se determinó, que el aceite esencial de la especie *Coreopsis venusta* Kunth existen 16 compuestos:  $\alpha$ -pineno, camfeno, limoneno, pseudo-limoneno, bicyclo-hexano, sabineno, mosleno,  $\alpha$ -terpinoleno,  $\beta$ -cubebeno,  $\beta$ -cariofileno, S-cadineno,  $\beta$ -pineno,  $\alpha$ -cubeneno,  $\alpha$ -humuleno, curcumeno, y biciclogermacreno. En el aceite esencial de la especie *Gynoxys verrucosa* Weed se determinó 17 compuestos:  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, felandreno, trans-ocimeno, benzenol,  $\alpha$ -bergamoteno, 2-hepteno, zingibereno, cadinol,  $\alpha$ -cedreno, sabineno, limoneno,  $\alpha$ -humuleno, curcumeno y  $\beta$ -cucubeno. El aceite esencial de la especie *Ageratina dendroides* ésta presenta 22 compuestos: campheno, felandreno, limoneno, trans-ocimeno, mosleno,  $\alpha$ -terpinol, borneol, elizeno,  $\alpha$ -cubebeno,  $\beta$ -cubebeno,  $\beta$ -bisaboleno, s-cadineno, germacreno B, isoledeno,  $\alpha$ -amorpheno, isolongifoleno, zingibereno, aristolono, benzyl benzoate,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, y eucalyptol y el aceite esencial de la especie *Ageratina pichinchensis* 19 compuestos:  $\alpha$ -pineno, camfeno, borneol, gurjuneno, copaeno, bourboneno,  $\beta$ -cubebeno,  $\alpha$ -bergamoteno, precoceno I, pentanal, biciclogermacreno, s-cadineno, caryophylleno óxido, 1-methyldiadamantano, felandreno, limoneno, terpinolon, trans-ocimeno y  $\alpha$ -cubebeno.

***CAPITULO J.***

***FJN, PROPÓSITO Y***

***COMPONENTES DEL PROYECTO***

# 1. FJN, PROPÓSITO Y COMPONENTES DEL PROYECTO

---

## 1.1. FIN DEL PROYECTO

Aportar con nuevos conocimientos al estudio de las especies que contienen aceites esenciales de interés en la Zona Sur del Ecuador.

## 1.2. PROPÓSITO DEL PROYECTO

Determinar las propiedades físico- químicas de los aceites esenciales de cuatro especies de la familia Asteráceae: *Coreopsis venusta* Kunth, *Gynoxys verrucosa* Weed, *Ageratina dendroides*, *Ageratina pichinchensis* de la provincia de Loja.

## 1.3. COMPONENTES DEL PROYECTO

1. Determinar el rendimiento y el porcentaje de humedad de los aceites esenciales de cada una de las especies en estudio.
2. Determinar las propiedades físicas: densidad, índice de refracción y actividad óptica.
3. Identificar los componentes químicos mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) y acoplada al detector de ionización en llama (CG-FID) de los aceites esenciales de cada especie: *Coreopsis venusta* Kunth, *Gynoxys verrucosa* Weed, *Ageratina dendroides*, *Ageratina pichinchenses*.

## 1.4. DISEÑO EXPERIMENTAL

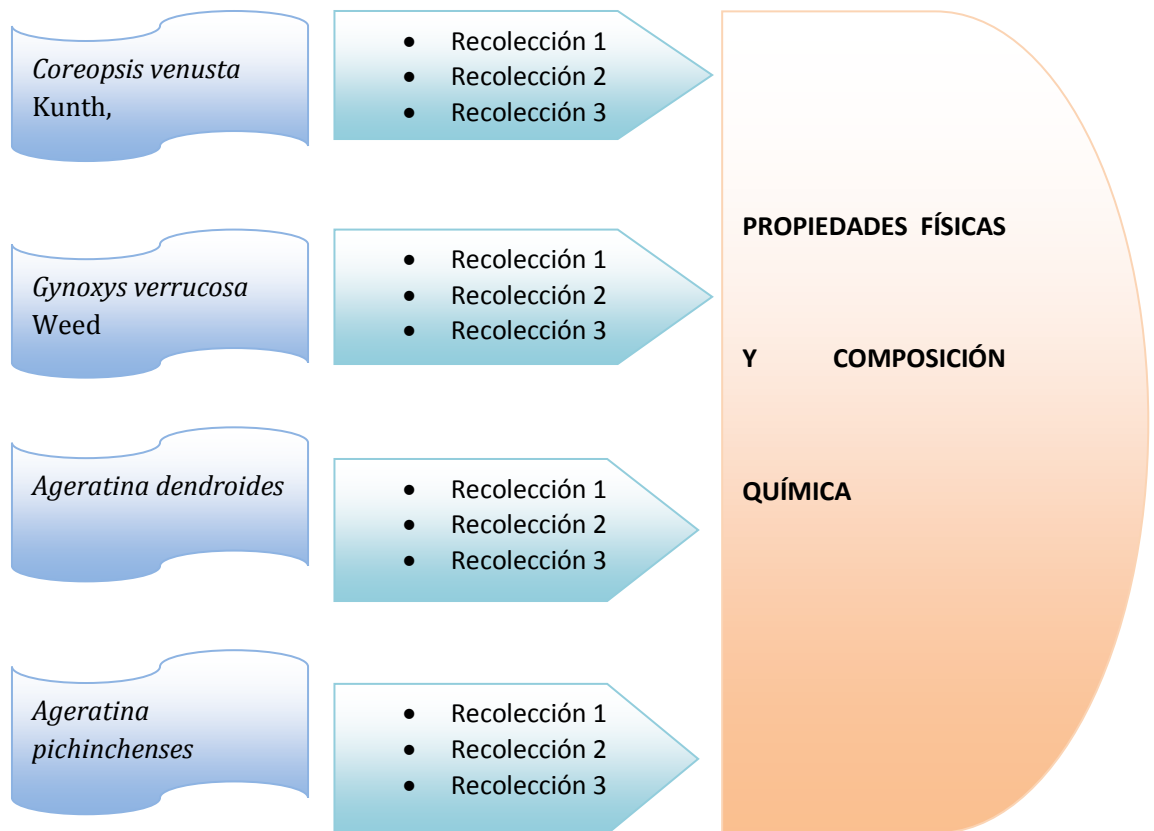
Debido a que el objetivo central del proyecto es contribuir al conocimiento y comparación de datos, se establecerá un modelo experimental que permitirá realizar una práctica en un laboratorio de química a fin de determinar las

propiedades físicas y químicas de las cuatro especies en estudio de la familia ASTERÁCEAE.

### 1.5. DISEÑO 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.

**GRÁFICO 01:** *Parámetros que intervienen en la presente investigación*



**FUENTE:** *Investigación Experimental*

**ELABORACIÓN:** *El autor*

***CAPITULO II.***  
***INTRODUCCIÓN, JUSTIFICACIÓN***  
***Y ANTECEDENTES***



# II. INTRODUCCIÓN, JUSTIFICACIÓN Y ANTECEDENTES.

---

## 2.1. INTRODUCCIÓN

Los aceites esenciales resultan de la combinación de varias sustancias químicas biosintetizadas por las plantas, que dan el olor característico a algunas especias, semillas, árboles, flores, frutos y a ciertos extractos de origen animal (almizcle, civeta, ámbar gris)<sup>1</sup>. Se trata de productos químicos que poseen un aroma intenso, no graso, volátiles por naturaleza (se evaporan con facilidad) y livianos. Se oxidan al estar expuestos en el aire. Son insolubles en el agua, levemente se disuelven en vinagre, y fácilmente se disuelven en éter, alcohol, ceras, grasas y aceites vegetales y animales.

Se han extraído más de 4000 tipos de aceites esenciales<sup>2</sup>, cada uno con su aroma propio y características únicas que les permiten ser utilizados en algunos campos así: En la industria de los perfumes, jabones, desinfectantes y productos similares se los utiliza como ingrediente básicos, en la medicina como desinflamantes como el aceite esencial de manzanilla, para las heridas y quemaduras el aceite esencial de lavanda y como relajante el aceite esencial de jazmín, etc. En la alimentación los aceites esenciales son utilizados para dar sabor y olor al café, vino, etc.

Para obtener un buen aceite esencial, estos deben proceder de ingredientes naturales brutos y quedar lo más puro posibles. El término *aceites esenciales puros* es utilizado para resaltar la diferencia entre los aceites sintéticos y naturales<sup>1</sup>.

Con frecuencia los aceites artificiales que se expende contienen menor cantidad de sustancias que los aceites esenciales naturales o puros, la calidad de los primeros es menor que la de los segundos. Por eso, es mejor obtenerlos en forma natural.

---

<sup>1</sup> C.N. Shealy, Enciclopedia Ilustrada de Remedios Naturales. España: Könnemann, 1999.

<sup>2</sup> M. Ortuño, Manual Práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. Ediciones AIYANA, Primera Edición, 2006.

Las esencias (aceites esenciales) no son compuestos puros, sino mezclas de multitud de sustancias (un aceite esencial puede ser una mezcla de más de 100 sustancias químicas distintas) que se encuentran en distintas proporciones y que en conjunto proporcionan al aceite esencial sus características propias. Entre los componentes de los aceites esenciales tenemos una familia de hidrocarburos, los terpenos, que son a menudo mayoritarios llegando a alcanzar elevadas concentraciones: del 75 al 90% del peso total en aceite esencial.<sup>2</sup>

Los terpenos son inodoros y contribuyen muy poco al aroma global y son la base diluyente del aceite esencial, proporcionando al mismo su carácter volátil e inflamable y las propiedades físicas mesurables (densidad, viscosidad, índice de refracción, desviación óptica, solubilidad en agua o alcohol, rectificación al vacío, etc.).<sup>3</sup>

Esta compleja composición de los aceites esenciales es la responsable de que sigan teniendo un alto precio, ya que es muy difícil su fabricación artificial. Para copiar un aceite esencial y producirlo por medios naturales, en primer lugar hay que realizar un análisis químico exhaustivo para determinar todos los componentes y concentraciones, labor que requiere una ingente cantidad de trabajo, personal calificado y medios técnicos sofisticados. Y aún si bien es posible hacer esto, muchas de las sustancias que forma parte de los aceites esenciales son muy difíciles de conseguir en el mercado, ya sea porque existen en pequeñas cantidades o porque sus precios son muy altos. Esto significa que, aunque hacer un aceite natural en forma artificial no es imposible, si puede resultar costoso.

Los aceites esenciales son muy concentrados, por lo que sólo se necesitan pequeñas cantidades para lograr el efecto deseado (del orden de miligramos). Se encuentran formados principalmente por terpenoides volátiles, compuestos por unidades de isopreno unidas en estructuras de 10 carbonos (monoterpenoides) y 15 carbonos (sesquiterpenoides).<sup>4</sup>

---

<sup>2</sup> M. Ortuño, Manual Práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. Ediciones AIYANA, Primera Edición, 2006.

<sup>3</sup> L.J. Perdue, E.M. Pavlostathis and S.G. Araujo, Physicochemical properties of selected monoterpenes. Environment Internacional, 1998, páginas 3,24,353-358.

<sup>4</sup> A. Bandoni, Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica. Argentina. Editorial Universidad Nacional de la Plata. 2000.

Las sustancias responsables del olor suelen poseer en su estructura química grupos funcionales característicos: aldehídos, cetonas, ésteres, etc.<sup>4</sup>

Los aceites esenciales se originan de distintas partes de la planta: en las flores (lavanda, el jazmín y la rosa); en todo el árbol (eucaliptus); en las hojas (citronela); en la madera (sándalo); en la raíz (vetiver); en la resina que exudan (incienso, la mirra y el benjuí), y en la cáscara de los frutos (limón, naranja y bergamota).<sup>5</sup>

Los aceites esenciales toman la denominación del mismo nombre de la planta de origen: aceite esencial de manzanilla, aceite esencial de canela, aceite esencial de limón, etc. De algunas plantas se puede extraer más de un aceite esencial, en estos casos, varía el nombre. En algunos casos, es importante recurrir a la nomenclatura botánica para evitar confusiones. Por ejemplo, el aceite esencial de palo de rosa proviene de la planta *Aniba roseadora*, que no tiene ningún parentesco con la rosa de jardín que conocemos comúnmente.<sup>1</sup>

Los aceites esenciales son muy inestables: volátiles, frágiles y alterables con la luz. Para obtenerlos de la fuente natural se utilizan varios métodos: destilación en corriente de vapor (o por arrastre de vapor); extracción que puede ser por presión en frío (exprimiendo sin calentar), por *enfleurage*, entre otros.<sup>4</sup>

El clima también influye en la composición de los aceites esenciales así: en el más cálido o húmedo se evaporan con más facilidad las notas altas, por lo que se acentúan las de fondo, motivo por el cual las fragancias nos parecen más intensas en verano.<sup>3</sup>

Cabe indicar que para el desarrollo del presente estudio he procedido a utilizar la obtención de los aceites esenciales por destilación por arrastre de vapor debido a que según estudios botánicos se deduce que existen por lo menos tres fenómenos controlantes de este proceso: El primero, *una vaporización instantánea del aceite esencial*, en la interfase de la película formada en la superficie del material vegetal y el vapor circundante.<sup>6</sup>

-----  
<sup>1</sup> C.N. Shealy, Enciclopedia Ilustrada de Remedios Naturales. España: Kónemann, 1999.

<sup>3</sup> L.J. Perdue, E.M. Pavlostathis and S.G. Araujo, Physicochemical properties of selected monoterpenes. Environment Internacional, 1998, páginas 3,24,353-358.

<sup>4</sup> A. Bandoni, Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica. Argentina. Editorial Universidad Nacional de la Plata. 2000.

<sup>5</sup> P. Jiménez, FJ., Apuntes de Aceites esenciales, Etsiam editores, 2000.

<sup>6</sup> C. Ibañez, La Normalización internacional de aceites esenciales. Técnicas de Laboratorio, Abril 1999 pp. 220.

El segundo, *la difusión del aceite vaporizado al seno de la corriente del vapor circundante* debido a la convección que ejerce el vapor en el lecho y su inmediato transporte al exterior del equipo y, el tercero, *una exudación del aceite esencial desde el interior de los tricomas glandulares* que son los orgánulos vegetales donde se almacena el aceite a través de la cutícula a la película superficial del material vegetal.<sup>6</sup>

Entre las propiedades físicas de los aceites esenciales se encuentran las siguientes: son líquidos a temperatura ambiente, volátiles, recién destilados son incoloros o ligeramente amarillentos, la densidad inferior a la del agua, tienen un alto índice de refracción, aunque son poco solubles en agua le comunican su aroma, son solubles en alcohol de alto porcentaje y son solubles en aceites fijos o grasas.<sup>7</sup> Por ello todas estas propiedades pueden ser determinadas sin ningún problema en los laboratorios de la Universidad.

---

<sup>6</sup> C. Ibañez, La Normalización internacional de aceites esenciales. Técnicas de Laboratorio, Abril 1999 pp. 220.

<sup>7</sup> M. Cerpa, Hidrodestilación de aceites esenciales: Modelado y Caracterización, páginas: 1-9, 1-1

## 2.2. JUSTIFICACIÓN

A nivel mundial, los aceites esenciales tienen una gran importancia económica, por lo cual se intenta introducir el cultivo de plantas productoras de aceites esenciales y la obtención de los mismos como una manera de incrementar las perspectivas de la población y la riqueza de los países, más aún si se considera que existen especies naturales con un gran potencial para la obtención de los aceites esenciales puros,<sup>4</sup> referido a esto, nuestro país, presenta facilidades para el cultivo de estas plantas debido a las características de los suelos y a las características climatológicas que posee.

La región sur del Ecuador entre ella la provincia de Loja posee una gran variedad de plantas aromáticas entre las cuales se encuentran las pertenecientes a la familia Asteráceae, que es una de las familias con mayor número de géneros aromáticos dentro del reino vegetal, según un inventario realizado por investigadores del área de aceites esenciales del Instituto de Química Aplicada (IQA) en la revista *Journal of Essential Oil Research* el 2008.

La U.T.P.L a través del IQA a desarrollado algunos estudios en aceites esenciales enmarcados dentro del proyecto: Evaluación de la flora aromática del sur del Ecuador, con la finalidad de contribuir a este proyecto y debido a que no ha sido posible encontrar estudios previos de los aceites esenciales de las cuatro especies en estudio, hemos creído conveniente realizar la investigación: “Determinación de propiedades físico-químicas de los aceites esenciales de cuatro especies de la Familia Asteráceae: *Ageratina dendroides*, *Ageratina pichinchensis*, *Coreopsis venusta* Kunth y *Gynoxys verrucosa* Weed de la provincia de Loja”, para de esta forma contribuir con conocimientos sobre la flora aromática de la provincia de Loja, ya que algunas de las Asteráceae pueden ser fuente de aceite esencial fácilmente industrializable ya sea por sus propiedades físicas, químicas o por interés particular de algunos de sus componentes específicos.

---

<sup>4</sup> A. Bandoni, Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica. Argentina. Editorial Universidad Nacional de la Plata. 2000.

### 2.3. ANTECEDENTES

Las Esencias Vegetales o Aceites Esenciales son productos químicos que forman las esencias odoríferas de un gran número de vegetales. El término aceite esencial se aplica también a las sustancias sintéticas similares preparadas a partir del alquitrán de hulla, y a las sustancias semisintéticas preparadas a partir de los aceites naturales esenciales.<sup>4</sup>

El aroma y el sabor de las hierbas es proporcionada por los aceites esenciales que se encuentran en las semillas, raíces, corteza, hojas y flores de la planta. Los aceites esenciales son mezclas complejas de sustancias aromáticas que dan la característica única a cada hierba y se encuentran en células especiales en la planta llamada tricomas. Casi todas las plantas pueden ser cultivadas para la producción de aceites esenciales, pero el rendimiento de aceite de cada especie, determina si este es comercialmente viable.<sup>3</sup>

Los aceites esenciales proceden de los magnoliales, los austrobaileyales, y los piperales, los laurales, y también de algunas familias no relacionadas con estos órdenes, como son las familias de convección, Myrtaceae, Rutaceae, Lamiaceae, Verbenaceae y Asteráceae, siendo cuatro especies de esta última familia las que he decidido estudiar en la presente investigación.<sup>4</sup>

Las asteráceas (Asteráceae), también denominadas compuestas (Compositae Giseke, nom. Cons.), reúnen más de 23.000 especies por lo que son la familia de Angiospermas con mayor riqueza y diversidad biológica. La familia está caracterizada por presentar las flores dispuestas en una inflorescencia compuesta denominada capítulo la cual se halla rodeada de una o más filas de brácteas (involucro). El nombre "Asteráceae" deriva del género tipo de la familia *Aster*, término que -a su vez- proviene del griego *ἀστήρ* que significa "estrella" y hace alusión a la forma de la inflorescencia. Por otro lado, el nombre, compuestas, más antiguo pero válido, hace referencia al tipo particular de inflorescencia compuesta

---

<sup>3</sup> L.J. Perdue, E.M. Pavlostathis and S.G. Araujo, Physicochemical properties of selected monoterpenes. *Environment Internacional*, 1998, páginas 3,24,353-358.

<sup>4</sup> A. Bandoni, Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica. Argentina. Editorial Universidad Nacional de la Plata. 2000.

que caracteriza a la familia y que solo se halla en muy pocas familias de Angiospermas.<sup>8</sup> Las Compuestas presentan una considerable importancia ecológica y económica. Los miembros de esta familia se distribuyen desde las regiones polares hasta los trópicos, conquistando todos los hábitats disponibles, desde los desiertos secos hasta los pantanos y desde las selvas hasta los picos montañosos. En muchas regiones del mundo las compuestas llegan a integrar hasta el 10% de la flora vernácula. La familia contiene algunos géneros con una gran cantidad de especies, como es el caso de *Senecio* (con 1250 especies), *Hieracium* (1000 especies) y *Helichrysum* (600 especies).<sup>9</sup>

Las Asteráceas de Interés para el Presente estudio son: *Ageratina dendroides* (Saraguro), *Ageratina pichinchensis* (Saraguro), *Coreopsis venusta* Kunth (Chuquiribamba) y *Gynoxys verrucosa* Weed (Yangana),

---

<sup>8</sup> C. Jeffrey, *Compositae: Introduction with key to tribes, Flowering Plants, Eudicots, Asterales* (J. W. Kadereit and C. Jeffrey, eds.). Vol VIII, Springer-Verlag, Berlin. 2007.

<sup>9</sup> P. Jorgensen and S. León-Yañez, *Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador*, Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, 1999.

## *Ageratina dendroides*

**FOTOGRAFÍA 01:** Muestra de herbario *Ageratina dendroides*



**Fuente:** Herbario UTPL

**Elaboración:** El Autor

<b>División:</b>	Magnoliophyta
<b>Clase:</b>	Magnoliopsida Brongn
<b>Subclase:</b>	Asteridae
<b>Orden:</b>	Asterales
<b>Familia:</b>	Asteráceae
<b>Género:</b>	<i>Ageratina</i> <sup>10</sup> .
<b>Especie:</b>	<i>dendroides</i>
<b>Hábito:</b>	Subarbusto o arbusto.
<b>Origen:</b>	Endémica
<b>Nombre Común:</b>	Chilca (Castellano)
<b>Usos:</b>	<b>Apícola:</b> Las abejas visitan las flores de esta especie (etnia no especificada – Loja). <b>Medioambiental:</b> Es una especie potencialmente generadora de sitios quemados (etnia no especificada – Loja) <sup>11</sup> .

<sup>10</sup> R. Montúfar and N. Pitman, 2004. In IUCN 2008.2008 IUCN Red List of Threatene Species

<sup>11</sup> 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 *Ageratina dendroides*, Phytomediine: Internacional journal of Phytotherapy & Phytopharmacology articles, Mayo (2008)



**Localización:** En nuestro país, podemos localizar esta especie en las provincias del Azuay, Cañar, Imbabura, Zamora Chinchipe y en toda la provincia de Loja.

***Ageratina pichinchensis***

**FOTOGRAFÍA 02:** Muestra de herbario *Ageratina pichinchensis*



**Fuente:** Herbario UTPL

**Elaboración:** El Autor

**División:** Magnoliophyta  
**Clase:** Magnoliopsida  
**Subclase:** Asteridae  
**Orden:** Asterales  
**Familia:** Asteráceae  
**Género:** *Ageratina*<sup>12</sup>.  
**Especie:** *pichinchensis*  
**Hábito:** Subarbusto  
**Origen:** Nativa  
**Nombre Común:** Haya, Herbabonita (Kichwa), Hierva de cuy (Castellano)  
**Usos:** **Apícola:** Las abejas visitan las flores de esta especie (etnia no especificada – Loja).

<sup>12</sup> D. J. N. Hind and C. JEFFREY, A checklist of the Compositae of Humboldt, Bonpland & Kunth's Nova Genera et Species Plantarum. Compositae News. 37, pp. 1–84, 2001.

**Alimento de Vertebrados:** Las hojas se usan como forrajes de cuyes y borregos (Kichwa de la sierra – Cotopaxi. Etnia no especificada – Pichincha).

**Tóxico para otros organismos.-** La planta tiene propiedades insecticidas (Etnia no especificada – Pichincha).

**Localización:** Guatemala, México, Panamá, Perú, Venezuela, Bolivia, Colombia, Costa Rica, y Ecuador. En nuestro país se encuentra en las provincias del Azuay, Bolívar, Cañar, Chimborazo, Cotopaxi, Imbabura, Morona Santiago, Pichincha y Loja. En esta última se la encuentra en el Cantón Saraguro.

### ***Gynoxys verrucosa* Weed**

**FOTOGRAFÍA 03:** Muestra de herbario *Gynoxys verrucosa* Weed



**Fuente:** Herbario UTPL

**Elaboración:** El Autor

**División:** Magnoliophyta;  
**Clase:** Magnoliopsida  
**Subclase:** Asteridae  
**Orden:** Asterales  
**Familia:** Asteráceae

**Género:** *Gynoxys*.<sup>13</sup>  
**Especie:** verrucosa  
**Hábito:** Arbol  
**Origen:** Nativa  
**Nombre Común:** Chila chila, guángalo (lengua no especificada)  
**Usos:** **Apícola:** Las abejas visitan las flores de esta especie (Etnia no especificada – Loja).  
**Social:** Se usa para sahumar pañales y para tratar el “espanto” (etnia no especificada – Loja).  
**Medicinal:** Las hojas y ramas se usan para tratar infecciones indeterminadas (Etnia no especificada – Loja).  
**Localización:** En nuestro país, podemos localizar esta especie en las provincias del Azuay, Cañar, Imbabura, Zamora Chinchipe y en la provincia de Loja la localizamos específicamente en Yangana.

### ***Coreopsis venusta* Kunth**

**FOTOGRAFÍA 04:** Muestra de herbario *Coreopsis venusta* Kunth



**FUENTE:** Herbario UTPL  
**ELABORACIÓN:** El Autor

**División:** Magnoliophyta;  
**Clase:** Magnoliopsida;  
**Subclase:** Asteridae;

<sup>13</sup> J.L Lutey, Páramos, Catalogue of the checklist of plant diversity, geographical distribution, and botanical literature. Mem. New York Bot. Gard.84, 2000, pp 1–278.

<b>Orden:</b>	Asterales;
<b>Familia:</b>	Asteráceae;
<b>Género:</b>	<i>Coreopsis</i> L. <sup>12</sup>
<b>Especie:</b>	<i>venusta</i>
<b>Origen:</b>	Nativa
<b>Localización:</b>	A esta especie se la encuentra en los países de Perú y Ecuador. En nuestro país la encontramos en las provincias del Azuay y Loja. En la provincia de Loja se encuentra específicamente en el sector de Chuquiribamba.

No se ha encontrado información sobre estudios del aceite esencial de estas especies.

#### **USOS:**

Los aceites esenciales se utilizan para dar sabor y aroma al café, el té, los vinos y las bebidas alcohólicas. Son los ingredientes básicos en la industria de los perfumes y se utilizan en jabones, desinfectantes y productos similares. También tienen importancia en medicina, tanto por su sabor como por su efecto calmante del dolor y su valor fisiológico.<sup>14</sup>

---

<sup>12</sup> D.J. Hind and C. JEFFREY, A checklist of the Compositae of Humboldt, Bonpland & Kunth's Nova Genera et Species Plantarum. Compositae News, Vol IV, 2000, pp.1–84.

<sup>14</sup> 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.

*III.*

*MATERIALES Y*

*MÉTODOS*

# ***JJJ. MATERIALES y MÉTODOS***

## **METODOLOGÍA.**

La metodología utilizada en la presente investigación se indica y se detalla a continuación:

- Recolección y selección de la materia vegetal.
- Destilación de la materia vegetal.
- Determinación de propiedades físicas del aceite esencial.
- Determinación de la composición química del aceite esencial.

### **3.1. Recolección y selección de la materia vegetal.**

#### **3.1.1. Recolección de la materia vegetal**

La recolección del material vegetal de cada especie se realizó en distintos sectores de la provincia de Loja, para esto se usó como referencia la identificación en el Herbario de la U.T.P.L; después de ser recolectadas las diferentes especies fueron transportadas hasta el Instituto de Química Aplicada (I.Q.A.) para su tratamiento post cosecha.

**FOTOGRAFÍA 05:** Recolección de la materia prima



**ELABORACIÓN:** El Autor

La especie *Ageratina dendroides* fue recolectada en Saraguro; se la pudo encontrar con facilidad a unos 10 minutos del pueblo en la carretera que conduce a las antenas, en un páramo, es abundante por los alrededores del sector y se la encuentra a una altitud de 3117msnm con las siguientes coordenadas 694348E – 9593890N.

La especie *Ageratina pichinchensis* fue recolectada en Saraguro a unos 5 minutos del pueblo en la carretera que conduce a las antenas a una altitud de 2899msnm, es abundante por los alrededores del sector y se la encuentra con las siguientes coordenadas 693754E-9595873N.

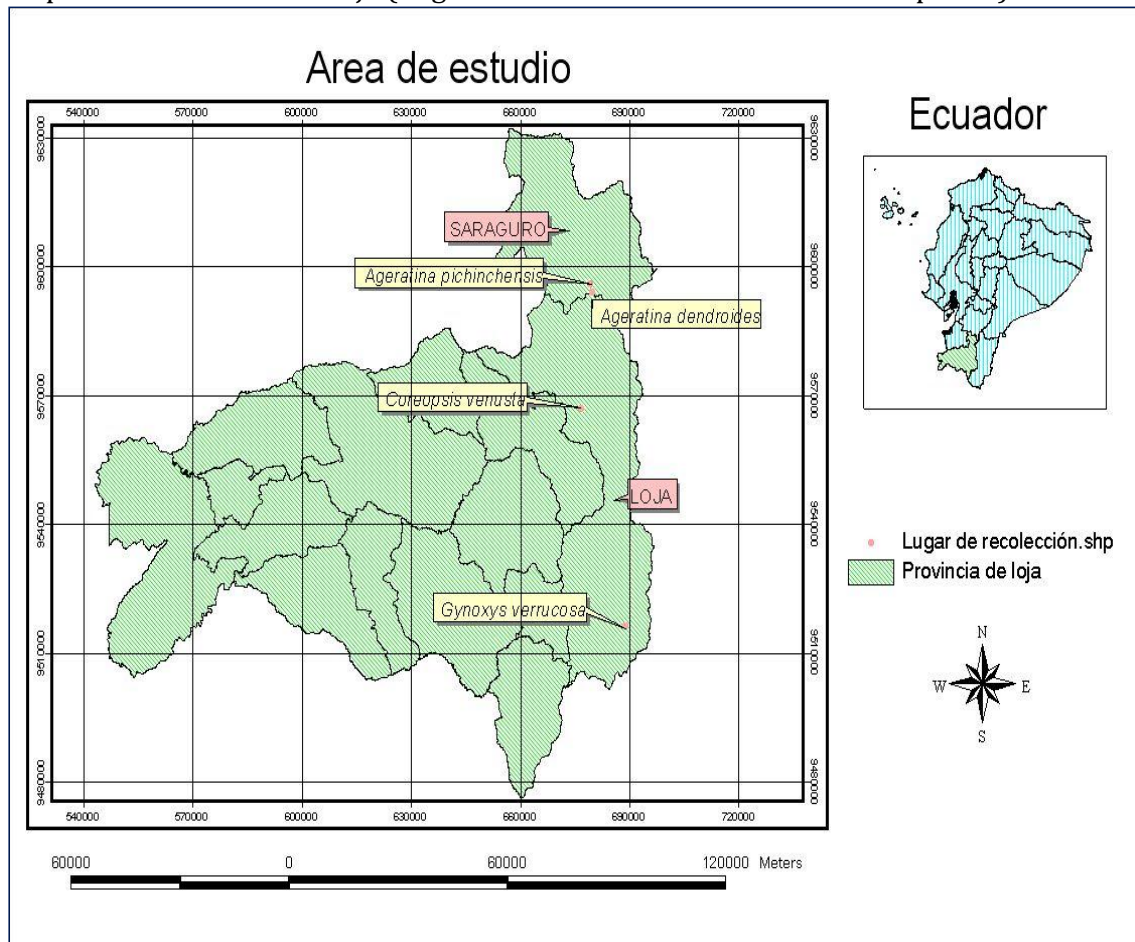
La especie *Coreopsis venusta* Kunth fue recolectada en Chuquiribamba perteneciente al Cantón Loja, se la pudo encontrar con facilidad a una altitud de 2364 msnm con las siguientes coordenadas 691220E-9566943N.

La especie *Gynoxys verrucosa* Weed fue recolectada en Yangana perteneciente al Cantón Loja a una altitud de 2236 msnm con las siguientes coordenadas 697323E – 9516060N.

Se procedió a obtener tres recolecciones de cada especie: La primera recolección fue realizada con la finalidad de identificar la especie vegetal y el lugar de hábitat de la misma, luego se procedió a obtener una segunda y tercera recolección; obteniendo un total de 12 muestras recolectadas, tres muestras por cada especie. Cabe indicar que se tomó como base un espacio de tiempo de quince días entre una recolección y otra utilizando las mismas matas de las plantas.

**GRÁFICO 02:** Área de estudio de las especies *Ageratina dendroides*, *Ageratina pichinchensis*, *Coreopsis venusta* Kunth, *Gynoxys verrucosa* Weed en la Provincia de Loja.

Mapa de la Provincia de Loja (Lugares de donde se recolectaron las especies)



**Fuente:** Investigación experimental

**Elaboración:** El autor

### 3.1.2. Selección de la materia vegetal

La materia vegetal de cada una de las especies recolectadas necesitan ser seleccionadas con la finalidad de eliminar impurezas, materia deteriorada, putrefacta, manchada y partes no útiles como tallos, hojas y más materiales ajenos a las mismas. Las partes que se presenten fibrosas y gruesas de los vegetales clasificados se corta en trozos pequeños con la finalidad de reducir el tamaño y permitir aumentar la superficie de contacto con el vapor, con el fin de obtener un mejor rendimiento en la destilación del aceite de cada una de las diferentes plantas.



### **FOTOGRAFÍA 06:** Selección de la materia vegetal



**ELABORACIÓN:** El Autor

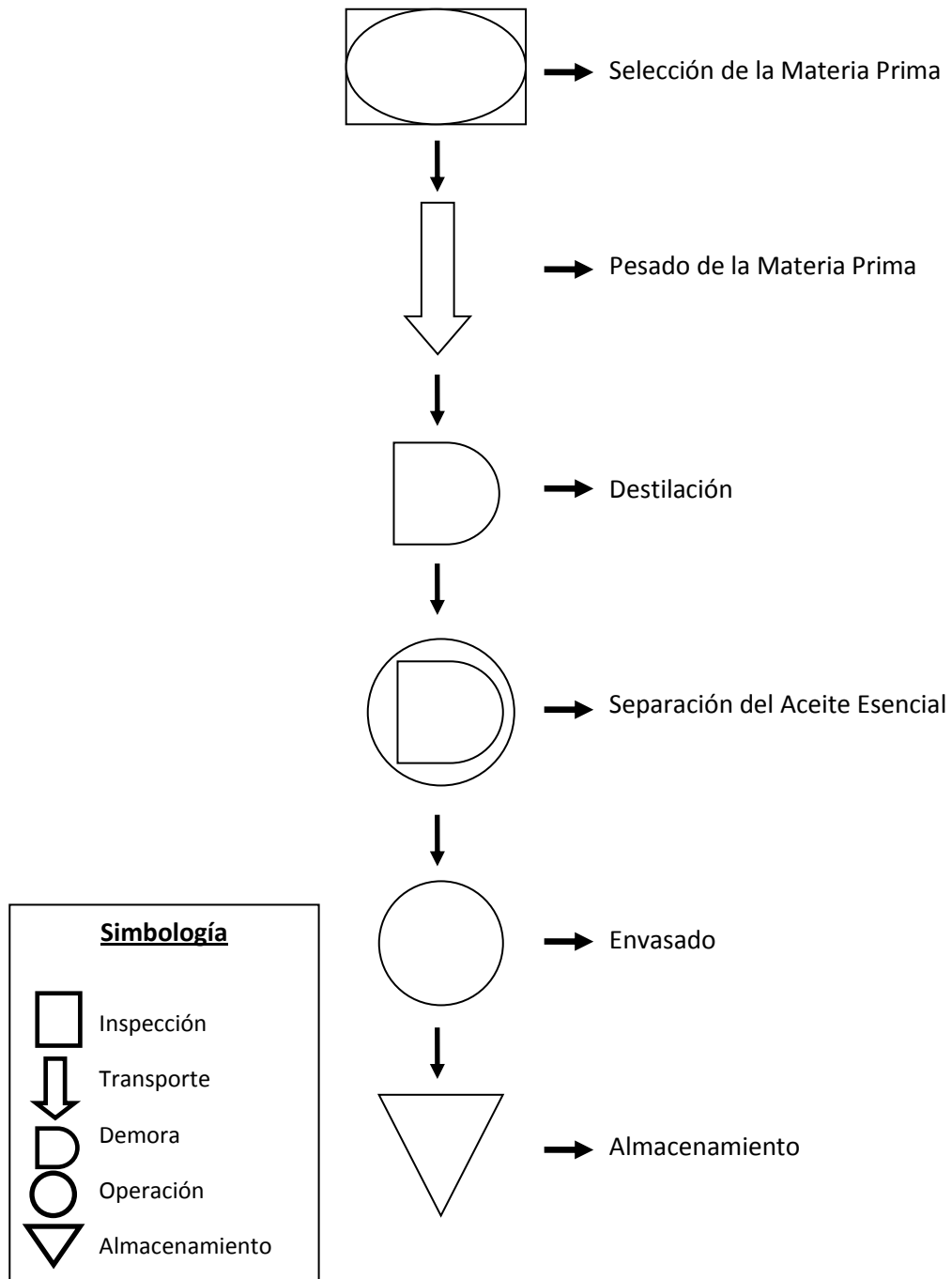
### **3.2. Destilación del material vegetal**

Luego de la recolección y selección de la materia vegetal y antes de realizar la destilación se procedió a determinar el porcentaje de humedad (ver anexo N°2).

Para la destilación se aplicó el método por arrastre de vapor utilizando equipos de laboratorio (IQA), dichos equipos constan de un fondo falso (placa perforada) sobre la cual se coloca la especie vegetal recolectada y seleccionada, y debajo de esta se coloca 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) almacenándose de esta manera el aceite esencial.

A continuación se presenta un gráfico en el cual se indica el proceso de destilación por el cual se procesaron las cuatro especies en estudio a fin de obtener los respectivos aceites esenciales.

**GRÁFICO 03:** Proceso de destilación por arrastre con vapor.



**FUENTE:** Investigación experimental

**ELABORACIÓN:** El autor

Luego de haber desarrollado los diversos ensayos en la obtención de los aceites esenciales de cada especie se determinó que el tiempo más adecuado para la destilación del aceite de cada especie es de aproximadamente tres horas, el mismo que es similar al obtenido en trabajos previos. A partir de este tiempo la cantidad de aceite esencial que se obtiene es inapreciable.

Para cada destilación se pesa la materia vegetal clasificada y es cargada en el destilador, para luego con el volumen obtenido, una vez culminada la destilación determinar el porcentaje de rendimiento de la misma tomando como base una relación peso-volumen (VER ANEXO N°03).

Después de ser extraído el aceite esencial se recoge en probetas, se mide el volumen de aceite obtenido y se coloca en un envase de vidrio ámbar respectivamente etiquetado con una codificación la fecha de destilación y el volumen total obtenido de la destilación para ser sometidos a refrigeración a -4°C para evitar la degradación del aceite esencial por efecto de la luz.

### **3.3.Determinación de propiedades físicas del aceite esencial.**

Las propiedades físicas que se determinaron se detallan a continuación:

#### **3.3.1. Determinación de la Densidad Relativa a 20°C**

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.

“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/cm<sup>3</sup>. La mayoría de los aceites esenciales tienen una densidad menor a la del agua (densidad menor que 1) g/cm<sup>3</sup>”.<sup>2</sup>

-----  
<sup>2</sup> M. Ortuño, Manual Práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. Ediciones AIYANA, Primera Edición (2006).

La densidad del aceite esencial en los diferentes lugares y en los tres estados se determinó según la norma AFNOR NF T 75 - 111. Se realizó tres repeticiones para cada especie obteniendo una densidad promedio para cada especie. (Ver anexo 4)

### **3.3.2. Determinación del índice de refracción**

El índice de refracción de un aceite esencial se lo define como el producto obtenido de multiplicar el seno del ángulo de incidencia por 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 constante la temperatura.

Éste se determina a una temperatura constante. La temperatura de referencia es de 20°C, excepto para aquellas muestra que a esta temperatura no se encuentren en estado líquido 18°C, en este caso se deben adoptar las temperaturas de 25 y 30 °C según el punto de fusión del aceite esencial considerado. El índice de refracción de los aceites esenciales se determinó según la norma AFNOR NF T 75 - 112<sup>15</sup>(ver anexo 5), utilizando un refractómetro ABBE, el mismo que lo encontramos en el laboratorio del CETTIA - UTPL.

La longitud de onda específica es de (589.3 ±0.3)nm, correspondiente a la radiación D<sub>1</sub> y D<sub>2</sub> del espectro de sodio.

### **3.3.3. Determinación de la rotación óptica**

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 esencial.<sup>2</sup>

Para medir la rotación o actividad óptica de las muestras del estado de fructificación, se realizó en un polarímetro de marca AUTOPOL 880 Automatic Saccharimeter, siguiendo la Norma ISO 592 -1998 (ver anexo 6), esto en la empresa

---

<sup>2</sup> M. Ortuño, Manual Práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. Ediciones AIYANA, Primera Edición (2006).

<sup>15</sup> M. Salas y R. Zaragocin, Extracción, caracterización físico química y determinación de componentes del aceite esencial de frutos de palo santo (*Bursera graveolens*) de tres lugares diferentes de la provincia de Loja: El empalme, La Ceiba, y Yaraco, U.T.P.L., 2006.

MALCA en Catamayo, con una precisión no menor a  $\pm 0.03^\circ$  y ajustado de  $0^\circ$  a  $180^\circ$  con agua y un termómetro graduado en  $0.2^\circ\text{C}$  o  $0.1^\circ\text{C}$  permitiendo la determinación de temperatura entre  $10^\circ\text{C}$  y  $30^\circ\text{C}$ .

Dentro del proceso para la lectura de la actividad óptica de los aceites esenciales se procede a preparar 1ml de aceite esencial en 25ml de acetato de etilo.

Fórmula:

$$c = \frac{1}{25} = 0,04 \text{ g/ml}$$

c = concentración de la muestra g/ml

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

$$\alpha = \frac{\alpha L}{(l \times c)} - \alpha s$$

De donde:

$\alpha$  = actividad óptica calculada

$\alpha L$  = actividad óptica leída

l = dimensión del tubo (dm) = 2

$\alpha s$  = actividad óptica del solvente  $0^\circ\text{Z}$

c = concentración de la muestra

### 3.4. Determinación de la composición química del aceite esencial

#### 3.4.1. Cromatografía de gases

La identificación se realizó mediante una cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas CG-EM, mediante el cual se obtiene 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).

El equipo que se utilizó es un Cromatógrafo de Gases Agilent serie 6890N, 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 07:** Cromatógrafo de Gases



**ELABORACIÓN:** El autor

Dentro de las principales características de las columnas capilares que se utilizó en el Cromatógrafo de Gases para la identificación de los compuestos son las siguientes:

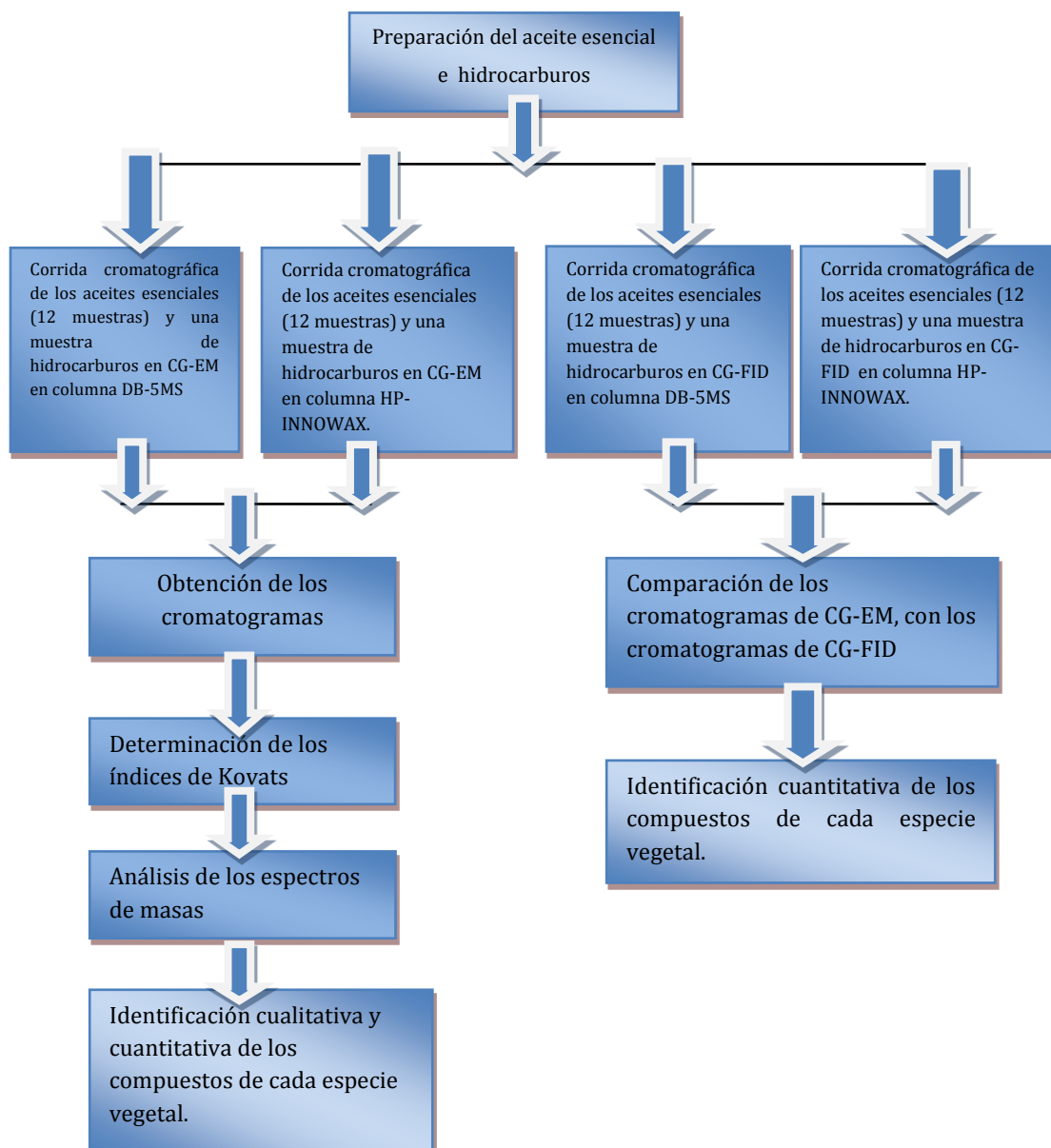
**TABLA 01:** Características de las columnas capilares

Columna	Longitud (m)	Diámetro interno DI (mm)	Fase estacionaria	Temperatura límite (°C)
DB5	30	0.25	0.25	325
HP-INNOWAX	30	0.25	0.25	260

ELABORACIÓN: El autor

A continuación se presenta un esquema simplificado de la secuencia de las corridas cromatográficas para la obtención de los diferentes cromatogramas e identificación química del aceite esencial de las especies en estudio.

**GRÁFICO 04:** Esquema simplificado de las corridas cromatográficas



ELABORACIÓN: El autor

### **3.4.2. Preparación de las muestras**

Se debe procurar que el material (vaso de precipitación, puntas, viales) que se va utilizar esté limpio y codificado según la muestra, para evitar en lo posterior contaminaciones, que interfieran en el análisis de las muestras. La preparación de los aceites esenciales para las inyecciones de las corridas cromatográficas se realiza en un vial con la siguiente dilución: 990µl de diclorometano grado HPLC y 10 µl de aceite esencial, teniendo una concentración del 1%.

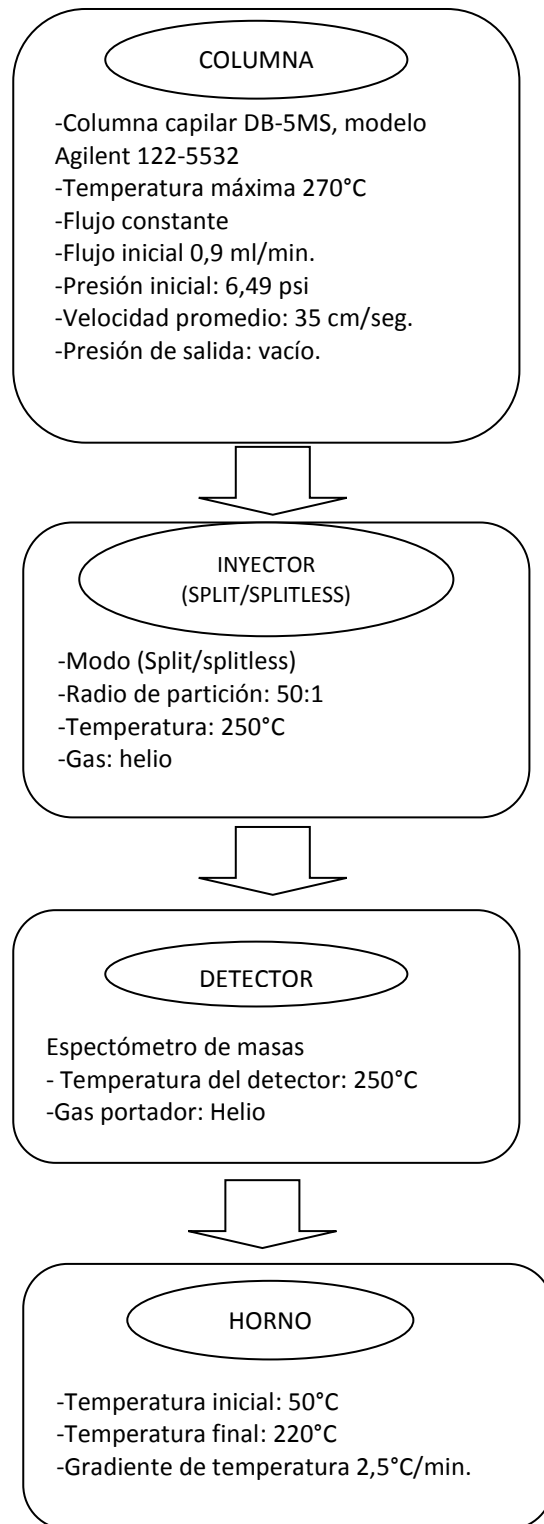
Posteriormente se preparó hidrocarburos de C<sub>10</sub> a C<sub>25</sub> (reconocidos en el mercado como TPH-6RPM de CHEM SERVICE) para ser inyectados en las columnas DB-5MS y HP-INNOWAX porque el tiempo de retención de los hidrocarburos nos sirve de base en la determinación de índices de k<sub>ovats</sub> de cada uno de los compuestos.

#### **3.4.2.1. Corrida cromatográficas de las muestras por CG-EM en la columna capilar DB-5MS**

Los parámetros operacionales con los cuales se inyectaron las muestras de aceites esenciales por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas CG-EM usando la columna (DB-5MS) se indican a continuación. Además con estos parámetros también fueron inyectados los hidrocarburos.



**GRÁFICO 05:** Parámetros operacionales del CG-EM en la columna DB-5MS

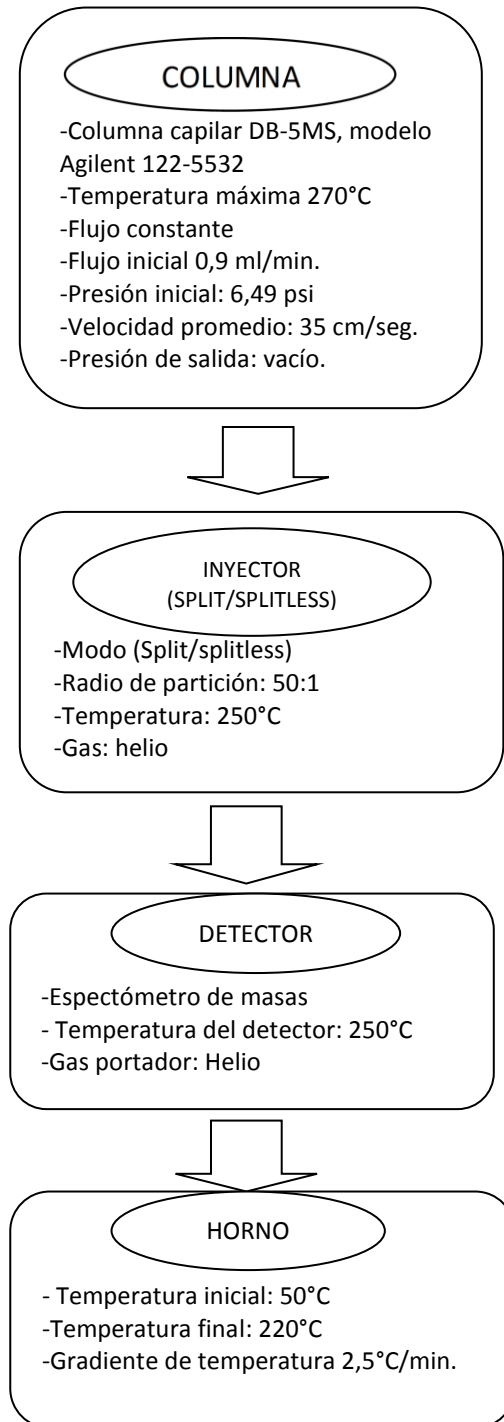


**ELABORACIÓN:** El autor

### 3.4.2.2. Corrida cromatográfica de las muestras por CG-EM en la columna capilar HP-INNOWAX.

Los parámetros operacionales bajo los cuales se inyectaron las muestras de aceites esenciales por cromatografía de gases acoplado a la espectrometría de masas CG-EM usando la columna polar (**HP-INNOWAX**) se indican a continuación.

**GRÁFICO 06:** Parámetros operacionales del CG-EM en la columna HP-INNOWAX.



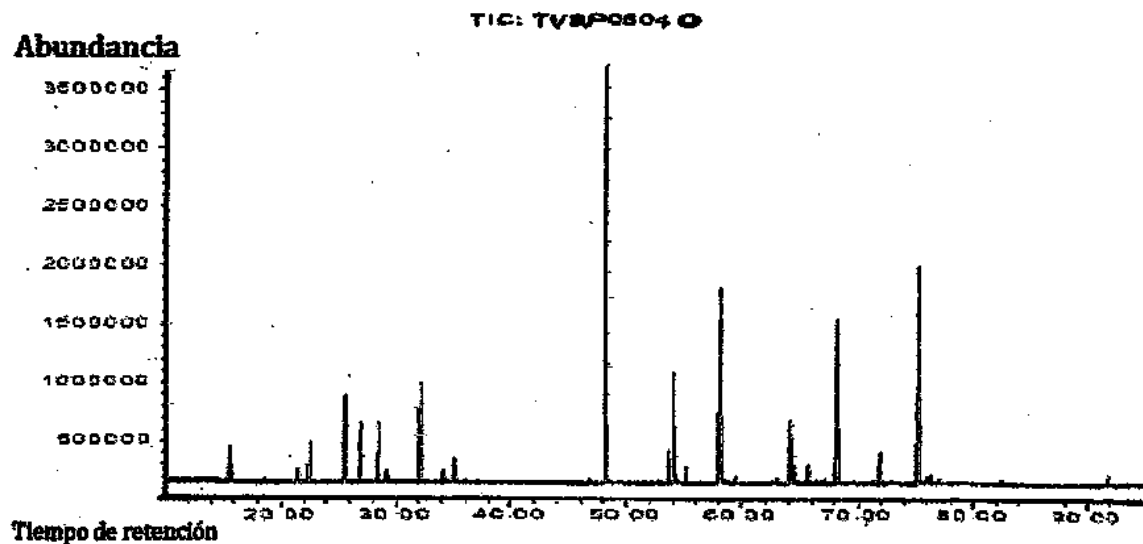
**ELABORACIÓN:** El autor

### 3.4.3. Obtención de los cromatogramas

Un cromatograma da información acerca del número de componentes de la muestra y el tiempo de retención, puede permitir la identificación de los mismos.

Para la obtención de los cromatogramas (cromatogramas de iones totales, TIC) se realizó un análisis del aceite esencial por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

**GRÁFICO 07:** Cromatograma



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

En cada corrida cromatográfica el equipo da un cromatograma específico de la muestra donde indica una serie de picos que representa cada uno una molécula aromática específica. En el capítulo IV se puede observar los cromatogramas correspondientes a cada especie de plantas en estudio de la presente investigación.

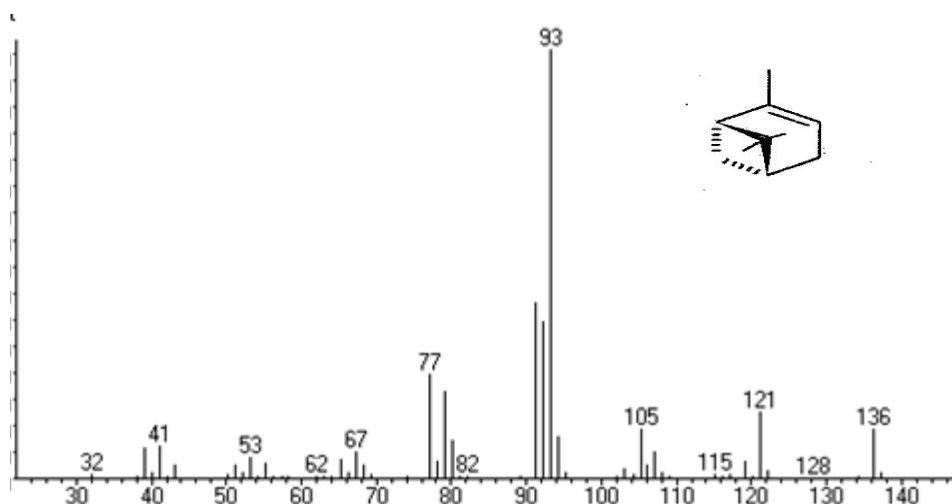
### 3.4.4. Determinación de los índices de Kovats.

El **índice de retención de Kovats** o simplemente **índice de Kovats** o **índice de retención** es un método de cuantificación de los tiempos de elución relativa de los diferentes compuestos en cromatografía de gases, de forma que ayuda a identificar positivamente los componentes de una mezcla<sup>16</sup>(VER ANEXO 7)

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

**A. Análisis de los espectros de masas.-** La espectrometría de masas proporciona la masa molecular y de ahí la fórmula molecular de un compuesto. Un espectro es el resultado de la interacción de un compuesto con un tipo de energía. Cada espectro es específico de un compuesto.<sup>17</sup>

**Gráfico 08:** Datos espectrales del compuesto  $\alpha$ -pineno



**FUENTE:** Base de datos del equipo de CG-MS.

**ELABORACIÓN:** El autor.

<sup>16</sup> R.P. Adams, Identification of essential oil components by chromatography/mass spectroscopy, Allured Publishing Carol Stream, Illinois, USA. 1995

<sup>17</sup> M. Climent, Experimentación en química: Química Orgánica, Ingeniería Química. Universidad Politécnica de Valencia, 2005.

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

Los compuestos de cada especie vegetal brindaron datos los cuales fueron procesados mediante un sistema computarizado que incluyen un procesamiento posterior (post-run analysis) completo, que emplea un software propio para este procedimiento, dando como resultado la integración de los datos que contiene cada cromatograma y obteniéndose un número de compuestos que posteriormente van a ser identificados. El porcentaje de área bajo los picos en los cromatogramas proporcionan una medida cuantitativa de cada componente en el aceite esencial.

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 compuesto, específico para cada compuesto con el cual se realizó la búsqueda del índice de Kovats leído IKL (en las diferentes bases de datos)<sup>16</sup> y la diferencia obtenida con el índice de Kovats calculado (IKC)<sup>18</sup> 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.

Los compuestos con un porcentaje inferior al 0,05% fueron considerados trazas.

### **3.4.6. Corrida cromatográfica de las muestras por CG-FID en la columna capilar DB-5MS**

El FID es un detector de los denominados universales o inespecíficos, especialmente adecuados para medidas cuantitativas, 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). Es un

---

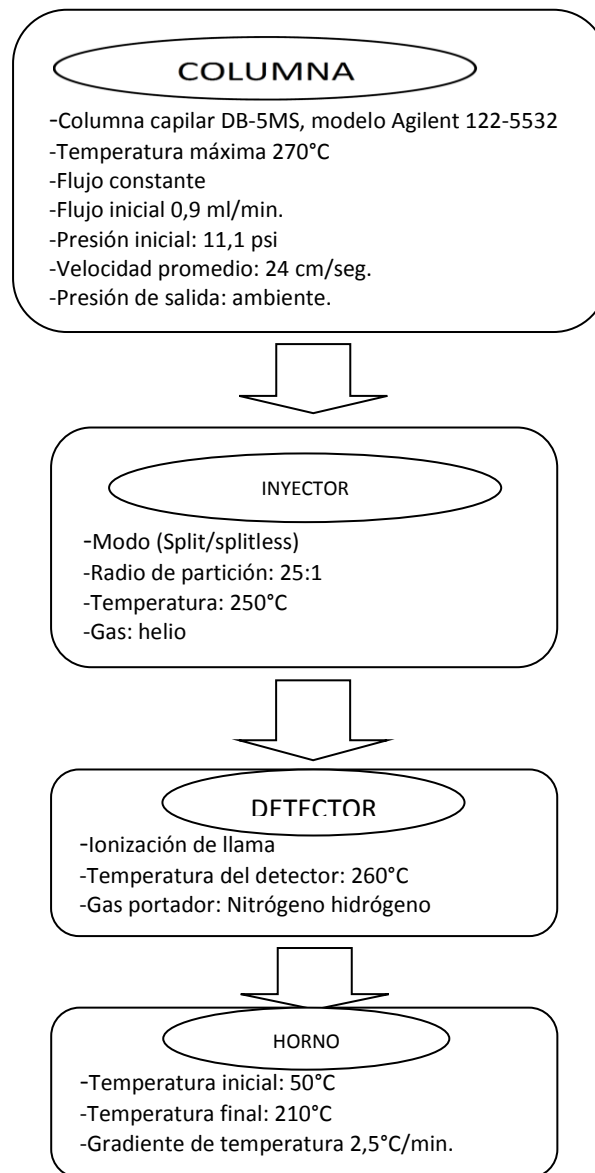
<sup>16</sup> R.P. Adams, Identification of essential oil components by chromatography/mass spectroscopy, Allured Publishing Carol Stream, Illinois, USA. 1995

<sup>18</sup> [www.pherobase.com/database/kovats/kovats-index.php](http://www.pherobase.com/database/kovats/kovats-index.php). disponible al 28 de enero del 2010.

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 tiempo.<sup>19</sup>

Los parámetros operacionales bajo los cuales se inyectaron las muestras de aceite esencial por cromatografía de gases acoplado al detector de Ionización de Llama CG-FID usando la columna DB-5MS se pueden ver en el siguiente gráfico.

**GRÁFICO 09:** Parámetros de operación para la columna capilar DB-5MS para CG-FID



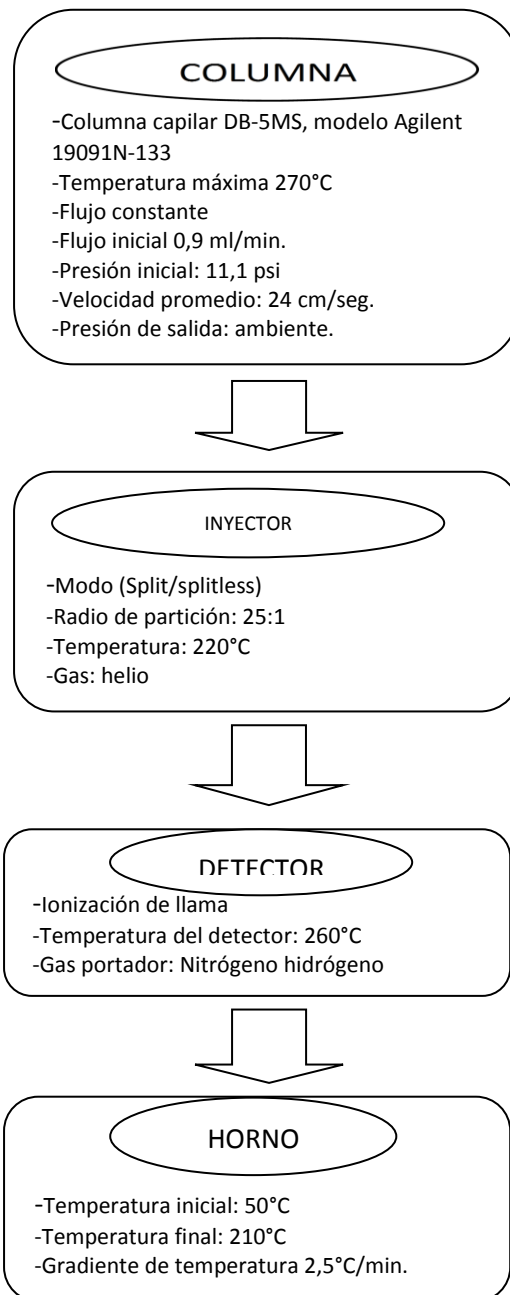
**ELABORACIÓN:** El Autor

<sup>19</sup> Base de datos Kovats RI disponible en Internet: <http://www.pherobase.com/database/kovats/kovats-index.php> disponible al 26 de noviembre del 2009.

### 3.4.7. 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

**GRÁFICO 10:** Parámetros operacionales del CG-FID en la columna HP-INNOWAX



**ELABORACIÓN:** El Autor

### **3.4.8. 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**

Se procedió a comparar los cromatogramas obtenidos en CG-EM con los cromatogramas obtenidos en CG-FID, tomando en consideración el tiempo de retención ( $t_r$ ) de cada uno de los compuestos químicos del aceite esencial identificados en CG-EM.

Los hidrocarburos sirvieron como base de referencia para correlacionar los tiempos de retención obtenidos en CG-FID, con los tiempos de retención obtenidos en CG-EM.

#### **B. Identificación cuantitativa de los compuestos en CG-FID de cada especie vegetal.**

Luego de haber identificado los compuestos para cada una de las especies vegetales en CG-EM, se determinó que la diferencia del porcentaje de área para cada compuesto en CG-FID, es mínimo con respecto a la de CG-EM, corroborando la identificación cuantitativa de la composición química del aceite esencial.

#### **Estudio de reproductividad de los tiempos de retención y los índices de Kovats.**

Para comprobar la reproductibilidad de datos de los tiempos de retención e índice de Kovats de algunos compuestos tomados al azar se aplicó cálculos como: la desviación estándar ( $\sigma$ )(ver anexo 8 ) y el coeficiente de variación (Cv) (ver anexo 9)



***CAPITULO IV.***  
***ANÁLISIS Y RESULTADOS***

## JV. RESULTADOS Y ANÁLISIS

### 4.1 Estado fenológico de las especies Recolectadas

Las especies de la familia Asteráceae recolectadas para el presente estudio presentaron el siguiente estado fenológico al momento de su recolección:

**TABLA 2:** Estado fenológico de las especies recolectadas

ESPECIE RECOLECTADA	CÓDIGO*	ESTADO FENOLÓGICO
<i>Coreopsis venusta</i> Kunth	111	Floración
	112	Floración
	113	Floración
<i>Gynoxys verrucosa</i> Weed	221	Floración
	222	Floración
	223	Floración
<i>Ageratina dendroides</i>	331	Floración
	332	Floración
	333	Floración
<i>Ageratina pichinchensis</i>	441	Floración
	442	Floración
	443	Floración

\* Se asignó códigos a cada una de las muestras: 11 para la especie *Coreopsis venusta* Kunth ,22 para la especie *Gynoxys verrucosa* Weed, 33 para la especie *Ageratina dendroides*, 44 para la especie *Ageratina pichinchensis*, los números 1, 2 y 3 para cada una de las tres recolecciones.

FUENTE: Investigación experimental

ELABORACIÓN: El autor

### 4.2.Humedad, rendimiento y propiedades físicas

A continuación en la tabla 3 se puede observar los resultados del porcentaje de la humedad, rendimiento y propiedades físicas de los aceites esenciales.

**TABLA 3:** Humedad, rendimiento y propiedades físicas de los aceites esenciales

Nombre de la especie	Código	Hm (%)	R (%)	$d_{20}^{20}$	$n^{20}$	$\alpha$	Estado del AE
<i>Coreopsis venusta</i> Kunth,	111	74.45	0.1011	0,8543	1,3333	4.875	líquido
	112	67.61	0.1154	0,8542	1,3283	4.500	líquido
	113	61.65	0.1071	0,8543	1,3293	4.625	líquido
$\bar{x}$		<b>67,90</b>	<b>0,1079</b>	<b>0,85426</b>	<b>1,3303</b>	<b>4,266</b>	
$\sigma$		6,4050	0,0072	0,4932	0,0025	0,1909	
CV		0,0943	0,0665	0,5773	0,0019	0,0448	
<i>Gynoxys verrucosa</i> Weed	221	70.51	0.0333	0,8890	1,4963	-75.50	líquido
	222	75.72	0.0293	0,8892	1,4953	-75.00	líquido
	223	76.48	0.0313	0,8900	1,4873	-62.875	líquido
$\bar{x}$		<b>74,24</b>	<b>0,0313</b>	<b>0,8894</b>	<b>1,4929</b>	<b>-71,125</b>	
$\sigma$		3,2500	0,0020	0,0005	0,0049	7,1490	
CV		0,0439	0,0639	0,0006	0,0033	0,1005	
<i>Ageratina dendroides</i>	331	67.81	0.0652	0,8717	1,5013	46.875	líquido
	332	64.17	0.0545	0,8717	1,5003	46.500	líquido
	333	56.95	0.0667	0,8716	1,4893	40.625	líquido
$\bar{x}$		<b>62,98</b>	<b>0,0621</b>	<b>0,87166</b>	<b>1,4970</b>	<b>44,667</b>	
$\sigma$		5,5300	0,0067	0,0001	0,0067	3,5052	
CV		0,0878	0,1071	0,0001	0,0044	0,0785	
<i>Ageratina pichinchensis</i>	441	52.37	0.0571	0,8805	1,5133	-121.75	líquido
	442	49.67	0.0500	0,8805	1,5093	-109.25	líquido
	443	43.84	0.0706	0,8804	1,5123	-96.75	líquido
$\bar{x}$		<b>48,63</b>	<b>0,0592</b>	<b>0,88046</b>	<b>1,5116</b>	<b>-109,25</b>	
$\sigma$		4,3597	0,0105	0,0001	0,0021	12,5000	
CV		0,0896	0,1768	0,0001	0,0014	-0,1144	

$\bar{X}$ =promedio

$\sigma$  =Desviación estándar

CV= Coeficiente de Variación

**ELABORACIÓN:** El autor

En el presente estudio se determinó que todos los aceites esenciales de la familia Asteráceae presentan un estado líquido a temperatura ambiente.

Las humedades en promedio con las que fueron destiladas las nuestras fueron *Coreopsis venusta* Kunth (67,90%), *Gynoxys verrucosa* Weed (74,24%), *Ageratina dendroides* (62.98%) y *Ageratina pichinchensis* (48.63%), de acuerdo a estos resultados se puede observar que existe una variación en la humedad, lo cuál se debe a las diversas condiciones climáticas que se dieron el día de la recolección de las especies.

En lo que respecta a los resultados obtenidos de los rendimientos de los aceites esenciales de una misma especie, se observa una variación respecto a cada una de las recolecciones, realizando una comparación entre especies el mayor rendimiento se obtuvo de *Coreopsis venusta* Kunth (0,11%) y el menor de *Gynoxys verrucosa* Weed (0,03%).

Cabe indicar que las condiciones climáticas no afectan al rendimiento del aceite esencial porque es una propiedad de la planta. El clima afecta la humedad y esto al peso de la planta. En el peso hace que cambie el rendimiento, pero la cantidad de aceite en la planta sigue siendo el mismo.

En lo que se refiere a las propiedades físicas del AE el de la especie *Gynoxys verrucosa* Weed fue el más denso (0.89) y el de la especie *Coreopsis venusta* Kunth el menos denso (0.85), el índice de refracción fue 1,33 para *Coreopsis venusta*, 1,49 para *Gynoxys verrucosa*, 1,50 para la *Ageratina dendroides* y 1,51 para la *Ageratina pichinchensis*, el AE de la especie *Coreopsis venusta* y de la especie *Ageratina dendroides* fueron de carácter dextrógiro y los de las especies *Gynoxys verrucosa* y *Ageratina pichinchensis* de carácter levógiro.

#### **4.3.Composición Química de los Aceites Esenciales**

Luego de identificar los compuestos en CG-EM, tanto para la columna DB-5MS y HP-INNOWAX, se procedió a realizar la verificación cuantitativa de los compuestos identificados mediante los tiempos de retención obtenidos en CG-FID, los cuales posteriormente fueron comparados con los porcentajes de área obtenidos en CG-EM y CG-FID en las columnas DB-5MS y HP-INNOWAX respectivamente, obteniendo como resultado que no existe diferencia entre los porcentajes de área obtenidos en los dos detectores. Por tal razón se procede a reportar el porcentaje de área en un solo detector.

#### 4.3.1. Composición Química del aceite esencial de la especie *Coreopsis venusta* Kunth.

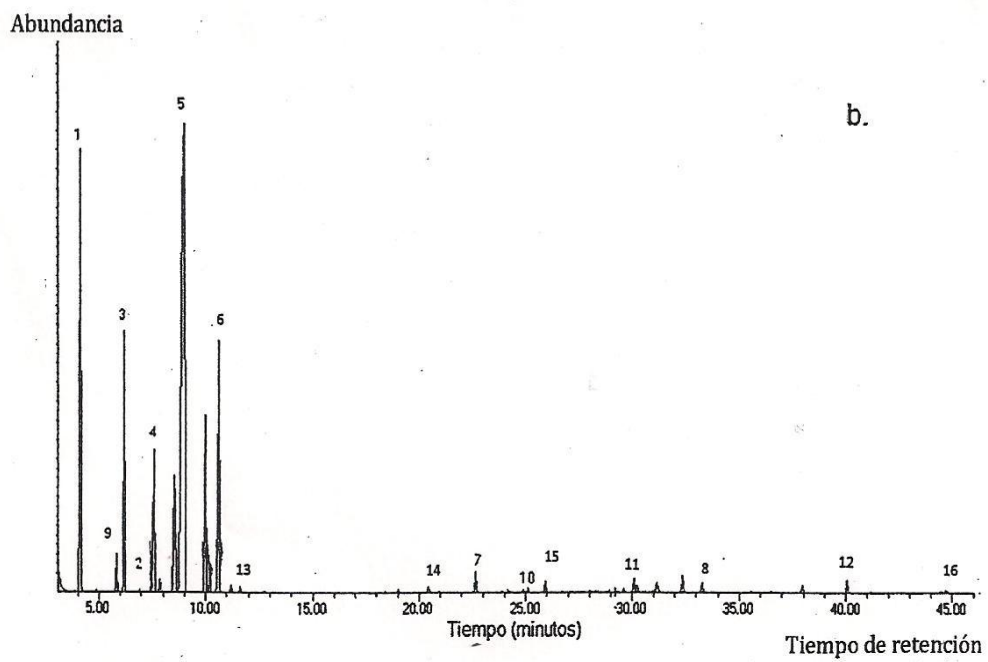
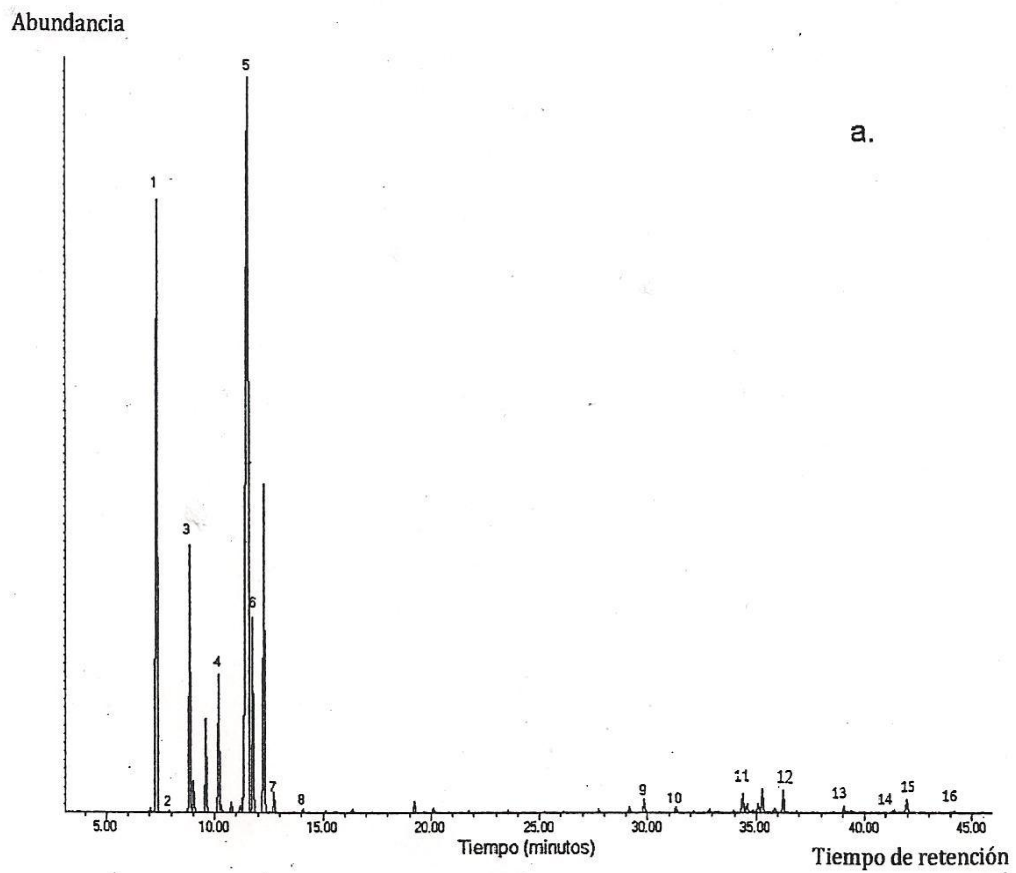
En el gráfico 11. Se presenta los cromatogramas típicos que se obtuvieron en CG-EM las columnas DB-5MS y HP-INNOWAX del aceite esencial de la especie *Coreopsis venusta* Kunth. Cabe indicar que los números de la parte superior corresponden al número de pico de cada compuesto.

En el Aceite Esencial de la especie *Coreopsis venusta* Kunth se determinaron 16 compuestos de los cuales se identificaron 11 en las dos columnas que representan un 90,79%, 90,86% y 90,98% (ver gráfico 12) (respectivamente para cada recolección) del porcentaje relativo total, dichos compuestos fueron:  $\alpha$ -pineno, camfeno, limoneno, pseudo-limoneno, biciclo-hexano, sabineno, mosleno,  $\alpha$ -tepinoleno,  $\beta$ -cubebeno,  $\beta$ -cariofileno y s-cadineno.

Los compuestos mayoritarios para esta especie son: biciclo-hexano (54,16%),  $\alpha$ -pineno(16,20%), sabineno (8,93%), limoneno (6,47%) y pseudo-limoneno (3,38%).

En la tabla 4. Además de indicar los índices de Kovats y el porcentaje relativo para cada uno de los compuestos de cada recolección de la especie *Coreopsis venusta* Kunth, se muestra el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación de los porcentajes relativos obtenidos en la columna DB-5MS, dichos parámetros nos dan una idea de la medida de centralización o la dispersión de cada uno de los valores con respecto a su promedio, así por ejemplo para el biciclo-hexano tenemos un promedio de 54,16 con una desviación estándar de  $\pm 0,37$  y un coeficiente de variación de 0,00675, esto significa que en promedio cada recolección podría tener este compuesto en un porcentaje de  $54,16 \pm 0,366$  máximo, siendo esta una variación muy pequeña con respecto al promedio.

**GRÁFICO 11:** Cromatograma de la especie *Coreopsis venusta* kunth. **a.** Columna DB-5MS (muestra 112) en CG-EM y **b.** Columna HP-INNOWAX (muestra 112) en CG-EM.



ELABORACIÓN: El autor

**TABLA 4:** Composición química del aceite esencial de la especie *Coreopsis venusta* kunth

Nº	COMPUESTO	ÍNDICES DE KOVATS <sup>a</sup>						CANTIDAD RELATIVA (%) <sup>c</sup>					
		DB-5MS <sup>b</sup>			HP-INNOWAX			111	112	113	$\bar{X}$	$\sigma$	CV
		111	112	113	111	112	113	111	112	113	$\bar{X}$	$\sigma$	CV
1	$\alpha$ -pineno	-----	890	890	890	890	880	16,00	16,32	16,26	16,20	0,17	0,01050
2	camfeno	-----	893	893	909	909	909	0,057	0,06	0,06	0,06	0,00	0,00000
3	limoneno	989	989	988	946	947	947	6,39	6,39	6,65	6,47	0,15	0,02346
4	pseudo-limoneno	-----	940	940	1002	1001	1001	3,21	3,42	3,53	3,38	0,16	0,04827
5	biciclo-hexano	1007	1007	1007	1019	1019	1019	54,56	54,07	53,85	54,16	0,37	0,00675
6	sabineno	1020	1020	1019	1034	1034	1034	8,93	8,93	8,93	8,93	0,00	0,00000
7	mosleno	-----	1023	1022	-----	1043	1043	0,48	0,48	0,48	0,48	0,00	0,00000
8	$\alpha$ -tepinoleno	1041	1041	1041	1069	1068	1069	0,14	0,12	0,13	0,13	0,01	0,04774
9	$\beta$ -cubebeno	1312	-----	1313	1371	1370	1371	0,41	0,48	0,46	0,45	0,03	0,07721
10	$\beta$ -cariofileno	1335	1335	1335	1399	1399	1399	0,21	0,21	0,21	0,21	0,00	0,00000
11	s-cadineno	1517	1517	1517	1500	1507	1501	0,82	0,82	0,82	0,82	0,00	0,00000
12	$\beta$ -pineno <sup>d</sup>	-----	-----	-----	905	905	905	0,98	0,97	0,83	0,93	0,09	0,09185
13	$\alpha$ -cubebeno <sup>d</sup>	-----	-----	-----	1219	1223	1223	0,18	0,18	0,14	0,17	0,02	0,12003
14	$\alpha$ -humuleno <sup>d</sup>	-----	-----	-----	1421	1421	1421	0,10	0,11	0,09	0,10	0,01	0,12092
15	curcumen <sup>d</sup>	-----	-----	-----	1433	1433	1433	0,18	0,20	0,16	0,18	0,02	0,11050
16	biciclogermacreno <sup>d</sup>	-----	-----	-----	1507	1507	1507	0,56	0,59	0,52	0,56	0,04	0,06710
Total <sup>e</sup>								90,78	90,89	90,98			

a= Índices de Kovats experimentales

b= Compuestos ordenados de acuerdo al orden de elución en la columna DB-5MS

c= Porcentajes promedio calculados en base al % área de los picos reportados en la columna DB-5MS

d= Compuestos identificados solo en la columna HP-INNOWAX

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

$\bar{X}$ = promedio

$\sigma$  = Desviación estándar

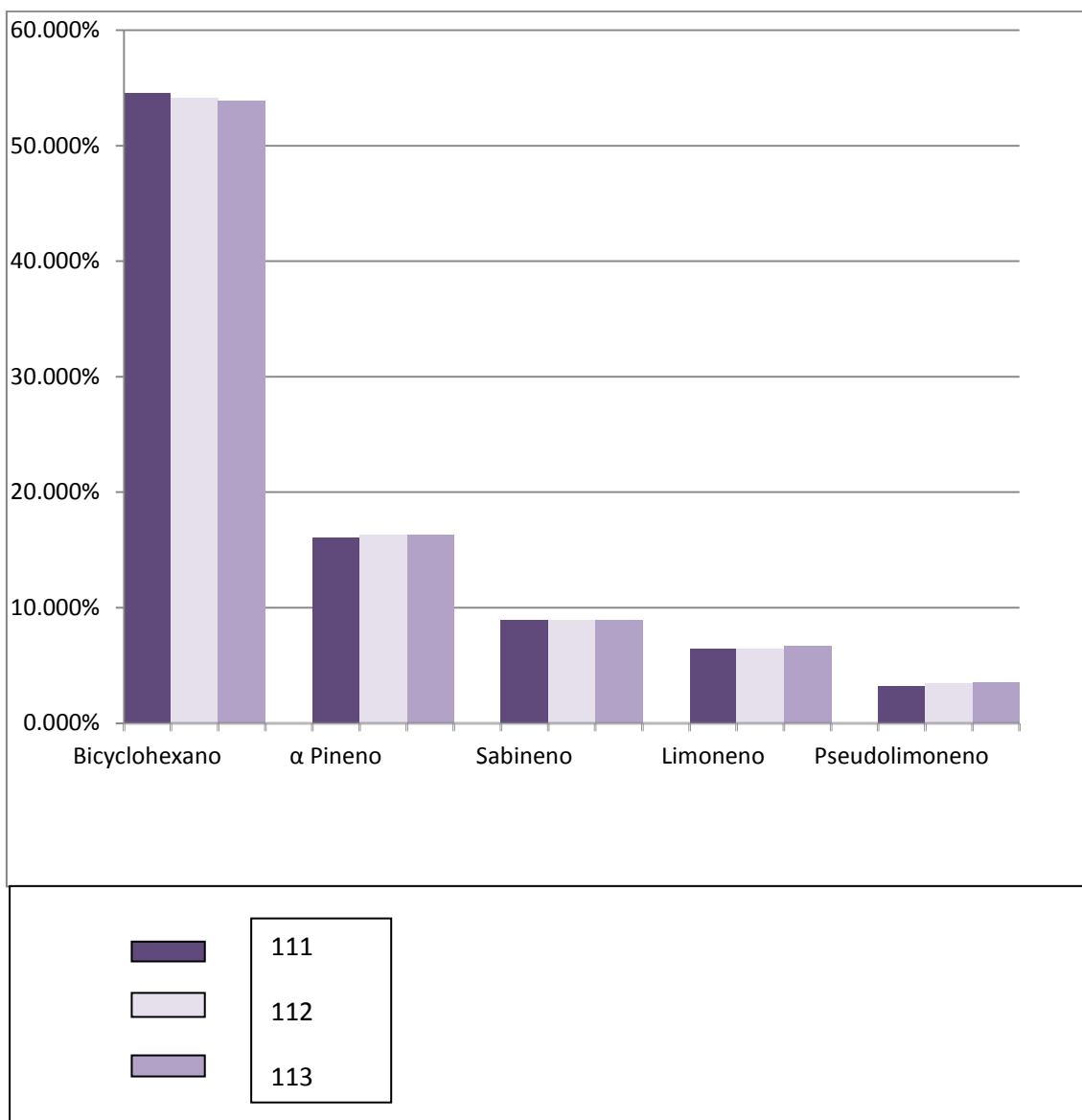
CV= Coeficiente de Variación

FUENTE: Investigación experimental

ELABORACIÓN: El autor

**GRÁFICO 12:** Compuestos mayoritarios del aceite esencial de la especie *Coreopsis venusta* Kunth

Area (%)



**FUENTE:** Investigación experimental.

**ELABORACIÓN:** El autor

En la gráfica 12 representamos los compuestos mayoritarios identificados de cada recolección del aceite esencial de *Coreopsis venusta* Kunth.



#### **4.3.2. Composición Química del Aceite Esencial de la especie *Gynoxys verrucosa* Weed.**

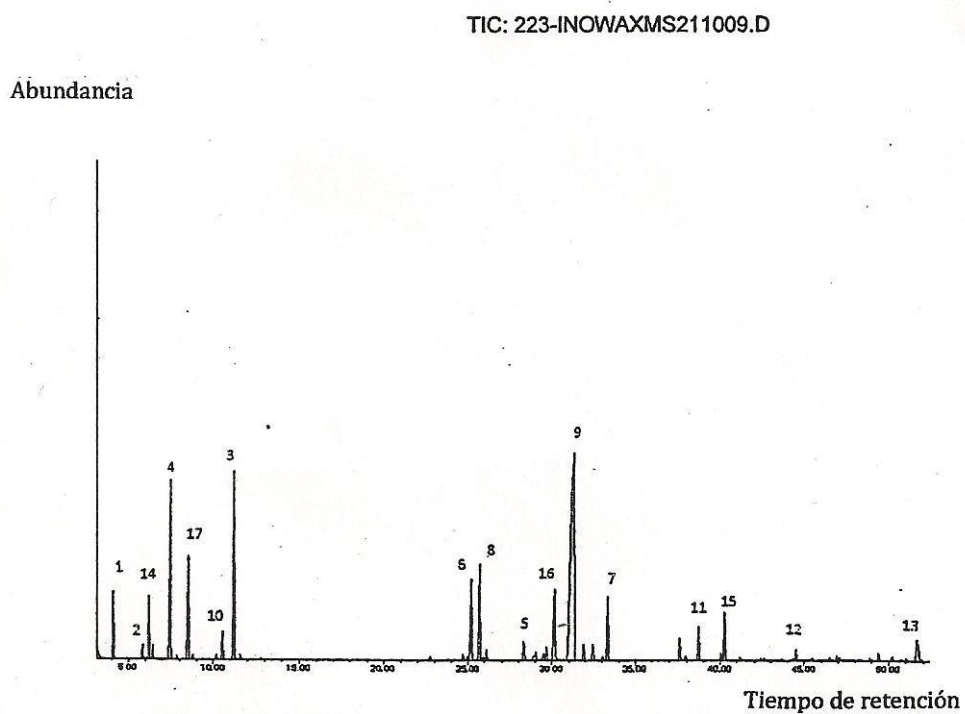
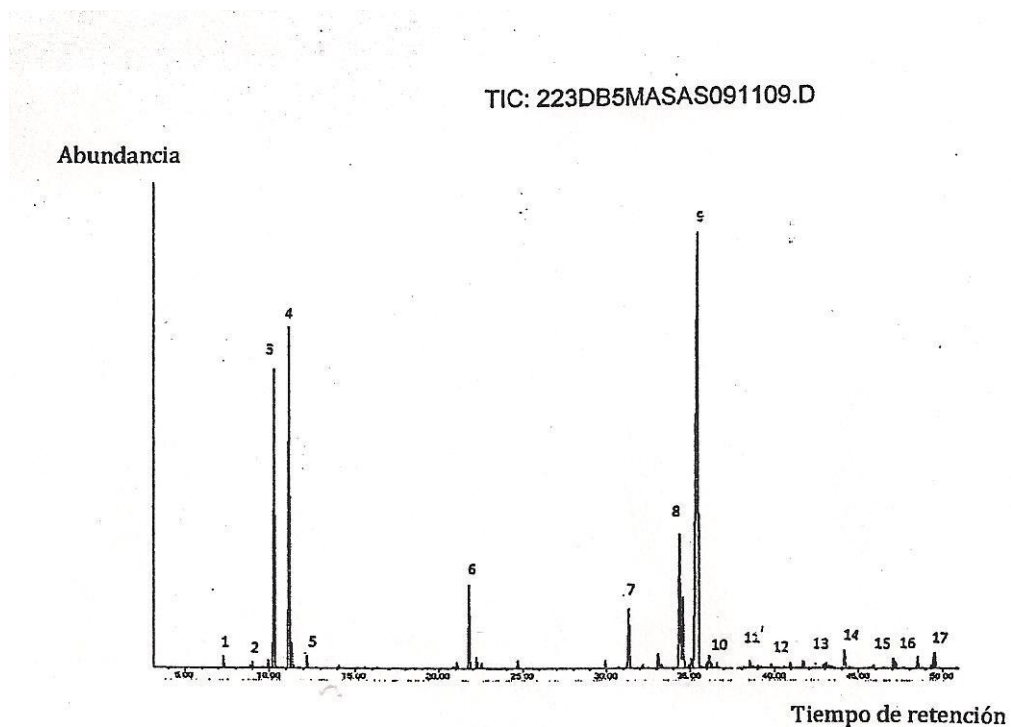
En el gráfico 13. Se presenta los cromatogramas típicos que se obtuvieron en CG-EM las columnas DB-5MS y HP-INNOWAX del aceite esencial de la especie *Gynoxys verrucosa* Weed. Cabe indicar que los números de la parte superior corresponden al número de pico de cada compuesto.

En el Aceite Esencial de la especie *Gynoxys verrucosa* Weed se determinó 17 compuestos de los cuales se identificaron 12 en las dos columnas que representan un 73,73%, 75,41% y 73,76% (ver gráfico 14) (respectivamente para cada recolección) del porcentaje relativo total, dichos compuestos fueron:  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, felandreno, benzeno, trans-ocimeno, benzenol,  $\alpha$ -bergamoteno, 2-hepteno, zingibereno, cadinol,  $\alpha$  cedreno, sabineno, limoneno,  $\alpha$ -humuleno, curcumeno y  $\beta$ -cucubeno.

Los compuestos mayoritarios para esta especie son: zingibereno (42,37%), felandreno (11,73%), 2-hepteno (3,99%),  $\beta$ -cubebeno(3,47%) y benzenol (3,35%).

En la tabla 5. Además de indicar los índices de Kovats y el porcentaje relativo para cada uno de los compuestos de cada recolección de la especie *Gynoxys verrucosa* Weed, se muestra el promedio, la desviación estándar, y el coeficiente de variación de los porcentajes relativos obtenidos en la columna DB-5MS, dichos parámetros nos dan una idea de la medida de centralización o la dispersión de cada uno de los valores con respecto a su promedio, así por ejemplo para el zingibereno tenemos un promedio de 42,37 con una desviación estándar de  $\pm 0,57$  y un coeficiente de variación de 0,013501 esto significa que en promedio cada recolección podría tener este compuesto en un porcentaje de  $42,36 \pm 0,57$  máximo, siendo ésta una variación muy pequeña con respecto al promedio.

**GRÁFICO 13:** Cromatograma de la especie *Gynoxys verrucosa* Weed **a.** Columna DB-5MS (muestra 223) en CG-EM y **b.** Columna HP-INNOWAX (muestra 223) en CG-EM.



ELABORACIÓN: El autor.

**TABLA 5:** Composición química del aceite esencial de la especie *Gynoxys verrucosa* Weed

	<b>COMPUESTO</b>	<b>ÍNDICES DE KOVATS<sup>a</sup></b>						<b>CANTIDAD RELATIVA (%)<sup>c</sup></b>					
		<b>DB – 5MS<sup>b</sup></b>			<b>HP-INNOWAX</b>								
		<b>221</b>	<b>222</b>	<b>223</b>	<b>221</b>	<b>222</b>	<b>223</b>	<b>221</b>	<b>222</b>	<b>223</b>	$\bar{X}$	$\sigma$	<b>CV</b>
1	$\alpha$ -Pineno	890	890	890	890	890	890	0,35	0,35	0,35	0,35	0,00	0,00283
2	$\beta$ -pineno	954	954	954	905	905	905	0,31	0,30	0,30	0,30	0,00	0,01325
3	felandreno	1007	1006	1006	937	937	937	11,65	11,89	11,64	11,73	0,15	0,01237
4	trans ocimeno	1033	1033	1033	1035	1036	1035	0,43	0,40	0,44	0,43	0,02	0,04706
5	benzenol	1217	1217	1217	1335	1335	1335	3,36	3,30	3,38	3,35	0,04	0,01285
6	$\alpha$ -Bergamoteno	1339	1339	1339	.....	1340	1340	3,24	3,14	3,24	3,21	0,06	0,01715
7	2-hepteno	1465	1465	1465	1508	1508	1508	3,99	3,99	3,99	3,99	0,00	0,00000
8	zingibereno	1483	1483	1483	1512	1512	1512	42,14	43,01	41,95	42,37	0,57	0,01350
9	cedrene	1530	1530	1530	1518	1518	1518	0,10	0,10	0,10	0,097	0,00	0,00000
10	$\alpha$ -Zingibereno	1615	1616	1617	1525	1525	1525	0,67	0,63	0,67	0,66	0,03	0,03805
11	cadinol	.....	1638	1638	1616	1617	1617	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00	0,03030
12	$\alpha$ - cedreno	.....	1673	.....	1673	1672	1673	1,06	1,08	1,05	1,06	0,02	0,00150
13	sabineno	.....	.....	.....	912	912	912	0,11	0,13	0,12	0,12	0,01	0,07500
14	limoneno	.....	.....	.....	957	957	957	0,95	1,29	1,10	1,11	0,17	0,15005
15	$\alpha$ -Humuleno	.....	.....	.....	1421	1421	1421	0,80	0,89	0,90	0,86	0,05	0,05691
16	Curcumeno	.....	.....	.....	1433	1433	1433	1,07	1,18	1,09	1,11	0,06	1,00000
17	$\beta$ -cubebeno	.....	.....	.....	1437	1437	1437	3,41	3,64	3,36	3,47	0,15	1,00000

**Totale<sup>e</sup>      73,73      75,41      73,76**

*a= Índices de Kovats experimentales*

*b= Compuestos ordenados de acuerdo al orden de elución en la columna DB-5MS*

*c= Porcentajes promedio calculados en base al % área de los picos reportados en la columna DB-5MS*

*d= Compuestos identificados solo en la columna HP-INNOWAX*

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

$\bar{X}$ = promedio

$\sigma$  = Desviación estándar

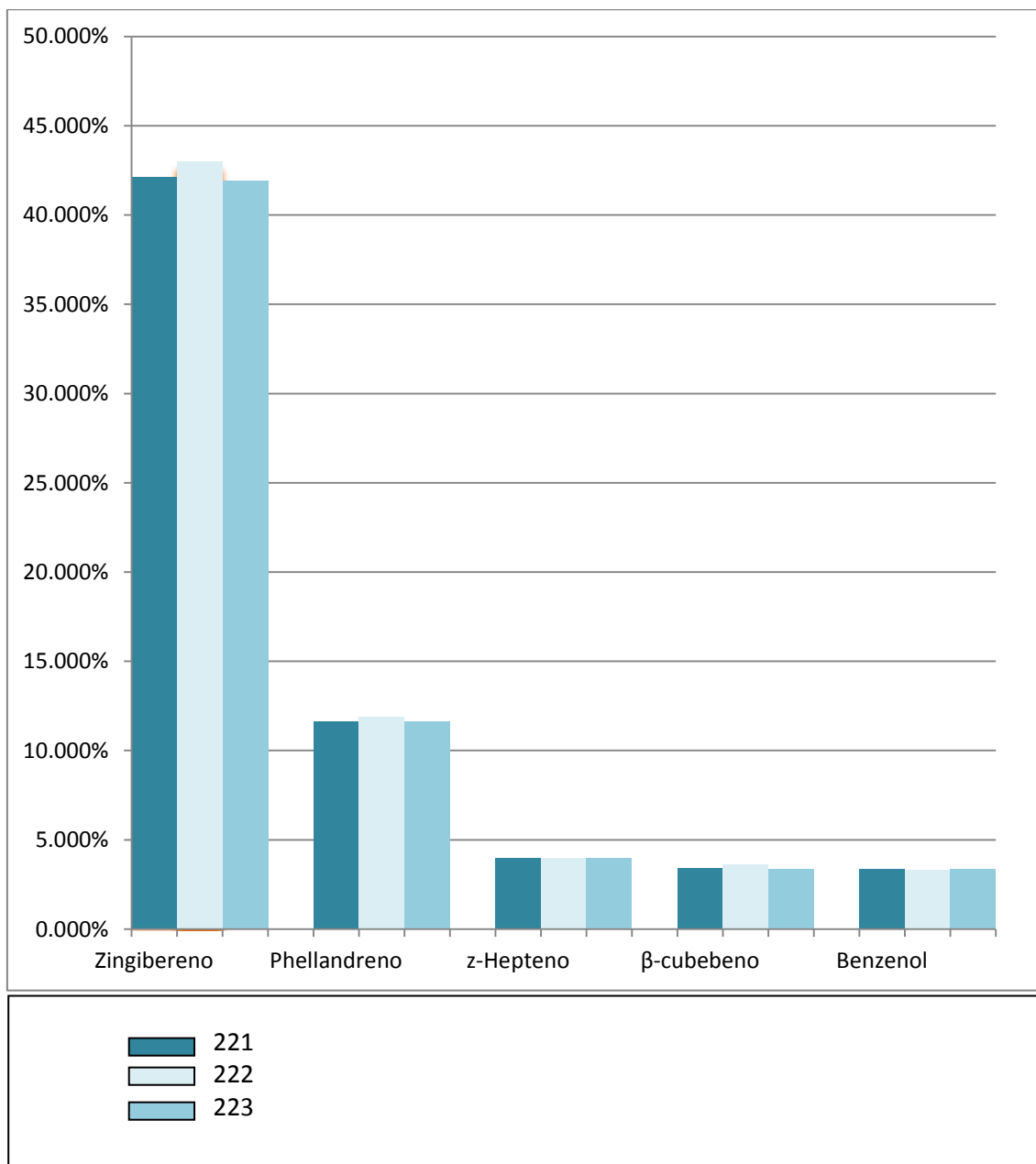
CV= Coeficiente de Variación

**FUENTE:** Investigación experimental

**ELABORACIÓN:** El autor

**GRÁFICO 14:** Compuestos mayoritarios de la especie *Gynoxys verrucosa* Weed

Área (%)



**FUENTE:** Investigación experimental.

**ELABORACIÓN:** El autor

En la gráfica 14 representamos los compuestos mayoritarios identificados de cada recolección del aceite esencial de *Gynoxys verrucosa* Weed.

### 4.3.3. Composición Química del Aceite Esencial de la especie *Ageratina dendroides*.

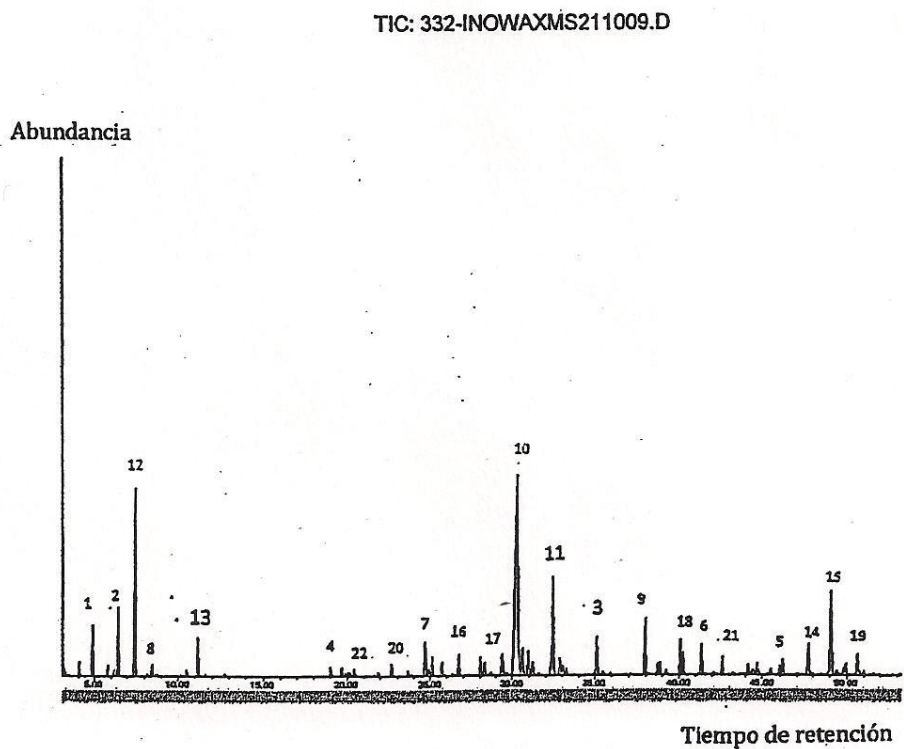
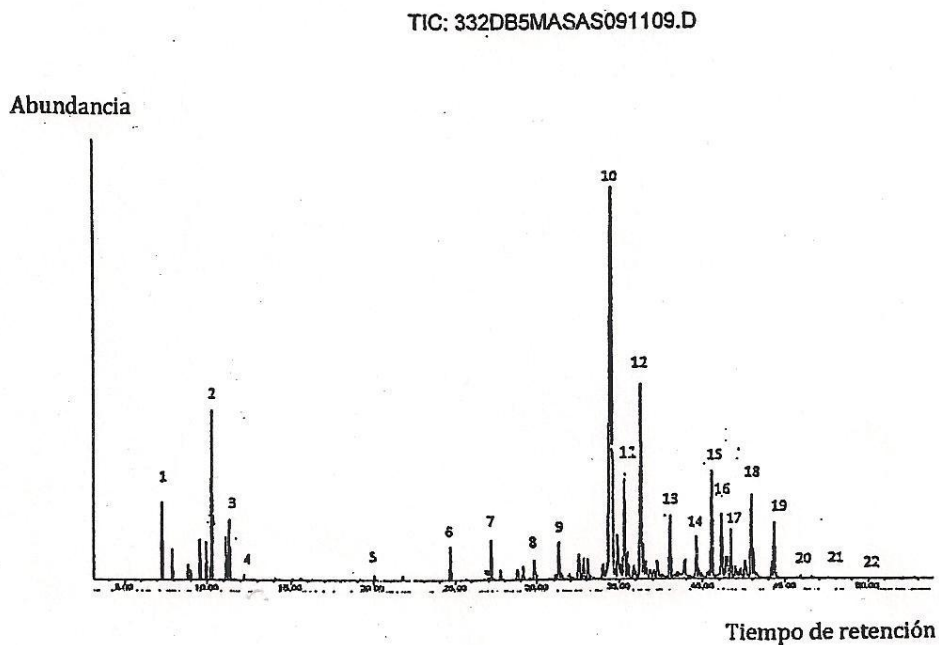
En el gráfico 15. Se presenta los cromatogramas típicos que se obtuvieron en CG-EM las columnas: DB-5MS y HP-INNOWAX del aceite esencial de la especie *Ageratina dendroides*. Cabe indicar que los números de la parte superior corresponden al número de pico de cada compuesto.

En el aceite esencial de la especie *Ageratina dendroides* se determinó 22 compuestos de los cuales se identificaron 19 en las dos columnas que representan un 89,09%, 88,61% y 89,98% (respectivamente para cada recolección) del porcentaje relativo total, dichos compuestos fueron: camfeno, felandreno, limoneno, ocimeno trans, mosleno,  $\alpha$ -terpineol, borneol, elizeno,  $\alpha$ -cubebeno,  $\beta$ -cubebeno,  $\beta$ -bisaboleno, s-cadineno, B-germacreno, isoledeno,  $\alpha$ -amorpheno, isolongifoleno, zingibereno, aristolono, benzyl Benzoate.

Los compuestos mayoritarios para esta especie son:  $\beta$ -cubebeno (29,79%), felandreno (9,98%), s-cadineno (9,38%), zingibereno (7,21%),  $\alpha$ -cubebeno (5,49%).

En la tabla 6. Además de indicar los índices de Kovats y el porcentaje relativo para cada uno de los compuestos de cada recolección de la especie *Ageratina dendroides*, se muestra el promedio, la desviación estándar, y el coeficiente de variación de los porcentajes relativos obtenidos en la columna DB-5MS, dichos parámetros nos dan una idea de la medida de centralización o la dispersión de cada uno de los valores con respecto a su promedio, así por ejemplo para el  $\beta$ -cubebeno tenemos un promedio de 29,79 con una desviación estándar de  $\pm 0,10$  y un coeficiente de variación de 0,00320 esto significa que en promedio cada recolección podría tener este compuesto en un porcentaje de  $29,79 \pm 0,10$  máximo, siendo esta una variación muy pequeña con respecto al promedio.

**GRÁFICO 15:** Cromatograma de la especie *Ageratina dendroides* a. Columna DB-5MS (muestra 332) en CG-EM y b. Columna HP-INNOWAX (muestra 332) en CG-EM.



ELABORACIÓN: El autor.

**TABLA 6:** Composición química del aceite esencial de la especie *Ageratina dendroides*

COMPUESTO	ÍNDICES DE KOVATS <sup>a</sup>						CANTIDAD RELATIVA (%) <sup>c</sup>					
	DB-5MS <sup>b</sup>			HP-INNOWAX			331	332	333	X̄	σ	CV
	331	332	333	331	332	333						
1 camfeno	890	890	892	909	909	907	0,62	0,62	0,62	0,62	0,00	0,00000
2 felandreno	917	917	917	1001	1001	1001	9,98	9,98	9,98	9,98	0,00	0,00000
3 limoneno	937	937	937	1072	1072	1072	2,58	2,57	2,57	2,57	0,01	0,00224
4 trans ocimeno	.....	960	960	.....	1078	1078	0,15	0,15	0,15	0,15	0,00	0,00000
5 mosleno	.....	1022	1022	.....	1081	1081	0,05	0,05	0,05	0,05	0,0	0,01195
6 α-terpinol	.....	1027	1027	1195	1195	1195	0,16	0,16	1,60	0,64	0,83	1,30130
7 borneol	.....	1313	1313	.....	1294	1294	4,01	3,98	3,98	3,99	0,02	0,00420
8 elizeno	1331	1331	1331	1387	1387	1387	1,33	1,33	1,40	1,35	0,04	0,03161
9 α-cubebeno	.....	1408	1408	.....	1388	1388	5,49	5,49	5,49	5,49	0,00	0,00000
10 β-cubebeno	.....	1412	1412	.....	1395	1395	29,90	29,74	29,74	29,79	0,10	0,00320
11 β-bisaboleno	1425	1425	1425	1499	1499	1499	0,85	0,85	0,85	0,85	0,00	0,00068
12 S-cadineno	.....	1427	1427	1589	1590	1590	9,38	9,38	9,38	9,38	0,00	0,00000
13 b-germacreno	1506	.....	1506	1593	1593	1593	2,32	2,32	2,32	2,32	0,00	0,00100
14 isoledeno	1518	1518	1518	1597	1597	1597	2,35	2,35	2,35	2,35	0,00	0,00000
15 α-Amorpheno	1604	1604	1604	.....	1691	1691	2,90	2,88	2,88	2,89	0,01	0,00420
16 isolongifoleno	1607	1607	1607	.....	1692	1692	3,44	3,44	3,40	3,43	0,02	0,00674
17 zingibereno	1670	1670	1670	1695	1695	1695	7,21	7,21	7,22	7,21	0,00	0,00072
18 aristolono	1680	1680	1680	.....	1698	1698	2,94	2,94	2,94	2,94	0,00	0,00000
19 benzyl Benzoate	1692	1692	1692	.....	1796	1796	2,56	2,31	2,29	2,39	0,15	0,06258
20 α-Pineno	.....	.....	.....	890	890	890	0,38	0,41	0,33	0,37	0,04	0,11242
21 β-Pineno	.....	.....	.....	905	905	905	0,33	0,31	0,30	0,31	0,02	0,05074
22 eucalyptol	.....	.....	.....	1003	1003	1003	0,17	0,15	0,15	0,16	0,01	0,08082
<b>Total<sup>e</sup></b>							89,09	88,61	89,98			

a= Índices de Kovats experimentales

b= Compuestos ordenados de acuerdo al orden de elución en la columna DB-5MS

c= Porcentajes promedio calculados en base al % área de los picos reportados en la columna DB-5MS

d= Compuestos identificados solo en la columna HP-INNOWAX

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

X̄= promedio

σ = Desviación estándar

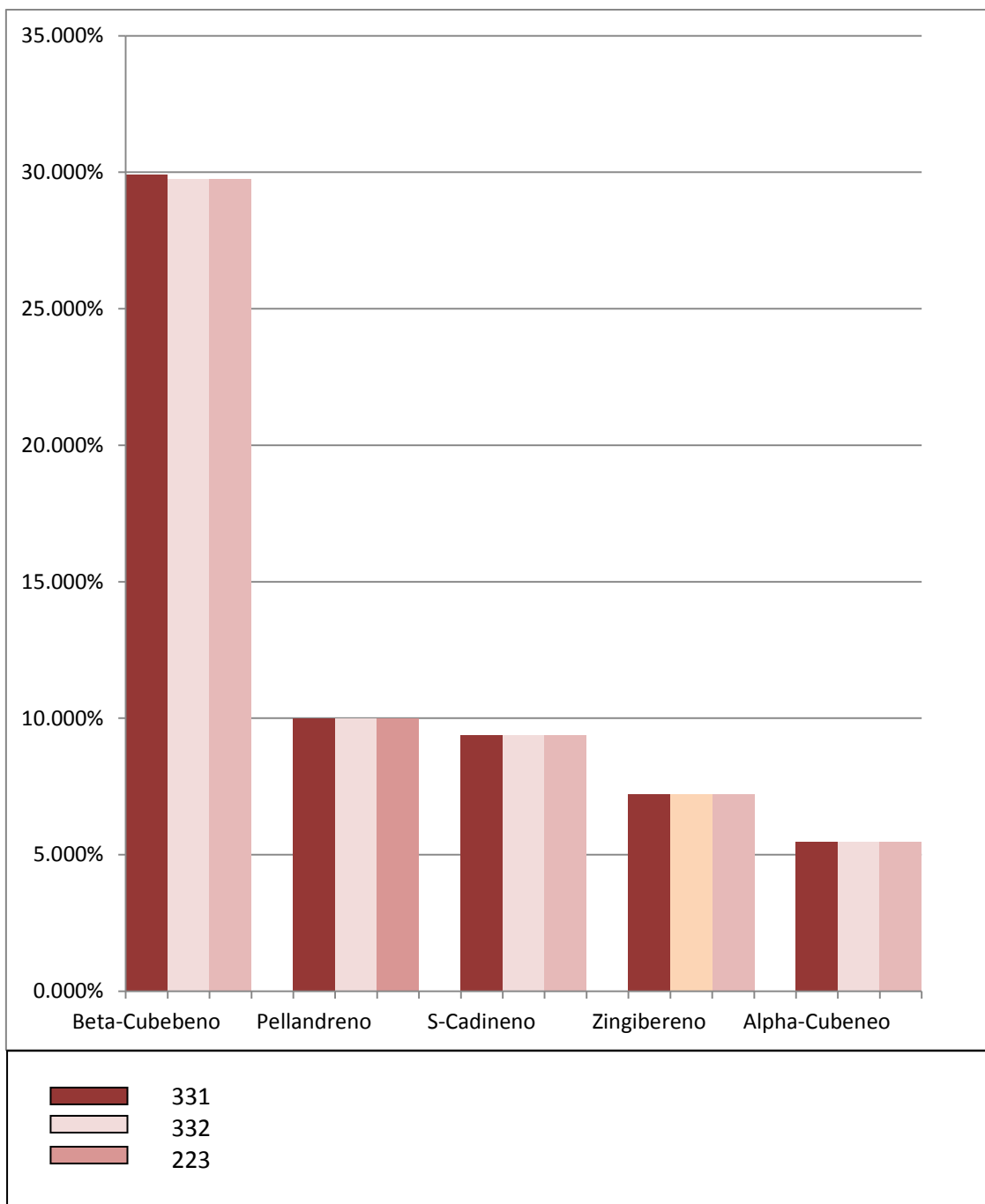
CV= Coeficiente de Variación

FUENTE: Investigación experimental

ELABORACIÓN: El autor

**GRÁFICO 16:** Compuestos mayoritarios del aceite esencial de la especie *Ageratina dendroides*

Area (%)



**FUENTE:** Investigación experimental.

**ELABORACIÓN:** El autor

En la gráfica 16 representamos los compuestos mayoritarios identificados de cada recolección del aceite esencial de *Ageratina dendroides*.



#### **4.3.4. Composición Química del Aceite Esencial de la especie *Ageratina pichinchensis*.**

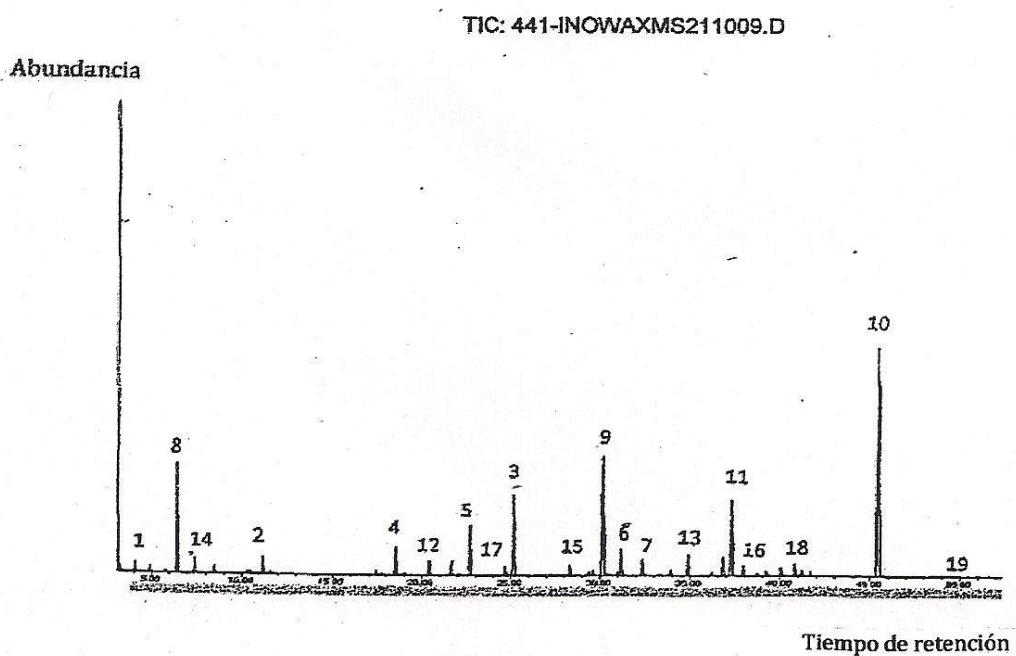
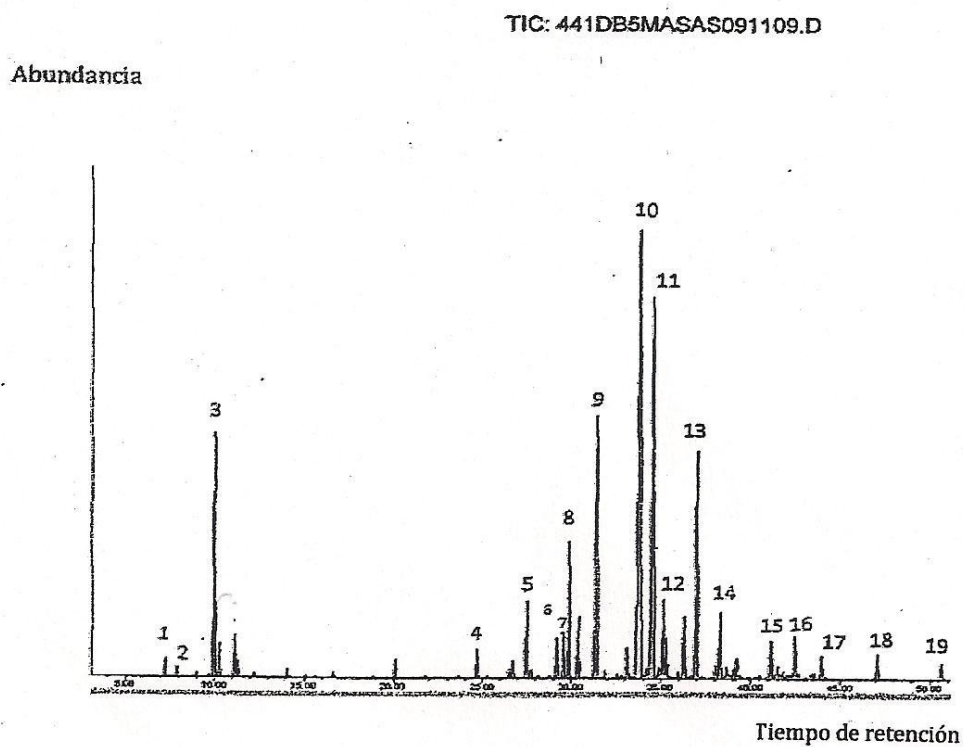
En el gráfico 17. Se presenta los cromatogramas típicos que se obtuvieron en CG-EM las columnas DB-5MS y HP-INNOWAX del aceite esencial de la especie *Ageratina pichinchensis*. Cabe indicar que los números de la parte superior corresponden al número de pico de cada compuesto.

En el Aceite Esencial de la especie *Ageratina pichinchensis* se determinó 20 compuestos de los cuales se identificó 14 en las dos columnas que representan un 85,00%, 85,10% y 85,27% (respectivamente para cada recolección) del porcentaje relativo total, dichos compuestos fueron:  $\alpha$ -pineno, camfeno, borneol, gurjuneno, copaeno, bourboneno,  $\beta$ -cubebeno,  $\alpha$ -bergamoteno, precoceno, pentanal, biciclogermacreno, s-cadineno, caripileno oxido, 1 - methyladamantano.

Los compuestos mayoritarios para esta especie son: prococeno I (26,09%), pentanal (16,19%),  $\beta$ -cubebeno (15,70%),  $\alpha$ -bergamoteno (9,39%) y biciclogermacreno (4,35%).

En la tabla 6. Además de indicar los índices de Kovats y el porcentaje relativo para cada uno de los compuestos de cada recolección de la especie *Ageratina pichinchensis*, se muestra el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación de los porcentajes relativos obtenidos en la columna DB-5MS, dichos parámetros dan una idea de la medida de centralización o la dispersión de cada uno de los valores con respecto a su promedio, así por ejemplo para el precoceno I tenemos un promedio de 29,09 con una desviación estándar de  $\pm 0,07$  y un coeficiente de variación de 0,00247 esto significa que en promedio cada recolección podría tener este compuesto en un porcentaje de  $29,09 \pm 0,06$  máximo, siendo esta una variación muy pequeña con respecto al promedio.

**GRÁFICO 17:** Cromatograma de la especie *Ageratina pichinchensis* a. Columna DB-5MS (muestra 441) en CG-EM y b. Columna HP-INNOWAX (muestra 441) en CG-EM.



ELABORACIÓN: El autor

**TABLA 7:** Composición química del aceite esencial de la especie *Ageratina pichinchensis*

COMPUESTO	INDICES DE KOVATS <sup>a</sup>						CANTIDAD RELATIVA (%) <sup>c</sup>					$\sigma$	CV
	D5-MS <sup>b</sup>		HP-INNOWAX				441	442	443	$\bar{X}$			
	441	442	443	441	442	443							
1 $\alpha$ -Pino	890	890	890	972		972	0,32	0,31	0,31	0,31	0,00	0,01290	
2 camfeno	892	893	892	978	978	978	0,18	0,20	0,20	0,20	0,00	0,00293	
3 borneol		1218	1218		1294	1294	0,73	0,73	0,73	0,73	0,00	0,00286	
4 gurjuneno	1331	1331	1331	1388	1388	1388	2,31	2,33	2,31	2,32	0,01	0,00548	
5 Copaeno	1333	1333	1333	1393	1393	1393	1,11	1,12	1,11	1,11	0,00	0,00623	
6 Bourboneno	1336	1336		1394	1394	1394	1,27	1,27	1,27	1,27	0,00	0,00120	
7 $\beta$ -cubebeno	1404		1404	1395	1395	1395	15,70	15,70	15,70	15,702	0,00	0,00000	
8 $\alpha$ -cariopileno	1408	.....	1408	1487	1487	1487	9,41	9,38	9,38	9,39	0,02	0,00188	
9 precoceno I	.....	1410	1410	1493	1493	1493	26,02	26,10	26,15	26,09	0,06	0,00247	
10 Pentanal	1485	1485	1485	1495		1495	16,19	16,19	16,2	16,19	0,01	0,00045	
11 biclogermacreno	1517	1518	1517	1497	1497	1497	4,35	4,35	4,35	4,35	0,00	0,00000	
12 S-cadineno	1571	1571	1571	1500		1501	1,90	1,91	1,90	1,90	0,01	0,00395	
13 caripileno oxido	1807	1807	1807	1596	1596	1596	1,16	1,16	1,16	1,16	0,00	0,00149	
14 1-methyladamantano	1821	1820	1820	1694	1694	1694	2,11	2,11	2,11	2,11	0,00	0,00047	
15 felandreno	.....	.....	.....	936	936	936	0,84	0,89	0,88	0,87	0,03	0,03134	
16 limoneno	.....	.....	.....	960	960	960	0,49	0,43	0,57	0,50	0,07	0,15133	
17 terpinolon	.....	.....	.....	1040	1041	1041	0,23	0,23	0,24	0,23	0,01	0,03447	
18 trans ocimeno	.....	.....	.....	1078	1078	1078	0,44	0,43	0,44	0,44	0,01	0,01402	
19 $\alpha$ -cubebeno	.....	.....	.....	1223	1223	12236	0,25	0,27	0,27	0,26	0,01	0,04641	
<b>Total<sup>e</sup></b>							85,00	85,10	85,27				

a= Índices de Kovats experimentales

b= Compuestos ordenados de acuerdo al orden de elución en la columna DB-5MS

c= Porcentajes promedio calculados en base al % área de los picos reportados en la columna DB-5MS

d= Compuestos identificados solo en la columna HP-INNOWAX

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

$\bar{X}$ = promedio

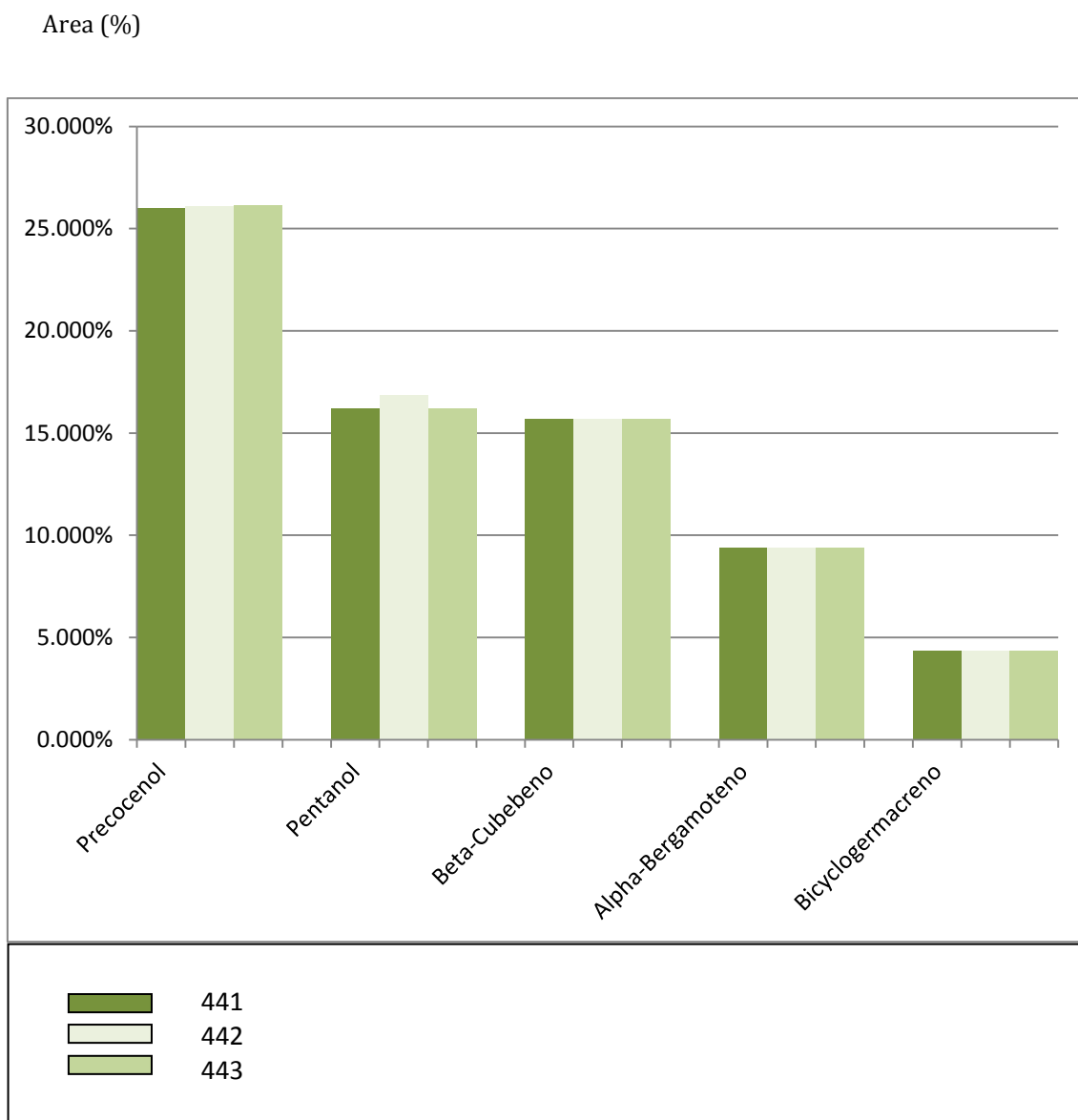
$\sigma$  = Desviación estándar

CV= Coeficiente de Variación

FUENTE: Investigación experimental

ELABORACIÓN: El autor

**GRÁFICO 18:** Compuestos mayoritarios de la especie *Ageratina pichinchensis*



**FUENTE:** Investigación experimental.

**ELABORACIÓN:** El autor

En la gráfica 18 representamos los compuestos mayoritarios identificados de cada recolección del aceite esencial de *Ageratina pichinchensis*.

#### **4.4. Estudio de reproductibilidad de los Tiempos de retención y los Índices de Kovats.**

Los valores correspondientes a los tiempos de retención, tiempos de retención promedio, desviación estándar y coeficientes de variación para algunos compuestos de los aceites esenciales se detallan en la Tabla 8.

Los coeficientes de variación para los tiempos de retención no superan el 0,60 % lo que significa que el grado de reproductibilidad de datos es alto, dado que según las normas de “Good Laboratory Practice Standard”<sup>20</sup> (Buenas Prácticas de Laboratorio Estándar), el coeficiente de variación máximo permitido para la inyección manual es del 2%.

**TABLA 8:** Reproductibilidad de los tiempos de retención de algunos componentes de los 4 aceites esenciales.

N	NOMBRE DEL COMPUESTO	TIEMPOS DE RETENCIÓN <sup>a</sup>					
		1	2	3	$\bar{X}$	$\sigma$	CV(%)
1	<b><math>\alpha</math>- pineno</b>	7,32	7,32	7,33	<b>7,33</b>	0,0078	0,1060
1	<b>Limoneno</b>	8,36	8,26	8,30	<b>8,30</b>	0,0501	0,6028
1	<b>pseudo-limoneno</b>	10,19	10,19	10,20	<b>10,19</b>	0,0080	0,0785
3	<b>Felandreno</b>	10,28	10,29	10,30	<b>10,29</b>	0,0117	0,1135
1	<b>biciclo hexano</b>	11,54	11,53	11,53	<b>11,54</b>	0,0029	0,0250
1	<b>trans-ocimeno</b>	12,28	12,28	12,30	<b>12,29</b>	0,0123	0,1000
2	<b>Benzenol</b>	21,79	21,78	21,79	<b>21,79</b>	0,0023	0,0106
3	<b><math>\alpha</math> - cubebeno</b>	27,76	27,76	27,76	<b>27,76</b>	0,0000	0,0000
3	<b><math>\beta</math> - cubebeno</b>	29,85	29,85	29,85	<b>29,84</b>	0,0021	0,0070
2	<b><math>\alpha</math> - bergamoteno</b>	31,34	31,33	31,33	<b>31,33</b>	0,0046	0,0147
4	<b>precoceno I</b>	33,80	33,73	33,78	<b>33,77</b>	0,0340	0,1008
4	<b>Pentanol</b>	34,50	34,45	34,49	<b>34,48</b>	0,0261	0,0757
4	<b>bioydogermacreno</b>	35,12	35,10	35,12	<b>35,11</b>	0,0142	0,0405
3	<b><math>\alpha</math>- codineno</b>	36,29	36,32	36,32	<b>36,31</b>	0,0188	0,0518
3	<b>Zingibereno</b>	42,97	42,98	42,98	<b>42,98</b>	0,0029	0,0067

*a= tiempo de retención columna DB-5MS*

*N= número del AE en el que se puede encontrar el compuesto*

*$\bar{X}$ = promedio*

*$\sigma$  = Desviación estándar*

*CV(%)= Coeficiente de Variación en porcentaje. CV\*100*

**FUENTE:** Aplicación del método experimental en el laboratorio de Química de la U.T.P.L.

**ELABORACIÓN:** El Autor

En la Tabla 9. Se detallan los datos obtenidos de la reproductibilidad de los Índices Kovats experimentales para algunos constituyentes de los aceites esenciales, determinados en dos columnas: DB-5MS y HP-INNOWAX en CG-EM.

Los coeficientes de variación para los Índices de Kovats de igual forma que para los tiempos de retención no superan el 1 % lo que significa que el grado de reproductibilidad de los datos es alto.

-----

<sup>20</sup> J.P. Usuary, Good Laboratory Practice Standard, ACS American Chemical Society, 1992.

**TABLA 9:** Reproducibilidad de los índices de kovats de algunos compuestos de los cuatro aceites esenciales

NOMBRE DEL COMPUESTO	HP-INNOWAX			$\bar{X}$	$\sigma$	CV	IKL	DB-5MS			$\bar{X}$	$\sigma$	CV	IKL
	1	2	3					1	2	3				
$\alpha$ -pineno	890	890	880	886,7	5,7735	0,6511	940		890	890	890,0	0	0	940
limoneno	946	947	947	946,7	0,5774	0,0610	969	989	989	988	988,7	0,5774	0,0584	1030
pseudo-limoneno	1002	1001	1001	1001,3	0,5774	0,0577	1003	----	940	940	940,0	0,0000	0,0000	962
biciclo hexano	1019	1019	1019	1019,0	0,0000	0,0000	969	1007	1007	1007	1007,0	0,0000	0,0000	978
trans-ocimeno	1033	1033	1033	1033,0	0,0000	0,0000	1044	1035	1036	1035	1035,3	0,5774	0,0558	1050
felandreno	1007	1006	1006	1006,3	0,5774	0,0574	1003	937	937	937	937,0	0,0000	0,0000	985
benzenol	1217	1217	1217	1217,0	0,0000	0,0000	1236	1335	1335	1335	1335,0	0,0000	0,0000	1292
$\alpha$ - bergamoteno	1399	1399	1399	1399,0	0,0000	0,0000	1415	----	1340	1340	1340,0	0,0000	0,0000	1385
zingibereno	1483	1483	1483	1483,0	0,0000	0,0000	1500	1512	1512	1512	1512,0	0,0000	0,0000	1496
felandreno	997	1001	1001	999,7	2,3094	0,2310	1003	917	917	917	917,0	0,0000	0,0000	985
$\alpha$ - cubebeno	----	1388	1388	1388,0	0,0000	0,0000	1354	----	1408	1408	1408,0	0,0000	0,0000	1173
$\beta$ - cubebeno	----	1395	1395	1395,0	0,0000	0,0000	1390	----	1412	1412	1412,0	0,0000	0,0000	1360
s - codineno	1589	1589	1590	2384,0	0,5774	0,0242	1540	----	1427	1427	1427,0	0,0000	0,0000	1524
zingibereno	1695	1695	1695	1695,0	0,0000	0,0000	1733	1670	1670	1670	1670,0	0,0000	0,0000	1447
$\beta$ - cubebeno	1395	1395	1395	2092,5	0,0000	0,0000	1390	1404	----	1404	1404,0	0,0000	0,0000	1360
$\alpha$ - bergamoteno	1487		1487	1487,0	0,0000	0,0000	1437	1408	1409	1408	1408,3	0,5774	0,0410	1385
Precoceno I	1493	1494	1493	1493,3	0,5774	0,0387	1478	----	1410	1410	1410,0	0,0000	0,0000	1870
pentanol	1495	1495	1495	1495,0	0,0000	0,0000	1460	1485	----	1485	1485,0	0,0000	0,0000	1460
biciclogermacreno	1497	1497	1497	1497,0	0,0000	0,0000	1500	1517	1518	1517	1517,3	0,5774	0,0381	1611

$\bar{X}$ = promedio

$\sigma$  = Desviación estándar

CV(%)= Coeficiente de Variación en porcentaje. CV\*100

IKL= Índice de Kovats leídos.

FUENTE: Investigación experimental

ELABORACIÓN :El Autor

#### **4.5. ESPECTROS DE MASA**

A continuación se detallan los datos espectrales de los compuestos mayoritarios de cada especie, los mismos que mediante el equipo permitieron la identificación de cada uno de los picos cromatográficos.

En el gráfico Nro. 19 de los datos espectrales se obtiene un primer número que es la relación masa/carga ( $m/z$ ) y el número que se encuentra entre paréntesis representa la abundancia del ión dado en porcentaje relativo (tomando como base 100% al ión más abundante). El cual se lo interpreta así:

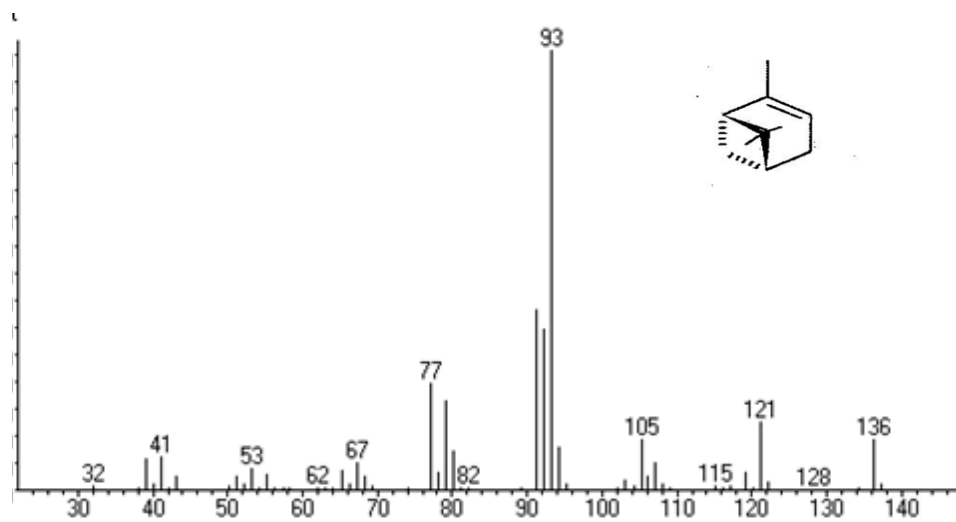
#### **DATOS ESPECTRALES DE LOS COMPUESTOS MAYORITARIOS DE LA ESPECIE: *Coreopsis venusta* Kunth**

A continuación se indica los datos espectrales de los compuestos mayoritarios de la especie *Coreopsis venusta* Kunth. El primer número indica la intensidad y el segundo la abundancia.

**$\alpha$ -pineno:**

32(1), 41(27), 5(11), 62(3), 67(10), 77(34), 82(5), 93(100), 105(11), 115(1), 121(12), 128 (1), 136(10).

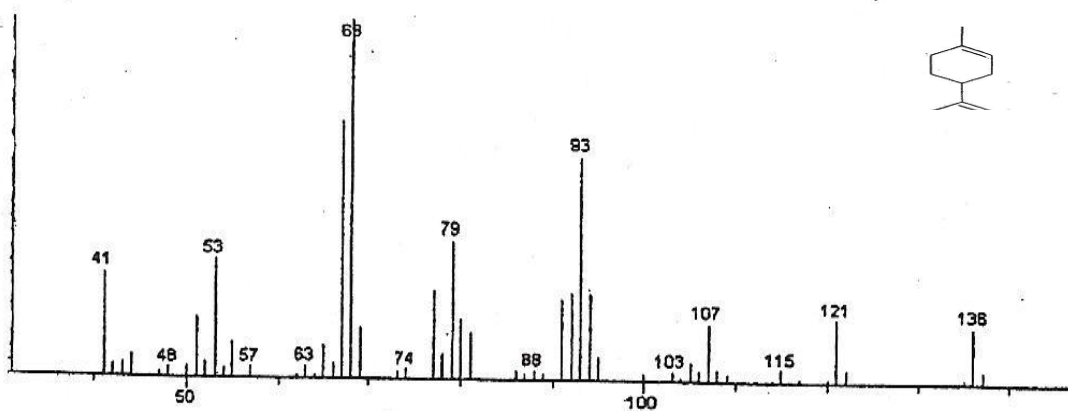
**GRÁFICO 19:** Datos espectrales del compuesto



**limoneno**

41(28), 48(4), 53(32), 57(4), 63(3), 69(100), 74(2), 79(43), 88(2), 93(63), 103(1), 107(18), 115(2), 121(19), 136(17).

**GRÁFICO 20:** Datos espectrales del compuesto

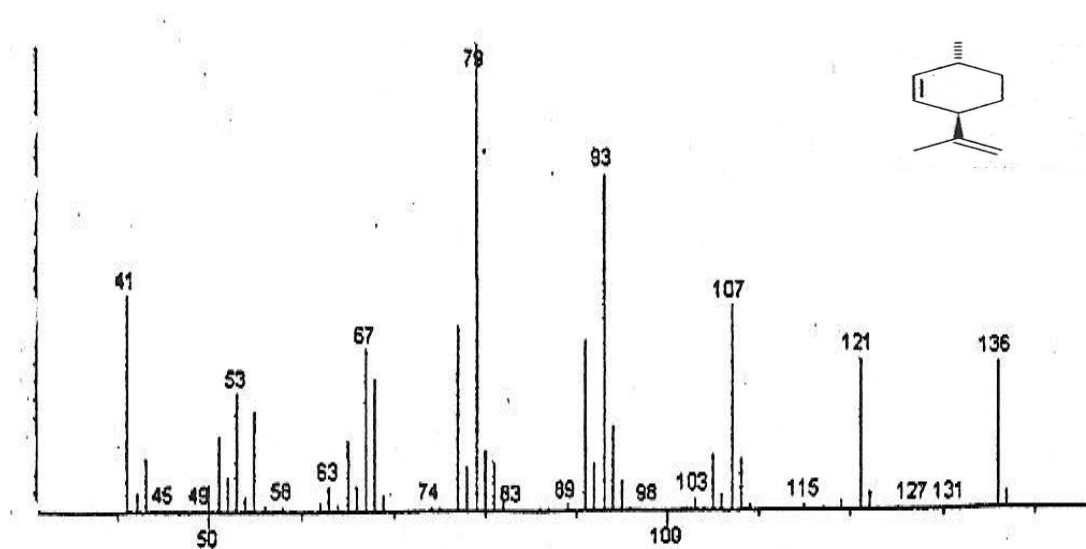




### pseudo-limoneno

41(47), 45(9), 49(2), 53(24), 58(1), 63(4), 67(35), 74(1), 79(100), 83(2), 89(1), 93(69), 98(1), 103(2), 107(43), 115(1), 121(36), 127(1), 131(1), 136(27).

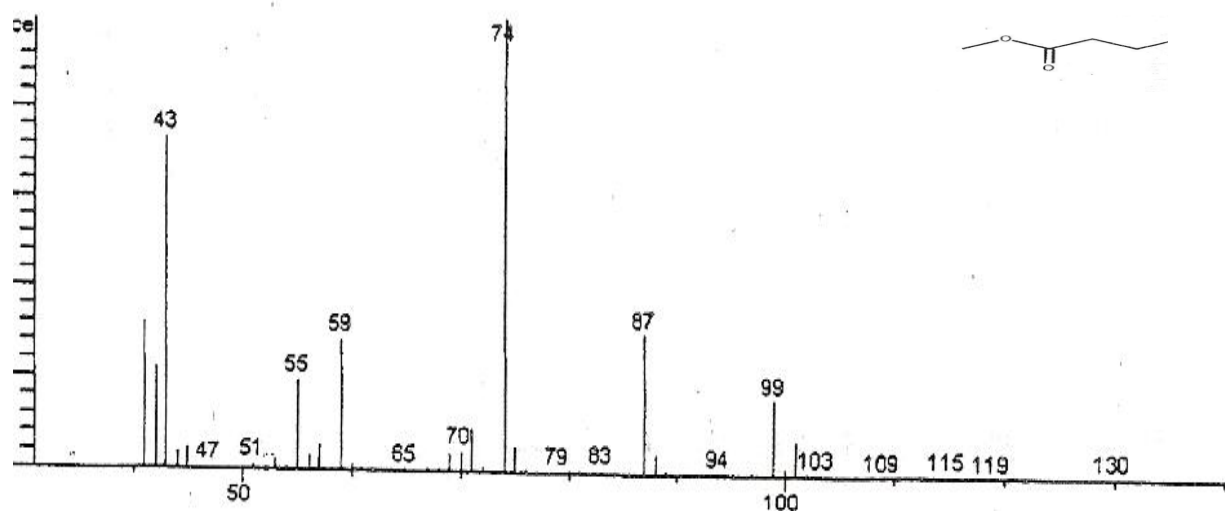
GRÁFICO 21: Datos espectrales del compuesto



### biciclo-hexano

43(72), 47(4), 51(2), 55(21), 59(28), 65(2), 70(5), 74(100), 79(2), 83(2), 87(26), 94(2), 99(17), 103(9), 109(1), 115(1), 119(1), 130(1).

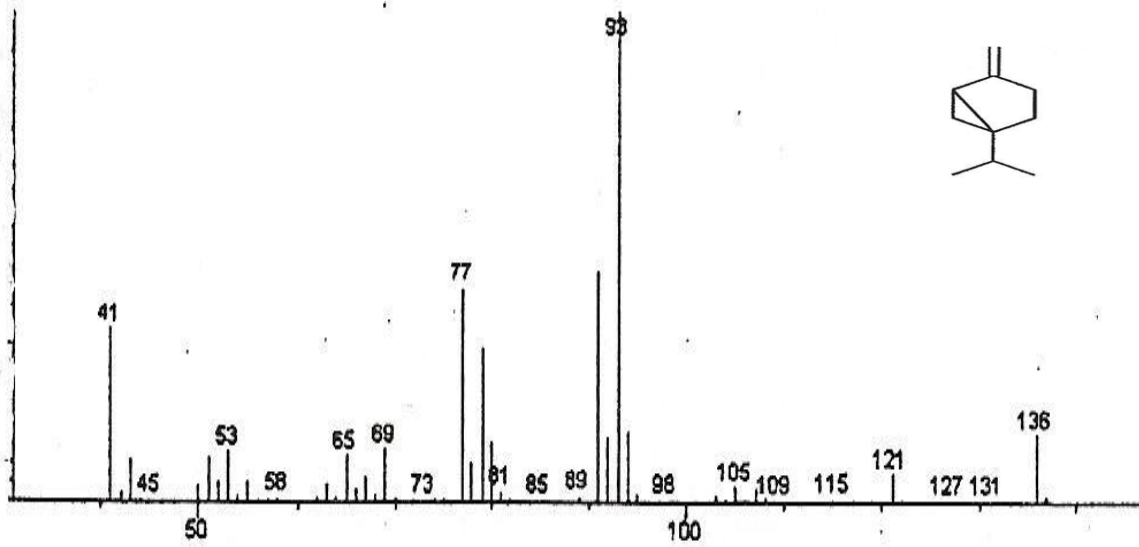
GRÁFICO 22: Datos espectrales del compuesto



## sabineno

41(9), 45(1), 53(7), 58(1), 65(4), 69(5), 73(1), 77(19), 81(1), 85(1), 89(1), 96(100), 98(1), 105(1), 121(4), 127(1), 131(1), 124(1), 136(12).

**GRÁFICO 23:** Datos espectrales del compuesto



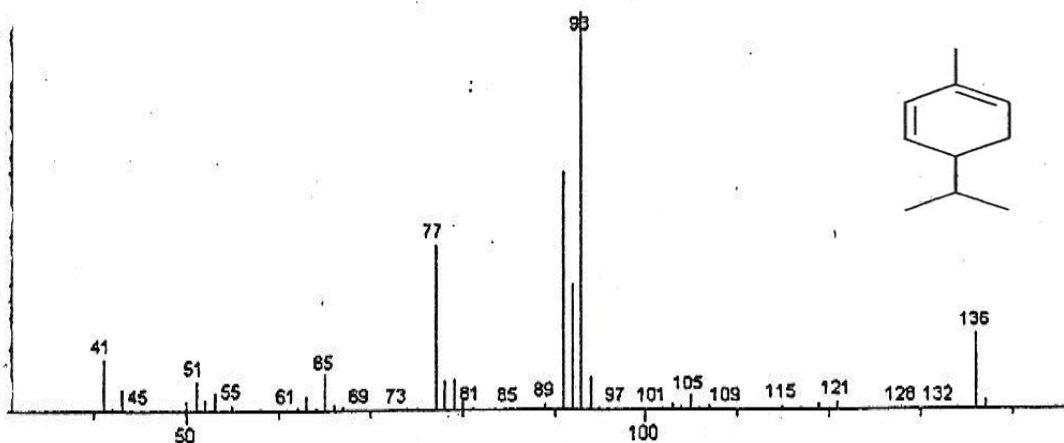
## DATOS ESPECTRALES DE LOS COMPUESTOS MAYORITARIOS DE LA ESPECIE: *Gynoxys verrucosa* Weed.

A continuación se indica los datos espectrales de los compuestos mayoritarios de la especie: *Gynoxys verrucosa* Weed. El primer número indica la intensidad y el segundo la abundancia.

### felandreno

41(13), 45(4), 51(9), 55(1), 61(1), 65(11), 69(1), 73(1), 77(43), 81(3), 85(1), 89(2), 96(100), 97(1), 101(1), 105(4), 109(1), 115(1), 121(1), 128(23), 132(1), 136(21).

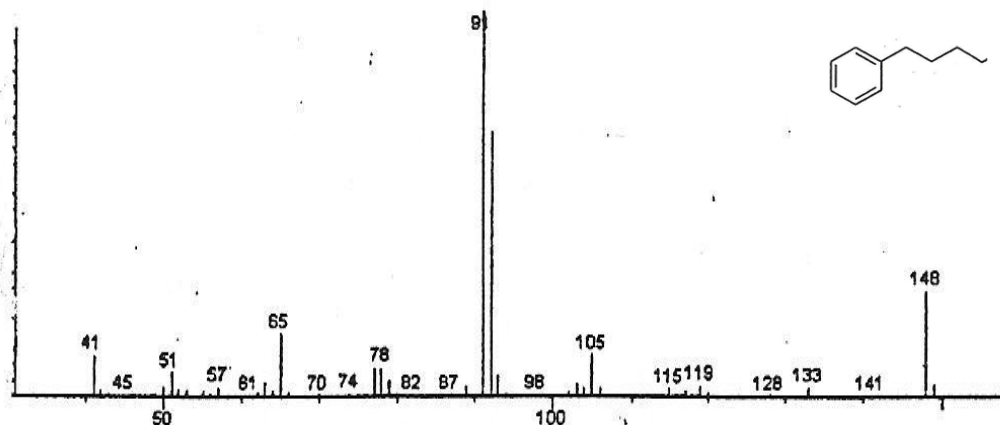
GRÁFICO 24: Datos espectrales del compuesto



### benzenol

41(12), 45(1), 51(7), 57(2), 61(1), 65(18), 70(1), 74(1), 78(9), 82(1), 87(1), 91(100), 98(1), 105(13), 115(1), 119(3), 128(1), 133(2), 141(1), 148(27).

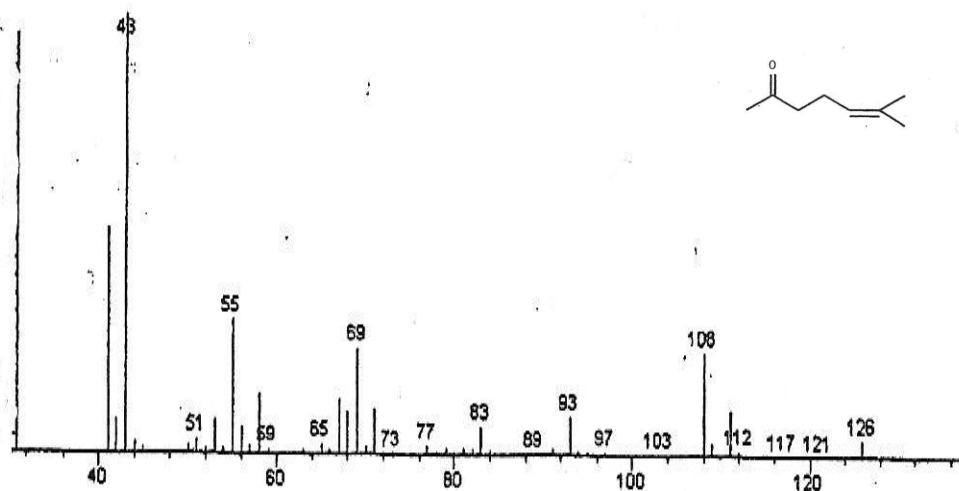
GRÁFICO 25: Datos espectrales del compuesto



## 2-hepteno

48(100), 51(1), 55(23), 59(1), 65(2), 89(21), 73(1), 83(4), 97(1), 103(1), 106(19), 112(1), 117(1), 121(1), 126(3).

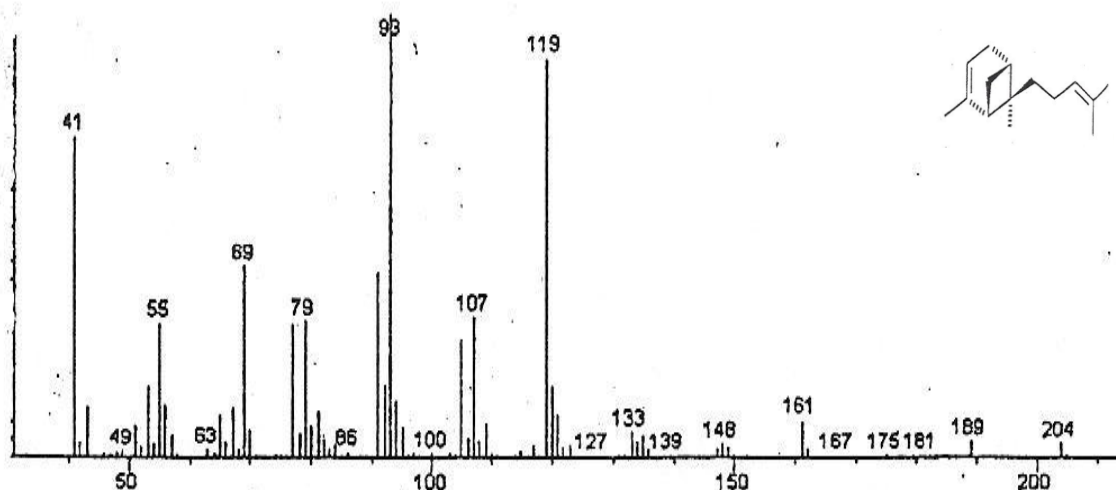
GRÁFICO 26: Datos espectrales del compuesto



## $\alpha$ -bergamoteno

41(71), 49(1), 55(33), 63(2), 69(43), 79(31), 86(1), 93(100), 100(1), 107(32), 119(91), 127(1), 133(6), 148(2), 161(10), 167(1), 175(1), 181(1), 189(4), 204(4).

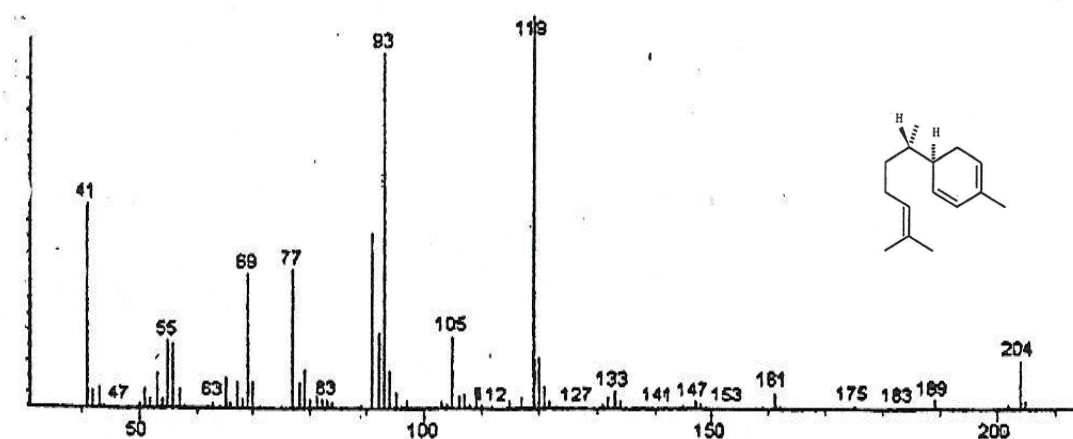
GRÁFICO 27: Datos espectrales del compuesto



## zingibereno

41(52), 47(1), 55(18), 63(2), 69(35), 77(35), 83(3), 93(91), 105(21), 112(2), 119(100), 127(1), 133(3), 141(1), 147(2), 153(1), 161(5), 175(1), 183(4), 189(2), 204(13).

**GRÁFICO 28:** Datos espectrales del compuesto



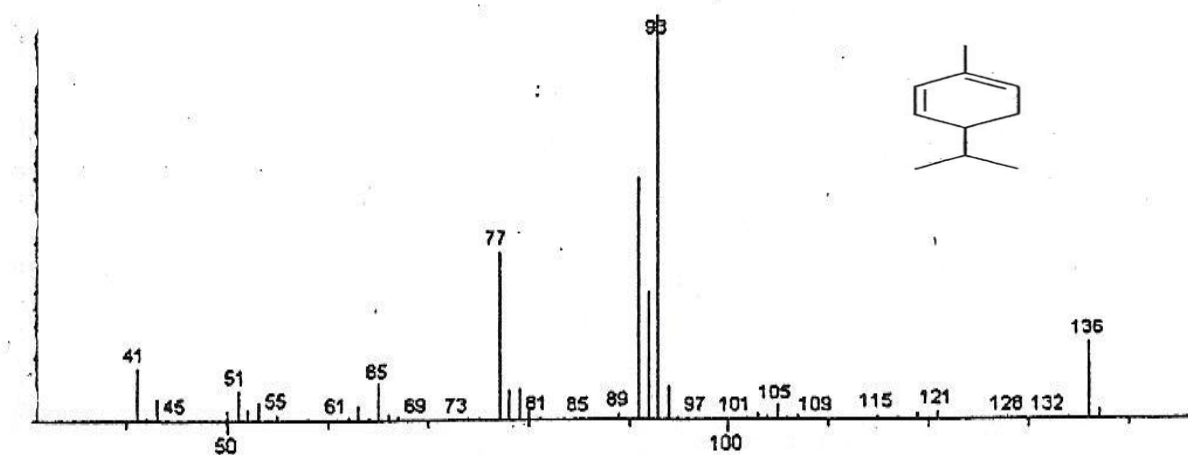
## DATOS ESPECTRALES DE LOS COMPUESTOS MAYORITARIOS DE LA ESPECIE: *Ageratina dendroides*.

A continuación se indica los datos espectrales de los compuestos mayoritarios de la especie *Ageratina dendroides*. El primer número indica la intensidad y el segundo la abundancia.

### felandreno

41(13), 45(7), 51(9), 55(1), 61(1), 65(11), 69(1), 73(1), 77(43), 81(3), 85(1), 89(2), 96(100), 97(1), 101(1), 105(4), 109(1), 115(1), 121(1), 128(23), 132(1), 136(21).

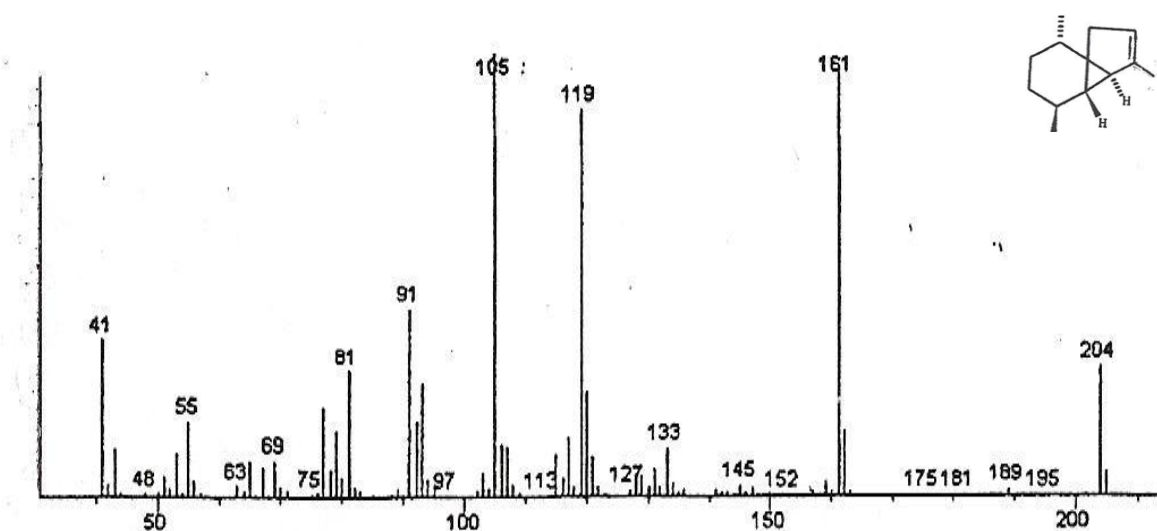
GRÁFICO 29: Datos espectrales del compuesto



### $\alpha$ -cubebeno

41(35), 48(1), 55(18), 63(3), 69(9), 75(1), 81(33), 91(41), 97(1), 105(100), 113(1), 119(83), 127(1), 133(12), 145(2), 152(1), 161(96), 175(1), 181(1), 189(2), 195(1), 204(32).

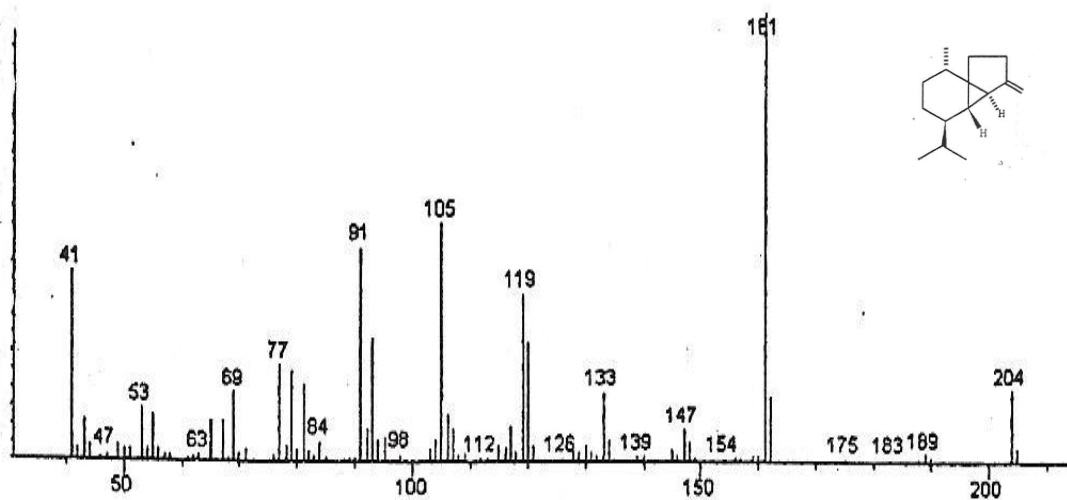
GRÁFICO 30: Datos espectrales del compuesto



### $\beta$ -cubebeno

41(42), 47(1), 53(13), 63(1), 69(17), 77(21), 84(4), 91(47), 98(1), 105(53), 112(1), 119(37), 126(1), 133(17), 139(1), 147(8), 154(1), 161(100), 175(1), 183(1), 189(1), 204(19).

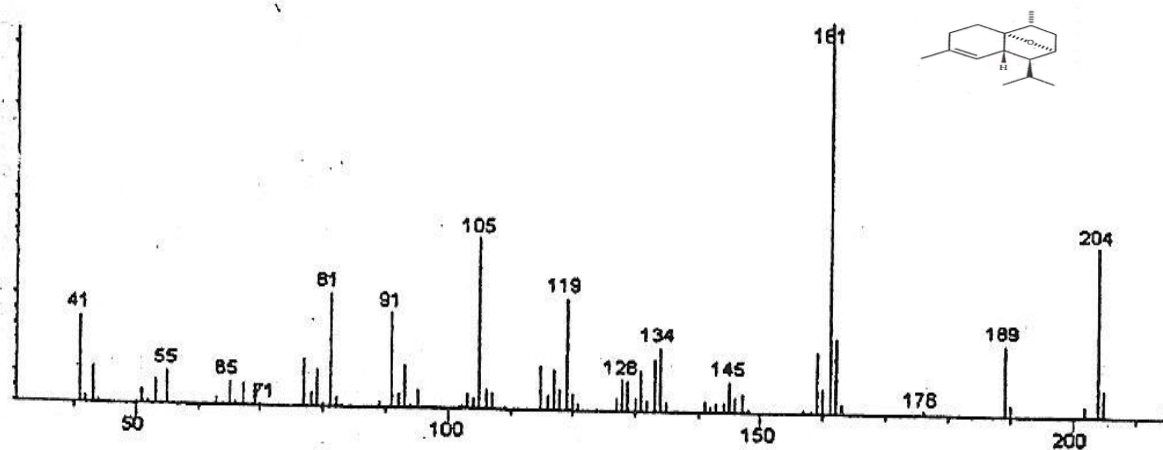
**GRÁFICO 31:** Datos espectrales del compuesto



### s-cadineno.

41(27), 55(12), 85(4), 81(27), 91(25), 105(37), 119(26), 128(7), 134(15), 145(6), 181(100), 178(1), 189(19), 204(43).

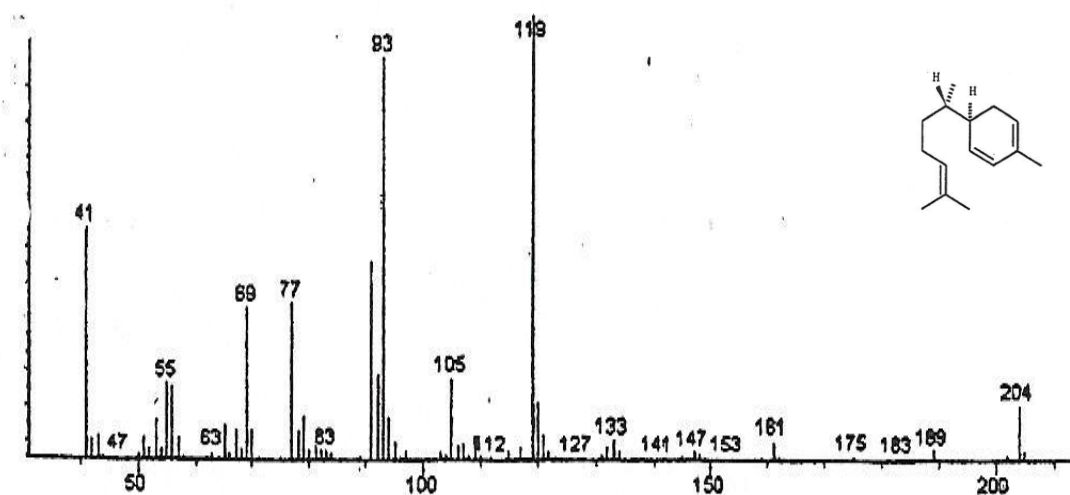
**GRÁFICO 32:** Datos espectrales del compuesto



## zingibereno

41(52), 47(1), 55(18), 63(2), 69(35), 77(35), 83(3), 93(91), 105(21), 112(2), 119(100), 127(1), 133(3), 141(1), 147(2), 153(1), 161(5), 175(1), 183(4), 189(2), 204(13).

**GRÁFICO 33:** Datos espectrales del compuesto



## DATOS ESPECTRALES DE LOS COMPUESTOS MAYORITARIOS DE LA ESPECIE: *Ageratina pichinchensis*

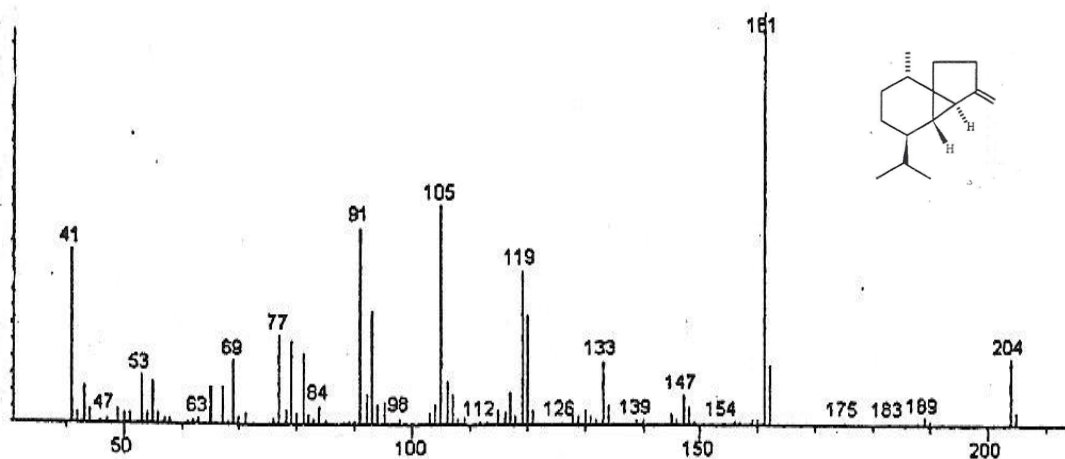
A continuación se indica los datos espectrales de los compuestos mayoritarios de la especie *Ageratina pichinchensis*. El primer número indica la intensidad y el segundo la abundancia.



### $\beta$ -cubebeno

41(42), 47(1), 53(13), 63(1), 69(17), 77(21), 84(4), 91(47), 98(1), 105(53), 112(1), 119(37), 126(1), 133(17), 139(1), 147(8), 154(1), 161(100), 175(1), 183(1), 189(1), 204(19).

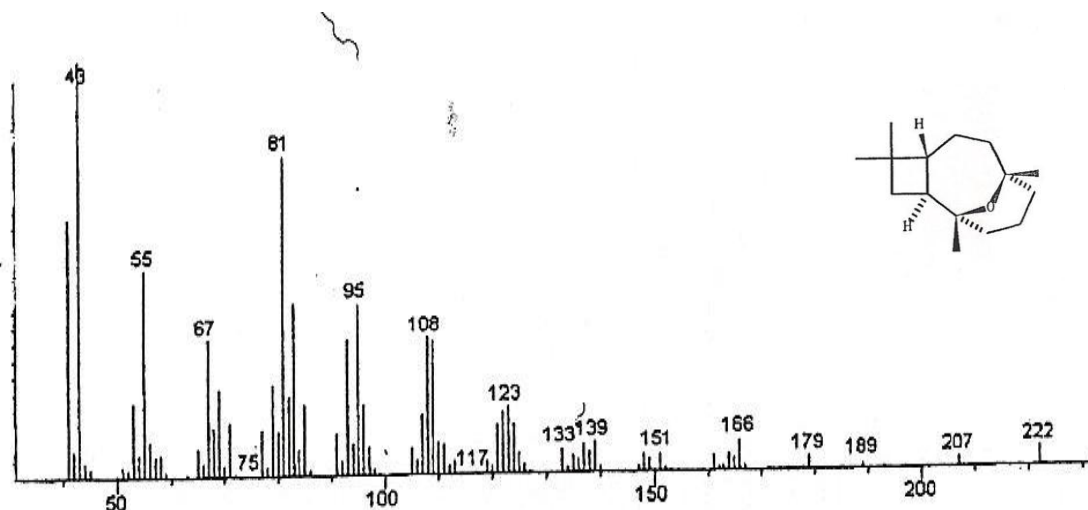
**GRÁFICO 34:** Datos espectrales del compuesto



### $\beta$ -cariofileno

43(100), 55(78), 67(35), 75(1), 81(80), 95(42), 108(36), 117(1), 123(18), 133(8), 139(12), 151(5), 166(14), 179(3), 189(1), 207(1), 222(4).

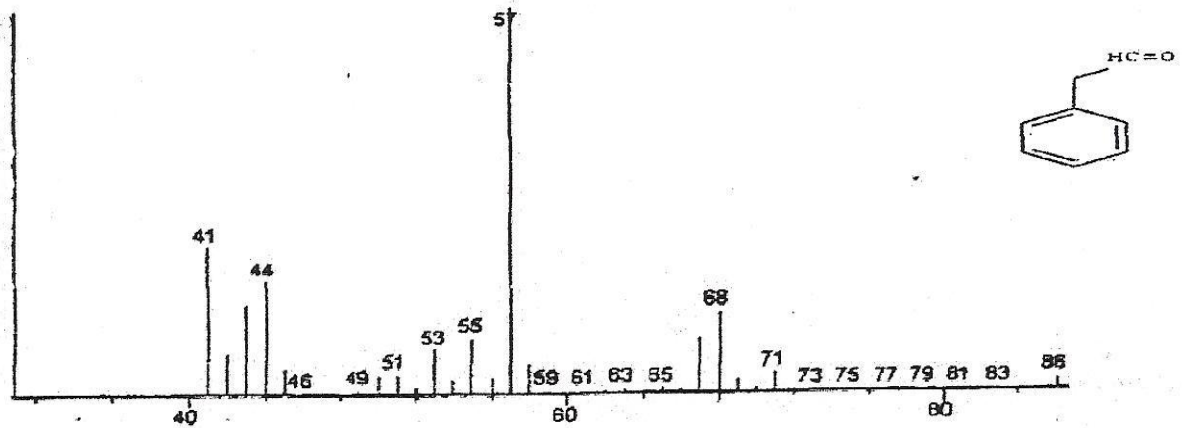
**GRÁFICO 35:** Datos espectrales del compuesto



### precoseno 1

41(32), 44(26), 46(1), 49(1), 53(11), 55(13), 57(100), 59(1), 51(1), 63(1), 65(1), 68(12), 71(4), 73(4), 75(1), 77(1), 79(1), 81(1), 83(1), 86(2).

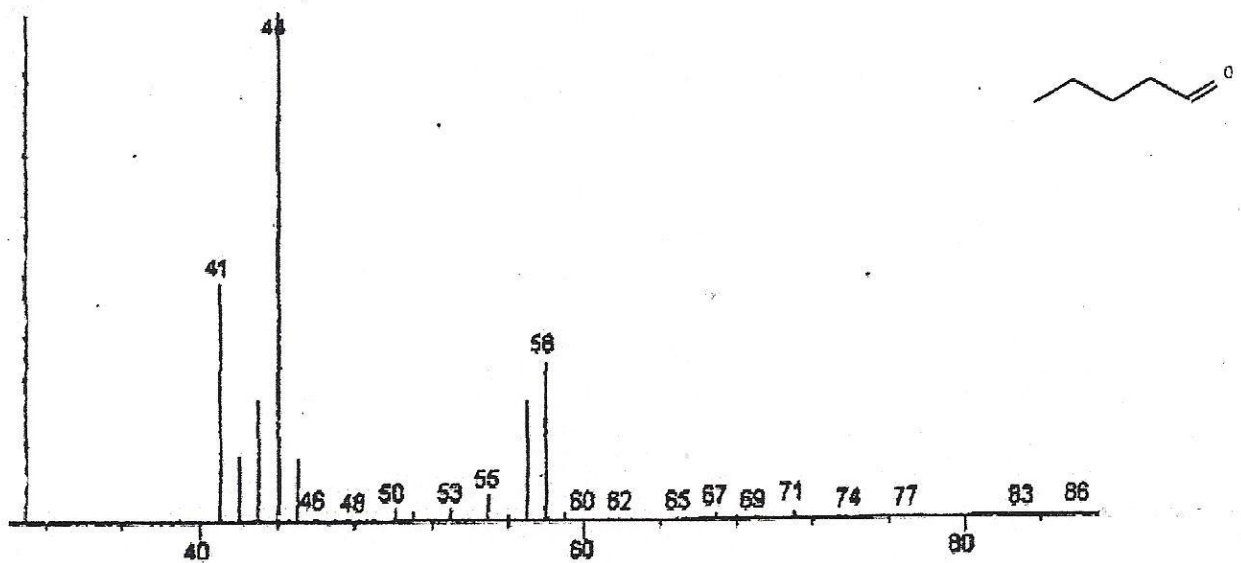
GRÁFICO 36: Datos espectrales del compuesto



### pentanal

41(39), 44(100), 46(1), 48(1), 50(2), 53(2), 55(7), 58(31), 60(1), 62(1), 65(1), 67(1), 69(1), 71(1), 74(1), 77(1), 83(1), 86(1).

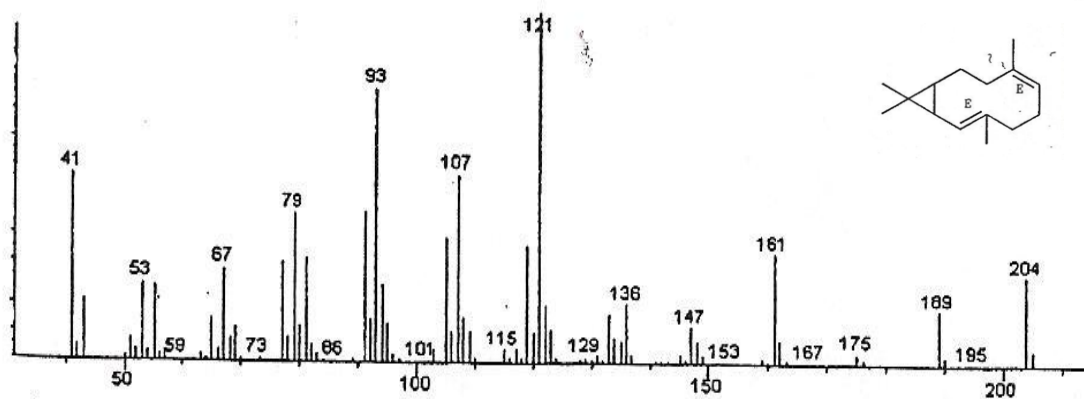
GRÁFICO 37: Datos espectrales del compuesto



## biclogermacreno

41(63), 53(21), 59(1), 67(29), 73(1), 79(47), 86(1), 93(79), 101(1), 107(51), 115(1), 121(100), 129(1), 136(18), 147(12), 153(1), 161(36), 167(1), 175(2), 189(12), 195(1), 204(28).

**GRÁFICO 38:** Datos espectrales del compuesto



# *Conclusiones y recomendaciones*

## CONCLUSIONES.-

- Los rendimientos que se obtienen del aceite esencial de una misma especie varían de acuerdo al estado fenológico, el clima, el tiempo, etc., en que se encontró la planta al momento de la recolección; es por esto que para el caso específico de la *Ageratina dendroides* el rendimiento obtenido del aceite esencial para la primera recolección (0,065%) varía con respecto al obtenido en la segunda (0,055%) y tercera (0,067%) recolección debido a la variación del clima al momento de la recolección.
- El rendimiento del aceite esencial en la especie *Gynoxys verrucosa* Weed de la primera recolección (0,033%) presenta una variación con respecto al rendimiento de la segunda (0,029%) y tercera (0,031%), lo cual se puede inferir que se debe a factores extrínsecos presentes en la recolección.
- Las densidades obtenidas para los aceites esenciales son: *Coreopsis venusta* Kunth (0,854; 0,854; 0,854 g/cm<sup>3</sup>), *Gynoxys verrucosa* Weed (0,889; 0,889; 0,890 g/cm<sup>3</sup>), *Ageratina dendroides* (0,872; 0,872; 0,872 g/cm<sup>3</sup>) y *Ageratina pichinchensis* (0,881; 0,881; 0,880 g/cm<sup>3</sup>).
- Todos los aceites esenciales de las especies recolectadas se presentaron en estado líquido.
- La actividad óptica de los aceites esenciales es levógira (-) para los aceites de las especies: *Gynoxys verrucosa* Weed y *Ageratina pichinchensis*, mientras que para los aceites de las especies: *Coreopsis venusta* Kunth y *Ageratina dendroides* es dextrógira (+).
- La composición química identificada de cada especie en las tres recolecciones es: para *Coreopsis venusta* Kunth (90,78%; 90,89%; 90,98%), *Gynoxys verrucosa* Weed (73,73%; 75,41%; 73,76%), *Ageratina dendroides* (89,09%; 88,61%; 89,98%) y *Ageratina pichinchensis* (85,00%; 85,10%; 85,27%).
- En el Aceite Esencial de la especie *Gynoxys verrucosa* Weed se determinó 17 compuestos de los cuales se identificaron 12 y los más abundantes son: zingibereno (42,37%; 43,02%

41,95%), felandreno (11,65%; 11,89%; 11,64%), 2-hepteno (3,99%; 3,99%; 3,990%),  $\beta$ -cubebeno(3,41%; 3,64%; 3,36%) y benzenol (3,36%; 3,30%; 3,38%).

- La especie *Coreopsis venusta* Kunth presenta como compuestos de mayor abundancia al biciclo-hexano (54,56%; 54,07%; 53,85%),  $\alpha$ -pineno (16,00%; 16,32%; 16,26%), sabineno (8,93%; 8,93%; 8,93%), limoneno (6,39%; 6,39%; 6,65%) y pseudo-limoneno (3,21%; 3,42%; 3,53%) especie en la cual se identificó 11 compuestos de 16 determinados.
- Se identificaron al  $\beta$ -cucubeno (29,90%; 29,74%; 29,74%), felandreno (9,99%; 9,99%; 9,99%), s-cadineno (9,38%; 9,38%; 9,38%), zingibereno (7,21%; 7,21%; 7,22%) y  $\alpha$ -cubebeno (5,49%; 5,49%; 5,49%) como compuestos mayoritarios del aceite esencial de la especie *Ageratina dendroides*, teniendo un total de 22 compuestos determinados de los cuales se identificaron 19.
- En el aceite esencial de la especie *Ageratina pichinchensis* se determinó 20 compuestos de los cuales se identificaron 14, siendo los mayoritarios: precoceno I (26,02%; 26,10%; 26,15%), pentanal (16,19%; 16,19%; 16,20%),  $\beta$ -cubebeno (15,71%; 15,71; 15,71%); gurjuneno (2,31%; 2,33%; 2,31%) y bicilogermacreno (4,35%; 4,35%; 4,35%).
- La composición química del aceite esencial entre las recolecciones de una misma especie presenta una mínima variación en la parte cuantitativa, más no en la cualitativa.

## RECOMENDACIONES.

- Se debe realizar estudios más profundos de cómo los factores extrínsecos intervienen en las propiedades físicas y en la composición química de los aceites esenciales.
- Antes de iniciar un estudio de un aceite esencial de una planta silvestre se debe tener primeramente claro si su población es lo suficientemente abundante para iniciar una investigación.
- Dentro de la recolección de las principales plantas silvestres para la obtención de aceites esenciales se debe tener presente algunos aspectos como son: la recolección, la misma que debe realizarse de una manera cuidadosa a fin de no causarle algún daño que no le permita nuevamente volver a producir sus hojas, además también el manejo y la clasificación en el laboratorio debe ser minucioso para poder obtener buen rendimiento y como consecuencia el estudio de la composición química del aceite esencial nos arroje datos netamente reales para futuras investigaciones.
- Adquirir un equipo específico para la determinación de la actividad óptica de aceites esenciales.
- Gracias a la biodiversidad en plantas aromáticas que posee el Ecuador y al interés que prestan las universidades por identificar cuáles son verdaderamente endémicas para realizar estudios más detallados se sugiere que las clasificaciones no únicamente se las haga a nivel del territorio ecuatoriano sino que se trate también de contactarlas en otras zonas fuera y a su vez transportarlas para de esta manera analizarlas y compararlas para observar si los datos que se obtiene de las muestras son similares y así despejar muchas dudas.
- Siempre es necesario que de cada ubicación de las diferentes plantas endémicas existan datos como altura a la que están, coordenadas de ubicación, tipo de clima en el que se localizan, región en la que están, una muestra de la misma en el herbario de la U.T.P.L.,

para su distinción, lo cual nos permitirá contar con una base de datos necesarios en caso de existir nuevas investigaciones.

- Continuar con el estudio de la composición química y física de los aceites esenciales de la flora aromática existente en la provincia de Loja.



# *ANEXOS*

## ANEXO I: SIGLAS Y NÚMEROS

AE	Aceite esencial
CG – EM	Cromatografía de gases acoplado a la espectrometría de masas
CG – FID	Cromatografía de gases acoplado al detector de Ionización de llama
Cv	Coefficiente de variación
IK	Indices de Kovats
I.Q.A.	Instituto de Química Aplicada
tr	Tiempo de retención
U.T.P.L.	Universidad Técnica Particular de Loja.
V	Varianza
111	Aceite esencial de la especie <i>Coreopsis venusta</i> Kunth (recolección 1)
112	Aceite esencial de la especie <i>Coreopsis venusta</i> Kunth (recolección 2)
113	Aceite esencial de la especie <i>Coreopsis venusta</i> Kunth (recolección 3)
221	Aceite esencial de la especie <i>Gynoxys verrucosa</i> Weed (recolección 1)
222	Aceite esencial de la especie <i>Gynoxys verrucosa</i> Weed (recolección 2)
223	Aceite esencial de la especie <i>Gynoxys verrucosa</i> Weed (recolección 3)
331	Aceite esencial de la especie <i>Ageratina dendroides</i> (recolección 1)
332	Aceite esencial de la especie <i>Ageratina dendroides</i> (recolección 2)
333	Aceite esencial de la especie <i>Ageratina dendroides</i> (recolección 3)
441	Aceite esencial de la especie <i>Ageratina pichinchensis</i> (recolección 1)
442	Aceite esencial de la especie <i>Ageratina pichinchensis</i> (recolección 2)
443	Aceite esencial de la especie <i>Ageratina pichinchensis</i> (recolección 3)

## ANEXO 2: DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD

### Introducción.

El exceso de agua en las drogas vegetales, puede promover el crecimiento de hongos, insectos y la hidrólisis de constituyentes que pueden provocar el deterioro de la droga.

Es por ello, que los límites en el contenido de agua debe ser determinado para las drogas vegetales, especialmente para aquellas que absorben fácilmente la humedad o en las cuales el deterioro puede ser promovido por la presencia de un exceso de agua.

### Determinación de humedad

En la determinación de la prueba de humedad se utilizó el siguiente equipo de laboratorio:

Balanza analítica

Lámpara UV y

Desecador.

Se realizaron tres repeticiones de cada especie para obtener una humedad promedio de las destilaciones obtenidas.

Es necesario determinar la humedad previa la destilación, según nos indica la farmacognosia de Miranda<sup>21</sup>

La fórmula para el cálculo de la humedad es la siguiente:

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

### De donde:

Hm = % de humedad promedio

m = peso de la cápsula vacía (gr).

---

<sup>21</sup> M. Miranda, Farmacognosia y Productos Naturales, La Habana-Cuba, 2002.

$m_1$  = peso de la cápsula + muestra (gr).

$m_2$  = peso de la cápsula + muestra seca (gr).

### **Pérdidas por desecación. Método gravimétrico.**

Se basa en la determinación gravimétrica de la pérdida en masa que muestra una droga después de ser desecada en la estufa.

### **Parte experimental.**

#### **Materiales y Equipos.**

- Balanza analítica vD 0,1 mg.
- Cápsula de porcelana
- Estufa u horno de calentamiento
- Desecadora.

#### **Procedimiento.**

De la muestra de laboratorio, con el grado de trituración que determine la norma específica, se pesan 2g con desviación permisible de 0.5 mg y se transfieren a una cápsula de porcelana previamente tarada y desecada a 105 °C hasta masa constante; seguidamente se deseca a 105 °C durante 3h. La cápsula se coloca en el desecador donde se deja enfriar a temperatura ambiente y se pesa, colocándose nuevamente en la estufa durante 1h, volviéndose a pesar, hasta obtener una masa constante.

Expresión de los resultados.

$$Hg = \frac{M_2 - M_1}{M_2 - M} \times 100$$

Hg = pérdida en peso por desecación (%).

$M_2$  = masa de la cápsula con la muestra de ensayos (g)

$M_1$  = masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g)

M = masa de la cápsula vacía.

100 = factor matemático.

Los resultados se aproximan a 7 decimales.

### ANEXO 3: DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DE LOS ACEITES ESENCIALES

Los rendimientos de los aceites esenciales obtenidos en las destilaciones de cada una de las especies (tres destilaciones por especie vegetal) se los obtuvo con la aplicación de la siguiente fórmula:

$$R = \frac{V}{p} \times 100$$

De donde:

R = rendimiento en %

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

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

## **ANEXO 4: 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.

### **Materiales:**

- Balanza analítica.
- 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.
- Picnómetro de vidrio.

### **Procedimiento:**

#### **Preparación del picnómetro:**

El picnómetro antes de ser usado debe ser lavado previamente con etanol y luego con acetona, para posteriormente pasarlo por una corriente de aire seco. Si es necesario se debe secar la parte exterior del picnómetro. Luego de que se equilibre la temperatura en el cuarto de balanza, se debe pesar el picnómetro con el tapón en su sitio con 1mg de precisión.

#### **Peso del agua destilada:**

Para establecer el peso del agua destilada se debe llenar el picnómetro con agua recién destilada a 20°C. Luego se debe colocar el picnómetro en el baño termostático durante 30 minutos, a continuación se debe ajustar el nivel del agua hasta la marca, y se coloca en su sitio el tapón del picnómetro, posteriormente se debe secar el exterior del picnómetro. Luego se procede a equilibrar la temperatura en el cuarto de balanzas, y finalmente se debe pesar el

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

### **Peso del aceite esencial:**

Para determinar el peso del aceite esencial se debe vaciar el picnómetro, enjuagar y secar como en el inicio. Efectuar las mismas operaciones pero en lugar de agua utilizar 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.

Nota: Se expresará los resultados con tres decimales.

## **ANEXO 5: DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN**

### **Principio:**

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

### **Aparatos de laboratorio:**

#### **Refractómetro:**

Se utiliza un refractómetro clásico que permita una precisión de  $\pm 0.0002$  y una lectura de los índices de refracción comprendidos entre 1.300 y 1.700.

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

1.6585 para el 1-bromo naftaleno.

1.5685 para el benzoato de bencilo.

1.4906 para el p-cimeno.

1.3330 para agua destilada.

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.

### **Procedimiento:**

#### **Determinación:**

Se pasó una corriente de agua en el refractómetro, con la finalidad de mantener el aparato a la temperatura de referencia de 20°C, a excepción 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 variar respecto 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 colocar la muestra en el instrumento, se la debe llevar a una temperatura igual a la que se realizará la medida.



Para efectuar la lectura esperar que la temperatura sea estable.

**Resultados:**

**Cálculos.**

La fórmula para la determinación del índice de refracción a la temperatura de referencia es la siguiente:

$$n_D^t = n_D^{20} + 0.0004 (t - 20)$$

**Dónde:**

$n_D^t$  = 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:**

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

## ANEXO 6: ACTIVIDAD 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 computarizado 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 $\alpha$ ).

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  $0^\circ$  a  $180^\circ$  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  $20^\circ\text{C}$ . 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  $20^\circ\text{C}$  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  $0.2^\circ\text{C}$  o  $0.1^\circ\text{C}$  permitiendo la determinación de temperaturas entre  $10^\circ\text{C}$  y  $30^\circ\text{C}$ .

#### **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. Equilibrar el agua que está circulando con un control termostático, estandarizar 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  $20^\circ\text{C}$ , 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 no haya una diferencia de más de  $1.4\text{mrad}$  ( $0.08^\circ$ )

#### **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  $\pm 3$  mrda ( $\pm 0.17^\circ$ ).

## ANEXO 7: Determinación de los índices de kovats

Para poder determinar los índices de kóvats se comparan los tiempos de retención de los hidrocarburos obtenidos con el tiempo de retención de los constituyentes del aceite esencial en estudio en base a la siguiente fórmula

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

Donde

**Ik** = Índice de kováts

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

**t<sub>Rx</sub>** = Tiempo de retención del compuesto estudiado, que eluye en el centro de los *n*-alcanos.

**t<sub>Rn</sub>** = Tiempo de retención del *n*-alcano, que eluye antes del compuesto estudiado.

**t<sub>RN</sub>** = Tiempo de retención del *n*-alcano, que eluye después del compuesto estudiado

## ANEXO 8: Desviación Estándar

La desviación estándar o desviación típica ( $\sigma$ ) es una medida de centralización o dispersión para variables de razón (ratio o cociente) y de intervalo, de gran utilidad en la estadística descriptiva.

Se define como la raíz cuadrada de la varianza. Junto con este valor, la desviación típica es una medida (cuadrática) que informa de la media de distancias que tienen los datos respecto de su media aritmética, expresada en las mismas unidades que la variable.

Para conocer con detalle un conjunto de datos, no basta con conocer las medidas de tendencia central, sino que necesitamos conocer también la desviación que representan los datos en su distribución respecto de la media aritmética de dicha distribución, con objeto de tener una visión de los mismos más acorde con la realidad a la hora de describirlos e interpretarlos para la toma de decisiones.

La desviación estándar ( $\sigma$ ) mide cuánto se separan los datos.

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}$$

## ANEXO 9: Coeficiente de Variación

Para el cálculo del coeficiente de variación es necesario que:  $\bar{x} > 0$

Se calcula:

$$C_V = \frac{\sigma}{\bar{x}}$$

Donde  $\sigma$  es la desviación típica. Se puede dar en porcentaje calculando:

$$C_V = \frac{\sigma}{\bar{x}} \cdot 100$$

De dónde:

$\sigma$  = desviación estándar

n = número de mediciones

$\bar{x}$  = media aritmética

x = valor de la variable

cv = coeficiente de variación

En base a información obtenida de las normas de buenas prácticas de laboratorio se ha determinado que el coeficiente de variación máximo permitido para la inyección manual es de 2%, porcentaje que será aplicado para los tiempos de retención (tr).