

CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPUESTOS MAYORITARIOS DEL ACEITE
ESENCIAL DEL FRUTO DE MORTIÑO (*Vaccinium floribundum* H. B. K.) EN SUS
DIFERENTES ESTADOS DE MADURACIÓN

JUAN PABLO TORRES MEDICIS

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE QUÍMICA
SAN JUAN DE PASTO
2010

CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPUESTOS MAYORITARIOS DEL ACEITE
ESENCIAL DEL FRUTO DE MORTIÑO (*Vaccinium floribundum* H. B. K.) EN SUS
DIFERENTES ESTADOS DE MADURACIÓN

JUAN PABLO TORRES MEDICIS

Trabajo de grado presentado como requisito para obtener al título de Químico.

Directora:
OLGA LUCIA BENAVIDES, M. Sc.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE QUÍMICA
SAN JUAN DE PASTO
2010

Las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado son responsabilidad exclusiva de sus autores”.

Art.1 del acuerdo No 324 de octubre 11 de 1966, emanado del honorable consejo directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación:

Director

Jurado

Jurado

San Juan de Pasto, febrero 2010

DEDICATORIA

A mis padres Rosalia y Luis B. por todo el apoyo y dedicación brindada en todos estos años de mi vida.

A mis hermanos y primos por la compañía y apoyo que me han brindado en todo momento de mi formación.

AGRADECIMIENTOS

A la directora de este trabajo de investigación: M.Sc. Olga Lucia Benavides Calvache y a todos los integrantes del Grupo de Investigación de Productos con Importancia Biológica (GIPIB), por el apoyo brindado.

A la Vicerrectoría de Posgrados e Investigaciones, VIPRI, por la financiación de esta investigación.

Al personal de la sección de laboratorios de la Universidad de Nariño, por su valiosa colaboración, en especial a Q. David E. Arturo Perdomo.

A los profesores del Departamento de Química por haber aportado en mi formación académica.

Y a mis familiares, amigos y compañeros.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN.	21
1. OBJETIVOS.	22
1.1 OBJETIVO GENERAL.	22
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.	22
2. MARCO REFERENCIAL.	23
2.1 ANTECEDENTES.	23
2.2 MARCO CONTEXTUAL.	25
2.3 MARCO TEÓRICO.	25
2.3.1 Metabolismo Secundario.	25
2.3.2 Aceites esenciales	26
2.3.2 Madurez de los frutos	28
2.3.3 Técnicas de extracción y análisis	29
2.3.4 Descripción de la planta del mortiño (<i>Vaccinium floribundum H.B.K.</i>).	33
3. METODOLOGÍA.	37
3.1 OBTENCIÓN Y ALMACENAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL.	37
3.2 ENSAYOS PRELIMINARES	37
3.2.1 DETERMINACIÓN DEL GRADO DE MADUREZ	37
3.2.1.1 Determinación de grados Brix (°Brix)	37
3.2.1.2 Determinación de pH	37
3.2.2 HOMOGENIZACIÓN Y EXTRACCIÓN DEL AE	38

3.3 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO.	39
3.4 IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN	41
3.4.1 Identificación	41
3.4.2 Cuantificación	47
4. RESULTADOS Y ANÁLISIS.	42
4.1 CLASIFICACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL	42
4.2 RESULTADOS DE LOS ENSAYOS PRELIMINARES	42
4.2.1 Grado de Madurez	42
4.2.2 Condiciones óptimas de extracción	42
4.3 FACTOR DE RESPUESTA DEL N-TETRADECANO	46
4.4 ANÁLISIS DE LOS AE DEL FRUTO DE MORTIÑO EN DIFERENTES ESTADOS DE MADUREZ	48
4.4.1 Análisis del fruto en un estado verde	48
4.4.2 Análisis del fruto en un estado Medianamente maduro	53
4.4.3 Análisis del fruto en un estado maduro	59
4.4.4 Análisis del fruto en un estado sobre maduro	63
4.5 VARIACIÓN DEL CONTENIDO DE AZÚCAR Y EL VALOR DE pH EN EL FRUTO DEL MORTIÑO	68
4.6 VARIACIÓN DE LA COMPOSICIÓN DEL ACEITE ESENCIAL EN EL FRUTO DEL MORTIÑO	69
4.7 COMPUESTOS COMUNES EN LOS ACEITES ESENCIALES	70
4.8 COMPUESTOS PROPIOS DE CADA ESTADO DE MADUREZ	71
4.9 PROPIEDADES DE LOS COMPUESTOS IDENTIFICADOS	71
4.9.1 Hexanal	71

4.9.2 Diacetona alcohol	71
4.9.3 3-Butinol	72
4.9.4 2E-Hexenal	72
4.9.5 3Z-Hexenol	72
4.9.6 2Z-Hexenol	72
4.9.7 1-Hexanol	73
4.9.8 Acido cianoacético	73
4.9.9 6Z-Nonenal	73
4.9.10 Dihidrocarvona	73
4.9.11 Dihydroeudelan II	73
4.9.12 2,2,4-Trimetil-1,3-pentanediol diisobutirato	73
4.9.13 1-Octadecene	74
4.9.14 Metil Hexadecanoato	74
4.9.15 10Z-Hexadecenil acetato	74
4.9.16 n- Pentacosano	74
4.9.17 n-Heptacosano	75
5. CONCLUSIONES.	76
6. RECOMENDACIONES	77
BIBLIOGRAFÍA	78
ANEXOS	82

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. compuestos volátiles reportados para <i>V. corymbosum</i> L.	82
Anexo B. Cromatograma de la mezcla de parafinas empleada para la determinación de Ik experimental (Ik exp), mezcla de C7- C26	83
Anexo C. Comparación de los espectros de masa experimentales con los espectros de espectrotecas	84
Anexo D. Fragmentaciones de Masas para Hexanal	101
Anexo E. Fragmentaciones de masas para Diacetona alcohol	102
Anexo F. Fragmentaciones de masas para 3-Butinol	103
Anexo G. Fragmentaciones de masas para 2E-Hexenal	104
Anexo H. Fragmentaciones de masas para 3Z-Hexenol	105
Anexo I. Fragmentaciones de masas para 2Z-Hexenol	106
Anexo J. Fragmentaciones de masas para 1-Hexanol	107
Anexo K. Fragmentaciones de masas para acido cianoacetico	108
Anexo L. Fragmentaciones de masas para 6Z-Nonenal	109
Anexo M. Fragmentaciones de masas para Dihidrocarbona	110
Anexo N. Fragmentaciones de masas para Dihidroeudelan II	111
Anexo Ñ. Fragmentaciones de masas 2,2,4-Trimetil -1,3-pentanediol diisobutirato	112
Anexo O. Fragmentaciones de masas para 1-Octadecene	113
Anexo P. Fragmentaciones de masas para Metil Hexadecanoato	114
Anexo Q. Fragmentaciones de masas para 10Z-Hexadecenil acetato	115
Anexo R. Fragmentaciones de masas para n-Pentacosano	116
Anexo S. Fragmentaciones de masas para n-Heptacosano	117

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Formación de los metabolitos secundarios	26
Figura 2. Equipo para MWHD	30
Figura 3. Partes principales de un cromatógrafo de gases	31
Figura 4. Partes principales de un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrofotómetro de masas	33
Figura 5. Mortiño (<i>Vaccinium floribundum</i> H.B.K.).	34
Figura 6. Frutos de Mortiño (<i>Vaccinium floribundum</i> H.B.K.).	35
Figura 7. Homogenizado de Mortiño	38
Figura 8. Extracción por MWHD de AE de Mortiño	39
Figura 9. Cromatógrafo de Gases.	40

LISTA DE GRÁFICAS

	Pág.
Gráfica N° 1. Cromatograma del tratamiento 1 (60%W/60min)	43
Gráfica N° 2. Cromatograma del tratamiento 2 (80%W/60min)	44
Gráfica N° 3. Cromatograma del tratamiento 3 (60%W/90min)	44
Gráfica N° 4. Cromatograma del tratamiento 4 (80%W/90min)	45
Gráfica N° 5. Superficie de respuesta	46
Gráfica N° 6. Determinación de factor de respuesta	47
Gráfica N° 7. Cromatograma (GC-FID) para el fruto verde	49
Gráfica N° 8. Abundancia de compuestos en estado verde	53
Gráfica N° 9. Cromatograma (GC-FID) fruto Medianamente maduro	54
Gráfica N° 10. Abundancia de compuestos en estado Medianamente maduro	58
Gráfica N° 11. Cromatograma (GC-FID) fruto maduro	60
Gráfica N° 12. Abundancia de compuestos en estado maduro	63
Gráfica N° 13. Cromatograma (GC-FID) del fruto en estado sobre maduro	64
Gráfica N° 14. Abundancia de compuestos en estado sobre maduro	67
Gráfica N° 15. Comparación gráfica del estado de madurez frente a °Brix y valores de pH	68
Gráfica N° 16. Variación de la concentración de metabolitos según el grado de madurez de la fruta.	69
Gráfica N° 17. Compuestos comunes	70

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla N° 1. Actividad biológica de algunos AE y uso en la medicina	28
Tabla N° 2. Nombres científicos y comunes de las especies que reciben el nombre de mortiño	35
Tabla N° 3. Potencia y tiempo empleados en los ensayos preliminares de extracción por microondas	38
Tabla N° 4. Pesos de muestra, Brix y pH del fruto de Mortiño (<i>Vaccinium floribundum</i> H.B.K.)	42
Tabla N° 5. Análisis de CG preliminares para el tratamiento 1 (60%W/60min)	43
Tabla N° 6. Análisis de CG preliminares para el tratamiento 2 (80%W/60min)	43
Tabla N° 7. Análisis de CG preliminares para el tratamiento 3 (60%W/90min)	44
Tabla N° 8. Análisis de CG preliminares para el tratamiento 4 (80%W/90min)	45
Tabla N° 9. Análisis de varianza de acuerdo al número de compuestos presentes en los extractos	45
Tabla N° 10. Repetitividad de las áreas cromatográficas a diferentes concentraciones de n-tetradecano, determinados por CG-FID	47
Tabla N° 11. Características iniciales del fruto de Mortiño en estado verde	48
Tabla N° 12. Identificación por índices de retención de los compuestos presentes en el AE de frutos verdes de Mortiño	49
Tabla N° 13. Identificación por CG-EM y cuantificación de los compuestos mayoritarios presentes en el fruto de Mortiño en estado verde	52
Tabla N° 14. Características iniciales del fruto de Mortiño en estado Medianamente maduro	53
Tabla N° 15. Identificación por índices de retención de los compuestos presentes en el AE de fruto Medianamente maduro de Mortiño	54
Tabla N° 16. Identificación por CG-EM y cuantificación de los compuestos mayoritarios presentes en el fruto de Mortiño en estado Medianamente maduro	57
Tabla N° 17. Características iniciales del fruto de Mortiño en estado maduro	59
Tabla N° 18. Identificación por índices de retención de los compuestos presentes en el AE de fruto maduro de Mortiño	60
Tabla N° 19. Identificación por CG-EM y cuantificación de los compuestos mayoritarios presentes en el fruto de Mortiño en estado maduro	62
Tabla N° 20. Características iniciales del fruto de Mortiño en estado sobre maduro	64
Tabla N° 21. Identificación por índices de retención de los compuestos	

presentes en el AE de fruto sobre maduro de Mortiño	65
Tabla N° 22. Identificación por CG-EM y cuantificación de los compuestos mayoritarios presentes en el fruto de Mortiño en estado sobre maduro	66
Tabla N° 23. Cambios de pH y °Brix en el fruto de Mortiño	68

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

CG: Cromatografía de Gases
CG-FID: Cromatografía de Gases con detector FID
CG-ES / GC-MS: Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas
%: Porcentaje
m.s.n.m.: Metros sobre el nivel del mar
IK: Índices de retención de Kovats
Ik: Índice de Kovats.
X: analito problema.
n. número de átomos de carbono del n-alcano que eluye antes de X.
N: número de átomos de carbono del n-alcano que eluye después de X.
 t_{RX} : tiempo de retención del analito X.
 t_{Rn} : tiempo de retención del n-alcano que eluye antes del analito X
 t_{RN} : tiempo de retención del n-alcano que eluye después del analito X
Cx: concentración del compuesto de interés (mg/Kg de material vegetal)
 A_x : área cromatográfica del compuesto de interés (cuentas L/mg)
 R_f : factor de respuesta del estándar interno (cuentas L/mg)
 V_f : Volumen final del extracto (L)
 W_f : peso de la muestra de material vegetal (Kg)
Kg: Kilogramos
g: Gramos
mg: Miligramos
L: Litros
mL: Mililitros
mm: Milímetros
km: Kilómetros
°Brix: grados Brix
pH: Potencial de hidrógeno
W: Vatios
s: Segundos
 μ m: Micrómetros
kPa: Kilopascales
min: Minutos
AE: Aceite esencial
°C: Grados centígrados
eV: Electrón voltios
 μ L: Microlitros
m/z: Relación masa carga
ppm: Parte por millón
exp: Experimental
teo: Teórico
N.I: No identificado

RESUMEN

En este trabajo se realizó un estudio del aceite esencial de los frutos de Mortiño (*Vaccinium floribundum* H.B.K.), en sus diferentes estados de madurez y en un estado sobremaduro, esta especie pertenece a la familia de las ericáceas, de las cuales hay pocos reportes de estudios enfocados hacia el análisis de la composición del aceite esencial.

Para llevar a cabo la obtención del aceite esencial de estos frutos se utilizó el método de Hidrodestilación asistida por radiación con microondas, en el que se empleó un peso aproximado de 300 g de frutos homogenizados y un volumen de 500 mL de agua, posteriormente se realizó la extracción por 90 minutos y a una potencia del 80% de la total del microondas (LG modelo MH-745HD), los aceites obtenidos fueron recuperados con diclorometano. Además se midió los valores de pH y ° Brix para cada uno de los estados de madurez.

Los distintos aceites de los correspondientes estados de madurez se analizaron por cromatografía de gases con detector FID y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

En total se aislaron 32 compuestos de los cuales se identificaron CG-EM 17 de ellos, siendo los más representativos del aroma de este fruto, el 2E-Hexanal, 2Z-Hexenol y 2,2,4-Trimetil-1,3-pentanediol diisobutirato. Entre los distintos grados de madurez hay una gran semejanza en la composición de sus aceites, pero se notan pequeñas variaciones que le dan cierta peculiaridad a cada uno de estos estados de madurez. Se nota una variación de, pH y ° Brix en los distintos estados de madurez los cuales son útiles para identificar el correspondiente estado.

Palabras claves: Fruto de Mortiño, Aceite esencial, MWHD, CG-EM

ABSTRACT

In this work, a study of the essential oil of the fruits of Mortiño (*Vaccinium floribundum* HBK), in their different stages of maturity and an overripe state, this species belongs to the heath family, of which there are few reports of studies focused on analyzing the composition of essential oil.

To carry out the obtaining of essential oil of these fruits, the method of hydrodistillation assisted by microwave radiation, which used an approximate weight of 300 g of homogenized fruits and a volume of 500 mL of water then was performed extraction for 90 minutes and a power of 80% of the total microwave (LG MH-745HD), the oils obtained were recovered with dichloromethane. In addition, measured the pH and °Brix for each of the stages of maturity.

Different oils from the corresponding stages of maturity were analyzed by gas chromatography with FID detector and gas chromatography-mass spectrometry.

In total 32 compounds were isolated which were identified by GC-MS, 17 of them, the most representative aroma of this fruit, the 2E-Hexanal, 2Z-hexenol and 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutirato. Among the different stages of development there is great similarity in the composition of their oil, but slight variations are noticed certain peculiarities that give each of these stages of maturity. You notice a change in pH and °Brix in the different stages of maturity which are useful for identifying the corresponding state.

Keywords: Fruit of Mortiño, Essential oil, MWHD, GC-MS

INTRODUCCIÓN

En la actualidad ha surgido un interés notable, por la identificación y el uso de sustancias de origen natural en la industria, de alimentos, colorantes y aromas, puesto que éstas no traen riesgo para el consumidor.

Nariño, es un departamento que posee una gran riqueza tanto en flora como en fauna, debido a su variedad de climas y localización dentro de la cordillera andina; proporcionando una importante fuente de investigación de sus recursos naturales con el fin de que éstos tengan un mejor aprovechamiento.

Se conoce poco sobre la composición química de muchas especies vegetales presentes en Colombia, lo cual lleva a las instituciones investigadoras, a realizar investigaciones orientadas al reconocimiento de posibles compuestos de importancia biológica. Además hay especies de las cuales no se sabe nada, y están siendo llevadas a la extinción, porque los lugares donde crecen naturalmente, se están empleando con otros propósitos.

En toda Colombia, se han reportado cinco especies de *Vaccinium*: *V. corymbodendron*, *V. euryanthum*, *V. singularis*, *V. meridionale* y *V. floribundum*¹; siendo esta última el objeto de estudio en esta investigación. La Universidad de Nariño ha sido pionera en el estudio de los metabolitos presentes en el fruto de esta especie vegetal, pues ya se ha realizado una investigación enfocada a la determinación de las antocianinas presentes en el fruto, las cuales le dan su color característico; y esta investigación está enfocada hacia la determinación de los compuestos del aceite esencial presentes en el fruto en sus diversos estados de madurez y en estado sobre maduro.

Durante el proceso de maduración, las frutas sufren ciertos cambios físicos y químicos, expresados en cambios de color, disminución del contenido de sustratos, aroma y sabor, los cuales le dan sus características ideales de consumo², en esta investigación se trata la variación y proporción de los compuestos presentes en el aceite esencial de los frutos de Mortiño en sus distintos estados de madurez.

¹ SALINAS, Nelson R. Novedades Taxonómicas de las ericáceas del Suroccidente de Colombia. p. 51.

² THIELE, Fransico M. La Maduración en los Productos Hortifructícolas. Guia Tecnica Poscosecha N° 4. p. 4

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Caracterizar los metabolitos secundarios mayoritarios presentes en el aceite esencial del fruto del Mortiño (*Vaccinium floribundum* H. B. K), en diferentes estados de maduración, mediante Cromatografía de Gases (CG) y Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM).

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extraer el aceite esencial del fruto del Mortiño (*Vaccinium floribundum* H. B. K) por medio de hidrodestilación asistida por radiación con microondas (MWHD), en condiciones de potencia y tiempo de extracción determinadas por un diseño experimental.
- En el fruto del Mortiño (*Vaccinium floribundum* H. B. K) identificar y cuantificar los metabolitos secundarios mayoritarios del AE, en las diferentes etapas de maduración y en un estado sobremaduro.
- Determinar cambios en la composición y concentración de los compuestos químicos del AE del fruto del mortiño debidos al proceso de maduración.

2. MARCO REFERENCIAL.

2.1 ANTECEDENTES.

Las Ericáceas tienen 4.500 especies a nivel mundial y alrededor de 900 especies en América tropical, el género *Vaccinium* es uno de los más grandes de la familia con 450 especies que se distribuyen desde Asia hasta los Andes, donde está representado por 40 especies³.

El Mortiño como tal, no presenta estudios sobre la composición del AE, en sus diferentes variedades, no obstante se reconocen los siguientes usos:

Usos alimenticios: El mortiño es una planta promisorio utilizada desde tiempos anteriores, tanto para consumo directo como en jugos, mermeladas, dulces, flanes, tortas, helados y vinos. Los frutos de ésta tienen contenidos importantes de azúcares, minerales, antioxidantes, vitaminas del complejo B y C, y minerales como Potasio, Calcio, y Fósforo⁴.

Usos medicinales: Se recomienda el uso de sus hojas por parte de personas con desarreglos en el nivel de azúcar en la sangre, pues ayuda a restablecer los niveles normales y para problemas digestivos, diarrea y estreñimiento.

Además de estos usos también es utilizado como fuente de leña para la cocción y el follaje para uso en floristería.

El fruto presenta la ventaja de poderse refrigerar sin alteración de sus características organolépticas ni nutricionales, ni variaciones en peso o volumen, para la elaboración posterior de cualquiera de los productos con valor agregado⁵.

Este fruto es utilizado para teñir lana, en distintos matices que van desde el fucsia, morado oscuro y gris oscuro; para dar estas tonalidades se fermenta el fruto, luego se realiza una cocción con la lana a teñir para dar la respectiva tonalidad se emplea ciertos compuestos, luego de realizar la tinción se lava la lana⁶.

³ SANJINÉS, Adriana A. Et al., Frutos comestibles. p. 335.

⁴ ARJONA, Beatriz. El Mortiño o Agrás (*vaccinium meridionale*, ericacea) Como Planta Promisorio en la Región del Parque Arví. p. 7.

⁵ Ibid. p 8.

⁶ Biblioteca Luis Ángel Arango del Banco de la República. Taller de tintes naturales para lana. Artesanías de Colombia. <http://www.lablaa.org/blaavirtual/todaslasartes/tatinnapala/pag74-77.htm>

En Europa y Estados Unidos se han realizado estudios de este fruto presentando propiedades vasoprotectoras y como defensa contra desórdenes oftalmológicos, por lo cual se comercializa el extracto con el nombre de Myrtocyan®⁷.

Estudios realizados en los Estados Unidos de America, en concentrados de la especie *Vaccinium macrocarpon*, muestran ciertas propiedades antibacterianas frente a *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*, y *Staphylococcus aureus*⁸.

En Colombia, en el año 2006, JARAMILLO, elaboró estudios de viabilidad comercial y análisis bromatológicos y microbiológicos de pulpa de mora-mortiño (*Vaccinium floribundum* H.B.K.), con el fin de obtener una pulpa que cumpliera con los parámetros y requisitos exigidos por el Ministerio de Salud. La combinación con resultados favorables fue la de 80% mora - 20% mortiño. Dadas las características del producto evaluado (mora - mortiño) concluyeron que el método de pasteurización es el más adecuado para la conservación del producto⁹.

En la Universidad de Nariño se han realizado estudios referentes al contenido de pigmentos tipo antocianina presentes en este fruto, en estos estudios se ha determinado la presencia de las siguientes antocianinas cianidina-3-O-glucosa, cianidina-n-O-hexosa-n-O-hexosa-ramnosa, cianidina-n-O-arabinosa-n-O-glucosa y luteolinidina-n-O-ramnosa-O-glucosa-n-O-glucosa¹⁰.

Se han realizado estudios de los brotes jóvenes de la especie *Vaccinium arctostaphylos*, en los cuales se identificaron los compuestos: ácido hexadecanoico (27.0%), vitispirano (6.5%), β -ionona (5.9%) y sandaracopimaradieno (4.8%)¹¹. No se reportan estudios, sobre la composición

⁷ UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA (UDEA). Flavonoides. <http://huitoto.udea.edu.co/~farmacogfit/Flavonoides/>

⁸ CHI-HUA, Vivian Wu*, Et al. Antibacterial effects of American cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) concentrate on foodborne pathogens. p.8.

⁹ JARAMILLO, Juan. Procesos industriales para elaboración de saborizantes de mora para yogurt, pulpa de mora y mortiño. <http://www.corpoica.org.co/Ofertas/ofertas2.asp>

¹⁰ PORTILLO, Dairo A., VILLACRÉZ, José L. Análisis Químico de los Pigmentos Tipo Antocianina Presentes en el Fruto del Mortiño (*Vaccinium floribundum* H.B.K.). p. 132

¹¹ SEDAGHATHOOR, Shahram, Et al., Essential Oils of Qare-Qat (*Vaccinium arctostaphylos*) Shoots and Chemical Composition of Berries. p. 45

química del aceite esencial de los frutos de *Vaccinium floribundum*, sin embargo en la base de datos de DUKE¹² (2009) se mencionan algunos compuestos identificados en otras especies como: *V. corymbosum* L, *V. macrocarpon*, *V. myrtillus* L y *V. vitis-idaea* var. *Minus*, notándose que para *V. corymbosum* hay información de compuestos volátiles pertenecientes al fruto (Ver Anexo A).

2.2 MARCO CONTEXTUAL.

El mortiño es una planta silvestre de los bosques alto andinos, en altitudes entre los 2300 y 3500 m.s.n.m. Es frecuente encontrarla también en asociaciones naturales con las coníferas como los pinos y cipreses, debido a la importancia que tiene para la especie las asociaciones micorrizales y a su excelente adaptación a suelos ácidos (ARJONA, 2001).

Esta especie se halla distribuida geográficamente en las zonas andinas de Suramérica, desde el norte de Ecuador hasta los límites de Venezuela. También está presente en los bosques de montaña de Jamaica (ARJONA, 2001). Nariño, por ser un departamento con páramos también posee especies de Mortiño, en la mayoría de municipios (Tambo, Ipiales, Túquerres, Guachucal, entre otros) y en los alrededores de San Juan de Pasto en los corregimientos de Buesaquillo, Laguna de la Cocha, La Laguna y en el corregimiento de Villa Moreno en el municipio de Buesaco, entre otros (PORTILLO, 2008).

2.3 MARCO TEÓRICO.

2.3.1 Metabolismo Secundario. Las plantas sufren diferentes tipos de estrés, algunos relacionados con los factores climatológicos y el ataque de agentes patógenos entre otros; debido a esto han desarrollado diferentes mecanismos que les ayudan a afrontarlos, cuando se ven afectados por un patógeno o un herbívoro las plantas implementan barreras físicas o la generación de metabolitos con actividad antimicrobiana o antiherbívoro, como defensa a tales agresiones, antes de un ataque, sin embargo algunas defensas son activadas frente a ciertos estímulos externos.

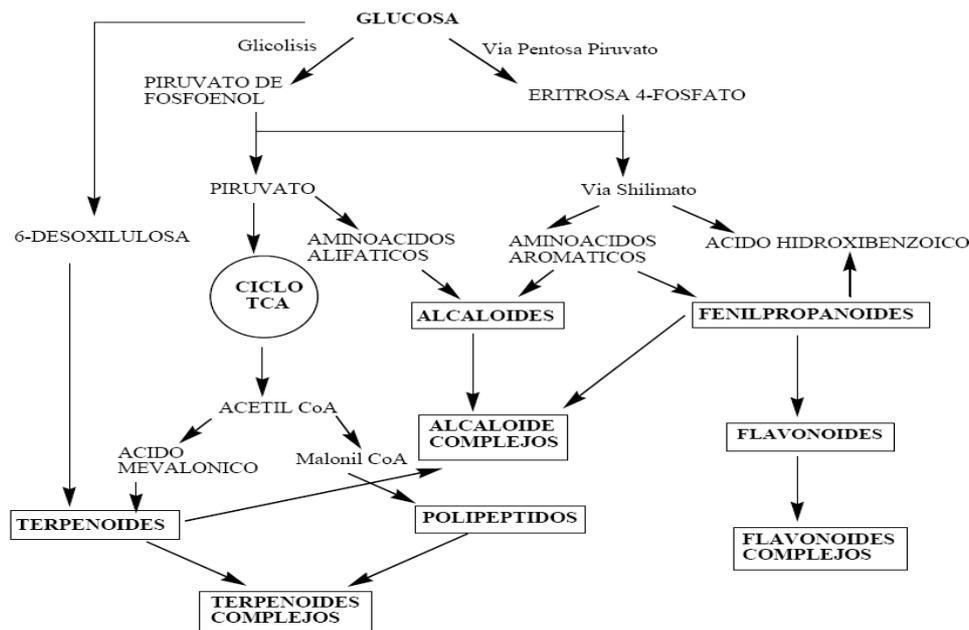
Uno de los mecanismos de defensa de las plantas es la producción de metabolitos secundarios, lo cual no solo tiene un papel ecológico, a nivel de adaptación, simbiosis y atracción de insectos polinizadores entre otros, sino que también es inducida cuando la planta es atacada por otro organismo o la exposición a la luz solar¹³.

¹² DUKE, James A. Phytochemical and Ethnobotanical Databases. <http://www.ars-grin.gov/duke/>

¹³ FIGUEROA, M., SEPULVEDA G. y ROCHA M. La Regulación de la Síntesis de Metabolitos Secundarios en la Respuesta de Defensa de Las Plantas. <http://www.rocha@ibt.unam.mx>.

Las vías de síntesis de metabolitos secundarios se recogen de forma abreviada en la figura 1, en la cual se parte del carbohidrato más común, la glucosa y se puede notar la interacción entre metabolitos. En una primera etapa, la síntesis de un metabolito secundario implica la formación de una enzima bifurcada que dirige una cierta cantidad del metabolismo primario hacia el secundario¹⁴.

Figura 1. Formación de los metabolitos secundarios



2.3.2 Aceites esenciales. Los Aceites Esenciales (AE) son una mezcla de compuestos originados en el metabolismo secundario de las plantas, son sensibles a la luz ultravioleta así como a condiciones extremas de temperatura¹⁵, son sustancias insolubles en agua y solubles en la mayoría de solventes orgánicos.

Entre los compuestos que forman los aceites esenciales se tiene una gran variedad de compuestos orgánicos volátiles, tales como: ácidos orgánicos, terpenos, alcanos, alquenos y compuestos oxigenados. Estos compuestos tienen

¹⁴ GROS, E., POMILLO, A., SELDES, A. y BURTON G. Introducción al estudio de los productos naturales. p. 4

¹⁵ STRASBURGER, E., NOLL, F., SCHENK, H. Y SCHINPER W. Tratado de Botánica. p. 947

una gran variedad de funciones en la planta, desde protección hasta ser mensajeros¹⁶.

Los AE, se clasifican por criterios como: consistencia, origen y naturaleza química de sus componentes. Cuando se habla de la consistencia, se clasifican en fluidos, bálsamos y oleo resinas. Cuando se refiere a su origen, se clasifican en naturales, artificiales y sintéticos; los naturales se obtienen directamente de las plantas, los artificiales son producto del enriquecimiento de una esencia en uno de sus constituyentes y los sintéticos son producto de métodos de síntesis. Cuando se refiere a la naturaleza química, se pueden clasificar de acuerdo con el tipo de sustancias mayoritarias presentes en ellos; según esto los AE ricos en monoterpenos reciben el nombre de AE monoterpenoides y así los ricos en propanos serán AE fenilpropanoides¹⁷.

La sabiduría de la naturaleza permite que aún cuando una esencia contenga entre un 80% y 90% de un solo constituyente químico, haya una docena o más de otros elementos no protagónicos, que equilibren y moderen el efecto principal. Esta es la razón por la cual la aromaterapia se encuentra a recaudo de efectos colaterales¹⁸.

En la gran mayoría los AE son de olor agradable, pero existen algunos desagradables. Se encuentran en las distintas partes de la planta; los compuestos presentes en ellos pueden ser aislados e identificados, al hacer uso de sus características fisicoquímicas. Algunas actividades biológicas de los aceites esenciales se muestran en la Tabla N° 1.

En los últimos años se han venido estudiando distintas partes de las plantas, entre ellas sus frutos, como el caso del estudio del fruto de *Coriandrum sativum L.*, en tres estados de maduración; en los cuales los correspondientes AE de cada estado de madurez presento una composición diferente, dicha variación es debida al proceso de maduración¹⁹. Otros estudios realizados en distintas plantas como la

¹⁶ FARMER, E., y RYAN, C. Airbone methyl jasmonate induces synthesis of proteinase inhibitors in plant leaves. p. 7714

¹⁷ MARTINEZ, Alejandro. Aceites esenciales. Medellín Universidad de Antioquia. 2001 p. 229

¹⁸ LOFFREDA, Constanza. Aromaterapia.
<http://www.mantra.com.ar/contterapiasalternativas/aromaterapiaextraccion.html>

¹⁹ MSAADA, Kamel, Et al., Changes on essential oil composition of coriander (*Coriandrum sativum L.*) fruits during three stages of maturity. www.elsevier.com/locate/foodchem.

Zanahoria²⁰, *Chaenomeles speciosa*²¹, *Ocimum gratissimum* y *Zanthoxylum xanthoxyloides*²², indican que el AE de estas especies tienen propiedades antibacterianas y antimicrobiales.

Tabla N° 1. Actividad biológica de algunos AE y uso en la medicina

Efecto Directo Producido	Plantas que contienen el AE
Uso Externo	
Hiperdémico	Eucalipto, Enebro, Romero
Anti-inflamatorio	Manzanilla, Árnica
Antiséptico	Anís, Caléndula, Clavo, limón, Menta, Hinojo, Salvia, Toronjil
Desodorizante	Manzanilla, Cítrico, Toronjil
Uso Interno	
Expectorante	Anís, Canela, Eneldo, Hinojo, Eucalipto, Ciprés, Tomillo, Menta, Manzanilla, Pino, Salvia (alcanfor, mentol)

Fuente: Domínguez, X. Métodos de Investigación Fitoquímica. 1991²³.

Se han encontrado propiedades analgésicas en extractos (de hexano, cloruro de metilo y etanólicos) de *Miconia rubiginosa*, los cuales pueden ser comparados con la Morfina. Una concentración de 200 mg / Kg de extracto presenta la mejor actividad al ser probado en ratas y ratones²⁴.

2.3.2 Madurez de los frutos. Según PEREZ, el crecimiento del fruto es un proceso que se extiende desde la floración hasta la maduración, aunque la

²⁰ B. Sandra, Et al., Supercritical carbon dioxide extraction of carrot fruit essential oil: Chemical composition and antimicrobial activity. www.elsevier.com/locate/foodchem.

²¹ XIANFEI Xie, Et al., Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Chaenomeles speciosa* from China. www.elsevier.com/locate/foodchem

²² NGASSOUM M.B., Et al., Antimicrobial study of essential oils of *Ocimum gratissimum* leaves and *Zanthoxylum xanthoxyloides* fruits from Cameroon. www.elsevier.com/locate/fitote

²³ DOMÍNGUEZ, X. Métodos de Investigación Fitoquímica. p. 229

²⁴ SPESSOTO, M. A. Evaluation of the analgesic activity of extracts of *Miconia rubiginosa* (Melastomataceae). <http://www.urbanfischer.de/journals/phytomed>.

velocidad del mismo es variable, dependiendo de factores propios de la especie y de factores ambientales. La madurez en un fruto, implica cambios en su estado físico y químico, tales como cambios de color, textura, tamaño, contenido de almidón, azúcares, pigmentos, etc. para que ocurran estos cambios deben actuar una serie de enzimas las cuales van a dar un cambio en las propiedades organolépticas y en la composición²⁵.

Para determinar el grado de madurez de una fruta hay distintos índices por los cuales se puede determinar la madurez, un buen índice de madurez debe ser: simple, fácil de aplicar, bajo costo, con el objetivo de discriminar el estado de madurez de un determinado fruto, además no debe ser destructivo²⁶; algunos métodos para determinar la madurez de una fruta son:

- a. Por tamaño
- b. Uso de cartas de color
- c. Métodos colorimétricos
- d. Firmeza de la pulpa
- e. Determinación de los sólidos solubles totales
- f. Acidez titulable
- g. Contenido de almidón
- h. Determinación de pH

2.3.3 Técnicas de extracción y análisis

a. Hidrodestilación asistida por radiación con microondas (MWHHD). Últimamente se ha venido utilizando este método de extracción de AE, el cual combina la hidrólisis normal con la radiación de microondas; la cual es útil en el estudio de diferentes especies de plantas.

Las microondas usadas en este método, son originadas por un magnetrón, el cual es un cilindro hueco encerrado en un imán con forma de herradura. En el centro del cilindro hay una barra la cual actúa como cátodo y las paredes del cilindro cumplen la función de ánodo, cuando se calienta el cátodo este emite electrones que viajan hacia el ánodo donde el campo magnético generado por el imán hace que los electrones viajen en una trayectoria circular; estas son dirigidas hacia un ventilador el cual las dispersa por todas las paredes del horno. Las microondas generadas, interactúan con el solvente, todas las moléculas se hallan girando a temperatura ambiente y si la frecuencia de radiación (de las microondas) y la

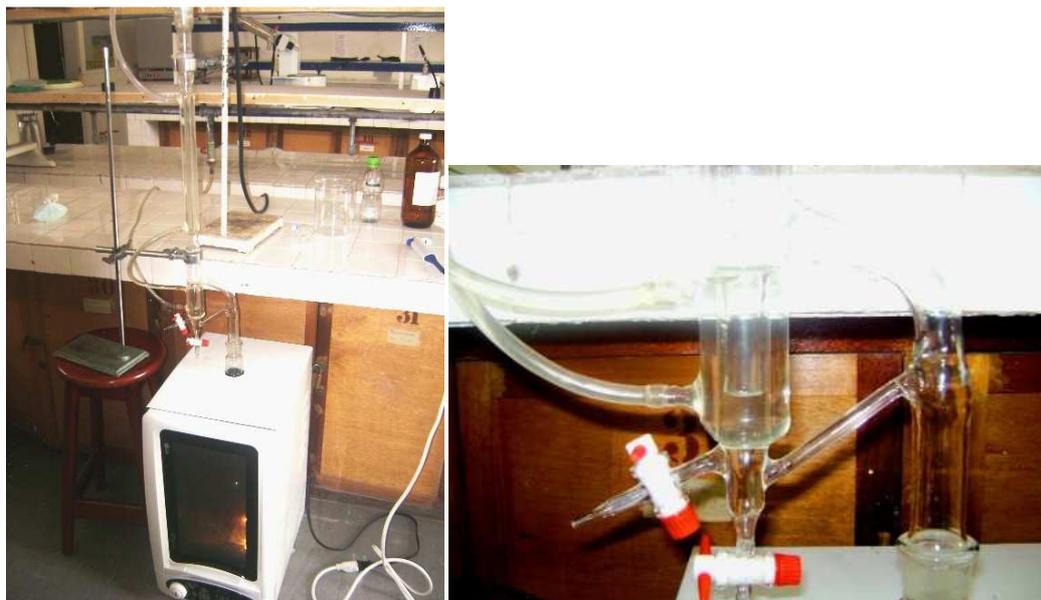
²⁵ PEREZ, Yemía A. Eventos fisiológicos asociados a la madurez y calidad de los frutos cítricos en Cuba y su relación con los productos transformados de la industria. p. 23

²⁶ SILVEIRA, Ana C. Índices de Madurez y Cosecha. p. 20

frecuencia de rotación de las moléculas son iguales, ocurre una transferencia de energía desde las microondas hacia las moléculas de agua; produciendo que estas últimas giren a mayor velocidad²⁷.

La rápida rotación a que han sido llevadas las moléculas, es afectada por la fricción, la cual genera un incremento de temperatura produciendo un calentamiento de las moléculas del material vegetal rompiéndose las estructuras celulares que contienen el AE. El AE liberado es arrastrado por el vapor de agua hacia los condensadores para luego recuperarse en fase líquida con un solvente adecuado. Las ventajas de este método radican; en un menor tiempo de extracción y en que no se afecta la naturaleza del AE, debido a que la energía de las microondas está por debajo de la energía necesaria para romper los enlaces de las moléculas orgánicas presentes en el AE; en la figura 2 se presenta una imagen correspondiente al equipo con el que cuenta el Grupo de Investigación de productos naturales de importancia biológica de la Universidad de Nariño.

Figura 2. Equipo para MWHD



b. Cromatografía de Gases (CG). Esta técnica es una herramienta muy importante en el estudio de los AE. Se define como un método físico de separación en el cual

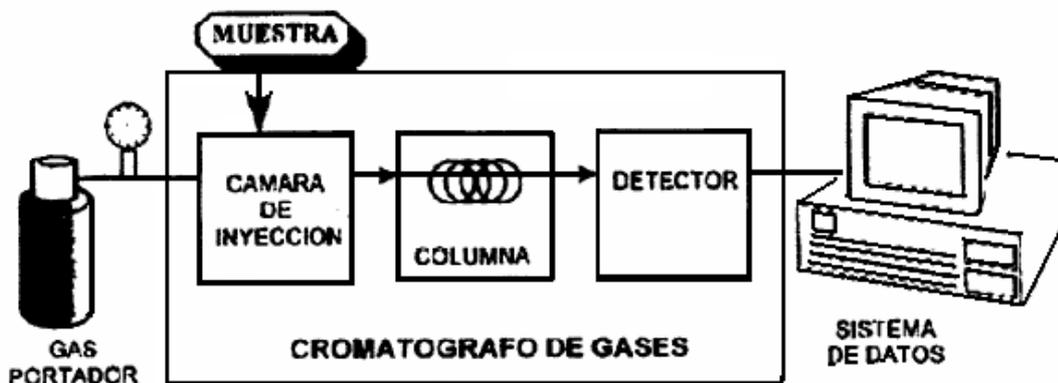
²⁷ CHANGE, Raymond. COLLAGE, W., Microwade. Ed. Mc Graw Hill. Mexico 2004. p. 238 – 240

los componentes a separar se distribuyen entre dos fases, una de las cuales es la fase estacionaria y la otra fase móvil, la cual atraviesa a la primera²⁸.

En la CG la fase estacionaria es sólida y la móvil es un gas (el cual puede ser Nitrógeno, Helio o Hidrógeno), que atraviesa a la fase estacionaria. El equipo posee un sistema de inyección que vaporiza la muestra, la cual luego es transportada por la fase móvil a través de la columna. El reparto de los compuestos se basa en la afinidad que tiene cada uno con la fase estacionaria a una determinada temperatura. Una vez separados, éstos llegan a un detector el cual genera una señal que tiene como característica la posición y la intensidad correspondiente al orden de elusión y la proporción en la que se encuentra cada componente en el AE^{29 30}

Los componentes principales en un sistema de CG son: la fuente de gas portador (fase móvil), el sistema de inyección, el horno que contiene la columna (fase estacionaria), el detector y el sistema de registro e integración, un esquema de éste se indica en la figura 3.

Figura 3. Partes principales de un cromatógrafo de gases



c. Índices de retención de Kovats (IK). Fue desarrollada por E. Kovats en el año de 1958, y se definió como una medida de la retención relativa la cual usa los alcanos

²⁸ CORTEZ, Rubén. Cromatografía de gases. (2004). <http://www.relap.mx/RLQ/tutoriales/cromatografia/gas.htm>

²⁹ A, Pablo. Cromatografía gaseosa. www.bilbo.edu.uy/~planta/pdf/GC.doc.

³⁰ STASHENKO, Elena. Acoplamiento GC-MS: Sistemas de datos (Software). http://cromatografia.uis.edu.co/cursos/acopla_gcms.html

normales como un estándar de referencia. El IK para cada alcano es cien veces su número de átomos de carbono.

Los IK indican el orden de aparición de los compuestos respecto a parafinas lineales (alcanos), para determinarlos se debe tener en cuenta las condiciones de temperatura programada para el análisis, en donde los tiempos de retención de una serie homologa aumenta linealmente con el número de carbonos y la ecuación que los relaciona tiene la siguiente expresión³¹:

$$IK = 100 \times n + 100 \times \left(\frac{t_{RX} - t_{Rn}}{t_{RN} - t_{Rn}} \right) \quad (1)$$

Donde:

Ik: Índice de Kovats.

X: analito problema.

n: número de átomos de carbono del n-alcano que eluye antes de X.

N: número de átomos de carbono del n-alcano que eluye después de X.

t_{RX}: tiempo de retención del analito X.

t_{Rn}: tiempo de retención del n-alcano que eluye antes del analito X

t_{RN}: tiempo de retención del n-alcano que eluye después del analito X

Gracias al IK se puede hacer una identificación preliminar de los compuestos presentes en el AE.

d. Cuantificación por estándar Interno. Para la cuantificación por estándar interno, como su nombre lo indica se hace haciendo uso de un estándar, el cual es un compuesto de alta pureza como el n-tetradecano, que es agregado en una concentración conocida al AE purificado³². Para calcular las concentraciones de los distintos compuestos se usa la siguiente ecuación:

$$C_x = \frac{A_x}{R_f} \times \frac{V_f}{W_f} \quad (2)$$

Donde:

C_x: concentración del compuesto de interés (mg/Kg de material vegetal)

A_x: área cromatográfica del compuesto de interés (cuentas L/mg)

³¹ ETTRE, L. S. The Kovats Retention Index System Report. J. anal. p. 35A1

³² GOMEZ, Diana. MORAN, Nancely. Extracción e Identificación de los metabolitos secundarios presentes e los frutos maduros de *Carica Candamarcensis Hoorker filius*. p 125.

R_f : factor de respuesta del estándar interno (cuentas L/mg)

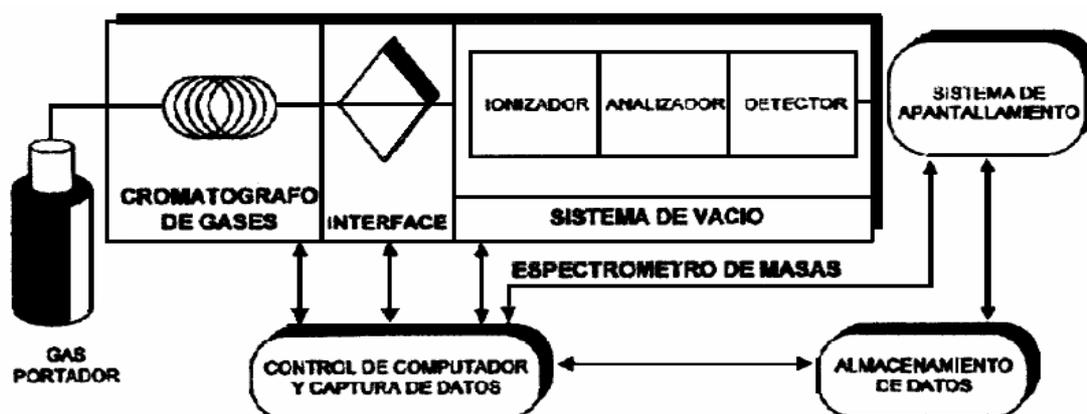
V_f : Volumen final del extracto (L)

W_f : peso de la muestra de material vegetal (Kg)

e. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM). La combinación de CG-EM es una técnica muy avanzada que ayuda al análisis rápido y seguro de mezclas, lo cual permite identificar cuántos, cuáles y en qué proporción se hallan sus constituyentes³³. Este es un método muy sensible.

Los compuestos separados por el CG, son transformados a iones en el espectrómetro de masas, estos iones son cuantificados; el análisis de la fragmentación de masas y la comparación de los espectros con espectrotecas permite el reconocimiento de los compuestos. En la figura 4 se indican los principales componentes de un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas.

Figura 4. Partes principales de un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrofotómetro de masas



2.3.4 Descripción de la planta del mortiño (*Vaccinium floribundum* H.B.K.). El mortiño es un arbusto enano, de hojas simples, alternas, elípticas u ovales, coriáceas, de ápice agudo ligeramente apiculado, base cuneada, margen crenado, con dientes glandulares, envés liso, nervio primario hundido por el haz. Su corteza se desprende con facilidad, los tallos jóvenes son de color verdoso y de aspecto liso (ver figuras 5 y 6)³⁴. La inflorescencia se presenta en racimos de 6 a 10 flores,

³³ LOPEZ, Cristina, LEON, Nixon. Identificación de los componentes mayoritarios del aceite esencial de las semillas de cacao (*Theobroma cacao* L.) por GC/FID/MSD. p 95.

³⁴ PÉREZ Arbelaez, Planta Útiles de Colombia p. 213

miden hasta 1,5 cm de largo. Las flores de hasta 8 mm de largo, la corola es cilíndrica con 4 ó 5 dientes, de color blanco o rosado a rojizo. Los frutos son redondeados, miden hasta 8 mm de diámetro, carnosos, de color negro-azul, a veces con una cubierta cerosa. Con dos épocas de fructificación al año, una entre abril y mayo llamada mitaca y la cosecha más abundante entre septiembre y diciembre. Las semillas tienen un contenido de humedad del 0,112% y un peso promedio de 0,435 g/1000 semillas, es decir que 1 kg contiene 2'298000 semillas³⁵.

A continuación se presenta la clasificación taxonómica de la planta de Mortiño,³⁶ (Administración de Parques Nacionales, 2009):

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Ericales
Familia: Ericaceae
Subfamilia: Vaccinioideae
Tribu: Vaccinieae
Género: *Vaccinium floribundum*

Figura 5. Mortiño (*Vaccinium floribundum* H.B.K.).



³⁵ SALAZAR, Edgar, Identificación y zonificación de los bosques del Parque Arqueológico y turístico de "El alto del Chocho".

³⁶ Administración de Parques Nacionales. Sistema de Información de Biodiversidad. *Vaccinium floribundum* Kunt; Ericaceae. http://www.sib.gov.ar/ficha/PLANTAE*vaccinium*floribundum

Figura 6. Frutos de Mortiño (*Vaccinium floribumdum* H.B.K.).



En la Tabla Nº 2, se indica el nombre científico y nombres comunes de algunas especies que reciben el nombre común de mortiño, según Arjona³⁷.

Tabla Nº 2. Nombres científicos y comunes de las especies que reciben el nombre de mortiño.

Nombre científico	Familia	Nombres comunes
<i>Vaccinium meridionale</i>	<i>Ericacea</i>	Mortiño, agrás, uvito de monte, arándano azul.
<i>V. corymbodendron</i>	<i>Ericacea</i>	Mortiño, agrás
<i>V. floribumdum</i>	<i>Ericacea</i>	Mortiño
<i>Pernettya prostrata</i>	<i>Ericacea</i>	Reventadera o mortiño venenoso
<i>Pellegrinia spp</i>	<i>Ericacea</i>	Reventadero o mortiño venenoso
<i>Gautheria anastomasans</i>	<i>Ericacea</i>	Maíz de Perro o Mortiño Borrachero
<i>Miconia aeruginosa</i>	<i>Melastomatácea</i>	Mortiño
<i>Miconia glandulosa</i>	<i>Melastomatácea</i>	Mortiño, azucarero, nigüito, tintillo, tuno, esmeraldo
<i>Miconia rubiginosa</i>	<i>Melastomatácea</i>	Mortiño
<i>Hesperomeles goudotiana</i>	<i>Rosacea</i>	Mortiño o noro
<i>Rapanea guianensis</i>	<i>Mirsinacea</i>	Mortiño o chagualito

³⁷ ARJONA, Beatriz. Op. Cit. p. 8

Fuente: ARJONA, Beatriz. El Mortiño o Agrás (*vaccinium meridionale*, ericacea) Como Planta Promisoria en la Región del Parque Arví.

En Antioquia, reconocen el mortiño como un alimento para la fauna silvestre, tales como tórtolas, mirlas, pavas, guacharacas y también de las ardillas, así como de palomas, carriquies, tucanes y otros, constituyéndose en un mecanismo de dispersión de la especie vegetal, especialmente por las mirlas³⁸.

El mortiño presenta la ventaja que se puede refrigerar sin alteración de sus características organolépticas y nutricionales, ni variaciones en peso o volumen, para la elaboración posterior de productos con valor agregado, lo cual facilita el mantenimiento de un mercado permanente, aún fuera de las épocas de cosecha.³⁹

El fruto de Mortiño presenta cuatro principales estados de maduración; que por análisis sensorial se pueden describir de la siguiente forma:

- Verde: fruto con estructura dura con cáscara color verde y pulpa harinosa de color verde tenue con un bajo contenido de humedad.
- Medianamente maduro o pintón: fruto con estructura semiblanda con cáscara de color verde y manchas de color rojo-violáceo, su pulpa es de color verde oscuro.
- Maduro: fruto con estructura blanda con cáscara color rojo-violáceo, el color de la pulpa va desde la tonalidad verde hasta una rojiza y consistencia suave y jugosa.
- Sobremaduro: fruto con estructura muy blanda con cascara de color rojo-violáceo hasta casi negro, su pulpa presenta una tonalidad roja intensa y alto contenido de humedad.

³⁸ De la RUA, Adelaida, El poder curativo de las frutas. p. 135

³⁹ ARJONA, Beatriz. Op. Cit. p. 8

3. METODOLOGÍA.

3.1 OBTENCIÓN Y ALMACENAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL.

El fruto se recolectó en las afueras del corregimiento de Villamoreno; éste es un corregimiento del municipio de Buesaco de clima frío seco, que está ubicado entre los 2300 y 2500 m.s.n.m., tiene una temperatura entre 12 y 15 °C y tiene una precipitación promedio de 800 mm. La cabecera municipal se encuentra a 1° 23' de latitud Norte y 77° 8' de longitud Oeste o del meridiano de Greenwich a 38 km de Pasto⁴⁰.

Las muestras fueron obtenidas al azar de 76 plantas en etapa de producción, hasta obtener un peso igual a 6 Kg de material, de los cuales se emplearon aproximadamente 3.8 Kg estos fueron divididos en muestras de 300 g para cada tratamiento; se realizaron dos recolecciones, una para los ensayos preliminares y otra para el análisis de los frutos en sus diferentes estados de madurez. De cada una de las muestras se pesó 50g, los cuales fueron utilizados para la determinación de los valores de pH y ° Brix. Las muestras fueron lavadas con solución de Hipoclorito de Sodio al 2% para luego ser almacenadas en refrigeración.

3.2 ENSAYOS PRELIMINARES

3.2.1 DETERMINACIÓN DEL GRADO DE MADUREZ

3.2.1.1 Determinación de grados Brix (°Brix). Se realizó según la metodología descrita por B. Dáger, 2007; para lo cual se emplearon muestras de 50g las cuales fueron maceradas con mortero para extraer el jugo de los frutos, una vez extraído el jugo se colocaron unas gotas de extracto del fruto sobre el cristal de lectura del refractómetro y se procedió a observar el valor que aparece en la escala graduada del aparato (°Brix)⁴¹; estas mediciones se realizaron por triplicado para los frutos de los ensayos preliminares y para cada uno de los estados de madurez.

3.2.1.2 Determinación de pH. Se realizó según la metodología descrita por B. Dáger, 2007; para lo cual se emplearon muestras de 50g las cuales fueron maceradas con mortero para extraer el jugo de los frutos, una vez extraído el jugo,

⁴⁰ PLAN DE DESARROLLO MUNICIPAL DE BUESACO 2004 – 2007.

⁴¹ B. Dáger, Et al. Determinación del Estado de Madurez Óptimo para Cosecha y Caracterización post-cosecha de Canistel (*pouteria campechiana* (kunth) baehni). p. 111

se tomó el extracto de la pulpa, para ser colocado en un Beaker, y luego se determinó qué tan ácida o alcalina era la muestra, usando un pH-metro⁴²; estas mediciones se realizaron por triplicado para los frutos de los ensayos preliminares y para cada uno de los grados de madurez.

3.2.2 HOMOGENIZACIÓN Y EXTRACCIÓN DEL AE. Se realizaron ensayos con muestras de apariencia madura que pesaron 300 g, las cuales fueron lavadas con agua y solución de hipoclorito de sodio al 2%, para su posterior almacenamiento, estas fueron homogenizadas haciendo uso de una licuadora, se agregó un volumen igual a 500 mL de agua destilada y se procedió a realizar las extracciones en el equipo de MWHD (ver Figura 7 y Figura 8).

Figura 7. Homogenizado de Mortiño



Para las extracciones del aceite esencial (AE), se empleó un horno microondas marca LG modelo MH-745HD con una frecuencia de salida de 2450 MHz y una potencia de salida de 850 W; un equipo de hidroddestilación consiste de un balón de fondo plano de 4 L de capacidad, una trampa clewenger, y de 3 condensadores. Éste fue operado a las condiciones de extracción dispuestas en la Tabla 3. Estas extracciones se realizaron por triplicado (ver figura 8).

Tabla N° 3. Potencia y tiempo empleados en los ensayos preliminares de extracción por microondas

Potencia (W) (%)	Tiempo (min)
60	60
	90
80	60
	90

⁴² B. Dáger, Et al. Op. Cit. p. 111

Una vez realizada la extracción del AE, éste se recupera con diclorometano y se pasa a un embudo de separación al cual se le ha agregado 4 mL de solución de cloruro de potasio al 20 %. Se realiza la separación, se procede a secar con sulfato de sodio anhidro y se concentra a un volumen final de 1 mL, se guarda en viales sellados herméticamente y en refrigeración para su posterior análisis por CG.

Figura 8. Extracción por MWHD de AE de Mortiño



3.3 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO.

Los AE`s obtenidos de los distintos tratamientos fueron analizados haciendo uso de un GC Shimadzu 17A (Figura 9), ubicado en los Laboratorios Especializados de la Universidad de Nariño, empleando un detector de ionización de llama (FID); y una columna DB-5 (30 m x 0.25 mm, d.i., 0.25 μ m). Se utilizó como gas de arrastre Helio a unas condiciones estándar de: presión 134 kPa, velocidad lineal de 40 cm/s, flujo interno 1 mL/min, razón split 1:30 y un flujo total de 25 mL/min. Una programación de temperatura de 40 °C (5 min) a 5 °C/min hasta 250 °C (15

min) para un tiempo total de corrida de 62 min, el puerto de inyección a 250 °C, el detector a 280 °C y se empleo 1 µL de extracto para la inyección.

Figura 9. Cromatógrafo de Gases.



Del correspondiente análisis de los ensayos preliminares se escogió el tratamiento que arrojó las mejores condiciones para la extracción del AE del fruto de Mortiño, en donde se evaluó el número de compuestos extraídos en los distintos tratamientos, haciendo uso de un análisis de varianza y también evaluando el área total del cromatograma, para crear un análisis de superficie de respuesta.

Una vez halladas las mejores condiciones de extracción se procedió a analizar los distintos estados de madurez del fruto, para lo cual se realizó un segundo muestreo obteniéndose cuatro muestras a diferentes estados de madurez. Para escoger las muestras en el campo se usó el método organoléptico, con el cual se asignó por color el grado de madurez del fruto. Para esta forma de recolección se siguió lo descrito por B. Dáger, 2007; para lo cual se capacitó a la persona encargada de la recolección, para que pueda discriminar los distintos grados de madurez de acuerdo al color del fruto y tamaño del mismo; para frutos en estado verde se escogieron frutos de cáscara de color verde, para frutos en estado medianamente maduro o pintón se escogieron frutos que tenían una macha de color rojo en la cáscara; para frutos en estado maduro se recolectaron frutos de color rojo – violáceo en su cáscara y para frutos en estado sobremaduro se recolectó frutos de color violáceo a negro en su cáscara.

En el laboratorio se procedió a hacer el tratamiento previo consistente en lavado y desinfección de las muestras, luego se realizaron mediciones de grados Brix y pH para determinar la madurez de cada una de las muestras, para luego agruparlas en porciones de 300 g aproximadamente y finalmente se almacenaron para el análisis posterior en refrigeración. Se realizaron las extracciones y se almacenaron

los extractos en nevera para los análisis por CG-EM y para la cuantificación por estándar interno.

3.4 IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN

3.4.1 Identificación. Para la identificación preliminar se determinaron los índices de retención de cada compuesto haciendo uso de una mezcla de parafinas corrida por CG a las mismas condiciones de análisis de las muestras, y se calculó el índice de retención por medio de la Ecuación 1 (ver apartado 2.3.3 Técnicas de extracción y análisis); una vez hallado este valor se procedió a comparar con el índice teórico mas cercano reportado en la bibliografía especializada.

Para confirmar la identificación de los compuestos mayoritarios obtenidos, se realizo un análisis por medio de GC-EM, haciendo uso de un equipo Shimadzu CG-MS-5050A con una columna capilar de sílice fundida DB-5 (30 m x 0,32 mm de diámetro interno, recubierta con polietilenglicol 20.000 (0,25 μm de espesor de fase fija) de la Universidad Nacional. El programa de temperatura en la columna fue de 50 °C (3 min), @ 4 °C/min hasta 250 °C (7 min). Temperatura del inyector 280 °C, modo de inyección split, relación de Split 1:40; volumen inyectado: 2 μl de solución de aceite. Fase móvil: helio, 54.2 kPa, temperatura en interfase: 280 °C; energía de ionización; 70 eV; rango de adquisición de masas: 40-500 m/z. Los espectros de masas de cada componente se compararon con los de la espectroteca (Wiley 139) y con bibliografía.

3.4.2 Cuantificación. Para la cuantificación utilizando n-tetradecano como estándar internó, se elaboro una curva de calibración del estándar a diferentes concentraciones, de la cual se determino el factor de respuesta de este estándar, haciendo uso de la concetracion y el area de los mismos. A cada una de las muestras se le agregó 10 μL de solución de n-tetradecano 10.000 ppm; se calculó la concentración de cada metabolito secundario mayoritario por medio de la ecuación 2. (ver apartado 2.3.3 Técnicas de extracción y análisis).

4. RESULTADOS Y ANÁLISIS.

4.1 CLASIFICACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

Se obtuvieron muestras vegetales con frutos, flores hojas y tallos, presentes en el sitio de muestreo, las cuales se sometieron a secado y se llevaron al Herbario de la Universidad de Nariño para a su clasificación. Estas muestras coincidieron en sus características morfológicas con una muestra de *Vaccinium floribundum* H.B.K. (código 8852 Herbario Universidad de Nariño), la cual fue recolectada a 10 Km de la carretera Pasto – Buesaco, en el año de 1979.

4.2 RESULTADOS DE LOS ENSAYOS PRELIMINARES

Para los ensayos preliminares se empleo, muestras en estado maduro, a las cuales se les realizo medición de grados Brix y pH, para tener un parámetro de madurez.

4.2.1 Grado de Madurez. Los pesos del fruto empleado para la evaluación del grado de madurez (°Brix y pH) se resumen en la siguiente tabla:

Tabla N° 4. Pesos de muestra, °Brix y pH del fruto de Mortiño (*Vaccinium floribundum* H.B.K.)

Replica	Peso (g)	Promedio (g)	pH	Promedio	°Brix	Promedio
1	50,066		2,71		9,7	
2	50,088	50,077	2,72	2,71	9,8	9,7
3	50,077		2,69		9,6	

El fruto empleado para estos ensayos, posee un color violeta oscuro, una pulpa verde, un pH de 2,71 y un valor de °Brix de 9,7. La muestra fue dividida en porciones de aproximadamente 300 g, a las cuales se les aplicó los distintos tratamientos por triplicado, obteniéndose cuatro conjuntos de muestras con un tratamiento de extracción determinado.

Este fruto en su estado de consumo, tiene la característica de ser ácido lo cual se comprueba al medir su pH (2,71). El valor de ° Brix se asocia a la cantidad de azúcar presente en el fruto.

4.2.2 Condiciones óptimas de extracción. Se realizaron las extracciones preliminares a las muestras según los tratamientos indicados en la Tabla No. 3. Los resultados de los pesos empleados, área de pico en cuentas y número total

de picos de las corridas cromatográficas por CG para los diferentes tratamientos se indican en las siguientes Tablas (Tabla No. 5 – Tabla No. 8) y sus cromatogramas se presentan en las correspondientes gráficas:

Tabla N° 5. Análisis de CG preliminares para el tratamiento 1 (60%W/60min)

	Peso (g)	Promedio (g)	Área (cuentas)	Área Promedio (cuentas)	Nº Picos	Nº Picos Promedio
1	300,058		135851		33	
2	300,071	300,047	93762	121450	33	33
3	300,011		134737		34	

Gráfica N° 1. Cromatograma del tratamiento 1(60%W/60min)

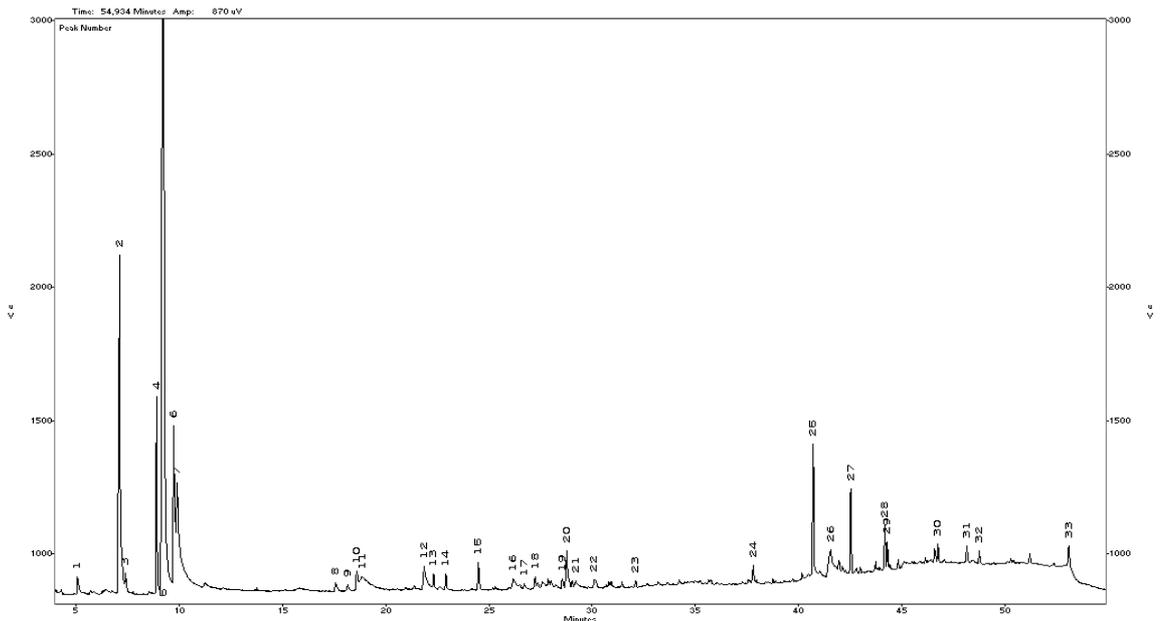


Tabla N° 6. Análisis de CG preliminares para el tratamiento 2 (80%W/60min)

	Peso (g)	Promedio (g)	Área (cuentas)	Área Promedio (cuentas)	Nº Picos	Nº Picos Promedio
1	300,067		64612		34	
2	300,033	300,038	97195	79057	39	36
3	300,013		75364		36	

Gráfica N° 2. Cromatograma del tratamiento 2 (80%W/60min)

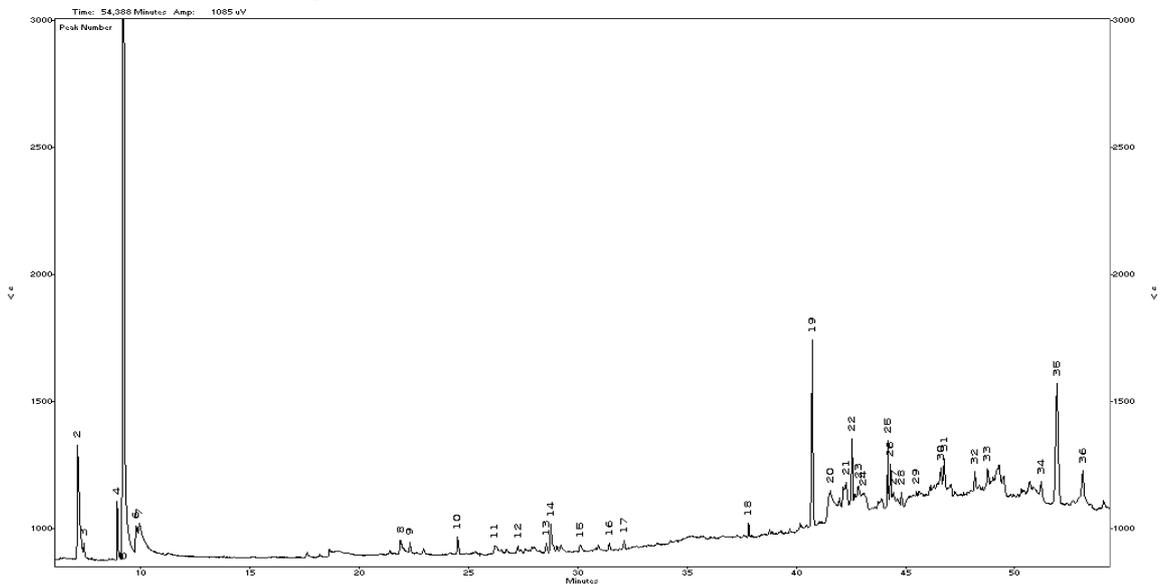


Tabla N° 7. Análisis de CG preliminares para el tratamiento 3 (60%W/90min)

	Peso (g)	Promedio (g)	Área (cuentas)	Área Promedio (cuentas)	Nº Picos	Nº Picos Promedio
1	300,078		121588		36	
2	300,004	300,051	89066	109740	35	35
3	300,071		118567		35	

Gráfica N° 3. Cromatograma del tratamiento 3 (60%W/90min)

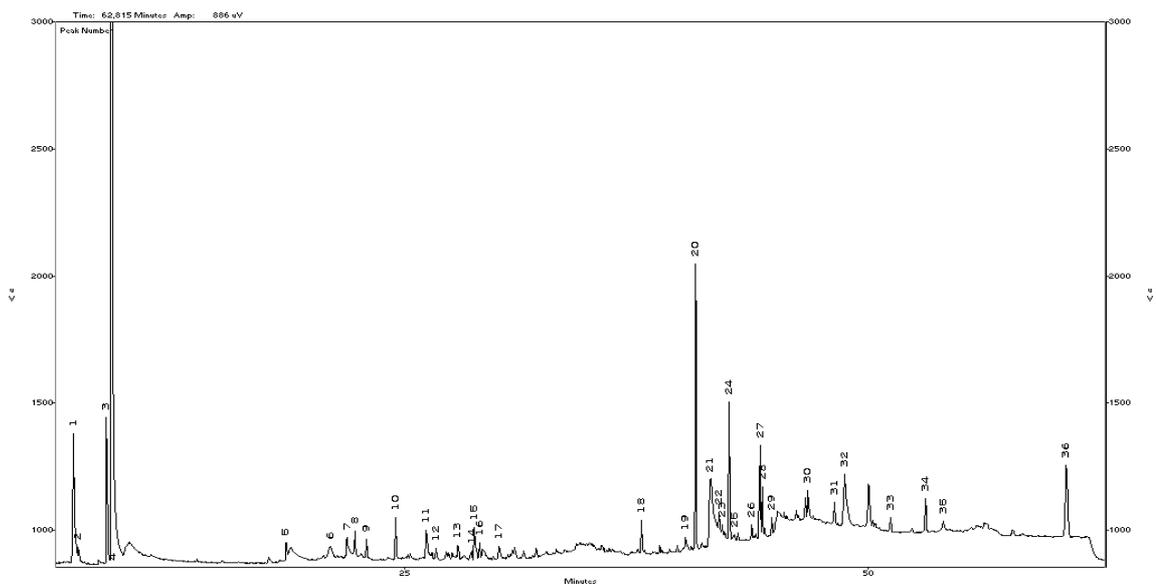
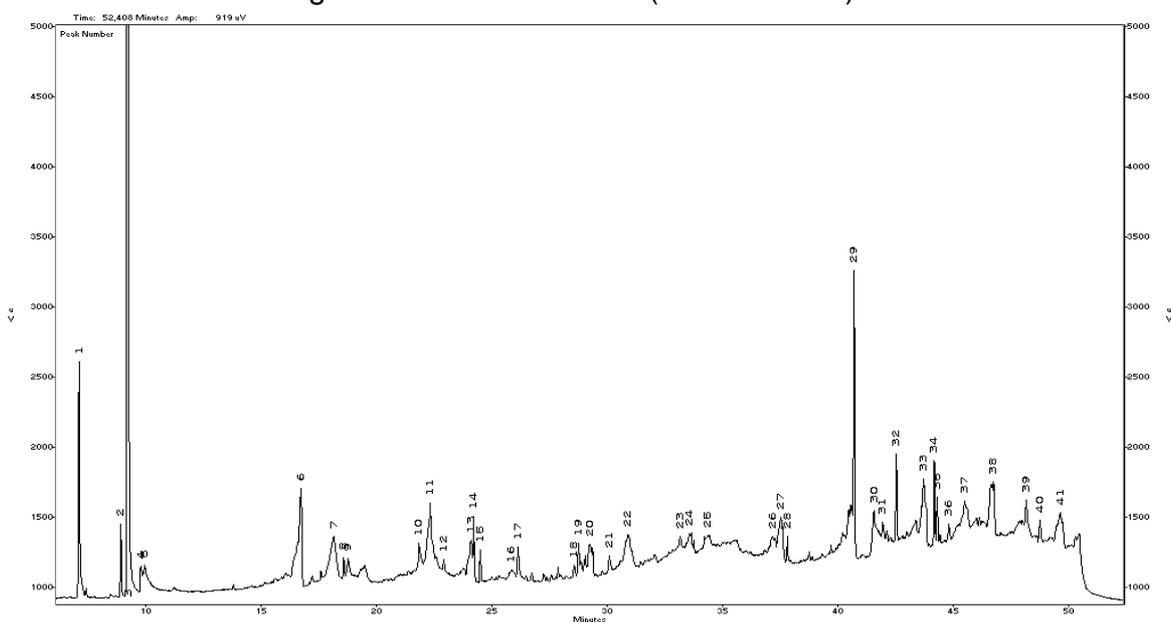


Tabla N° 8. Análisis de CG preliminares para el tratamiento 4 (80%W/90min)

	Peso (g)	Promedio (g)	Área (cuentas)	Área Promedio (cuentas)	Nº Picos	Nº Picos Promedio
1	300,056		158377		41	
2	300,012	300,046	103631	121701	34	37
3	300,071		103094		37	

Gráfica N° 4. Cromatograma del tratamiento 4 (80%W/90min)



Para determinar cuáles son las condiciones óptimas de extracción del AE de los frutos de Mortiño en comparación con el número de compuestos obtenidos en los diferentes tratamientos aplicados, se realizó un análisis de varianza, empleado como respuesta el número de compuestos extraídos; este análisis se presenta en la Tabla N° 9.

Tabla N° 9. Análisis de varianza de acuerdo al número de compuestos presentes en los extractos

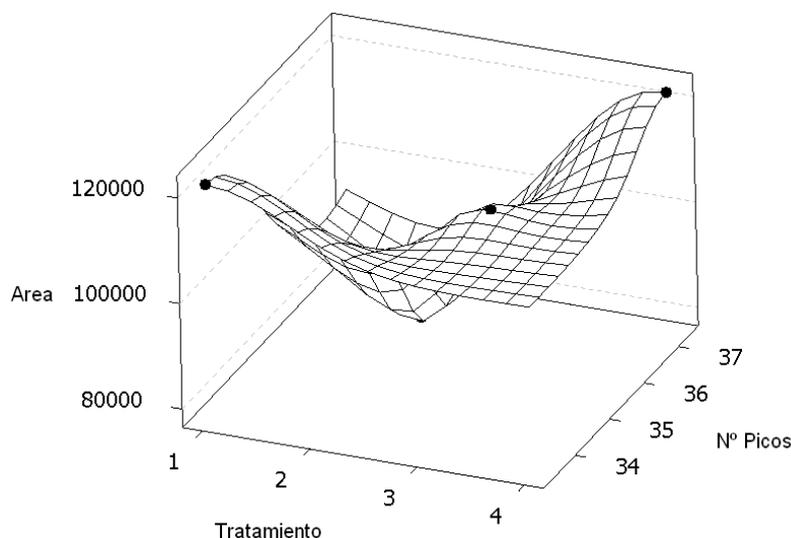
Fuente	GL	SC	MC	F exp	F teo (95%)
Factor	3	26,25	8,75	1,811	4,066
Error	8	38,67	4,83		
Total	11	64,92			

El valor de F experimental (F_{exp}) es menor que el valor de la F teórico (F_{teo}) (95%), por ende se acepta la hipótesis nula cual manifiesta que no hay diferencia significativa entre los tratamientos, y se rechaza la hipótesis que manifiesta que existe una diferencia significativa entre los tratamientos.

Debido a que no se observó una diferencia significativa entre tratamientos, se procedió a realizar un análisis de superficie de respuesta, en el cual se graficó tratamientos vs área total y número de picos, utilizando los valores promedios para cada tratamiento. El siguiente gráfico corresponde al análisis de superficie de respuesta.

Gráfica N° 5. Superficie de respuesta

Grafica de superficie de área vs. N° picos.tratamiento



De acuerdo a la gráfica de superficie de respuesta, las condiciones más óptimas para la extracción de AE del fruto del Mortiño son a una Potencia 80 % y un tiempo de extracción de 90 min, debido a que en estas condiciones de extracción se forma la parte más pronunciada de la superficie de respuesta, con la cual se observa un mayor número de picos y un mayor número de área total de cromatograma.

4.3 FACTOR DE RESPUESTA DEL N-TETRADECANO

Se graficó una curva de calibración para el estándar interno, para lo cual, siete soluciones en diclorometano preparadas a diferentes concentraciones de n-tetradecano fueron inyectadas por triplicado en un cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama (FID) a las condiciones mencionadas en el

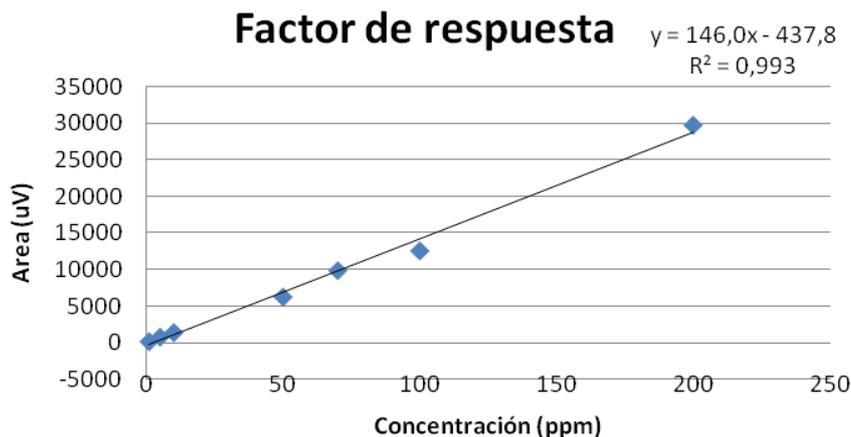
apartado 3.4; los datos obtenidos se hallan depositados en la Tabla N° 10 y con los datos de área y concentración de estándar se plasmó la curva de calibración (Gráfica N° 6), de la cual se determinó el factor de respuesta.

Tabla N° 10. Repetitividad de las áreas cromatográficas a diferentes concentraciones de n-tetradecano, determinados por CG-FID

Concentración de n-tetradecano (ppm)	1	5	10	50	70	100	200
Área (cuentas)	159	735	1410	6473	9688	12602	27981
	147	788	1311	6327	9407	12659	29937
	151	782	1428	5912	10418	12343	31139
Promedio	152	768	1383	6237	9838	12535	29686
Desviación estándar	6	29	63	291	522	168	1594
% CV	4	4	5	5	5	1	5

La desviación estándar, hace referencia a que tan dispersos se encuentran los datos de acuerdo al promedio; teniendo en cuenta que el coeficiente de variación, es una estimación del error relativo que permite comparar la precisión de los resultados, la repetibilidad de las áreas cromatográficas presentan valores aceptables (<5%), de acuerdo a HUBER. L.⁴³

Gráfica N° 6. Determinación de factor de respuesta



⁴³ HUBER. L. Buenas prácticas de laboratorio y buenas prácticas de fabricación actuales. p. 160

El valor de R^2 , indica que las variables área y concentración están bien relacionadas, de este modo la variable concentración queda bien expresada por la variable área, esto es debido a que es un valor muy próximo a uno.

De la anterior gráfica se puede determinar el valor del factor de respuesta, el cual es igual al valor de la pendiente de la línea recta, es decir un valor de 146 cuentas x L/mg.

4.4 ANÁLISIS DE LOS AE DEL FRUTO DE MORTIÑO EN DIFERENTES ESTADOS DE MADUREZ

4.4.1 Análisis del fruto en un estado verde. Se trabajó con una muestra estado verde o inmaduro, la cual pesaba 1864,35 g, ésta se dividió en tres fracciones de 300 g para las extracciones del AE y tres fracciones de 50 g para la determinación del grado de madurez.

En la Tabla N° 11, se hallan los valores de pH y °Brix obtenidos para este estado de madurez.

Tabla N° 11. Características iniciales del fruto de Mortiño en estado verde

Replica	Peso (g)	Promedio (g)	pH	Promedio	°Brix	Promedio
1	50,048		2,18		7,8	
2	50,061	50,054	2,16	2,17	7,8	7,9
3	50,052		2,17		8,0	

El fruto verde se caracteriza por tener una alta acidez, además en este estado la concentración de azúcar en la fruta es baja, por lo cual presenta un carácter amargo en este estado.

En la Gráfica N° 7, se presenta el cromatograma para el aceite esencial del fruto de mortiño en un estado verde. Para la identificación preliminar de los compuestos presentes en el fruto de Mortiño, se determinaron los índices de retención haciendo uso de una mezcla de parafinas (C8-C26) analizada a las mismas condiciones de inyección cromatográfica que las muestras, en el Anexo B se encuentra un perfil cromatografico para esta mezcla de parafinas. Estos índices luego fueron comparados con los reportados por Adams⁴⁴. Los valores calculados y los posibles compuestos identificados se hallan en la Tabla N° 12.

⁴⁴ ADAMS, Robetr. Identification of essential oil components by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy.

Gráfica N° 7. Cromatograma (GC-FID) para el fruto verde

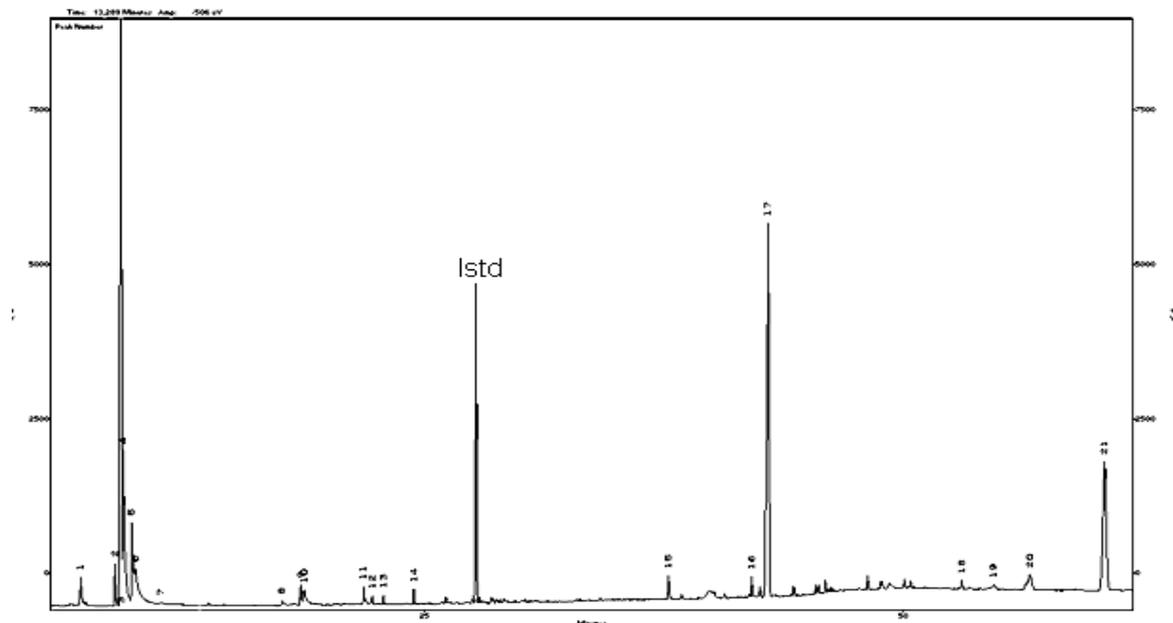


Tabla N° 12. Identificación por índices de retención de los compuestos presentes en el AE de frutos verdes de Mortiño

N°	T r	Ik exp	Posible Compuestos	Ik teo
1	4,086	801	3,4-Hexadiona	800
			n - Octano	800
			Hexanal	802
			4E-Octeno	802
			Etil butanoato	804
2	5,255	843	4-metil-pentanol	838
			Isopropil butanoato	845
			3-Butinol	843
3	5,432	849	Isopropil butanoato	845
			3E-Hexenol	854
			2E-Hexenal	854
4	5,544	853	2E-Hexenal	854
			3E-Hexenol	855
			Z-Selveno	856

Nº	T r	lk exp	Posible Compuestos	lk teo
			Etil isovalerato	858
			3Z-Hexenol	859
5	5,858	865	2Z-Hexenol	865
			E-Salveno	867
			1-Hexanol	867
6	6,923	902	2-metoxi-pirazina	897
			Propil butanoato	899
			n-Nonano	900
			Etil pentanoato	901
			Heptanal	902
7	13,221	1073	n-Octanol	1068
			cis -Hidrato Sabineno	1070
			trans- Oxido de linalool	1073
			endo-5-2-metanol-Norborneno	1073
			Bencil formato	1076
8	14,328	1102	n-Undecano	1100
			Perilleno	1101
			n-Nonanal	1101
			6Z-Nonenal	1101
			Isopentil valerato	1103
9	14,433	1105	6Z-Nonenal	1101
			Isopentil valerato	1103
			α -Fenchocamforona	1106
			Maltol	1108
			Cis-oxido de Rosa	1108
10	17,613	1192	Metil salicilato	1192
			2-Decanona	1192
			Dihidrocarvona	1193
			4Z-Decenal	1194
			Piperitol	1196

Nº	T r	lk exp	Posible Compuestos	lk teo
11	20,688	1280	Isopulegol acetato	1278
			Nopol	1280
			Nerol formato	1282
			Dihidroedulan II	1284
			E-Anetol	1285
12	22,592	1337	cis-Piperitol acetato	1335
			E-Hasmigona	1336
			Metil-Antranilato	1337
			Δ -Elemeno	1338
			Evodona	1340
13	24,358	1391	B-Borboneno	1388
			1-Tetradeceno	1389
			iso-Longifoleno	1390
			E-Jasmona	1391
			Vainillina	1394
14	30,289	1599	cis-Arteanuico alcohol	1597
			Widdrol	1599
			n-Hexadecano	1600
			Guaiol	1601
			Khusimona	1604
15	30,658	1610	Platifillol	1608
			epoxido Humuleno II	1608
			cis-dihidro-Occidentalol	1610
			2,2,4-Trimetil-1,3-pentanodiol diisobutirato	1610
			β -Biotol	1614
16	35,904	1793	β -Bisabolenol	1790
			1-Octadeceno	1790
			Drimenona	1793
			biciclo-Vetivenol	1793
			α -Eudesmol acetato	1795

Nº	T r	lk exp	Posible Compuestos	lk teo
17	40,924	1996	Seselin	1998
			10Z-Hexadecenil acetato	1998
			n-Eicosano	2000
18	47,602	2299	4-epi-Abietal	2299
			n-Tricosano	2300
			3- α -hidroxi-Manool	2301
19	55,410	2705	N-Heptacosano	2700

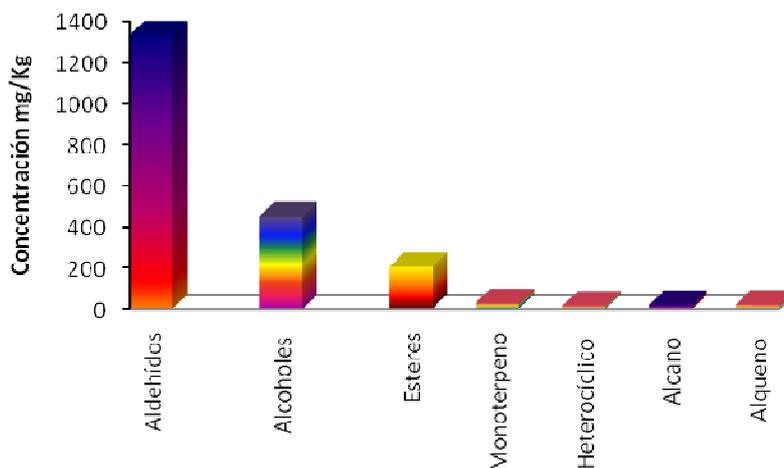
En la Tabla N° 13, se halla almacenada la identificación por CG-EM, la clasificación por tipo de compuesto de los compuestos mayoritarios del fruto de Mortiño en estado Verde y su respectiva concentración en el AE.

Tabla N° 13. Identificación por CG-EM y cuantificación de los compuestos mayoritarios presentes en el fruto de Mortiño en estado verde

Nº	Compuesto	lk teo	Concentración (mg/Kg)	Tipo de compuesto
1	Hexanal	802	54,756	Aldehído
2	3-Butinol	843	34,650	Alcohol
3	2E-Hexenal	855	1229,010	Aldehído
4	3Z-Hexenol	859	183,517	Alcohol
5	2Z-Hexenol	865	231,642	Alcohol
6	N.I.		10,053	
7	N.I.		12,406	
8	6Z-Nonenal	1101	48,553	Aldehído
9	N.I.		14,117	
10	Dihidrocarvona	1193	27,164	Momoterpeno
11	Dihidroedulan II	1284	14,758	Heterocíclico
12	N.I.		11,550	
13	N.I.		8,128	
14	N.I.		3,422	
15	2,2,4-Trimetil-1,3-pentanodiol diisobutirato	1610	183,517	Ester
16	1-Octadeceno	1790	19,036	Alqueno
17	10Z-Hexadecenil acetato	1998	21,603	Ester
18	N.I.		8,128	
19	N-Heptacosano	2700	18,822	Alcano

De la tabla anterior se puede crear una grafica (Grafica N° 8) referente a los tipos de compuestos presentes en el estado Verde.

Gráfica N° 8. Abundancia de compuestos en estado verde



4.4.2 Análisis del fruto en un estado medianamente maduro. Se trabajó con una muestra en estado medianamente maduro o pintón, la cual pesaba 2184,58 g, ésta se dividió en tres fracciones de 300 g para las extracciones del AE y tres fracciones de 50 g para la determinación de grado de madurez. En la Tabla N° 14, se hallan los valores de pH y °Brix para este estado de madurez.

Tabla N° 14. Características iniciales del fruto de Mortiño en estado Medianamente maduro

Replica	Peso (g)	Promedio (g)	pH	Promedio	°Brix	Promedio
1	50,051		2,25		9,4	
2	50,062	50,056	2,26	2,25	9,2	9.3
3	50,056		2,24		9,4	

De las muestras analizadas para determinar el grado de madurez en este estado, se observa un incremento en los valores de acidez y grados brix (incremento de la concentración de azúcar) en la fruta, los cuales le empiezan a dar sus características de consumo.

En la Gráfica N° 9, se presenta el cromatograma para el aceite esencial del fruto de mortiño en un estado Medianamente maduro. Para la identificación preliminar de los compuestos presentes en el fruto de Mortiño, se determinaron los índices de retención haciendo uso de una mezcla de parafinas (C8-C26) analizada a las mismas condiciones, los cuales luego fueron comparados con los reportados por

Adams, los valores calculados y los posibles compuestos se hallan en la Tabla N° 15.

Gráfica N° 9. Cromatograma (GC-FID) fruto Medianamente maduro

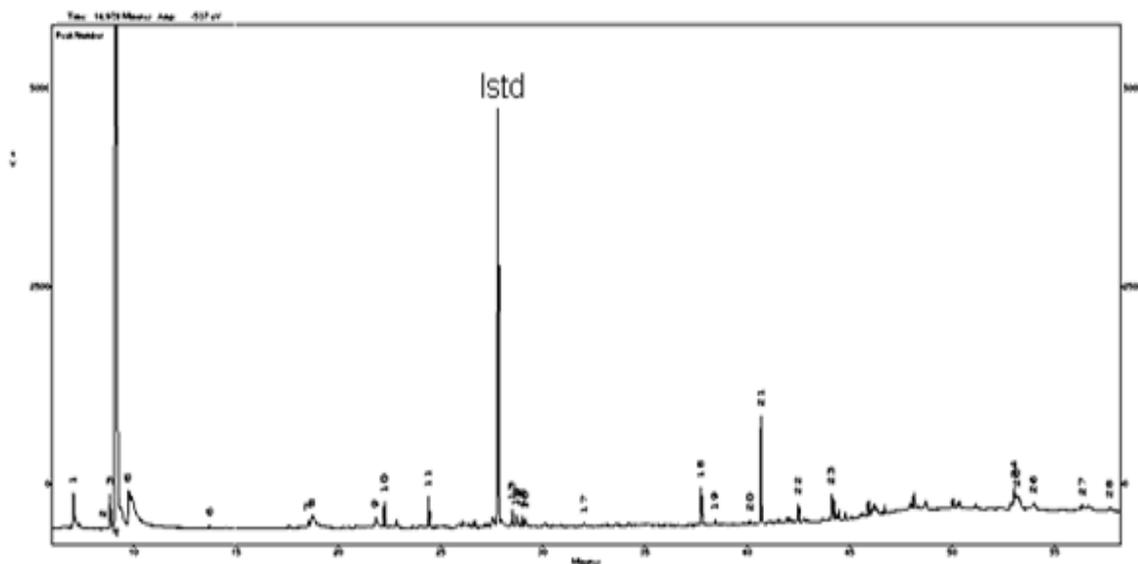


Tabla N° 15. Identificación por índices de retención de los compuestos presentes en el AE de fruto Medianamente maduro de Mortiño

Nº	T r	Ik exp	Posible Compuestos	Ik teo
1	4,095	801	3,4-Hexadiona	800
			n – Octano	800
			Hexanal	802
			4E-Octeno	802
			Etil butanoato	804
2	5.182	840	Furfural	836
			4-metil-pentanol	838
			Diacetonalcohol	840
			Isopropil butanoato	845
3	5,247	843	4-metil-pentanol	838
			Isopropil butanoato	845
			3-Butinol	843

Nº	T r	lk exp	Posible Compuestos	lk teo
4	5,418	849	Isopropil butanoato	845
			3E-Hexenol	854
			2E-Hexenal	854
5	5,567	853	2E-Hexenal	854
			3E-Hexenol	855
			Z-Selveno	856
			Etil isovalerato	858
			3Z-Hexenol	859
6	5,856	865	2Z-Hexenol	865
			E-Selveno	867
			1-Hexanol	867
7	9,110	963	Ciclohexil formato	962
			Acido Cianoacetico	963
			5-metil-Furfural	964
			n-Heptanol	967
			Verbeno	968
8	14,318	1102	n-Undecano	1100
			Perilleno	1101
			n-Nonanal	1101
			6Z-Nonenal	1101
			Isopentil valerato	1103
9	14,443	1106	6Z-Nonenal	1101
			Isopentil valerato	1103
			α -Fenchocamforona	1106
			Maltol	1108
			cis-oxido de Rosa	1108
10	17,605	1192	Metil salicilato	1192
			2-Decanona	1192
			Dihidrocarvona	1193
			4Z-Decenal	1194
			Piperitol	1196

Nº	T r	lk exp	Posible Compuestos	lk teo
11	18,286	1211	trans-Piperitol	1208
			2E,4E-Nonadienal	1212
			Octanol acetato	1214
			iso-Dihidro carveol	1215
			trans-Pulegol	1215
12	20,686	1280	Isopulegil acetato	1278
			Nopol	1280
			Neril formato	1282
			Dihidroedulan II	1284
			E-Anethole	1285
13	25,591	1430	Metil undecanoato	1427
			Dictamol	1430
			E- α -Ionona	1430
			cis-Thujopseno	1431
			β -Copaeno	1432
14	30,658	1611	Platifilol	1608
			Humuleno epoxido II	1608
			cis-dihidro-Occidentalol	1610
			2,2,4-Trimetil-1,3-pentanodiol diisobutirato	1610
			β -Biotol	1614
15	35,907	1793	β -Bisabolenol	1790
			1-Octadeceno	1790
			Drimenona	1793
			Biciclo- Vetivenol	1793
			α -Eudesmol acetato	1795
16	39,285	1928	Totareno	1923
			Metil Hexadecanoato	1927
			Carissona	1928
			Musk ambretto	1930
			Dictamina	1932

Nº	T r	Ik exp	Posible Compuestos	Ik teo
17	40,936	1997	Etil hexadecanoato	1993
			Seselin	1998
			10Z-Hexadecenil acetato	1998
			Manoil oxido	1998
			n-Eicosano	2000
18	43,229	2096	Benzil cinamato	2092
			Metil linoleato	2096
			n-Heneicosano	2100
19	47,367	2288	Incensol acetato	2184
			Sandaracopimarinal	2185
			1-Dodeceno	2190
20	47,609	2299	4-epi-Abietal	2299
			n-Tricosano	2300
			3- α -hidroxi-Manool	2301
21	51,588	2499	n-Pentacosano	2500
22	55,410	2705	n-Heptacosano	2700
			Perileno	2703

En la Tabla N° 16, se halla almacenada la identificación por CG-EM, la clasificación por tipos de compuesto de los compuestos mayoritarios del fruto de Mortiño en estado Medianamente maduro, y su respectiva concentración en el AE.

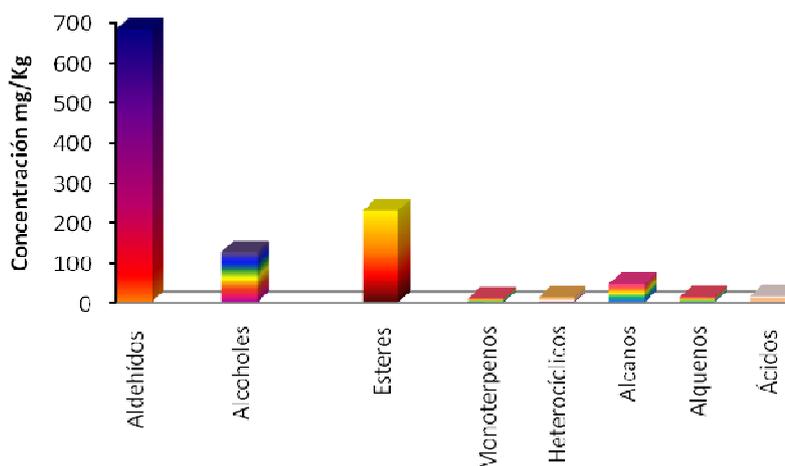
Tabla N° 16. Identificación por CG-EM y cuantificación de los compuestos mayoritarios presentes en el fruto de Mortiño en estado Medianamente maduro

Nº	Compuesto	Ik teo	Concentración (mg/Kg)	Tipo de compuesto
1	Hexanal	802	30,722	Aldehído
2	Diacetonolcohol	840	8,980	Alcohol
3	3-Butinol	843	15,007	Alcohol
4	2E-Hexenal	855	632,759	Aldehído
5	3Z-Hexenol	859	12,407	Alcohol
6	2Z-Hexenol	865	89,922	Alcohol
7	Acido Cianoacetico	963	15,361	Acido
8	6Z-Nonenal	1101	19,142	Aldehído

Nº	Compuesto	Ik teo	Concentración (mg/Kg)	Tipo de compuesto
9	N.I.		8,980	
10	Dihidrocarvona	1193	10,989	Momoterpeno
11	N.I.		6,263	
12	Dihidroedulan II	1284	12,998	Heterocíclico
13	N.I.		7,090	
14	2,2,4-Trimetil-1,3-pentanodiol diisobutirato	1610	181,852	Ester
15	1-Octadeceno	1790	13,589	Alqueno
16	Metil Hexadecanoato	1926	38,521	Ester
17	10Z-Hexadecenil acetato	1998	8,626	Ester
18	N.I.		5,317	
19	N.I.		9,689	Alcano
20	N.I.		6,853	
21	n-Pentacosano	2500	10,280	Alcano
22	n-Heptacosano	2700	36,276	Alcano

De acuerdo a la anterior tabla se puede realizar una grafica (Grafica N° 10) en la cual se presenta la calcificación de los compuestos identificados en el estado Pinton de acuerdo al tipo de compuesto.

Gráfica N° 10. Abundancia de compuestos en estado Medianamente maduro



Se nota que en el estado medianamente maduro se presentan 22 compuestos a diferencia del estado verde el cual solo presenta 19, de los compuestos presentes se logro identificar 16 compuestos en total, de los cuales Diacetonalcohol, ácido Cianoacético, Metil Hexadecanoato y pentacosano aparecen en este estado y no

en el estado verde, además de estos también aparecen compuestos no identificados (compuestos con índice de retención 1211, 1430, 2096 y 2288) y desaparecen algunos compuestos no identificados (compuestos con índice de retención 902, 1073, 1337, 1391 y 1599). De los compuestos comunes entre estos estados de maduración se destaca el 2E-Hexanal 1229,01 mg/Kg en estado verde a 632,759 mg/Kg en este estado, también se observa un comportamiento similar para el n-Heptacosano el cual aumenta su concentración de 18,822 mg/Kg en estado verde a 36,276 mg/Kg para este estado y también se observa que el 2,2,4-Trimetil-1,3-pentanodiol diisobutirato común en ambos estados permanece en similares concentraciones, 183,517 mg/Kg para verde y 181,852 mg/Kg para medianamente maduro.

4.4.3 Análisis del fruto en un estado maduro. Se trabajó con una muestra en estado maduro la cual pesó 1962,28 g. Ésta se dividió en tres fracciones de 300 g para las extracciones del AE y tres fracciones de 50 g para la determinación de grado de madurez.

En la Tabla N° 17, se hallan los valores de pH y °Brix para este estado de madurez.

Tabla N° 17. Características iniciales del fruto de Mortiño en estado maduro

Replica	Peso (g)	Promedio (g)	pH	Promedio	°Brix	Promedio
1	50,012		2,33		12,2	
2	50,033	50,036	2,34	2,33	12,4	12,3
3	50,062		2,32		12,2	

A diferencia del estado anterior (Medianamente maduro), en la fruta la cantidad de azúcar ha aumentado, produciendo un incremento en los grados brix de la misma, dándole unas características de acidez más aceptables para el consumo.

En la Gráfica N° 11, se presenta el cromatograma para el aceite esencial del fruto de mortiño en un estado maduro. Para la identificación preliminar de los compuestos presentes en el fruto en este estado se procedió de la misma manera que en los estados anteriores, los valores calculados y los posibles compuestos se hallan en la Tabla N° 18.

Gráfica N° 11. Cromatograma (GC-FID) fruto maduro

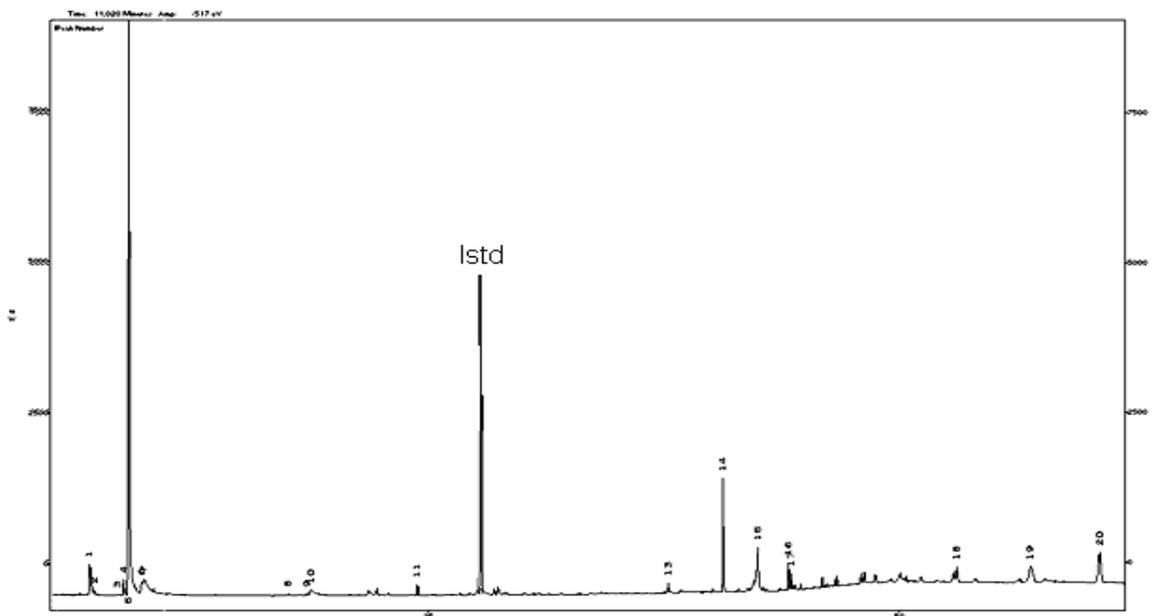


Tabla N° 18. Identificación por índices de retención de los compuestos presentes en el AE de fruto maduro de Mortiño

N°	T r	Ik exp	Posible Compuestos	Ik teo
1	4,091	801	3,4-Hexadiona	800
			n – Octano	800
			Hexanal	802
			4E-Octeno	802
			Etil butanoato	804
2	5.177	840	Furfural	836
			4-metil-pentanol	838
			Diacetonalcohol	840
			Isopropil butanoato	845
3	5,251	843	4-metil-pentanol	838
			Isopropil butanoato	845
			3-Butinol	843
4	5,419	849	Isopropil butanoato	845
			3E-Hexenol	854
			2E-Hexenal	854

Nº	T r	lk exp	Posible Compuestos	lk teo
5	5,861	865	2Z-Hexenol	865
			E-Selveno	867
			1-Hexanol	867
6	5,933	867	E-Salveno	867
			1-Hexanol	867
			Metil Tiglato	871
7	13,225	1073	n-Octanol	1068
			Hidrato de cis-Sabineno	1070
			Oxido de Linalool A	1073
			endo-5-2-metanol Norborneno	1073
			Benxil formato	1076
8	14,315	1102	n-Undecano	1100
			Perilleno	1101
			n-Nonanal	1101
			6Z-Nonenal	1101
			Isopentil valerato	1103
9	14,422	1105	6Z-Nonenal	1101
			Isopentil valerato	1103
			α -Fenchocamforono	1106
			Maltol	1108
			Cis-oxido de Rosa	1108
10	20,688	1280	Isopulegol acetato	1278
			Nopol	1280
			Nerol formato	1282
			Dihidroedulan II	1284
			E-Anetol	1285
11	30,630	1610	Platifilol	1608
			epoxido Humuleno II	1608
			cis-dihidro-Occidentalol	1610
			2,2,4-Trimetil-1,3-pentanodiol diisobutirato	1610
			β -Biotol	1614

Nº	T r	Ik exp	Posible Compuestos	Ik teo
12	39,269	1927	Totareno	1923
			Metil Hexadecanoato	1927
			Carissona	1928
			Musk ambrette	1930
			Dictamina	1932
13	40,907	1996	Etil hexadecanoato	1993
			10Z-Hexadecenil acetato	1998
			Manoil oxydo	1998
			n-Eicosano	2000
14	43,218	2096	Benzil cinnamato	2092
			Metil linoleato	2096
			n-Heneicosano	2100

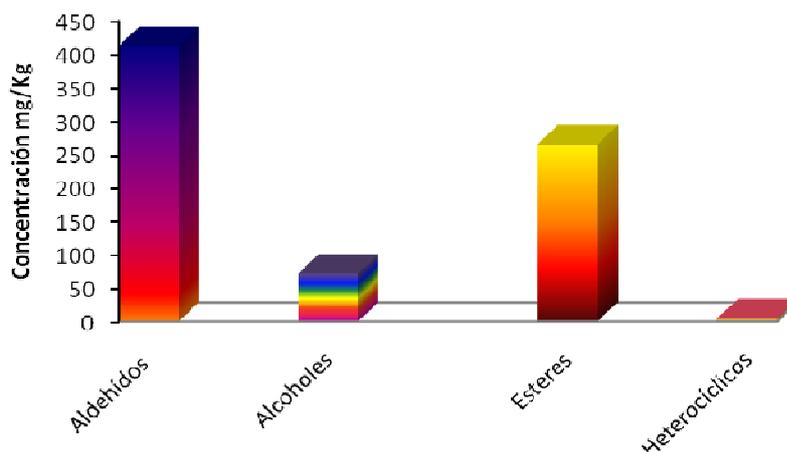
En la Tabla N° 19, se halla almacenada la identificación por CG-EM, la clasificación por tipo de compuesto de los compuestos mayoritarios del fruto de Mortiño en estado Maduro, y su respectiva concentración en el AE.

Tabla N° 19. Identificación por CG-EM y cuantificación de los compuestos mayoritarios presentes en el fruto de Mortiño en estado maduro

Nº	Compuesto	Ik teo	Concentración (mg/Kg)	Tipo de compuesto
1	N.I.		25,808	
2	Hexanal	802	32,701	Aldehído
3	Diacetonolcohol	840	7,133	Alcohol
4	3-Butinol	843	10,019	Alcohol
5	2E-Hexenal	855	374,459	Aldehído
6	2Z-Hexenol	865	33,743	Alcohol
7	1-Hexanol	867	21,320	Alcohol
8	N.I.		4,088	
9	6Z-Nonenal	1101	5,530	Aldehído
10	N.I.		7,374	
11	Dihidroedulan II	1284	5,049	Heterocíclico
12	2,2,4-Trimetil-1,3-pentanodiol diisobutirato	1610	202,137	Ester
13	Metil Hexadecanoato	1927	50,895	Ester
14	10Z-Hexadecenil acetato	1998	12,503	Ester
15	N.I.		6,332	

De acuerdo a la anterior tabla se puede realizar una grafica (Grafica N° 12) en la cual se presenta la calcificación de los compuestos identificados en el estado maduro de acuerdo al tipo de compuesto.

Gráfica N° 12 Abundancia de compuestos en estado maduro



Se observa que en este estado maduro solo se extraen 15 compuestos a diferencia del estado medianamente maduro, el cual posee 22 compuestos, de estos 15 compuestos se logro identificar 11 compuestos de los cuales aparece el 1-Hexanol por primera vez, además reaparecen un compuesto de índice de retención 1073 el cual no fue detectado en el fruto en estado medianamente maduro. Entre los compuestos que desaparecen tenemos a 3Z- Hexenol, dihidrocarvona, 1-octadeceno, n-pentacosano y n-heptacosano entre otros no identificados (compuestos con índices de retención 963, 1211, 1430, 2288 y 2299). Y se mantienen el 2E-hexenal (374,459 mg/Kg) y el 2,2,4-Trimetil-1,3-pentanodiol diisobutirato (202,137 mg/Kg) como mayoritarios entre los otros compuestos que se conservan se observa para el Hexenal, el cual se halla a una similar concentración que en le estado medianamente maduro (30,722 mg/Kg y 32,701 mg/Kg respectivamente); también se conserva que el 6Z-nonenal cambia de 19,142 mg/Kg para estado medianamente maduro a 5,53 mg/Kg para este estado.

4.4.4 Análisis del fruto en un estado sobre maduro. Se trabajó con una muestra en estado sobre maduro la cual pesó 1723,37 g. Como en los casos anteriores se dividió en tres fracciones de 300 g para las extracciones del AE y tres fracciones de 50 g para la determinación de grado de madurez. En la Tabla N° 20, se hallan los valores de pH y °Brix para este estado de madurez.

Tabla N° 20. Características iniciales del fruto de Mortiño en estado sobre maduro

Replica	Peso (g)	Promedio (g)	pH	Promedio	Brix	Promedio
1	50,026		2,48		11,6	
2	50,017	50,021	2,47	2,47	11,4	11.47
3	50,019		2,47		11,4	

Se observa una disminución en la cantidad de azúcar en la fruta expresada como la variación de los sólidos suspendidos, producto del proceso de fermentación se los azúcares que empieza a notarse en la fruta.

En la Gráfica N° 13, se presenta el cromatograma para el aceite esencial del fruto de mortiño en un estado sobre maduro. Para la identificación preliminar de los compuestos presentes en este estado se prosedio de manera similar a la de los estados anteriores, los valores calculados y los posibles compuestos se hallan en la Tabla N° 21.

Gráfica N° 13. Cromatograma (GC-FID) del fruto en estado sobre maduro

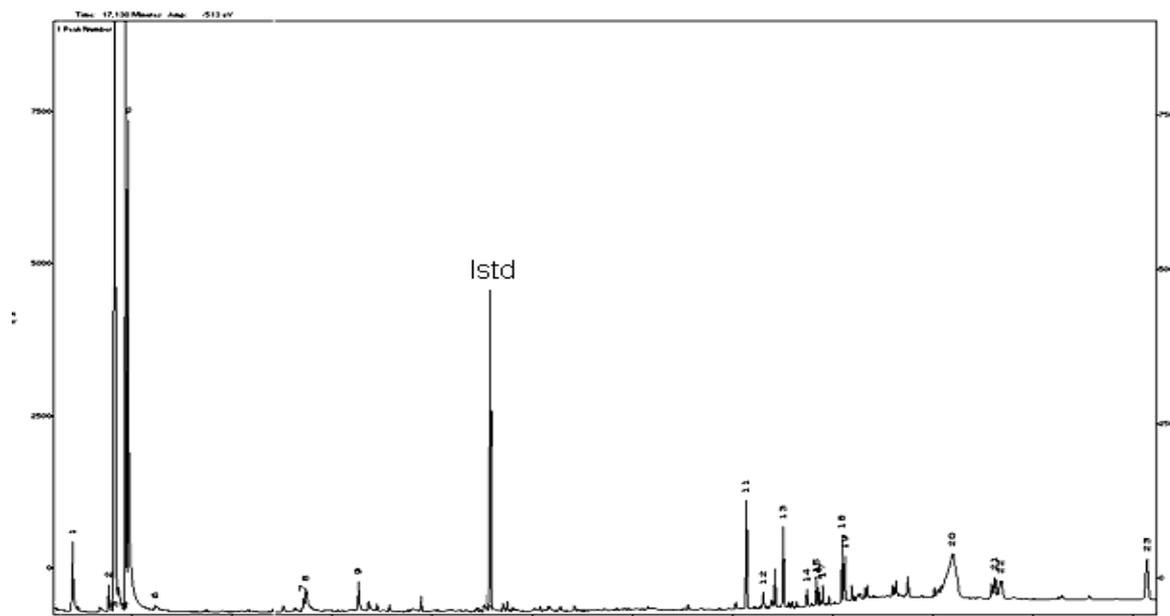


Tabla N° 21. Identificación por índices de retención de los compuestos presentes en el AE de fruto sobre maduro de Mortiño

N°	T r	Ik exp	Posible Compuestos	Ik teo
1	5.154	839	Furfural	836
			4-metil-pentanol	838
			Diacetonolcohol	840
			Isopropil butanoato	845
2	5,423	849	Isopropil butanoato	845
			3E-Hexenol	854
			2E-Hexenal	854
3	5,850	864	2Z-Hexenol	865
			E-Selveno	867
			1-Hexanol	867
4	6,918	902	2-metoxi-Pyrazina	897
			Propil butanoato	899
			n-Nonano	900
			Etil pentanoato	901
			Heptanal	902
5	14,324	1102	n-Undecano	1100
			Perilleno	1101
			n-Nonanal	1101
			6Z-Nonenal	1101
			Isopentil valerato	1103
6	14,440	1105	6Z-Nonenal	1101
			Isopentil valerato	1103
			α -Fenchocamforona	1106
			Maltol	1108
			Cis-oxido de Rosa	1108
7	30,609	1609	Platifilol	1608
			epoxido Humuleno II	1608
			cis-dihidro-Occidentalol	1610
			2,2,4-Trimetil-1,3-pentanodiol diisobutirato	1610

Nº	T r	lk exp	Posible Compuestos	lk teo
8	39,273	1928	Totareno	1923
			Metil Hexadecanoato	1927
			Carissone	1928
			Musk ambrette	1930
			Dictamina	1932
9	40,910	1996	Etil hexadecanoato	1993
			Seselin	1998
			10Z-Hexadecenil acetato	1998
			Manoil oxido	1998
			n-Eicosano	2000
10	44,714	2164	Incensole	2159
11	44,873	2171	Grandifloreno	2175
12	48,239	2302	4-epi-Abietal	2299
			n-Tricosano	2300
			3- α -hidroxi-Manool	2301
13	51,580	2499	n-Pentacosano	2500
14	55,396	2704	n-Heptacosano	2700
			Perileno	2703
15	57,642	2885		

En la Tabla N° 22, se halla almacenada la identificación por CG-EM y la clasificación de los compuestos mayoritarios del fruto de Mortiño en estado sobre maduro y su respectiva concentración en el AE.

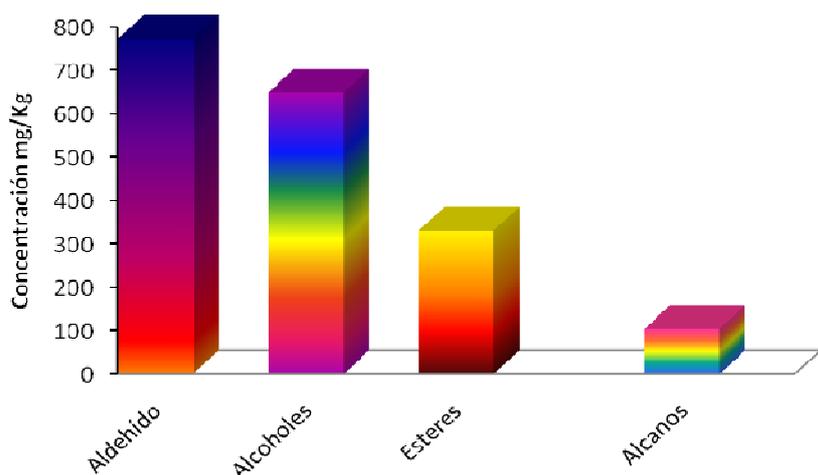
Tabla N° 22. Identificación por CG-EM y cuantificación de los compuestos mayoritarios presentes en el fruto de Mortiño en estado sobre maduro

Nº	Compuesto	lk teo	Concentración (mg/Kg)	Tipo de compuesto
1	N.I.		71,339	
2	Diacetonolcohol	840	27,924	Alcohol
3	2E-Hexenal	855	742,940	Aldehído

Nº	Compuesto	lk teo	Concentración (mg/Kg)	Tipo de compuesto
4	2Z-Hexenol	865	620,849	Alcohol
5	N.I.		18,752	
6	6Z-Nonenal	1101	29,758	Aldehído
7	N.I.		15,898	
8	2,2,4-Trimetil-1,3-pentanodiol diisobutirato	1610	234,194	Ester
9	Metil Hexadecanoato	1926	46,676	Ester
10	10Z-Hexadecenil acetato	1998	50,141	Ester
11	N.I.		19,975	
12	N.I.		14,268	
13	N.I.		11,822	
14	N-Pentacosano	2500	46,880	Alcano
15	N-Heptacosano	2700	57,478	Alcano
16	N.I.		29,555	

De acuerdo a la anterior tabla se puede realizar una grafica (Grafica N° 14) en la cual se presenta la calcificación de los compuestos identificados en el estado maduro de acuerdo al tipo de compuesto.

Gráfica N° 14. Abundancia de compuestos en estado sobre maduro



Se observa que en este estado maduro se logro extraer 16 compuestos uno mas que el estado en le estado maduro, de los compuestos estraieidos se identifico 9, además aparecen tres compuestos (compuestos con índices de retención de 2164, 2171 y 2302), se observa que desaparecen Hexanal, 3-Butinol, 1-Hexenol y

Dihidroeuclan II; además de otros compuestos no identificados con índice de retención 1073 y 2096. Reaparecen los siguientes compuestos: n-Pentacosano y n-Heptacosano y un compuesto no identificado con índice de retención 902. Se mantiene presente el 2E-Hexenal el cual ha aumentado su concentración de 374,459 mg/Kg en estado maduro a 742,940 mg/Kg en este estado, este comportamiento también se observa en el 2Z-Hexenol el cual ha incrementado su concentración de 33,743 mg/Kg en estado maduro a 620,849 mg/Kg en este estado.

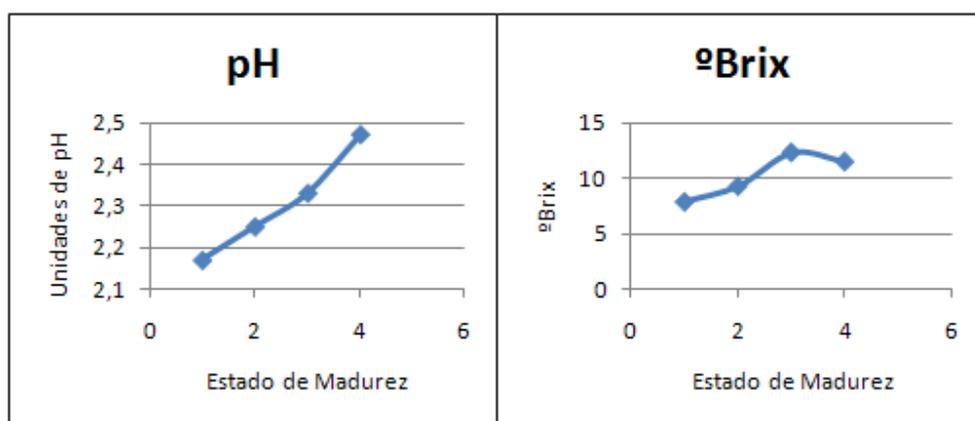
4.5 VARIACIÓN DEL CONTENIDO DE AZÚCAR Y EL VALOR DE pH EN EL FRUTO DEL MORTIÑO

Durante el proceso de maduración del fruto de Mortiño se observa una variación en el contenido de azúcares, la cual se determina mediante la medición de los °Brix y una variación en el pH de éstos. En la siguiente tabla (Tabla N° 23), se muestra dicho cambio; con los mencionados valores se realizó una gráfica (Gráfica N° 15) en donde se aprecia la diferenciación de estas variables en el proceso de maduración.

Tabla N° 23. Cambios de pH y °Brix en el fruto de Mortiño

	Estado	pH	°Brix
1	Verde	2,17	7,9
2	Medianamente maduro	2,25	9.3
3	Maduro	2,33	12,3
4	Sobre Maduro	2,47	11,47

Gráfica N° 15. Comparación gráfica del estado de madurez frente a °Brix y valores de pH

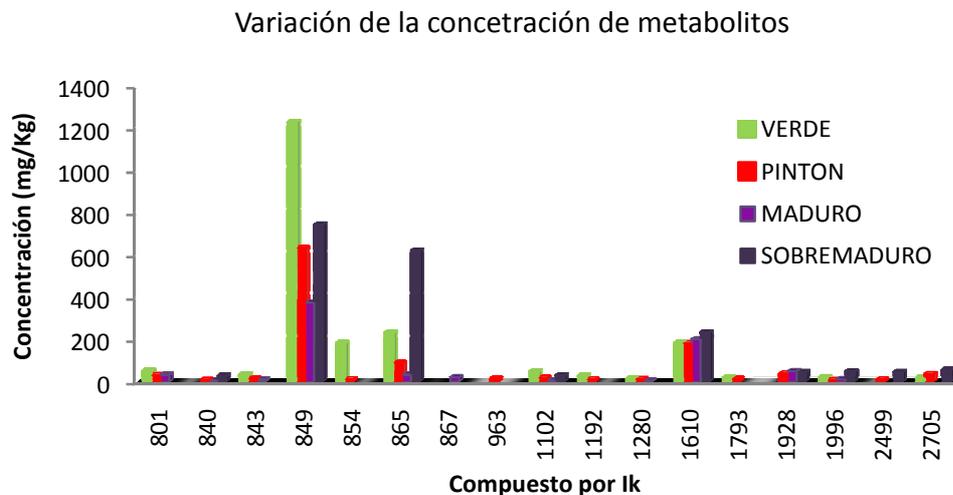


Estudios realizados en *Vaccinium meridionale*⁴⁵, muestra que éste tipo de frutos tiende a variar el contenido de ° Brix, debido a que en el proceso de maduración se hidroliza el almidón en azúcares, de allí se nota el incremento de ° Brix, además hay una variación en el pH de éstos, el cual se observa en los distintos estados analizados. La disminución de los ° Brix en el fruto sobremaduro es debido a que éste se encuentra en un estado de fermentación, en el cual se empiezan a degradar los azúcares.

4.6 VARIACIÓN DE LA COMPOSICIÓN DEL ACEITE ESENCIAL EN EL FRUTO DEL MORTIÑO

Al realizar un análisis más detallado de la composición del aceite en cada uno de los grados de madurez se puede notar ciertas diferencias y similitudes, en la siguiente Gráfica (Gráfica N° 16), se presenta la variación de la concentración de los distintos metabolitos identificados por índice de Kovats en los distintos aceites esenciales analizados.

Gráfica N° 16. Variación de la concentración de metabolitos según el grado de madurez de la fruta.



En la anterior gráfica, se observa la diferencia que existe en la composición de cada uno de los cuatro aceites analizados, notándose que comparten compuestos comunes entre ellos que dan su aroma característico y pequeñas diferencias que le atribuyen ciertas peculiaridades a la fruta en un determinado estado de madurez.

⁴⁵ ÁVILA, Hernán Guillermo R., Et al., Caracterización Físicoquímica y Organoléptica del Fruto de Agraz (*Vaccinium meridionale Swartz*) almacenado a 2°C. p.4189

4.7 COMPUESTOS COMUNES EN LOS ACEITES ESENCIALES

Existe una pequeña cantidad de compuestos, que se encuentra presentes en los distintos estados de madurez, por lo cual se puede mencionar que cinco de éstos son propios del aroma del mortiño, siendo los siguientes:

- 2(E)- Hexanal
- 2(Z)- Hexenol
- 6(Z)- Nonanal
- 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutirato
- 10(Z)- Hexadecenil acetato

Se nota que entre el fruto en estado verde y el fruto Medianamente maduro tienen 4 compuestos en común, de los cuales 3 han sido identificados y estos son:

- 3(Z)- Hexenol
- Dihidrocarvona
- 1- Octadecene

Entre los estados verde y maduro existe un compuesto que es común entre estos, con índice de retención 1073, el cual no se logró identificar por masas. Entre el estado verde y sobre maduro existe un compuesto propio de estos estados, con índice de retención 902, el cual no se identificó por masas. Entre el estado medianamente maduro y el maduro existe un compuesto común, con índice de retención 2096, el cual no se identificó por masas. Entre el estado medianamente maduro el n-pentacosano es propio de estos estados. Y entre el estado maduro y sobre maduro no hay un compuesto que sea propio de estos estados.

En la Gráfica N° 17 se muestran los compuestos que se encuentran en común en todos los estados de madurez y entre los distintos estados de madurez.

Gráfica N° 17. Compuestos comunes



4.8 COMPUESTOS PROPIOS DE CADA ESTADO DE MADUREZ

En los distintos estados de madurez del fruto de mortiño, existe una cantidad pequeña de compuestos propios de cada estado de madurez, los cuales le dan un característica particular al aroma del fruto en ese determinado estado.

En el estado verde se tienen 3 compuestos propios de este estado con índices de retención de 1337, 1391 y 1599; el estado Medianamente maduro posee 4 compuestos, entre los cuales se logró identificar al ácido cianoacetico y otros con índices de retención de 1211, 1430 y 2288; en el estado maduro el 1- Hexanol y en el estado sobre maduro se encontraron 4 compuestos propios de este estado con índices de retención de 2164, 2171, 2302 y 2855.

4.9 PROPIEDADES DE LOS COMPUESTOS IDENTIFICADOS

4.9.1 Hexanal. Aldehído de formula $C_6H_{12}O$, numero cas (# CAS) 66-25-1 con peso molecular de 100.16 g/mol. Según Duke, menciona ciertas propiedades entre las cuales se tiene antibacterial, antisalmonella, antiséptico, aromático y pesticida⁴⁶. En el Anexo C se encuentra la comparación de el espectro de masas experimental de este compuesto con un espectro de una espectroteca, en el Anexo D se encuentra la ruta de fragmentación para este compuesto.

4.9.2 Diacetona alcohol. Cetona hidroxilada de formula $C_6H_{12}O_2$, # CAS 123-42-2 con peso molecular de 116.16 g/mol. Según Rhodia, se utiliza en la industria de tintas y barnices, thinners y retardadores de evaporación, defensivos agrícolas; productos para conservación de la madera; barnices aisladores eléctricos; productos para cuero y síntesis orgánicas⁴⁷. Según El-Sayed AM, posee ciertas propiedades alelopáticas entre las cuales se tiene la función de kairomona de *Lutzomyia longipalpis*, feromona de *Halobates hawaiiensis* y *Tapinoma simrothi pheonicium*; además cumple la función de atrayente de *Diglyphus isaea*⁴⁸. En el Anexo C se encuentra la comparación de el espectro de masas experimental de este compuesto con un espectro de una espectroteca, en el Anexo E se encuentra la ruta de fragmentación para este compuesto.

⁴⁶ DUKE, James A. Op. Cit. <http://www.ars-grin.gov/duke/>

⁴⁷ RHODIA (2007), Diacetona alcohol. <http://www.rhodia-pi.com.br/conteudo/produtos/PDF/esp/DIACETONA%20ALCOHOL>

⁴⁸ AM, El-Sayed. The Pherobase: Database of Insect Pheromones and Semiochemicals. <http://www.pherobase.com>

4.9.3 3-Butinol. Alcohol insaturado de fórmula C_4H_6O , # CAS 927-74-2 y peso molecular de 70.09 g/mol. En el Anexo C se encuentra la comparación de el espectro de masas experimental de este compuesto con un espectro de una espectroteca, en el Anexo F se encuentra la ruta de fragmentación para este compuesto.

4.9.4 2E-Hexenal. Aldehído insaturado de formula $C_6H_{10}O$, # CAS 6728-26-3 con peso molecular de 98.14 g/mol. Según El-Sayed AM, posee ciertas propiedades alelopáticas, entre las cuales se destaca las funciones de alomona de *Blatta orientalis*, *Phyllodrepa floralis*, *Dysdercus fasciatus*, entre otras; funciones atrayentes de *Pudisus maculivintris*, *Phorodom humuli*, *Coccinella septempunctata* entre otras; funciones de feromona de *Acanthocoris sordidus*, *Scaptocoris divergens*, *Lincus spurcus*, entre otras; y funciones de kairomona de *Leptinotarsa decemlineata*, *Loxostege sticticalis*, *Eurydema ventrale*, entre otras⁴⁹. En el Anexo C se encuentra la comparación de el espectro de masas experimental de este compuesto con un espectro de una espectroteca, en el Anexo G se encuentra la ruta de fragmentación para este compuesto.

4.9.5 3Z-Hexenol. Alcohol insaturado de fórmula $C_6H_{12}O$, # CAS 998-26-1 con peso molecular de 100.16 g/mol. Según El-Sayed AM, posee ciertas funciones alelopáticas entre las cuales se destacan la de atrayente de *Pantomorus cervinus*, *Coccinella septempunctata*, *Stomoxys calcitrans*, entre otras; funciones de feromona de *Spodoptera frugiperda*, *Sitona lineatus*, *Pristhesancus plagipennis*, funciones de kairomona de *Perillus bioculatus*, *Encarsia formosa*, *Loxostege sticticalis*, entre otros⁵⁰. En el Anexo C se encuentra la comparación de el espectro de masas experimental de este compuesto con un espectro de una espectroteca, en el Anexo H se encuentra la ruta de fragmentación para este compuesto.

4.9.6 2Z-Hexenol. Alcohol insaturado de fórmula $C_6H_{12}O$, # CAS 998-94-9 con peso molecular de 100.16 g/mol. Según El-Sayed AM, posee ciertas funciones alelopáticas entre las cuales se destacan la de atrayente de *Epilachna fulvosignata*, *Tomicus piniperda*, *Plioreocepta poeciloptera* y la función de alomona de *Eurycotis floridana*⁵¹. En el Anexo C se encuentra la comparación de el espectro de masas experimental de este compuesto con un espectro de una espectroteca, en el Anexo I se encuentra la ruta de fragmentación para este compuesto.

⁴⁹ AM, El-Sayed. Op. Cit. <http://www.pherobase.com>

⁵⁰ Ibid. <http://www.pherobase.com>

⁵¹ Ibid. <http://www.pherobase.com>

4.9.7 1-Hexanol. Alcohol saturado de fórmula $C_6H_{14}O$, # CAS 111-27-3 con peso molecular de 102.18. Según El-Sayed AM, posee ciertas funciones alelopáticas entre las cuales se destacan la de atrayente de *Phrynus parzvlus*, *Semanotus bifasciatus*, *Tomicus piniperda*, entre otras; funciones de feromona de *Alydus eurinus*, *Platypus cylindrus*, *Lygus hesperus*; la función de alomona de *Amorbus alternatus*, *Mictis profana*, *Dysdercus supersticiosus*, entre otras y la función de kairomona de *Pieris sp*, *Euschistus tristigmus*, *Melolontha melolontha* entre otras⁵². En el Anexo C se encuentra la comparación de el espectro de masas experimental de este compuesto con un espectro de una espectroteca, en el Anexo J se encuentra la ruta de fragmentación para este compuesto.

4.9.8 Acido cianoacético. Acido carboxílico sustituido por un grupo ciano de fórmula molecular $C_2H_2NO_2$, # Cas 372-09- 8 con peso molecular de 85.06 g/mol. En el Anexo C se encuentra la comparación de el espectro de masas experimental de este compuesto con un espectro de una espectroteca, en el Anexo K se encuentra la ruta de fragmentación para este compuesto.

4.9.9 6Z-Nonenal. Aldehído insaturado de fórmula $C_9H_{16}O$, # CAS 2277-19-2 con peso molecular de 140.22 g/mol. En el Anexo C se encuentra la comparación de el espectro de masas experimental de este compuesto con un espectro de una espectroteca, en el Anexo L se encuentra la ruta de fragmentación para este compuesto.

4.9.10 Dihidrocarvona. Monoterpeno cíclico insaturado y oxigenado tipo cetona, de fórmula molecular $C_{10}H_{16}O$, # CAS 5524-05-0, con peso molecular de 152.23 g/mol. Según El-Sayed AM, posee ciertas funciones alelopáticas entre las cuales se destacan la de alomona de *Protophormia terraenovae* y de kairomona de *Leptinotarsa decemlineata*. En el Anexo C se encuentra la comparación de el espectro de masas experimental de este compuesto con un espectro de una espectroteca, en el Anexo M se encuentra la ruta de fragmentación para este compuesto.

4.9.11 Dihydroeudelan II. Compuesto heterocíclico de fórmula molecular $C_{13}H_{22}O$, # CAS 74006-62-5, con peso molecular de 194.31 g/mol. En el Anexo C se encuentra la comparación de el espectro de masas experimental de este compuesto con un espectro de una espectroteca, en el Anexo N se encuentra la ruta de fragmentación para este compuesto.

4.9.12 2,2,4-Trimetil-1,3-pentanediol diisobutirato. Ester alifático ramificado, de fórmula molecular $C_{16}H_{30}O_4$, # CAS 6846-50-0, con peso molecular de 248.41 g/mol. En el Anexo C se encuentra la comparación de el espectro de masas

⁵² AM, El-Sayed. Op. Cit. <http://www.pherobase.com>

experimental de este compuesto con un espectro de una espectroteca, en el Anexo Ñ se encuentra la ruta de fragmentación para este compuesto.

4.9.13 1-Octadeceno. Compuesto alifático insaturado de fórmula $C_{18}H_{36}$, # CAS 112-88-9, con peso molecular de 252.48 g/mol. Según Duke posee la propiedad de ser herbicida⁵³. Según El-Sayed AM, posee las funciones alelopáticas entre las cuales se tiene la de alomona de *Polyrhachis sp* y la función de feromona de *Ectatomma sp*, *Myrmica sabuleti* y *Diacamma indicum* entre otras⁵⁴. En el Anexo C se encuentra la comparación de el espectro de masas experimental de este compuesto con un espectro de una espectroteca, en el Anexo O se encuentra la ruta de fragmentación para este compuesto.

4.9.14 Metil Hexadecanoato. Metil ester alifático, de fórmula molecular $C_{17}H_{34}O_2$, # CAS 112-39-0, con peso molecular de 270.45 g/mol. Según El-Sayed AM, posee las funciones alelopáticas entre las cuales se tiene la de alomona de *Blepharida rhois*, y *Polistes fuscatus* entre otras; la función de feromona de *Tortonia sp*, y *Bombus terrestris* entre otras; la función de atrayente de *Tyrophagus jacobsoni*, *Bembidion versicolor* y *Bembidion obtusidens* y de kairomona de *Varroa jacobsoni*⁵⁵. En el Anexo C se encuentra la comparación de el espectro de masas experimental de este compuesto con un espectro de una espectroteca, en el Anexo P se encuentra la ruta de fragmentación para este compuesto.

4.9.15 10Z-Hexadecenil acetato. Éster alifático insaturado, de fórmula molecular $C_{18}H_{34}O_2$, # CAS 56218-71-4, con peso molecular de 282.47 g/mol. El-Sayed AM, posee las funciones alelopáticas entre las cuales se tiene la de feromona de *Mamestra configurata*, *Pseudexentera spoliata* y *Eurhodope advenella* entre otras⁵⁶. En el Anexo C se encuentra la comparación de el espectro de masas experimental de este compuesto con un espectro de una espectroteca, en el Anexo Q se encuentra la ruta de fragmentación para este compuesto.

4.9.16 n- Pentacosano. Alcano lineal de fórmula molecular $C_{25}H_{52}$, # CAS 629-99-2, con peso molecular de 362.68 g/mol. Según El-Sayed AM, posee las funciones alelopáticas entre las cuales se tiene la de alomona de *Coptotermes lacteus*, *Polyrhachis sp* y *Macrotermes subhyalinus*; la función de feromona de *Laupala pruna*, *Tirumala formosa* y *Platythyrea cribinodis* entre otras; la función de atrayente de *Trichogramma brassicae*, *Dashyelea sp* y *Aphodiplois triangularis*

⁵³ DUKE, James A. Op. Cit. <http://www.ars-grin.gov/duke/>

⁵⁴ AM, El-Sayed. Op. Cit. <http://www.pherobase.com>

⁵⁵ Ibid. <http://www.pherobase.com>

⁵⁶ Ibid. <http://www.pherobase.com>

entre otras y de kairomona de *Trichogramma evanescens*⁵⁷. En el Anexo C se encuentra la comparación de el espectro de masas experimental de este compuesto con un espectro de una espectroteca, en el Anexo R se encuentra la ruta de fragmentación para este compuesto.

4.9.17 n-Heptacosano. Alcano lineal de fórmula molecular C₂₇H₅₆, # CAS 593-49-7, con peso molecular de 380.73 g/mol. Según El-Sayed AM, posee las funciones alelopáticas entre las cuales se tiene la de alomona de *Polyrhachis sp* y *Coptotermes lacteus*; la función de feromona de *Smicridea annulicornis*, *Muscidifurax raptorellus* y *Melissodes desponsa* entre otras⁵⁸. En el Anexo C se encuentra la comparación de el espectro de masas experimental de este compuesto con un espectro de una espectroteca, en el Anexo S se encuentra la ruta de fragmentación para este compuesto.

⁵⁷ AM, El-Sayed. Op. Cit. <http://www.pherobase.com>

⁵⁸ Ibid. <http://www.pherobase.com>

5. CONCLUSIONES.

Las mejores condiciones de extracción del aceite esencial del fruto de mortiño, por la técnica de hidrodestilación asistida por radiación con microondas fueron a una potencia del 80 % y un tiempo de 90 minutos; haciendo uso de un horno microondas marca LG modelo MH-745HD, con estas condiciones se logró extraer el mayor número de compuestos y la mayor cantidad de los mismos, debido a que en el análisis de superficie de respuesta estas condiciones dan el punto más elevado de la curva.

Los distintos grados de madurez evaluados presentaron unas determinadas condiciones de pH y °Brix, con lo cual se confirma que a diferente color de los frutos de Mortiño en los distintos estados existe una variación de estas propiedades.

Al analizar los aceites obtenidos de los distintos estados de madurez, se estrajo en total 32 compuestos, de los cuales se identificaron por CG-EM 17. Se observó que entre éstos hay una similitud debido a la presencia de compuestos mayoritarios comunes, como lo son el 2E- Hexanal, 2Z- Hexenol, 6Z- Nonanal, 2,2,4-Trimetil-1,3-pentanodiol diisobutirato y el 10Z- Hexadecenil acetato, los cuales son característicos de los aceites esenciales del fruto de Mortiño.

En los distintos estados de madurez del fruto de mortiño hay compuestos característicos, los cuales le dan cierta peculiaridad al aroma de cada etapa en particular;

En los distintos estados de madurez, las familias comunes de compuestos orgánicos identificados son aldehídos en su mayoría, seguida de alcoholes y ésteres; siendo el 2E-Hexenal el más abundante.

6. RECOMENDACIONES

Realizar estudios enfocados hacia la identificación de otros compuestos presentes en el fruto del mortiño empleando otras técnicas tales como la extracción líquido - líquido, la destilación extracción simultánea o la extracción en fase solida, a condiciones adecuadas para la muestra, con el fin de identificar compuestos responsables del aroma o precursores de aroma (compuestos glicosídicos).

Realizar estudios en otras partes de la planta como son hojas y tallos, con el propósito de identificar compuestos con importancia biológica debido a que se hallan pocos estudios de este tipo de plantas como lo son las *Vaccinium*.

Continuar el estudio del aroma y de los aceites esenciales de otras especies, que están en peligro de extinción en nuestros bosques, como es el caso del Chaquilulo (*Cavendishia sp*), con el fin de encontrar compuestos con importancia biológica.

BIBLIOGRAFÍA

A, Pablo. Cromatografía gaseosa. (2005). (En línea) (Consultada el 28 julio del año 2008) disponible en la dirección electrónica www.bilbo.edu.uy/~planta/pdf/GC.doc.

ADAMS, Robert. IDENTIFICATION OF ESSENTIAL OIL COMPONENTS BY GAS CHROMATOGRAPHY/ MASS SPECTROSCOPY. Illinois: Allured Publishing Corporation, 2004. p. 456

Administración de Parques Nacionales. Sistema de Información de Biodiversidad. Proyecto de Conservación de la Biodiversidad - Donación GEF-BIRF TF 028372 AR.. *Vaccinium floribundum* Kunt; Ericaceae. (2009). (En línea) (Consultada el 12 febrero del año 2009) disponible en la dirección electrónica http://www.sib.gov.ar/ficha/PLANTAE*vaccinium*floribundum

AM, El-Sayed (2008) The Pherobase: Database of Insect Pheromones and Semiochemicals. (En línea) (consultada el 4 de abril del año 2009) disponible en la dirección electrónica: <http://www.pherobase.com>

ARJONA, Beatriz. EL MORTIÑO O AGRÁS (*VACCINIUM MERIDIONALE*, ERICACEA) COMO PLANTA PROMISORIA EN LA REGIÓN DEL PARQUE ARVÍ. Medellín: Universidad Nacional, sede Antioquia. 2001,p.15

ÁVILA, Hernán Guillermo R., Et al., Caracterización Fisicoquímica y Organoléptica del Fruto de Agraz (*Vaccinium meridionale Swartz*) almacenado a 2°C. Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín. 2007. Vol.60,No.2. p. 4179-4193

B. Dáger, Et al., Determinación del Estado de Madurez Óptimo para Cosecha y Caracterización post-cosecha de Canistel (*pouteria campechiana* (kunth) baehni). Tierra Tropical, 2007 Vol. 3 No. 1. p. 109-116

B. Sandra, Et al., Supercritical carbon dioxide extraction of carrot fruit essential oil: Chemical composition and antimicrobial activity. (2006). (En línea) (Consultada el 17 febrero del año 2007) disponible en la dirección electrónica www.elsevier.com/locate/foodchem.

Biblioteca Luis Ángel Arango del Banco de la República (2009). Taller de tintes naturales para lana. Artesanías de Colombia. . (En línea) (consultada el 4 de abril del año 2009) disponible en la dirección electrónica: <http://www.lablaa.org/blaavirtual/todaslasartes/tatinnapala/pag74-77.htm>

CHANGE, Raymond. COLLAGE, W., MICROWADE. Ed. Mc Graw Hill. Mexico 2004. p. 238 – 240

CHI-HUA, Vivian Wu*, Et al., Antibacterial effects of American cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) concentrate on foodborne pathogens. LWT - Food Science and Technology. 2008. Vol. XX . p. 1-8

CORTEZ. Rubén. Cromatografía de gases. (2004). (En línea) (Consultada el 16 julio del año 2008) disponible en la dirección electrónica <http://www.relap.mx/RLQ/tutoriales/cromatografia/gas.htm>

De la RUA, Adelaida, EL PODER CURATIVO DE LAS FRUTAS. Intermedio Editores. Corantioquia. 1999. p. 135

DOMÍNGUEZ, X. MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN FITOQUÍMICA. Ed. LIMUSA. 1991. p. 229

DUKE, James A. Phytochemical and Ethnobotanical Databases. (2009) (En línea) (Consultada el 16 julio del año 2009) disponible en la dirección electrónica <http://www.ars-grin.gov/duke/>

ETTRE, L. S. The Kovats Retention Index System Report. J. anal. Chem. 1964 Vol.36 No. 8 p. 31A – 41A

FARMER, E., y RYAN, C. Airbone methyl jasmonate induces synthesis of proteinase inhibitors in plant leaves. En: Proc. Nat. Acad Sci, 1990 Vol. 87 p. 7713 –7716

FIGUEROA, M., SEPULVEDA G. y ROCHA M. La Regulación de la Síntesis de Metabolitos Secundarios en la Respuesta de Defensa de Las Plantas. UNAM, 2006. (En línea) (Consultada el 13 de noviembre del año 2008) disponible en la dirección electrónica [htt://www.rocha@ibt.unam.mx](http://www.rocha@ibt.unam.mx).

GOMEZ, Diana. MORAN, Nancely. Extracción e Identificación de los metabolitos secundarios presentes e los frutos maduros de *Carica Candamarcensis Hoorker filius*. Universidad de Nariño. San Juan de Pasto, 2005. p 125.

GROS, E., POMILLO, A., SELDES, A. y BURTON G. INTRODUCCIÓN AL ESTUDIO DE LOS PRODUCTOS NATURALES. Washington: Programa regional de desarrollo científico y tecnológico, Washington D.C. 1985 p. 1 - 5.

HUBER. L. BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO Y BUENAS PRÁCTICAS DE FABRICACIÓN ACTUALES. Hewlett-Packard Company, Miami, 1994, p. 160

JARAMILLO, Juan. Procesos industriales para elaboración de saborizantes de mora para yogurt, pulpa de mora y mortiño. Área de Investigación, valor agregado a la producción y agroindustria rural. CORPOICA, 2006. (En línea) (Consultada el 13 de mayo del año 2008) disponible en la dirección electrónica <http://www.corpoica.org.co/Ofertas/ofertas2.asp>

LOFFREDA, Constanza. Aromaterapia. (En línea) (Consultada el 4 de abril del año 2009) disponible en la dirección electrónica: <http://www.mantra.com.ar/contterapiasalternativas/aromaterapiaextraccion.html>

LOPEZ, Cristina, LEON, Nixon. Identificación de los componentes mayoritarios del aceite esencial de las semillas de cacao (*Theobroma cacao L.*) por GC/FID/MSD. Universidad de Nariño. San Juan de Pasto, 2005. p 95.

MARTINEZ, Alejandro. ACEITES ESENCIALES. Medellín Universidad de Antioquia. 2001 p. 229 -238

MSAADA, Kamel, Et al., Changes on essential oil composition of coriander (*Coriandrum sativum L.*) fruits during three stages of maturity. (2006). (En línea) (Consultada el 17 febrero del año 2007) disponible en la dirección electrónica www.elsevier.com/locate/foodchem.

NGASSOUM M.B., Et al., Antimicrobial study of essential oils of *Ocimum gratissimum* leaves and *Zanthoxylum xanthoxyloides* fruits from Cameroon. (2002) (En línea) (Consultada el 17 febrero del año 2007) disponible en la dirección electrónica www.elsevier.com/locate/fitote.

PÉREZ Arbelaez, PLANTA ÚTILES DE COLOMBIA, Tercera Edición. Víctor Hugo. 1990. p. 213

PEREZ, Yemia A. EVENTOS FISIOLÓGICOS ASOCIADOS A LA MADUREZ Y CALIDAD DE LOS FRUTOS CÍTRICOS EN CUBA Y SU RELACIÓN CON LOS PRODUCTOS TRANSFORMADOS DE LA INDUSTRIA. Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical. p. 23

PLAN DE DESARROLLO MUNICIPAL DE BUESACO 2004 – 2007, Alcaldía municipal, 2004.

PORTILLO, Dairo A., VILLACRÉZ, José L. Análisis Químico de los Pigmentos Tipo Antocianina Presentes en el Fruto del Mortiño (*Vaccinium floribundum H.B.K.*). Universidad de Nariño, San Juan de Pasto, 2008: p. 132

RHODIA (2007), Diacetona alcohol. (En línea) (consultada el 4 de abril del año 2009) disponible en la dirección electrónica: <http://www.rhodia-pi.com.br/conteudo/produtos/PDF/esp/DIACETONA%20ALCOHOL>

SALAZAR, Edgar, IDENTIFICACIÓN Y ZONIFICACIÓN DE LOS BOSQUES DEL PARQUE ARQUEOLÓGICO Y TURÍSTICO DE “EL ALTO DEL CHOCHO”. Corantioquia. 1997.

SALINAS, Nelson R. Novedades Taxonómicas de las ericáceas del Suroccidente de Colombia. Caldasia. 2007 Vol. 29 Mo. 1 p. 51-58

SANJINÉS, Adriana A. Et al., Frutos comestibles. Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, 2006: p. 329-346.

SEDAGHATHOOR, Shahram, Et al., Essential Oils of Qare-Qat (*Vaccinium arctostaphylos*) Shoots and Chemical Composition of Berries. International Journal of Agriculture & biology. 2006. Vol. 8, No. 1. p. 45

SILVEIRA, Ana C. INDICES DE MADUREZ Y COSECHA. Uruguay 2007. p. 20

SPESSOTO, M. A. Evaluation of the analgesic activity of extracts of *Miconia rubiginosa* (Melastomataceae). (2003). (En línea) (Consultada el 17 febrero del año 2007) disponible en la dirección electrónica <http://www.urbanfischer.de/journals/phytomed>.

STASHENKO, Elena. Acoplamiento GC-MS: Sistemas de datos (Software). Universidad Industrial de Santander. Laboratorio de Cromatografía. Escuela de Química. (En línea) (Consultada el 26 septiembre del año 2007) disponible en la dirección electrónica http://cromatografia.uis.edu.co/cursos/acopla_gcms.html

STRASBURGER, E., NOLL, F., SCHENK, H. Y SCHINPER W. TRATADO DE BOTÁNICA. Barcelona: Marin, 1994 p. 947

THIELE, Fransico M. La Maduración en los Productos Hortifruccícolos. Guia Tecnica PoscosechaNº 4. (2001). (En línea) (Consultada el 12 febrero del año 2009) disponible en la dirección electrónica http://www.cnp.go.cr/php_mysql/admin/KTML/uploads/files/boletines/Maduraci_n%5B1%5D.pdf

UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA (UDEA). Flavonoides. (En línea) Medellín: (consultada el 29 de septiembre del año 2006) disponible en la dirección electrónica: <http://huitoto.udea.edu.co/~farmacogfit/Flavonoides/>

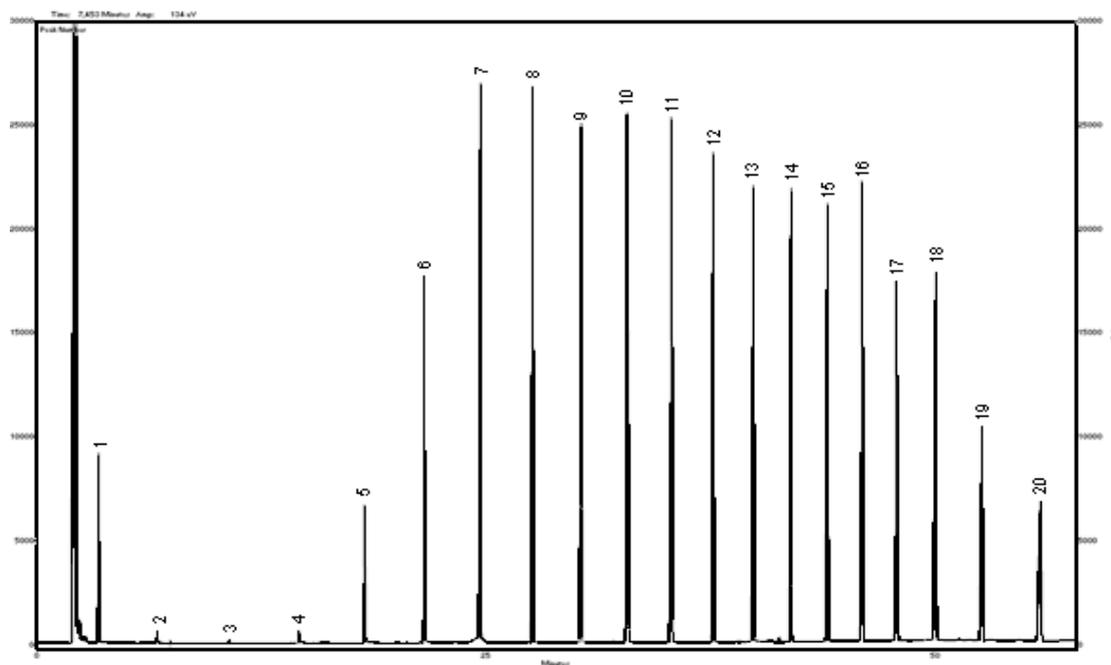
XIANFEI Xie, Et al., Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Chaenomeles speciosa* from China. (2005). (En línea) (Consultada el 17 febrero del año 2007) disponible en la dirección electrónica www.elsevier.com/locate/foodchem.

ANEXOS

Anexo A. compuestos volátiles reportados para *V. corymbosum* L.

Metabolito	Concentración (ppm)
Acido 2-metil butanoico	0,05
2-fenil-etanol	0,3
4-vinil fenol	0,07
Ácido acético	0,7
alpha-Terpineol	0,03
alpha-Tocoferol	116
acido ascórbico	878
alcohol benzilico	0,08
beta-caroteno	3,9
1-butanol	0,016
2-butanol	0,013
acido butanoico	0,01
acido n-hexanoico	0,05
Citronelol	0,03
Eugenol	0,02
Farnesol	0,04
farnesol-acetato	0,07
Geraniol	0,03
cis-3-hexenal	0,06
trans-2-hexanal	0,5
trans-2-hexanol	0,08
trans-2-hexenol	0,5
Hexanol	0,4
hidroxi-citronelol	0,07
Linalol	0,5
Nerol	0,08
1-pentanol	0,02
Fenol	0,06
trans-cinamilol	0,01

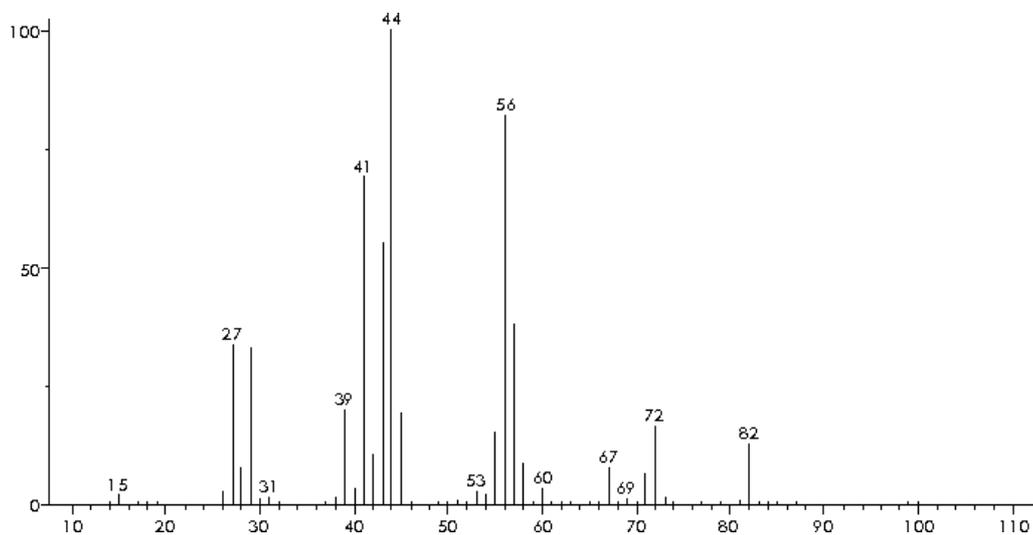
Anexo B. Cromatograma de la mezcla de parafinas empleada para la determinación de I_k experimental (I_k exp), mezcla de C7- C26



Nº	Nº Carbonos	Tr
2	8	4,056
3	9	6,839
4	10	10,450
5	11	14,241
6	12	17,913
7	13	21,386
8	14	24,661
9	15	27,746
10	16	30,311
11	17	33,454
12	18	36,096
13	19	38,610
14	20	41,013
15	21	43,310
16	22	45,514
17	23	47,627
18	24	49,657
19	25	51,609
20	26	53,493

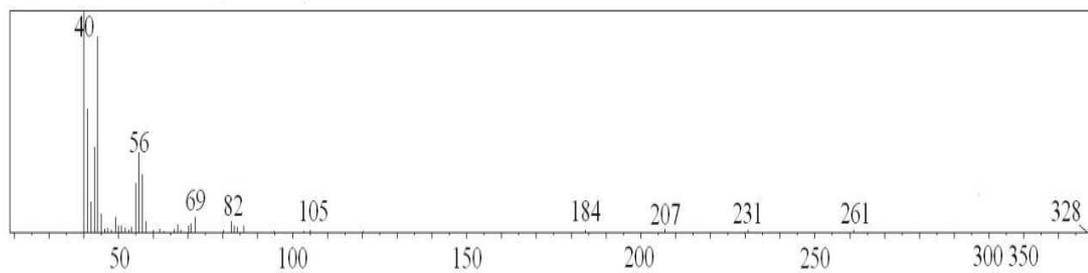
Anexo C. Comparación de los espectros de masa experimentales con los espectros de espectrotecas

Espectro de Masas para Hexanal

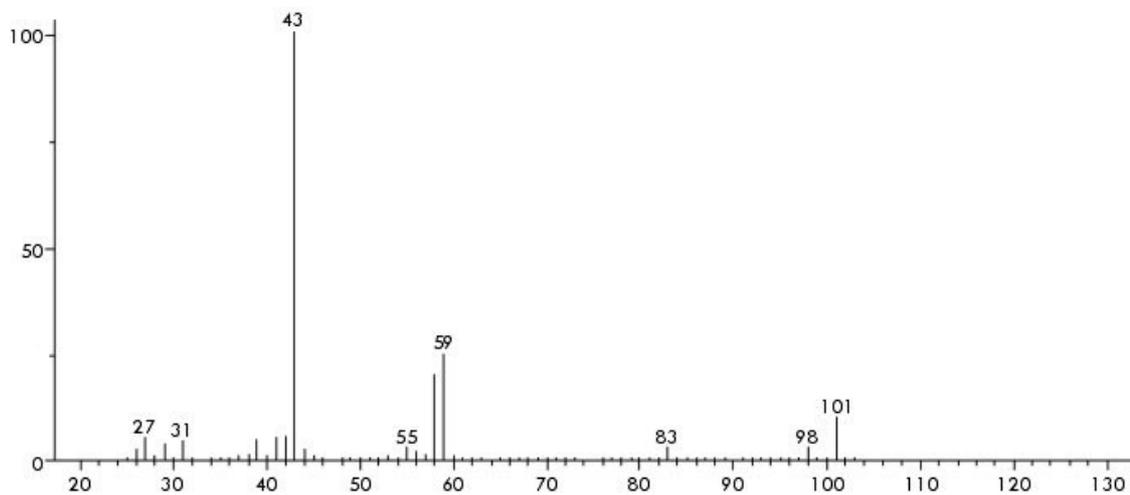


Espectro de masa experimental para Hexanal

Data 1 SMVTB.D01
Scan # : 121
Mass Peak # : 47 Ret. Time : 4.100
Base Peak : 39.95 (224692)



Espectro de masas para Diacetona alcohol



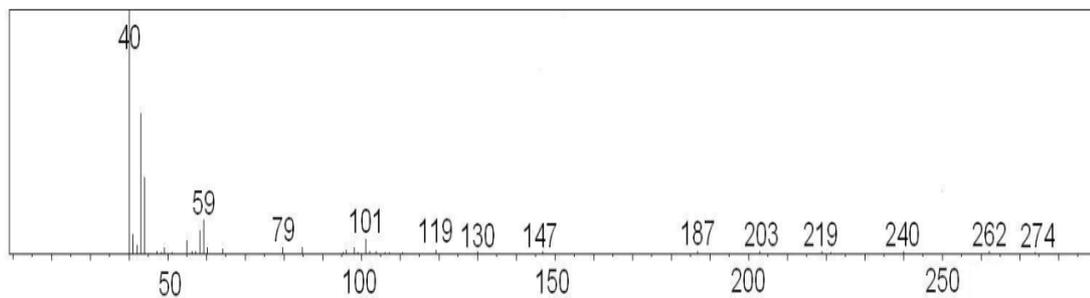
Espectro de masa experimental para Diacetona alcohol

Data1 SMMTC.D01

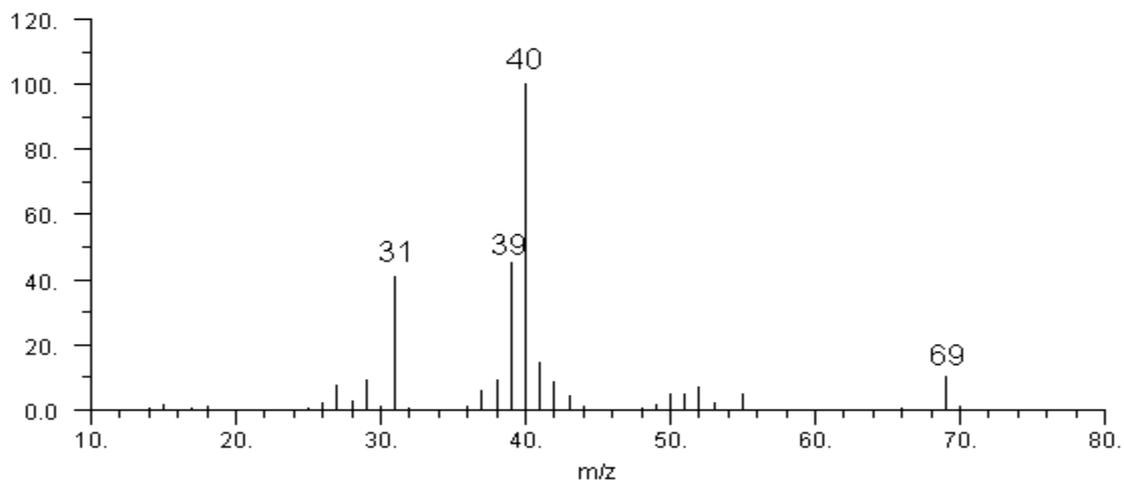
Scan # : 239

Mass Peak # : 49 Ret. Time : 5.182

Base Peak : 39.95 (234571)

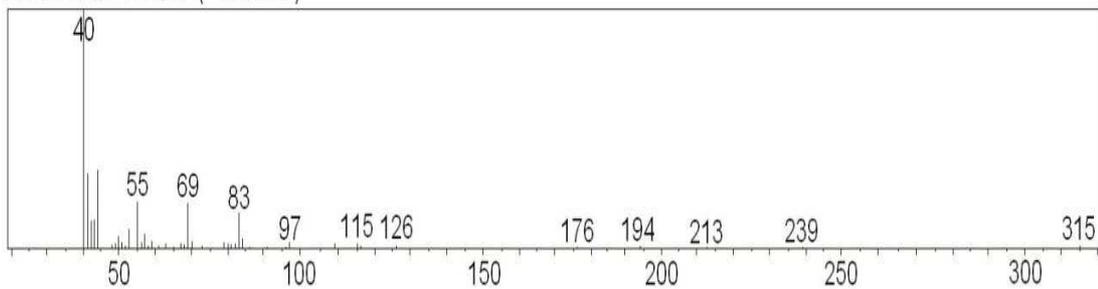


Espectro de masas para 3-Butinol

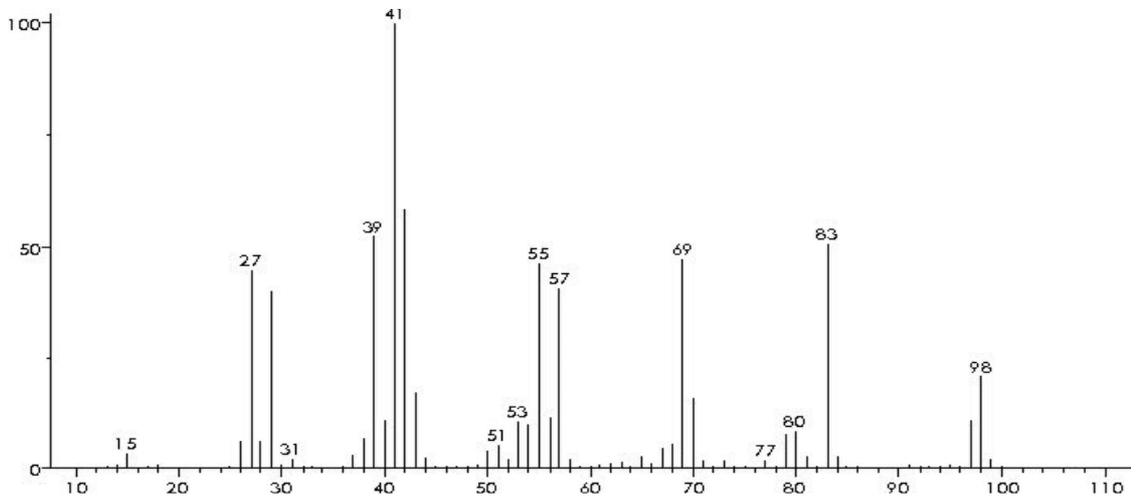


Espectro de masa experimental para 3 - Butinol

Data1 SMVTB.D01
Scan # : 247
Mass Peak # : 50 Ret. Time : 5.255
Base Peake : 39.90 (205055)

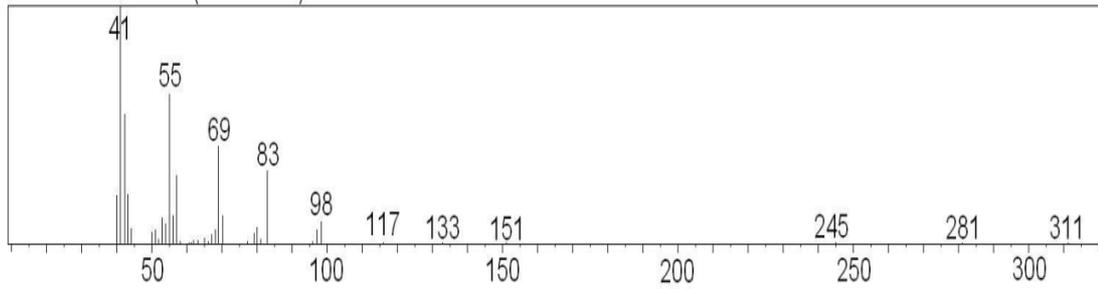


Espectro de masas para 2E-Hexenal

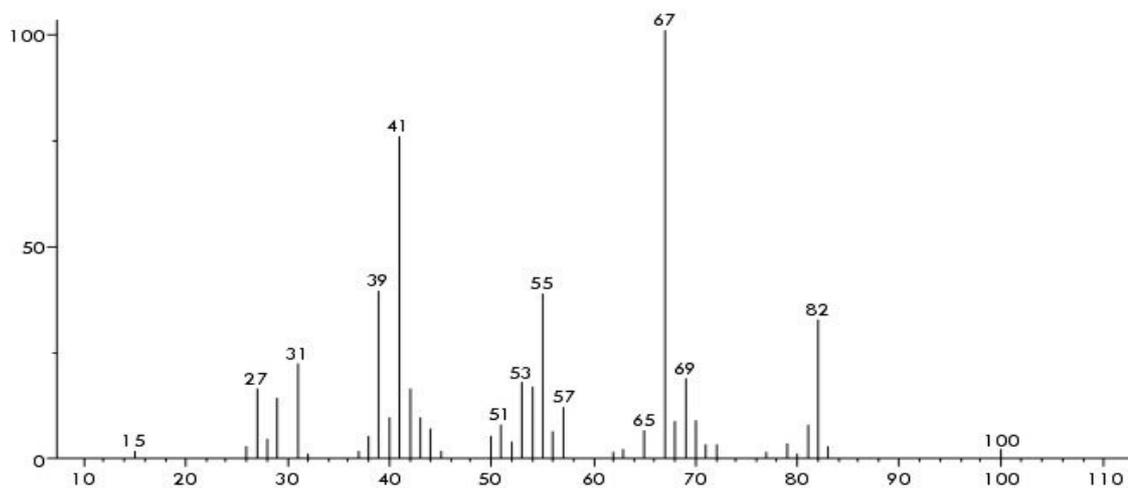


Espectro de masas experimental para 2E-Hexenal

Data1 SMMTC.D01
Scan # : 245
Mass Peak # : 63 Ret. Time : 5.420
Base Peak : 41.00 (2120426)



Espectro de masas para 3Z-Hexenol



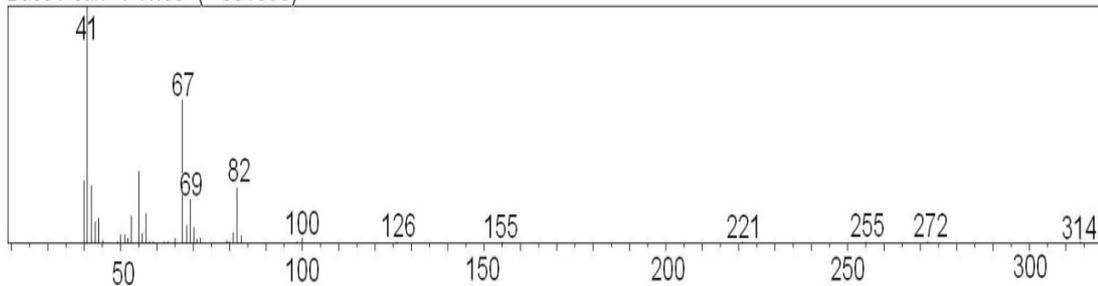
Espectro de masas experimental para 3Z-Hexenol

Dara1. SMVTA.D01

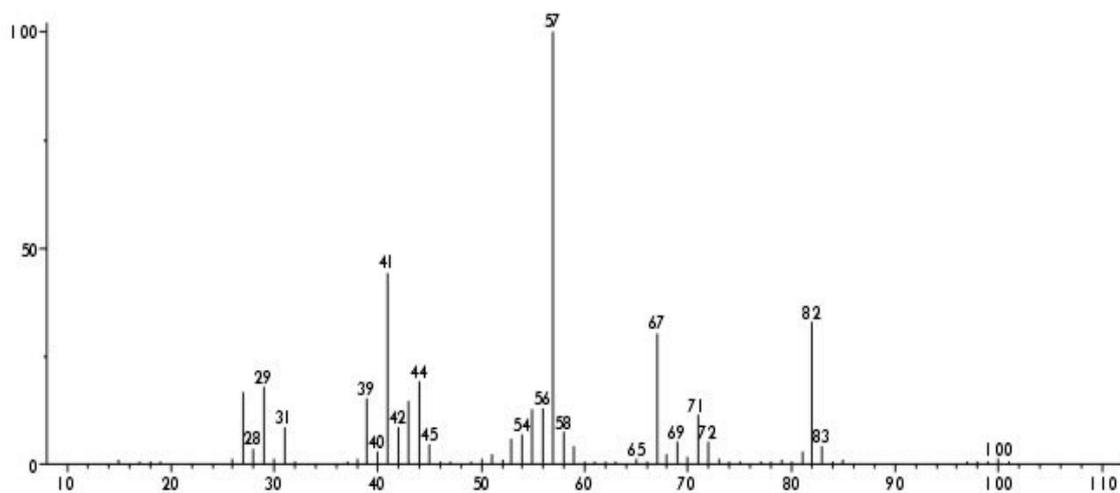
Scan # : 279

Mass Peak # : 56 Ret. Time : 5.548

Base Peak : 41.00 (881555)



Espectro de masas para 2Z-Hexenol



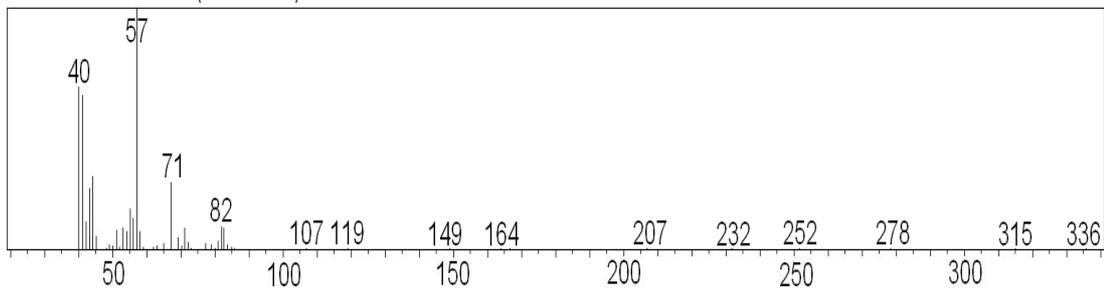
Espectro de masas experimental para 2Z-Hexenol

Data1 SMVTB.D01

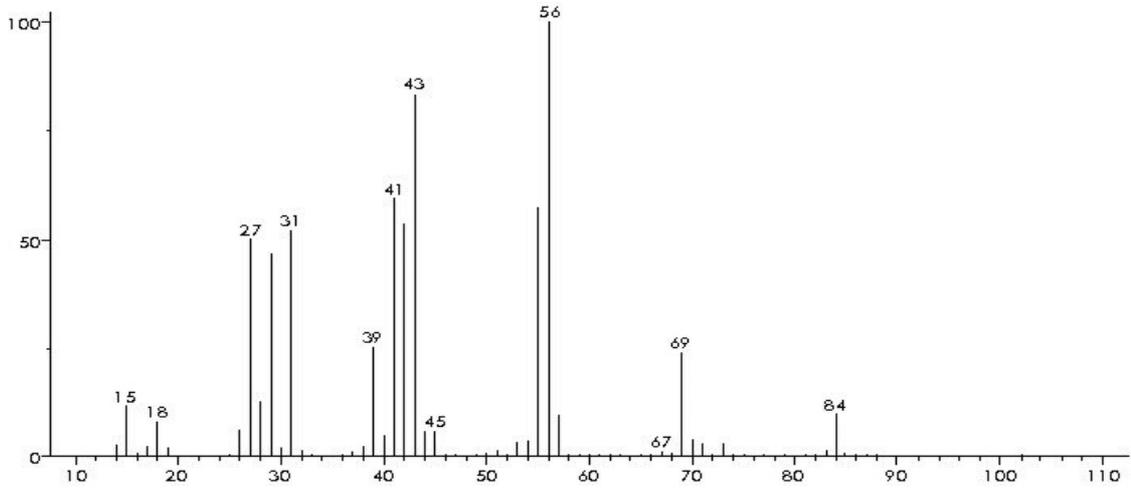
Scan # : 313

Mass Peak # : 62 Ret. Time : 5.860

Base Peak : 57.05 (349784)

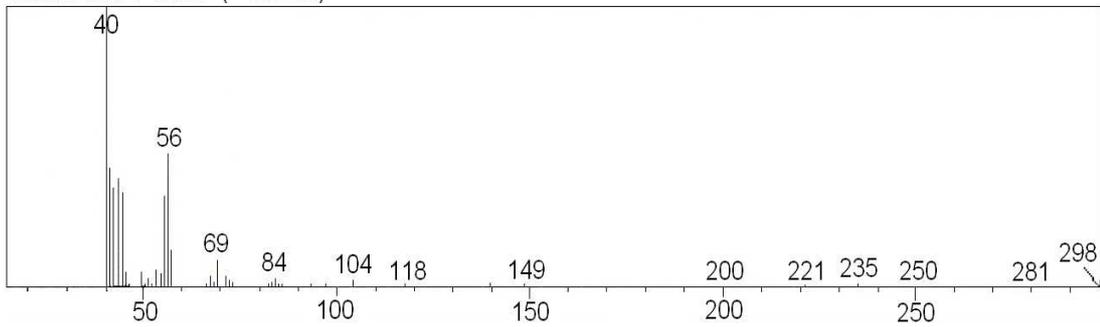


Espectro de masas para 1-Hexanol

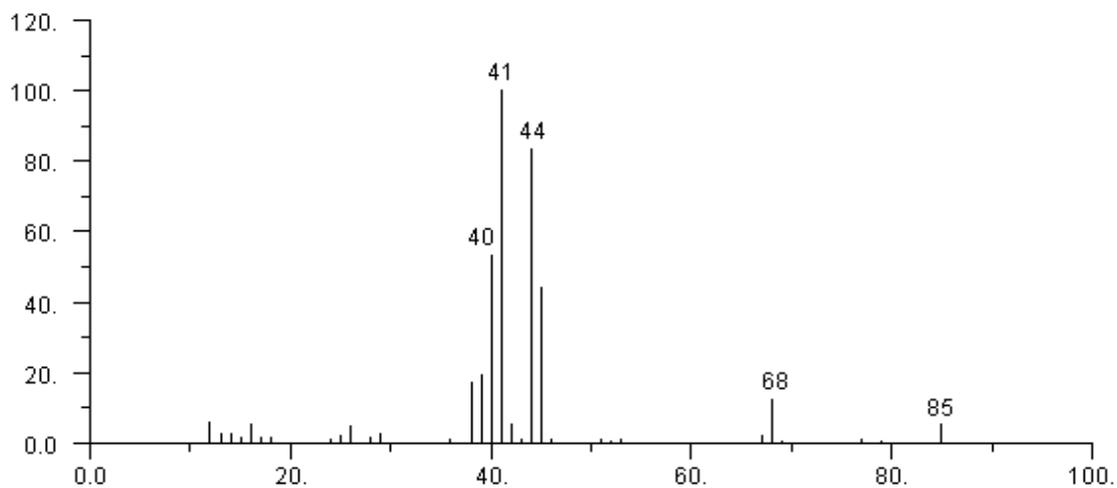


Espectro de masas experimental para 1-Hexanol

Data1 SMMTC.D01
Scan# : 249
Mass Peak # : 69 Ret. Time : 5.933
Base Peak : 40.01 (458768)

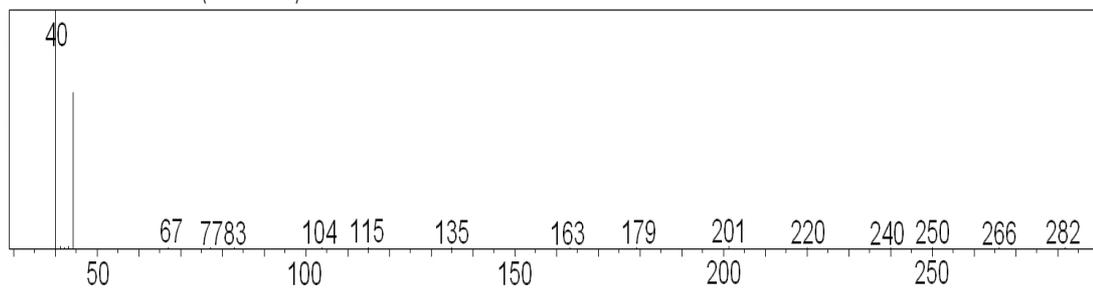


Espectro de masas para acido cianoacetico

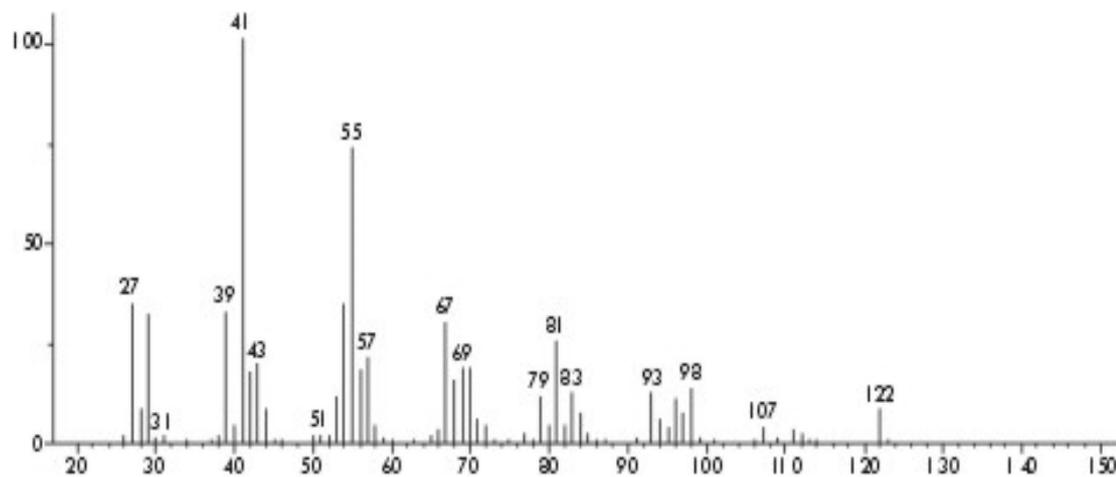


Espectro de masas experimental para ácido cianoacetico

Data1 SMRTB.D01
Scan # : 668
Mass Peak # : 50 Ret. Time : 9.114
Base Peak : 39.95 (725341)

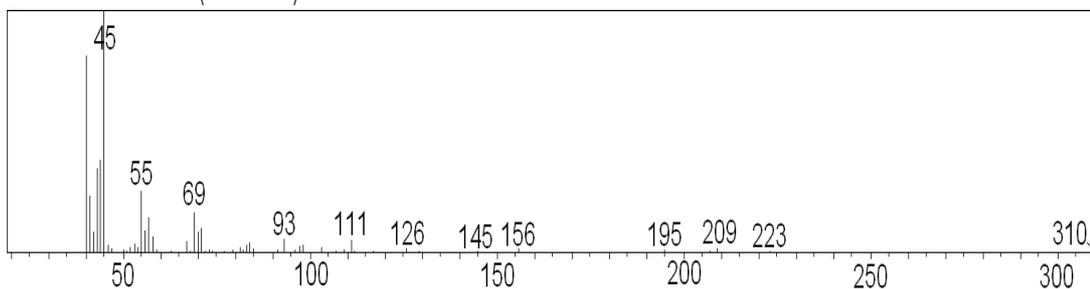


Espectro de masas para 6Z-Nonenal

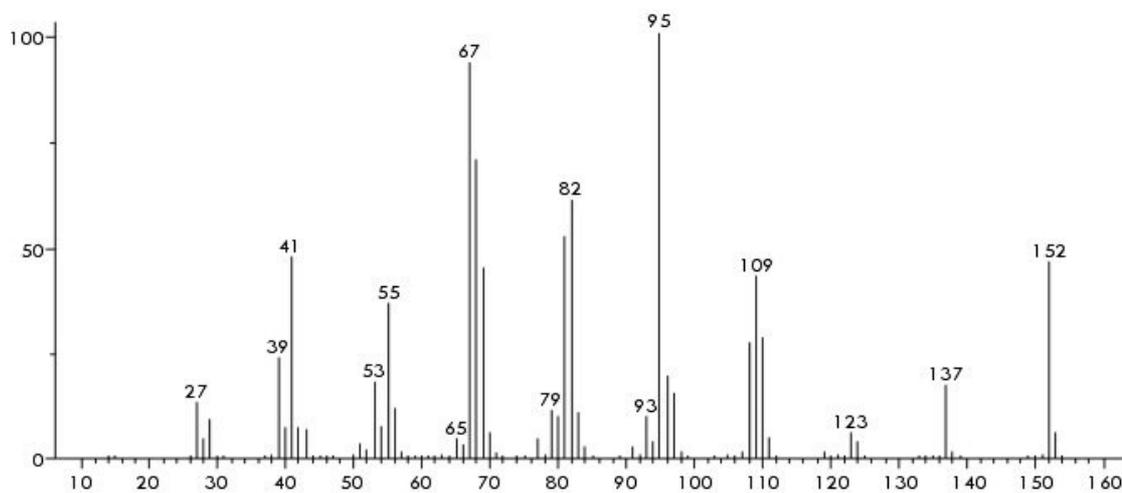


Espectro de masas experimental para 6Z-Nonenal

Data1 SMVTA.D01
Scan # : 1237
Mass Peak # : 61 Ret. Time : 14.330
Base Peak : 45.05 (190708)



Espectro de masas para Dihidrocarbona



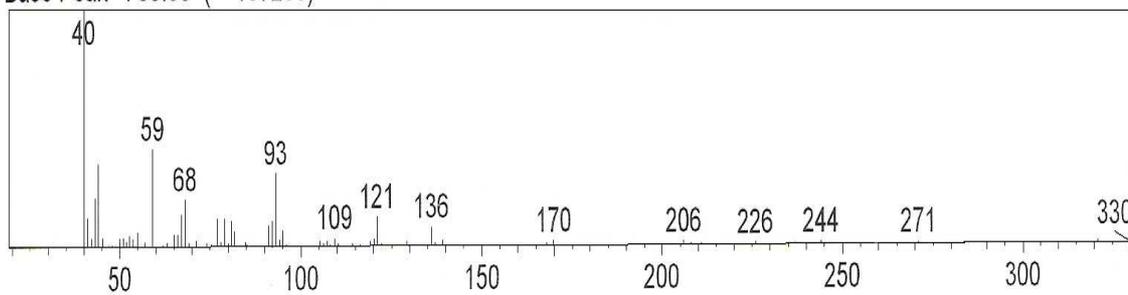
Espectro de masas experimental para Dihidrocarbona

Data1 SMVTA.D01

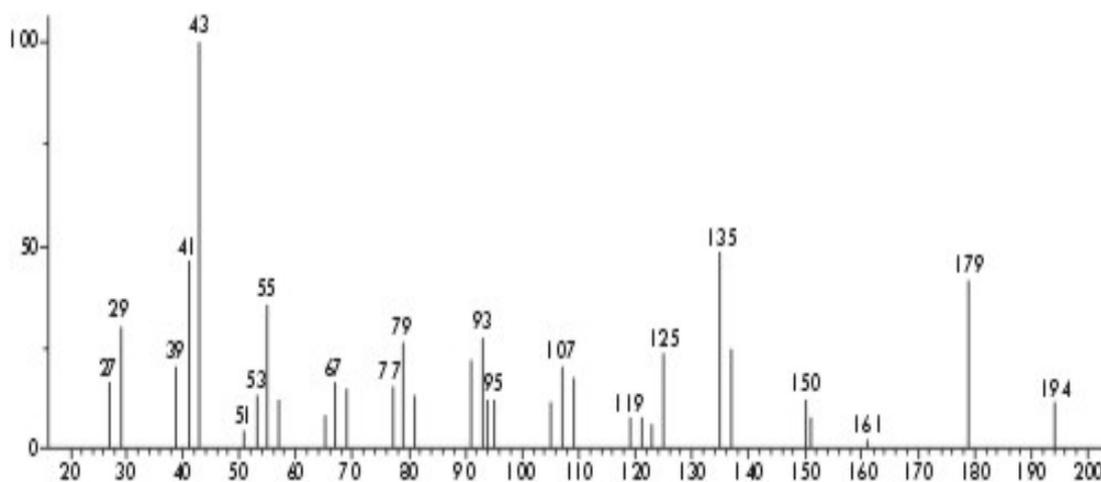
Scan # : 1596

Mass Peak # : 70 Ret. Time : 17.621

Base Peak : 39.95 (157289)



Espectro de masas para Dihidroedelan II



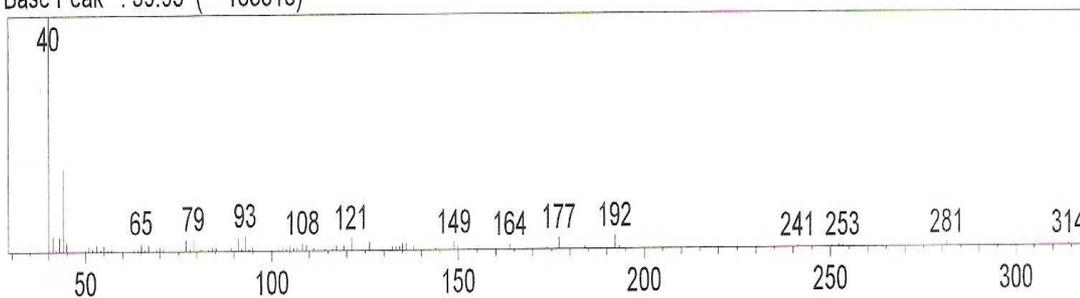
Espectro de masas experimental para Dihidroedelan II

Data1 SMVTB.D01

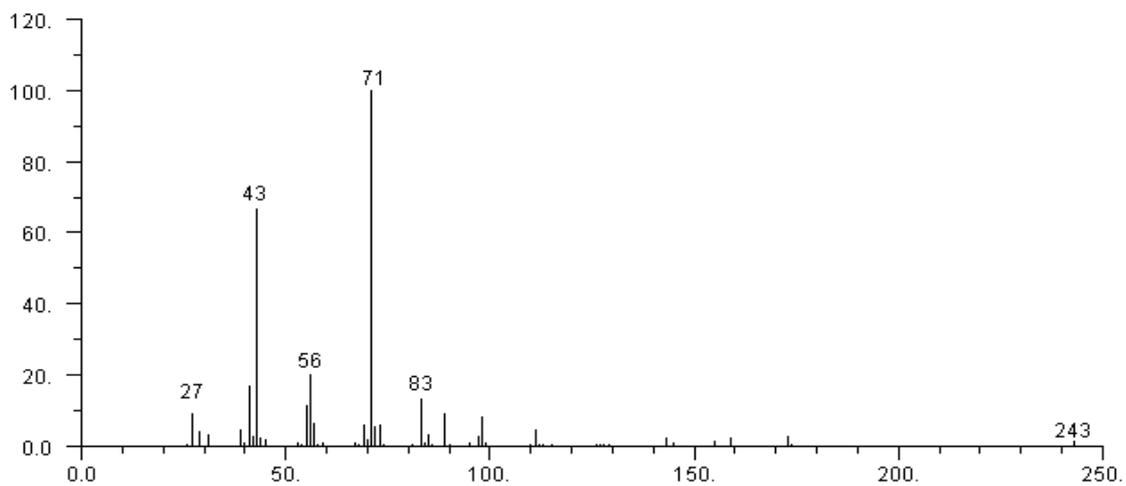
Scan # : 1931

Mass Peak # : 73 Ret. Time : 20.692

Base Peak : 39.95 (183518)



Espectro de masas para 2,2,4-Trimetil-1,3-pentanediol diisobutirato



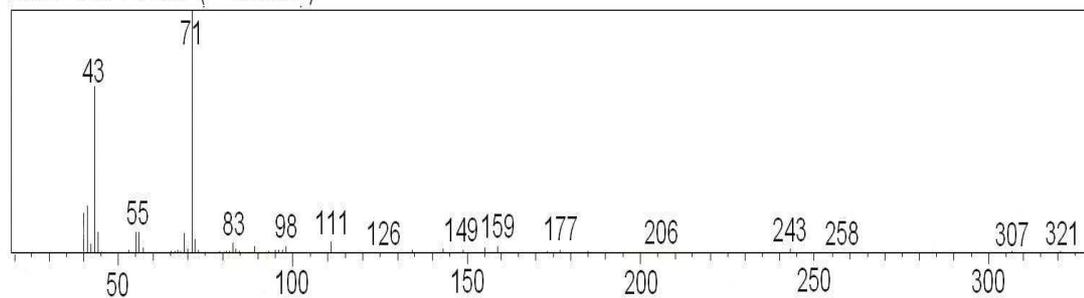
Espectro de masas experimental para 2,2,4-Trimetil-1,3-pentanediol diisobutirato

Data1 SMVTA.D01

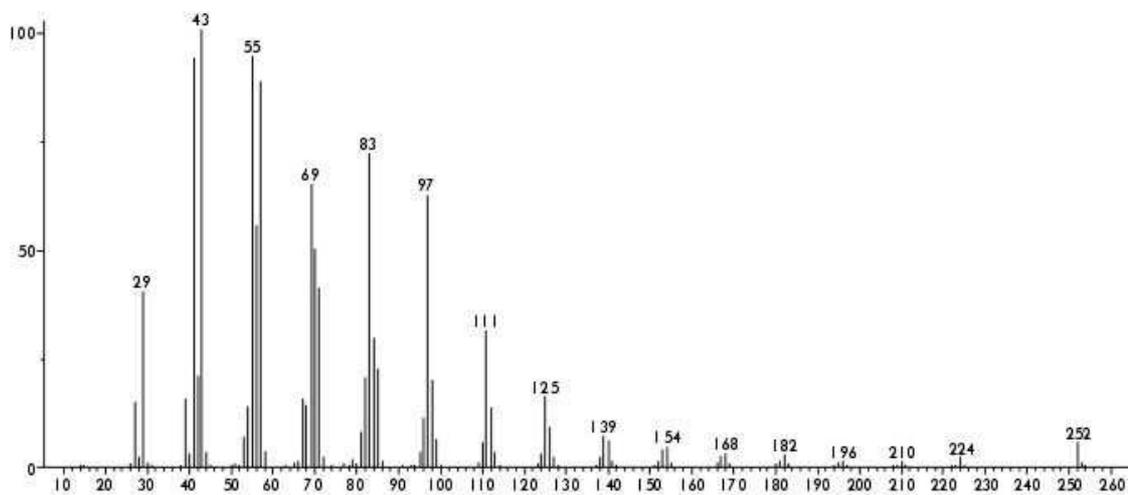
Scan # : 3019

Mass Peak # : 94 Ret. Time : 30.665

Base Peak : 71.05 (826663)



Espectro de masas para 1-Octadeceno



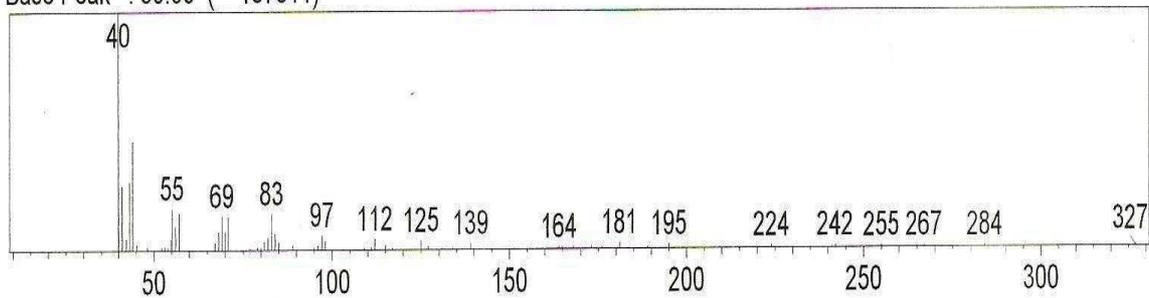
Espectro de masas experimental para 1-Octadeceno

Data1 SMVTA.D01

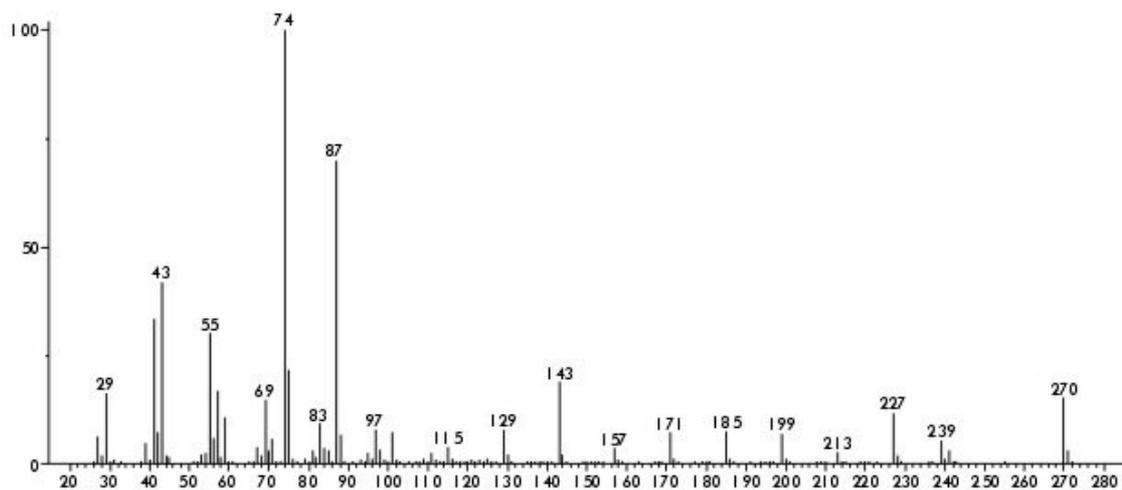
Scan # : 3591

Mass Peak #: 56 Ret. Time : 35.908

Base Peak : 39.90 (137511)



Espectro de masas para Metil Hexadecanoato



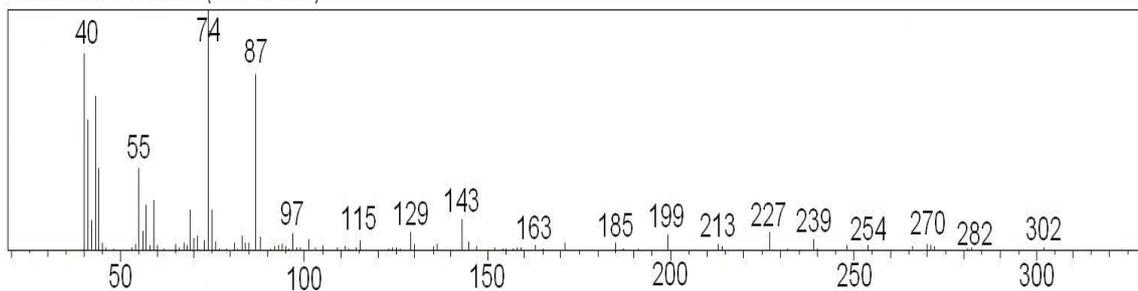
Espectro de masas experimental para Metil Hexadecanoato

Data1 SMVTB.D01

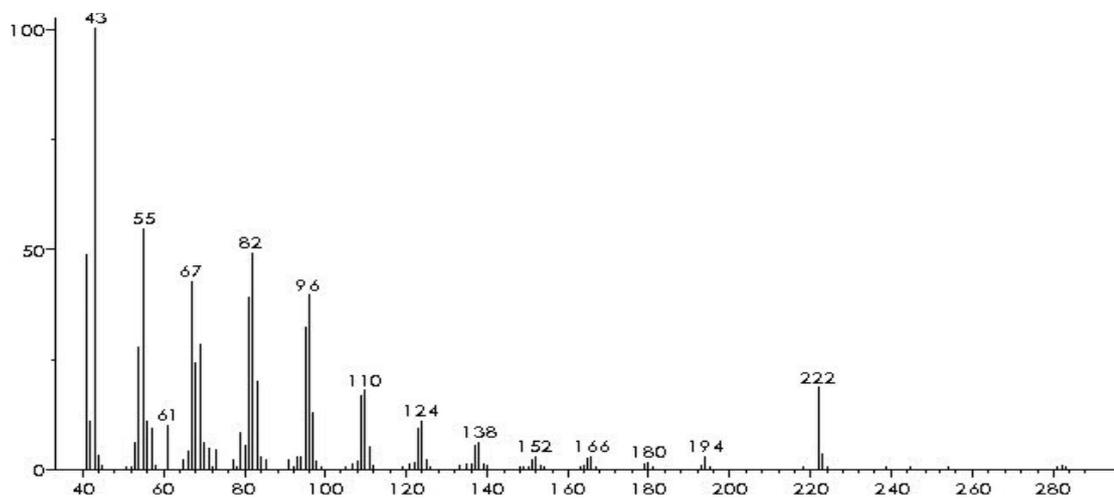
Scan # : 3960

Mass Peak # : 93 Ret. Time : 39.291

Base Peak : 74.05 (148490)



Espectro de masas para 10Z-Hexadecenil acetato



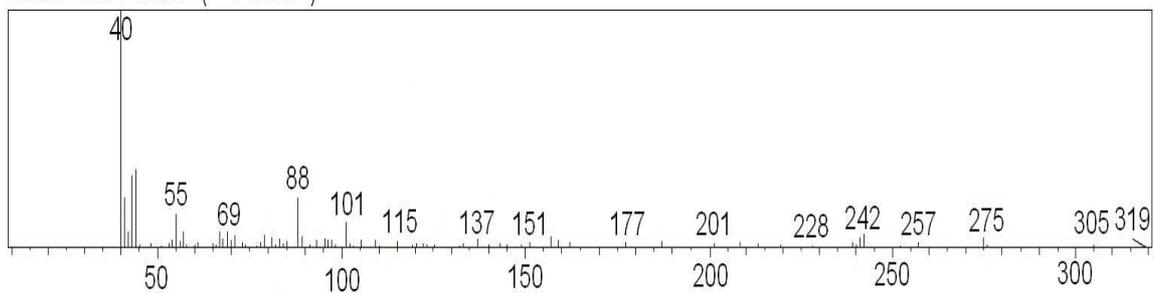
Espectro de masas experimental para 10Z-Hexadecenil acetato

Data1 SMVTA.D01

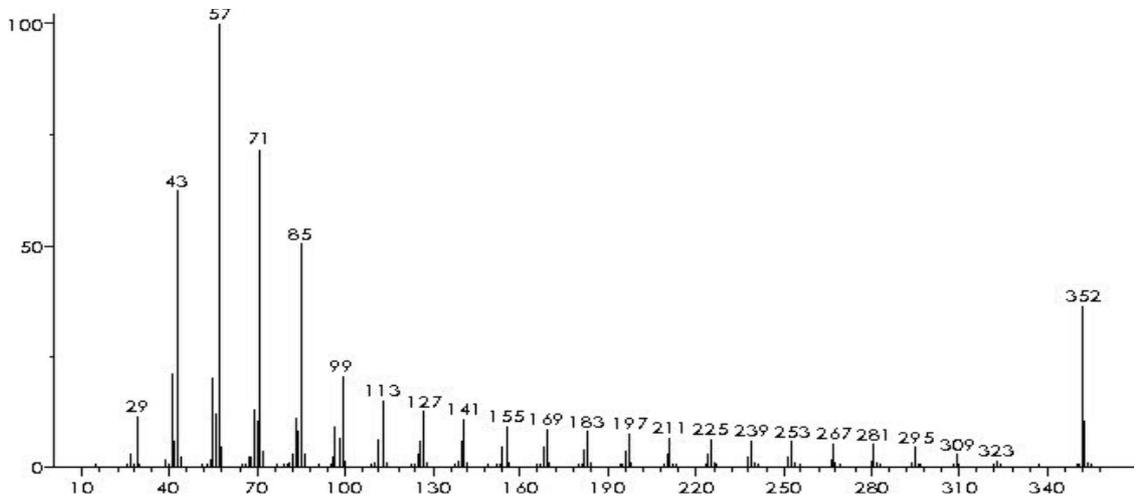
Scan # : 4139

Mass Peak : 82 Ret. Time : 40.932

Base Peak : 39.95 (142967)

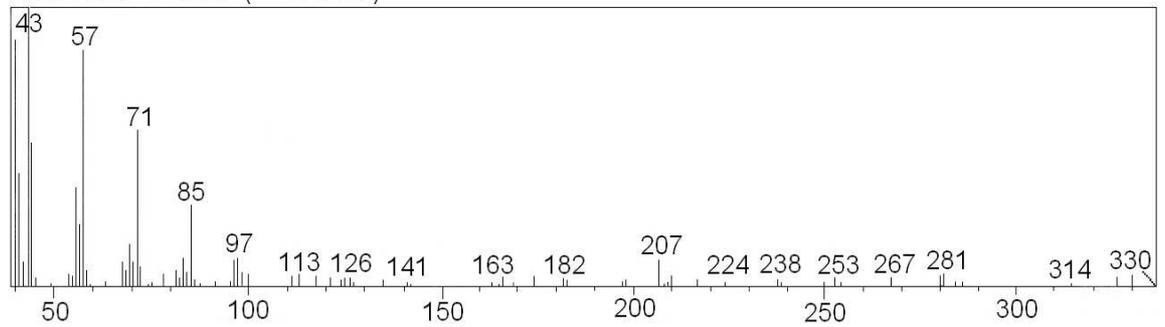


Espectro de masas para n-Pentacosano

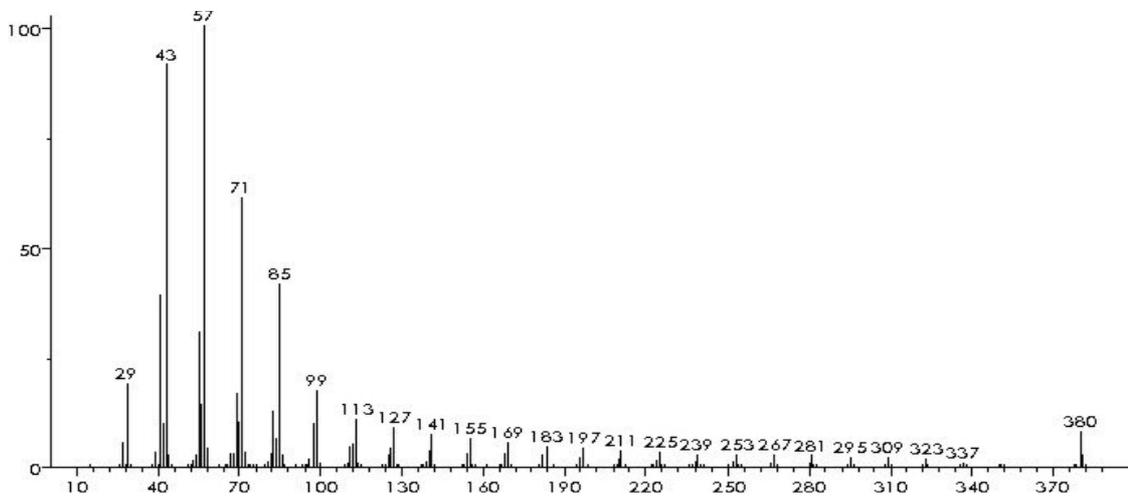


Espectro de masas experimental para n-Pentacosano

Data1 SMVTB.D01
Scan # : 5703
Mass Peak # : 113 Ret. Time 51.584
Base Peak : 43.03 (181723)



Espectro de masas para n-Heptacosano



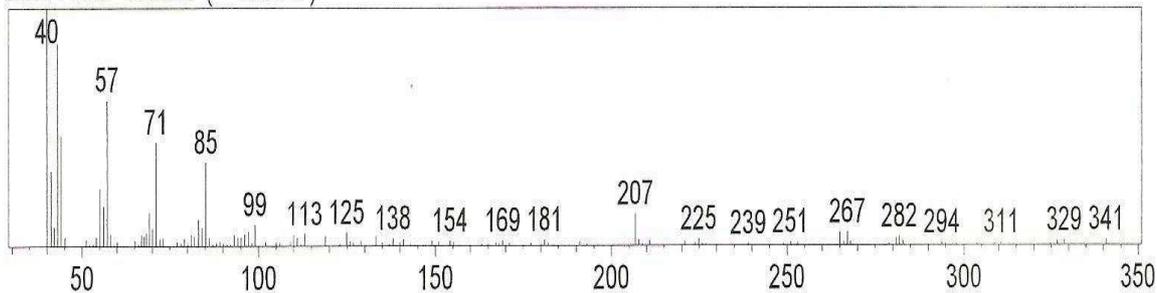
Espectro de masas experimental para n-Heptacosano

Data1 SMVTB.D01

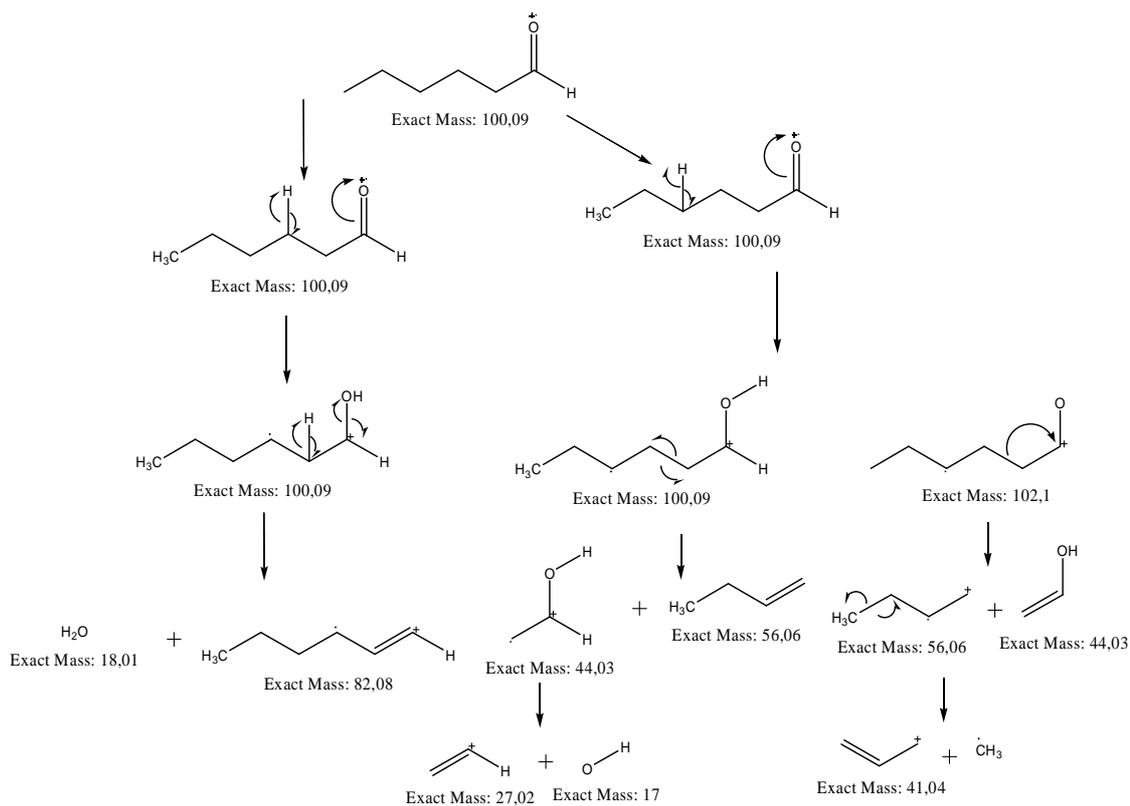
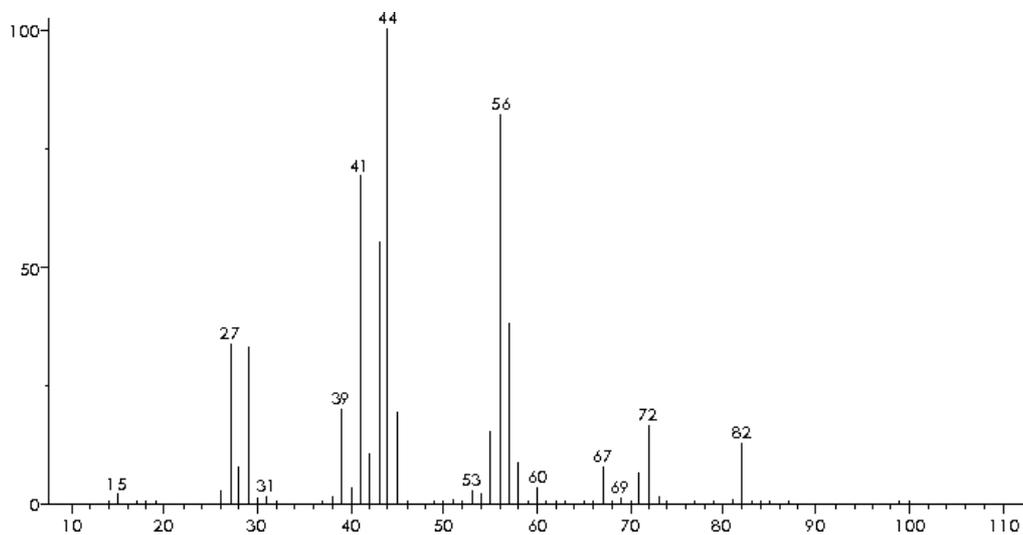
Scan # : 5719

Mass Peak # : 117 Ret. Time : 55.415

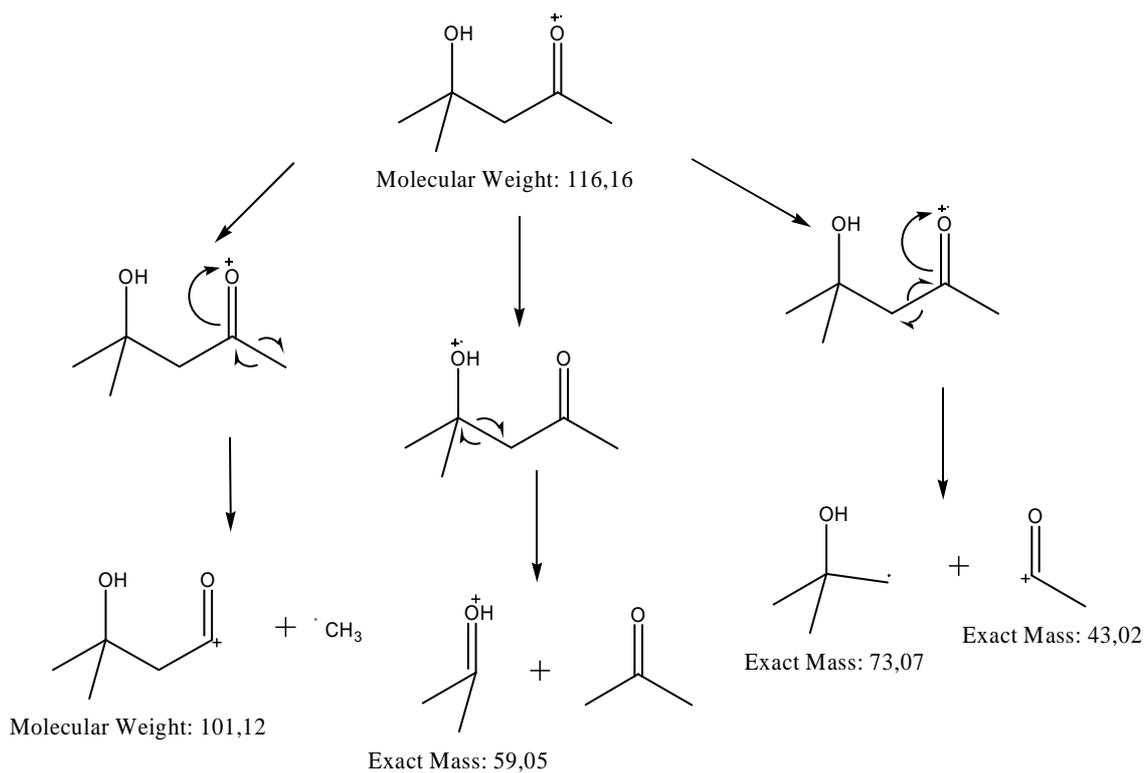
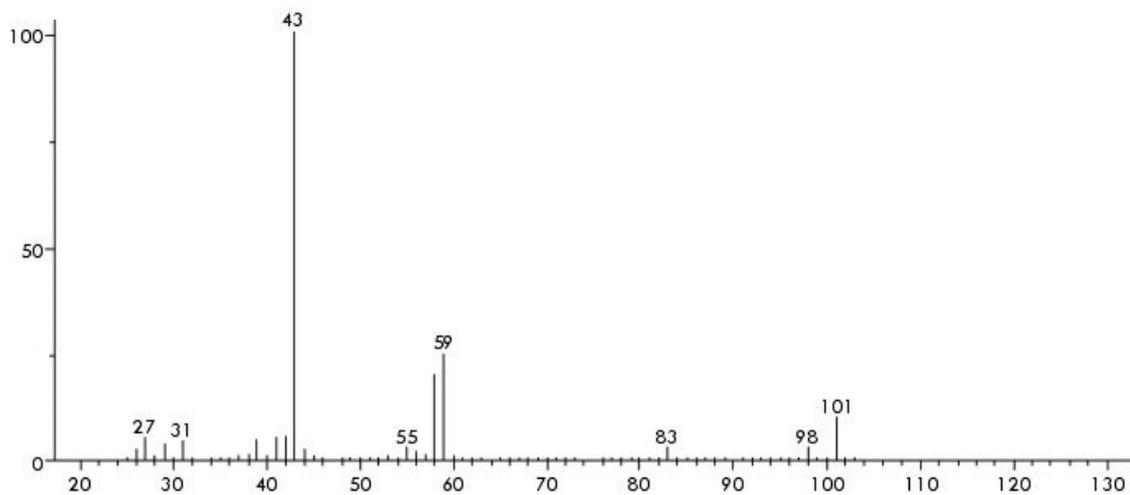
Base Peak : 39.95 (150817)



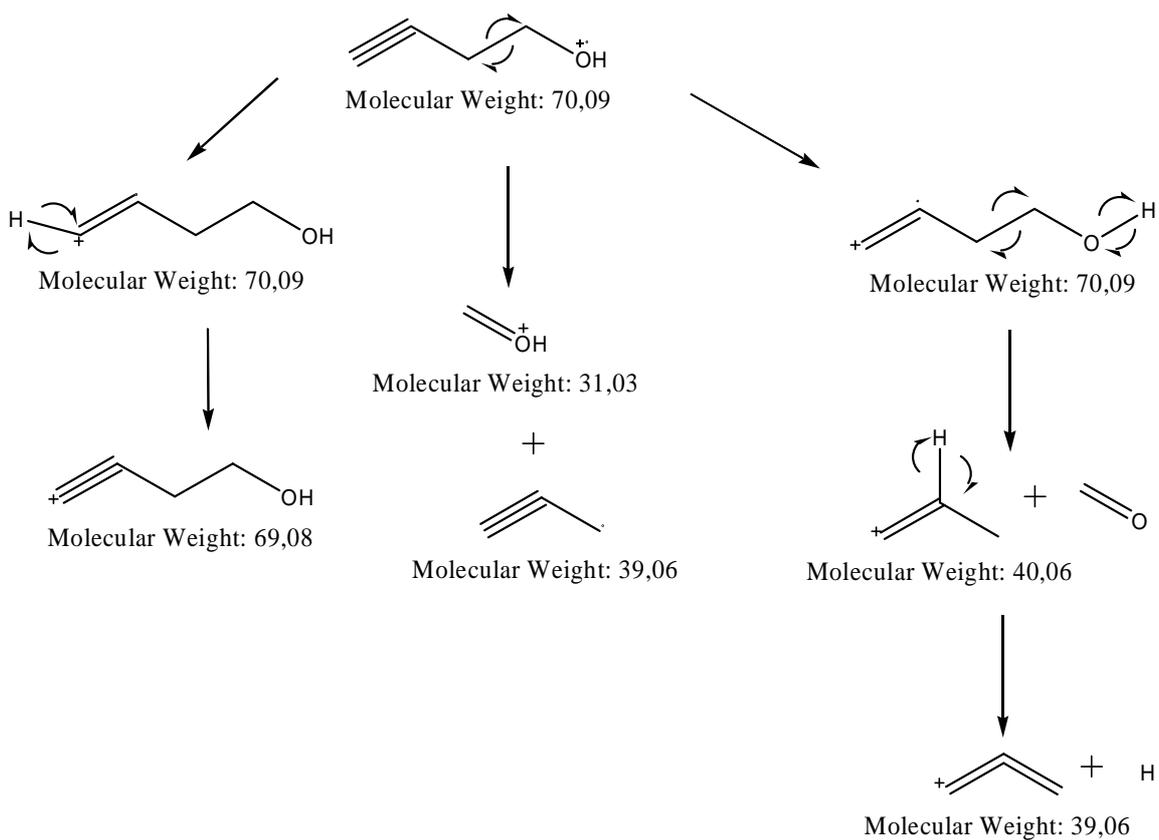
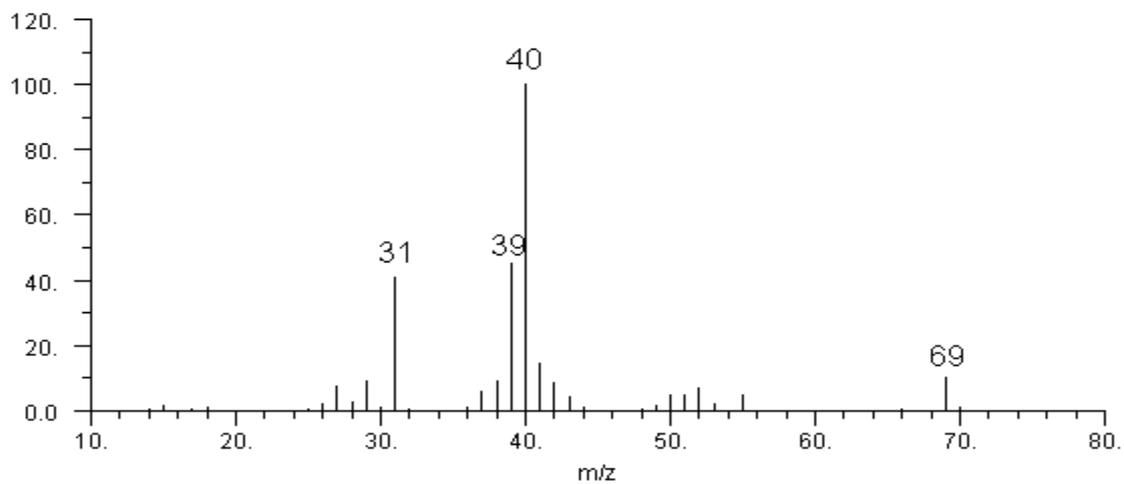
Anexo D. Fragmentaciones de Masas para Hexanal



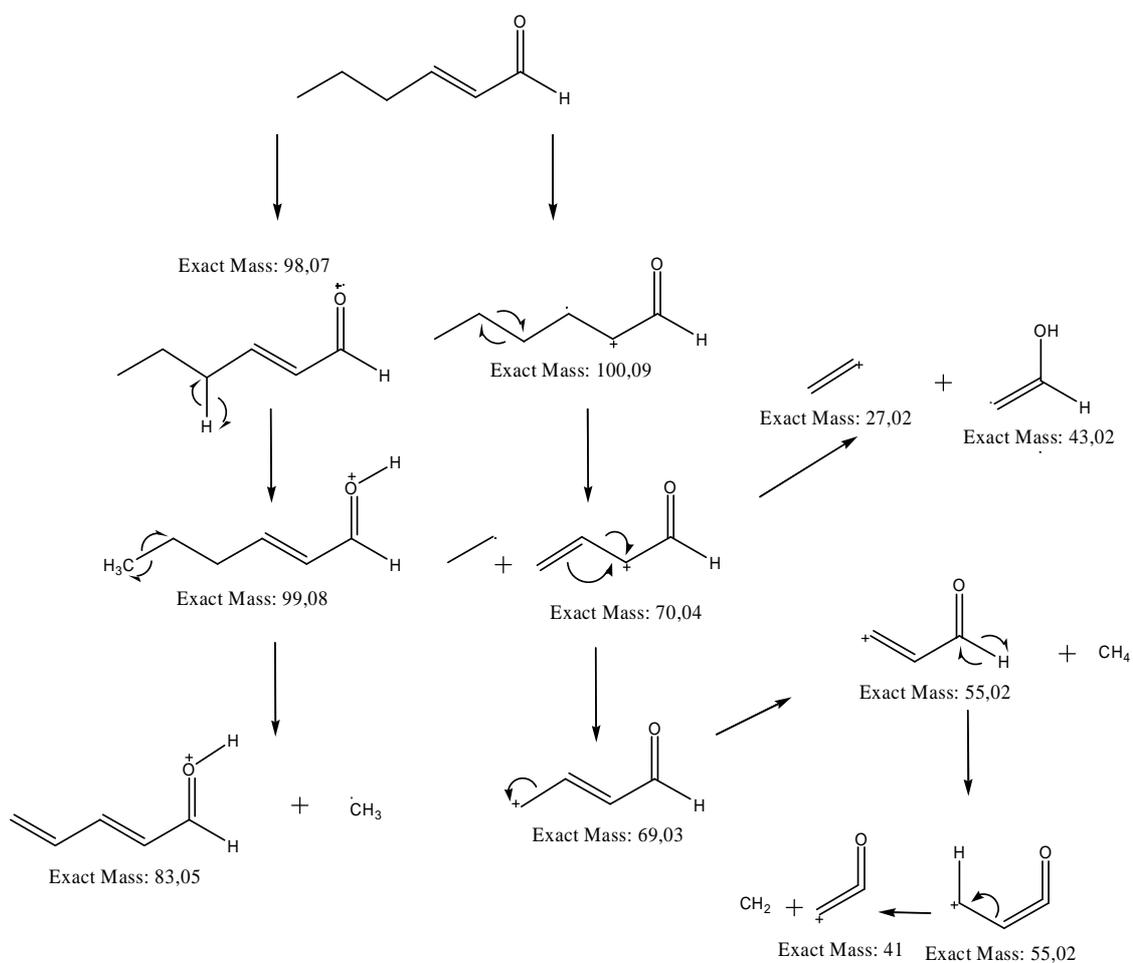
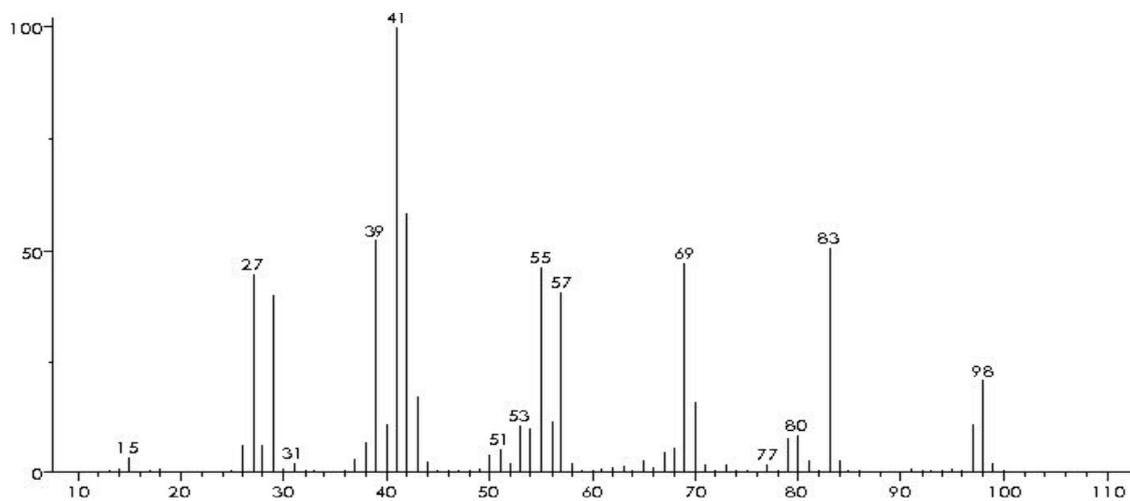
Anexo E. Fragmentaciones de masas para Diacetona alcohol



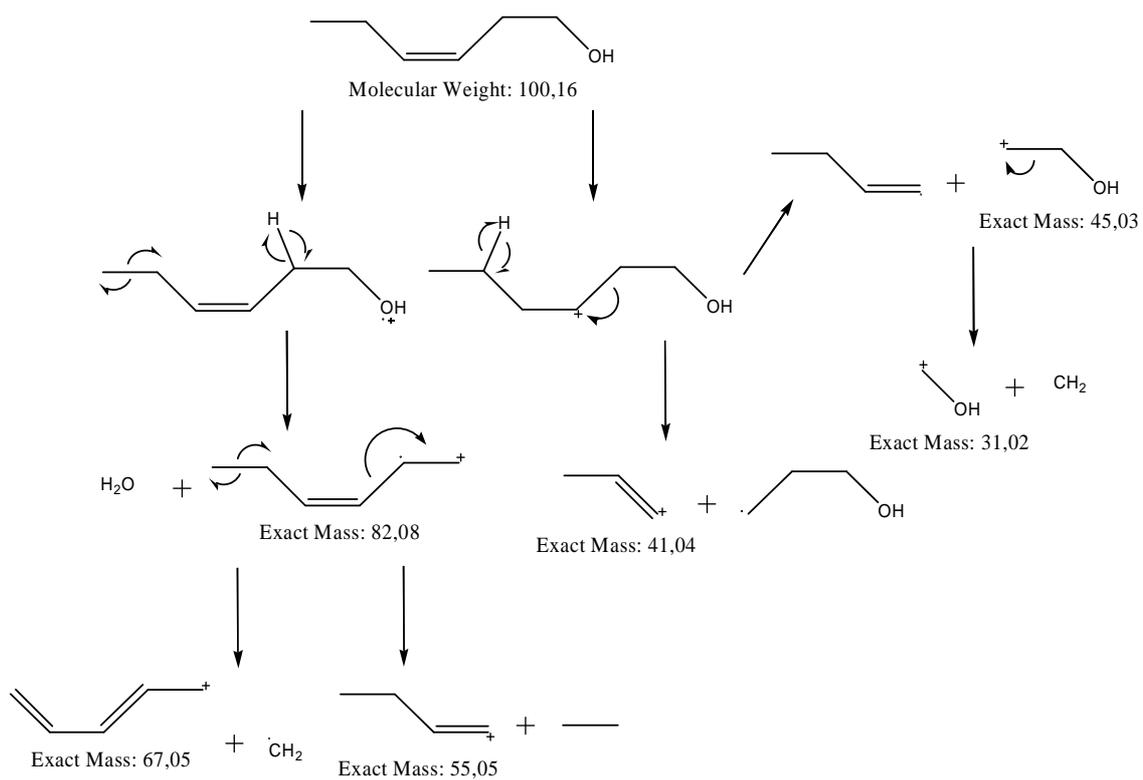
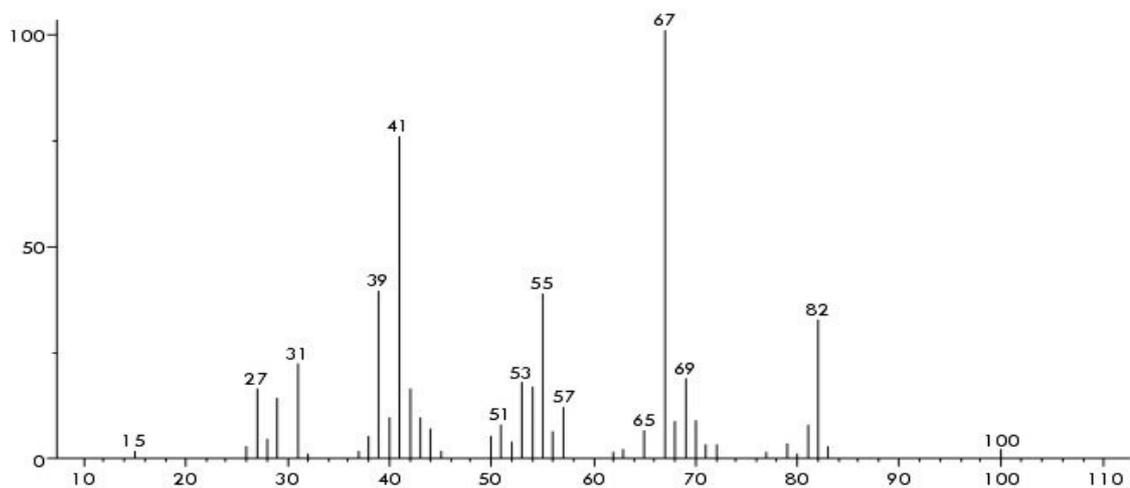
Anexo F. Fragmentaciones de masas para 3-Butinol



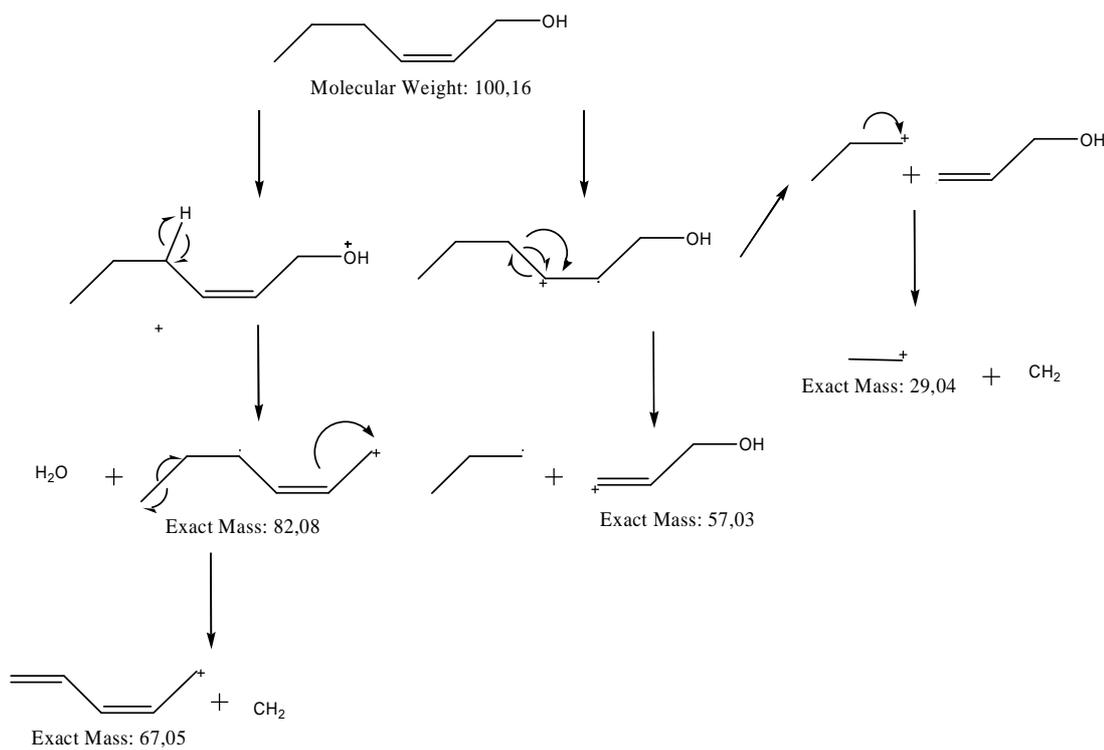
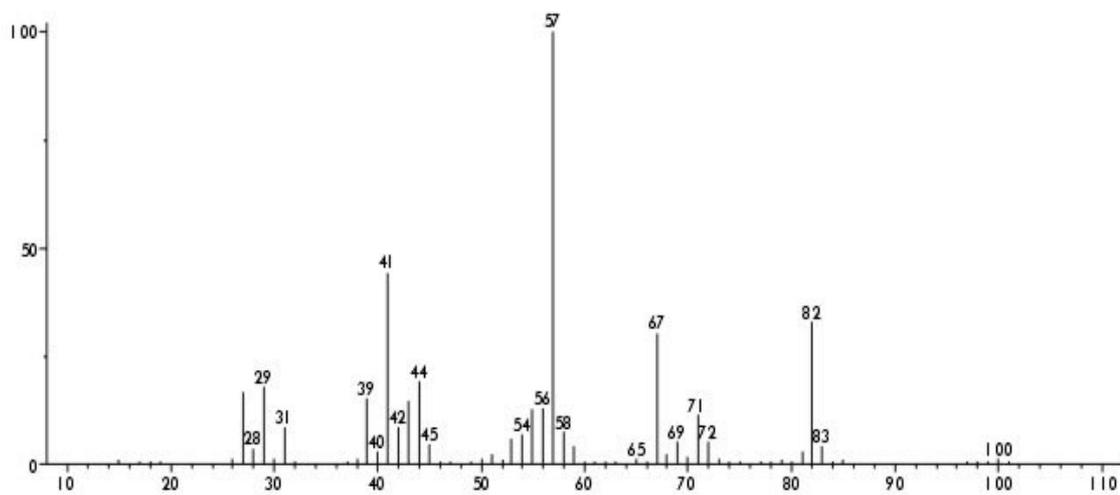
Anexo G. Fragmentaciones de masas para 2E-Hexenal



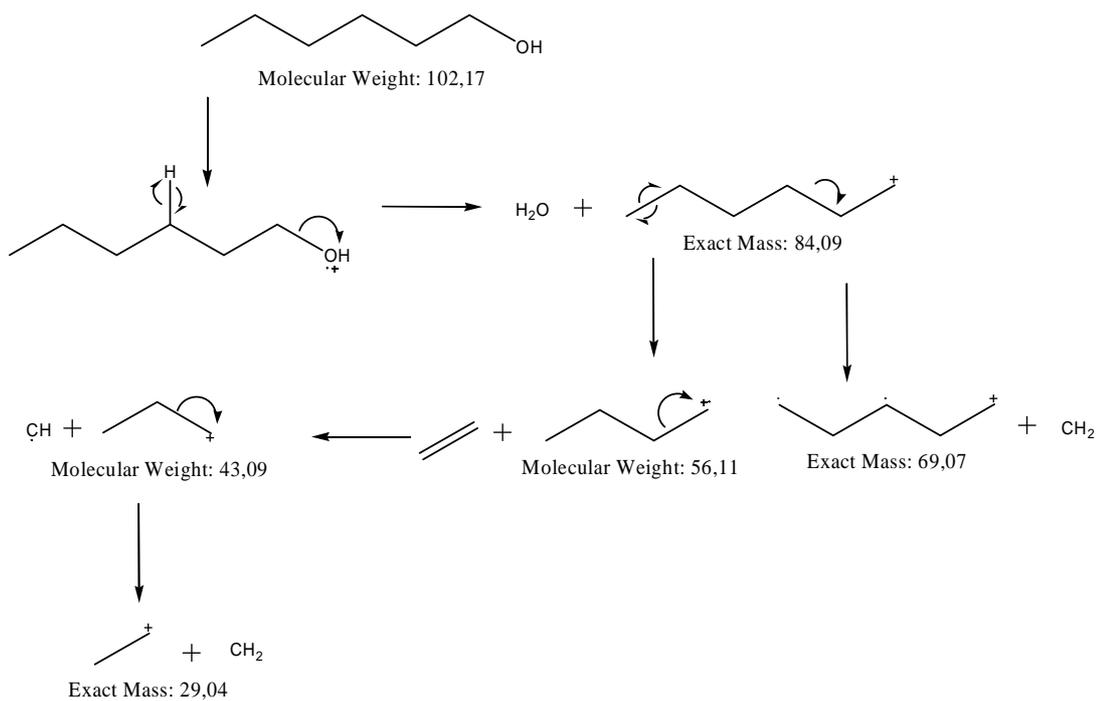
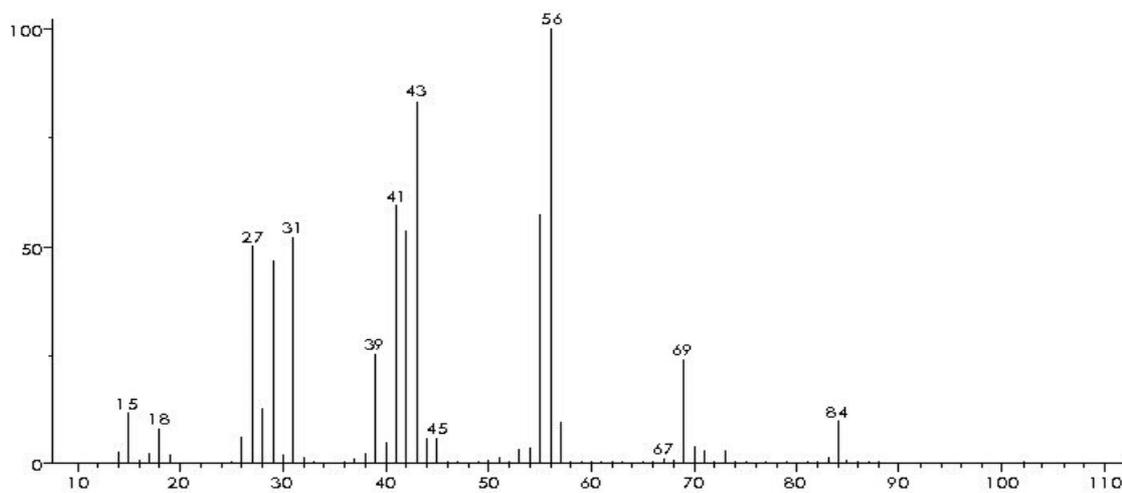
Anexo H. Fragmentaciones de masas para 3Z-Hexenol



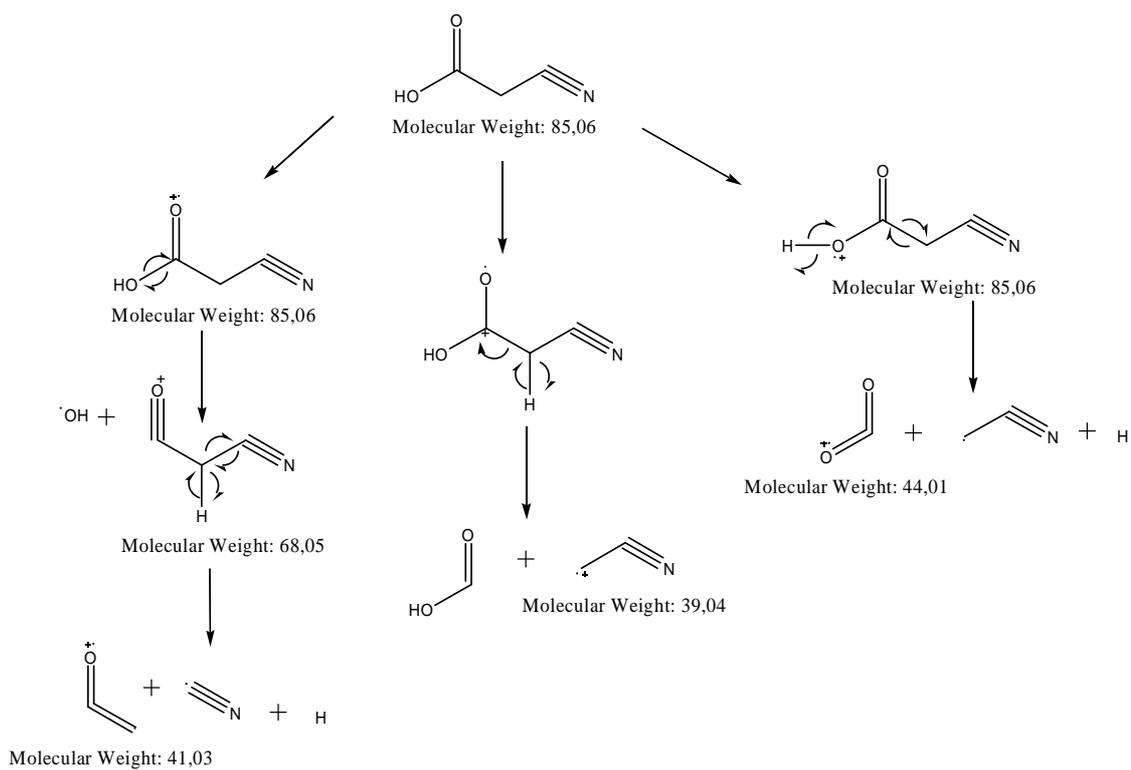
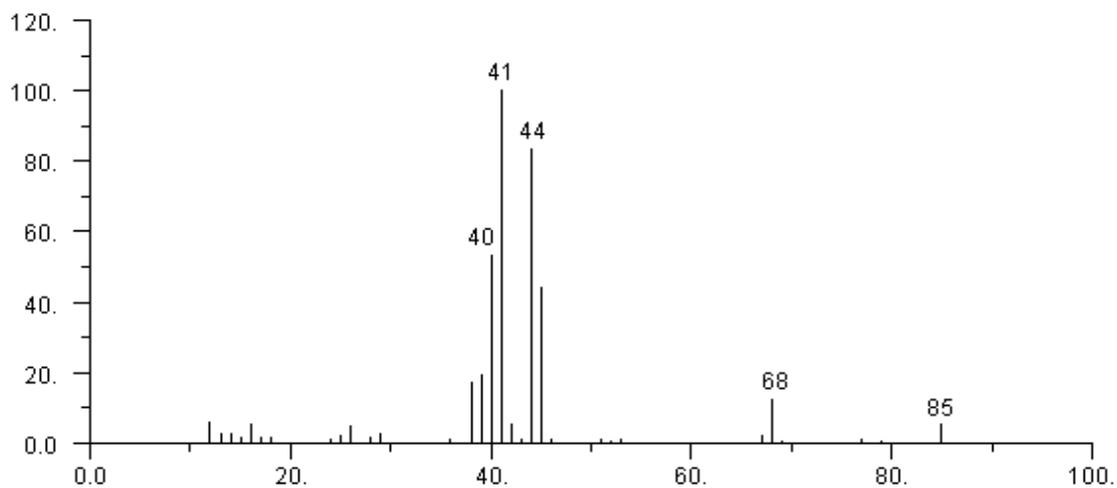
Anexo I. Fragmentaciones de masas para 2Z-Hexenol



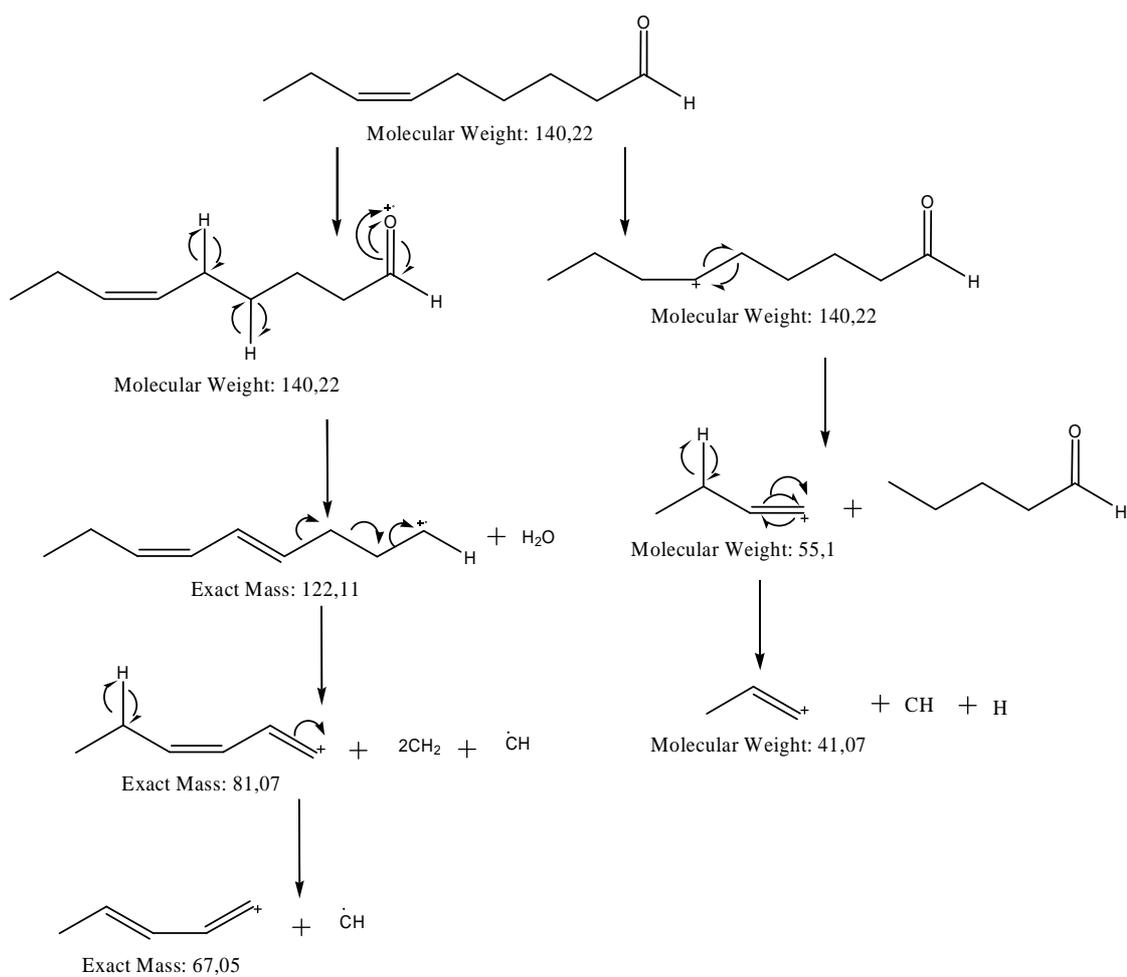
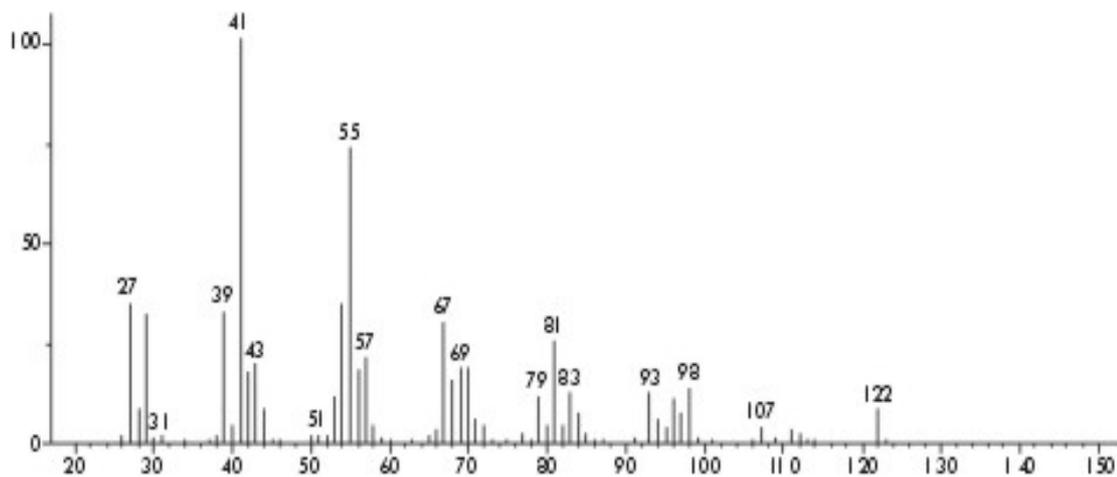
Anexo J. Fragmentaciones de masas para 1-Hexanol



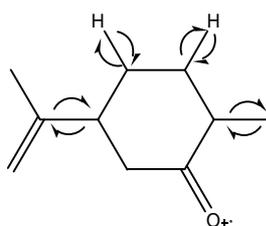
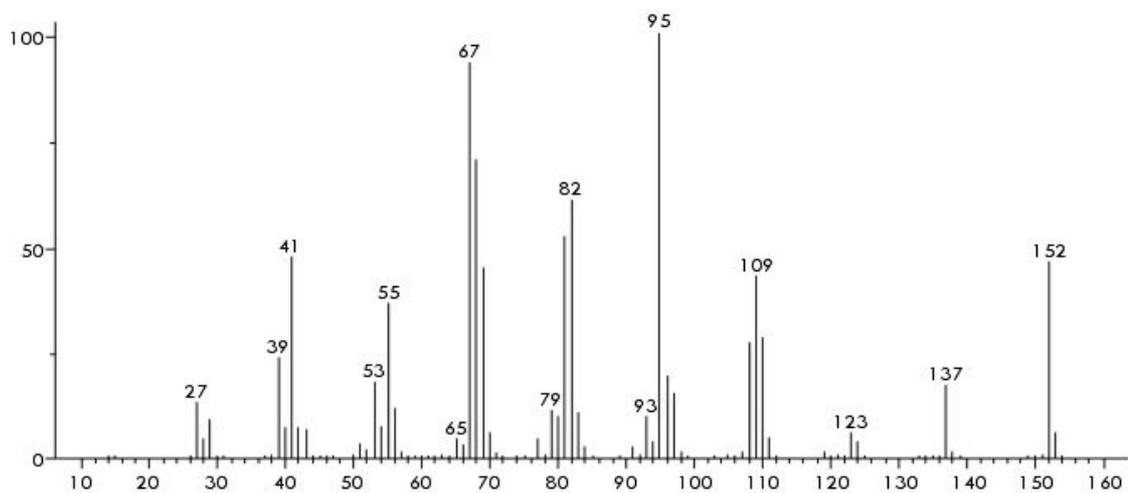
Anexo K. Fragmentaciones de masas para ácido cianoacético



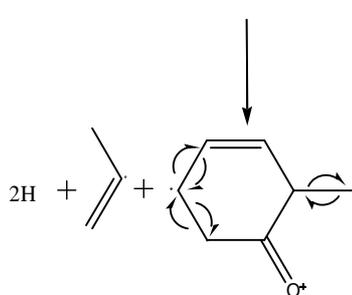
Anexo L. Fragmentaciones de masas para 6Z-Nonenal



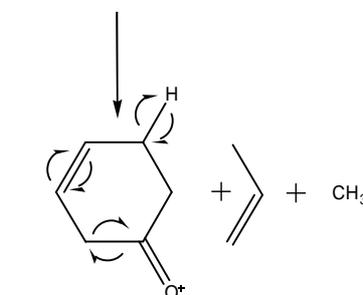
Anexo M. Fragmentaciones de masas para Dihidrocarbona



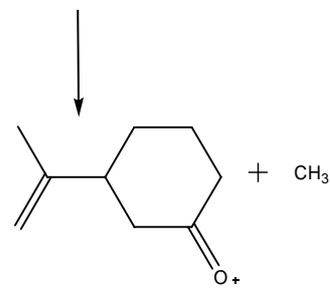
Molecular Weight: 152,23



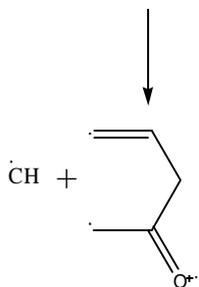
Molecular Weight: 109,15



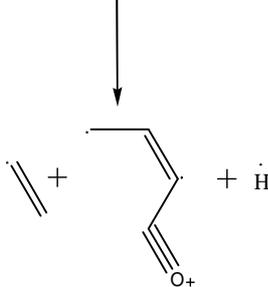
Molecular Weight: 95,12



Molecular Weight: 137,2

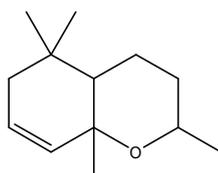
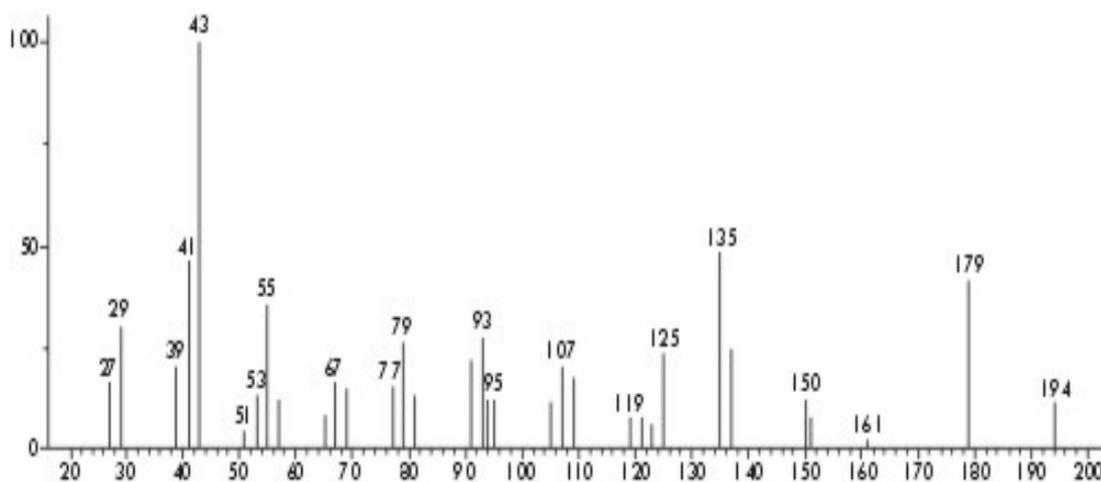


Molecular Weight: 82,1

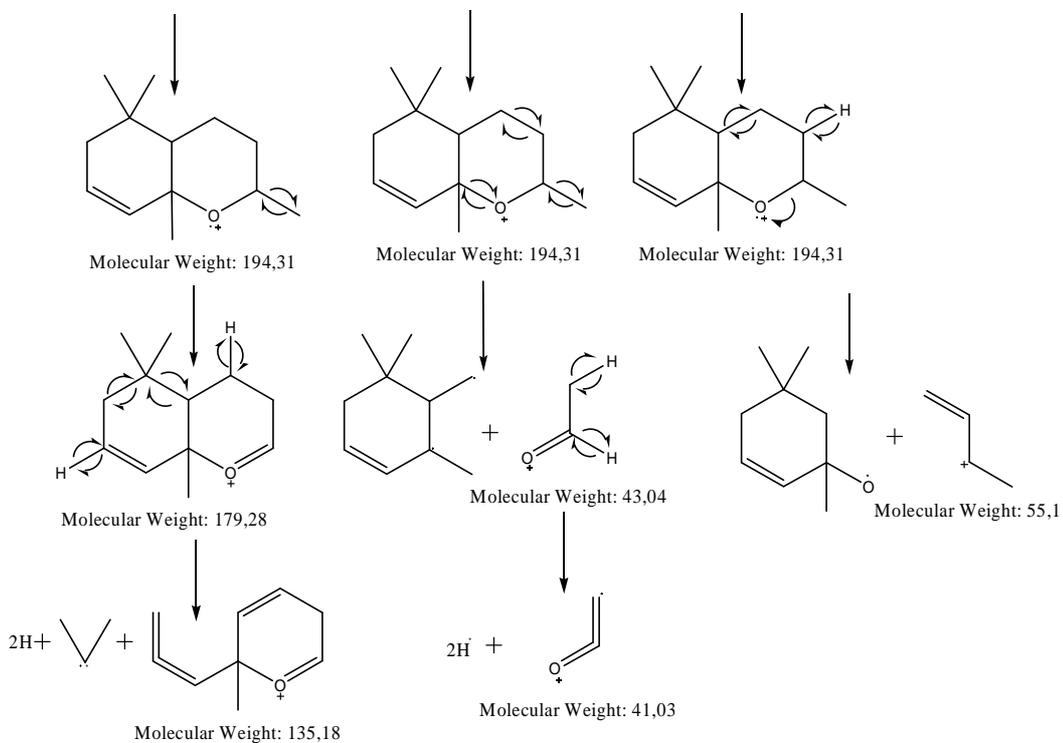


Molecular Weight: 67,07

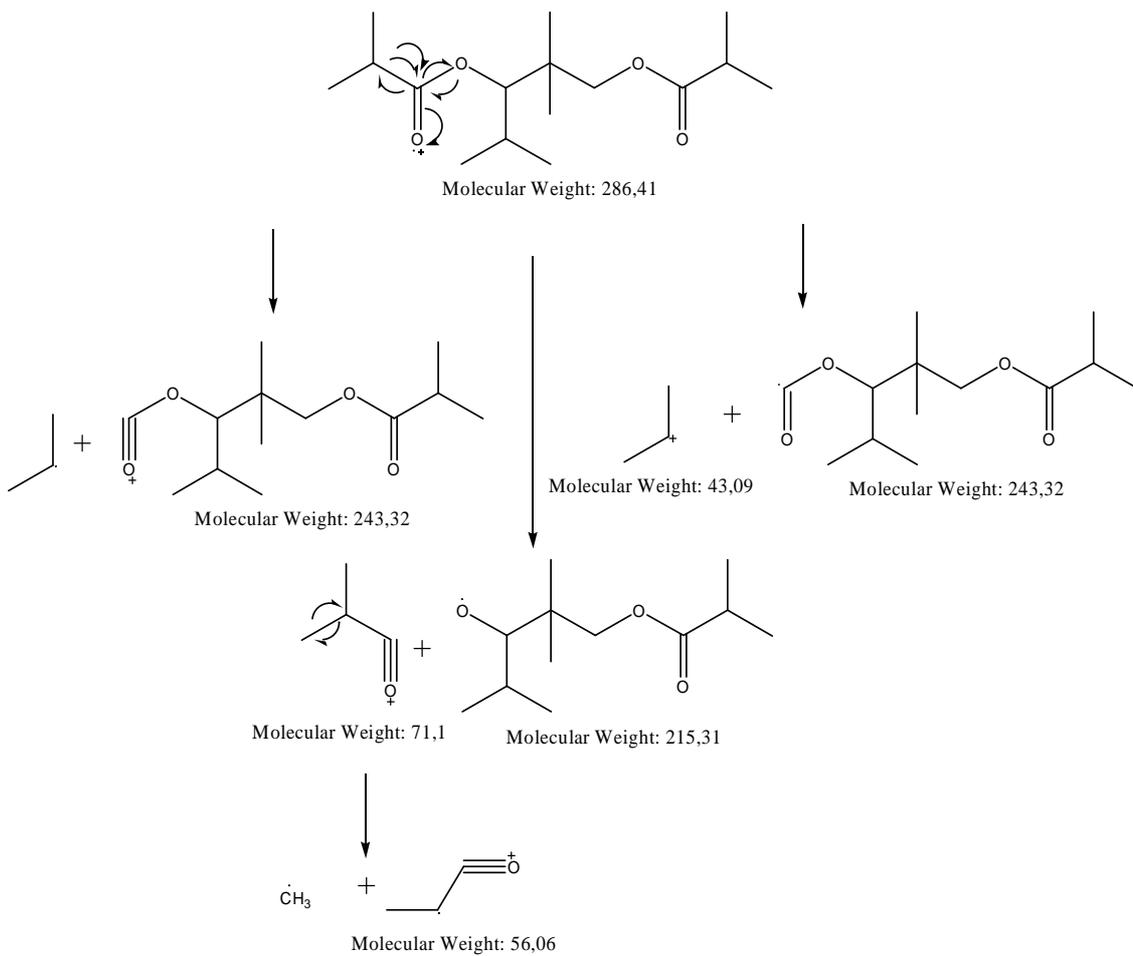
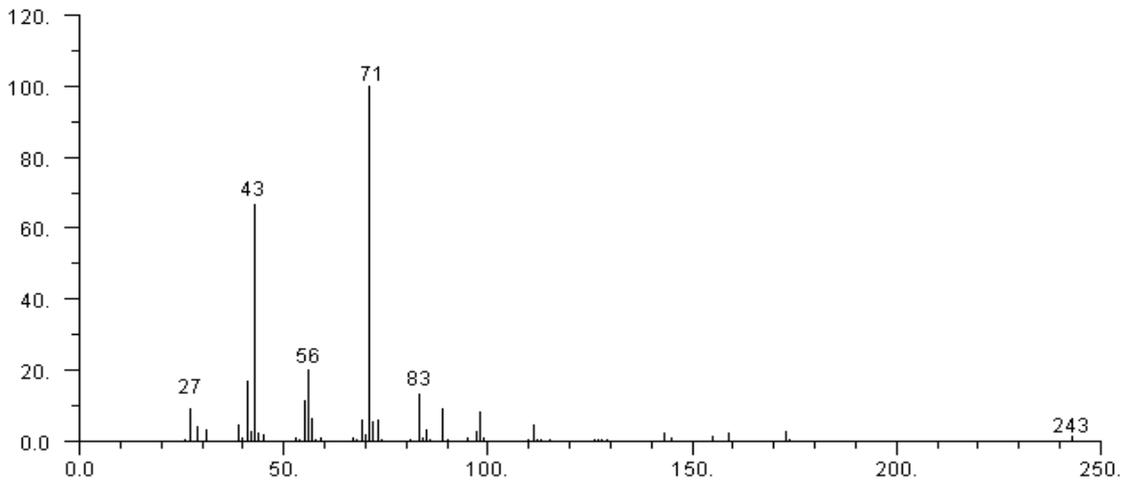
Anexo N. Fragmentaciones de masas para Dihidroeudelan II



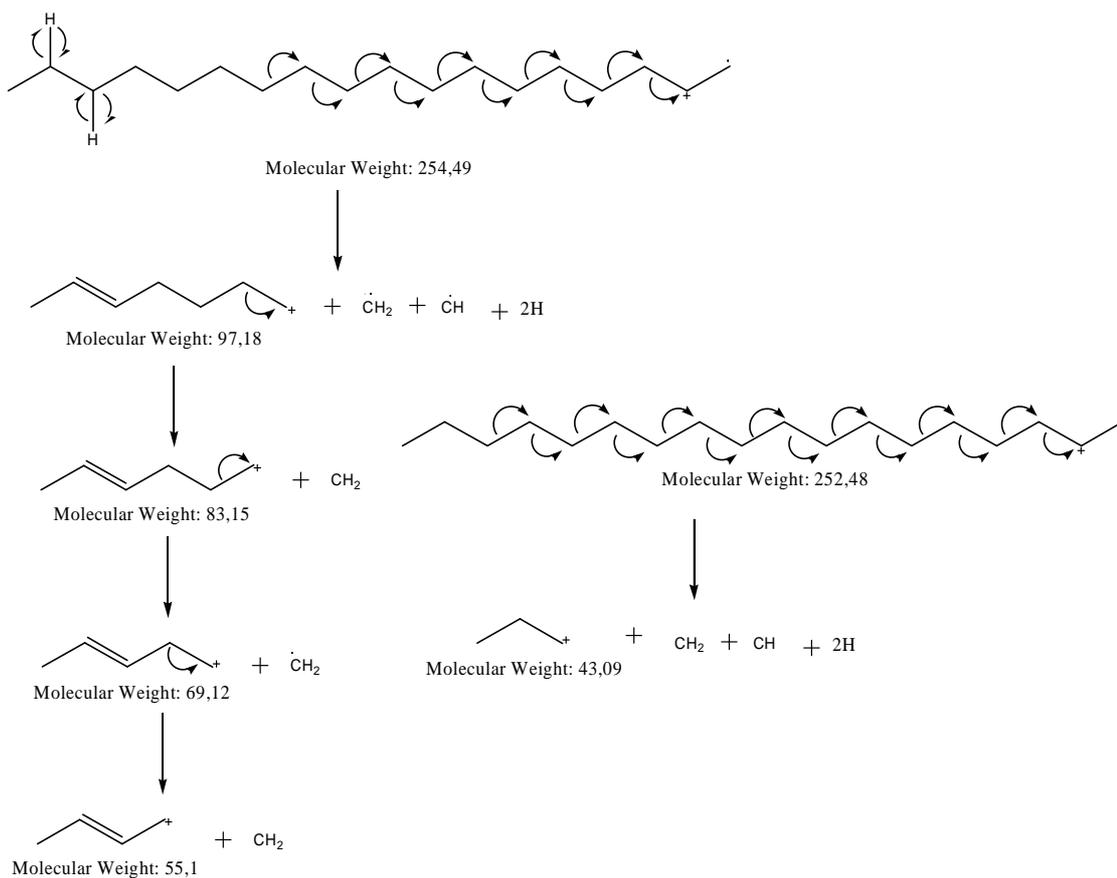
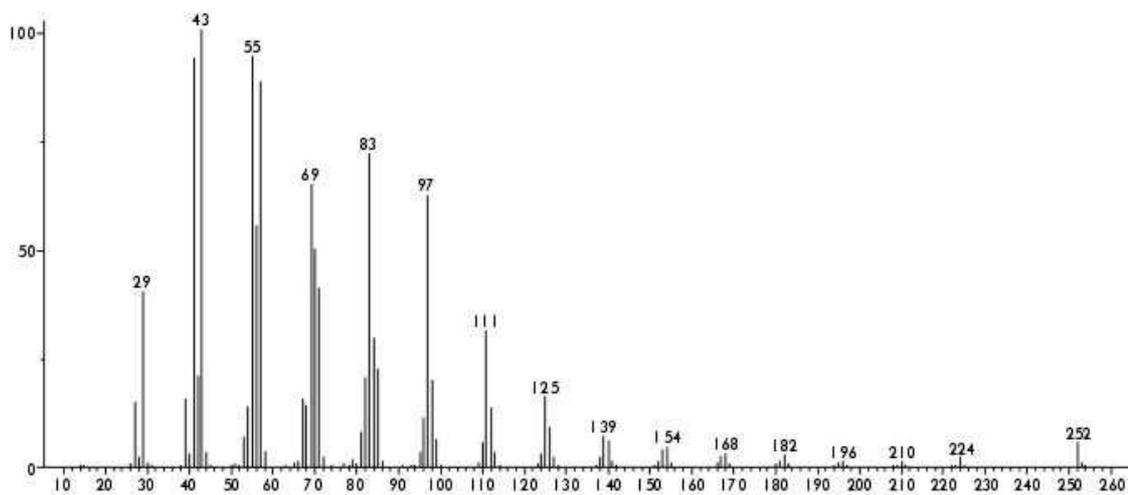
Molecular Weight: 194,31



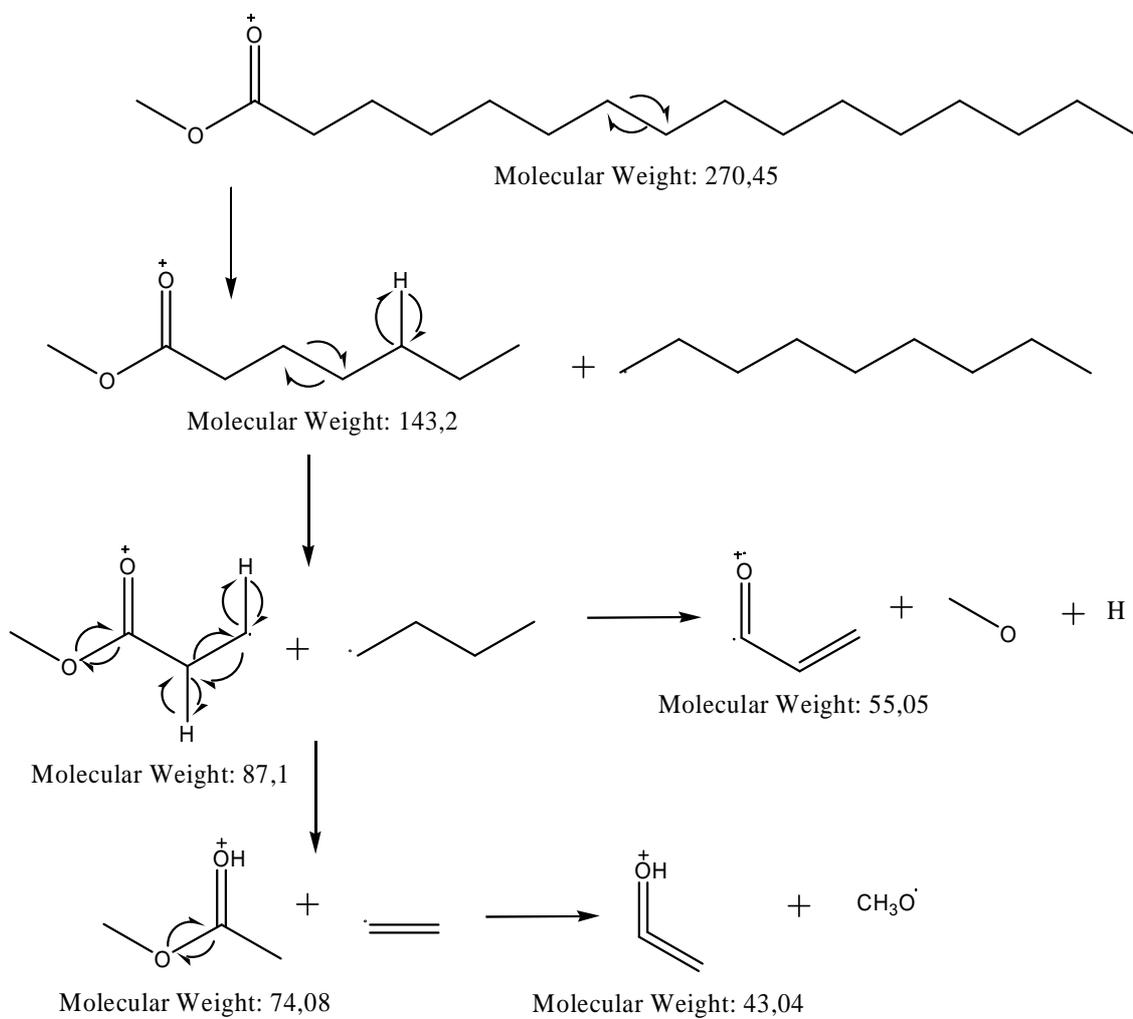
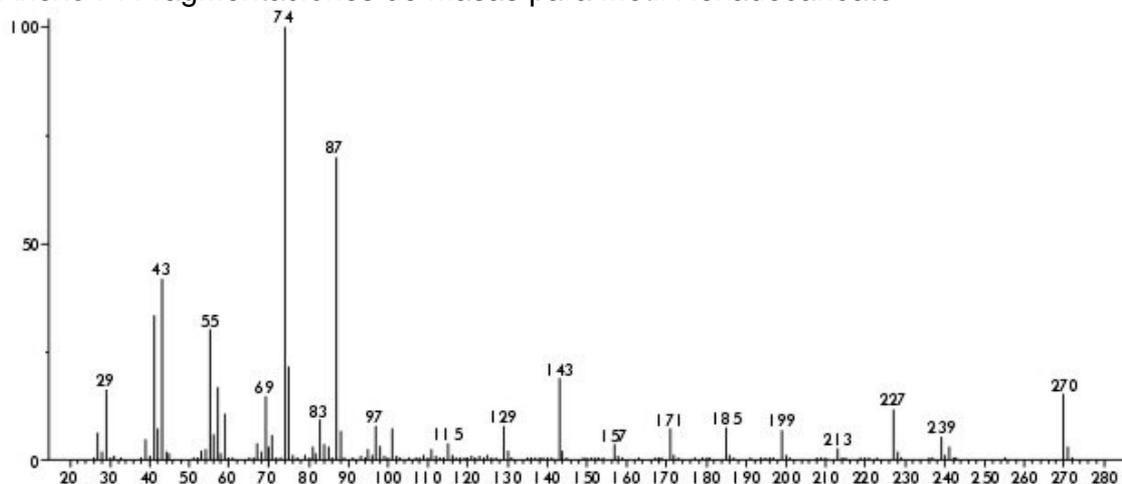
Anexo Ñ. Fragmentaciones de masas para 2,2,4-Trimetil-1,3-pentanediol diisobutirato



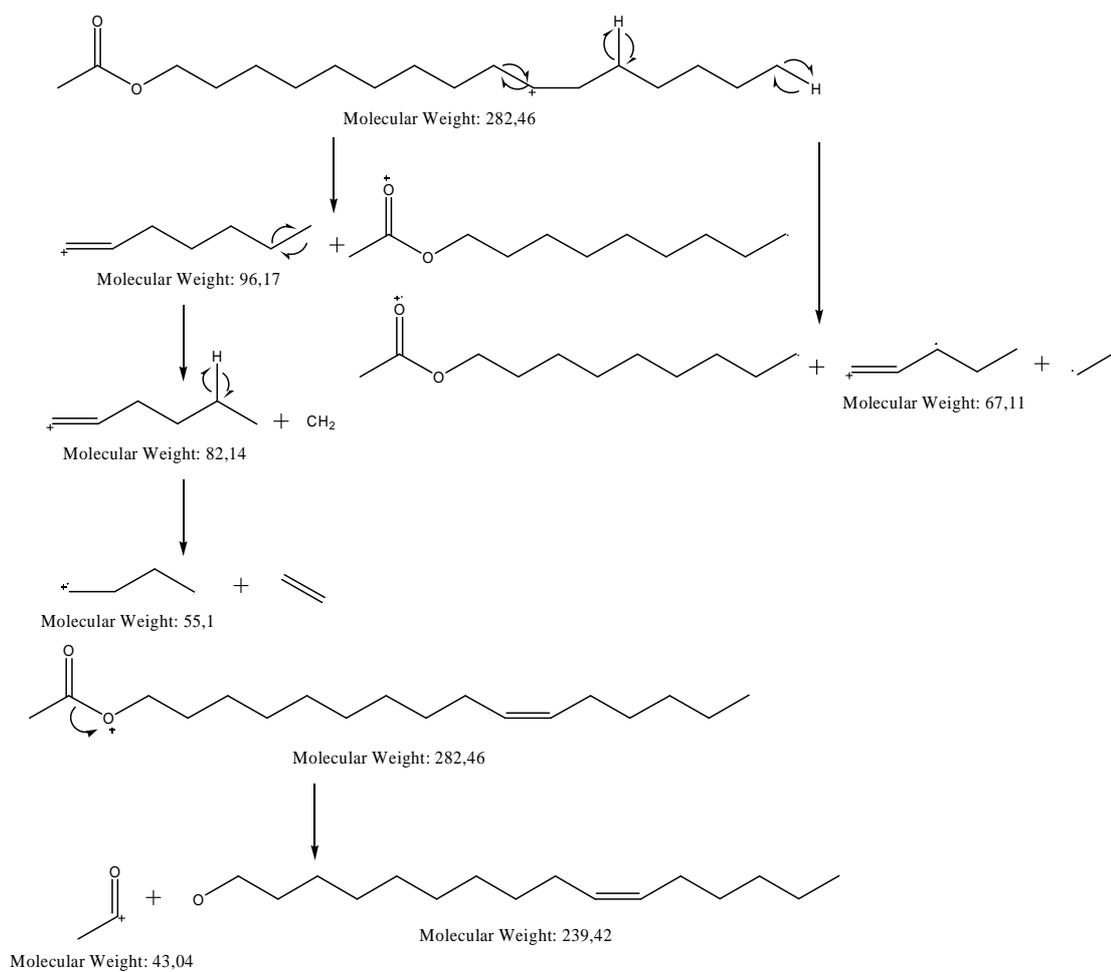
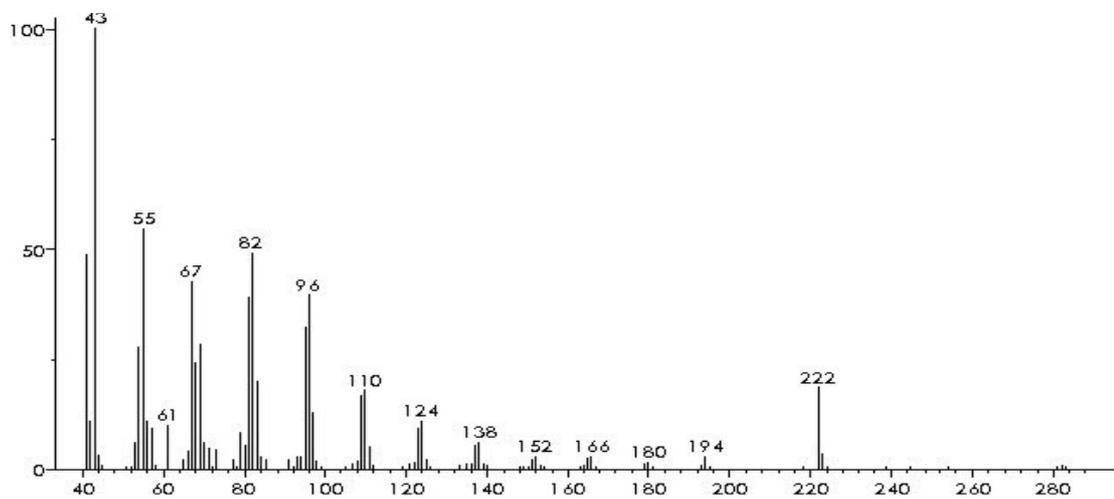
Anexo O. Fragmentaciones de masas para 1-Octadeceno



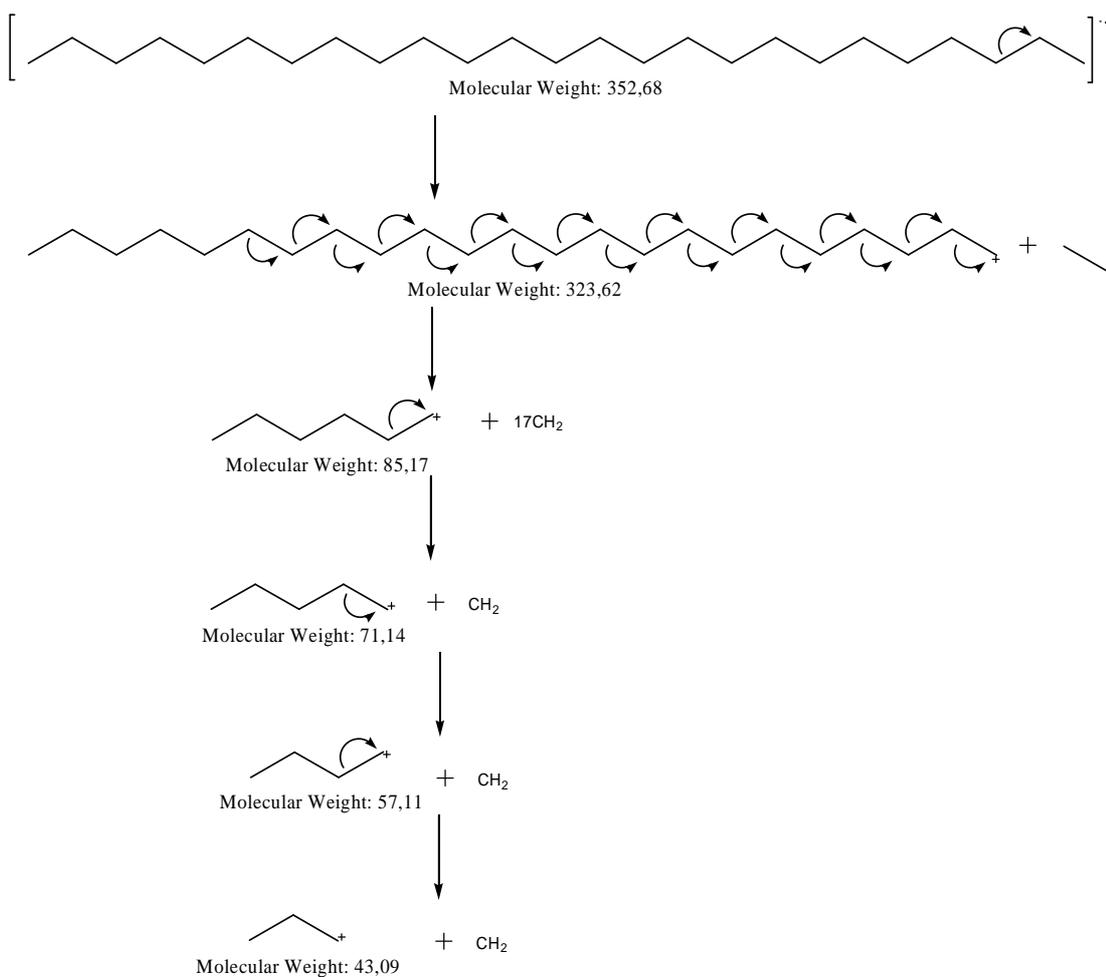
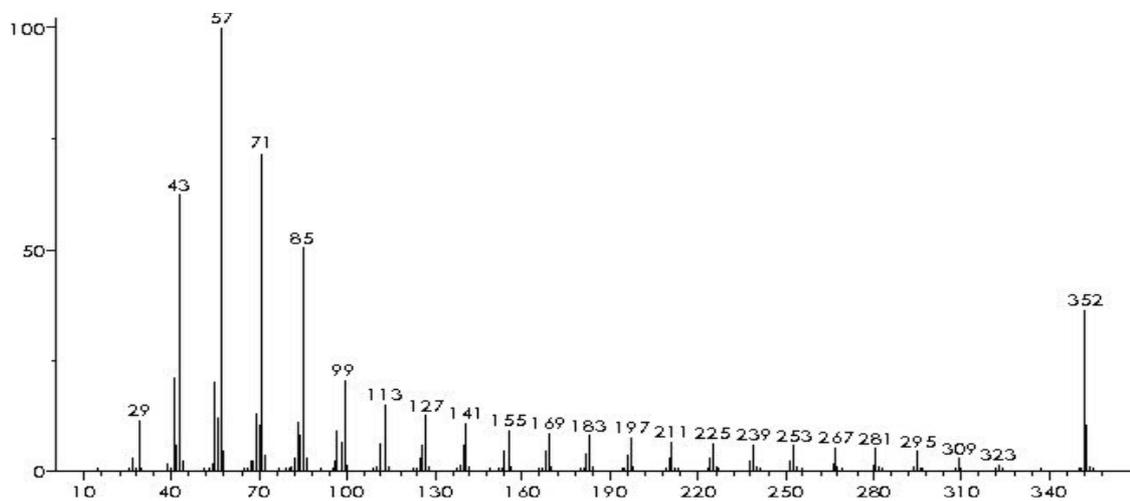
Anexo P. Fragmentaciones de masas para Metil Hexadecanoato



Anexo Q. Fragmentaciones de masas para 10Z-Hexadecenil acetato



Anexo R. Fragmentaciones de masas para n-Pentacosano



Anexo S. Fragmentaciones de masas para n-Heptacosano

