

CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPONENTES MAYORITARIOS
PRESENTES EN EL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS Y TALLO DE LA PLANTA
SALVIELUGO DEL GALERAS "*Lepechinia vulcanicola*"
POR MEDIO DE CG-EM

ANDRÉS FERNANDO ROSERO ORTIZ

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
SAN JUAN DE PASTO
2013

CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPONENTES MAYORITARIOS
PRESENTES EN EL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS Y TALLO DE LA PLANTA
SALVIELUGO DEL GALERAS "*Lepechinia vulcanicola*"
POR MEDIO DE CG-EM

ANDRÉS FERNANDO ROSERO ORTIZ

Trabajo presentado como requisito parcial para optar al título de Químico

Asesor

OLGA LUCIA BENAVIDES
I.Q.,M.Sc. Ciencias Químicas

Co - asesor

DAVID ARTURO PERDOMO
Químico

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
SAN JUAN DE PASTO
2013

“Las ideas y conclusiones aportadas en el Trabajo de Grado son responsabilidad exclusiva de sus autores”

Artículo 1 del acuerdo 11 de 1966, emanado del honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación

OLGA LUCIA BENAVIDES
I.Q.,M.Sc. Ciencias Químicas
Director:

DAVID ARTURO PERDOMO
Químico
Co-Director:

Jurado 1.

Jurado 2.

DEDICATORIA

Este trabajo es la prueba que sin importar las dificultades que se puedan presentar siempre en una caída nos debemos levantar y con la frente en alto seguir adelante ya que a lo largo de nuestra vida estará ese ser supremo llamado DIOS el cual nunca nos abandonara y siempre nos dará la fuerza para luchar cada día.

Le dedico este trabajo al alma de mi madre Rosa Ortega ya que ella fue la mujer que dio su vida para que yo lograra ser un Profesional.

A mis hijos Francisco Alejandro Rosero y Manuel Fernando Rosero porque ellos son la misión que Dios me dio en este planeta y una de las razones por las cuales logre culminar este trabajo.

A toda mi familia en especial a mi hermana Isis Janeth Rosero porque ella a pesar de las múltiples circunstancias de la vida me apoyo incondicionalmente y confió en mis capacidades para lograr esta meta

A Mario Fernando Mena, porque ha sido la persona que en estos tres años ha estado a mi lado de forma incondicional mostrándome lo maravilloso que es vivir; siendo él, en múltiples ocasiones la luz que ha iluminado la más profunda oscuridad, gracias.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Nariño y a la Vicerrectoría de Investigaciones (VIPRI) por la financiación y apoyo económico mediante el cual se realizó el presente trabajo de grado.

De manera especial a la profesora, Magister en ciencias químicas Olga Lucia Benavides por su colaboración y su aceptación en el grupo de investigación BIOTA.

Y de igual forma al químico - Técnico en Cromatografía David Arturo Perdomo por su interés y asesoría constante, siendo él un pilar fundamental en el desarrollo de la presente investigación.

Al acogimiento y gran colaboración por parte de todos los integrantes del laboratorio de cromatografía y en especial a la Doctora Elena Stashenko, directora del Centro de Investigación CENIVAM de la Universidad Industrial de Santander.

A mis amigos Armando Bastidas, Wilson Álvarez, David Arturo, y Carol Ibarra por haberme regalado su amistad.

TABLA DE CONTENIDO

	PÁG.
INTRODUCCIÓN	19
1. OBJETIVOS	20
2. MARCO TEÓRICO	21
2.1. BIOGÉNESIS DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS (TERPENOIDES) DE ORIGEN VEGETAL	25
2.2. TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN Y ANÁLISIS	27
2.2.1. TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN	27
2.2.2. TÉCNICAS DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL	28
2.2.3. IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS DEL ACEITE ESENCIAL	30
2.2.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	32
3. ANTECEDENTES DE LA ESPECIE VEGETAL	33
3.1. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA	33
3.2. ORIGEN Y UBICACIÓN	34
3.3. USOS COMUNES	34
3.4. ESTUDIOS REALIZADOS	34
4. METODOLOGÍA	37
4.1. IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA Y RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL	37
4.2. EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS Y TALLO DE LA PLANTA SALVIELUGO DEL GALERAS (<i>LEPECHINIA VULCANICOLA</i>) POR MEDIO DE HIDRODESTILACIÓN ASISTIDA POR RADIACIÓN MICROONDAS (MWHF).	39
4.3. IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS MAYORITARIOS DEL ACEITE ESENCIAL DE LA PLANTA SALVIELUGO DEL GALERAS (<i>LEPECHINIA VULCANICOLA</i>) POR (CG/EM).	41

4.3.1. ANÁLISIS PRELIMINAR POR CG	41
4.3.2. IDENTIFICACIÓN DE LOS COMPONENTES MAYORITARIOS	42
4.3.3. CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPONENTES MAYORITARIOS	44
5. ANÁLISIS DE RESULTADOS	45
5.1. RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL MATERIAL VEGETAL	45
5.1.1. SELECCIÓN DEL SOLVENTE	45
5.1.2. SELECCIÓN DE LAS CONDICIONES ÓPTIMAS DE EXTRACCIÓN	46
5.1.3. IDENTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS MAYORITARIOS MEDIANTE CG/EM	57
5.1.4. IDENTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS MAYORITARIOS POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS	81
5.1.5. CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPONENTES MAYORITARIOS MEDIANTE ESTÁNDAR INTERNO	85
6. DIFERENCIAS EN LA CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS Y TALLO DE LA PLANTA SALVIELUGO DEL GALERAS (<i>LEPECHINIA VULCANICOLA</i>)	87
6.1. DIFERENCIAS EN LA CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS Y TALLO DE ACUERDO AL NÚMERO DE COMPUESTOS IDENTIFICADOS	87
6.2. DIFERENCIAS EN LA CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS Y TALLO DE ACUERDO A SU COMPOSICIÓN QUÍMICA	88
6.3. DIFERENCIAS EN LA CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS Y TALLO DE ACUERDO AL PORCENTAJE DE COMPUESTOS IDENTIFICADOS	91

6.4. DIFERENCIAS EN LA CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS Y TALLO DE ACUERDO A SU ESTRUCTURA QUÍMICA.	92
7. COMPARACIÓN BIBLIOGRÁFICA DE LOS COMPONENTES DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS Y TALLOS DE LA PLANTA SALVIELUGO DEL GALERAS (<i>LEPECHINIA VULCANICOLA</i>) RESPECTO A LOS COMPONENTES MAYORITARIOS REPORTADOS EN DIFERENTES GÉNEROS DE LEPECHIA.	100
8. PROPIEDADES GENERALES DE LOS COMPUESTOS MAYORITARIOS IDENTIFICADOS EN EL ACEITE ESENCIAL DE LA PLANTA SALVIELUGO DEL GALERAS (<i>LEPECHINIA VULCANICOLA</i>)	103
CONCLUSIONES	108
RECOMENDACIONES	109
BIBLIOGRAFÍA	110
ANEXOS	

LISTA DE TABLAS

	Pag
Tabla 1. Condiciones operacionales aplicadas al equipo de MWHD	40
Tabla 2. Tratamientos aplicados en la extracción del AE por MWHD para hojas y tallos	40
Tabla3. Parámetros del equipo de <i>CG/EM ANGILENT TECHNOLOGIES 6890PLUS</i> del laboratorio de la Universidad Industrial de Santander.	43
Tabla 4. Pruebas de solubilidad del AE de hojas y tallo	45
Tabla 5. Resultados preliminares por cromatografía de gases (CG) para el primer tratamiento de extracción a condiciones de 60%W/60min aplicado a hojas.	46
Tabla 6. Resultados preliminares por cromatografía de gases (CG) para el segundo tratamiento de extracción a condiciones de 80%W/60min aplicado a hojas.	47
Tabla 7. Resultados preliminares por cromatografía de gases (CG) para el tercer tratamiento de extracción a condiciones de 60%W/90min aplicado a hojas.	47
Tabla 8. Resultados preliminares por cromatografía de gases (CG) para el cuarto tratamiento de extracción a condiciones del 80%W/90min aplicado a hojas.	48
Tabla 9. Resultados preliminares por cromatografía de gases (CG) para el primer tratamiento de extracción a condiciones del 60%W/60min aplicado a tallos.	49
Tabla 10. Resultados preliminares por cromatografía de gases (CG) para el segundo tratamiento de extracción a condiciones del 80%W/60min aplicado a tallos.	49
Tabla 11. Resultados preliminares por cromatografía de gases (CG) para el tercer tratamiento de extracción a condiciones del 60%W/90min aplicado a tallos.	50
Tabla 12. Resultados preliminares por cromatografía de gases (CG) para el cuarto tratamiento de extracción a condiciones del 80%W/90min aplicado a tallos.	51

Tabla 13. Número de compuestos correspondientes a hojas determinados de acuerdo a los parámetros de extracción con áreas mayores o iguales a 5000 cuentas.	52
Tabla 14. Número de compuestos correspondientes a tallos determinados de acuerdo a los parámetros de extracción con áreas mayores o iguales a 500 cuentas.	52
Tabla 15. Diseño de tratamiento factorial aplicado a hojas y tallos.	52
Tabla 16. Relación de niveles y factores de acuerdo al diseño de tratamiento factorial (2^2) para hojas y tallos.	53
Tabla 17. Análisis de varianza de acuerdo al número de compuestos mayoritarios presentes en hojas.	53
Tabla 18. Análisis de varianza de acuerdo al número de compuestos mayoritarios presentes en tallos.	53
Tabla 19. Identificación de los componentes mayoritarios del AE presente en las hojas del Salvielugo del Galeras (<i>Lepechinia vulcanicola</i>) por columna apolar DB-1.	59
Tabla 20. Identificación de los componentes mayoritarios del AE presente en el tallo del Salvielugo del Galeras (<i>Lepechinia vulcanicola</i>) por columna apolar DB-1.	61
Tabla 21. Identificación de los componentes mayoritarios del AE presente en hojas del Salvielugo del Galeras (<i>Lepechinia vulcanicola</i>) por columna polar DB-WAX.	71
Tabla 22. Identificación de los componentes mayoritarios del AE presente en tallo del Salvielugo del Galeras (<i>Lepechinia vulcanicola</i>) por columna polar DB-WAX.	73
Tabla 23. Compuestos identificados mediante columna polar DB-WAX en hojas.	74
Tabla 24. Compuestos identificados mediante columna polar DB-WAX en tallo.	75
Tabla 25. Componentes totales del AE de hojas de la planta Salvielugo del Galeras (<i>Lepechinia vulcanicola</i>) determinada por medio de columna apolar DB-1 y columna polar DB-WAX.	78
Tabla 26. Composición química del AE del tallo de la planta Salvielugo del Galeras (<i>Lepechinia vulcanicola</i>) determinada por medio de columna apolar DB-1 y columna polar DB-WAX.	80

Tabla 27. Componentes con mayor cantidad relativa para hojas y tallo presentes en el AE de la planta Salvielugo del Galeras (<i>Lepechinia vulcanicola</i>), índice de kovats.	81
Tabla 28. Cuantificación de los componentes mayoritarios del AE de hojas y tallo de la planta Salvielugo del Galeras (<i>Lepechinia vulcanicola</i>) mediante columna DB – 5.	85
Tabla 29. Diferencias en la caracterización del AE de hojas y tallo de la planta Salvielugo del Galeras (<i>Lepechinia vulcanicola</i>) de acuerdo a número de compuestos identificados mediante CG/EM en columna DB-1 y DB-WAX.	87
Tabla 30. Diferencias en la caracterización del AE de hojas y tallo de la planta Salvielugo del Galeras (<i>Lepechinia vulcanicola</i>) de acuerdo a su composición química.	88
Tabla 31. Diferencias en la caracterización de acuerdo al porcentaje de compuestos identificados en el AE de hojas y tallo de la planta Salvielugo del Galeras (<i>Lepechinia vulcanicola</i>).	92
Tabla 32. Componentes mayoritarios reportados para diferentes géneros de lepechinias y para el Salvielugo del Galeras (<i>Lepchinia vulcanicola</i>).	100
Tabla 33. Número de compuestos correspondientes a hojas determinados de acuerdo a los parámetros de extracción con áreas mayores o iguales a 500 cuentas.	137
Tabla 34. Análisis de varianza de acuerdo al número de compuestos mayoritarios presentes en hojas con áreas mayores a 500 cuentas.	137

LISTA DE GRAFICAS

	Pag
Grafica 1. Cromatograma para el primer tratamiento de extracción en hojas a condiciones del 60%W/60min.	46
Grafica 2. Cromatograma para el segundo tratamiento de extracción en hojas a condiciones del 80%W/60min.	47
Grafica 3. Cromatograma para el tercer tratamiento de extracción en hojas a condiciones del 60%W/90min. 42	48
Grafica 4. Cromatograma para el cuarto tratamiento de extracción en hojas a condiciones del 80%W/90min.	48
Grafica 5. Cromatograma para el primer tratamiento de extracción en tallos a condiciones de 60%W/60min.	49
Grafica 6. Cromatograma para el segundo tratamiento de extracción en tallos a condiciones de 80%W/60min.	50
Grafica 7. Cromatograma para el tercer tratamiento de extracción en tallos a condiciones de 60%W/90min.	50
Grafica 8. Cromatograma para el cuarto tratamiento de extracción en tallos a condiciones de 80%W/90min.	51
Grafica 9. Gráfica de medias (Fischer LSD) para hojas.	54
Grafica 10. Gráfica de medias (Fischer LSD) para tallos.	55
Grafica 11. Cromatograma de hojas aplicando las mejores condiciones de extracción (W80%/90min).	56
Grafica 12. Cromatograma de tallos aplicando las mejores condiciones de extracción (W80%/60min).	56
Grafica 13. Cromatograma (TIC) del AE de Hojas en columna apolar DB1.	57
Grafica 14. Cromatograma (TIC) del AE de tallos en columna apolar DB1.	58
Grafica 15. Cromatograma (TIC) de hidrocarburos (C9 – C25) lineales obtenido en columna apolar.	58

Grafica 16. Cantidad relativa (%) de los componentes mayoritarios del AE en hojas mediante columna apolar DB-1.	68
Grafica 17. Cantidad relativa (%) de los componentes mayoritarios del AE en tallos mediante columna apolar DB-1.	69
Grafica 18. Cromatograma (TIC) del AE de hojas en columna polar DB-WAX.	69
Grafica 19. Cromatograma (TIC) del AE de tallos en columna polar DB-WAX.	70
Grafica 20. Cromatograma (TIC) de hidrocarburos (C10-C25) en columna polar DB-WAX. 64	70
Grafica 21. Cantidad relativa (%) de los componentes mayoritarios del AE en hojas mediante columna polar DB-WAX.	77
Grafica 22. Cantidad relativa (%) de los componentes mayoritarios del AE en tallos mediante columna polar DB-WAX.	77
Grafica 23. Espectro de masas experimental del Ledol. (Compuesto mayoritario en hojas y tallo) columna DB-1.	82
Grafica 24. Espectro de masas experimental del Limoneno. (Compuesto mayoritario en hojas) en columna DB-1.	83
Grafica 25. Espectro de masas experimental del Palustrol. (Compuesto mayoritario en hojas y tallo) columna DB-1.	84
Grafica 26. Abundancia de los compuestos mayoritarios presentes en el AE de hojas de la planta Salvielugo del Galeras (<i>Lepechinia vulcanicola</i>).	86
Grafica 27. Diferencias respecto al número de compuestos identificados en el AE de hojas y tallo de la planta Salvielugo del Galeras (<i>Lepechinia vulcanicola</i>).	88
Grafica 28. Porcentaje de compuestos identificados positivamente en el AE de hojas y tallo de la planta Salvielugo del Galeras (<i>Lepechinia vulcanicola</i>).	91
Grafica 29. Variación de la cantidad relativa respecto a las familias químicas clasificadas en hojas.	95
Grafica 30. Variación de la cantidad relativa respecto a las familias químicas clasificadas en tallos.	98

LISTA DE FIGURAS

	Pag
Figura 1. Fotografía: Salvielugo del Galeras " <i>Lepechinia vulcanicola</i> ."	23
Figura 2. Unidad estructural característica de los terpenoides.	24
Figura 3. Biogénesis de los metabolitos secundarios presentes en el aceite esencial.	26
Figura 4. Equipo utilizado para MWHD.	28
Figura 5. Diagrama de un cromatógrafo de gases convencional.	29
Figura 6. Diagrama de un sistema convencional de cromatografía de gases/masas.	30
Figura 7. Salvielugo del galeras (<i>Lepechinia vulcanicola</i>).	33
Figura 8. Sitio de muestreo, Corregimiento de Gualmatán.	38
Figura 9. Material seco listo para la extracción del aceite esencial.	38
Figura 10. Equipo de MWHD, Universidad de Nariño.	39
Figura 11. Cromatógrafo de gases, Laboratorios especializados de la Universidad de Nariño.	41
Figura 12. Equipo CG/EM AGILENT TECHNOLOGIES6890 PLUS	44

LISTA DE CUADROS

	Pag
Cuadro 1. Distribución de las especies del género <i>Lepechinia</i> .	22
Cuadro 2. Compuestos reportados en el género <i>Lepechinia</i> .	36
Cuadro 3. Especificaciones técnicas del equipo MWHD.	40
Cuadro 4. Clasificación taxonómica de la especie vegetal.	45
Cuadro 5. Estructuras de los componentes mayoritarios del AE presentes en hojas de la planta Salvielugo del Galeras (<i>Lepechinia v</i>).	62
Cuadro 6. Estructuras de los Componentes mayoritarios del AE presentes en tallo de la planta Salvielugo del Galeras (<i>Lepechinia vulcanicola</i>).	66
Cuadro 7. Estructuras de los componentes identificados del AE presentes en hojas de la planta Salvielugo del Galeras (<i>Lepechinia vulcanicola</i>) por columna polar DB-WAX.	75
Cuadro 8. Estructuras de los componentes identificados del AE presentes en tallos de la planta Salvielugo del Galeras (<i>Lepechinia vulcanicola</i>) por columna polar DB-WAX.	76
Cuadro 9. Estructura, familia y cantidad relativa de los componentes mayoritarios del AE de hojas.	92
Cuadro 10. Estructura, familia y cantidad relativa de los componentes mayoritarios del AE de tallos.	95

RESUMEN

El Salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*) es una planta endémica del sur occidente colombiano, que pertenece al género *Lepechinia sp.*; el cual se caracteriza por su contenido de aceite esencial con propiedades medicinales. En esta investigación se realizó la identificación y cuantificación de los componentes mayoritarios del aceite esencial presente en hojas y tallos de esta planta.

La extracción del aceite esencial se hizo mediante Hidrodestilación Asistida por Microondas. Se optimizaron las condiciones de extracción en 80% de potencia y 60 minutos para las hojas, así como 80% de potencia y 90 minutos para los tallos.

Se analizó el aceite esencial de hojas y tallos mediante CG-FID, con columna DB-5 y CG – EM con columna, DB-1 y DB-WAX. Fueron identificaron 82 compuestos en hojas y 27 en tallos, de los cuales 19 y 13 resultaron mayoritarios, respectivamente. Entre los compuestos identificados en hojas están ledol (14.87%), limoneno (12.52%) y palustrol (9.72%); mientras que en tallos también se halló ledol (46.77%) y palustrol (20.8%), en cantidades variables. Por otro lado, en los tallos se encontró epóxido de humuleno (1.42%) y viridiflorol (3.58%), compuestos que resultaron ausentes en hojas.

En la composición del aceite esencial de hojas y tallos se encontró una mayor presencia de sesquiterpenos oxigenados, seguido de sesquiterpenos hidrocarbonados, monoterpenos hidrocarbonados y por último monoterpenos oxigenados.

ABSTRACT

The Galeras Salvielugo (*Lepechinia Vulcanicola*) is an endemic plant of the South-western Colombia, that belongs to the genus *Lepechinia sp.*; which is characterized by its content of essential oil with medicinal properties. This research was the identification and quantification of the major components of the essential oil present in leaves and stems of this plant. The extraction of the essential oil was made by microwave-assisted Hydrodistillation. Conditions of extraction in 80% of power and 60 minutes for the leaves, as well as 80% of power and 90 minutes for the stems were optimized. It was analyzed the essential oil from leaves and stems by GC-FID with column DB-5 and GC - MS with column, DB-1 and DB-WAX. They were identified 82 compounds in leaves and 27 on stalks, of which 19 and 13 were majority, respectively. Among the compounds identified in leaves are ledol (14.87%), limonene (12.52%) and palustrol (9.72%); while..While ledol was also found in stems (46.77%) and palustrol (20.8%), in varying amounts. On the other hand, the stems found humulene Epoxy (1.42%) and viridiflorol (3.58%), compounds that were absent in leaves. The composition of the essential oil of leaves and stems found a greater presence of oxygenated sesquiterpenes, followed by hydrocarbon sesquiterpenes, hydrocarbon monoterpenes and finally oxygenated monoterpenes.

INTRODUCCIÓN

El Departamento de Nariño gracias a su posición geográfica presenta diversidad de climas por tal razón se encuentra un amplio rango de especies vegetales, esto ha proporcionado gran variedad de productos tanto para la industria como para el abastecimiento regional; tal es el caso de las plantas aromáticas pertenecientes al género (*Lepechinia sp*), también son conocidas por nombres vulgares tales como la salvia, la artemisa, el matico y son utilizadas por sus variadas propiedades medicinales.

El salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*), es una especie endémica de la región encontrada en el corregimiento de Gualmatán, planta más conocida con el nombre regional de Matico, utilizada principalmente para aliviar alteraciones estomacales, problemas de la piel, cicatrizaciones, cólicos y combinada con otras plantas para tratar heridas graves, golpes y demás.

A pesar de poseer todas estas propiedades medicinales, el salvielugo del Galeras es una especie de la cual no se ha encontrado un estudio químico referente a la composición de su aceite esencial, aunque se conocen estudios de otras especies que pertenecen al género *lepechinia*¹.

El estudio de los aceites esenciales (AEs) es una de las áreas de mayor investigación en diferentes países, entre ellos Colombia gracias a la gran utilidad que estos presentan en diferentes industrias ya sea de fragancias, sabores, agricultura y en campo de la medicina².

Existen gran variedad de plantas las cuales a pesar de su gran potencial biológico y químico solo se conocen por el uso popular, razón por la cual no se les presta el interés necesario, tal es el caso del salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*), planta que a pesar de ser “clasificada como vulnerable”³ se la utiliza como lindero y planta ornamental.

En la presente investigación se realizó la extracción y caracterización de los componentes mayoritarios del aceite esencial por medio de la técnica (MWHD), y CG – EM contribuyendo así a su conocimiento químico. Igualmente se busca promover investigaciones mediante las cuales se logre un estudio más amplio en las múltiples propiedades químicas que la planta posee.

¹ FERNANDEZ, LUIS. RIVERA, ORLANDO. Las Labiadas (Familia Labiatae). Instituto de Ciencias naturales. Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá. 2002. Pag 497 – 501.

² <http://www.profruta.gob.gt/> consultado: febrero del 2011.

³ Ibid., FERNANDEZ, Pag 497 – 498.

1. OBJETIVOS

1.1. OBJETIVO GENERAL

Caracterizar los componentes mayoritarios del aceite esencial presente en hojas y tallo de la planta Salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*), cultivada en el corregimiento de Gualmatan, por la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM).

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Extraer el aceite esencial presente en tallos y hojas de la planta Salvielugo del galeras, utilizando la técnica de (MWHD) hidrodestilación asistida por microondas.
- ❖ Identificar y cuantificar los componentes mayoritarios presentes en el aceite esencial por medio de CG – EM
- ❖ Determinar las diferencias en la composición química del aceite esencial obtenido de hojas y tallo de la planta Salvielugo del Galeras de acuerdo a los compuestos identificados, composición química y presencia de familias químicas.

2. MARCO TEÓRICO

Los aceites esenciales son mezclas de sustancias orgánicas volátiles, pertenecientes a diferentes clases de compuestos como: hidrocarburos, ésteres, alcoholes, aldehídos, algunos ácidos, fenoles y sus derivados, lactonas, entre otros; todos, son productos de la biosíntesis vegetal, los llamados metabolitos secundarios de las plantas.

Por definición, los aceites esenciales son productos de la destilación con vapor o hidrodestilación del material vegetal en otras palabras, corresponden a aquellas sustancias que pueden ser “evaporadas” por acción de calor y agua (vapor).⁴ En su gran mayoría los aceites esenciales son agradables, aunque existen algunos que poseen un olor desagradable como es el caso del aceite esencial de la cebolla que se caracteriza por contener compuestos azufrados y el del salvielugo del galeras (*Lepechinia vulcanicola*) con un olor dulce.

Existe variabilidad del aceite esencial dependiendo de la planta de la cual se extrae ya sea en sus características físicas como en sus metabolitos secundarios los cuales tiene múltiples aplicaciones y funciones de acuerdo a la planta y al medio en el que estos se encuentran, además se hallan restringidos dependiendo de la especie o especies relacionadas taxonómicamente, por ejemplo las plantas del género *Lepechinia* sp, además se ha logrado observar que presentan gran diversidad estructural encontrando variabilidad en las familias químicas presentes.

Las plantas del género *Lepechinia* pertenecen a la familia de las labiadas las cuales son conocidas botánicamente con los nombres latinos de *Labiatae* (por la presencia de labios en sus flores) o *Lamiaceae* (por el nombre del género tipo de la familia, *Lamium*). Las labiadas son una familia de plantas aromáticas constituida principalmente por hierbas o arbustos (rara vez árboles como en *Hyptidendron* o *Lepechinia*), provistas en todas sus partes de glándulas secretoras de aceites esenciales volátiles (que son muy variados en esta familia). Los tallos son cuadrangulares y las hojas siempre opuestas; las inflorescencias son terminales o laterales, de aspecto racemoso (espigas o panículas), constituidas por agrupaciones de flores de tipo cimoso (verticilastros), que se ubican en cada par de brácteas. Están representadas en Colombia por 23 géneros y unos 203 taxones (entre especies y subespecies), de los cuales 186 son nativos y sólo una pequeña parte (17 especies) son plantas foráneas, que en la actualidad se encuentran

⁴ STASHENKO, ELENA. Estudio prospectivo de aceites esenciales colombianos de interés industrial. CIBIMOL. Escuela de química. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga. 2001. Pag 7.

naturalizadas formando parte integrante de la flora colombiana. Hay además, otras 21 especies de labiadas exóticas, ampliamente cultivadas en Colombia por sus variados usos (condimento, medicinal, mágico-religioso, ornamental).

Los géneros más diversos en Colombia son *Salvia* e *Hyptis*, ambos son, a su vez, los más diversos de la familia y en territorio americano. Le siguen en importancia otros cuatro géneros: *Scutellaria*, *Satureja*, *Stachys* y *Lepechinia*.^{5,6}

El Género *Lepechinia* fue descrito en 1806 por Willdenow tomando el nombre del botánico Ruso Ivan Ivanovic Lepechin (1737-1802). Epling señaló a los géneros *Alguelaguen*, *Stachys*, *Sphacele* y *Astemon* como sinónimos de *Lepechinia*. En la actualidad el Género comprende 39 especies, las que fueron agrupadas en 8 secciones por Epling y en 2 por Hart. Están distribuidas en el continente americano y su habitat es el páramo y subpáramo (3200 – 4500 msnm).⁷

Cuadro 1. Distribución de las especies del género *Lepechinia*

HART (1983)	EPLING (1948)	ESPECIE	LUGAR DE PROCEDENCIA
LEPECHINIA(SP)	EULEPECHINIA	<i>L. shiedeana</i>	México, Guatemala, Costa Rica, Panamá, Colombia
		<i>L. tomentosa</i>	Perú
		<i>L. meyeri</i>	Argentina, Bolivia, Perú
		<i>L. rufocampii</i>	Ecuador
	THYRSIFLOREAE	<i>L. hastata</i>	México, Hawái (USA)
		<i>L. nelsonii</i>	México
	GLOMERATAE	<i>L. glomerata</i>	México
	CALYCINAE	<i>L. calycina</i>	California (USA)
		<i>L. fragans</i>	California (USA)
		<i>L. ganderi</i>	California (USA)
		<i>L. cardiophylla</i>	California (USA)
		<i>L. mexicana</i>	México
	CAMPANULATAE	<i>L. chamaedryoides</i>	Chile
		<i>L. marica</i>	Perú
	ESPECIOSAE	<i>L. salviae</i>	Chile
		<i>L. speciosa</i>	Brasil
		<i>L. lamiifolia</i>	Perú
		<i>L. bella</i>	Bolivia

⁵ RIVERA, J, LUIS. Las Labiadas (Familia Labiatae). Instituto de ciencias naturales. Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá. 2002. Pag 497 – 501.

⁶ WOOD, J, R. The genus *Lepechinia* (Labiatae) in Colombia. Kew Bull. 2001. Pag 60.

⁷ HART, C. Systematic and evolutionary studies in the genus *Lepechinia* (Lamiaceae). Dissertation, Harvard, USA. Bázé KZP-zobrazení vice údajaznanmu. 1983. Disponible en internet: <http://www.omega.nkp.cz:4001/>. Consultado: junio 2011.

	SALVIAEFOLIAE	<i>L. floribunda</i>	Perú, Bolivia, Argentina
		<i>L. urbaniana</i>	República dominicana, Hawái
		<i>L. salviaefolia</i>	Venezuela, Colombia
		<i>L. codón</i>	Perú
		<i>L. lanciifolia</i>	Bolivia
		<i>L. cocuyensis</i>	Colombia
		<i>L. velutina</i>	Colombia
PARVIFLORAE	PARVIFLORAE	<i>L. graveolens</i>	Bolivia, Argentina
		<i>L. vesiculosa</i>	Bolivia, Perú
		<i>L. bullata</i>	Venezuela, Colombia
		<i>L. heteromorfa</i>	Ecuador, Perú, Bolivia
		<i>L. conferta</i>	Colombia
		<i>L. rádula</i>	Ecuador, Perú
		<i>L. paniculata</i>	Ecuador
		<i>L. bentocainefolia</i>	Colombia, Ecuador
		<i>L. mutica</i>	Ecuador
		<i>L. mollis</i>	Perú
		<i>L. scobina</i>	Perú
		<i>L. dioica</i>	Ecuador
		<i>L. vulcanicola</i>	Colombia

Fuente: CASTILLO Patricia Cecilia. Estudio químico y de actividad antioxidante en *Lepechinia Melleny* (Walp). Tesis Magister en Química. Pontificia Universidad católica del Perú. 2004

El salvielugo del Galeras, cuyo nombre en español hace referencia al nombre común dado a las plantas de este género, y al lugar de procedencia de la especie, es una planta endémica de Colombia localizada en el volcán Galeras y zonas aledañas (Nariño) entre los 2700 y 3600 msnm; arbolito aromático de 1.5 a 4 m de altura, ramoso con hojas ovaladas, glabras y bulladas por el haz tormentoso – grisáceas por el envés. Tiene inflorescencias terminales poco ramosas y densas, es una especie asociada a los bosques de niebla, crece con otros géneros de arbolitos del bosque andino.⁸

Figura 1. Fotografía: Salvielugo del Galeras “*Lepechinia Vulcanicola*”

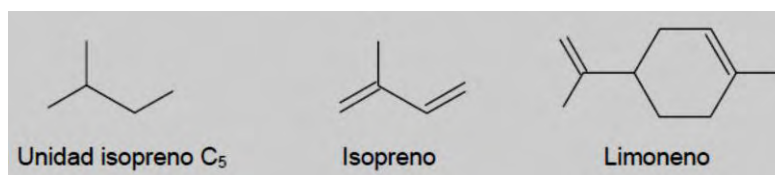


Fuente: Esta investigación

⁸ FERNANDEZ, LUIS. RIVERA, ORLANDO. Las Labiadas (Familia Labiatae). Instituto de Ciencias naturales – Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá. 2002. Pag 497

De acuerdo a los estudios realizados en otros géneros de lepechinas se ha encontrado principalmente que el aceite esencial está compuesto principalmente por terpenos como: limoneno, carvona, α -humuleno, entre otros., los cuales poseen una característica estructural, que los distingue de otros productos naturales que es la unidad isopreno C₅ en el esqueleto hidrocarbonado; esta observación fue hecha por el químico alemán Otto Wallach en 1887 y se conoce como regla de isopreno .Wallach en 1910 recibió el premio Nobel de Química, por su contribución al desarrollo de la química orgánica e industrial en el campo de compuestos acíclicos⁹

Figura 2. Unidad estructural característica de los terpenoides



Fuente: Esta investigación.

El vocablo “terpene”, en español, “terpeno”, fue introducido en 1866 por Kekulé, para expresar el carácter olefínico de los hidrocarburos contenidos en el aceite de trementina (turpentineoil), indicando a través del sufijo “ene” la presencia de enlaces dobles¹⁰ ; por otro lado, los terpenos funcionalmente sustituidos, como linalool, geraniol, farnesol, entre otros, se conocen como terpenoides o isoprenoides. Ocasionalmente, el término “terpeno” se utiliza para referirse a cualquier terpenoide.

Con base en el número de unidades (C₅)_n presentes en el esqueleto hidrocarbonado, los terpenos y sus análogos sustituidos se clasifican como monoterpenoides (C₅)₂, sesquiterpenoides (C₅)₃, diterpenoides (C₅)₄, sesterpenoides (C₅)₅, triperpenoides (C₅)₆, y tetraterpenoides (C₅)₈ con base en la forma de sus estructuras moleculares también, pueden ser clasificados como terpenoides de cadena abierta o cíclicos de uno, dos o más anillos¹¹.

⁹CAREY, F.A. Química orgánica. Tercera edición, Ed. McGraw-Hill, Inc., Madrid. 1999

¹⁰SELL, C.S. A fragrant introduction to terpenoid chemistry. Primera edición, Royal Society of Chemistry, 2003, 396. Disponible en Internet : <http://www.rsc.org/pdf/books/terpenoidsc.pdf>.consultado:Junio 2011.

¹¹KEKULÉ. Lehrbuch der Organischen Chemie, Band II, (1866). Pag. 437

Otra clase de sustancias químicas presentes en los aceites esenciales son los fenilpropanoides y sus análogos sustituidos, como el anetol, metil-eugenol, safrol, los cuales se caracterizan por poseer en su estructura un grupo propilénico enlazado a un anillo de benceno.

Respecto a la formación y evolución de los aceites esenciales en las plantas es necesario tener en cuenta algunos aspectos externos, que pueden afectar la composición química de las esencias de manera cualitativa y cuantitativa, entre ellos, se pueden destacar los siguientes:

- Condiciones geobotánicas: clima, altitud, tipo de suelo, pluviosidad.
- Labores culturales: uso controlado de fertilizantes, abonos y pesticidas.
- Parte y estado de desarrollo fenológico de la planta.
- Época de recolección, modo de almacenamiento y manejo del material vegetal: fresco, seco, fermentado, tratamiento postcosecha.
- Modo de obtención del aceite: destilación o expresión.¹²

2.1. RUTA METABOLICA DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS (TERPENOIDES) DE ORIGEN VEGETAL.

Para el caso de los terpenos, compuestos frecuentes en los aceites esenciales su principio básico es una molécula de isopreno (2 metil – 1,3 butadieno); por la unión cabeza cola de dos moléculas de isopreno se obtienen los monoterpenos, la unión de tres los sesquiterpenos, de cuatro los diterpenos etc.

Según Dewick¹³, P.M. Las unidades más importantes empleadas en biosíntesis de metabolitos secundarios son derivadas de los intermediarios de acetil coenzima A (acetil- CoA), ácido shiquímico, ácido mevalónico y 1-deoxi-D-xilosa-5-fosfato. Estos se utilizan, respectivamente, durante las rutas biosintéticas del acetato, shiquimato, mevalonato y xilosa fosfato.

Los compuestos terpenoides pueden ser derivados principalmente de dos rutas biosintéticas, a través de los intermediarios ácido mevalónico (MVA) o 1-deoxi-D-xilosa-5-fosfato. En la Figura 3 se muestran los principales bloques constructores que dan origen a la mayoría de los metabolitos secundarios presentes en un AE.¹⁴

¹²BANDONI, A. (Ed.). Los recursos vegetales en Latinoamérica. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Jirovetz, L.; Buchbauer, G. Processing, análisis and application of essential oils. 2005

¹³DEWICK, P.M. Medicinal natural products: A biosynthetic approach. Segunda edición, Ed. Wiley & Sons Ltda, Londres, 2002.

¹⁴VARGAS Rodríguez Adriana, BOTTIA Santos Edwin. estudio de la composición química de los aceites esenciales de seis especies vegetales cultivadas en los municipios de bolívar y el peñón – Santander, Colombia. Tesis Química, Escuela de Química. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga 2008. Pag 150 – 200.

Glicólisis

D-Glucosa → Glucosa 6-fosfato → Ácido 3-fosfoglicérico → Gliceraldehído 3-fosfato → Fosfoenolpiruvato → Ácido pirúvico → Acetil CoA

Ciclo de la pentosa fosfato

Eritrosa 4-fosfato → Ácido siquímico

FOTOSÍNTESIS

FENILPROPANOIDES

Ar = c1ccc(R)cc1, R = OH, OMe, etc.

MONOTERPENOIDES

SESQUITERPENOIDES

Otros terpenoides más pesados

26

2.2. TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN Y ANÁLISIS.

2.2.1. TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN.

a. HIDRODESTILACIÓN ASISTIDA POR RADIACIÓN CON MICROONDAS (MWHHD).

Este método se ha utilizado de forma convencional, en el cual se combina la hidrólisis normal con la radiación microondas, además es aplicable para realizar estudios y extracciones de diferentes especies vegetales.

Según Cahnge: 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 éste emite electrones que viajan hacia el ánodo donde el campo magnético generado por el imán hace que los electrones viajen en una trayectoria circular; éstas son dirigidas hacia un ventilador el cual las dispersa por todas las paredes del horno. Las microondas generadas, interactúan en el solvente, todas las moléculas se hallan girando a temperatura ambiente y si la frecuencia de radiación (de las microondas) y la 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 velocidad.¹⁵

La rápida rotación hace que las moléculas sean afectadas por la fricción, lo cual genera un incremento de temperatura produciendo calentamiento del material vegetal rompiendo las estructuras celulares que contienen el aceite esencial, este es arrastrado por el vapor de agua hacia los condensadores donde se recupera con disolventes. La ventaja del método radica en el tiempo de extracción y además la naturaleza del aceite esencial no es afectada debido a que la energía de las microondas está por debajo de la energía necesaria para romper los enlaces de las moléculas del aceite esencial¹⁶

¹⁵ CHANGE RAYMOND. COLLAGE, W. Microwade. Ed. Mc Graw Hill. Mexico 2004. Pag. 238 – 240

¹⁶ CORTEZ. Rubén. Cromatografía de gases. (2004). Disponible en internet: <http://www.relap.mx/RLQ/tutoriales/cromatografia/gas.htm>. consultado: febrero 2011.

Figura 4. Equipo utilizado para MWHD



Fuente: Esta investigación.

2.2.2. TÉCNICAS DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL.

a. CROMATOGRAFÍA DE GASES (CG)

Kemulas ha definido la cromatografía de gases como un método físico de separación en el cual los componentes a separar se distribuyen entre dos fases, una de las cuales es la fase estacionaria, de gran área superficial, y la otra es un fluido (fase móvil) que pasa a través o a lo largo de la fase estacionaria.¹⁷

En la CG la fase estacionaria es sólida y la móvil es un gas (que puede ser nitrógeno, helio o hidrógeno) la cual cruza 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 elución y la proporción en la que se encuentra cada componente en el AE¹⁸

¹⁷ Ibid., <http://www.relap.mx/RLQ/tutoriales/cromatografia/gas.htm>.

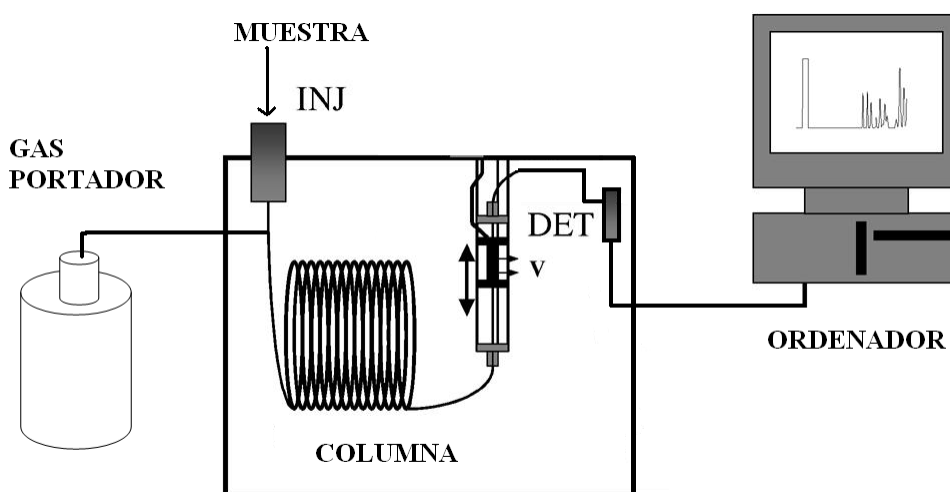
¹⁸ A, PABLO Cromatografía gaseosa (2005). (En línea) disponible en internet: www.bilbo.edu.uy/~planta/pdf/GC.doc. Consultado: Marzo 2011.

b. CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS (CG/EM)

La cromatografía de gases es una técnica de separación que ha evolucionado rápidamente y hoy en día permite el análisis de mezclas muy complejas. A esta extraordinaria capacidad de separación ha sido posible agregarle la alta especificidad de la espectrometría de masas, en lo que se constituye la técnica combinada GC – EM.¹⁹

Esta es una herramienta que une dos poderosas técnicas, la de separación (CG) y la espectroscópica (EM), las cuales no solo se usan para detectar y cuantificar los analitos de un extracto multicomponente sino para identificarlos.²⁰

Figura 5. Diagrama de un cromatógrafo de gases convencional.

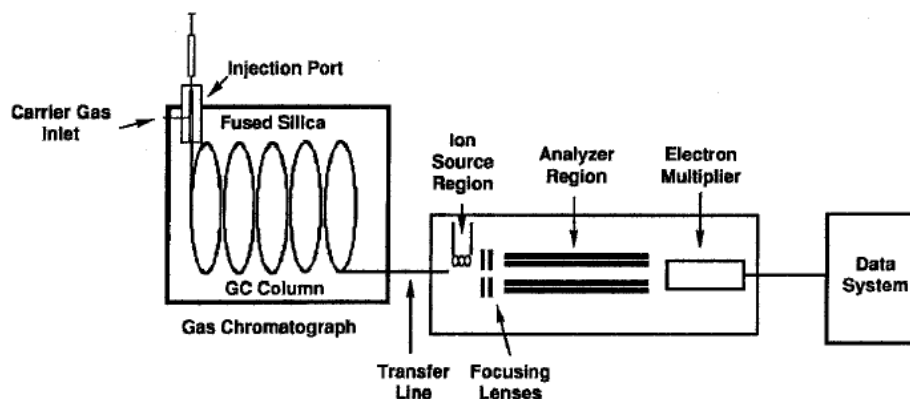


Fuente: MARRIOTT PHILIP J. Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils. *Journal of Chromatography A*, 936 (2001) 1–22

¹⁹ BARCELO D. ELSEVIER - Environmental Analysis. Techniques, Applications and Quality Assurance. Amsterdam. 1993. Pag 250.

²⁰ STASHENKO ELENA, RENE JAIRO. Preparación de la muestra: un paso crucial para el análisis por GC – MS. Cenivam. Laboratorio de cromatografía. Universidad Industrial de Santander. Escuela de química. *Scientia Chromatographica* Vol 3. N°1, 25 – 48. 2011.

Figura 6. Diagrama de un sistema convencional de cromatografía de gases/masas.



Fuente: GROB ROBERT L. Modern practice of gas chromatography. New Jersey 2004. p. 342.

2.2.3. IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS DEL ACEITE ESENCIAL.

a. ÍNDICES DE RETENCIÓN DE KOVATS (Ik).

Fue desarrollada por E. Kovats en el año 1958, y se definió como una medida de la retención relativa la cual usa los alcanos 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 las parafinas lineales (alcanos), para determinarlos se tiene en cuenta las condiciones de temperatura programada para el análisis, donde los tiempos de retención de una serie homologa aumentan linealmente con el número de carbonos y la ecuación que los relaciona tiene la siguiente expresión²¹:

$$I_K = 100 \left(\frac{t_{RX} - t_{RY}}{t_{RZ} - t_{RY}} \right) + 100y \quad \text{Ecuación (1)}$$

Dónde:

- y = número de átomos de carbono del n-alcano menor
- t_{RX} = tiempo de retención del analito X.
- t_{RY} = tiempo de retención del n – alcano menor
- t_{RZ} = tiempo de retención del n – alcano mayor.

²¹ ALVAREZ Alba T. Aislamiento, purificación e identificación de principios tóxicos alcaloidales en plantas del genero *crotalaria* y alimento contaminado para aves. Bucaramanga. Tesis (Magister en Química). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Área de Productos Naturales. (2004).

De acuerdo a Elena E Stashenko: Cabe resaltar que en la mayoría de los artículos los índices se llaman simplemente de Kovats, cuando en realidad fueron determinados en columnas con programación de temperatura por lo tanto el valor de índice de Kovats (Ik) es realmente un valor de índice de retención lineal (LRI), la cual corresponde a una modificación de la ecuación logarítmica planteada por Kovats.²²

La “ecuación 1” fue planteada por los investigadores H. van del Dool y D.J. Kratz basándose en que la gran mayoría de muestras son muestras de componentes de alto rango de presión de vapor y pesos moleculares razón por la cual llevaría demasiado tiempo analizarlas usando una temperatura constante en la columna de ahí que el análisis cromatográfico de mezclas requiere casi siempre programar la temperatura del horno. De esta manera, la *n* – parafinas eluyen de la columna en modo lineal y no logarítmico.²³

b. CUANTIFICACIÓN MEDIANTE EL MÉTODO DEL ESTÁNDAR INTERNO

La cuantificación de los componentes presentes en el aceite esencial y el aroma del vegetal, se realiza por medio del estándar interno (ISTD), *n* – tetradecano, el cual es un compuesto de alta pureza que es agregado en una concentración conocida al aceite esencial obtenido después de la purificación de éste.

Para calcular la concentración de los distintos compuestos se usa la siguiente ecuación:²⁴

$$C_x = \frac{A_x}{R_f} \times \frac{V_f}{W_x} \quad \text{Ecuación (2)}$$

Dónde:

- C_x = concentración del compuesto de interés (mg/Kg de materia vegetal)
- A_x = área cromatográfica del compuesto de interés (cuentas)
- R_f = factor de respuesta del estándar interno (cuentas x L/mg)
- V_f = Volumen final del extracto (L)
- W_x = peso de la muestra de materia vegetal (Kg)

²² STASHENKO ELENA E. Curso de aplicación de técnicas cromatográficas al análisis ambiental, forense y de alimentos. Escuela nacional de cromatografía. Universidad industrial de Santander. Bucaramanga. Nov 21 – 25 del 2011.

²³ STASHENKO ELENA E. RENE M JAIRO. Algunos aspectos prácticos para la identificación de analitos por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas..Scientia Chromatographica Vol 2, N°1, 29 – 47 2010.

²⁴ ALVAREZ, M., ALBA Teresa. Aislamiento, purificación e identificación de principios tóxicos alcaloidales en plantas del genero *crotalaria* y alimento contaminado para aves. Bucaramanga. Tesis (Magister en Química). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Área de Productos Naturales. 2004.

2.2.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Entre los diseños experimentales más usados se encuentra el Diseño irrestrictamente al azar (DIA) y el Diseño factorial (2^k). En el DIA los tratamientos se distribuyen al azar en todas sus unidades experimentales, siendo el número de repeticiones iguales o diferentes. Generalmente se usa donde la variabilidad que se pueda presentar sea pequeña y se puedan controlar algunos factores que muy a menudo la aumentan.²⁵

El tratamiento factorial (2^k) se usa ampliamente en experimentos que incluyen varios factores cuando es necesario estudiar el efecto conjunto de los factores sobre la respuesta. Hay varios casos especiales del diseño factorial que son importantes debido a su uso generalizado en el trabajo de investigación y porque constituyen las bases de otros diseños de gran valor práctico.

El más importante de estos casos especiales es el de k factores, cada uno con solo dos niveles. Si todos los factores se estudian con dos niveles, se dice que es un experimento factorial. Los niveles de estos factores pueden ser cuantitativos o bien cualitativos. En el caso de $k = 2$, se tiene el factorial más sencillo 2^2 solo tiene dos factores, por ejemplo, A y B; cada uno tiene dos niveles.²⁶

El tratamiento factorial se complementa con el análisis de varianza ANOVA la cual es una técnica estadística muy poderosa que se utiliza para separar y estimar las diferentes causas de variación, determinando si una alteración del factor de control ocasiona diferencias significativas entre los valores medios obtenidos.²⁷

El carácter variable del diseño experimental permite obtener resultados que no se repiten es decir nunca son iguales lo cual se atribuye a que fuera de los factores que intervienen, existen otros que no se logran controlar como pueden ser las diferencias genéticas de las plantas, los cambios climáticos, el medio en el que se encuentran, los errores humanos entre otros.²⁸

Se debe dejar en claro que el diseño de tratamientos es independiente del diseño experimental, el cual hace referencia a la manera en que los tratamientos se aleatorizan a las diferentes unidades experimentales y la forma como se controla la variabilidad natural de las mismas. Así el diseño experimental puede ser completamente aleatorizado, bloques completamente aleatorizados, cuadros latinos, etc., y para cada uno de estos diseños se puede tener un arreglo factorial.

²⁵LEGARDA, LUCIO; LAGOS TULIO. Diseño de experimentos agropecuarios. San Juan de Pasto: Unigraf, 2001. Pag 38 – 39.

²⁶Peña Sánchez de Rivera, D. (1987): "Estadística. Modelos y Métodos. Volumen 2". Alianza Editorial. Madrid.

²⁷ MILLER I C. Estadística para química analítica. 2ª edición. Ed Addison – Wesley Iberoamericana. USA 1993. Pag 51 – 53.

²⁸Ibid., p 75

3. ANTECEDENTES DE LA ESPECIE VEGETAL

3.1. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

El salvielugo del Galeras es un arbolito aromático, de 1,5 a 4 m de altura, ramoso, con hojas ovadas, glabras y bulladas por el haz, tomentoso-grisáceas por el envés. Tiene inflorescencias terminales, poco ramosas y densas; flores con cálices amplios en la fructificación y con dientes agudos, y corolas blancas poco llamativas. Especie asociada a los bordes de bosque de niebla y su confluencia con el subpáramo, donde crece junto con *Polylepis*, *Collumellia*, *Rubus*, *Cordia*, *Morella*, *Weinmannia*, *Maytenus*, *Myrsine* y otros géneros de arbustos y arbolitos del bosque alto andino.²⁹

Figura 7. Salvielugo del Galeras (*Lepechinia Vulcanicola*)



Fuente: Esta investigación.

²⁹ FERNANDEZ JOSÉ LUIS, RIVERA DÍAZ ORLANDO. Las Labiadas (Familia Labiatae). Instituto de Ciencias naturales. Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá. 2002. Pag 497 – 498.

3.2. ORIGEN Y UBICACIÓN

El salvielugo del Galeras pertenece a la familia de las labiadas y al género de las Lepechinias el cual fue descrito en 1806 por Willdenow tomando el nombre del botánico Ruso Ivan Ivanovic Lepechin (1737-1802).³⁰

El salvielugo del galeras es una especie endémica de Colombia, localizada en el volcán Galeras y zonas aledañas (Nariño), entre los 2.700 y 3.600 msnm³¹, específicamente se recolectó en el corregimiento de Gualmatán localizado al costado oriental del volcán Galeras a 7 kilómetros de la ciudad de Pasto, a una altura de 2500 a 3000 m.s.n.m, con una temperatura promedio de 10 °C.

Es una planta vulnerable; según información del Herbario nacional colombiano del Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional³², y el Herbario de Biología de la Universidad de Nariño (PSO).

3.3. USOS COMUNES

En medicina popular los habitantes del corregimiento de Gualmatán usan las hojas para calmar afecciones o molestias digestivas, dolores que se presentan en el ciclo menstrual, tratamiento de úlceras y en combinación con otras plantas para el tratamiento de diarreas, se prepara el zumo de la planta y se lo aplica en heridas con el fin de acelerar la cicatrización.

Además se considera como una planta ornamental, y es utilizada como lindero en las fincas.

3.4. ESTUDIOS REALIZADOS

Para la especie *Lepechinia vulcanicola* no se reportan estudios químicos referentes a la composición de su aceite esencial; Sin embargo estudios fitoquímicos indican que las especies de este género biosintetizan principalmente, diterpenos tricíclicos, triterpenos y flavonoides.^{33,34}

Se hace referencia a los estudios de otras especies del mismo género (*Lepechinia sp*) tales como: la salvia negra (*Lepechinia shiedeana*)

³⁰CASTILLO Patricia Cecilia. Estudio químico y de actividad antioxidante en *LepechiniaMelleny (Walp)*. Tesis Magister en Química. Pontificia Universidad católica del Perú. 2004.Pag 30 – 150.

³¹FERNANDEZ JOSÉ LUIS, RIVERA DÍAZ ORLANDO. Las Labiadas (Familia Labiatae). Instituto de Ciencias naturales – Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá. 2002.Pag 497 – 498.

³² Ibid. FERNANDEZ JOSÉ LUIS. p 497.

³³DIMAYUGA, R.; GARCÍA, S.; NIELSEN, P.; CHRISTOPHERSEN, C..Traditional medicine of Baja California Sur (México) III: Carnosol, a antibioticfrom*Lepechiniahastata*. *J. Ethnopharmacol.* 1991.

³⁴CASTILLO Patricia Cecilia. Estudio químico y de actividad antioxidante en *LepechiniaMelleny (Walp)*. Tesis Magister en Química. Pontificia Universidad católica del Perú. 2004.Pag 30 – 150.

sesquiterpenoides, hidrocarburos mayores de C₂₀ y diterpenos”,³⁵ “salvia de la puna (*Lepechinia meyeri*) flavonoles 3’- 4’ dihidroxilados, caracterización positiva de 6-OH flavonoles y la flavona cirsimaritina”,³⁶ “(*Lepechinia schiedeana*) ledol, careno, α - cadinol, β -felandreno, y terpineno”.^{37, 38} “Lecitinas y pectinas en 7 generos de la familia de las labiadas *Aegiphila*, *Hyptis*, *Lepechinia*, *Ocimum*, *Salvia*, *Scutellaria*, *Stachys*”.³⁹ “Composición química del aceite de (*Lepechinia shiedeana*)”⁴⁰

³⁵ PAVAS E Gil. VEGA S ALEX. Evaluación a escala piloto del proceso industrial para la obtención del aceite esencial de cardamomo bajo la filosofía cero emisiones. Grupo de investigación de procesos ambientales GIPAB. Universidad EAFIT. Mayo 2005.

³⁶ M O BRAVO, N E HERNANDEZ, M L TERESCHUK. *Minthost achysmollis griseb y lepechinia meyerii* (walp.) epling. Actividad antimicrobiana de sus extractos. Determinaciones preliminares de sus flavonoides mayoritarios. Cátedra de Química orgánica, Facultad de ciencias agrarias, Universidad de Catamarta. Facultad de ciencias naturales e Instituto Miguel Lillo. Revista de CIZAS. Vol. 5, Núm. 1 y 2. Noviembre 2004.

³⁷ ROJAS B LUIS, USUBILLAGA ALFREDO, CEGARRA A JESÚS. Composición química y actividad aromática del aceite esencial de la *Lepechinia Schiedeana*. Instituto de investigación, Facultad de farmacia, Facultad de ciencias forenses y ambientales, Facultad de farmacia Universidad de los Andes, Merida Venezuela. Revista de la facultad de farmacia, Vol. 46. Año 2004.

³⁸ STASHENKO, E.; PUERTAS, M.; MARTINEZ, J. SPME determination of volatile aldehydes for evaluation of in-vitro antioxidant activity. *Anal. Bioanal. Chem.* 2002.

³⁹ PEREZ GERARDO. VEGA NOHORA, FERNANDEZ J LUIS. lectin prospecting in colombian labiatae. a systematic-ecological approach – II. Departamento de bioquímica y Herbario nacional colombiano. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Apartado 7495, Bogotá, D.C. 2006.

⁴⁰ STASHENKO E. CERVANTES MARTHA. MARTINEZ JAIRO. HRGC/FID and HRGC/MSD Analysis of the secondary metabolites obtained by different extraction methods from *Lepechinia Schiedeana*, and in vitro evaluation of its antioxidant activity. Cenivam. Laboratorio de cromatografía. Universidad Industrial de Santander. Escuela de química. Bucaramanga .1999.

En el cuadro 2 se resumen los compuestos reportados en el género *lepechinia*⁴¹.

Cuadro 2. Compuestos reportados en el género *Lepechinia*

LEPECHINIA	CLASE DE COMPUESTOS	TIPO DE ESTRUCTURA
<i>L. bullata</i>	diterpenquinonas	Abietano (royleanona y horminona)
<i>L. caulescens</i>	Diterpenos	Abietano
	Triterpenos	Ursano, lupano, oleanano
	flavonoides	Flavona: salvigenina
	Diterpenos	Abietano
<i>L. chamaedryoles</i> <i>L. glomerata</i>	Triterpenos	Ursano, lupano, oleanano
	Triterpenos	Oleanano
	Diterpenos	Pimarano
<i>L. hastata</i>	Diterpenos	Abietano
<i>L. meyeri</i>	Diterpenos	Abietano
<i>L. urbaniana</i>	Diterpenos	Abietano
	flavonoides	Artemetina, santina

Fuente: CASTILLO Patricia Cecilia. Estudio químico y de actividad antioxidante en *Lepechinia melleny* (Walp)

⁴¹CASTILLO Patricia Cecilia. Estudio químico y de actividad antioxidante en *Lepechinia melleny* (Walp). Tesis Magister en Química. Pontificia Universidad católica del Perú. 2004. Pag 30 – 100.

4. METODOLOGÍA

Para lograr la clasificación de la planta y de los componentes mayoritarios presentes en el aceite esencial de hojas y tallo del salvielugo del Galeras, de forma general se desarrollaron las siguientes etapas:

- ❖ Identificación taxonómica y recolección del material vegetal.
- ❖ Extracción del aceite esencial de hojas y tallo de la planta salvielugo del Galeras por medio hidrodestilación asistida por radiación microondas (MWHD).
- ❖ Identificación y cuantificación de los compuestos mayoritarios del aceite esencial de hojas y tallo de la planta salvielugo del Galeras por medio de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM).

4.1. IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA Y RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL.

Se recolectó la planta en el corregimiento de Gualmatán localizado al costado oriental del volcán Galeras a 7 kilómetros de la ciudad de Pasto, a una altura de 2500 a 3000 m.s.n.m, con una temperatura promedio de 10 °C.

El tipo de muestreo aplicado fue aleatorio simple, en un terreno donde hay variabilidad de plantas de las cuales se escogieron las que presentaron condiciones similares respecto al estado de sus tallos y hojas, además características semejantes como tamaño y madurez.

Una vez colectadas fueron empacadas en papel periódico, y transportadas en bolsas plásticas al laboratorio de Compuestos Heterocíclicos y Productos Naturales de la Universidad de Nariño, ahí se separaron hojas de tallos; luego se sometió las partes al proceso de secado a temperatura ambiente en una cámara cerrada. La identificación taxonómica se realizó en el Herbario de la Universidad de Nariño (PSO).

Figura 8. Sitio de muestreo, Corregimiento de Gualmatán.



Fuente: Esta investigación.

Figura 9. Material seco listo para la extracción del aceite esencial



(HOJAS)



(TALLOS)

Fuente: Esta investigación

4.2. EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS Y TALLO DE LA PLANTA SALVIELUGO DEL GALERAS (*Lepechinia Vulcanicola*) POR MEDIO HIDRODESTILACIÓN ASISTIDA POR RADIACIÓN MICROONDAS (MWHD).

La extracción del aceite esencial (AE) se llevó a cabo en el equipo de hidrodestilación asistido por microondas (MWHD), el cual se encuentra en el laboratorio de Compuestos Heterocíclicos y productos naturales de la Universidad de Nariño.

Las características del equipo se describen en la cuadro 3.

Figura 10. Equipo de MWHD, Universidad de Nariño



Fuente: Esta investigación.

Cuadro 3. Especificaciones técnicas del equipo MWHD.

CARACTERÍSTICAS	
Marca :	LG
Modelo:	N. MB – 314 V 6
Voltaje:	120 V
Frecuencia:	2470 MHz
balón	2 litros

Las condiciones bajo las cuales se operó el equipo se indican en la tabla 1, y en la tabla 2 y 3 los diferentes tratamientos que se aplicaron en la extracción del AE.

Tabla 1. Condiciones operacionales aplicadas al equipo de MWHD

CARACTERÍSTICAS	CONDICIONES
Material vegetal	80 g
Tiempo de extracción	60 y 90 min
Potencia	60% y 80%
solvente	Agua destilada (500mL)

Tabla 2. Tratamientos aplicados en la extracción del AE por MWHD para hojas y tallos.

TRATAMIENTO	POTENCIA (%)	TIEMPO DE EXTRACCIÓN (min)
1	60	60
2	80	60
3	60	90
4	80	90

Se realizaron extracciones por triplicado con tiempos de extracción de 60 y 90 min según el tratamiento expuesto en la Tabla 2, con intervalos de 20 min en cada tratamiento con el fin de evitar el sobrecalentamiento del microondas.

Lo anterior corresponde a un DIA 3 x 4 (4 tratamientos por 3 réplicas), escogiendo el mejor tratamiento de acuerdo al mayor número de compuestos, según el análisis CG-EM.

Las muestras obtenidas se recolectaron en viales y se almacenaron en refrigeración para pruebas posteriores de solubilidad, Una vez seleccionado el solvente, a las muestras de AE se les agregó Na₂SO₄ anhidro para secarlas y realizar su posterior análisis por cromatografía de gases.

A las muestra de AE obtenidas de hojas y tallo se les realizó diferentes pruebas de solubilidad con el fin de determinar cuál era el solvente más adecuado para realizar su inyección al cromatógrafo de gases, ya que las muestras de aceite esencial se solidificaron a temperatura ambiente. Las pruebas de solubilidad se indican en la tabla 4.

4.3. IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS MAYORITARIOS DEL ACEITE ESENCIAL DE LA PLANTA SALVIELUGO DEL GALERAS (*Lepechinia Vulcanicola*) POR (CG/EM).

4.3.1. ANÁLISIS PRELIMINAR POR CG

El AE obtenido de los diferentes tratamientos de extracción aplicados a hojas y tallo fue analizado usando el equipo GC Shimadzu 17A ubicado en los Laboratorios Especializados de la Universidad de Nariño (Figura 11), con las siguientes condiciones operacionales:

Detector de ionización en llama; 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: 50°C (5 min) hasta 250°C (10 min) a 10°C/min, el puerto de inyección a 250 °C, el detector a 280 °C y se inyectó 1 μ L del extracto.

Figura 11. Cromatógrafo de gases, Laboratorios especializados de la Universidad de Nariño.



Fuente: Esta investigación

De acuerdo a los análisis de las pruebas preliminares se logró determinar las mejores condiciones de extracción para el AE presente en las hojas y el tallo de la planta Salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*) evaluando el número de compuestos mayoritarios extraídos en los distintos tratamientos, haciendo uso de un análisis de varianza.

Posteriormente se realizaron nuevas extracciones a las mejores condiciones establecidas anteriormente con el fin de realizar la identificación por CG / EM y su respectiva cuantificación por medio del estándar interno.

4.3.2. IDENTIFICACIÓN DE LOS COMPONENTES MAYORITARIOS

Para realizar la identificación preliminar de los componentes del AE se determinó los índices de retención de cada uno de ellos empleando una mezcla de parafinas que fue inyectada en iguales condiciones del análisis de las muestras de AE; para el cálculo de los índices de retención se aplicó la ecuación 1 (Sección 2.2.3. Identificación y cuantificación de los compuestos del aceite esencial). Una vez determinado el valor del índice de retención se procedió a comparar con la base de datos publicada por Robert P Adams⁴².

Para lograr la identificación de los compuestos mayoritarios se analizó las muestras en los equipos de CG/EM AGILENT TECHNOLOGIES 6890 *PLUS* (Figura 12) de la Universidad Industrial de Santander en columna apolar y polar con las características que se muestran en la tabla 3.

⁴² ADAMS ROBERT. Identification of oil components by gas chromatography / quadrupole mass spectroscopy. 2001.

Tabla 3. Parámetros del equipo GC/EM AGILENT TECHNOLOGIES 6890 PLUS del laboratorio de la Universidad Industrial de Santander.

EQUIPO	GC AGILENT TECHNOLOGIES 6890 PLUS	GC HEWLETT- PACKARD 5890A SERIES II
	Columna apolar	Columna polar
Inyector	<i>split/splitless</i>	
Temperatura de inyector	250°C	
Relación split	1:30	
Columna	DB-1: 60 m, 0.25 mm, D.I. x0.25 µm	DB-WAX:60 m x 0.25 mm D.I. x 0.25 µm
Programación de temperatura del horno	45°C (5 min)→ 250°C (5 min), a 5°C/min	50°C (5 min)→150°C (5 min), a 5°C/min →230°C (5 min), a 5°C/min
Gas de arrastre	Helio (99,995%, Aga Fano, S.A)	
Flujo de arrastre	1 mL/min	
Detector	MSD <i>Agilent</i> 5973	MDS HP 5972
Temperatura de la cámara de ionización	200 °C	175 °C
Temperatura de la línea de transferencia (CG – EM)	250°C	
Energía de ionización	70 eV	

Los espectros de masas de cada componente se analizaron mediante el software CHEMSTATION INTEGRATOR y se emplearon las bases de datos ADAMS, WILEY Y NIST en el laboratorio CENIVAM de la Universidad Industrial de Santander bajo la supervisión de la Directora del centro; Dra Elena Stashenko.

Figura 12. Equipo CG/EM AGILENT TECHNOLOGIES
6890 PLUS



Fuente: Esta investigación.

4.3.3. CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPONENTES MAYORITARIOS

Para la cuantificación se utilizó n-tetradecano como estándar interno, se elaboró una curva de calibración del estándar a diferentes concentraciones, de la cual se determinó el factor de respuesta de este estándar, haciendo uso de la concentración y el área de los mismos. A cada una de las muestras se le agregó 10 μ L de solución de n-tetradecano 10.000 ppm; se calculó la concentración de cada metabolito secundario mayoritario.

5. ANÁLISIS DE RESULTADOS

5.1. RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL MATERIAL VEGETAL

Se recolectó el material vegetal compuesto de hojas y tallo, el cual se separó y se sometió a secado posteriormente se lo llevo al herbario de la Universidad de Nariño, donde se identificó taxonómicamente. Esta muestra fue idéntica al ejemplar de *Lepechinia vulcanicola* que reposa en el herbario.

Cuadro 4. Clasificación taxonómica de la especie vegetal.

CARACTERÍSTICA	CLASIFICACIÓN
Reino	Plantae
División	Angiospermae
Clase	Dicotyledonea
Subclase	Sympetalae (metaclamydeae)
Orden	Tubiflorales
Familia	Labiadas
Genero	<i>Lepechinia</i>
Especie	<i>Lepechinia vulcanicola</i>
Nombres comunes	Matico

La clasificación taxonómica se complementó utilizando documentos acerca de las labiadas del Instituto nacional de ciencias de la Universidad Nacional de Bogotá^{43,44} y demás artículos acerca de la familia Labiada.⁴⁵

5.1.1. SELECCIÓN DEL SOLVENTE

Tabla 4. Pruebas de solubilidad para el AE de hojas y tallo.

SOLVENTE	AE DE HOJAS	AE DE TALLOS
Hexano	Solubilidad inmediata	Solubilidad inmediata
Diclorometano	Solubilidad inmediata	Solubilidad inmediata
Metanol	Soluble con agitación	Soluble con agitación

⁴³FERNANDEZ JOSÉ LUIS, RIVERA DÍAZ ORLANDO. Las Labiadas (Familia Labiatae). Instituto de Ciencias naturales – Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá. 2002. Pag 497 – 498

⁴⁴FERNANDEZ JOSÉ LUIS, Studies in Colombian Labiatae IV. Novelties in Salvia and synopsis of sections Angulatae and Purpureae. Instituto de Ciencias naturales – Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá. 2003.

⁴⁵CASTILLO Patricia Cecilia. Estudio químico y de actividad antioxidante en *Lepechinia melleny* (Walp). Tesis Magister en Química. Pontificia Universidad católica del Perú. 2004. Pag 30 – 100.

De acuerdo a la tabla 4 se observó que el AE de hojas y tallo se solubilizo completamente en hexano y diclorometano, pero en hexano se observó mayor afinidad razón por la cual para el análisis por cromatografía de gases se utilizó hexano.

5.1.2. SELECCIÓN DE LAS CONDICIONES OPTIMAS DE EXTRACCIÓN

Se realizaron las extracciones para hojas y tallo de acuerdo a lo propuesto en la sección 4.2, en hojas no se observaron diferencias significativas según el tratamiento estadístico aplicado (anexo C); razón por la cual para el tratamiento de hojas se seleccionaron las áreas más representativas mayores o iguales a 5000 cuentas, los resultados obtenidos se expresan en las tablas 5 - 12 con sus correspondientes cromatogramas, Gráfica 1 - 8.

Tabla 5. Resultados preliminares por cromatografía de gases (CG) para la extracción No 1 aplicada a hojas. Condiciones: 60%W/60min.

muestra	Peso (g)	Promedio (g)	Área (cuentas)	Área Promedio (cuentas)	Nº Picos identificados	Nº Picos Promedio
1	80,1	80,3	770553	1152351	15	19
2	80,5		1333197		19	
3	80,3		1353304		*23	

* Mayor número de picos identificados.

Grafica 1. Cromatograma para la extracción N°1 aplicada a hojas correspondiente a la muestra 3.

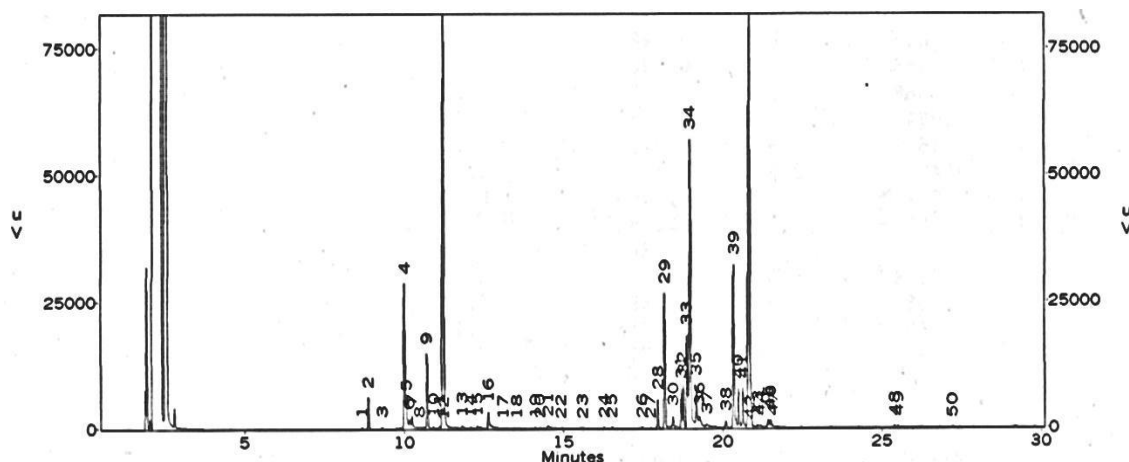


Tabla 6. Resultados preliminares por cromatografía de gases (CG) para la extracción No 2 aplicada a hojas. Condiciones: 80%W/60min.

muestra	Peso (g)	Promedio (g)	Área (cuentas)	Área Promedio (cuentas)	Nº Picos identificados	Nº Picos Promedio
4	80	80,1	1076288	853298	14	19
5	80,2		398178		21	
6	80		1085428		*22	

* Mayor número de picos identificados.

Grafica 2. Cromatograma para la extracción N°2 aplicada a hojas correspondiente a la muestra 6.

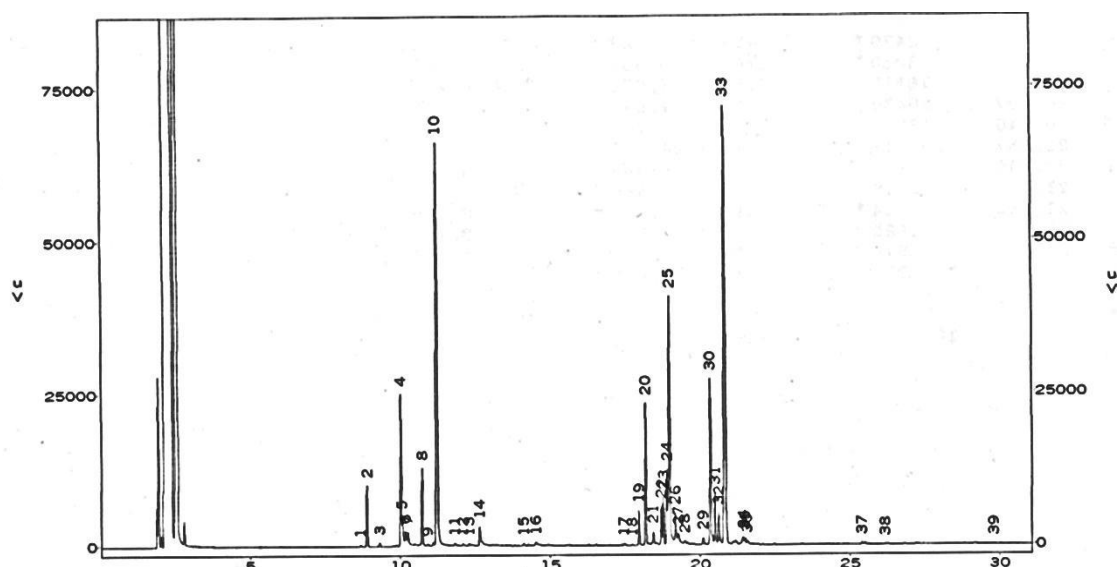


Tabla 7. Resultados preliminares por cromatografía de gases (CG) para la extracción No 3 correspondiente a hojas. Condiciones: 60%W/90min.

muestra	Peso (g)	Promedio (g)	Área (cuentas)	Área Promedio (cuentas)	Nº Picos identificados	Nº Picos Promedio
7	80	80,2	915130	1229251	20	22
8	80,5		992087		22	
9	80,1		1780536		*23	

* Mayor número de picos identificados.

Grafica 3. Cromatograma para la extracción N°3 aplicada a hojas correspondiente a la muestra No 9.

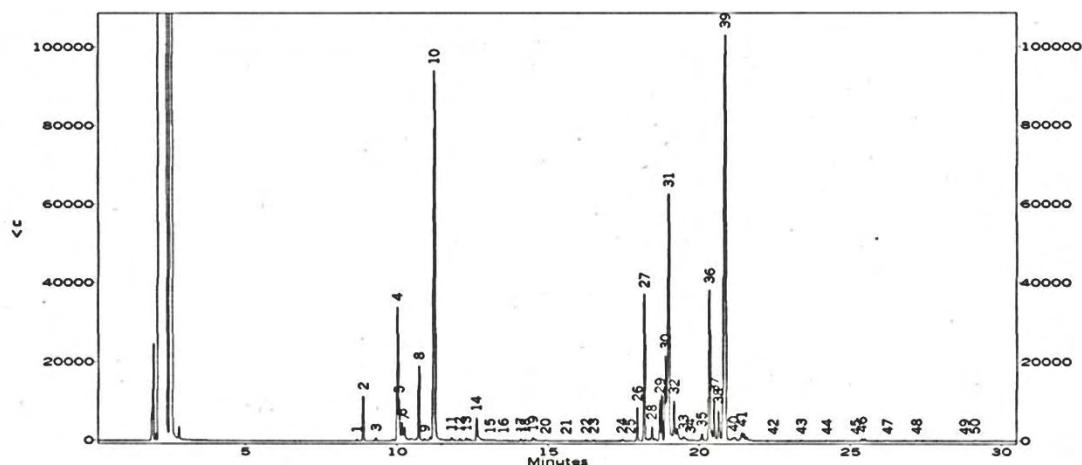
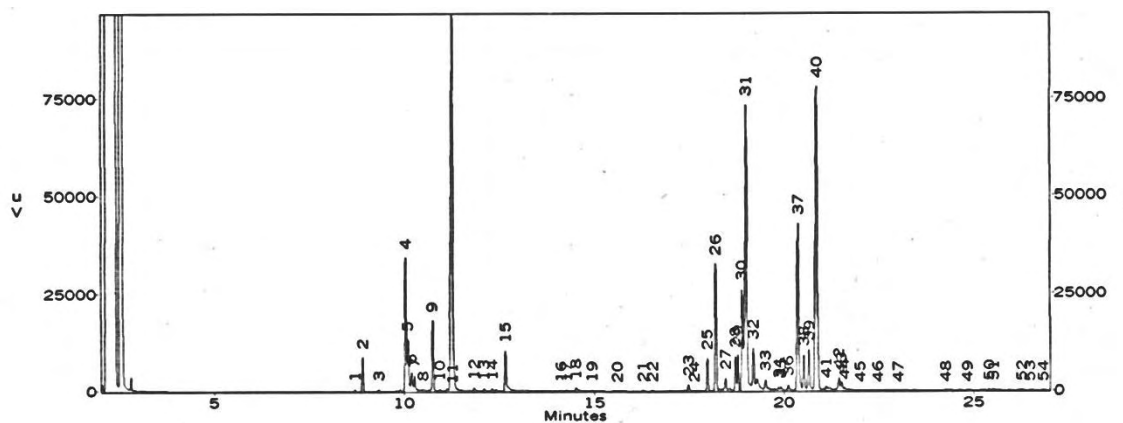


Tabla 8. Resultados preliminares por cromatografía de gases (CG) para la extracción No 4 correspondiente a hojas. Condiciones: 80%W/90min.

muestra	Peso (g)	Promedio (g)	Área (cuentas)	Área Promedio (cuentas)	Nº Picos identificados	Nº Picos Promedio
10	80,2	80,3	896444	1596862	22	25
11	80,3		1782364		26	
12	80,3		2111777		*27	

* Mayor número de picos identificados

Grafica 4. Cromatograma para la extracción N°4 aplicada a hojas correspondiente a la muestra No 12.



Los parámetros de extracción aplicados a las hojas se utilizan en la extracción del aceite esencial de tallos; los resultados se muestran en las tablas 9 – 12.

Tabla 9. Resultados preliminares por cromatografía de gases (CG) para la extracción N° 1 correspondiente a tallos. Condiciones del 60%W/60min.

muestra	Peso (g)	Promedio (g)	Área (cuentas)	Área Promedio (cuentas)	Nº Picos identificados	Nº Picos Promedio
1	80	80,1	71669	157564	21	21
2	80		373178		*24	
3	80,2		27845		19	

* Mayor número de picos identificados.

Grafica 5. Cromatograma para la extracción N°1 aplicada a tallos correspondiente a la muestra 2.

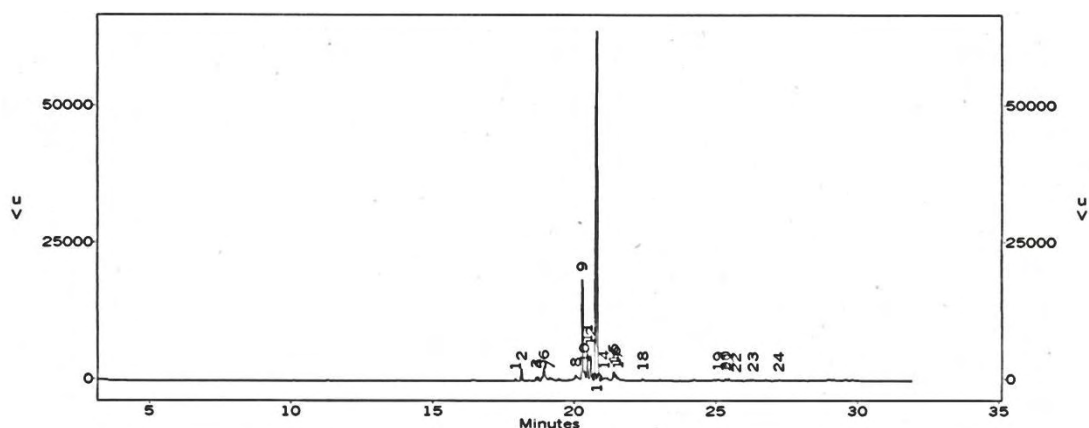


Tabla 10. Resultados preliminares por cromatografía de gases (CG) para la extracción N°2 correspondiente a tallos. Condiciones: 80%W/60min.

muestra	Peso (g)	Promedio (g)	Área (cuentas)	Área Promedio (cuentas)	Nº Picos identificados	Nº Picos Promedio
4	80	80,2	1327411	1572113	39	36
5	80,1		1927845		*40	
6	80,4		1461084		28	

* Mayor número de picos identificados.

Grafica 6. Cromatograma para la extracción N°2 aplicada a tallos correspondiente a la muestra 5.

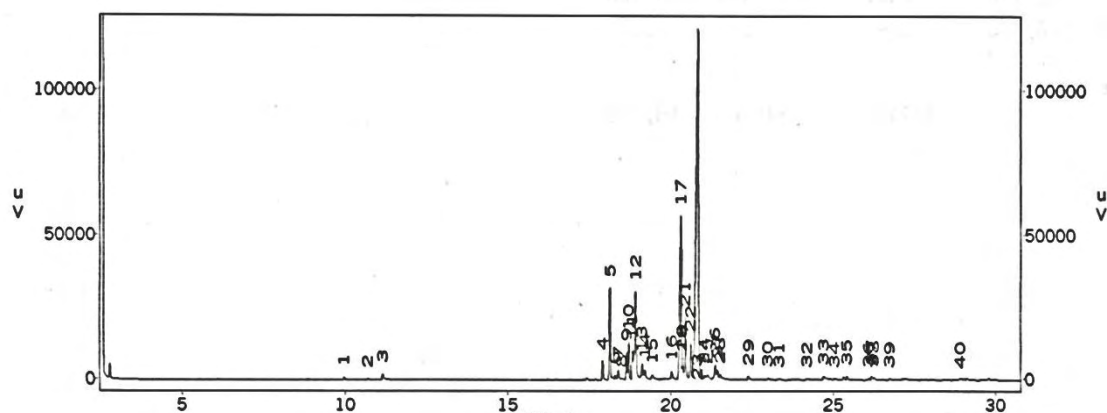


Tabla 11. Resultados preliminares por cromatografía de gases (CG) para la extracción N°3 correspondiente a tallos. Condiciones: 60%W/90min.

muestra	Peso (g)	Promedio (g)	Área (cuentas)	Área Promedio (cuentas)	Nº Picos identificados	Nº Picos Promedio
7	80	80,2	95509	118767	20	20
8	80,3		55101		13	
9	80,2		205691		*26	

* Mayor número de picos identificados.

Grafica 7. Cromatograma para extracción N°3 aplicada a tallos correspondiente a la muestra 9.

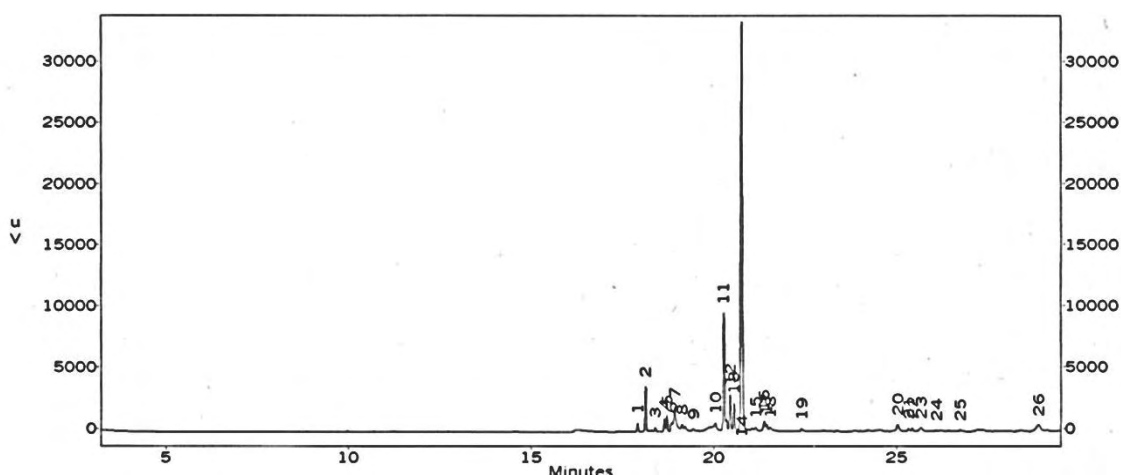
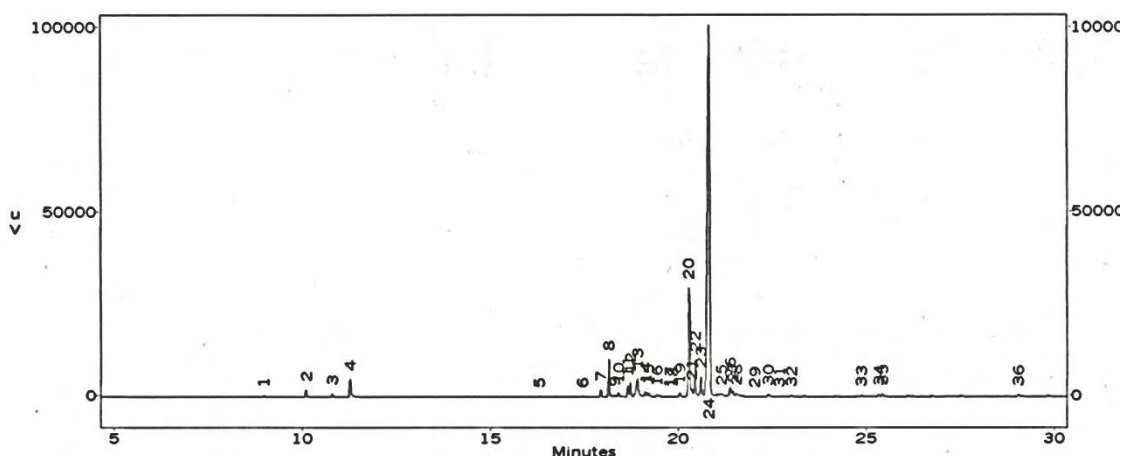


Tabla 12. Resultados preliminares por cromatografía de gases (CG) para la extracción N°4 correspondiente a tallos. Condiciones del 80%W/90min.

muestra	Peso (g)	Promedio (g)	Área (cuentas)	Área Promedio (cuentas)	Nº Picos identificados	Nº Picos Promedio
10	80	80,0	1385455	1189943	30	34
11	80		707036		35	
12	80		1477339		*36	

* Mayor número de picos identificados.

Grafica 8. Cromatograma para la extracción N°4 aplicada a tallos correspondiente a la muestra 12.



De acuerdo a los resultados preliminares se determinaron las mejores condiciones de extracción del AE de las hojas y tallo teniendo en cuenta el mayor número de compuestos mayoritarios obtenidos en cada extracción; la variable de respuesta empleada para el diseño estadístico es el área cromatográfica de los picos más representativos, por lo tanto para los tallos se toma el mayor número de compuestos con áreas mayores a 500 cuentas y para las hojas con áreas mayores a 5000 cuentas.

Para ello se utilizó un diseño de tratamiento factorial tipo (2^2) donde se tienen dos factores con dos niveles cada uno. El Factor A corresponde a la “potencia”, el Factor B corresponde al “tiempo”, la variable de respuesta corresponde al número de compuestos y los dos niveles para cada uno de los factores son los dos tiempos y potencias de extracción. Los parámetros y resultados se indican en las siguientes tablas (tabla 13 – 18).

Tabla 13. Número de compuestos correspondientes a hojas determinados de acuerdo a los parámetros de extracción con áreas mayores o iguales a 5000 cuentas.

POTENCIA (%)	TIEMPO(MIN)	NUMERO DE COMPUESTOS			VALOR MEDIO	PROMEDIO
		EXTRAC 1	EXTRAC 2	EXTRAC 3		
80	90	22	26	27	*26	25
80	60	14	21	22	21	19
60	90	20	22	23	22	22
60	60	15	19	23	17	19

(*Extracción con mayor número de compuestos.)

Tabla 14. Número de compuestos correspondientes a tallos determinados de acuerdo a los parámetros de extracción con áreas mayores o iguales a 500 cuentas.

POTENCIA (%)	TIEMPO(MIN)	NÚMERO DE COMPUESTOS			VALOR MEDIO	PROMEDIO
		EXTRAC 1	EXTRAC 2	EXTRAC 3		
80	90	30	35	36	34	34
80	60	28	39	40	* 39	36
60	90	13	20	26	23	19
60	60	19	21	24	22	17

(*Extracción con mayor número de compuestos.)

Tabla 15. Diseño de tratamiento factorial aplicado a hojas y tallos.

DISEÑO	FACTORES	NIVELES	UNIDADES	RESPUESTA
(2^k) k = 2	Potencia	2	Porcentaje	Número de compuestos
	Tiempo	2	Minutos	

En la tabla 16 se muestra la forma del diseño experimental indicando los factores (A – B) y los niveles, además la relación de estos con los datos que se encuentran en las tablas 13 y 14.

En la tabla 14 se observa en las extracciones 1 - 2 - 3, valores atípicos, sin embargo se los utiliza en el análisis porque mediante las pruebas de significancia (Cajas y bigotes, Dixon y Grubbs) aplicadas, (Anexo C) se establece que no son valores anormales significativos que se deban eliminar.

Tabla 16. Relación de niveles y factores de acuerdo al diseño de tratamiento factorial (2^2) para hojas y tallos.

FACTOR A	FACTOR B	VARI/ DE RESPUESTA (Hojas)	VARI/ DE RESPUESTA (Tallos)	
POTENCIA (%)	TIEMPO (MIN)	NUMERO DE COMPUESTOS ÁREA >= 5000	NUMERO DE COMPUESTOS ÁREA >= 500	
80	90	22	30	NIVEL 1
80	90	27	35	
80	90	26	36	
80	60	21	28	
80	60	14	39	
80	60	22	40	
60	90	22	13	NIVEL 2
60	90	20	20	
60	90	23	26	
60	60	19	19	
60	60	23	21	
60	60	15	24	

Para el análisis de varianza expuesto en las tablas 17 – 18 se utilizan los datos de la tabla 16 de acuerdo al diseño experimental establecido.

Tabla 17. Análisis de varianza de acuerdo al número de compuestos mayoritarios presentes en hojas con áreas mayores a 5000 cuentas.

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	RAZÓN-F	VALOR-P
A:POTENCIA	8,33333	1	8,333	0,77	0,4021
B:TIEMPO	56,3333	1	56,33	5,23	0,0481
RESIDUOS	97	9	10,78		
TOTAL (CORREGIDO)	161,667	11			

Tabla 18. Análisis de varianza de acuerdo al número de compuestos mayoritarios presentes en tallos con áreas mayores a 500 cuentas.

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	RAZÓN-F	VALOR-P
A:POTENCIA	833,333	1	833,333	18,16	0,0021
B:TIEMPO	0,333333	1	0,333333	0,01	0,9339
RESIDUOS	413	9	45,8889		
TOTAL (CORREGIDO)	1246,67	11			

Los resultados anteriores muestran un análisis de varianza (ANOVA) de dos factores lo cual permite estudiar simultáneamente los efectos de dos fuentes de variación como son la potencia y el tiempo respecto al número de compuestos que se puedan presentar utilizando los valores medios.

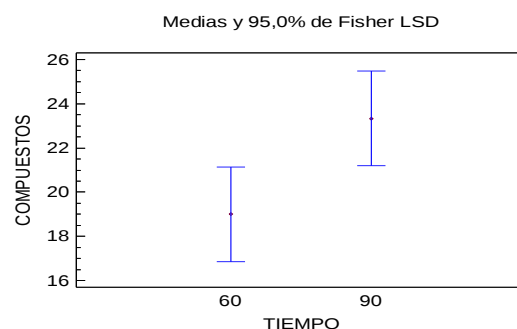
Para el número de compuestos presentes en hojas se tomaron inicialmente áreas mayores a 500 cuentas, no obstante cuando se realizó el análisis estadístico no se determinaron diferencias significativas como se explica en el anexo C, por esta razón se tomaron áreas mayores a 5000 cuentas; valores expuestos en las tablas 13 y 16 observando una diferencia significativa entre los tratamientos.

Como se trabaja a un nivel de confianza del 95%, el valor-P es de 0.05, razón por la cual en los resultados expuestos en las tablas 17 y 18 se rechaza la hipótesis que los factores A y B (potencia y tiempo) no tiene diferencia significativa y no influyen en el número de compuestos que se logren presentar aceptando que para el número de compuestos presentes en las hojas (tabla 17) el valor-P del factor B es menor de 0.05 razón por la cual se dice que si hay diferencia significativa entre los factores, en este caso el número de compuestos que se obtienen en hojas dependen del tiempo y no de la potencia aplicada.

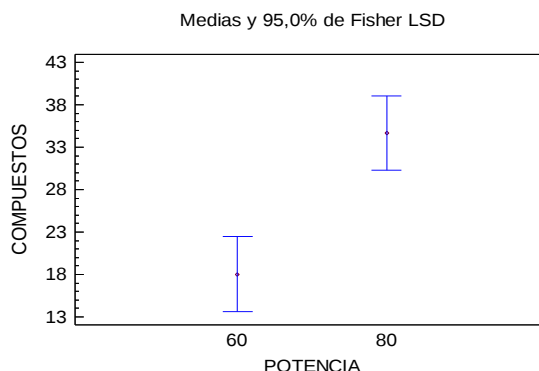
Para el tallo, (tabla 18), el valor-P del factor A es menor del 0.05 razón por la cual hay diferencia significativa entre los factores y se establece para los tallos que el número de compuestos que se obtienen dependen del factor A, (potencia) y no del tiempo de la extracción.

Debido a que se observa una diferencia significativa entre los dos factores (potencia y tiempo) se realiza la gráfica de medias (Fischer LSD), para las hojas (grafica 9) y para los tallos (grafica 10).

Grafica 9. Gráfica de medias (Fischer LSD) para hojas.



Grafica 10. Gráfica de medias (Fischer LSD) para tallos.



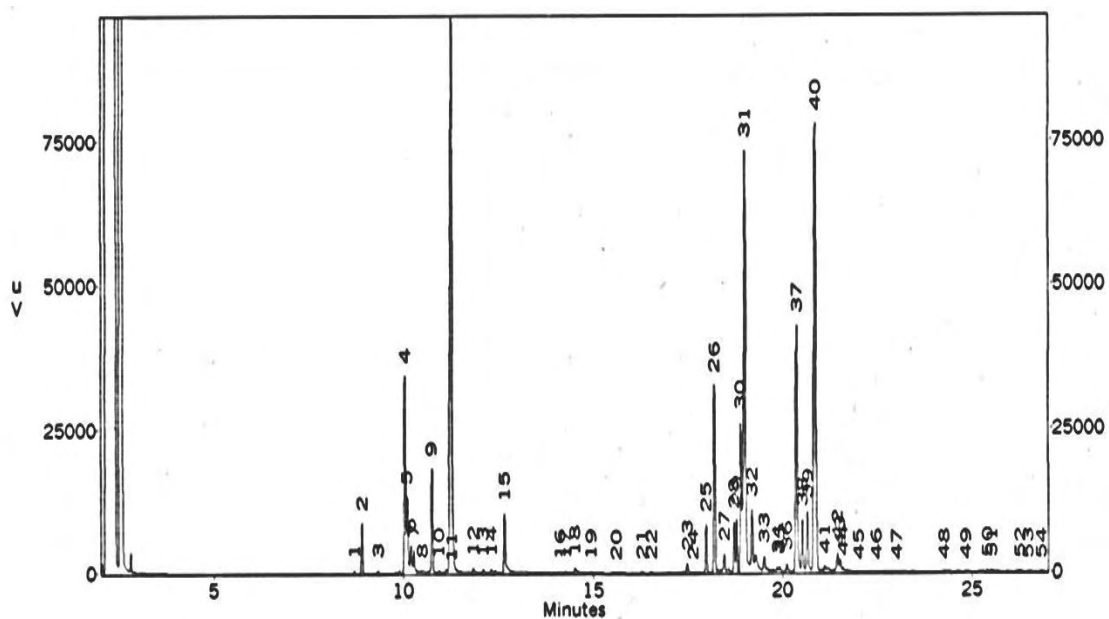
Para dar validez a los valores de los tallos expuestos en la tabla 16 y 14, se desarrolló la gráfica de cajas y bigotes al igual que la prueba de Dixon y Grubs como se indican en el anexo D.

De acuerdo a la gráfica 9 de medias (Fischer LSD) correspondiente a hojas se observa que el factor tiempo es determinante en la extracción ya que los puntos medios correspondientes a la media de los picos cromatográficos se encuentran separados, demostrando que si existe una diferencia estadísticamente significativa entre los niveles del factor por tal razón se establece que a 90 minutos de extracción se obtienen mayor número de compuesto con respecto a 60 min.

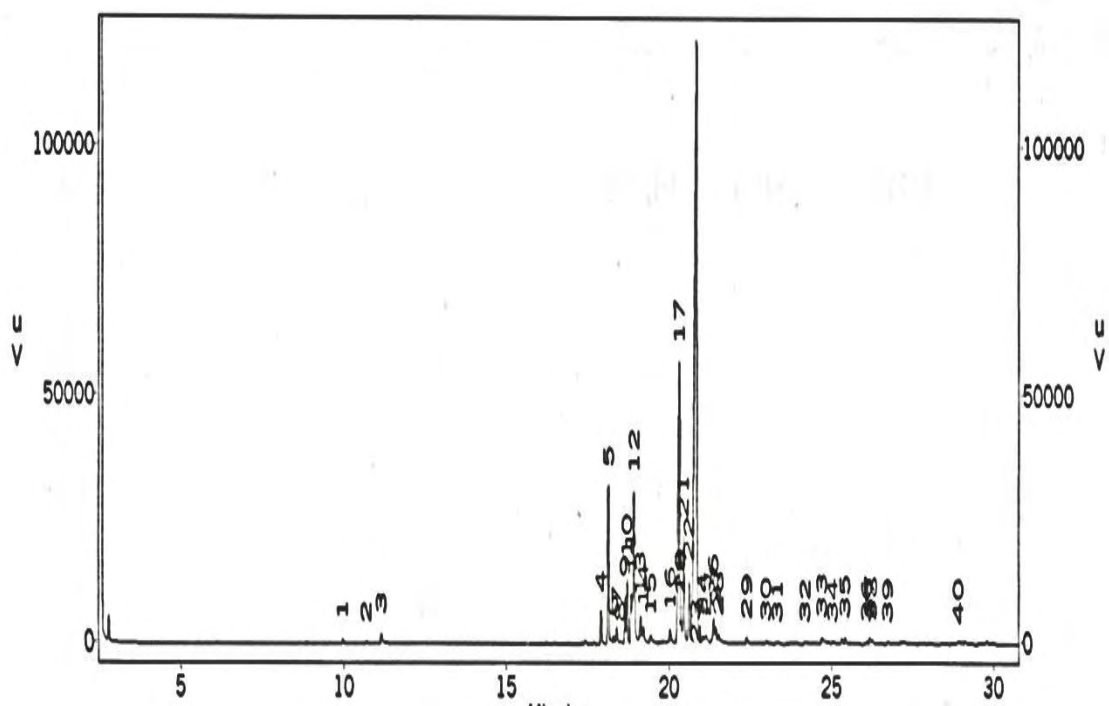
Para los tallos de acuerdo a la gráfica 10 de medias (Fischer LSD) se observa que el factor determinante en la extracción es la potencia ya que al igual que en hojas la separación de los puntos medios nos indican que si se presenta una diferencia significativa entre los niveles del factor razón por la cual se determina que a una potencia del 80% se logra obtener mayor número de compuestos respecto a una potencia del 60%.

De acuerdo a lo anterior se establece que las mejores condiciones de extracción para las hojas son: Potencia del 80%, Tiempo 90 min, y para el tallo: Potencia 80%, Tiempo 60 min; con estas condiciones se obtienen los respectivos cromatogramas que se muestran en las gráficas 11 y 12.

Grafica 11. Cromatograma del AE de hojas aplicando las mejores condiciones de extracción (W80%/90min)



Grafica 12. Cromatograma del AE de tallos aplicando las mejores condiciones de extracción (W80%/60min)



5.1.3. IDENTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS MAYORITARIOS MEDIANTE CG/EM.

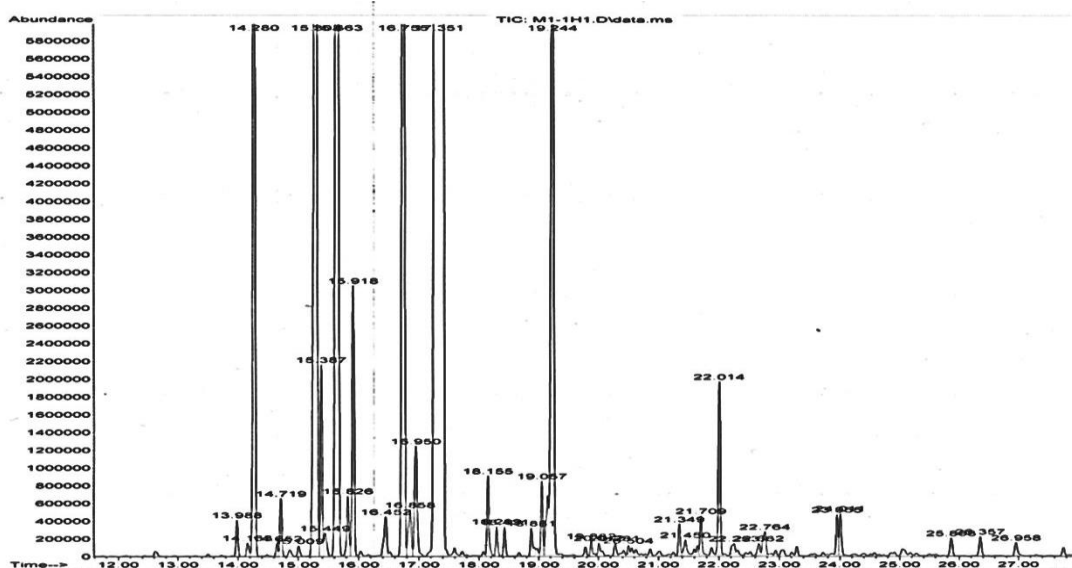
Se realizó la extracción del AE para las hojas y tallos, posteriormente se inyectó la muestra 12 (tabla 8) correspondiente a hojas y la muestra 5 (tabla 10) para los tallos, en el cromatógrafo de gases con detector de masas AGILENT TECHNOLOGIES 6890 PLUS) para columna apolar y el cromatógrafo HEWLETT-PACKARD 5890^a SERIES II con columna polar.

Se utilizaron dos columnas porque los aceites esenciales son mezclas heterogéneas las cuales contienen analitos tanto polares como apolares. Según Stashenko es conveniente usar ambas columnas, una polar (de polietolenglicol) y apolar (100% polidimetilsiloxano o (5–95)% fenil polimetilsiloxano).⁴⁶

La identificación presuntiva se realizó mediante los índices de Kovats (IRL o IK) medidos en las dos columnas y la identificación confirmativa por sus espectros de masas.

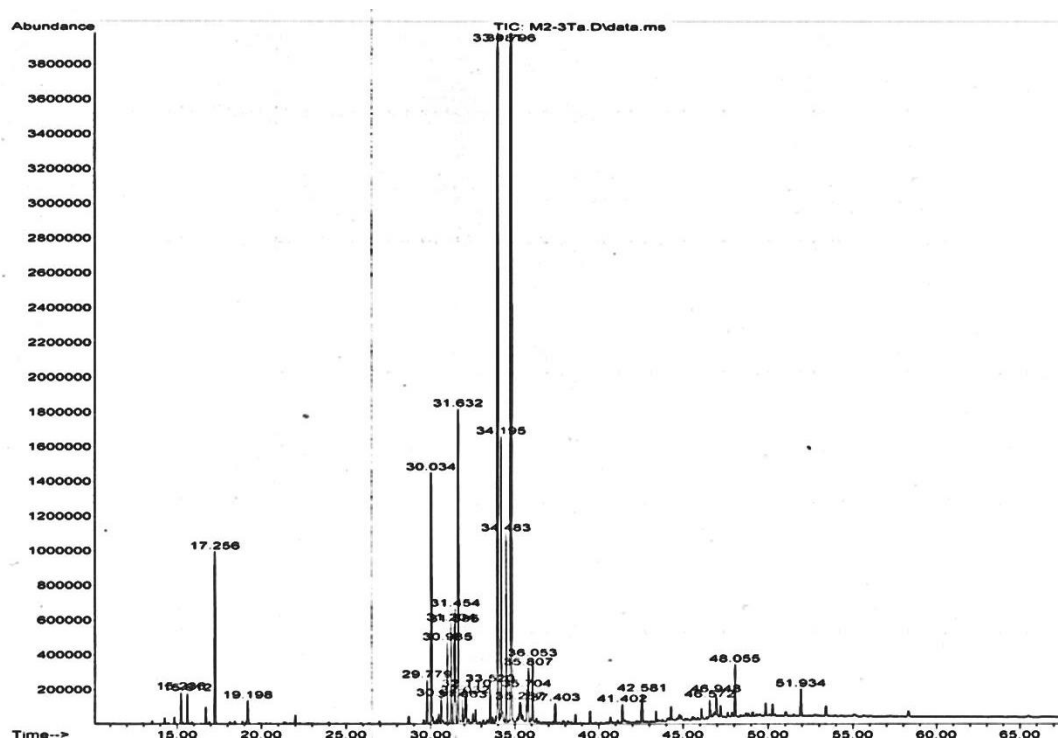
El análisis del aceite esencial de hojas y tallo se reporta en cantidades relativas (%) de sus componentes iniciando con una columna apolar tomando el Cromatograma general para el AE de hojas y tallo del Salvielugo del Galeras, como se observa en la gráfica 13 y 14.

Gráfica 13. Cromatograma (TIC) del AE de Hojas en columna apolar DB1.



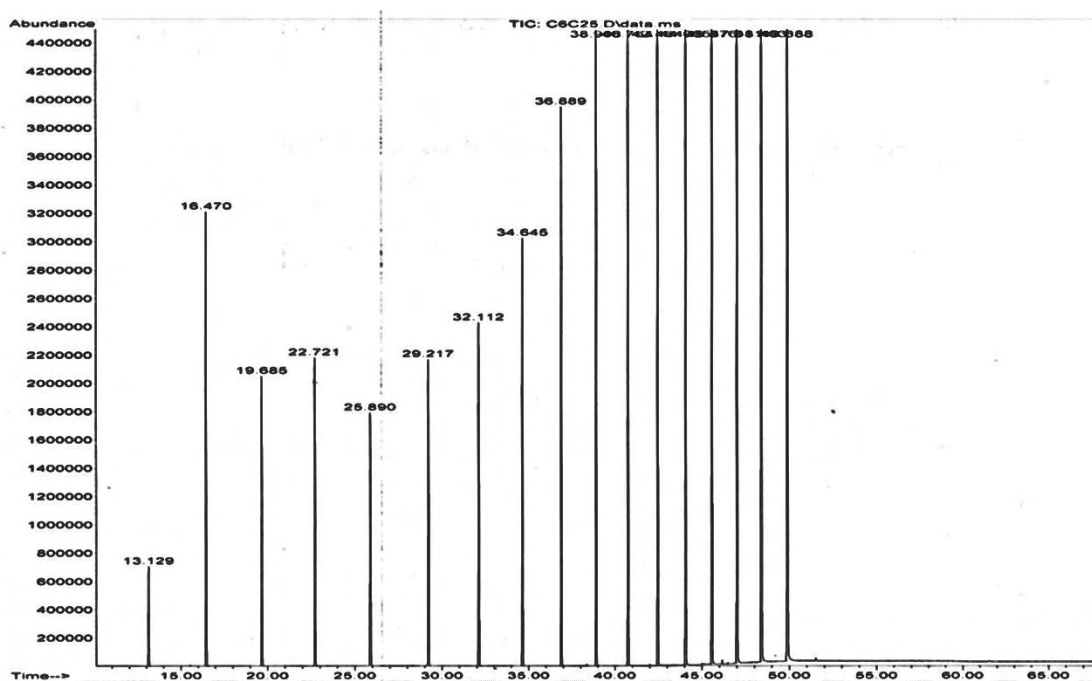
⁴⁶ STASHENKO E. MARTINEZ J. Algunos consejos útiles para el análisis cromatográfico de compuestos orgánicos volátiles. Cenivam. Laboratorio de cromatografía. Universidad Industrial de Santander. Escuela de química. Scientia Chromatographica 2011. P 206 – 207.

Grafica 14. Cromatograma (TIC) del AE de tallos en columna apolar DB1



Posteriormente se inyecta en el cromatógrafo una muestra de hidrocarburos lineales obteniendo el Cromatograma que se muestra en grafica 15, con el cual se determinaron los respectivos índices de retención lineal (Ik)

Grafica 15. Cromatograma (TIC) de hidrocarburos (C9 – C25) lineales obtenido en columna apolar.



Utilizando los cromatogramas anteriores (graficas 13 – 15) se identificó los componentes mayoritarios del AE de hojas y tallo de la planta Salvielugo del Galeras (*Lepechinia v*). En las tablas 19 y 20 se presenta la lista de compuestos identificados, para lo cual se utilizó las bases de datos ADAMS, WILEY Y NIST, espectros de masas, artículos y tesis referentes a estudios realizados en diferentes especies de lepechinias.

Tabla 19. Identificación de los componentes mayoritarios del AE presente en las hojas del Salvielugo del Galeras (*Lepechinia Vulcanicola*) por columna apolar DB-1.

Pico	TIEMPO DE RETENCIÓN (MIN)	COMPUESTO	IK ^a	IK ^b	CANTIDAD RELATIVA (%)
1	13,988	α-TUJENO	926	930	0,09
2	14,28	α-PINENO **	934	932	2,39
3	14,718	CAMFENO	948	954	0,15
4	15,307	1 OCTEN 3 OL **	965	979	3,66
5	15,387	3-OCTANONA	968	979	0,38
6	15,664	β-PINENO **	976	974	4,37
7	15,824	3-OCTENOL	981	988	0,18
8	15,919	MIRCENO	984	991	0,70
9	16,451	α-FENALDRENO	999	1002	0,14
10	16,755	δ - 3 – CARENO **	1009	1008	3,26
11	16,858	α-TERPINENO,	1012	1014	0,19
12	16,949	ORTO - CIMENO	1015	1022	0,40
13	17,352	LIMONENO **	1027	1024	12,52
14	18,155	γ-TERPINENO	1052	1054	0,22
15	18,299	CIS HIDRATO DE SABINENO	1057	1065	0,08
16	18,432	CIS OXIDO DE LINALOOL	1061	1067	0,07
17	18,881	TRAS OXIDO DE LINALOOL	1075	1071	0,07
18	19,056	TERPINOLENO (TERPINOLENE)	1080	1086	0,16
19	19,246	LINALOOL **	1086	1095	2,75
20	21,348	BORNEOL	1155	1153	0,08
21	21,709	TERPINEN-4-OL	1167	1174	0,13
22	22,014	α -TERPINEOL	1177	1186	0,47
23	22,763	b-CICLOCITRAL, CARVEOL	1201	1217, 1215	0,10
24	23,956	NI	1239		0,11
25	24,01	NI	1241		0,12
26	26,355	ACETATO DE CICLOHEXANOL	1314	1314	0,06
27	28,694	α-COPAENO	1384	1374	0,42
28	29,587	ITALICENO	1413	1406	0,12
29	29,8	α-GURJUNENO **	1420	1410	1,32

30	30,093	E-CARIOFILENO**	1430	1419	4,35
31	30,469	b-GURJUNENO	1443	1431	0,04
32	30,538	B - FARNECENO	1446	1457	0,05
33	30,636	AROMADENDRENO	1449	1439	0,63
34	30,773	GUAIENE	1454	1462	0,14
35	31,009	a-HUMULENO**	1462	1465	1,54
36	31,233	ALLO-AROMADENDRENO**	1470	1464	1,72
37	31,446	AR-CURCUMENO**	1477	1479	3,29
38	31,511	γ-CURCUMENO**	1479	1481	2,70
39	31,735	(α -CIS)BERGAMOTENO**	1487	1434	7,13
40	31,895	B - SELINA	1493	1496	0,66
41	32,066	α -FARNECENO**	1498	1505	1,30
42	32,146	BICICLOGERMACRENO	1501	1500	0,72
43	32,283	BISABOLENO	1507	1506	0,31
44	32,53	γ-CARDINENO	1517	1513	0,29
45	32,606	CIS-CALAMENENO	1520	1528	0,14
46	32,686	δ-CADINENO	1523	1522	0,52
47	33,146	SIBIRENO	1541	1545	0,24
48	33,378	3,7 SELINA(11)DIENO	1550	1545	0,24
49	33,553	HIDROXI NEOISOLONGIFOLANO	1557	1555	0,56
50	33,777	NI	1566		0,13
51	34,077	PALUSTROL**	1578	1588	9,71
52	34,165	OXIDO DE CARIOFILENO	1581	1583	0,07
53	34,279	OXIDO DE CARIOFILENO**	1586	1583	3,11
54	34,389	α -PACHULENO	1590		0,24
55	34,457	Z,Z ALFA FANESENO	1593		0,18
56	34,67	GUAJOL**	1601	1601	3,67
57	34,876	LEDOL**	1610	1606	14,87
58	35,157	β - SELINENO	1623	1621	0,13
59	35,282	EREMOLIGENOL	1628	1631	0,17
60	35,328	γ - EUDESMOL	1630	1632	0,48
61	35,404	NI	1634		0,26
62	35,495	HINESOL	1638	1642	0,19
63	35,743	β - EUDESMOL	1649	1651	0,70
64	35,849	α - EUDESMOL**	1654	1654	1,43
65	35,982	NI	1660		0,12
66	36,085	BULNESOL**	1664	1672	1,27
67	36,298	α - BISABOLOL	1674	1686	0,12
68	37,423	XANTHORRHIZOL	1727	1753	0,15
69	38,366	NI	1773		0,10
70	39,495	HEXA HIDROFARNESIL ACETONA	1829	1846	0,13
71	40,693	FARNESIL ACETONA	1897		0,14

72	42,548	NI	2005		0,18
73	42,586	OXIDO DE MANOOL	2008	2057	0,22
74	43,4	ABIETATRIENO	2058	2057	0,06
75	44,084	FITOL	2101	2113	0,14
76	44,293	NI	2115		0,12
77	46,574	NI	2270		0,09
78	46,951	NI	2296		0,19
79	48,061	NI	2375		0,18
80	49,859	EICOSANO	2398	2000	0,06
81	51,935	NI			0,11

** Componente mayoritario.

^a índices de Kovats determinados experimentalmente

^b índices de Kovats publicados en bibliografía con numeral (42, 55)

Tabla 20. Identificación de los componentes mayoritarios del AE presente en el tallo del Salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*) por columna apolar DB-1.

pico	T/RETEN (MIN)	COMPUESTO	IK ^a	IK ^b	CANTIDAD RELATIVA (%)
1	17,257	LIMONENO**	1024	1024	2,73
2	29,777	α - GURJUNENE	1419	1410	0,82
3	30,032	CARIOFILENO (E) **	1428	1419	4,44
4	30,986	α - HUMULENO**	1461	1455	1,42
5	31,203	ALLO - AROMADENDRENO**	1469	1460	1,82
6	31,386	CURCUMENO (AR) **	1475	1481	1,72
7	31,454	γ - CURCUMENO**	1477	1483	2,00
8	31,633	α -FARNESENO**	1483	1506	5,01
9	33,522	HIDROXI NEOISOLONGIFOLANO	1556		0,68
10	33,982	PALUSTROL**	1574	1588	20,87
11	34,195	OXIDO DE CARIOFILENO**	1583	1583	4,61
12	34,484	GUAJOL**	1594	1601	3,39
13	34,796	LEDOL**	1607	1622	46,77
14	35,807	α - EUDESMOL**	1652	1654	1,36
15	36,054	BULNESOL**	1663	1672	1,38
16	48,057	NI	2375		0,98

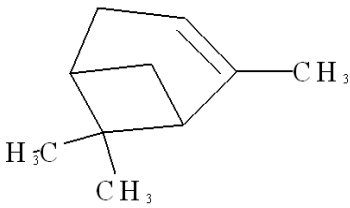
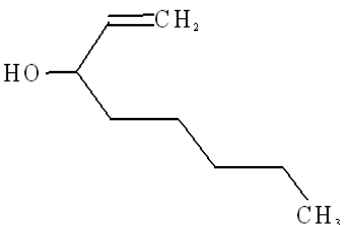
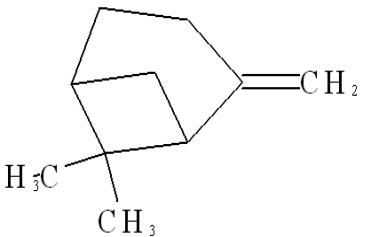
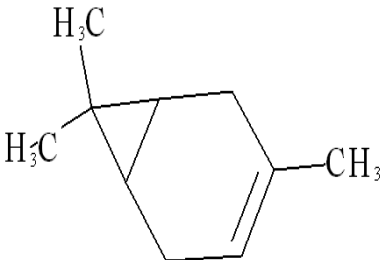
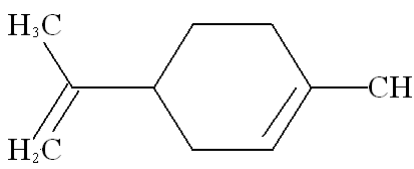
** Componente mayoritario.

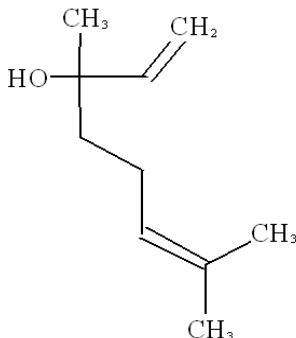
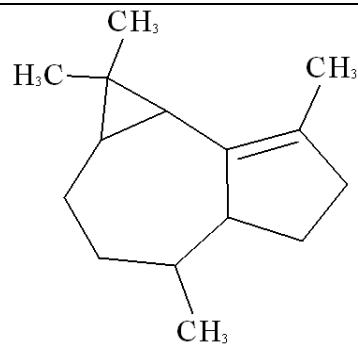
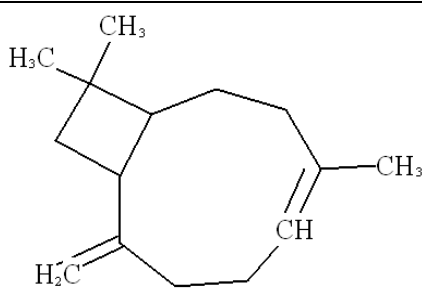
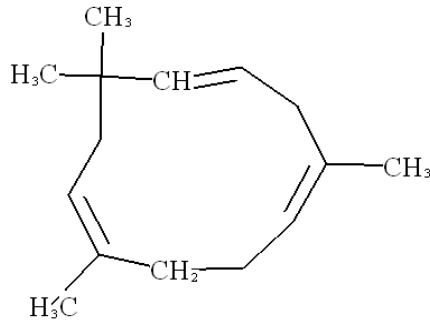
^a índices de Kovats determinados experimentalmente

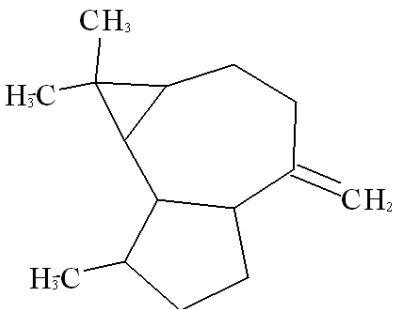
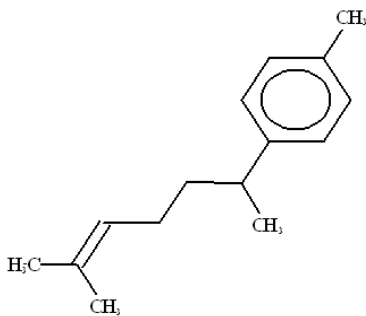
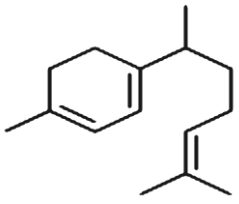
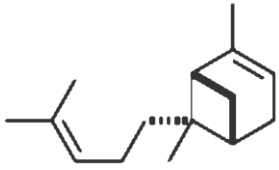
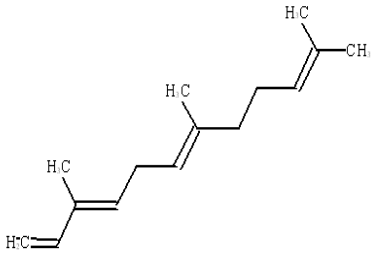
^b índices de Kovats publicados en bibliografía con numeral (42, 55)

En el cuadro 5 y 6 se muestran los componentes del AE de hojas y tallo de la planta Salvielugo del Galeras (*Lepechinia Vulcanicola*) con una cantidad relativa mayor al 1%; además se muestra su correspondiente estructura química, nombre IUPAC.

Cuadro 5. Estructuras de los componentes mayoritarios del AE presentes en hojas de la planta Salvielugo del Galeras (*Lepechinia Vulcanicola*).

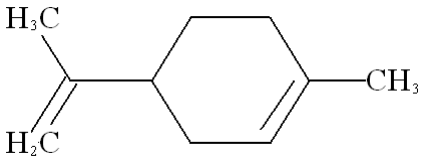
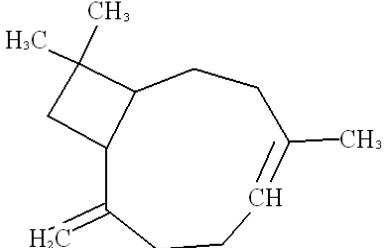
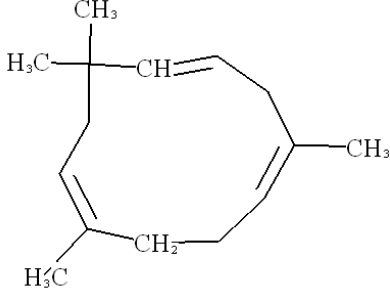
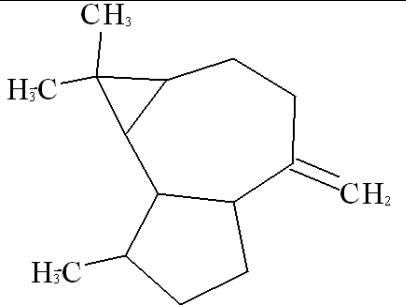
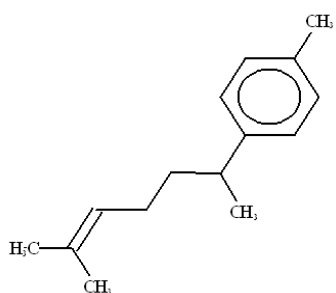
Nº	NOMBRE	ESTRUCTURA	(%)
1	α - PINENO Bicyclo 3.1.1 hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl-		2.39
2	1 - OCTEN - 3 - OL		3.66
3	B - PINENO Bicyclo 3.1.1 heptane, 6,6- dimethyl-2-methylene-		4.37
4	δ - 3 - CARENO Bicyclo 4.1.0 hept-3-ene, 3,7,7-trimethyl-		3.26
5	LIMONENO Cyclohexene, 1-methyl-4- (1-methylethenyl)-		12.5

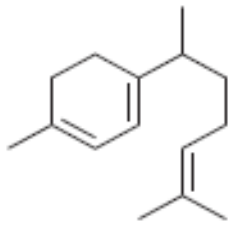
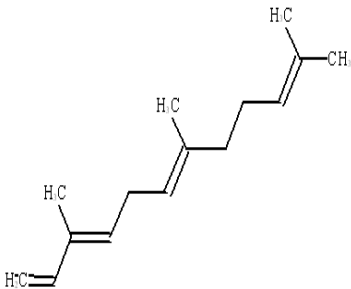
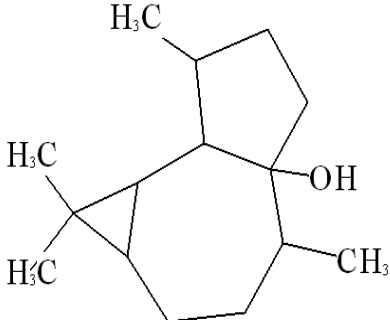
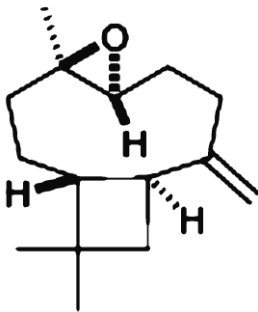
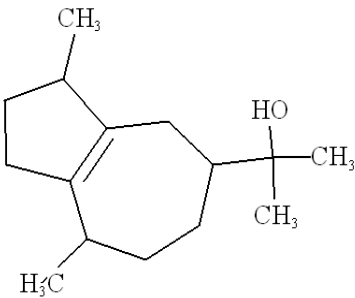
Nº	NOMBRE	ESTRUCTURA	(%)
6	LINALOOL 1,6-Octadien-3-ol, dimethyl- 3,7-		2.75
7	α - GURJUNENO 1H-CYCLOPROP[E]AZULENE, 1A,2,3,4,4A,5,6,7B-OCTAHYDRO- 1,1,4,7-TETRAMETH		1.32
8	E - CARIOFILENO Bicyclo 7.2.0 undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene- , 1R-(1R*,4E,9S*) -		4.35
9	α - HUMULENO 1,4,8-Cycloundecatriene, 2,6,6,9-tetramethyl-, (E,E,E)-		1.54

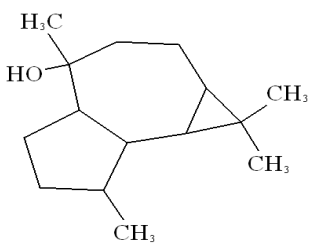
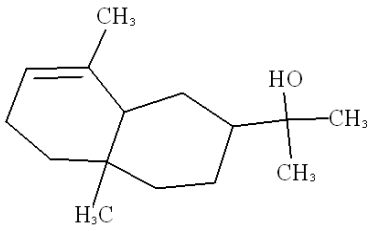
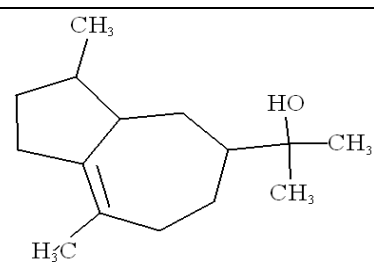
Nº	NOMBRE	ESTRUCTURA	(%)
10	ALLO AROMADENDRENO 1H-Cycloprop[e]azulene, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, (1aR,4aS,7R,7aR,7bS)-		1.72
11	α - CURCUMENO benzene, 1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl-		3.29
12	γ - CURCUMENO Benzene, 1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl-(9CI)		2.70
13	α – CIS - BERGAMOTENO Bicyclo(3.1.1)heptane, 6-methyl-2-methylene-6-(4-methyl-3-pentenyl)		7.13
14	α - FARNECENO 1,3,6,10-Dodecatetraene, 3,7,11-trimethyl-, (E,E)-		1.30

Nº	NOMBRE	ESTRUCTURA	(%)
15	PALUSTROL 4aH-Cycloprop(e)azulen-4a-ol, decahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, (1aR-(1aalpha,4beta,4abeta,7alpha,7abeta,7balpha))		9.71
16	GUAIOL 5-Azulenemethanol, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-.alpha.,.alpha.,3,8-tetramethyl-, 3S-(3.alpha.,5.alpha.,8.alpha.)-		3.67
17	LEDOL 1H-Cycloprop(e)azulen-4-ol, decahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, (1aR-(1aalpha,4alpha,4abeta,7alpha,7abeta,7balpha))-;		14.9
18	α - EUDESMOL 2-Naphthalenemethanol, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-.alpha.,.alpha.,4a,8-tetramethyl-, 2R-(2.alpha.,4a.alpha.,8a.beta.		1.43
19	BULNESOL 5-Azulenemethanol, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-a,a,3,8-tetramethyl-, [3S-(3a,3a,5a)]-		1.27

Cuadro 6. Estructuras de los Componentes mayoritarios del AE presentes en tallo de la planta Salvielugo del Galeras (*Lepechinia Vulcanicola*).

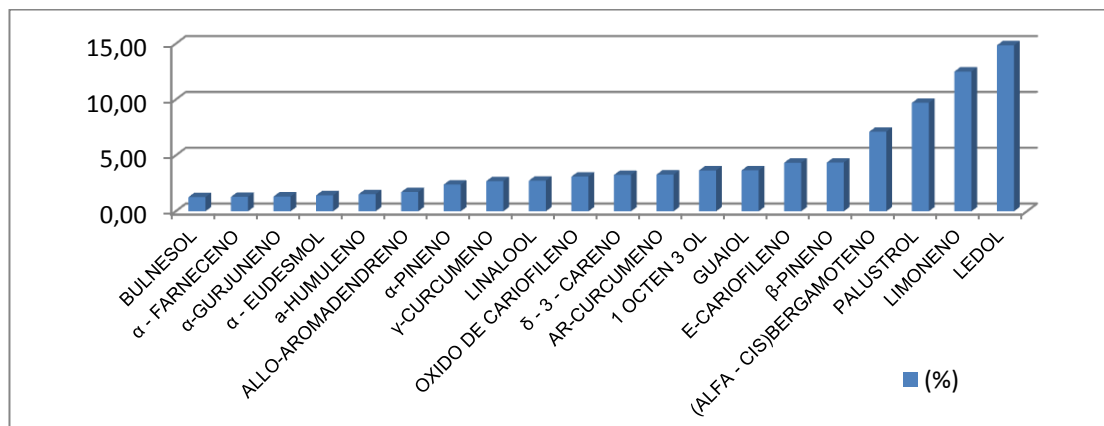
Nº	NOMBRE	ESTRUCTURA	(%)
1	LIMONENO Cyclohexene,1-methyl-4-(1-methylethenyl)		2.73
2	E - CARIOFILENO Bicyclo 7.2.0 undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, 1R-(1R*,4E,9S*) -		4.44
3	α - HUMULENO 1,4,8-Cycloundecatriene, 2,6,6,9-tetramethyl-, (E,E,E)-		1.42
4	ALLO AROMADENDRENO 1H-Cycloprop[e]azulene,decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, (1aR,4aS,7R,7aR,7bS)-		1.82
5	α - CURCUMENO Benzene, 1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl-(9CI)		1.72

Nº	NOMBRE	ESTRUCTURA	(%)
6	γ – CURCUMENO Benzene, 1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl-(9CI)		2.00
7	α - FARNECENO 1,3,6,10-Dodecatetraene, 3,7,11-trimethyl-, (E,E)		5.01
8	PALUSTROL 4aH-Cycloprop(e)azulen-4a-ol, decahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, (1aR-(1aα,4β,4β,7α,7α,7β,7β))		20.9
9	OXIDO DE CARIOFILENO 5-Oxatricyclo 8.2.0.04,6 dodecane, 4,12,12-trimethyl-9-methylene-, 1R-(1R*,4R*,6R*,10S*) -		4.61
10	GUAIIOL 5-Azulenemethanol, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-.α.,.α.,3,8-tetramethyl-, 3S-(3.α.,5.α.,8.α.)		3.39

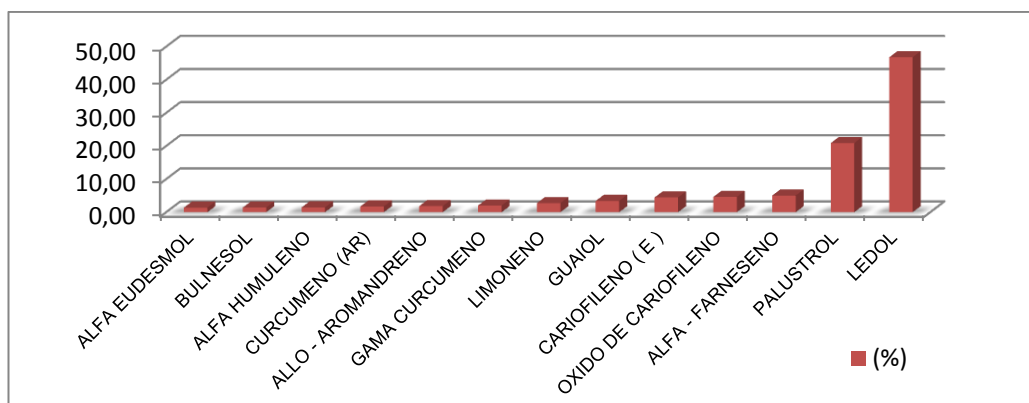
Nº	NOMBRE	ESTRUCTURA	(%)
11	LEDOL 1H-Cycloprop(e)azulen-4-ol, decahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, (1aR-(1aalpha,4alpha,4abeta,7alpha,7abeta,7balpha))-;		46.77
12	α - EUDESMOL 2-Naphthalenemethanol, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-.alpha.,.alpha.,4a,8-tetramethyl-, 2R-(2.alpha.,4a.alpha.,8a.beta.		1.36
13	BULNESOL 5-Azulenemethanol, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-a,a,3,8-tetramethyl-, [3S-(3a,3a ,5a)]		1.38

Mediante la identificación por CG/EM en columna apolar DB-1 se determinó que para las hojas el compuesto mayoritario es ledol (14.87%) y el compuesto que se encuentra en menor proporción es el bulnesol (1.27%), como se puede observar en la gráfica 16. Para el tallo el mayor compuesto mayoritario es el ledol (46.77%) y el compuesto en menor proporción es α -eudesmol (1.36%) como se muestra en la gráfica 17.

Grafica 16. Cantidad relativa (%) de los componentes mayoritarios del AE en hojas mediante columna apolar DB-1



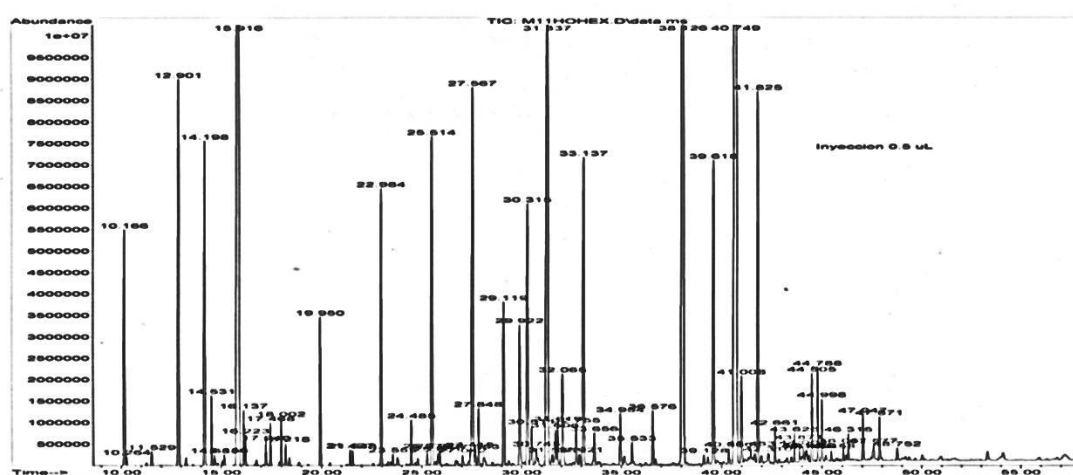
Grafica 17. Cantidad relativa (%) de los componentes mayoritarios del AE en tallos mediante columna apolar DB-1



De acuerdo a Stashenko,E: “La polaridad de la columna se escoge de acuerdo con la polaridad de los analitos; para el caso de mezclas heterogéneas como lo son los aceites esenciales que contiene analitos polares como apolares es necesario usar dos columnas, polar (de polietilenglicol) y apolar (de 100% polidimetilsiloxano)”⁴⁷; por lo anterior para lograr mayor separación e identificación de los componentes presentes en el AE de hojas y tallo de la planta Salvielugo del Galeras se complementa el análisis empleando dos columnas de polaridades ya mencionadas (columna apolar DB-1, tabla 19 - 20 y columna polar DB-WAX, tabla 21 - 22).

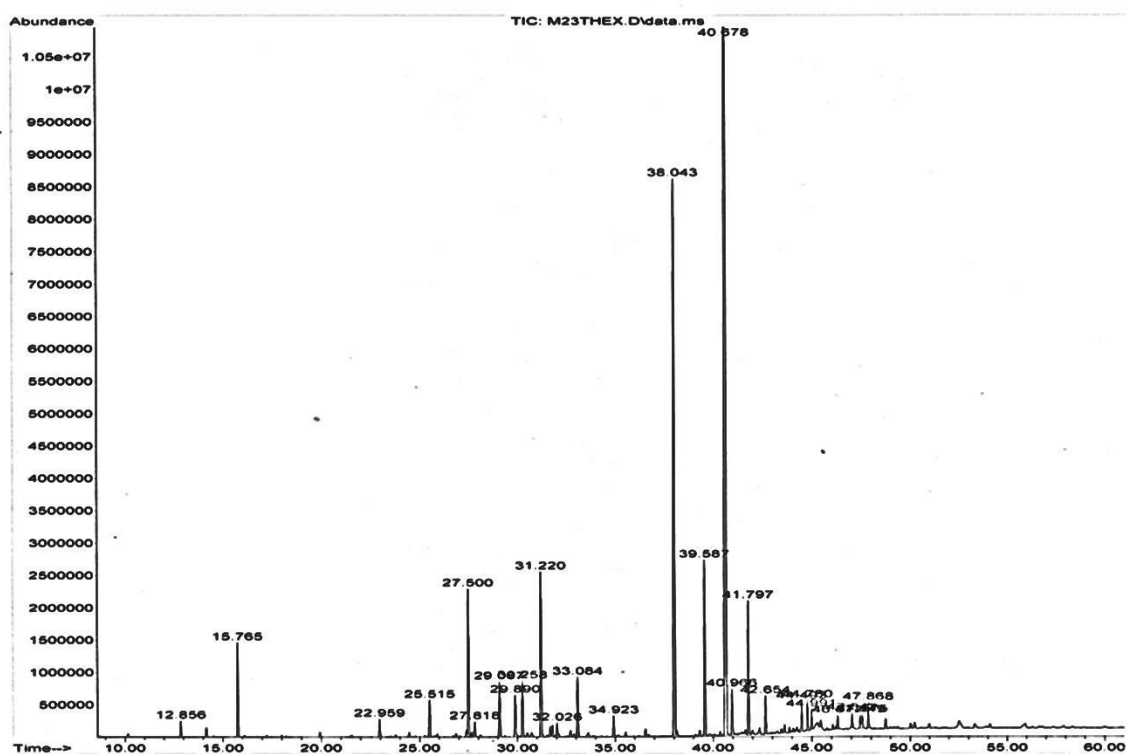
Los cromatogramas obtenidos al utilizar la columna DB-WAX se indican en las gráficas18 – 20.

Grafica 18. Cromatograma (TIC) del AE de hojas en columna polar DB-WAX

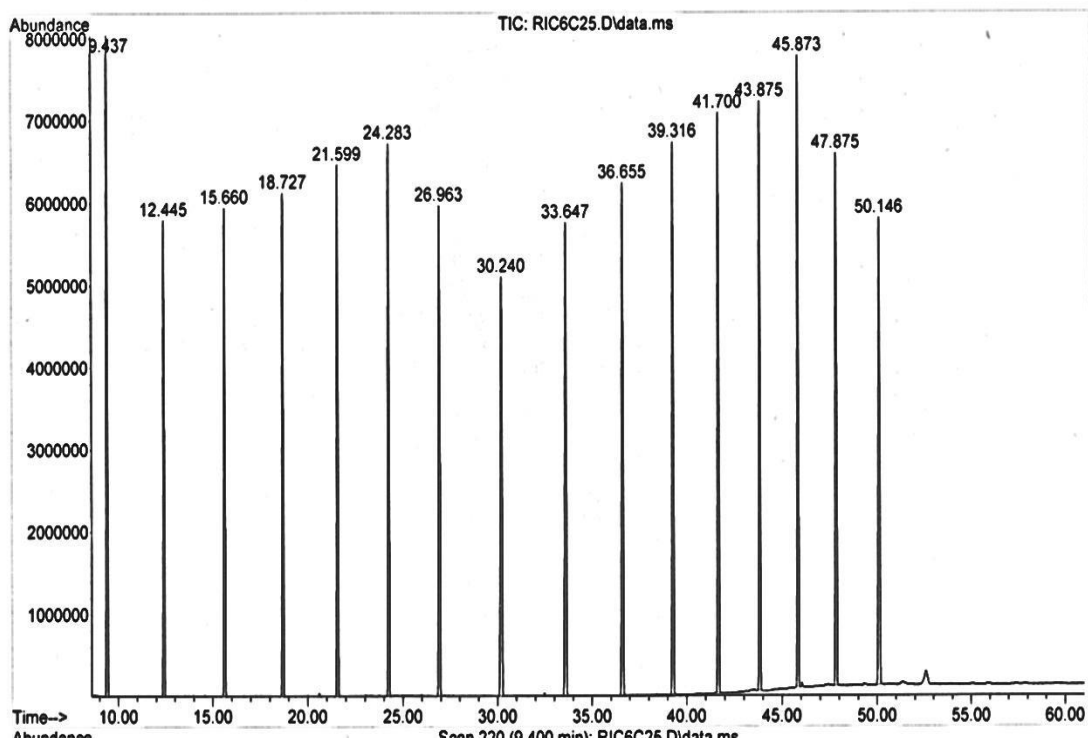


⁴⁷ STASHENKO E. MARTINEZ J. Algunos consejos útiles para el análisis cromatográfico de compuestos orgánicos volátiles. Cenivam. Laboratorio de cromatografía. Universidad Industrial de Santander. Escuela de química. Scientia Chromatographica 2011. P 206 – 207

Grafica 19. Cromatograma (TIC) del AE de tallos en columna polar DB-WAX



Grafica 20. Cromatograma (TIC) de hidrocarburos (C10-C25) en columna polar DB-WAX.



Conservando el procedimiento de identificación mediante los cromatogramas de la columna apolar DB-1 descrito anteriormente, se procede a identificar los componentes mayoritarios mediante los cromatogramas de la columna polar DB-WAX con el fin de verificar su presencia en el aceite esencial de hojas y tallos; los datos obtenidos se encuentran consignados en las tablas 21 - 22.

En las tablas 23 - 24 se observa la cantidad relativa (%) de los componentes mayoritarios del aceite esencial para hojas y tallos determinados en columna polar DB-WAX identificando el compuesto 6-METIL-5-HEPTEN-2-ONA con 1.01 % como el compuestos minoritario y LEDOL con 16.6 % como el compuesto mayoritario. Para los tallos se determinó ESPATULENOL con 1.05 % como el compuesto minoritario y LEDOL con 41.61 % como el compuesto mayoritario.

Tabla 21. Identificación de los componentes mayoritarios del AE presente en hojas del Salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*) por columna polar DB-WAX.

PICO	T/RETEN (MIN)	COMPUESTO	IK CALCULADO	(%)
1	10,166	α - PINENO**	1024	1,91
2	10,264	α -THUJENO	1027	0,07
3	11,529	CAMPENO	1070	0,11
4	12,901	β - PINENO**	1115	3,99
5	14,198	δ -3 CARENO**	1155	2,87
6	14,531	β - MIRCENO	1165	0,48
7	14,685	α - FENALDRENO	1170	0,08
8	15,156	α - TERPINENO	1184	0,09
9	15,916	LIMONENO**	1208	13,64
10	16,137	β - FENALDRENO	1216	0,36
11	16,223	EUCALIPTOL	1218	0,21
12	17,240	γ - TERPINENO	1252	0,17
13	17,468	3 OCTANONA	1259	0,28
14	18,002	P- CIMENO	1276	0,32
15	18,218	α -TERPINOLENO	1283	0,15
16	19,950	6-METIL-5-HEPTEN-2-ONA**	1343	1,01
17	21,427	3 OCTANOL	1394	0,10
18	21,548	NONANAL	1398	0,10
19	22,984	1 - OCTEN - 3 - OL**	1452	2,08
20	23,555	CIS HIDRATO DE SABINENO (THUJANOL)	1473	0,07
21	24,485	α - COPAENO	1508	0,31
22	25,276	NI	1537	0,12

23	25,514	LINALOOL**	1546	3,30
24	25,801	NI	1557	0,13
25	25,914	β - CURCUMENO	1561	0,31
26	27,042	NI	1602	0,11
27	27,415	4- TERPINEOL	1614	0,16
28	27,570	β - CARIOFILENO**	1618	4,65
29	27,683	β - GURJUNENO	1622	0,17
30	27,848	AROMADENDRENO	1627	0,49
31	29,119	ALLO - AROMADENDRENO**	1666	1,67
32	29,922	α -HUMULENO**	1690	1,53
33	30,315	γ - CURCUMENO**	1702	2,99
34	30,511	ALFA - TERPINEOL	1708	0,42
35	30,745	LEDENO - VIRIDIFLORENO	1715	0,16
36	31,337	BICICLO[3.1.1]HEPT-2-ENE, 2,6-DIMETIL-6-(4-METHYL-3-PENTENIL)- **	1732	8,87
37	31,536	β - BISABOLENO	1738	0,14
38	31,696	β - SILENENO - BETA-EUDESMEENO	1743	0,39
39	31,819	α - SILENENO	1746	0,40
40	32,065	α -FARNECENO**	1754	1,05
41	32,755	δ - CANDINENO	1774	0,42
42	32,921	α - AMORFENO	1779	0,11
43	33,137	α - CURCUMENO**	1785	3,10
44	33,656	SELINA 3,7- (11) - DIENO	1800	0,36
45	34,954	HIDROXI NEOISOLONGIFOLANO	1843	0,49
46	35,533	GERANIL ACETONA	1863	0,16
47	36,576	NI	1897	0,46
48	38,126	PALUSTROL**	1955	11,26
49	39,128	NI	1993	0,09
50	39,618	OXIDO DE CARIOFILENO**	2013	2,88
51	40,366	NI	2044	0,14
52	40,749	LEDOL**	2060	16,63
53	41,008	NI	2071	0,93
54	41,463	NI	2090	0,11
55	41,825	GUAJOL**	2106	3,08
56	42,310	NI	2128	0,03
57	42,661	ESPATULENOL	2144	0,30
58	43,626	γ - EUDESMOL	2189	0,24
59	43,871	β - GURJUNENO	2200	0,18
60	44,062	β -GURJUNENO	2209	0,15
61	44,178	NI	2215	0,12
62	44,246	NI	2219	0,11

63	44,446	α - BISABOOL	2229	0,08
64	44,505	BULNESOL	2232	0,67
65	44,788	α - EUDESMOL	2246	0,70
66	44,998	β - EUDESMOL	2256	0,50
67	45,458	NI	2279	0,09
68	46,061	NI	2309	0,13
69	46,315	CARIOFILA - 4 (12),8 (13) DIEN - 5 - BETA - OL	2322	0,22
70	47,047	NI	2359	0,36

** Componentes mayoritarios.

Tabla 22. Identificación de los componentes mayoritarios del AE presente en tallo del Salvelugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*) por columna polar DB-WAX

PICO	T/RETEN (MIN)	COMPUESTO	IK CALCULADO	(%)
1	12,856	β - PINENO	1113	0,43
2	15,765	LIMONENO**	1203	2,31
3	22,959	1 - OCTEN - 3 - OL	1451	0,45
4	25,515	LINALOOL **	1546	1,21
5	27,500	4- TERPINEOL**	1616	4,51
6	27,818	AROMADENDRENO	1626	0,48
7	29,087	ALLO - AROMADENDRENO**	1665	1,84
8	29,890	A - HUMULENO**	1689	1,52
9	30,258	γ - CURCUMENO**	1700	1,87
10	31,220	BETA SELINENO - VALENCENO**	1729	5,42
11	32,026	BICICLOGERMANCRENO	1752	0,37
12	33,084	CURCUMENO**	1783	1,84
13	34,923	HIDROXI NEOISOLONGIFOLANO	1842	0,64
14	38,043	PALUSTROL**	1952	19,50
15	39,587	OXIDO DE CARIOFILENO**	2011	5,15
16	40,678	LEDOL**	2057	41,61
17	40,966	EPOXIDO DE HUMULENO**	2069	1,42
18	41,797	VIRIDIFLOROL**	2104	3,58
19	42,654	ESPATULENOL**	2144	1,05
20	44,493	BULNESOL	2231	0,92
21	44,780	A EUDESMOL	2245	0,79
22	44,991	NI	2256	0,57
23	46,312	Cariofila-4(14),8(15)-dien-5, α -ol	2322	0,38
24	47,042	NI	2358	0,42

**Componentes mayoritarios

Se determinaron los componentes del AE por medio de columna polar DB – WAX, lo cual permitió confirmar la presencia de los compuestos separados e identificados mediante la columna apolar DB-1, además se determinó la presencia de otros compuestos que en columna apolar no se identificaron, debido a que dos o más picos con tiempos de retención similares se pueden sobreponer observando únicamente el pico de mayor área. Los compuestos se muestran en las tablas 23 - 24; de igual forma se determinó la cantidad relativa de los componentes mayoritarios para hojas y tallos como se muestra en las gráficas 21 - 22. En los cuadros 7 y 8 sus respectivas estructuras químicas.

En las tablas 25- 26 se encuentran los componentes totales del AE para hojas y tallo identificados mediante columna apolar DB1 y la columna polar DB – WAX, demostrando de esta manera que es necesario en el momento de identificar los componentes del AE el uso de dos columnas distintas ya que como se mencionó anteriormente el AE es una mezcla heterogénea la cual contiene compuestos de diferente naturaleza presentándose co-eluciones.

Tabla 23. Compuestos identificados mediante columna polar DB-WAX en hojas.

Nº	COMPUESTOS	(%)
1	β- MIRCENO	0,48
2	P - CIMENO	0,32
3	β- FENALDRENO	0,36
4	EUCALIPTOL	0,21
5	α-TERPINOLENO	0,15
6	6-METIL – 5 – HEPTEN – 2 – ONA**	1,01
7	NONANAL	0,1
8	γ – CURCUMENO	2.99
9	LEDENO - VIRIDIFLORENO	0,16
10	BICYCLO[3.1.1]HEPT-2-ENE, 2,6-DIMETHYL-6-(4-METHYL-3-PENTENYL)-	0,87
11	β- SILENENO - β-- EUDESMENO	0,39
12	α-SILENENO	0,4
13	α- AMORFENO	0,11
14	GERANIL ACETONA	0,16
15	ESPATULENOL	0,3

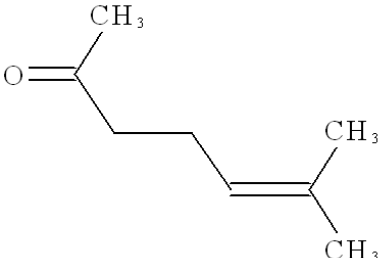
** Compuestos mayoritarios identificados mediante columna DB-WAX.

Tabla 24. Compuestos identificados mediante columna polar DB-WAX en tallo.

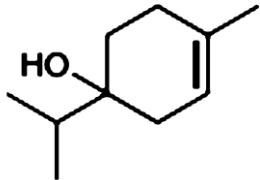
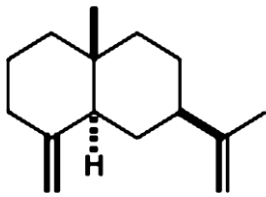
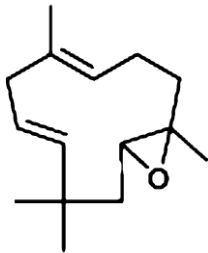
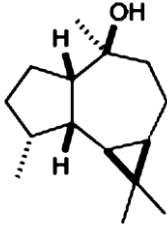
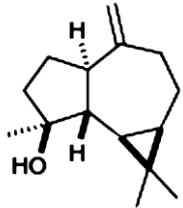
Nº	COMPUESTOS	(%)
1	β - PINENO	0,43
3	LINALOOL	1,21
4	4- TERPINEOL**	4,51
5	AROMADENDRENO	0,48
6	β - SELINENO – VALENCENO**	5,42
7	γ – CURCUMENO	1,87
8	BICICLOGERMANCRENO	0,37
9	EPOXIDO DE HUMULENO**	1,42
10	VIRIDIFLOROL**	3,58
11	ESPATULENOL**	1,05
12	CARIOFILA-4(14),8(15)-DIEN-5,A-OL	0,38

** Compuestos mayoritarios identificados mediante columna DB-WAX.

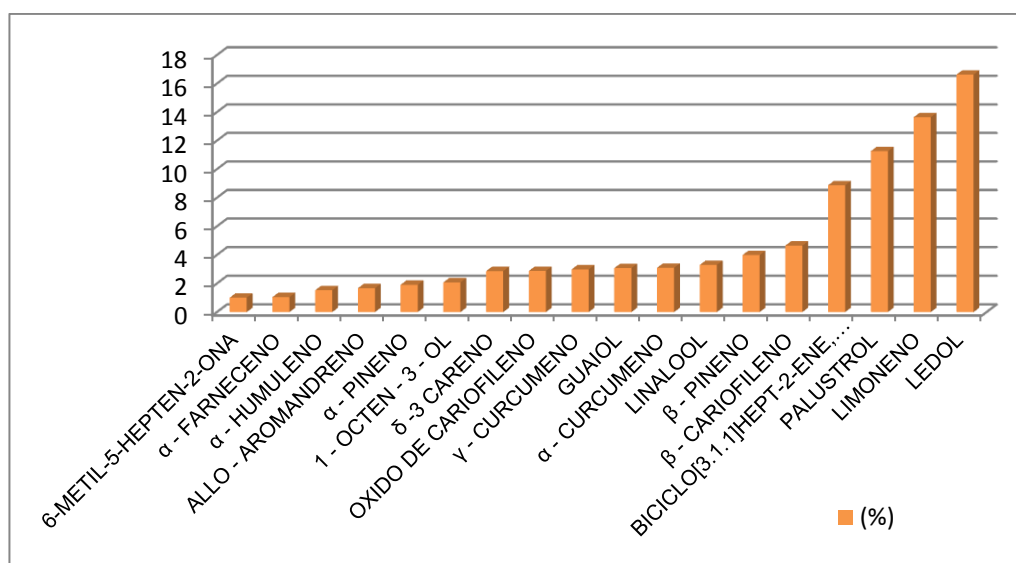
Cuadro 7. Estructuras de los componentes identificados del AE presentes en hojas de la planta Salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*) por columna polar DB-WAX

Nº	NOMBRE	ESTRUCTURA
6	6-METIL – 5 – HEPTEN – 2 - ONA	

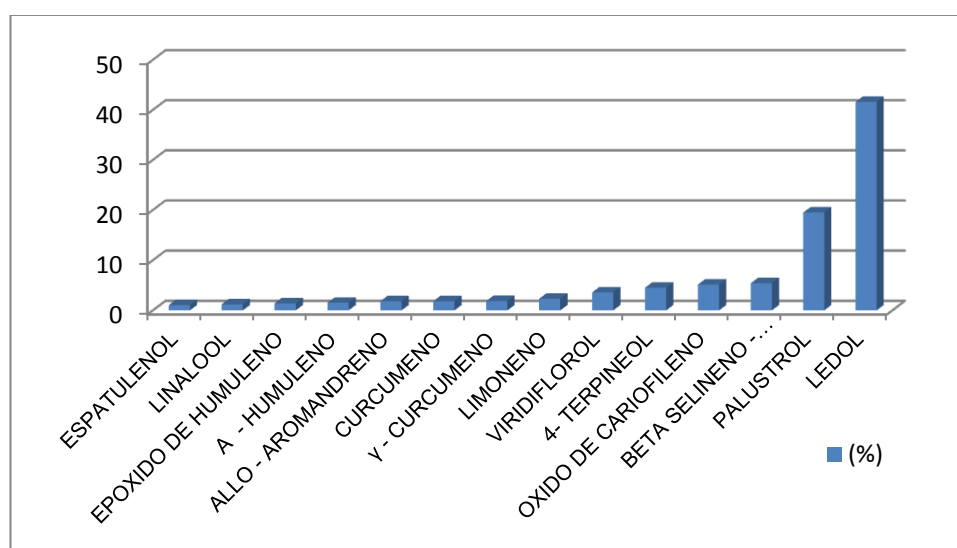
Cuadro 8. Estructuras de los componentes identificados del AE presentes en tallos de la planta Salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*) por columna polar DB-WAX

Nº	NOMBRE	ESTRUCTURA	(%)
4	4 – TERPINEOL 3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-		4.51
7	β – SELINENO Naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethenyl)-, [4aR-(4a.alpha.,7.alpha.,8a.beta.)]- (9CI)		5.42
9	EPOXIDO DE HUMULENO 12-Oxabicyclo[9.1.0]dodeca-3,7-diene,3,7,10,- 10-tetramethyl		1.42
10	VIRIDIFLOROL 1H-Cycloprop[e]azulen-4-ol, decahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR-(1a,4,4a,7,7a,7b)]-		3.58
11	ESPATULENOL 1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, (1aR,4aR,7S,7aR,- 7bR)		1.05

Grafica 21. Cantidad relativa (%) de los componentes mayoritarios del AE en hojas mediante columna polar DB-WAX



Grafica 22. Cantidad relativa (%) de los componentes mayoritarios del AE en tallos mediante columna polar DB-WAX



En la tabla 23 y tabla 24 marcados con (**) se muestran los compuestos que se identificaron únicamente mediante la columna polar DB-WAX; los cuales para hojas son: 6-METIL-5-HEPTEN-2-ONA (1.01%) de igual manera para los tallos son: 4-TERPIENOL (4.51%), β - SELINENO (5.42), EPOXIDO DE HUMULENO (1.42%), VIRIDIFLOROL (3.58%) y ESPATULENOL (1.05%).

Tabla 25. Componentes totales del AE de hojas de la planta Salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*) identificados por CG/EM, en columna apolar (DB-1) y columna polar (DB-WAX).

Nº	COMPUPESTO	IK	
		DB-1	DB-WAX
1	α -TUJENO	926	1027
2	α -PINENO	934	1024
3	CAMFENO	948	1070
4	1 OCTEN 3 OL	965	1452
5	3-OCTANONA	968	1259
6	β -PINENO	976	115
7	3-OCTENOL	981	1394
8	β - MIRCENO	984	1165
9	α -FENALDRENO	999	1170
10	δ - 3 - CARENO	1009	1155
11	α - TERPINENO	1012	1184
12	O- CIMENO	1015	-
13	LIMONENO	1027	1208
14	γ -TERPINENO	1052	1252
15	CIS HIDRATO DE SABINENO	1057	1473
16	CIS OXIDO DE LINALOOL	1061	-
17	TRAS OXIDO DE LINALOOL	1075	-
18	α - TERPINOLENO	1080	1283
19	LINALOOL	1086	1546
20	BORNEOL	1155	-
21	TERPINEN-4-OL	1167	1614
22	α - TERPINEOL	1177	1708
23	β - CICLOCITRAL	1201	-
24	ACETATO DE CICLOHEXANOL	1314	-
25	α -COPAENO	1384	1508
26	ITALICENO	1413	-
27	α -GURJUNENO	1420	-
28	β - CARIOFILENO	1430	1618
29	β - GURJUNENO	1443	1622
30	β - FARNECENO	1446	-
31	AROMADRENO	1449	1627
32	GUAIEENO	1454	-
33	α - HUMULENO	1462	1690
34	ALLO-AROMADENDRENO	1470	1666
35	AR - CURCUMENO	1470	-
36	α - CURCUMENO	-	1785
37	γ -CURCUMENO	1479	1702
38	(α - CIS)BERGAMOTENO	1487	-
39	B - SELINA	1493	-
40	α - FARNECENO	1498	1754
41	BICICLOGERMACRENO	1501	-

42	β - BISABOLENO	1507	1738
43	γ -CARDINENO	1517	-
44	β - FENALDRENO	-	1216
45	EUCALIPTOL	-	1218
46	P- CIMENO	-	1276
47	6-METIL-5-HEPTEN-2-ONA	-	1343
48	NONANAL	-	1398
49	VIRIDIFLORENO	-	1715
50	BICICLO[3.1.1]HEPT-2-ENE, 2,6-DIMETIL-6-(4-METHYL-3-PENTENIL)-	-	1732
51	β - SILENENO	-	1743
52	α - SILENENO	-	1746
53	δ - CANDINENO	-	1774
54	α - AMORFENO	-	1779
55	3,7 SELINA(11)DIENO	1550	1800
56	HIDROXI NEOISOLONGIFOLANO	1557	1843
57	GERANIL ACETONA	-	1863
58	PALUSTROL	1578	1955
59	CIS-CALAMENENO	1520	-
60	δ -CADINENO	1523	-
61	SIBIRENO	1541	-
62	OXIDO DE CARIOFILENO	1586	-
63	LEDOL	1610	2060
64	GUAJOL	1601	2106
65	α - PACHULENO	1590	-
66	Z,Z α - FANESENO	1593	-
67	ESPATULENOL	-	2144
68	γ - EUDESMOL	1630	2189
69	β - SELINENO	1623	-
70	EREMOLIGENOL	1628	-
71	α - BISABOLOL	1674	2229
72	BULNESOL	1664	2232
73	β - EUDESMOL	1649	2256
74	α - EUDESMOL	1654	2246
75	HINESOL	1638	-
76	CARIOFILA - 4 (12),8 (13) DIEN - 5 - BETA - OL	1615	2322
77	XANTHORRHIZOL	1727	-
78	HEXA HIDROFARNESIL ACETONA	1829	-
79	FARNESIL ACETONA	1897	-
80	OXIDO DE MANOOL	2008	-
81	ABIETATRIENO	2058	-
82	EICOSANO	2398	-

Tabla 26. Componentes totales del AE del tallo de la planta Salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*) identificados por CG/EM, en columna apolar (DB-1) y columna polar (DB-WAX).

Nº	COMPUESTO	IK	
		DB-5	DB-WAX
1	LIMONENO	1024	1203
2	α - GURJUNENO	1419	-
3	β -CARIOFILENO	1428	-
4	α - HUMULENO	1461	1689
5	ALLO - AROMADENDRENO	1469	1665
6	CURCUMENO (AR)	1475	1785
7	γ - CURCUMENO	1477	1700
8	α -FARNESENO	1483	-
9	HIDROXI NEOISOLONGIFOLANO	1556	18242
10	PALUSTROL	1574	1952
11	OXIDO DE CARIOFILENO	1582	2011
12	GUAJOL	1594	-
13	LEDOL	1607	2057
14	α - EUDESMOL	1652	2245
15	BULNESOL	1663	2231
16	BETA PINENO	976	1113
17	1 - OCTEN - 3 - OL	965	1451
18	LINALOOL	1086	1546
19	4- TERPINEOL	1167	1616
20	AROMADENDRENO	1449	1626
21	BETA SELINENO	1623	1729
22	BICICLOGERMANCRENO	1501	1752
23	α - CURCUMENO	-	1783
24	EPOXIDO DE HUMULENO	-	2069
25	VIRIDIFLOROL	-	2104
26	ESPATULENOL	-	2144
27	Cariofila-4(14),8(15)-dien-5, α -ol	-	2322

En las tablas 25 y 26 se puede observar que la determinación de la composición química del AE es más completa cuando se utilizan dos columnas cromatográfica de diferente naturaleza porque se presenta mayor separación de los diferentes compuestos, permitiendo identificar y ratificar con mayor confiabilidad la presencia de estos.

Tal es el caso de los compuestos que están contenidos en la tabla 23 (**) para el AE de hojas y en la tabla 24 (**) para el AE del tallo, los cuales mediante

columna apolar DB-1 co-eluyeron pero al usar la columna polar DB-WAX si fue posible identificarlos; además algunos de estos compuestos forman parte de los componentes mayoritarios del AE de hojas y tallo de la planta Salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*).

5.1.4. IDENTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS MAYORITARIOS POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS.

Se realiza la identificación confirmativa mediante espectrometría de masas la cual es una técnica que nos ofrece un espectro de cada compuesto siendo de forma análoga su huella digital, se podría decir que la espectrometría de masas es la tercera dimensión del análisis.

En la tabla 27 se presentan los compuestos del AE de hojas y tallo de la planta Salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*) con mayor cantidad relativa tomando como un mínimo del 10 %; además se indican sus respectivos (IK), (Tr) y (m/z).

Los espectros de masas obtenidos experimentalmente correspondientes a las gráficas 23 – 25 se compararon con los expuestos en las diferentes bases de datos (ADAMS, WILEY y NIST) y con espectros de masas (patrones reportados en la literatura), sus posibles fragmentaciones se presentan en el anexo 1.

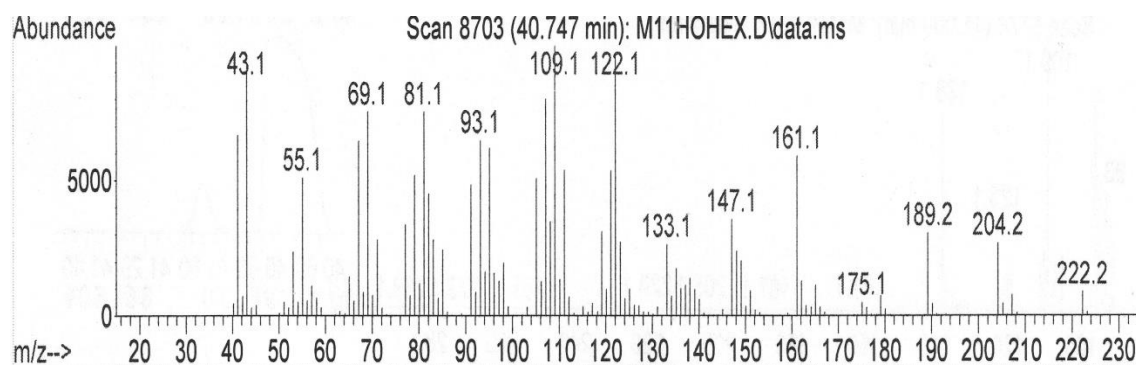
Los espectros de masas de los compuesto mayoritarios reportados en las tablas 19– 20 (DB-1) y tablas 21 – 22 (DB-WAX) se indican en el anexo 2.

Tabla 27. Componentes con mayor cantidad relativa para hojas y tallo presentes en el AE de la planta Salvielugo del Galeras (*Lepechinia Vulcanicola*), e índice de kovats.

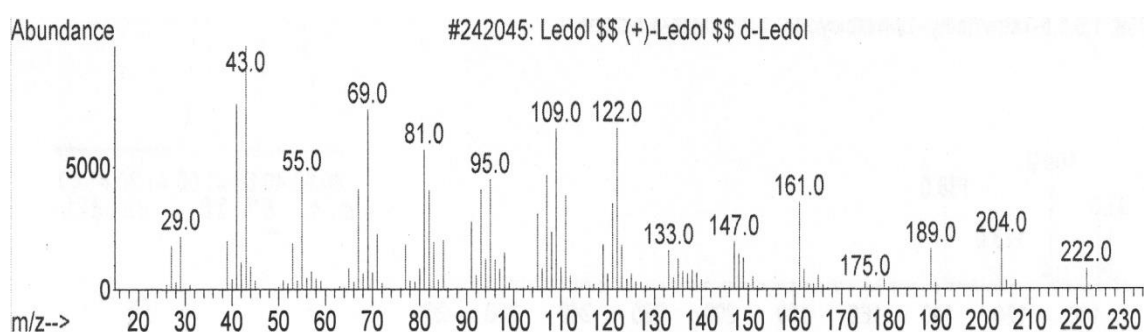
PLANTA	COMPUESTO	IK	DB-1 (%)	Ti/Re (MIN)	DB-WAX (%)	Ti/Re (MIN)	Ion molecular (m/z)
HOJAS	LEDOL	1610	14.87	40.74	16.63	40.75	222
	LIMONENO	1027	12.52	15.35	13.64	15.92	136.1
	PALUSTROL	1578	9.71	38.12	38.12	38.13	222.2
TALLO	LEDOL	1607	46.77	34.79	41.61	40.68	222
	PALUSTROL	1574	20.87	33.98	33.96	38.04	222.2

Grafica 23. Espectro de masas experimental del Ledol (Compuesto mayoritario en hojas y tallo).

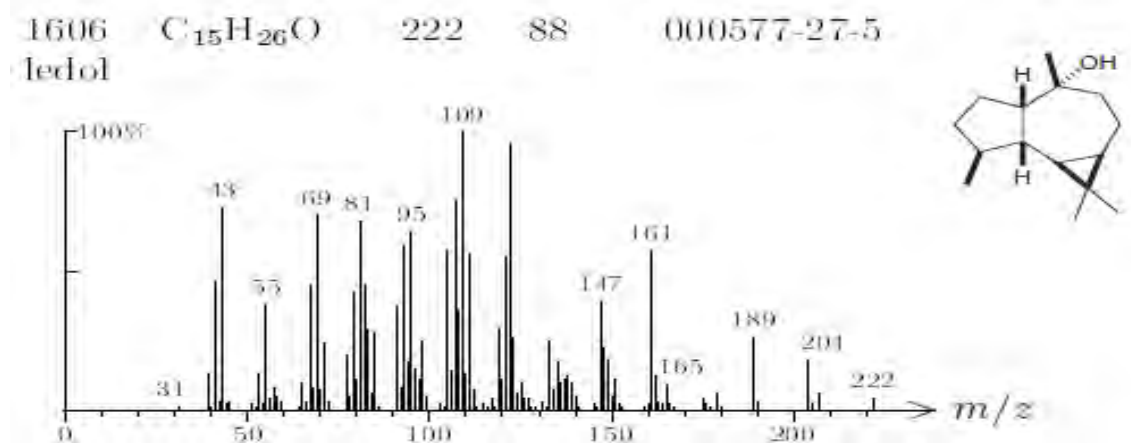
A



B



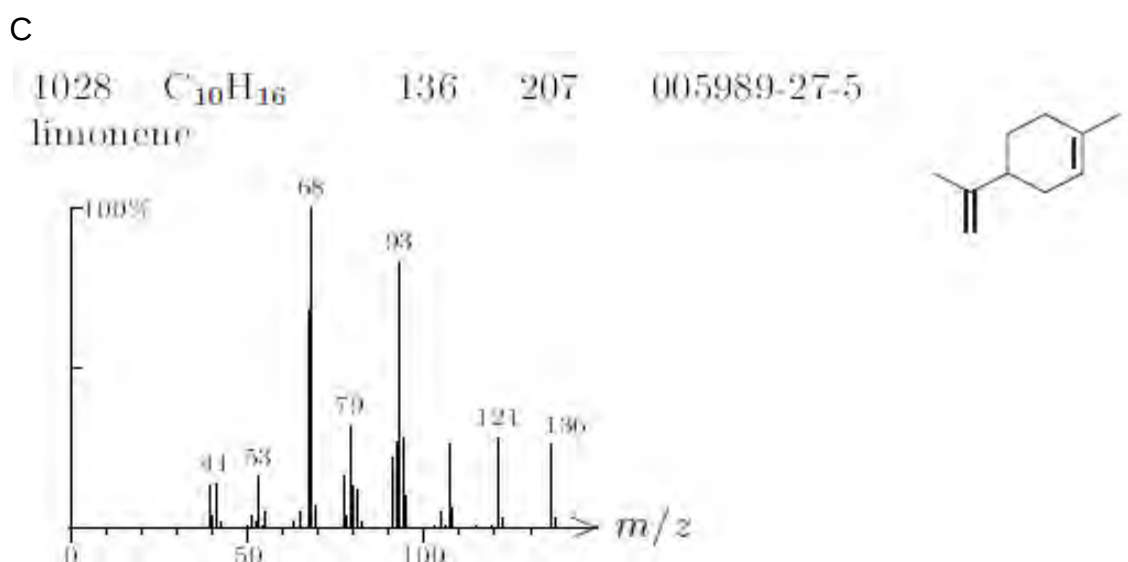
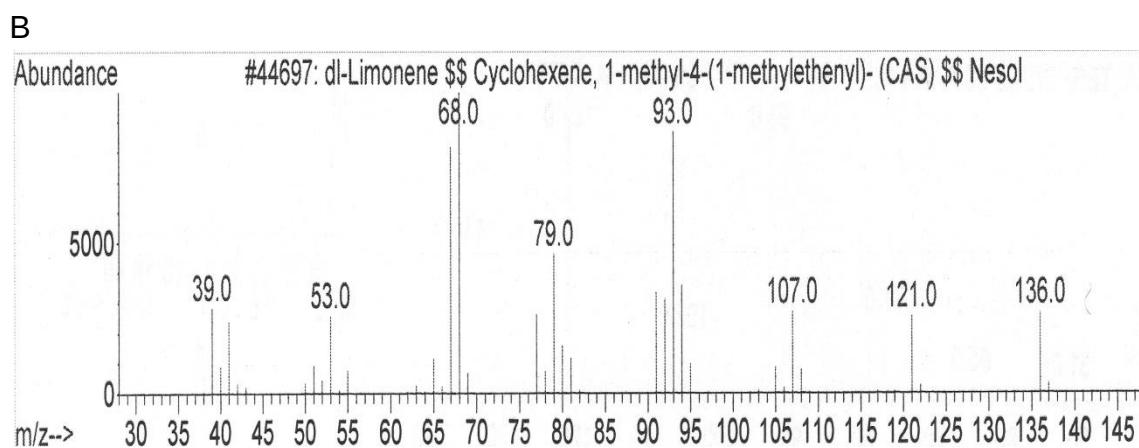
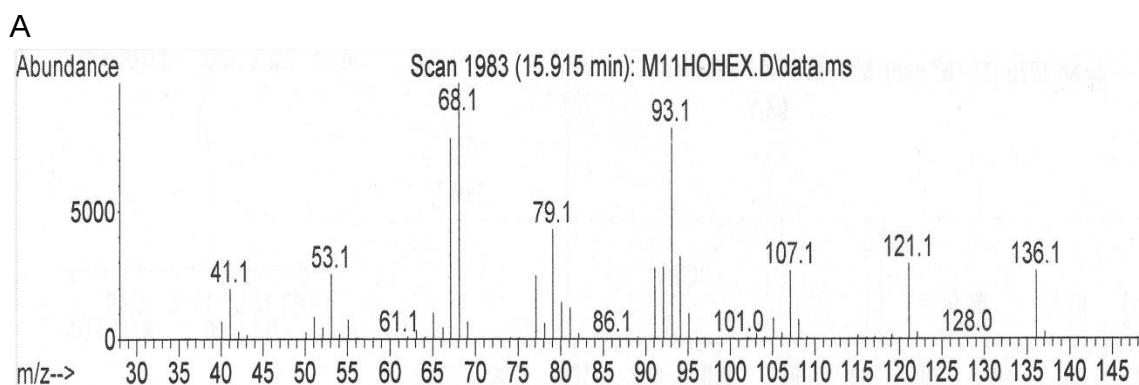
C



- A. Espectro de masas experimental
 B. Espectro de masas por bases de datos (Porcentaje de similitud 99%)
 C. Espectro de masas patrón teórico.⁴⁸

⁴⁸TKACHEV, AV Estudio de las sustancias volátiles de las plantas. / AV Tkachev, Rusia. Acad. Ciencias, Sib. Rama, de Novosibirsk. Inst. de Química Orgánica. Vorozhtsov. - Novosibirsk: Offset, 2008.

Grafica 24. Espectro de masas experimental del Limoneno. (Compuesto mayoritario en hojas).

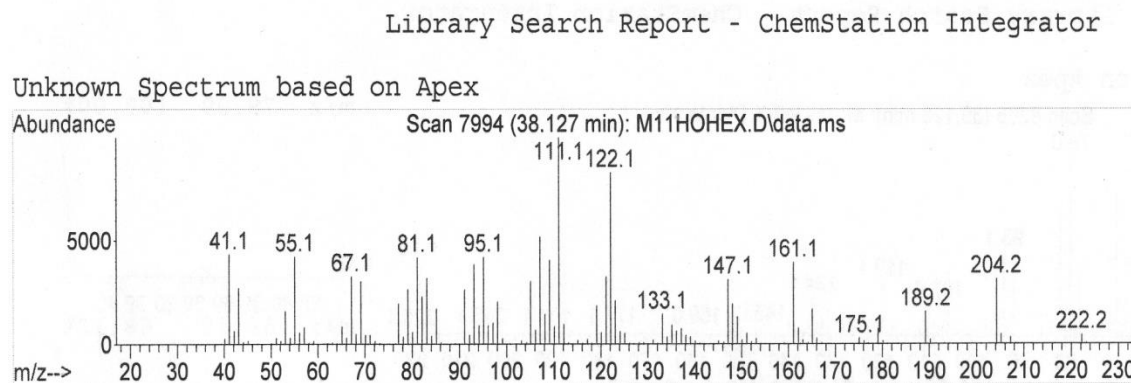


- A. Espectro de masas experimental
 B. Espectro de masas por bases de datos (Porcentaje de similitud 99%)
 C. Espectro de masas patrón teórico.⁴⁹

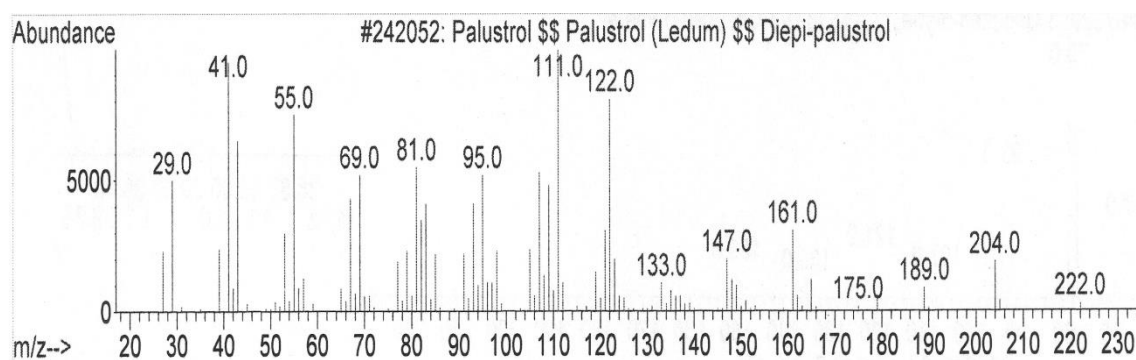
⁴⁹Ibid., p 298

Grafica 25. Espectro de masas experimental del Palustrol. (Compuesto mayoritario en hojas y tallo).

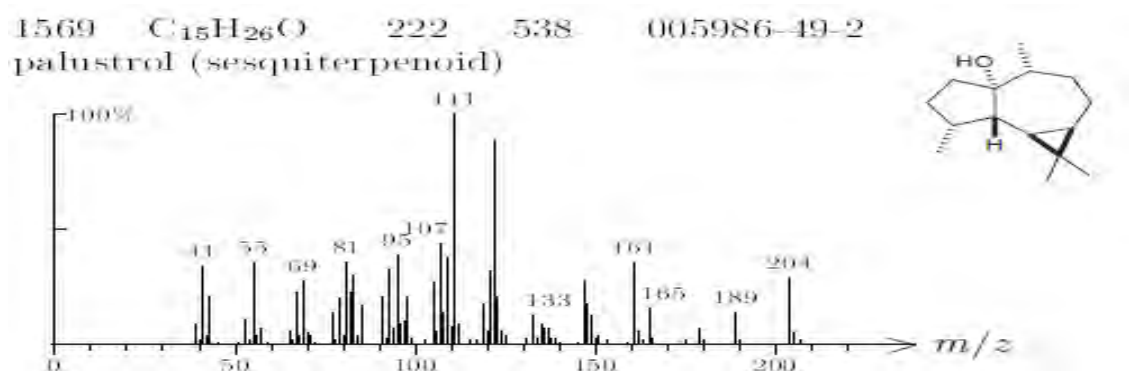
A



B



C



- A. Espectro de masas experimental
 B. Espectro de masas por bases de datos (Porcentaje de similitud 99%)
 C. Espectro de masas patrón teórico.⁵⁰

⁵⁰Ibid., P 601.

5.1.5. CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPONENTES MAYORITARIOS MEDIANTE ESTÁNDAR INTERNO.

El proceso de cuantificación se realizó utilizando el aceite esencial de hojas; porque en el proceso de extracción este presentó mayor rendimiento. No se cuantificó el AE del tallo porque su rendimiento fue bajo, lo que no permitía determinar la cantidad de aceite obtenido en la extracción; este rendimiento bajo se debe a la naturaleza de la planta (ANEXO E).

Por lo tanto para cuantificar el AE de hojas se prepararon siete (7) soluciones en diclorometano con diferentes concentraciones de *n* – tetradecano inyectándolas en el cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama (FID) por triplicado con base a las áreas (cuentas) se determinó el valor de la pendiente de la recta que corresponde al factor de respuesta de 146 cuentas x L/mg.

Se determinó el CV (coeficiente de variación), obteniendo un valor menor al 5%; según Legarda⁵¹ y Hubber⁵² los valores menores al 5% en el CV son aceptable por que las condiciones son más homogéneas y permite comparar la precisión de los resultados y la repetitividad de las áreas cromatográficas lo cual concuerda con trabajos de investigación similares⁵³.

En la tabla 28 se presentan los datos de valores de cuantificación expresados en unidades de concentración mg/Kg de los componentes mayoritarios (>1%) de hojas de la planta Salvielugo del Galeras; valores obtenidos aplicando la ecuación 2.

Tabla 28. Cuantificación de los componentes mayoritarios del AE de hojas de la planta Salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*) mediante columna DB – 5.

IK DB-5	COMPUESTO	CONCENTRACIÓN (mg/Kg)	FAMILIA
1456	α -HUMULENO	3,184	SESQUITERPENO HIDROCARBURADO
1655	α - EUDESMOL	5,364	SESQUITERPENO OXIGENADO
1482	γ -CURCUMENO	13,405	SESQUITERPENO HIDROCARBURADO
979	1 OCTEN 3 OL	24,169	ALCOHOL INSATURADO

⁵¹LEGARDA LUCIO. LAGOS TULIO. Diseño de experimentos agropecuarios. San Juan de Pasto: Unigraf 2001

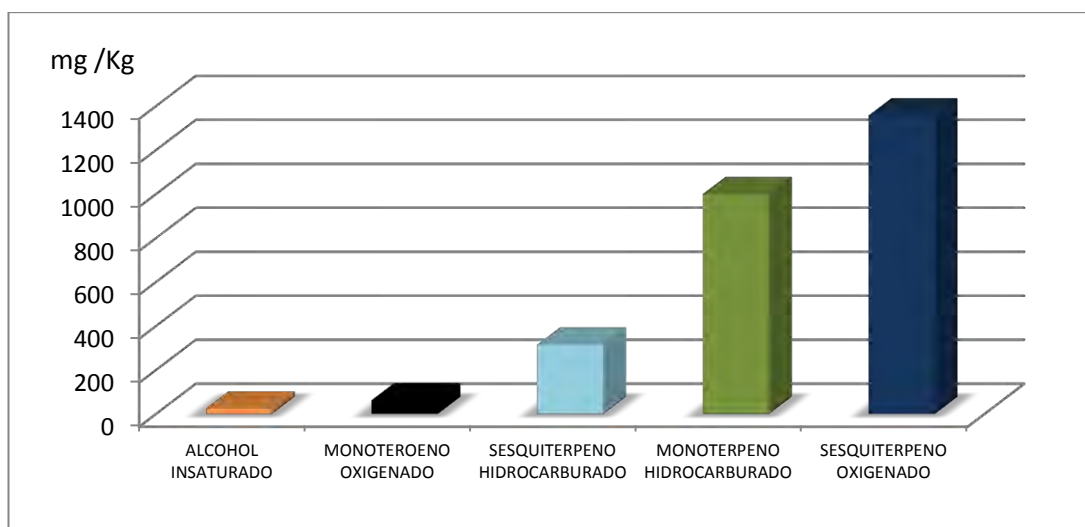
⁵² HUBER. L. Buenas Prácticas De Laboratorio Y Buenas Prácticas De Fabricación Actuales. Hewlett-Packard Company, Miami, 1994, p. 160.

⁵³TORRES J PABLO. Caracterización de los compuestos mayoritarios del aceite esencial del fruto de mortiño (*vaccinium floribundum* H.B.K.) en sus diferentes estados de maduración. Facultad de ciencias exactas y naturales. Departamento de química. 2007.

932	α -PINENO	30,536	MONOTERPENO HIDROCARBURADO
1412	α -GURJUNENO	32,187	SESQUITERPENO HIDROCARBURADO
1485	AR-CURCUMENO	43,128	SESQUITERPENO HIDROCARBURADO
1599	GUAJOL	50,922	SESQUITERPENO OXIGENADO
1100	LINALOOL	62,040	MONOTERPENO OXIGENADO
1434	E-CARIOFILENO	72,389	SESQUITERPENO OXIGENADO
1010	δ - 3 – CARENO	79,279	MONOTERPENO HIDROCARBURADO
1464	ALLO-AROMADENDRENO	83,125	SESQUITERPENO HIDROCARBURADO
1416	(α - CIS)BERGAMOTENO	139,317	SESQUITERPENO HIDROCARBURADO
1586	OXIDO DE CARIOFILENO	225,364	SESQUITERPENO OXIGENADO
975	β - PINENO	235,715	MONOTERPENO HIDROCARBURADO
1569	PALUSTROL	499,386	SESQUITERPENO OXIGENADO
1606	LEDOL	503,144	SESQUITERPENO OXIGENADO
1028	LIMONENO	654,313	MONOTERPENO HIDROCARBURADO

De acuerdo a la anterior tabla se obtiene la gráfica 26 en la cual se muestra la abundancia de los compuestos de acuerdo a su familia química observado que la familia de sesquiterpenos oxigenados se encuentran en mayor concentración respecto a los otros compuestos.

Grafica 26. Abundancia de los compuestos mayoritarios presentes en el AE de hojas de la planta Salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*).



6. DIFERENCIAS EN LA CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS Y TALLO DE LA PLANTA SALVIELUGO DEL GALERAS (*Lepechinia vulcanicola*)

Una vez identificados los compuestos del AE por medio de CG/EM se procedió a comparar el AE de hojas y tallo determinando las diferencias y semejanzas que existe respecto a su composición química, porcentaje de compuestos identificados, tipo y número de compuestos identificados. El análisis se presenta en las tablas 29–31, graficas 27 – 28 y el cuadro 9.

6.1. DIFERENCIAS EN LA CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS Y TALLO DE ACUERDO AL NÚMERO DE COMPUESTOS IDENTIFICADOS MEDIANTE CG/EM.

Al comparar el número de compuesto totales presentes en el AE de hojas y tallo (mayoritarios – no mayoritarios), los cuales se describen en las tablas 25 - 26– 29, las hojas presentan mayor número de compuestos identificados en comparación con el tallo ya que en hojas se identificaron 82 compuestos y en el tallo 24 compuestos. Al comparar los compuestos mayoritarios más representativos con áreas cromatográficas mayores al 10% (tabla 27 - 29), se observa que en las hojas se identificaron 3 compuestos (Ledol (14.87%), limoneno (12.52%), palustrol (9.71%)) y en el tallo 2 compuestos (Ledol (46.77%), palustrol (20.87%)). Por lo anterior se establece que a excepción del limoneno (monoterpeno hidrocarburado) compuesto mayoritario en hojas, los compuestos ledol y palustrol (sesquiterpenos oxigenados) son comunes en hojas y tallos presentando mayor área relativa (%) en el tallo lo cual se debe a la biosíntesis y fisiología de la planta (ANEXO E).

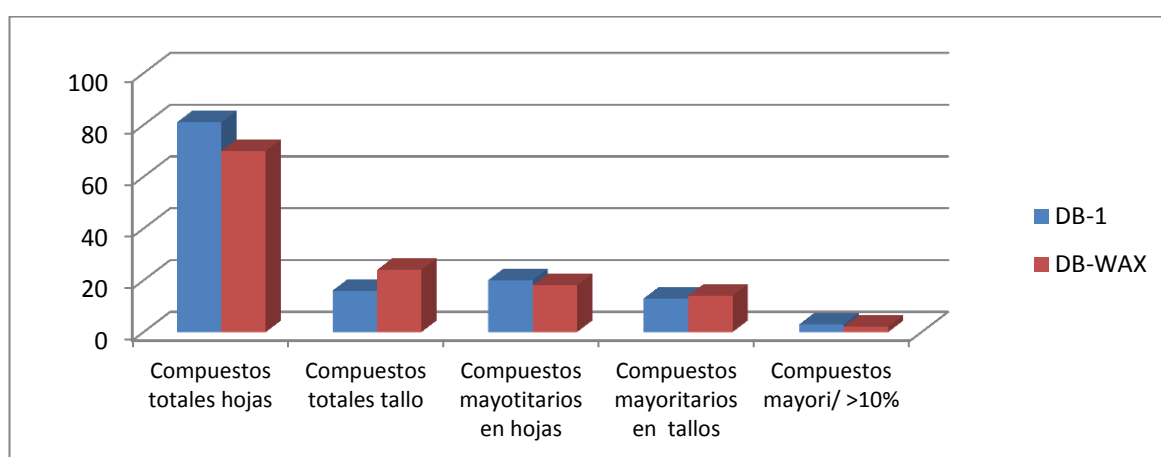
En la tabla 29 se encuentran los resultados respecto al número de compuestos presentes en hojas y tallo identificados en columna DB-1 y DB-WAX.

Tabla 29. Diferencias en la caracterización del AE de hojas y tallo de la planta Salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*) de acuerdo a número de compuestos identificados mediante CG/EM en columna DB-1 y DB-WAX.

	COLUMNA	COMPUESTOS	
		HOJAS	TALLO
TOTALES	DB-1	81	16
TOTALES	DB-WAX	70	24
MAYORITARIOS	DB-1	20	13
MAYORITARIOS	DB-WAX	18	14
> AL 10%	DB-1 DB-WAX	3	2

La gráfica 27 muestra la diferencia respecto al número de compuestos identificados en hojas y tallo mediante CG - EM utilizando las columnas DB-1 y DB-WAX, observando que la diferencia entre polaridades de las fases estacionarias respecto al número de compuestos no están alejadas entre si ya que la columna DB-WAX permite confirmar la presencia de los compuestos identificados en la columna DB-1, además permite identificarla presencia de algunos compuestos que mediante la columna DB-,1 no logran una separación adecuada que permita identificarlos; estos compuestos se encuentran expuestos en las tablas 23 -24.

Grafica 27. Diferencias respecto al número de compuestos identificados en el AE de hojas y tallo de la planta Salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*) mediante CG–EM en columna DB-1 y DB-WAX.



6.2. DIFERENCIAS EN LA CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS Y TALLO DE ACUERDO A SU COMPOSICIÓN QUÍMICA

Tabla 30. Diferencias en la caracterización del AE de hojas y tallo de la planta Salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*) de acuerdo a su composición química.

COMPUESTOS	PRESENCIA	
	HOJAS	TALLO
LIMONENO	+	+
α - GURJUNENO	+	+
β -CARIOFILENO	+	+
α - HUMULENO	+	+
ALLO - AROMADENDRENO	+	+
CURCUMENO (AR)	+	+
γ - CURCUMENO	+	+
α -FARNESENO	+	+
HIDROXI NEOISOLONGIFOLANO	+	+

PALUSTROL	+	+
OXIDO DE CARIOFILENO	+	+
GUAJOL	+	+
LEDOL	+	+
α - EUDESMOL	+	+
BULNESOL	+	+
β -PINENO	+	+
1 - OCTEN - 3 - OL	+	+
LINALOOL	+	+
4- TERPINEOL	+	+
AROMADENDRENO	+	+
β - SELINENO	+	+
BICICLOGERMANCRENO	+	+
α - CURCUMENO	+	+
EPOXIDO DE HUMULENO	ausente	+
VIRIDIFLOROL	ausente	+
ESPATULENOL	+	+
Cariofila-4(14),8(15)-dien-5, α -ol	ausente	+
α -TUJENO	+	ausente
α -PINENO	+	ausente
CAMFENO	+	ausente
3-OCTANONA	+	ausente
3-OCTENOL	+	ausente
β - MIRCENO	+	ausente
α -FENALDRENO	+	ausente
δ - 3 - CARENO	+	ausente
α - TERPINENO	+	ausente
O- CIMENO	+	ausente
γ -TERPINENO	+	ausente
CIS HIDRATO DE SABINENO	+	ausente
CIS OXIDO DE LINALOOL	+	ausente
TRAS OXIDO DE LINALOOL	+	ausente
α - TERPINOLENO	+	ausente
BORNEOL	+	ausente
α - TERPINEOL	+	ausente
β - CICLOCITRAL	+	ausente
ACETATO DE CICLOHEXANOL	+	ausente
α -COPAENO	+	ausente
ITALICENO	+	ausente
β - GURJUNENO	+	ausente
β - FARNECENO	+	ausente
GUAJENO	+	ausente
(α - CIS)BERGAMOTENO	+	ausente
B - SELINA	+	ausente
β - BISABOLENO	+	ausente

γ -CARDINENO	+	ausente
β - FENALDRENO	+	ausente
EUCALIPTOL	+	ausente
P- CIMENO	+	ausente
6-METIL-5-HEPTEN-2-ONA	+	ausente
NONANAL	+	ausente
VIRIDIFLORENO	+	ausente
BICICLO[3.1.1]HEPT-2-ENE, 2,6-DIMETIL-6-(4-METHYL-3-PENTENIL)-	+	ausente
β - SILENENO	+	ausente
α - SILENENO	+	ausente
δ - CANDINENO	+	ausente
α - AMORFENO	+	ausente
3,7 SELINA(11)DIENO	+	ausente
GERANIL ACETONA	+	ausente
CIS-CALAMENENO	+	ausente
δ -CADINENO	+	ausente
SIBIRENO	+	ausente
α - PACHULENO	+	ausente
Z,Z α - FANESENO	+	ausente
γ - EUDESMOL	+	ausente
EREMOLIGENOL	+	ausente
α - BISABOOL	+	ausente
β - EUDESMOL	+	ausente
HINESOL	+	ausente
CARIOFILA - 4 (12),8 (13) DIEN - 5 - BETA - OL	+	ausente
XANTHORRHIZOL	+	ausente
HEXA HIDROFARNESIL ACETONA	+	ausente
FARNESIL ACETONA	+	ausente
OXIDO DE MANOOL	+	ausente
ABIETATRIENO	+	ausente
EICOSANO	+	ausente

Como se puede observar en la tabla 30, tres compuestos identificados en el AE de tallos no hacen parte de la composición química del AE de las hojas (EPOXIDO DE HUMULENO, VIRIDIFLOROL Y CARIOFILA-4(14),8(15)-DIEN-5,A-OL,) posiblemente porque su concentración es mínima a nivel de trazas o pueden estar ausentes ya que la composición del AE y concentración de analitos depende del tiempo de recolección y condiciones ambientales a las cuales este expuesta la planta; los compuestos restantes del AE del tallo son comunes (+) en el AE de las hojas pero en diferente cantidad relativa (%) como se muestra las tablas 19 – 22, además se observa que las hojas presentan mayor cantidad de compuestos en comparación con el tallo donde estos son ausentes.

6.3. DIFERENCIAS EN LA CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS Y TALLO DE ACUERDO AL PORCENTAJE DE COMPUESTOS IDENTIFICADOS

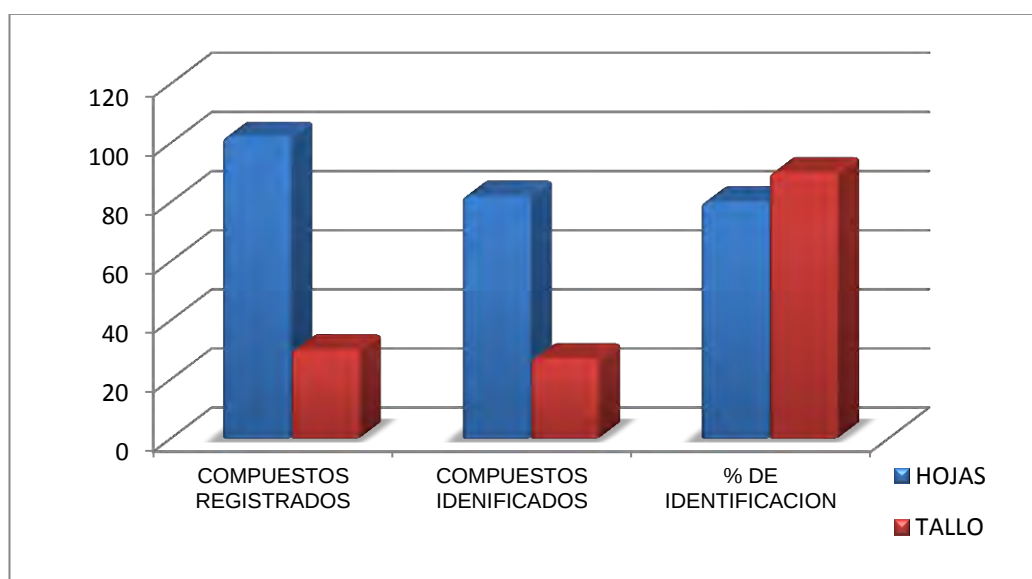
En la tabla 31 y en la gráfica 28 se indica el porcentaje de identificación de los compuestos del AE de hojas y tallos teniendo en cuenta las áreas de sus picos cromatográficos (cuentas) mayores a 1%.

Tabla 31. Diferencias en la caracterización de acuerdo al porcentaje de compuestos identificados en el AE de hojas y tallo de la planta Salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*).

PLANTA	COMPUESTOS REGISTRADOS	COMPUESTOS IDENTIFICADOS >1%	PORCENTAJE DE IDENTIFICACIÓN (%)
HOJAS	102	82	80
TALLO	30	27	90

De acuerdo al porcentaje de identificación se puede establecer que es un porcentaje adecuado, ya que se logró la identificación de los analitos mediante los índices de retención de Kovats calculados en dos columnas de diferente polaridad (DB-1 y DB-WAX), lo cual da mayor confiabilidad al porcentaje de identificación.

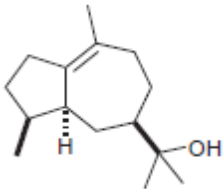
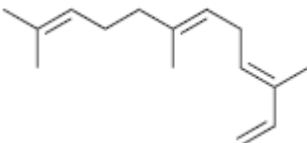
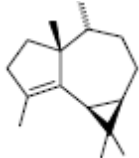
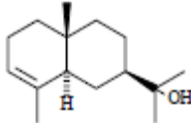
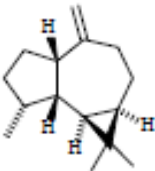
Grafica 28. Porcentaje de compuestos identificados en el AE de hojas y tallo de la planta Salvielugo del Galeras (*Lepechinia Vulcanicola*).

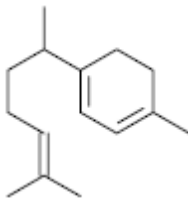
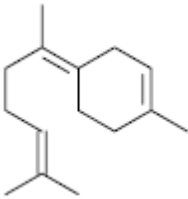
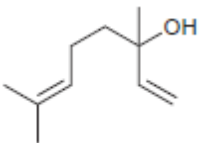
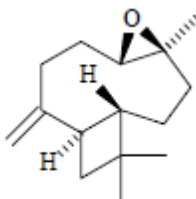
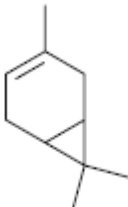
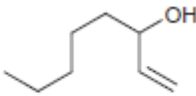
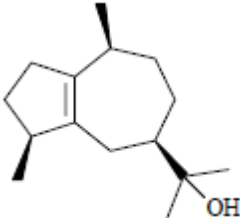
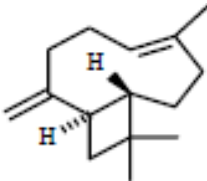


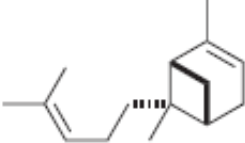
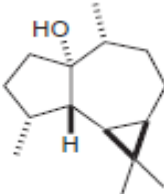
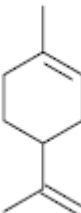
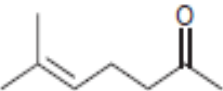
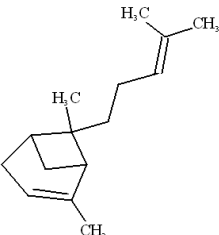
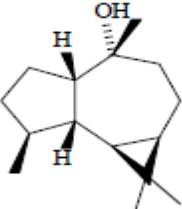
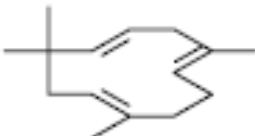
6.4. DIFERENCIAS EN LA CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS Y TALLO DE ACUERDO A SU ESTRUCTURA QUÍMICA.

Se realizó la comparación de los componentes mayoritarios del AE de hojas y tallo clasificándolos de acuerdo a la familia química a la cual pertenecen. En el cuadro 9 – 10 se encuentran las estructuras de los componentes del AE respecto a la familia química y en la gráfica 29 – 30 se expone la variación de las familias químicas respecto a su cantidad relativa.

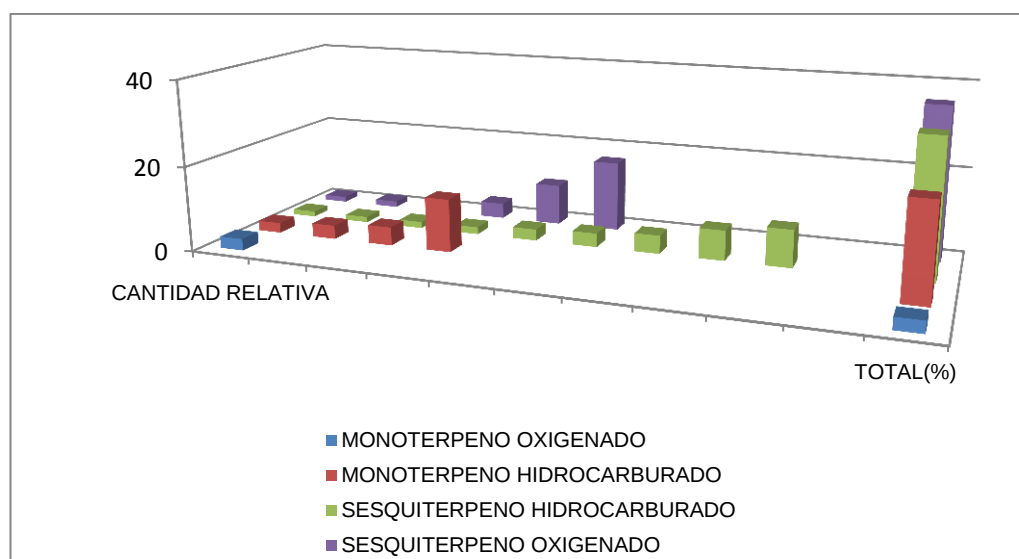
Cuadro 9. Estructura, familia y cantidad relativa de los componentes mayoritarios del AE de hojas.

COMPUESTO	(%)	ESTRUCTURA	FAMILIA
BULNESOL	1.27		SESQUITERPENO OXIGENADO
α – FARNESENO	1.30		SESQUITERPENO HIDROCARBURADO
α – GURJUNENO	1.32		SESQUITERPENO HIDROCARBURADO
α – EUDESMOL	1.43		SESQUITERPENO OXIGENADO
ALLO – AROMADENRENO	1.72		SESQUITERPENO HIDROCARBURADO
α – PINENO	2.39		MONOTERPENO HIDROCARBURADO

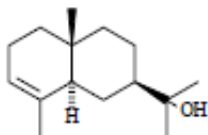
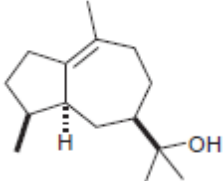
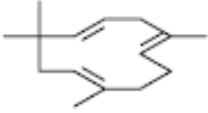
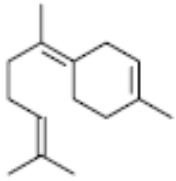
β – PINENO	4.37		MONOTERPEÑO HIDROCARBURADO
γ – CURCUMENO	2.70		SESQUITERPEÑO HIDROCARBURADO
α – CURCUMENO (AR)	3.29		SESQUITERPEÑO HIDROCARBURADO
LINALOOL	2.75		MONOTERPEÑO OXIGENADO
OXIDO DE CARIOFILENO	3.11		SESQUITERPEÑO OXIGENADO
δ - 3 – CARENO	3.26		MONOTERPEÑO HIDROCARBURADO
1 OCTEN 3 OL	3.66		ALCOHOL INSATURADO
GUAJOL	3.67		SESQUITERPEÑO OXIGENADO
E – CARIOFILENO	4.35		SESQUITERPEÑO HIDROCARBURADO

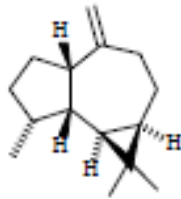
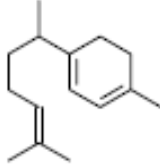
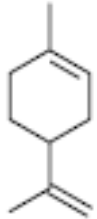
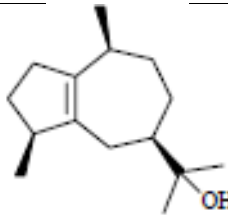
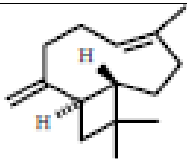
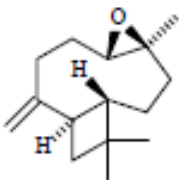
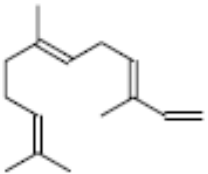
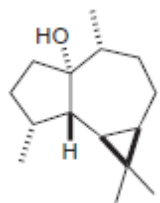
α – CIS – BERGAMOTENO	7.13		SESQUITERPENO HIDROCARBURADO
PALUSTROL	9.71		SESQUITERPENO OXIGENADO
LIMONENO	12.5		MONOTERPENO HIDROCARBURADO
6-METIL-5-HEPTEN-2- ONA	1.01		CETONA INSATURADA
BICICLO[3.1.1]HEPT-2-ENE, 2,6-DIMETIL-6-(4-METHYL- 3-PENTENIL)	8.87		SESQUITERPENO HIDROCARBURADO
LEDOL	16.63		SESQUITERPENO OXIGENADO
α – HUMULENO	1.54		SESQUITERPENO HIDROCARBURADO

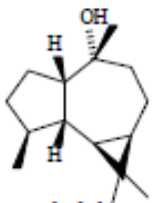
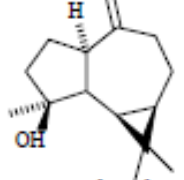
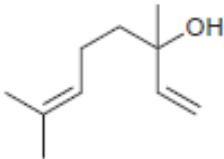
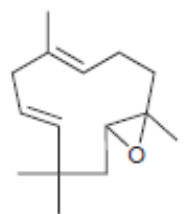
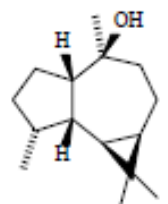
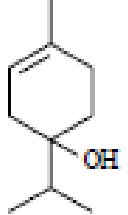
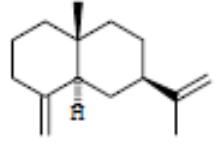
Grafica 29. Variación de la cantidad relativa respecto a las familias químicas clasificadas en hojas



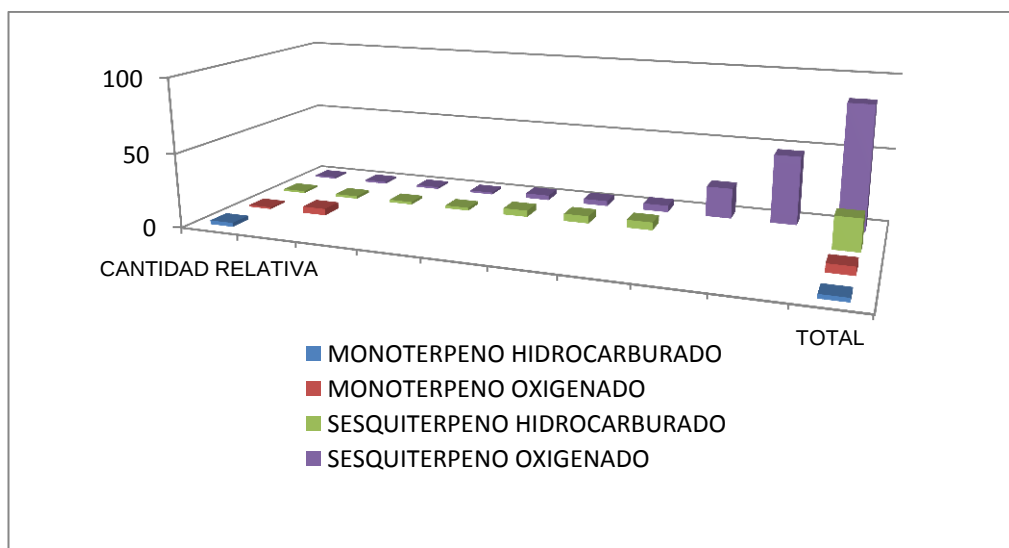
Cuadro 10. Estructura, familia y cantidad relativa de los componentes mayoritarios del AE de tallos.

COMPUESTO	(%)	ESTRUCTURA	FAMILIA
α – EUDESMOL	1.36		SESQUITERPENO OXIGENADO
BULNESOL	1.38		SESQUITERPENO OXIGENADO
α – HUMULENO	1.42		SESQUITERPENO HIDROCARBURADO
AR – CURCUMENO	1.84		SESQUITERPENO HIDROCARBURADO

ALLO AROMADENDRENO	1.84		SESQUITERPENO HIDROCARBURADO
γ – CURCUMENO	2.00		SESQUITERPENO HIDROCARBURADO
LIMONENO	2.73		MONOTERPENO HIDROCARBURADO
GUAJOL	3.39		SESQUITERPENO OXIGENADO
CARIOFILENO	4.44		SESQUITERPENO HIDROCARBURADO
OXIDO DE CARIOFILENO	4.61		SESQUITERPENO OXIGENADO
α – FARNESENO	5.01		SESQUITERPENO HIDROCARBURADO
PALUSTROL	20.87		SESQUITERPENO OXIGENADO

LEDOL	46.77		SESQUITERPENOS OXIGENADO
ESPATULENOL	1.05		SESQUITERPENOS OXIGENADO
LINALOOL	1.21		MONOTERPENOS OXIGENADO
EPOXIDO DE HUMULENO	1.42		SESQUITERPENOS OXIGENADO
VIRIDIFLOROL	3.58		SESQUITERPENOS OXIGENADO
4 – TERPINEOL	4.51		MONOTERPENOS OXIGENADO
β – SELINENO	5.42		SESQUITERPENOS HIDROCARBURADO

Grafica 30. Variación de la cantidad relativa respecto a las familias químicas clasificadas en tallos



En las gráficas 29 y 30 se observan las familias químicas presentes en el AE de hojas y tallo de acuerdo a su cantidad relativa; determinando para el AE de hojas que la familia de monoterpenos oxigenados e hidrocarburos se encuentran en menor porcentaje respecto a los sesquiterpenos hidrocarburos y oxigenados, para el AE de tallos se encuentra que la familia de los monoterpenos hidrocarburos y oxigenados están en menor cantidad relativa respecto a la familia de los sesquiterpenos hidrocarburos y oxigenados los cuales representan un porcentaje importante.

Respecto a lo anterior se establece que la familia de los sesquiterpenos hidrocarburos y oxigenados tanto para hojas y tallo se encuentran en mayor porcentaje respecto a monoterpenos hidrocarburos y oxigenados.

7. COMPARACIÓN BIBLIOGRÁFICA DE LOS COMPONENTES DEL ACEITE ESENCIA DE HOJAS Y TALLOS DE LA PLANTA SALVIELUGO DEL GALERAS (*lepechinia vulcanicola*) RESPECTO A LOS COMPONENTES MAYORITARIOS REPORTADOS EN DIFERENTES GÉNEROS DE LEPECHIA.

Tabla 32. Componentes mayoritarios reportados para diferentes géneros de lepechinias y para el Salvielugo del Galeras (*Lepchinia vulcanicola*).

LEPECHINIA	COMPUESTOS PRINCIPAL	CANTIDAD RELATIVA (%)	REGIÓN
<i>Lepechinia Shideana</i> *	Ledol*** Δ 3 - careno β - pineno*** β - felandreno γ - terpineno ***	16.3 21.4 11.3 11.1 9.5	Colombia ⁵⁴ (Bucaramanga)
<i>Lepechinia Bullata</i> *	Espirolepechineno	20	Venezuela ⁵⁵
<i>Lepechinia Calycina</i> *	1,8 cineol canfor Δ 3-careno*** canfeno α -pineno *** β -cariofileno	19.7 17.5 17.4 7.8 3.0 5.7	USA ⁵⁶ (California)
<i>Lepechinia Chamaedryoides (Salvia)</i> *	β - felandreno t - cadinol β - cariofileno *** espatulenol *** limoneno *** γ - cadineno δ - 3-careno ***	13.0 10.4 10.3 6.4 6.0 5.9 5.3	Chile ⁵⁷
<i>Lepechinia Floribunda (Salvia morada)</i> *	borneol β - cariofileno *** ledylacetato aromadendreno ***	21.4 15.1 16.9 5.5	Argentina ⁵⁸

⁵⁴ STASHENKO, E.; PUERTAS, M.; MARTINEZ, J. SPME determination of volatile aldehydes for evaluation of in-vitro antioxidant activity. *Anal.Bioanal. Chem.* 373, 70-74. 2002.

⁵⁵ EGGERS, M.; SINMWELL, V.; STAHL-BISKUP, E. Spirolepechinina, a spirosesquiterpene from *Lepechinia bullata*.(Lamiaceae).*Phytochemistry*.Pag 987-990. 1999.

⁵⁶ LAWRENCE, B. MORTON, J. Volatile constituents of *Lepechinia calycina*.*Phytochemistry* ,1997.

⁵⁷ VALENZUELA, L.; VILA, R.; CANIGUERAR, S.; ADZET, T. The esencial oil of *Sphacele chamaedryoides*. *Planta Médica*, pag 273-274. 1992.

⁵⁸ VELAZCO, A.; PÉREZ-ALONSO, J.; ESTEBAN, J; GUZMAN, C.; ZYGADLO, J AND ARIZA- ESPINAR, L. 1994. Essential oil of *Lepechinia floribunda*.(Benth).*Epl. J. Essential oil Res.* pag 539-540.

	viridiflorol ***	4.3	
	α - humuleno***	3.2	
<i>Lepechinia Graveolens</i> (<i>Salvia Blanca</i>)*	β - cariofileno ***	20.0	Argentina ⁵⁹
	1,8 – cineol	15.0	
	linalilacetato	14.0	
	limoneno ***	12.0	
	canfeno	9.0	
	linalool ***	8.0	
<i>Lepechinia Salviae</i> (<i>Salvia</i>)*	limoneno + 1,8-cineol***	30.0	Chile ⁶⁰
	felandreno ***	15.0	
	timol	9.0	
	α - pineno ***	3.0	
	β - pineno ***	3.0	
	linalool ***	2.0	
	terpineol***	2.0	
<i>Lepechinia Especiosa</i> *	bornilacetato	19.1	Brasil ⁶¹
	limoneno ***	18.2	
	canfor	6.5	
	borneol	6.1	
	α -pineno ***	2.2	
	β -pineno ***	2.2	
	sesquiterpeno ***	45.5	
<i>Lepechinia Urbaniana</i> *	Δ^3 - careno ***	32.6	República Dominicana ⁶²
	α - copaeno	13.8	
	δ - cadineno ***	12.5	
	β - felandreno ***	4.5	
	γ – cadineno ***	3.4	
<i>Lepechinia Vulcanicola</i> (<i>Salvielugo del galeras</i>)**	α -pineno	2.39	Colombia (Pasto – Nariño)
	1 octen 3 ol	3.66	
	β -pineno	4.37	
	δ - 3 – careno	3.26	
	Limoneno	12.52	
	Linalool	2.75	
	α -gurjuneno	1.32	
	e-cariofileno	4.35	
	α -humuleno	1.54	
	Allo-aromadendreno	1.72	
	Ar-curcumeno	3.29	

⁵⁹ EGGERS, M. Zusammen setzung und variation ätherisher öle von Pflanzender venezolanischen Anden unter besonderer Berücksichtigung der Gatting *Lepechinia* Willd. (Lamiaceae). Tesis doctoral. Pharmazie. Universität Hamburg. 2000. Pag 180 – 300.

⁶⁰ MONTES, M.; VALENZUELA, R.; WILKOMINSKY, F. 1983. Aceite esencial de salvia. *Lepechinia salviae* (Lindl.) Epl. *Anal Real Acad. Farm.* pag, 257-262.

⁶¹ ALPANDE, A.; CORREA, J.; GOLTILIEB, O. 1972. Óleos terpénicos do Estado do Rio de Janeiro. *Anal. Acad. Brasil. Cienc.* pag, 320.

⁶² Ibid., EGGERS, M.

	γ -curcumeno	2.70	
	(α - cis)bergamoteno	7.13	
	α -farneceno	1.30	
	Palustrol	9.71	
	Oxido de cariofileno	3.11	
	Guaiol	3.67	
	Ledol	14.87	
	α - eudesmol	1.43	
	Bulnesol	1.27	
	6-metil – 5 – hepten – 2 – ona	1.10	
	4- terpeneol	4.51	
	β - selineno – valenceno	5.42	
	Epoxido de humuleno	1.42	
	Viridiflorol	3.58	
	Espatulenol	1.05	

* Datos Bibliográficos.

** Resultado de la investigación.

*** Ejemplos de compuestos comunes entre *Lepechinia Vulcanicola* y otras especies de lepechinias.

En la revisión bibliográfica que se expone en la tabla 32, se observa que los componentes del AE de la planta Salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*) son característicos de las plantas que pertenecen al género de las Lepechinias, encontrándose compuestos mayoritarios comunes, por ejemplo ledol, limoneno, β pineno, linalool etc, clasificándose estos en las diferentes familias de terpenos (terpenos oxigenados, hidrocarburos, sesquiterpenos).

8. PROPIEDADES GENERALES DE LOS COMPUESTOS MAYORITARIOS IDENTIFICADOS EN EL ACEITE ESENCIAL DE LA PLANTA SALVEILUGO DEL GALERAS (*Lepechinia vulcanicola*)

BULNESOL.

Es un sesquiterpeno oxigenado, su nombre sistemático es: 5-Azulenemethanol, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-alpha,alpha,3,8-tetramethyl-, (3S,3aS,5R), con formula molecular $C_{15}H_{26}O$.

α -FARNESENO.

Es un sesquiterpeno hidrocarburado, su nombre sistemático es: 1,3,6,10-Dodecatetraene, 3,7,11-trimethyl-, (3E,6E)-, con formula molecular $C_{15}H_{24}$. Su punto de fusión es menor a 25°C. Según Duke posee la propiedad de ser pesticida y feromona.⁶³ Como feromona en plantas como *Citrus sinensis*, *Gossypium sp*, *Lavandula angustifolia*, *Malus domestic* entre otras y como pesticida en *Achillea millefolium*, *Annona squamosa*, *Chamaemelum nobile*, *Citrus limón*. Se dice que es un componente natural de las manzanas el cual se oxida y perjudica la poscosecha de estas.⁶⁴

α - GURJUNENO.

Es un sesquiterpeno hidrocarburado, su nombre sistemático es: 1H-CYCLOPROP[E]AZULENE, 1A,2,3,4,4A,5,6,7B-OCTAHYDRO-1,1,4,7-TETRAMETH. Con formula molecular $C_{15}H_{24}$. Al igual que en plantas del genero lepechinias (SP) se ha aislado en insectos como la *Diachasmimorpha longicaudata*.⁶⁵

α - EUDESMOL.

Es un sesquiterpeno oxigenado, fuera del nombre eudesmol se lo conoce como cedrol, su nombre sistemático es: (3R-(3alpha,3Abeta,6alpha,7beta,8alpha))-octahydro-3,6,8,8-tetramethyl-1H-3a,7-methanoazulen-6-ol. Con formula molecular $C_{15}H_{26}O$. Se reporta toxicidad para ratones en dosis mayor a 500mg/kg y en conejos en dosis mayor a 5 mg/Kg en la prueba LD y LD50.⁶⁶ Su punto de fusión es de 86°C.

⁶³DUKE, James A. Op. Cit. <http://www.ars-grin.gov/duke/>

⁶⁴SOLEDAD PAULA. Efecto De Factores De Pre almacenaje Sobre El Desarrollo De Escaldado En Manzanas var. *Granny Smith*. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Talca. 2003. Pag 95.

⁶⁵Pherobase (En línea) Colombia. Disponible en internet: <http://www.pherobase.com>. Consultado: Febrero del 2011

⁶⁶Unites states, National Library of medicine.Chemidlite. Disponible en internet: www.chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus. Consultado: Febrero del 2012.

ALLO AROMADENDRENO

Es un sesquiterpeno hidrocarburo, su nombre sistemático es:

(4aS,7R,7aR)-1,1,7-trimethyl-4-methylidene-2,3,4a,5,6,7,7a,7b-octahydro-1aH-cyclopropa[e]azulene. Con fórmula molecular $C_{15}H_{24}$ y peso molecular 204.35 g/mol. De acuerdo a su actividad biológica es inhibidor del crecimiento en células humanas células PC3 (apoptosis) después de 72 horas en un ensayo MTT.⁶⁷ El ensayo MTT consiste en la reducción metabólica del Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol (MTT) realizada por la enzima mitocondrial succinato-deshidrogenasa, es muy utilizado para medir la proliferación celular.⁶⁸

α – HUMULENO

Es un sesquiterpeno hidrocarburo, su nombre sistemático es: 1,4,8-Cycloundecatriene, 2,6,6,9-tetramethyl-, (1E,4E,8E)-, se le conoce como Humuleno, α – cariofileno con fórmula molecular $C_{15}H_{24}$ y peso molecular 235 g/mol.⁶⁹ En ensayos biológicos presenta actividad positiva en antituberculosis, antimicrobiana,⁷⁰ según Duke antimalarial mediante ensayo IC 50 extraído en plantas como la *Cinnamomum camphora*, *Cinnamomum verum*, *Citrus paradisi*.⁷¹

α – PINENO

Es un monoterpeno hidrocarburo, su nombre sistemático es: Bicyclo(3.1.1)hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl- con fórmula molecular $C_{10}H_{16}$, y punto de ebullición es de 155.9 °C.⁷² En farmacología tan poco como 15 ml (1/2 oz.) Ha demostrado ser fatal para un niño, pero algunos niños han sobrevivido y hasta de 3 oz. ingestiones. La dosis media letal en un adulto se encuentra probablemente entre 4 y 6 oz, además en ensayos de bioactividad ha demostrado tener propiedades de antimicrobiano, antiinflamatorio.⁷³ Según Duke antibacterial, antiséptico, antiespasmódico, fungicida, herbicida y además aplicación en perfumería.⁷⁴

⁶⁷ NCBI Pubchem data base. [Http:// pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

⁶⁸ PARDO CLEMENCIA. Determination Of The Cytotoxic Effects Of Extracts, Fractions, Or Substances, By Means Of The Mtt Test. Directora de investigación. Facultad de medicina. Fundación Universitaria San Martín Bogotá. Dic 2006.

⁶⁹ Ibid. www.chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus.

⁷⁰ Ibid. [Http:// pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

⁷¹ Ibid. <http://www.ars-grin.gov/duke/>

⁷² Ibid. www.chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus.

⁷³ Ibid. [Http:// pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

⁷⁴ <http://www.ars-grin.gov/duke/>

γ – CURCUMENO

Pertenece a la familia de los sesquiterpenos oxigenados, con formula molecular $C_{15}H_{22}$ y peso molecular 202.33 g/mol. Su nombre sistemático es: 1-methyl-4-[(E)-6-methylhept-4-en-2-yl]benzene.⁷⁵

LINALOOL

Pertenece a la familia de los monoterpenos oxigenados, con formula molecular $C_{10}H_{18}O$ y peso molecular 154.24 g/mol. Su nombre sistemático es 3,7-dimethylocta-1,6-dien-3-ol con punto de fusión menor a 20°C y punto de ebullición 197°C.^{76 77} De acuerdo a Duke presenta actividad analgésica, anestesica, antibacterial, anticonvulsionante, antiséptico, antiespasmódico, antibacterial, encontrado para las anteriores en plantas como: *Origanum sipyleum*, *Thymus funkii*.⁷⁸

OXIDO DE CARIOFILENO

Este compuesto es un sesquiterpeno oxigenado de formula molecular $C_{15}H_{24}O$ y peso molecular 220.35 g/mol. Se le conoce también como epóxido de cariofileno, su nombre sistemático es (1R-(1R*,4R*,6R*,10S*)))-4,12,12-Trimethyl-9-methylene-5-oxatricyclo(8.2.0.0^{4,6})dodecane. Se ha identificado en el aceite esencial de algunas plantas como son: *Cymbopogon Martini*, *Eucalyptus Saligna*, *Artemisa Campestris*.⁷⁹

δ – 3 – CARENO

Compuesto que pertenece a los monoterpenos hidrocarburos de formula molecular $C_{10}H_{16}$ y peso molecular 136.23 g/mol. Se le conoce como careno y su nombre sistemático es Bicyclo(4.1.0)hept-3-ene, 3,7,7(or 4,7,7)-trimethyl-. De acuerdo a ensayos de bioactividad a presentado a actividad antiespasmódica.⁸⁰ Según Duke presenta actividad fungicida y pesticida en el extracto de la planta *Kaempferia galanga*.⁸¹

⁷⁵ Ibid. [Http:// pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

⁷⁶ Ibid. [Http:// pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

⁷⁷ Ibid. [www.chem.sis.nlm.nih.gov/ chemidplus](http://www.chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus).

⁷⁸ <http://www.ars-grin.gov/duke/>

⁷⁹ Ibid. [Http:// pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

⁸⁰ Ibid. [Http:// pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

⁸¹ <http://www.ars-grin.gov/duke/>

GUAJOL

Es un compuesto de la familia de los sesquiterpenos oxigenados, su peso molecular 222.36 g/mol y formula molecular $C_{15}H_{26}O$ con un punto de fusión de 92°C. Se lo conoce también como camfor o cuajol. Su nombre sistemático es: 2-((3S,8S)-1,2,3,4,5,6,7,8-Octahydro-3,8-dimethylazulen-5-yl)propan-2. De acuerdo a los ensayos biológicos presenta actividad como antibacterial.⁸² Según Duke presenta actividad como pesticida y es utilizado encontrado en el aceite esencial de *Cymbopogon parkeri*, *Eucalyptus citriodora*, *Ferula gummosa*.⁸³

β –PINENO

Este es un monoterpeno hidrocarburo, con peso molecular 136.23 y formula molecular $C_{10}H_{16}$; se lo conoce también como pseudopineno, nopineno, su nombre sistemático es 6,6-dimethyl-4-methylidenebicyclo[3.1.1]heptane. De acuerdo a estudios de bioactividad se lo utiliza como antiinflamatorio.⁸⁴ De acuerdo a Duke presenta actividad como antiséptico, antiespasmódico, herbicida, también tiene aplicaciones en sabores, se lo a encontrado en plantas como: *Artemisia absinthium*, *Chamaemelum nobile*, *Crocus sativus*, *Eucalyptus globulus*.⁸⁵

α – CIS BERGAMOTENO

Es un sesquiterpeno hidrocarburo con formula molecular $C_{15}H_{24}$ y peso molecular 204.35 g/mol; se lo conoce también como endo alfa bergamoteno.⁸⁶

PALUSTROL

Es un sesquiterpeno oxigenado con formula molecular $C_{15}H_{26}O$ y peso molecular 222.36 g/mol, su nombre sistemático es: 4aH-Cycloprop(e)azulen-4a-ol, decahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, (1aR-1^a alpha, 4beta, 4abeta, 7alpha, 7abeta, 7balpha)).⁸⁷

⁸² Ibid. [Http:// pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

⁸³ <http://www.ars-grin.gov/duke/>

⁸⁴ Ibid. [Http:// pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

⁸⁵ <http://www.ars-grin.gov/duke/>

⁸⁶ Ibid. [Http:// pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

⁸⁷ Ibid. [Http:// pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

LIMONENO

Es un monoterpeno hidrocarburado de formula molecular $C_{10}H_{16}$ y peso molecular 136.23 g/mol, se le conoce también como dipenteno, cajetupeno, linoneno, sabor naranja. Presenta un punto de ebullición de 176 °C.⁸⁸ Este es usado en aromas, fragancias, cosméticos, humectante, disolvente y en la fabricación de resinas. Entre otras aplicaciones se lo utiliza como parte de insecticidas, pesticidas y repelente de insectos en animales, es un ingrediente activo de varios shampoo para el control de garrapatas y pulgas.⁸⁹ De acuerdo a Duke presenta actividad como antiinflamatorio, antiséptico, antiviral, herbicida, insecticida, en sabores, antimutagenico; extraído del aceite esencial de variadas plantas entre ellas: *Rosa damascena*, *Rosmarinus eriocalyx*, *Rosmarinus officinalis*, *Rosmarinus tomentosus*, *Rosmarinus x lavandulaceus*, *Rosmarinus x mendizabalii*, *Ruta graveolens*, *Salvia dorisiana*, *Salvia gilliesii*, *Salvia officinalis*, *Salvia sclarea*.⁹⁰ También se reporta que tiene actividad anticancerígena en el cáncer mamario.⁹¹

LEDOL

Es un sesquiterpeno oxigenado con formula molecular $C_{15}H_{26}O$ y peso molecular 222.36 g/mol, se le conoce también como ledum camfor. Tiene un punto de fusión de 105°C y un punto de ebullición de 292°C, su nombre sistemático es 1H-Cycloprop(e)azulen-4-ol, decahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, (1aR-(1aalpha,4alpha,4abeta,7alpha,7abeta,7balpha)).⁹²

⁸⁸ Ibid. www.chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus.

⁸⁹ Ibid. [Http:// pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

⁹⁰ <http://www.ars-grin.gov/duke/>

⁹¹ MARTINEZ ALEJANDRO. Aceites Esenciales. Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia. Medellín, Feb 2003.

⁹² Ibid. www.chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus.

9. CONCLUSIONES

Se estableció que las mejores condiciones de extracción del AE del salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*) fueron: para las hojas potencia del 80% y tiempo 90 minutos mientras que para el tallo son: Potencia 80% y tiempo 60 minutos.

La identificación de los componentes mayoritarios del AE de hojas y tallo de la planta salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*), se realizó mediante CG/FID y CG/ EM, identificando compuestos de mayor abundancia relativa a ledol (17.87%), limoneno (12.52%) y palustrol (9.71%) en hojas y en el tallo: ledol (46.77%) y palustrol (20.87%).

Con relación a la composición del AE se logró determinar que las hojas poseen un mayor número de compuestos en comparación con el tallo siendo los compuestos mayoritarios comunes entre sí. Además en el tallo se identificó dos compuestos que no están presentes en las hojas los cuales son: (EPOXIDO DE HUMULENO (1.42%) y VIRIDIFLOROL (3.58%)).

Se determinó que el AE de hojas y tallos presenta en mayor abundancia sesquiterpenos oxigenados, encontrando el compuesto ledol como mayoritario....(46.77%).

Al comparar los resultados con la bibliografía referente a estudios realizados en plantas del mismo género (*Lepechinia* SP) se determinó que la composición del aceite esencial del Salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*) presenta compuestos que se reportan en otras especies de *Lepechinias*; entre estos se encuentran: Limoneno, β – pineno, aromadendreno, etc, además entre *lepechinia Schideanna* y *lepechinia vulcanicola* se observó que el LEDOL hace parte de los componentes mayoritarios más sobresalientes el cual no se reporta en otras lepechinias.

En el aceite esencial se determinó la presencia de cuatro familias de terpenos que son: monoterpenos hidrocarburos, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos hidrocarburos y sesquiterpenos oxigenados, lo cual coincide con la revisión bibliográfica referente al género *Lepechinia*.

10. RECOMENDACIONES

Profundizar en el estudio de la planta Salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*), identificando los quimio tipos de plantas de igual especie ubicadas en diferentes puntos del Volcán Galeras ya que este ofrece condiciones ambientales diferentes y por tal razón habrá variación en la composición del aceite esencial

Realizar estudios de los componentes del aceite esencial utilizando otras técnicas de extracción como pueden ser:, micro extracción en fase solida(SPME), fluidos supercríticos entre otros con el fin de lograr una mayor identificación de los compuestos del aceite esencial volátiles y no volátiles.

Continuar con el estudio de la especie en mención buscando las diferentes aplicabilidades que este puede presentar como pueden ser actividad antioxidante, actividad biológica, análisis fitoquímico etc, tal como se ha realizado con otras plantas del mismo género.

Nariño es un Departamento rico en plantas aromáticas, por tal razón en la Universidad de Nariño se debe dar mayor importancia al estudio de sus aceites esenciales ya que existen múltiples especies que pueden ser especiales pero no se les ha dado mayor importancia o de igual forma pueden ser vulnerables como es el caso del Salvielugo del Galeras podrían desaparecer.

BIBLIOGRAFIA

A, PABLO Cromatografía gaseosa (2005). (En línea) disponible en la dirección electrónica www.bilbo.edu.uy/~planta/pdf/GC.doc.

ADAMS ROBERT. Identification of oil components by gas chromatography / quadrupole mass spectroscopy.

AZCÓN, J., y TALÓN, M. Fundamentos de fisiología vegetal. 1ª Ed. McGraw-Hill Interamericana. Madrid: 2000.

Agilent Technologies, Guía de selección de columnas Agilent J&W para GC. Inc. 2010. Impreso en EE.UU., 3 marzo de 2010. Pag 12-20.

ALPANDE, A.; CORREA, J.; GOLTLIEB, O. 1972. Óleos terpénicos do Estado do Río de Janeiro. *Anal. Acad. Brasil. Cienc.* Pag, 320.

ALVAREZ Alba T. Aislamiento, purificación e identificación de principios tóxicos alcaloidales en plantas del genero *crotalaria* y alimento contaminado para aves. Bucaramanga. Tesis (Magister en Química). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Área de Productos Naturales. (2004).

BANDONI, A. (Ed.). Los recursos vegetales en Latinoamérica, Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Jirovetz, L.; Buchbauer, G. Processing, analysis and application of essential oils. 2005.

BARCELO D. ELSEVIER - Environmental Analysis. Techniques, Applications and Quality Assurance. Amsterdam, 1993

CASTILLO Patricia Cecilia. Estudio químico y de actividad antioxidante en *Lepechinia Melleny (Walp)*. Tesis Magister en Química. Pontificia Universidad católica del Perú. 2004

CAZES JACK. Encyclopedia of Chromatography. Third edition. Vol I, II y III. CRC Press. Taylor y Francis Group 2010.

CHANGE RAYMOND. COLLAGE, W. Citado por: TORRES J Pablo. Caracterización de los compuestos mayoritarios del aceite esencial del fruto de mortiño (*vaccinium floribundum* H.B.K.) en sus diferentes estados de maduración. Facultad de ciencias exactas y naturales. Departamento de química. 2007.

CORTEZ, RUBEN. Cromatografía de gases, 2004. Disponible en internet: <http://www.relap.mx/RLQ/tutoriales/cromatografia/gas.htm>

DEWICK, P.M. Medicinal natural products: A biosynthetic approach. Segunda edición, Ed. Wiley & Sons Ltda, Londres, 2020. pp. 7-12, 167.

DIMAYUGA, R.; GARCÍA, S.; NIELSEN, P.; CHRISTOPHERSEN, C.. Traditional medicine of Baja California Sur (México) III: Carnosol, a antibiotic from *Lepechinia hastata*. *J. Ethnopharmacol.* 1991.
Disponible en internet: www.esteve.org

DOMÍNGUEZ, A. X., Métodos de investigación fotoquímica. Limusa: México D.F. 1988, p.p. 229, 239, 281

DUDAREVA, N., and PICHERSKY, E. Biology of Floral Scent. Taylor & Francis Group: New York: 2006, p.p. 55-71.

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

EGGERS, M.; SINMWELL, V.; STAHL-BISKUP, E. Spirolepechinina, a spirosesquiterpene from *Lepechinia bullata*. (Lamiaceae). *Phytochemistry*. Pag 987-990. 1999.

FERNANDEZ JOSÉ LUIS, RIVERA DÍAZ ORLANDO. Las Labiadas (Familia Labiatae). Instituto de Ciencias naturales – Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá. Pag 497 – 498.

FERNANDEZ JOSÉ LUIS, Studies in Colombian Labiatae IV. Novelties in *Salvia* and synopsis of sections *Angulatae* and *Purpureae*. Instituto de Ciencias naturales – Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá. 2003

FERNANDEZ, LUIS. RIVERA, ORLANDO. Las Labiadas (Familia Labiatae). Instituto de Ciencias naturales – Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá.

FERNANDEZ, LUIS. RIVERA, ORLANDO. Las Labiadas (Familia Labiatae). Instituto de Ciencias naturales. Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá. Pag 497 – 498.

GONZALES S PAULA. Efecto de factores de prealmacenaje sobre el desarrollo de escaldado en manzanas var. *Granny smith*. Universidad de Talca.
HART, C. 1983.

MILLER, N. J. Estadística y Quimiometria para Química analítica. Ed Prentice Hall. Madrid. 2002.

MESMIN MEKEM SONWA, Isolation and structure elucidation of essential oils constituents: Comparative study of the oils of *Cyperus alopecuroides*, *Cyperus papyrus*, and *Cyperus rotundus*. Tesis Doctoral (2000). Facultad de Química, Universidad de Hamburg.

LAWRENCE, B. MORTON, J. Volatile constituents of *Lepechinia calycina*. *Phytochemistry*, 1997.

LEGARDA, LUCIO; LAGOS TULIO. Diseño de experimentos agropecuarios. San Juan de Pasto: Unigraf, 2001. p. 38 – 39.

LINCOLN T.; ZEIGER E., Plant physiology. Massachussets: Sinauer Associates. 2002, Ed 3

LONEL, NIXON. LOPEZ, JANELLA. Identificación de los componentes mayoritarios del aceite esencial de las semillas de cacao (*Theobroma cacao* L) por GC/FID/MSD. Universidad de Nariño. Pasto 2005. Pag 21.

M O BRAVO, N E HERNANDEZ, M L TERESCHUK. *Minthostachys mollis* griseb y *lepechinia meyenii* (walp.) epling. Actividad antimicrobiana de sus extractos. Determinaciones preliminares de sus flavonoides mayoritarios. Cátedra de Química orgánica, Facultad de ciencias agrarias, Universidad de Catamarta. Facultad de ciencias naturales e Instituto Miguel Lillo. Revista de CIZAS. Vol. 5, Núm. 1 y 2. Noviembre 2004.

MARTINEZ ALEJANDRO, Aceites Esenciales. Facultad de Química Farmaceutica. Universidad de Antioquia. Medellin Feb del 2001.

MARTINEZ ALEJANDRO. Aceites Esenciales. Facultad de Química Farmaceutica. Universidad de Antioquia. Medellin, Feb 2003.

MAZARIEGOS A JORGE. Identificación y cuantificación de los componentes principales del aceite esencial del flavedo (cáscara) de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy) por medio de Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masa. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala 2008.

MILLER I C. Estadística para química analítica. 2º edición. Ed Addison – Wesley Iberoamericana. USA 1993. P . 51 – 53.

MONTES, M.; VALENZUELA, R.; WILKOMINSKY, F. 1983. Aceite esencial de salvia. *Lepechinia salviae* (Lindl.) Epl. *Anal Real Acad. Farm.* pag, 257-262.

PARDO CLEMENCIA. Determination Of The Cytotoxic Effects Of Extracts, Fractions, Or Substances, By Means Of The Mtt Test. Directora de

investigación. Facultad de medicina. Fundación Universitaria San Martín Bogotá. Dic 2006.

PAUL P JESUS. Contribución al conocimiento de los aceites Esenciales del género "eryngium" I, en la Península ibérica. Facultad de Ciencias Biológicas. Dpto de Biología. Universidad Complutense De Madrid. Madrid 2002.

PAVAS E Gil. VEGA S ALEX. Evaluación a escala piloto del proceso industrial para la obtención del aceite esencial de cardamomo bajo la filosofía cero emisiones. Grupo de investigación de procesos ambientales GIPAB. Universidad EAFIT. Mayo 2005

PEREZ GERARDO. VEGA NOHORA, FERNANDEZ J LUIS. lectin prospecting in colombian labiatae. a systematic-ecological approach – II. Departamento de bioquímica y Herbario nacional colombiano. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Apartado 7495, Bogotá, D.C. 2006.

RIVERA, J, LUIS. Las Labiadas (Familia Labiatae). Instituto de ciencias naturales. Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá.

ROJAS B LUIS, USUBILLAGA ALFREDO, CEGARRA A JESÚS. Composición química y actividad aromática del aceite esencial de la *Lepechinia Schiedeana*. Instituto de investigación, Facultad de farmacia, Facultad de ciencias forenses y ambientales, Facultad de farmacia Universidad de los Andes, Mérida Venezuela. Revista de la facultad de farmacia, Vol. 46. Año 2004.

RUIZ ALFONZO. MELO ESTHER. Guía de plantas medicinales del Magreb. Fundación Dr. Antonio Esteve Llobet i Vall-Llosera 2. E-08032. Barcelona 2010.

SAVIETTO JOICE. Análisis fitoquímico y actividad antiploriferativa de especie nativas del *crotón L. (Euphorbiaceae)*. Departamento de Botánica. Instituto de Biociencias de la Universidad de San Paulo. San paulo 2011.

SELL, C.S. A fragrant introduction to terpenoid chemistry. Primera edición, Royal Society of Chemistry, 2003, 396 p. Disponible en la Internet <http://www.rsc.org/pdf/books/terpenoidsc.pdf>

BAZÉ KZP-ZOBRAZENÍ VICE ÚDAJU ZAZNANMU. Systematic and evolutionary studies in the genus *Lepechinia* (Lamiaceae). Dissertation, Harvard, USA. Disponible en internet: <http://www.omega.nkp.cz:4001/>.

SOLEDAD PAULA. Efecto De Factores De Pre almacenaje Sobre El Desarrollo De Escaldado En Manzanas var. *Granny Smith*. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Talca. 2003.

STASHENKO E. CERVANTES MARTHA. MARTINEZ JAIRO. HRGC/FID and HRGC/MSD Analysis of the secondary metabolites obtained by different extraction methods from *Lepechinia Schiedeana*, and in vitro evaluation of its

antioxidant activity. Cenivam. Laboratorio de cromatografía. Universidad Industrial de Santander. Escuela de química. Bucaramanga 1999.

STASHENKO E. MARTINEZ J. Algunos consejos útiles para el análisis cromatografico de compuestos orgánicos volátiles. Cenivam. Laboratorio de cromatografía. Scientia Chromatographica 2011. P 206 – 207.

STASHENKO ELENA E. Curso de aplicación de técnicas cromatigraficas al análisis ambiental, forense y de alimentos. Escuela nacional de cromatografía. Universidad industrial de Santander. Bucaramanga. Nov 21 – 25 del 2011.

STASHENKO ELENA E. RENE M JAIRO. Algunos aspectos prácticos para la identificación de analitos por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Scientia Chromatographica Vol 2, Nº1, 29 – 47 2011.

STASHENKO ELENA, RENE JAIRO. Preparación de la muestra: un paso crucial para el análisis por GC – MS. Scientia Chromatographica Vol 3. Nº1, 25 – 48. 2011.

STASHENKO, E.; PUERTAS, M.; MARTINEZ, J. SPME determination of volatile aldehydes for evaluation of in-vitro antioxidant activity. *Anal. Bioanal. Chem.* 2002.

STASHENKO, ELENA. Estudio prospectivo de aceites esenciales colombianos de interés industrial. CIBIMOL. Escuela de química. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga.

STODULKOVA E. SULC M. Production of (+) – Globulol Needle on the surface mycelium of *Quambalaria cyaneus*. Institute of Microbiology of the Academy of Sciences of the Czechia Republic. Charles University. Oct 2007.

TKACHEV, AV Estudio de las sustancias volátiles de las plantas. / AV Tkachev, Rusia. Acad. Ciencias, Sib. Rama, de Novosibirsk. Inst. de Química Orgánica. Vorozhtsov. - Novosibirsk: Offset, 2008.

TORRES J PABLO. Caracterización de los compuestos mayoritarios del aceite esencial del fruto de mortiño (*vaccinium floribundum* H.B.K.) en sus diferentes estados de maduración. Universidad de Nariño. Facultad de ciencias exactas y naturales. Departamento de química. 2007.

UNITES STATES, National Library of medicine. Chemidlite. Disponible en internet: www.chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus.

VALENZUELA, L.; VILA, R.; CANIGUERAL, S.; ADZET, T. The esencial oil of *Sphacele chamaedryoides*. *Planta Médica*, pag 273-274. 1992.

VARGAS, R ADRIANA, BOTTIA, S EDWIN. Estudio de la composición química de los aceites esenciales de seis especies vegetales cultivadas en los

municipios de bolívar y el peñón – Santander, Colombia. Tesis Química, Escuela de Química. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga 2008.

VELAZCO, A.; PÉREZ-ALONSO, J.; ESTEBAN, J; GUZMAN, C.; ZYGADLO, J AND ARIZA- ESPINAR, L. 1994. Essential oil of *Lepechinia floribunda*.(Benth).Epl. J. *Essential oil Res.* pag 539-540.

VILLOTA M Jhoana. Identificación y cuantificación de los principales compuestos presentes en el aroma y el aceite esencial de las hojas de orozul (*phylanodiflora* L. *Greene*). Tesis pregrado. Universidad de Nariño, Facultad de ciencias exactas y naturales. Departamento de química. 2007

WOOD, J, R. The genus *Lepechinia* (Labiatae) in Colombia. *Kew Bull.*1998.

ANEXOS

ANEXO A. POSIBLE RUTA DE FRAGMENTACIÓN DE LOS COMPONENTES MAYORITARIOS (> 10%) DE HOJAS Y TALLOS DE LA PLANTA SALVIELUGO DEL GALERAS(*Lepechinia vulcanicola*)

De acuerdo a Elena Stashenko: Los monoterpenos monocíclicos (felandreno, α -terpineno, terpineno, terpinoleno, limoneno,), bicíclicos (3-careno, α -pineno, sabineno, canfeno) y acíclicos (mirceno, allo-ocimeno), poseen una fragmentación característica común: presentan en sus EM el ión m/z 93(>80%) como pico de base o de alta intensidad, producido por una ruptura alílica en la molécula acompañada de la eliminación de un radical $C_3H_7^\circ$. El ión molecular M^+° (m/z 136) es de intensidad media o baja (< 30%) y se descompone eliminando sucesivamente los radicales CH_3° y $C_3H_7^\circ$, con formación de los iones en m/z 121 y 93, respectivamente. El ión $(MC_3H_7)^+$ posteriormente pierde CH_3° para generar el fragmento $(M-C_3H_7-CH_3)^+$ en m/z 79.

En los EM de los monoterpenos se observan picos muy débiles en la región de masas pequeñas (< m/z 79), lo que indica cierta estabilidad inherente del sistema cíclico al impacto de electrones.

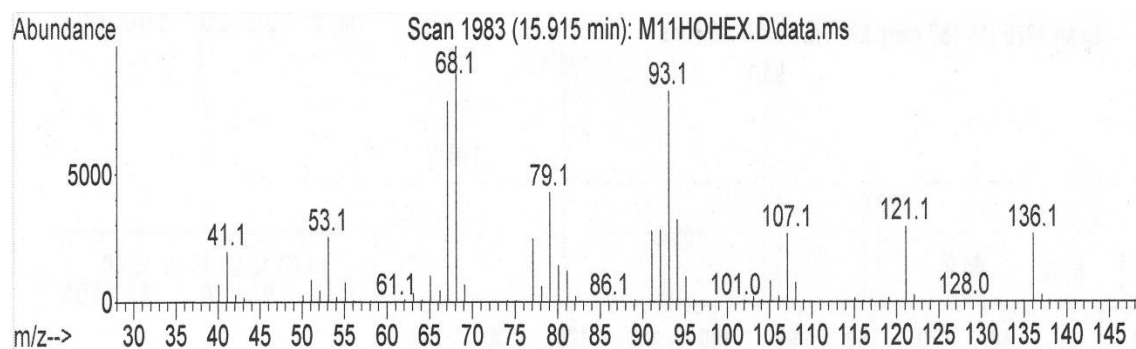
La similitud “cualitativa” de los EM de los monoterpenos se atribuye a la rápida isomerización de sus iones moleculares debido a la fácil migración de los enlaces dobles bajo el impacto de electrones, que conduce a la formación de iones M^+° isomerizados de estructura común. Por consiguiente, estos iones poseen el mismo patrón de fragmentación y las diferencias en las intensidades de los fragmentos característicos (m/z 121, 93, 91, 79, 77) se deben solamente a las desigualdades iniciales en las energías conformacionales de los monoterpenos.⁹³

El limoneno es un monoterpeno cíclico para el cual el ión molecular M^+° en m/z 136, su fragmentación (Anexo A parte B) se caracteriza por una ruptura de tipo *retro Diels-Alder* (RDA), acompañada de la formación de un pico de base en m/z 68. Otros iones importantes producidos a partir del ión M^+° por pérdida del radical CH_3° , eliminación del grupo isopropenílico y $2H^\circ$ son $(M-CH_3)^+$ en m/z 121 y $(MC_3H_5-2H)^+$ en m/z 93, respectivamente. El ión $(M-C_3H_5-2H)^+$ elimina posteriormente un radical CH_3° , originando el fragmento en m/z 79.

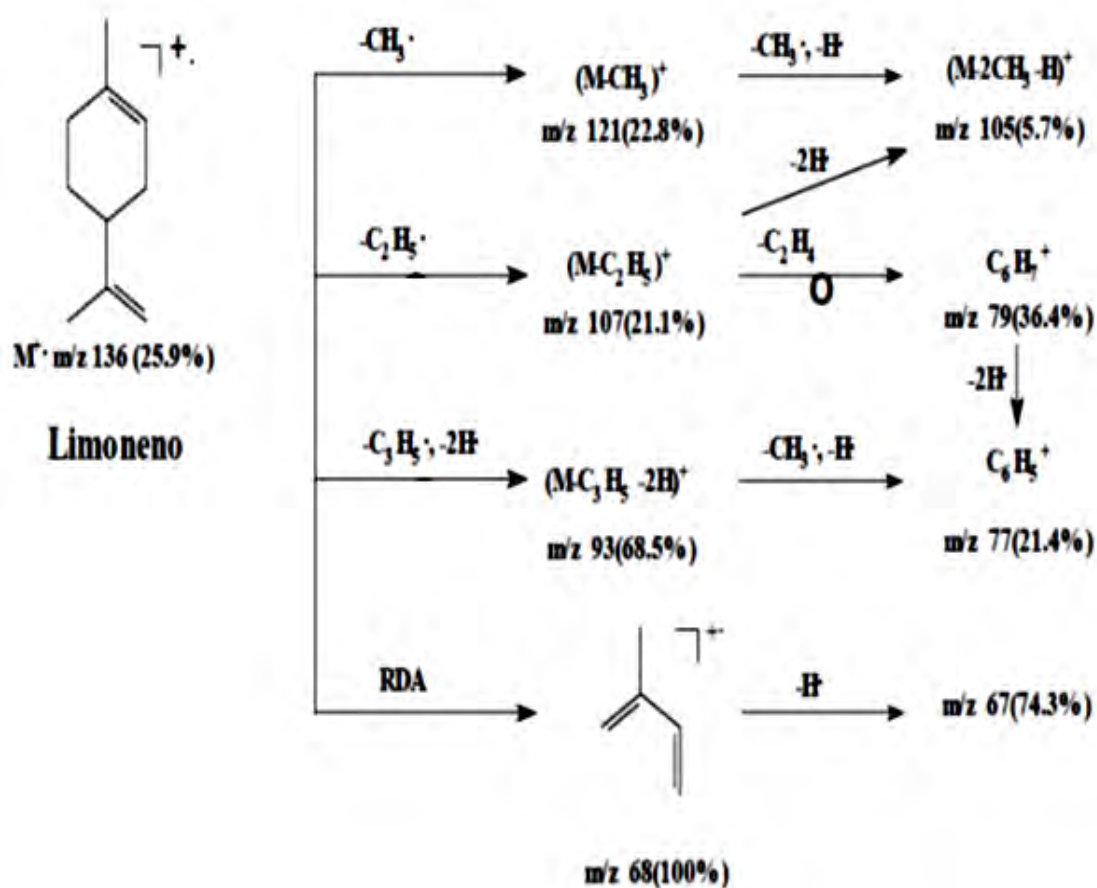
⁹³ STASHENKO ELENA, COMBARIZA YAJAIRA. Aceites Esenciales “Técnicas de extracción y análisis”. Laboratorio de fitoquímica y cromatografía. Escuela de Química. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga 1998.

Posible ruta de fragmentación del LIMONENO

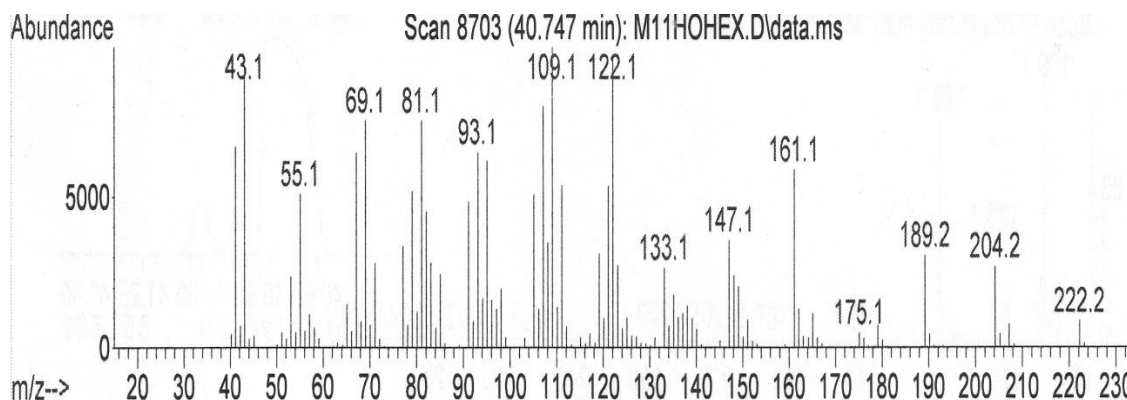
A.



B.



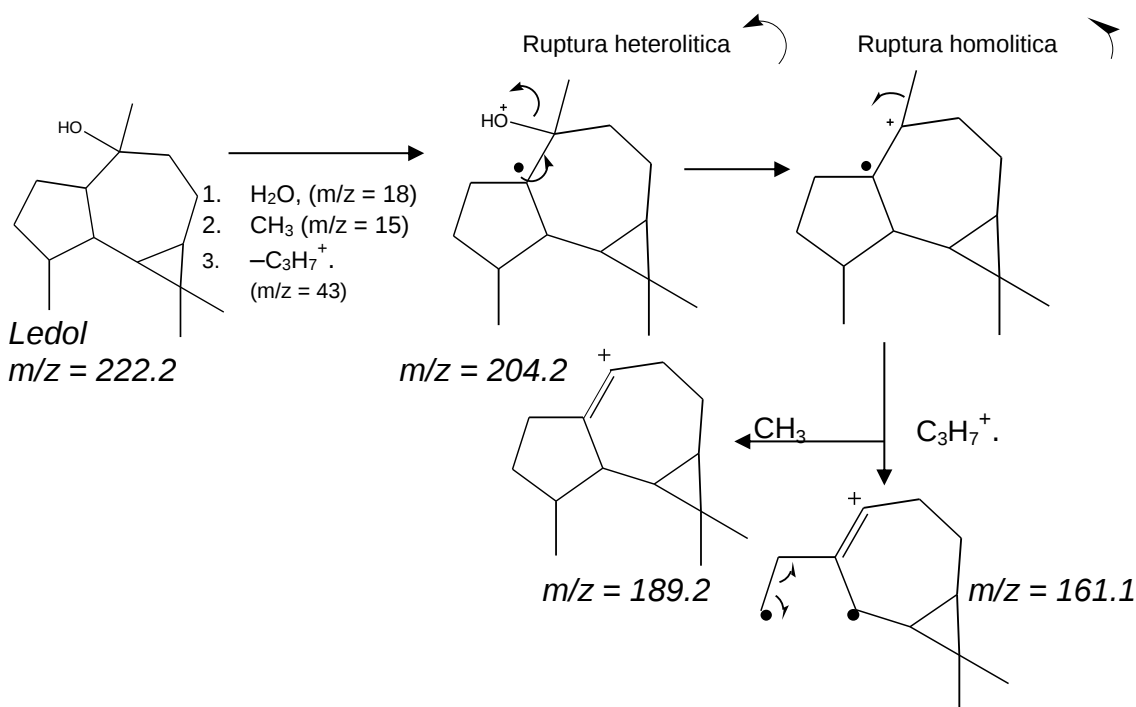
- A. Espectro de masas
 B. Posible ruta de fragmentación
 Posibles rutas de fragmentación del LEDOL
 C.



D.

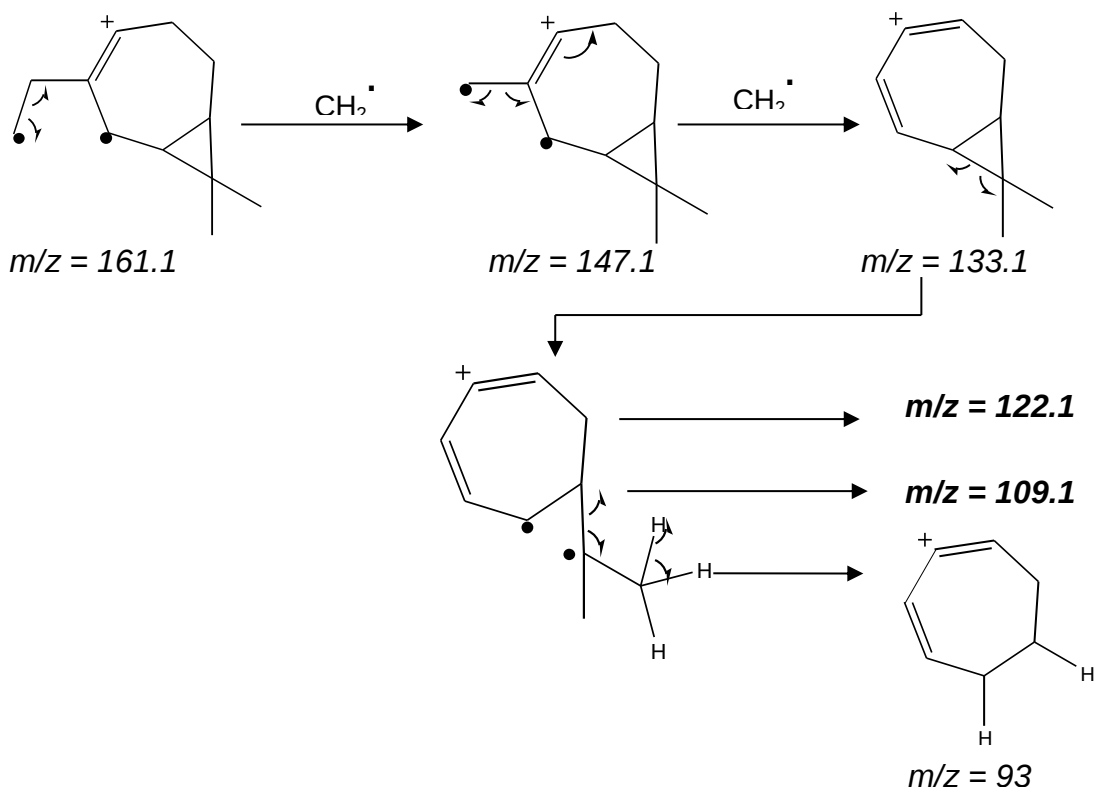
La fragmentación de ledol se inicia con una pérdida de agua ($m/z = 18$) la cual es una pérdida muy común en ionización química ya que el oxígeno por su carga negativa puede fácilmente arrancar un hidrógeno alfa (o vecino), salir y dejar una carga positiva en la molécula, esta puede ser seguida por la pérdida de un radical alquilico simple ($m/z = 15$) $-\text{CH}_3$ o de un radical isopropilico ($m/z = 43$) $-\text{C}_3\text{H}_7^+$.

La naturaleza cíclica de sesquiterpenos imparte cierta estabilidad a sus iones moleculares; casi para todos los sesquiterpenos se puede observar la formación del ion M^+ en el espectro.⁹⁴

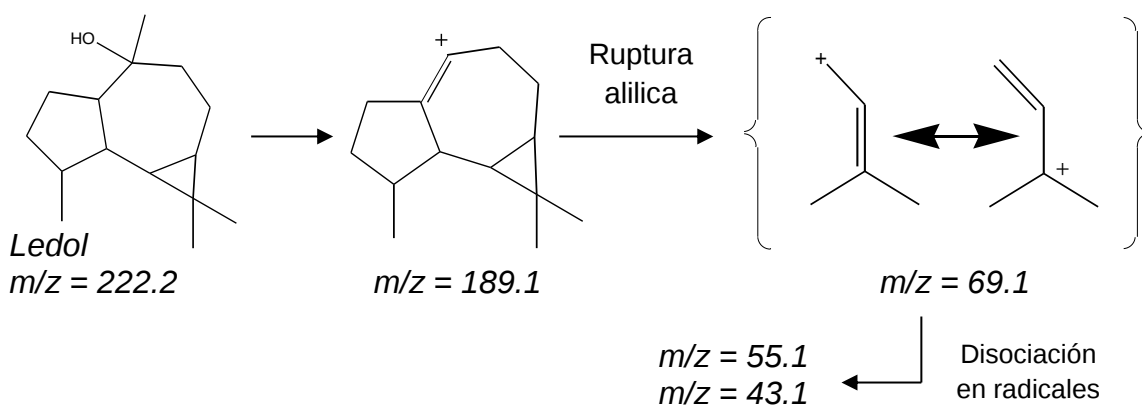


⁹⁴ McLafferty, F. W. and TURECEK, F., Interpretation of mass spectra. California: University Science Books, 1993. 374p.

A partir de la fragmentación con $m/z = 161.1$ perdidas sucesivas de dos radicales CH_2 (total $m/z = 28$) lo cual corresponde al picos con $m/z = 133$; luego se observa la disociación sucesiva del pico $m/z = 133$ generando los picos con $m/z = 122$, 109 y 93 por pérdida de radicales, además se puede presentar una ruptura alilica ($m/z = 41$) generando el pico $m/z = 69$.



El pico con $m/z = 69.1$ sugiere la formación de una ruptura alilica la cual es propia de olefinas y cicloalquenos, esta es una escisión del enlace alílico de la molécula que va acompañada por la formación de un catión alílico estabilizado por la deslocalización de la carga positiva.



Fuente: Esta investigación

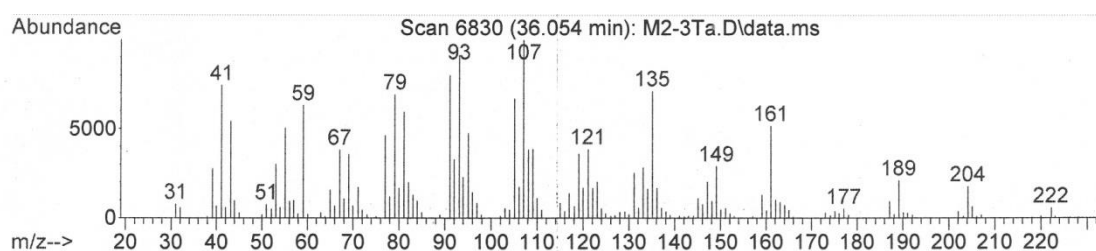
C. Espectro de masas

D. Posibles rutas de fragmentación

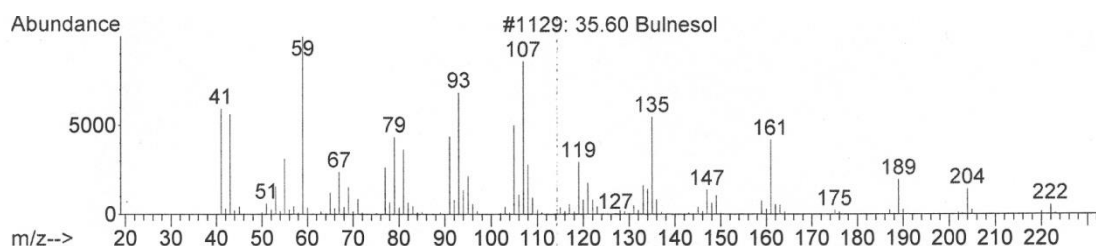
ANEXO B. ESPECTROS DE MASAS DE LOS COMPONENTES MAYORITARIOS DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS Y TALLO DE LA PLANTA SALVIELUGO DEL GALERAS (*Lepechinia vulcanicola*)

Espectro de masas del BULNESOL

A.

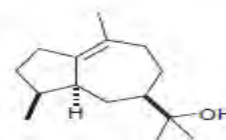
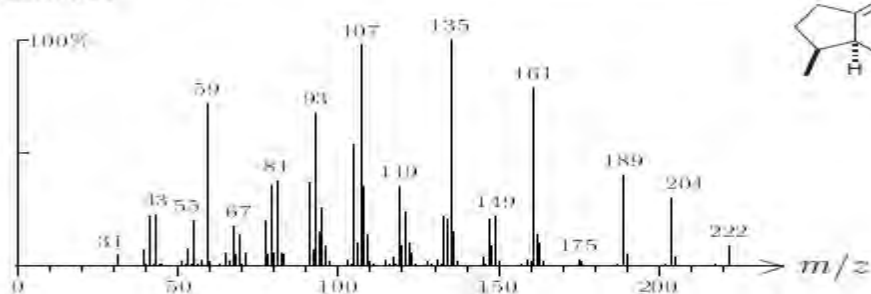


B.



C.

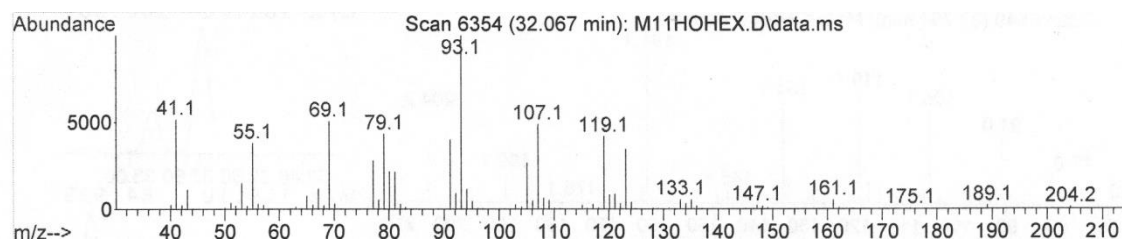
1669 C₁₅H₂₆O 222 1102 022451-73-6
bulnesol



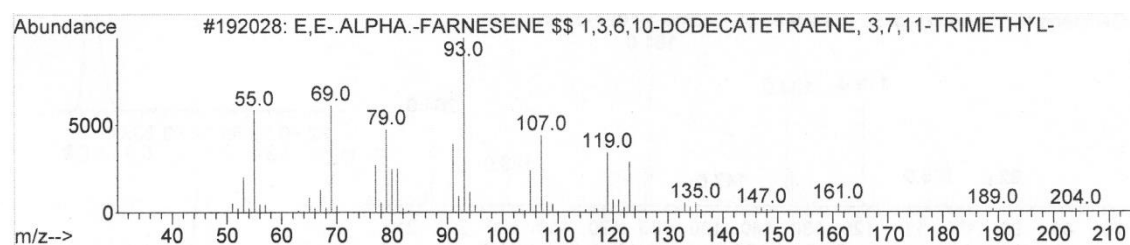
- A. Espectro de masas experimental
- B. Espectro de masas por bases de datos (Porcentaje de similitud 93%)
- C. Espectro de masas Patrón teórico

Espectro de masas del α – FARNESENO

A.

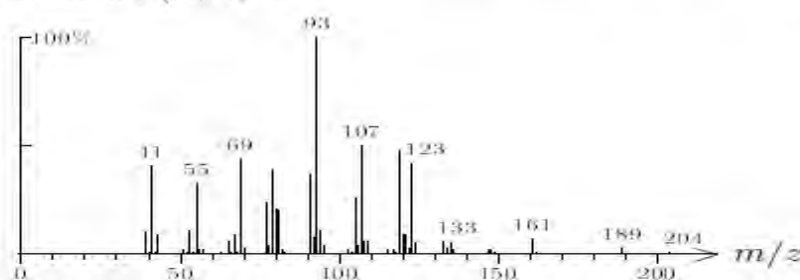
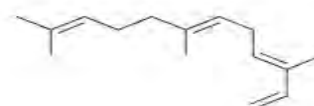


B.



C.

1510 C₁₅H₂₄ 204 1132 000502-61-4
farnesene, (E,E)- α -

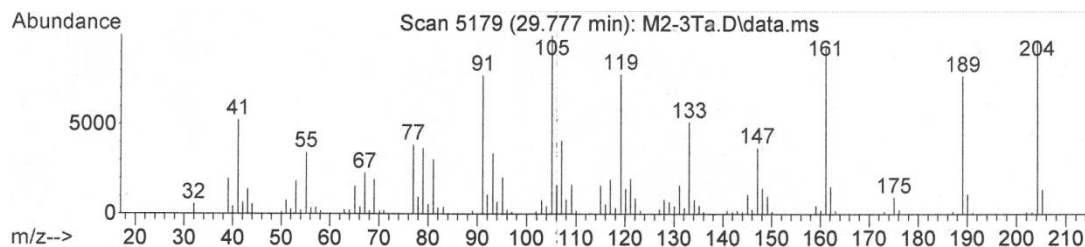


- A. Espectro de masas experimental
B. Espectro de masas por bases de datos (Porcentaje de similitud 97%)

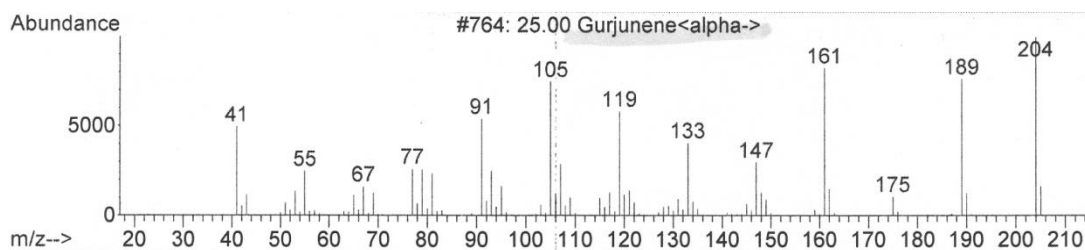
C. Espectro de masas Patrón teórico

Espectro de masas del α – GURJUNENO

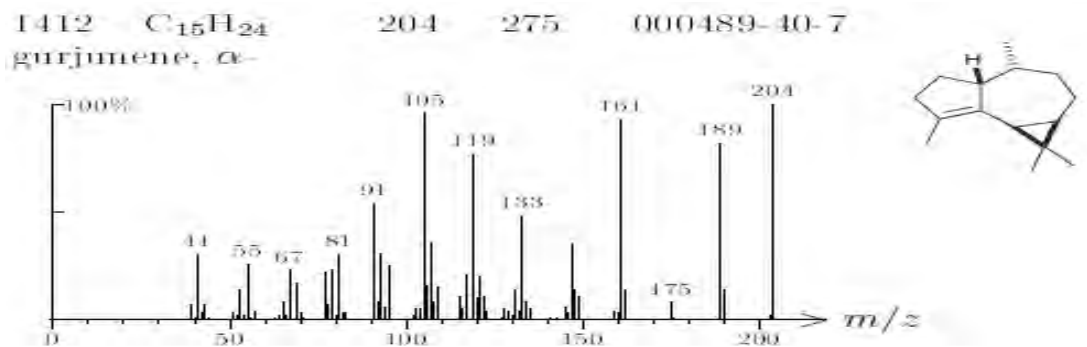
A.



B.



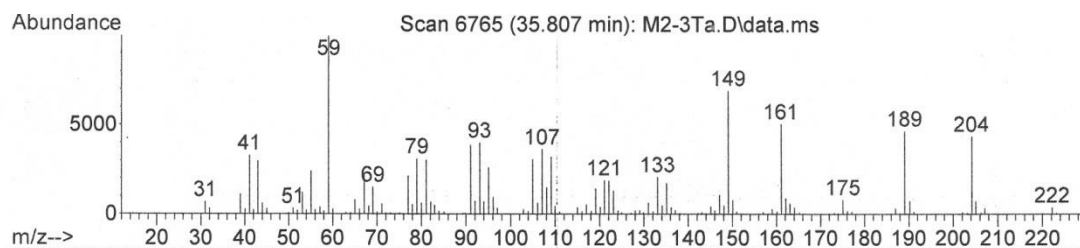
C.



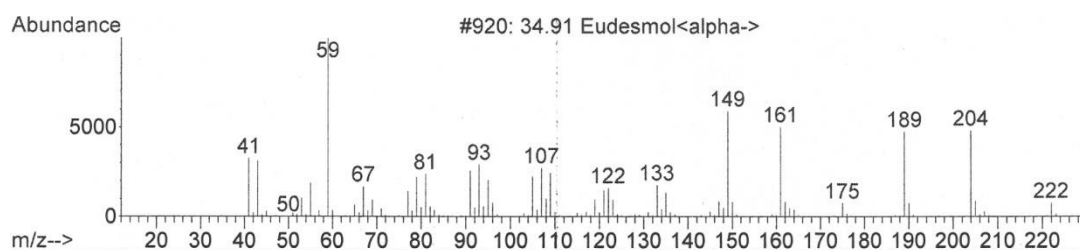
- A. Espectro de masas experimental
- B. Espectro de masas por bases de datos (Porcentaje de similitud 99%)
- C. Espectro de masas Patrón teórico

Espectro de masas del α – EUDESMOL

A.

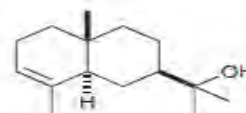
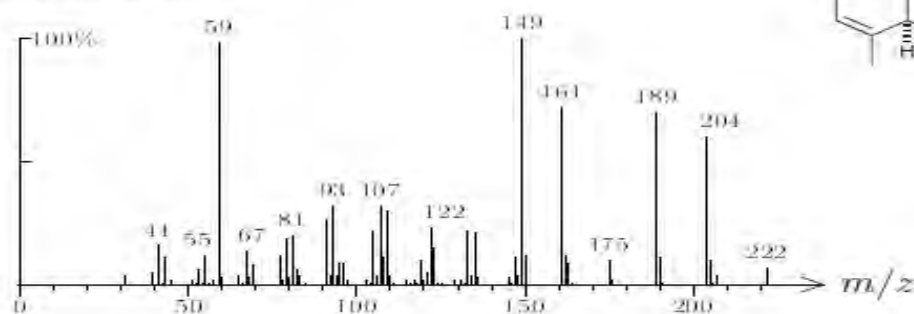


B.



C.

1655 C₁₅H₂₆O 222 681 000473-16-5
eudesmol, α -

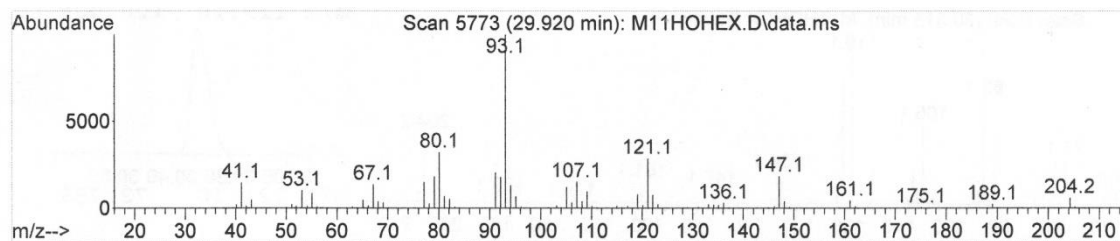


- A. Espectro de masas experimental
B. Espectro de masas por bases de datos (Porcentaje de similitud 99%)

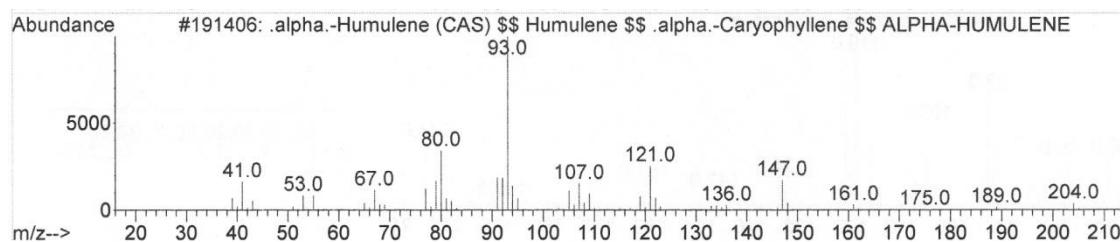
C. Espectro de masas Patrón teórico

Espectro de masas del α – HUMULENO

A.

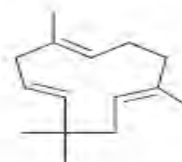
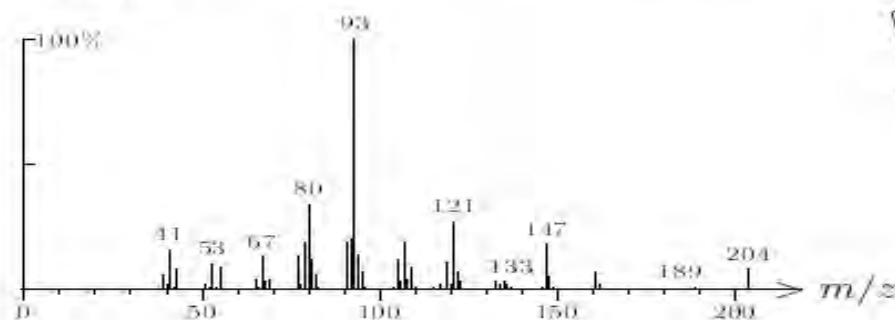


B.



C.

1456 $C_{15}H_{24}$ 204 2 006753-98-6
humulene



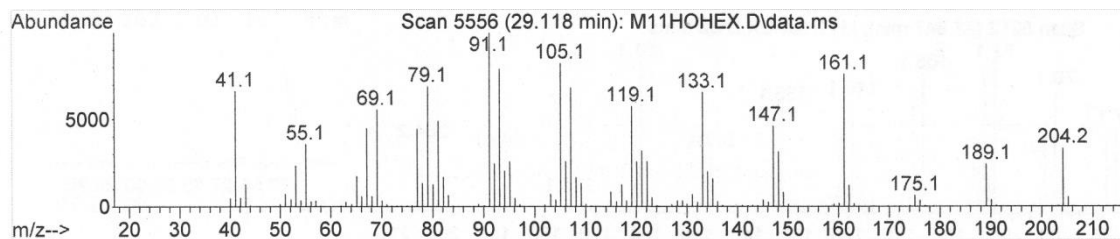
A. Espectro de masas experimental

B. Espectro de masas por bases de datos (Porcentaje de similitud 99%)

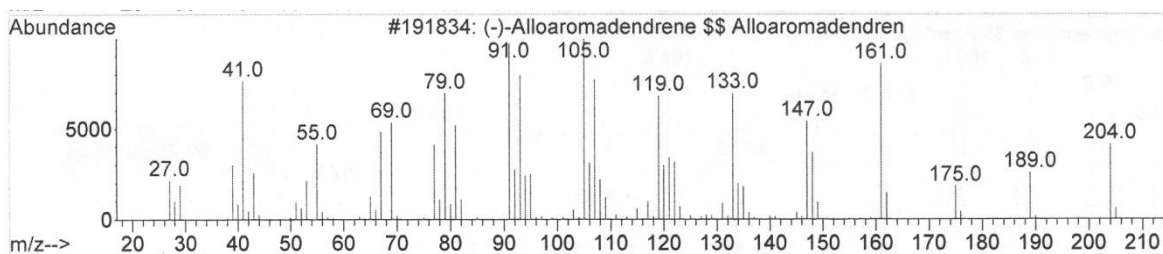
C. Espectro de masas Patrón teórico

Espectro de masas del ALLO - AROMADENDRENO

A.

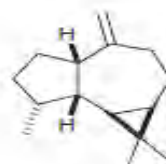
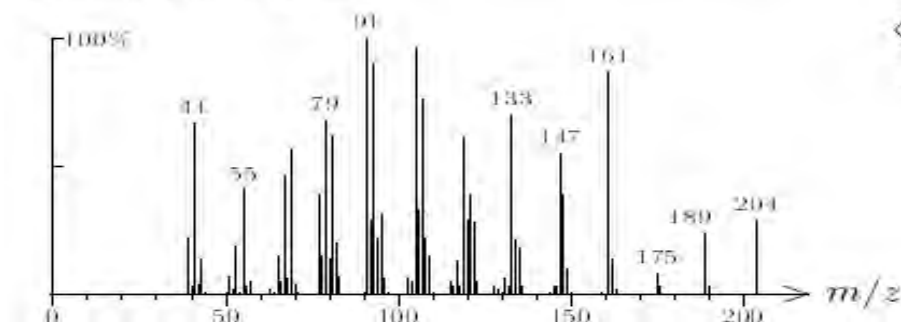


B.



C.

1464 C₁₅H₂₄ 204 270 025246-27-9
aromadendrene, allo-



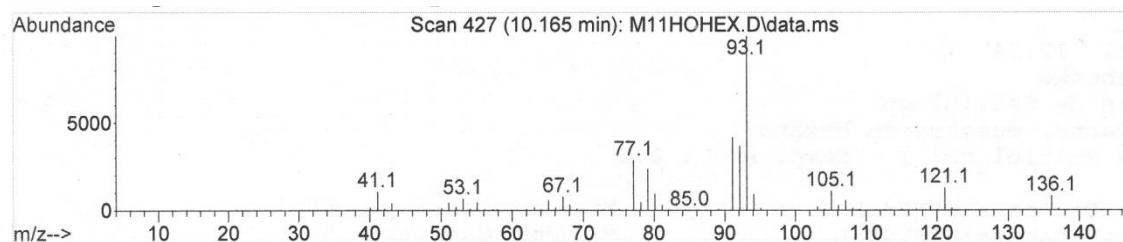
A. Espectro de masas experimental

B. Espectro de masas por bases de datos (Porcentaje de similitud 99%)

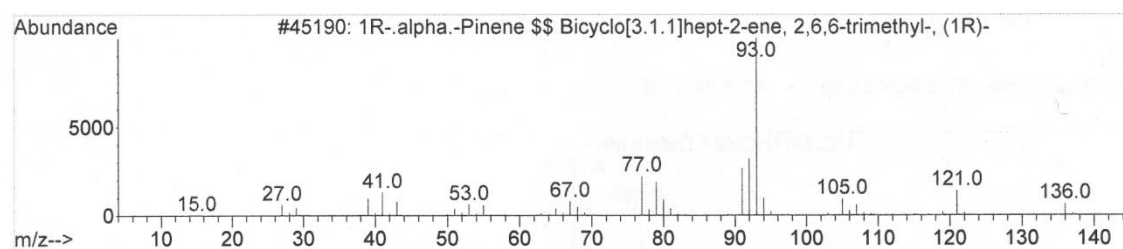
C. Espectro de masas Patrón teórico

Espectro de masas del α - PINENO

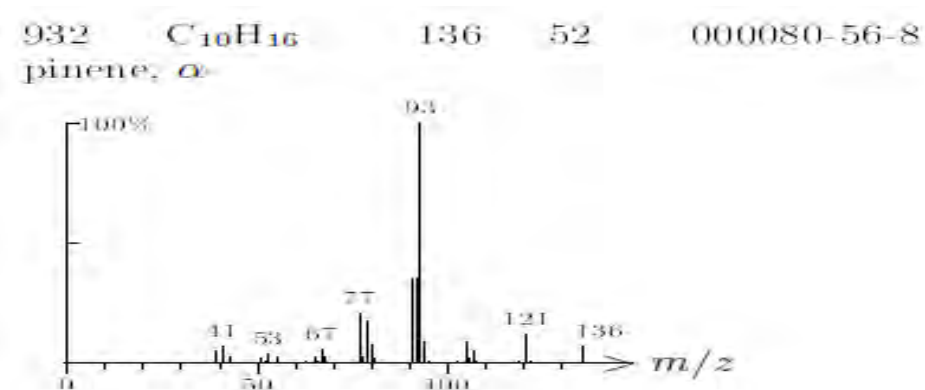
A.



B.



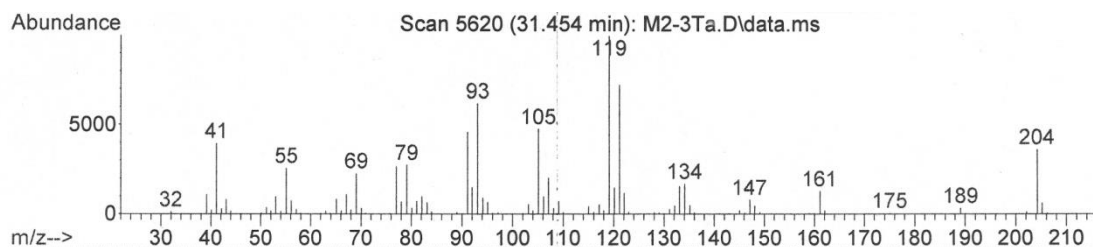
C.



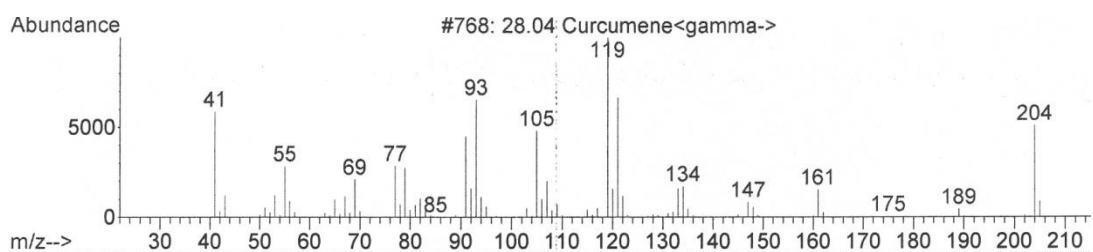
- A. Espectro de masas experimental
- B. Espectro de masas por bases de datos (Porcentaje de similitud 99%)
- C. Espectro de masas Patrón teórico

Espectro de masas del γ - CURCUMENO

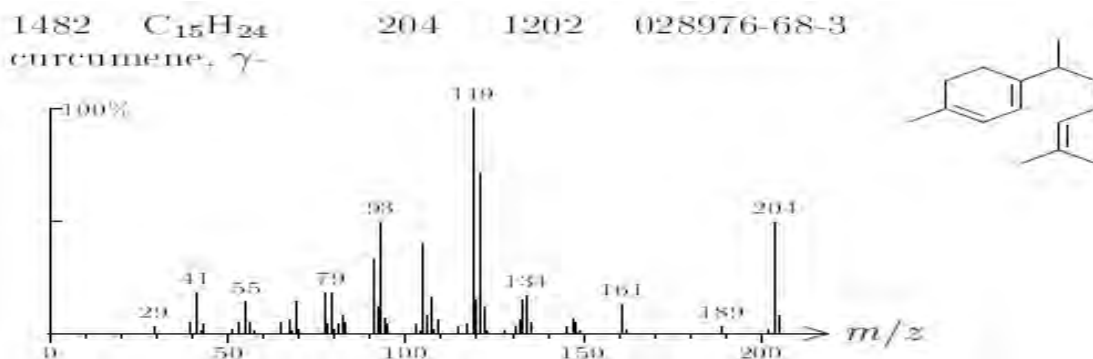
A.



B.



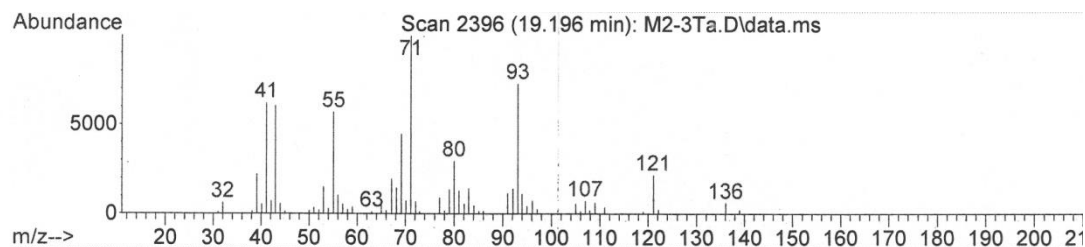
C.



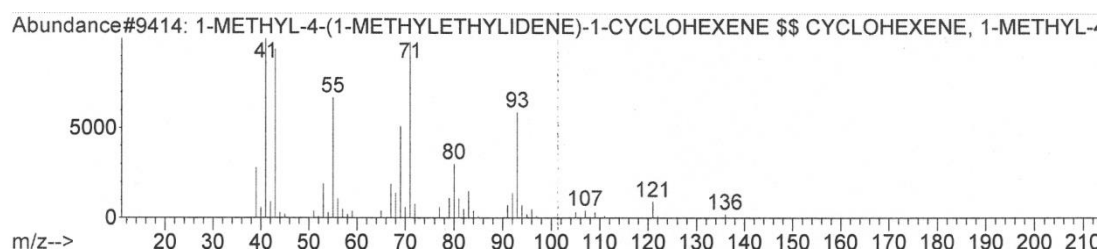
- A. Espectro de masas experimental
- B. Espectro de masas por bases de datos (Porcentaje de similitud 97%)
- C. Espectro de masas Patrón teórico

Espectro de masas del LINALOOL

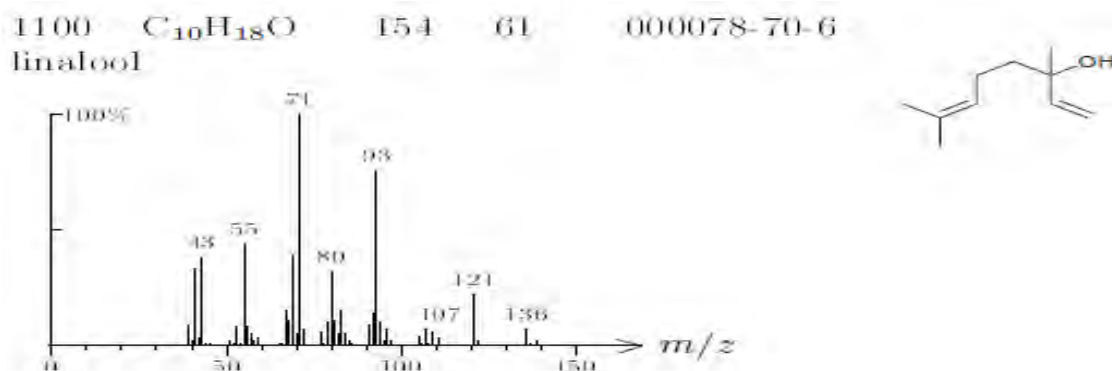
A.



B.



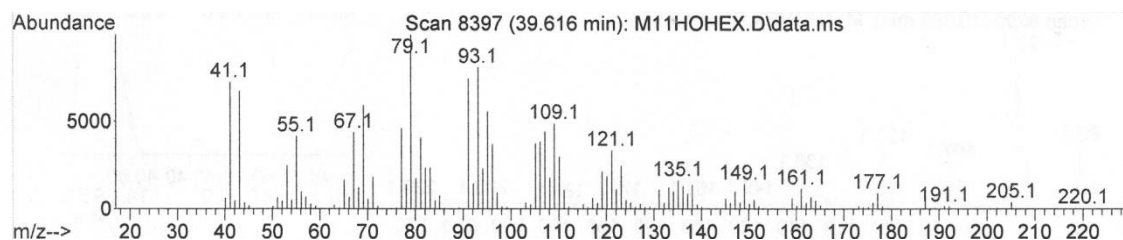
C.



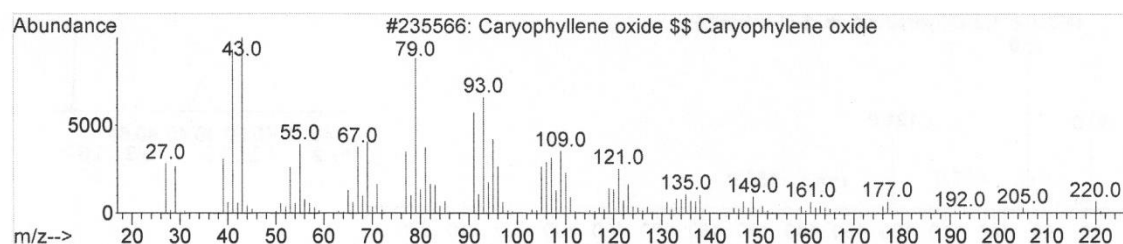
- A. Espectro de masas experimental
- B. Espectro de masas por bases de datos (Porcentaje de similitud 94%)
- C. Espectro de masas Patrón teórico

Espectro de masas del OXIDO DE CARIOFILENO

A.

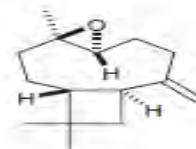
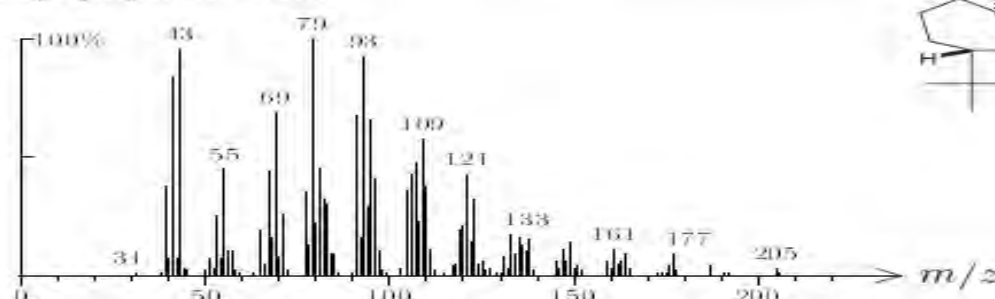


B.



C.

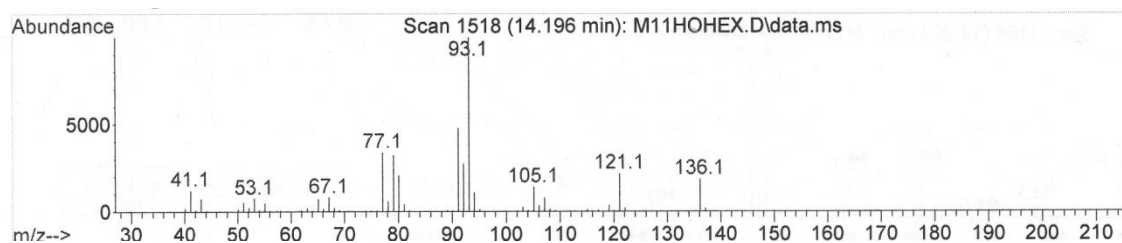
1586 C₁₅H₂₄O 220 22 001139-30-6
caryophyllene oxide



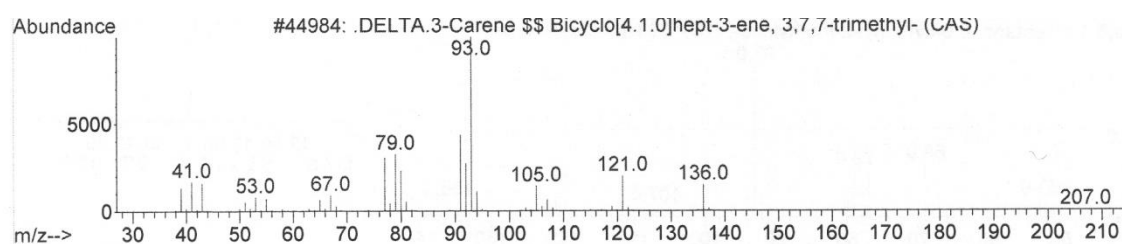
- A. Espectro de masas experimental
- B. Espectro de masas por bases de datos (Porcentaje de similitud 94%)
- C. Espectro de masas Patrón teórico

Espectro de masas del δ - 3 - CARENO

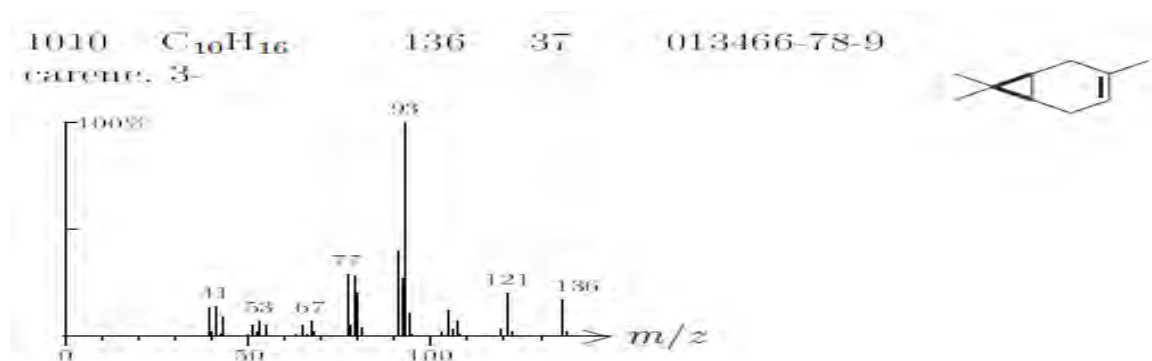
A.



B.



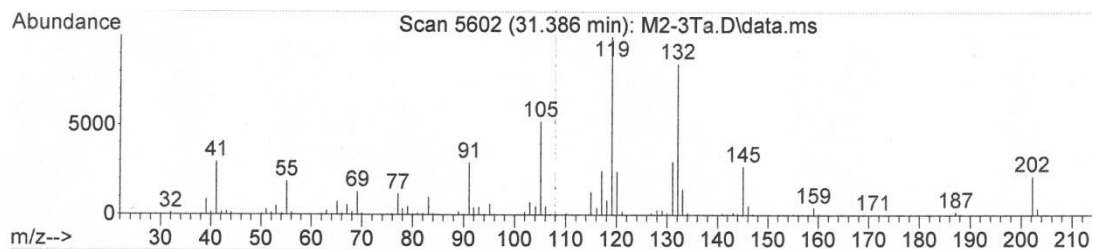
C.



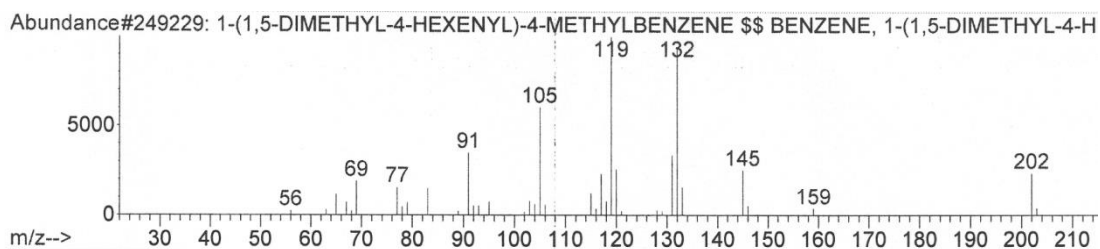
- A. Espectro de masas experimental
- B. Espectro de masas por bases de datos (Porcentaje de similitud 97%)
- C. Espectro de masas Patrón teórico

Espectro de masas del AR – CURCUMENO

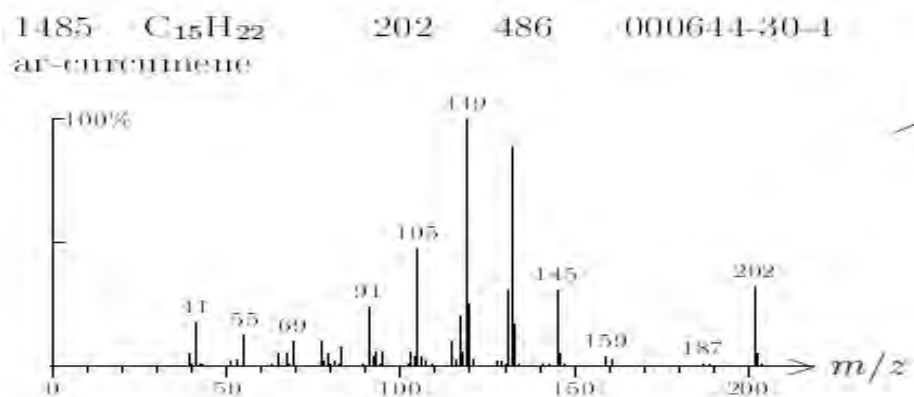
A.



B.



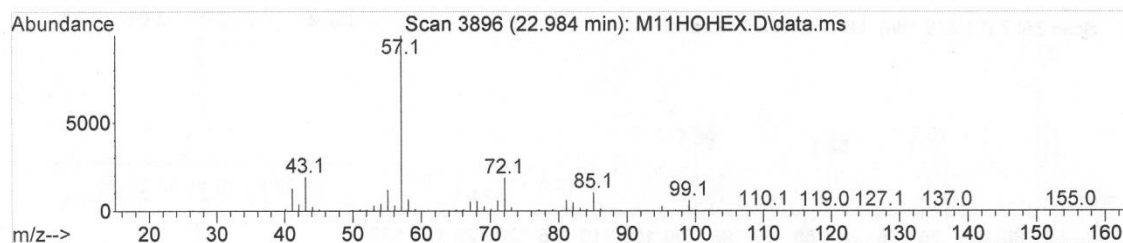
C.



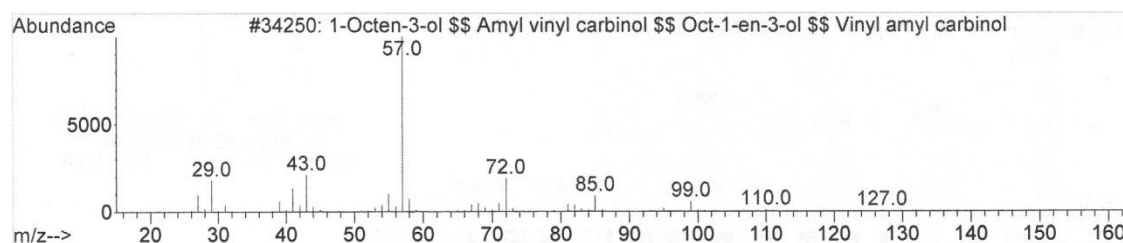
- A. Espectro de masas experimental
- B. Espectro de masas por bases de datos (Porcentaje de similitud 98%)
- C. Espectro de masas Patrón teórico

Espectro de masas del 1 – OCTEN – 3 - OL

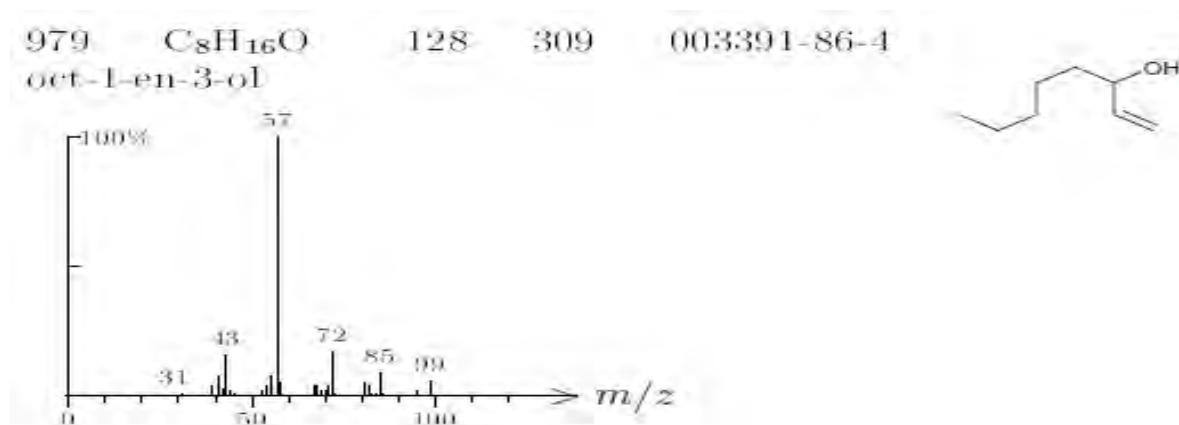
A.



B.



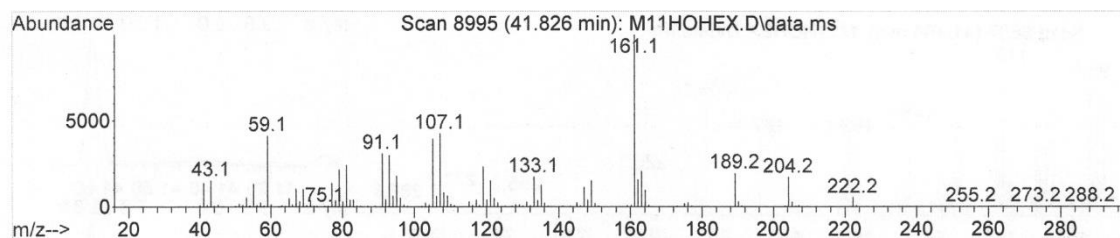
C



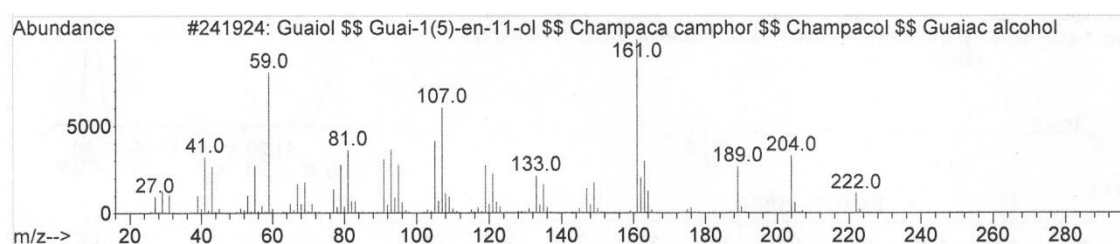
- A. Espectro de masas experimental
- B. Espectro de masas por bases de datos (Porcentaje de similitud 92%)
- C. Espectro de masas Patrón teórico

Espectro de masas del GUAJOL

A.

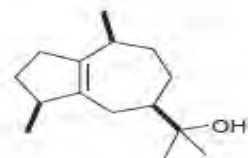
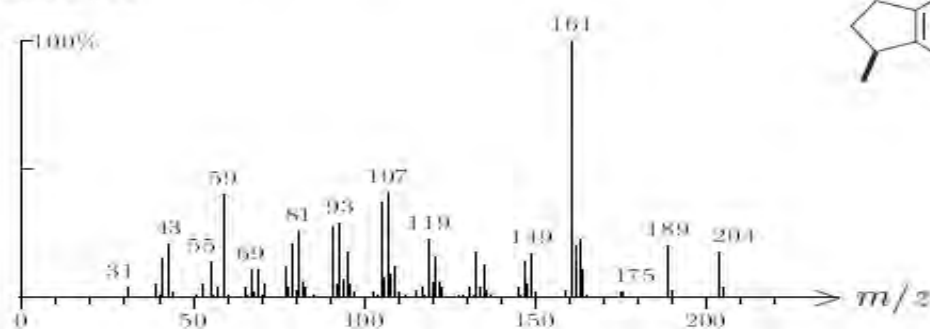


C.



D.

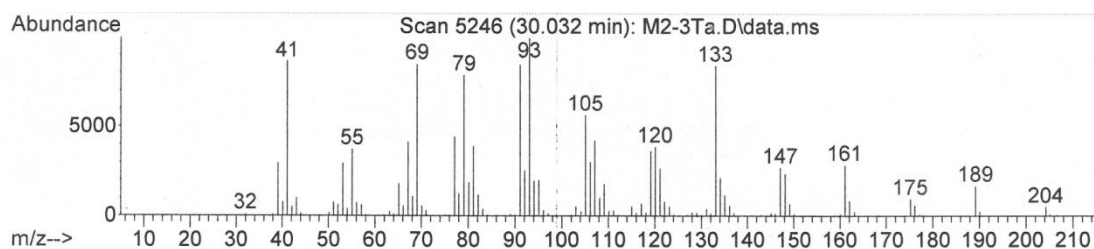
1599 C₁₅H₂₆O 222 1099 000489-86-1
guaiol, α-



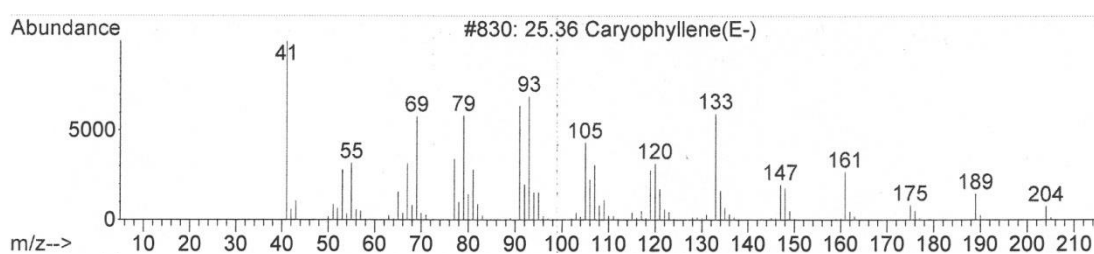
- A. Espectro de masas experimental
- B. Espectro de masas por bases de datos (Porcentaje de similitud 99%)
- C. Espectro de masas Patrón teórico

Espectro de masas del E- CARIOFILENO

A.

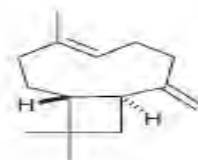
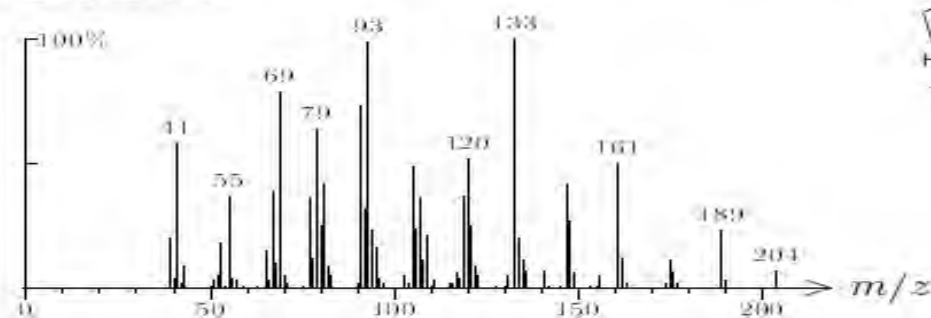


B.



C.

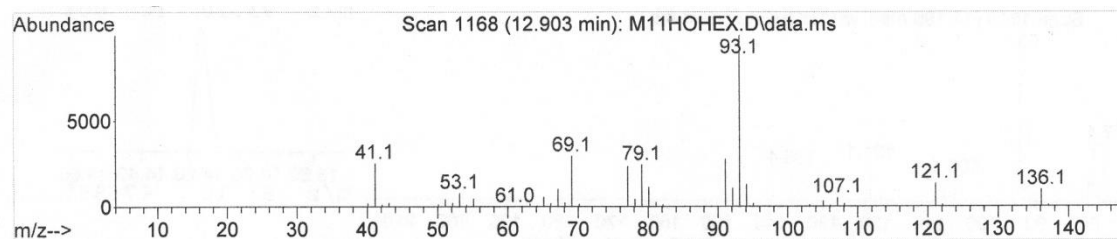
1422 C₁₅H₂₄ 204 1 000087-44-5
caryophyllene



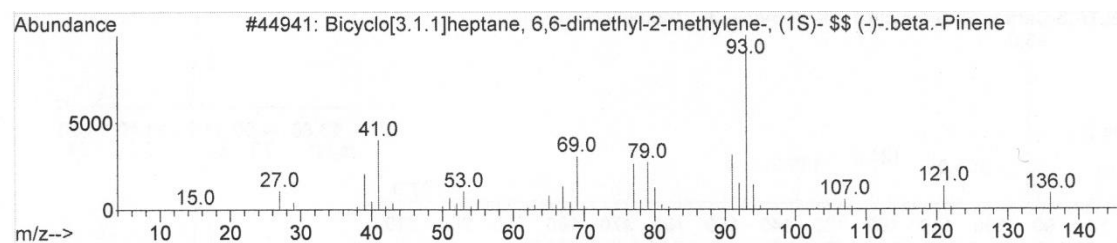
- A. Espectro de masas experimental
- B. Espectro de masas por bases de datos (Porcentaje de similitud 99%)
- C. Espectro de masas Patrón teórico

Espectro de masas del β - PINENO

A.

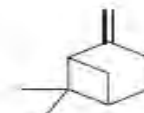
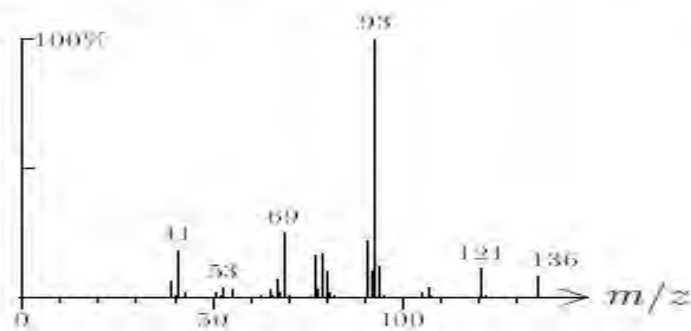


B.



C.

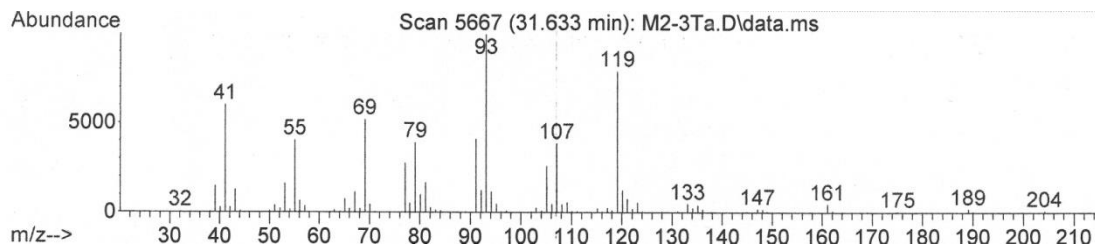
975 $C_{10}H_{16}$ 136 55 000127-91-3
pinene, β -



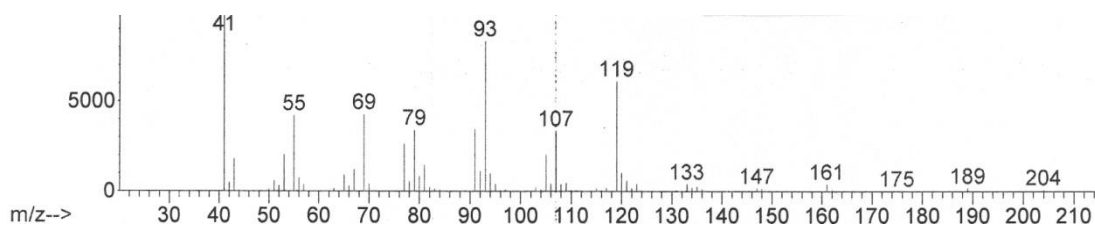
- A. Espectro de masas experimental
- B. Espectro de masas por bases de datos (Porcentaje de similitud 97%)
- C. Espectro de masas Patrón teórico

Espectro de masas del (α - CIS) BERGAMOTENO

A.

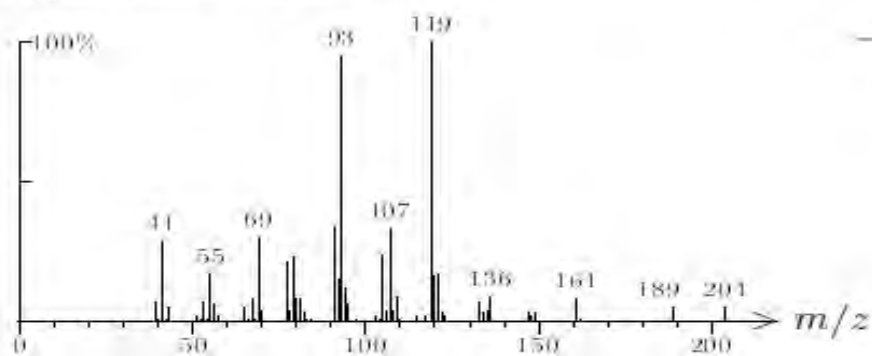


B.



C.

1416 C₁₅H₂₄ 204 532 064727-43-1
bergamotene, *cis*- α -



- A. Espectro de masas experimental
- B. Espectro de masas por bases de datos (Porcentaje de similitud 96%)
- C. Espectro de masas del patrón teórico

ANEXO C. DATOS COMPLEMENTARIOS DEL DISEÑO EXPERIMENTAL CORRESPONDIENTE AL NUMERO DE COMPUESTOS PARA HOJAS. (SECCIÓN 5.1.2.)

Para determinar las mejores condiciones de extracción en del aceite esencial de hojas y tallos se tomaron las áreas $\geq$ a 500 cuentas; en el caso de las hojas los datos iniciales fueron los siguientes:

Tabla 33. Número de compuestos correspondientes a hojas determinados de acuerdo a los parámetros de extracción con áreas mayores o iguales a 500 cuentas.

POTENCIA (%)	TIEMPO (MIN)	NUMERO DE COMPUESTOS			VALOR MEDIO	PROMEDIO
		EXTRACCIÓN 1	EXTRACCIÓN 2	EXTRACCIÓN 3		
80	90	37	50	54	50	47
80	60	25	35	39	35	33
60	90	39	47	50	47	45
60	60	35	44	50	44	43

A los valores expuestos en la tabla 33 se les aplica el análisis de varianza multifactorial que se expone en la tabla 34 empleando statgrphapics.

Tabla 34. Análisis de varianza de acuerdo al número de compuestos mayoritarios presentes en hojas con áreas mayores a 500 cuentas.

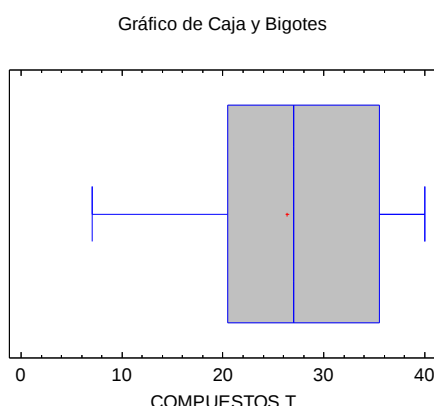
FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	RAZÓN-F	VALOR-P
A:POTENCIA	52,0833	1	52,0833	0,86	0,377
B:TIEMPO	200,083	1	200,083	3,32	0,1019
RESIDUOS	542,75	9	60,3056		
TOTAL (CORREGIDO)	794,917	11			

Para obtener una confiabilidad del 95%, el valor-P debe ser menor a 0.05 y como se puede observar en la tabla 34, el valor- P, no es menor que el 0.05 por tal razón no existen diferencias significativas en los factores (potencia y tiempo). Como se necesita determinar las mejores condiciones para la extracción de los compuestos mayoritarios, en las hojas se toman las áreas $\geq$ a 5000 cuentas, valores que se exponen en tabla 13 y con los cuales el valor-P es menor del 0.05 mostrando diferencias significativas en el tratamiento (factores A – B).

ANEXO D. ANÁLISIS COMPLEMENTARIO PARA LOS DATOS CORRESPONDIENTES AL NUMERO DE COMPUESTOS PROPUESTOS PARA TALLOS (SECCIÓN 5.1.2)

Con el fin de determinar si los datos que se exponen en la tabla 14 – 16, se pueden aceptar se realiza una gráfica de cajas y bigotes mediante la cual se visualizan los valores extremos y la mediana observando así la distribución de los datos y los posibles valores atípicos.

Grafica 31. Grafica de cajas y bigotes para tallos.



Como observa en la gráfica31, el promedio de los datos se aleja de la mediana debido a un valor que puede tener carácter atípico, no obstante el promedio es cercano y el valor que se supone puede ser atípico o anormal no está como un valor extremo y no está graficado fuera de los valores mínimos o máximos (fuera de los bigotes), razón por la cual se determina que todos los valores son aceptables.

En base a lo anterior se aplica el contraste de Dixon la cual permite determinar y rectificar si existen valores anormales o atípicos que se deben eliminar. Los resultados de la prueba se exponen en la tabla 35.

Tabla 35. Resultados del contraste de Dixon para tallos.

	ESTADÍSTICO	PRUEBA AL 5%	PRUEBA AL 1%
1 aberrante por derecha	0,0333333	No sig.	No sig.
1 aberrante por izquierda	0,09375	No sig.	No sig.
2 aberrantes por derecha	0,133333	No sig.	No sig.
2 aberrantes por izquierda	0,40625	No sig.	No sig.
1 aberrante en cada lado	0,0909091	No sig.	No sig.

El contraste de Dixon es una prueba especial para poblaciones pequeñas con uno o dos valores anormales comparándolos con las medidas más próximas en tamaño; como se puede observar en la tabla 35 al realizar la prueba con una significancia del 5% y 1% no existen valores aberrantes o anómalos que afecten la distribución normal de la muestra.

Para verificar lo anterior se aplica el contraste de Grubbs, el cual compara la desviación del valor sospechoso y la media de la muestra; los resultados se exponen en la tabla 36.

Tabla 36. Resultados del contraste de Grubbs para tallos.

Estadístico de prueba	1,81605
Valor-P	0,624338

De acuerdo a la tabla 36, debido a que el valor-P para la prueba de Grubb es mayor o igual que 0,05, ese valor no es un aberrante significativo con un nivel de significancia del 5,0%, asumiendo que todos los demás valores siguen una distribución normal razón por la cual el valor es aceptado y se lo utiliza en el diseño experimental que se expone en la sección 5.1.2.

ANEXO E. CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES GENERALES DE LAS PLANTAS QUE PERTENECEN A LA FAMILIA DE LAS LABIADAS Y AL GENERO *LEPECHINIA*. (Sección 5.1.5 – sección 6.2)

Los aceites esenciales de la familia de las Labiadas se ubican en las diferentes partes de la planta, tales como hojas, tallos, flores y frutos, así como también en diferentes órganos celulares⁹⁵. Es así como los aceites del genero *Lepechinia* se encuentran en su mayoría en las hojas ya que en estas se localiza mayor concentración tricomas glandulares o pelos glandulares, que son los sitios donde se biosintetizan los aceites esenciales.⁹⁶

El tallo tiene características leñosas y no presenta abundancia de tricomas glandulares, por esta razón la extracción del aceite esencial del tallo presenta muy bajo rendimiento en comparación con el aceite esencial extraído de las hojas el cual fue utilizado para la cuantificación.

En cuanto a la composición química los aceites esenciales contienen una buena proporción de hidrocarburos junto con compuestos oxigenados, tales como cetonas, alcoholes, acetatos, entre otros, los cuales prevalecen en las partes aéreas de las plantas, mientras que los hidrocarburos de alto peso molecular se concentran básicamente en las raíces y tallos.⁹⁷⁹⁸

Las hojas presentan la mayor fracción volátil por la utilidad la cual puede ser: proveen defensa contra herbívoros o patógenos, atraen animales que dispersan las semillas o el polen, protegen contra los rayos UV, o actúan como inhibidores de germinación de plantas vecinas; en los tallos leñosos compuestos de baja volatilidad que actúan como resinas y agentes de protección.⁹⁹

Los aceites esenciales presentan una alta variación en la proporción de sus constituyentes, ya que en ocasiones se transforman unos en otros según la parte de la planta, el momento de su desarrollo o el momento del día de la recolección.

⁹⁶DUDAREVA, N., and PICHESKY, E. Biology of Floral Scent. Taylor & Francis Group: New York: 2006, p.p. 55-71.

⁹⁷ BANDONI, Arnaldo (Ed). Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores. Argentina: Red de Editoriales Universitarias, 2000, p.p. 29-43, 94- 96, 149-171, 197-232.

⁹⁸ DOMÍNGUEZ, A. X., Métodos de investigación fotoquímica. Limusa: México D.F. 1988, p.p. 229, 239, 281.

⁹⁹LINCOLN T.; ZEIGER E., Plant physiology. Massachussets: Sinauer Associates. 2002, Ed 3

LISTA DE ABREVIATURAS

%	Porcentaje
°C	grado centígrado
AE	Aceite esencial
ANOVA	Análisis de varianza
CG	Cromatografía de gases
CG/EM	Cromatografía de gases acopada a espectrometría de masas
CV	Coeficiente de variación
DIA	Diseño irrestrictamente al azar
FID	Detector iónico de llama
GL	Grados de libertad
Ibid	En el mismo lugar
Ik	Índice de Kovats
IK ^a	índices de Kovats determinados experimentalmente
IK ^b	índices de Kovats publicados en bibliografía
L	litros
m	metros
m.s.n.m	metros sobre el nivel del mar
m/z	Relación masa carga
mg	miligramo
MHWD	Hidrodestilación asistida por microondas
Min	Tiempo (minutos)
N.I	No identificado
TIC	Cromatografía de iones totales
W	Potencia (vatios)

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A. Posibles rutas de fragmentación de los componentes mayoritarios (>10%) de hojas y tallo de la planta Salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*).

ANEXO B. Espectros de masas de los componentes mayoritarios del aceite esencial de hojas y tallo de la planta Salvielugo del Galeras (*Lepechinia vulcanicola*).

ANEXO C. Datos complementarios del diseño experimental correspondiente al número de compuestos para hojas (Sección 5.1.2.)

ANEXO D. Análisis y validación de datos correspondientes al número de compuestos propuestos para el tallo (sección 5.1.2.)

ANEXO E. Características estructurales generales de las plantas que pertenecen a la familia de las labiadas y al género *lepechinia*. (Sección 5.1.5 – sección 6.2)