

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA-León
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE FARMACIA



"A la Libertad por la Universidad"

Identificación cualitativa del contenido de citral y 1,8-cineol en *Pectis capillaris* utilizando la técnica de cromatografía en placa TLC marzo 2014- noviembre del 2015.

Monografía para optar al título de Licenciado Químico Farmacéutico,

Facultad de Ciencias Químicas UNAN-León

Autores:

Br. Griselda Juniette Alduvín Pérez.

Br. Hazel Mayela Benedith Díaz.

Tutor: Lic. Kelvin Núñez.

León, Noviembre 2015



Índice

Introducción	1
Objetivos	2
Marco teórico	3
Clasificación de los aceites esenciales	3
Proceso de extracción	5
Escala de laboratorio	8
Cromatografía.....	9
Determinación de r_f en TLC.....	14
Genero <i>Pectis</i>.....	15
Zacate de Limón.....	17
Diseño metodológico.....	21
Resultados y análisis de los resultados.....	32
Conclusión	43
Recomendaciones.....	43
Bibliografía.....	44



Identificación cualitativa del contenido de citral y 1,8-cineol en *Pectis capillaris* utilizando la técnica de cromatografía en placa TLC marzo 2014- noviembre del 2015.



Introducción

Las enfermedades respiratorias constituyen unas de las cinco causas de morbimortalidad más comunes, en este contexto las plantas medicinales han sido y siguen siendo utilizadas como remedios caseros por la población Nicaragüense junto a otras terapias complementarias y productos naturales los cuales son comunes debido a los bajos precios que representan y accesibilidad. Así mismo en comunidades muy alejadas, con baja cobertura de salud, la medicina natural sigue siendo una opción curativa. ⁽¹⁾

Las especies del género *pectis* se han estudiado ampliamente por su contenido de citral lo que confiere diversas propiedades fitomedicinales, el estudio del contenido de dicho quimiotipo se ha reportado en otras especies como Eucalipto, Zacate limón, Romero y Menta utilizadas para afecciones respiratorias principalmente. ⁽¹⁾

Lo anterior conlleva a la necesidad de aumentar el conocimiento de nuestros recursos naturales. Es por esto que el estudio de la especie vegetal *Pectis Capillaris* (Limoncillo) es de interés, por perfilarse como alternativa fitomedicinal al contenido del quimiotipo citral y el 1,8-cineol en concentraciones equivalentemente a *Cymbopogon citratus* (Zacate de Limón) y *Eucalytus globulus* (Eucalipto). ⁽²⁾

En la presente investigación el aceite esencial de la especie *Pectis* fue obtenido por el método de destilación por arrastre con vapor de agua, utilizando un Clevenger. La técnica es ventajosa cuando los compuestos cumplen con las condiciones de ser volátiles, inmiscibles en agua, tener presión de vapor baja y punto de ebullición alto. La valoración cualitativa de los quimiotipos se realizó por cromatografía en capa fina TLC logrando la identificación de citral 0.421 cm y 1,8-cineol 0.327 cm en comparación con la referencia de aceites de estándares de citral y 1,8-cineol y aceites de *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus globulus*. ⁽²⁾



OBJETIVOS

Objetivo General:

Identificar cualitativamente el contenido de citral y 1,8-cineol en *Pectis capillaris* utilizando la técnica de cromatografía en placa TLC.

Objetivos Específicos:

- Evaluar la mezcla adecuada de solventes como fase móvil en la determinación cualitativa de citral y 1-8 cineol por cromatografía en capa fina (TLC).
- Identificar cualitativamente por TLC los quimiotipos citral y 1-8 cineol en aceite obtenido por destilación y extracto orgánico de la especie *Pectis capillaris*.



MARCO TEORICO

1. ACEITES ESENCIALES⁽³⁾:

Los aceites esenciales son mezclas homogéneas de compuestos químicos orgánicos, provenientes de una misma familia química, terpenoides.

Los aceites esenciales están contenidos en glándulas o vesículas secretoras inmersas en los tejidos de las hojas, flores, corteza y semillas de los frutos de muchas especies. Las plantas pueden producir aceite esencial para muchos y diversos fines; por un lado protegen a la planta de plagas, enfermedades e inclusive la invasión de otras plantas, para atraer insectos y aves (polinizantes).

Los aceites esenciales de plantas aromáticas y medicinales presentan bioactividades notables (propiedades anti fúngicas, antibacteriales y antioxidantes), atrayendo la atención de importantes sectores de la industria farmacéutica, de perfumes, cosmética y de alimentos, entre otras, por sus posibles y viables aplicaciones.

1.1 Clasificación de los aceites esenciales⁽³⁾:

Los aceites esenciales se encuentran ampliamente distribuidos en diferentes partes de las plantas: en las hojas (albahaca, eucalipto, hierbabuena, mejorana, menta, romero, salvia, etc.), en las raíces (jengibre, sándalo, sazafrán, etc.), en el pericarpio del fruto (cítricos como limón, mandarina, naranja, etc.), en las semillas (anís, comino, etc.), en corteza (canela, etc.), en las flores (lavanda, manzanilla, tomillo, rosa, etc.) o en los tallos (perejil, pimienta, etc.). Se clasifican basándose en criterios como consistencia y origen.

1.2 Clasificación por consistencia⁽³⁾:

- Las esencias fluidas son líquidos volátiles a temperatura ambiente.
- Los bálsamos son de consistencia más espesa, poco volátiles y propensos a sufrir reacciones de polimerización, son ejemplos, el bálsamo de copaiba, el bálsamo del Perú, bálsamo de Tolú, Estoraque, etc.



- Las oleorresinas tienen el aroma de las plantas en forma concentrada y son típicamente líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas (caucho, gutapercha, chicle, oleorresina de paprika, de pimienta negra, de clavo, etc.).

1.3 Clasificación por su origen⁽³⁾:

- Los naturales se obtienen directamente de la planta y no sufren modificaciones físicas ni químicas posteriores, debido a su rendimiento tan bajo son muy costosos.
- Los artificiales se obtienen a través de procesos de enriquecimiento de la misma esencia con uno o varios de sus componentes, por ejemplo, la mezcla de esencias de rosa, geranio y jazmín enriquecida con linalol.
- Los sintéticos como su nombre lo indica son los producidos por procesos de síntesis química. Estos son más económicos y por lo tanto son mucho más utilizados como aromatizantes y saborizantes.

1.4 Clasificación según estructura⁽³⁾:

- Acíclicos
- Monocíclicos
- Bicíclicos

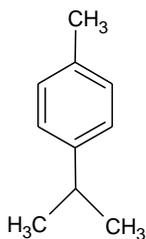


Imagen N° 1 Timol (mandarina)

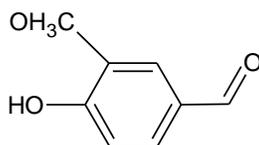


Imagen N° 2 Vainillina

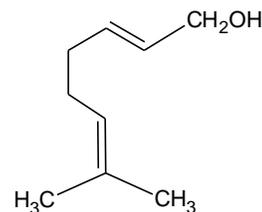


Imagen N° 3 Geraniol

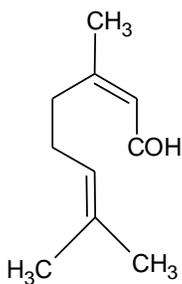


Imagen N° 4 Citral

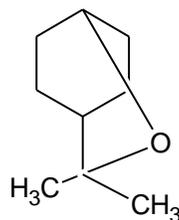


Imagen N° 5 1,8-cineol estructura bicíclica

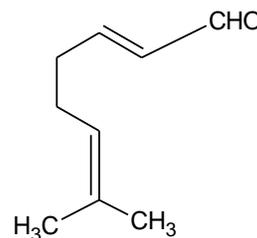


Imagen N° 6 Geranial



1.5 Clasificación según grupo funcional ⁽³⁾

- aldehydos
- ésteres
- éteres
- cetonas

2. EXTRACCION ⁽⁴⁾

Los aceites esenciales se pueden extraer mediante diferentes métodos como: prensado, destilación con vapor de agua, extracción con solventes volátiles, enflurage y con fluidos súper críticos. En el prensado, el material vegetal es exprimido mecánicamente para liberar el aceite y este es recolectado y filtrado. Este método es utilizado para la extracción de esencias cítricas.

Cuando se usa vapor saturado, pero la materia prima está en contacto íntimo con el agua generadora del vapor, se le llama “hidrodestilación” (Günther, 1948). Cuando se usa vapor saturado, pero la materia no está en contacto con el agua generadora, sino con un reflujo del condensado formado en el interior del destilador y se asumía que el agua era un agente extractor, se le denominó “hidroextracción” (Palomino y Cerpa, 1999).

El término hidrodestilación, lo definimos como el proceso para obtener el aceite esencial de una planta aromática, mediante el uso del vapor saturado a presión atmosférica. El generador de vapor no forma parte del recipiente donde se almacena la materia prima, es externo y suministra un flujo constante de vapor. Su presión es superior a la atmosférica, pero el vapor efluente, que extrae al aceite esencial está a la presión atmosférica. La materia prima forma un lecho compacto y se desprecia el reflujo interno de agua debido a la condensación del vapor circundante.

El proceso de hidrodestilación se deben tomar en cuenta las siguientes consideraciones: la materia prima vegetal es cargada en un hidrodestilador, de manera que forme un lecho fijo compactado. Su estado puede ser molido, cortado, entero o la combinación de éstos.



El vapor de agua es inyectado mediante un distribuidor interno, próximo a su base y con la presión suficiente para vencer la resistencia hidráulica del lecho. La generación del vapor puede ser local (hervidor), remota (caldera) o interna (base del recipiente).

Conforme el vapor entra en contacto con el lecho, la materia prima se calienta y va liberando el aceite esencial contenido y éste, a su vez, debido a su alta volatilidad se va evaporando. Al ser soluble en el vapor circundante, es “arrastrado” corriente arriba hacia el tope del hidrodestilador. La mezcla, vapor saturado y aceite esencial, fluye hacia un condensador, mediante un “cuello de cisne” o prolongación curvada del conducto de salida del hidrodestilador. En el condensador, la mezcla es condensada y enfriada, hasta la temperatura ambiental.

A la salida del condensador, se obtiene una emulsión líquida inestable, la cual, es separada en un decantador dinámico. Este equipo está lleno de agua fría al inicio de la operación y el aceite esencial se va acumulando, debido a su casi inmiscibilidad (baja capacidad para disolverse) en el agua y a la diferencia de densidad y viscosidad con el agua.

Destilación por arrastre con vapor de agua o extracción por arrastre, hidrodestilación, hidrodifusión o hidroextracción. Generalmente es llamado destilación por arrastre de vapor, sin embargo, no existe un nombre claro y conciso para definirlo, debido a que se desconoce



Imagen N° 7 Aparato de Clevenger

exactamente lo que sucede en el interior del equipo principal

y porque se usan diferentes condiciones del vapor de agua para el proceso. Es así que, cuando se usa vapor saturado o sobrecalentado, fuera del equipo principal, es llamado “destilación por arrastre de vapor” (Günther, 1948).

Los usos de los aceites esenciales obtenidos por hidrodestilación son amplios orientados a la perfumería; cosmética e Higiene personal ; alimentos y aditivos.



La industria farmacéutica requiere de aceites esenciales libres de terpenos, porque se busca sólo los principios activos farmacológicos de la planta, comúnmente los terpenos y sesquiterpenos oxigenados, para complementar un medicamento.

En el método de extracción con solventes volátiles, la muestra seca y molida se pone en contacto con solventes como alcohol o cloroformo. Estos compuestos solubilizan el aceite esencial, pero también extraen otras sustancias como grasas y ceras, obteniéndose al final una esencia impura. Se utiliza a escala de laboratorio, pues a nivel industrial resulta costoso por el alto valor comercial de los solventes y porque se obtienen esencias mezcladas con otras sustancias.

En el método de enflorado, el material vegetal (generalmente flores) se pone en contacto con una grasa. La esencia es solubilizada en la grasa que actúa como vehículo extractor. posteriormente por otros medios físico-químicos se separa la grasa del aceite . En general se recurre al agregado de alcohol



Imagen N° 8

caliente a la mezcla y su posterior enfriamiento para separar la grasa (insoluble) y el extracto aromático (absoluto). Esta técnica es empleada para la obtención de esencias florales (rosa, jazmín, azahar, etc.), pero su bajo rendimiento y la difícil separación del aceite extractor la hacen costosa.

El método de extracción con fluidos supercríticos, es de desarrollo más reciente. El material vegetal cortado en trozos pequeños, licuado o molido, se empaca en una cámara de acero inoxidable y se hace circular a través de la muestra un fluido en estado supercrítico (por ejemplo CO₂). Las esencias son así solubilizadas y arrastradas mientras que el fluido supercrítico, que actúa como solvente extractor, se elimina por descompresión.



Imagen N° 9



Las desventajas radican en la incapacidad de usar los resultados obtenidos para un escalado, porque el material vegetal no forma un lecho fijo, sino está en contacto permanente con el agua; lo cual, no responde al tipo de hidrodestilación industrial empleado comúnmente.

El hecho de estar molido, genera que el aceite se encuentre disponible para su vaporización y “arrastre”, lo cual no ocurre a mayores escalas. El tiempo de extracción es muy largo comparado con el usado industrialmente, porque se busca agotar todo el aceite contenido en la planta y no sirve para establecer el tiempo óptimo de operación.

Existen otros equipos a esta escala, basados en una miniaturización de los equipos piloto, donde el material vegetal forma un lecho fijo, en una columna de vidrio y el vapor de agua es alimentado continuamente desde un matraz redondo inferior calentado constantemente, que funciona como un generador.

Sus limitaciones son el uso de materia prima molida; el flujo del vapor condensado a contracorriente en la columna, que lleva consigo compuestos hidrosolubles y que generan una recirculación indeseable, ya que se pueden degradar estos compuestos y afectar la calidad del aceite obtenido; y la dependencia del flujo de vapor generado con la potencia de la fuente de energía, lo que le resta flexibilidad en el control de este parámetro.

3. CROMATOGRAFIA⁽⁶⁾

La cromatografía es un método físico de separación para la caracterización de mezclas complejas, la cual tiene aplicación en todas las ramas de la ciencia. Es un conjunto de técnicas basadas en el principio de retención selectiva, cuyo objetivo es separar los distintos componentes de una mezcla, permitiendo identificar y determinar las cantidades de dichos componentes. Diferencias sutiles en el coeficiente de partición de los compuestos da como resultado una retención diferencial sobre la fase estacionaria y por tanto una separación efectiva en función de los tiempos de retención de cada componente de la mezcla.



La cromatografía puede cumplir dos funciones básicas que no se excluyen mutuamente:

- Separar los componentes de la mezcla, para obtenerlos más puros y que puedan ser usados posteriormente (etapa final de muchas síntesis).
- Medir la proporción de los componentes de la mezcla (finalidad analítica). En este caso, las cantidades de material empleadas son pequeñas.

3.1 CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA ⁽⁶⁾

Historia

La evolución de la cromatografía en los últimos 100 años se ha caracterizado por una serie de hitos importantes, cada uno anunciando el comienzo de una rama importante.²⁸

La cromatografía de adsorción, descubierta por el botánico ruso Michael Tswett en 1903 apropiada principalmente para la separación de sustancias lipófilas, quien encontró que los pigmentos vegetales podían separarse, a través de una columna de carbonato cálcico, observando que en ésta se formaban zonas amarillas y verdes, sin embargo permaneció ignorada hasta el año 1931.

La técnica del TLC se utilizó por primera vez de 1937 a 1938 en el Instituto Experimental de Farmacia de la Universidad Estatal de Kharkov, Ucrania, por Nikolai A. Izmailov, el joven director de este instituto, y María S. Shraiber, su estudiante graduado.

En 1941 Martin y Synge desarrollaron la cromatografía de reparto. Utilizando columnas de gel de sílice, al que se había incorporado una determinada cantidad de agua. Siendo un método cromatográfico de separación utilizable para compuestos hidrófilos (albuminoides, polisacáridos y ácidos nucleicos).

Consden, Gordon y Martin sustituyen la sustancia soporte silicagel por tiras de papel y crean la cromatografía de papel. Luego la cromatografía en capa fina (TLC) sustituyó prácticamente cromatografía en papel como una de las técnicas cromatográficas más populares de rutina.



Meinhard y Hall de la Universidad de Wisconsin utilizaron un aglutinante (almidón de maíz) para mantener el revestimiento sobre la placa de vidrio y añadieron una pequeña cantidad de polvo de celite a las partículas adsorbentes para mejorar la consistencia de la capa para el mejor desarrollo de TLC.

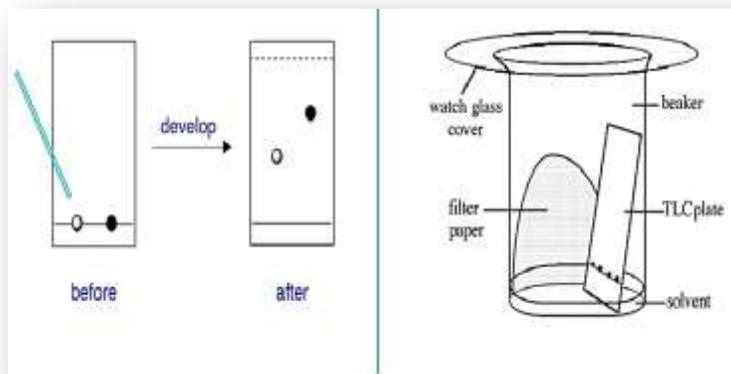


Figura N° 11 Cromatografía en capa fina

En 1951 Justo G. Kirchner comenzó la era moderna de TLC en el Departamento de Agricultura de Estados Unidos y el Laboratorio de Frutas Verduras en el sur de California. Recubriendo una capa de ácido silícico (utilizando almidón como aglutinante) en tiras de vidrio, desarrollo placas en modo ascendente.

En esta técnica, las placas manchadas se colocaban en una cámara cerrada, sumergiendo un lado de la placa en el disolvente (la fase móvil) para luego ascender a través de la acción capilar llevando con ella los componentes de la muestra que se separan durante su paso en el plato, a diferencia de sus predecesores que añadían sólo una gota de disolvente para el desarrollo.

3.2 Tipos de Cromatografía de capa fina⁽⁷⁾

1. Descendente: Aquí la fase móvil está presente en la parte superior, se trata de una caja saturada de vapor de agua, atravesada por un cajetín semicilíndrico lleno con el solvente orgánico. Para sujetar el papel introducimos una varilla a lo largo de la caja.
2. El solvente comenzará descendiendo pasando por la zona de muestra y arrastrándola, consiguiéndose así la separación.
3. Ascendente: El solvente se encuentra en la parte inferior de la cubeta y asciende por el papel haciendo que se separe la muestra.



Figura N° 12 Cromatografía ascendente utilizada en el experimento

4. Radial: También es llamado como cromatografía Circular, aquí se toma un papel de filtro circular y la muestra se administra en el centro del papel. Después de secar la mancha el papel de filtro se ata horizontalmente sobre una placa de Petri que contiene disolvente. Así que la mecha del papel se sumerge dentro del solvente. El disolvente se eleva a través de la mecha y el componente se separan en forma de concentrado zona circular.

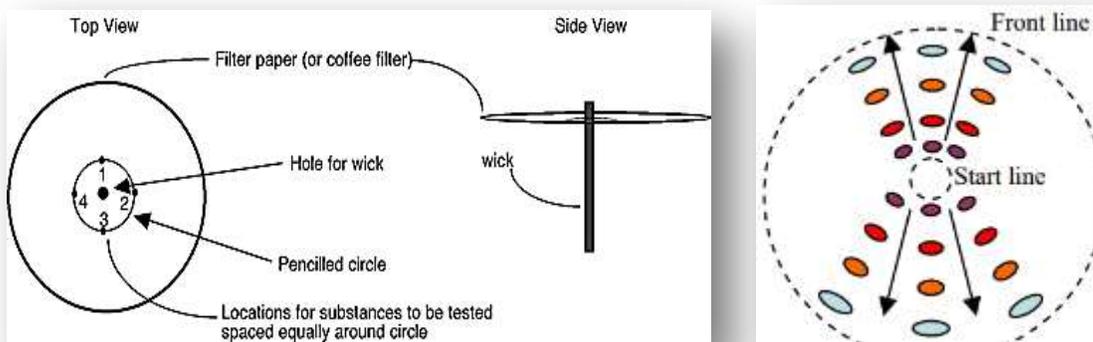


Figura N° 13 Cromatografía Radial

5. Cromatografía bidimensional se refiere al proceso cromatográfico que hace que los componentes migren primero en una dirección y luego en otra perpendicular a ella; las dos eluciones se llevan a cabo con eluyentes diferentes.

La **cromatografía en capa fina (CCF)** es una técnica cromatográfica que se utiliza en la valoración cualitativamente de los quimiotipos presentes en las especies de estudio.



La fase estacionaria es una capa uniforme de un absorbente mantenido sobre una placa, la cual puede ser de vidrio, aluminio u otro soporte. En cromatografía en capa fina se utiliza una placa cromatográfica inmersa verticalmente; La placa cromatográfica consiste en una fase estacionaria polar (comúnmente se utiliza sílica gel) adherida a una superficie sólida. Para realizar la CCF, se debe apoyar la placa cromatográfica sobre algún recipiente o cámara que contenga la fase líquida de aproximadamente 1 cm (la distancia entre el principio de la placa y la muestra que se desea analizar).



Imagen N° 14 Cromatografía en capa fina

- Los productos a examinar se disolverán, cuando sea posible, en un disolvente orgánico que tenga un punto de ebullición lo suficientemente bajo para que se evapore después de la aplicación, lo más común es usar acetona. Frecuentemente se emplean disoluciones al 1 %, de manera que al aplicar 2 ml resulta en la carga 20 mg de producto sólido. Muchos reactivos de revelado llegan a detectar 0.1 mg de material; por esto con esta carga puede llegarse a observar un 5 % de impurezas.
- Una vez colocado el toque se deja secar para evaporar el disolvente, de forma que en la placa solo quedará la muestra a analizar. Se anota en el cuaderno, no solamente en empleado, sino la identidad del eluyente y la relación de los dos, o más que se hayan utilizado.



La cromatografía en capa fina presenta una serie de ventajas frente a otros métodos cromatográficos (en columna, en papel, en fase gaseosa) ya que el utillaje que precisa es más simple. El tiempo que se necesita para conseguir las separaciones es mucho menor y la separación es generalmente mejor. Pueden usarse reveladores corrosivos, que sobre papel destruirían el cromatograma. El método es simple y los resultados son fácilmente reproducibles, lo que hace que sea un método adecuado para fines analíticos.

3.3 Determinación de R_f en cromatografía capa fina⁽⁷⁾

La retención se puede explicar en base a la competencia que se establece entre el soluto a separar y la fase móvil por adsorberse a los centros activos polares de la fase estacionaria. Así, las moléculas de soluto se encuentran adsorbidas en la fase estacionaria y a medida que se produce la elución van siendo desplazadas por la fase móvil.

La retención y la selectividad en la separación dependen de los valores respectivos de las constantes de los diferentes equilibrios químicos que tienen lugar, que están en función de:

- La polaridad del compuesto, determinada por el número y naturaleza de los grupos funcionales presentes. Los solutos más polares quedarán más retenidos puesto que se adsorben más firmemente a los centros activos de la fase estacionaria, mientras que los no polares se eluirán con mayor facilidad.
- Naturaleza del disolvente. Así, para un mismo compuesto, un aumento en la polaridad del disolvente facilita su desplazamiento en la placa.

La relación entre las distancias recorridas por el soluto y por el eluyente desde el origen de la placa se conoce como R_f , y tiene un valor constante para cada compuesto en unas condiciones cromatográficas determinadas (adsorbente, disolvente, tamaño de la cubeta, temperatura, etc.). Debido a que es prácticamente imposible reproducir exactamente las condiciones experimentales, la comparación de una muestra con otra debe realizarse eluyendo ambas en la misma placa.



Para calcular el Rf se aplica la siguiente expresión:

$R_f = \text{distancia recorrida por el compuesto (X)} / \text{distancia recorrida por el eluyente (Y)}$.

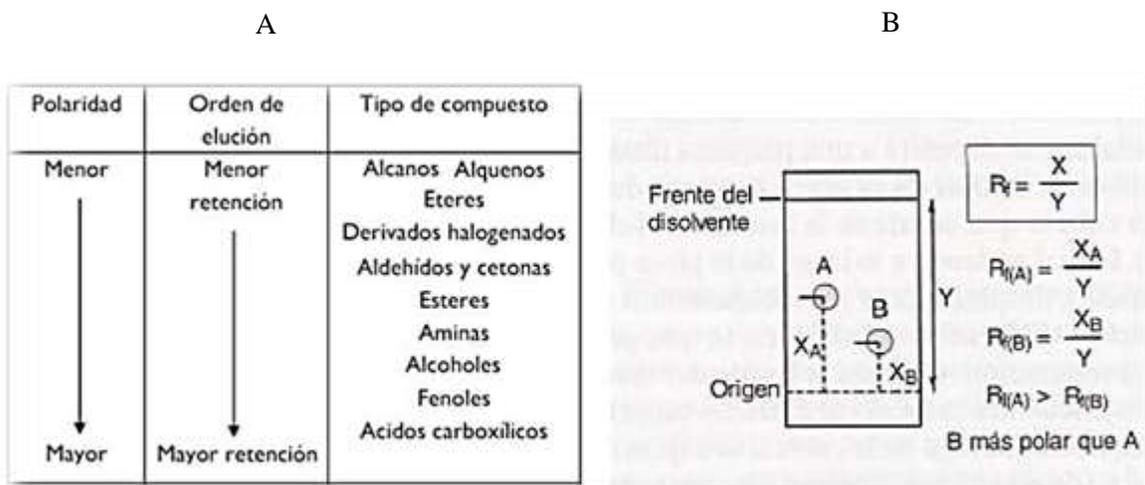


Imagen N° 15

4.DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA ⁽⁸⁾

GENERO PECTIS

Pectis es un género de plantas fanerógamas perteneciente a la familia de las asteráceas. Comprende 208 especies descritas y de estas, solo 84 aceptadas. Son nativos de las Américas incluido el Caribe.



Imagen N°16

4.1 Descripción ⁽⁸⁾

Son hierbas anuales o perennes, a veces con olor fuerte, glabras a cortamente pubescentes. Hojas opuestas, simples, angostas, proximalmente setoso-ciliadas, de otro modo enteras, punteadas en el envés con glándulas pelúcidas; sésiles.

Capitulescencias de capítulos solitarios o cimbras de pocas a muchas flores; capítulos radiados; involucros cilíndricos a campanulados; filarias 3–13 (raramente más), en 1 serie, libres, quilla endurecida en la porción proximal, en general con margen angosto, hialino, punteado-



glandulares; flósculos del radio en igual número que filarias e individualmente abrazados por ellas, fértiles, amarillos; flósculos del disco pocos a muchos, fértiles, amarillos; corolas igualmente 5-lobadas o bilabiadas con un labio posterior ancho, 3–4 lobado y un labio anterior angosto, no lobado; anteras proximalmente subcordadas, apéndice distal muy corto, redondeado o emarginado; ramas del estilo muy cortas, densamente papilosas. Aquenios cilíndricos, con costillas redondeadas, casi siempre puberulentos, negruzcos; vilano de escamas, cerdas o aristas bien desarrolladas o reducidas a una corona.

4.2 Taxonomía⁽⁸⁾

El género fue descrito por Carlos Linneo y publicado en *Systema Naturae*, Editio Décima 2: 1189, 1221, 1376. 1759. [1] La especie tipo es: *Pectis linifolia* L.

4.3 Fitoquímica⁽⁸⁾

Los análisis de aceites esenciales de este género revelan un alto porcentaje de citral (84.0%), neral (35.8%) y geranial (48.2%) seguido de limonene (2.7%) y α -pinene (1.9%). Citral fue determinado a ser el mayor componente del aceite esencial, compone arriba del 80 %. La presencia de limonene en el aceite esencial es el responsable de la fragancia a limón.

4.4 Propiedades⁽⁸⁾

El género *Pectis* tiene actividad:

- Larvicida
- Nematicida
- Vasodilatadora

4.5 Usos⁽⁸⁾

En medicina natural es usado para tratar la presión alta, convulsiones, fiebre, problemas estomacales, gripe, dolores de cabeza, dolores de músculos, dolores de articulaciones e inflamaciones, cáncer, infecciones de hongos, etc.

También se ha utilizado para tratar el colesterol alto, la gastritis y el estrés relacionado a la tensión nerviosa. Adicionalmente es un efectivo repelente de insectos.

Su efectividad en estudios de laboratorio sugiere que puede tener beneficios en algunas de estas enfermedades, pero no existe evidencia contundente para asegurar el mismo.



5. *Cymbopogon citratus* (Zacate de limón) ⁽⁹⁾

5.1 Descripción

Es una planta herbácea, perenne, aromática y robusta que se propaga por esquejes y pertenece a la familia de las Gramíneas. Las flores se reúnen en espiguillas de 30-60 cm de longitud formando racimos. Las hojas son muy aromáticas y alargadas como listones, ásperas, de color verde claro que brotan desde el suelo formando matas densas. Las flores están agrupadas en espigas y se ven dobladas al igual que las hojas.



Imagen N°17

5.2 Taxonomía ⁽⁹⁾

Cymbopogon citratus fue descrita por (DC.) Stapf y publicado en *Bulletin of Miscellaneous Information Kew 1906: 322, 357. 1906.2.* *Cymbopogon citratus* es una de las plantas medicinales que se usa durante siglos como principal recurso para prevenir o atajar las enfermedades del hombre. Actualmente se vende sus hojas molidas y secas en sobres de papel auto filtrante como té, así como también se extrae aceite de esta planta para problemas digestivos y nerviosos. De acuerdo al lugar y país se conoce por diferentes nombres (té de limón, pasto de limón, limoncillo, lemongrass, pasto citronella, zacate de limón, hierbalimón, yerbalimón, malojillo, limonaria, cedrón pasto, hierba luisa (Perú).

Es un género de plantas de la familia de las *Poaceas*, con cerca de 55 especies originarias de las regiones cálidas y tropicales de Asia es un tipo de pasto perenne. Se conoce como yerbalimón en Panamá, hierba luisa en Perú, Chile, Ecuador y Bolivia, limonaria o cedrón en Colombia, paja cedrón en Bolivia, mal ojillo o malojillo en Venezuela, y zacate limón en Honduras, El Salvador, Costa Rica, Nicaragua y México.

En República Dominicana se llama limoncillo, en el Noroeste Argentino se lo denomina cedrón pasto. En la parte occidental de Cuba le llaman caña santa y en la parte oriental limoncillo o yerba de calentura. En Paraguay Cedrón Kapi-í, forma parte de uno de los yuyos más populares.



5.3 Fitoquímica⁽⁹⁾

Las hemicelulosas y los polisacáridos de pectinas de la pared celular primaria de los pastos son muy diferentes de los de las demás espermatofitas, tanto en estructura como en las particularidades de la composición de los xiloglucanos. Los polisacáridos son menos ramificados que en todas las demás familias de plantas, si bien esta afirmación está basada en un muestreo todavía escaso de especies. Las poáceas pueden ser cianogénicas o no. Cuando son cianogénicas, los compuestos cianogénicos son derivados de la tirosina. Pueden presentar alcaloides (a veces isoquinolina, pirrolizidina e indol). Raramente puede haber proantocianidinas y cianidinas, en cantidades traza, y sólo en representantes de las subfamilias *Panicoideae* y *Chloridoideae*.

Los flavonoides se han hallado sólo en algunos géneros, *Bouteloua Glyceria* y *Melica*, cuando están presentes son quercetina, o kaempferol junto con quercetina. El ácido elágico y la arbutina no se han encontrado en ningún miembro de la familia. Raramente se encuentran saponinas³ y saponinas, así como también oxalatos libres (por ejemplo en *Setaria*).

5.4 Propiedades⁽⁹⁾

- De ella se obtiene el aceite esencial denominado Citronela .
- Es carminativo, digestivo y para el tratamiento de flatulencia.
- En infusión se utiliza como tónico aromático y febrífugo.
- Es muy usado como repelente de insectos, particularmente mosquitos
- Pese a este efecto, es por contra, atrayente de las abejas, por lo que se utiliza para recuperar enjambres.
- Tiene efecto conservante sobre algunos alimentos.

Los componentes activos principales de su extracto, geraniol y citronelol, son antisépticos y le confieren propiedades fungistáticas e incluso bactericidas.

La hierba limón crece en climas templados y cálidos. Requiere para su crecimiento la presencia de luz. Resiste a las severidades del invierno, ya que soporta lluvias pero no en exceso. No tolera las nieblas.



La cantidad de aceite esencial de planta varía de mes en mes en el año, siendo los meses de junio, julio y agosto los que más aceite esencial produce la planta. Esto se debe principalmente a que el calor y el sol de estos meses hacen que la planta acumule más aceite esencial, mientras que en épocas más húmedas el rendimiento de aceite disminuye.

5.5 Usos⁽⁹⁾

Se usa en la cocina asiática, especialmente en la de Tailandia.

Científicos de la Universidad de Kyoto, Japón, concluyeron que el aceite esencial de *Cymbopogon citratus* demostró plenamente su efectividad contra la bacteria *Helicobacter pylori*, sin que dicha bacteria presentase resistencia al tratamiento con este aceite esencial.

Las partes usadas del zacate de limón en Nicaragua por sus propiedades medicinales son las hojas. Las hojas presentan propiedades digestivas, antiinflamatorias faríngea, sedantes, antiespasmódica, antiácida y antipirética. La decocción o la infusión y el aceite esencial de hierba de limón se usan en caso de afecciones gastrointestinales como la diarrea, vómito y respiratorios como el asma y bronquitis. Ingerido en forma de té, hecho de las hojas secas o frescas del mismo utilizado en países africanos y en Latino América.

6. *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) ⁽¹⁰⁾

6.1 Descripción:

El Eucalipto o Eucaliptus (*Eucalyptus*) L'Hér. (del latín *eucalyptus* y este del griego εὐκάλυπτος que significa «bien cubierto» refiriéndose a la semilla en su cápsula) es un género de árboles (y algunos arbustos) de la familia de las mirtáceas. Existen alrededor de 700 especies, la mayoría oriundas de Australia.



Imagen N° 18

En la actualidad se encuentran distribuidos por gran parte del mundo y debido a su rápido crecimiento frecuentemente se emplean en plantaciones forestales para la industria papelera, maderera o para la obtención de productos químicos, además de su valor ornamental.



6.1.1 Hojas ⁽¹⁰⁾

Las hojas jóvenes de los eucaliptos son sésiles, ovaladas, grisáceas y de forma falciforme. Estas se alargan y se tornan de un color verde azulado brillante de adultas;⁵ contienen un aceite esencial, de característico olor balsámico, que es un poderoso desinfectante natural. En aromaterapia se emplea por la parte emocional como un estimulante con efecto despejante, y por la parte física como antiviral, expectorante y nasal.

6.2 Propiedades. ⁽¹⁰⁾

- Las hojas son anticatarrales, balsámicas y expectorantes.
- Tiene poder antiséptico además de febrífugo.
- Reduce los niveles de azúcar en el plasma sanguíneo.
- Por su poder antiséptico y su agradable aroma se usa en multitud de preparados industriales para combatir los resfriados.

6.3 Taxonomía ⁽¹⁰⁾

El *Eucalyptus globulus* lo describió por primera vez el botánico francés Jacques Labillardière en sus publicaciones *Relation du Voyage à la Recherche de la Pérouse* (1800) y *Novae Hollandiae Plantarum Specimen* (1804). El autor recogió este y otros especímenes en la Bahía de la Recherche durante la expedición de d'Entrecasteaux en el año 1792.

6.4 Fitoquímica: ⁽¹⁰⁾

Los componentes mayoritarios del aceite esencial de Eucalipto son α -pineno, β -pinene, α -felandreno, 1,8-cineol, limoneno, terpen-4-ol, y globulol.

6.5 Usos ⁽¹⁰⁾

El aceite esencial de las hojas de eucalipto es usado como descongestionante y para combatir infecciones respiratorias. Se utiliza en forma de ungüento, en pastillas, caramelos inhalantes, infusiones, jarabes o en vaporizaciones. El aceite se usa de forma tópica como tratamiento para dolores musculares y de articulaciones, así como para tratar el herpes labial. También sirve como repelente de mosquitos natural, En Nicaragua también lo utilizan molido como desparasitante para los niños.



7. DISEÑO METODOLÓGICO

1. **Tipo de estudio:** Experimental
2. **Universo:** Especies de plantas medicinales Zacate limón , Naranja, Eucalipto, Limón, Orégano que contienen los quimiotipos citral y 1,8-cineol
3. **Muestra:** *Pectis capillaris*.
4. **Área de Estudio:** Laboratorio de farmacognosia de la facultad de ciencias químicas de la universidad nacional autónoma de Nicaragua. Laboratorio de control de calidad Laboratorios ISNAYA.
5. **Unidad de Análisis:** Aceite esencial de *Pectis capillaris*.
6. **Variables de Estudio :** -Quimiotipo
 - Constante dieléctrica
 - Constante rf
 - Análisis de variable F

7. Operacionalización de variables

Operacionalización de variables

Variable	Definición	Escala de medición
Quimiotipo	El quimiotipo es una forma de clasificación química, biológica y botánica sobre todo de los aceites que hay en una planta y que designa la molécula con mayor presencia en dicho aceite o aceite esencial puro y permite definirlo terapéuticamente de forma clara y segura.	Cualitativa nominal
Constante dieléctrica	También conocida bajo el nombre de permitividad relativa, es cuando nos referimos a un medio de tipo continuo y hace referencia a una propiedad de tipo macroscópica de un medio que es dieléctrico, es decir, que no posee conductividad eléctrica.	Cuantitativa
Constante rf	Medida de hasta qué punto se le permite viajar el disolvente, donde los valores se calculan en relación con el grado de movimiento del disolvente.	cm



Varianza f	Es una herramienta estadística que utiliza las varianzas de las medias para determinar si son diferente comparándolas entre los grupos y las varianzas dentro de los grupos, como una manera de demostrar si los grupos son todos parte de una población mas grande o poblaciones separadas con características diferente.	Cuantitativa
-------------------	--	--------------

8. Procedimiento

8.1 Recolección de la muestra: El corte o poda del material vegetal se realizó por la mañana evitando contaminantes, evitando también procesar la planta con raíz, se etiqueto y se traslado el material al lugar de procesamiento de las muestras. El lugar geográfico de recolección fue en la parte noreste de Nicaragua en el departamento de Estelí.

8.2 Identificación del material vegetal: La muestra se trasladó al centro de investigación Herbario UNAN-León para su clasificación taxonómica.

8.3 Secado de la muestra: El secado de la muestra se hizo en un horno a una temperatura entre los 45-50°C corroborando que el peso del material sea constante.

8.4 Molienda: Para la trituración y molienda fue preciso tener el material completamente seco, para este proceso se requiere de un molino convencional. En el laboratorio de Farmacia Industrial se utilizó un molino de cuchilla Thomas-WILEY. Modelo 4.

8.5 Obtención del aceite (extracción) ⁽¹¹⁾:

8.5.1 Se utiliza un aparato perfectamente limpio.

8.5.2 Se realiza la valoración de acuerdo al siguiente procedimiento: Se toma un matraz de 500 ml y se le añaden 200 ml de agua destilada, luego se coloca en balanza analítica.

8.5.3 Se agrega el contenido de 20 g de las muestras de estudio (zacate de limón y *pectis capllaris*) y se toma el peso, luego se agita vigorosamente para lograr cierta disolución.



- 8.5.4 Se coloca en el balón el peso prescrito del zacate de limón y la *Pectis capillaris* y se añaden algunos trozos de porcelana porosa para aumentar la ebullición. Colocando a continuación el conjunto refrigerante (condensador).
- 8.5.5 Se introduce agua a través del embudo N, hasta que alcance el nivel B.
- 8.5.6 Se quita el tapón K y se introduce la cantidad prescrita de xileno R, usando una pipeta cuyo extremo contacte con la porción inferior del tubo K.
- 8.5.7 Se coloca de nuevo el tapón K asegurándose que el orificio coincida con la ranura.
- 8.5.8 Se calienta a ebullición el líquido del matraz, ajustando la velocidad de destilación entre 2 ml y 3 ml por minuto, salvo que se haya prescrito otra cosa. Para determinar la velocidad de destilación se baja el nivel del agua, mediante la llave de tres vías, hasta que el menisco esté al nivel de la señal J.
- 8.5.9 Se cierra la llave y se mide el tiempo que tarda en llenarse el tubo hasta la marca H.
- 8.5.10 Se abre la llave y se continúa la destilación, modificando el calor para regular la velocidad de destilación.
- 8.5.11 Se mantiene la destilación durante el tiempo prescrito.
- 8.5.12 Se interrumpe la calefacción y después de al menos 10 minutos se lee el volumen de xileno en el tubo graduado, se introduce en el matraz la cantidad prescrita del jarabe y se continúa la destilación tal como se describió anteriormente durante el tiempo y la velocidad prescritos.
- 8.5.13 Después de otros 10 min. Se lee el volumen de líquido recogido en el tubo graduado, restándose el volumen de xileno anotado anteriormente. Esta diferencia representa la cantidad de aceite esencial en la muestra ensayada.
- 8.5.14 Se calcula el resultado, expresándolo en mililitros por 100 g de muestra (zacate de limón y *Pectis capillaris*).



9. Extracción destilación con arrastre de vapor de agua⁽¹¹⁾

- 9.1 El equipo de destilación PYREX debe estar perfectamente limpio.
- 9.2 Se realiza la valoración de acuerdo al siguiente procedimiento: Se toma un matraz de 500 ml y se le añaden 200 ml de agua destilada.
- 9.3 Se agrega el contenido de 40 g de las muestras de estudio (*pectis capillaris*), luego se agita vigorosamente para lograr cierta disolución y se coloca en el balón el peso prescrito.
- 9.4 Colocando a continuación el conjunto refrigerante (baño de agua fría) en una pana debajo de la fiola donde se extrajo el aceite.
- 9.5 Se introduce agua a través de una manguera al embudo N, hasta que alcance el nivel B y se coloca la manguera de salida de agua del embudo.
- 9.6 Se calienta a ebullición el líquido del matraz a una temperatura entre 80-100 °C, se mantiene la destilación durante el tiempo prescrito.
- 9.7 Se lee el volumen de líquido recogido en el tubo graduado.

10. Maceración⁽¹²⁾:

Se pesó 20 gr de la muestra *Pectis capillaris* que se transfirieron a un beker de 250 se le adicionó 50 ml de tolueno y se colocó en una cocina eléctrica a una temperatura de 45°C con agitación constante durante 30 minutos se dejó enfriar, luego se filtró y se transfirió a un embase ámbar.

11. Evaluación de solventes en TLC para la identificación de compuestos citral y 1-8 cineol⁽¹³⁾

- 11.1 Se procedió a realizar mezclas de solventes para valorar la mejor fase móvil y evaluar Fase estacionaria de tolueno : acetato de etilo para la valoración de citral y 1,8-cineol utilizando placas de gel de sílice 60 F254
 - a. Fase móvil: tolueno: acetato de etilo (1:9)
 - b. Fase móvil : tolueno: acetato de etilo (1:1)
 - c. Fase móvil: tolueno: acetato de etilo (9:1)



11.2 Preparación de la fase móvil:

Se midieron 10 ml de tolueno y 90 ml de acetato de etilo se colocaron en una fiola se adiciona 20 ml a una cámara cromatográfica de 10 X 5 y se dejó reposar.

11.3 Preparación de la placa y cámara cromatográfica:

Se cortó una placa con las dimensiones correspondiente: 6 cm de ancho y 5cm de alto se dibujó una línea ténue con grafito N°2 a 1 cm del margen inferior de la placa.

11.4 Aplicación de la muestra y estándar:

- ✓ Con capilares de 10 μ l se adiciona aceite de *Pectis capillaris*, 10 μ l de aceite de *Cymbopogon citratus* y *Eucaliptus globulus* por separado sobre la placa (toque) .
- ✓ Se proceden a secar las manchas de siembra con pistola de aire seco.
- ✓ Se toman capilares de 10 μ l para aplicar aceite de referencia de los estándares del citral, 1,8-cineol por separado ,para realizar el toque.
- ✓ Se proceden a secar las manchas de siembra con pistola de aire seco.

11.5 Realización de la cromatografía de capa fina:

- ✓ Se coloco la placas dentro de la cámara cromatografía se dejó correr la fase móvil hasta la altura de 1cm del margen superior de las placas.
- ✓ Posterior al recorrido se calienta la placa a una cocina eléctrica a una temperatura de 110°C por 5 minutos para la activación de la fluoresceína

11.6 Preparación del reactivo revelador de vainillina:

11.6.1 Procedimiento 1

Se disolvieron los 5gr de vainillina en los 90ml de etanol.

Por separado se hizo una dilución del ácido sulfúrico al 10%.

11.6.2 Aplicación del reactivo revelador sobre las placas

Se rociaron las placas con la disolución de la vainillina seguidamente se roció con la dilución de ácido sulfúrico al 10%. Se colocaron en una cocina eléctrica a una temperatura de 100°C por 10 minutos.



11.7 Calcular Rf de cada punto recorrido en la placa

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por la muestra desde el origen}}{\text{Distancia recorrida por el eluyente desde el origen}}$$

12. Evaluación de aceites obtenidos de *Pectis capillaris* y *Cymbopogon citratus* ⁽¹³⁾

12.1 Se procedió a realizar la mezclas de solventes de la Fase móvil de tolueno : acetato de etilo para la valoración de citral y 1-8 cineol utilizando placas de gel de sílice 60 F254

Fase móvil: tolueno: acetato de etilo (1:1)

12.2 Preparación de la fase móvil:

Se midieron 50ml de tolueno y 50 ml de acetato de etilo se colocaron en una fiola se adiciona 20 ml a una cámara cromatográfica de 10X5 y se dejó reposar.

12.3 Preparación de la placa y cámara cromatográfica:

Se cortó una placa con las dimensiones correspondiente: 6cm de ancho y 5cm de alto se dibujó una línea tenue con grafito N°2 a 1 cm del margen inferior de la placa

12.4 Aplicación de la muestra y estándar:

- ✓ Con capilares de 10 µl se adiciona aceite de *Pectis capillaris*, 10 µl de aceite de *Cymbopogon citratus* y *Eucaliptus globulus* por separado sobre la placa (toque).
- ✓ Se proceden a secar las manchas de siembra con pistola de aire seco.
- ✓ Se toman capilares de 10 µl para aplicar aceite de referencia de los estándares del citral, 1,8-cineol por separado ,para realizar el toque.
- ✓ Se proceden a secar las manchas de siembra con pistola de aire seco.

12.5 Realización de la cromatografía de capa fina:

- ✓ Se coloco la placas dentro de la cámara cromatografía se dejó correr la fase móvil hasta la altura de 1cm del margen superior de las placas.
- ✓ Posterior al recorrido se calienta la placa a una cocina eléctrica a una temperatura de 110°C por 5 minutos para la activación de la fluoresceína



12.6 Preparación del reactivo revelador de vainillina:

12.7 Reactivos:

- 5gr de vainillina
- 10ml de ácido Sulfúrico.
- 90ml de etanol.

12.8 Procedimiento 1

Se disolvieron los 5gr de vainillina en los 90ml de etanol.

Por separado se hizo una dilución del ácido sulfúrico al 10%.

12.9 Aplicación del reactivo revelador sobre las placas: Se rociaron las placas primeramente con la disolución de la vainillina seguidamente se roció con la dilución de ácido sulfúrico al 10%. Se colocaron en una cocina eléctrica a una temperatura de 100°C por 10 minutos.

12.10 Calcular Rf de cada punto recorrido en la placa

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por la muestra desde el origen}}{\text{Distancia recorrida por el eluyente desde el origen}}$$

13. Evaluación de extractos obtenidos de *Pectis capillaris* y *Cymbopogon citratus* ⁽¹³⁾

13.1 Se procede a preparar la Fase móvil tolueno : acetato de etilo para la valoración de citral y 1-8 cineol utilizando placas de gel de sílice 60 F254 Fase móvil: tolueno: acetato de etilo (9:1)

13.2 Preparación de la fase móvil:

Se midieron 90ml de tolueno y 10 ml de acetato de etilo se colocaron en una fiola se adiciona 20 ml a una cámara cromatográfica de 10x5 y se dejó reposar.

13.3 Preparación de la placa y cámara cromatográfica:

Se cortó una placa con las dimensiones correspondiente: 6cm de ancho y 5cm de alto se dibujó una línea tenue con grafito N°2 a 1 cm del margen inferior de la placa

13.4 Aplicación de la muestra y estándar:

- ✓ Con capilares de 10 µl se adiciona extracto de *Pectis capillaris*, *Eucaliptus globulus* y 10 µl de extracto de *Cymbopogon citratus* por separado sobre la placa (toque) ,
- ✓ Se proceden a secar las manchas de siembra con pistola de aire seco.



- ✓ Se toman capilares de 10 μ l para aplicar aceite de referencia de los estándares del citral, 1,8-cineol por separado ,para realizar el toque
- ✓ Se proceden a secar las manchas de siembra con pistola de aire seco

13.5 Realización de la cromatografía de capa fina:

- ✓ Se colocó la placas dentro de la cámara cromatografía se dejó correr la fase móvil hasta la altura de 1cm del margen superior de las placas.
- ✓ Posterior al recorrido se calienta la placa a una cocina eléctrica a una temperatura de 110°C por 5 minutos para la activación de la fluoresceína.

13.6 Preparación del reactivo revelador de vainillina:

13.7 Reactivos:

- 5gr de vainillina
- 10ml de ácido Sulfúrico.
- 90ml de etanol

13.8 Procedimiento 1

Se disolvieron los 5gr de vainillina en los 90ml de etanol.

Por separado se hizo una dilución del ácido sulfúrico al 10%.

13.9 Aplicación del reactivo revelador sobre las placas

Se rociaron las placas primeramente con la disolución de la vainillina seguidamente se roció con la dilución de ácido sulfúrico al 10%. Se colocaron en una cocina eléctrica a una temperatura de 100°C por 10 minutos.

13.10 Calcular Rf de cada punto recorrido en la placa

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por la muestra desde el origen}}{\text{Distancia recorrida por el eluyente desde el origen}}$$



14. Procesamiento de datos :

Los valores obtenidos del cálculo de r_f de los diferentes ensayos a diferentes polaridades y relaciones de mezcla de solventes, fueron evaluados para establecer si existen o no diferencias significativas entre los diferentes resultados , por medio de pruebas de análisis de varianza de un factor (ANOVA) en Microsoft Excel estadístico y así obtener criterios sólidos.

15. Material y cristalería utilizados:

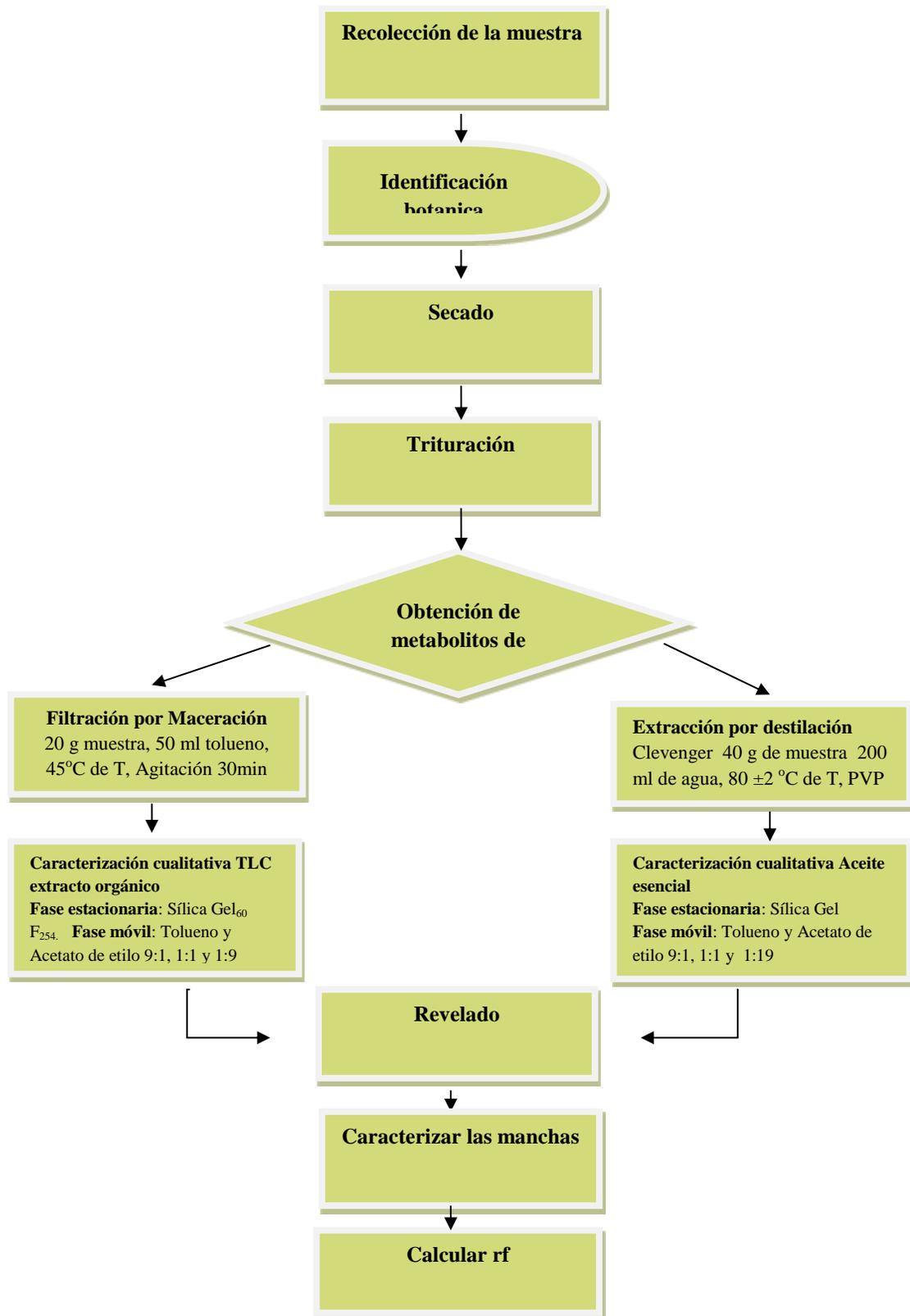
Nombre	Función	Tipo de material	Marca
Aparato de clevenger	Sirve para la extracción de aceites esenciales	Vidrio	Pyrex
Aparato de destilación	Proceso de separación basado en la diferencia de los puntos de ebullición de los componentes de una mezcla.	Vidrio	Pyrex
Balón de base circular 500 ml	Permite contener sustancias así como también para calentar dichos compuestos químicos.	Vidrio	Pyrex
Balanza analítica	Instrumento que sirve para medir la masa, es una clase de balanza utilizada principalmente para medir valores de precisión de lectura desde 0.1 a 0.1mg.	Metálica	Sartorius
Beaker 250ml, 500ml.	Vaso de precipitado, cilíndrico que se utiliza para preparar o calentar sustancias y traspasar líquidos.	Vidrio borosilicado	Pyrex
Cámara cromatografía	Separación para la caracterización de mezclas complejas donde esta debe de contener una fase móvil que consiste en un fluido que es arrastrado a la muestra a través de una fase estacionaria.	Vidrio	Pyrex
Cocina eléctrica	Sirve para calentar sin llama sustancias complejas.	Metálica	Fisher Scientific
Embudo	Se utiliza para el trasvasado de productos químicos de un recipiente a otro, también se utiliza para realizar filtraciones.	Vidrio	Pyrex



Espátula	Se utiliza principalmente para tomar pequeñas cantidades de compuestos o sustancias solidas especialmente granulares.	Metálica	
Fiola	Se utiliza para calentar líquidos cuando hay peligro de perdida por vaporación.	Vidrio	Pyrex
Molino de cuchilla	Sirve para triturar plantas e hiervas que estén completamente secas obteniendo como resultado un polvo fino.	Hierro	Thomas-wiley modelo 4
Placa silica gel	Se le denomina fase estacionaria donde se deposita el material a ensayar con los tubos capilares sobre una línea de referencia y se coloca dentro de la cámara cromatografía con una mezcla de solventes orgánicos (fase móvil).	Sílica-gel	-
Probeta	Tubo de cristal y alargado, cerrado por un extremo usado como recipiente de líquidos el cual tiene como finalidad de medir el volumen de los mismos.	Vidrio	Pyrex
Termómetro	Instrumento utilizado para medir la temperatura con un alto nivel de exactitud.	Vidrio	Fisher Brand
Tubitos capilares	Tubos pequeños y de corta longitud, diámetro interno del tubo es utilizado para demostrar los efectos de la capilaridad.	Vidrio	Pyrex
Varilla de agitación	Fino cilindro de vidrio macizo que se utiliza para mezclar o disolver sustancias con el fin de homogenizar.	Vidrio	Pyrex



15. Esquema de Trabajo





RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

Tabla N° 1 Extracción de aceite esencial citral:

	Volumen de pre-destilación	Volumen de destilación	Volumen de aceite esencial	Peso de la muestra	% de aceite esencial
citral	0.58 ml	0.65 ml	3.5×10^{-3} ml	20 g	0.35
	0.54 ml	0.60 ml	3×10^{-3} ml	20g	0.30
			$X = 3.25 \times 10^{-3}$		$X = 0.325 \%$

Nota: ml: mililitros; g:gramos; X: media de los valores

El presente estudio empleó el procedimiento de destilación por arrastre de vapor con la trampa del aparato de Clevenger y se obtuvo el aceite esencial de la planta *Pectis capillaris*. La tabla N° 1. evidencia los resultados en la determinación del aceite esencial tomando en cuenta el volumen de predestilación y un volumen de destilación, donde se utilizó el peso de 20 g de muestra para cada matraz. Para la obtención del volumen total del aceite esencial se realizó mediante una ecuación matemática.

$$V \text{ aceite esencial} = (V_d - V_{pred}) / \text{muestra} \times 100$$

V_d= Volumen de destilación

V_{pred}= Volumen de predestilación

De lo anterior, los volúmenes obtenidos en ambos balones se promediaron y se obtuvo el porcentaje de aceite esencial en la planta *pectis capillaris* que fue de 0.325%. De acuerdo a referencias bibliográficas el contenido de aceite esencial de especies aromáticas es inferior al 1% en especies de origen tropical, a diferencias de especies aromáticas en Europa cuyos porcentajes pueden oscilar el 5%.



Caracterización Aceite esencial *Pectis capillaris*

Tabla N° 2 Características organolépticas del aceite esencial citral:

Características organolépticas	Resultados
Color	Amarillo ténue
Sabor	Acido
Olor	Cítrico
Apariencia	Líquida
Consistencia	Oleosa

En la extracción del aceite esencial citral de la planta *Pectis capillaris* la Tabla N° 2 evidencia las características organolépticas, recién destilados, siendo las características generales de aceites esenciales de incoloros a ligeramente amarillo, posteriormente pueden sufrir procesos de oxidación y tomarse de otros colores debido a sus constituyentes. En caso del citral tiene un color amarillo ténue, desprendiendo un olor cítrico y sabor ligeramente ácido a picoso ténue, en general es un líquido oleoso a temperatura ambiente.

Caracterización Aceite esencial *Cymbopogon citratus*

Tabla N° 3 Características organolépticas del aceite esencial 1,8-cineol:

Características organolépticas	Resultados
Color	Verde ténue
Sabor	Herbal
Olor	Menta-Trementina
Apariencia	Líquida
Consistencia	Oleosa

En la extracción del aceite esencial 1,8-cineol de la planta *Cymbopogon citratus* la Tabla N° 3 evidencia las características organolépticas, recién destilados, siendo las características generales de aceites esenciales de incoloros a ligeramente amarillo, posteriormente pueden sufrir procesos de oxidación y tomarse de otros colores debido a sus constituyentes. En caso del 1,8-cineol tiene un color verde muy ténue, desprendiendo un olor de menta a trementina y sabor herbal, en general es un líquido oleoso a temperatura ambiente.


Tabla N° 4 Valores de rf de diversas fases móviles en diferentes mezclas utilizadas

VALORES DE rf DIVERSAS MEZCLAS DE FASES MOVILES ENSAYADAS					
Muestra por Destilación	Muestra por Extracción	Muestra por Destilación	Muestra por Extracción	Muestra por Destilación	Muestra por Extracción
FM(A9:B1)	FM(A9:B1)	FM(A1:B1)	FM(A1:B1)	FM(A1:B9)	FM(A1:B9)
0.15	0.15	0.25	0.30	0.45	0.46
0.10	0.13	0.29	0.29	0.4	0.45
0.14	0.14	0.27	0.31	0.43	0.44
0.12	0.12	0.25	0.28	0.42	0.46
0.10	0.14	0.26	0.30	0.4	0.44
X: 0.122 cm	X: 0.136 cm	X: 0.264 cm	X: 0.296 cm	X: 0.42 cm	X: 0.45 cm

Nota: rf: factor de retención ; FM: fase móvil ; A:Tolueno; B:Acetato de Etilo ; X: promedio de los valores ; (1,9): Volúmenes ; cm: centímetros

Tabla N° 4.1 Anova de los factores de retención en diferentes fases móviles (**destilación**) Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
FM A9:B1	5	0.61	0.122	0.00052
FM A1:B1	5	1.32	0.264	0.00028
FM A1:B9	5	2.1	0.42	0.00045

Nota: FM: fase móvil ; A:Tolueno; B:Acetato de Etilo

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.22217333	2	0.11108667	266.60	1.1368E-10	3.885293
Dentro de los grupos	0.005	12	0.00041667			
Total	0.22717333	14				

La presente tabla N°4.1 evidencia los resultados de rf de la fase móvil tolueno: acetato de etilo utilizadas en diferentes proporciones para muestra obtenida por destilación de lo cual se aprecia que el menor recorrido con un promedio de 0.122 cm lo obtuvo la fase móvil Tolueno 9: Acetato etilo 1 existiendo poca afinidad de la muestra por la fase móvil y separación nula de los componentes en función de la polaridad de la mezcla de 2.744 ;



La mezcla de Tolueno 1: Acetato etilo 1 obtuvo un promedio de r_f de 0.264 cm y un valor de polaridad de 4.2 existiendo mejor recorrido de la muestra en afinidad por la fase móvil pero no una adecuada separación. La mezcla Tolueno 1: Acetato etilo 9 muestra mejor recorrido 0.42 cm en función del grado de separación según la afinidad del analito a la fase estacionara con una polaridad de 5.656, la diferencias en cuanto a recorrido y separación son significativas para las fases 1:9 y 1:1 versus la fase 1:9 dado que el valor F calculado es mayor que el F crítico.

Tabla N° 4.2 Anova de los factores de retención en diferentes fases móviles (extracción).

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
FM A 9:B1	5	0.68	0.136	0.00013
FM A1:B1	5	1.48	0.296	0.00013
FM A1:B9	5	2.25	0.45	0.0001

Nota: A:Tolueno; B:Acetato de Etilo

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.24652	2	0.12326	1027.16666	3.83606E-14	3.88529383
Dentro de los grupos	0.00144	12	0.00012			
Total	0.24796	14				

La presente tabla N°4.2 .evidencia los resultados de r_f de la fase móvil tolueno: acetato de etilo utilizadas en diferentes proporciones , para la muestra obtenida por extracción 9:1 de lo cual se aprecia que el menor recorrido con un promedio de 0.136 cm lo obtuvo la fase móvil Tolueno 9: Acetato etilo 1 existiendo poca afinidad de la muestra por la fase móvil y separación nula de los componentes en función de la polaridad de la mezcla de 2.744 ; La mezcla de Tolueno 1: Acetato etilo 1 obtuvo un promedio de r_f de 0.296 cm y un valor de polaridad de 4.2 existiendo mejor recorrido de la muestra en afinidad por la fase móvil pero no una adecuada separación.



La mezcla Tolueno 1: Acetato etilo 9 muestra mejor recorrido en con un promedio de cm en 0.45 función del grado de separación según la afinidad del analito a la fase estacionara con una polaridad de 5.656, la diferencias en cuanto a recorrido y separación son significativas para las fases 1:9 y 1:1 versus la fase 1:9 dado que el valor F calculado es mayor que el F crítico. Se evidencia que el F calculado de destilación 266.608 < que F calculado de extracción 1027.17 de lo anterior se evidencia que el conjunto de datos obtenidos por extracción son más relevantes en virtud de datos mas homogéneos y mejor recorrido obtenido de la muestra a la fase estacionaria.

Tabla N° 5 Grado De Separación de quimiotipos ,citral , 1-8 cineol presentes en la muestra

Numero de ensayo	FM(A9:B1)	FM(A1:B1)	FM(A1:B9)
1	1	3	9
2	1	3	10
3	1	3	9
4	1	3	10
5	1	3	10

Nota: FM= fase móvil ; 1: Separación Nula; 3:Separación Moderada; 10:Separación Efectiva

Tabla N°5.1 Grado de separación de los quimiotipos según la concentración de las fases móviles

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
FM A9:B1	5	5	1	0
FM A1:B1	5	15	3	0
FM A1:B9	5	48	9.6	0.3

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	202.533333	2	101.266667	1012.66667	4.1756E-14	3.88529383
Dentro de los grupos	1.2	12	0.1			
Total	203.733333	14				

Nota: FM: fase móvil; A:Tolueno; B:Acetato de Etilo



La tabla N° 5 evidencia el grado de separación de los compuestos de la muestra ensayada a razón de una separación nula , moderada o efectiva , para lo cual la fase móvil tolueno :acetato de etilo 9:1 mostro en virtud de su polaridad 2.744 mostro una separación nula ; La fase móvil tolueno :acetato de etilo 1:1 mostro en virtud de su polaridad 4.2 una separación moderada ; La fase móvil tolueno :acetato de etilo 1:9 mostro en virtud de su polaridad 5.656 una separación efectiva , de lo anterior se realizo una ANOVA para considerar diferencias significativas estadísticas entre las tres mezclas de la fase móvil ensayadas , mostrando claramente diferencias significativas entre ellas a razón del F calculado es mayor que el F crítico $1012.66667 > 3.885293$.

Tabla N° 6 Coeficiente de correlación de las fases móviles

FM(A9:B1) ϵ 2.744	FM(A1:B9) ϵ 5.656	FM(A1:B1) ϵ 4.2	FM(A1:B9) ϵ 5.656
0.15	0.45	0.25	0.45
0.1	0.4	0.29	0.4
0.14	0.43	0.27	0.43
0.12	0.42	0.25	0.42
0.1	0.4	0.26	0.4
=-0.981941649		=-0.56343617	

Nota: FM= fase móvil; ϵ = constante dieléctrica; A:Tolueno; B:Acetato de Etilo

Los valores de los coeficientes de correlación de las mezclas de tolueno , acetato de etilo ensayadas evidencian que son inversamente proporcionales a sus polaridades siendo que la Fase móvil 9 tolueno:1Acetato de etilo mostro una constante dieléctrica de 2.744 vs la Fase móvil 1 tolueno: 9 Acetato de etilo que muestra un valor de 5.656 con un coeficiente de correlación de 0.9819 , tendencia a 1 , mostrando una mayor afinidad por el volumen del solvente tolueno que por la polaridad de la mezcla , siendo que el valor eléctrico del tolueno individual es 2.38 ; Para el caso de la Fase móvil 1 tolueno: 1 Acetato de etilo vs Fase móvil 1 tolueno: 9 Acetato de etilo el valor del coeficiente muestra una tendencia negativa -0.5634, es decir no existe correlación a razón de que el valor eléctrico individual del acetato de etilo 6.02 es aproximadamente el triple del valor del tolueno, lo anterior no considera la polaridad de la fase estacionaria , únicamente establece la relación de las mezclas y valores individuales de los solventes que lo componen.



Estudio cromatográfico

El estudio cromatográfico de placa nos dio como resultado que en la muestra de la *Pectis capillaris* se encuentran los quimiotipos citral y 1,8- cineol que se comparo con las muestras de eucalipto y zacate de limón con los estándar, dando rf similares por lo tanto contiene los quimiotipos presentes donde se demuestra en la **tabla N°3** determinando a su vez si hay diferencia entre los métodos que se utilizaron (destilación y extracción).

Tabla N° 7 Estudio cromatográfico

Especies	Factor de retención Muestra por destilación			Factor de retención Muestra por extracción		
	Mx (cm)	St. 1,8-cineol (cm)	St. citral (cm)	Mx (cm)	St 1,8-cineol (cm)	St. citral (cm)
<i>Pectis capillaris</i>	0.45		0.46	0.45		0.47
<i>Pectis capillaris</i>	0.42		0.45	0.4		0.45
<i>Pectis capillaris</i>	0.4		0.42	0.43		0.43
<i>Pectis capillaris</i>	0.45		0.43	0.43		0.41
<i>Pectis capillaris</i>	0.41		0.42	0.42		0.41
<i>Pectis capillaris</i>	0.42		0.45	0.4		0.43
<i>Cimbopogon citratus</i>	0.44		0.45	0.4		0.45
<i>Pectis capillaris</i>	0.37	0.35		0.35	0.35	
<i>Pectis capillaris</i>	0.36	0.34		0.34	0.32	
<i>Pectis capillaris</i>	0.35	0.34		0.34	0.35	
<i>Pectis capillaris</i>	0.36	0.33		0.31	0.33	
<i>Pectis capillaris</i>	0.33	0.35		0.33	0.35	
<i>Pectis capillaris</i>	0.34	0.33		0.3	0.32	
<i>Pectis capillaris</i>	0.32	0.32		0.32	0.33	
<i>Eucaliptus globulus</i>	0.36	0.35		0.37	0.36	

Nota: Mx= muestra; st.= estándar ; cm: centímetros



Tabla N° 7.1 Análisis de varianza de un factor para muestra de aceite esencial de *Pectis capillaris* obtenida por destilación, versus aceite de referencia de *Cymbopogon citratus* y estándar del quimiotipo citral

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Muestra de <i>P. capillaris</i>	6	2.55	0.425	0.00043
Estándar citral	6	2.63	0.43833333	0.000296667

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.000533333	1	0.000533333	1.467889908	0.253530465	4.9646027
Dentro de los grupos	0.003633333	10	0.000363333			
Total	0.004166667	11				

Se realizó un análisis de varianza en el método de destilación de la muestra de *Pectis capillaris* Vs. el estándar de citral, el cual dio como resultado que la varianza de los valores de rf obtenidos, no es significativa estadísticamente en cuanto al recorrido de la muestra en comparación a su estándar y muestra de referencia, utilizando placa de sílica gel F₂₅₄ y fase móvil Tolueno 1: Acetato de etilo 9, ya que F calculado < F crítico, 1.47 < 4.96, permitiendo identificar verazmente de forma cualitativa el quimiotipo citral.

Tabla N° 7.2 Análisis de varianza de un factor para muestra de aceite de *Pectis capillaris* obtenida por destilación, versus aceite de referencia de *Eucalyptus globulus* y estándar del quimiotipo 1-8 cineol

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Muestra de <i>P. capillaris</i>	7	2.43	0.34714286	0.00032381
St. 1,8-cineol	7	2.36	0.33714286	0.00012381



ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.00035	1	0.00035	1.563829787	0.234940388	4.74722534
Dentro de los grupos	0.002685714	12	0.00022381			
Total	0.003035714	13				

Se realizó un análisis de varianza en el método de destilación de la muestra de *Pectis capillaris* Vs. el estándar de 1-8 cineol, el cual dio como resultado que la varianza de los valores de rf obtenidos, no es significativa estadísticamente en cuanto al recorrido de la muestra en comparación a su estándar y muestra de referencia, utilizando placa de sílica gel F₂₅₄ y fase móvil Tolueno 1: Acetato de etilo 9, ya que F calculado es menor que F crítico, $1.56 < 4.74$, permitiendo identificar verazmente de forma cualitativa el quimiotipo 1-8 cineol.

Tabla N° 7.3 Análisis de varianza de un factor para muestra de aceite de *Pectis capillaris* obtenida por extracción, versus aceite de referencia de *Cymbopogon citratus* y estándar del quimiotipo citral

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Muestra P. capillaris	6	2.53	0.42166667	0.000376667
St. citral	6	2.6	0.43333333	0.000546667

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.000408333	1	0.00040833	0.884476534	0.369140753	4.9646027
Dentro de los grupos	0.004616667	10	0.00046167			
Total	0.005025	11				



Se realizó un análisis de varianza en el método de extracción de la muestra de *Pectis capillaris* Vs. el estándar de citral, el cual dio como resultado que la varianza de los valores de r_f obtenidos, no es significativa estadísticamente en cuanto al recorrido de la muestra en comparación a su estándar y muestra de referencia, utilizando placa de sílica gel F_{254} y fase móvil Tolueno 1: Acetato de etilo 9, ya que F calculado es menor que F crítico, $0.8844 < 4.9646$, permitiendo identificar verazmente de forma cualitativa el quimiotipo citral

Tabla N° 7.4 Análisis de varianza de un factor para muestra de aceite de *Pectis capillaris* obtenida por extracción, versus aceite de referencia de *Eucalyptus globulus* y estándar del quimiotipo 1-8 Cineol

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Muestra <i>P. capillaris</i>	7	2.29	0.32714286	0.00032381
St. 1,8-cineol	7	2.35	0.33571429	0.000195238

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.000257143	1	0.00025714	0.990825688	0.339189431	4.74722534
Dentro de los grupos	0.003114286	12	0.00025952			
Total	0.003371429	13				

Se realizó un análisis de varianza en el método de extracción de la muestra de *Pectis capillaris* Vs. el estándar de 1-8 cineol, el cual dio como resultado que la varianza de los valores de r_f obtenidos, no es significativa estadísticamente en cuanto al recorrido de la muestra en comparación a su estándar y muestra de referencia, utilizando placa de sílica gel F_{254} y fase móvil Tolueno 1: Acetato de etilo 9, ya que F calculado es menor que F crítico, $0.9908 < 4.7472$, permitiendo identificar verazmente de forma cualitativa el quimiotipo 1-8 cineol.



Tabla N° 7.5 Análisis de varianza de un factor para muestra de aceite de *Pectis capillaris* obtenida por destilación, versus aceite de *Pectis capillaris* obtenida por extracción.

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Mx P. destilación	6	2.55	0.425	0.00043
Mx P. extracción	6	2.53	0.42166667	0.000376667

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	3.33333E-05	1	3.3333E-05	0.082644628	0.779614298	4.9646027
Dentro de los grupos	0.00403333	10	0.00040333			
Total	0.00406666	11				

Se realizó un análisis de varianza en el método de extracción vs el método de destilación de la muestra de *Pectis capillaris* considerando los estándares correspondientes citral y 1-8 cineol, el cual dio como resultado que la varianza de los valores de r_f obtenidos, no es significativa estadísticamente en cuanto al recorrido de la muestra en comparación a su estándar y muestra de referencia, utilizando placa de sílica gel F₂₅₄ y fase móvil Tolueno 1: Acetato de etilo 9, ya que F calculado es menor que F crítico, $0.082644 < 4.9646$.



CONCLUSION

Las mezclas de tolueno acetato de etilo 1:9 evidencio ser la mejor fase móvil , utilizando placas de aluminio de sílica gel 60 F₂₅₄ como fase estacionaria para la identificación cualitativa por cromatografía en capa fina de los quimiotipos citral y 1-8 cineol contenidos en aceite de la especie *Pectis capillaris* obtenido por destilación o bien sea obtenida por maceración acelerada utilizando tolueno como solvente de extracción.

RECOMENDACIONES

- ✓ Es necesario fomentar la investigación de esta especie, que permita transmitir concienciación sobre las ventajas que estos presentan, ya que existe escasas bibliográfica.
- ✓ Dado los resultados alcanzados, es procedente elaborar una guía metodología para valorar cuantitativamente los aceites esenciales de la especie, integrando los métodos cualitativos, teniendo el cuidado de respetar todo el procedimiento empleado.
- ✓ A futuros investigadores interesados en productos naturales indagar sobre la composición química de la especie *Pectis Capillaris*.
- ✓ Al laboratorio de Análisis Farmacéutico contar con un HPLC en buen estado donde los estudiantes puedan realizar un análisis más completo de compuestos de interés.



BIBLIOGRAFIA

1. Dutt Rakesh, D., Longo, G., Sinh Khanuja, S. y Swami Handa S. (2008) Extraction Technologies for medicinal and aromatic plants. Trieste: Italia.
2. Alcaraz Meléndez, L., Real Cosío, S. M. y Rodríguez Álvarez, M. (2012). Procedimientos para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas: *Proyecto Sagarpa-Conacyt 126183*. Aceites esenciales, 1(1)7-32. Extraído el 12 de septiembre del 2014 desde <http://intranet.cibnor.mx/personal/bmurillo/docs/manual-aceites-esenciales.pdf>.
3. Cabrera Morge. (1985). Extracción de aceites esenciales a partir de eucalipto, zacate de limón y cítricos. Trabajo investigativo JUDC TW 42 E96 e.
4. Delgado Rodríguez, P. (2005). Como actúan en el cuerpo y en la mente los Aceites Esenciales: *Introducción a la Industria de los Aceites Esenciales extraídos de Plantas Medicinales y Aromáticas*. Revista digital investigación y educación. 20(3) 12-25. Extraído el 23 de enero del 2015 desde: <http://biblioteca.sena.edu.co/coleccion/1.html>.
5. Morales de Parajón, C. (1979) Diferentes métodos de extracción de drogas vegetales. Tesis inédita. LIC. farmacia y química W42 M828 1979. 5, 117-123.
6. Universidad central de Venezuela Escuela de Química. (2008). Guía de cromatografía. Caracas 1(1)4-6 desde: <http://www.ciens.ucv.ve:8080/generador/sites/LIApregrado/archivos/Guia%20para%20cromatografia.pdf>
7. Escobar, P. (2007). Técnicas Cromatográficas en Química Analítica II. *Universidad Nacional autónoma de México*. Recuperado de: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/M.Cromatograficos_6700.pdf



8. Guerrero López, A. (2012). Evaluación de aceites esenciales de *Lippia origanoides* en el control de hongos fitopatógenos (*Fusarium* sp., y *Colletotrichum* sp.) en el cultivo de ají cayena *Capsicum annuum*. Jamaica: Ducatman Inc. (1)1-5.
9. Revista naturalista. PECTIS CAPILLARIS. LIMONCILLO. Disponible en: <http://conabio.inaturalist.org/taxa/274002-Pectis-capillaris>
10. Bellarín, E. (1952). Produccion de Eucalyptus globulus. Madrid.
11. Henao, J., Muñoz, L., Padilla, L. y Ríos, E. (2010). Extracción y caracterización del aceite esencial de H.B.K. “orégano de monte” cultivado en el quindío y evaluación de la actividad antimicrobiana. *Laboratorio de Investigación Agroindustria de Frutas Tropicales, Programa de Química, Universidad del Quindío. Grupo de Inmunología Molecular (GYMOL)*. 21(82-86) Extraído el 13 de agosto del 2014 desde: http://www.uniquindio.edu.co/uniquindio/revistainvestigaciones/adjuntos/pdf/113d_n2109.pdf.
12. Vásquez Ribeiro, O., Alva, A., y Marreros Valles, J. (2001). Extracción y caracterización del aceite esencial de jengibre (*Zingiber officinale*). *Revista Amazónica de Investigación Alimentaria*, 1(1)38 - 42.
13. Castro Restrepo, D., Diaz García, J., Martínez Tobón, M., Muñoz Durango, K., Osorio Durango, E. y Serna Betancur, R.(2013) Cultivo y producción de plantas aromáticas y medicinales. 2da. Ed. Rionegro: Universidad católica de oriente.