



CARTA DE AUTORIZACIÓN

CÓDIGO

AP-BIB-FO-06

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2014

PÁGINA

1 de 2

Neiva, 21 de enero de 2019

Señores

CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA

Neiva, Huila.

El (Los) suscrito(s):

Sergio Ríos Díaz \_\_\_\_\_, con C.C. No. 1075282996 \_\_\_\_\_,

Briand André Rojas Castaño \_\_\_\_\_, con C.C. No. 1075294836 \_\_\_\_\_,

\_\_\_\_\_, con C.C. No. \_\_\_\_\_,

\_\_\_\_\_, con C.C. No. \_\_\_\_\_,

autor (es) de la tesis y/o trabajo de grado titulado: Estudio Comparativo de los Aceites Esenciales de dos Especies de *Passifloras* del Departamento del Huila. Presentado y aprobado en el año 2018 como requisito para optar al título de

Licenciado en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología;

Autorizo (amos) al CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN de la Universidad Surcolombiana para que con fines académicos, muestre al país y el exterior la producción intelectual de la Universidad Surcolombiana, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera:

- Los usuarios puedan consultar el contenido de este trabajo de grado en los sitios web que administra la Universidad, en bases de datos, repositorio digital, catálogos y en otros sitios web, redes y sistemas de información nacionales e internacionales "open access" y en las redes de información con las cuales tenga convenio la Institución.
- Permita la consulta, la reproducción y préstamo a los usuarios interesados en el contenido de este trabajo, para todos los usos que tengan finalidad académica, ya sea en formato Cd-Rom o digital desde internet, intranet, etc., y en general para cualquier formato conocido o por conocer, dentro de los términos establecidos en la Ley 23 de 1982, Ley 44 de 1993, Decisión Andina 351 de 1993, Decreto 460 de 1995 y demás normas generales sobre la materia.
- Continúo conservando los correspondientes derechos sin modificación o restricción alguna; puesto que de acuerdo con la legislación colombiana aplicable, el presente es un acuerdo jurídico que en ningún caso conlleva la enajenación del derecho de autor y sus conexos.

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, "Los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores", los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.

Vigilada Mineducación



CARTA DE AUTORIZACIÓN

CÓDIGO

AP-BIB-FO-06

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2014

PÁGINA

2 de 2

EL Autor/Estudiante: Sergio Ríos Díaz

Firma:

EL AUTOR/ESTUDIANTE:

Firma: \_\_\_\_\_

EL Autor/Estudiante: Briand André Rojas Castaño

Firma:

EL AUTOR/ESTUDIANTE:

Firma: \_\_\_\_\_



<b>CÓDIGO</b>	<b>AP-BIB-FO-07</b>	<b>VERSIÓN</b>	<b>1</b>	<b>VIGENCIA</b>	<b>2014</b>	<b>PÁGINA</b>	<b>1 de 3</b>
---------------	---------------------	----------------	----------	-----------------	-------------	---------------	---------------

**TÍTULO COMPLETO DEL TRABAJO:** Estudio Comparativo de los Aceites Esenciales de dos Especies de *Passifloras* del Departamento del Huila.

**AUTOR O AUTORES:**

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Ríos Díaz	Sergio
Rojas Castaño	Briand André

**DIRECTOR Y CODIRECTOR TESIS:**

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre

**ASESOR (ES):**

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Castañeda Gómez	Jhon Fredy

**PARA OPTAR AL TÍTULO DE:** Licenciado en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología

**FACULTAD:** Educación

**PROGRAMA O POSGRADO:** Licenciatura en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología

**CIUDAD:** Neiva

**AÑO DE PRESENTACIÓN:** 2018

**NÚMERO DE PÁGINAS:** 189

**TIPO DE ILUSTRACIONES** (Marcar con una X):

Diagramas X Fotografías X Grabaciones en discos \_\_\_ Ilustraciones en general X Grabados \_\_\_  
Láminas \_\_\_ Litografías \_\_\_ Mapas X Música impresa \_\_\_ Planos \_\_\_ Retratos \_\_\_ Sin ilustraciones \_\_\_  
Tablas o Cuadros X

**SOFTWARE** requerido y/o especializado para la lectura del documento:

Vigilada mieducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional [www.usco.edu.co](http://www.usco.edu.co), link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.



DESCRIPCIÓN DE LA TESIS Y/O TRABAJOS DE GRADO

CÓDIGO	AP-BIB-FO-07	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA	2 de 3
--------	--------------	---------	---	----------	------	--------	--------

MATERIAL ANEXO:

PREMIO O DISTINCIÓN (En caso de ser LAUREADAS o Meritoria): Meritoria

PALABRAS CLAVES EN ESPAÑOL E INGLÉS:

<u>Español</u>	<u>Inglés</u>
1. <u>Passiflora</u>	<u>Passiflora</u>
2. <u>Aceites esenciales</u>	<u>Essential oils</u>
3. <u>Rendimiento</u>	<u>Yield</u>
4. <u>Composición química</u>	<u>Chemical composition</u>
5. <u>Actividad antibacterial</u>	<u>Antibacterial activity</u>

RESUMEN DEL CONTENIDO: (Máximo 250 palabras)

En este trabajo se realizó un estudio comparativo del rendimiento, composición química y actividad antibacterial de los aceites esenciales (AE) de *Passiflora maliformis* L. y *Passiflora ligularis* Juss. Las extracciones se realizaron en el Laboratorio de Química de la Universidad Surcolombiana, utilizando material vegetal de dos cultivos ubicados en los municipios de Rivera y Algeciras, en el departamento del Huila. Se obtuvieron los AE por tres métodos diferentes, mostrando que la técnica de Hidrodestilación Simple (HD) genera el mayor rendimiento de los AE en estas especies. Mediante la técnica por Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas CG-MS se determinó la composición química de los aceites esenciales de estas *passifloras*, lográndose identificar compuestos como terpenos, cetonas, alcoholes, ácidos grasos, entre otros. Algunos componentes mayoritarios (en área) fueron identificados por primera vez en ambas especies. El monoterpeno Carvacrol (14,44%) en las partes aéreas de los aceites esenciales de *Passiflora maliformis* L, y para la especie *Passiflora ligularis* Juss se reportó el heterociclo nitrogenado Tetrametilpirazina (13.12%) en los aceites esenciales de las partes aéreas. Finalmente, se realizó un ensayo biológico para evaluar la actividad antibacterial de los aceites esenciales de las partes aéreas de *Passiflora maliformis* L, obtenido mediante la técnica de hidrodestilación asistida por radiación microondas (HDMW), contra los patógenos *Shigella sonnei* (ATCC 25931) y *Staphylococcus aureus* (BAA-977). Los resultados reportaron que no hubo inhibición de los patógenos utilizando los AE de *Passiflora maliformis* L. con tratamientos de 1000, 3000 y 5000 ppm.



CÓDIGO	AP-BIB-FO-07	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA	3 de 3
--------	--------------	---------	---	----------	------	--------	--------

**ABSTRACT:** (Máximo 250 palabras)

In this work was performed a comparative study of the yield, chemical composition, and antibacterial activity of the essential oils (AE) of *Passiflora maliformis* L. And *Passiflora ligularis* Juss. The distillations were carried out in the basic science laboratory of the Surcolombiana University using vegetable material of two crops situated in the municipalities de Rivera and Algeciras, in Huila's department. The AE were obtained by three different methods, showing that the Hidrodestilación Simple (HD) technique generates the best yield of the AE in these species. Through Gas Chromatography/Mass Spectrometry determined the chemical composition of the essential oils of these passifloras, finding compounds like terpenes, ketones, alcohols, fatty acids, among others. Some majority components (area percent) were identified for the first time in both species. The monoterpene Carvacrol (14,44%) in the aerial parts of the essential oils of *Passiflora maliformis* L, and for the species *Passiflora ligularis* Juss reported the heterocycle nitrogenous Tetrametilpirazina (13.12%) in the essential oils of the aerial parts. Finally, it made a biological essay to evaluate the antibacterial activity with the essential oils of the aerial parts of *Passiflora maliformis* L, obtained through the technique of microwave assisted hidrodestilación (HDMW), against the pathogens *Shigella sonnei* (ATCC 25931) and *Staphylococcus aureus* (BAA-977). The results reported that there wasn't inhibition of the pathogens using the AE of *Passiflora maliformis* L. With treatments of 1000, 3000 and 5000 ppm.

**APROBACION DE LA TESIS**

Nombre Presidente Jurado: Jhon Fredy Castañeda Gómez

Firma:

Nombre Jurado: Luis Javier Narváez Zamora

Firma:

Nombre Jurado: Alcides Polanía Patiño

Firma:   
C.C. 1079.604.997.



**Licenciatura en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología**

**Estudio Comparativo de los Aceites Esenciales de dos Especies de  
*Passifloras* del Departamento del Huila.**

Que para obtener el grado de:

**Licenciado en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología**

Presentan:

**Sergio Ríos Díaz**

**Briand André Rojas Castaño**

Asesor

**Jhon Fredy Castañeda Gómez**

**Neiva, Huila, Colombia**

**diciembre de 2018**

**Estudio Comparativo de los Aceites Esenciales de dos Especies de  
*Passifloras* del Departamento del Huila.**

Por:

**Sergio Ríos Díaz**

**Briand André Rojas Castaño**

**Aprobado por los Jurados:**



---

**Mg. Luis Javier Narváez Zamora**

**Universidad Surcolombiana**



---

**C.C. 1079.604.997.**

**Mg. Alcides Polanía Patiño**

**Fundación Escuela Tecnológica de Neiva Jesús Oviedo Pérez**

**Neiva, 05 de diciembre de 2018**

## **DEDICATORIA**

*Este trabajo se lo quiero dedicar especialmente a mis padres, por su constante esfuerzo para brindarme la oportunidad de formarme como profesional. También a Ana, por haber sido mi compañía y apoyo en todo este proceso.*

Sergio Ríos Díaz

*A la vida y al amor: Mi familia hoy y siempre.*

Briand André Rojas Castaño.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al director de tesis Jhon Fredy Castañeda Gómez por el apoyo, estímulo y compañía para la realización de este trabajo de grado.

A la Coordinación del laboratorio de Química de Ciencias Básicas de la Universidad Surcolombiana a cargo de la Lic. Yeimis Yoana Montealegre Figueroa, por brindarnos los espacios y el respaldo para la ejecución metodológica del proyecto.

A los agricultores Andrés Calderón Bohórquez y Nancy Eloísa Buitrago.

A la profesora Paula Andrea Charry Sánchez por el registro CG-MS de las muestras en el laboratorio de análisis instrumental de las Universidad del Quindío

Al profesor Gonzalo Taborda Ocampo del Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales Universidad de Caldas por el registro CG-MS de algunos aceites esenciales.

Al laboratorio de microbiología de alimentos de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Surcolombiana a cargo de la profesora Claudia Milena Amorocho Cruz.

A los jurados Luis Javier Narváez Zamora y Alcides Polanía Patiño agradecemos por su seguimiento, comentarios y sugerencias al presente trabajo.

## Tabla de contenido

Lista de Tablas .....	8
Lista de Figuras.....	9
Resumen.....	12
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	13
II. JUSTIFICACIÓN.....	14
III. OBJETIVOS .....	16
3.1. Objetivo General .....	16
3.2. Objetivos Específicos .....	16
IV. MARCO TEÓRICO .....	17
4.1. Generalidades de la Familia Passifloraceae .....	17
4.2. Género <i>Passiflora</i> L. ....	22
4.3. <i>Passiflora maliformis</i> L.....	22
4.4. <i>Passiflora ligularis</i> Juss .....	24
4.5. Antecedentes .....	26
4.5.1. Internacionales .....	26
4.5.2. Perspectiva de Investigaciones con Indicaciones Clínicas .....	31
4.5.4. Nacionales y Regionales.....	33
4.5.6. Estudios con Sustancias Volátiles del Género <i>Passiflora</i> L. ....	35
4.6. Referentes Conceptuales .....	37
4.6.1. Metabolitos Secundarios.....	37
4.6.2. Aceites Esenciales.....	41
4.6.3. Terpenos.....	43
4.6.4. Fenoles .....	43
4.6.5. Compuestos Nitrogenados .....	44
4.7. Métodos de Análisis Instrumental.....	50
4.7.1. Cromatografía de Gases (CG).....	50
4.7.2. Espectrometría de Masas .....	53
4.8. Métodos de Extracción de Aceites Esenciales .....	56
4.8.1. Hidrodestilación.....	56

4.8.2.	Destilación por Arrastre con Vapor de Agua.....	57
4.8.3.	Extracción Asistida por la Radiación con Microondas.....	58
4.8.4.	Rendimiento.....	59
4.9.	Ensayos Biológicos .....	60
4.9.1	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	60
4.9.2	<i>Shigella sonnei</i> .....	61
V.	METODOLOGÍA.....	62
5.1	Enfoque Metodológico.....	62
5.3.	Preparado del Material .....	66
5.4.	Hidrodestilación .....	68
5.4.1	Hidrodestilación Simple (HD).....	68
5.4.2	Hidrodestilación por Arrastre con Vapor de Agua (AVA) .....	71
5.4.3	Hidrodestilación Asistida con Microondas (HDMW).....	72
5.5.	Rendimiento .....	74
5.6.	Análisis por Cromatografía de Gases Acoplado a Espectrometría de Masas (CG-MS).....	75
5.7.	Ensayos Biológicos .....	77
VI.	RESULTADOS Y ANÁLISIS .....	79
6.1.	Rendimiento .....	79
6.1.1.	<i>Passiflora ligularis</i> Juss.....	82
6.2.	Análisis por Cromatografía de Gases y Espectrometría de Masas de los Aceites Esenciales de <i>Passiflora maliformis</i> L y <i>Passiflora ligularis</i> J. ....	83
6.2.1.	<i>Passiflora maliformis</i> L .....	83
6.2.2.	<i>Passiflora ligularis</i> Juss.....	116
6.3.	Prueba Antibacterial.....	139
VII.	CONCLUSIONES .....	143
VIII.	RECOMENDACIONES.....	145
IX.	REFERENCIAS.....	146
	Anexos .....	159
1.	Parámetros y Cromatogramas <i>Passiflora maliformis</i> L.....	159
2.	Parámetros y Cromatogramas <i>P ligularis</i> Juss .....	174

3. Diferenciación entre Timol y Carvacrol por RMN $^{13}\text{C}$ . .....	184
4. Diferenciación entre Timol y Carvacrol por RMN $^1\text{H}$ . .....	185
5. Condiciones y estimaciones de RMN $^{13}\text{C}$ .....	186
6. Condiciones y estimaciones de RMN $^1\text{H}$ .....	188

## Lista de Tablas

### Capítulo IV

Tabla N° 4. 1. Nociones etnobotánicas internacionales de algunas especies de Pasifloráceas ...	28
Tabla N° 4. 2. Diferentes usos potenciales de <i>P. maliformis</i> .....	34
Tabla N° 4. 3. Marcha fitoquímica de <i>P. maliformis</i> .....	34
Tabla N° 4. 4. Compuestos químicos identificados en especies del género Passiflora.....	44

### Capítulo IV

Tabla N° 5. 1. Naturaleza de las variables asignadas.....	63
---	----

### Capítulo VI

Tabla N° 6. 1. Rendimiento de los AE de <i>P. maliformis</i> L. dos técnicas (material fresco) .....	79
Tabla N° 6. 2. Rendimiento de los AE de <i>P. maliformis</i> L. partes aéreas secas por HD .....	80
Tabla N° 6. 3. Rendimiento de los AE de <i>P. maliformis</i> L. partes aéreas secas por HDMW .....	80
Tabla N° 6. 4. Rendimiento de los AE de <i>P. maliformis</i> L. partes individuales por HDMW.....	81
Tabla N° 6. 5. Rendimiento de los AE de <i>P. ligularis</i> Juss, partes aéreas secas por HD.....	82
Tabla N° 6. 6. Rendimiento de los AE de <i>P. ligularis</i> Juss partes individuales por HD .....	82
Tabla N° 6. 7. Composición química de los AE de <i>P maliformis</i> L, material fresco HD.....	84
Tabla N° 6. 9. Composición química de los AE: semillas secas de <i>P maliformis</i> . L. CG-MS. ...	94
Tabla N° 6. 10. Composición química de los AE: hojas secas de <i>P maliformis</i> L. CG-MS ...	98
Tabla N° 6. 11. Composición química de los AE: tallos de <i>P maliformis</i> por CG-MS .....	103
Tabla N° 6. 12. Composición química de los AE: P. aéreas secas de <i>P maliformis</i> L. HDMW	108
Tabla N° 6. 13. Comparación de funciones químicas de los AE de <i>P maliformis</i> L .....	113
Tabla N° 6. 14. Composición química de los AE: Partes aéreas secas de <i>P ligularis</i> Juss. HD	116
Tabla N° 6. 15. Composición química de los AE de <i>P ligularis</i> Juss. Hojas secas por HD. ....	126
Tabla N° 6. 16. Análisis por CG-MS de los AE de <i>P ligularis</i> Juss: Semillas secas por HD....	132
Tabla N° 6. 17. Comparación de funciones químicas de los AE de <i>P ligularis</i> Juss.....	137
Tabla N° 6. 18. Prueba antibacterial para <i>S.sonnei</i> . Con los AE de <i>P. maliformis</i> .....	139
Tabla N° 6. 19. Prueba antibacterial para <i>S.aureus</i> . Con los AE de <i>P. maliformis</i> .....	140

## Lista de Figuras

### Capítulo IV

<i>Figura N° 4.1.</i> Flor de la pasión ( <i>Passiflora daniellii</i> Killip).....	17
<i>Figura N° 4.2.</i> Distribución de especies de <i>Passifloras</i> en Colombia.....	19
<i>Figura N° 4.3.</i> Distribución de <i>Passifloras</i> en el departamento del Huila .....	21
<i>Figura N° 4.4.</i> Fruto y flor de <i>Passiflora maliformis</i> .....	22
<i>Figura N° 4.5.</i> Aspecto morfológico de <i>Passiflora maliformis</i> .....	23
<i>Figura N° 4.6.</i> Hojas, flor y fruto de <i>Passiflora ligularis</i> Juss .....	24
<i>Figura N° 4.7.</i> Isoschaftosido: flavonoide aislado de <i>P manni</i> .....	46
<i>Figura N° 4.8.</i> Flavonas derivadas de Luteolina y Apigenina .....	27
<i>Figura N° 4.9.</i> Orientina (flavonoide).....	46
<i>Figura N° 4.10.</i> Vitexina (flavonoide).....	46
<i>Figura N° 4.11.</i> Estructuras derivadas de estudios con <i>Passifloras</i> .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<i>Figura N° 4.12.</i> a) Linalool, b) Carvona, c) Eugenol.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<i>Figura N° 4.13.</i> Relaciones de procesos del metabolismo primario y secundario del carbono ...	39
<i>Figura N° 4.14.</i> Isopreno .....	43
<i>Figura N° 4.15.</i> Cocaína (derivado de Ornitina).....	48
<i>Figura N° 4.16.</i> Nicotina (derivado del ácido nicotínico) .....	48
<i>Figura N° 4.17.</i> a) Harmina, b) Harmol c) Harmalina identificadas en <i>P incarnata</i> .....	<b>¡Error!</b>
<b>Marcador no definido.</b>	
<i>Figura N° 4.18.</i> Estructura de la prunasina identificado en <i>Passiflora edulis</i> f var. <i>flavicarpa</i> .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<i>Figura N° 4.19.</i> Cromatógrafo de gases.....	52
<i>Figura N° 4.20.</i> Secuencia de funcionamiento para Cromatografía de Gases .....	52
<i>Figura N° 4.21.</i> Diagrama de principios de Espectrometría de masas.....	54
<i>Figura N° 4.22.</i> Diagrama de Cromatografía de Gases con Espectrometría de Masas.....	55
<i>Figura N° 4.23.</i> Hidrodestilación (HD). .....	56
<i>Figura N° 4.24.</i> Destilación por arrastre de vapor con agua (AVA) .....	57
<i>Figura N° 4.25.</i> Hidrodestilación asistida por radiación con microondas (MWHD).....	58

### Capítulo V

<i>Figura N° 5. 1.</i> Metodología para la obtención de los AE de <i>P. maliformis</i> Ly <i>P ligularis</i> J ....	64
<i>Figura N° 5. 2.</i> Cultivo de <i>Passiflora maliformis</i> L. en el municipio de Rivera, Huila.....	65
<i>Figura N° 5. 3.</i> Cultivo de <i>Passiflora ligularis</i> Juss en el municipio de Algeciras, Huila. ....	66
<i>Figura N° 5. 4.</i> Fruto de <i>Passiflora maliformis</i> L.....	67
<i>Figura N° 5. 5.</i> Disposición del fruto (mucílago y semillas) de <i>Passiflora maliformis</i> L. ....	67
<i>Figura N° 5. 6.</i> Secado de Material vegetal .....	68

Figura N° 5. 7. Montaje para Hidrodestilación Simple (HD).....	69
Figura N° 5. 8. Montaje extracción líquido-líquido, secado de fase orgánica y rotavaporación.	70
Figura N° 5. 9. Proceso de obtención de los aceites esenciales y envasado.....	71
Figura N° 5. 10. Montaje de hidrodestilación por arrastre con vapor de agua (A.V.A.).....	72
Figura N° 5. 11. Montaje para la hidrodestilación simple asistida con microondas.....	73
Figura N° 5. 12. Envase de Aceites Esenciales .....	73
Figura N° 5. 13. Proceso de selección de rendimiento.....	74
Figura N° 5. 14. Medios de cultivo y preparación para diluciones seriadas.....	77
Figura N° 5. 15. Placas con TSA.....	78
Figura N° 5. 16. Antibióticos empleados como control positivo.....	78

## Capítulo VI

Figura N° 6. 1. Perfiles cromatográficos obtenidos con <i>Passiflora maliformis</i> L.....	83
Figura N° 6.2. TIC de los AE de <i>P maliformis</i> (hojas, tallos, flores y semillas) fresco por HD..	84
Figura N° 6.3. Carvacrol: Representaciones estructurales. ....	85
Figura N° 6.4. (a) Espectro de masas experimental y (b) de NIST11 library: Carvacrol.....	86
Figura N° 6.5. Fragmentaciones principales del Carvacrol.....	87
Figura N° 6.6. Representaciones estructurales de Linalool.....	88
Figura N° 6.7. (a) Espectro de masas experimental y (b) de NIST11 library: Linalool.....	89
Figura N° 6.8. Rutas de fragmentación del terpeno Linalool.....	90
Figura N° 6.9. Representaciones estructurales de Benzaldehído.....	92
Figura N° 6.10. (a) Espectro de masas experimental y (b) de NIST11 library: Benzaldehído....	92
Figura N° 6.11. Fragmentaciones principales para el Benzaldehído.....	93
Figura N° 6.12. TIC de los AE de <i>P maliformis</i> , semillas secas por HD.. .....	94
Figura N° 6.13. Representaciones estructurales de Timol.....	95
Figura N° 6.14 (a) Espectro de masas experimental y (b) de NIST11 library: Thymol.....	96
Figura N° 6.15. Tiempos de retención para estándares de Timol y Carvacrol.....	96
Figura N° 6.16. Fragmentación del Timol según espectro de masas.....	97
Figura N° 6.17. TIC de los AE de <i>P maliformis</i> , hojas secas por HD.....	98
Figura N° 6.18. Representaciones moleculares del Eugenol.....	100
Figura N° 6.19. (a) Espectro de masas Experimental y (b) de NIST11 library: Eugenol.....	101
Figura N° 6.20. Fragmentaciones del Eugenol.....	102
Figura N° 6.21. TIC de los AE de <i>P maliformis</i> tallos secos. ....	103
Figura N° 6.22. Representación estructural de Phytol.....	105
Figura N° 6.23. Algunas fragmentaciones del Fitol.....	106
Figura N° 6.24. (a) Espectro de masas experimental y (b) de NIST11 library: Fitol.....	106
Figura N° 6.25. TIC de los AE de <i>P maliformis</i> , (Hojas, tallos y semillas) Seco,por HDMW..	108
Figura N° 6. 26. Representaciones estructurales del Geraniol. ....	110
Figura N° 6. 27. Espectro de masas experimental de Geraniol.....	111
Figura N° 6. 28. Espectro de masas de Geraniol. De NIST (SDBS, 2018).....	111
Figura N° 6. 29. Fragmentaciones del Geraniol.....	112
Figura N° 6. 30. Comparación en frecuencia de compuestos con las técnicas de extracción....	114

Figura N° 6. 31. Abundancia de compuestos los AE de <i>P maliformis</i> L por HD y HDMW.....	114
Figura N° 6. 32. Frecuencia de compuestos en los AE de <i>P maliformis</i> L por HD y HDMW..	115
Figura N° 6. 33. TIC de los AE de <i>P. ligularis</i> Juss, (Hojas, tallos y semillas: seco) por HD..	116
Figura N° 6. 34. Representación estructural de Acetoína. Edición en ChemDraw. ....	118
Figura N° 6. 35. Espectro de masas experimental de Acetoína.....	119
Figura N° 6. 36. Espectro de masas de Acetoína: de NIST17 Library Software.....	119
Figura N° 6. 37. Algunos fragmentos comunes para espectros de masas de Acetoína .....	119
Figura N° 6. 38. Representación estructural de Tetrametilpirazina.....	120
Figura N° 6. 39. Espectro de masas experimental de Tetrametilpirazina.....	120
Figura N° 6. 40. Espectro de masas de Tetrametilpirazina: de NIST17 Library Software.....	121
Figura N° 6. 41. Algunos fragmentos comunes en espectros de masas de Tetrametilpirazina .	121
Figura N° 6. 42. Representaciones estructurales de Asarone .....	122
Figura N° 6. 43. Espectro de masas experimental obtenido para Asarona.....	123
Figura N° 6. 44. Espectro de masas de Asarone: de NIST (SDBS, 2018).....	123
Figura N° 6. 45. Fragmentaciones para la Asarona. ....	124
Figura N° 6. 46. TIC de los AE de hojas secas de <i>Passiflora ligularis</i> Juss, por HD .....	126
Figura N° 6. 47. Representaciones estructurales de Estragol .....	128
Figura N° 6. 48. Espectro de masas experimental obtenido para Estragol.....	128
Figura N° 6. 49. Espectro de masas de Estragol: de NIST (SDBS, 2018).....	129
Figura N° 6. 50. Fragmentaciones para el Estragol .....	130
Figura N° 6. 51. TIC de los AE de <i>P. ligularis</i> Juss. Semillas secas por HD.....	132
Figura N° 6. 52. Representaciones estructurales para escualeno.....	135
Figura N° 6. 53 (a) Espectro de masas experimental y (b) de NIST11 library: Escualeno .....	135
Figura N° 6. 54. Fragmentaciones moleculares el escualeno .....	136
Figura N° 6. 55. Abundancia de compuestos orgánicos de los AE de <i>P. ligularis</i> Juss. ....	138
Figura N° 6. 56. Número de compuestos según parte empleada de los AE de <i>P ligularis</i> Juss.	138
Figura N° 6. 57. Placas de la prueba de sensibilidad para el patogeno <i>S. sonnei</i> . ....	139
Figura N° 6. 58. Representación estructural de Ceftriaxona .....	140
Figura N° 6. 59. Representación estructural de Penicilina G Procaína .....	140
Figura N° 6. 60. Placas de la prueba de sensibilidad para el patógeno <i>S. aureus</i> .....	141

## **Estudio Comparativo de los Aceites Esenciales de dos Especies de *Passifloras* del Departamento del Huila.**

### **Resumen**

En este trabajo se realizó un estudio comparativo del rendimiento, composición química y actividad antibacterial de los aceites esenciales (AE) de *Passiflora maliformis* L. y *Passiflora ligularis* Juss. Las extracciones se realizaron en el Laboratorio de Química de la Universidad Surcolombiana, utilizando material vegetal de dos cultivos ubicados en los municipios de Rivera y Algeciras, en el departamento del Huila. Se obtuvieron los AE por tres métodos diferentes, mostrando que la técnica de Hidrodestilación Simple (HD) genera el mayor rendimiento de los AE en estas especies. Mediante la técnica por Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas CG-MS se determinó la composición química de los aceites esenciales de estas *passifloras*, lográndose identificar compuestos como terpenos, cetonas, alcoholes, ácidos grasos, entre otros. Algunos componentes mayoritarios (en área) fueron identificados por primera vez en ambas especies. El monoterpeno Carvacrol (14,44%) en las partes aéreas de los aceites esenciales de *Passiflora maliformis* L, y para la especie *Passiflora ligularis* Juss se reportó el heterociclo nitrogenado Tetrametil Pirazina (13.12%) en los aceites esenciales de las partes aéreas. Finalmente, se realizó un ensayo biológico para evaluar la actividad antibacterial de los aceites esenciales de las partes aéreas de *Passiflora maliformis* L, obtenido mediante la técnica de hidrodestilación asistida por radiación microondas (HDMW), contra los patógenos *Shigella sonnei* (ATCC 25931) y *Staphylococcus aureus* (BAA-977). Los resultados reportaron que no hubo inhibición de los patógenos utilizando los AE de *Passiflora maliformis* L. con tratamientos de 1000, 3000 y 5000 ppm.

## I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Desde el siglo pasado, en el campo de la fitoquímica se han venido realizando numerosas investigaciones, con el fin de conocer con certeza la composición y efectividad de muchas especies vegetales. Tanto así, que se ha convertido en una herramienta imprescindible para la industria farmacéutica, pues esta contribuye, entre otras, con el descubrimiento de los principios activos de las plantas, permitiendo que otras disciplinas científicas las utilicen para la elaboración de nuevos fármacos o tratamientos naturales. Por su parte, los aceites esenciales constituyen una fuerte base socioeconómica en constante crecimiento a nivel mundial, sin embargo, en Colombia y especialmente en el departamento del Huila, el estudio y producción de estas sustancias ha sido limitado debido a la escasa tecnología que impide la manufactura a gran escala, en contraste, con otros países de América latina como Argentina y Brasil, que ya se han incorporado al mercado global (Stashenko, 2009). Mientras tanto, en algunos de los estudios realizados con *passifloras*, se ha descubierto que esta familia goza de gran poder antioxidante (Carvajal, Turbay, Álvarez, Rodríguez, Álvarez, Bonilla, Restrepo, Parra, 2014). De igual modo, la importancia de las especies cultivadas en el departamento del Huila va más allá del sector alimenticio, pues son comúnmente utilizadas por los campesinos como remedios naturales para tratar la presión arterial, la inflamación, como tranquilizantes o como especies alucinógenas, así mismo, se han utilizado estas plantas para reducir el colesterol (Carvajal, Turbay, Rojano, Álvarez, Restrepo, Álvarez, Bonilla, Ochoa, Sánchez, 2014).

Las *passifloras* son consideradas plantas aromáticas, sin embargo, son pocos los estudios relacionados con la composición química de sus aceites esenciales, como principios activos con un gran potencial antimicrobiano, como se ha demostrado en otras especies aromáticas.

Por tal motivo, se plantea la siguiente pregunta-problema:

¿Qué similitudes y diferencias hay en cuanto al rendimiento, la composición química y la actividad biológica de los aceites esenciales de *Passiflora maliformis* L. y *Passiflora ligularis* Juss?

## II. JUSTIFICACIÓN

En el Huila se cultivan especies de *passifloras* muy importantes para el sector frutícola de Colombia, principalmente el maracuyá (*Passiflora edulis* var *flavicarpa* Degener), la cholupa (*P. maliformis* L.), la granadilla (*P. ligularis* Juss) y la gulupa (*P. edulis* var. *edulis* Sims), entre otras, e inclusive, algunas de estas son exportadas hacia otros continentes al ser consideradas como exóticas (Carvajal et al., 2014). Si bien es cierto, sus principales usos radican en el consumo de los frutos, históricamente se han venido utilizando otras partes de la planta por sus propiedades terapéuticas como antiinflamatorias, antioxidantes, analgésicas, ansiolíticas, etc. (Dhawan K; Dhawan S, & Sharma, 2004). No obstante, en la actualidad muchas de las especies de esta familia carecen de estudios científicos. Así mismo, los aceites esenciales de estas plantas a nivel mundial no han sido estudiados como se esperaría, pues en general, estos brindan una alternativa para el desarrollo socioeconómico de un país, dado que a partir de estas sustancias se pueden beneficiar industrias como la farmacéutica en la producción de nuevos fármacos; la industria de cosméticos en la elaboración de perfumes y aromatizantes; y en el sector alimenticio contribuyendo en la fabricación de condimentos y saborizantes (Castañeda, 2016).

Es necesario resaltar que, de hecho, los estudios realizados con pasifloras son elaborados por autores de diferentes regiones del país, y sus enfoques apuntan en la mayoría de los casos, al valor nutricional del fruto, en los distintos métodos de plantación, y en algunas ocasiones, se han registrado los distintos usos que le han dado algunas comunidades campesinas (Ocampo, Rodríguez, Puentes, Molano, Parra, 2015; Carvajal, et al., 2014). En cuanto a trabajos fitoquímicos, se han realizado algunas investigaciones internacionales orientadas en la evaluación de la actividad biológica, principalmente en algunas especies particulares, la *Passiflora alata*, *Passiflora edulis* y *Passiflora incarnata* (Colomeu, Figueiredo, Cazarin; Schumacher, Maróstica, Meletti, Zollner 2014; Arriaga, Craveiro, Machado, Pouliquen, 2011 & Traub, 2012).

Por otro lado, es importante que estas especies, ampliamente cultivadas y de gran influencia para la economía de la región, posean estudios científicos en donde se

identifiquen sus metabolitos secundarios y su potencialidad como agentes terapéuticos. Llegar a encontrar que estas sustancias posean algún tipo de actividad biológica, podría promover distintas alternativas para fomentar la comercialización de estos AE. Así mismo, daría cabida para que nuevas investigaciones profundicen más en esta área de la química, con fines de encontrar nuevas alternativas para el tratamiento de enfermedades.

### **III. OBJETIVOS**

#### **3.1.Objetivo General**

- Realizar el estudio comparativo de los aceites esenciales de dos especies de *passifloras* del departamento del Huila

#### **3.2.Objetivos Específicos**

- Comparar los rendimientos de los aceites esenciales de *Passiflora maliformis* L. y *Passiflora ligularis* Juss mediante hidrodestilación, la destilación por arrastre con vapor de agua y la hidrodestilación asistida por radiación con microondas.
- Analizar la composición química de los aceites esenciales mediante la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas y comparar estos perfiles cromatográficos de acuerdo al estado del material vegetal extraído (fresco, seco) con la técnica de extracción utilizada.
- Determinar el potencial de los aceites esenciales extraídos como agentes antibacterianos mediante el método de difusión en agar contra cepas de *Staphylococcus aureus* y *Shigella sonnei*.

## IV. MARCO TEÓRICO

### 4.1. Generalidades de la Familia Passifloraceae



Figura N° 4. 1. Flor de la pasión (*Passiflora daniellii* Kiliip). Fuente: (Restrepo, 2013)

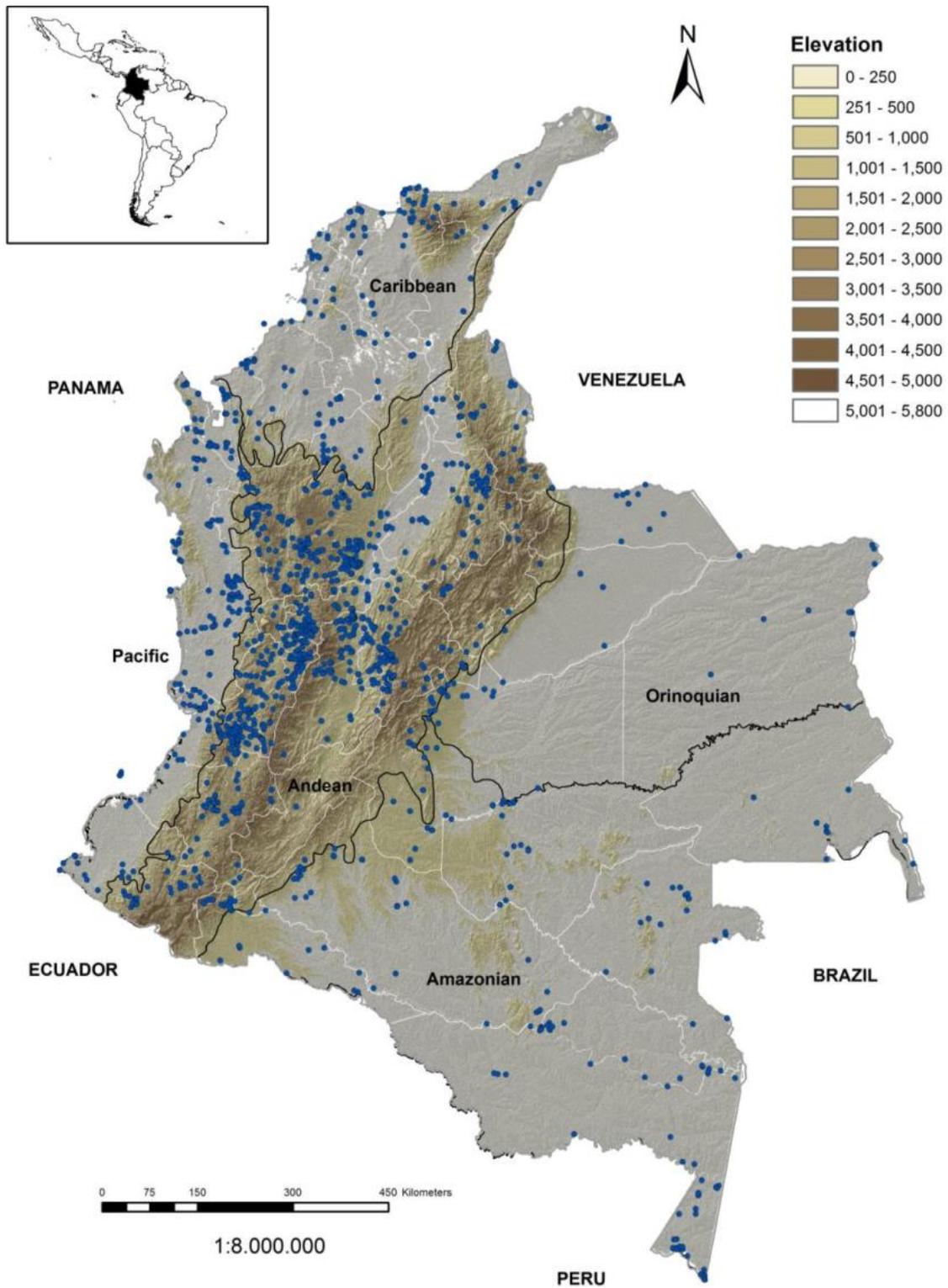
Peter Stevens, citado por Alvarado (2007) comenta que la familia Passifloraceae se localiza dentro del orden de las Malphigiales, dividida en dos tribus: Paropsieae, que abarca especies africanas y arborescentes, y Passifloreae que reúne a las especies principalmente americanas y trepadoras.

Según Montiel (1991) esta es una familia compuesta principalmente por bejucos herbáceos y leñosos, en un número menor de arbustos y pequeños árboles. De igual modo, describe las características morfológicas de esta familia:

*“Lianas de zarcillos axilares, hojas alternas simples o compuestas, estipuladas glandulares. Flores Actinomorfas, hermafroditas, conspicuas, axilares y usualmente en pares, bracteadas; los sépalos 5 (4) basalmente connatos, más pequeños que los sépalos imbricados. Los estambres y gineceo levantados sobre el androginóforo. Estambres 5, con las anteras, biloculares de dehiscencia longitudinal. Gineceo tricarpelar, unilocular, con numerosos rudimentos seminales sobre 3 placentas parietales. El fruto una baya o una cápsula loculicida. Semilla con pulpa arilada.”*

Es pertinente mencionar que la flor de esta familia es muy vistosa y llamativa, por sus variados colores y complejas formas. Alvarado (2007) cuenta que la disposición y forma de los componentes de su flor (*Figura N° 4.1*), inspiró a los monjes del siglo XVI a reconocer en ellas un icono que representa “la pasión de Cristo”, a su vez, los zarcillos que posee hacen alusión a los látigos que golpeaban con fervor al hijo de Dios, desde entonces, la familia y el género más grande de la misma llevan este nombre.

Alrededor del mundo existen más de 600 especies que corresponden a 18 géneros de esta familia (Perea, Fischer, & Miranda, 2010). Por otro lado, Colombia es el país con mayor diversidad de plantas pertenecientes a la familia Passifloraceae, contando con 170 especies reportadas en los tres géneros: *Ancistrothyrsus* (2), *Dilkea* (4) y *Passiflora* L. (164), tanto de especies cultivadas como silvestres, esta riqueza representa el 26 % de plantas registradas a nivel mundial (Ocampo & Merlín, 2014). En la *figura N° 4.2*, se muestra la distribución de pasifloras en 32 regiones del territorio colombiano (Ocampo, Coppens, & Jarvis, 2010).



*Figura N° 4.2.* Distribución de especies de Passifloras en Colombia. Fuente: (Ocampo, Coppens, & Jarvis, 2010, pág. 1162)

El Huila, a pesar de su extensión de 19.890 km<sup>2</sup>, se le considera como el departamento con menor reporte de especies en la región andina. En contraste con otros lugares, se han registrado tan solo 26 especies, mientras tanto, en Quindío 39, Caldas 37 y Risaralda 25, regiones que presentan tan solo la tercera parte del área del Huila (Ocampo J. , 2013). Adicionalmente, cabe resaltar que, las especies registradas en el departamento del Huila pertenecen a seis subgéneros del género *Passiflora* L.: *Astrophea*, *Decaloba*, *Dysosmia*, *Passiflora*, *Tacsonia* y *Tryphostemmatoides*; por otra parte, dentro de las 26 pasifloras reportadas por Ocampo, ocho de ellas son cultivadas, entre ellas se encuentran principalmente la granadilla, el maracuyá, la gulupa, la badea y la cholupa. En la *figura N° 4.3.* se muestra la distribución de estas especies en el departamento del Huila.

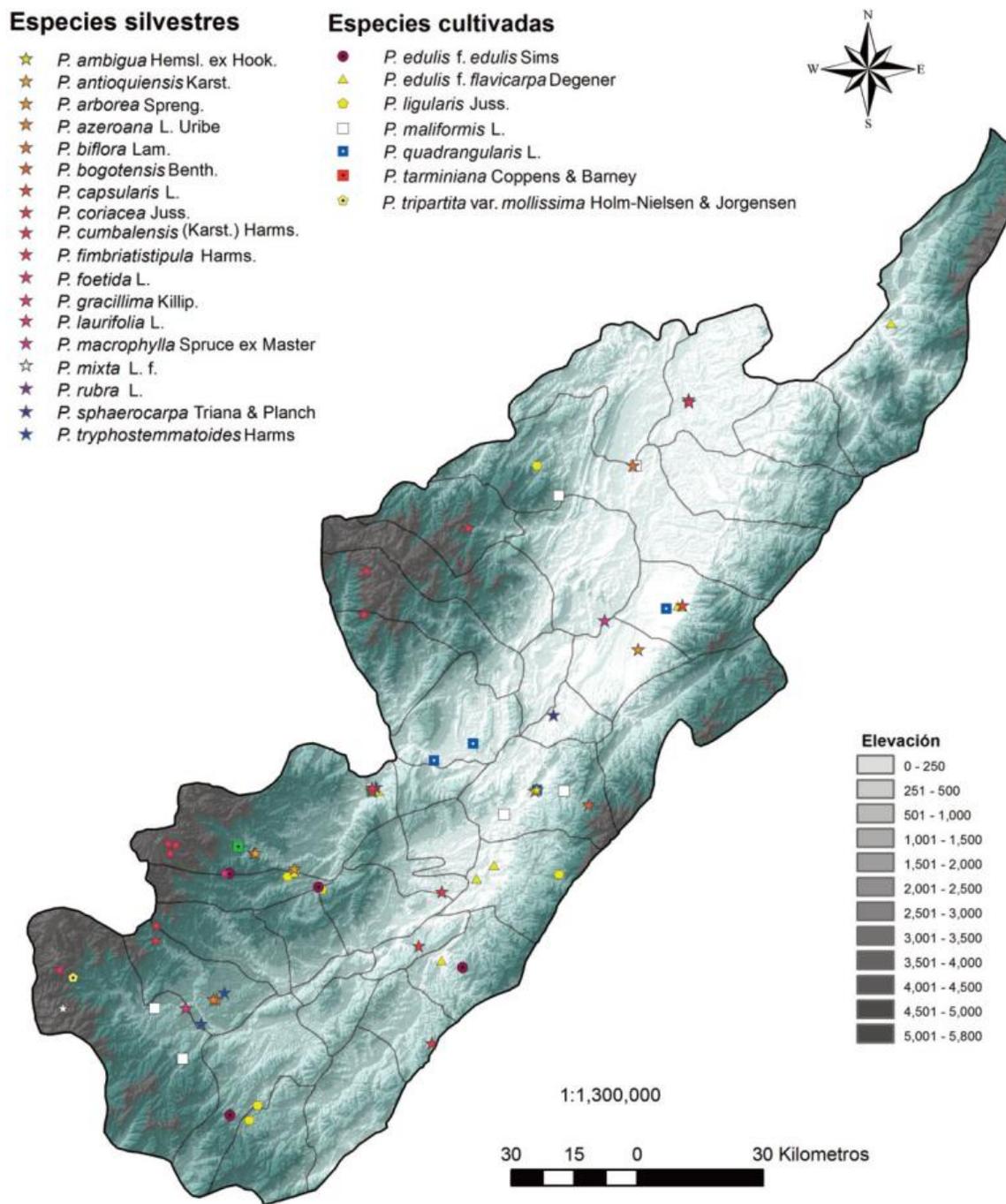


Figura N° 4.3. Distribución de Passifloras en el departamento del Huila. Fuente: (Ocampo, 2013)

## 4.2. Género *Passiflora* L.

De acuerdo a Marín, Creuci, & Posada (2009) el género *Passiflora* es considerado como el más importante de la familia, pues se distribuye en regiones tropicales y subtropicales desde 0 hasta altitudes superiores a los 3000 msnm., además, su riqueza se encuentra principalmente en regiones que comprenden altitudes entre 400 a 2000 msnm.

Según (Taiwe & Kuete, 2017) comprende cerca de 520 especies. La más reciente revisión taxonómica del género (Feuillet y McDougal, 2003; Ulmer y McDougal, 2004) redujo de 22 (Killip, 1938) a cuatro subgéneros: *Astrophea* (57 especies), *Deidamioides* (13 especies), *Decaloba* (214 especies) y *Passiflora* (236 especies). Siendo este último el subgénero que acoge a las dos especies de interés investigativo en este proyecto.

## 4.3. *Passiflora maliformis* L.

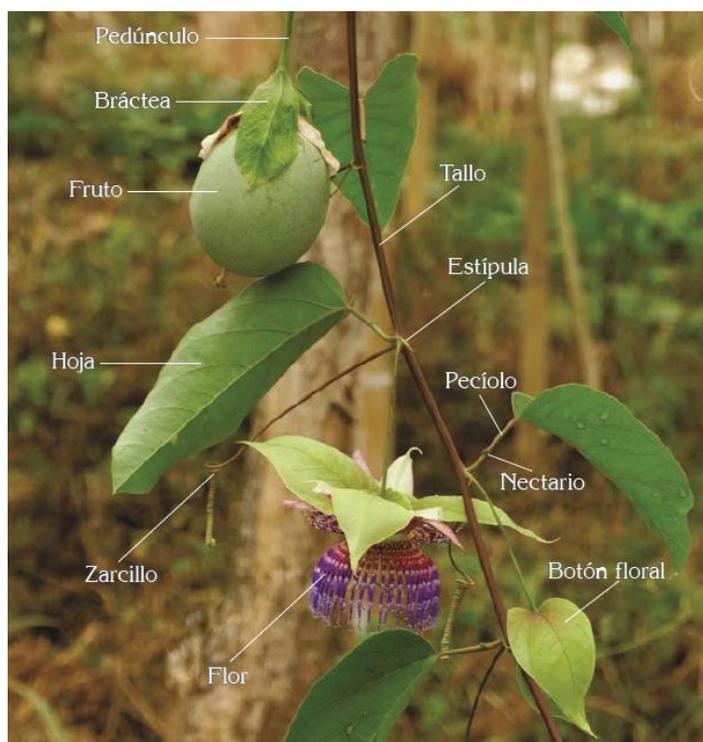
Es considerada como una de las plantas insignias de la región (Figura N° 4.4), más aún, cuando su denominación es de origen huilense (Ocampo *et al.*, 2015). Esta especie vegetal carece de estudios científicos de profundidad en cuanto a la caracterización de sus metabolitos secundarios, aceites esenciales y usos potenciales a nivel medicinal que aporten al desarrollo del departamento.



Figura N° 4.4. Fruto y flor de *Passiflora maliformis* L. Fuente: (Botanical Wonderland, 2014)

En un estudio completo del cultivo de la cholupa realizado por Ocampo et al., (2015), se afirma que esta especie es originaria del norte de Ecuador, Colombia, Venezuela y las Antillas, sin embargo, fue llevada a Europa para ser cultivada ornamentalmente en jardines botánicos. También, se aprecia que su descripción taxonómica fue realizada en la isla antillana de Dominica en 1753 por el reconocido botánico Carlos Linneo, registrándola con el nombre de *Passiflora maliformis* L. en su libro *Species plantarum*, denominación que significa “semejante a la manzana”.

En cuando a la descripción morfológica de la planta (*figura N° 4.5*), se conoce que esta es una liana trepadora semi-perenne, posee un sistema radical fasciculado, fibroso y ramificado. Su tallo es cilíndrico, glabro de color verde. Sus hojas son verdes de tipo lanceoladas u oblongolanceolada. La flor se encuentra usualmente solitaria, pendular, pentámera y hermafrodita. El fruto se caracteriza por ser una baya esférica de cáscara resistente, lisa y cerosa. Finalmente, las semillas corresponden entre el 3 y 14 % del peso final del fruto (Ocampo et al., 2015).



*Figura N° 4.5.* Aspecto morfológico de *Passiflora maliformis* L. Fuente: (Ocampo et al., 2015)

#### 4.4. *Passiflora ligularis* Juss

Al igual que la especie anterior, la granadilla (*figura N° 4.6*) es una de las pasifloras ampliamente cultivadas en el departamento del Huila que aporta al desarrollo económico de la región (Ocampo J. , 2013). Además, también suele cultivarse en departamentos como Cundinamarca, Boyacá, entre otros. Por otra parte, el fruto de esta planta está incluido en la apuesta exportadora de Colombia en la vigencia 2019 (Melgarejo, 2015). Por otro lado, se considera como una planta exótica originaria de América Tropical, cultivándose desde México hasta el norte de Argentina, no obstante, algunos de los principales países productores de esta especie son Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia (Bernal & Cabrera, 2006).



*Figura N° 4.6.* Hojas, flor y fruto de *Passiflora ligularis* Juss. Fuente: (Ocampo, 2018)

En cuanto a la morfología de la planta, Cerdas & Castro (2003) describen que esta es una planta de polinización cruzada, cuyo sistema radical es superficial. Sus hojas presentan una coloración verde, de forma acorazonada, alternas con nervaduras en el

envés. Sus flores, en gran parte de color violeta, se encuentran usualmente en pares, cuyo péndulo mide aproximadamente 4.0 cm. El fruto, presenta una baya ovoide, con una cáscara quebradiza, con un contenido estimado de 200 semillas, estas son de color negro y en forma acorazonada.

Por otra parte, algunos de los usos que se han reportado para esta especie, van desde medicina tradicional, pasando por la gastronomía y llegando hasta usos agrícolas. Por ejemplo, su flor en estado joven se utiliza como descongestionante nasal, sus partes aéreas para tratar la diarrea, el fruto como calmante gástrico, las hojas para aliviar contusiones, el bejuco para curar las hernias. Así mismo, se pueden elaborar bebidas y postres con su fruto. En cuanto al sector agrícola, a partir de los desechos de la cosecha se puede elaborar un abono orgánico, además, la flor sirve como control fitosanitario orgánico, e inclusive, como atrayente en la apicultura (Carvajal et.al, 2014).

## 4.5. Antecedentes

En este apartado se incluyen algunas de los estudios más relacionados con la obtención, extracción, caracterización química y aplicaciones biológicas de las sustancias aisladas del género *Passiflora*, publicados en la literatura científica. Además, se presenta una amplia revisión con algunos estudios que datan de 1961 hasta 2018.

### 4.5.1. Internacionales.

En 1961 se reportan los primeros estudios sobre la caracterización preliminar de flavonoides en especies de passifloras.

Los autores Ulubelen, Oksuz, Mabry, & Dellamonica (1982) publicaron estudios mediante cromatografía de algunos C-glicosilflavonoides en cuatro especies de *passifloras* (*Passiflora pittieri*, *Passiflora alata*, *Passiflora ambigua* y *Passiflora adenia manni*). Así, el Isoschaftósido (*figura N° 4.7*) fue identificado en trazas en una cantidad de 25 mg en hojas de *Passiflora manni*. También se identificó la presencia de algunos carbohidratos como: glucosa, galactosa y sacarosa. Más tarde, reportaron 17 flavonoides ya conocidos del género *Passiflora* (Ulubelen, Mabry, Dellamonica, & Chopin, 1984). En esta determinación se logró elucidar una flavona de *Passiflora palmeri* Rose, empleando las técnicas de espectrofotometría UV y de resonancia magnética de protón (RMN). Las extracciones y separaciones fueron realizadas en ambos casos mediante cromatografía en columna.

En un estudio llevado a cabo por Ferreres, Sousa, & Valentao (2007) se identificó la presencia de flavonas en la especie conocida comúnmente como gulupa (*P edulis* Sims) por la técnica de cromatografía líquida de alta resolución con detector de arreglo de diodos. Adicionalmente, se evaluó el efecto de los extractos con potencial antioxidante, en virtud de la cual, se logró registrar por primera vez algunos derivados desconocidos de luteolina y apigenina (*figura N° 4.8*). La actividad antioxidante (mediante ensayo DPPH) se consideró dependiente de la concentración de los extractos de hojas para el atrapamiento de radicales libres a través de procesos redox.

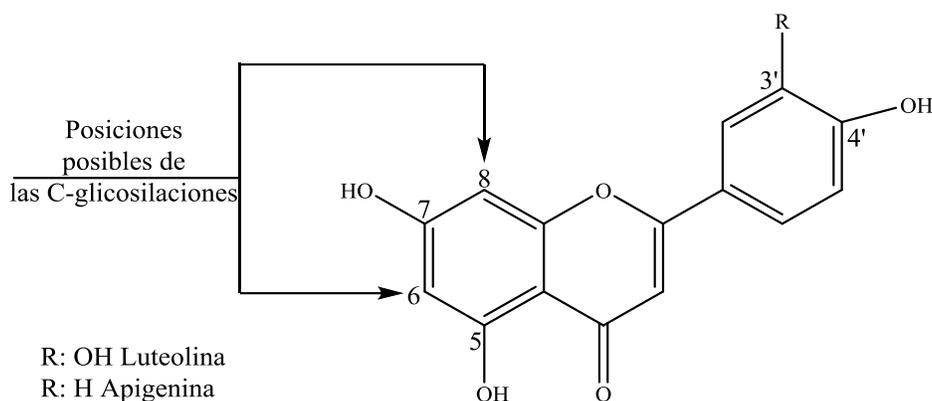


Figura N° 4.7. Flavonas derivadas de Luteolina y Apigenina. Fuente: (Ferrerres et al., 2007)

De igual manera, en Colombia se tienen reportes que han contribuido con la caracterización química de especies de *passifloras* (Ramos, Castellanos, López, Palacios, Duque, Pacheco & Guzmán, 2010). Así, conocimientos etnobotánicos sobre la curuba (*Passiflora tripartita* var. *mollissima*) permitieron el aislamiento de un nuevo compuesto del extracto etanólico de hojas. Para su identificación fue necesario el empleo de técnicas espectroscópicas de resonancia magnética nuclear, espectrometría de masas y espectrofotometría UV.

Por otro lado, Colomeu, Figueiredo, Cazarin, Schumacher, Maróstica, Meletti & Zollner (2014) evaluaron las hojas de *Passiflora alata* Curtis en cuanto a su capacidad antioxidante, en tres extractos diferentes: acuoso, metanol/acetona y etanol. Se encontró que el extracto acuoso era el mejor disolvente para la recuperación de compuestos fenólicos, como antioxidantes naturales, y como agentes antiinflamatorios, ayudando al control de la diabetes.

Compuestos volátiles libres fueron obtenidos por extracción líquida y analizados mediante cromatografía de gases y espectrometría de masas (CG/MS). A partir del aroma de esta fruta, fueron identificados 24 compuestos (Agudelo, Suárez, & Duque, 2011), tales como:

- 3-hidroxihexanoato de metilo
- Hexanoato de metilo.

- 5-hidroxihexanoato de metilo
- 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona
- Butirato de metilo
- 5-oxo-hexanoato de metilo
- (E)-2-hexenoato de metilo

Otros estudios más recientes tratan sobre la capacidad de nano emulsión del aceite de semillas de *Passiflora tripartita* var *mollissima* para desarrollarlas en fase aceite-agua. (Hernández, Martínez, Rojas & Aragón, 2018)

En una amplia y completa revisión por (Dhawan et al., 2004) se reporta la mayor cantidad de compuestos del género *Passiflora*. Se resume en la tabla N° 4.1 los usos etno-farmacológicos y fitoconstituyentes generales de una gran variedad de especies.

Tabla N° 4. 1. Nociones etno-farmacológicas a nivel internacional con especies de Pasifloráceas. (Dhawan et al., 2004; Taiwe & Kuete, 2017)

País	Especie	Usos
Brasil	<i>P. alata</i> ; <i>P. caerulea</i>	Ansiolítico, sedante, diurético y analgésico
México/Holanda	<i>P. caerulea</i>	Sedante, vermífugo
Italia	<i>P. caerulea</i>	Antiespasmódico, sedante
Mauritius (África)	<i>P. caerulea</i>	Insomnio
Argentina	<i>P. caerulea</i>	Agente antimicrobiano
	<i>P. capsularis</i>	Emenagogo
	<i>P. contrayerva</i>	Reconocido contra-veneno
Sur América	<i>P. edulis</i>	Sedante, diurético, antihelmítico, antidiarreico, estimulante, tónico, tratamientos de hipertensión, síntomas de menopausia y cólicos en bebés.
Sur América	<i>P. edulis</i>	Alcoholismo, ansiedad, migraña, nervios e insomnio asma, bronquitis y resfriados.
Nigeria	<i>P. edulis</i>	Histeria e insomnio
India	<i>P. edulis</i>	Vértigo, dolor de cabeza, asma. La fruta se utiliza como emético.
Brasil	<i>P. edulis</i>	Ansiolítico, sedativo, diurético analgésico, antiespasmódico, antiasmático y wormicida.
Iraq	<i>P. edulis</i>	Narcótico y sedativo
Turquía	<i>P. edulis</i>	Dismenorrea, epilepsia, insomnio, neurosis y neuralgia.
Polonia	<i>P. edulis</i>	Histeria y neurastenia.

...continuación Tabla N° 4.1

País	Especie	Usos
		incluyen abstinencia de alcohol, antibacteriano, anticonvulsivo, antiespasma, afrodisíaco, asma, trastorno de hiperactividad por déficit de atención, quemaduras (piel), cáncer, dolor crónico, tos, adicción a las drogas, virus de Epstein-Barr, infecciones por hongos, malestar gastrointestinal (estómago nervioso), infección por <i>Helicobacter pylori</i> , hemorroides, hipertensión arterial, síntomas menopáusicos (sofocos), dolor nervioso, dolor (general), inflamación de la piel, tensión y prevención de arrugas
Sudáfrica	<i>P. edulis</i>	
Madeira (Portugal)	<i>P. edulis</i>	Estimulante digestivo, remedio para carcinoma gástrico
Nagaland (India)	<i>P. edulis</i>	Extracto de hojas usado para el tratamiento de disenteria e hipertensión
Nigeria	<i>P. foetida</i>	El fruto usado para aliviar constipación
India	<i>P. foetida</i>	Mareos, dolor de cabeza, nauseas, asma, vomitivo, emenagogo, histeria
Brasil	<i>P. foetida</i>	Erisipela y enfermedades inflamatorias de la piel
Europa	<i>P. incarnata</i>	Insomnio, ansiedad,
Norte América	<i>P. incarnata</i>	Sedante
Brasil	<i>P. incarnata</i>	Analgésico, antiespasmódico, antiasmático, germicida y sedante
Iraq	<i>P. incarnata</i>	Narcótico y sedante
Turquía	<i>P. incarnata</i>	Dismenorrea, epilepsia, insomnio, neurosis y neuralgia
Polonia	<i>P. incarnata</i>	Neurastenia e histeria
América	<i>P. incarnata</i>	Diarrea, dismenorrea, neuralgia, quemaduras, hemorroides e insomnio
Trinidad	<i>P. laurifolia</i>	Tratar palpitaciones nerviosas del corazón
Brasil	<i>P. maliformis</i>	Fiebres
Caribe	<i>P. quadrangularis</i>	Sedante , tratar dolores de cabeza,, infusiones de las hojas se toman para la presión sanguínea y para la diabetes
(África)	<i>P. suberosa</i>	Enfermedades de la piel, emenagogo, histeria
América central	<i>P. pedunculata</i> ; <i>P. sexflora</i>	Partes aéreas para mordeduras de serpientes

En este artículo se reporta la presencia en esta familia de alcaloides, fenoles, glicosilflavonoides y compuestos cianogénicos, así mismo, se comenta que hay un gran cantidad de estudios con *Passiflora incarnata* y *Passiflora edulis* y estudios parciales con las demás especies.

En (Patel, Soni, Mishra, & Singhai, 2011) se hace una revisión de *Passifloras*, resaltando nuevas áreas de investigación enfocadas en el aislamiento, importancia de

fitoconstituyentes con potencial uso farmacológico. Para ello, se hace una inspección en cuanto a la morfología, etnofarmacología, fitoconstituyentes de *P. edulis*, *P. incarnata*, principalmente. La revisión general enlista un total de 33 especies en relación a su composición química.

Estudios cualitativos y cuantitativos a partir de métodos modernos se detallan en (Silva & Bottoli, 2015), donde consideran las técnicas de cromatografía de capa fina (TLC), cromatografía líquida de alta resolución (HTPLC), cromatografía líquida de ultra alta resolución (UHPLC), cromatografía de gases (CG) y electroforesis capilar (CE).

Gadioli, Barreto, Oliveira, Costa, & Oliveira (2016) realizaron un estudio completo sobre compuestos fenólicos de la familia Passifloraceae mediante métodos analíticos de cromatografía y espectrometría. Allí señalan que, los estudios realizados con hojas fueron los más concurrentes (54.4%), además los compuestos que comúnmente se encontraron fueron la Orientina (figura N° 4.9), Isoorientin, Vitexina (figura N° 4.10), e Isovitexin.

Una publicación reciente relacionada con la determinación de compuestos fenólicos y el potencial antioxidante en tres especies del género *Passiflora* fue realizado por Rotta, Rodrigues, Sales, Maldaner, & Visentainer (2018). En este estudio emplearon algunas modificaciones al método de extracción de fase sólida QuEChERS por sus siglas en inglés (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe). Las especies empleadas fueron *Passiflora edulis*, *Passiflora alata* y *Passiflora ligularis*, y para el análisis se utilizó la pulpa de la fruta. La caracterización química de estas especies se efectuó mediante la técnica UHPLC-MS / MS. *P. edulis* presentó mayor abundancia de ácido vanílico ( $426 \pm 29 \mu\text{g} / \text{kg}$ ) y quercetina ( $416 \pm 6 \mu\text{g} / \text{kg}$ ). En *P. alata* y *P. ligularis* se encontraron niveles altos de rutina ( $289 \pm 6 \mu\text{g} / \text{kg}$ ) y de ácido cafeico ( $64 \pm 2 \mu\text{g} / \text{kg}$ ) respectivamente. En esta investigación fue determinado el contenido fenólico total y las pruebas de capacidad antioxidante con los ensayos DPPH y ABTS.

#### **4.5.2. Perspectiva de Investigaciones con Indicaciones Clínicas**

En el artículo escrito por Elsas, Rossi, Raber, White, Seeley, Gregory, Mohrb, Pfankuchb & Soumyanatha, (2010) enseñaron el estudio con *Passiflora incarnata*, optimizando técnicas de extracción de flavonoides en función de calor-frío y cuantificando por HPLC-DAD. Los extractos fueron probados para conocer su potencial anticonvulsivo y ansiolítico en ratones.

En una revisión de Traub (2012) se describen los principales componentes activos de esta familia. Por lo tanto, los extractos de *Passiflora incarnata* y *Passiflora alata* obtenidos en periodos de floración y maduración y analizados por cromatografía de capa fina, permitieron identificar los glucósidos de apigenina, luteolina, vitexina, isovitexina, y los C-glucósidos: kaempferol, quercetina, y rutina; alcaloides de núcleo indólico 0.01% como el harmano, harmol, harmalina; derivados cumarínicos; glucósidos cianogénicos (ginocardina); aminoácidos; ácidos grasos (linoleico y linolénico); maltol; fitosteroles (stigmasterol) y azúcares (sacarosa). En la *Figura N° 4.8* se presentan algunas estructuras derivadas de estudios con Passifloras (Traub, 2012).

Traub (2012) agrupa distintas investigaciones recientes donde se abarcan estudios clínicos sobre la ansiedad empleando especies de passifloras. En China, usaron ratones para probar efectos ansiolíticos con *Passiflora edulis* y *Passiflora edulis* var. *Flavicarpa*. En Brasil, un equipo de investigación evaluó el efecto ansiolítico de los extractos acuosos de *Passiflora edulis* y *Passiflora alata*. En la universidad de Florida (USA) se emplearon fracciones del extracto hidroalcohólico de *Passiflora incarnata*, para probar la capacidad ansiolítica. En 2001, en Irán se reporta un estudio con *Passiflora incarnata*. El fármaco Oxacepam fue requerido en el tratamiento generalizado sobre desórdenes de ansiedad. Además, el autor menciona otros estudios a nivel mundial con algunos ensayos *in-vitro* aplicados a pacientes, así como estudios sobre efectos ansiogénicos.

Una revisión de Miroddi, Calapai, Navarra, Minciullo & Gangemi (2013) describe la farmacología, la eficacia y la seguridad clínica sobre la especie *Passiflora incarnata* L. Más específicamente, se hacen descripciones botánicas, usos etnomedicinales, fitoquímica, estudios clínicos sobre ansiedad, tratamientos para abstinencia de opiáceos, síntomas menopáusicos insomnio, desorden de déficit de atención e hiperactividad (ADHD).

En el estudio realizado por Colomeu *et al.* (2014), el potencial antioxidante y antidiabético en diabetes mellitus tipo 1 fue evaluado con la especie *Passiflora alata* Curtis. Los autores concluyen que los extractos acuosos de esta especie comunmente conocida como Maracúa, puede actuar como agente antiinflamatorio ayudando en el control de la diabetes. Para evaluar la capacidad antioxidante, se examinaron las técnicas de radicales de barrido (DPPH), poder de reducción férrico (FRAP), inhibición de radicales libres ABTS y absorbancia del radical oxígeno (ORAC). Para el ensayo biológico se inyectaron ratones con los extractos disueltos de *P. alata* Curtis.

De acuerdo a Saravanan & Parimelazhagan (2014), los extractos de *Passiflora ligularis* Juss poseen gran capacidad antioxidante, antidiabética y antibacterial. Se hicieron algunas pruebas de radicales libres y se empleó el método de difusión en disco para la prueba biológica *in vitro* con cepas de *Aspergillus niger* y *Candida albicans*.

#### 4.5.4. Nacionales y Regionales.

A nivel nacional, se reportan estudios con algunas especies de pasifloras para evaluar su capacidad antioxidante, poder reductor y contenido de fenoles. La actividad antioxidante fue medida como la habilidad para atrapar los radicales, el potencial para poder reducir el hierro y el contenido de fenoles por el método de Folin-Ciocalteau. Por lo tanto, los frutos y las hojas de *Passiflora quadrangularis* (Badea), *Passiflora maliformis* (Cholupa), *Passiflora ligularis* Juss (Granadilla), *Passiflora edulis* var. *edulis* (Gulupa) y *Passiflora edulis* var. *flavicarpa* (Maracuyá) según Carvajal *et al.* (2011) exhibieron mayor capacidad antioxidante. Se presume la presencia de agentes reductores como el ácido ascórbico y algunos carotenoides en los extractos de estas especies. Los frutos de granadilla silvestre y de las hojas de gulupa presentaron mejores resultados.

De la gran variedad de especies de pasifloras identificadas en el departamento, se pueden mostrar algunos de los aportes investigativos que van desde estudios etnobotánicos hasta pruebas químicas.

A nivel regional, se han descrito diversos usos tradicionales de varias especies de pasifloras. Carvajal *et al.* (2014) describe 92 usos de estas especies, como resultado de las entrevistas a 74 familias campesinas. Así mismo, reportó mediante un análisis fitoquímico la presencia de compuestos fenólicos, triterpenos, esteroides y flavonoides en *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* O. Deg (Maracuyá), *Passiflora tripartita* var. *mollissima* [Kunth] HolmNiels (Curuba), *Passiflora quadrangularis* L. (Badea), *Passiflora maliformis* L. (Cholupa), *Passiflora edulis* Sims. (Gulupa) y *Passiflora alata* Curtis (Maracúa).

Para el caso de *Passiflora maliformis* L., Carvajal *et al.* (2014) reporta el análisis preliminar de los metabolitos secundarios y de los usos potenciales encontrados en muestras recolectadas en la vereda Los Medios, del municipio de Rivera, Huila, tal como se muestra en las tablas N° 4.2 y 4.3. Por lo tanto, el análisis preliminar permitió identificar la presencia de compuestos fenólicos, proteínas, flavonoides, leucoantocianidinas, compuestos lactónicos, saponinas, triterpenoides/esteroides, quinonas y alcaloides.

Tabla N° 4. 2. Diferentes usos potenciales de *P. maliformis* (Carvajal et al., 2014)

Usos	Parte usada	Estado de desarrollo
Curar hernias	Bejuco	Tallo en crecimiento
Alimentación	Fruto	Maduro
Elaboración de postres	Fruto	Maduro
Elaboración de bebidas	Fruto	Maduro
Alimentación animal	Fruto	Maduro
Perfumes	Flor	Madura

Tabla N° 4. 3. Marcha fitoquímica para Cholupa (*P. maliformis*).

Metabolito secundario	Parte aérea más reactiva
Compuestos fenólicos	Hojas
Cumarinas	Fruto
Leucoantocianidinas	Hojas
Taninos	Fruto
Flavonoides	Hojas
Triterpenos / esteroides	Hojas/Bejucos/frutos
Quinonas	No reactiva
Alcaloides	Hojas
Compuestos lactónicos	Fruto

También hay reportes sobre investigaciones más completas de *Passiflora maliformis* L. Sabogal *et al.* (2016) destaca algunas funcionalidades mediante el tratamiento químico y biológico de las semillas, arillo y pericarpo de esta especie recolectada en el municipio de Rivera (Huila), en contraste con la especie *Passiflora edulis* var. *flavicarpa* (Maracuyá). Según los autores, el análisis fitoquímico inicial permitió establecer la abundancia de taninos, pigmentos antociánicos y constituyentes terpénicos. También se verificó la capacidad antioxidante de la cáscara y semilla de la cholupa. En este proceso se utilizó un equipo de espectrometría midiendo los valores de absorbancia con base en la cinética de reacción. Adicionalmente, ensayos biológicos fueron realizados; uno de ellos consistió en evaluar la capacidad antimicrobiana a partir de sus extractos etanólicos del fruto y las semillas. Otras de las pruebas biológicas en este estudio fue la actividad citotóxica en leucocitos y la actividad antifúngica.

Por otro lado, Melgarejo (2015) realiza un completo estudio acerca de la ecofisiología del cultivo de granadilla (*Passiflora ligularis* Juss) tomando como

referencia cultivos ubicados en los municipios de La Argentina y Santa María , Huila. En este libro se tratan temas como carecterizaciones ecofisiológicas y fenológicas de la planta, carecterizaciones fisicoquímicas y bioquímica del fruto, manejos para la nutrición y buenas prácticas agrícolas, algunos datos acerca de la comercialización del fruto y recomendaciones para que nuevos agricultores se motiven a comercializar el fruto de esta especie.

Existen otros reportes en nuestro departamento con enfoques agroindustriales y en donde algunas veces refieren a los metabolitos secundarios con base a consideraciones etnobotánicas y fitoterapéuticas, aún así no hay autores propios de la region que investiguen este campo con un enfoque integrador de las ciencias.

#### **4.5.6. Estudios con Sustancias Volátiles del Género *Passiflora* L.**

En estudios realizados por Hiu & Scheuer (1961) se caracterizaron los aceites esenciales de algunas especies de *passifloras* por cromatografía en capa fina. Adicionalmente, se estudiaron las propiedades fisicoquímicas como el índice de refracción, rotación óptica específica, entre otros.

Buchbauer & Jirovetz (1992) realizaron un análisis mediante técnicas de cromatografía de gases (CG) y espectrometría de masas (CG/MS), para la determinación de algunos compuestos volátiles de *Passiflora incarnata* L. Los compuestos principales se representan en la *figura N° 4.12*.

Por otra parte, Arriaga, Craveiro, Machado, & Pouliquen (1997) realizaron un análisis de los constituyentes de la cáscara de *Passiflora edulis* Sims mediante cromatografía de gases y espectrometría de masas (CG/MS). La mayor cantidad de especies químicas encontradas fueron: 2-Tridecanona, en una proporción de 62.1%, ácido octadecenoico 16.6%, 2-Pentadecanona (6.2%), ácido hexadecanoico (3.2%), 2-Tridecanol (2.1%), ácido octadecanoico (2.0%) y el óxido de cariofileno (2.0%).

Nyanzi, Carstensen, & Schwack (2005) reportaron un análisis donde se obtuvo rendimientos entre 18.5% y 8.3% para cuatro variedades de pasifloráceas. Mediante la técnica CG se evidenció que los ácidos grasos principales fueron: el ácido linoleico(67.8–74.3%), ácido oleico (13.6–16.9%), ácido palmítico (8.8–11.0%), ácido

esteárico (2.2–3.1%), y el ácido  $\alpha$ -linolénico (0.3–0.4%). Las proporciones de ácidos grasos insaturados obtenidos fueron altos (85.4–88.6%).

- Hexanal (1.4%),
- Linalool (3.2%),
- 2-feniletanol (1.2%),
- Carvona (8.1%),
- Eugenol (1.8%).

Liu, Yang, Li, Zhang, Ji, Hong & Pengzhi, (2008) reportaron el valor nutricional de los aceites de las semillas de algunas pasifloras, encontrándose un 10.8% de proteínas, y un gran contenido de minerales (sodio, magnesio, potasio y calcio). En este estudio se determinó que los aceites de las semillas contenían dos ácidos grasos esenciales: el ácido linoléico en proporción de 72.69% y el ácido linolénico con una cantidad significativamente menor (0.26%).

Macoris, Janzanti, Garruti, & Monteiro, (2011) caracterizaron fisicoquímicamente fracciones volátiles de la pulpa de maracuyá. La extracción se hizo con un polímero poroso absorbente (Porapak Q) y la técnica de análisis instrumental utilizada fue por el método Head Space CG-FID y CG-MS. El butanoato de etilo correspondió al compuesto mayoritario en el producto (52% en porcentaje total de área).

En un trabajo realizado por Carvalho, Shinagawa, Da Silva, Costa & Mancini (2015) se realizó el estudio a partir de las semillas de *Passiflora setacea*, mediante extracción tipo Soxhlet con dietil éter por 8 horas a 60 grados Celsius. Para la identificación se empleó CG-FID en donde se determinó el ácido Linoléico como el compuesto graso mayoritario (68.75 a 71,54 %).

También, en estudios que relacionan directamente los AE de *Passifloras* describen las sustancias químicas identificadas por CG.-MS y la medición de rendimientos. Chóez, Herrera, Martínez & Manzano (2015) extrajeron los AE de cáscara, pulpa y semillas de *Passiflora ligularis* Juss mediante la técnica de hidrodestilación asistida por radiación microondas (HDMW), reportando Escualeno como el componente mayoritario de los AE (34.92%).

Del mismo modo Chóez, Ortega, Miranda & Manzano (2017) en un análisis con semillas de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* (maracuyá) encontraron Ionol (12.10%) como el componente mayoritario de los AE.

Calevo, Giovannini, De Benedetti, Braglia, Robustelli, Saverio & Tava (2016) reportaron la composición química y el rendimiento de los AE de las flores y hojas de tres híbridos ornamentales de especies del género *Passiflora*. Las extracciones se realizaron por HDMW y la caracterización química por CG-MS. Entre los compuestos principales cuantificados por CG-FID fueron: Fitol (38,5%), Eugenol (5,3%) y Geraniol (13,7%).

(Mamede, Soares, Oliveira, & Farah, 2017), realizaron otros análisis para determinar la composición química del aroma de *Passiflora alata* Curtis mediante micro extracción en fase sólida (SPME). Las determinaciones químicas se realizaron por CG-MS.

## **4.6. Referentes Conceptuales**

En este apartado se presentan algunos principios básicos de las sustancias producto del metabolismo secundario en plantas, aceites esenciales, terpenos, fenoles y compuestos nitrogenados. Algunas de las estructuras químicas derivadas de los antecedentes y estos referentes se presentan en la tabla N° 4.4.

### **4.6.1. Metabolitos Secundarios**

Se conoce la importancia en bioquímica de los procesos metabólicos como la formación de azúcares simples, aminoácidos, nucleótidos, ácidos grasos, polímeros y sus productos finales: polisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos y lípidos, entre otros (Berg, Tymoczko, & Stryer, 2012). Estos son requerimientos imprescindibles para la vida celular en procesos como fotosíntesis, respiración celular, transporte de sustancias, nutrición celular, diferenciación y síntesis de carbohidratos, proteínas y lípidos. Todo esto en conjunto constituye aspectos del metabolismo primario tanto para plantas como animales. Aquellos metabolitos que no parecen tener relaciones específicas con estos

procesos, son los metabolitos secundarios y son de gran estimación en procesos propios de las plantas.

Para (Sepúlveda, Porta, & Rocha, 2003, pág 105) afirman que:

*“...en su gran mayoría los metabolitos secundarios han surgido tras procesos adaptativos y genéticos en las plantas y son respuesta a la adaptación al medio, estos compuestos se liberan en situaciones de estrés biológico, respuestas a ataques de algunos herbívoros o utilizados como atrayentes para polinización.”*

Para Taiz & Zeiger (2006) los metabolitos secundarios se pueden diferenciar de los metabolitos primarios, estos últimos se encuentran en procesos bioquímicos en todo el reino vegetal; los metabolitos secundarios poseen ciertas restricciones ya que pueden ser comunes únicamente en especies de plantas afines o pueden ser sustancias específicas a una sola especie

La presencia de metabolitos secundarios ha permitido el uso de técnicas en espectroscopía y cromatografía para el aislamiento e identificación de estructuras químicas favoreciendo varios campos de estudio.

Los metabolitos secundarios, aparte de sus estructuras complejas, son utilizados comercialmente para la industria farmacéutica, perfumería, pesticidas, saborizantes, que tienen un alto valor económico pese a su bajo volumen de producción (Vega, 2001).

También, Taiz & Zeiger (2006) ilustran las principales rutas de biosíntesis de metabolitos secundarios y su relación con el metabolismo primario, tal como se muestra en la *figura N° 4.13*. Para estos autores las estructuras químicas de los metabolitos secundarios tienen tres grupos principales: terpenos, fenoles y compuestos que contienen nitrógeno (principalmente alcaloides).

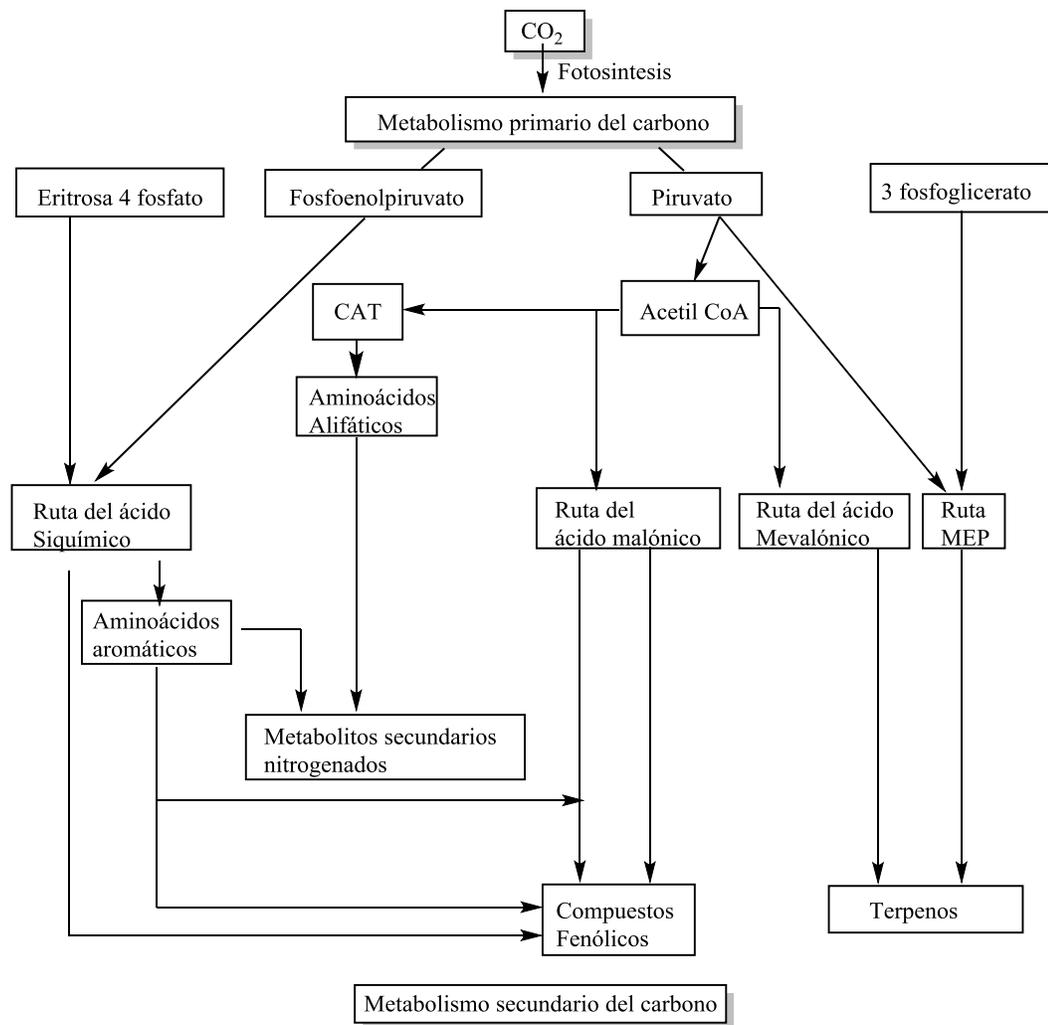


Figura N° 4.9. Relaciones entre los procesos del metabolismo primario y secundario del carbono (Taiz & Zeiger, 2006, pág 375)

Para la obtención este tipo de metabolitos, se utilizan algunas vías biosintéticas como la ruta acetato-mevalonato, que se caracteriza por ser la precursora de isoprenoides o terpenos, compuestos formados por unidades de isopentil difosfato (IPP) y su isómero dimetil-alil-difosfato (DMAPP). Esta ruta empieza con la condensación de dos moléculas de acetil-coenzima A (CoA) debido a la acción de tres enzimas que producen ácido mevalónico, convirtiéndose en el primer intermediario de esta ruta metabólica y otorgando su nombre. Posteriormente, gracias a tres enzimas adicionales, el ácido

mevalónico es transformado a IPP. Luego, la enzima IPP isomerasa (IDI) emplea este compuesto como sustrato para producir DMAPP (León & Guevara García, 2007).

Otra ruta importante es la del ácido shikímico, esta es únicamente empleada por microorganismos y plantas superiores, a través de esta se originan los aminoácidos esenciales fenilalanina, triptófano y tirosina; también alcaloides, antibióticos, cumarinas, lignanos, fenilpropanoides, compuestos aromáticos simples, taninos hidrolizables y quinonas. En síntesis, esta ruta y la del acetato-malonato permiten la formación de casi todos los compuestos secundarios aromáticos de origen natural. Como su nombre lo indica, el ácido shikímico es el intermediario central, aislado originalmente en plantas del género *Illicium*, este ha demostrado ser el material de partida para la síntesis del antiviral oseltamivir, un medicamento antiviral selectivo contra el virus de la influenza producido por la casa Roche bajo la marca Tamiflu® (Arango Acosta, 2010).

#### 4.6.2. Aceites Esenciales.

Los aceites esenciales son mezclas complejas de hasta más de 100 sustancias naturales volátiles, producto del metabolismo secundario de las plantas; principalmente constituidos por compuestos alifáticos de bajo peso molecular, monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanos. Estos compuestos suelen ser incoloros cuando están frescos y a temperatura ambiente, con aromas característicos, de altos índices de refracción, son ópticamente activos y escasamente solubles en agua (Montoya, 2010)

En las plantas, en muchas ocasiones le brindan su aroma característico, se producen en cantidades apreciables (0.5-6%) en las llamadas “plantas aromáticas”, también, cumplen funciones muy diversas, por ejemplo, como agentes de defensa, o atractores de insectos para su polinización (Stashenko, 2009).

Estas sustancias se pueden clasificar por dos factores, ya sea por su consistencia o su origen. Por su consistencia en **esencias fluidas**, que se caracterizan por ser líquidos muy volátiles; en **balsamos**, siendo de consistencia más espesa; o como **oleorresinas**, como líquidos muy viscosos o semisólidos que contienen el aroma de la planta muy concentrado. En cuanto a su origen, los aceites se clasifican como **naturales**, cuando se obtienen directamente de la planta, el bajo rendimiento los hace más costosos; como **artificiales**, cuando los aceites sufren procesos de enriquecimiento del componente mayoritario y como **sintéticos**, cuando son producidos a partir de la síntesis química, siendo productos más económicos (Stashenko, 2009).

Ciertas propiedades medicinales, hacen de los aceites esenciales, objeto de estudio para producción de nuevos fármacos. En general han sido utilizados a lo largo de la historia como remedios caseros, pues se le han atribuido, y en muchos casos evaluado, su potencial antioxidante, antibacteriano o anti fúngico, pudiendo ser aprovechados también para la elaboración de productos de aseo personal, cosméticos, como conservantes, entre otros (Stashenko, 2009).

Algunos reportes de estudios científicos (Martínez A. , 2001) han comprobado que:

*“los componentes de aceites esenciales como el limoneno y derivados hidroxilados han mostrado potencial uso en la quimioterapia del cáncer mamario, el caparratrieno aislado del aceite de la especie colombiana Ocotea caparrapi, Lauraceae, presenta actividad contra células de leucemia CEM”.*

A partir de la producción de aceites esenciales, ha surgido la aromaterapia, una de las disciplinas de la medicina natural. Esta técnica ha aportado para el desarrollo de tratamientos anti infecciosos que se llegan a comparar con tratamientos de la antibiótico-terapia, con la ventaja de producir menos efectos secundarios y poca aparición de resistencias (López , 2004).

Por otro lado, a pesar de que sean considerados en el ámbito popular como productos naturales poco peligrosos, los aceites esenciales pueden llegar a ser tóxicos, esto se puede presentar ya sea por una sobredosificación, o por una toxicidad específica al presentarse algún componente que sea capaz de atravesar la barrera hematoencefálica, y así, alterar el sistema nervioso central, por ejemplo, la tuyona, que es abundante en plantas como ajeno, tuya y salvia (López, 2004).

### 4.6.3. Terpenos

Para Wade (2011) los terpenos vienen de una clasificación específica de los lípidos, estructuralmente están formados por “*esqueletos de carbono, compuestos por cinco unidades de Isopentilo (Isopreno)*” (figura N° 4.14). Estos compuestos son frecuentemente aislados de los aceites esenciales de las plantas por destilación por arrastre con vapor de agua. La carvona (véase figura N° 4.12, b) es un terpeno aislado de los aceites esenciales de las semillas de comino.

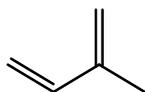


Figura N° 4.10. Isopreno

Los terpenos se clasifican según el número de átomos de carbono presentes en su estructura considerando 5 átomos de carbono por unidad de isopreno:

- Monoterpenos: con 10 átomos de Carbono (2 unidades de isopreno)
- Sesquiterpenos: 15 átomos de Carbono (3 unidades de isopreno)
- Diterpenos: 20 átomos de Carbono (4 unidades de isopreno)
- Triterpenos: 30 átomos de Carbono (6 unidades de isopreno)
- Tetraterpenos: 40 átomos de Carbono (8 unidades de isopreno)

Los terpenos en las plantas ayudan a prevenir el ataque de los herbívoros, ya que algunos actúan como toxinas y como repelentes de insectos. La mezcla de monoterpenos y sesquiterpenos volátiles (aceites esenciales) producen un olor característico en las hojas de las plantas. Muchos aceites esenciales tienen esta capacidad repelente. Taiz & Zeiger (2006, pág 370) estiman que “*las sustancias causales de esta actividad se encuentran en los pelos glandulares que se proyectan de la epidermis por lo tanto evita los ataques de los herbívoros antes de que sea tocada la planta*”.

### 4.6.4. Fenoles

Son aquellos compuestos hidroxilados aromáticos (presentan en su estructura el grupo OH ligado directamente a un anillo aromático). Experimentan algunas reacciones

similares a las de los alcoholes (Geissman, 1974, pág. 734). Algunos compuestos fenólicos presentan un carácter altamente ácido suprimiendo la fuerza alcalina de los grupos hidroxilo de su estructura. Además, para Jhonson & Pasto (2003), su acidez es intermedia entre los ácidos carboxílicos y los alcoholes; en las plantas son beneficiosos y actúan como agentes antimicrobianos (Domingo & López Brea, 2003).

En Castillo & Martínez, (2007) se distinguen los principales tipos de compuestos fenólicos con base en sus características mediante “*complejidades estructurales y origen biosintético*”; que se clasifican tal como sigue

- Fenoles (ácidos fenólicos y cetonas polifenólicas)
- Fenilpropanoides (cumarinas, cromonas, benzofuranos y lignanos)
- Xantonas
- Estilbenos
- Quinonas
- Flavonoides, clasificados en cinco grupos: Antocianinas; flavonoides menores, flavonas y flavonoles; isoflavonoides y los taninos condensados.

#### **4.6.5. Compuestos Nitrogenados**

Debido a su toxicidad y efecto medicinal en el hombre, se han destacado este tipo de sustancias especiales de interés biológico (Taiz & Zeiger 2006; Wade 2011). Al igual que otros metabolitos secundarios, estos compuestos orgánicos representan la base de mecanismos de defensa para la protección de las plantas, para ello se presentan las siguientes cualidades desde el nivel estructural hasta las funcionalidades específicas de algunos de estos compuestos.

##### **4.6.5.1. Alcaloides**

“*las aminas que se encuentran en la naturaleza se conocen como alcaloides*” (ver *figura N° 4.13*) (Wade Jr, 2011, pág. 74). Estos son metabolitos secundarios procedentes de aminoácidos, compuestos de nitrógeno en forma de un “heterociclo”, además de tener carbono e hidrogeno, algunos pueden tener otros elementos como el oxígeno y ocasionalmente azufre, pueden encontrarse naturalmente combinados con sustancias

(ácidos minerales y en su mayor parte orgánicos) (Castillo & Martínez, 2007) para formar:

- Citratos
- Maleatos
- Benzoatos
- Tartratos
- Aconitatos

De igual manera, para Castillo & Martínez (2007) se pueden dividir en tres grupos; Alcaloides verdaderos; Protoalcaloides y Pseudoalcaloides; de hecho, se prefiere incluir una forma de clasificación recurriendo a los aminoácidos. Las *figuras N° 4.15 y N° 4.16*, son ejemplo de alcaloides derivados de algunos de ellos.

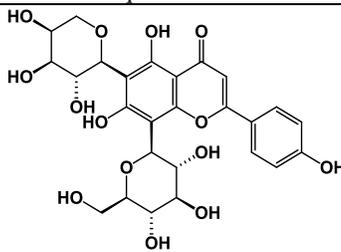
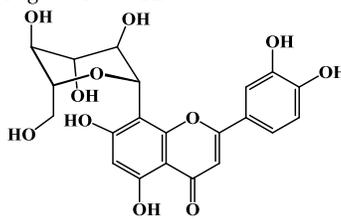
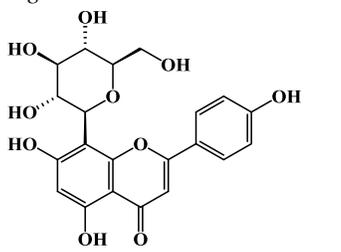
- Alcaloides derivados de la ornitina y la lisina
- Derivados de tirosina y fenilalanina
- Derivados del triptófano
- Derivados del ácido nicotínico
- Derivados de la histidina

En Passifloras los alcaloides identificados, refieren a aquellos de núcleo indólico (Poethke, 1970) las *Figuras N° 4.11* muestran las estructuras químicas algunos alcaloides encontrados en *Passiflora incarnata*.

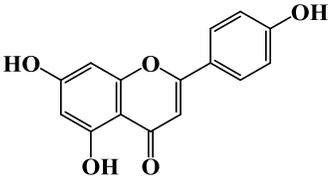
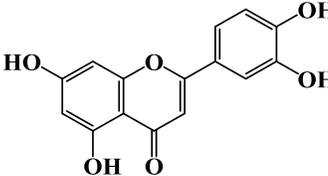
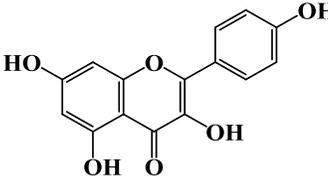
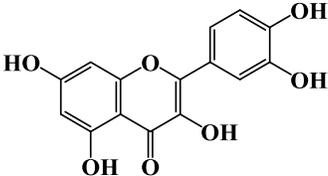
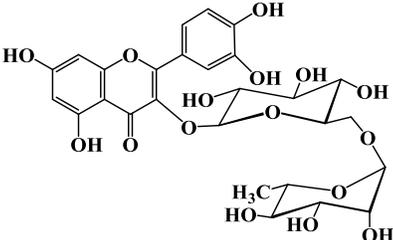
#### **4.6.5.2. Glucósidos cianogénicos**

Son otro tipo de metabolitos secundarios de defensa de las plantas. Según Soriano (2006), estas cianohidrininas están unidas a un azúcar y sus funciones en las plantas son activadas por hidrólisis enzimática para liberar cianuro de hidrógeno (HCN) este compuesto a nivel bioquímico inhibe la respiración celular. En las pasifloráceas se han identificado sustancias como prunasina (*figura N° 4.18*) y sambunigrina (Chassagne, Crouzet, Bayonove & Baumes, 1996).

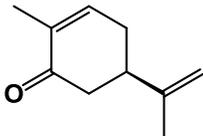
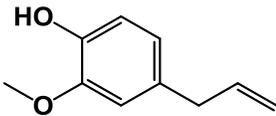
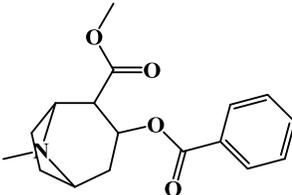
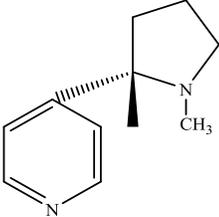
Tabla N° 4. 4. Algunos compuestos químicos identificados en estudios con especies del género *Passiflora*.

Metabolito	Nombre	Estructura química	Fuente
Flavonoide	Isoschaftosido	 <p><i>Figura N° 4.12.</i></p>	(Ulubelen et.al, 1982)
Flavonoide	Orientina	 <p><i>Figura N° 4.13.</i></p>	(Gadioli et al., 2016)
Flavonoide	Vitexina	 <p><i>Figura N° 4.14.</i></p>	(Gadioli et al., 2016)

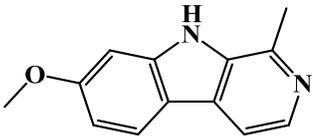
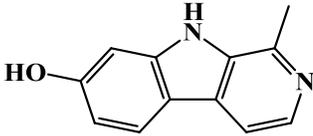
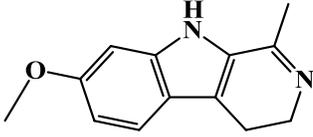
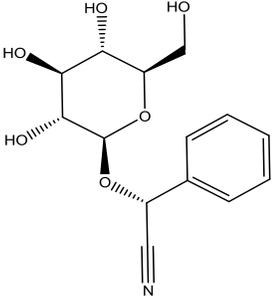
...continuación tabla N° 4.4.

Metabolito	Nombre	Estructura química	Fuente
Flavona	Apigenina	 <p><i>Figura N° 4.15. a)</i></p>	(Traub, 2012)
Flavonoide	Luteolina	 <p><i>Figura N° 4.16. b)</i></p>	(Traub, 2012)
Flavonol	Kaempferol	 <p><i>Figura N° 4.17. c)</i></p>	(Traub, 2012)
Flavonol	Quercetina	 <p><i>Figura N° 4.18. d)</i></p>	(Traub, 2012)
C-glucósido	Rutina	 <p><i>Figura N° 4.19. e)</i></p>	(Traub, 2012)

...continuación tabla N° 4.4.

Metabolito	Nombre	Estructura química	Fuente
Terpeno	Linalool	 <p><i>Figura N° 4.12. a)</i></p>	(Buchbauer & Jirovetz , 1992)
Terpenoide	Carvona	 <p><i>Figura N° 4.12. b)</i></p>	(Buchbauer & Jirovetz , 1992)
Alilbenceno	Eugenol	 <p><i>Figura N° 4.12. c)</i></p>	(Buchbauer & Jirovetz , 1992)
Alcaloide	Cocaína	 <p><i>Figura N° 4.20. Cocaína</i></p>	ChemDraw
Alcaloide	Nicotina	 <p><i>Figura N° 4.21. Nicotina</i></p>	ChemDraw

...continuación tabla N° 4.4.

Metabolito	Nombre	Estructura química	Fuente
Alcaloide	Harmina	 <i>Figura N° 4.17. a)</i>	(Poethke, 1970)
Alcaloide	Harmol	 <i>Figura N° 4.17. b)</i>	(Poethke, 1970)
Alcaloide	Harmalina	 <i>Figura N° 4.17. c)</i>	(Poethke, 1970)
Glucósido Cianogénico	Prunasina	 <i>Figura N° 4.18.</i>	(Chassagne et al., 1996).

## 4.7. Métodos de Análisis Instrumental

Los métodos de análisis instrumental han sido herramientas esenciales para el análisis químico y determinaciones cualitativas y cuantitativas, ayudando en campos de la medicina, farmacéutica, biología, química, medio ambiente, agricultura y otras áreas afines (Skoog, Holler & Crouch, 2008). Muchos de estos métodos aplican fundamentos de óptica, y radiación electromagnética en sus procesos de funcionamiento, estableciendo relaciones entre materia en interacción con las radiaciones de energía; de ello se derivan técnicas de análisis de espectroscopía de absorción molecular, fluorescencia molecular, espectroscopía atómica y de masas. De igual manera, se cuenta con los métodos de separaciones analíticas en los que resalta la cromatografía de gases y la de alta resolución.

Todas estas técnicas han servido para identificar, cuantificar y elucidar componentes químicos de mezclas. Para este estudio fue necesario utilizar la técnica de cromatografía de gases acoplada a masas, por tanto, en el siguiente apartado se mencionan algunos de sus principios y elementos más importantes, que permiten comprender el funcionamiento de esta técnica.

### 4.7.1. Cromatografía de Gases (CG)

En el estudio de los componentes obtenidos de materias primas de origen natural, frecuentemente se encuentra que los analitos presentan más de una especie química (mezclas complejas o multicomponente). Sin embargo, esta técnica se encarga de evadir estos problemas, favoreciendo la obtención de componentes químicos estimados mediante separación. Para ello se debe tener en cuenta: la naturaleza de los componentes de la mezcla, su grado de volatibilidad, masa molecular, polaridad entre otros.

*De acuerdo a Skoog et al., (2008), pág. 788: “La cromatografía basa su principio de separación de mezclas, ya que, mediante este método, la separación es un proceso físico que no altera el analito”*

La cromatografía de gases es una de las técnicas de separación más usadas en el análisis químico (tanto cualitativo como cuantitativo) mediante el cual se reparten los

componentes de una muestra en una fase móvil y una fase estacionaria; las especies químicas interaccionan con la fase estacionaria según su afinidad con ella (polaridad) y en función del tiempo de retención. La fase móvil cumple la función de arrastrar el analito en una columna capilar cromatográfica que tiene una longitud frecuentemente grande (20 a 60 metros), generalmente se debe utilizar un componente inerte gaseoso como fase móvil, el helio es el más utilizado, aunque también se ha utilizado argón, nitrógeno e hidrógeno.

Para Skoog *et al.* (2008), hay dos tipos de cromatografía: una para el sistema gas/líquido y también para gas/sólido. Esta última es limitada y no se tratará en este apartado, aun así, en la cromatografía que se utilizará se señalan algunos instrumentos para la cromatografía gas-líquido, tal como el sistema de gas portador, el sistema de inyección de la muestra, detector de espectrometría de masas y columnas para fases estacionarias. La *figura N° 4.19* muestra las partes del equipo, así como los esquemas de funcionamiento principal (*figura N° 4.20*).

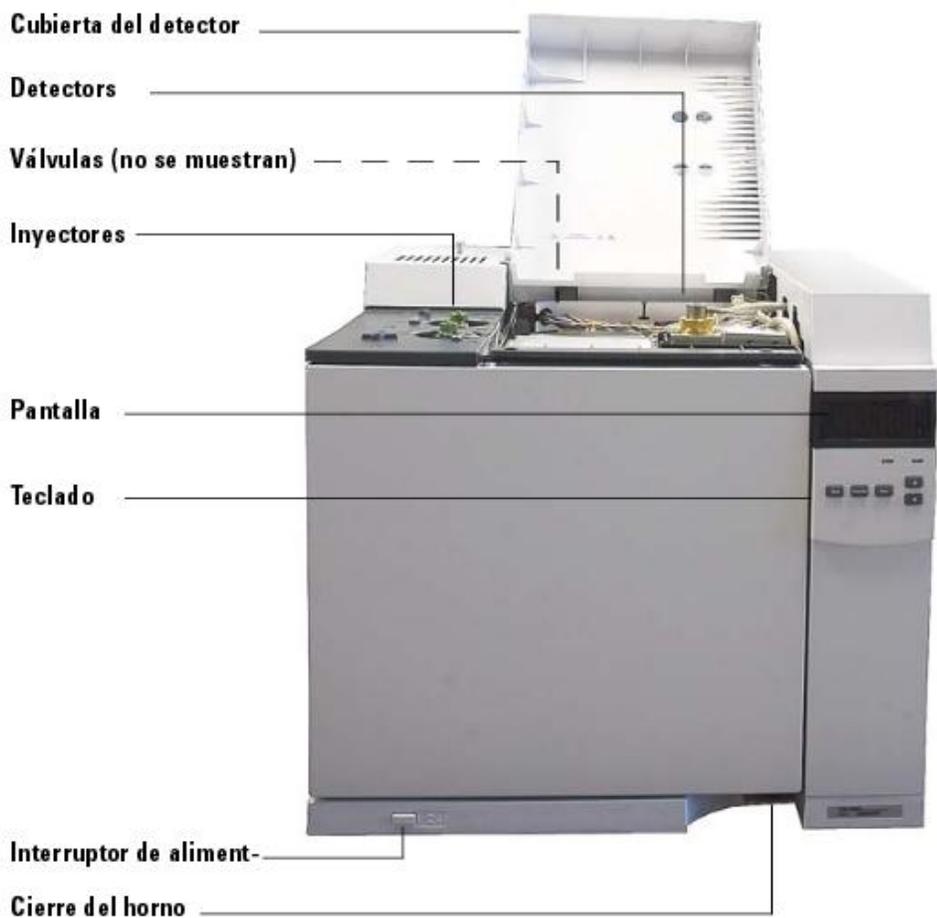


Figura N° 4.22. Cromatógrafo de gases. Fuente: (Agilent, 2011).

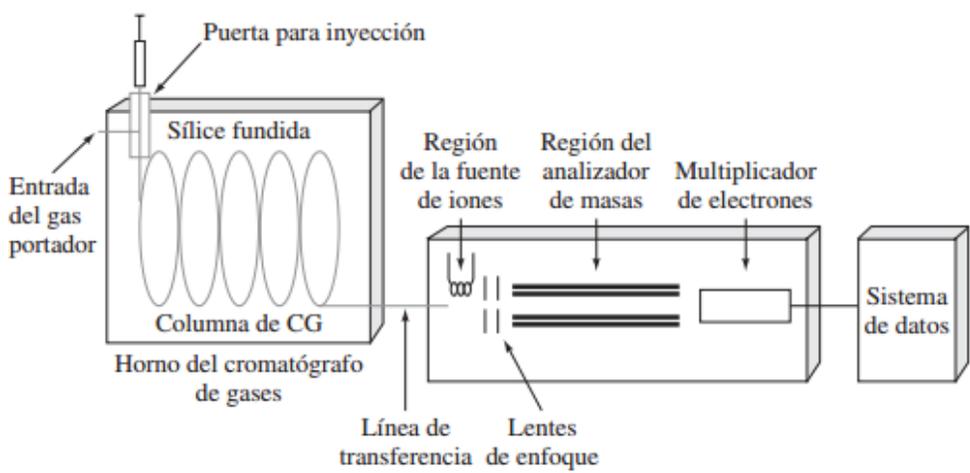


Figura N° 4.23. Secuencia de funcionamiento para cromatografía de gases acoplado a masas. Fuente: (Skoog, et al., 2008. Pág 198)

## 4.7.2 Espectrometría de Masas

Es importante diferenciar los procesos de espectroscopía y espectrometría de masas. La espectroscopía relaciona las interacciones de la materia y energía o sus procesos de interacción con fuentes luminosas del espectro electromagnético bajo las respectivas longitudes de onda. Los más frecuentes relacionan las regiones UV-Vis, FT-IR y corresponden a espectroscopias moleculares. Ahora, la MS permite obtener información muy importante de la fórmula molecular de un determinado analito donde experimentan procesos de rupturas o fragmentación. Para Wade (2011 pág. 539-540): *“Un espectrómetro de masas ioniza moléculas al alto vacío, clasifica los iones de acuerdo a sus masas y registra la abundancia de los iones de cada masa.”*

La muestra es irradiada por electrones de alta energía. Estos dependen de los diferentes modos de ionización: impacto electrónico EI, ionización química CI, ionización por campo FI, fotoionización PI, entre otros. El rompimiento de las moléculas viene dado por reacciones monomoleculares de disociación causadas por estas técnicas de impacto electrónico y la generación de iones fragmento. Los espectros de masas dependen en un alto grado de acuerdo con la naturaleza química de las moléculas analizadas, la energía de los electrones bombardeantes, los tiempos de vuelo de los iones desde la cámara de ionización a través del analizador hasta el detector, las presiones en el instrumento, la energía interna de los iones antes de su fragmentación y la energía de activación para la producción de iones cationes-radicales de interés en la interpretación espectral.

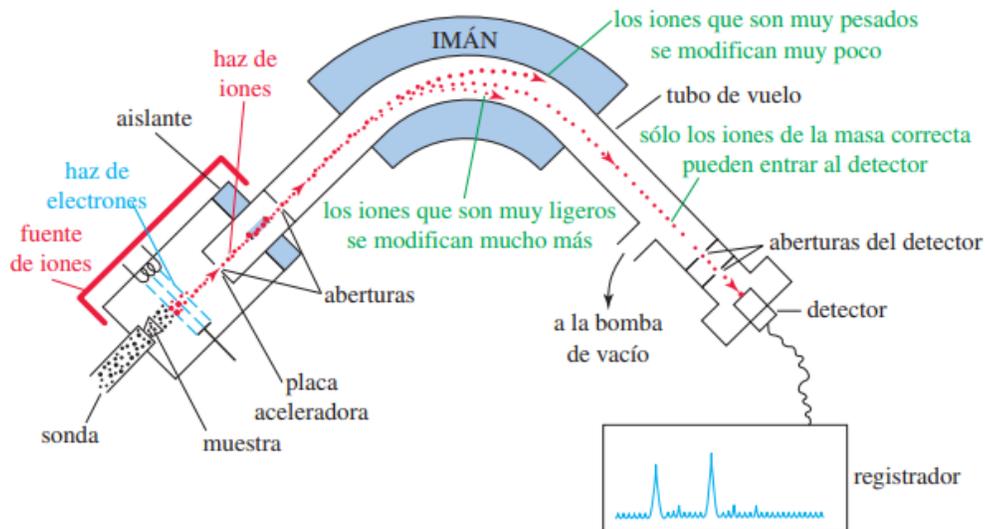


Figura N° 4.24. Diagrama representativo para Cromatografía de Gases con Espectrometría de Masas (CG-MS). Fuente: (Wade, 2011, pág. 542)

Los espectros de masas ofrecen información estructural muy importante. Las lecturas que resultan permiten observar el pico del ion molecular  $[M]^+$  y también señales del pico base. Estas son dos identidades principales de identificación para este tipo de espectros.

Los acoples en tándem de detectores en cromatografía de gases han sido muy útiles para la identificación selectiva de compuestos separados. La combinación CG-MS es “sinérgica” según Stashenko & Martínez, (2010) los procesos de separación y detección ocurren en la misma fase vapor y a presiones reducidas equivalentes. Para Wade (2011, pág. 542): “La CG-MS proporciona un tiempo de retención característico que sugiere compuestos posibles y confirma la estructura por medio de la comparación del tiempo de retención y del espectro de masas con las de una muestra auténtica.” La identificación puede ser presuntiva, confirmatoria (inequívoca) cuando se comparan los índices de retención y los espectros de masas experimentales tanto de las muestras problema y los patrones certificados con aquellos reportados en las librerías principales (Wiley, NIST, Adams) la etapa de cuantificación se puede obtener por curva de calibración o regresión. Además, estos análisis requieren la comparación bajo las mismas condiciones o parámetros fijados en los equipos de CG y el uso de columnas ortogonales.

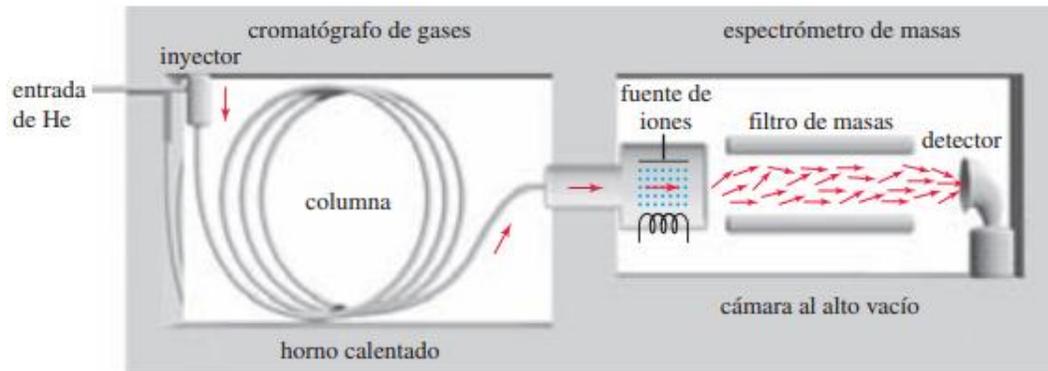


Figura N° 4.25. Diagrama representativo para Cromatografía de Gases con Espectrometría de Masas (CG-MS). Fuente: (Wade, 2011, pág. 542)

## 4.8. Métodos de Extracción de Aceites Esenciales

Ya que los aceites esenciales poseen fracciones volátiles de metabolitos secundarios, resulta necesario extraerlos mediante destilación, para ello se plantean tres técnicas las cuales permiten colectarlos. Además, las siguientes técnicas están clasificadas por escala y corresponden a nivel de laboratorio (Cerpa, 2007).

### 4.8.1. Hidrodestilación

Para Cerpa (2007) cuando la materia vegetal está en contacto con el agua generadora de vapor (*figura N° 4.23*) se le denomina hidrodestilación, este vapor penetra los tejidos de la planta y disuelve partes de los AE que se encuentran en algunas glandulas contenedoras, luego esta sustancia disuelta se distribuye por las membranas de las células permitiendo que se vaporicen los AE desde la superficie, de esta manera, se cumple todo un ciclo hasta que se remueven los AE contenidos en aquellas estructuras (pelos glandulares) de la planta donde se encuentran estos metabolitos (Torres, 2011).

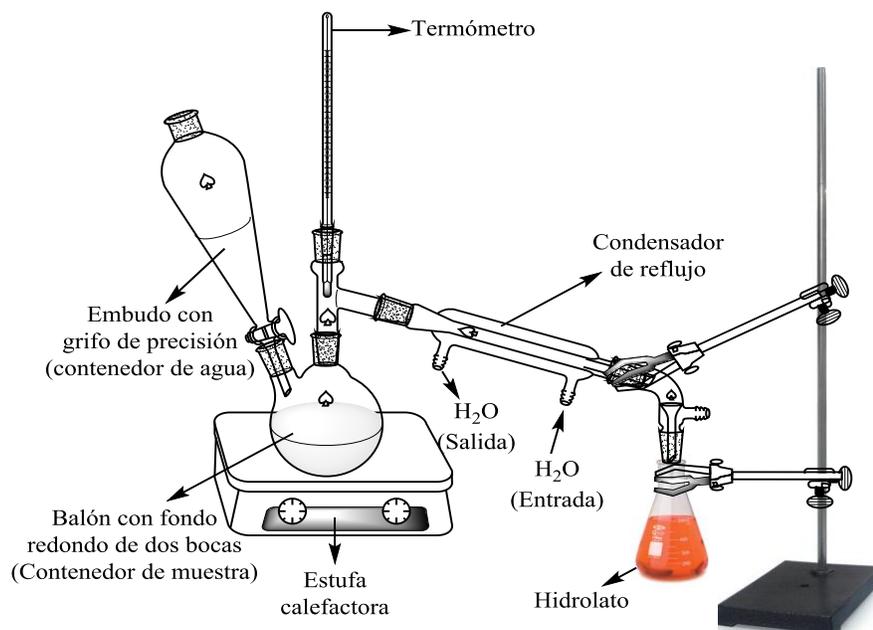


Figura N° 4.26. Hidrodestilación (HD), método directo.

#### 4.8.2. Destilación por Arrastre con Vapor de Agua

Para Serrato, Díaz & Barajas (2008), ya que los aceites esenciales son sustancias volátiles e insolubles en agua, se emplea esta técnica sobre el material vegetal (fresco) permitiéndose la máxima difusión de vapor sobre la muestra y evita que se reduzcan las pérdidas de compuestos de interés al utilizar diferentes métodos.

El principio de esta técnica (*figura N° 4.24*) es expresado en Ocampo, Ríos, Betancur & Ocampo (2008) donde se explica este proceso a partir de las diferencias entre el punto de ebullición de los aceites (mayor) en comparación con el del agua: “*Los materiales de punto de ebullición alto pueden aislarse y purificarse combinandolos en un proceso de destilación con algún liquido de punto de ebullición inferior (agua)*”

Para esta técnica, en Fuentes & Munguía (2001) se acopla un autoclave como generador de vapor unido a un refrigerante.

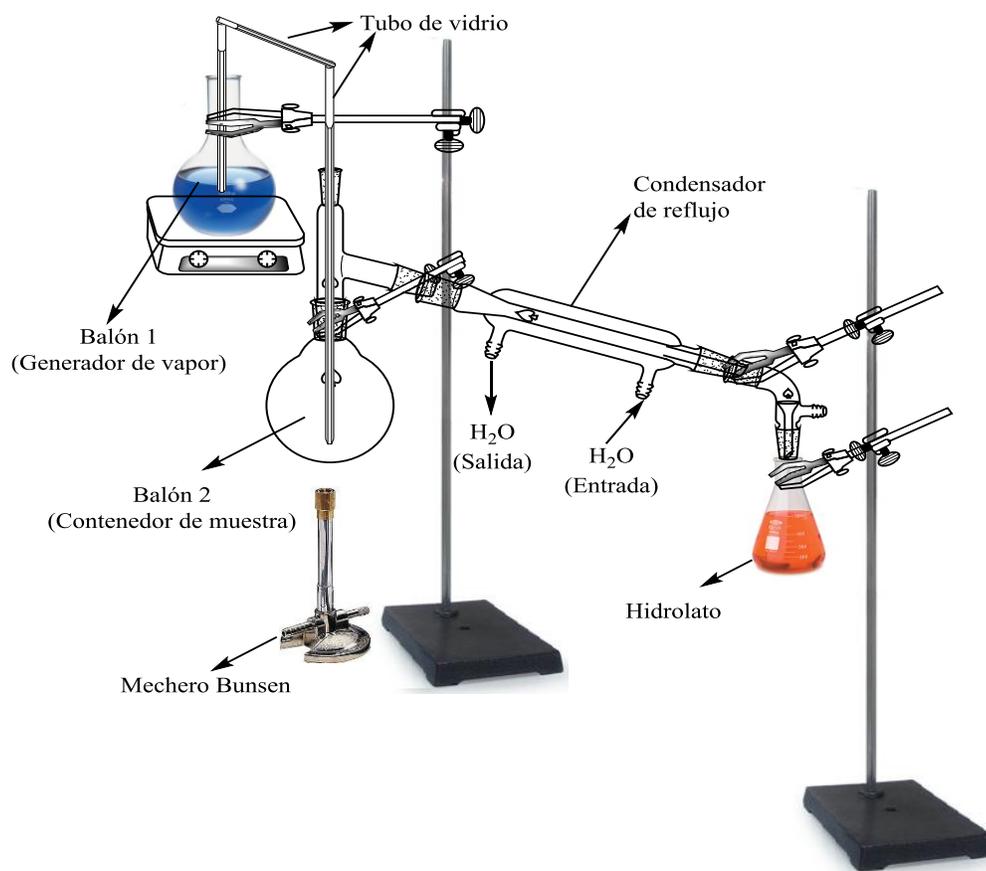


Figura N° 4.27. Destilación por arrastre de vapor con agua (método indirecto)

### 4.8.3. Extracción Asistida por la Radiación con Microondas

En este tipo de extracción la irradiación de ondas que interactúan con agua produce un calentamiento localizado, es decir, hay un aumento considerable de temperatura, causando variaciones superiores al punto de ebullición, consecuentemente las paredes o bolsas de las glándulas secretoras del material vegetal, sufren un aumento del volumen provocando su ruptura, así, los contenidos de los metabolitos fluyen hacia el medio disolvente, lo que hace más efectiva la extracción (Torrenegra, Granados, Osorio & León, 2015).

Para Castañeda (2016) en este tipo de obtenciones se puede acoplar un montaje tipo Clevenger utilizando un microondas convencional en lugar de un manto de calentamiento (*figura N° 4.25*). En este montaje se utiliza un reservorio tipo Dean Stark el cual tiene una forma vertical con graduación volumétrica y un brazo lateral que conecta al balón de fondo redondo del cual ascienden los vapores durante el calentamiento de la muestra vegetal.

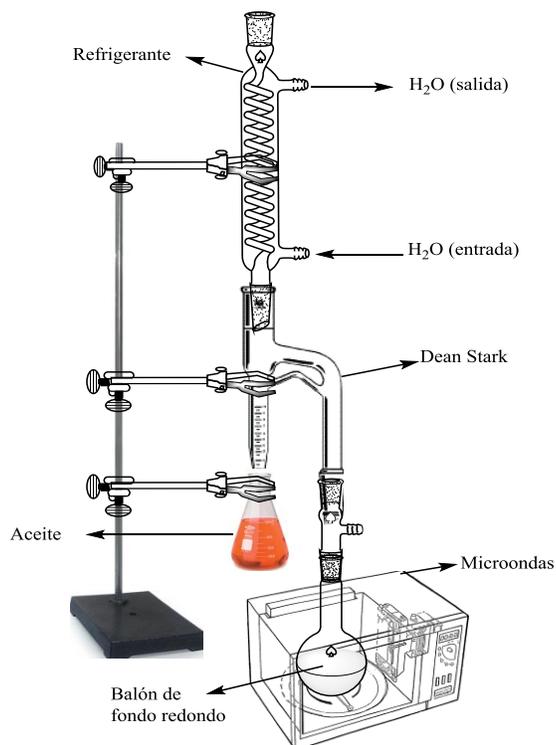


Figura N° 4.28. Extracción por hidrodestilación asistida por radiación con microondas (MWHD)

Según GIDOLQUIM (2014), en el proceso de extracción los vapores formados durante el arrastre suben desde el balón de fondo redondo (contenedor de muestra y agua) hacia el condensador de reflujo y condensan cayendo al colector o trampa de Dean Stark. Allí, los líquidos inmiscibles se separan en capas, una capa superior de menor densidad y una inferior de densidad mayor.

#### **4.8.4. Rendimiento**

En la literatura, Casado, Laso, & Aguilar (2018, pág. 28) determinan el rendimiento como “*el cociente entre la masa del aceite esencial respecto a la masa de materia prima vegetal introducida inicialmente*”.

$$\% \text{ masa} = \left( \frac{\text{gramos de los AE obtenidos}}{\text{gramos de materia prima vegetal}} \right) \times 100$$

## 4.9. Ensayos Biológicos

El estudio de la sensibilidad antibacteriana a los antibióticos es una de las funciones más relevantes para los laboratorios de microbiología clínica, puesto que permite evaluar nuevos compuestos y sus posibles aplicaciones en distintos fármacos. Para ello, existen dos tipos de métodos: cuantitativos y cualitativos. Los métodos cuantitativos son los que permiten determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM). Por su parte, los métodos cualitativos son aquellos que permiten caracterizar si un microorganismo es resistente o sensible (Taroco, Seija & Vignoli, 2008).

El método de difusión en disco es considerado como un método cualitativo, esta técnica está basada originalmente en el método descrito por Bauer *et al.*, citado por Ramirez & Marin (2009) y permite estimar el grado de inhibición del crecimiento de los microorganismos de una manera simple, económica y reproducible.

Pese a que estos métodos se encuentran estandarizados, pueden ser levemente modificados por los investigadores con el fin de conseguir los resultados deseados. Por ejemplo, en lugar de utilizar sensidiscos impregnados con la sustancia a evaluar, se pueden realizar pozos en la placa para que se facilite la difusión en el medio (Ramirez & Marin, 2009).

### 4.9.1 *Staphylococcus aureus*

Es una bacteria grampositiva perteneciente a la familia *Staphylococcaceae*, se caracteriza por ser un coco que puede encontrarse solo, en parejas, en cadenas o en racimos. Su metabolismo establece que es un patógeno de tipo anaerobio facultativo. Su diámetro suele medir entre 0,8 y 1,5 micras (INSHT, 2018).

De acuerdo a Chans (2018), la pared celular de *Staphylococcus aureus* está compuesta por una gruesa capa de peptidoglicano, ácidos teicoicos como el ribitol fosfato con sustituyentes D alanina y N acetil glucosamina, Proteína A y proteínas superficiales relacionadas con la Proteína A.

Por otro lado, las cepas de *S. aureus* resultan ser resistentes a gentamicina, a betalactámicos y glicopéptidos. Sin embargo, es sensible a aminoglucósidos y cefalosporinas (Cervantes, García & Salazar, 2014).

#### **4.9.2 *Shigella sonnei***

El género *Shigella* pertenece a la familia Enterobacteriaceae, se caracteriza por ser bacilos cortos gramnegativos que miden aproximadamente 0.7  $\mu\text{m}$  x 3  $\mu\text{m}$ ; son inmóviles, no esporulan ni presentan cápsula. Estas bacterias son altamente enteroinvasivas, habitan en el colon de los humanos y pueden ser transmitidas a través de contacto directo o indirecto con heces de personas infectadas (Molina & Uribarren, 2018).

Del mismo modo, Molina & Uribarren (2018) mencionan que este género “*se divide en cuatro grupos o especies que, a su vez, abarcan 43 serotipos S. dysenteriae (serogrupo A, 15 serotipos), S. flexneri (serogrupo B, 6 serotipos), S. boydii (serogrupo C, 20 serotipos), S. sonnei (serogrupo D, 1 serotipo).*”

Las bacterias de este género poseen en la pared celular peptidoglicano, y en la membrana externa una bicapa de fosfolípidos constituida por proteínas, lipoproteínas y lipopolisacárido. Para tratar las afecciones de estos patógenos suelen utilizarse antibióticos como ampicilina, trimetoprim-sulfametoxazol, ácido nalidíxico, ciprofloxacina y ofloxacina. Además, las cefalosporinas de tercera generación, como la ceftriaxona, son los mejores agentes que se utilizan cuando se topa con una resistencia al trimetropin (Romero, 2007).

## V. METODOLOGÍA

### 5.1 Enfoque Metodológico

Este estudio conservó un enfoque experimental cuantitativo, tal como se plantea y se observa en la estructura y reporte de resultados en donde se obtuvieron cantidades a partir de ciertas técnicas y mediciones. Según los autores Hernández, Fernández & Baptista (2014, pág. 5), en este tipo de metodología:

*... “la recolección de los datos se fundamenta en la medición de las variables o conceptos contenidos en las hipótesis u objetivos. Esta recolección se lleva a cabo al utilizar procedimientos estandarizados y aceptados por una comunidad científica. Para que una investigación sea creíble y aceptada por otros investigadores, debe demostrarse que se siguieron tales procedimientos.”*

El tratamiento estadístico en parte de esta investigación, no se efectuó. En el caso de las determinaciones de rendimientos óptimos en los que fueron realizados por correspondencia del cumplimiento de objetivos (seleccionar la mejor técnica de extracción). Del mismo modo, para el análisis antibacterial no fue necesaria la estimación matemática dado que los resultados no arrojaron valores aplicables a estos tratamientos. Para los resultados por CG-MS se concibe que las aproximaciones del *Datanálisis* confluyen de diversas bases de datos y por grados de correspondencia tanto de índices de retención como de espectros de masas (*peak-matching/peak quality*), por lo tanto, conllevan a identificaciones muy precisas de carácter presuntivo.

En cuanto a la naturaleza de las variables se tiene en cuenta lo establecido por Martínez (2012):

*“En los estudios con muestreos de datos (elementos) se estudian sus características clasificadas en cualitativas o atributos, expresadas por palabras y se cuantifican mediante el recuento o recuento. Las cuantitativas o variables expresadas en forma numérica, que pueden ser medidas (variable continua) o contadas (variable discreta)”*

Considerando al autor y el diseño experimental, se estiman las variables de este estudio según su correspondencia, es decir, con cantidades indeterminadas (variables continuas) y aquellas que admiten cantidades finitas (variables discretas). Además, estas

se relacionan en la tabla N° 5.1 según las etapas del diseño experimental (Rendimiento, Análisis por CG-MS, Evaluación antibacterial).

Tabla N° 5. 1. Naturaleza de las variables asignadas en este estudio.

Diseño metodológico	Variables	
	Continua	Discreta
Obtención y Rendimiento de los AE	Tiempo de extracción	Estado del material vegetal
	Masa de material vegetal	Técnicas de Extracción (AVA, HD, HDMW)
	Masa de los AE	
Análisis por CG-MS	Tiempos de retención	Columnas capilares ortogonales
	Índices de Retención	Espectros de masas
	Temperatura (rampas de calentamiento programado)	Coelución
	Condiciones Cromatográficas	Orden de Elución en CG
	Porcentaje de concordancia en los espectro de masas	
	Relación m/z	
	Unidades de masa atómica para fragmentos	
Actividad Antibacterial	Concentraciones de Tratamientos (ppm) y de antibióticos de amplio espectro	Medios de Cultivo
	Halos de inhibición	

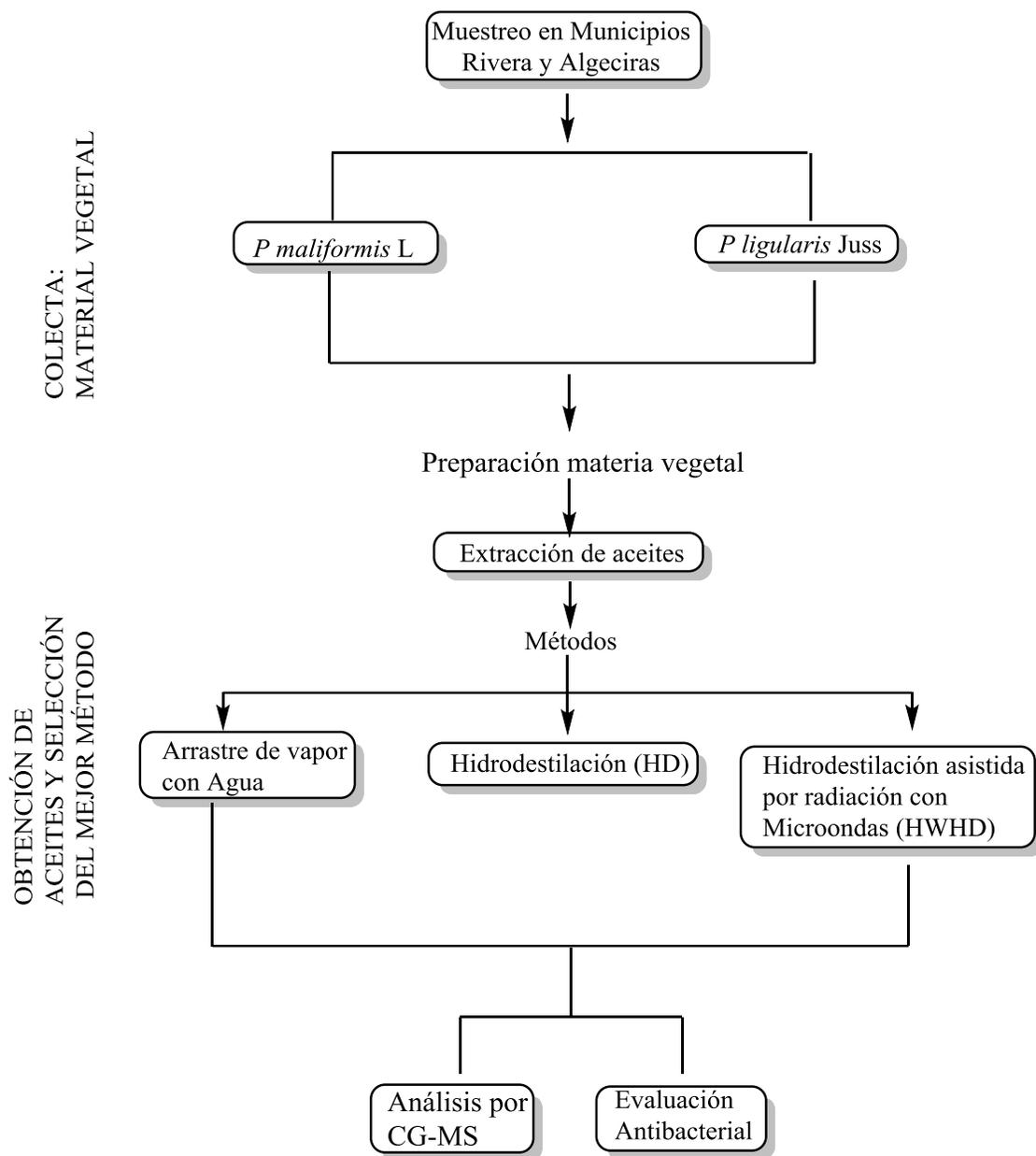


Figura N° 5. 1. Diseño experimental para la obtención de los AE de *Passiflora maliformis* L. (Cholupa) y *Passiflora ligularis* Juss (Granadilla).

## 5.2. Colecta del Material Vegetal

La colecta de las partes aéreas de *Passiflora maliformis* L. se realizó en un cultivo localizado en el municipio de Rivera-Huila, utilizando un GPS Garmin modelo *eTrex®30* se registraron las coordenadas N:02° 47' 00.5''; W:075° 14' 59.6'', a una altura de 1700 m.s.n.m., el 7 de abril de 2017 a las 8:00 am. Se seleccionaron partes aéreas (hojas, flores, tallos, semillas y fruto) en buen estado de los cultivos. El corte se realizó a manera de poda para no perjudicar el desarrollo normal de la planta. En la *figura N° 5.2* se muestra parte del cultivo de donde se obtuvieron las muestras.



*Figura N° 5. 2.* Cultivo de *Passiflora maliformis* L. en el municipio de Rivera, Huila.

Por otro lado, la colecta del material vegetal de *Passiflora ligularis* Juss (granadilla) se realizó el 27 de enero del 2018 en un cultivo localizado en el municipio de Algeciras-Huila, utilizando un GPS Garmin modelo *eTrex®30* se registraron las coordenadas N:02°20'20.1''; W:075°17'34.9'', a una altura de 2010 m.s.n.m. En la *figura N° 5.3*, se puede apreciar la fotografía del cultivo.



Figura N° 5. 3. Cultivo de *Passiflora ligularis* Juss en el municipio de Algeciras, Huila.

### 5.3. Preparado del Material

Las partes aéreas colectadas se separaron en tallos, hojas, flores y frutos. Luego, se realizó una selección de las partes en buen estado. Los frutos se cortaron y las semillas fueron retiradas de la pulpa y lavadas para su uso, tal como se aprecia en las *figuras* N° 5.4 y N° 5.5.



Figura N° 5. 4. Fruto de *Passiflora maliformis* L.

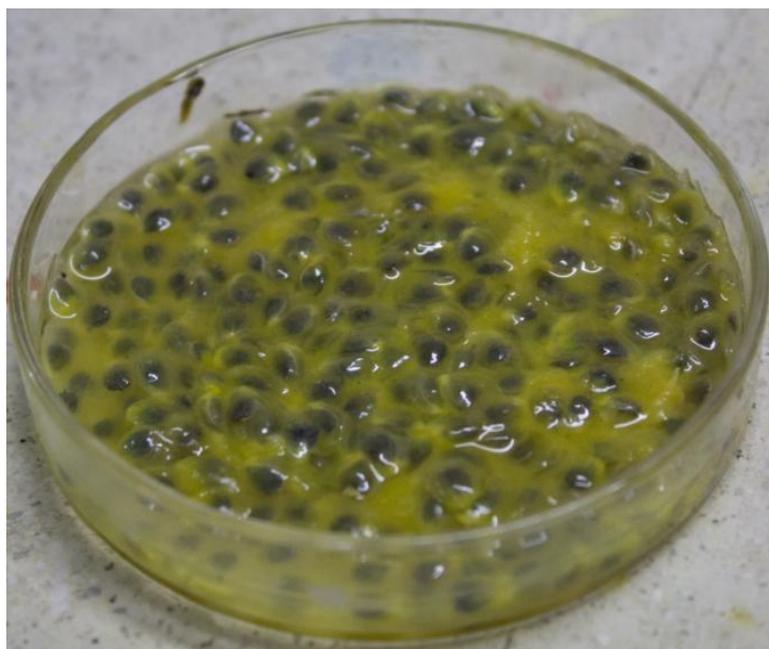
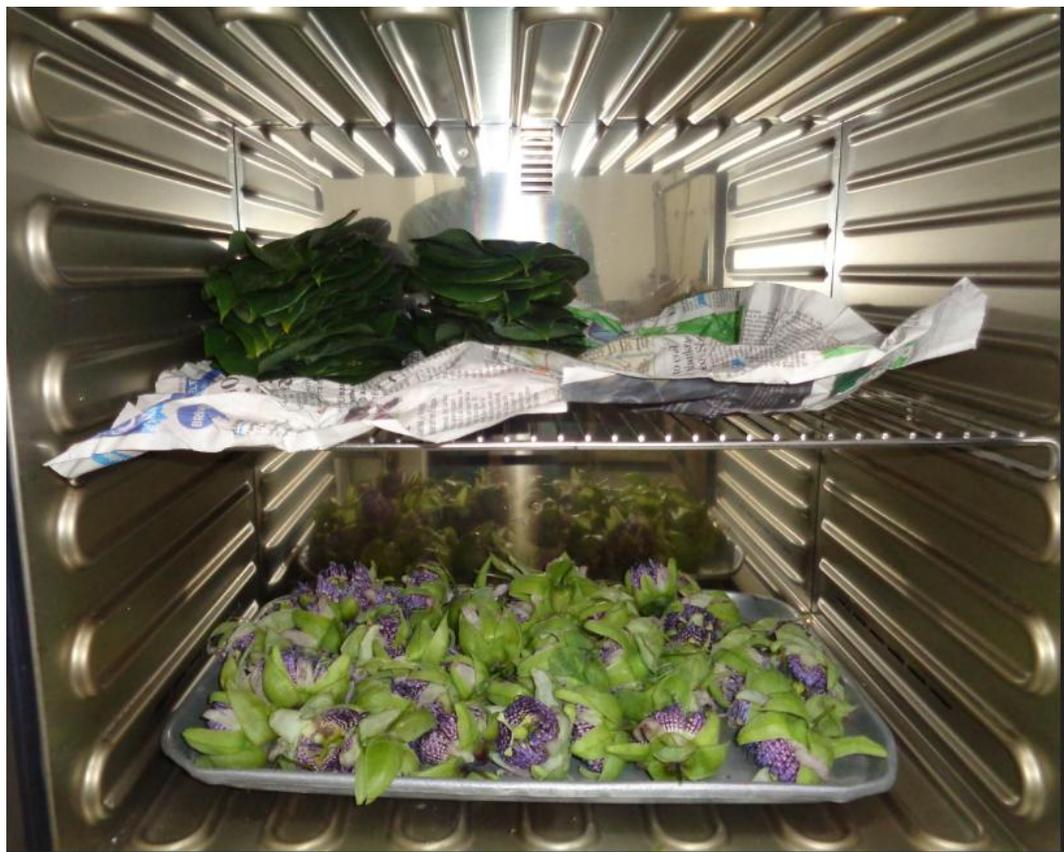


Figura N° 5. 5. Disposición del fruto (mucílago y semillas) de *Passiflora maliformis* L.

Las hojas, tallos y flores fueron cortados y las semillas se trituraron para asegurar una mayor superficie de contacto entre el agua y el material vegetal. Una cantidad de cada parte se secó para la obtención de los aceites esenciales y otra parte fue empleada de forma fresca para la comparación del rendimiento de los AE.

Para el secado del material, se emplearon muestras de tallos, hojas, flores y semillas que fueron sometidas a un horno Memmert modelo 30-750 (*figura N° 5.6*) durante 3 días a una temperatura de 50 °C, con trampa de flujo de aire del 20%.



*Figura N° 5. 6.*Secado de Material vegetal

## **5.4. Hidrodestilación**

### **5.4.1 Hidrodestilación Simple (HD)**

Para la extracción de los AE de cada especie, se emplearon 50 g de cada órgano de la planta (hojas, tallos, flores y semillas) que fueron mezcladas con 1.0 L de agua destilada, en un balón con capacidad para 2.0 L. Luego se armó el montaje tal como se aprecia en la *figura N° 5.7*. La mezcla se destiló por un tiempo de 1 h. El agua se repuso en algunas ocasiones evitándose la sequedad del material. El hidrolato se recolectó en un erlenmeyer con capacidad de 500 mL.



*Figura N° 5. 7. Montaje para Hidrodestilación Simple (HD)*

Los AE se separaron del hidrolato mediante extracción líquido-líquido con diclorometano 99,9% (*figura N° 5. 8*). La extracción se llevó a cabo por duplicado. Posteriormente, las fases orgánicas se reunieron, se secaron con sulfato de sodio anhidro, y se filtraron a gravedad utilizando papel Whatman 1001-125. El filtrado se almacenó en un frasco de borosilicato de alto espesor con tapa enroscada y de capacidad 500 mL (para evitar pérdidas de solvente orgánico altamente volátil). Finalmente, los AE fueron obtenidos mediante rotavaporación del filtrado empleándose un equipo Hahn Shin modelo HS-2000NS, entre 40 y 60 rpm. El sistema de refrigeración requirió de hielo en suficiente para asegurar condensación del solvente utilizado. Se utilizó una bomba de recirculación para asegurar flujo cíclico y evitar gasto de agua innecesario.



Figura N° 5. 8. Montaje extracción líquido-líquido, secado de fase orgánica y rotavaporación.

Los AE obtenidos se transfirieron desde el balón hacia viales de ámbar utilizando una pipeta Pasteur de vidrio. Se midió la masa del vial lleno utilizando la balanza analítica Precisa LS220. Se registraron los valores en gramos teniendo en cuenta todas las cifras (*figura N° 5.9*). Los aceites fueron refrigerados y guardados para los siguientes análisis.



Figura N° 5. 9. Proceso de obtención de los AE y envasado.

#### 5.4.2 Hidrodestilación por Arrastre con Vapor de Agua (AVA)

Este método consistió en añadir al montaje de hidrodestilación simple, un balón adicional con agua destilada (fuente externa generadora de vapor). La destilación se realizó con 50 g de cada parte y 1.0 L de agua destilada, por el término de 1 h (*figura N° 5.9*).

Al igual que en la hidrodestilación simple, el hidrolato se sometió a un proceso de extracción líquido-líquido con diclorometano como solvente. Las fases orgánicas se reunieron, se secaron con sulfato de sodio, se filtraron y rotavaporaron bajo las mismas condiciones que en HD. Se les midió la masa a los aceites esenciales y se guardaron en el refrigerador para análisis posteriores.

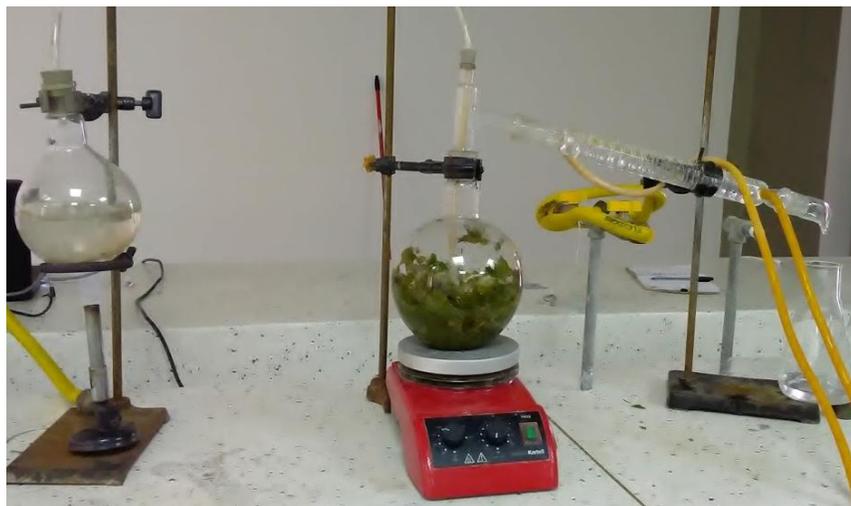


Figura N° 5. 10. Montaje de hidrodestilación por arrastre con vapor de agua (A.V.A.)

### 5.4.3 Hidrodestilación Asistida con Microondas (HDMW)

Para el último método de extracción, se empleó un horno microondas convencional General Electric® modelo JES11G, adaptado para que un acople de vidrio atravesara la lámina superior del equipo. En esta ocasión, se utilizó un montaje tipo Clevenger con doble tubo de condensación (*figura N° 5.10*). Primero se introdujo el material vegetal (50 g de cada parte de la planta) y se mezcló con 1.0 L de agua destilada a un balón de destilación de 2.0 L. La destilación se realizó durante 1 hora a una potencia del 60 % con ciclos de funcionamiento de 10.0 min.



Figura N° 5. 11. Montaje para la hidrodestilación simple asistida con microondas.

De la misma forma, como en los métodos de destilación anteriores, el hidrolato fue sometido a extracción líquido-líquido con diclorometano 99,9%, secado de la fase orgánica, filtrado y rotavaporado. La masa de los AE fue medida y se almacenaron para análisis posteriores en viales cubiertos con papel aluminio para proteger el producto de la luz (figura N° 5.11).

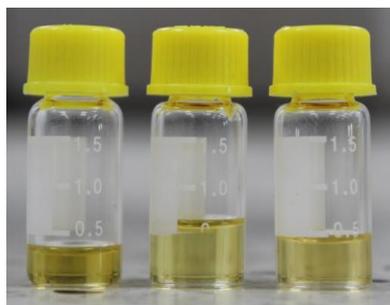


Figura N° 5. 12. Envase de Aceites Esenciales

## 5.5. Rendimiento

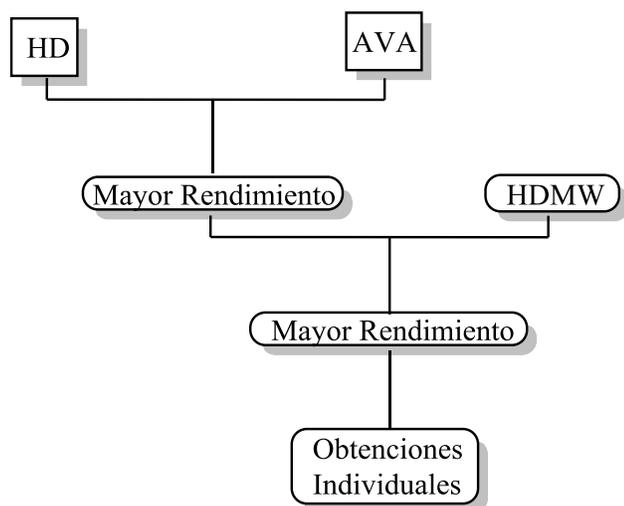


Figura N° 5. 13. Proceso de selección de rendimiento.

La *figura N° 5.13* muestra el proceso de selección que se realizó para conocer la técnica más adecuada que permitiera el mayor rendimiento de los aceites esenciales. La determinación de la masa de los aceites se midió por la diferencia entre la masa del envase lleno y el envase vacío. Por último, se dividió entre la masa del material empleado en la extracción y teniendo en cuenta el factor 100%, utilizando la ecuación presentada.

$$\% \text{ masa} = \left( \frac{\text{gramos de los AE obtenidos}}{\text{gramos de materia prima vegetal}} \right) \times 100$$

## **5.6. Análisis por Cromatografía de Gases Acoplado a Espectrometría de Masas (CG-MS)**

Para el análisis de los AE se utilizaron dos equipos, un CG-MS (SHIDMAZU - QP2010 ultra), ubicado en el laboratorio de análisis instrumental de la Universidad del Quindío, y otro (GCMS-QP2010 Plus), localizado en el laboratorio de análisis instrumental adscrito a la facultad de ciencias exactas y naturales de la Universidad de Caldas.

Para el primer equipo (Universidad del Quindío), se emplearon dos métodos que difieren en las condiciones cromatográficas, como el flujo de la columna y la rampa de calentamiento. Los dos métodos permiten confirmar la identidad química de los AE mediante el detector de masas. Estos fueron nombrados como T. PATULA y ALCANOS y las condiciones de cada uno se muestran a continuación:

### **T. Patula:**

- Columna: 5% difenil-polisiloxano (Apolar)
- Modo de Inyección: Split
- Temperatura Inicial: 40 °C, °T Final: 310 °C, °T interface: 300 °C, °T detector: 250 °C
- Velocidad de calentamiento: 10 °C/min
- Flujo columna: 1.0 mL/min
- Velocidad Lineal: 36.1 cm/s
- Presión: 66,7 kPa

### **Alcanos:**

- Columna: 5% difenil-polisiloxano (Apolar)
- °T Inicial: 40 °C, °T Final: 310 °C, °T interface: 290 °C, °T detector: 230 °C
- Velocidad de calentamiento: 20 °C/min
- Flujo columna: 1.0 mL/min
- Velocidad Lineal: 36 cm/s
- Presión: 65,4 kPa

Para el análisis de los aceites esenciales registrados en el equipo instrumental de la Universidad de Caldas, se usaron las siguientes condiciones cromatográficas:

- Columna: 5% difenil-polisiloxano (Apolar)
- °T Inicial: 60 °C, °T Final: 240 °C, °T interface: 280 °C, °T detector: 290 °C
- Velocidad de calentamiento: 20 °C/min
- Flujo columna: 1.0 mL/min
- Velocidad Lineal: 36,5 cm/s
- Presión: 57,4 kPa

## 5.7. Ensayos Biológicos

Por la facilidad y accesibilidad de este método, se llevó a cabo la evaluación de la actividad antibacterial, en el laboratorio de microbiología de alimentos de la facultad de ingeniería, siguiendo los protocolos de la difusión en agar (Instituto Nacional de Salud, 2002) o método Kirby-Bauer modificado.

En el ensayo se emplearon dos cepas microbianas: *Shigella sonnei* (ATCC 25931), la Asociación Americana de Microbiología por sus siglas en inglés ASM, establece que para esta especie bacteriana se han reportado efectos de resistencia así como susceptibilidad a fármacos de amplio espectro (Heffernan & Woodhouse, 2017; Huang, Cheng, Wang, Chan, Sheng & Chiou, 2005); y *Staphylococcus aureus* (BAA-977), para algunos estudios con este tipo de cepas, se indica una susceptibilidad moderada con penicilinas semisintéticas, algunas resultan altamente resistentes tanto para penicilinas como para ampicilinas. (Zepeda & Gaído, 1978).

Se preparó agua peptonada para realizar diluciones seriadas con cada inóculo, con el fin de llevar a cabo el recuento de las unidades formadoras de colonia (UFC). Además, se empleó el medio de cultivo Tripteína Soya Agar (TSA) tanto para la siembra y lectura de las UFC, como para la prueba de sensibilidad (*figura N° 5.14* y *figura N° 5.15*), para la inoculación, de manera visual se ajustó la turbidez utilizando un tubo patrón comercial estándar de 0.5 McFarland.



*Figura N° 5. 14.* Medio de cultivo y tubos de ensayo con H<sub>2</sub>O peptonada para las diluciones seriadas.

Se escogió evaluar la capacidad antibacterial de los AE de todas las partes aéreas de la especie *P. maliformis* L. (cholupa), obtenido mediante la hidrodestilación asistida por microondas. Para garantizar una disolución en el medio de cultivo, los AE se solubilizaron en dimetilsulfóxido (DMSO) al 30%, tomando 3 referencias a evaluar: 1000, 3000 y 5000 ppm.

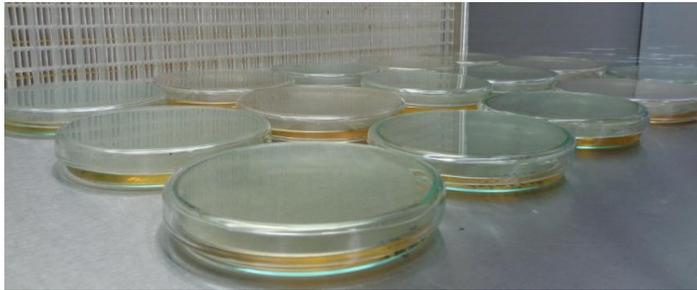


Figura N° 5. 15. Placas con TSA para el ensayo.

Por otro lado, se empleó DMSO como control negativo, y, como control positivo, se utilizaron los antibióticos Penisodina para *S. aureus* y Ceftriaxona para *S. sonnei* (figura N° 5.16). Finalmente, se realizó cada una de las siembras por duplicado, en las cuales se utilizaron 100  $\mu$ L del inóculo del tubo madre; en lugar de utilizar discos de papel filtro, se realizaron pozos con la boquilla de una micropipeta de 1000  $\mu$ L, y a cada uno de estos se añadieron 30  $\mu$ L de los aceites y controles según el orden establecido.



Figura N° 5. 16. Antibióticos empleados como control positivo.

Las placas para realizar el conteo de unidades formadoras de colonia fueron directamente a la incubadora durante 15 horas a 37 °C. Por otro lado, las placas para evaluar la sensibilidad antibacteriana se refrigeraron durante 1 hora a 2,5 °C, y finalmente fueron trasladadas a la incubadora durante 15 horas a 37°C.

## VI. RESULTADOS Y ANÁLISIS

### 6.1. Rendimiento

Las siguientes tablas relacionan las técnicas de extracción y los rendimientos obtenidos para cada especie estudiada.

#### *Passiflora maliformis* L.

Tabla N° 6. 1. Comparación del rendimiento de los AE de *Passiflora maliformis* L. empleando dos técnicas, usando material fresco.

Método	Masa material vegetal (g)	Masa de los AE (g)	% Rendimiento
HD	200 (50 g de cada parte)	0,7245	0,3622
AVA	200 (50 g de cada parte)	0,0372	0,0186

De acuerdo a los resultados sobre el rendimiento tabla N° 6.1 en la obtención del aceite esencial de 200 g (50 g hojas, 50 g tallos, 50 g flores, 50 g semillas) de *Passiflora maliformis* L., mediante la técnica de hidrodestilación (HD) e hidrodestilación por arrastre con vapor de agua (AVA), se logra apreciar que la técnica HD (0.36 %) fue la que mejor permitió obtener la mayor cantidad de aceites esenciales, en comparación con la técnica AVA (0.01 %). Estos datos concuerdan con lo que plantea Montoya (2010) al mencionar que los AE en su mayoría ofrecen rendimientos muy bajos que no superan el 1%. Además, en un estudio reciente de Chóez, et al. (2015) se establece el rendimiento de los AE de las cáscaras y semillas de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* del 0.014%. Dicho lo anterior, se concluye que los AE para esta familia poseen un rendimiento muy bajo y, por lo tanto, los resultados obtenidos en este estudio concuerdan con otros que han sido citados en la literatura científica.

Siendo la técnica de hidrodestilación simple (HD) la que mejor permitió obtener el mayor rendimiento de los AE de cholupa, se decidió obtener los AE para cada órgano de la planta, pero con material seco. Estos resultados se muestran en la tabla N° 6.2.

Tabla N° 6. 2. Rendimiento de los AE de *Passiflora maliformis* L. de partes aéreas mediante HD, usando material seco.

Parte aérea	Masa Material Vegetal (g)	Masa de los AE (g)	% Rendimiento
Hojas	50	0,3615	0,7230
Tallo	50	0,0010	0,0020
Semillas	50	0,4714	0,9428

De acuerdo con los resultados sobre la obtención de los aceites esenciales a partir de material seco de cada parte de la planta de cholupa por la técnica de hidrodestilación simple (HD), se observó que los tallos de la planta de cholupa producen menor cantidad de los aceites esenciales (0.002 %) en comparación con las hojas (0.72 %). Las semillas de la especie *Passiflora maliformis* L. producen el mayor rendimiento (0.94 %) para 50g de material seco empleado.

Para continuar el análisis comparativo en cuanto al rendimiento de los AE de cholupa, y conociendo que la técnica de HD es la que ofrece el mayor rendimiento de los AE, se decidió realizar diferentes hidrodestilaciones asistidas por radiación microondas (HDMW). Primero se obtuvo los AE de las partes aéreas (tabla N° 6.3), luego, el de cada parte por separado, es decir, los AE de hojas, tallos y semillas (tabla N° 6.4).

Tabla N° 6.3. Rendimiento de los AE de *Passiflora maliformis* L. de partes aéreas mediante HDMW, usando material seco.

Masa Material Vegetal (g)	Masa de los AE (g)	% Rendimiento
300	0,8813	0,2938

De acuerdo al rendimiento obtenido de los AE de las partes aéreas de *Passiflora maliformis* L. por la técnica HDMW, se logra apreciar que la técnica HD (0.36 %) sigue siendo la mejor técnica para extraer mayor cantidad de los AE, en comparación con HDMW (0.29 %). Sin embargo, algunos estudios como en Torrenegra, Granados, & León (2015); Golmakani & Rezaei (2007), afirman que el rendimiento obtenido al extraer los AE de especies fuertemente aromáticas, empleando el método de HDMW, es considerablemente mayor al tradicional HD.

Tabla N° 6. 4. Rendimiento de los AE de *P. maliformis* L. de partes aéreas mediante HDMW, usando material seco.

Parte aérea	Masa Material Vegetal (g)	Masa de los AE (g)	% Rendimiento
Hojas	200	0,5569	0,2785
Tallos	200	0,3555	0,17775
Semillas	200	0,1884	0,0942

Considerando los resultados de la tabla anterior, con respecto al rendimiento de los AE de cada parte seca de la planta de cholupa, por la técnica HDMW, se logra determinar que de las hojas se extrae la mayor cantidad de los AE (0.27 %) en comparación con los tallos (0.17 %) y las semillas (0.09 %).

Por otro lado, si se comparan estos rendimientos con los obtenidos mediante HD, se aprecia que hay un mayor porcentaje de rendimiento para las hojas y semillas cuando se emplea la técnica de HD, en comparación, con el rendimiento obtenido para los tallos cuando se emplea HDMW.

### 6.1.1. *Passiflora ligularis* Juss

De acuerdo al apartado anterior, se concluyó que HD es la técnica más apropiada para la obtención de los AE de este tipo de plantas a escala de laboratorio, por lo tanto, se obtuvo los AE de la especie *Passiflora ligularis* Juss utilizando muestras en estado seco de las partes aéreas (tabla N° 6.5), de las hojas y las semillas (tabla N° 6.6) empleando esta misma técnica de extracción.

Tabla N° 6. 5. Rendimiento de los AE de *Passiflora ligularis* Juss de las partes aéreas mediante HD usando material seco.

Masa Material Vegetal (g)	Masa de los AE (g)	% Rendimiento
200	0,2582	0,1291

Para este tratamiento se puede apreciar que el rendimiento sigue siendo muy bajo, sus valores, al igual que en la especie anterior, no superan el 1% con respecto a la cantidad del material empleado.

Tabla N° 6. 6. Rendimiento de los AE de *Passiflora ligularis* Juss de algunas de las partes aéreas mediante HD usando material seco.

Parte aérea	Masa Material Vegetal (g)	Masa de los AE (g)	% Rendimiento
Hojas	50	0,4837	0,9674
Semillas	50	0,4199	0,8398

Los resultados anteriores muestran un mayor porcentaje de los AE obtenidos para las hojas; los valores del rendimiento se acercan a los obtenidos en la especie anterior (tabla N° 6.4).

Por otra parte, en un estudio reciente se evaluó el rendimiento y la composición química de los AE de esta misma especie, utilizando material fresco de cáscara, jugo y semillas, destilando en un montaje HDMW durante 40 minutos y empleando el éter etílico como solvente, reportan que obtuvieron un porcentaje de rendimiento del 0.0328% para las semillas. No obstante, si se trata de rendimiento, en esta investigación se obtuvo una cantidad moderadamente mayor, sin embargo, hay que tener en cuenta que estos procesos se están realizando bajo condiciones diferentes que pueden afectar directamente el rendimiento en la obtención de estas sustancias.

## 6.2. Análisis por Cromatografía de Gases y Espectrometría de Masas de los Aceites Esenciales de *Passiflora maliformis* L. y *Passiflora ligularis* Juss.

Para los análisis de la composición química de los aceites esenciales de la especie *Passiflora maliformis* L. por CG-MS, se tiene un total de cinco perfiles cromatográficos, cuatro obtenidos por la técnica de hidrodestilación y uno para la mezcla de partes aéreas realizado por extracción con microondas.

### 6.2.1. *Passiflora maliformis* L

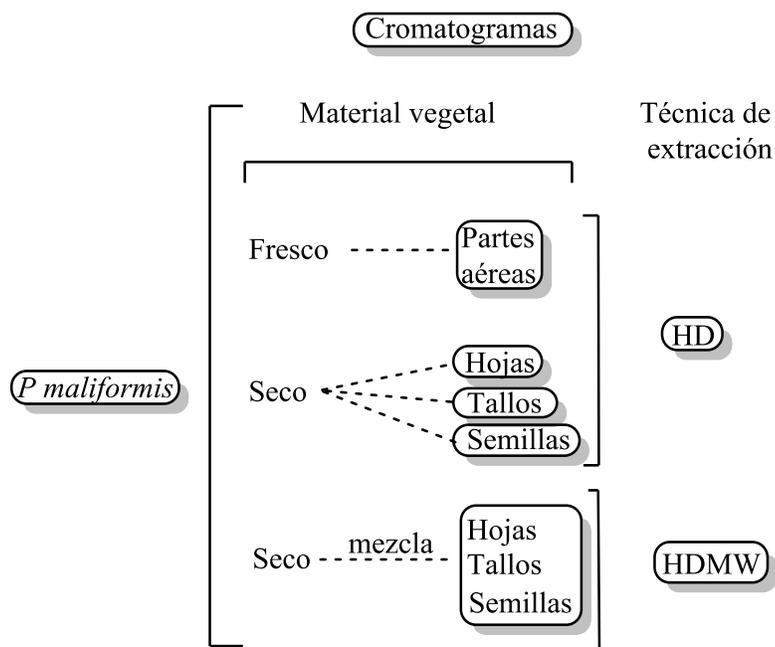


Figura N° 6. 1. Perfiles cromatográficos obtenidos con *Passiflora maliformis* L. Edición en: ChemDraw.

El análisis de la composición química de cada uno de los AE se realizó con base a los tipos de compuestos identificados en los cromatogramas y los compuestos mayoritarios presentes. Se realizó una comparación con los aceites esenciales reportados en otras especies de *Passifloras* por autores de la literatura científica. En todos los cromatogramas se detallan los compuestos obtenidos en función de su abundancia registrada por el detector de masas y el valor de los tiempos de retención.

**6.2.1.1. Cromatograma de gases CG-MS de *P maliformis* L: Partes aéreas (material fresco)**

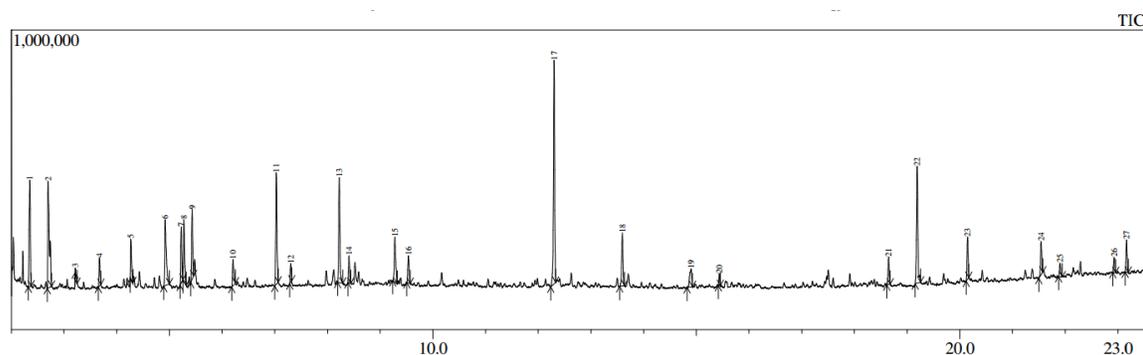


Figura N° 6.2. Perfil cromatográfico (TIC: Corriente iónica total) de los AE de *Passiflora maliformis* L. (material fresco: hojas, tallos, flores y semillas). Extracción realizada por HD. Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, programa de Química, Universidad del Quindío 2017.

El análisis por cromatografía gases de los AE obtenidos con material fresco de las partes aéreas de *Passiflora maliformis* L. reveló la presencia de 29 compuestos, que corresponden a compuestos halogenados, cetonas, aldehídos, alcoholes, ésteres y ácidos grasos. Estas sustancias se muestran en la tabla N° 6.7 y se enlistan según su orden de elución en la columna.

Tabla N° 6. 7. Composición química de los aceites esenciales de *P maliformis* L, material fresco.

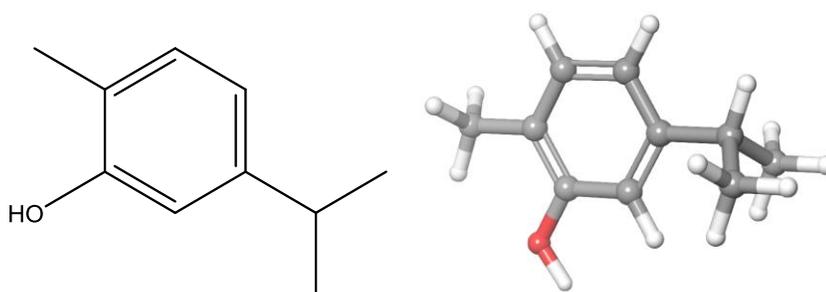
Peak	$t_R$ (min)	% Área	Nombre
1	2,353	6,47	Trichloromethane
2	2,700	8,66	2-Butanone, 3-methyl-
3	3,215	0,19	Acetoin
4	3,675	1,46	Pentanal, 2-methyl-
5	4,270	2,20	Cyclopentanone
6	4,921	5,11	2-Cyclopenten-1-one
7	5,224	2,96	2-Hexenal, (E)-
8	5,275	3,70	3-Hexen-1-ol, (Z)-
9	5,431	3,90	2-Hexen-1-ol, (E)-
10	6,206	1,83	Butanoic acid, 4-hydroxy-
11	7,030	6,80	Benzaldehyde
12	7,305	0,96	1-Octen-3-ol
13	8,224	6,82	Benzyl alcohol
14	8,410	1,49	Benzeneacetaldehyde
15	9,279	3,29	Linalool

...continuación tabla N° 6.7.

Peak#	R.t (min)	Area%	Nombre
16	9,536	1,78	Phenylethyl Alcohol
19	14,899	1,89	7-Hexadecenal, (Z)-
20	15,438	0,55	Heptadecane
21	18,649	1,66	Isopropyl myristate
22	19,191	7,91	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester
23	20,147	2,66	1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl 8-methylnonyl ester
24	21,545	1,98	Phytol
25	21,904	0,94	Bis(2-ethylhexyl) maleate
26	22,929	0,94	1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl 2-ethylhexyl ester
27	23,166	1,84	Docosane
28	23,757	1,44	13-Docosenamide, (Z)-
29	24,005	2,54	Pentacosane

Dentro de las sustancias volátiles principales que componen mayoritariamente los aceites esenciales se tienen compuestos de naturaleza terpénica (Stashenko E. , 2009, pág. 88) y (Baser & Buchbauer , 2010, pág. 121). En la tabla N° 6.7 encontramos dos sustancias de esta naturaleza en los AE de las partes aéreas de la cholupa, dentro de las cuales el monoterpeneo carvacrol (*figura N° 6.3*) corresponde al constituyente mayoritario de los aceites esenciales, con una mayor área de pico.

#### *Carvacrol*

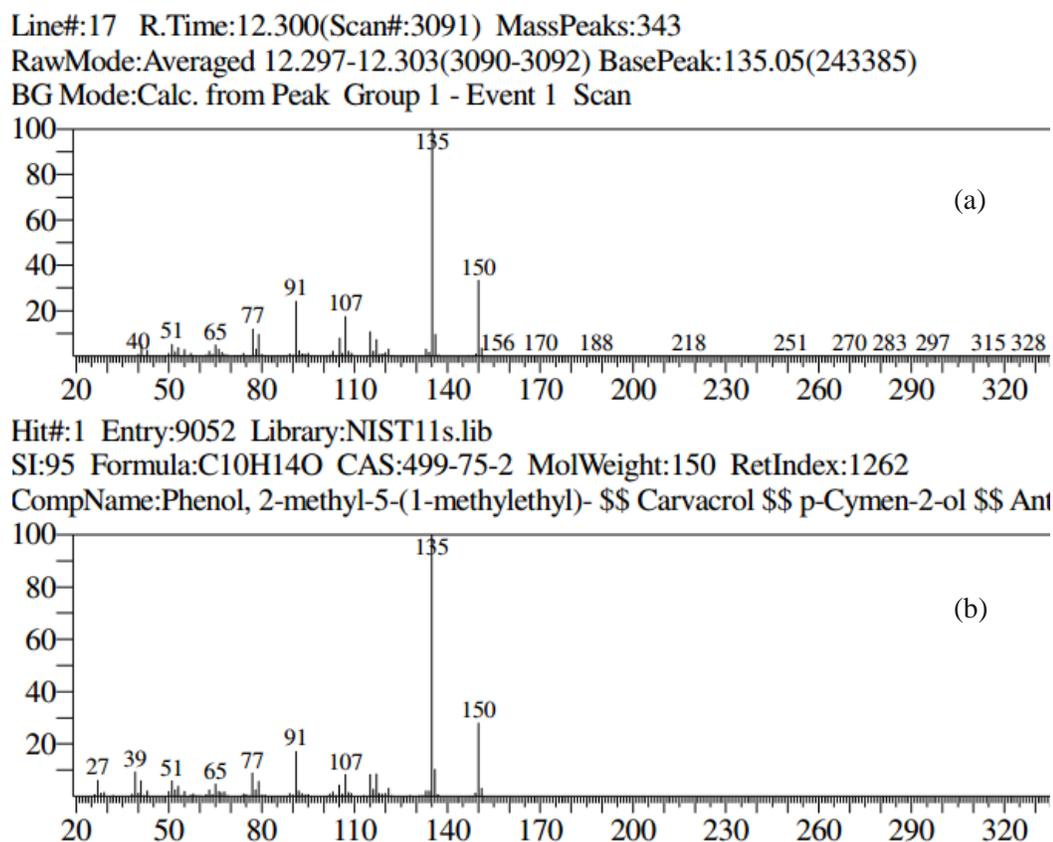


*Figura N° 6.3.* Carvacrol: Representaciones estructurales. Modelos moleculares editados en: ChemDraw Professional & Schöndinger Maestro Academics ©

La identificación preliminar de esta sustancia se realizó por medio de comparaciones con bases de datos y por análisis de los fragmentogramas experimentales. También se realiza una breve estimación por software de los espectros de RMN en donde los de <sup>13</sup>C presentan mayor diferencia para carvacrol y su isómero identificado.

thymol (ver anexos 3 y 4). En La *figura N° 6.2* se muestra el pico en el cromatograma de los AE para la molécula de carvacrol, con mayor área (14,44%) y tiempo de retención 12.30 (min). La comparación realizada con la base de datos NIST11 permite observar los picos fragmentos correspondientes a las ionizaciones en cadena de la molécula en cuestión.

En el ejemplo mostrado en la *figura N° 6.4* se encuentran los espectros de masas experimental y teórico del carvacrol. Allí se indica el pico del ion molecular  $[M^+]$  con un valor  $m/z$  de 150 uma, correspondiente a la formula molecular  $C_{10}H_{14}O$ . Adicionalmente, se observan picos de fragmentación características a las rupturas de la molécula con valores de  $m/z$  equivalentes a: 135, 107, 91 y 77. Las identificaciones realizadas en este estudio son presuntivas (Stashenko & Martínez, 2010).



*Figura N° 6.4.* (a) Espectro de masas experimental y (b) de la base de datos NIST11 library para carvacrol. Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, programa de Química, Universidad del Quindío 2017.

Las fragmentaciones mostradas (figura N° 6.5) de la molécula de carvacrol, explican los diferentes picos que aparecen en el espectro de masas de la molécula, como una herramienta de confirmación estructural. En este caso se tienen diferentes señales en los espectros de masas que indican rupturas moleculares en función de su estabilidad-abundancia y masa molecular.

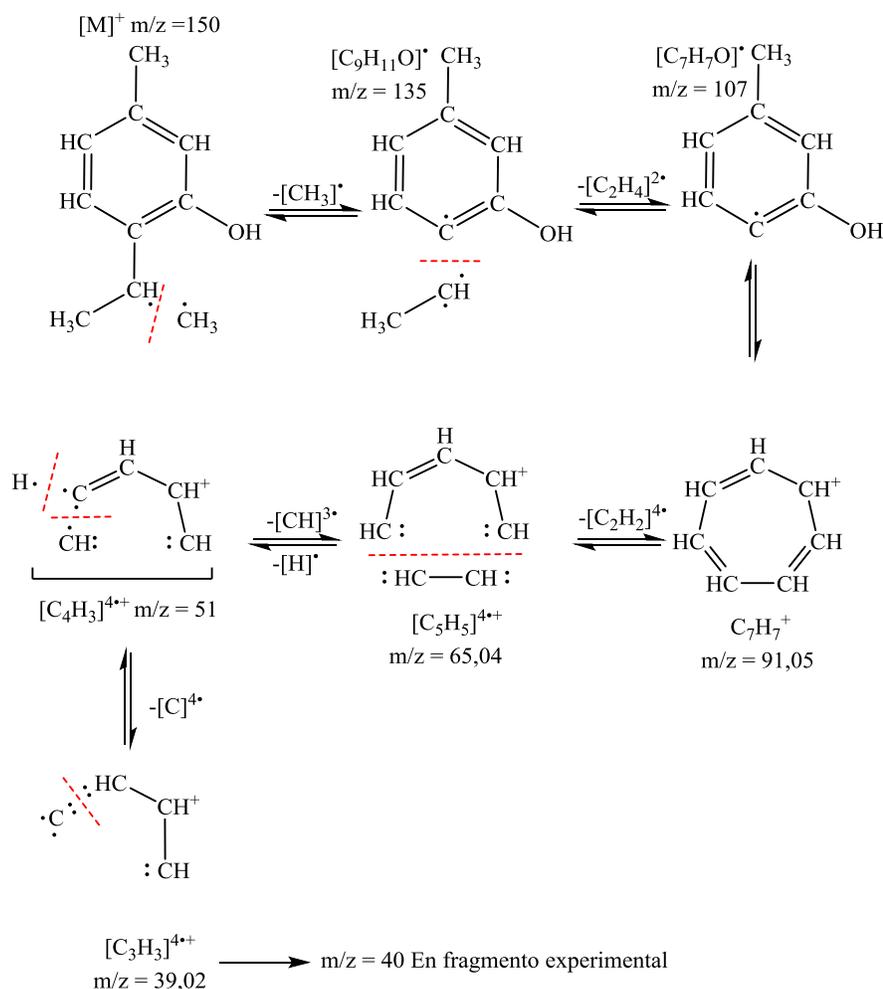


Figura N° 6. 5. Fragmentaciones principales del Carvacrol. Edición realizada en: ChemDraw Professional (Perkin Elmer Software®).

El carvacrol es uno de los componentes mayoritarios de los AE de especies vegetales del género *Origanum*. Según Kintzios (2002), se encuentra ampliamente en estas plantas y corresponden a porcentajes que van del orden de 66 a 82%. Algunos

aceites esenciales conservan mezclas con mayor abundancia de linalool y otros terpenos: timol,  $\gamma$ -terpineno,  $\rho$ -cimeno.

Según Baser (2008), volátiles aislados de plantas han sido objeto de numerosos estudios de actividad antimicrobiana (mayor con algunas Gram negativas), antifúngica, tratamiento para la otitis aguda y actividad antitumoral en ratas, inhibidor de crecimiento micelial de hongos, efecto anti carcinogénico, efecto no proliferante de células carcinogénicas, fuertes efectos anti mutagénicos, actividad anti plaquetaria, antiinflamatoria, insecticida, antioxidante y también se reporta algunas cantidades de carvacrol y thymol en proporción con ciertos fármacos.

De acuerdo a diversos artículos publicados desde 1961 hasta la fecha, sobre aceites esenciales de pasifloras, es primera vez que se reporta en esta investigación el terpeno carvacrol en *Passiflora maliformis* L. a partir de la extracción por hidrodestilación simple, con material vegetal fresco, e identificado mediante la técnica de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.

Otro constituyente de naturaleza terpénica que se encuentra presente en los AE de las partes aéreas de *Passiflora maliformis* L., como un compuesto minoritario es el monoterpeno linalool (figura 6.6). En la tabla N° 6.8 se observa el pico correspondiente a esta sustancia en el cromatograma con un tiempo de retención de 9.27 min.

*Linalool*

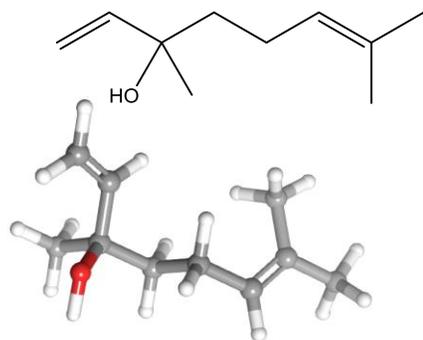


Figura N° 6. 6. Representaciones estructurales de linalool. Modelos moleculares editados en: Perkin Elmer-ChemDraw Professional & Schörrindger-Maestro Academics ©.

En la figura N° 6.7 (a y b) se comparan los espectros de masas experimental y teórico de la molécula de linalool. Allí se muestra el pico del ion molecular  $[M^+]$  con un

valor  $m/z$  de 154 una, correspondiente a la fórmula molecular  $C_{10}H_{18}O$ .

Adicionalmente, se observan picos de fragmentación características a las rupturas de la molécula con valores de  $m/z$  154, 136, 121, 107, 93 y 71 una.

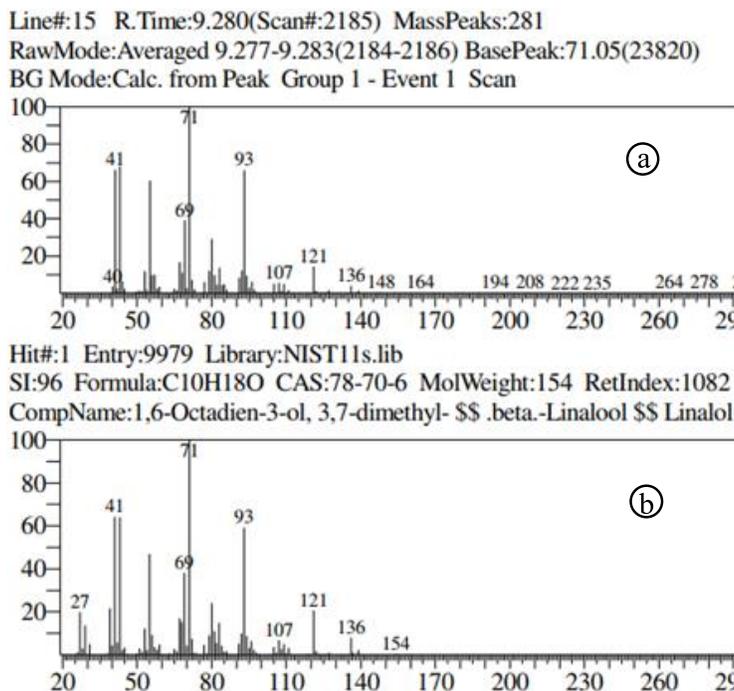


Figura N° 6.7. (a) Espectro de masas experimental y (b) de la base de datos NIST11 library: linalool. Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, programa de Química, Universidad del Quindío 2017.

La ruta de fragmentaciones del terpeno se describe en la *figura N° 6.8*. Se tienen las posibles roturas moleculares comunes para la comparación por masas obtenida a partir del perfil cromatográfico de corriente iónica total (TIC) y las obtenidas de la NIST library. En A se obtienen señales de ambos fragmentogramas y en B la obtención del pico base.

Los procesos de fragmentación en el esquema A corresponden a la ruptura del grupo OH y del protón en la molécula. Luego, ocurre la pérdida de un metilo. En la molécula B se muestra el fragmento que corresponde al pico base ( $m/z=70$ ), como producto de la pérdida de  $C_4H_8$ .

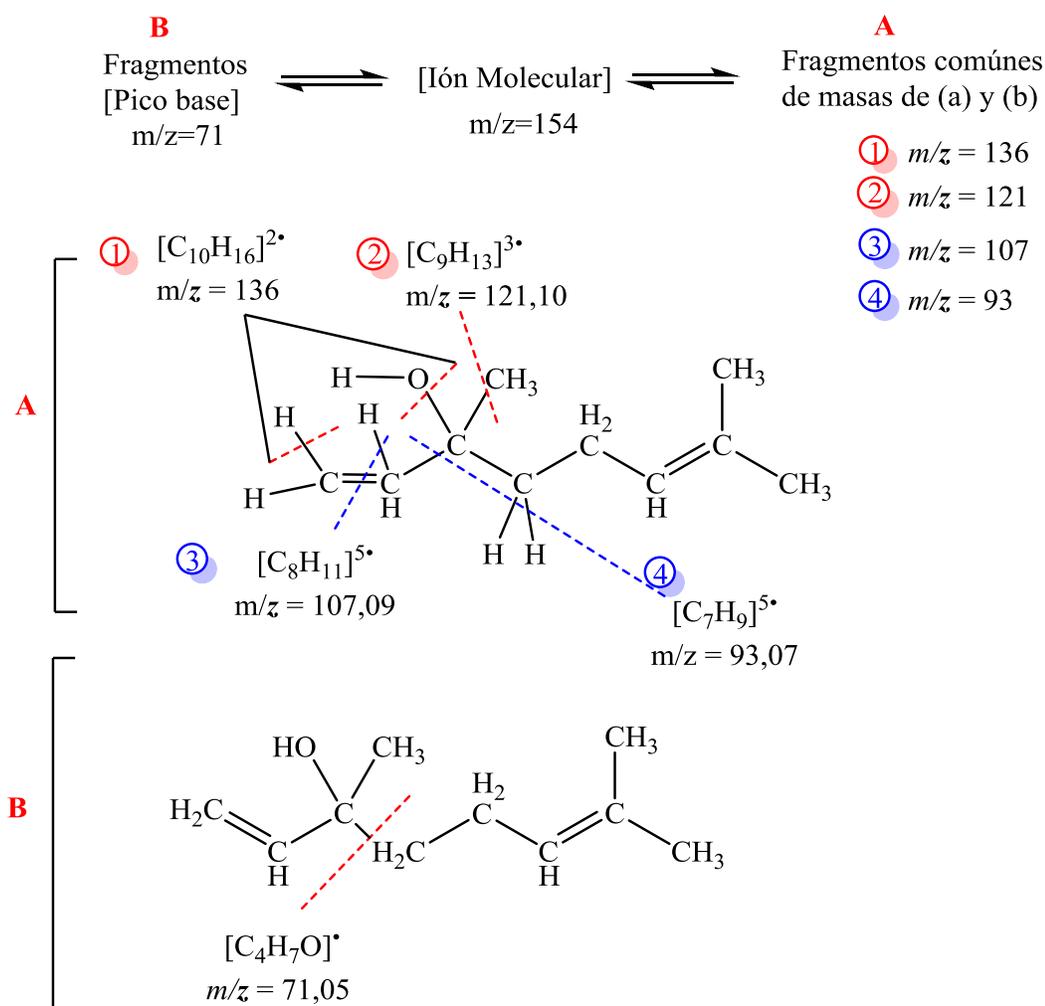


Figura N° 6. 8. Rutas de fragmentación del terpeno linalool. Edición realizada en: ChemDraw Professional (Perkin Elmer Software ®).

En los espectros de masas de la figura N° 6.7, se puede observar que no aparece el pico del ion molecular del linalool en el espectro experimental. Según Stashenko & Martínez (2010), algunos iones moleculares no se registran debido a los tiempos de vida cortos, de modo que no alcanzan a ser detectados (no se observan cuando estos tiempos son menores a los requeridos en el sistema de detección). Cuando se requiere estrictamente saber información sobre la masa molecular de una sustancia, se requiere emplear algunos modos complementarios de ionización química CI ya sea para iones positivos o negativos (PICI-NICI) por sus siglas en inglés “Chemical Ionization of

Positive and Negative Ions.” A pesar de ello el grado de concordancia de los iones fragmento que se observan en ambos espectros de masas es alto (96%).

Los estudios realizados por Dhawan *et al.* (2004, págs. 5-6) indican la presencia de terpenos en especies del género *Passiflora*, donde se incluye a linalool, como un constituyente terpénico. Adicionalmente, en este estudio se reportan en varios casos la presencia de linalool a partir de volátiles de *P. edulis* Sims y *P. flavicarpa* L. (Buchbauer & Jirovetz, 1992; Jordán, Goodner & Shaw, 2002). En Ecuador se ratificó la presencia del terpeno mediante el análisis realizado con *Passiflora ligularis* Juss (Chóez *et al.*, 2015)

El linalool ha sido también encontrado en una gran variedad de plantas, por ejemplo, en *Lavandula angustifolia* Miller, el cual fue obtenido por destilación simple y con solventes orgánicos (Peano & Moretti, 2008). Estos mismos autores realizaron una revisión sistemática de los usos tradicionales de algunas especies, así como los efectos potenciales de estas, para propósitos sedativos, actividad antimicrobiana, potencializador de permeabilidad, actividad antioxidante, efecto antiinflamatorio en comparación con derivados de linalool, actividad anticonceptiva, actividad de prevención de fases de lesión de tejido, atenuador del desarrollo de hiperalgesia inflamatoria.

En otra investigación realizada por Bagamboula, Uyttendaele & Debevere (2004), se obtienen diversos terpenos a partir de albahaca y tomillo para evaluar la capacidad antimicrobiana en cepas de *Shigella sonnei* y *S. flexneri*. Las actividades biológicas revisadas para derivados de linalool tienen un amplio espectro de aplicación.

Otro constituyente que se encuentra presente en los aceites esenciales de *Passiflora maliformis* L. es el benzaldehído, cuyo pico en el cromatograma se caracteriza por tener un tiempo de retención con un valor de 7.03 min y con un porcentaje de área de 6.8 % (*figura N° 6.9*).

### Benzaldehído

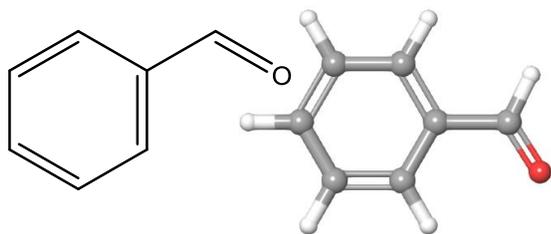


Figura N° 6.9. Representaciones estructurales de benzaldehído. Modelos moleculares editados en: Perkin Elmer-ChemDraw Professional & Schöndinger-Maestro Academic Use Software.

Los espectros de masas experimental y teórico del benzaldehído se presentan en la figura N° 6.10. El pico del ion molecular  $[M^+]$  posee un valor  $m/z$  de 106 uma, correspondiente a la fórmula molecular  $C_7H_6O$ . Adicionalmente los picos de fragmentación son correspondientes a fragmentos característicos de la molécula: 106, 77 y 51 (figura N° 6.11).

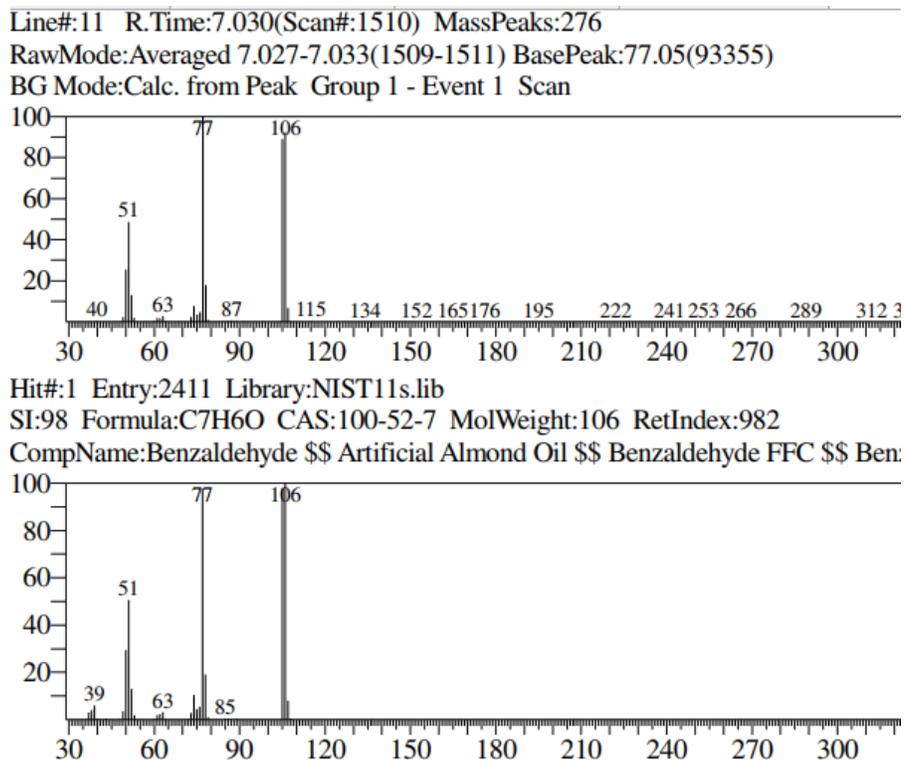


Figura N° 6.10. (a) Espectro de masas experimental y (b) de la base de datos NIST11 library: benzaldehído. Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, programa de Química, Universidad del Quindío 2017.

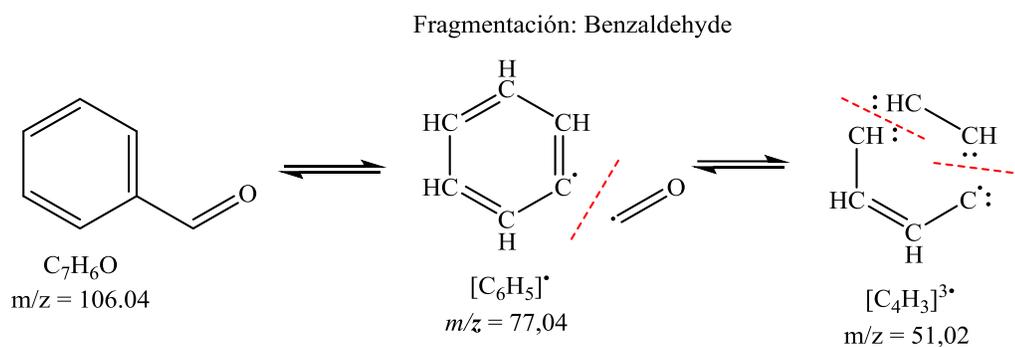


Figura N° 6. 11. Fragmentaciones principales para el benzaldehído. Edición realizada en: ChemDraw Professional.

Diversos autores han reportado los principales constituyentes de ciertas especies de *Passifloras*, generalmente con la especie *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* (Hiu & Scheuer, 1961; Murray, Shipton, & Whitfield, 1972). Estos estudios corresponden a publicaciones de la década del 70, 80 y 90, donde se reporta el benzaldehído, como uno de los compuestos frecuentemente encontrado en esta especie. Montero *et al.* (2016) reportó estudios por análisis instrumental (headspace dinámico por CG) de las sustancias constituyentes del aroma característico.

El benzaldehído también se reportó en los aceites esenciales de la almendra (Gennaro, 2003). También ha sido extraído de las hojas en la especie vegetal *Cinnamom Osmophloeum*. Chang, Chen, & Chang (2001), reportaron que el benzaldehído no presenta efecto inhibitorio bacteriano a concentraciones del orden de 1000 µg/mL.

**6.2.1.2. Cromatograma CG-MS de los aceites esenciales de las semillas secas de *Passiflora maliformis* L. por HD**

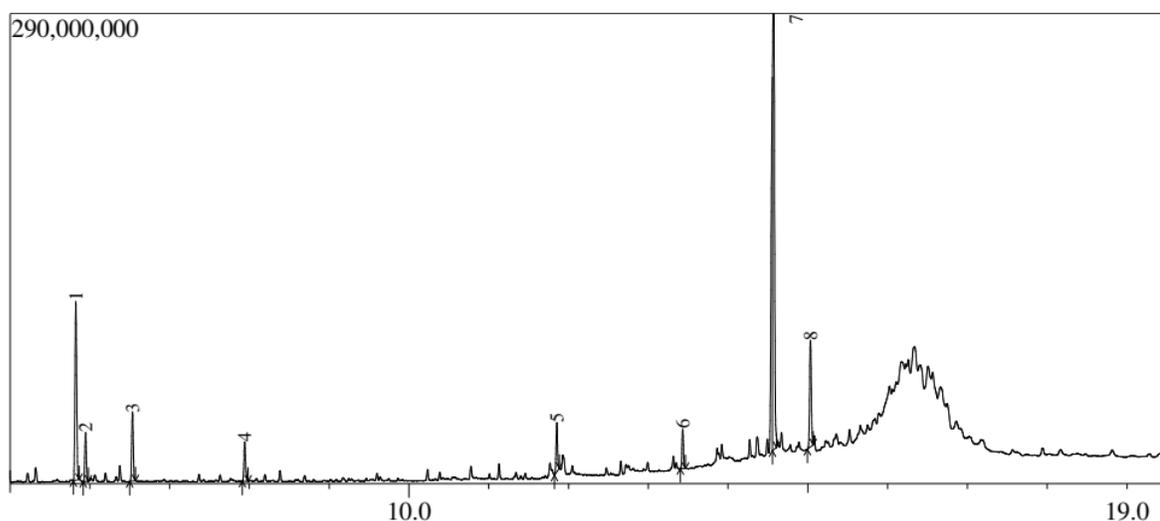


Figura N° 6.12. Perfil cromatográfico (TIC: Corriente iónica total) *Passiflora maliformis* L. material seco: Semillas. Extracción realizada por HD. Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, programa de Química, Universidad del Quindío, 2017.

El análisis por cromatografía de gases y espectrometría de masas de los aceites esencial obtenido con material seco de semillas de *Passiflora maliformis* L., reveló la presencia de 8 compuestos principales. Primordialmente, se hace énfasis en el compuesto timol (figura 6.13), como un isómero del carvacrol identificado en la muestra analizada de material fresco. En comparación con los demás análisis cromatográficos, los aceites esenciales de las semillas presentan menor cantidad de compuestos, entre ellos alcoholes (2), aldehídos (1) y ácidos grasos (1). Estas sustancias se muestran en la tabla N° 6.9 y se enlistan según su elución en la columna cromatográfica.

Tabla N° 6. 8. Composición química de los aceites esencial de las semillas secas de *Passiflora maliformis* L. por CG-MS.

Peak#	R.T (min)	% Área	Nombre
1	5,826	17,07	1,4-Cyclohexanediol, trans-
2	5,948	4,26	Benzeneacetaldehyde
3	6,536	6,32	Phenylethyl Alcohol
4	7,942	3,74	Thymol
5	11,854	4,19	n-Hexadecanoic acid

...continuación tabla N° 6.9.

Peak#	R.T (min)	% Área	Nombre
6	13,432	3,32	Octacosanol
7	14,571	50,80	1,3-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexy
8	15,033	10,29	1,2-Benzenedicarboxylic acid, dinonyl ester

### Timol

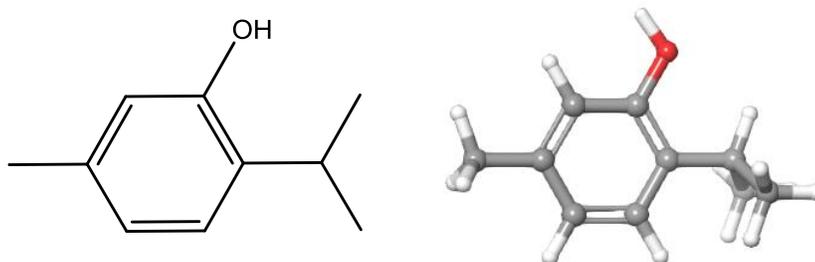
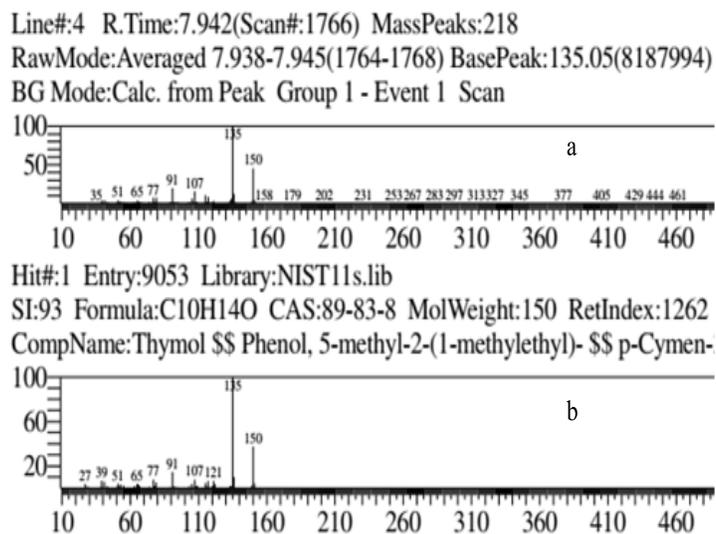


Figura N° 6.13. Representaciones estructurales de timol. Modelos moleculares editados en ChemDraw Professional & Schrödinger Free Maestro ©.

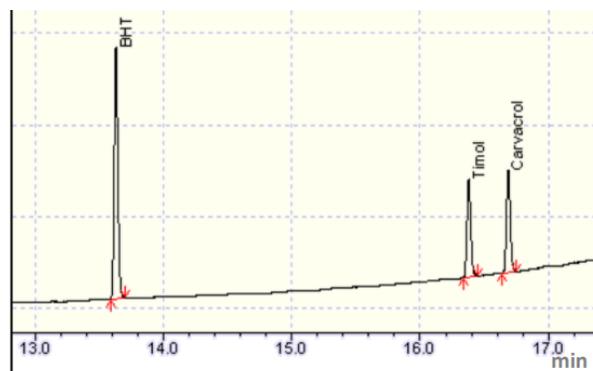
Timol y carvacrol son isómeros que presentan la fórmula molecular  $C_{10}H_{14}O$ , y que fueron reportados en los aceites esenciales del orégano, siendo el carvacrol, el constituyente de mayor abundancia. Para diferenciar estos dos isómeros, se recurre a los espectros de masas, quienes presentan similitud hasta ciertos fragmentos (*Figura N° 6. 5* y *Figura N° 6.16*). Para la molécula de timol, se presenta el ion fragmento con  $m/z$  equivalente a 35 uma, en contraste con la molécula de carvacrol que presenta un pico fragmento con un valor de 40 uma. Los iones que resultan de ambos fragmentogramas (experimentales) también difieren en cuanto a su estabilidad isotópica. Para mayor diferenciación de ambos isómeros, se podría recurrir a sus espectros de resonancia magnética nuclear de  $^{13}C$  e  $^1H$ . (Ver Anexo 3 y 4). Aunque en nuestra investigación no se registraron los espectros de RMN del timol y carvacrol, porque estos no fueron purificados, si se podría recurrir a los espectros teóricos para determinar las diferencias entre estos dos isómeros, teniendo en cuenta los desplazamientos químicos frecuentes ya sea de los átomos de hidrógeno o carbono en cada molécula. Si se comparan los espectros que ofrece la RMN  $^1H$  se observa muy poca diferencia para estos isómeros de posición. Por otro lado, mediante RMN  $^{13}C$  se notan desplazamientos más grandes entre cada espectro.

En la *figura N° 6.14* se muestran los fragmentogramas de masas obtenidos para el timol, que presenta un tiempo de retención de 7,94 min. En la *figura N° 6.16* se describen las fragmentaciones características del timol, que justifica la aparición de los picos fragmento en los espectros de masas.



*Figura N° 6.14* (a) Espectro de masas experimental y (b) de la base de datos NIST11 library para thymol. Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, programa de Química, Universidad del Quindío, 2017.

En términos de diferenciación de estas sustancias, se encuentra en la literatura científica un análisis por CG-FID utilizando un patrón externo de estándares de timol y carvacrol. Nótese los diferentes tiempos de retención para estas sustancias en alto grado de pureza (Aravena, 2014).



*Figura N° 6.15.* Tiempos de retención para estándares de timol y carvacrol. Fuente: (Aravena, 2014, pág. 17)

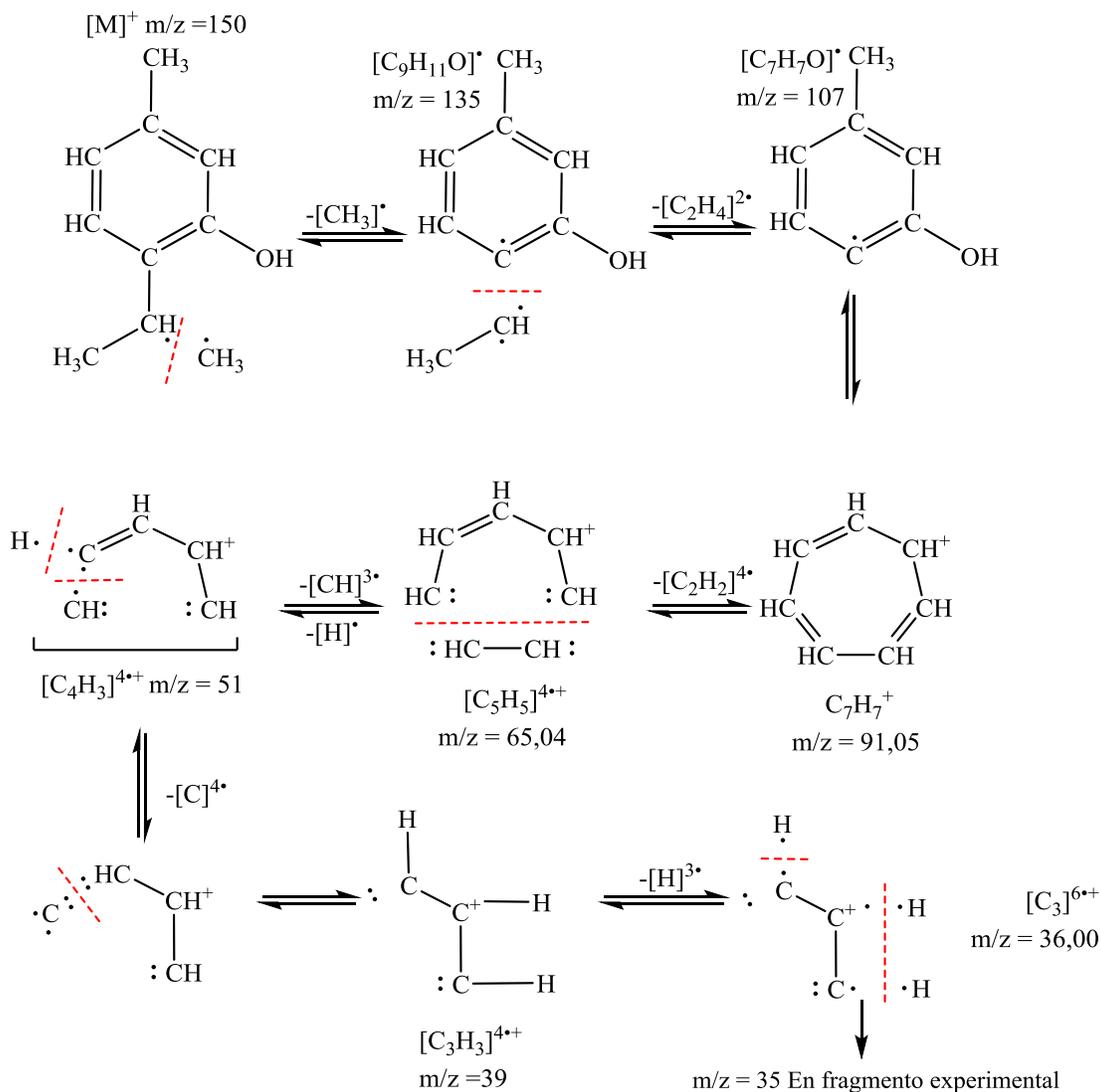


Figura N° 6.16. Fragmentación del timol a partir del Espectro de masas. Editado en: ChemDraw Professional.

Con respecto a los tiempos de retención de los isómeros carvacrol y timol que se presentan en el cromatograma de Aravena (2014), se logra apreciar en la *figura N° 6.15* que para el estándar grado reactivo de carvacrol se presenta un tiempo mayor de retención de 15 minutos, mientras que el timol presenta un valor menor. En este estudio los tiempos de retención para el timol y carvacrol fueron de 7,94 y 12,3 min, respectivamente, lográndose encontrar consistencia de los resultados en ambos estudios.

**6.2.1.3. Cromatograma de gases GC-MS de los AE de las hojas secas de *Passiflora maliformis* L. por HD**

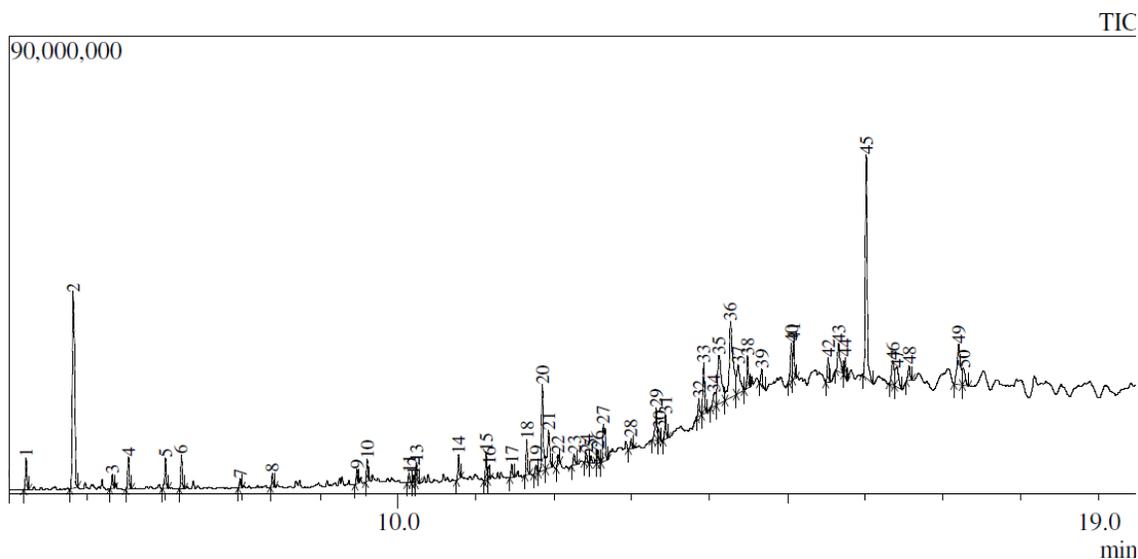


Figura N° 6.17. Perfil cromatográfico (TIC: Corriente iónica total) de las hojas secas de *Passiflora maliformis* L. por HD. Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, programa de Química, Universidad del Quindío 2017.

El análisis por cromatografía de gases/masas de los aceites esenciales obtenidos con material de hojas secas de *Passiflora maliformis* L., reveló la presencia de un total de 48 compuestos principales, correspondientes alcoholes, hidrocarburos, y compuestos aromáticos. Estas sustancias se muestran en la tabla N° 6.10 y se enlistan según su elución en la columna utilizada en orden del tiempo de retención y su abundancia respectiva.

Tabla N° 6. 9. Composición química de los AE de las hojas secas de *Passiflora maliformis* L. por CG-MS.

Peak#	R.Time (min)	Area%	Name
1	5.222	1.35	Benzaldehyde
2	5.826	13.71	2-Chlorocyclohexanol
3	6.331	0.64	Mequinol
4	6.537	1.45	Phenylethyl Alcohol
5	7.012	1.42	2H-Pyran-3-ol, 6-ethenyltetrahydro-2,2,6-trimethyl-
6	7.219	1.41	Methyl salicylate
7	7.972	0.37	2-Butanone, 4-(2,2,6-trimethylcyclohexyl)-

...continuación Tabla N° 6.10.

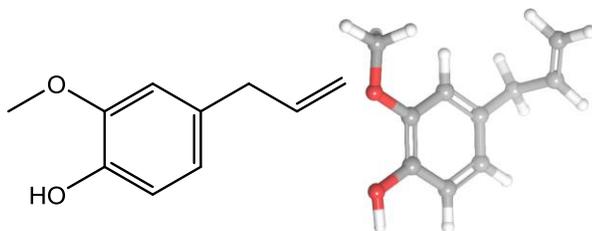
Peak#	R.Time (min)	Area%	Name
8	8.386	0.57	Eugenol
9	9.471	0.57	Methanone, dicyclohexyl-
10	9.602	0.87	Dodecanoic acid
11	10.139	0.45	7-Oxabicyclo[4.1.0]heptane, 1-methyl-4-(2-methyloxiranyl)-
12	10.195	0.41	7-Oxabicyclo[4.1.0]heptane, 1-methyl-4-(2-methyloxiranyl)-
13	10.235	0.79	Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl-
14	10.777	1.07	Tetradecanoic acid
15	11.131	1.13	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-
16	11.166	0.53	Isoamyl salicylate
17	11.458	0.56	1,2-Benzenedicarboxylic acid, diundecyl ester
18	11.653	1.44	Homosalate
19	11.772	0.45	7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-8,Dione
20	11.852	4.51	n-Hexadecanoic acid
21	11.931	2.89	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-
22	12.056	0.44	Ethanol, 2-(dodecyloxy)-
23	12.258	0.61	Behenic alcohol
24	12.417	0.40	Oxybenzone
25	12.472	0.39	N.I
26	12.566	0.58	1-Naphthalenepropanol, alpha-ethenyldecahydro-2-hydroxy-alpha
27	12.636	2.77	Phytol
28	12.994	0.47	Heneicosane
29	13.315	1.75	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-
30	13.352	0.51	2-Hexadecanol
31	13.435	1.05	1-Decanol, 2-hexyl-
32	13.864	0.86	Heneicosane
33	13.926	2.48	N.I
34	14.058	1.25	Octanamide, N,N-dimethyl-
35	14.123	5.77	1-Decanol, 2-hexyl-
36	14.272	8.75	1-Decanol, 2-hexyl-
37	14.366	2.78	Octadecanoic acid, 2,3-dihydroxypropyl ester
38	14.488	1.48	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-
39	14.669	0.72	Tetracontane
40	15.048	1.92	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-
41	15.081	1.71	Tetracosane
42	15.522	1.13	Tetracontane
43	15.657	2.08	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-
44	15.743	0.77	Squalene

...continuación Tabla N° 6.10.

Peak#	R.Time (min)	Area%	Name
45	16.012	12.53	Dotriacontane
46	16.352	1.79	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-
47	16.412	2.09	1-Triacontanol
48	16.563	0.91	Tetrapentacontane
49	17.200	4.11	Tetracosane
50	17.265	1.32	Oxirane, [(dodecyloxy)methyl]-

Uno de los compuestos de tipo aldehído que se encuentra presente los AE de las hojas secas de *Passiflora maliformis* L. es el eugenol (*figura N° 6.18*). En el cromatograma (*figura N° 6.17*) se aprecia el pico correspondiente a este compuesto con un tiempo de retención de 5.22 min.

### *Eugenol*



*Figura N° 6. 18.* Representaciones moleculares del eugenol. Modelos moleculares editados en: ChemDraw Professional & Schörlindger-Maestro Academic.

En la *figura N° 6.19* (a y b), se muestran los espectros de masas del eugenol, cuyo pico del ion molecular  $[M^+]$  presenta un valor  $m/z$  de 164 uma, correspondiente a la fórmula molecular  $C_{10}H_{12}O_2$ . Adicionalmente, se observan picos de fragmentación característicos a las rupturas de la molécula (*figura N° 6.20*) con  $m/z$  149, 121, 103, 91, 77, 65 y 55.

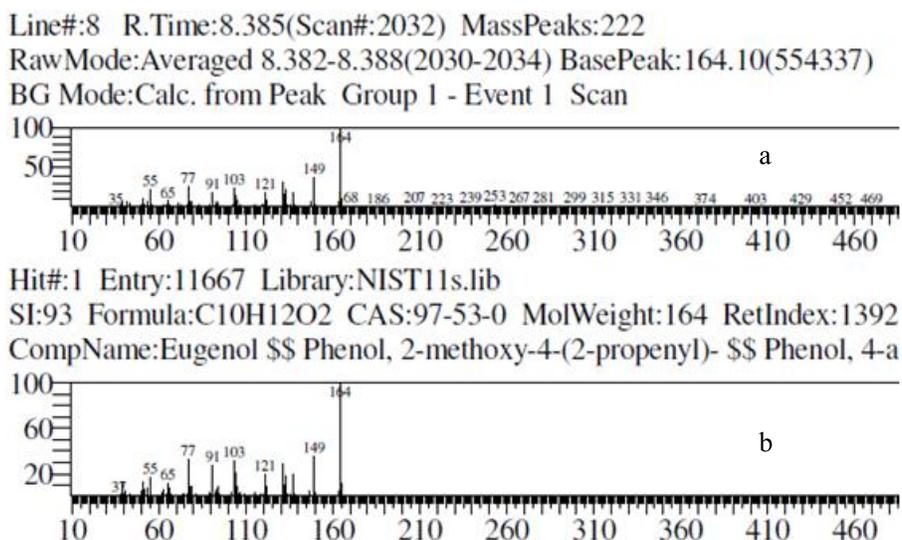


Figura N° 6.19. (a) Fragmentogramas de masas experimental y (b) de la base de datos NIST11 library para eugenol. Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, programa de Química, Universidad del Quindío, 2017.

El eugenol es el componente principal de los aceites de especies del género *Syzygium* y ha sido objeto de numerosas investigaciones (Baldovino, 1994). Se le asocia por ser usado como un ingrediente en la culinaria, perfumería, cosmética entre otros. A nivel biológico se tienen reportes sobre la actividad antibacterial del eugenol contra *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* y *Vibrio parahaemolyticus* (Karapmar & Aktug, 1987).

En (Didry, Dubreuil , & Pinkas , 1994) se reporta el uso de carvacrol, thymol y cinamaldehído, que fueron usados contra bacterias de la cavidad bucal. Los componentes fueron testados individualmente y en combinaciones permisibles.

En varios de los estudios ya citados (Buchbauer & Jirovetz , 1992) se reportó la presencia de eugenol en la especie *Passiflora incarnata* L. mediante CG-FID. También fue mencionado en el análisis de híbridos de *Passiflora* por CG por el método estándar de patrón interno (Calevo *et al.*, 2016). Del mismo modo, se hace referencia a la caracterización química de estructuras ligadas glicosidicamente a esta sustancia por CG-MS y NMR <sup>13</sup>C y <sup>1</sup>H, con material vegetal de *Passiflora flavicarpa*, *Passiflora ligularis* Juss, y *Passiflora mollissima* (Chassagne *et al.*, 1997). Otros autores utilizaron la técnica

Head Space GC-MS y GC-FTIR con material seco de *P. incarnata* L., encontrando trazas de eugenol dentro del grupo de compuestos minoritarios (Buchbauer *et al.*, 1992).

Fragmentaciones moleculares de Eugenol

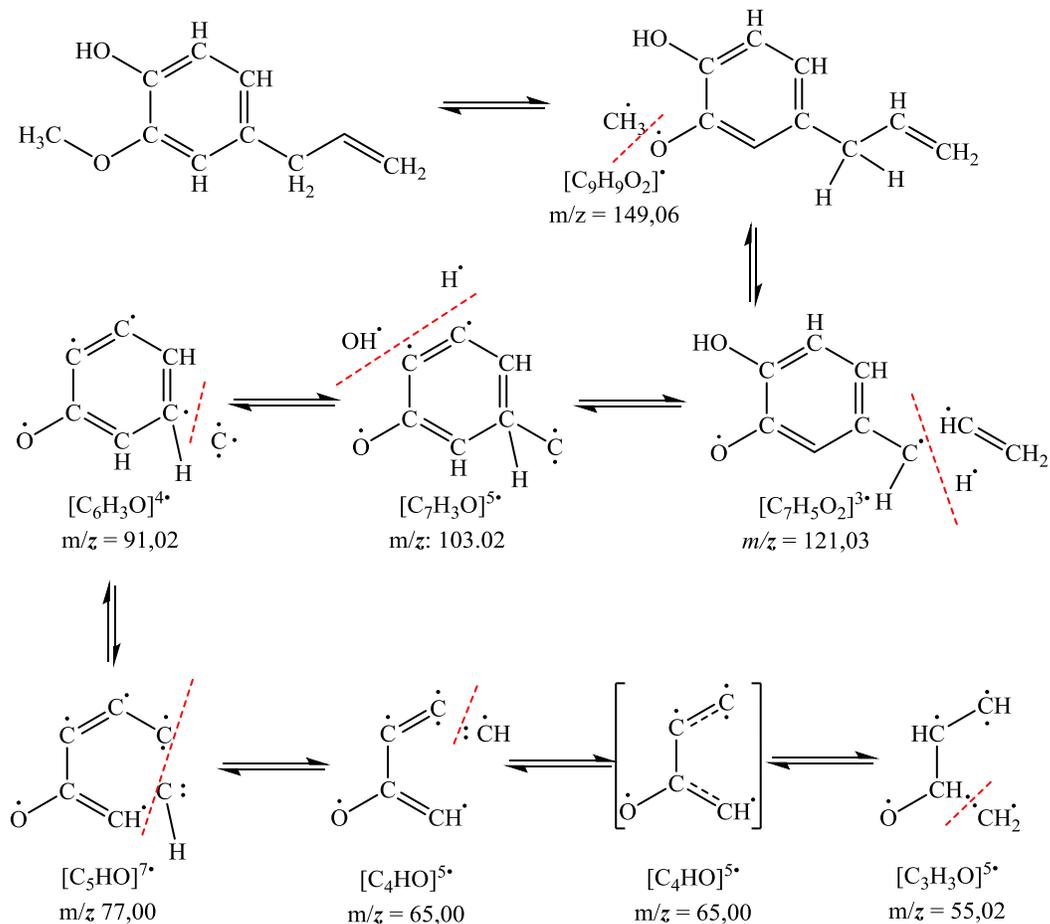


Figura N° 6.20. Fragmentaciones del eugenol. Edición realizada en: ChemDraw Professional.

#### 6.2.1.4. Cromatograma CG-MS de los AE de los tallos secos de *P maliformis L.*

por HD

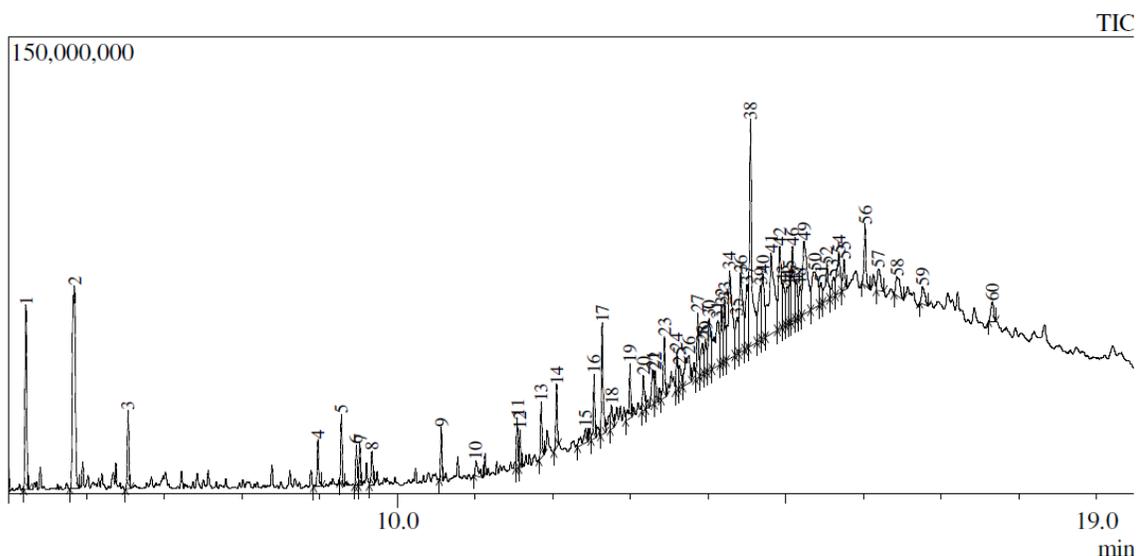


Figura N° 6. 21. Perfil cromatográfico (TIC: Corriente iónica total) *Passiflora maliformis L.* material seco: Tallos. Extracción realizada por HD. Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, programa de Química, Universidad del Quindío, 2017.

El análisis por cromatografía de gases/masas de los aceites esenciales obtenido con material de tallos secos de *Passiflora maliformis L.* por la técnica de hidrodestilación simple, reveló la presencia de un total de 56 de 60 compuestos hallados, correspondientes principalmente a hidrocarburos y alcoholes, también se encuentran compuestos aromáticos y terpenos en menor proporción. Estas sustancias se muestran en la tabla N° 6.11 y se enlistan según su elución en la columna utilizada en orden del tiempo de retención y su abundancia respectiva.

Tabla N° 6.10. Composición química de los aceites esenciales de los tallos de *Passiflora maliformis L.* por CG-MS

Peak#	R <sub>T</sub> (min)	Area%	Name
1	5.220	3.57	Benzaldehyde
2	5.845	7.05	Benzyl alcohol
3	6.536	1.53	Phenylethyl alcohol
4	8.981	0.92	5,9-Undecadien-2-one, 6,10-dimethyl-, (E)-
5	9.282	1.13	trans-.beta.-Ionone
6	9.474	0.73	Methanone, dicyclohexyl-
7	9.518	0.80	1,3-Benzenediol, 5-pentyl-

...continuación Tabla N° 6.11.

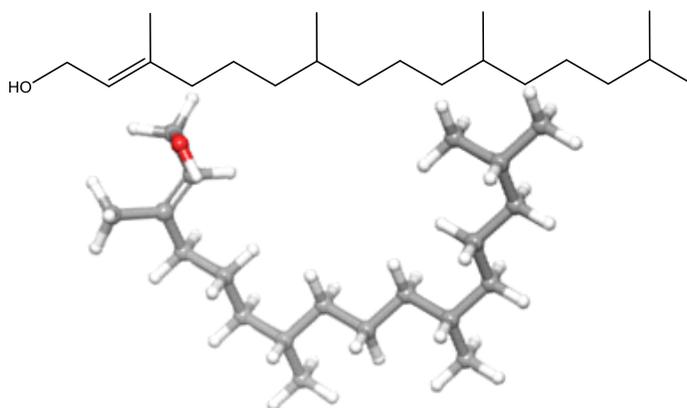
Peak#	R <sub>T</sub> (min)	Area%	Name
8	9.674	0.68	2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-
9	10.566	0.87	Tetradecanal
10	11.015	0.56	Heneicosane
11	11.544	0.82	Nonadecane
12	11.582	0.64	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester
13	11.854	1.08	n-Hexadecanoic acid
14	12.051	1.05	Heneicosane
15	12.426	0.70	Pentacosane
16	12.534	1.14	Heneicosane
17	12.638	2.20	Phytol
18	12.756	0.63	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester
19	12.997	1.12	Heneicosane
20	13.168	0.78	Tetracosane
21	13.293	1.24	Octanamide, N,N-dimethyl-
22	13.322	0.64	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-
23	13.438	1.33	Pentatriacontane
24	13.599	0.87	Pentatriacontane
25	13.638	0.72	Octadecane
26	13.755	1.70	Pentatriacontane
27	13.869	1.40	Pentatriacontane
28	13.927	1.08	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-
29	13.968	0.86	Tetracosane
30	14.016	1.78	Tetracontane
31	14.129	2.84	Pentatriacontane
32	14.174	1.32	Octanamide, N,N-dimethyl-
33	14.214	1.40	Hexanoic acid, 2-ethyl-, 2-methylpropyl ester
34	14.279	4.41	Dotriacontane
35	14.372	1.30	Glycerol 1-palmitate
36	14.419	3.30	Tetracontane
37	14.498	2.01	N.I.
38	14.548	6.93	Di-n-octyl phthalate
39	14.675	2.13	Hexadecane, 2-methyl-
40	14.707	1.99	Cyclohexane, nonadecyl-
41	14.813	5.41	Pentatriacontane
42	14.924	2.73	Tetrapentacontane
43	14.968	1.45	N.I.
44	15.015	1.14	1-Decanol, 2-hexyl-
45	15.052	0.87	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-

...continuación Tabla N° 6.10.

Peak#	R <sub>T</sub> (min)	Area%	Name
46	15.087	2.45	Dotriacontane
47	15.142	0.89	Cyclohexane, decyl-
48	15.182	0.98	Cholestane
49	15.236	4.06	N.I.
50	15.373	2.68	Dotriacontane
51	15.458	0.62	N.I.
52	15.531	1.41	Tetrapentacontane
53	15.608	0.82	Cyclohexane, 1,1'-(1,3-propanediyl)bis-
54	15.684	1.70	Tetracontane
55	15.751	0.80	Squalene
56	16.021	1.46	Dotriacontane
57	16.196	0.89	Tetracontane
58	16.430	1.01	Tetrapentacontane
59	16.763	0.71	Tetrapentacontane
60	17.658	0.67	Anthracene, 9-dodecyltetradecahydro-

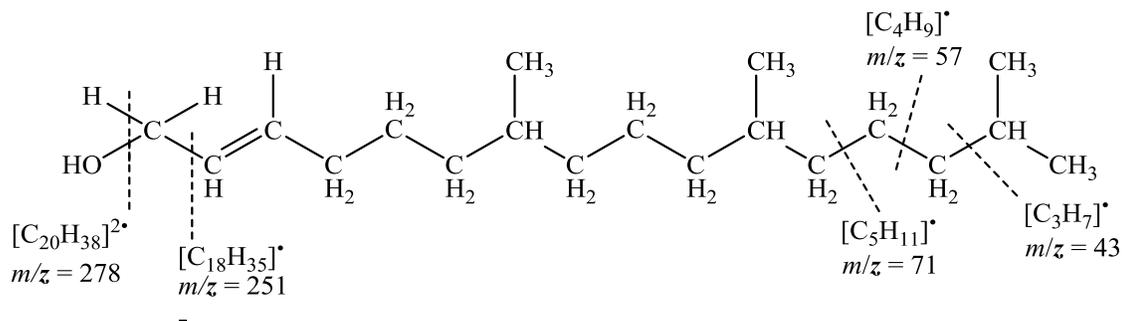
Dentro de los compuestos identificados en los AE de los tallos secos de *Passiflora maliformis* L. de naturaleza terpénica, se encontró el fitol (*figura 6.22*), con un tiempo de retención de 12.6 min, y un porcentaje de área de 2.20 %.

#### *Fitol*

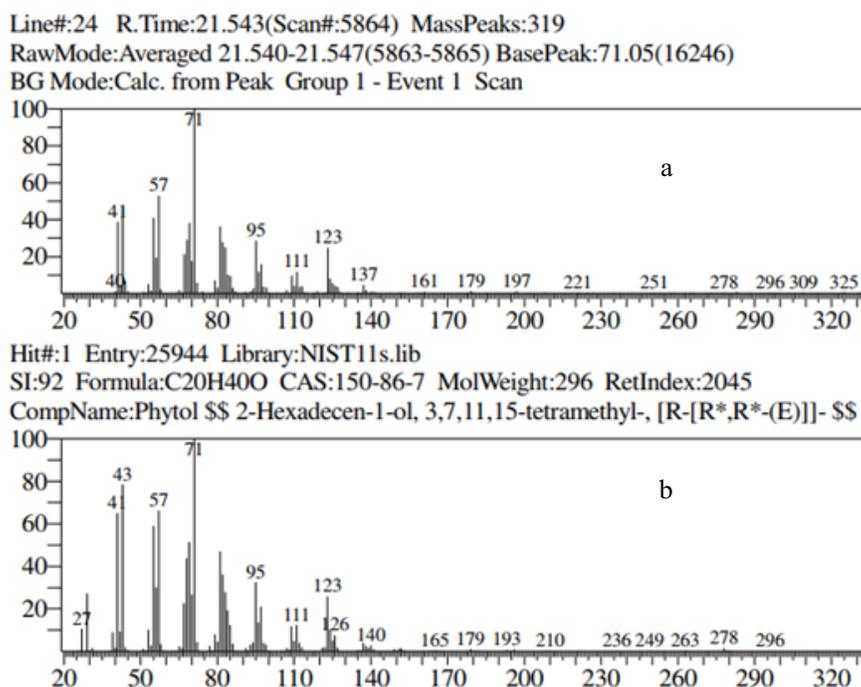


*Figura N° 6. 22.* Representación estructural de fitol. Terpeno identificado por HD material vegetal fresco. Modelos moleculares editados en: ChemDraw Professional & Schörlindger-Maestro Academics ©.

En la *figura N° 6.24* (a y b), se muestran los espectros de masas del fitol. Allí se muestra el pico del ion molecular  $[M^+]$  con un valor  $m/z$  de 296 uma, correspondiente a la fórmula molecular  $C_{20}H_{40}O$ . Adicionalmente, se observan picos de fragmentación (*Figura N° 6.23*) con  $m/z$  de: 278, 123, 111, 95, 71, 57, característicos.



*Figura N° 6. 23.* Algunas fragmentaciones del fitol. Edición realizada en: ChemDraw Professional



*Figura N° 6. 24.* (a) Espectros de masas experimental y (b) de la base de datos NIST11 library para fitol. Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, programa de Química, Universidad del Quindío 2017.

El fitol ha sido reportado en los aceites esenciales de *Passiflora incarnata* L. (Buchbauer & Jirovetz, 1992) obtenido por la técnica de Hidrodestilación, este alcohol diterpénico (*figura N° 6.22*) ha sido investigado en varias revisiones, relacionándolo con sus precursores, rutas, derivados, síntesis, metabolismo y aplicación al campo médico-farmacológico (Raja *et al.*, 1998).

El fitol es un componente isoprenoide se encuentra en muchos vegetales de hoja verde (De Moraes *et al.*, 2014). También, para estos autores, este compuesto ha sido objeto de estudio en evaluación biológica contra la esquistosomiasis, un problema de salud público que ha afectado a millones de personas en el mundo. Por otra parte, Toregul *et al.*, (2015) estableció que el fitol es un agente potencial en: Indicaciones toxicológicas, capacidad antimicrobiana, actividad citotóxica, antitumoral, antimutagénico, con indicaciones clínicas en diabetes, inmunología, actividad neurofarmacológica, antioxidante, entre otras.

**6.2.1.5. Cromatograma CG-MS de los aceites esenciales de las partes aéreas secas de *Passiflora maliformis* L.: por HDMW**

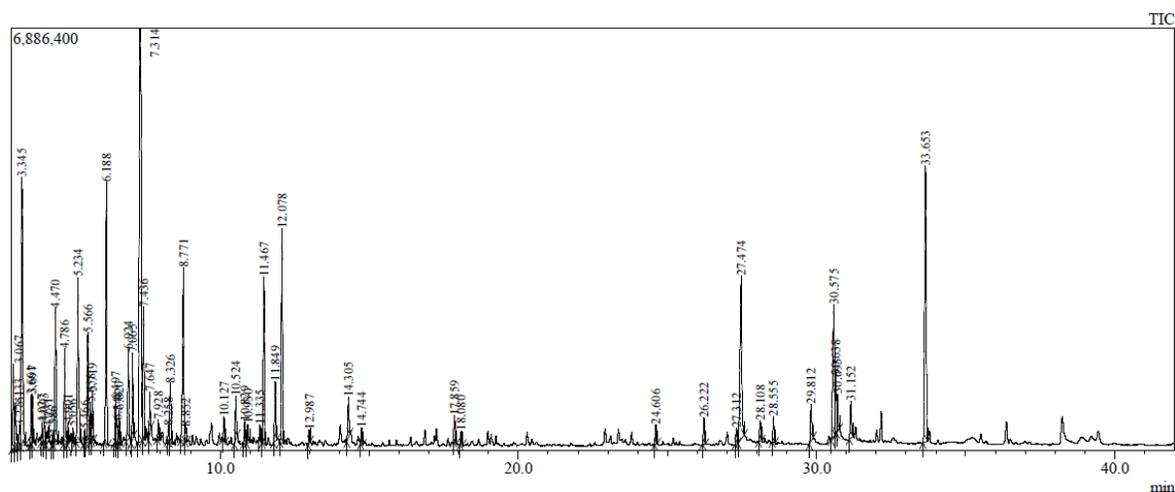


Figura N° 6. 25. Perfil cromatográfico (TIC: Corriente iónica total) del aceite esencial de las partes aéreas secas de (Hojas, tallos y semillas) de *Passiflora maliformis* L. por HDMW. Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, programa de Química, Universidad del Caldas 2018.

El análisis por cromatografía de gases/masas de los aceites esenciales obtenido con material seco de partes aéreas de *Passiflora maliformis* L., reveló la presencia de un total de 58 de 60 compuestos, correspondientes a alcoholes, hidrocarburos, aldehídos y ácidos grasos, también se encuentran trazas de terpenos, ésteres y cetonas. Estas sustancias se muestran en la tabla N° 6.12.y se enlistan según su elución en la columna utilizada en orden del tiempo de retención.

Tabla N° 6. 11. Composición química de los aceites esenciales de las partes aéreas secas (hojas tallos semillas) de *Passiflora maliformis* L. por HDMW.

#Peak	R <sub>T</sub> (min)	%Area	Name
1	3.067	1.71	Butanal, 3-methyl-
2	3.133	0.88	Butanal, 2-methyl-
3	3.275	0.54	Cyclopropanemethanol, .alpha.-butyl-
4	3.345	8.00	Cyclohexene
5	3.661	0.77	1-Butanol, 3-methyl-
6	3.697	0.80	1-Butanol, 2-methyl-
7	4.027	0.27	4-Chloro-3-methylbut-2-en-1-ol
8	4.093	0.58	Cyclopentanone
9	4.231	0.35	Pentanoic acid, 2,2,4-trimethyl-3-hydroxy-, isobutyl ester

...continuación tabla N° 6.12.

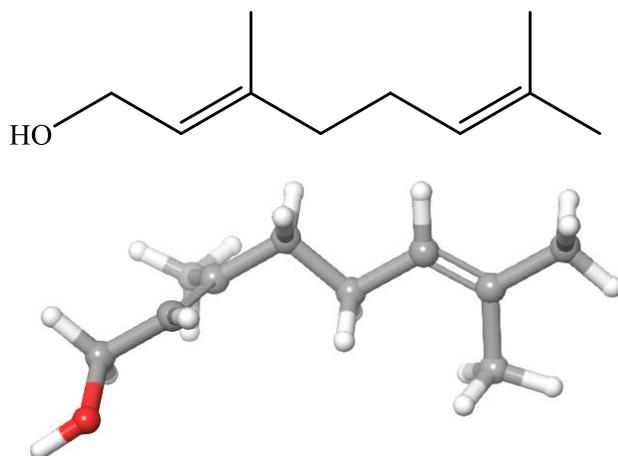
#Peak	R <sub>T</sub> (min)	%Area	Name
10	4.386	0.15	2-Pentanol, 4-methyl-
11	4.470	3.32	2-Cyclopenten-1-one
12	4.786	1.69	2-Hexenal, (E)-
13	4.901	0.28	3-Hexen-1-ol, (Z)-
14	5.056	0.18	1-Hexanol
15	5.234	4.07	Cyclopentane, ethylidene-
16	5.466	0.20	Ethanone, 1-(2-furanyl)-
17	5.566	2.07	Butane, 1-propoxy-
18	5.658	0.60	3-Isopropylcyclopentene
19	5.719	0.80	2-Cyclohexen-1-one
20	6.188	5.27	Benzaldehyde
21	6.497	0.76	Phenol
22	6.548	0.41	trans-3,5-Heptadien-2-one
23	6.620	0.56	5-Hepten-2-one, 6-methyl-
24	6.924	1.63	2-Penten-1-ol, (Z)-
25	7.065	1.41	Diazene, bis(1,1-dimethylethyl)-
26	7.314	14.96	2-Chlorocyclohexanol
27	7.436	2.79	Benzeneacetaldehyde
28	7.647	0.72	Ethanone, 1-(1H-pyrrol-2-yl)-
29	7.928	0.37	1,2-Propanedione, 1-phenyl-
30	8.258	0.42	Dodecane, 4,6-dimethyl-
31	8.326	1.29	Phenol, 2-methoxy-
32	8.771	4.26	Phenylethyl Alcohol
33	8.852	0.28	7-Oxabicyclo[4.1.0]heptane, 1,5-dimethyl-
34	10.127	0.43	(3R,6S)-2,2,6-Trimethyl-6-vinyltetrahydro-2H-pyran-3-ol
35	10.524	0.83	Methyl salicylate
36	10.829	0.42	Benzofuran, 2,3-dihydro-
37	10.930	0.46	1H-Pyrrole-2,5-dione, 3-ethyl-4-methyl-
38	11.335	0.28	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, (Z)-
39	11.467	3.49	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)-
40	11.849	1.20	Geraniol
41	12.078	4.74	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (E)-
42	12.987	0.23	Dodecane, 4,6-dimethyl-
43	14.305	0.91	Benzyl 2-chloroethyl sulfone
44	14.744	0.30	Geranyl acetate
45	17.859	0.62	2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-
46	18.080	0.27	Heptadecane

...continuación tabla N° 6.12.

#Peak	R <sub>T</sub> (min)	%Area	Name
47	24.606	0.38	Nonadecane
48	26.222	0.56	7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione
49	27.312	0.30	Heneicosane
50	27.474	5.36	n-Hexadecanoic acid
51	28.108	0.47	Eicosane, 1-iodo-
52	28.555	0.51	Heneicosane
53	29.812	0.92	1-Heneicosanol
54	30.575	4.22	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-
55	30.638	1.22	1,8,11,14-Heptadecatetraene, (Z,Z,Z,Z)-
56	30.695	0.86	Palmitoleic acid
57	31.152	0.85	Octadecanoic acid
58	33.653	7.78	5-Eicosene, (E)-

Dentro de los compuestos identificados en los aceites esenciales de *Passiflora maliformis* L. por hidrodestilación asistida por microondas se encuentra el geraniol (*Figura N° 6.26*), cuyo pico en el cromatograma (*Figura N° 6.25*) tiene un valor de tiempo de retención de 11.84 min, y un porcentaje de área de 1.20 %.

*Geraniol*



*Figura N° 6. 26.* Representaciones estructurales del geraniol. Edición de modelos moleculares en: ChemDraw Professional (Perkin Elmer Software ©)

Line#:40 R.Time:11.848(Scan#:5310)  
MassPeaks:200  
RawMode:Averaged 11.847-11.850(5309-5311) BasePeak:69(18572)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan

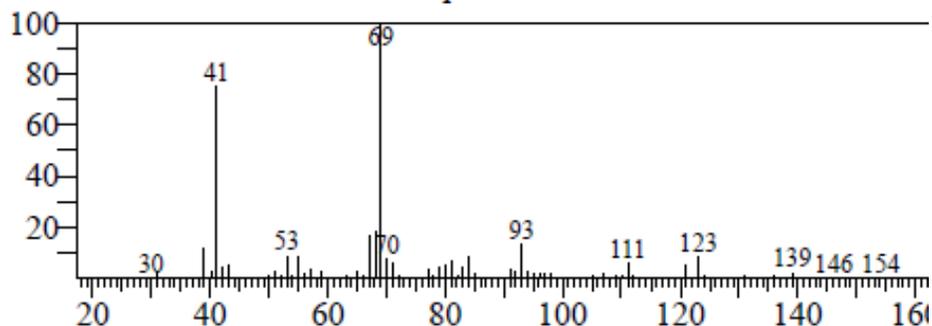


Figura N° 6. 27. Espectro de masas experimental de geraniol. Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, programa de Química, Universidad del Caldas, 2018.

geraniol  
C10H18O (Mass of molecular ion: 154)

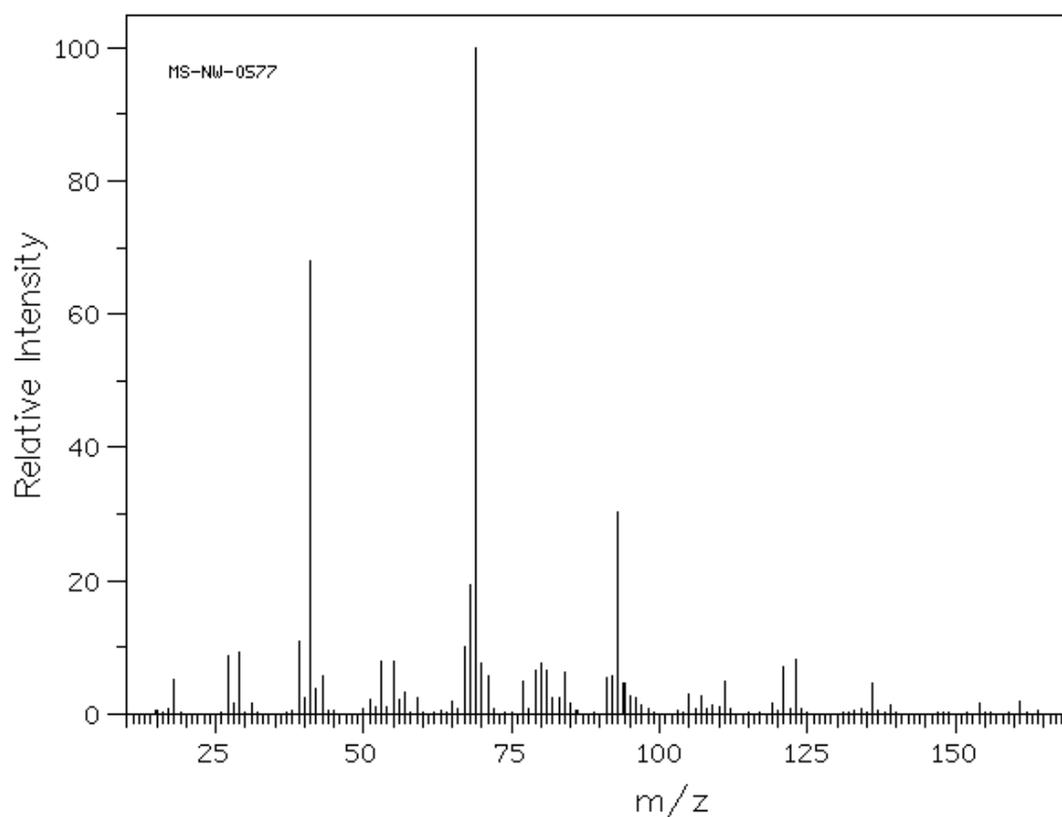
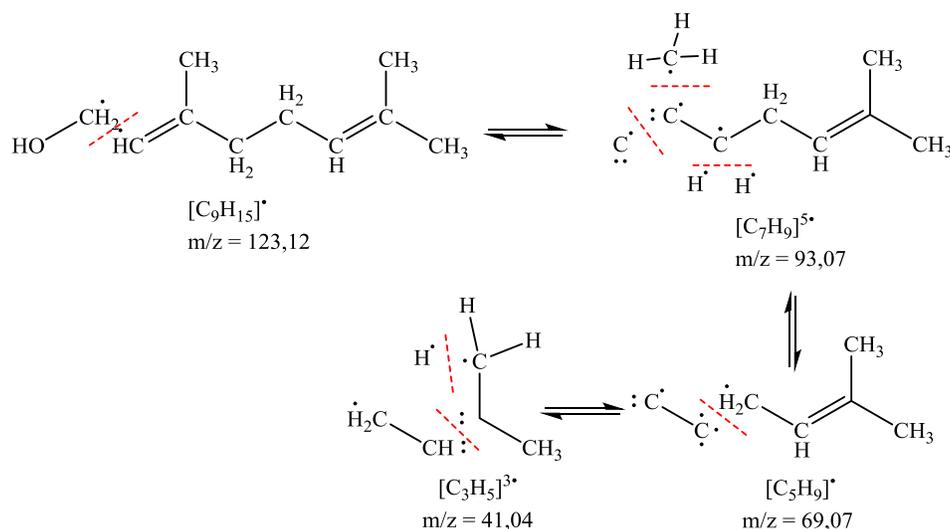


Figura N° 6. 28. Espectro de masas de geraniol. Fuente: Spectral Database for Organic Compounds & NIST (SDBS, 2018)

Los espectros de masas se muestran en las *figuras N° 6 27 y 6,28*. El pico del ion molecular  $[M^+]$  presenta un valor  $m/z$  de 154 uma, correspondiente a la fórmula molecular  $C_{10}H_{18}O$ . Adicionalmente, se observan picos de fragmentación características a las rupturas de la molécula (*Figura N° 6.29*) con  $m/z$  123, 93, 69, 41.



*Figura N° 6. 29.* Fragmentaciones del geraniol. Edición realizada en: ChemDraw Professional

Esta molécula ha sido identificada por Guerra *et al.*, (2004), como uno de los constituyentes mayoritarios, al igual que Nerol, en los AE de *Cymbopogon citratus* (DC). Stapf, conocida comúnmente en Cuba como caña santa. Los aceites esenciales mostraron inhibición microbiana, en bacterias gram-positivas como *S. aureus* y *S. epidermis*. Los autores atribuyen principalmente esta actividad biológica al geraniol ( $\alpha$ -cital) y el nerol ( $\beta$ -cital).

Otra revisión importante, realizada por Carnesecchi *et al.* (2001) revela que el geraniol posee un efecto antiproliferativo sobre el crecimiento de las células de cáncer de colon humano *in vitro*; los autores explican que el geraniol no posee efecto citotóxico, sino que inhibe la síntesis de ADN, esto produce una aglomeración de células Caco-2 en la fase S, indicando que su efecto es citoestático, por lo tanto, esta baja toxicidad permite que los investigadores sugieran realizar futuros estudios *in vivo* para el tratamiento y prevención de cáncer de colon.

**6.2.1.6. Análisis Comparativo de la composición química de *Passiflora maliformis* L**

En la tabla N° 6.13, se muestra una comparación en función de los compuestos identificados por CG-MS con respecto a la técnica y el material vegetal extraído de *Passiflora maliformis* L.

Tabla N° 6. 12. Comparación de la abundancia de funciones químicas para los AE de *Passiflora maliformis* L.

Función Química	FRESCO		HD		HDMW
	Partes aéreas %	%Hojas	SECO	%Tallos	SECO
Terpenos	19,71	3,54	3,98	3,74	1,5
Aldehídos	18,2	1,35	4,44	4,26	17,08
Ésteres	13,17	3,38	1,27	0	0,83
Alcoholes	17,16	20,67	9,72	9,64	28,11
Cetonas	16,16	1,34	3,46	0	7,91
Ácidos grasos	1,83	7,01	1,08	4,19	10,44
Hidrocarburos	11,4	22,44	52,33	0	27,9
Mezclas	2,38	25,5	6,1	78,16	6,23
Otros	0	14,8	17,6	0	0
total %	100,0	85,2	82,4	100,0	100,0

De acuerdo a los resultados, se logra apreciar que los terpenos se encuentran en mayor abundancia en los AE de las partes aéreas frescas por Hidrodestilación. Así mismo, se observa que para el material fresco se extraen en casi la misma proporción diferentes compuestos, que cuando se emplea el material seco o por HDMW.

En la *figura N° 6.30* se observa que a través de la técnica de HDMW se logra obtener los AE con un mayor número de compuestos químicos.

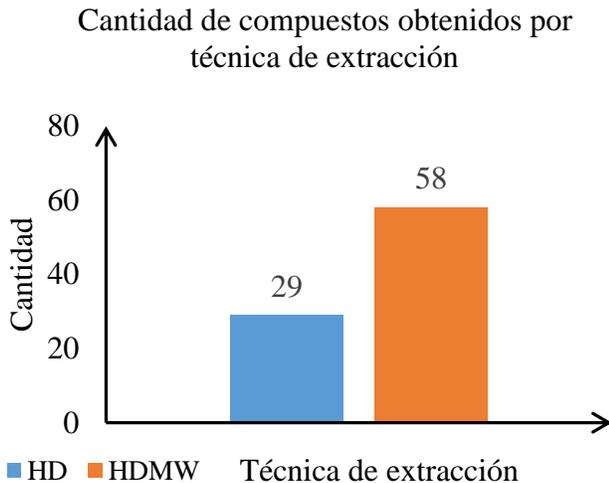


Figura N° 6. 30. Comparación en función de la variedad de compuestos y la técnica de extracción.

Por otra parte, la figura N° 6.31 muestra que empleando HDMW para la obtención de los AE de partes aéreas en *Passiflora maliformis* L. se extrae un mayor número de alcoholes, hidrocarburos y ácidos grasos, sin embargo, en los AE obtenidos por HD se extrae mayor cantidad de terpenos, ésteres y cetonas.

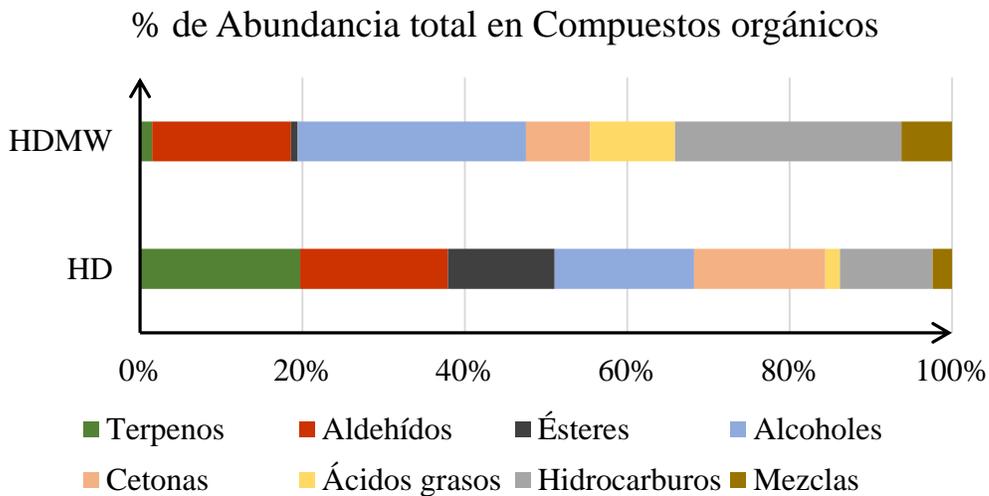
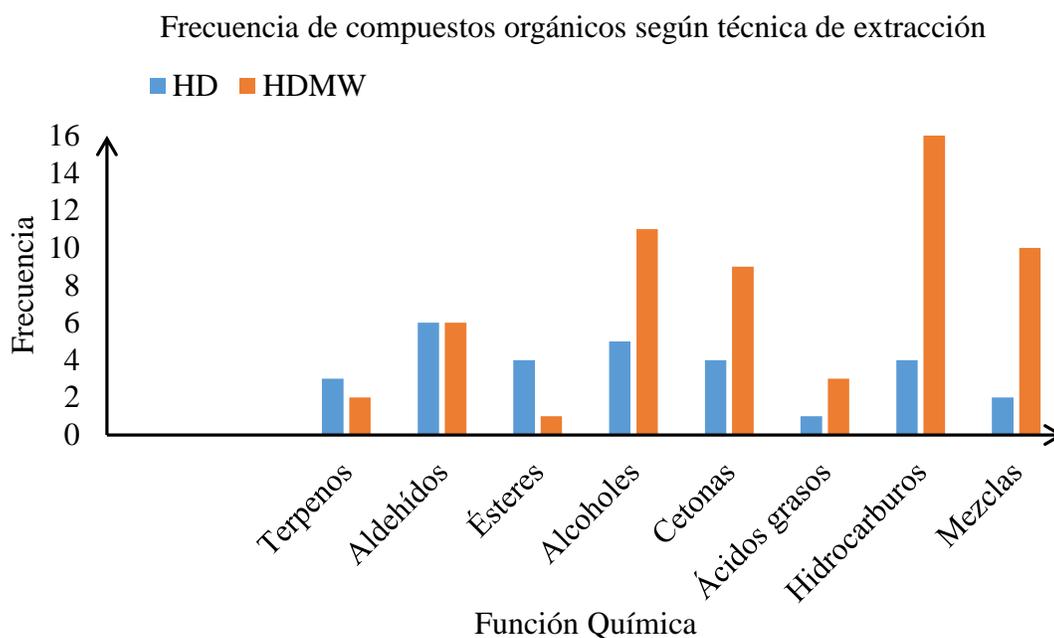


Figura N° 6. 31. Abundancia de compuestos orgánicos en los AE de *Passiflora maliformis* L. por dos técnicas de extracción.

Con respecto a la frecuencia de compuestos identificados, en la *figura N° 6.32* se aprecia que mediante la técnica de HDMW se extrae un mayor número de hidrocarburos (16), en contraste con la técnica de HD, que permitió obtener los AE con un menor número de ellos (4). Así mismo, hay un mayor número de alcoholes y cetonas extraídas por HDMW. Sin embargo, hay una pequeña diferencia de compuestos como terpenos y ésteres presentes en los AE por HD.



*Figura N° 6. 32.* Frecuencia de compuestos identificados en los AE de *Passiflora maliformis* L. con dos técnicas de extracción.

## 6.2.2. *Passiflora ligularis* Juss

### 6.2.2.1. Cromatograma CG-MS de los aceites esenciales de partes aéreas secas de *Passiflora ligularis* Juss: por HD

A partir del análisis de los cromatogramas CG-MS, se logra apreciar el número de picos correspondientes a los constituyentes que componen los aceites esenciales de las partes aéreas (figura N° 6.33), hojas y semillas de la especie *Passiflora ligularis* Juss.

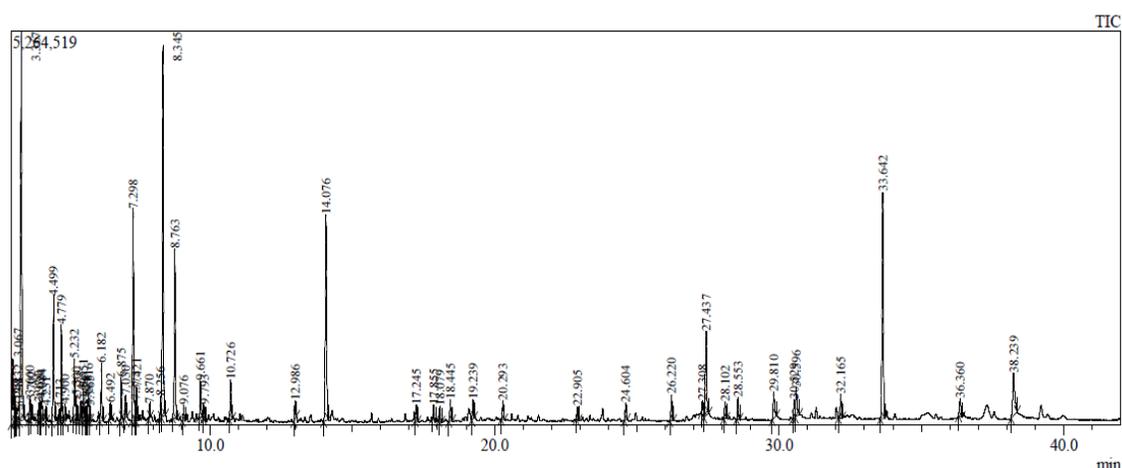


Figura N° 6.33. Perfil cromatográfico (TIC: Corriente iónica total) de los aceites esenciales de *Passiflora ligularis* Juss, material seco: Partes aéreas (Hojas, tallos y semillas). Extracción HD. Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental Facultad de Ciencias Exactas y Naturales Universidad de Caldas, 2018.

En los aceites esenciales que se obtuvieron de las partes aéreas de *Passiflora ligularis* Juss se encontraron 59 compuestos (tabla N° 6.14), correspondientes a hidrocarburos de cadena larga, cetonas y alcoholes. Además, se observa a la acetoina (figura 6.34) como el compuesto mayoritario. Otros compuestos que se encuentran en mayor proporción son: 2-clorociclohexanol, pirazina, feniletanol, fenol, ácido hexadecanoico y 5-eicoseno.

Tabla N° 6. 13. Composición química de los aceites esenciales de partes aéreas secas de *Passiflora ligularis* Juss, (hojas, tallos y semillas) obtenidos por HD.

#Peak	Rt	%Área	Name
1	3.067	1.96	Butanal, 3-methyl-
2	3.132	0.87	Butanal, 2-methyl-
3	3.178	0.18	N.I

... continuación tabla N° 6.13.

#Peak	R <sub>T</sub>	%Área	Name
4	3.248	0.77	2-Oxepanone, 7-methyl-
5	3.367	15.20	Acetoin
6	3.660	0.60	1-Butanol, 3-methyl-
7	3.702	0.43	1-Hexene, 4-methyl-
8	3.974	0.41	2,3-Butanediol
9	4.024	0.43	2-Butenal, 3-methyl-
10	4.084	0.58	Cyclopentanone
11	4.231	0.29	Hexanal
12	4.499	3.55	2,4-Dimethylfuran
13	4.713	0.35	Heptane, 2,4-dimethyl-
14	4.779	2.15	2-Hexenal, (E)-
15	4.900	0.40	3-Hexen-1-ol, (Z)-
16	5.232	1.75	Cyclopentane, ethylidene-
17	5.300	0.58	Cyclobutane, 1,3-butadienyl-, (Z)-
18	5.463	0.43	Ethanone, 1-(2-furanyl)-
19	5.551	0.80	Butane, 1-propoxy-
20	5.634	0.30	Pyrazine, 2,3-dimethyl-
21	5.678	0.30	1-Methoxy-2-propyl acetate
22	5.716	0.71	2-Cyclohexen-1-one
23	5.765	0.34	1-Methoxy-2-propyl acetate
24	6.182	1.61	Benzaldehyde
25	6.492	0.41	Phenol
26	6.875	1.05	1,1'-(Ethanediylidenediamino)bis(5-amino-1H-tetrazole)
27	7.030	0.54	Diazene, bis(1,1-dimethylethyl)-
28	7.298	6.47	2-Chlorocyclohexanol
29	7.375	0.47	2(3H)-Furanone, 5-ethylidihydro-
30	7.421	0.92	Benzeneacetaldehyde
31	7.870	0.34	Acetophenone
32	8.256	0.48	Decane, 3,7-dimethyl-
33	8.345	11.63	Pyrazine, tetramethyl-
34	8.763	5.20	Phenylethyl Alcohol
35	9.076	0.40	Decane, 3,7-dimethyl-
36	9.661	1.13	1-Cyclopentylacetonitrile
37	9.793	0.39	2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine
38	10.726	1.23	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene-2-methanol, 6,6-dimethyl-
39	12.986	0.48	Dodecane, 4,6-dimethyl-
40	14.076	7.75	Phenol, 2-methoxy-3-(2-propenyl)-

...continuación tabla N° 6.13.

#Peak	R <sub>t</sub>	%Área	Name
41	17.245	0.53	trans-.beta.-Ionone
42	17.855	0.48	2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-
43	18.079	0.45	Heptadecane
44	18.445	0.70	Asarone
46	20.293	0.63	2-Methyltetracosane
47	22.905	0.38	Heptadecane
48	24.604	0.50	Nonadecane
49	26.220	0.84	7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione
50	27.308	0.40	Heneicosane
51	27.437	3.38	n-Hexadecanoic acid
52	28.102	0.53	Hexadecane, 1-iodo-
53	28.553	0.69	Heneicosane
54	29.810	1.10	1-Heneicosanol
55	30.529	0.59	Linoelaidic acid
56	30.596	1.31	9,12,15-Octadecatrien-1-ol, (Z,Z,Z)-
57	32.165	0.81	Heneicosane
58	33.642	8.91	5-Eicosene, (E)-
59	36.360	0.76	Heneicosane
60	38.239	2.53	Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester

#### Acetoína

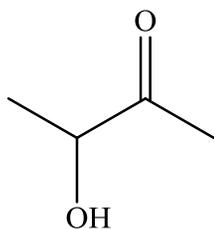


Figura N° 6. 34. Representación estructural de acetoína. Edición en ChemDraw.

Para este compuesto mayoritario se tienen los espectros de masas experimental (figura N°6.35) y del obtenido por NIST17 (figura N° 6.36). Aquí se pueden observar el precursor de las rupturas (ion molecular)  $[M]^+ = 88$  uma, además de las rupturas comunes de ambos espectros representadas en la figura N° 6.37 donde se tienen relaciones m/z equivalentes a: 45 (pico base) y 43 uma.

Line#:5 R.Time:3.367(Scan#:221)  
 MassPeaks:203  
 RawMode:Averaged 3.365-3.368(220-222) BasePeak:45(1551051)  
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan

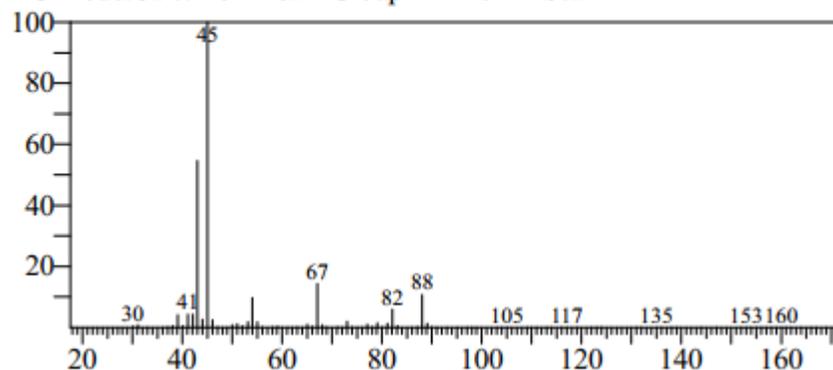


Figura N° 6. 35. Espectro de masas experimental de acetoina. Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, programa de Química, Universidad del Caldas, 2018.

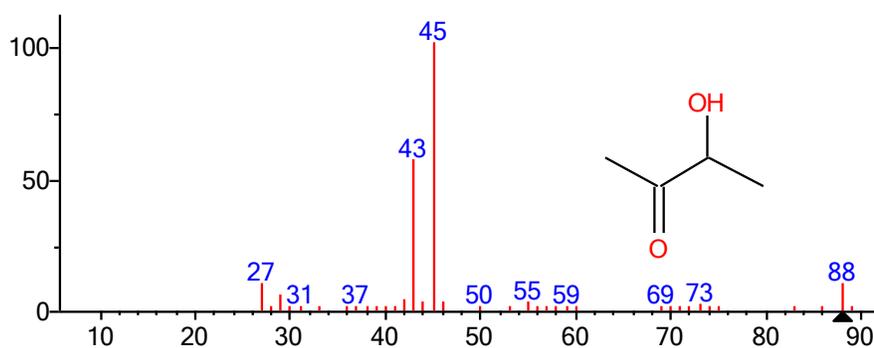


Figura N° 6. 36. Estimación del Espectro de masas de acetoina. Fuente: NIST17 Library Software.

Posibles Rutas de Fragmentación para Acetoina

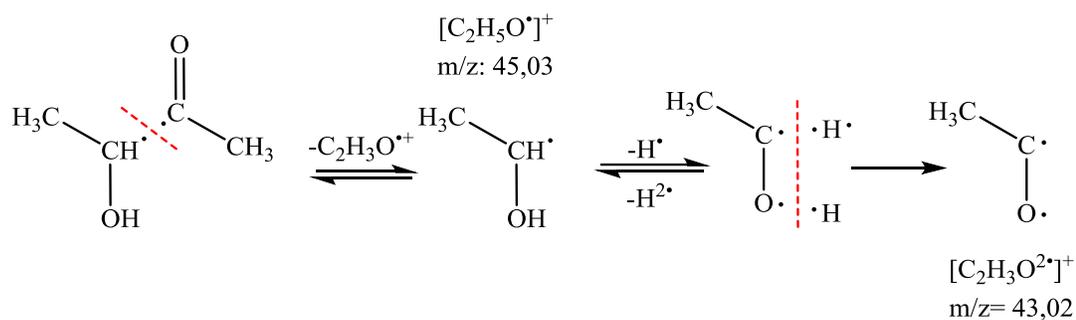


Figura N° 6. 37. Algunos fragmentos comunes para espectros de masas de acetoina. Edición realizada en: ChemDraw Professional

Este compuesto se ha relacionado en estudios de caracterización de propiedades físico-químicas de la especie *Passiflora cincinnata* Mast como producto de la fermentación secundaria en obtenciones artesanales de bebidas alcohólicas (De Melo, Suzart, Conceição, Del Bianchi & De Carvalho, 2017).

*Tetrametil Pirazina*

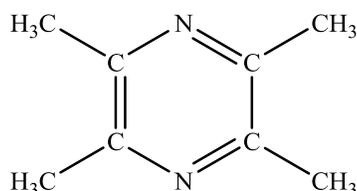


Figura N° 6. 38. Representación estructural de tetrametilpirazina. Edición en: ChemDraw Professional.

Para el segundo compuesto mayoritario en área (11,63%) se tienen los espectros de masas experimental (*figura N°6.39*) y el obtenido por NIST17 (*figura N° 6.40*). Aquí se puede observar el precursor de las rupturas (ion molecular)  $[M]^+ = 136$  uma, además de las rupturas comunes de ambos espectros por fragmentación en la *figura N° 6.41* donde se tienen las relaciones  $m/z$  equivalentes a: 54 (pico base) y 39 uma.

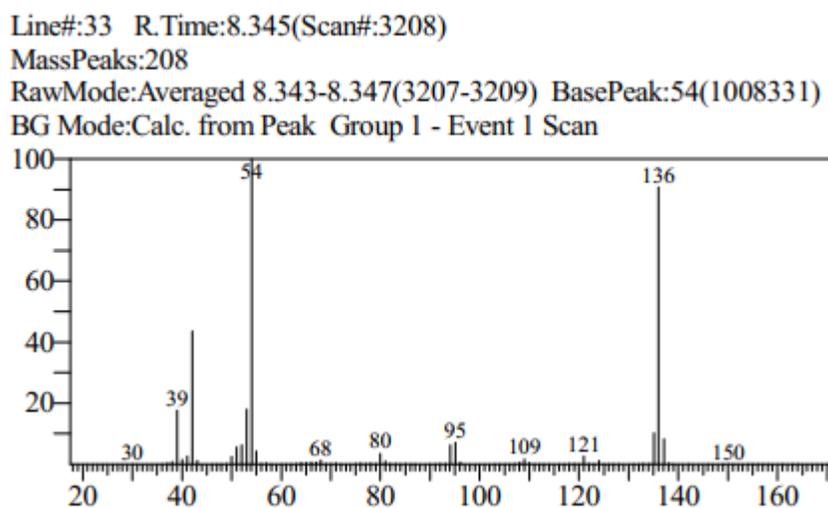


Figura N° 6. 39. Espectro de masas experimental de tetrametilpirazina. Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, programa de Química, Universidad del Caldas, 2018.

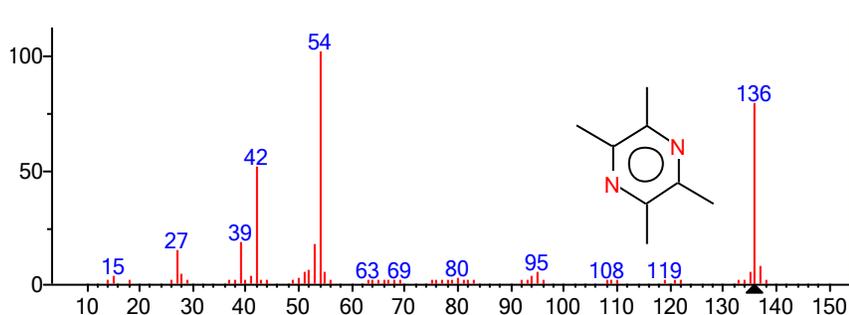


Figura N° 6. 40. Estimación del Espectro de masas de tetrametilpirazina. Fuente: NIST17 Library Software.

La fragmentación del Heterociclo nitrogenado identificado se presenta en la siguiente figura:

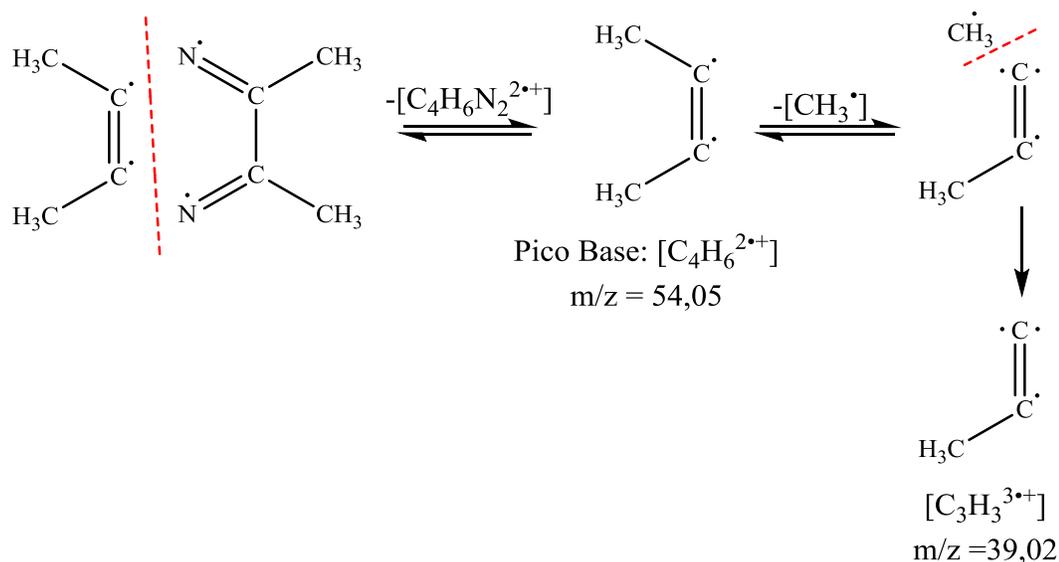


Figura N° 6. 41. Algunos fragmentos comunes para espectros de masas de tetrametilpirazina. Edición realizada en: ChemDraw Professional.

La tetrametilpirazina ha sido ampliamente utilizada por la medicina tradicional china, por ejemplo, ha servido para el tratamiento del accidente cerebrovascular isquémico. En un trabajo realizado por Su, Tsung, Wen, Sheng, Shih, Raung, Ling, Hsi, & Jung, (2004), se estudió el mecanismo de acción por el cual la tetrametilpirazina protege al cerebro de este tipo de lesiones. Los resultados mostraron que hubo protección significativa al cerebro contra las lesiones isquémicas, además, también

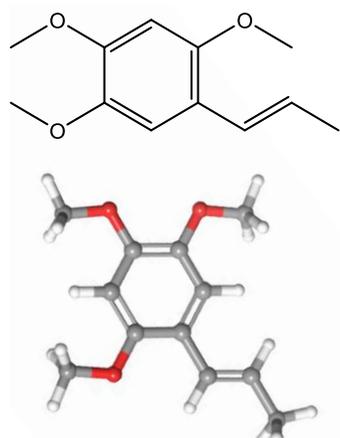
redujo notablemente la activación de células inflamatorias inducidas por isquemia/reperfusión cerebral y la producción de mediadores proinflamatorios.

La presencia de tetrametilpirazina o lugastrazina no ha sido reportado en aceites esenciales, sin embargo, en un estudio ha sido evaluada la actividad biológica de algunos compuestos derivados de este pirazina para encontrar nuevos agentes contra el cáncer, los resultados mostraron actividades antiproliferativas en las células cancerosas empleadas (Wang, She, Yang, Li, Zhang, Liu, Cao, Xu & Lei, 2012).

En otro estudio se analizó la fracción volátil de granos de cacao (*Theobroma cacao* var. Criollo) identificando un promedio de 70 compuestos químicos, entre ellos algunas alquilpirazinas como la trimetilpirazina y tetrametilpirazina. Estas últimas fueron relevantes para determinar las mejores condiciones de tostado en términos cromatográficos (Pineda, Rodríguez, Escalona & Lugo, 2016).

También a manera de ejemplo, en la *figura N°6.43*, se muestra el espectro de masas experimental de la asarona. Se muestra el pico del ion molecular  $[M^+]$  con un valor  $m/z$  de 208 uma, que es correspondiente con la formula molecular  $C_{12}H_{16}O_3$ . Adicionalmente, en la *figura N° 6.44* se compara con el espectro de masas de NIST11. De igual manera se muestran las fragmentaciones de la estructura en cuestión. (*figura N° 6.45*)

*Asarona*



*Figura N° 6. 42.* Representaciones estructurales de asarone. Edición de modelos moleculares en: ChemDraw Professional (Perkin Elmer Software ©).

Line#:44 R.Time:18.445(Scan#:9268)  
MassPeaks:255  
RawMode:Averaged 18.443-18.447(9267-9269) BasePeak:208(14807)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan

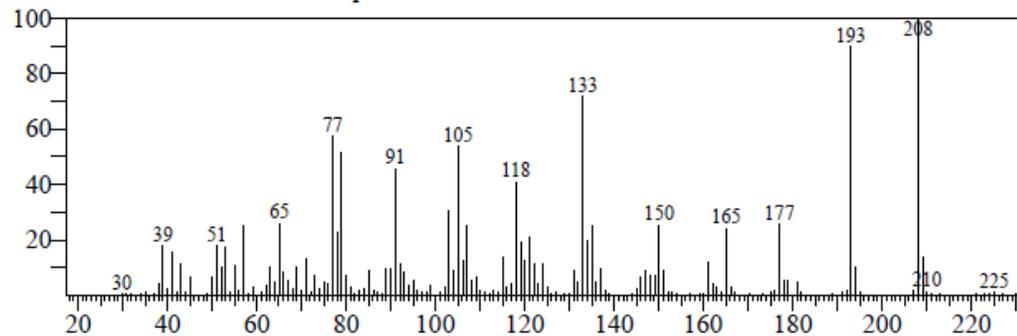


Figura N° 6.43. Espectro de masas experimental obtenido para asarona. Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental. Laboratorio de Análisis Instrumental, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales Universidad de Caldas.

Cc1ccc(C)cc1OC  
cis-1,2,4-trimethoxy-5-(1-propenyl)benzene  
C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>O<sub>3</sub> (Mass of molecular ion: 208)

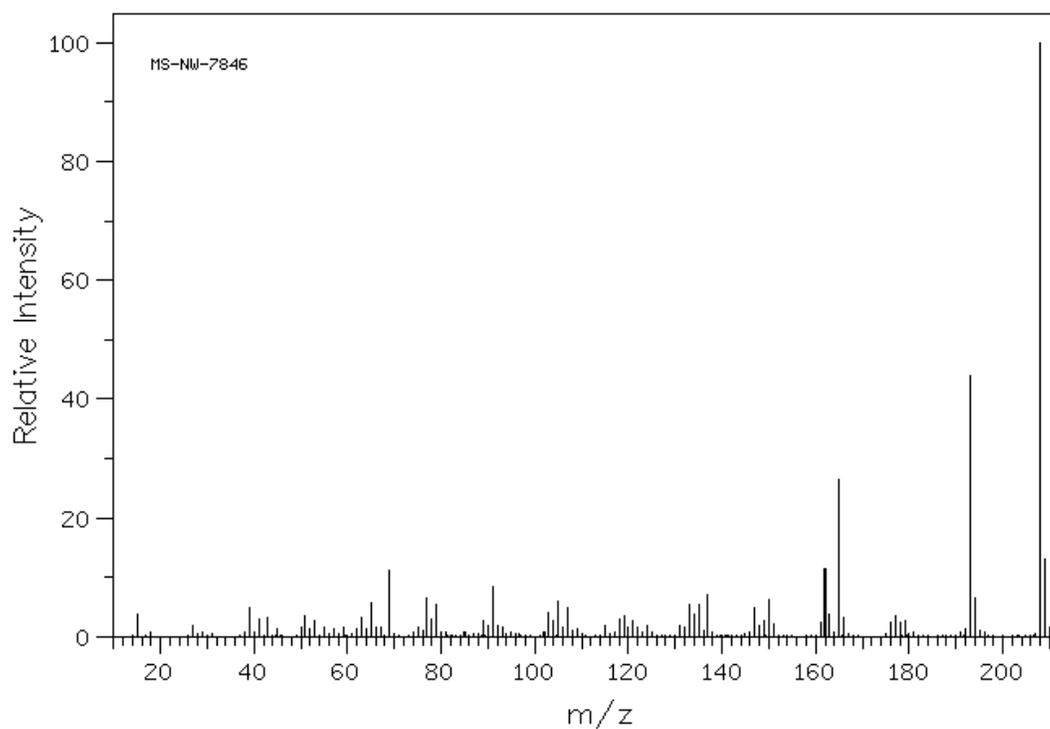


Figura N° 6.44. Espectro de masas de asarone. Fuente: Spectral Database for Organic Compounds & NIST (SDBS, 2018)

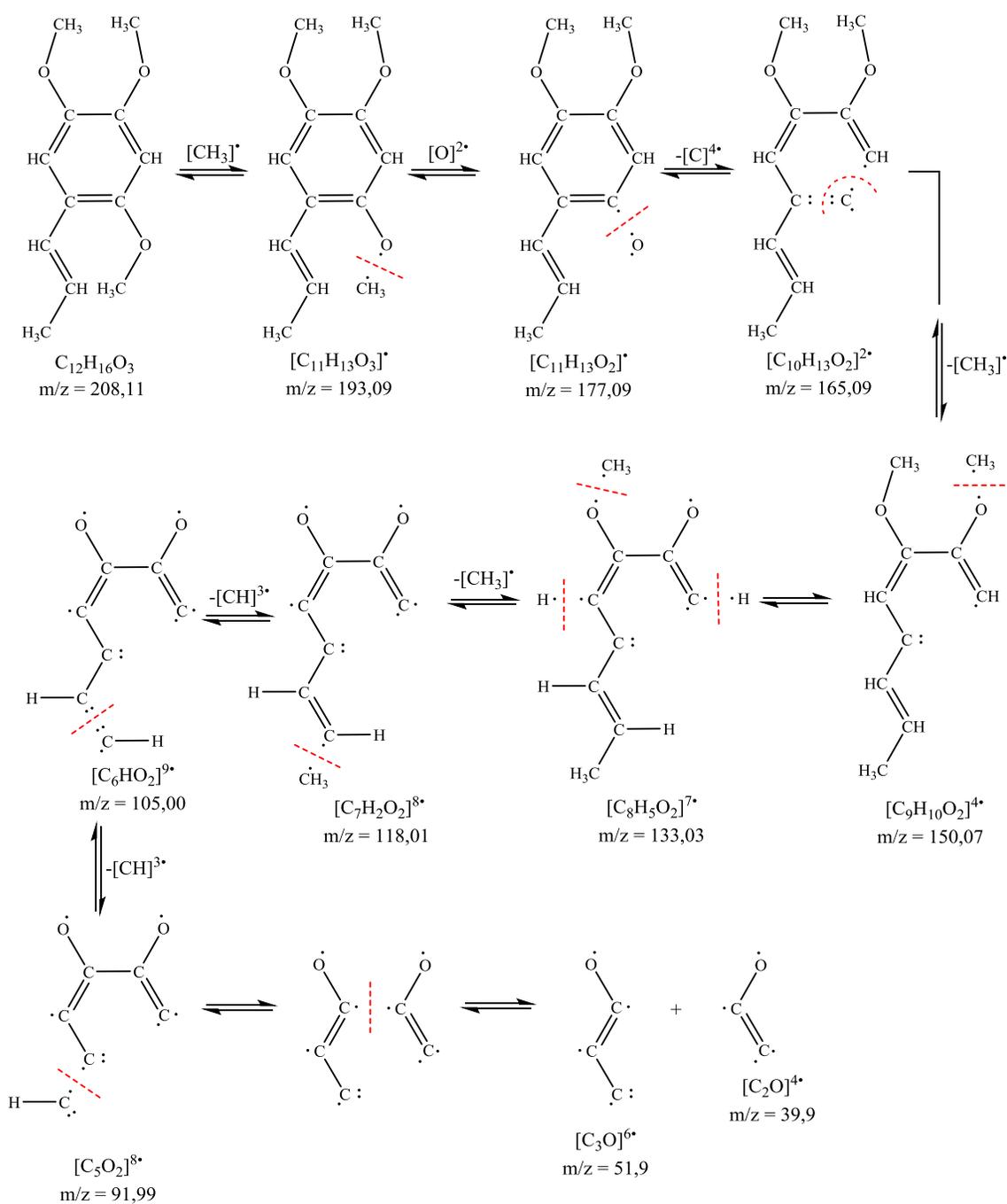


Figura N° 6. 45. Fragmentaciones para la asarona. Edición en ChemDraw Professional (Perkin Elmer Software ©).

Un estudio acerca de la composición química de los AE de *Piper marginatum* Jacq mostró que posee asarona como uno de sus componentes mayoritarios, obtenido

mediante HD, estos AE demostraron ser un potencial larvicida contra *Aedes aegypti*, los autores atribuyen esta actividad a la acción en conjunto de esta sustancia con sus isómeros y demás metabolitos presentes en los AE (Autran, Neves, Da Silva, Santos, Camara & Navarro, 2009).

Por otra parte, en Sudáfrica suelen utilizar la planta *Acorus calamus* para tratar diversas dolencias, se ha reportado que sus extractos son ricos en  $\beta$ -Asarone demostrando actividad antibacterial y antihelmíntica. No obstante, debido a la toxicidad de esta sustancia, se recomienda que sea únicamente aplicada externamente para tratar cuestiones antibacterianas (McGaw, Jäger & Staden, 2002).

**6.2.2.2. Cromatograma CG-MS de los aceites esenciales de las hojas secas de *Passiflora ligularis* Juss por HD**

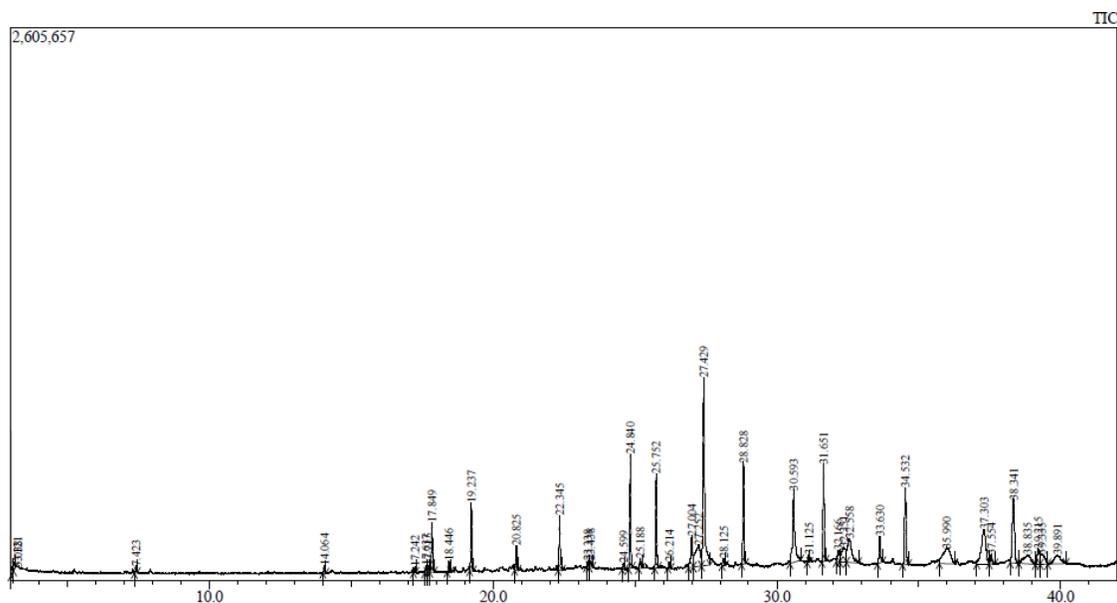


Figura N° 6. 46. Perfil cromatográfico (TIC: Corriente iónica total) de los AE de las hojas secas de *Passiflora ligularis* Juss, por HD. Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales Universidad de Caldas, 2018.

Para los AE obtenidos de las hojas de *Passiflora ligularis* Juss empleando HD con material seco (tabla N° 6.15), se identificaron 38 picos representativos por CG-MS, correspondientes a ácidos grasos e hidrocarburos.

Tabla N° 6.14. Caracterización química preliminar de compuestos de *Passiflora ligularis* Juss, material seco (hojas) Extracción HD.

#Peak	R <sub>T</sub> (min)	Área%	Name
1	3.038	0.54	Methylene chloride
2	3.121	0.29	Propane, 2,2-dimethoxy-
3	7.423	0.26	Benzeneacetaldehyde
4	14.064	0.36	Phenol, 2-methoxy-3-(2-propenyl)-
5	17.242	0.28	Edulan II
6	17.637	0.31	Cyclohexanecarboxylic acid, ethenyl ester
7	17.715	0.36	Phenol, 2-methoxy-3-(2-propenyl)-
8	17.849	2.75	2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-
9	18.446	0.54	N.I.
10	19.237	3.27	Diethyl Phthalate
11	20.825	1.31	Cyclopentanemethanol, .alpha.-(1-methylethyl)-2-nitro-, [1.alpha.(S*),2.alpha.]-

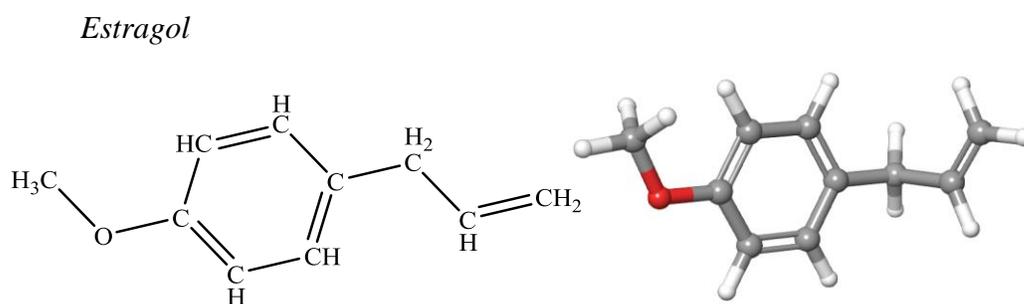
...continuación tabla N° 6.15.

#Peak	R <sub>r</sub> (min)	Área%	Name
12	22.345	2.69	Heptasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13-tetradecamethyl-
13	23.338	0.28	n-Hexadecanoic acid
14	23.438	0.42	N.I
15	24.599	0.31	Heptadecane, 2,6,10,15-tetramethyl-
16	24.840	4.95	Isopropyl myristate
17	25.188	0.59	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester
18	25.752	4.38	Heptasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13-tetradecamethyl-
19	26.214	0.30	7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione
20	27.004	2.36	Dibutyl phthalate
21	27.252	4.24	Heptasiloxane, hexadecamethyl-
22	27.429	13.12	n-Hexadecanoic acid
23	28.125	0.41	Pentadecanoic acid, ethyl ester
24	28.828	4.85	Octasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15-hexadecamethyl-
25	30.593	6.25	9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-
26	31.125	0.42	Undec-10-ynoic acid, undecyl ester
27	31.651	4.57	Heptasiloxane, hexadecamethyl-
28	32.166	0.92	2-Bromotetradecane
29	32.351	2.74	Card-20(22)-enolide, 3, 5, 14, 19-tetrahydroxy-, (3.beta. 5. Beta.)-
30	32.558	4.19	Heptacosane, 1-chloro-
31	33.630	1.41	2-Propenoic acid, pentadecyl ester
32	34.532	4.73	Heptasiloxane, hexadecamethyl-
33	35.990	4.80	Stigmasta-5,22-dien-3-ol, acetate, (3.beta.)-
34	37.303	6.22	Heptasiloxane, hexadecamethyl-
35	37.554	0.71	Estragole
36	38.341	5.67	Heptasiloxane, hexadecamethyl-
37	38.835	2.51	Octadecane, 1-chloro-
38	39.215	1.58	Heneicosane
39	39.335	1.76	Squalene
40	39.891	2.35	Hexadecane, 1-chloro-

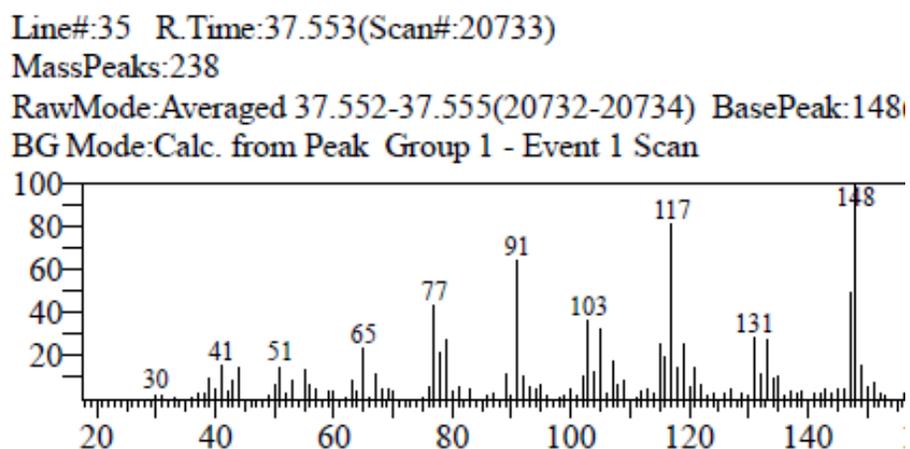
Es importante mencionar, que en los AE obtenidos se encuentran compuestos de naturaleza terpénica en menor proporción, tal como estragol y escualeno. El componente mayoritario fue el ácido palmítico o hexadecanoico. Este compuesto se menciona como uno de los identificados por CG-MS en el exocarpio de *Passiflora edulis* Sims (Arriaga, *et al.*, 1997) y también en estudios realizados por Nyanzi *et al.* (2005).

Según Chóez *et al.* (2015) los AE de las cáscaras, pulpa y semillas de *Passiflora ligularis* Juss se compone de una gran cantidad de hidrocarburos como heneicosano, y ácidos grasos como el ácido palmítico.

El espectro de masas experimental para el estragol se muestra en la *figura N° 6.48*. El espectro muestra el pico del ion molecular  $[M^+]$  con un valor  $m/z$  de 148 uma, que es correspondiente a la formula molecular  $C_{10}H_{12}O$ . Adicionalmente, en la *figura N° 6.49* se observa el espectro de la librería NIST11 el cual permite comparar y validar la identidad del espectro obtenido en TIC. (*Figura N° 6.46*)



*Figura N° 6. 47.*Representaciones estructurales de estragol. Edición de Modelos moleculares en: ChemDraw Professional & Perkin Elmer Maestro Academics ©.



*Figura N° 6. 48.* Espectro de masas experimental obtenido para estragole. Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental. Laboratorio de Análisis Instrumental, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales Universidad de Caldas 2018.

MS-NW-4055                      SDBS NO. 6693  
p-allylanisole  
C10H12O                      (Mass of molecular ion: 148)

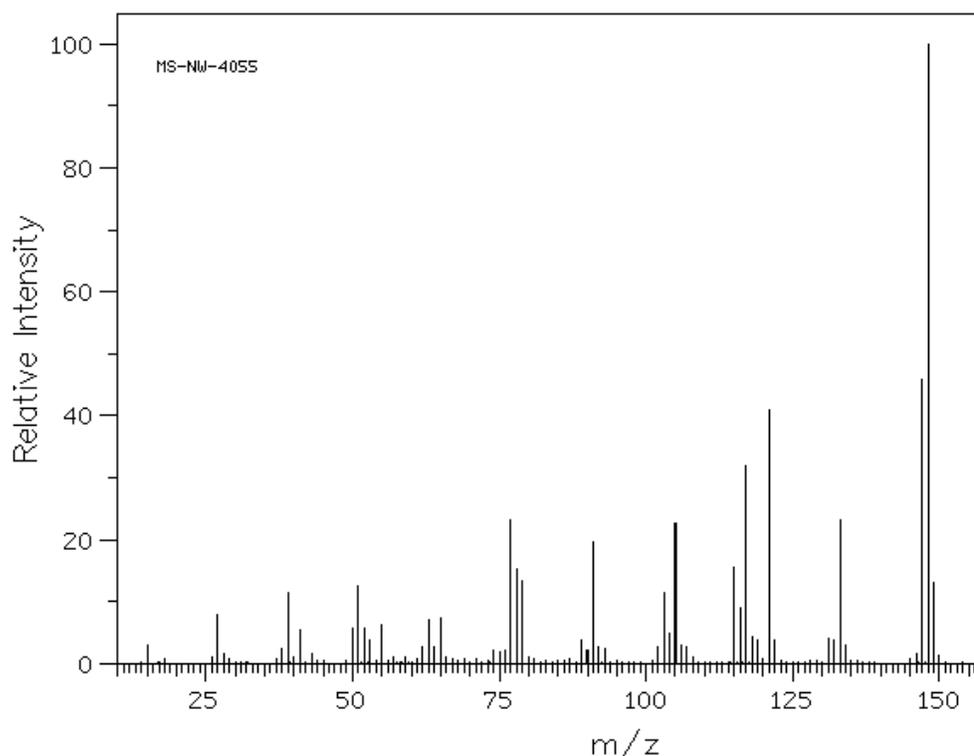


Figura N° 6. 49. Espectro de masas de estragol. Fuente: Spectral Database for Organic Compounds & NIST (SDBS, 2018).

Los picos fragmento que se muestran en los espectros, se expresan en términos de estabilidad molecular (señales más altas) de acuerdo al modo de ionización más probable. También se indica una relación isotópica de los últimos fragmentos. Puesto que la referencia (*figura N° 6.49*) indica una mayor probabilidad de fragmentación (*figura N° 6.50*) que deriva en un ion con  $m/z$  equivalente a 39.99, en este caso el resultado experimental muestra un valor de 41 (*figura N° 6.48*).

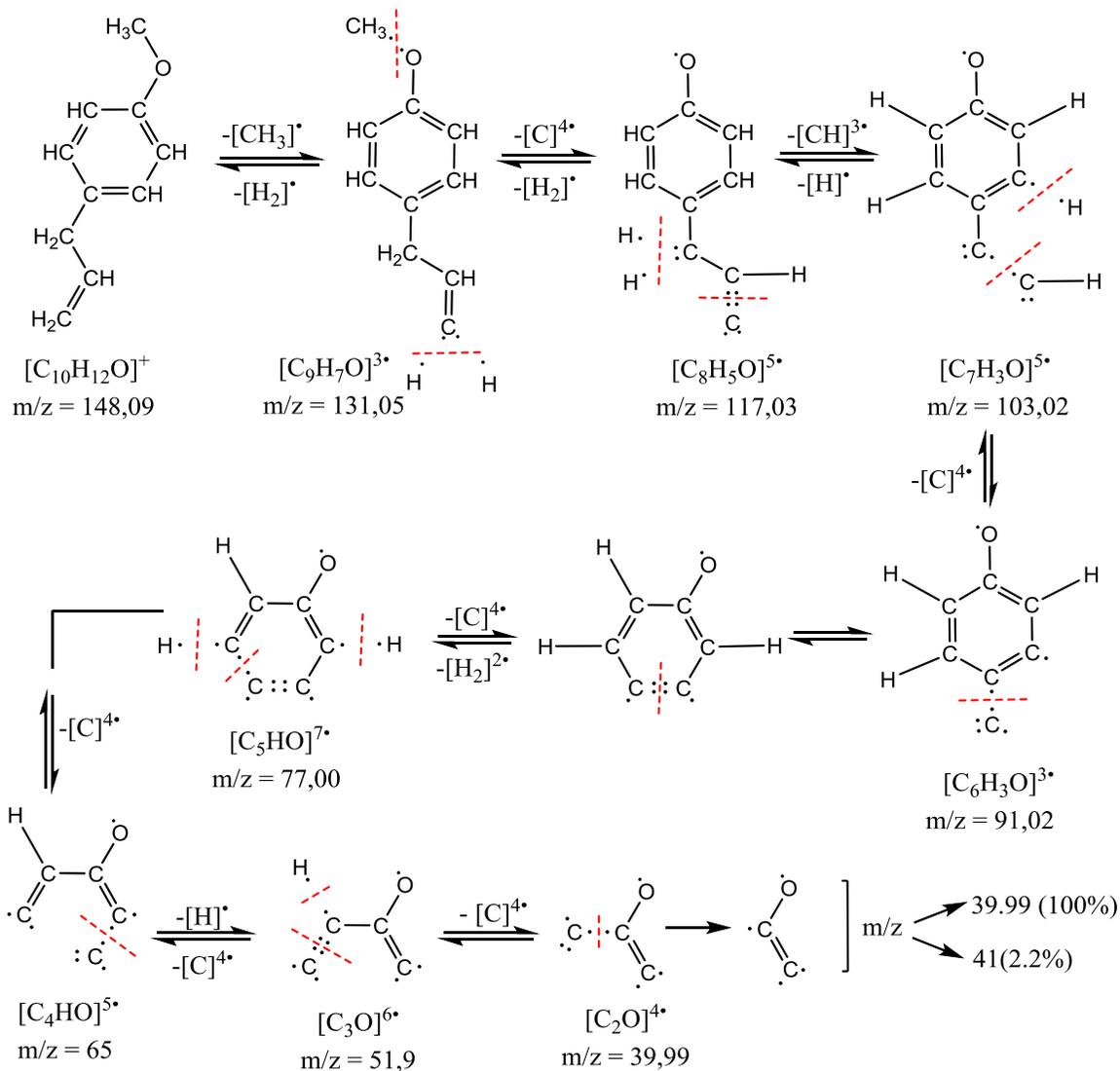


Figura N° 6. 50. Fragmentaciones para el estragole. Edición realizada en: ChemDraw Professional (Perkin Elmer Software ®)

En cuanto a reportes de actividad biológica, en un estudio realizado por Bagamboula, Uyttendaele & Debevere (2004), mencionan que en los AE de *Thymus vulgaris* (tomillo) y *Ocimum basilicum* (albahaca) el estragol posee una actividad antibacteriana limitada contra los patógenos *S. sonnei*, *S. flexneri* y *E. coli*. Por otro lado, Andrade, De Lima, Freitas, Rocha, Islam, Da Silva & Militao (2015), realizan la extracción de los AE de hojas y tallos de la especie *Croton zehntneri*, identificando los

componentes mayoritarios mediante CG-MS, siendo el estragol (84,7%) uno de los más abundantes. Los autores reportaron que estos AE provocan considerables zonas de inhibición contra bacterias y hongos gram-positivos, además, establecen que presenta una toxicidad contra *Artemia Salina*, no obstante, para líneas celulares de cáncer humano, reportan una baja inhibición tumoral.

**6.2.2.3. Cromatograma CG-MS de las semillas secas de *Passiflora ligularis* Juss por HD.**

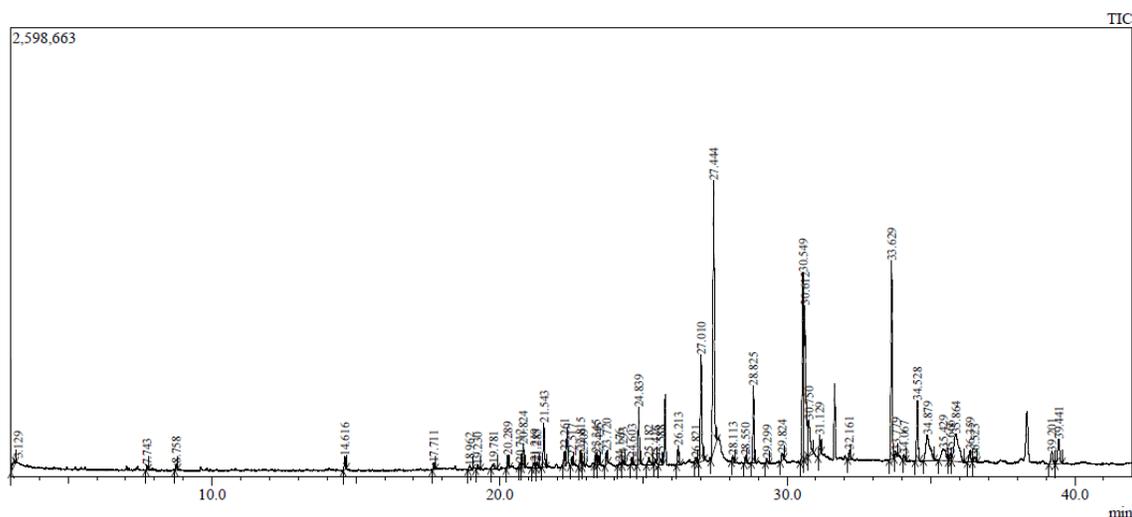


Figura N° 6. 51. Perfil cromatográfico (TIC: Corriente iónica total) *Passiflora ligularis* Juss, material seco: Semillas. Extracción HD. Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales Universidad de Caldas, 2018.

Los resultados del análisis por espectrometría de masas, para la hidrodestilación de los AE de semillas de *Passiflora ligularis* Juss, muestran una gran abundancia de compuestos volátiles (tabla N° 6.16). En total, fueron identificados 52 de 54 picos representativos

Tabla N° 6. 15. Caracterización por CG-MS de los aceites esenciales de *Passiflora ligularis* Juss, material seco (semillas) por extracción HD.

#Peak	R <sub>T</sub> (min)	Area%	Name
1	3.129	0.65	Butanoic acid, 2-hydroxy-2-methyl-, methyl ester
2	7.743	0.18	cis-1,2-Cyclohexanediol
3	8.758	0.24	Phenylethyl Alcohol
4	14.616	0.64	Vanillin
5	17.711	0.31	Phenol, 2-methoxy-3-(2-propenyl)-
6	18.962	0.30	Tridecanoic acid
7	19.230	0.20	Diethyl Phthalate
8	19.781	0.38	.beta.-copaene
9	20.289	0.62	(1R,3E,7E,11R)-1,5,5,8-Tetramethyl-12-oxabicyclo[9.1.0]dodeca-3,7-diene
10	20.712	0.19	N.I
11	20.824	1.27	Cyclopentanemethanol, .alpha.-(1-methylethyl)-2-nitro-, [1.alpha.(S*),2.alpha.]-

...continuación tabla N° 6.16.

#Peak	R <sub>T</sub> (min)	Area%	Name
12	21.219	0.41	1H-3a,7-Methanoazulen-5-ol, octahydro-3,8,8-trimethyl-6-methylene
13	21.285	0.32	Andrographolide
14	21.543	2.21	7-Oxabicyclo[4.1.0]heptane, 1-methyl-4-(2-methyloxiranyl)-
15	22.261	0.78	cis-p-mentha-1(7),8-dien-2-ol
16	22.517	0.39	Cyclohexanol, 2-methyl-3-(1-methylethenyl)-, acetate, (1.alpha.,2.alpha.,3.alpha.)-
17	22.815	0.80	7-Oxabicyclo[4.1.0]heptane, 1-methyl-4-(2-methyloxiranyl)-
18	22.909	0.18	Tridecanol, 2-ethyl-2-methyl-
19	23.345	0.52	Pentadecanoic acid
20	23.445	0.50	3-Tetradecyn-1-ol
21	23.720	0.60	3-Tetradecyn-1-ol
22	24.176	0.18	N.I.
23	24.293	0.20	cis-p-mentha-1(7),8-dien-2-ol
24	24.603	0.25	Heptadecane, 2,6,10,15-tetramethyl-
25	24.839	2.42	Isopropyl myristate
26	25.182	0.59	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester
27	25.416	0.18	Pentadecanoic acid
28	25.588	0.55	4,4,8-Trimethyltricyclo[6.3.1.0(1,5)]dodecane-2,9-diol
29	26.213	0.92	7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione
30	26.821	0.24	Gamolenic acid
31	27.010	6.34	Linoelaidic acid
32	27.444	15.50	n-Hexadecanoic acid
33	28.113	0.36	Pentacontanoic acid, ethyl ester
34	28.550	0.28	Heneicosane
35	28.825	3.55	Octasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15-hexadecamethyl-
36	29.299	0.26	Lignoceric acid, TMS derivative
37	29.824	0.43	9-Eicosene, (E)-
38	30.549	10.84	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-
39	30.612	10.73	9,12,15-Octadecatrien-1-ol, (Z,Z,Z)-
40	30.750	2.89	9-Eicosenoic acid, (Z)-
41	31.129	0.91	Undec-10-ynoic acid, undecyl ester
42	32.161	0.38	Heneicosane
43	33.629	10.12	5-Eicosene, (E)-
44	33.779	0.28	Propanoic acid, decyl ester
45	34.067	0.32	2-methyloctacosane
46	34.528	3.46	Heptasiloxane, hexadecamethyl-
47	34.879	4.00	Docosyl pentafluoropropionate

...continuación tabla N° 6.16

#Peak	R <sub>T</sub> (min)	Area%	Name
48	35.429	2.10	2-methyloctacosane
49	35.666	0.53	Diisooctyl adipate
50	35.864	5.22	Squalene
51	36.359	0.77	2-methyloctacosane
52	36.523	0.45	Benzene, (1-propylnonyl)-
53	39.201	1.00	Heneicosane
54	39.441	2.06	Di-n-octyl phthalate

De acuerdo a los resultados de la tabla anterior, se concluye que los AE de las semillas de *Passiflora ligularis* Juss son ricos en ácidos grasos, hidrocarburos y alcoholes. Por otra parte, al igual que en las hojas, el componente mayoritario fue el ácido hexadecanoico.

En cuanto a compuestos de naturaleza terpénica, se observa que los AE están constituidos por el escualeno con un  $t_R=35.8$  min con un porcentaje de área de 5.22%.

El escualeno (*Figura N° 6. 52*) es el terpenoide que coincide con lo reportado por Chóez *et al.* (2015), quienes describieron este constituyente en su estudio como el mayoritario con un porcentaje de área de 7.69 de 17 componentes encontrados, en comparación con este estudio en el que se reporta la presencia de 52 compuestos químicos. Esto puede deberse a que las condiciones para la extracción de los AE fueron diferentes en cada caso.

## Squalene

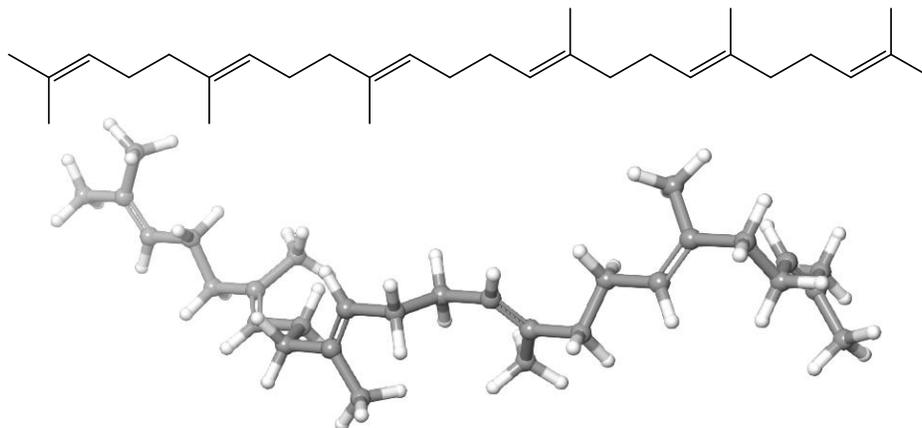


Figura N° 6.52. Representaciones estructurales para escualeno. Edición de Modelos moleculares en: ChemDraw Professional & Maestro Academics.

La figura N° 6.53 (a y b), muestra los espectros de masas correspondiente al terpeno escualeno. Allí se muestra el pico del ion molecular  $[M^+]$  con un valor  $m/z$  de 410 uma, correspondiente a la formula molecular  $C_{30}H_{50}$ . Adicionalmente, se observan picos y fragmentaciones (figura N° 6.54) características a las rupturas de la molécula con  $m/z$  en ambos fragmentogramas equivalentes a: 95, 81, 69, 41.

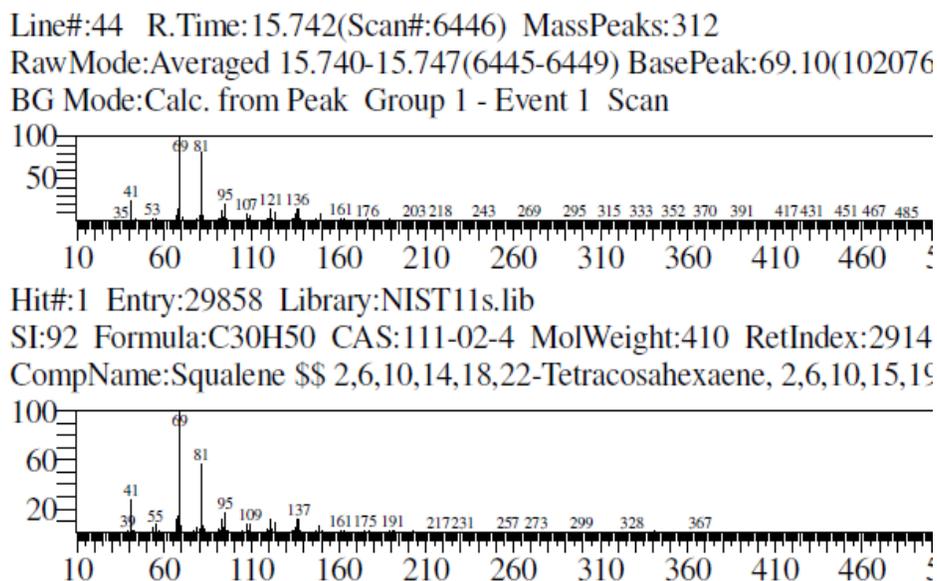


Figura N° 6. 53 (a) Espectro de masas experimental y (b) de la base de datos NIST11 library para squaleno. Fuente: Laboratorio de Análisis Instrumental, programa de Química, Universidad de Caldas, 2018.

### Rutas de fragmentación de Squalene

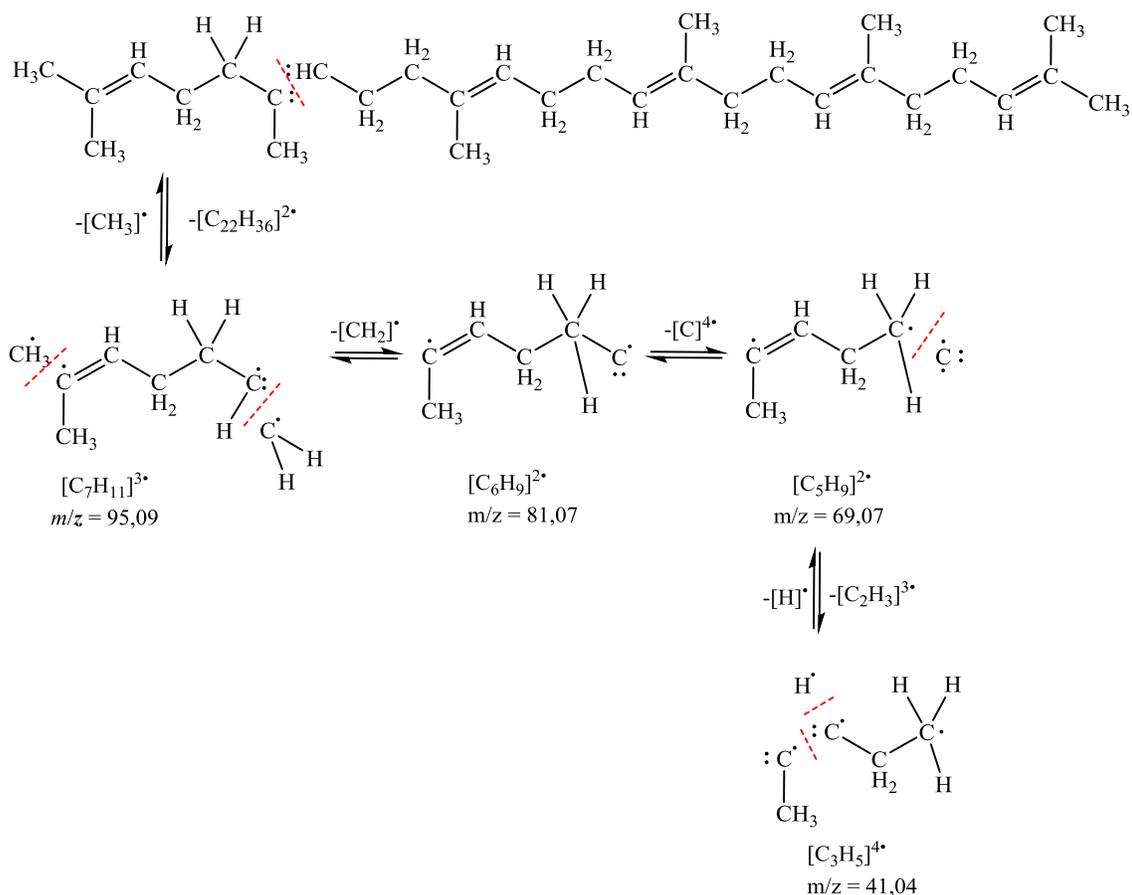


Figura N° 6. 54. Fragmentaciones moleculares del escualeno. Edición realizada en: ChemDraw Professional (Perkin Elmer Software ©)

Por otra parte, el extracto metanólico de las hojas de *Vernonanthura patens* (Kunth) H. Rob reporta una gran actividad biológica contra los hongos *Penicillium notatum* y *Fusarium oxysporum*, científicos reportan al escualeno y otros terpenos como algunos de sus componentes principales, y sugieren que este tipo de compuestos químicos pueden ser los responsables de esta actividad (Manzano, Miranda, Paz, Abreu, Silva & Hernández, 2012).

#### 6.2.2.4. Análisis comparativo de la composición química de *Passiflora ligularis*

**Juss.**

En la tabla N° 6.17, se muestra una comparación entre los compuestos identificados en cada uno de los AE en función de cada parte de la planta.

Tabla N° 6. 16. Comparación de la abundancia de funciones químicas de los AE de *Passiflora ligularis* Juss.

Función Química	HD (Seco)		
	Partes aéreas %	Hojas %	Semillas %
Terpenos	0	1,76	5,54
Aldehídos	8,23	0,26	0
Ésteres	0	6,39	2,95
Alcoholes	16,72	0	14,68
Cetonas	19,64	3,33	0,92
Ácidos grasos	6,5	21,65	37,72
Hidrocarburos	20,04	12,15	19,49
Mezclas	28,09	10,52	12,52
Otros	0,78	43,94	6,18
Total %	100,0	100,0	100,0

De acuerdo a los resultados de la tabla anterior, se logra observar que hay una mayor abundancia de terpenos y ácidos grasos en los AE de semillas en algunas revisiones sobre la composición química de especies del género *Passiflora* se evidencia la frecuencia de terpenos tal como en Taiwe & Kuete (2017) con sustancias como linalool, ionol entre otros. De acuerdo a la *figura N° 6. 55.* se aprecia que los AE de esta especie está conformado en mayor cantidad por ácidos grasos, hidrocarburos, y compuestos aromáticos.

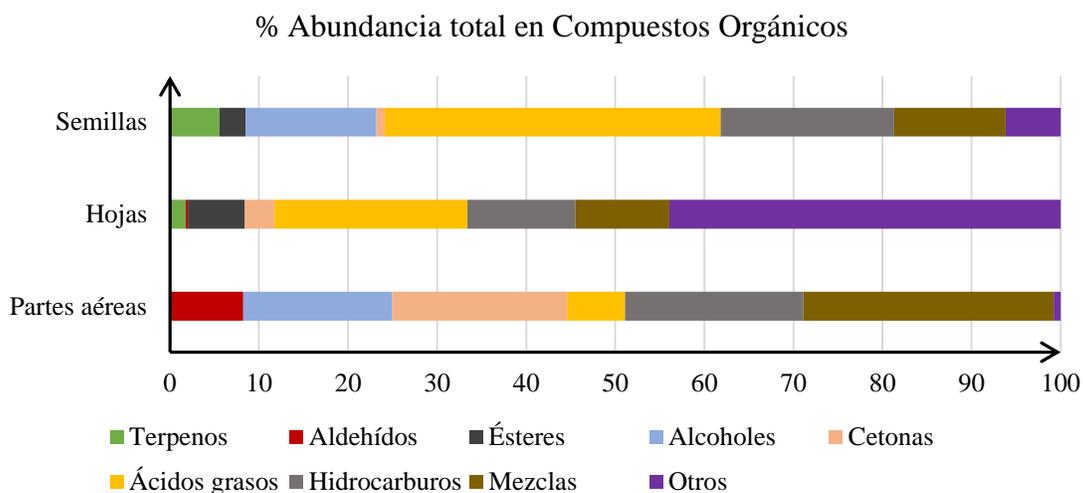


Figura N° 6. 55. Abundancia total en compuestos orgánicos de los AE de *Passiflora ligularis* Juss.

En la figura N° 6.56, se aprecia cómo los AE extraídos de todas las partes aéreas, posee un mayor número de hidrocarburos, cetonas y aldehídos. No obstante, este carece de terpenos. Por otro lado, se observa que los AE de semillas y hojas guardan parentesco en cuanto al tipo y cantidad de compuestos químicos identificados.

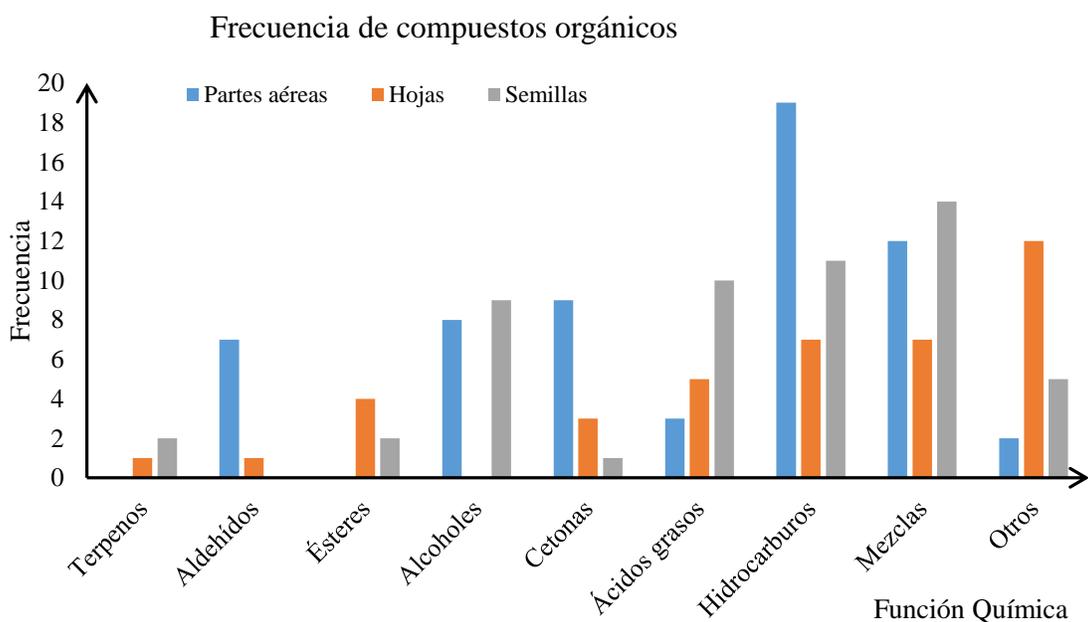


Figura N° 6. 56. Frecuencia de compuestos orgánicos según parte empleada de los AE de *P ligularis* Juss.

### 6.3. Prueba Antibacterial

Luego de 15 horas de incubación, los resultados para la sensibilidad antibacteriana de los aceites esencial de *Passiflora maliformis* L con respecto al patógeno *Shigella sonnei* (Tabla N° 6. 18), muestran que no hubo inhibición del crecimiento de este microorganismo en ninguna de las concentraciones utilizadas de los AE, así como tampoco para el control negativo (DMSO). Sin embargo, el halo de inhibición se ve claramente para el antibiótico ceftriaxona (figura N°6.57), manifestando que fue extremadamente sensible en ambas réplicas.

Tabla N° 6. 17. Resultados de la prueba de sensibilidad antibacterial para *Shigella sonnei*. con los AE de *Passiflora maliformis* Juss.

Tratamientos	Halos de inhibición (mm)	
	Réplica 1	Réplica 2
1) 1000 ppm	0	0
2) 3000 ppm	0	0
3) 5000 ppm	0	0
4) DMSO	0	0
5) Ceftriaxona	56 mm	60

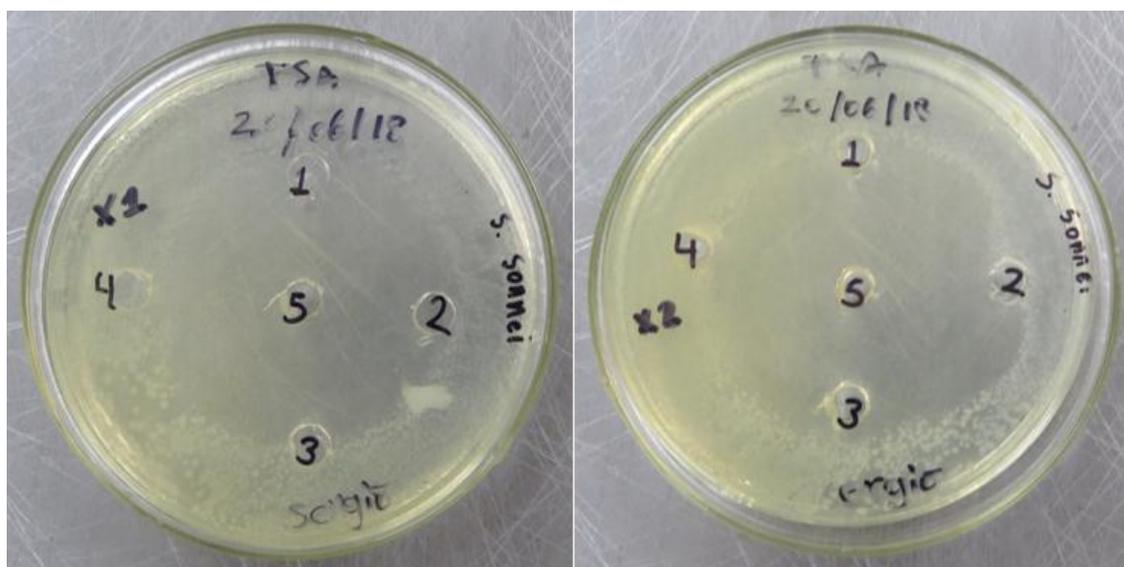


Figura N°6. 57. Placas de la prueba de sensibilidad para el patógeno *Shigella sonnei*.

Por otra parte, en el ensayo realizado contra el patógeno *Staphylococcus aureus* se obtuvieron resultados similares (tabla N° 6.19), en donde se observa claramente que con los mismos AE, en las mismas concentraciones, no se evidenció inhibición del crecimiento bacteriano (figura N° 6.60).

Tabla N° 6. 18. Resultados de la prueba de sensibilidad antibacterial para *Staphylococcus aureus* con los AE de *Passiflora maliformis* L.

Tratamientos	Halos de inhibición (mm)	
	Réplica 1	Réplica 2
1) 1000 ppm	0	0
2) 3000 ppm	0	0
3) 5000 ppm	0	0
4) DMSO	0	0
5) Penisodina	36	37

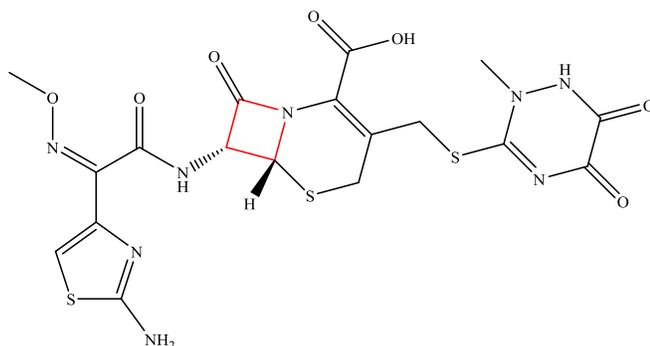


Figura N° 6. 58. Representación estructural de ceftriaxona. Fuente: PubChem; Edición estructural en ChemDraw Professional

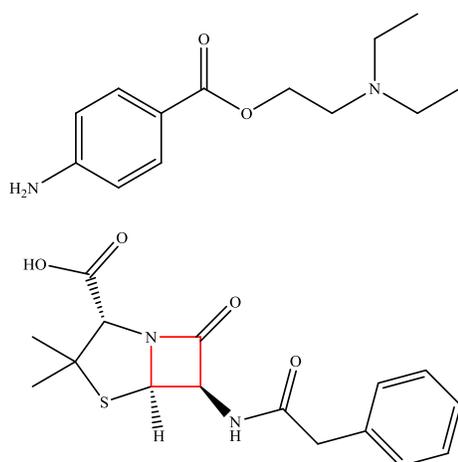
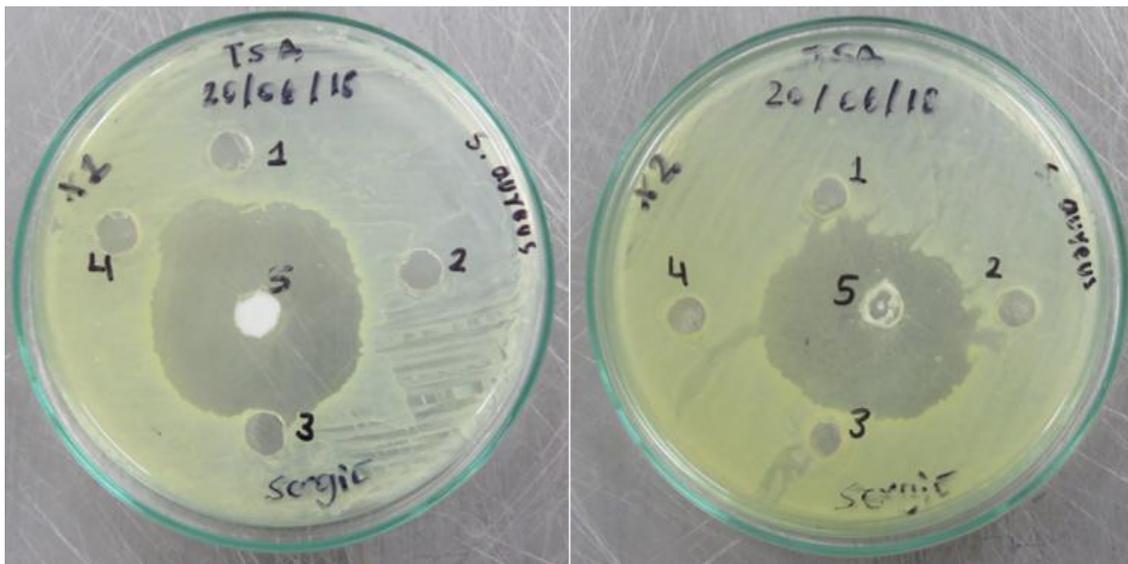


Figura N° 6. 59. Representación estructural de penicilina G procaína. Fuente: PubChem; Edición ChemDraw

La relación de las estructuras moleculares de los antibióticos utilizados como control positivo en este ensayo relaciona procesos de susceptibilidad y resistencia microbiana. En las estructuras moleculares (ver *Figura No. 6.58 y 6.59*) se resalta (en rojo) la presencia de anillos beta-lactámicos, los cuales son muy esenciales en la capacidad activa del fármaco. Según algunos estudios, el mecanismo más importante de resistencia a fármacos beta-lactámicos es la producción de beta-lactamasas; son enzimas que modifican e inactivan los anillos beta-lactámicos en las estructuras; también disminuyen la permeabilidad del fármaco en procesos transmembrana (Stewart & Costerton, 2001). En ocasiones, mecanismos de encierre generan complejos de capas de polisacáridos y proteínas para formar biofilms. El uso incontrolado de antibióticos para gran parte de infecciones repercute en nuevos mecanismos emergentes por composición genética de resistencia bacteriana (Mandomando, Jaintilal, Pons, Vallés, Espasa, Mensa, Sigaúque, Sanz, Sacarlal, Macete, Abacassamo, Alonso, Ruiz & Joaquim, 2003).



*Figura N° 6. 60.* Placas de la prueba de sensibilidad para el patógeno *S. aureus*.

De acuerdo a los resultados anteriores, la penicilina utilizada como control positivo fue extremadamente sensible contra el patógeno ya que, como lo plantea (Lozano; Larrondo, Herrera; Rivero; Zamora & Araújo, 1998), algunos cocos Gram

positivos responden a las penicilinas de diferentes formas, por ejemplo, “*Staphylococcus expuestos a dosis superiores a la concentración inhibitoria mínima (CIM), se mantiene un ritmo normal de crecimiento hasta que la pared bacteriana está lo bastante debilitada y se destruye el microorganismo por lisis osmótica*”

De acuerdo al análisis por CG-MS efectuado para estos AE, se identificaron algunos compuestos químicos que lo conforman, entre ellos, se observa que está compuesto principalmente por hidrocarburos de cadena larga, alcoholes, aldehídos y ácidos grasos. No obstante, este también cuenta con la presencia del geraniol y acetato de geranil, monoterpenos que han demostrado inhibir el crecimiento de patógenos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, entre otros (Dorman & Deans, 2000).

A pesar de lo anterior, y dada la baja concentración de estos terpenos (Tabla N° 6. 12), los resultados muestran resistencia del patógeno contra los AE. Estos metabolitos secundarios, están compuestos por mezclas de sustancias, entre estas predominan los terpenos (Montoya, 2010), un tipo de metabolitos secundarios que suelen ser poco polares y por lo cual, podrían justificar la poca capacidad de difusión de los AE en este medio de cultivo acuoso.

Por otro lado, Ramírez & Marín (2012) mediante un estudio de comparación de actividades biológicas con diferentes cepas bacterianas y aceites esenciales, concluyen que el método de difusión en agar no es recomendable para evaluar muestras no polares como los AE, puesto que los procesos de difusión dependen de factores como el número, tamaño, forma y naturaleza de las partículas, ocasionando que se dificulte su dispersión en medios acuosos. Sin embargo, también enuncian que el método de dilución provee una mayor sensibilidad cuando se trabaja con este tipo de aceites esenciales.

## VII. CONCLUSIONES

La Hidrodestilación Simple (HD) fue la técnica que permitió obtener el mejor rendimiento (0,3622 %) de los AE de *Passiflora maliformis* (cholupa) y *Passiflora ligularis* Juss (granadilla). Además, a través de esta se obtuvo mayor abundancia de terpenos como carvacrol, eugenol, linalool, escualeno, timol, fitol, y geraniol. Sustancias de interés que, de acuerdo a la revisión, han reportado distintas actividades con potencial terapéutico. De igual forma, se reportó la presencia de compuestos aromáticos como el benzaldehído, y éteres como asarona y estragol.

En los AE de la especie *Passiflora maliformis* L. obtenido por HD a partir de material fresco, analizado a través de CG-MS, se identificó presuntivamente el monoterpeno carvacrol como uno de sus componentes mayoritarios. Analizando los estudios por diferentes técnicas de extracción y análisis instrumentales publicados en primeros artículos en 1961 y amplias revisiones desde 2004, que hasta la fecha actual se tienen sobre los AE, es primera vez que se reporta este compuesto para especies vegetales de la familia Passifloraceae.

En los AE de la especie *Passiflora ligularis* Juss. se caracterizó presuntivamente el heterociclo nitrogenado tetrametilpirazina; la identificación de este compuesto es relevante para la investigación, primeramente, por su potencial como agente biológico y sus posibles aplicaciones clínicas, así como también, por el hecho de no haber sido identificado anteriormente en aceites esenciales, y finalmente, al no estar reportado en investigaciones relacionadas con especies vegetales de la familia Passifloraceae.

En general, los AE de *Passiflora maliformis* L. se caracterizan por tener mayor abundancia de terpenos, ésteres y cetonas; en contraste, en los AE de *Passiflora ligularis* Juss, se identificó un mayor número de ácidos grasos, alcoholes e hidrocarburos de larga cadena lineal. Por otra parte, para plantas de esta familia se obtiene un mayor rendimiento de los AE de las semillas, sin embargo, hay una mayor cantidad de compuestos químicos presentes en los AE obtenidos de las hojas y tallos.

Los resultados de la actividad biológica mostraron que hubo resistencia de los patógenos para todos los tratamientos aplicados de los AE de *Passiflora maliformis* L. A

pesar de los numerosos reportes de actividades biológicas que poseen los metabolitos secundarios identificados en los cromatogramas, este ensayo se vio posiblemente afectado por la naturaleza apolar de estas sustancias y por la capacidad de dispersión de los AE en el medio de cultivo acuoso empleado.

## VIII. RECOMENDACIONES

Para futuras investigaciones se recomienda trabajar con los AE de especies vegetales más aromáticas, pues de acuerdo a la revisión de antecedentes, estas especies poseen mayor rendimiento y abundancia en algunos compuestos particulares. Además, obteniendo una mayor cantidad de los AE, se podrían realizar diferentes pruebas fisicoquímicas que permitan caracterizar estas esencias.

Se recomienda realizar estudios con variaciones en el tipo de técnicas, solventes empleados, rendimiento de acuerdo al área de contacto, tiempo de destilación, cambios de temperatura, entre otros. Además, es importante que, a nivel local, se realicen más investigaciones que optimicen las técnicas empleadas en este trabajo.

Se sugiere cuantificar los compuestos carvacrol y tetrametilpirazina encontrados en los AE de las partes aéreas de las especies *Passiflora maliformis* L. (material vegetal fresco) y *Passiflora ligularis* Juss (material seco). Para ello se requiere previamente la confirmación inequívoca de la sustancia, comparando los índices de retención a partir de columnas capilares ortogonales para CG y sus espectros de masas experimentales de los AE obtenido por HD y de los patrones certificados. Las aproximaciones con las bases de datos NIST, Wiley, Adams y otras, tanto de espectros de masas como índices de retención (por método de n-alcenos), permitirán llegar a la identificación positiva (confirmatoria) del carvacrol que se reportó en este estudio.

Dentro de los metabolitos secundarios se podría continuar estudios en estas especies, en donde se enfatice el aislamiento de flavonoides por técnicas de extracción con disolventes. La literatura reporta continuos estudios con hojas de estas especies vegetales y también, con caracterización química combinada de técnicas como CG-MS, FTIR y RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ .

Finalmente, para evaluar la actividad antibacterial de este tipo de AE, se podrían emplear métodos como diluciones o microdiluciones en caldo, estas técnicas han demostrado ser más eficientes para medir estas actividades biológicas. Por otro lado, sería interesante evaluar la capacidad antifúngica, la actividad citotóxica, y ensayar su posible empleo como repelentes de plagas, entre otros.

## IX. REFERENCIAS

- Agilent . (Junio de 2011). *Agilent Technologies*. Recuperado el 13 de Febrero de 2017, de <https://cn.agilent.com/cs/library/usermanuals/public/g4350-95012.pdf>
- Agudelo, J., Suárez, M., & Duque, C. (2011). Free and Glycosidically Bound Volatiles in Granadilla (*Passiflora vitifolia* HBK.). *Journal of Essential Oil Research* , VIII, 255-258.
- Aguilar, R. (26 de Diciembre de 2007). *Flickr*. Recuperado el 4 de Marzo de 2017, de <https://www.flickr.com/photos/plantaspinunsulaosa/5236035904>
- Alvarado, L. (2007). *Flora del valle de Tehuacán-Cuicatlán*. Ciudad de Mexico: Instituto de Biología. Departamento de Botánica.
- Andrade, T., De Lima, S., Freitas, R., Rocha, M., Islam, T., Da Silva, T., & Militao, G. (2015). Isolation, characterization and evaluation of antimicrobial and cytotoxic activity of estragole, obtained from the essential oil of croton zehntneri (euphorbiaceae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 173-182.
- Arango Acosta, G. J. (2010). Introducción al Metabolismo Secundario. En *Compuestos Derivados del Ácido Shikimico* (págs. 16-17). Medellín: Universidad de Antioquia.
- Aravena Abarzúa, G. A. (2014). Validación de Método de Extracción y Ccuantificación de Timol y Carvacrol en Muestras Utilizadas para Inclusión. En *Bioaccesibilidad de los Compuestos Bioactivos Timol y Carvacrol, presentes en Orégano y Tomillo, por Incorporados en Matriz Farinácea Bajo Diferentes Condiciones de Procesamiento* (pág. 61). Valdivia, Chile: Universidad Austral de Chile: Facultad de Ciencias Agrarias.
- Arriaga, C. A., Craveiro, A. A., Machado, M. I., & Pouliquen, Y. B. (1997). Volatile Constituents from Fruit Shells of *Passiflora edulis* Sims. *Journal of Essential Oil Research*, 9, 235-236.
- Autran, E., Neves, I., Da Silva, C., Santos, G., Camara, C., & Navarro, D. (2009). Chemical composition, oviposition deterrent and larvicidal activities against *Aedes aegypti* of essential oils from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). *Bioresource Technology*, 2284–2288.
- Bagamboula, C. F., Uyttendaele, M., & Debevere, J. (2004). Inhibitory Effect of Thyme and Basil Essential oils, Carvacrol, Thymol, Estragol, Linalool and p-Cymene Towards *Shigella Sonnei* and *S. Flexneri*. *Food Microbiology*, 21, 33–42.
- Baldovino, M. (1994). El Eugenol y sus Efectos Biológicos. *DUGANDIA*, 5(1), 13-15.

- Baser Can, K. H. (2008). Biological and Pharmacological Activities of Carvacrol and Carvacrol Bearing Essential Oils. *Current Pharmaceutical Design*, XIV(29), 3106-3120.
- Berg, J., Tymoczko, J., & Stryer, L. (2012). The Molecular Design of Life. En *Biochemistry* (Seventh ed.). New York: W. H. Freeman and Company.
- Bernal, J., & Cabrera, C. (2006). *Manual técnico cultivo de granadilla*. Neiva: Litocentral Ltda.
- Botanical Wonderland. (1 de Octubre de 2014). *Flickr*. Recuperado el 5 de Marzo de 2017, de <https://www.flickr.com/photos/lordsdaydream/16258619788>
- Buchbauer, G., & Jirovetz, L. (1992). Volatile Constituents of the Essential Oil of *Passiflora incarnata* L. *Journal of Essential Oil Research*, 329-334.
- Buchbauer, G., Jirovetz, L., Remberg, B., Remberg, G., & Nikiforov, A. (1992). Headspace Analysis of the Dried Herb of Passion Flower (*Herba Passiflorae*) and Dried Flowers of Lime Tree (*Floves Tiliae*). *Flavour and Fragrance Journal*, 7(6), 329-332.
- Calevo, J., Giovannini, A., De Benedetti, L., Braglia, L., Robustelli della Cuna, F. S., & Tava, A. (2016). Chemical composition of the volatile oil from flowers and leaves of new *Passiflora* hybrids. *International Journal of Applied Research in Natural Products*, 9 (4), 21-27.
- Can Baser, K., & Buchbauer, G. (2010). Chemical of Essential Oils. En *Handbook of Essential Oils*. New York: Taylor and Francis Group.
- Carnesecchi, S., Schneider, Y., Ceraline, J., Duranton, B., Gosse, F., Seiler, N., & Raul, F. (2001). Geraniol, a Component of Plant Essential Oils, Inhibits Growth and Polyamine Biosynthesis in Human Colon Cancer Cells. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 197-200.
- Carvajal, L. M., Turbay, S., Álvarez, L. M., Rodríguez, A., Álvarez, M., Bonilla, K., . . . Parra, M. (2014). Propiedades Funcionales y Nutricionales de seis Especies de *Passiflora* (*Passifloraceae*) del Departamento del Huila Colombia. *Botánica Económica*, 1-15.
- Carvajal, L. M., Turbay, S., Rojano, B., Álvarez, L. M., Restrepo, S. L., Álvarez, J. M., . . . Sánchez, N. (2011). Algunas especies de *Passiflora* y su capacidad antioxidante. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 354-363.
- Carvajal, L., Turbay, S., Álvarez, L., Rodríguez, A., Alvarez, J., Bonilla, K., . . . Parra, M. (2014). Relación entre los usos populares de la granadilla (*Passiflora ligularis*

- Juss) y su composición fitoquímica. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 185-196.
- Carvalho, d. S., Shinagawa, F. B., Da Silva, A. E., Costa, A. M., & Mancini, F. J. (2015). Chemical Composition and Antioxidant Capacity of Brazilian Passiflora Seed Oils. *Journal of Food Science*, 1-8.
- Casado Villaverde, I., Laso Carvajo, M., & Aguilar, N. (2018). Capítulo 5. Hidrodestilación. En *Optimización de la Extracción de Aceites Esenciales Destilación de Corriente de Vapor* (pág. 84). Madrid: Universidad Politécnica de Madrid.
- Castañeda Gómez, J. F. (2016). Enseñanza de la Fitoquímica mediante la Obtención de Aceites Esenciales. *Universidad Surcolombiana, Programa de Licenciatura en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología*, 4.
- Castillo García, E., & Martínez Solís, I. (2007). Principios activos de las drogas vegetales: Compuestos fenólicos. En *Manual de Fitoterapia* (págs. 33-34). Barcelona: Elsevier Doyma S.L.
- Castillo García, E., & Martínez Solís, I. (2007). Principios activos de las drogas vegetales: Compuestos Nitrogenados. En *Manual de Fitoterapia* (págs. 38-39). Barcelona: Elsevier Doyma S.L.
- Cerdas , A. M., & Castro , R. J. (2003). *Manual Práctico para la Producción, Cosecha y Manejo Poscosecha del Cultivo de Granadilla*. San José , Costa Rica: Ministerio de Agricultura y Ganadería, San José (Costa Rica); Costa Rica Univ., San José (Costa Rica); Fundación para el Fomento y la Promoción de la Investigación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria.
- Cerpa, C. (2007). Hidrodestilación de aceites esenciales: Modelado y Caracterización. *Universidad de Valladolid*, 1-304.
- Cervantes, E. G., García, R. G., & Salazar, P. S. (2014). Características Generales de *Staphylococcus aureus*. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 28-40.
- Chang, S.-T., Chen, P.-F., & Chang, S.-C. (2001). Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. *Journal of Ethnopharmacology*, 77, 123–127.
- Chans, G. R. (11 de octubre de 2018). *higiene.edu.uy*. Obtenido de <http://higiene.edu.uy/cefa/Libro2002/Cap%2017.pdf>

- Chassagne, D., Crouzet, J. C., Bayonove, C. L., & Baumes, R. L. (1996). Identification and Quantification of Passion Fruit Cyanogenic Glycosides. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 44(12), 3817–3820.
- Chassagne, D., Crouzet, J., Bayonove, C. L., & Baumes, R. L. (1997). Glycosidically Bound Eugenol and Methyl Salicylate in the Fruit of Edible Passiflora Species. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 45(7), 2685-2689.
- Chóez Guaranda, I. A., Herrera Hurtado, D. A., Miranda Martínez, M., & Manzano Santana, P. I. (2015). Chemical Composition of Essential Oils of Shells, Juice and Seeds of Passiflora Ligularis Juss from Ecuador. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 27(8), 650-653.
- Chóez, G. I., Ortega, A., Miranda, M., & Manzano, P. (2017). Chemical Composition of Essential Oils of Passiflora edulis f. flavicarpa Agroindustrial Waste. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 29(6), 458-462.
- Chóez, I., Herrera, D., Martínez, M., & Manzano, P. (2015). Chemical composition of essential oils of shells, juice and seeds of Passiflora ligularis Juss from Ecuador. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 650-653.
- Colomeu, T., Figueiredo, D., Cazarin, C., Schumacher, N., Maróstica, M., Meletti, L., & Zollner, R. (2014). Antioxidant and anti-diabetic potential of Passiflora alata Curtis aqueous leaves extract in type 1 diabetes mellitus (NOD-mice). *International Immunopharmacology*, 18, 106–115.
- De Melo, V., Suzart, A., Conceição, B., Del Bianchi, V., & De Carvalho, G. (2017). Effect of different concentrations of bush passion fruit pulp and temperature in the production of beer. *African Journal of Biotechnology*, 16(20), 1150-1158. doi:10.5897/AJB2016.15613
- De Moraes, J., De Oliveira, R., Costa, J. P., Junior G, A. L., De Sousa, D. P., Rivelilson, F. M., . . . Pinto S, P. L. (2014). Phytol, a Diterpene Alcohol from Chlorophyll, as a Drug against Neglected Tropical Disease Schistosomiasis Mansonii. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, XVIII(1), 1-12.
- Dellacassa, E. (2010). Composición química de aceites esenciales. En *Normalización de Productos Naturales Obtenidos de Esoecies de la Flora Aromática Latinoamericana: Proyecto CYTED IV.20* (pág. 177). Porto Alegre: EDIPUCRS.
- Dellacassa, E. (2010). Composición química de aceites esenciales: Análisis Cromatográfico. En *Normalización de Productos Naturales Obtenidos de Esoecies de la Flora Aromática Latinoamericana: Proyecto CYTED IV.20* (págs. 177-178). Porto Alegre: EDIPUCRS.

- Dhawan, K., Dhawan, S., & Sharma, A. (2004). Passiflora: a review update. *Journal of Ethnopharmacology*(94), 1-23.
- Didry, N., Dubreuil, L., & Pinkas, M. (1994). Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyde and eugenol on oral bacteria. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 69 (1), 25-28.
- Domingo, D., & López Brea, M. (2003). Plantas con acción antimicrobiana. *Revista Española de Quimioterapia*, 16(4), 385-393.
- Dorman, H., & Deans, S. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 308-316.
- Elsas, S. M., Rossi, D. J., Raber, J., White, G., Seeley, C. A., Gregory, W. L., . . . Soumyanatha, A. (2010). Passiflora incarnata L. (Passionflower) Extracts Elicit GABA Currents in Hippocampal Neurons in vitro, and Show Anxiogenic and Anticonvulsant Effects in vivo, Varying with Extraction Method. *National Institute of Health: Phytomedicine Author manuscript*, 17(12), 940-949.
- Fern, K. (2014). *Useful Tropical Plants Database*. Recuperado el 30 de Enero de 2017, de <http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Passiflora+ambigua>
- Ferreres, F., Sousa, C., & Valentao, P. (2007). New C-Deoxyhexosyl Flavones and Antioxidant Properties of Passiflora edulis Leaf Extract. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, LV, 10187-10193.
- Fuentes Ruitón, C., & Munguía Chipana, Y. (2001). Estudio comparativo del Aceite Esencial de Minthostachys (Kunt) Griseb "Muña" de tres Regiones Peruanas por Cromatografía de Gases y Espectrometría de Masas. *Ciencia e Investigación*, IV(1), 23-39.
- Gadioli, I. L., Barreto da Cunha, M., Oliveira de Carvalho, M., Costa, A. M., & Oliveira Pineli, L. d. (2016). A systematic review on phenolic compounds in Passiflora plants: Exploring biodiversity for food, nutrition, and popular medicine. *Food Science and Nutrition*, 1-119.
- Geissman, T. A. (1974). Fenoles y compuestos Hidroxicarbonílicos. En *Principios de Química Orgánica* (Segunda ed., págs. 733-734). Barcelona: Reverté.
- Gennaro, A. R. (2003). Exipientes y Otros Productos para la Elaboración Farmacéutica. En *Remington Farmacia* (Décimo segunda ed., Vol. Tomo I, pág. 1408). Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana.

- GIDOLQUIM. (4 de Abril de 2014). *Grupo de Innovación Docente en Operativa de Laboratorios Químicos*. Recuperado el 26 de Febrero de 2017, de <http://www.ub.edu/talq/es/node/238>
- Guerra, M., Rodríguez, J., García, M., Gastón, S., & Llerena, C. (2004). Actividad antimicrobiana del aceite esencial y crema de *Cymbopogon citratus* (DC). *Stapf. Revista cubana de plantas medicinales*.
- Heffernan , H., & Woodhouse, R. (2017). Antimicrobial susceptibility of *Shigella*, 2015 and 2016. *Antibiotic Reference Laboratory, Institute of Environmental Science and Research Ltd. (ESR)*, 1-7.
- Hernández Rivera, J., Martínez Ramírez, J., Rojas Cardozo, M., & Aragón Novoa, D. (2018). Evaluation of *Passiflora tripartita* var. *mollissima* seed oil as potential nanoemulsion excipient. *Journal of Excipients and Food Chemistry*, 9(1), 16-27.
- Hernández Sampieri, R., Fernández Collado, C., & Baptista Lucio, M. (2014). Definiciones de los Enfoques Cuantitativo y Cualitativos Similitudes y Diferencias. En *Metodología de la Investigación* (Sexta ed., págs. 5-6). México D.F.: McGraw Hill.
- Hiu , D. N., & Scheuer , P. (1961). The volatile constituents of passion. *Journal of Food Science*, 26, 557-563.
- Hiu , D. N., & Scheuer, P. J. (1961). The Volatile Constituents of Passion Fruit Juice. *Journal of Food Science*, 26(6), 557–563.
- Huang, I. F., Cheng, H., Wang, M., Chan, Y., Sheng , K., & Chiou, C. (2005). Outbreak of Dysentery Associated with Ceftriaxone-Resistant *Shigella sonnei*: First Report of Plasmid-Mediated CMY-2-Type AmpC B-Lactamase Resistance in *S. sonnei*. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(6), 2608–2612. doi:10.1128/JCM.43.6.2608–2612.2005
- INSHT. (11 de octubre de 2018). *Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo*. Obtenido de <http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Bacterias/Staphylococcus%20aureus.pdf>
- Instituto Nacional de Salud. (2002). Generalidades. En *Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión*. (pág. 67). Lima: Ministerio de salud del Perú.
- Jhonson, C. R., & Pasto, D. J. (2003). Caracterización e Identificación de los grupos funcionales: Fenoles. En *Determinación de estructuras Orgánicas* (págs. 416-417). Barcelona: Reverté S.A.

- Jordán, M. J., Goodner, K. L., & Shaw, P. E. (2002). Characterization of the Aromatic Profile in Aqueous Essence and Fruit Juice of Yellow Passion Fruit (*Passiflora edulis* Sims F. *Flavicarpa degner*) by GC–MS and GC/O. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *L*(6), 1523–1528.
- Karapmar, M., & Aktug, S. (1987). Inhibition of Foodborne Pathogens by Thymol, Eugenol, Menthol and Anethole. *International Journal of Food Microbiology*, *4* (2), 161-166.
- Kay, A. (3 de Junio de 2015). *Flickr*. Recuperado el 4 de Marzo de 2017, de <https://www.flickr.com/photos/andreaskay/21236076294>
- Kintzios, S. E. (2002). Essential Oil of Turkish Origanum Taxa. En *Oregano: The genera Origanum and Lippia*. Londres: Taylor & Francis.
- León, P., & Guevara García, A. (2007). LA SÍNTESIS DE ISOPRENOIDES A TRAVÉS DE LA VÍA MEP; UN NUEVO BLANCO DE MANIPULACIÓN PARA LA SALUD Y EL BENEFICIO HUMANO. *MENSAJE BIOQUÍMICO*, 77-90.
- Liu, S., Yang, F., Li, J., Zhang, C., Ji, H., & Hong, P. (2008). Physical and chemical analysis of *Passiflora* seeds and seed oil from China. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 706-715.
- López, L. (2004). Los aceites esenciales. Aplicaciones farmacológicas, cosméticas y alimentarias. *Ámbito farmacéutico*, 1-4.
- Lozano, D., Larrondo, H., María, H., Rivero, H., Zamora, R., & Leopoldo, A. (1998). Penicilinas. *Acta Médica*, 28-39.
- Macoris, S. M., Janzantti, S. N., Garruti, d. S., & Monteiro, M. (2011). Volatile compounds from organic and conventional passionfruit (*Passiflora edulis* F. *Flavicarpa*) pulp. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, *31*(2), 430-435.
- Mamede, A., Soares, A., Oliveira, E., & Farah, A. (2017). Volatile Composition of Sweet Passion Fruit (*Passiflora alata* Curtis). *Journal of Chemistry*, 1-9.
- Mandomando, I., Jaintilal, D., Pons, M., Vallés, X., Espasa, M., Mensa, L., . . . Ruiz, J. (2003). Antimicrobial Susceptibility and Mechanisms of Resistance in Antimicrobial Susceptibility and Mechanisms of Resistance in Years of Age with Diarrhea in Rural Mozambique. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy June 2009*, *53*(6), 2450-2454.
- Manzano, P., Miranda, M., Paz, C., Abreu, J., Silva, M., & Hernández, V. (2012). Aislamiento y caracterización de la fracción hexánica de las hojas de

- Vernonanthura patens (Kunth) H. Rob. con actividad antifúngica. *Revista Cubana de Farmacia*, 352-358.
- Marín , M., Caetano, C., & Posada, C. (2009). Caracterización morfológica de especies del género Passiflora de Colombia. *Acta Agronómica*, 117-125.
- Marín , T. M., Creuci , M., & Posada , T. C. (2009). Caracterización morfológica de especies del género Passiflora de Colombia. *Acta Agronómica*, 58(3), 117-125.
- Martínez, A. (2001). Aceites Esenciales. *Universidad de Antioquia. Facultad de Química Farmacéutica.*, 1-35.
- Martínez, B. C. (2012). Algunos Conceptos sobre Muestreo. En *Estadística y Muestreo* (Décima tercera ed., pág. 900). Bogotá: ECOE Ediciones.
- McGaw, L., Jäger, A., & Staden, J. (2002). Isolation of  $\beta$ -asarone, an antibacterial and anthelmintic compound, from Acorus calamus in South Africa. *South African Journal of Botany*, 31-35.
- Melgarejo, L. M. (2015). GRANADILLA (Passiflora ligularis Juss) ECOFISIOLOGÍA DEL CULTIVO. En *Presentación* (págs. 13-16). Bogotá: Disonex S.A.
- Miroddi, M., Calapai, G., Navarra, M., Minciullo, P. L., & Gangemi, S. (2013). Passiflora incarnata L.: Ethnopharmacology, Clinical Application, Safety and Evaluation of Clinical Trials. *Journal of Ethnopharmacology*, 791–804.
- Molina, J., & Uribarren, T. (11 de octubre de 2018). *Departamento de Microbiología y Parasitología*. Obtenido de <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/shigella.html>
- Montero, D. V., Ortíz, M. M., Mielletti, L. M., Van Kampen, M., & Polozzi, S. C. (2016). Floral scent of brazilian Passiflora: five species analysed by dynamic headspace. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 88(3), 1191-1200.
- Montiel, M. (1991). *Introducción a la flora de Costa Rica*. San José: Universidad de Costa Rica.
- Montoya, G. d. (2010). *Aceites Esenciales Una Alternativa de Diversificación para el Eje Cafetero*. Manizales: Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales.
- Montoya, G. d. (2010). *ACEITES ESENCIALES Una Alternativa de Diversificación para el Eje Cafetero*. Manizales: Universidad Nacional de Colombia.
- Murray , K., Shipton , J., & Whitfield , F. (1972). Volatile constituents of passion fruit (Passiflora edulis). *Australian Journal of Chemistry*, 25, 1920-1933.

- National Institute of Industrial Science and Technology. (20 de Septiembre de 2018). *Spectral Database of Organic Compounds*. Obtenido de AIST Database: <https://sdfs.db.aist.go.jp/sdfs/cgi-bin/landingpage?spscode=MS-NW-0577>
- National Institute of Industrial Science and Technology. (21 de Septiembre de 2018). *Spectral Database of Organic Compounds*. Obtenido de AIST Database: <https://sdfs.db.aist.go.jp/sdfs/cgi-bin/landingpage?sdfsno=21786>
- National Institute of Industrial Science and Technology. (21 de Septiembre de 2018). *Spectral Database of Organic Compounds*. Obtenido de AIST Database: <https://sdfs.db.aist.go.jp/sdfs/cgi-bin/landingpage?sdfsno=6693>
- Nyanzi, S., Carstensen, B., & Schwack, W. (2005). A Comparative Study of Fatty Acid Profiles of Passiflora Seed Oils from Uganda. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 88(1), 41-44.
- Ocampo, C., Ríos, V., Betancur, J., & Ocampo, S. (2008). Fundamentación de la Técnica por Arrastre con Vapor. En *Curso Práctico de Química Orgánica. Enfocado a Biología y Alimentos* (págs. 39-40). Manizales: Universidad de Caldas.
- Ocampo, J. (2013). Diversity and Distribution of Passifloraceae in the Department of Huila in Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 511-515.
- Ocampo, J., & Merlín, Y. (2014). Passifloras de Colombia. 1-7.
- Ocampo, J., Coppens, d. G., & Jarvis, A. (2010). Distribution of the Genus Passiflora L. Diversity in Colombia and Its Potential as an Indicator for Biodiversity Management in the Coffee Growing Zone. *Diversity*, 2, 1158-1180.
- Ocampo, J., Rodríguez, A., Puentes, A., Molano, Z., & Parra, M. (2015). *El cultivo de Cholupa (Passiflora maliformis L.): Una alternativa para la fruticultura colombiana*. Neiva, Huila: Corporación Centro de Desarrollo Tecnológico de las Pasifloras de Colombia-Cepass.
- Patel, S. S., Soni, H., Mishra, K., & Singhai, A. K. (2011). Recent Updates on the Genus Passiflora: A Review. *International Journal of Research in Phytochemistry & Pharmacology*, 1(1), 1-16.
- Peana, A. T., & Moretti, M. D. (2008). Linalool in Essential Plant Oils: Pharmacological Effects. *Botanical Medicine in Clinical Practice*, 716-724.
- Perea, M., Fischer, G., & Miranda, D. (2010). Passifloraceae. *Biotechnología aplicada al mejoramiento de cultivos de frutas tropicales*, 42.

- Picazo, J. (2000). Procedimientos en Microbiología Clínica. *Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 1-54.
- Pineda, F., Rodríguez, J., Escalona, H., & Lugo, E. (2016). OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE TOSTADO DE *Theobroma cacao* var. Criollo EN FUNCIÓN DEL PERFIL CROMATOGRÁFICO. *Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química*, 181-186.
- Poethke, V. S. (1970). Substances of *Passiflora incarnata* L. (Constituents of *Passiflora bryonioides*). Alkaloids. *Planta Medica*, 18, 303-314.
- Raja, M. S., Cantrell, C. L., Franzblau, S. C., & Fischer, N. H. (1998). Antimycobacterial Activity of (E)-Phytol and Derivatives: A Preliminary Structure-Activity Study. *Planta Medica Journal*(68), 2-4.
- Ramírez Aristizabal, L. S., & Marín, D. (2012). Evaluación de la actividad antibacteriana de aceites esenciales y extractos etanólicos utilizando métodos de difusión en agar y dilución en pozo. *Scientia et Technica. Año XVII. Universidad Tecnológica de Pereira*, 152-159.
- Ramírez, L. S., & Marín, D. (2012). Evaluación de la actividad antibacteriana de aceites esenciales y extractos etanólicos utilizando métodos de difusión en agar y dilución en pozo. *Scientia Et Technica*, 152-157.
- Ramirez, L. S., & Marin, D. C. (2009). Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia et Technica* , 263-268.
- Ramirez, L., & Marin, D. (2009). Metodologías para evaluar In Vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia et Technica Año XV*, 263-268.
- Ramos, F. A., Castellanos, L., López, C., Palacios, L., Duque, C., Pacheco, R., & Guzmán, A. (2010). An Orientin Derivative Isolated from *Passiflora tripartita* var. *mollissima*. *Latin American Journal of Pharmacy*, XXIX(1), 141-143.
- Restrepo A, J. J. (19 de Diciembre de 2013). *Flickr*. Recuperado el 4 de Marzo de 2017, de <https://www.flickr.com/photos/22012266@N02/11472443663>
- Restrepo, J. J. (21 de Diciembre de 2013). *Flickr*. Recuperado el 20 de Diciembre de 2016, de <https://www.flickr.com/photos/22012266@N02/11487308354/in/album-72157633299867128/>
- Reyes Jurado , F., Franco Vega, A., Ramírez Corona, N., Enrique , P., & López Malo, A. (2014). Essential Oils: Antimicrobial Activities, Extraction Methods and Their Modeling. *Journal of Food and Engeeniering*.

- Ríos V, E., Giraldo G, G. A., León R, D. F., & Moreno B, A. (2008). Estudio del Perfil de compuestos volátiles de los rizomas de *Curuma longa* I. Cultivada en el departamento del Quindío-Colombia. *Revista de Investigaciones Universidad del Quindío*(18), 32-37.
- Ríos, E. (2010). Evaluación del Aceite Esencial y Estudio de Conservación en Frío de *Cymbopogon Citratus* Cultivado en la Región del Quindío. *Revistas de Investigaciones de la Universidad del Quindío*, 24-28.
- Romero, R. (2007). Microbiología y Parasitología Humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. México: Editorial Médica Panamericana.
- Rotta, E., Rodrigues, C., Sales, F., Maldaner, L., & Visentainer, J. (2018). Determination of phenolic compounds and antioxidant activity in passion fruit pulp (*Passiflora* spp.) using a modified QuEChERS method and UHPLC-MS/MS. *Food Science and Technology*, 100, 397-403.
- Sabogal Palma, A. C., Chávez Marin, J., Oliveros Gómez, D. F., Murillo Perea, E., & Méndez Arteaga, J. J. (2016). Funcionalidades Biológicas de *Passiflora maliformis* del Sur del Macizo Colombiano. *Bioagro*, 3-12.
- Saravanan, S., & Parimelazhagan, T. (2014). In vitro antioxidant, antimicrobial and anti-diabetic properties of polyphenols of *Passiflora ligularis* Juss. fruit pulp. *Food Science and Human Wellness*, 3, 56–64.
- Sepúlveda Jiménez, G., Porta Ducoing, H., & Rocha Sosa, M. (2003). La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(3), 356-363.
- Serrato, C., Díaz, C., & Barajas, P. (2008). Composición del Aceite Esencial en Germoplasma de *Tagetes filifolia* Lag. de la Región Centro-Sur de México. *Agrociencia*, 42(3), 277-285.
- Silva, G. C., & Bottoli, C. B. (2015). Analyses of *Passiflora* Compounds by Chromatographic and Electrophoretic Techniques. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*(45), 76-95.
- Skoog, D. A., Holler, J. A., & Crouch, S. R. (2008). Cromatografía de Gases. En *Principios de Análisis Instrumental* (Sexta ed., pág. 790). México: Cengage Learning.
- Skoog, D. A., Holler, J. A., & Crouch, S. R. (2008). Instrumentos para la Cromatografía de Gas-Líquido. En *Principios de Análisis Instrumental* (Sexta ed., pág. 799). México: Cengage Learning.

- Soriano, d. (2006). Suintancias antinutritivas: Glucósidos Cianogénicos. En *Nutricioón básica Humana* (pág. 283). Valencia: Universitat de Valencia.
- Stashenko, E. (2009). *Aceites Esenciales*. Bucaramanga, Santander: Centro Nacional de Investigación para la Agroindustrialización de Especies Vegetales Aromáticas y Medicinales Tropicales-CENIVAM.
- Stashenko, E. (2009). Propiedades y Caracterización. En *Aceites Esenciales*. Bucaramanga, Santander: Centro Nacional de Investigación para la Agroindustrialización de Especies Vegetales Aromáticas y Medicinales Tropicales-CENIVAM.
- Stashenko, E. E., & Martínez, J. R. (2010). Algunos aspectos prácticos para la identificación de analitos por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. *Scientia Chromatographica*, 2(1), 29-47.
- Stashenko, E., & Martínez, J. (2010). Separar, fragmentar e integrar: la rutina de un análisis por GC-MS. Patrones de fragmentación de moléculas orgánicas. *Scientia Chromatographica*, 2(2), 23-46 .
- Stewart, P., & Costerton, J. (2001). Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *THE LANCET*, 358, 135-138.
- Su, L., Tsung, K., Wen, Y., Sheng, L., Shih, Y., Raung, S., . . . Chun, J. (2004). Tetramethylpyrazine reduces ischemic brain injury in rats. *Neuroscience Letters*, 372((1-2)), 40-45. doi:10.1016/j.neulet.2004.09.013
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). Metabolitos Secundarios y Defensa de las Plantas. En *Fisiología Vegetal* (Vol. I, págs. 529-534). Castellón, España: Universidad Jaume I.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). Secondary Metabolites and Plant Defense. En *Plant Physiology* (Fourth ed., Vol. I, pág. Cap 13). New York, España: Sinauer Associates Inc.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). Terpenos. En *Fisiología Vegetal* (Vol. I, págs. 539-540). Castelló: Universitat Jaume I.
- Taroco, R., Seija, V., & Vignoli, R. (2008). Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. *Instituto de Higiene de la Universidad de la República*, 663-671.
- Thoper, C. (15 de Enero de 2014). *Flickr*. Recuperado el 5 de Marzo de 2017, de <https://www.flickr.com/photos/30879509@N04/11967654086>

- Torequell, I., Oliveira Barros de Alencar, M., da Conceição Machado, K., da Conceição Machado, K., de Carvalho Melo-Cavalcante, A., de Sousa, D., & de Freitas, R. (2015). Phytol in a pharma-medico-stance. *Chemico-Biological Interactions: A Journal of Molecular, Cellular and Biochemical Toxicology*(240), 60-73.
- Torrenegra, M. E., Granados, C., Osorio, M. R., & León, G. (2015). Comparación de la Hidro-Destilación Asistida por Radiación con Microondas (MWHD) con Hidrodestilación Convencional (HD) en la Extracción de Aceite Esencial de *Mintostachys mollis*. *Información Tecnológica*, XXVI(1), 118.
- Torres, L. A. (2011). Estudio de la Hidrodestilación del aceite esencial de *Lippia alba* (Mill). En un destilador a escala piloto. *Universidad Industrial de Santander*, 19-20.
- Traub, M. (2012). Passionflower: An overview of the research and clinical indications. *Gaia Herbs: Professional Solutions*, 1-13.
- Ulubelen, A., Mabry, T. J., Dellamonica, G., & Chopin, J. (1984). Flavonoids of *Passiflora Palmeri*. *Journal of Natural Products*, XLVII(2), 384-385.
- Ulubelen, A., Oksuz, S., Mabry, T., & Dellamonica, G. (1982). C-Glycosylflavonoids From *Passiflora pittieri*, *P. alata*, *P. ambigua* and *Adenia mannii*. *Journal of Natural Products*, VI(45), 783-783.
- Vega, M. (2001). Alternativa Sostenible en el Valle de Apurimacyene. En *Etnobotánica de la Amazonía Peruana* (Primera ed., págs. 46-50). Quito: Abya-Yala.
- Wade Jr, L. G. (2011). Aminas. En *Química Orgánica* (Séptima ed., Vol. I, pág. 74). México: Pearson Educación.
- Wade Jr, L. G. (2011). CAPÍTULO 12: Espectroscopia infrarroja y espectrometría de masas. En *Química Orgánica* (Séptima ed., Vol. II, págs. 1214-1216). México D.F: Pearson Educación.
- Wade Jr, L. G. (2011). Terpenos. En *Química Orgánica* (Séptima ed., Vol. II, págs. 1214-1216). México D.F: Pearson Educación.
- Wang, P., She, G., Yang, Y., Li, Q., Zhang, H., Liu, J., . . . Lei, H. (2012). Synthesis and Biological Evaluation of New Ligustrazine Derivatives as Anti-Tumor Agents. *Molecules*, 17(5), 4972-4985. doi:10.3390/molecules17054972
- Zepeda, C., & Gaído, J. (1978). Susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* a los Antimicrobianos. *Revista Médica Hondureña*, 47, 29-32.

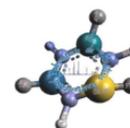
## Anexos

### 1. Parámetros y Cromatogramas *Passiflora maliformis* L.

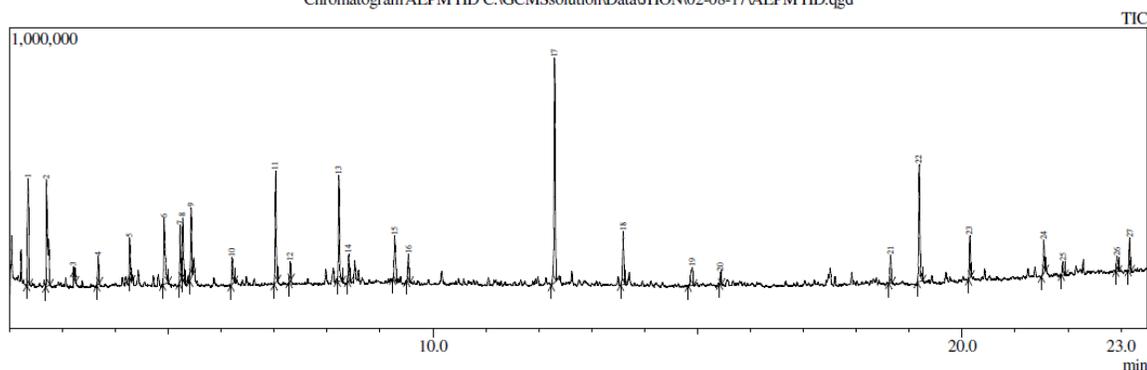
GC-MS *P maliformis* L: Partes aéreas (Material fresco)



**LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL**  
**PROGRAMA DE QUÍMICA**  
**UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO**



Chromatogram AEPM HD C:\GCMSsolution\Data\JHON\02-08-17\AEPM HD.qgd

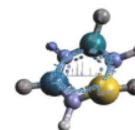


Peak#	R.Time	Area	Area%	Name
1	2.353	604047	6.47	Trichloromethane
2	2.700	808166	8.66	2-Butanone, 3-methyl-
3	3.215	17977	0.19	Acetoin
4	3.675	136597	1.46	Pentanal, 2-methyl-
5	4.270	205367	2.20	Cyclopentanone
6	4.921	477329	5.11	2-Cyclopenten-1-one
7	5.224	276373	2.96	2-Hexenal, (E)-
8	5.275	345286	3.70	3-Hexen-1-ol, (Z)-
9	5.431	364220	3.90	2-Hexen-1-ol, (E)-
10	6.206	170344	1.83	Butanoic acid, 4-hydroxy-
11	7.030	634383	6.80	Benzaldehyde
12	7.305	89460	0.96	1-Octen-3-ol
13	8.224	636045	6.82	Benzyl alcohol
14	8.410	139433	1.49	Benzeneacetaldehyde
15	9.279	307358	3.29	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-
16	9.536	165676	1.78	Phenylethyl Alcohol
17	12.301	1347457	14.44	Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-
18	13.598	335520	3.60	Benzeneacetaldehyde
19	14.899	175930	1.89	7-Hexadecenal, (Z)-
20	15.438	51072	0.55	Heptadecane
21	18.649	155172	1.66	Isopropyl myristate
22	19.191	737892	7.91	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylp
23	20.147	247785	2.66	1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl 8-methyl
24	21.545	185077	1.98	Phytol
25	21.904	87814	0.94	Bis(2-ethylhexyl) maleate
26	22.929	88009	0.94	1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl 2-ethylh
27	23.166	171273	1.84	Docosane
28	23.757	134071	1.44	13-Docosenamide, (Z)-
29	24.005	237174	2.54	Pentacosane
		9332307	100.00	

GC-MS *P maliformis* L: Partes aéreas (Semillas: material seco) HD



LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL  
PROGRAMA DE QUÍMICA  
UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO



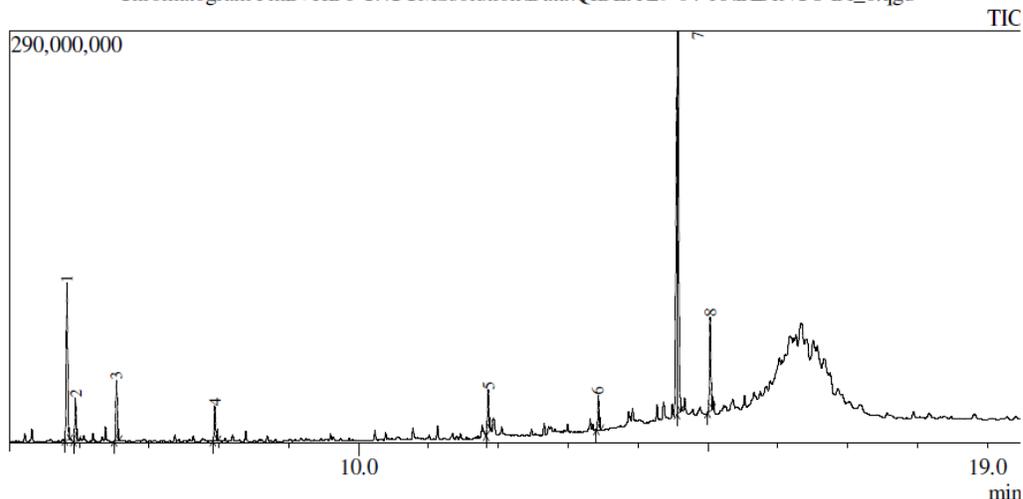
Sample Information

Analyzed by : Admin  
 Analyzed : 4/23/2018 10:21:20 AM  
 Sample Type : Unknown  
 Level # : 1  
 Sample Name : PmD5HD6  
 Sample ID : PmD5HD6  
 IS Amount : [1]=1  
 Sample Amount : 1  
 Dilution Factor : 1  
 Vial # : 4  
 Injection Volume : 1.00  
 Data File : C:\GCMSsolution\Data\QIDEA\23-04-18\BLANCO DI\_6.qgd  
 Org Data File : C:\GCMSsolution\Data\QIDEA\23-04-18\BLANCO DI\_6.qgd  
 Method File : C:\GCMSsolution\Data\ALCANOS\Alcanos.qgm  
 Org Method File : C:\GCMSsolution\Data\ALCANOS\Alcanos.qgm  
 Report File : C:\GCMSsolution\Data\MILTON\Escencias.qgr  
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune\1\03-04-2018 tuning.qgt  
 Modified by : Admin  
 Modified : 4/23/2018 11:32:04 AM

Peak Report TIC

Peak#	R.Time	Name	Area	Area%	Height	Height%	A/H
1	5.826	1,4-Cyclohexanediol, trans-	160214805	17.07	109481778	17.80	1.46
2	5.948	Benzeneacetaldehyde	40036231	4.26	30032336	4.88	1.33
3	6.536	Phenylethyl Alcohol	59367377	6.32	42351910	6.89	1.40
4	7.942	Thymol	35123094	3.74	23999326	3.90	1.46
5	11.854	n-Hexadecanoic acid	39354771	4.19	30097046	4.89	1.31
6	13.432	Octacosanol	31203079	3.32	24002922	3.90	1.30
7	14.571	1,3-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexy	476866318	50.80	289980041	47.15	1.64
8	15.033	1,2-Benzenedicarboxylic acid, dinonyl ester	96598988	10.29	65016247	10.57	1.49
			938764663	100.00	614961606	100.00	

Chromatogram PmD5HD6 C:\GCMSsolution\Data\QIDEA\23-04-18\BLANCO DI\_6.qgd



Method

[Comment]

===== Analytical Line 1 =====

[AOC-20i+s]

# of Rinses with Presolvent	:5
# of Rinses with Solvent(post)	:5
# of Rinses with Sample	:3
Plunger Speed(Suction)	:High
Viscosity Comp. Time	:0.2 sec
Plunger Speed(Injection)	:High
Syringe Insertion Speed	:High
Injection Mode	:Normal
Pumping Times	:5
Inj. Port Dwell Time	:0.3 sec
Terminal Air Gap	:No
Plunger Washing Speed	:High
Washing Volume	:8uL
Syringe Suction Position	:0.0 mm
Syringe Injection Position	:0.0 mm
Solvent Selection	:All A,B,C

[GC-2010]

Column Oven Temp.	:40.0 °C	
Injection Temp.	:300.00 °C	
Injection Mode	:Split	
Flow Control Mode	:Linear Velocity	
Pressure	:65.4 kPa	
Total Flow	:14.0 mL/min	
Column Flow	:1.00 mL/min	
Linear Velocity	:36.0 cm/sec	
Purge Flow	:3.0 mL/min	
Split Ratio	:10.0	
High Pressure Injection	:OFF	
Carrier Gas Saver	:OFF	
Splitter Hold	:OFF	
Oven Temp. Program		
Rate	Temperature(°C)	Hold Time(min)
-	40.0	1.00
20.00	310.0	5.00

< Ready Check Heat Unit >

Column Oven	: Yes
SPL1	: Yes
MS	: Yes

< Ready Check Detector(FTD) >

< Ready Check Baseline Drift >

< Ready Check Injection Flow >

SPL1 Carrier	: Yes
SPL1 Purge	: Yes

< Ready Check APC Flow >

< Ready Check Detector APC Flow >

External Wait	:No
Equilibrium Time	:1.0 min

[GC Program]

[GCMS-QP2010 Ultra]

IonSourceTemp :230.00 °C  
Interface Temp. :290.00 °C  
Solvent Cut Time :4.50 min  
Detector Gain Mode :Relative  
Detector Gain :1.03 kV +0.30 kV  
Threshold :1000

[MS Table]

--Group 1 - Event 1--

Start Time :5.00min  
End Time :19.50min  
ACQ Mode :Scan  
Event Time :0.10sec  
Scan Speed :10000  
Start m/z :35.00  
End m/z :700.00

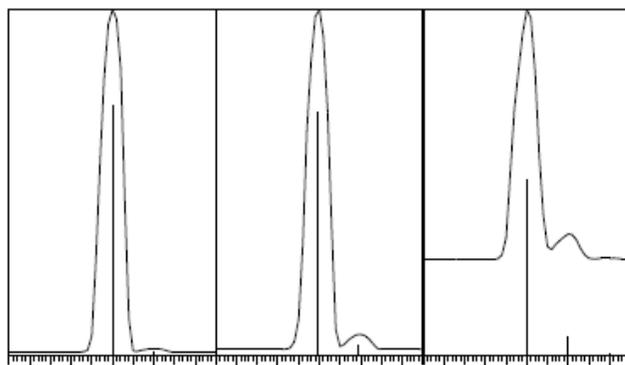
Sample Inlet Unit :GC

[MS Program]

Use MS Program :OFF

Tuning

### Tuning Result ###



m/z	Factor	Inten.	Ratio	FWHM
69.00	12.22	620382	100.00	0.60
219.00	24.15	306006	49.33	0.60
502.00	383.39	13855	2.23	0.61

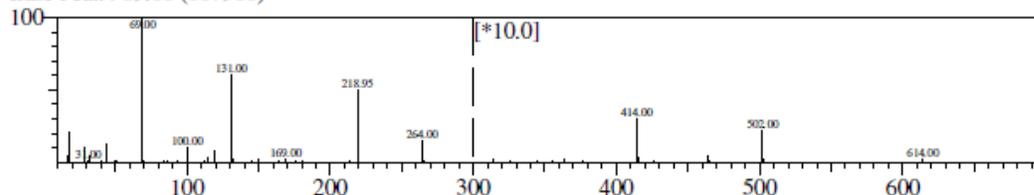
MS : GCMS-QP2010 U  
Ionization Mode : EI  
Tuning Date : 4/3/2018 9:27:12  
Filament# : 1  
Lens1 : -0.2 V  
Lens2 : -5.0 V  
Lens3 : -2.7 V  
Lens4 : -44.0 V  
RF Gain : 4925  
RF Offset : 4929  
Pre-rod : -3.5 V  
Detector : 1.03 kV

Ionization voltage : 70 V  
Emission current : 60 uA  
Main-rod : -3.5 V  
Conversion dynode: -10 kV

IonSourceTemp : 300 °C  
Low Vacuum : 2.5e+000 Pa  
High Vacuum : 3.8e-004 Pa  
Interface Temp. : 34 °C  
Oven Temp. : 30 °C  
Column Pressure : 33 kPa  
Column Flow : 1.7 mL/min  
Column Diameter : 0.32 mm  
Column Length : 30.0 m

Scan Range: 10.00 - 700.00 Scan Speed : 156

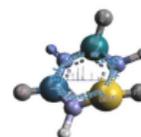
Base Peak : 69.00 (607906)



# GC-MS *P maliformis* L: Partes aéreas (Hojas: material seco) HD



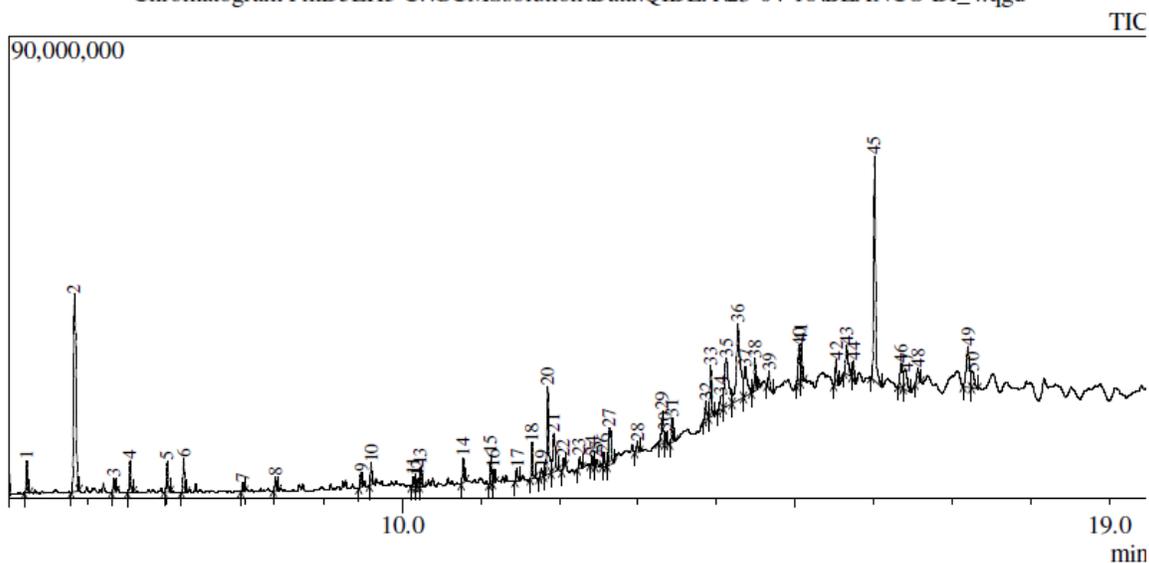
## LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL PROGRAMA DE QUÍMICA UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO



### Sample Information

Analyzed by : Admin  
Analyzed : 4/23/2018 9:27:00 AM  
Sample Type : Unknown  
Level # : 1  
Sample Name : PmD5LH5  
Sample ID : PmD5LH5  
IS Amount : [1]=1  
Sample Amount : 1  
Dilution Factor : 1  
Vial # : 3  
Injection Volume : 1.00  
Data File : C:\GCMSsolution\Data\QIDEA\23-04-18\BLANCO DI\_4.qgd  
Org Data File : C:\GCMSsolution\Data\QIDEA\23-04-18\BLANCO DI\_4.qgd  
Method File : C:\GCMSsolution\Data\ALCANOS\Alcanos.qgm  
Org Method File : C:\GCMSsolution\Data\ALCANOS\Alcanos.qgm  
Report File : C:\GCMSsolution\Data\MILTON\Escencias.qgr  
Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune\03-04-2018 tuning.qgt  
Modified by : Admin  
Modified : 4/23/2018 11:23:01 AM

Chromatogram PmD5LH5 C:\GCMSsolution\Data\QIDEA\23-04-18\BLANCO DI\_4.qgd



## Peak Report TIC

Peak#	R.Time	Name	Area	Area%	Height	Height%	A/H
1	5.222	Benzaldehyde	7997355	1.35	6149745	1.95	1.30
2	5.826	2-Chlorocyclohexanol	80981593	13.71	38318887	12.15	2.11
3	6.331	Mequinol	3779788	0.64	2667365	0.85	1.42
4	6.537	Phenylethyl Alcohol	8587394	1.45	6192993	1.96	1.39
5	7.012	2H-Pyran-3-ol, 6-ethenyltetrahydro-2,2,6-trimethyl-	8395468	1.42	5870393	1.86	1.43
6	7.219	Methyl salicylate	8329449	1.41	6634690	2.10	1.26
7	7.972	2-Butanone, 4-(2,2,6-trimethylcyclohexyl)-	2187762	0.37	1788460	0.57	1.22
8	8.386	Eugenol	3389524	0.57	2625309	0.83	1.29
9	9.471	Methanone, dicyclohexyl-	3360179	0.57	2748861	0.87	1.22
10	9.602	Dodecanoic acid	5120791	0.87	4269197	1.35	1.20
11	10.139	7-Oxabicyclo[4.1.0]heptane, 1-methyl-4-(2-methyl-2-propenyl)-	2631643	0.45	1829746	0.58	1.44
12	10.195	7-Oxabicyclo[4.1.0]heptane, 1-methyl-4-(2-methyl-2-propenyl)-	2402147	0.41	1518111	0.48	1.58
13	10.235	Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl-	4662796	0.79	3909381	1.24	1.19
14	10.777	Tetradecanoic acid	6332889	1.07	4748231	1.51	1.33
15	11.131	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	6690582	1.13	5582817	1.77	1.20
16	11.166	Isoamyl salicylate	3118357	0.53	2680021	0.85	1.16
17	11.458	1,2-Benzenedicarboxylic acid, diundecyl ester	3330538	0.56	2585025	0.82	1.29
18	11.653	Homosalate	8528632	1.44	6891993	2.19	1.24
19	11.772	7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene	2677687	0.45	1748657	0.55	1.53
20	11.852	n-Hexadecanoic acid	26632092	4.51	16859893	5.35	1.58
21	11.931	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	17099485	2.89	7432504	2.36	2.30
22	12.056	Ethanol, 2-(dodecyloxy)-	2606155	0.44	1971029	0.62	1.32
23	12.258	Behenic alcohol	3623532	0.61	2263484	0.72	1.60
24	12.417	Oxybenzone	2353644	0.40	1858058	0.59	1.27
25	12.472		2290134	0.39	1110098	0.35	2.06
26	12.566	1-Naphthalenepropanol, .alpha.-ethenyldecahydro-	3410395	0.58	2551271	0.81	1.34
27	12.636	Phytol	16385562	2.77	7189817	2.28	2.28
28	12.994	Heneicosane	2777554	0.47	1974566	0.63	1.41
29	13.315	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	10331449	1.75	6277562	1.99	1.65
30	13.352	2-Hexadecanol	3031984	0.51	2331988	0.74	1.30
31	13.435	1-Decanol, 2-hexyl-	6176217	1.05	4726787	1.50	1.31
32	13.864	Heneicosane	5090459	0.86	3445794	1.09	1.48
33	13.926		14657860	2.48	9888786	3.14	1.48
34	14.058	Octanamide, N,N-dimethyl-	7371263	1.25	2504331	0.79	2.94
35	14.123	1-Decanol, 2-hexyl-	34082787	5.77	9447622	3.00	3.61
36	14.272	1-Decanol, 2-hexyl-	51673453	8.75	14950212	4.74	3.46
37	14.366	Octadecanoic acid, 2,3-dihydroxypropyl ester	16445086	2.78	5637656	1.79	2.92
38	14.488	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	8756726	1.48	6318757	2.00	1.39
39	14.669	Tetracontane	4232607	0.72	3324516	1.05	1.27
40	15.048	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	11349458	1.92	7293474	2.31	1.56
41	15.081	Tetracontane	10075798	1.71	7365021	2.34	1.37
42	15.522	Tetracontane	6647716	1.13	4770512	1.51	1.39
43	15.657	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	12308949	2.08	5566992	1.77	2.21
44	15.743	Squalene	4533200	0.77	3708095	1.18	1.22
45	16.012	Dotriacontane	74032120	12.53	43512975	13.80	1.70
46	16.352	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	10567278	1.79	4735602	1.50	2.23
47	16.412	1-Triacontanol	12329383	2.09	3595541	1.14	3.43
48	16.563	Tetrapentacontane	5392136	0.91	2918085	0.93	1.85
49	17.200	Tetracontane	24260405	4.11	7867284	2.49	3.08
50	17.265	Oxirane, [(dodecyloxy)methyl]-	7824220	1.32	3219268	1.02	2.43
			590853681	100.00	315377462	100.00	

Method

[Comment]

===== Analytical Line 1 =====

[AOC-20i+s]

# of Rinses with Presolvent	:5
# of Rinses with Solvent(post)	:5
# of Rinses with Sample	:3
Plunger Speed(Suction)	:High
Viscosity Comp. Time	:0.2 sec
Plunger Speed(Injection)	:High
Syringe Insertion Speed	:High
Injection Mode	:Normal
Pumping Times	:5
Inj. Port Dwell Time	:0.3 sec
Terminal Air Gap	:No
Plunger Washing Speed	:High
Washing Volume	:8uL
Syringe Suction Position	:0.0 mm
Syringe Injection Position	:0.0 mm
Solvent Selection	:All A,B,C

[GC-2010]

Column Oven Temp.	:40.0 °C	
Injection Temp.	:300.00 °C	
Injection Mode	:Split	
Flow Control Mode	:Linear Velocity	
Pressure	:65.4 kPa	
Total Flow	:14.0 mL/min	
Column Flow	:1.00 mL/min	
Linear Velocity	:36.0 cm/sec	
Purge Flow	:3.0 mL/min	
Split Ratio	:10.0	
High Pressure Injection	:OFF	
Carrier Gas Saver	:OFF	
Splitter Hold	:OFF	
Oven Temp. Program		
Rate	Temperature(°C)	Hold Time(min)
-	40.0	1.00
20.00	310.0	5.00

< Ready Check Heat Unit >

Column Oven	: Yes
SPL1	: Yes
MS	: Yes

< Ready Check Detector(FTD) >

< Ready Check Baseline Drift >

< Ready Check Injection Flow >

SPL1 Carrier	: Yes
SPL1 Purge	: Yes

< Ready Check APC Flow >

< Ready Check Detector APC Flow >

External Wait	:No
Equilibrium Time	:1.0 min

[GC Program]

[GCMS-QP2010 Ultra]

IonSourceTemp :230.00 °C  
Interface Temp. :290.00 °C  
Solvent Cut Time :4.50 min  
Detector Gain Mode :Relative  
Detector Gain :1.03 kV +0.30 kV  
Threshold :1000

[MS Table]

--Group 1 - Event 1--

Start Time :5.00min  
End Time :19.50min  
ACQ Mode :Scan  
Event Time :0.10sec  
Scan Speed :10000  
Start m/z :35.00  
End m/z :700.00

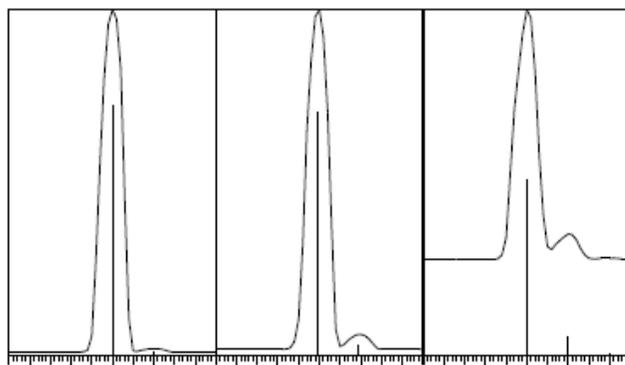
Sample Inlet Unit :GC

[MS Program]

Use MS Program :OFF

Tuning

### Tuning Result ###



m/z	Factor	Inten.	Ratio	FWHM
69.00	12.22	620382	100.00	0.60
219.00	24.15	306006	49.33	0.60
502.00	383.39	13855	2.23	0.61

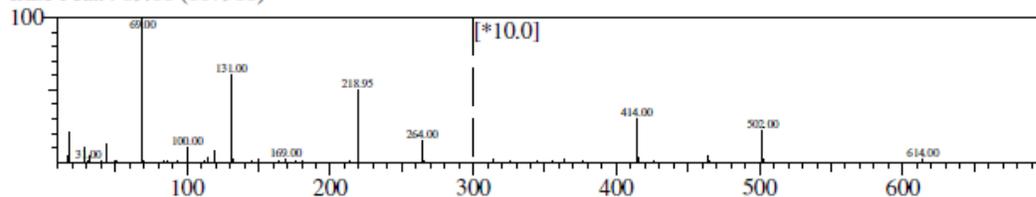
MS : GCMS-QP2010 U  
Ionization Mode : EI  
Tuning Date : 4/3/2018 9:27:12  
Filament# : 1  
Lens1 : -0.2 V  
Lens2 : -5.0 V  
Lens3 : -2.7 V  
Lens4 : -44.0 V  
RF Gain : 4925  
RF Offset : 4929  
Pre-rod : -3.5 V  
Detector : 1.03 kV

Ionization voltage : 70 V  
Emission current : 60 uA  
Main-rod : -3.5 V  
Conversion dynode: -10 kV

IonSourceTemp : 300 °C  
Low Vacuum : 2.5e+000 Pa  
High Vacuum : 3.8e-004 Pa  
Interface Temp. : 34 °C  
Oven Temp. : 30 °C  
Column Pressure : 33 kPa  
Column Flow : 1.7 mL/min  
Column Diameter : 0.32 mm  
Column Length : 30.0 m

Scan Range: 10.00 - 700.00 Scan Speed : 156

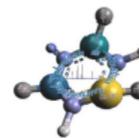
Base Peak : 69.00 (607906)



# GC-MS *P maliformis* L: Partes aéreas (Tallos: material seco)



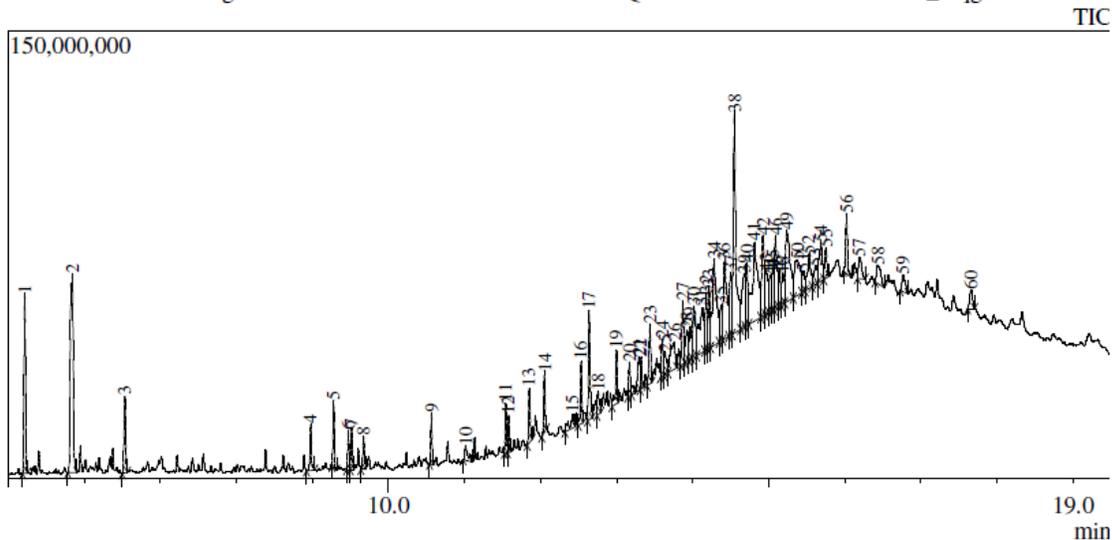
## LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL PROGRAMA DE QUÍMICA UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO



### Sample Information

Analyzed by : Admin  
Analyzed : 4/23/2018 8:32:40 AM  
Sample Type : Unknown  
Level # : 1  
Sample Name : PmD5HD4  
Sample ID : PmD5HD4  
IS Amount : [1]=1  
Sample Amount : 1  
Dilution Factor : 1  
Vial # : 2  
Injection Volume : 1.00  
Data File : C:\GCMSsolution\Data\QIDEA\23-04-18\BLANCO DI\_2.qgd  
Org Data File : C:\GCMSsolution\Data\QIDEA\23-04-18\BLANCO DI\_2.qgd  
Method File : C:\GCMSsolution\Data\ALCANOSA\lcanos.qgm  
Org Method File : C:\GCMSsolution\Data\ALCANOSA\lcanos.qgm  
Report File : C:\GCMSsolution\Data\MILTON\Escencias.qgr  
Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune\03-04-2018 tuning.qgt  
Modified by : Admin  
Modified : 4/23/2018 11:13:58 AM

Chromatogram PmD5HD4 C:\GCMSsolution\Data\QIDEA\23-04-18\BLANCO DI\_2.qgd



## Peak Report TIC

Peak#	R.Time	Name	Area	Area%	Height	Height%	A/H
1	5.220	Benzaldehyde	87187156	3.57	59756733	5.59	1.46
2	5.845	Benzyl alcohol	172331986	7.05	66469993	6.22	2.59
3	6.536	Phenylethyl Alcohol	37461679	1.53	25277632	2.37	1.48
4	8.981	5,9-Undecadien-2-one, 6,10-dimethyl-, (E)-	22407882	0.92	15211484	1.42	1.47
5	9.282	trans-.beta.-Ionone	27501531	1.13	22594400	2.11	1.22
6	9.474	Methanone, dicyclohexyl-	17723286	0.73	13129826	1.23	1.35
7	9.518	1,3-Benzenediol, 5-pentyl-	19487147	0.80	14086063	1.32	1.38
8	9.674	2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4-	16681637	0.68	10885127	1.02	1.53
9	10.566	Tetradecanal	21381801	0.87	17145631	1.60	1.25
10	11.015	Heneicosane	13609062	0.56	4994110	0.47	2.73
11	11.544	Nonadecane	19946961	0.82	16442451	1.54	1.21
12	11.582	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z)	15603940	0.64	12451969	1.17	1.25
13	11.854	n-Hexadecanoic acid	26466903	1.08	17979652	1.68	1.47
14	12.051	Heneicosane	25629433	1.05	20637158	1.93	1.24
15	12.426	Pentacosane	17063390	0.70	4651724	0.44	3.67
16	12.534	Heneicosane	27874858	1.14	20820049	1.95	1.34
17	12.638	Phytol	53881194	2.20	36573170	3.42	1.47
18	12.756	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z)	15507907	0.63	7729537	0.72	2.01
19	12.997	Heneicosane	27258825	1.12	17620474	1.65	1.55
20	13.168	Tetracosane	19165050	0.78	11488554	1.08	1.67
21	13.293	Octanamide, N,N-dimethyl-	30230354	1.24	11222601	1.05	2.69
22	13.322	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	15748183	0.64	10595743	0.99	1.49
23	13.438	Pentatriacontane	32587697	1.33	20085006	1.88	1.62
24	13.599	Pentatriacontane	21218526	0.87	12396922	1.16	1.71
25	13.638	Octadecane	17576185	0.72	7452246	0.70	2.36
26	13.755	Pentatriacontane	41515333	1.70	9095770	0.85	4.56
27	13.869	Pentatriacontane	34164101	1.40	21118491	1.98	1.62
28	13.927	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	26444625	1.08	10469385	0.98	2.53
29	13.968	Tetracosane	21009404	0.86	10961599	1.03	1.92
30	14.016	Tetracontane	43445965	1.78	17135979	1.60	2.54
31	14.129	Pentatriacontane	69507403	2.84	14771199	1.38	4.71
32	14.174	Octanamide, N,N-dimethyl-	32351028	1.32	18797350	1.76	1.72
33	14.214	Hexanoic acid, 2-ethyl-, 2-methylpropyl ester	34284361	1.40	20254189	1.90	1.69
34	14.279	Dotriacontane	107800416	4.41	28883893	2.70	3.73
35	14.372	Glycerol 1-palmitate	31704113	1.30	11954604	1.12	2.65
36	14.419	Tetracontane	80700401	3.30	25840628	2.42	3.12
37	14.498		49010945	2.01	20828683	1.95	2.35
38	14.548	Di-n-octyl phthalate	169387144	6.93	74284855	6.95	2.28
39	14.675	Hexadecane, 2-methyl-	51942647	2.13	17936609	1.68	2.90
40	14.707	Cyclohexane, nonadecyl-	48714504	1.99	21201595	1.98	2.30
41	14.813	Pentatriacontane	132200086	5.41	26259011	2.46	5.03
42	14.924	Tetrapentacontane	66773984	2.73	26934513	2.52	2.48
43	14.968		35396013	1.45	13991109	1.31	2.53
44	15.015	1-Decanol, 2-hexyl-	27836054	1.14	12101977	1.13	2.30
45	15.052	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	21234800	0.87	14023197	1.31	1.51
46	15.087	Dotriacontane	59799270	2.45	24167966	2.26	2.47
47	15.142	Cyclohexane, decyl-	21842307	0.89	11695226	1.09	1.87
48	15.182	Cholestane	23849728	0.98	9733808	0.91	2.45
49	15.236		99344556	4.06	23816316	2.23	4.17
50	15.373	Dotriacontane	65598639	2.68	11787312	1.10	5.57
51	15.458		15095430	0.62	6593917	0.62	2.29
52	15.531	Tetrapentacontane	34538759	1.41	11596584	1.09	2.98
53	15.608	Cyclohexane, 1,1'-(1,3-propanediyl)bis-	20040753	0.82	5976538	0.56	3.35
54	15.684	Tetracontane	41468629	1.70	12824704	1.20	3.23
55	15.751	Squalene	19506357	0.80	10261062	0.96	1.90
56	16.021	Dotriacontane	35754932	1.46	20181986	1.89	1.77
57	16.196	Tetracontane	21807125	0.89	7243115	0.68	3.01
58	16.430	Tetrapentacontane	24662156	1.01	6207114	0.58	3.97
59	16.763	Tetrapentacontane	17315706	0.71	5693178	0.53	3.04
60	17.658	Anthracene, 9-dodecyltetradecahydro-	16352852	0.67	6345704	0.59	2.58
			2443933099	100.00	1068667421	100.00	

Method

[Comment]

===== Analytical Line 1 =====

[AOC-20i+s]

# of Rinses with Presolvent	:5
# of Rinses with Solvent(post)	:5
# of Rinses with Sample	:3
Plunger Speed(Suction)	:High
Viscosity Comp. Time	:0.2 sec
Plunger Speed(Injection)	:High
Syringe Insertion Speed	:High
Injection Mode	:Normal
Pumping Times	:5
Inj. Port Dwell Time	:0.3 sec
Terminal Air Gap	:No
Plunger Washing Speed	:High
Washing Volume	:8uL
Syringe Suction Position	:0.0 mm
Syringe Injection Position	:0.0 mm
Solvent Selection	:All A,B,C

[GC-2010]

Column Oven Temp.	:40.0 °C	
Injection Temp.	:300.00 °C	
Injection Mode	:Split	
Flow Control Mode	:Linear Velocity	
Pressure	:65.4 kPa	
Total Flow	:14.0 mL/min	
Column Flow	:1.00 mL/min	
Linear Velocity	:36.0 cm/sec	
Purge Flow	:3.0 mL/min	
Split Ratio	:10.0	
High Pressure Injection	:OFF	
Carrier Gas Saver	:OFF	
Splitter Hold	:OFF	
Oven Temp. Program		
Rate	Temperature(°C)	Hold Time(min)
-	40.0	1.00
20.00	310.0	5.00

< Ready Check Heat Unit >

Column Oven	: Yes
SPL1	: Yes
MS	: Yes

< Ready Check Detector(FTD) >

< Ready Check Baseline Drift >

< Ready Check Injection Flow >

SPL1 Carrier	: Yes
SPL1 Purge	: Yes

< Ready Check APC Flow >

< Ready Check Detector APC Flow >

External Wait	:No
Equilibrium Time	:1.0 min

[GC Program]

[GCMS-QP2010 Ultra]

IonSourceTemp :230.00 °C  
Interface Temp. :290.00 °C  
Solvent Cut Time :4.50 min  
Detector Gain Mode :Relative  
Detector Gain :1.03 kV +0.30 kV  
Threshold :1000

[MS Table]

--Group 1 - Event 1--

Start Time :5.00min  
End Time :19.50min  
ACQ Mode :Scan  
Event Time :0.10sec  
Scan Speed :10000  
Start m/z :35.00  
End m/z :700.00

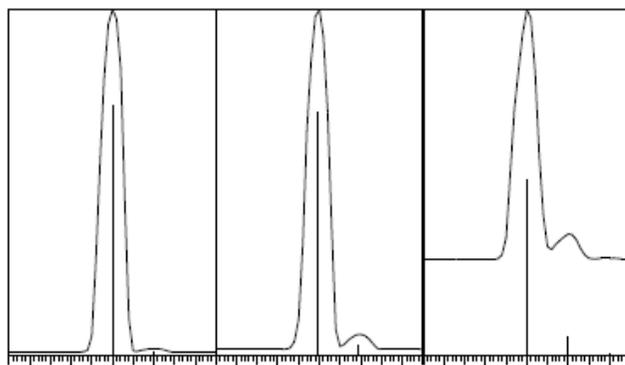
Sample Inlet Unit :GC

[MS Program]

Use MS Program :OFF

Tuning

### Tuning Result ###



m/z	Factor	Inten.	Ratio	FWHM
69.00	12.22	620382	100.00	0.60
219.00	24.15	306006	49.33	0.60
502.00	383.39	13855	2.23	0.61

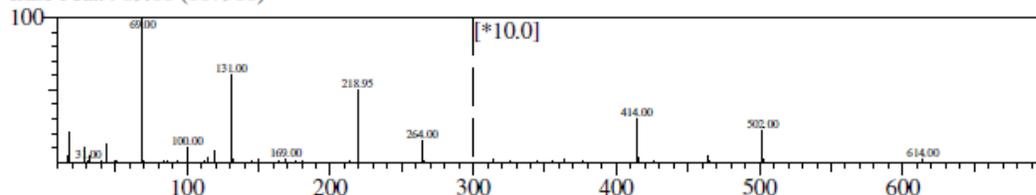
MS : GCMS-QP2010 U  
Ionization Mode : EI  
Tuning Date : 4/3/2018 9:27:12  
Filament# : 1  
Lens1 : -0.2 V  
Lens2 : -5.0 V  
Lens3 : -2.7 V  
Lens4 : -44.0 V  
RF Gain : 4925  
RF Offset : 4929  
Pre-rod : -3.5 V  
Detector : 1.03 kV

Ionization voltage : 70 V  
Emission current : 60 uA  
Main-rod : -3.5 V  
Conversion dynode: -10 kV

IonSourceTemp : 300 °C  
Low Vacuum : 2.5e+000 Pa  
High Vacuum : 3.8e-004 Pa  
Interface Temp. : 34 °C  
Oven Temp. : 30 °C  
Column Pressure : 33 kPa  
Column Flow : 1.7 mL/min  
Column Diameter : 0.32 mm  
Column Length : 30.0 m

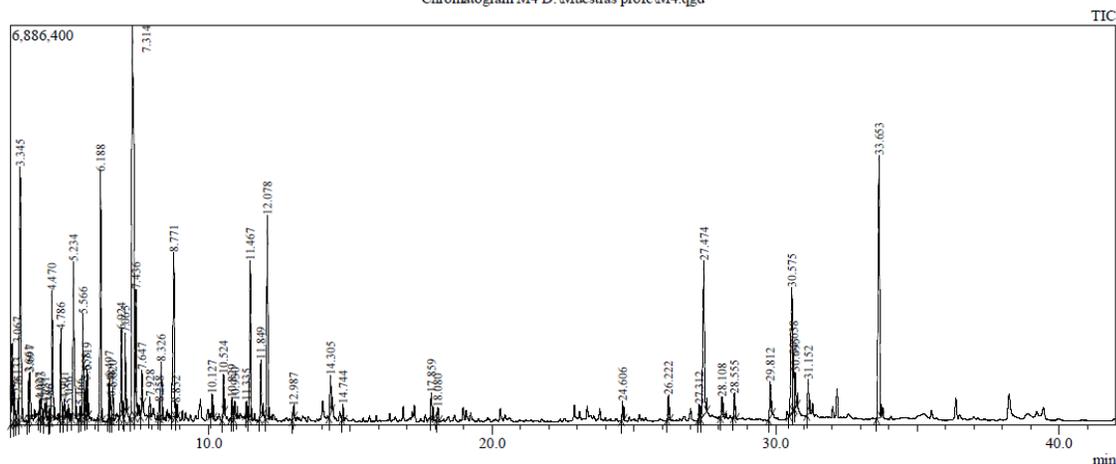
Scan Range: 10.00 - 700.00 Scan Speed : 156

Base Peak : 69.00 (607906)



# GC-MS *P. maliformis* L: Partes aéreas (material seco) HDMW

Chromatogram M4 D:\Muestras prof\lM4.qgd



Peak Report TIC										
Peak#	R Time	I Time	F Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name
1	3.067	3.015	3.108	3586595	1.71	1368807	2.02	2.62		Butanal, 3-methyl-
2	3.133	3.108	3.212	1855776	0.88	664238	0.98	2.79	V	Butanal, 2-methyl-
3	3.275	3.212	3.305	1127381	0.54	325295	0.48	3.47	V	Cyclopropanemethanol, alpha.-butyl-
4	3.345	3.305	3.468	16785584	8.00	4380263	6.47	3.83	V	Cyclohexene
5	3.661	3.612	3.678	1606102	0.77	801037	1.18	2.01		1-Butanol, 3-methyl-
6	3.697	3.678	3.748	1672791	0.80	802906	1.19	2.08	V	1-Butanol, 2-methyl-
7	4.027	3.998	4.058	560514	0.27	319064	0.47	1.76		4-Chloro-3-methylbut-2-en-1-ol
8	4.093	4.058	4.158	1214729	0.58	369218	0.55	3.29	V	Cyclopentanone
9	4.231	4.165	4.268	726399	0.35	229226	0.34	3.17		Pentanoic acid, 2,2,4-trimethyl-3-hydroxy-, isc
10	4.386	4.355	4.418	307478	0.15	174786	0.26	1.76		2-Pentanol, 4-methyl-
11	4.470	4.418	4.565	6956103	3.32	2221615	3.28	3.13	V	2-Cyclopenten-1-one
12	4.786	4.748	4.865	3543952	1.69	1550155	2.29	2.29		2-Hexenal, (E)-
13	4.901	4.868	4.935	591753	0.28	331901	0.49	1.78		3-Hexen-1-ol, (Z)-
14	5.056	5.032	5.105	368765	0.18	216268	0.32	1.71		1-Hexanol
15	5.234	5.168	5.328	8530082	4.07	2678410	3.96	3.18		Cyclopentane, ethylidene-
16	5.466	5.428	5.495	429050	0.20	224437	0.33	1.91		Ethanone, 1-(2-furanyl)-
17	5.566	5.495	5.622	4350960	2.07	1783607	2.63	2.44	V	Butane, 1-propoxy-
18	5.658	5.622	5.688	1255869	0.60	633519	0.94	1.98	V	3-Isopropylcyclopentene
19	5.719	5.688	5.768	1679056	0.80	800518	1.18	2.10	V	2-Cyclohexen-1-one
20	6.188	6.108	6.252	11060157	5.27	4270358	6.31	2.59		Benzaldehyde
21	6.497	6.448	6.525	1599885	0.76	703346	1.04	2.27		Phenol
22	6.548	6.525	6.585	859293	0.41	387485	0.57	2.22	V	trans,trans-3,5-Heptadien-2-one
23	6.620	6.585	6.668	1165041	0.56	562183	0.83	2.07	V	5-Hepten-2-one, 6-methyl-
24	6.924	6.848	6.972	3424856	1.63	1459436	2.16	2.35		2-Penten-1-ol, (Z)-
25	7.065	7.018	7.112	2952838	1.41	1409254	2.08	2.10		Diazene, bis(1,1-dimethylethyl)-
26	7.314	7.238	7.392	31392139	14.97	6751796	9.97	4.65		2-Chlorocyclohexanol
27	7.436	7.392	7.492	5857514	2.79	2167210	3.20	2.70	V	Benzeneacetaldehyde
28	7.647	7.602	7.688	1519142	0.72	677264	1.00	2.24		Ethanone, 1-(1H-pyrrol-2-yl)-
29	7.928	7.885	7.978	780754	0.37	321484	0.47	2.43		1,2-Propanedione, 1-phenyl-
30	8.258	8.225	8.295	874342	0.42	252086	0.37	3.47		Dodecane, 4,6-dimethyl-
31	8.326	8.295	8.402	2709612	1.29	967220	1.43	2.80	V	Phenol, 2-methoxy-
32	8.771	8.675	8.822	8938207	4.26	2815806	4.16	3.17		Phenylethyl Alcohol
33	8.852	8.822	8.892	597255	0.28	246537	0.36	2.42	V	7-Oxabicyclo[4.1.0]heptane, 1,5-dimethyl-
34	10.127	10.082	10.182	904442	0.43	383476	0.57	2.36		(3R,6S)-2,2,6-Trimethyl-6-vinyltetrahydro-2H
35	10.524	10.472	10.568	1734777	0.83	709031	1.05	2.45		Methyl salicylate
36	10.829	10.785	10.878	877469	0.42	352484	0.52	2.49		Benzofuran, 2,3-dihydro-
37	10.930	10.878	11.008	972310	0.46	300525	0.44	3.24	V	1H-Pyrrole-2,5-dione, 3-ethyl-4-methyl-
38	11.335	11.298	11.392	594705	0.28	249617	0.37	2.38		2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, (Z)-
39	11.467	11.405	11.532	7313661	3.49	2711799	4.00	2.70		2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)-
40	11.849	11.792	11.912	2510153	1.20	974836	1.44	2.57		Geraniol
41	12.078	12.008	12.145	9931910	4.74	3503118	5.17	2.84		2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (E)-
42	12.987	12.948	13.028	486939	0.23	220204	0.33	2.21		Dodecane, 4,6-dimethyl-
43	14.305	14.245	14.355	1906308	0.91	650098	0.96	2.93		Benzyl 2-chloroethyl sulfone
44	14.744	14.702	14.792	634775	0.30	273189	0.40	2.32		Geranyl acetate
45	17.859	17.812	17.925	1297940	0.62	437909	0.65	2.96		2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4
46	18.080	18.042	18.132	563749	0.27	225471	0.33	2.50		Heptadecane
47	24.606	24.562	24.658	795709	0.38	323256	0.48	2.47		Nonadecane
48	26.222	26.172	26.282	1184585	0.56	425978	0.63	2.78		7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-dien
49	27.312	27.268	27.358	620275	0.30	254455	0.38	2.44		Heneicosane
50	27.474	27.362	27.578	11235038	5.36	2650564	3.91	4.24		n-Hexadecanoic acid
51	28.108	28.058	28.165	996058	0.47	340011	0.50	2.93		Eicosane, 1-iodo-
52	28.555	28.508	28.612	1078714	0.51	425882	0.63	2.53		Heneicosane
53	29.812	29.758	29.888	1925091	0.92	612172	0.90	3.14		1-Heneicosanol
54	30.575	30.478	30.615	8849184	4.22	2147049	3.17	4.12		9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-
55	30.638	30.615	30.668	2551226	1.22	966013	1.43	2.64	V	1,8,11,14-Heptadecatetraene, (Z,Z,Z)-
56	30.695	30.668	30.768	1812940	0.86	611935	0.90	2.96	V	Palmitoleic acid
57	31.152	31.098	31.225	1773480	0.85	600724	0.89	2.95		Octadecanoic acid
58	33.653	33.565	33.728	16314195	7.78	4504331	6.65	3.62		5-Eicosene, (E)-
				209745607	100.00	67720142	100.00			

Method

[Comment]

===== Analytical Line 1 =====

[AOC-20i+s]

# of Rinses with Presolvent	:6
# of Rinses with Solvent(post)	:6
# of Rinses with Sample	:1
Plunger Speed(Suction)	:High
Viscosity Comp. Time	:0.2 sec
Plunger Speed(Injection)	:High
Syringe Insertion Speed	:High
Injection Mode	:Normal
Pumping Times	:5
Inj. Port Dwell Time	:0.3 sec
Terminal Air Gap	:No
Plunger Washing Speed	:High
Washing Volume	:8uL
Syringe Suction Position	:0.0 mm
Syringe Injection Position	:0.0 mm
Solvent Selection	:All A,B,C

[GC-2010]

Column Oven Temp.	:60.0 °C	
Injection Temp.	:290.00 °C	
Injection Mode	:Split	
Flow Control Mode	:Linear Velocity	
Pressure	:57.4 kPa	
Total Flow	:9.0 mL/min	
Column Flow	:1.00 mL/min	
Linear Velocity	:36.5 cm/sec	
Purge Flow	:3.0 mL/min	
Split Ratio	:5.0	
High Pressure Injection	:OFF	
Carrier Gas Saver	:OFF	
Splitter Hold	:OFF	
Oven Temp. Program		
Rate	Temperature(°C)	Hold Time(min)
-	60.0	2.00
20.00	100.0	0.00
5.00	240.0	10.00

< Ready Check Heat Unit >  
Column Oven : Yes  
SPL1 : Yes  
MS : Yes  
< Ready Check Detector(FTD/BID) >  
< Ready Check Baseline Drift >  
< Ready Check Injection Flow >  
SPL1 Carrier : Yes  
SPL1 Purge : Yes  
< Ready Check APC Flow >  
< Ready Check Detector APC Flow >  
External Wait :No  
Equilibrium Time :3.0 min

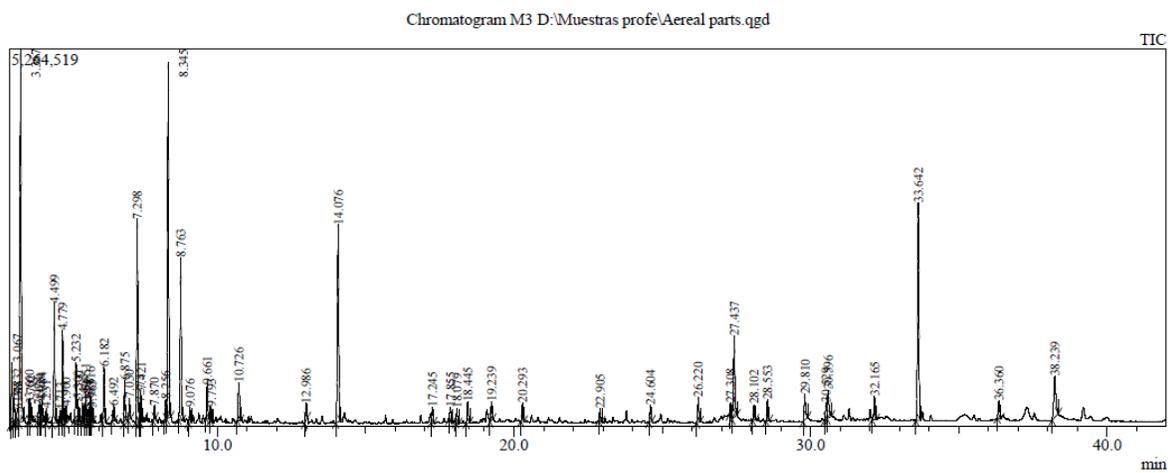
[GC Program]

[GCMS-QP2010 Plus]

IonSourceTemp :290.00 °C  
Interface Temp. :280.00 °C  
Solvent Cut Time :3.00 min

## 2. Parámetros y Cromatogramas *P ligularis* Juss

### GC-MS *Passiflora ligularis* Juss: Partes aéreas (material seco) HD



## Peak Report TIC

k#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name
1	3.067	3.015	3.108	2254160	1.96	863540	2.11	2.61		Butanal, 3-methyl-
2	3.132	3.108	3.175	1003966	0.87	376332	0.92	2.67	V	Butanal, 2-methyl-
3	3.178	3.175	3.205	211693	0.18	158308	0.39	1.34	V	
4	3.248	3.205	3.302	884621	0.77	186842	0.46	4.73	V	2-Oxepanone, 7-methyl-
5	3.367	3.302	3.478	17456559	15.20	5180460	12.66	3.37	V	Acetoin
6	3.660	3.612	3.682	683859	0.60	316998	0.77	2.16		1-Butanol, 3-methyl-
7	3.702	3.682	3.745	493786	0.43	248365	0.61	1.99	V	1-Hexene, 4-methyl-
8	3.974	3.928	4.002	466941	0.41	227177	0.56	2.06		2,3-Butanediol
9	4.024	4.002	4.052	494910	0.43	275272	0.67	1.80	V	2-Butenal, 3-methyl-
10	4.084	4.052	4.125	667218	0.58	294928	0.72	2.26	V	Cyclopentanone
11	4.231	4.215	4.252	336421	0.29	193038	0.47	1.74	V	Hexanal
12	4.499	4.422	4.582	4073181	3.55	1671499	4.09	2.44		2,4-Dimethylfuran
13	4.713	4.672	4.745	403086	0.35	153023	0.37	2.63		Heptane, 2,4-dimethyl-
14	4.779	4.745	4.852	2475063	2.15	1266817	3.10	1.95	V	2-Hexenal, (E)-
15	4.900	4.852	4.935	456694	0.40	227315	0.56	2.01		3-Hexen-1-ol, (Z)-
16	5.232	5.182	5.275	2015269	1.75	807938	1.97	2.49		Cyclopentane, ethylidene-
17	5.300	5.275	5.352	664392	0.58	303699	0.74	2.19	V	Cyclobutane, 1,3-butadienyl-, (Z)-
18	5.463	5.418	5.505	498098	0.43	255120	0.62	1.95		Ethanone, 1-(2-furanyl)-
19	5.551	5.505	5.605	916912	0.80	419428	1.03	2.19		Butane, 1-propoxy-
20	5.634	5.605	5.658	348814	0.30	172048	0.42	2.03	V	Pyrazine, 2,3-dimethyl-
21	5.678	5.658	5.695	349040	0.30	194076	0.47	1.80	V	1-Methoxy-2-propyl acetate
22	5.716	5.695	5.745	815965	0.71	363751	0.89	2.24	V	2-Cyclohexen-1-one
23	5.765	5.745	5.812	392052	0.34	191280	0.47	2.05	V	1-Methoxy-2-propyl acetate
24	6.182	6.115	6.245	1848189	1.61	771450	1.89	2.40		Benzaldehyde
25	6.492	6.448	6.535	467339	0.41	213253	0.52	2.19		Phenol
26	6.875	6.832	6.918	1205860	1.05	558124	1.36	2.16		1,1'-(Ethanediylidenediamino)bis(5-amir
27	7.030	6.985	7.078	624260	0.54	290665	0.71	2.15		Diazene, bis(1,1-dimethylethyl)-
28	7.298	7.235	7.352	7427721	6.47	2833690	6.93	2.62		2-Chlorocyclohexanol
29	7.375	7.352	7.392	542759	0.47	268937	0.66	2.02	V	2(3H)-Furanone, 5-ethylidihydro-
30	7.421	7.392	7.482	1058317	0.92	446612	1.09	2.37	V	Benzeneacetalddehyde
31	7.870	7.832	7.905	385759	0.34	188974	0.46	2.04		Acetophenone
32	8.256	8.212	8.288	553169	0.48	281578	0.69	1.96		Decane, 3,7-dimethyl-
33	8.345	8.288	8.435	13355419	11.63	4959616	12.12	2.69	V	Pyrazine, tetramethyl-
34	8.763	8.682	8.822	5971453	5.20	2257488	5.52	2.65		Phenylethyl Alcohol
35	9.076	9.025	9.128	464614	0.40	201860	0.49	2.30		Decane, 3,7-dimethyl-
36	9.661	9.612	9.745	1299036	1.13	479876	1.17	2.71		1-Cyclopentylacetonitrile
37	9.793	9.752	9.855	442347	0.39	198859	0.49	2.22		2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine
38	10.726	10.665	10.785	1415029	1.23	525323	1.28	2.69		Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene-2-methanol, 6,
39	12.986	12.942	13.035	548824	0.48	238588	0.58	2.30		Dodecane, 4,6-dimethyl-
40	14.076	13.985	14.162	8902319	7.75	2747884	6.72	3.24		Phenol, 2-methoxy-3-(2-propenyl)-
41	17.245	17.205	17.305	606896	0.53	215783	0.53	2.81	V	trans-.beta.-Ionone
42	17.855	17.808	17.925	548397	0.48	190794	0.47	2.87		2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahyd
43	18.079	18.032	18.145	513669	0.45	198351	0.48	2.59		Heptadecane
44	18.445	18.392	18.512	800096	0.70	284563	0.70	2.81		Asarone
45	19.239	19.188	19.292	689742	0.60	258354	0.63	2.67		Diethyl Phthalate
46	20.293	20.235	20.352	718397	0.63	258184	0.63	2.78		2-Methyltetracosane
47	22.905	22.858	22.962	436238	0.38	172300	0.42	2.53		Heptadecane
48	24.604	24.555	24.658	579737	0.50	234393	0.57	2.47		Nonadecane
49	26.220	26.162	26.282	968190	0.84	343514	0.84	2.82		7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,
50	27.308	27.265	27.355	455525	0.40	185227	0.45	2.46		Heneicosane
51	27.437	27.358	27.532	3879903	3.38	1122155	2.74	3.46		n-Hexadecanoic acid
52	28.102	28.048	28.158	604563	0.53	218531	0.53	2.77		Hexadecane, 1-iodo-
53	28.553	28.498	28.618	791641	0.69	290291	0.71	2.73		Heneicosane
54	29.810	29.755	29.912	1264256	1.10	354670	0.87	3.56		1-Heneicosanol
55	30.529	30.472	30.555	683270	0.59	233857	0.57	2.92		Linoelaidic acid
56	30.596	30.555	30.715	1504779	1.31	391147	0.96	3.85	V	9,12,15-Octadecatrien-1-ol, (Z,Z,Z)-
57	32.165	32.075	32.225	930685	0.81	322294	0.79	2.89		Heneicosane
58	33.642	33.555	33.718	10229172	8.91	3024829	7.39	3.38		5-Eicosene, (E)-
59	36.360	36.298	36.432	870216	0.76	238281	0.58	3.65		Heneicosane
60	38.239	38.148	38.368	2910630	2.53	567122	1.39	5.13		Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydro
				114861116	100.00	40914671	100.00			

Method

[Comment]

===== Analytical Line 1 =====

[AOC-20i+s]

# of Rinses with Presolvent	:6
# of Rinses with Solvent(post)	:6
# of Rinses with Sample	:1
Plunger Speed(Suction)	:High
Viscosity Comp. Time	:0.2 sec
Plunger Speed(Injection)	:High
Syringe Insertion Speed	:High
Injection Mode	:Normal
Pumping Times	:5
Inj. Port Dwell Time	:0.3 sec
Terminal Air Gap	:No
Plunger Washing Speed	:High
Washing Volume	:8uL
Syringe Suction Position	:0.0 mm
Syringe Injection Position	:0.0 mm
Solvent Selection	:All A,B,C

[GC-2010]

Column Oven Temp.	:60.0 °C
Injection Temp.	:290.00 °C
Injection Mode	:Split
Flow Control Mode	:Linear Velocity
Pressure	:57.4 kPa
Total Flow	:9.0 mL/min
Column Flow	:1.00 mL/min
Linear Velocity	:36.5 cm/sec
Purge Flow	:3.0 mL/min
Split Ratio	:5.0
High Pressure Injection	:OFF
Carrier Gas Saver	:OFF
Splitter Hold	:OFF

Oven Temp. Program

Rate	Temperature(°C)	Hold Time(min)
-	60.0	2.00
20.00	100.0	0.00
5.00	240.0	10.00

< Ready Check Heat Unit >  
Column Oven : Yes  
SPL1 : Yes  
MS : Yes  
< Ready Check Detector(FTD/BID) >  
< Ready Check Baseline Drift >  
< Ready Check Injection Flow >  
SPL1 Carrier : Yes  
SPL1 Purge : Yes  
< Ready Check APC Flow >  
< Ready Check Detector APC Flow >  
External Wait :No  
Equilibrium Time :3.0 min

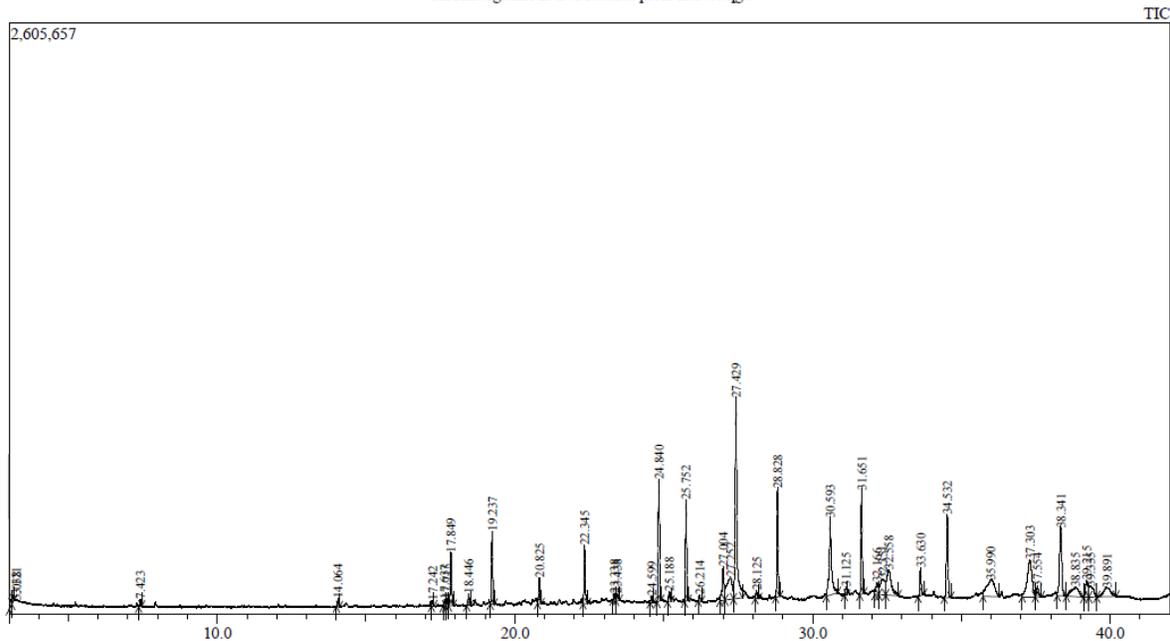
[GC Program]

[GCMS-QP2010 Plus]

IonSourceTemp :290.00 °C  
Interface Temp. :280.00 °C  
Solvent Cut Time :3.00 min

# GC-MS *P. ligularis* Juss: Partes aéreas (Hojas: material seco)

Chromatogram M2 D:\Muestras prof\Leaves.qgd



Peak Report TIC										
Peak#	R. Time	I. Time	F. Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name
1	3.038	3.015	3.102	152134	0.54	34749	0.55	4.38		Methylene chloride
2	3.121	3.102	3.165	81877	0.29	35223	0.56	2.32	V	Propane, 2,2-dimethoxy-
3	7.423	7.358	7.472	74684	0.26	31426	0.50	2.38	V	Benzeneacetaldehyde
4	14.064	14.008	14.108	101501	0.36	36061	0.57	2.81		Phenol, 2-methoxy-3-(2-propenyl)-
5	17.242	17.195	17.285	78714	0.28	25934	0.41	3.04	V	Edulain II
6	17.637	17.592	17.672	88775	0.31	31192	0.49	2.85	V	Cyclohexanecarboxylic acid, ethenyl ester
7	17.715	17.672	17.765	100518	0.36	32254	0.51	3.12	V	Phenol, 2-methoxy-3-(2-propenyl)-
8	17.849	17.765	17.932	776162	2.75	233676	3.71	3.32	V	2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4-
9	18.446	18.385	18.505	151334	0.54	51803	0.82	2.92		
10	19.237	19.178	19.305	924418	3.27	322090	5.11	2.87	V	Diethyl Phthalate
11	20.825	20.758	20.888	369492	1.31	115201	1.83	3.21		Cyclopentanemethanol, alpha-(1-methylethyl)-
12	22.345	22.288	22.445	759740	2.69	256588	4.07	2.96	V	Heptasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15-tetradeca-
13	23.338	23.295	23.392	78785	0.28	26998	0.43	2.92		n-Hexadecanoic acid
14	23.438	23.392	23.508	118277	0.42	30970	0.49	3.82	V	
15	24.599	24.542	24.658	88487	0.31	30889	0.49	2.86		Heptadecane, 2,6,10,15-tetramethyl-
16	24.840	24.775	24.908	1400026	4.95	534396	8.48	2.62		Isopropyl myristate
17	25.188	25.128	25.255	167959	0.59	44844	0.71	3.75		1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpr
18	25.752	25.702	25.822	1238708	4.38	444859	7.06	2.78	V	Heptasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15-tetradeca-
19	26.214	26.158	26.275	84220	0.30	30766	0.49	2.74		7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-die
20	27.004	26.885	27.062	667995	2.36	148401	2.35	4.50	V	Dibutyl phthalate
21	27.252	27.062	27.342	1199329	4.24	97931	1.55	12.25	V	Heptasiloxane, hexadecamethyl-
22	27.429	27.342	27.648	3703349	13.11	881505	13.98	4.20	V	n-Hexadecanoic acid
23	28.125	28.075	28.195	116543	0.41	32087	0.51	3.63	V	Pentadecanoic acid, ethyl ester
24	28.828	28.755	28.902	1369249	4.85	479298	7.60	2.86		Octasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15-tetradeca-
25	30.593	30.462	30.842	1767112	6.25	339134	5.38	5.21	SV	9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-
26	31.125	31.068	31.162	118222	0.42	36524	0.58	3.24		Undec-10-ynoic acid, undecyl ester
27	31.651	31.588	31.735	1290675	4.57	454963	7.22	2.84	S	Heptasiloxane, hexadecamethyl-
28	32.166	32.095	32.222	260931	0.92	52438	0.83	4.98	V	2-Bromotetradecane
29	32.351	32.222	32.455	773598	2.74	68459	1.09	11.30	V	Card-20(22)-enolide, 3,5,14,19-tetrahydroxy-
30	32.558	32.455	32.882	1183027	4.19	110554	1.75	10.70	SV	Heptacosane, 1-chloro-
31	33.630	33.548	33.735	397055	1.41	121568	1.93	3.27		2-Propenoic acid, pentadecyl ester
32	34.532	34.428	34.648	1336733	4.73	361481	5.73	3.70		Heptasiloxane, hexadecamethyl-
33	35.990	35.728	36.268	1355755	4.80	74393	1.18	18.22	V	Stigmasta-5,22-dien-3-ol, acetate, (3 beta.)-
34	37.303	37.042	37.482	1756547	6.22	160891	2.55	10.92	V	Heptasiloxane, hexadecamethyl-
35	37.554	37.482	37.682	201845	0.71	40655	0.64	4.96	V	Estragole
36	38.341	38.215	38.522	1602704	5.67	295290	4.68	5.43	V	Heptasiloxane, hexadecamethyl-
37	38.835	38.522	39.108	710493	2.51	40575	0.64	17.51		Octadecane, 1-chloro-
38	39.215	39.108	39.282	445362	1.58	72391	1.15	6.15		Heneicosane
39	39.335	39.282	39.548	498367	1.76	47419	0.75	10.51	V	Squalene
40	39.891	39.548	40.202	665201	2.35	39144	0.62	16.99	V	Hexadecane, 1-chloro-
				28255903	100.00	6305020	100.00			

Method

[Comment]

===== Analytical Line 1 =====

[AOC-20i+s]

# of Rinses with Presolvent	:6
# of Rinses with Solvent(post)	:6
# of Rinses with Sample	:1
Plunger Speed(Suction)	:High
Viscosity Comp. Time	:0.2 sec
Plunger Speed(Injection)	:High
Syringe Insertion Speed	:High
Injection Mode	:Normal
Pumping Times	:5
Inj. Port Dwell Time	:0.3 sec
Terminal Air Gap	:No
Plunger Washing Speed	:High
Washing Volume	:8uL
Syringe Suction Position	:0.0 mm
Syringe Injection Position	:0.0 mm
Solvent Selection	:All A,B,C

[GC-2010]

Column Oven Temp.	:60.0 °C
Injection Temp.	:290.00 °C
Injection Mode	:Split
Flow Control Mode	:Linear Velocity
Pressure	:57.4 kPa
Total Flow	:9.0 mL/min
Column Flow	:1.00 mL/min
Linear Velocity	:36.5 cm/sec
Purge Flow	:3.0 mL/min
Split Ratio	:5.0
High Pressure Injection	:OFF
Carrier Gas Saver	:OFF
Splitter Hold	:OFF

Oven Temp. Program

Rate	Temperature(°C)	Hold Time(min)
-	60.0	2.00
20.00	100.0	0.00
5.00	240.0	10.00

< Ready Check Heat Unit >  
Column Oven : Yes  
SPL1 : Yes  
MS : Yes  
< Ready Check Detector(FTD/BID) >  
< Ready Check Baseline Drift >  
< Ready Check Injection Flow >  
SPL1 Carrier : Yes  
SPL1 Purge : Yes  
< Ready Check APC Flow >  
< Ready Check Detector APC Flow >  
External Wait :No  
Equilibrium Time :3.0 min

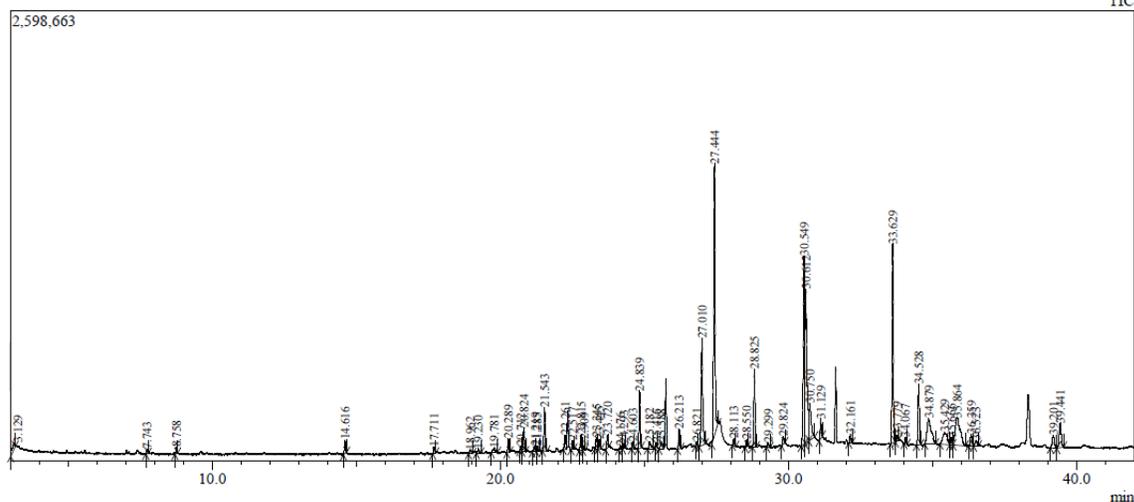
[GC Program]

[GCMS-QP2010 Plus]

IonSourceTemp :290.00 °C  
Interface Temp. :280.00 °C  
Solvent Cut Time :3.00 min

# GC-MS *P. ligularis* Juss: Partes aéreas (Semillas: material seco)

Chromatogram M1 D:\Muestras prof\Seeds.qgd



Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name
1	3.129	3.015	3.165	235171	0.65	35365	0.38	6.65		Butanoic acid, 2-hydroxy-2-methyl-, methyl es
2	7.743	7.698	7.792	63822	0.18	25134	0.27	2.54		cis-1,2-Cyclohexanediol
3	8.758	8.712	8.805	85757	0.24	35581	0.38	2.41		Phenylethyl Alcohol
4	14.616	14.558	14.675	232011	0.64	77081	0.82	3.01		Vanillin
5	17.711	17.655	17.762	111672	0.31	37974	0.41	2.94		Phenol, 2-methoxy-3-(2-propenyl)-
6	18.962	18.898	19.057	109927	0.30	22636	0.24	4.86	MI	Tridecanoic acid
7	19.230	19.168	19.337	73953	0.20	23708	0.25	3.12	MI	Diethyl Phthalate
8	19.781	19.690	19.913	137387	0.38	26938	0.29	5.10	MI	.beta.-copaene
9	20.289	20.232	20.342	223758	0.62	77969	0.83	2.87		(1R,3E,7E,11R)-1,5,5,8-Tetramethyl-12-oxabi
10	20.712	20.678	20.758	67059	0.19	23452	0.25	2.86		
11	20.824	20.758	20.888	458534	1.27	135612	1.45	3.38	V	Cyclopentanemethanol, alpha.-(1-methylethyl
12	21.219	21.115	21.247	148826	0.41	33554	0.36	4.44	MI	1H-3a,7-Methanoazulen-5-ol, octahydro-3,8,8
13	21.285	21.255	21.395	113881	0.32	32283	0.34	3.53	MI	Andrographolide
14	21.543	21.472	21.628	796914	2.21	253511	2.70	3.14		7-Oxabicyclo[4.1.0]heptane, 1-methyl-4-(2-m
15	22.261	22.188	22.302	281900	0.78	82262	0.88	3.43		cis-p-mentha-1(7),8-dien-2-ol
16	22.517	22.462	22.565	142196	0.39	49320	0.53	2.88		Cyclohexanol, 2-methyl-3-(1-methylethenyl)-,
17	22.815	22.748	22.862	287833	0.80	90140	0.96	3.19		7-Oxabicyclo[4.1.0]heptane, 1-methyl-4-(2-m
18	22.909	22.862	22.955	65232	0.18	24082	0.26	2.71	V	Tridecanol, 2-ethyl-2-methyl-
19	23.345	23.288	23.392	188102	0.52	65971	0.70	2.85		Pentadecanoic acid
20	23.445	23.392	23.505	181305	0.50	55792	0.60	3.25	V	3-Tetradecyn-1-ol
21	23.720	23.662	23.772	216258	0.60	75650	0.81	2.86		3-Tetradecyn-1-ol
22	24.176	24.110	24.240	64075	0.18	18860	0.20	3.40	MI	
23	24.293	24.248	24.345	71796	0.20	24911	0.27	2.88		cis-p-mentha-1(7),8-dien-2-ol
24	24.603	24.562	24.645	90499	0.25	41326	0.44	2.19		Heptadecane, 2,6,10,15-tetramethyl-
25	24.839	24.778	24.905	874526	2.42	330454	3.53	2.65		Isopropyl myristate
26	25.182	25.107	25.322	212807	0.59	41727	0.45	5.10	MI	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpr
27	25.416	25.375	25.455	66385	0.18	24702	0.26	2.69		Pentadecanoic acid
28	25.588	25.507	25.675	198570	0.55	39821	0.42	4.99	MI	4,4,8-Trimethyltricyclo[6.3.1.0(1,5)]dodecane
29	26.213	26.152	26.272	331816	0.92	113940	1.22	2.91		7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-dien
30	26.821	26.778	26.882	86386	0.24	27709	0.30	3.12		Gamolenic acid
31	27.010	26.908	27.122	2287519	6.34	612682	6.54	3.73		Linoleic acid
32	27.444	27.352	27.562	5586834	15.48	1565562	16.70	3.57		n-Hexadecanoic acid
33	28.113	28.058	28.172	128259	0.36	39304	0.42	3.26		Pentacontanoic acid, ethyl ester
34	28.550	28.505	28.598	99715	0.28	41582	0.44	2.40		Heneicosane
35	28.825	28.752	28.895	1281375	3.55	446709	4.77	2.87		Octasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,1
36	29.299	29.245	29.372	93444	0.26	28834	0.31	3.24		Lignocenic acid, TMS derivative
37	29.824	29.768	29.892	156392	0.43	44769	0.48	3.49		9-Eicosene, (E)-
38	30.549	30.448	30.582	3911878	10.84	1085955	11.59	3.60		9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-
39	30.612	30.582	30.718	3872354	10.73	889385	9.49	4.35	V	9,12,15-Octadecatrien-1-ol, (Z,Z,Z)-
40	30.750	30.718	30.915	1044473	2.89	211539	2.26	4.94	V	9-Eicosenoic acid, (Z)-
41	31.129	31.072	31.188	330149	0.91	113035	1.21	2.92		Undec-10-ynoic acid, undecyl ester
42	32.161	32.105	32.215	137556	0.38	52506	0.56	2.62		Heneicosane
43	33.629	33.545	33.708	3652075	10.12	1148970	12.26	3.18		5-Eicosene, (E)-
44	33.779	33.722	33.825	101010	0.28	34144	0.36	2.96		Propanoic acid, decyl ester
45	34.067	34.018	34.128	114755	0.32	36198	0.39	3.17		2-methyloctacosane
46	34.528	34.448	34.608	1249600	3.46	348304	3.72	3.59		Heptasiloxane, hexadecamethyl-
47	34.879	34.738	35.115	1444215	4.00	146779	1.57	9.84		Docosyl pentafluoropropionate
48	35.429	35.268	35.602	756070	2.10	68860	0.73	10.98		2-methyloctacosane
49	35.666	35.602	35.722	191742	0.53	42674	0.46	4.49	V	Diisooctyl adipate
50	35.864	35.722	36.148	1884412	5.22	158103	1.69	11.92	V	Squalene
51	36.359	36.255	36.428	278195	0.77	67506	0.72	4.12		2-methyloctacosane
52	36.523	36.428	36.602	163654	0.45	30460	0.32	5.37	V	Benzene, (1-propylonyl)-
53	39.201	39.102	39.322	359781	1.00	72270	0.77	4.98		Heneicosane
54	39.441	39.322	39.562	742986	2.06	139786	1.49	5.32		Di-n-octyl phthalate
				36086801	100.00	9373381	100.00			

Method

[Comment]

===== Analytical Line 1 =====

[AOC-20i+s]

# of Rinses with Presolvent	:6
# of Rinses with Solvent(post)	:6
# of Rinses with Sample	:1
Plunger Speed(Suction)	:High
Viscosity Comp. Time	:0.2 sec
Plunger Speed(Injection)	:High
Syringe Insertion Speed	:High
Injection Mode	:Normal
Pumping Times	:5
Inj. Port Dwell Time	:0.3 sec
Terminal Air Gap	:No
Plunger Washing Speed	:High
Washing Volume	:8uL
Syringe Suction Position	:0.0 mm
Syringe Injection Position	:0.0 mm
Solvent Selection	:All A,B,C

[GC-2010]

Column Oven Temp.	:60.0 °C	
Injection Temp.	:290.00 °C	
Injection Mode	:Split	
Flow Control Mode	:Linear Velocity	
Pressure	:57.4 kPa	
Total Flow	:9.0 mL/min	
Column Flow	:1.00 mL/min	
Linear Velocity	:36.5 cm/sec	
Purge Flow	:3.0 mL/min	
Split Ratio	:5.0	
High Pressure Injection	:OFF	
Carrier Gas Saver	:OFF	
Splitter Hold	:OFF	
Oven Temp. Program		
Rate	Temperature(°C)	Hold Time(min)
-	60.0	2.00
20.00	100.0	0.00
5.00	240.0	10.00

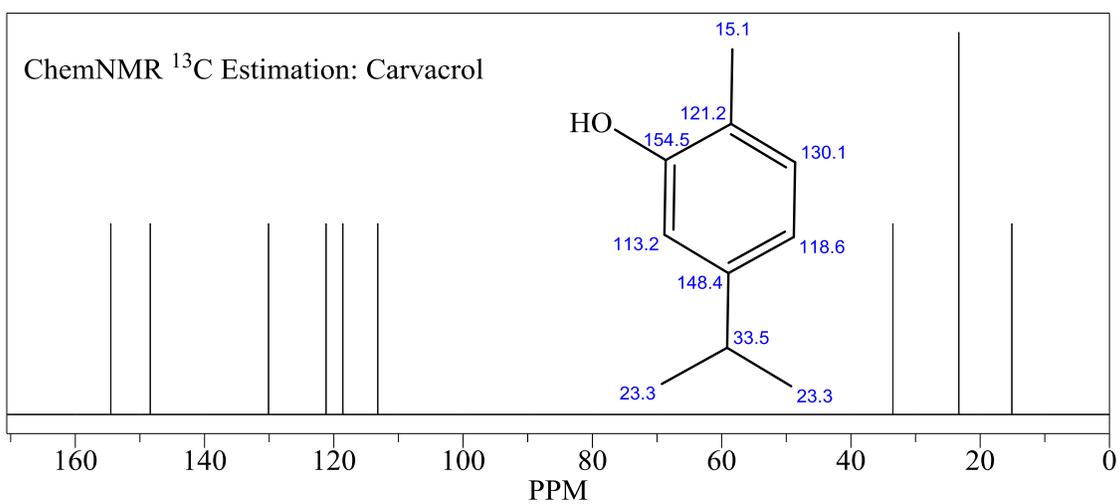
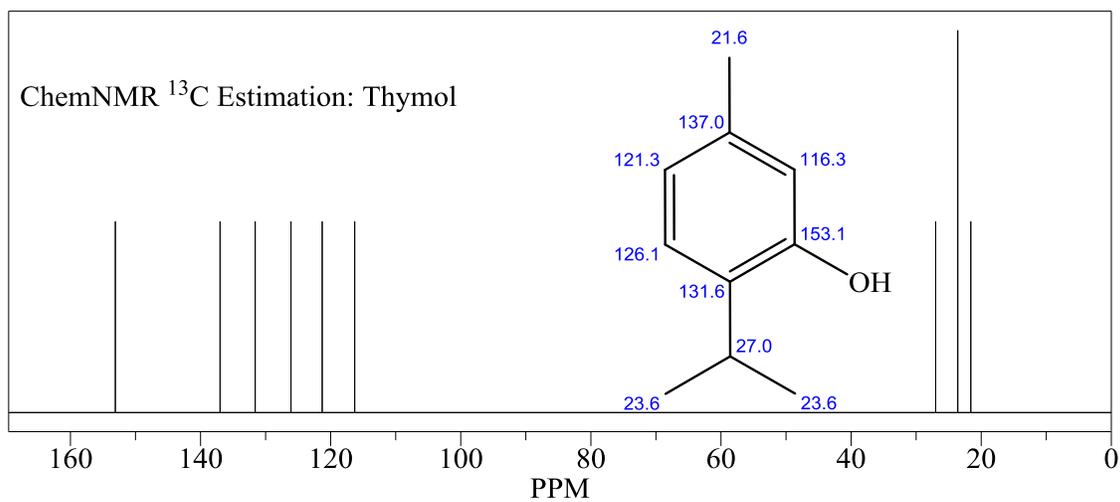
< Ready Check Heat Unit >  
Column Oven : Yes  
SPL1 : Yes  
MS : Yes  
< Ready Check Detector(FTD/BID) >  
< Ready Check Baseline Drift >  
< Ready Check Injection Flow >  
SPL1 Carrier : Yes  
SPL1 Purge : Yes  
< Ready Check APC Flow >  
< Ready Check Detector APC Flow >  
External Wait :No  
Equilibrium Time :3.0 min

[GC Program]

[GCMS-QP2010 Plus]

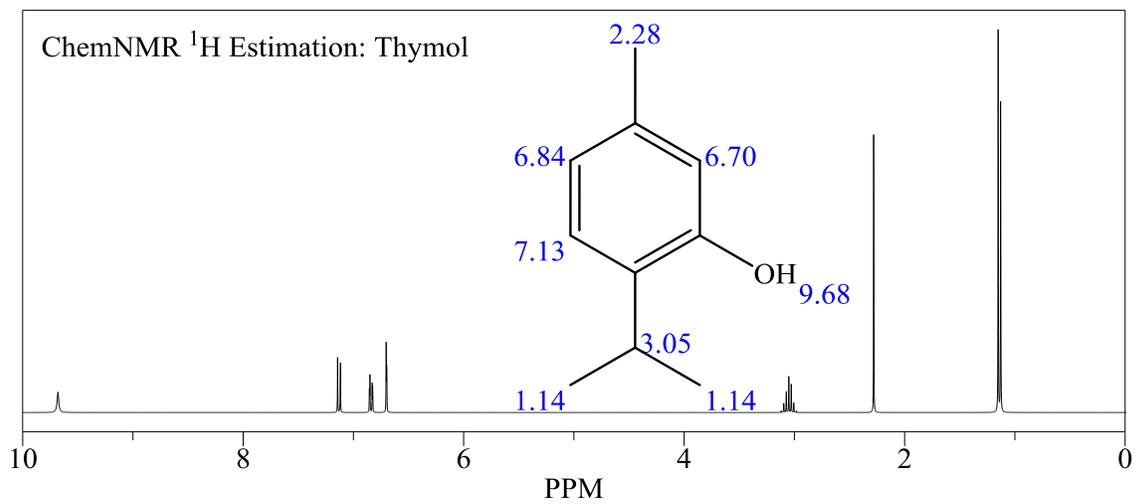
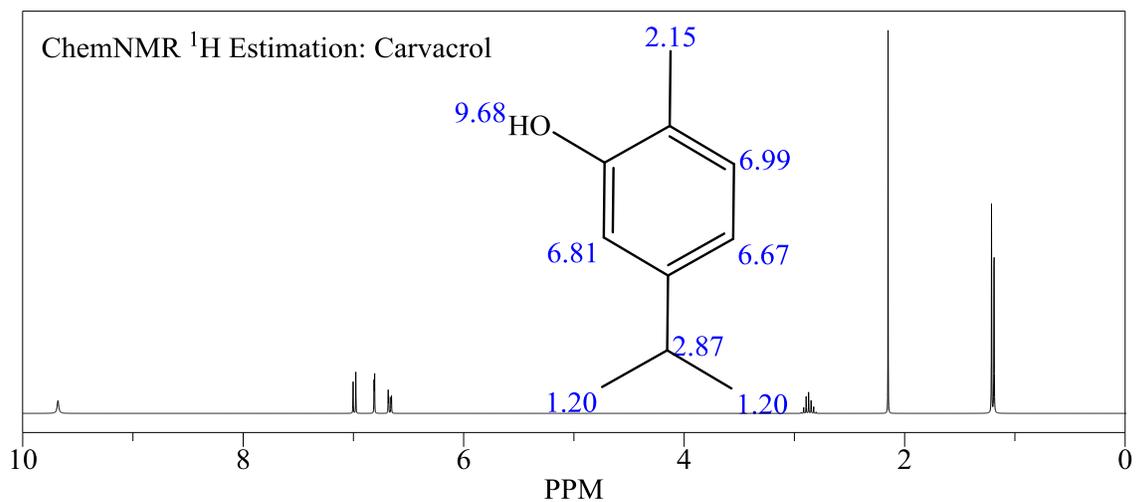
IonSourceTemp	:290.00 °C
Interface Temp.	:280.00 °C
Solvent Cut Time	:3.00 min

### 3. Diferenciación entre Thymol y Carvacrol por RMN $^{13}\text{C}$ .



Espectros de Resonancia Magnética Nuclear  $^{13}\text{C}$ , para Thymol y Carvacrol

#### 4. Diferenciación entre Thymol y Carvacrol por RMN $^1\text{H}$ .



Espectros de Resonancia Magnética Nuclear  $^1\text{H}$ , para Thymol y Carvacrol.

## 5. Condiciones y estimaciones de RMN <sup>13</sup>C

Protocol of the C-13 NMR Prediction: (Lib=S): Thymol

Node	Shift	Base + Inc.	Comment (ppm rel. to TMS)
C	153,1	128,5	1-benzene
		28,8	1 -O
		-2,2	1 -C(C)C
		-0,1	1 -C
		-1,9	general corrections
C	131,6	128,5	1-benzene
		-12,8	1 -O
		20,2	1 -C(C)C
		-3,0	1 -C
		-1,3	general corrections
C	137,0	128,5	1-benzene
		1,4	1 -O
		-2,8	1 -C(C)C
		9,2	1 -C
		0,7	general corrections
CH	116,3	128,5	1-benzene
		-12,8	1 -O
		-0,3	1 -C(C)C
		0,7	1 -C
		0,2	general corrections
CH	126,1	128,5	1-benzene
		1,4	1 -O
		-2,2	1 -C(C)C
		-0,1	1 -C
		-1,5	general corrections
CH	121,3	128,5	1-benzene
		-7,4	1 -O
		-0,3	1 -C(C)C
		0,7	1 -C
		-0,2	general corrections
CH	27,0	-2,3	aliphatic
		24,3	1 alpha -1:C*C*C*C*C*C*1
		18,2	2 alpha -C
		-6,2	1 gamma -O
		-7,0	general corrections
CH3	21,6	-2,3	aliphatic
		24,3	1 alpha -1:C*C*C*C*C*C*1
		0,3	1 delta -O
		-0,7	general corrections
CH3	23,6	-2,3	aliphatic
		9,1	1 alpha -C
		9,3	1 beta -1:C*C*C*C*C*C*1
		9,4	1 beta -C
		0,3	1 delta -O
		-2,2	general corrections
CH3	23,6	-2,3	aliphatic
		9,1	1 alpha -C
		9,3	1 beta -1:C*C*C*C*C*C*1
		9,4	1 beta -C
		0,3	1 delta -O
		-2,2	general corrections

Protocol of the C-13 NMR Prediction: (Lib=S): Carvacrol

Node	Shift	Base + Inc.	Comment (ppm rel. to TMS)
C	154,5	128,5	1-benzene
		28,8	1 -O
		0,7	1 -C
		-0,3	1 -C(C)C
		-3,2	general corrections
C	121,2	128,5	1-benzene
		-12,8	1 -O
		9,2	1 -C
		-2,8	1 -C(C)C
		-0,9	general corrections
C	148,4	128,5	1-benzene
		1,4	1 -O
		-3,0	1 -C
		20,2	1 -C(C)C
		1,3	general corrections
CH	113,2	128,5	1-benzene
		-12,8	1 -O
		-0,1	1 -C
		-2,2	1 -C(C)C
		-0,2	general corrections
CH	130,1	128,5	1-benzene
		1,4	1 -O
		0,7	1 -C
		-0,3	1 -C(C)C
		-0,2	general corrections
CH	118,6	128,5	1-benzene
		-7,4	1 -O
		-0,1	1 -C
		-2,2	1 -C(C)C
		-0,2	general corrections
CH	33,5	-2,3	aliphatic
		24,3	1 alpha -1:C*C*C*C*C*C*1
		18,2	2 alpha -C
		0,3	1 delta -O
		-7,0	general corrections
CH3	15,1	-2,3	aliphatic
		24,3	1 alpha -1:C*C*C*C*C*C*1
		-6,2	1 gamma -O
		-0,7	general corrections
CH3	23,3	-2,3	aliphatic
		9,1	1 alpha -C
		9,3	1 beta -1:C*C*C*C*C*C*1
		9,4	1 beta -C
		-2,2	general corrections
CH3	23,3	-2,3	aliphatic
		9,1	1 alpha -C
		9,3	1 beta -1:C*C*C*C*C*C*1
		9,4	1 beta -C
		-2,2	general corrections

## 6. Condiciones y estimaciones de RMN <sup>1</sup>H

Protocol of the H-1 NMR Prediction (Lib=SU Solvent=DMSO 300 MHz):Thymol

Node	Shift	Base + Inc.	Comment (ppm rel. to TMS)
OH 9,68		4,20	alcohol
		4,80	1 -C*R
		0,68	general corrections
CH 6,70		7,26	1-benzene
		-0,53	1 -O
		0,00	1 -C(C)C
		-0,12	1 -C
		0,09	general corrections
CH 7,13		7,26	1-benzene
		-0,17	1 -O
		0,04	1 -C(C)C
		-0,05	1 -C
		0,05	general corrections
CH 6,84		7,26	1-benzene
		-0,44	1 -O
		0,00	1 -C(C)C
		-0,12	1 -C
		0,14	general corrections
CH 3,05		1,50	methine
		1,28	1 alpha -1:C*C*C*C*C*C*1
		0,20	2 alpha -C
		0,07	general corrections
CH3 2,28		0,86	methyl
		1,40	1 alpha -1:C*C*C*C*C*C*1
		0,02	general corrections
CH3 1,14		0,86	methyl
		0,38	1 beta -1:C*C*C*C*C*C*1
		0,05	1 beta -C
		-0,15	general corrections
CH3 1,14		0,86	methyl
		0,38	1 beta -1:C*C*C*C*C*C*1
		0,05	1 beta -C
		-0,15	general corrections

### <sup>1</sup>H NMR Coupling Constant Prediction

shift	atom index	coupling partner.	constant and vector
9,68	11		
6,70	2		
7,13	6	5	1,5 H-C*C*C-H
		5	7,5 H-C*C-H
6,84	5	6	7,5 H-C*C-H
		2	1,5 H-C*C*C-H
3,05	8	9	6,8 H-C-CH2-H
		10	6,8 H-C-CH2-H
2,28	4		
1,14	9		
		8	6,8 H-CH2-C-H
1,14	10		
		8	6,8 H-CH2-C-H

Protocol of the H-1 NMR Prediction (Lib=SU Solvent=DMSO 300 MHz):Carvacrol

Node	Shift	Base + Inc.	Comment (ppm rel. to TMS)
OH	9,68	4,20	alcohol
		4,80	1 -C*R
		0,68	general corrections
CH	6,81	7,26	1-benzene
		-0,53	1 -O
		-0,05	1 -C
		0,04	1 -C(C)C
		0,09	general corrections
CH	6,99	7,26	1-benzene
		-0,17	1 -O
		-0,12	1 -C
		0,00	1 -C(C)C
		0,02	general corrections
CH	6,67	7,26	1-benzene
		-0,44	1 -O
		-0,05	1 -C
		0,04	1 -C(C)C
		-0,14	general corrections
CH	2,87	1,50	methine
		1,28	1 alpha -1:C*C*C*C*C*C*1
		0,20	2 alpha -C
		-0,11	general corrections
CH3	2,15	0,86	methyl
		1,40	1 alpha -1:C*C*C*C*C*C*1
		-0,11	general corrections
CH3	1,20	0,86	methyl
		0,38	1 beta -1:C*C*C*C*C*C*1
		0,05	1 beta -C
		-0,09	general corrections
		0,86	methyl
CH3	1,20	0,38	1 beta -1:C*C*C*C*C*C*1
		0,05	1 beta -C
		-0,09	general corrections

1H NMR Coupling Constant Prediction

shift	atom index	coupling partner.	constant and vector
9,68	7		
6,81	6		
6,99	3	4 1,5	H-C*C*C-H
6,67	4	4 7,5	H-C*C-H
2,87	8	3 7,5	H-C*C-H
		6 1,5	H-C*C*C-H
		9 6,8	H-C-CH2-H
2,15	11	10 6,8	H-C-CH2-H
1,20	9		
1,20	10	8 6,8	H-CH2-C-H
		8 6,8	H-CH2-C-H