ESTUDIO DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS DE LOS EXTRACTOS Y ACEITES ESENCIALES DE FLORES, HOJAS Y TALLOS DE YLANG-YLANG, Y DETERMINACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS EN SUS SEMILLAS

JOHANNA ANDREA ARCHILA CALDERÓN

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA
2008

ESTUDIO DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS DE LOS EXTRACTOS Y ACEITES ESENCIALES DE FLORES, HOJAS Y TALLOS DE YLANG-YLANG, Y DETERMINACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS EN SUS SEMILLAS

JOHANNA ANDREA ARCHILA CALDERÓN

Trabajo de Grado presentado como requisito Parcial para optar al título de Química

Directores:

Elena E. Stashenko, Química, Ph. D.
Jairo René Martínez, Químico, Ph. D.

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA
2008

AGRADECIMIENTOS

La autora expresa sus agradecimientos a:

A todas aquellas personas que estuvieron en esta etapa de mi vida, especialmente a la doctora Elena Stashenko por sus valiosas enseñanzas, apoyo, orientación, consejos y muchas otras cosas más que me llevaron a formarme como persona y investigadora;

Al doctor Jairo René Matínez, por sus enseñanzas, aportes y colaboración brindados durante el desarrollo de esta investigación;

A mis profesores, por su excelente labor docente;

A mis amigos y compañeros del Laboratorio de Cromatografía, quienes me colaboraron y ayudaron durante el tiempo de permanencia en el laboratorio, en especial a Andrea Agudelo, que me acompaño en los buenos y malos momentos.

DEDICATORIA

A Dios, mi fortaleza y por iluminar mi vida.

A mis padres Guadalupe y Julio, a quienes siempre me han apoyado.

A mi hija Valentina, quien es mi motivación para ser cada día mejor.

A mi hermana y sobrina, Paola y Steffy, a quienes adoro.

A la Tía Eddy y Pedro, quienes son mis Angeles

TABLA DE CONTENIDO

		Pág.
	INTRODUCCIÓN.	21
1	ESTADO DEL ARTE.	25
1.1	ACEITE ESENCIAL DE YLANG-YLANG (*Cananga odorata*).	25
1.1.1	Historia, producción y distribución geográfica de ylang-ylang.	25
1.1.2	Descripción botánica.	26
1.1.3	Suelo, clima y propagación.	26
1.1.4	Usos etnobotánicos.	27
1.1.5	Composición química y características del AE de ylang-ylang.	27
1.1.6	Absoluto y concreto de las flores de ylang-ylang.	31
1.1.7	Investigaciones realizadas en Colombia.	32
1.2	CIENCIOMETRÍA.	36
1.2.1	Base de datos *SCOPUS.*	36
1.2.2	Base de datos *Web of Science.*	40
1.2.3	Análisis cienciométrico	43
1.3	EXTRACTIVOS VEGETALES UTILIZADOS EN PERFUMERÍA.	45
1.3.1	Extracción con solventes orgánicos volátiles.	47
1.3.2	Selección del solvente.	48
1.3.3	Absolutos y Concretos.	49
1.4	ACEITES ESENCIALES.	50
1.4.1	Propiedades físico-químicas de los AE.	52
1.4.2	Análisis y control de calidad de los aceites esenciales.	53
1.4.3	Métodos de obtención de aceites esenciales.	53
1.4.4	Hidrodestilación asistida por la radiación de microondas	54

(MWHD).
1.5 OBTENCIÓN DE EXTRACTOS. 55
1.5.1 Destilación - extracción con solvente simultánea (SDE). 56
1.5.2 Extracción con fluido supercrítico (SFE). 57
1.6 ANÁLISIS INSTRUMENTAL. 58
1.6.1 Cromatografía de gases (GC). 58
1.6.2 Espectrometría de masas (MS). 60
1.6.3 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). 61
1.7 LÍPIDOS. 61
1.7.1 Clasificación de los lípidos. 62
1.7.2 Ácidos grasos. 63
1.7.3 Determinación de ácidos grasos por cromatografía de gases. 63
1.7.4 Derivación de ácidos grasos. 64
1.7.4.1 Transesterificación catalizada por ácidos. 64
1.7.4.2 Transesterificación catalizada por bases. 65
2 PARTE EXPERIMENTAL. 67
2.1 RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL. 69
2.2 EXTRACCIÓN DEL AE DE YLANG-YLANG (*Cananga odorata*) POR MWHD. 69
2.3 OBTENCIÓN DE EXTRACTOS. 70
2.3.1 Extracción con fluido supercrítico (SFE). 70
2.3.2 Destilación extracción simultánea (SDE). 70
2.3.3 Obtención de extractos de flores con solventes apolares, utilizando Soxhlet y ultrasonido, como método de extracción. 71
2.3.4 Obtención de absolutos. 72
2.3.5 Obtención del aceite de las semillas de ylang-ylang. 72
2.4 CONVERSIÓN DE ÁCIDOS GRASOS A SUS ÉSTERES METÍLICOS. 72
2.5 ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LOS AE Y EXTRACTOS DE 73

FLORES DE YLANG-YLANG.
2.6 ANÁLISIS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS (GC-MS). 74
3 RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS 79
3.1 ESTUDIO DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS DE HOJAS Y TALLOS 79
3.1.1 Análisis comparativo de la composición química de los extractos y AE de las hojas de *Cananga odorata* obtenidos por diferentes métodos de extracción. 79
3.1.2 Análisis comparativo de la composición química de los extractos y AE de los tallos de *Cananga odorata* obtenidos por diferentes métodos de extracción. 83
3.2 OBTENCIÓN DE EXTRACTOS DE FLORES DE YLANG-YLANG. 89
3.2.1 Extractos de las flores de ylang-ylang con solventes apolares. 89
3.2.1.1 Comparación de la composición química de los extractos obtenidos mediante las técnicas de ultrasonido y Soxhlet. 89
3.2.1.2 Comparación de la composición química de los extractos obtenidos por la técnica de ultrasonido a diferentes horas de extracción, tipo de solvente y relación peso de flores a volumen de solvente (p / v%). 94
3.2.1.3 Comparación de la composición química de los extractos obtenidos por la técnica de ultrasonido a diferentes horas de extracción y utilizando éter de petróleo como solvente de extracción. 98
3.2.2 Extractos absolutos de las flores de ylang-ylang: obtenidos a partir del concreto. 100
3.2.2.1 Comparación de la composición química de los extractos absolutos con los AE y extractos SFE. 100
3.2.2.2 Comparación de la composición química de los extractos 103

absolutos, obtenidos en función del tiempo y temperatura de extracción.
3.3. DETERMINACIÓN DE LOS ÉSTERES MÉTILICOS DE LOS ÁCIDOS GRASOS DE LAS SEMILLAS DE YLANG-YLANG (*Cananga odorata*). 107
3.4 IDENTIFICACIÓN DE FA EN SEMILLAS DE *Cananga odorata* MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE MASAS. 109
3.5 REPRODUCIBILIDAD DE LOS TIEMPOS DE RETENCIÓN Y DE LAS ÁREAS DE LOS PICOS CROMATOGRÁFICOS. 110
3.6 ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LOS AE Y EXTRACTOS DE FLORES DE YLANG-YLANG. 112
3.6.1 Cuantificación de los extractos etéreos de flores, obtenidos por ultrasonido, a diferentes tiempos de extracción. 112
3.6.2 Cuantificación de los extractos absolutos, obtenidos a partir del concreto de flores de ylang-ylang. 113
4. CONCLUSIONES 115
5. RECOMENDACIONES 117
BIBLIOGRAFÍA 118
ANEXOS 126

LISTADO DE FIGURAS

Pág.

Figura 1.	Árbol de *Cananga odorata* en la Universidad Industrial de Santander	21
Figura 2.	Número de publicaciones sobre *Cananga odorata*, en el periodo 1986-2006, reportadas en la base de datos *Scopus*. Fecha de consulta: 24 de marzo de 2007.	38
Figura 3.	Relación entre Número de publicaciones realizadas sobre *Cananga odorata* y las diferentes áreas de investigación, en el período 1986-2006, reportadas en la base de datos *Scopus*. Fecha de consulta: 24 de marzo de 2007.	38
Figura 4.	Número de patentes sobre *Cananga odorata* en las diferentes oficinas de patentes, en el periodo 1986-2006, reportadas en la base de datos *Scopus*. Fecha de consulta: 24 de marzo de 2007.	39
Figura 5.	Países que reportan estudios sobre la especie *Cananga odorata*, en el período 2001-2007, reportados en la base de datos *Web of science.* Fecha de consulta: 24 de marzo de 2007.	41
Figura 6.	Nº de publicaciones sobre *Cananga odorata* en diferentes áreas de investigación, en el período 2001-2007, reportadas en la base de datos *Web of Science*. Fecha de consulta: 24 de marzo de 2007.	42
Figura 7.	Lactonas aisladas de las hojas de *Cananga odorata;*	44

	canangona (**A**) isosifonodina (**B**).	
Figura 8.	Diferentes técnicas de extracción para obtener ingredientes de perfumes.	46
Figura 9.	Montaje de hidrodestilación asistida por la radiación de microondas MWHD.	55
Figura 10.	Montaje de destilación - extracción con solvente simultánea.	56
Figura 11.	Montaje de extracción con fluido supercrítico SFE	57
Figura 12.	Metodología de la parte experimental.	67
Figura 13.	Diferentes partes del árbol de ylang-ylang.	69
Figura 14.	Montaje de obtención de extractos de flores de ylang-ylang. A. ultrasonido; B. Soxhlet.	71
Figura 15.	Cromatógrafo de gases *Agilent Technologies* 6890 *Plus Series* GC, acoplado a un detector selectivo de masas.	75
Figura 16.	Cromatógrafo de gases *Agilent Technologies 6890N Network Series*, con columna polar, acoplado a un espectrómetro de masas.	77
Figura 17.	Perfiles cromatográficos típicos de los extractos y aceite esencial de las hojas de *Cananga odorata* (ylang-ylang), obtenidos por MWHD(**A**), SDE (**B**) y SFE(**C**). Columna DB-5 (60m). *Split* (1:30). MSD.	80
Figura 18.	Distribución de los principales tipos de compuestos en los AE y extractos de las hojas de *Cananga odorata*, obtenidos por diferentes métodos de extracción.	83
Figura 19.	Perfiles cromatográficos típicos de los extractos de los tallos de *Cananga odorata* (ylang-ylang), obtenidos por A-SFE y B-SDE. Columna DB-5 (60m). *Split* (1:30). MSD (EI, 70 eV).	85

Figura 20.	Distribución de los principales tipos de compuestos en los extractos de los tallos de *Cananga odorata*, obtenidos por diferentes métodos de extracción.	86
Figura 21.	Estructuras de los metabolitos secundarios volátiles, presentes en el AE y extractos de hojas y tallos.	88
Figura 22.	Perfiles cromatográficos típicos de los extractos Soxhlet y ultrasonido, de flores de *Cananga odorata* (ylang-ylang). Soxhlet hexano(**A)**, ultrasonido hexano (**B),** ultrasonido éter **(C)**.	90
Figura 23.	Compuestos mayoritarios de los extractos de flores de *Cananga odorata*, obtenidos por diferentes métodos de extracción con dos tipos de solventes.	91
Figura 24.	Distribución de las principales familias de compuestos en los extractos de flores de *Cananga odorata*, obtenidos por diferentes métodos de extracción y tipo de solvente.	92
Figura 25.	Compuestos mayoritarios de los extractos de flores de *Cananga odorata*, obtenidos por la técnica de ultrasonido, a diferentes horas de extracción, tipo de solvente, y relación peso de flores a volumen de solvente (%p/v).	95
Figura 26.	Compuestos mayoritarios de los extractos etéreos de flores de *Cananga odorata*, obtenidos por ultrasonido, para extracciones de diferente duración.	99
Figura 27.	Otros compuestos mayoritarios de los extractos etéreos de flores de *Cananga odorata*, obtenidos por ultrasonido; a diferentes tiempos de extracción.	99
Figura 28.	Perfiles cromatográficos de los extractos y AE de las flores de *Cananga odorata*. A- MWHD, B-SFE, C-Extracto absoluto.	102

Figura 29.	Compuestos mayoritarios del extracto absoluto de flores, obtenidos, variando los parámetros de tiempo y temperatura durante la extracción con etanol absoluto.	103
Figura 30.	Otros compuestos mayoritarios del absoluto de flores, obtenidos variando los parámetros de tiempo y temperatura durante la extracción con etanol absoluto.	104
Figura 31.	Distribución de familias de compuesto en los absolutos, el AE y el extracto SFE de las flores de ylang-ylang.	105
Figura 32.	Estructura de los principales metabolitos secundarios encontrados en los extractos y AE de flores de ylang-ylang.	107
Figura 33.	Perfil cromatográfico de los FA presentes en las semillas de ylang-ylang (*Cananga odorata*).	109
Figura 34.	Concentración de benzoato de bencilo y linalool, determinada por GC-MS mediante estandarización externa, en los extractos absolutos (diferentes tiempos y temperaturas de extracción) y AE de flores de ylang-ylang.	114

LISTADO DE TABLAS

Pág.

Tabla 1.	Componentes principales del aceite de ylang-ylang (*Cananga odorata*) forma genuina.	28
Tabla 2.	Cantidad relativa (%) de los principales componentes de aceites de ylang-ylang de Madagascar, según sus categorías comerciales.	30
Tabla 3.	Especificaciones del aceite de ylang-ylang.	31
Tabla 4.	Cantidad relativa (%) de los principales componentes del aceite esencial extraído de las flores de ylang-ylang, en diferentes estados de su desarrollo.	34
Tabla 5.	Cantidad relativa (%) de los principales componentes del AE de flores amarillas de ylang-ylang obtenidos por diferentes métodos de extracción.	35
Tabla 6.	Revistas científicas donde aparecen publicaciones sobre *Cananga odorata* en el período 1986-2006, reportadas en la base de datos *Scopus*. Fecha de consulta: 24 de marzo de 2007.	37
Tabla 7.	Autores con el mayor número de publicaciones sobre *Cananga odorata*, en el período 1986-2006, reportadas en la base de datos *Scopus*. Fecha de consulta 24 de marzo de 2007.	39
Tabla 8.	Número de publicaciones sobre *Cananga odorata* en el período 2001- 2007, reportadas en la base de datos *Web of Science*. Fecha de consulta: 24 de marzo de 2007.	40

Tabla 9.	Nº de publicaciones sobre *Cananga odorata* por orden de autor, en el período 2001-2007, reportadas en la base de datos *Web of Science*. Fecha de consulta: 24 de marzo de 2007.	40
Tabla 10.	Revistas científicas donde aparecen publicaciones sobre *Cananga odorata* en el período 2001-2007, reportadas en la base de datos *Web of Science*. Fecha de consulta: 24 de marzo de 2007.	42
Tabla 11.	Clasificación de lípidos.	62
Tabla 12.	Concentración de soluciones patrón de benzoato de bencilo y linalool, utilizadas en la curva de calibración.	74
Tabla 13.	Composición química de las fracciones de metabolitos secundarios volátiles, obtenidas de las hojas de *Cananga odorata*, por diferentes técnicas de extracción.	81
Tabla 14.	Composición química de las fracciones de metabolitos secundarios volátiles, obtenidas de los tallos de *Cananga odorata*, por SDE y SFE.	84
Tabla 15.	Composición química de los metabolitos secundarios volátiles, de los extractos por Soxhlet y ultrasonido de las flores de *Cananga odorata*,	93
Tabla 16.	Comparación de los componentes mayoritarios de extractos de flores de *Cananga odorata*, obtenidos por ultrasonido, en función de las variables tiempo y solvente (Exp1-Exp8).	96
Tabla 17.	Rendimiento del concreto de las flores de *Cananga odorata*	97
Tabla 18.	Monitoreo de la temperatura al variar el tiempo de extracción, en la técnica de ultrasonido.	98

Tabla 19.	Cantidades relativas (%) de los principales componentes de los extractos absolutos, AE y extractos SFE de las flores de *Cananga odorata.*	101
Tabla 20.	Cantidad relativa % de FA de las semillas de ylang-ylang (*Cananga odorata)*.	108
Tabla 21.	Reproducibilidad de los tiempos de retención.	110
Tabla 22.	Reproducibilidad de las áreas cromatograficas de algunos compuestos presentes en los extractos de flores de ylang-ylang.	111
Tabla 23.	Concentración de benzoato de bencilo y linalool, presentes en los extractos concretos y AE de flores de ylang-ylang.	112
Tabla 24.	Concentración de benzoato de bencilo y linalool, presentes en los extractos absolutos y AE de flores de ylang-ylang.	113

LISTADO DE ESQUEMAS

Pág.

Esquema 1.	Transesterificación catalizada por ácidos.	65
Esquema 2.	Transesterificación catalizada por bases.	66

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

AE	Aceite(s) esencial(es)
CENIVAM	Centro Nacional de Investigaciones para la Agroindustrialización de Especies Vegetales Aromáticas y Medicinales Tropicales
FA	*Fatty Acid* (Ácido(s) graso(s))
FAME	*Fatty acid methyl esthers* (Metil-ésteres de los ácidos grasos)
FID	*Flame Ionization Detector* (Detector de ionización en llama)
GC	*Gas chromatography* (Cromatografía de gases o Cromatógrafo de gases, según el contexto)
GC-FID	*Gas chromatography-flame ionization detector* (Cromatografía de gases con detector de ionización en llama)
GC-MS	*Gas chromatography-mass spectrometry* (Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas)
HP	*Hewlett-Packard* (actualmente, *Agilent Technologies*)
HP-5	5%-Fenil-poli (metilsiloxano)
I_K	Índice de retención de Kováts
Istd	*Internal standard* (Estándar interno)
MWHD	*Microwave-assisted hydrodistillation* (Hidrodestilación asistida por la radiación de microondas).
m/z	Relación masa/carga
SDE	*Simultaneous distillation-extraction* (Destilación -extracción con solvente simultánea)
SD	*Steam distillation* (Destilación con vapor)
SFE	*Supercritical fluid* extraction (Extracción con fluido supercrítico)
t_R	Tiempo de retención

RESUMEN

TÍTULO: ESTUDIO DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS DE LOS EXTRACTOS Y ACEITES ESENCIALES DE FLORES, HOJAS, Y TALLOS DE YLANG-YLANG, Y DETERMINACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS EN LAS SEMILLAS*

Autor: Johanna Andrea Archila C.**

Palabras Claves: *Cananga odorata,* extracto, aceite esencial, benzoato de bencilo, linalool.

El ylang-ylang (*Cananga odorata*) es un árbol nativo de Asia tropical, conocido por el agradable olor de sus flores. Además de sus usos etnobotánicos contra la malaria, oftalmia, cefalalgia, gota entre otros, su aceite esencial (AE) es muy apetecido en el mercado internacional por sus aplicaciones en diversos campos, principalmente medicina, farmacéutica, cosmética, aromaterapia y alimentos.

En la presente investigación se realizó un análisis comparativo de la composición química de los extractos absolutos y extractos concretos (obtenidos bajo diferentes condiciones de temperatura, solvente y tiempo) de las flores de ylang-ylang, con sus extractos y AE, aislados con fluido supecrítico (SFE) e hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHD), respectivamente. Además se estudió la composición de los metabolitos secundarios de hojas y tallos mediante las técnicas MWHD, SFE y destilación-extracción con solvente simultánea (SDE) y se determinaron los ácidos grasos presentes en las semillas.

La composición química se estableció por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS); los componentes mayoritarios para los extractos y AE de las flores de ylang-ylang fueron el benzoato de bencilo y el linalool respectivamente; mientras que para las hojas lo fueron el *trans-β*-cariofileno (25-29%), D-germacreno (11-15%), α-humuleno (10-14%), predominando los sesquiterpenos en los AE y extractos SDE. Los tallos no presentaron AE, el D-germacreno (38,9%), y *trans-β*-cariofileno (14,5%) fueron los componentes mayoritarios de su extracto SDE y mientras que para SFE, fue el docosano (86%).

El concreto con mayor rendimiento fue aquel que se obtuvo usando éter de petróleo como solvente, y la mayor concentración de compuestos se presentó con 4 horas de extracción. Para los extractos absolutos el mayor contenido de componentes de interés se logró entre el intervalo de temperatura de 52-54ºC.

---

* Trabajo de grado

** Universidad Industrial de Santander, Facultad de Ciencias, Escuela de Química. Directores, Elena E. Stashenko y Jairo René Martínez

ABSTRACT

TITLE: STUDY OF SECONDARY METABOLITES OF EXTRACTS AND ESSENTIAL OILS OF FLOWERS, LEAVES, AND STEMS OF YLANG-YLANG, AND IDENTIFICATION OF FATTY ACIDS IN SEEDS*

Author: Johanna Andrea Archila C.**

KEYWORDS: *Cananga odorata*, extract, essential oil, benzyl benzoate, linalool.

Ylang-ylang (*Cananga odorata*) is a tree native of tropical Asia, known for its flowers' pleasant odor. It is used in ethnobotany in treatments against malaria, ophthalmia, headache, and gout, among others. The ylang-ylang essential oil (EO) is highly desired in the international market for its applications in various fields, mainly medicine, pharmaceuticals, cosmetics, aromatherapy and food.

The chemical composition of the ylang-ylang flower extracts absolutes and concretes (obtained under different conditions of temperature, solvent and time) was compared those of the supercritical fluid (CO_2) extract (SFE) and the EO, obtained by microwave radiation-assisted hydrodistillation (MWHD). SFE, MWHD and simultaneous distillation-solvent extraction- (SDE), were used to remove secondary metabolites from *Cananga odorata* leaves and stems. Additionally, the fatty acid profile of the tree's seeds was determined.

The chemical compositions of the oils and extracts were determined by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). Benzyl benzoate and linalool were the main constituents of flower extracs and EO, respectively. *trans-β*-caryophyllene (25-29%), D-germacrene (11-15%), α-humulene (10-14%), were found in EO and SDE extracts of leaves. Stems had no EO. D-germacrene (38.9%), and trans-β-caryophyllene (14.5%) were main components for SDE stem extracts; while docosane (86%) was the main component of the SFE extract.

Concretes obtained with petroleum ether were obtained in high yield, and the highest concentration of compounds of interest was obtained with 4 hours of extraction. For absolutes, the important components were obtained with highest yield with temperatures between 52 and 54°C.

* Undergraduate Project.

** Industrial University of Santander, Science Faculty, School of Chemistry. Directors, Elena E. Stashenko and Jairo René Martínez

INTRODUCCIÓN

Cananga odorata (Hook fill et Thomson, forma genuina) es un árbol de *ca*. 30 m de altura, pertenece a la familia Annonaceae, y es nativo de Asia tropical (especialmente, de Indonesia y Filipinas). Crece únicamente en países tropicales. Aunque no es autóctono de Colombia, se ha adaptado completamente a las condiciones geobotánicas del país (**Figura 1**).

Figura 1. Árbol de *Cananga odorata* en la Universidad Industrial de Santander

El ylang–ylang (*Cananga odorata*), históricamente conocido por el agradable aroma que tienen sus flores, es la tercera flor utilizada en perfumería después de las rosas y el jazmín, debido a su alto contenido de compuestos oxigenados [1,2]. Es una de las tantas especies que aún siguen en estudio en Colombia, ya que el

Cananga odorata podría llegar a suplir una parte importante en el mercado de la industria de aromas y sabores, que todavía continúa en la búsqueda de nuevos productos.

El ylang-ylang ha sido objeto de varios estudios, por poseer un aroma especial que emana de sus flores, principalmente en las horas de la mañana.
Estudios previos han determinado la composición química del aceite esencial (AE) de las flores de ylang-ylang [1, 3-5]. Sin embargo, en Colombia no se han reportado trabajos sobre la composición química del AE de hojas y tallos, los extractos absolutos y el extracto concreto de las flores, ni se han determinado los ácidos grasos (FA) en sus semillas.

Dada la tendencia mundial hacia el consumo de productos naturales, los mercados internacionales de plantas medicinales y aromáticas y sus derivados, han registrado mucho dinamismo en los últimos años. Este desarrollo se viene presentando en diferentes áreas, destacándose los aromatizantes y saborizantes [6].

De 1998 al 2002, Colombia importó *ca*. 499 millones de dólares en AE. Su mercado se caracterizó por el alto volumen de importaciones de mezclas para sabores y fragancias, que son utilizadas para la industria de consumo masivo. Existe una posibilidad de negocios para producir y exportar AE, si se logra entrar en este comercio [7].

Colombia, siendo un país que importa extractos y AE para satisfacer la creciente demanda de productos en las industrias de perfumes, cosméticos, alimentos, farmacéutica, entre otras, busca día a día nuevos y mejores productos naturales. Sumado a la gran biodiversidad que presenta Colombia, se crea la necesidad de realizar estudios sobre la composición química de especies promisorias, en los

cuales se caractericen sus extractos y AE. Por lo tanto, es de gran importancia seguir estudiando la composición química de las diferentes partes del árbol de ylang-ylang, no solo el AE y los extractos de las flores, sino también el de sus hojas, tallos, y FA que se encuentran en las semillas, porque éstos también pueden tener posibles usos agroindustriales.

En el presente proyecto se comparó la composición química de los extractos (obtenidos bajo diferentes condiciones de temperatura, solvente, y tiempo) de las flores de ylang-ylang, con sus extractos y aceites esenciales (AE), obtenidos por medio de extracción con fluido supercrítico (SFE) e hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHD), respectivamente. Además se estudió la composición de los metabolitos secundarios de hojas y tallos mediante las técnicas MWHD, SFE y destilación-extracción con solvente simultánea (SDE). Por último se determinaron los FA presentes en las semillas.

La composición química de los AE y de los extractos se estableció mediante la técnica de GC-MS. Se determinaron los índices de Kovàts en columnas capilares, DB-5MS (fase apolar) y DB-WAX (fase polar). La identificación de los FAME en las semillas se realizó mediante la comparación de los t_R de sus ésteres metílicos, con los de una mezcla de estándares certificados, analizados bajo las mismas condiciones cromatográficas, utilizando GC-FID como técnica analítica. La confirmación estructural de los FA fue realizada con base en sus espectros de masas.

Cabe resaltar, que la prioridad del presente estudio, fue encontrar las condiciones adecuadas para la producción de un concreto y un absoluto, de calidad comparable, en cuanto a contenido de compuestos oxigenados, a los comerciales ya existentes.

Para ello, se variaron las condiciones experimentales de las etapas de su producción, a saber: técnica (Soxhlet, ultrasonido), solvente (hexano, éter de petróleo) y tiempo de extracción.

1. ESTADO DEL ARTE

1.1 ACEITE ESENCIAL DE YLANG-YLANG (*Cananga odorata*)

1.1.1 Historia, producción y distribución geográfica de ylang-ylang

Cananga, también conocido como ylang-ylang, fue originalmente nombrado *Arbor sogrisan* por Ray [2]. El árbol de ylang-ylang es nativo del sureste de Asia, aunque ahora es naturalizado en Malasia, Indonesia, Nueva Guinea y otras islas del pacífico. Fue primero cultivado en Filipinas, y su aceite fue ampliamente producido en Manila en 1900, y antes de esa fecha, Filipinas mantuvo el monopolio mundial del aceite de ylang-ylang.

El árbol fue introducido a las colonias francesas de las Islas Reunión, cuando una expedición francesa en 1770, dirigida por el capitan d' Etchevery, colectaba un conjunto de especies junto con las de ylang-ylang que fueron llevadas a la Islas Reunión. En el siglo XX, la plantación fue introducida en Madagascar, especialmente en las islas de Nossi-Be, luego fue introducida en las islas Comoro, donde las condiciones eran ideales para su crecimiento [2].

El ylang-ylang fue introducido a Colombia durante la década de 1930 y mostró una gran adaptación a las condiciones climáticas y geobotánicas del país. Se ha cultivado principalmente en el Valle del Cauca, y se encuentra difundido en los departamentos de Tolima, Quindío, Caldas, Risaralda y Santander [8].

El cultivo comercial y la producción de flores de ylang-ylang están ahora concentrados en Indonesia y Madagascar, con pequeñas cantidades de aceite producido en Reunión, islas Comoro y las Filipinas.

El área de cultivo de *Cananga* en Indonesia se ha incrementado de acuerdo con las estadísticas oficiales, desde 86.000 hectáreas en 1985 hasta 160.000 hectáreas en 1995, con producción de 120 toneladas de aceite por año, la mayoría del cual es exportado [9].

1.1.2 Descripción botánica

Cananga odorata (Hook.fill.et.Thomson forma genuina) es un árbol tropical que puede medir hasta 40 m de altura, comúnmente de 10 a 20 m, y en cultivo el árbol es cortado hasta 3 m, para que sus flores puedan ser alcanzadas fácilmente. Posee estructura cónica y ramas péndulas. Las hojas son verde oscuro, miden hasta 20 cm de largo, son alternas y lanceoladas. Florece a lo largo del año, la flor tiene 3 sépalos y 6 pétalos de hasta 8 cm de largo. Cuando las flores están desarrolladas adquieren un color amarillo, y es en este período cuando la flor contiene la máxima cantidad de aceite y la calidad de éste es la mas alta. El fruto es de color negro verdoso, con numerosas semillas [9,10].

1.1.3 Suelo, clima y propagación

Ylang-ylang requiere suelos fértiles arenosos ricos en materia orgánica. Crece mejor en áreas tropicales, especialmente cerca de la costa, donde la lluvia es bien distribuida y las temperaturas de verano son moderadas.

El ylang-ylang es propagado a través de semillas. El fruto, cuando está maduro, (color morado oscuro) cae al suelo, y sus semillas son recogidas. Las semillas son primero plantadas en un semillero en época de lluvia. Los arbolillos son transferidos a otro lugar, se guardan bajo la sombra y frecuentemente se riegan; luego son plantados en campo abierto a una distancia de 6 m x 6 m. Después de los dos años los árboles alcanzan una altura de 2-3 m. Durante los tres primeros años se obtiene un pequeño número de flores y se obtiene una cosecha normal a

partir del cuarto año. El árbol debe cortarse periódicamente, para impedirle que se ponga grande y esponjoso [10].

1.1.4 Usos etnobotánicos

El ylang-ylang se ha utilizado en medicina tradicional contra la diarrea, malaria, oftalmia, cefalalgia, gota, como carminativo y estomático [11, 12].

1.1.5 Composición química y características del AE de ylang-ylang

El AE de ylang-ylang se obtiene por destilación de las flores del árbol de *Cananga odorata* (Hook fill. et Thomson, forma genuina), que pertenece a la familia Annonaceae [13].

El aceite de ylang-ylang es un líquido amarillo con olor fuerte, dulce y agradable aroma floral. Se obtiene principalmente por destilación de las flores totalmente desarrolladas [5, 13, 14, 15], las cuales en plena madurez contienen la máxima cantidad de aceite y de la mejor calidad [4, 16].

Al AE de ylang-ylang se le atribuyen propiedades terapéuticas, tales como: afrodisíaco, antidepresivo, antiséptico, hipotensivo y sedativo. En la actualidad se usa ampliamente en diversos campos, principalmente medicina, farmacéutica, cosméticos y alimentos. Es extensamente usado como componente fragante en jabones, detergentes, cremas, lociones, y perfumes (especialmente floral y de tipo oriental), con un nivel máximo del 1% reportado en perfumes. Por su agradable aroma se pudiera decir que por sí solo constituye un perfume completo. Es utilizado como saborizante en alimentos, incluyendo bebidas alcohólicas y no

alcohólicas, caramelos, postres, helados, pudines y otros. El uso del nivel reportado mínimo en alimentos es por debajo de 0,001% [17].

La composición química del AE de ylang-ylang ha sido objeto de varios estudios.

En 1952, Guenther [13] reportó por primera vez algunos compuestos aislados e identificados por varios autores en el aceite de ylang-ylang de las islas Comoro y Filipinas, y en 1968, Schmidt y Grima [18] hicieron el primer estudio detallado de los constituyentes más volátiles del aceite de ylang-ylang.
En general, la composición química del AE de flores de ylang-ylang consiste en sesquiterpenos, alcoholes, ésteres, éteres, fenoles y aldehídos. En la **Tabla 1** se presentan los principales componentes del aceite de ylang-ylang [19].

Tabla 1. Componentes principales del aceite de ylang-ylang (*Cananga odorata*) forma genuina [19]

Mono y sequiterpenos	**Alcoholes**	Acetato de geranilo
		Acetato de bencilo
α-Pineno	Linalool	Benzoato de metilo
α-Farneseno	Farnesol	Salicilato de metilo
Cadineno	Geraniol	
Trans -Cariofileno	Safrol	**Fenoles**
ylangeno		
γ-Muuroleno	**Ésteres**	*p* -Cresol
		Eugenol
	Benzoato de bencilo	Isoeugenol

En el mercado existen aceites de “ylang-ylang” y de “Cananga”; los dos provienen de diferentes variedades del mismo árbol. El aceite de ylang-ylang se obtiene de *Cananga odorata Baill,* forma genuina*,* y el de cananga, de *Cananga odorata* forma macrofila*,* considerándose mucho más fino, costoso y apreciado el de ylang-ylang. En ambos aceites se encuentran los mismos compuestos, pero en diferente

proporción, por ejemplo, el aceite de ylang-ylang contiene más ésteres y menos sesquiterpenos y alcoholes sesquiterpénicos.

El AE de ylang-ylang se clasifica comercialmente en cuatro categorías: “Extra”, “Primera”, “Segunda” y “Tercera”.
Es importante señalar que la aplicación industrial del aceite depende de su calidad. Por ejemplo, la categoría “Extra” se usa en perfumería; la “primera” y “segunda” en cosmética y la “Tercera”, para preparar jabones [13,14].

En 1986, Srinivas [20] estableció las diferencias composicionales en los aceites de cuatro categorías. En 1986 y 1988, Gaydou y colaboradores [5,14] determinaron la composición de los aceites de categorías Primera, Segunda y Tercera, provenientes de las islas Comoro y Madagascar, respectivamente.

Algunos compuestos representativos que determinan la calidad de los aceites y permiten clasificarlos por categorías aparecen en la **Tabla 2** [14].
Como se puede observar en la **Tabla 2,** el AE de ylang-ylang de primera categoría tiene alta concentración de compuestos oxigenados, mientras que el aumento en el contenido de sesquiterpenos lo convierte en el aceite de Segunda o Tercera categoría.

Tabla 2. Cantidad relativa (%) de los principales componentes de aceites de ylang-ylang de Madagascar, según sus categorías comerciales [14].

Compuesto	**Categoría**		
	Primera	Segunda	Tercera
α-Pineno	0,27	0,26	0,14
β-Pineno	0,1	0,07	0,03
β-Mirceno	0,11	0,05	0,04
β-Cariofileno	7,38	14,32	17,46
α-Cariofileno	2,52	4,62	4,7
D-Germacreno	7,26	10,58	20,67
p-Metilanisol	6,26	1,85	0,72
1,8-Cineol	0,54	0,19	0,05
Benzoato de metilo	4,13	1,06	0,38
Linalool	20,84	6,71	2,74
Acetato de bencilo	5,52	1,37	0,67
Geraniol	1,57	0,84	0,3
Benzoato de bencilo	8,6	8,41	8,69
Salicilato de bencilo	1,32	2,2	1,69

Las diferentes categorías del AE son obtenidas destilando las flores en diferentes fracciones, y tiempos. Estas fracciones tienen diferentes propiedades fisicoquímicas como se puede observar en la **Tabla 3** [21].

Tabla 3. Especificaciones del aceite de ylang-ylang [21].

	Primera destilación (Extra)	I Calidad (primera)	II Calidad (segunda)	III Calidad (tercera)
Apariencia	Líquido amarillo	Líquido amarillo pálido	Líquido amarillo pálido	Líquido amarillo pálido
Valor ácides	2.8 (máx)	2.8 (máx)	2.8 (máx)	2.8 (máx)
Valor ésteres	130-182	89-130	56-89	34-56
Olor	Floral, suave	Floral	Floral	Floral
Rotación óptica	-25º a -40º a 20ºC	-33º a -60º a 20ºC	-40º a -68º a 20ºC	-35º a -67º a 20ºC
Solubilidad	1: 0.5 (90% etanol)	1: 0.5 (90% etanol)	1: 0.5 (90% etanol)	1: 0.5 (90% etanol)
Gravedad específica a 20ºC	0.946-0.982	0.928-0.949	0.918-0.933	0.906-0.923
índice de refracción a 20ºC	1.498-1.509	1.5000-1.5090	1.5057-1.5117	1.5070-1.5150

1.1.6 Absoluto y concreto de las flores de ylang-ylang

De la extracción con solventes de las flores de ylang-ylang se obtiene un extracto conocido como concreto. El rendimiento varía de 0.8% a 0.95%. El tratamiento del concreto con alcohol, da del 75-80% de absoluto. La extracción con benceno produce de 2.5-3% de concreto, el cual tratado con alcohol produce el 85% del absoluto [22].

El absoluto de ylang-ylang es un líquido amarillo, aceitoso, intensamente floral recordativo de la fragancia de la flor. Es obtenido casi exclusivamente en Francia, del concreto importado de las islas Nossi-be o Comoros.

Los principales componentes del absoluto de ylang-ylang son: (E-E)- farneseno, linalool, benzoato de bencilo, δ-cadineno, β-cariofileno, salicilato de bencilo, acetato de geranilo, benzoato de metilo, α-humuleno [23].

La primera extracción de las flores de ylang-ylang con solventes volátiles fue hecha en Manila por Bacon (1909) [13], quien usando éter de petróleo como solvente, obtuvo rendimientos del concreto de 0.7% a 1.0%. Bacon reportó las siguientes propiedades fisicoquímicas para el concreto de ylang-ylang:

Gravedad específica a 30º/40ºC…… 0,940
Índice de refracción a 30ºC…… 1,4620

En 1959, Naves [24] reportó, los constituyentes volátiles más importantes del concreto de flores de ylang-ylang: *p*-cresol-metil éter, benzoato de metilo, linalool, acetato de bencilo y benzoato de bencilo, no tiene acetato de linalool y alcohol bencílico, y sesquiterpenos en baja proporción.

En 1982, Kaiser y Lamparsky [25] identificaron los siguientes compuestos heterocíclicos encontrados en el absoluto de flores de ylang-ylang, usando, una combinación de técnicas analíticas: antranilato de metilo, antranilato de N-metilo, fenilacetonitrilo, β-fenil nitroetano y fenilacetaldehído entre otros.

1.1.7 Investigaciones realizadas en Colombia

En el Laboratorio de Cromatografía de la Universidad Industrial de Santander, se han realizado varios trabajos sobre el AE de ylang-ylang colombiano.

Primero, se estudió y se determinó la composición química del AE y el tiempo de extracción para flores frescas y marchitas. Se halló que estos parámetros (estado de la flor y duración de extracción) poseen una gran influencia sobre la composición y, por ende, la calidad del aceite. El AE obtenido mediante destilación por arrastre con vapor de flores frescas recién recolectadas, contenía cerca de tres veces más monoterpenos y compuestos oxigenados de bajo peso molecular (volátiles) que el aceite destilado de las flores, después de 24 horas de su recolección [3].

El anetol y el canfeno fueron identificados por primera vez en el aceite de ylang-ylang colombiano; estos compuestos no han sido reportados en aceites de otros orígenes. Las muestras de los aceites fueron analizadas usando las técnicas de HRGC, HRGC-MS, IR, ^{1}H-NMR y ^{13}C-NMR. La primera fracción de la destilación por arrastre con vapor (40-60 min) de flores frescas correspondió a lo que se llama el AE de ylang grado “extra” [3].

En otro estudio, se analizó el efecto que tiene el grado de madurez de las flores sobre la composición y calidad del AE obtenido mediante SDE. En la **Tabla 4** se pueden observar los principales componentes del AE extraído de las flores de ylang-ylang en diferentes estados de su desarrollo [4].

Los compuestos nitrogenados, tales como fenilacetonitrilo, 2-fenilnitroetano, indol y antranilato de metilo, fueron registrados solamente, por GC-NPD, en los extractos obtenidos de flores completamente maduras (amarillas).

La alta concentración de compuestos oxigenados de bajo y alto peso molecular (alcoholes, ésteres y derivados fenólicos) fue obtenida en los aceites destilados de flores frescas completamente maduras, lo que permite obtener un aceite de ylang de grado “extra” [4].

Se comparó la composición del AE de las flores maduras de ylang-ylang obtenido por SD (arrastre con vapor), con los volátiles aislados de la misma flor por otro tipo de extracción, a saber SDE y SFE. Ver **Tabla 5** [1].

El 85% de la composición del extracto obtenido por SDE fue representado por compuestos oxigenados. Los hidrocarburos (C_n >20) y ácidos grasos solo fueron encontrados en los extractos de SFE, los cuales tienen un alto contenido de compuestos nitrogenados (fenilacetonitrilo, 4-metilbenzaldoxima, indol, 2-fenilnitroetano, antranilato de metilo), sesquiterpenos, y 1,5-2 veces más baja la

concentración de monoterpenos y compuestos oxigenados que en los extractos de SD (49,7%) y SDE (64,5%).

Tabla 4. Cantidad relativa (%) de los principales componentes del aceite esencial extraído de las flores de ylang-ylang, en diferentes estados de su desarrollo [4].

Compuesto	Cantidad relativa %		
	FVP	FVG	FAG
α- Pineno	9.86	2.66	1.91
β- Pineno	2.98	0.85	0.64
p -Metilanisol	0.34	5.15	8.74
Alcohol bencílico	0.23	0.38	1.06
Benzoato de metilo	-	3.05	5.61
Linalool	21.59	38.54	34.85
Acetato de bencilo	0.14	4.48	10.83
Benzoato de etilo	-	0.13	1.11
Anetol	-	0.28	1.42
Acetato de geranilo	0.88	2.36	1.87
Acetato de cinamilo	-	1.40	2.06
β-Cariofileno	5.45	2.88	1.66
D- Germacreno	10.87	5.55	4.65
Benzoato de bencilo	4.82	4.57	3.88

FVP: flores verdes pequeñas
FVG: flores verdes grandes
FAG: flores amarillas grandes

Tabla 5. Cantidad relativa (%) de los principales componentes del AE de flores amarillas de ylang-ylang obtenidos por diferentes métodos de extracción [1].

Compuesto	Cantidad relativa %		
	SD	SDE	SFE
α- Pineno	1.86	1.41	0.19
p- Metilanisol	6.81	6.10	2.73
Benzoato de metilo	4.05	5.00	2.42
Linalool	20.67	28.00	16.47
Acetato de bencilo	9.61	17.00	6.15
Acetato de geranilo	2.86	1.32	1.00
Acetato de cinamilo	4.09	1.48	2.28
β-Cariofileno	3.05	2.89	3.96
α-Humuleno	2.39	0.17	0.99
D- Germacreno	10.14	3.10	20.30
(E,E)- Farneseno	2.43	0.89	14.65
Benzoato de bencilo	14.10	12.68	11.97

En el 2002 [26] se determinó la variación del aroma de flores de ylang-ylang con el tiempo de almacenamiento de las flores, por SDE. A las 24 horas de almacenamiento se obtuvo la esencia de mayor calidad, debida a la máxima concentración de compuestos oxigenados (52,45%), mientras que la concentración de los compuestos sesquiterpenicos fue baja (17,5%).

Se evaluó la posible actividad antioxidante del AE de ylang-ylang sobre la degradación oxidativa del ácido linoleico, inducida mediante la reacción de Fenton. El AE de ylang-ylang mostró propiedades antioxidantes, inhibiendo en gran medida la formación del hexanal en el sistema lipídico evaluado a las concentraciones del AE en el rango de 0,5 y 2%, alcanzando un gran efecto protector (75,59%) a la concentración de 1% p/v de AE [26].

1.2 CIENCIOMETRÍA

La especie *Cananga odorata* ha sido objeto de varios estudios debido a múltiples usos de su AE en la industria. Los resultados de estos estudios se reportan en artículos de revistas científicas reconocidas internacionalmente. Con el fin de revisar las principales áreas de estudio sobre *Cananga odorata* en los últimos años, se consultaron las bases de datos *Scopus* y *Web of Science* en marzo de 2007, cuyos resultados se registran a continuación.

1.2.1 Base de datos *SCOPUS*

En la **Tabla 6** se muestra el número de publicaciones en diferentes revistas científicas en el período de 1986 al 2006, registrados en la base de datos de *Scopus*. La fecha de consulta fue el 24 de marzo de 2007. Se puede observar que en este período de observación el mayor número de publicaciones se encuentra en las revistas: *Journal of Natural Products*, *Flavour and Fragrance Journa*l, y *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*

En la **Figura 2** se muestra el número de estudios sobre *Cananga odorata* entre 1986 y 2006, que se consultaron en la base de datos *Scopus* el 24 de marzo de 2007. Se puede observar que los estudios sobre *Cananga odorata* varían de un año a otro. No se observa una tendencia clara en relación con el número de publicaciones por año.

Tabla 6. Revistas científicas donde aparecen publicaciones sobre *Cananga odorata* en el período 1986-2006, reportadas en la base de datos *Scopus*. Fecha de consulta: 24 de marzo de 2007.

Revista	Nº de articulos
Journal of Natural Products	3
Flavour and Fragrance Journal	3
Journal of Agricultural and Food Chemistry	3
Journal of Essential Oil Research	2
Fitoterapia	2
HRC Journal of High Resolution Chromatography	2
Planta Medica	1
Phytotherapy Research	1
Parasitology Research	1
Journal of the Chinese Chemical Society	1
Journal of Stored Products Research	1
International Journal of Aromatherapy	1
Food Chemistry	1
European Journal of Pharmacology	1
Cutis	1
Contact Dermatitis	1
Chinese Pharmaceutical Journal	1
Canadian Journal of Botany	1
Biochemical Pharmacology	1
Annals of the New York Academy of Sciences	1

En la **Figura 3** se puede observar que durante el período de 1986 al 2006 las áreas de investigación sobre *Cananga odorata* donde se han realizado mayor número de publicaciones han sido: agricultura y ciencias biológicas, farmacéutica, farmacología y toxicología.

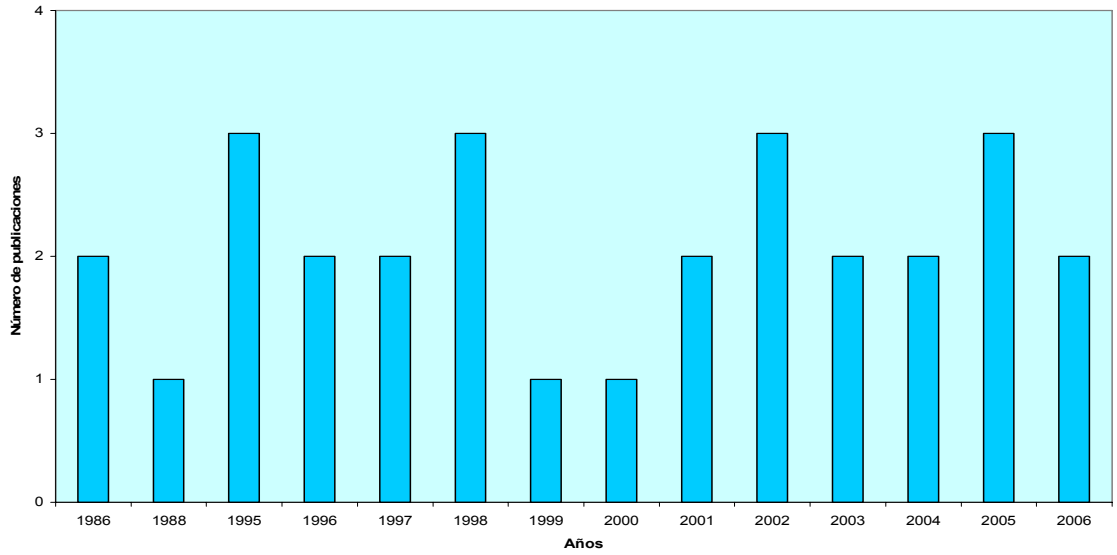


Figura 2. Número de publicaciones sobre *Cananga odorata*, en el periodo 1986-2006, reportadas en la base de datos *Scopus*. Fecha de consulta: 24 de marzo de 2007.

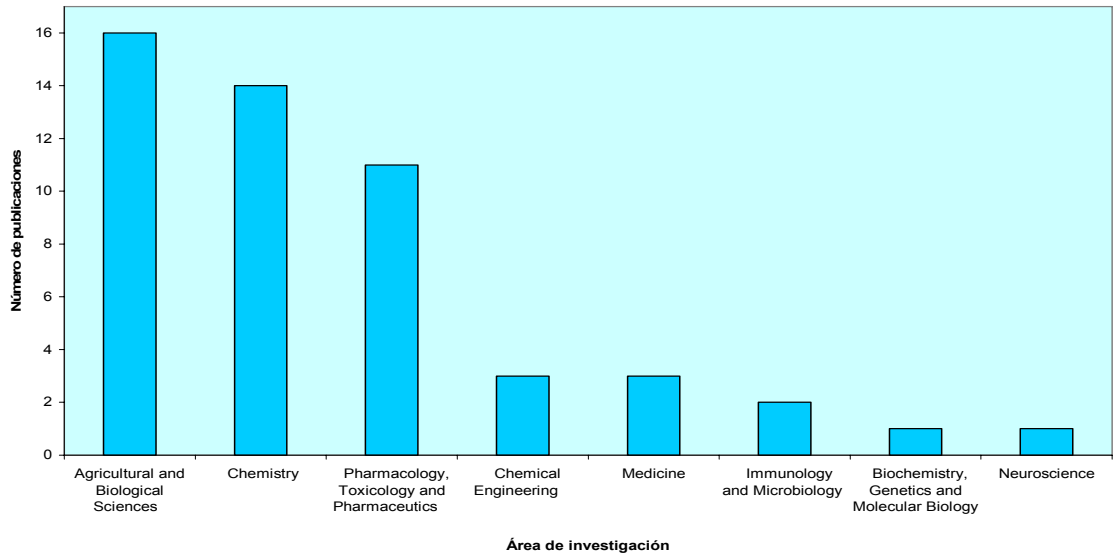


Figura 3. Relación entre Número de publicaciones realizadas sobre *Cananga odorata* y las diferentes áreas de investigación, en el período 1986-2006, reportadas en la base de datos *Scopus*. Fecha de consulta: 24 de marzo de 2007.

En la **Tabla 7** se reportan aquellos autores que han realizado mayor número de publicaciones sobre esta planta, entre 1986 y el 2006.

Tabla 7. Autores con el mayor número de publicaciones sobre *Cananga odorata*, en el período 1986-2006, reportadas en la base de datos *Scopus*. Fecha de consulta 24 de marzo de 2007.

Autor	Nº de publicaciones
Wu, Y.C.)	3
Chang, F.R.	3
Lamaty, G.	2
Kluza, J.	2
Hsieh, T.J.	2
Menut, C.	2
Gaydou, E.M.	2
Clark, A.M.	2
Stashenko, E.E.	2
Bailly, C.	2
Bianchini, J.P.	2

Existen patentes sobre *Cananga odorata*. En la **Figura 4** se muestra el número de patentes registradas en diferentes oficinas.

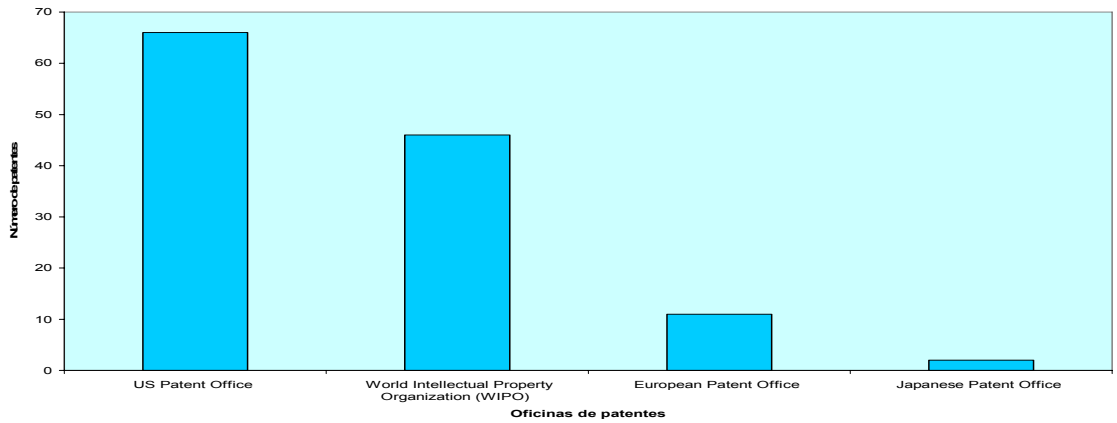


Figura 4. Número de patentes sobre *Cananga odorata* en las diferentes oficinas de patentes, en el periodo 1986-2006, reportadas en la base de datos *Scopus*. Fecha de consulta: 24 de marzo de 2007.

1.2.2 Base de datos *Web of Science*

Los artículos publicados desde 2001 hasta 2007 en las revistas científicas de mayor impacto, se consultaron en esta base de datos, lo cual permitió obtener una visión actualizada de los últimos avances y estudios sobre *Cananga odorata* **(Tabla 8).**

Tabla 8. Número de publicaciones sobre *Cananga odorata* en el período 2001-2007, reportadas en la base de datos *Web of Science*. Fecha de consulta: 24 de marzo de 2007.

Año	Nº de publicaciones
2005	3
2002	2
2004	2
2006	2
2001	1
2003	1

Autores que publicaron sus resultados sobre *Cananga odorata* en el período del 2001 al 2007 se muestran en la **Tabla 9.**

Tabla 9. Nº de publicaciones sobre *Cananga odorata* por orden de autor, en el período 2001-2007, reportadas en la base de datos *Web of Science*. Fecha de consulta: 24 de marzo de 2007.

Autor	Nº de publicaciones
Bailly, C.	2
Buchbauer, G.	2
Hongratanaworakit, T.	2
Alam, Ahmk	1
Brophy, J.	1
Bruni, R.	1
Caloprisco, E.	1
Chang, F.R.	1
Chen, C.Y.	1
Chia, Y.C.	1

Francia es el país con mayor número de publicaciones sobre *Cananga odorata,* seguido de Austria, Tailandia y EEUU, así como se observa en la **Figura 5.**

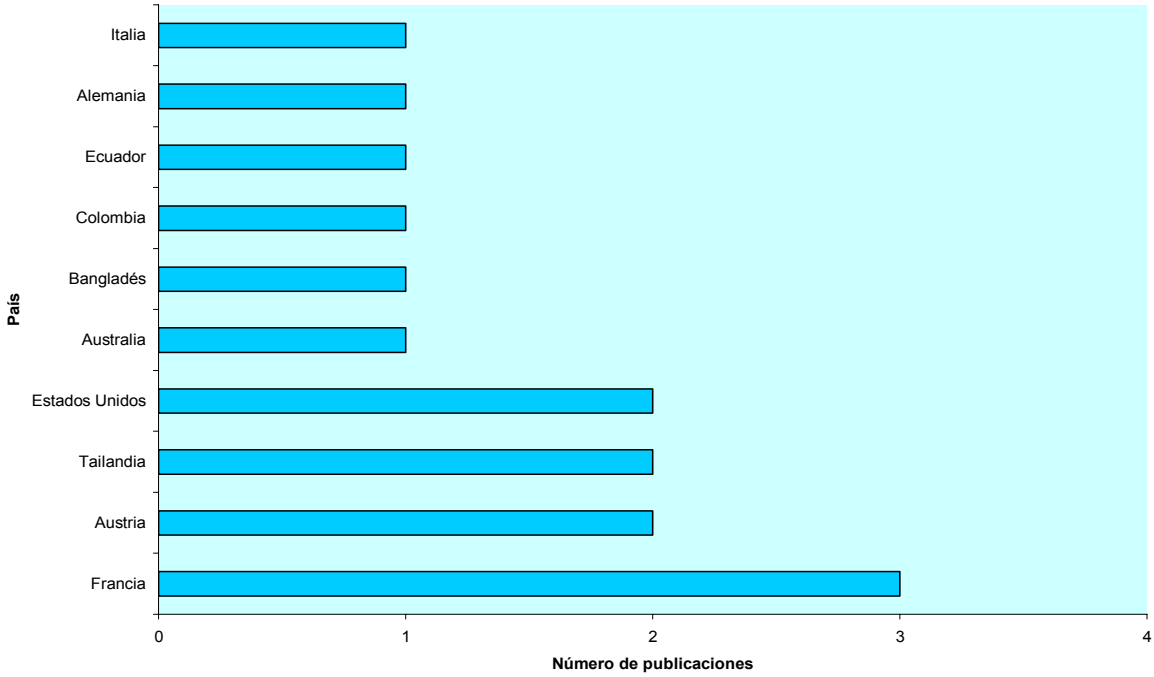


Figura 5. Países que reportan estudios sobre la especie *Cananga odorata*, en el período 2001-2007, reportados en la base de datos *Web of Science.* Fecha de consulta: 24 de marzo de 2007.

En la **Figura 6** se pueden observar las áreas de investigación en las cuales se han reportado más estudios en los últimos años sobre *Cananga odorata*, desde 2001 hasta 2007, a saber: farmacología, química aplicada, química médica.

En la **Tabla 10** se muestra el número de publicaciones en diferentes revistas científicas en el período de 2001 al 2007, reportadas en la base de datos *Web of Science*. La fecha de consulta fue el 24 de marzo de 2007. Se puede apreciar que en este periodo de observación el mayor número de publicaciones se encuentra en las revistas: *Journal of Psychopharmacology, Chemical Senses,* y *Contact*

Dermatitis.

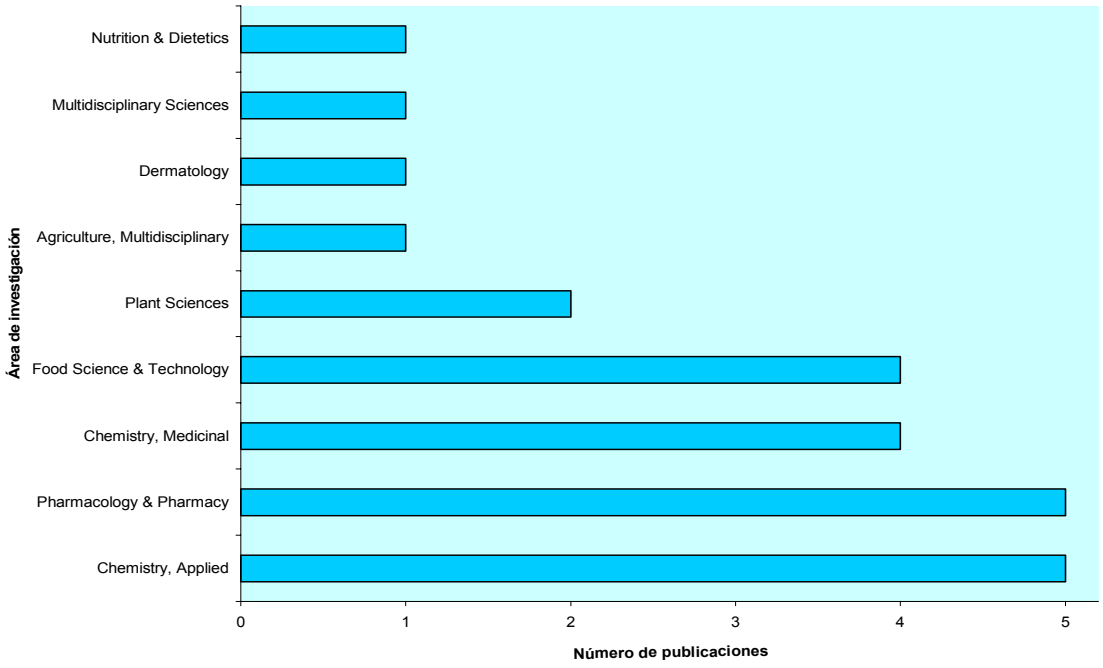


Figura 6. Nº de publicaciones sobre *Cananga odorata* en diferentes áreas de investigación, en el período 2001-2007, reportadas en la base de datos *Web of Science*. Fecha de consulta: 24 de marzo de 2007.

Tabla 10. Revistas científicas donde aparecen publicaciones sobre *Cananga odorata* en el período 2001-2007, reportadas en la base de datos *Web of Science*. Fecha de consulta: 24 de marzo de 2007.

Revista	Nº de articulos
Chemical Senses	2
Contact Dermatitis	2
Journal of Psychopharmacology	2
Chemistry & Biodiversity	1
Cutis	1
Dermatitis	1
Flavour and Fragrance Journal	1
Ieice Transactions on Electronics	1
Journal of Agricultural and Food Chemistry	1
Journal of Korean Medical Science	1

1.2.3 Análisis cienciométrico

Según los datos reportados anteriormente, consultados en las bases de datos *Scopus y Web of Science* en el periodo de 1986 al 2006 y de 2001 a 2007 respectivamente, en marzo de 2007, se puede concluir que los años que más estudios reportan sobre la especie *Cananga odorata* han sido 2005, 2002, 1998, y 1995.

Las revistas que más estudios reportan sobre *Cananga odorata* en el periodo de 1986 a 2006 son: Journal *of Natural Products*, *Flavour and Fragance Journal*, y *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. A diferencia del período de 2001 a 2007, el mayor número de estudios se reporta en las revistas: *Chemical Senses*, *Contact Dermatitis*, y *Journal of Psychopharmacology*

De acuerdo con los datos cienciométricos, se puede decir que en los últimos años se han realizado varias investigaciones sobre ylang-ylang, en cuanto a su importancia en el campo de la salud humana, porque esta planta ha mostrado tener actividad biológica; no obstante, su investigación en la parte de aromas sigue presentando gran interés.

Según los datos de *Web of Science*, Francia es el país con mayor número de estudios sobre esta especie; adicionalmente, con base en estudios del mercado de aceites esenciales en el mundo, Francia es el segundo país exportador de aceites esenciales, que anualmente exporta alrededor de 160 millones de dólares. Entre el año 2001 y 2002, las exportaciones francesas de AE aumentaron en un 7%. Francia exporta en su mayor parte AE no agrios como el aceite de clavo de olor o ylang-ylang, y aceite esencial de lavanda.

Otros estudios que se han reportado en los últimos años, relacionados con la composición química de extractos y AE de otras partes del árbol de *Cananga odorata*, son:

Brophy *et al*. (2004) [27] estudiaron el AE de las hojas de algunas especies de la familia Annonaceae de Australia. Para *Cananga odorata* reportaron los siguientes componentes mayoritarios: β-cariofileno (34-52%), sabineno (1-20%), α-humuleno (6-11%), y el α-pineno (1-17%).

En el 2002, Caloprisco *et al*. [28] aislaron y caracterizaron dos lactonas de las hojas secas de ylang-ylang (Cananga *odorata* forma genuina Hook. fill. et Thomson, Annonaceae). La primera es la isosifonodina (1) y la segunda canangona (2), un nuevo terpenoide espirolactona, como se muestra en la **Figura 7**.

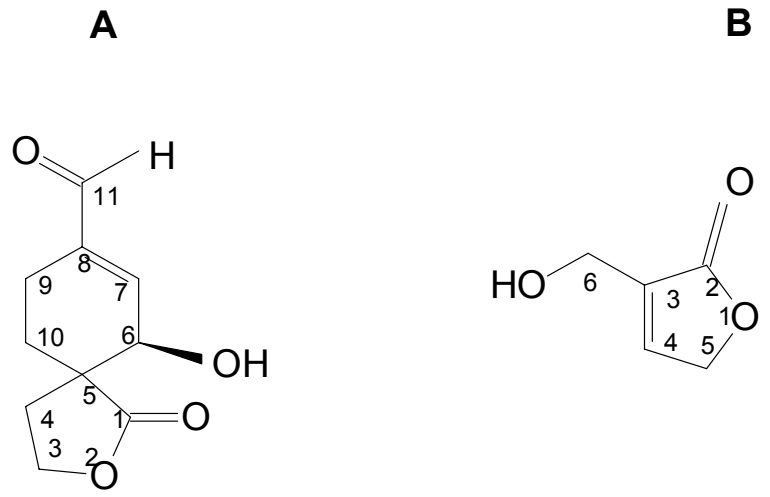


Figura 7. Lactonas aisladas de las hojas de *Cananga odorata;* canangona (A) isosifonodina (B).

En el 2005, Rahman *et al*. [29] aislaron de la corteza de *Cananga odorata* tres compuestos, que mostraron actividad antibacterial, antifungica y citotóxica: el ácido 3,4- dihidroxibenzoico, liriodenina y *O*-metilmoschatolina.

En el 2001, Hsieh *et al.* [30] investigaron constituyentes con potencial citotóxico del fruto de *Cananga odorata*.

1.3 EXTRACTIVOS VEGETALES UTILIZADOS EN PERFUMERÍA

Los extractivos de una planta pueden ser aceites esenciales, resinoides, concretos, absolutos, extractos crudos o purificados, oleorresinas, exudados naturales (bálsamos y resinas), etc. [31].

Un extracto se define como una mezcla de compuestos obtenidos de partes de plantas frescas o secas, tales como: hojas, flores, semillas, raíces y cortezas, por diferentes procedimientos diferentes al arrastre con vapor o la hidrodestilación. Característicamente, los constituyentes activos son obtenidos junto con otros materiales presentes en el vegetal [32,33].

El uso de materiales fragantes, para todos los propósitos, se remonta a miles de años. La palabra “perfume” proviene del latín *per fume* “a través del humo”, reflejando uno de los usos más viejos de materiales aromáticos: el quemado de incienso y hierbas, como una ofrenda religiosa.

Los antiguos egipcios eran famosos por el uso de sus perfumes. Ellos utilizaron los materiales fragantes en muchas formas: presionado, hervido, seco, macerado en grasa, e incluso una simple destilación.

Para obtener ingredientes de perfumes se pueden utilizar diferentes procesos de extracción, resumidos en la **Figura 8** [34].

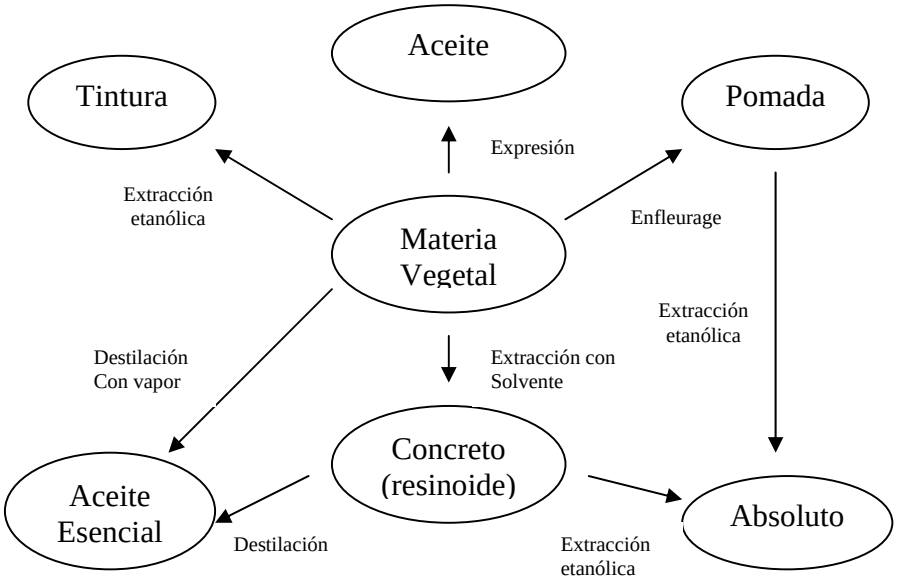


Figura 8. Diferentes técnicas de extracción para obtener ingredientes de perfumes[34].

La extracción etanólica no es muy usada para el material vegetal, debido a la alta proporción de agua comparada con el aceite en la planta (vainilla es una excepción). El proceso de extracción etanólica es más importante con materiales secretados por los animales tales como ambergris.

El enfleurage fue usado por los ancestrales egipcios para extraer ingredientes de perfumes del material vegetal y exudados. Su uso continuó hasta el siglo XX, pero ahora no tiene importancia comercial. En el enfleurage el material natural es colocado sobre grasa purificada. El aceite perfumado se difunde con el tiempo en la grasa, la grasa es fundida y la mezcla es filtrada para remover la materia sólida. El aceite oloroso es extraído de la grasa con alcohol. Una vez el alcohol es destilado, queda un producto conocido como absoluto. Esta técnica presenta

desventajas: La concentración del aceite oloroso es baja, la grasa no es el material más agradable para manejar, y se pone rancio después de varios usos.

La técnica de extracción más importante hoy en día es la extracción con solventes. Entre los más utilizados están, la acetona, el hexano, y el acetato de hexilo, junto con varias combinaciones de éstos. Recientemente, hay mucho interés en el uso de dióxido de carbono como solvente de extracción La presión requerida para licuar el dióxido de carbono a temperatura ambiente es considerable y así el equipo es necesariamente costoso. Esto se refleja en el costo del aceite producido, pero el dióxido de carbono tiene la ventaja de que es fácil de remover y produce un aceite de alta calidad, y libre de solventes [34,35].

1.3.1 Extracción con solventes orgánicos volátiles

Ciertas plantas contienen en su AE componentes muy volátiles o fáciles de degradar térmicamente. Es por esto que la extracción con solventes volátiles es aplicada a matrices que contienen esencias sensibles al calor, particularmente las flores y matrices a las que no sea posible extraer el AE por destilación a vapor, i.e. acacia, mimosa, etc.

La extracción con solventes volátiles es la técnica más usada para la extracción de compuestos aromáticos en la industria de perfumes y cosméticos. En este método, los componentes menos polares presentes en el vegetal (oleorresinas) son extraídos junto con los AE.

El principio de extracción con solventes es muy simple: el material es colocado en el extractor y se extrae con un solvente puro a la temperatura de ebullición del solvente. El solvente penetra el material a ser extraído y disuelve el AE.

Los métodos que involucran extracción con solvente son particularmente difíciles de controlar. La mayoría de material vegetal requiere algún grado de disminución antes del tratamiento con solvente. Esta molienda a menudo va acompañada de calor y puede ocasionar pérdidas de volátiles y cambios químicos. Las plantas tienen una cantidad muy alta de agua y es difícil obtener un solvente apropiado para extraer los componentes de las células acuosas [36].

Incluso, cuando es mezclado con gran velocidad, el equilibrio de la partición puede ser lento y requerirá repetir los extractos necesarios para obtener un rendimiento satisfactorio.

El extracto puede mejorarse utilizando el material secado. Pero cuando se usa el secado puede ocurrir la descomposición, y los materiales aromáticos de la fuente natural difieren ampliamente en sus propiedades físicas y químicas, particularmente en su volatilidad y solubilidad, así que el solvente puede determinar el éxito del extracto [36].

1.3.2 Selección del solvente

El factor más importante para el proceso de extracción, es la calidad del solvente empleado. El solvente ideal puede ser: selectivo, químicamente inerte, que tenga bajo punto de ebullición, de bajo costo, preferiblemente no inflamable, que pueda ser evaporado sin dejar residuos, y que tenga un punto de ebullición uniforme [36].

El solvente ideal no existe y generalmente el éter de petróleo (30º-70º) es el más utilizado, el cual está conformado por parafinas saturadas, principalmente pentano y hexano, es químicamente inactivo, bastante selectivo con respecto a grasas y pigmentos y es conveniente para la extracción de flores. La extracción con

solventes volátiles en el laboratorio es realizada usando percoladores, recipientes en forma de cono cilíndrico. Otra alternativa es usar el aparato Soxhlet [36].

1.3.3 Absolutos y Concretos

Se pueden usar diferentes procesos de extracción para obtener ingredientes de perfumes: extracción etanólica, expresión, enfleurage, destilación, extracción con solventes, en donde la extracción con solventes es el proceso convencional más utilizado para producir fragancias de flores, ya que es posible evitar su degradación [37,38], y se obtiene un producto con características organolépticas similares al material natural.

Se denomina concreto a un extractivo de una planta aromática obtenido por medio de un disolvente no polar. Dentro de los más usados están: hexano, éter de petróleo, acetona, pentano, acetato de etilo, y butano [39-43]. La posterior eliminación del solvente a baja temperatura y presión reducida da como resultado un producto semisólido, pastoso, que contiene no solamente la porción aromática de la planta (terpenos) sino también parafinas (50% a 70%), ácidos grasos, productos oleosos, cerosos, clorofila, pigmentos, resinas, y otros compuestos de alto peso molecular que le proporcionan la consistencia sólida [38].

Algunas aplicaciones industriales requieren productos que contengan solo los compuestos fragantes; por lo tanto, estos concretos deben ser procesados. Una vez obtenido el concreto, se redisuelve en etanol a temperatura ambiente o como máximo a 40-50ºC. Quedará una parte insoluble en el etanol, que se denomina resinoide, y una parte soluble que se separa por filtración, a la que, después de eliminarle el etanol a bajas temperatura y presión, se denomina absoluto.

Estas dos formas de extractos tienen amplia aplicación en la industria perfumística, fundamentalmente para la perfumería fina, por otorgar al producto

final una mayor fijación y características olorosas más cercanas a las del producto natural. [33].

Los absolutos y los concretos tienen uso en la industria alimenticia y farmacéutica, como reemplazantes de las respectivas partes de la planta. Las ventajas que tienen son la facilidad de dosificación, la posibilidad de homogenizar la calidad, la carencia de problemas por contaminación microbiana y por ende una mayor estabilidad. Con respecto a los aceites esenciales, en algunas ocasiones suelen preferirse por contener no solamente los componentes volátiles de la planta, sino también otros compuestos que proporcionan el sabor, la textura y la solubilidad [31].

1.4 ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales (AE) son una mezcla compleja de compuestos orgánicos volátiles, líquidos y sólidos que son encontrados en la estructura vegetal, producto del metabolismo secundario de las plantas [36,44]. Estos compuestos son los que le dan el olor característico a la planta y están íntimamente conectados con los procesos vitales que tienen lugar en una planta. Los AE pueden ser formados por la hidrólisis de ciertos glucósidos o directamente por el protoplasma, o por la descomposición de la capa resiginosa de la pared celular [36].

En la célula, el AE está contenido en las vacuolas, en las cuales son vertidos los productos secundarios o los productos de desecho del metabolismo. Dependiendo de la familia de la planta, el AE puede ser elaborado en diferentes estructuras secretoras especializadas, y se almacena en glándulas aceitosas, venas, sacos de aire, o cabellos glandulares.

Los AE también son localizados en varias partes de la planta, o en toda la planta. En la albahaca, menta y salvia, los AE son localizados en los vellos glandulares de tallos y hojas; el aceite esencial de jazmín, ylang-ylang y rosas, en las flores; el aceite del cedro y del sándalo está presente en la madera; el geranio, petigrin y la verbena contienen el AE en el tallo; el jengibre en los rizomas, y el vetiver en las raíces. El aceite esencial de la naranja y el limón están contenidos en la cáscara, y el de eucalipto en toda la planta [33,36].

La mayoría de estos aceites se usan en farmacéutica y en la industria de alimentos como aromatizantes, para la formulación de perfumes, en cosmética, para masajes, en aromaterapia, productos de limpieza; otros son empleados como repelentes de Insectos, tanto para el hombre como para el ganado; en medicina se utilizan para el tratamiento de una amplia diversidad de afecciones [45,46].

.

Los AE pueden tener hasta más de 200 componentes [47], agrupados en dos fracciones: una fracción volátil que constituye del 90-95% del total del aceite, y son los que le transmiten a los AE el aroma que los caracteriza. Dichos componentes son de la siguiente naturaleza química:

- Compuestos alifáticos, hidrocarburos y sus análogos oxigenados de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos);
- Monoterpenos, C_{10} H_{16};
- Monoterpenoides, $C_{10}H_{18}O$;
- Sesquiterpenos, $C_{15}H_{24}$;
- Sesquiterpenoides, $C_{15}H_{26}O$, entre otros.

La otra fracción no volátil constituye el 5-10% del aceite [48]. La fracción no volátil extraída del material vegetal, se encuentra en concretos, absolutos y oleorresinas; éstos son ácidos grasos, colorantes (β-caroteno), cumarinas, psoralenos,

esteroles y flavonoides.

El valor comercial de los AE y su uso dependen básicamente de su composición química y rendimiento. Las variables que más notoriamente inciden sobre la composición y el rendimiento de los aceites esenciales en la planta, son: condiciones geobotánicas del medio, método de cultivo, época de recolección, parte de la planta, modo de almacenamiento y manejo del material vegetal, método de obtención del aceite, edad de la planta y estado fenológico.

1.4.1 Propiedades físico-químicas de los AE

Dentro de las propiedades más importantes se encuentran: la volatilidad, inestabilidad ante la luz y el oxígeno, ante la presencia de agentes oxidantes y reductores, medios con pH extremos, o trazas de metales que puedan catalizar reacciones de descomposición, etc. En cuanto a sus solubilidades, tienen la particularidad de que, si bien son solubles en medio no polar, son más solubles en cuanto mayor contenido de monoterpenos tengan; también suelen tener una alta solubilidad en etanol, lo que es ampliamente explotado en la elaboración de fragancias y extractos hidroalcohólicos para las industrias farmacéutica y cosmética [31].

Los AE refractan la luz polarizada, propiedad que es usada para el control de su pureza, ya que poseen un poder rotatorio y un índice de refracción característicos, en razón a que poseen en su composición numerosos compuestos ópticamente activos.

1.4.2 Análisis y control de calidad de los aceites esenciales

Para la utilización de los AE, además de los estudios de factibilidad de aplicación específicos, es necesario conocer su composición detallada. Existen diferentes métodos de análisis de los AE, entre los que se destacan métodos fisicoquímicos y métodos instrumentales. Los métodos fisicoquímicos incluyen la determinación de propiedades macroscópicas, tales como la solubilidad en varios solventes, punto de ebullición, densidad, rotación óptica e índice de refracción, entre otras.

Por otra parte, los métodos instrumentales incluyen la espectroscopía IR, espectroscopia RMN-^{1}H y RMN-^{13}C, cromatografía de gases de alta resolución (HRGC) y cromatografía de gases de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (HRGS-MS). Estos dos últimos métodos son ampliamente utilizados en la actualidad para el análisis de los AE [49].

1.4.3 Métodos de obtención de aceites esenciales

Los AE se pueden obtener por diversos métodos, los cuales varían de acuerdo con la naturaleza de la esencia y donde está contenido en el material vegetal. Los métodos son:

a. Expresión

Extracción por expresión es un simple método por medio de la cual es posible obtener, sin descomposición, el aceite con características muy cercanas al producto natural. En este método el material vegetal se exprime sobre una capa acuosa, separando posteriormente el aceite por centrifugación. Se usa para aceites susceptibles al calentamiento, tales como esencias de cítricos [50].

b. Destilación

Es la técnica más usada industrialmente para obtener AE [50,51], se puede llevar a cabo utilizando agua, vapor seco o la mezcla de ambos.

- Destilación con vapor seco: es la técnica más empleada tanto en la industria como en el laboratorio, porque permite obtener el AE con el rendimiento más alto y además procesar grandes cantidades de material vegetal. Este procedimiento consiste en hacer pasar vapor de agua a través de una cantidad de material vegetal confinado en un recipiente que está conectado a un refrigerante.

- Destilación con agua (hidrodestilación): El material vegetal a destilar se sumerge en agua a punto de ebullición. El modo de calentamiento puede realizarse de diferentes maneras. En un proceso de destilación la forma común de calentar el agua y el material vegetal es utilizando una manta eléctrica. Este modo de calentamiento se llama hidrodestilación convencional, y una de sus desventajas es que el sistema tarda mucho en calentarse. Otra forma de calentamiento del agua, muy utilizada actualmente, aprovecha la radiación de microondas. Está técnica, que recibe el nombre de hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHD), fue inicialmente patentada en Canadá por Paré y colaboradores en 1991 [52]. A continuación se explica.

1.4.4 Hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHD)

Actualmente se está usando una fuente de radiación de microondas como agente extractor de productos naturales. Consiste en la transformación de la energía electromagnética de las microondas en energía calórica, la cual calienta moléculas polares en el material vegetal y acelera la difusión de los compuestos de interés

hacia los solventes de extracción [53].

En el caso de los AE, el calor interno del agua hace que el material vegetal se distienda produciendo la ruptura de las glándulas y receptáculos oleíferos, y liberando líquidos orgánicos, los cuales se dispersan y disuelven en el solvente utilizado [54,55]. El equipo de MWHD a usar en este trabajo se muestra en la **figura 9**.

Figura 9. Montaje de hidrodestilación asistida por la radiación de microondas MWHD.

1.5 OBTENCIÓN DE EXTRACTOS

A los componentes obtenidos por técnicas extractivas y de *headspace*, se les llama extractos y “fracciones volátiles”, respectivamente. Sin embargo, a la mezcla de sustancias obtenidas por destilación y expresión se les denomina “aceite esencial”. A continuación se describen otras técnicas de obtención de extractos.

1.5.1 Destilación - extracción con solvente simultánea (SDE)

Este proceso se realiza en un aparato desarrollado por Likens y Nickerson en 1964 [56], que posteriormente ha sido modificado varias veces. Este método, que combina simultáneamente la hidrodestilación y la extracción con solvente, es aplicable tanto a matrices fluidas, como a no fluidas, en suspensión acuosa.

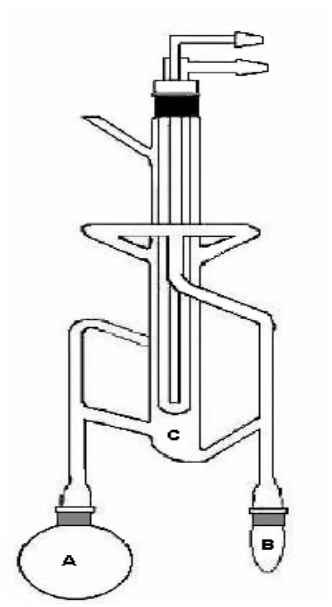


Figura 10. Montaje de destilación - extracción con solvente simultánea [57].

En la **figura 10** se puede apreciar el extractor diseñado por Godefroot y colaboradores, que se utiliza para obtener extractos a microescala [57]. La matriz vegetal se coloca en el balón A y el solvente en el balón B, ambos conectados por vías diferentes al condensador C, por el cual circula una mezcla refrigerante. Los balones A y B se calientan separadamente hasta ebullición; el solvente, el agua y el extracto se condensan al mismo tiempo, el solvente arrastra y concentra el extracto en el balón B, separándolo del vapor de agua. El proceso se lleva a cabo continuamente.

Este método hace posible extraer cantidades considerables de componentes con

una cantidad pequeña de solvente [56-58].

1.5.2 Extracción con fluido supercrítico (SFE)

El estado supercrítico es una forma de la materia en la cual la fase líquida y la fase gaseosa son indistinguibles: cuando un compuesto se encuentra en su forma supercrítica, es compresible y se comporta como un gas, pero presenta la densidad típica de un líquido y su poder disolvente. Para lograr este estado, la sustancia, o mezcla es llevada mediante operaciones mecánicas a una condición de presión y temperatura por encima de su punto crítico. [58].

Los fluidos usados en SFE son: dióxido de carbono (CO_2), agua (H_2O), etano (C_2H_6), eteno (C_2H_4), propano (C_3H_8), xenón (Xe), óxido nitroso (N_2O), entre otros. El CO_2 es de uso más frecuente en la industria.

Figura 11. Montaje de extracción con fluido supercrítico SFE [58].

La SFE presenta las siguientes ventajas: los extractos obtenidos tienen mayor frescura y aroma natural; se usan temperaturas moderadas y se evita la degradación térmica de componentes; el extracto está libre de solvente, hay mayor presencia de agentes activos; el proceso es "amigable" al ambiente; las variables del proceso son flexibles y los equipos pueden ser operados automáticamente [59,60].

La SFE, en el laboratorio, es una técnica relativamente sencilla: el material vegetal, se coloca en un Soxhlet de alta presión (J & W Scientific, Folsom, CA, EEUU), el cual se empaca en una cámara de acero inoxidable que se muestra en la **Figura 11**, a través de la cual se hace circular un fluido en estado supercrítico (i.e, CO_2), que actúa como solvente de extracción y permite separar los componentes volátiles del material vegetal. El fluido luego se elimina por descompresión progresiva hasta alcanzar la presión y la temperatura ambiente. Finalmente, se obtiene un extracto, cuyo grado de pureza depende de las condiciones de extracción [61-63].

1.6 ANÁLISIS INSTRUMENTAL

1.6.1 Cromatografía de gases (GC)

El cromatógrafo de gases separa una mezcla en sus componentes individuales que posteriormente entran uno por uno a la fuente iónica del espectrómetro de masas, o a cualquier otro dispositivo de detección.

El éxito de la aplicación de la GC al estudio de los AE ha sido posible debido al desarrollo de columnas capilares que permiten separar las mezclas de diversa polaridad o isomería (monoterpenos, sesquiterpenos, etc.). Las fases estacionarias más usadas por GC para el análisis de los aceites esenciales son:

CARBOWAX 20M [poli (etilenglicol), fase polar] y OV-101 (DB-1, HP-1, SP-30) [poli (dimetilsiloxano)], fase apolar [64].

El tiempo de retención no constituye un parámetro completamente confiable para el análisis cualitativo, ya que depende de muchas variables experimentales, tales como: tipo de columna, flujo de gas de arrastre, cantidad de muestra inyectada, etc. Kovàts [65] propuso un sistema de índices de retención que sirve como base para el análisis cualitativo de los componentes de mezclas complejas (identificación tentativa).

El sistema de los índices de retención de Kovàts se basa en una comparación entre la posición del pico de un analito en el cromatograma y los picos correspondientes a hidrocarburos lineales, uno de los cuales eluye antes del componente de interés y el otro después. Se utiliza la siguiente relación matemática para calcularlos, en el caso de una corrida cromatográfica con rampa de temperatura:

$$I_K=100*n+100*[(T_X-T_1)/ (T_2-T_1)] \qquad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

I_K: Índice de Kovàts

n: Número de carbonos del hidrocarburo patrón que eluye antes que el analito de interés.

T_X: tiempo de retención del analito de interés.

T_1: tiempo de retención del hidrocarburo patrón que eluye antes analito de interés.

T_2: tiempo de retención del hidrocarburo patrón que eluye después del analito de interés.

1.6.2 Espectrometría de masas (MS)

La espectrometría de masas es un método de análisis rápido y sensible que permite obtener la máxima cantidad de información estructural con la cantidad mínima de muestra (10^{-6}-10^{-14} g).

El espectro de masas es una gráfica que relaciona las masas de los iones específicos (más exactamente, valores de la relación masa/carga del ion, *m/z)* con sus respectivas concentraciones en la corriente iónica total (TIC) producida por la ionización y la fragmentación de las moléculas del analito en la cámara de ionización.

El espectro de masas suministra información sobre la masa molecular, composición elemental de una sustancia (cuando se utiliza MS de alta resolución) y, en algunos casos, permite establecer la estructura espacial de la molécula.

Los espectros de masas de terpenos, principales constituyentes de los aceites esenciales, son, en la mayoría de los casos muy parecidos. Su identificación por el método MS está basada principalmente en las diferencias cuantitativas (abundancias de los iones). Sin embargo, se han podido encontrar criterios experimentales (relación de las intensidades de los picos de los iones moleculares y característicos, MS de la colisión activada, energía cinética liberada durante las transiciones metaestables, etc.) para la identificación de terpenos (básicamente monoterpenoides) a través de sus espectros de masas [66,67].

En varios trabajos [66], la identificación de sesquiterpenos se realiza con base en sus índices de Kovàt*s.* La estructura de un sesquiterpeno se considera establecida sólo si coinciden sus espectros de masas e índices de Kováts para dos fases estacionarias, (polar y apolar), con los de la sustancia patrón y con los de las bases de datos de espectros de masas (patrones de fragmentación) e índices

Kovàts de estos componentes [64-67].

1.6.3 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).

El acoplamiento de un cromatógrafo de gases con un espectrómetro de masas permite hacer un análisis rápido y seguro de mezclas complejas, determinando simultáneamente cuántos y cuáles son los constituyentes y en qué proporción se encuentran en la mezcla. Este método es altamente sensible y con él se logra detectar componentes en cantidades del orden de picogramos.

El sistema moderno de GC-MS consta de tres bloques principales: cromatógrafo de gases, espectrómetro de masas y sistema de datos. El sistema de datos computarizado realiza la conversión de las señales procedentes del espectrómetro de masas en cromatogramas y espectros de masas normalizados, permitiendo obtener la información estructural de cada uno de los componentes de la mezcla [44, 67,68].

1.7 LÍPIDOS

La palabra “lípido” proviene del griego “*lipos*” que significa grasa. Los lípidos son un grupo de biomoléculas estructuralmente más heterogéneo. La característica común que presentan todas estas sustancias es la hidrofobia de una parte o de toda su molécula, lo cual los hace insolubles en agua y solubles en disolventes orgánicos.

Sus funciones biológicas son también muy variadas; Actúan principalmente como: reserva energética, componentes estructurales de membranas, lubricantes y

protectores, reguladores hormonales, emulsionantes digestivos y reguladores intracelulares del metabolismo [69].

1.7.1 Clasificación de los lípidos

Existen diversos métodos para clasificar los lípidos, basados en alguna de las propiedades físicas o químicas que los caracteriza; pero el más común consiste en dividirlos en tres grandes grupos, en función de su estructura química, tal como se muestra en la **Tabla 11** [70]**.**

Tabla 11. Clasificación de lípidos [70]**.**

A.Lípidos simples. Ésteres de ácidos grasos y alcoholes
1. Grasas y aceites. Éteres de glicerol con ácidos monocarboxilicos; 2, Ceras. Éteres de alcoholes monohidroxilados y ácidos grasos.
B. Lípidos compuestos. Lípidos simples conjugados con moléculas no lipídicas.
1. Fosfolípidos. Ésteres que contienen ácido fosfórico en lugar de ácido graso combinado con una base de nitrógeno;
2. Glucolípidos. Compuestos de carbohidratos, ácidos grasos y esfingosinol;
3. Lipoproteínas. Compuestos de lípidos y proteínas.
C. Compuestos asociados.
1.Ácidos grasos (derivados de lípidos simples); 2.Pigmentos; 3.Vitaminas liposolubles; 4.Esteroles; 5.Hidrocarburos.

1.7.2 Ácidos grasos

Las grasas y los aceites constituyen los lípidos mas abundantes (98%) e importantes en alimentos de origen animal y vegetal. Ambos grupos están constituidos por triglicéridos (TAG), los que a su vez son ésteres de ácidos grasos (FA) con glicerol. El 2% restante está formado por una mezcla de compuestos que incluyen hidrocarburos, tocoferoles, esteroles esterificados y libres [71].

Los FA son compuestos formados por una cadena alquílica con un grupo carboxil terminal, y constituyen las unidades de diversas clases de lípidos, a los que confiere su naturaleza grasa o aceitosa. Normalmente no se encuentran en estado libre en las células o tejidos, sino que aparecen en grandes cantidades como componentes fundamentales de los lípidos saponificables. En estado libre (no esterificado) aparecen solamente en trazas [72].

Existen dos clases de ácidos grasos (FA) en la naturaleza, a saber: los ácidos grasos saturados (SFA) y los ácidos grasos insaturados (UFA). Los SFA se encuentran generalmente en grasa de tipo animal, no presentan dobles enlaces en su estructura y se caracterizan por ser sólidos o semisólidos a temperatura ambiente. Los insaturados se dividen en monoinsaturados y poliinsaturados. Los monoinsaturados están presentes en grasa de origen animal, y vegetal; y se caracterizan por ser líquidos a temperatura ambiente. Los polínsaturados son abundantes en aceites vegetales marinos, se caracterizan por la presencia de dos ó más dobles enlaces [72].

1.7.3 Determinación de ácidos grasos por cromatografía de gases.

Los ácidos grasos FA son el tipo de lípidos que más se analiza por GC [73-76]. Debido a su reactividad y poca volatilidad, ellos deben ser convertidos a sus

respectivos metilésteres (FAME) antes del análisis cromatográfico, los cuales son más volátiles y menos susceptibles a las descomposiciones térmicas, como por ejemplo, la descarboxilación en el puerto de inyección.

El análisis de los FAME puede realizarse en columnas capilares apolares, poli (dimetilsiloxano), columnas altamente polares (siliconas cianosustituidas) o en columnas polares, poli (etilenglicol); siendo éstas últimas las más utilizadas.

El detector de ionización en llama (FID) es el detector más utilizado para el análisis de los FA. Para la identificación, generalmente se usan comparaciones de los tiempos de retención obtenidos para la muestra problema con los patrones certificados analizados bajo las mismas condiciones. El acoplamiento del cromatógrafo con técnicas espectroscópicas como espectrometría de masas (MS) permite realizar un análisis de los FA en matrices complejas, de una manera rápida y eficiente [77].

1.7.4 Derivación de ácidos grasos

1.7.4.1 Transesterificación catalizada por ácidos

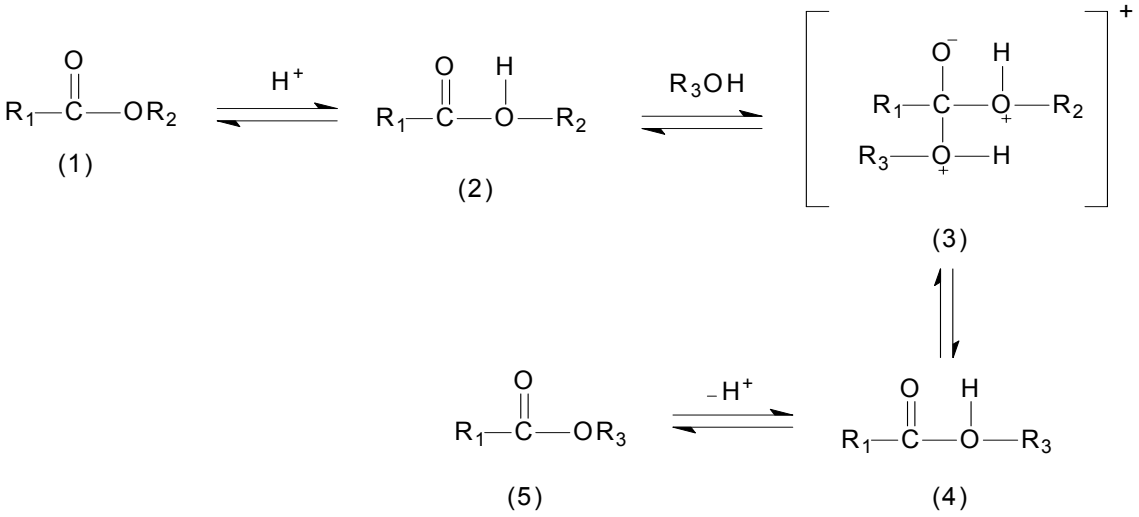
Los FA constituyentes de TAG pueden ser transesterificados por un alcohol en presencia de un catalizador ácido conveniente, tal como se ilustra en el **Esquema 1** [74].

En la transesterificación catalizada por ácidos, primero ocurre la protonación del lípido y, luego, por la adición de un alcohol, se origina el intermediario (3), el cual se puede disociar por medio de un estado de transición (4), produciendo el éster (5).

Las condiciones preferidas para la reacción de transesterificación son exceso de alcohol y ausencia de agua.

El trifluoruro de boro en metanol es uno de los reactivos de esterificación más utilizados. Tiene muchas ventajas como su rapidez en completar la reacción, la facilidad de eliminar residuos del medio de reacción y la disponibilidad comercial del reactivo en las concentraciones recomendadas para la esterificación.

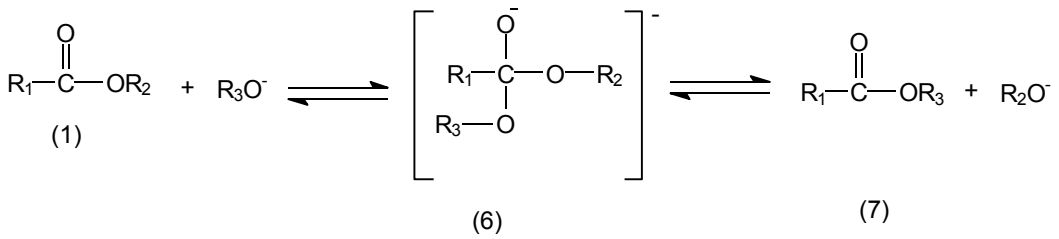
Esquema 1. Transesterificación catalizada por ácidos [74].



1.7.4.2 Transesterificación catalizada por bases

Los FA, en presencia de bases tales como el anión alcoholato, pueden ser esterificados para obtener un determinado éster que depende del alcohol usado, tal como se muestra a continuación [74] (ver **Esquema 2).**

Esquema 2. Transesterificación catalizada por bases [74].



En la transesterificación catalizada por bases (ver **Esquema 2**), el éster (1) en presencia de una base como el anión alcoholato (R_3O^-) forma un intermediario aniónico (6), que puede disociarse para formar el éster de partida (1) o uno nuevo (7).

2. PARTE EXPERIMENTAL

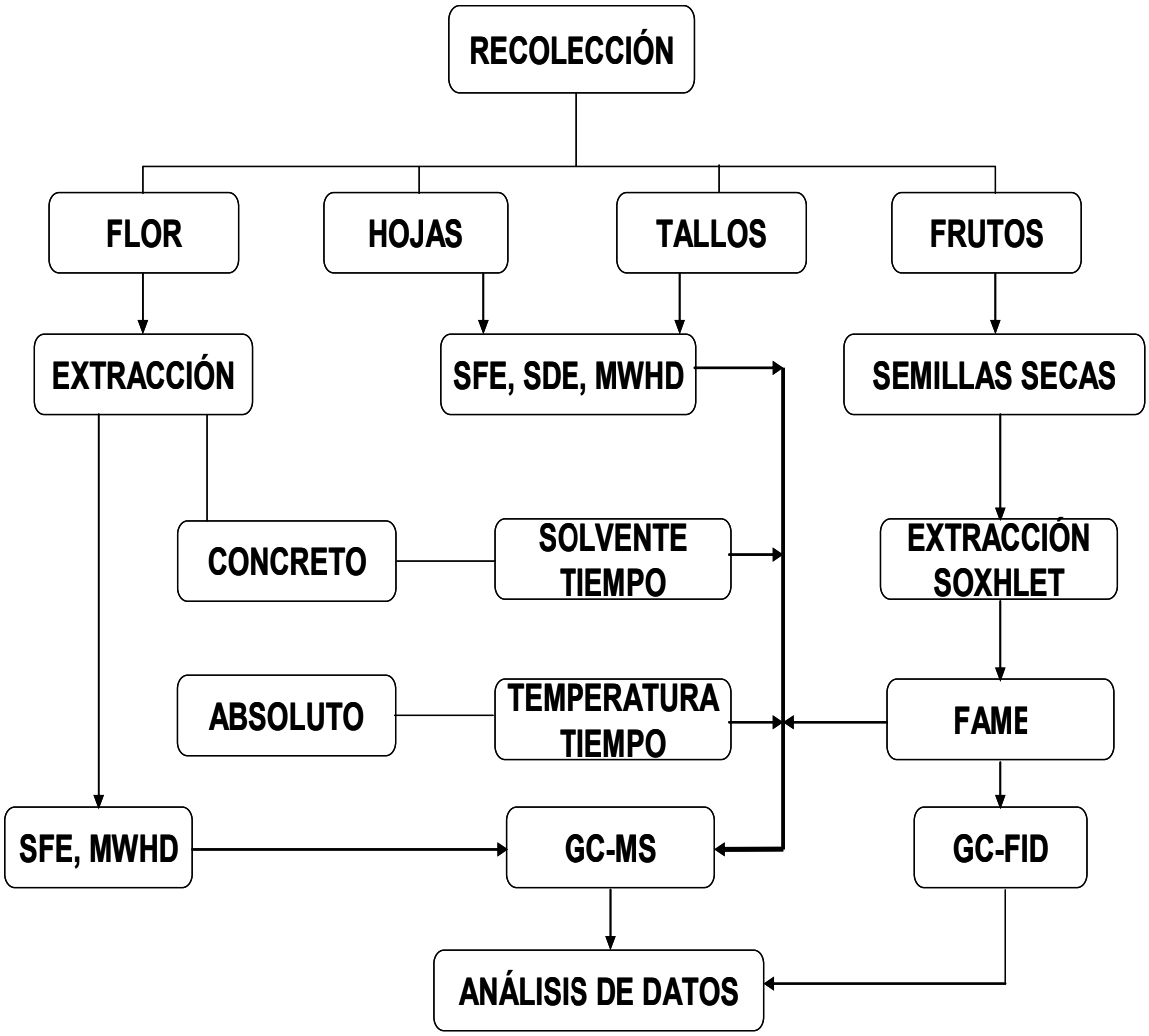


Figura 12. Metodología de la parte experimental

Las siguientes fueron las actividades, que se realizaron en la parte experimental del trabajo:

- Recolección del material vegetal;

- Extracción del AE de las hojas, tallos y flores de ylang-ylang (*Cananga odorata*) por hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHD);

- Obtención de los extractos de hojas y tallos por destilación extracción con solvente simultánea (SDE) y extracción con fluido supercrítico (SFE);

- Obtención de extractos de flores de ylang-ylang por extracción Soxhlet y ultrasonido, en función del tiempo de extracción y del solvente utilizado;

- Obtención de extractos a partir del concreto de las flores de ylang-ylang a tres temperaturas (40-42,52-54 y 60-62ºC) y a dos tiempos (1h y 2h);

- Obtención del aceite de las semillas secas por extracción Soxhlet y derivatización de los ácidos grasos presentes en el aceite;

- Análisis instrumental, empleando GC-MS y GC-FID;

- Identificación de los metabolitos secundarios mediante sus MS.

2.1 RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

Las flores amarillas de ylang-ylang, los tallos, las hojas y los frutos maduros, utilizados en las diferentes extracciones, realizadas en este trabajo, fueron recolectadas de los árboles situados en el complejo agroindustrial de CENIVAM, de la Universidad Industrial de Santander en horas de la mañana. Ver **Figura 13.**

Figura 13. Diferentes partes del árbol de ylang-ylang.

2.2 EXTRACCIÓN DEL AE DE YLANG-YLANG (*Cananga odorata*) POR MWHD

El material vegetal (hojas, tallos y flores) previamente picado y pesado, *ca.* 300 g, se sometió a extracción en un equipo de destilación tipo *Clevenger*, con calentamiento por radiación de microondas en un horno doméstico, marca LG intelowave, modelo MS-1242zk (Seúl, Corea), durante 40 min. (4x10 min.) a una potencia *c.a*. de 60 W.

Después se dejó enfriar el sistema y se recogió 50µL de aceite esencial de flores con 1 mL de diclorometano (Sigma-Adrich, Bellefonte, EEUU) y se agregó a un vial para su posterior análisis por GC-MS. Los tallos no presentaron AE. Para el caso de las hojas, como su AE fue poco, se recogió el aceite que se extrajo con 1 mL de diclorometano.

2.3 OBTENCIÓN DE EXTRACTOS

2.3.1 Extracción con fluido supercrítico (SFE)

El material vegetal (hojas, tallos y flores) previamente picado y pesado *c.a*. 10 g, se extrajo en un montaje Soxhlet de alta presión (*J&W Scientific,* Folsom, CA, EE.UU.) y empleando CO_2 comercial (hielo seco); Las condiciones de operación de la extracción fueron 50ºC y 1100 psi, durante 2 h.

Después de la extracción, el sistema se colocó en un baño de agua fría hasta que la presión bajó a 500 psi; luego, se despresurizó lentamente hasta que la presión fue 0 psi, se abrió el extractor y se agregó 1 mL de diclorometano al extracto obtenido y se pasó a un vial, se adicionó 1µL de tetradecano para su posterior análisis por CG-MS.

2.3.2 Destilación extracción simultánea (SDE)

Se pesaron *ca.* 20 g de material vegetal (hojas y tallos) previamente picado y se adicionaron a un balón de fondo redondo de 50 mL. A este balón se le adicionó una cantidad de agua equivalente a la tercera parte del volumen ocupado por el material vegetal. Posteriormente, se colocó el balón en el sistema de SDE, se agregaron 2 mL de diclorometano a un balón de fondo redondo de 5 mL, y se colocaron en el montaje de SDE; luego se agregó *ca.* 1 mL de diclorometano al cuerpo del montaje para que éste hiciera sifón; después, se calentaron simultáneamente los dos balones hasta lograr ebullición, y se mantuvo el calentamiento hasta 2 h después de la aparición de la primera gota de agua en el dedo frío.

Posteriormente, el sistema se dejó enfriar y el solvente del balón de 5 mL se pasó a un tubo de ensayo para concentrar con nitrógeno gaseoso hasta 1 mL. Finalmente, se transfirió a un vial para su respectivo análisis por CG-MS.

2.3.3 Obtención de extractos de flores con solventes apolares, utilizando Soxhlet y ultrasonido, como método de extracción

Soxhlet: Una vez recolectadas las flores, se picaron y se pesaron *ca*. 40g y se sometieron a recirculación en un equipo Soxhlet a la temperatura de ebullición del hexano (99.9%, *J.T Baker*, Phillipsburg, NJ EE.UU.) durante 2 horas.

Ultrasonido: La obtención del concreto por ultrasonido se realizó en un equipo marca ELMA E 30 H, en el cual se colocaron balones que contenían las flores picadas, y el solvente; unido cada balón a un condensador como muestra la **Figura 14.**

Los experimentos se realizaron variando las siguientes condiciones; solventes: éter de petróleo (95%, *Sigma-Adrich*, Bellefonte, PA EE.UU.), hexano (99.9%, *J.T Baker*, Phillipsburg, NJ EE.UU), y tiempos de extracción. Se tomó 1 mL del extracto, se adicionó 1µL de tetradecano para su posterior análisis por GC-MS.

A **B**

Figura 14. Montaje de obtención de extractos de flores de ylang-ylang. A. Ultrasonido; B. Soxhlet

2.3.4 Obtención de absolutos

Los absolutos fueron obtenidos a partir del concreto, que se obtuvo de la extracción de flores con éter de petróleo en ultrasonido durante 4 horas. Al extracto obtenido anteriormente, se le eliminó el solvente en un rotoevaporador a 40ºC y presión reducida. Lo que quedó, se disolvió en etanol absoluto (99.8%, *Sigma-Adrich*, Bellefonte, PA EE.UU.) a tres temperaturas (40-42ºC, 52-54°C y 60-62ºC), a 1 y 2 horas de extracción. La mezcla se enfrío a 0ºC y se filtró, separando la parte pesada del extracto etanólico para su posterior análisis cromatográfico. Este procedimiento se realizó por duplicado.

2.3.5 Obtención del aceite de las semillas de ylang-ylang

Para obtener el aceite vegetal de las semillas, una vez recolectados los frutos, se les quitaron las semillas y se secaron a 105 ºC hasta peso constante. Una vez secas se trituraron y se pesaron *ca*.45 g, para luego ser extraídas con hexano (99.9%, *J.T Baker*, Phillipsburg, NJ EE.UU.), en recirculación en un extractor Soxhlet durante 24 h. El extracto resultante se concentró, hasta obtener los aceites vegetales libres de solvente.

2.4 CONVERSIÓN DE ÁCIDOS GRASOS A SUS ÉSTERES METÍLICOS

El análisis de FAME se llevó a cabo mediante la obtención de sus ésteres metílicos, siguiendo la Norma ISO 5509 (*Animal and vegetable fats and oils-preparation of methyl esters of fatty acids*), de la siguiente manera: aproximadamente 60 mg del aceite vegetal se colocaron en un tubo de ensayo tapa rosca; seguidamente, se adicionaron 5 mL del complejo de trifluoruro de boro al 14% en metanol (Merck, Hohenbrunn, Alemania). Luego la mezcla se agitó y se

sumergió en un baño de aceite de 85-90 ºC durante 45 min; posteriormente, la muestra se retiró del baño de aceite y se dejó reposar durante 5 min, finalmente se realizó la extracción de los FAME con 3x1 mL de *n*-hexano (99.9%, J.T Baker, Phillipsburg, NJ EE.UU.). Del extracto orgánico se tomó 0.5 mL, y se aforó la mezcla a 1 mL con el mismo solvente.

La identificación de los FAME en las semillas se realizó mediante la comparación de los t_R de sus ésteres metílicos, con los de una mezcla de estándares certificados (99.8%, Matreya, Inc., Pennsylvania, EE.UU.) analizados bajo las mismas condiciones cromatográficas, utilizando GC-FID como técnica analítica. La confirmación estructural de los FA fue realizada con base en sus espectros de masas.

2.5 ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LOS AE Y EXTRACTOS DE FLORES DE YLANG-YLANG.

Para determinar la concentración del benzoato de bencilo y el linalool, compuestos mayoritarios en los AE y extractos de flores de ylang-ylang, se realizó una cuantificación aplicando el método de estandarización externa. Para esto; se prepararon soluciones *Stock* de patrones certificados de benzoato de bencilo (*Sigma-Adrich,*) (55341ppm) y linalool (*Sigma-Adrich*) (42195ppm). A partir de estas soluciones, se prepararon diluciones, en diferentes concentraciones, como se muestra en la **Tabla12.**

Tabla 12. Concentración de soluciones patrón de benzoato de bencilo y linalool, utilizadas en la curva de calibración.

Patron	Concentración (ppm)														
Benzoato de bencilo	55341	33205	221360	16602	11068	8301	5534	2767	1107	830	553	277	111	55	28
Linalool	42195	25317	16878	12659	8439	6329	4220	2110	844	633	422	211	84		

Una vez preparadas las soluciones de patrones, se procedió a analizarlas bajo las mismas condiciones cromatográficas que las muestras de los AE y extractos. Posteriormente, con los valores de concentración y las correspondientes áreas, se construyeron las curvas de calibración, para cada una de las sustancias de referencia, las cuales se ajustaron por regresión lineal. Los factores de respuesta del equipo, Rf, para cada una de las sustancias analizadas se determinaron con base en la pendiente obtenida para cada recta, la cual está asociada con la siguiente relación:

$$Rf = \frac{Concentración \ (\mu g/mL)}{Área \ (cuentas)}$$

Con los valores de Rf de los patrones certificados, se calcularon las concentraciones de estas sustancias en las muestras de AE.

2.6 ANÁLISIS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS (GC-MS)

El análisis de las muestras se realizó en un cromatógrafo de gases *Agilent Technologies* 6890 *Plus Series* acoplado a un detector selectivo de masas *Agilent Technologies* MSD 5973 *Network* (GC-MS) (Véase **Figura 15)**, equipado con un sistema computarizado de datos MSD *ChemStation* (Versión D.02.00.275). La

identificación de los compuestos se realizó comparando sus espectros de masas con los de las bases de datos (NBS75K; WILEY 7n, ADAMS Y NIST02). Se utilizaron adicionalmente los índices de retención de Kovàts como criterio de identificación

Figura 15. Cromatógrafo de gases *Agilent Technologies* 6890 *Plus Series* GC, acoplado a un detector selectivo de masas.

Los parámetros operacionales del cromatógrafo de gases fueron los siguientes:

- Puerto de inyección: split/splitless (relación Split 1:30)
- Temperatura del puerto de inyección: 250ºC
- Columna capilar: DB-5 (*J & W Scientific, Folsom, CA, EE.UU*), de 60 m (L) x 0.25 mm (D.I) recubierta con fase estacionaria apolar de 5% fenil-poli (metilsiloxano).

- Temperatura del horno: Se programó desde 45ºC (5 min) @ 4ºC/min, hasta 150ºC (2 min) @ 5ºC/min; luego de 250ºC (5 min) @ 5ºC/min, hasta alcanzar 275ºC (15 min) @ 10ºC/min.
- Gas de arrastre: helio, presión de entrada a la columna 16,47 psi con velocidad lineal de flujo de 26 cm/s
- Modo de inyección: automático
- Volumen de inyección: 1 µL de muestra.

Los parámetros operacionales del detector selectivo de masas

- Analizador: cuadrupolar
- Funcionamiento del cuadrupolo: barrido automático de radiofrecuencia completo (*full scan*) con velocidad 4.75 scan/s, en el rango de masas 40-350 u.m.a
- Energía de los electrones bombardeantes: 70 eV.

Para el análisis de los metabolitos secundarios volátiles en columna polar, se empleó un cromatógrafo *Agilent Technologies 6890N Network Series GC*, acoplado a un espectrómetro de masas *Agilent Technologies 5975 Inert XL* (Véase **Figura 16**), con un sistema computarizado de datos MSD *ChemStation* (Versión D.02.00.275).

Figura 16. Cromatógrafo de gases *Agilent Technologies 6890N Network Series*, con columna polar, acoplado a un espectrómetro de masas.

Los parámetros operacionales del cromatógrafo de gases fueron los siguientes:

- Puerto de inyección: split/splitless (relación Split 50:1)
- Temperatura del puerto de inyección: 250ºC
- Columna capilar: DB-WAX (*J & W Scientific, Folsom, CA, EE.UU*.) de

  60 m (L) x 0.25 mm (D.I.) x 0.25 µm; recubierta con fase estacionaria polar entrecruzada e inmovilizada de poli (etilenglicol).
- Temperatura del horno: se programó desde 45ºC (5 min) @ 3ºC/min, hasta 120ºC (3 min) @ 4ºC/min, luego de 250ºC (5 min) @ 5ºC/min, hasta alcanzar 220ºC (5 min) @ 10ºC/min.
- Gas de arrastre: helio, con presión de entrada a la columna 20.15 psi con velocidad lineal de flujo de 39 cm/s.

- Modo de inyección: automático
- Volumen de inyección: 2 µL de muestra.

Los parámetros operacionales del detector selectivo de masas fueron:

- Analizador: cuadrupolar
- Funcionamiento del cuadrupolo: barrido automático de radiofrecuencia completo (*full scan*) con velocidad 4.75 scan/s, en el rango de masas 40-350 u.m.a
- Energía de los electrones bombardeantes: 70 eV.

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1 ESTUDIO DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS DE HOJAS Y TALLOS

3.1.1 Análisis comparativo de la composición química de los extractos y AE de las hojas de *Cananga odorata* obtenidos por diferentes métodos de extracción.

En la **Figura 17** aparecen los perfiles cromatográficos típicos obtenidos, empleando una columna DB-5 (60m) y utilizando un detector de masas (MSD), de los metabolitos secundarios volátiles, aislados por MWHD, SDE y SFE, de las hojas de *Cananga odorata.*

Más de 50 componentes se encontraron en el AE de las hojas de *Cananga odorata* y más de 20, en los extractos de SFE y SDE en concentraciones relativas > 0.01%, como se observa en la **Tabla 13.**

Trans-β-Cariofileno (25-29%), D-germacreno (11-15%) y α-humuleno (10-14%) fueron los compuestos mayoritarios tanto del AE de las hojas de *Cananga odorata* obtenido por MWHD, como del extracto, aislado por SDE, en proporciones similares; el α-pineno a diferencia de los anteriores, se obtuvo en una proporción mayor en el extracto (21%) que en el AE (4.3%). Otros componentes mayoritarios fueron β-cubebeno (4.3%), α-copaeno (4.0%) para MWHD y 2-*trans*-hexenol (7.9%), β-pineno (6.1%), para SDE.

MWHD y SDE produjeron fracciones que presentaron en su composición más compuestos volátiles, que SFE. Con este último se extrajo una mayor cantidad de compuestos pesados *i.e*. hidrocarburos (C>20), tal como se puede apreciar en la **Tabla 13.**

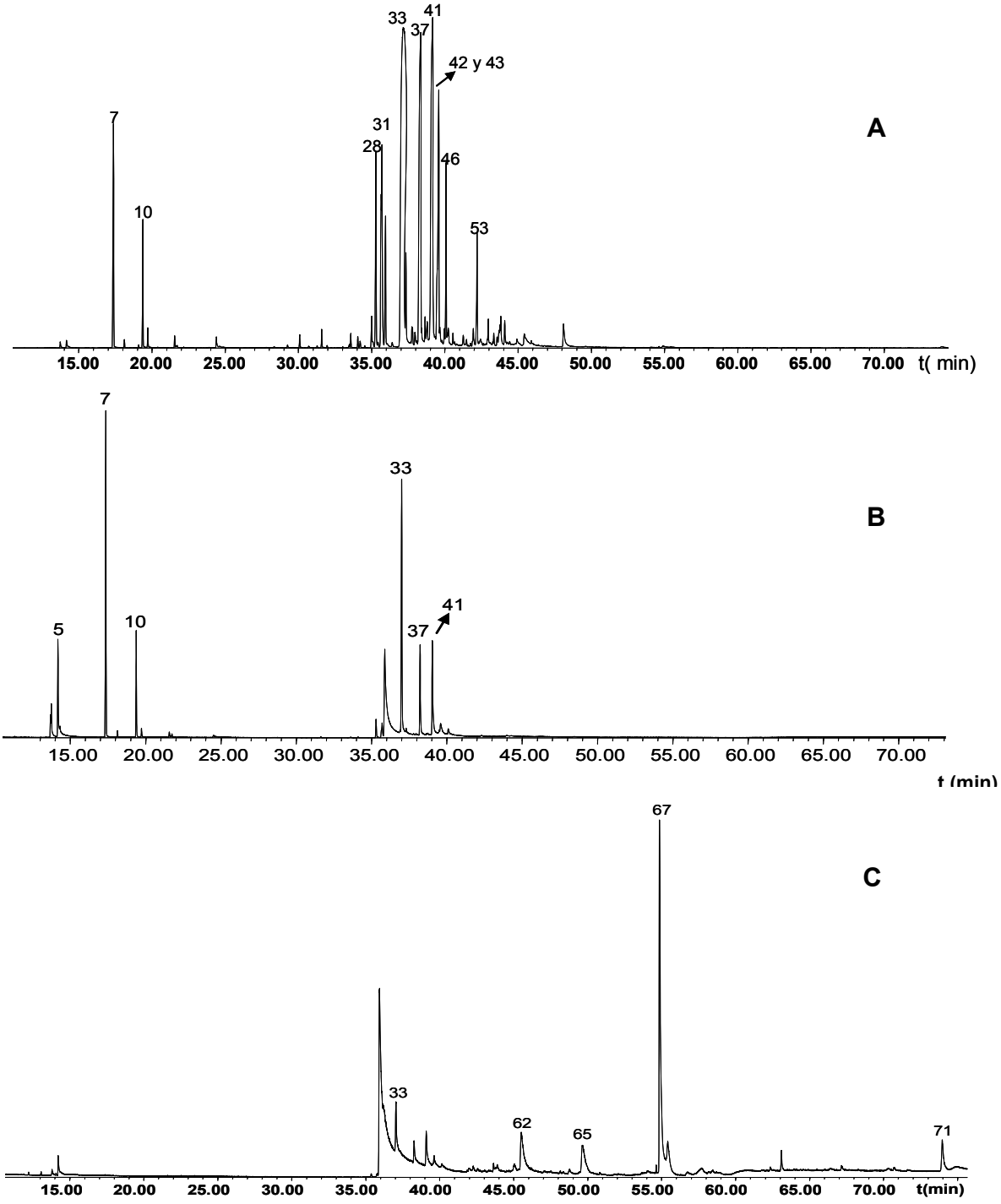


Figura 17. Perfiles cromatográficos típicos de los extractos y aceite esencial de las hojas de *Cananga odorata* (ylang-ylang), obtenidos por MWHD (**A**), SDE (**B**) y SFE (**C**). Columna DB-5 (60m). *Split* (1:30). MSD. La identificación de los componentes aparece en la **Tabla 13.**

Tabla 13. Composición química de las fracciones de metabolitos secundarios volátiles, obtenidas de las hojas de *Cananga odorata*, por diferentes técnicas de extraccón

Nº [a] Pico	I_k [b] DB-5	DB-Wax	Compuesto	Cantidad relativa % MWHD	SDE	SFE
1	820	1014	Hidrocarbburo<C10	- ± -	- ± -	0,13 ± 0,05
2	841	1015	Hidrocarburo<C10	- ± -	- ± -	0,12 ± 0,04
3	854	1211	2-*trans*- Hexanal	- ± -	1,5 ± 0,3	- ± -
4	855	1380	3-*cis* -Hexenol	0,10 ± 0,02	4,0 ± 1,0	0,32 ± 0,04
5	865	1402	2-*trans* -Hexenol	0,12 ± 0,04	7,9 ± 0,8	0,9 ± 0,2
6	877	1411	2-*cis*- Hexenol	- ± -	1,7 ± 0,4	- ± -
7	937	1025	α-Pineno	4,3 ± 0,7	20,9 ± 3,1	0,037 ± 0,01
8	954	1059	Canfeno	0,10 ± 0,02	0,39 ± 0,07	- ± -
9	975	1115	Sabineno	0,043 ± 0,008	- ± -	- ± -
10	982	1102	β-Pineno	1,8 ± 0,2	6,1 ± 0,5	- ± -
11	989	1148	β-Mirceno	0,24 ± 0,07	0,67 ± 0,08	- ± -
12	1033	1193	Limoneno	0,14 ± 0,03	0,40 ± 0,02	- ± -
13	1035	1205	Felandreno	0,014 ± 0,003	0,060 ± 0,003	- ± -
14	1037	1236	1.8-Cineol	0,021 ± 0,002	0,23 ± 0,04	- ± -
15	1101	1541	Linalool	0,23 ± 0,05	0,48 ± 0,08	- ± -
16	1225	1200	β-Ciclocitral	0,059 ± 0,001	- ± -	- ± -
17	1246	1518	Acetato de linalool	0,18 ± 0,04	- ± -	- ± -
18	1259	–	2,6,6-trimetil-1-Ciclohexen-1-acetaldehído*	*tr* ± -	- ± -	- ± -
19	1262	1258	2-*trans*- Decenal	0,032 ± 0,002	- ± -	- ± -
20	1285	1589	Acetato de bornilo	0,24 ± 0,05	0,091 ± 0,001	- ± -
21	1295	–	Trans-Acetato de Pinocarvilo	0,040 ± 0,006	- ± -	- ± -
22	1323	–	Acetato de mirtenilo	0,020 ± 0,004	- ± -	- ± -
23	1335	1482	Bicicloelemeno	0,062 ± 0,002	- ± -	- ± -
24	1337	1469	δ-Elemeno	0,20 ± 0,01	0,13 ± 0,02	- ± -
25	1350	1459	α-Cubebeno	0,16 ± 0,03	0,10 ± 0,04	- ± -
26	1354	1679	Acetato de nerilo	0,11 ± 0,02	- ± -	- ± -
27	1374	1753	Acetato de geranilo	0,57 ± 0,08	- ± -	- ± -
28	1382	1510	α-Copaeno	4,00 ± 0,15	1,9 ± 0,4	0,17 ± 0,03
29	1386	1491	α-Ylangene	0,067 ± 0,001	- ± -	- ± -
30	1392	1522	β-Burboneno	2,5 ± 0,3	2,0 ± 0,4	0,12 ± 0,02
31	1393	1579	β-Cubebeno	4,3 ± 0,2		- ± -
32	1413	1597	*cis* -Cariofileno	0,12 ± 0,07	- ± -	- ±
33	1436	1604	*trans* -Cariofileno	29,2 ± 2,4	24,7 ± 4,5	2,9 ± 0,5
34	1441	1610	β-Gurjuneno	1,6 ± 0,6	0,49 ± 0,06	- ± -
35	1454	1626	*trans* -β-Farneseseno	0,47 ± 0,07	0,15 ± 0,01	- ± -
36	1460	1636	allo-Aromandrene	0,21 ± 0,08	0,21 ± 0,03	- ± -
37	1471	1680	α-Humuleno	14,0 ± 1,4	9,9 ± 3,2	1,1 ± 0,1
38	1473	1687	γ-Gurguneno	0,42 ± 0,02	- ± -	- ± -
39	1480	1699	γ-Muuroleno	0,489 ± 0,098	0,19 ± 0,06	- ± -
40	1485	1711	NI	0,67 ± 0,01	0,34 ± 0,02	- ± -
41	1496	1717	D-Germacreno	15,4 ± 1,6	11,4 ± 2,6	2,4 ± 0,1
42	1509	1730	α-Muuroleno	6,7 ± 1,3	0,41 ± 0,02	0,32 ± 0,01
43	1510	1735	*cis*- α-Bisaboleno		2,8 ± 0,1	

Continuación, **Tabla 13.**

44	1512	1692	γ-Amorfeno	0,41 ± 0,01	- ± -	- ± -
45	1522	1748	γ-Cadineno	0,23 ± 0,05	- ± -	- ± -
46	1526	1763	δ-Cadineno	3,0 ± 0,5	1,3 ± 1,0	- ± -
47	1529	1770	β-Sesquifelandreno	0,17 ± 0,04	- ± -	- ± -
48	1531	1775	*Cis*- Calameneno+Zonareno	0,39 ± 0,06	- ± -	- ± -
49	1542	1781	*Trans* -Cadina 1,4-dieno	0,12 ± 0,02	- ± -	- ± -
50	1565	–	Silfiperfol-5-en-3-ol*	0,24 ± 0,06	- ± -	- ± -
51	1573	–	B-Germacreno	0,16 ± 0,05	*tr* ± -	- ± -
52	1588	2026	D-Germacreno 4-ol	0,44 ± 0,09	- ± -	- ± -
53	1597	1998	Óxido de Cariofileno	2,13 ± 0,31	0,13 ± 0,01	0,15 ± 0,06
54	1626	2011	Humuleno epoxido II	0,42 ± 0,01	- ± -	- ± -
55	1640	2037	1-epi-Cubenol	0,192 ± 0,098	- ± -	- ± -
56	1648	2362	*epoxi-allo*- Aromadendreno	0,18 ± 0,03	0,05 ± 0,01	0,32 ± 0,09
57	1653	–	*epi-α*- Cadinol	0,30 ± 0,01	- ± -	- ± -
58	1656	–	Cubenol *	0,31 ± 0,09	- ± -	- ± -
59	1658	2135	α-Muurolol	0,56 ± 0,02	- ± -	0,14 ± 0,02
60	1668	2237	α-Cadinol	0,44 ± 0,07	- ± -	- ± -
61	1703	2374	Kusinol*	0,12 ± 0,06	- -	0,68 ± 0,03
62	1720	2352	*cis-cis* -Farnesol	0,48 ± 0,01	- ± -	5,3 ± 0,3
63	1834	2260	2-*cis* ,6-*trans*- Acetato de farnesilo	0,84 ± 0,09	- ± -	0,23 ± 0,03
64	1864	–	NI	- ± -	- ± -	0,18 ± 0,02
65	1904	–	Óxido de 3-butilpiridina*	- ± -	- ± -	2,7 ± 0,2
66	2150	–	NI	- ± -	- ± -	0,29 ± 0,05
67	2161	–	Ácido graso*	- ± -	- ± -	41 ± 7,3
68	2180	–	NI	- ± -	- ± -	36 ± 4,9
69	2200	2198	Docosano	- ± -	- ± -	0,084 ± 0,001
70	2451	–	Ácido 1,2-Bencenodicarboxilico*	- ± -	- ± -	1,1 ± 0,5
71	3265	–	Hidrocarburo C>25	- ± -	- ± -	3,31 ± 0,06

a. Número de pico ; b. índices de Kovàts determinados experimentalmente; * identificación tentativa; NI no identificado; *tr* . Trazas.

Nota: El corredor de error para los valores promedios determinados fue calculado para un intervalo de confianza del 95%, según la regla de student (μ = promedio ± t*s/√n). T= 12.71; n=2 ; s: desviación estándar

En la **Figura 18,** se observa la diferencia en la composición química de los aceites esenciales y extractos de las hojas de ylang-ylang, donde se agruparon los resultados (**Tabla 13**) en familias de compuestos. Los monoterpenos y sesquiterpenos predominaron en el AE y en el extracto SDE. Los hidrocarburos y sus análogos oxigenados se aislaron en mayor proporción, usando la técnica SFE.

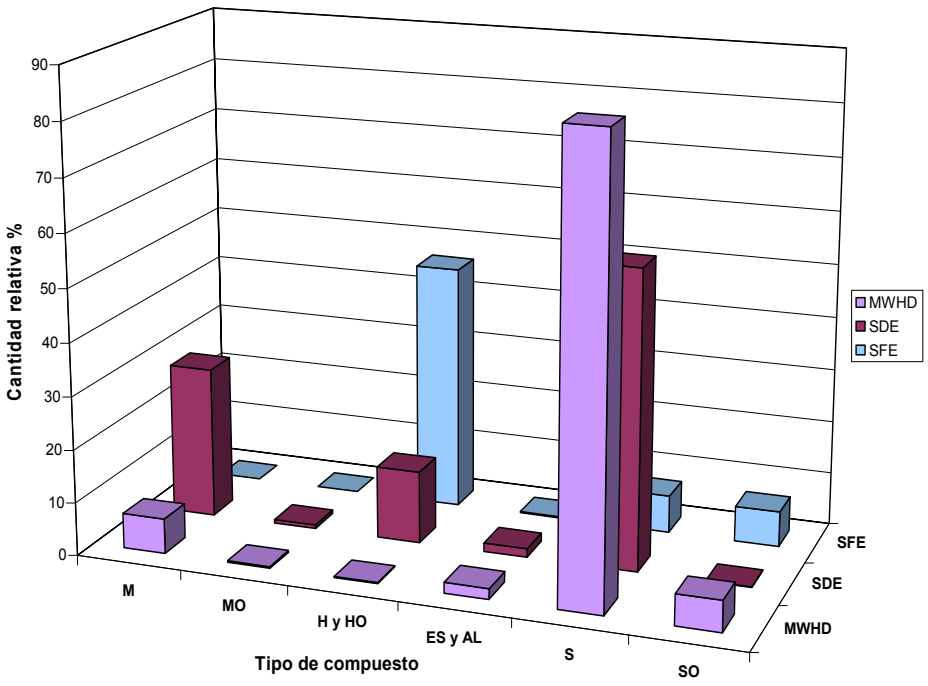


Figura 18. Distribución de los principales tipos de compuestos en los AE y extractos de las hojas de *Cananga odorata*, obtenidos por diferentes métodos de extracción. M: Monoterpenos, MO: monoterpenos oxigenados, S: sesquiterpenos, SO: sesquiterpenos oxigenados, ES: ésteres, AL: aldehídos, H: hidrocarburos, HO: hidrocarburos oxigenados.

3.1.2 Análisis comparativo de la composición química de los extractos y AE de los tallos de *Cananga odorata* obtenidos por diferentes métodos de extracción.

En la **Tabla 14,** se presenta la identificación de los extractos de tallos de *Cananga odorata* obtenidos por SDE y SFE. Más de 10 componentes fueron registrados en concentraciones relativas > 0.1%.

Tabla 14. Composición química de las fracciones de metabolitos secundarios volátiles, obtenidas de los tallos de *Cananga odorata*, por SDE y SFE.

Nº [a] pico	I_k [b] DB-5	I_k [b] DB-Wax	Compuesto	Cantidad relativa % SDE	Cantidad relativa % SFE
1	820	1014	Hidrocarburo < C10	- ± -	0,43 ± 0,08
2	841	1015	Hidrocarburo < C10	- ± -	0,95 ± 0,01
3	855	1380	3-*cis*-Hexenol	7,9 ± 1,2	0,31 ± 0,05
4	937	1025	α-Pineno	10,7 ± 0,7	- ± -
5	982	1102	β-Pineno	2,3 ± 0,1	- ± -
6	1382	1510	α-Copaeno	2,8 ± 0,3	0,77 ± 0,08
7	1436	1604	*trans*-Cariofileno	14,5 ± 1,2	- ± -
8	1471	1680	α-Humuleno	4,3 ± 0,3	- ± -
9	1496	1717	D-Germacreno	38,9 ± 3,4	- ± -
10	1509	1734	α-Muuroleno	2,3 ± 0,3	- ± -
11			*cis*-Bisaboleno		
12	1529	1770	β-Sesquifelandreno	2,5 ± 0,4	- ± -
13	1648	2362	*epoxi-allo*-Aromandreno	- ± -	1,5 ± 0,1
14	1658	2135	α-Muurolol	2,0 ± 0,2	- ± -
15	1676	-	NI	1,6 ± 0,1	- ± -
16	1678	-	NI	9,5 ± 0,6	- ± -
17	1867	-	NI	- ± -	0,58 ± 0,06
18	1896	-	NI	- ± -	0,96 ± 0,08
19	2200	2198	Docosano	- ± -	86,7 ± 6,7
20	3003	-	Hidrocarburo > C25	- ± -	2,5 ± 0,4
21	3201	-	Hidrocarburo > C26	- ± -	2,8 ± 0,4
22	3789	-	Hidrocarburo > C27	- ± -	1,4 ± 0,1
23	-	-	Hidrocarburo > C28	- ± -	0,56 ± 0,06
24	-	-	Hidrocarburo > C29	- ± -	0,47 ± 0,05

a. Número de pico ; b. índices de Kovàts determinados experimentalmente; NI. no identificado.

Nota: El corredor de error para los valores promedios determinados fue calculado para un intervalo de confianza del 95%, según la regla de student (μ = promedio ± $t^*s/\sqrt{n}$). T= 12.71; n=2 ; s: desviación estándar

Los componentes mayoritarios del extracto de tallos de *Cananga odorata* obtenido por SDE fueron: D-germacreno (38.9%), y *trans*-β-cariofileno (14,5%). Para SFE, el componente mayoritario fue el docosano (86.7%), seguido de otro hidrocarburo (>C25) (2.8%).

En la **Figura 19**, aparecen los perfiles cromatográficos típicos de los extractos aislados por SDE y SFE de los tallos de *Cananga odorata*.

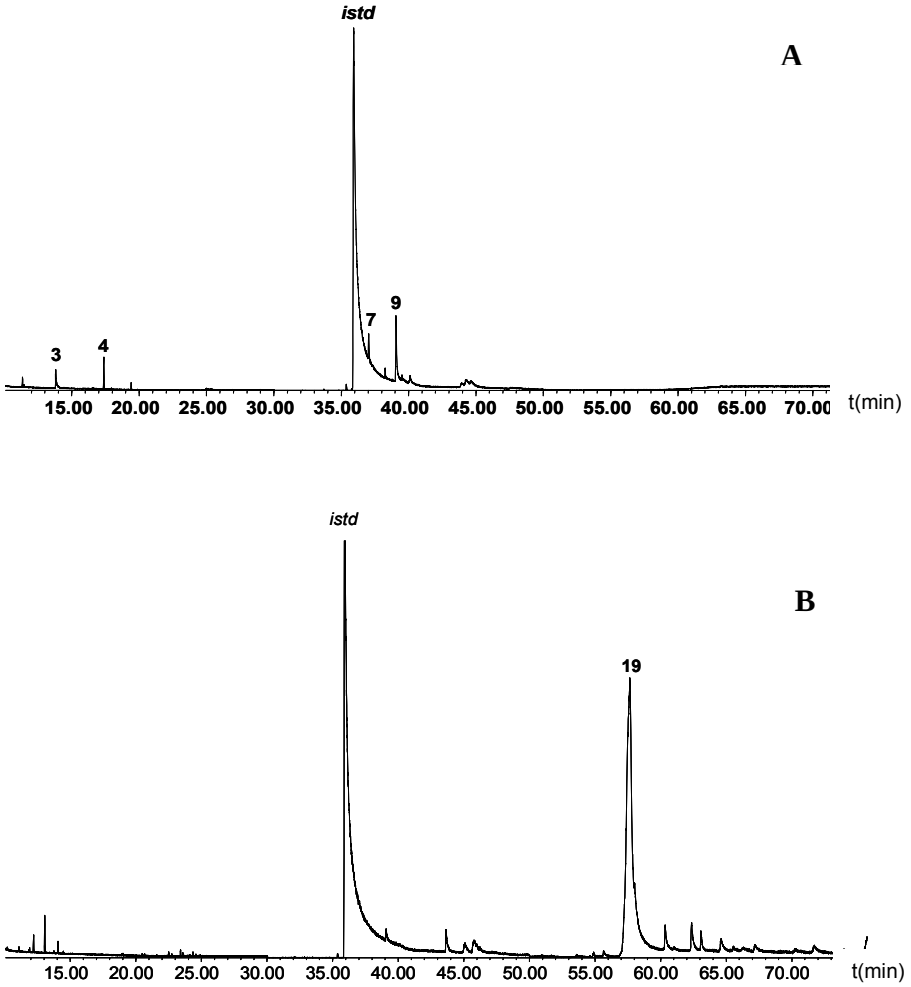


Figura 19. Perfiles cromatográficos típicos de los extractos de los tallos de *Cananga odorata* (ylang-ylang), obtenidos por SDE (**A**) y SFE (**B**). Columna DB-5 (60m). *Split* (1:30). MSD (EI, 70 eV). La identificación de los componentes aparece en la **Tabla 14.**

En comparación con los extractos de las hojas (**Figura 17),** los perfiles cromatográficos de los extractos de tallos (**Figura 19)** obtenidos por las mismas técnicas (SDE y SFE), presentaron una menor cantidad de picos.

La diferencia en la composición química de los extractos de tallos de *Cananga odorata*, obtenidos por SDE y SFE, se ilustra en la **Figura 20,** en la cual se agruparon los resultados (**Tabla 14**) en familias de compuestos. En esta **Figura**, se puede apreciar que los sesquiterpenos predominaron en los extractos SDE con *ca.* 67% de la composición total, mientras que con la técnica de SFE se logró recuperar *ca.*96 % de hidrocarburos de alto peso molecular.

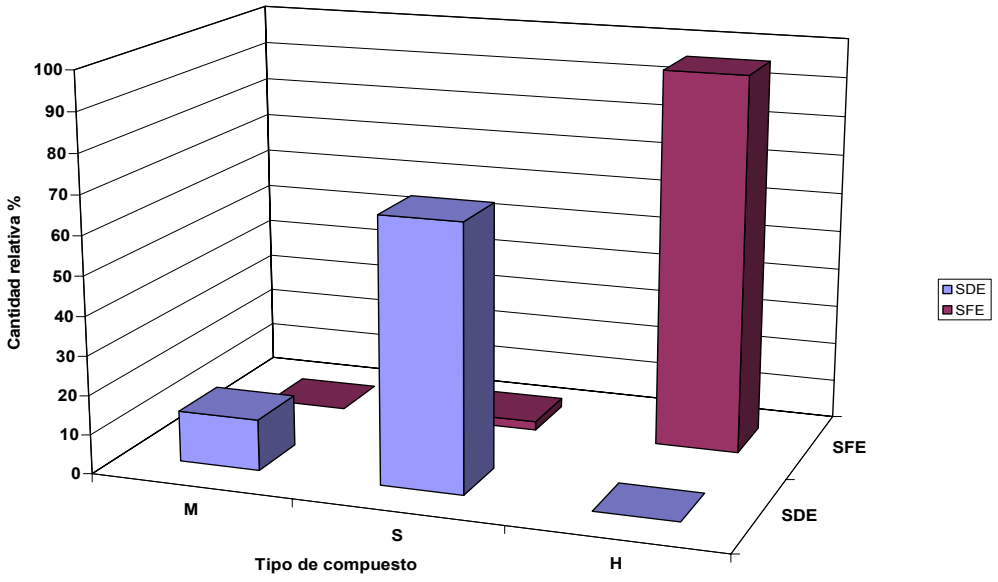
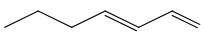
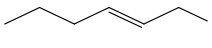


Figura 20. Distribución de los principales tipos de compuestos en los extractos de los tallos de *Cananga odorata*, obtenidos por diferentes métodos de extracción. M: Monoterpenos, S: Sesquiterpenos, H: hidrocarburos.

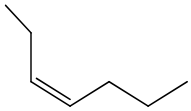
En la **Figura21**, se presentan las estructuras de los metabolitos secundarios vólatiles presentes en el AE y extractos de hojas y tallos de ylang-ylang.



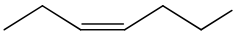
2-*trans*-Hexenal



2-*trans*-Hexenol

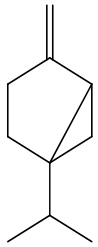


2-*cis*-Hexenol

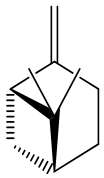


3-*cis*-Hexenol

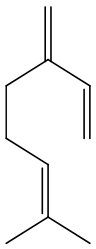
α-Pineno



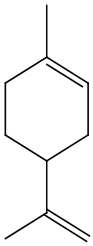
Sabineno



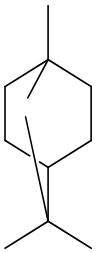
β-Pineno



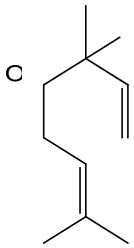
β-Mirceno



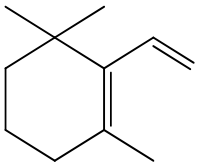
Limoneno



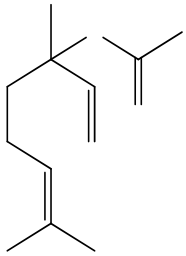
1,8-Cineol



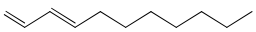
Linalool



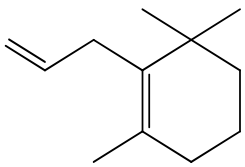
β-Ciclocitral



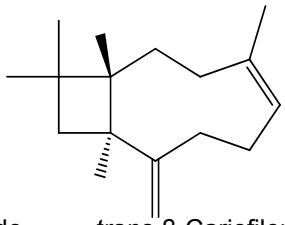
Acetato de linalool



2-*trans*-Decenal



2,6,6-trimetil-1-Ciclohexen-1-acetaldehido



trans-β-Cariofileno

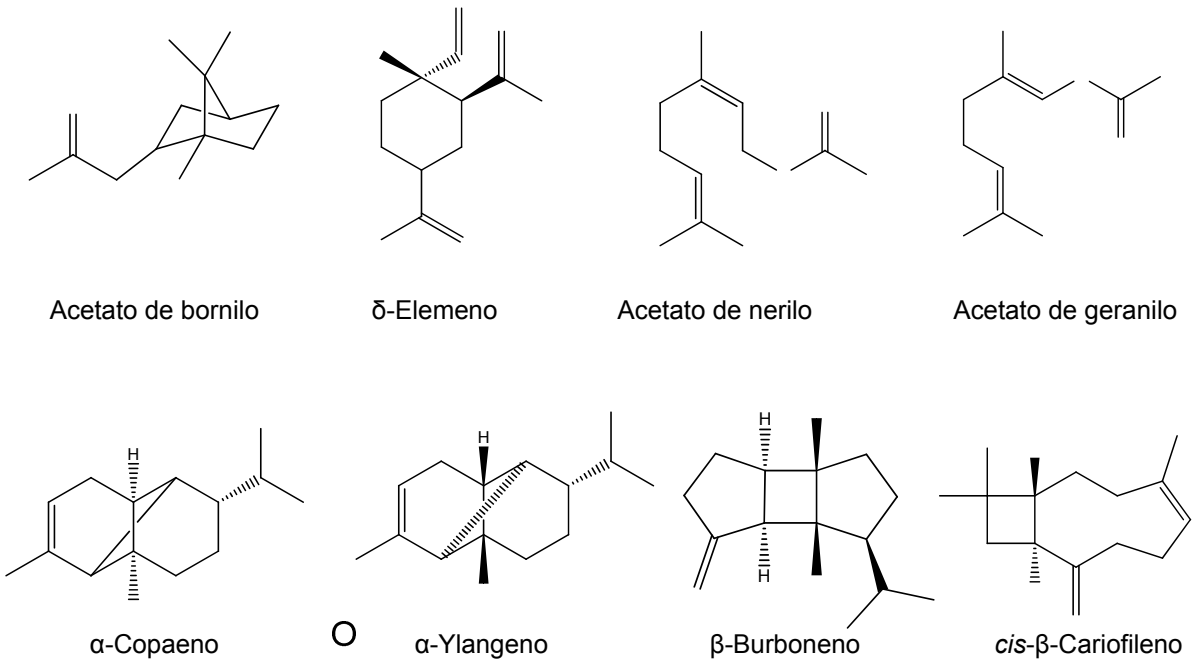


Figura 21. Estructuras de los metabolitos secundarios volátiles, presentes en el AE y extractos de hojas y tallos de ylang-ylang.

3.2 OBTENCIÓN DE EXTRACTOS DE FLORES DE YLANG-YLANG

En el proceso de obtención de los concretos, la extracción con solventes apolares, es un paso fundamental, ya que su composición química depende directamente de las condiciones de extracción; es por esto que se estudió el extracto de las flores, variando los parámetros a saber: solvente y tiempo de extracción.

3.2.1 Extractos de las flores de ylang-ylang con solventes apolares

3.2.1.1 Comparación de la composición química de los extractos obtenidos mediante las técnicas de ultrasonido y Soxhlet.

En las **Figuras 22** y **23,** aparecen los perfiles cromatográficos típicos y las cantidades relativas (%), respectivamente, de los extractos de las flores de *Cananga odorata*, obtenidos por las técnicas de ultrasonido y Soxhlet.

Los perfiles cromatográficos de los extractos presentan una gran similitud en las cantidades relativas de sus compuestos (**Figura 22)**. Los componentes mayoritarios de los concretos obtenidos por Soxhlet (con hexano como solvente) y ultrasonido (usando hexano y éter de petróleo), fueron: benzoato de bencilo (25-27%) seguido por linalool (9.6-11%), D-germacreno (9.7-11) y acetato de bencilo (7.8%).

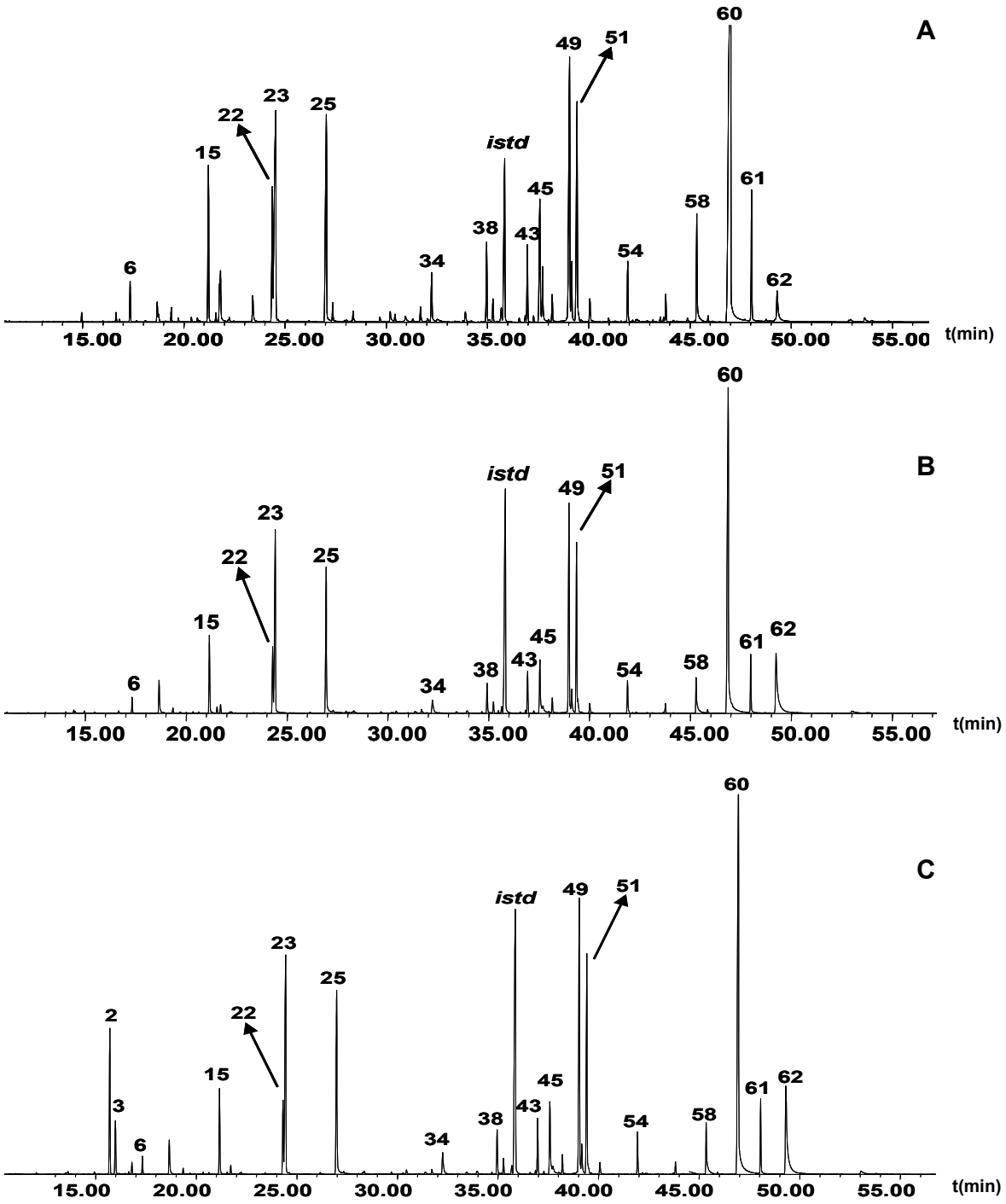


Figura 22. Perfiles cromatográficos típicos de los extractos Soxhlet y ultrasonido, de flores de *Cananga odorata* (ylang-ylang). Soxhlet hexano(**A)**, ultrasonido hexano (**B),** ultrasonido éter **(C)**. Columna DB-5 (60m). *Split* (1:30). MSD. La identificación de los componentes aparece en la **Tabla 15.**

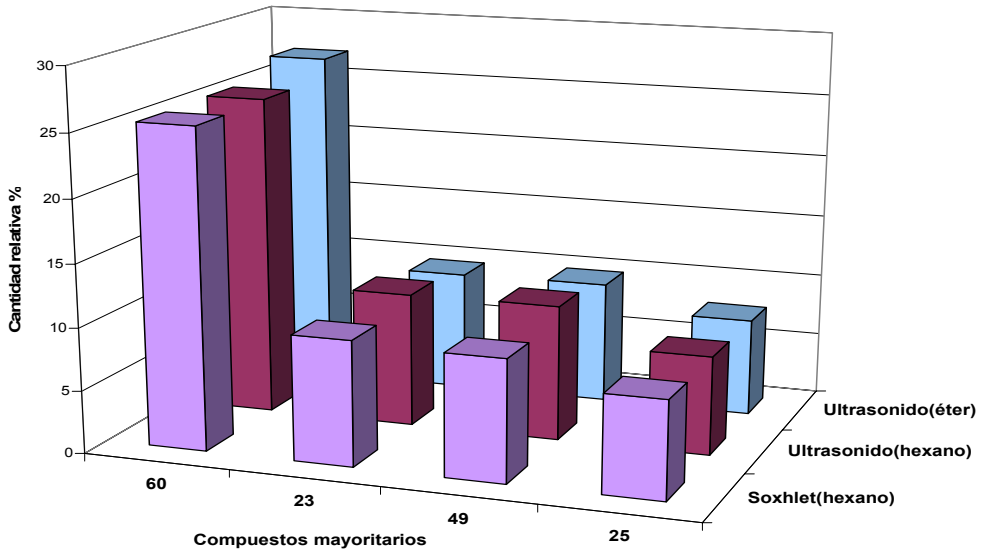


Figura 23. Compuestos mayoritarios de los extractos de flores de *Cananga odorata*, obtenidos por diferentes métodos de extracción con dos tipos de solventes. Los números representan los compuestos que aparecen en la **Tabla 14.**

La diferencia en la composición química de los extractos de flores de *Cananga odorata*, obtenidos por ultrasonido y Soxhlet, se ilustra en la **Figura 24,** en la cual se agruparon los resultados (**Tabla 15**) en familias de compuestos. En esta misma **Figura,** se puede apreciar que ésteres y aldehídos representaron *ca.* 49% en todos los extractos de flores obtenidos; por el contrario, los monoterpenos y sesquiterpenos oxigenados se aislaron en baja proporción. Más de 50 componentes en cantidades relativas > 0.05% se encontraron en todos los extractos de las flores de *Cananga odorata* (**Tabla 14**).

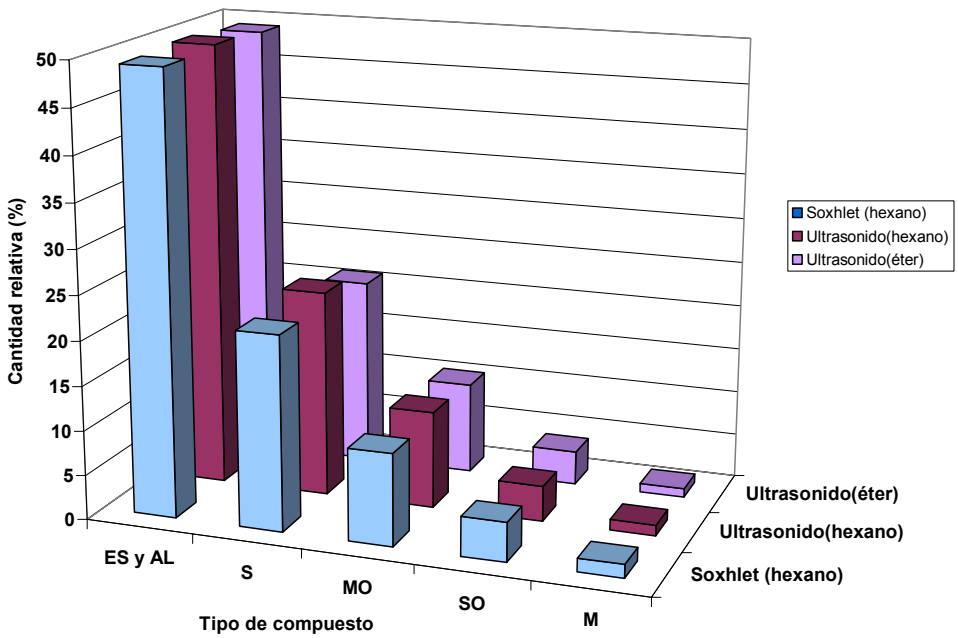


Figura 24. Distribución de las principales familias de compuestos en los extractos de flores de *Cananga odorata*, obtenidos por diferentes métodos de extracción y tipo de solvente. ES: ésteres, AL: aldehídos, M: monoterpenos, MO: monoterpenos oxigenados S: sesquiterpenos, SO: sesquiterpenos oxigenados.

Tabla 15. Composición química de los metabolitos secundarios volátiles, de los extractos por Soxhlet y ultrasonido de las flores de *Cananga odorata*,

N°[a] pico	I_k[b] DB-5	I_k[b] DB-Wax	Compuesto	Cantidad relativa% Soxhlet (hexano)	Ultrasonido (hexano)	Ultrasonido (éter)
1	882	1199	Acetato de 3-metil-3-buten-1-ol	0,20 ± 0,04	0,11 ± 0,03	0,10 ± 0,02
2	899	-	Nonano	- ± -	- ± -	4,6 ± 0,1
3	905	-	NI	- ± -	- ± -	2,0 ± 0,3
4	920	1254	Acetato de 3-metil-2-buten-1-ol	0,20 ± 0,03	0,11 ± 0,02	0,09 ± 0,01
5	923	-	NI	0,061 ± 0,001	0,011 ± 0,001	0,40 ± 0,05
6	935	1025	α-Pineno	0,85 ± 0,07	0,63 ± 0,07	0,54 ± 0,06
7	954	1059	Canfeno	*tr* ± -	*tr* ± -	0,020 ± 0,009
8	965	1529	Benzaldehído	0,48 ± 0,05	1,7 ± 0,3	1,4 ± 0,1
9	975	1115	Sabineno	0,034 ± 0,005	0,012 ± 0,001	0,01 0,001
10	980	1102	β-Pineno	0,31 ± 0,04	0,21 ± 0,03	0,18 ± 0,03
11	988	1148	β-Mirceno	0,081 ± 0,006	0,040 ± 0,001	0,037 ± 0,001
12	1005	1320	*cis*-3-Acetato de hexenilo	0,09 ± 0,01	0,061 ± 0,006	0,063 ± 0,005
13	1012	1275	Acetato de hexilo	0,095 ± 0,008	0,058 ± 0,001	0,057 ± 0,002
14	1015	-	Acetato de 2-hexenol	0,031 ± 0,005	0,014 ± 0,001	- ± -
15	1017	1438	*p*-Cresol meti éter	4,2 ± 0,3	3,6 ± 0,5	3,0 ± 0,3
16	1033	1193	Limoneno	0,19 ± 0,05	0,25 ± 0,04	0,20 ± 0,04
17	1037	1236	1,8 - Cineol	2,1 ± 0,3	0,34 ± 0,01	0,41 ± 0,01
18	1032	1877	Alcohol bencílico			
19	1036	1650	Bencenoacetaldehído	0,036 ± 0,004	0,039 ± 0,003	0,011 ± 0,001
20	1047	1256	*trans*-β-Ocimeno	0,10 ± 0,02	0,077 ± 0,004	0,083 ± 0,005
21	1058	2068	*p*-Cresol	0,81 ± 0,09	0,021 ± 0,003	0,087 ± 0,006
22	1089	1624	Benzoato de metilo	3,7 ± 0,2	2,9 ± 0,2	2,7 ± 0,1
23	1099	1541	Linalool	10,1 ± 0,5	10,7 ± 0,4	10,1 ± 0,3
24	1128	2069	Veratrol	0,038 ± 0,002	0,056 ± 0,006	0,058 ± 0,006
25	1165	1736	Acetato de bencilo	7,8 ± 0,5	7,9 ± 0,7	7,8 ± 0,9
26	1172	1671	Benzoato de etilo	0,37 ± 0,02	0,25 ± 0,01	0,22 ± 0,01
27	1192	1785	Salicilato de metilo	*tr* ± -	0,018 ± 0,001	0,015 ± 0,001
28	1195	1703	α-Terpineol	0,15 ± 0,06	0,089 ± 0,008	0,10 ± 0,02
29	1217	1795	3,4-Dimetoxytolueno	0,12 ± 0,05	0,083 ± 0,007	0,086 ± 0,008
30	1253	1820	Acetato de 2-feniletilo	0,16 ± 0,05	0,12 ± 0,04	0,18 ± 0,07
31	1268	2039	*trans*-Cinamaldehído	0,14 ± 0,04	0,15 ± 0,05	0,14 ± 0,05
32	1276	1832	*Trans*-Anetol	0,40 ± 0,06	0,22 ± 0,03	0,22 ± 0,03
33	1283	2456	Indol	0,12 ± 0,05	0,020 ± 0,003	0,032 ± 0,004
34	1292	2115	1,2-Nitrofeniletano	1,4 ± 0,2	1,1 ± 0,1	1,2 ± 0,1
35	1316	2061	Anisato de metilo	0,021 ± 0,001	0,12 ± 0,02	0,084 ± 0,009
36	1331	2251	Antranilato de metilo	0,30 ± 0,05	0,20 ± 0,04	0,24 ± 0,05
37	1350	-	3-Metil-tridecano	0,01198 ± 0,002	0,075 ± 0,006	0,060 ± 0,005
38	1378	1753	Acetato de geranilo	2,0 ± 0,2	1,5 ± 0,1	1,5 ± 0,1
39	1382	1510	α-Copaeno	0,56 ± 0,06	0,52 ± 0,05	0,46 ± 0,05
40	1392	1579	β-Cubebeno	0,44 ± 0,05	0,37 ± 0,03	0,35 ± 0,02
41	1404	-	p- Acetato de anisilo	0,11 ± 0,05	0,056 ± 0,004	0,076 ± 0,006
42	1412	-	α-Gurjuneno	0,15 ± 0,05	0,12 ± 0,02	0,12 ± 0,01
43	1436	1605	*trans*-β- Cariofileno	1,9 ± 0,3	1,9 ± 0,3	1,6 ± 0,2
44	1440	1610	β-Gurjuneno	0,14 ± 0,02	0,13 ± 0,01	0,10 ± 0,01
45	1446	2148	*trans*- Acetato de cinamilo	3,9 ± 0,3	3,0 ± 0,2	2,9 ± 0,2
46	1455	2340	*trans*-isoeugenol	1,4 ± 0,2	0,65 ± 0,05	0,58 ± 0,05
47	1460	-	<allo>-Aromadendreno	0,04396 0,002	0,047 0,003	0,039 0,001
48	1470	1680	α-Humuleno	0,63 ± 0,08	0,63 ± 0,04	0,55 ± 0,06
49	1493	1722	D-Germacreno	9,7 ± 2,5	10,8 ± 3,1	9,8 ± 3,0
50	1495	2173	*trans*- Metil- isoeugenol	1,6 ± 0,3	1,4 ± 0,2	1,2 ± 0,2

Continuación, **Tabla 15.**

51	1510	1740-1743	*trans-trans*- α- Farneseno + Biciclogermacreno	7,1	± 2,1	7,7	± 1,9	7,1	±	1,7
53	1526	1763	δ-Cadineno	0,57	± 0,05	0,46	± 0,02	0,45	±	0,02
54	1588	1978	Germacreno D-4-ol	1,4	± 0,5	1,5	± 0,4	1,3	±	0,3
55	1596	2006	Óxido de cariofileno	0,057	± 0,005	0,039	± 0,004	0,061	±	0,006
56	1602	-	Acetato de isoeugenol	0,012	± 0,001	0,029	± 0,002	0,023	±	0,002
57	1658	2203	α-Muurolol	0,64	± 0,05	0,41	± 0,04	0,43	±	0,03
58	1730	2352	*trans-trans*-Farnesol	2,8	± 0,05	2,3	± 0,1	2,3	±	0,1
59	1742	-	*trans-trans*- Farnesal	0,13	± 0,03	0,13	± 0,02	0,095	±	0,008
60	1784	2735	Benzoato de bencilo	25,4	± 0,8	25,5	± 0,6	27,0	±	0,9
61	1834	2260	*cis-trans*-Acetato de farnesilo	2,7	± 0,6	2,4	± 0,4	2,5	±	0,5
62	1884	2406	Salicilato de bencilo	1,4	± 0,3	3,3	± 0,5	3,5	±	0,4
63	2432	-	Hidrocarburo > C22	0,043	± 0,002	0,022	± 0,001	*tr*	±	-
64	2700	-	Hidrocarburo > C24	0,20	± 0,05	0,12	± 0,01	0,11	±	0,01
65	3034		Hidrocarburo > C30	0,18	± 0,05	0,038	± 0,002	0,030	±	0,002
66	3098		Hidrocarburo > C30	0,19	± 0,05	0,071	± 0,002	0,11	±	0,01

[a]. Número de pico; [b]. Índices de Kováts determinados experimentalmente; NI. No identificado; *tr.* Trazas.

Nota: El corredor de error para los valores promedios determinados fue calculado para un intervalo de confianza del 95%, según la regla de student (μ = promedio ± t*s/√n). T= 12.71; n=2 ; s: desviación estándar

3.2.1.2 Comparación de la composición química de los extractos obtenidos por la técnica de ultrasonido a diferentes horas de extracción, tipo de solvente y relación peso de flores a volumen de solvente (p/v%)

La técnica de ultrasonido presenta las siguientes ventajas en comparación con Soxhlet: su montaje es sencillo; la temperatura de extracción puede ser inferior a la temperatura de ebullición del solvente, lo que evita calentar el extracto a altas temperaturas, disminuyendo el riesgo de degradación de los componentes termolábiles. Por estas razones fue elegida como técnica de extracción.

La **Figura 25**, muestra los resultados de los extractos realizados con hexano (experimento (exp) 1 a 4) y éter (exp 5 a 8); en éstos se varió el tiempo de extracción y la cantidad de solvente usado.

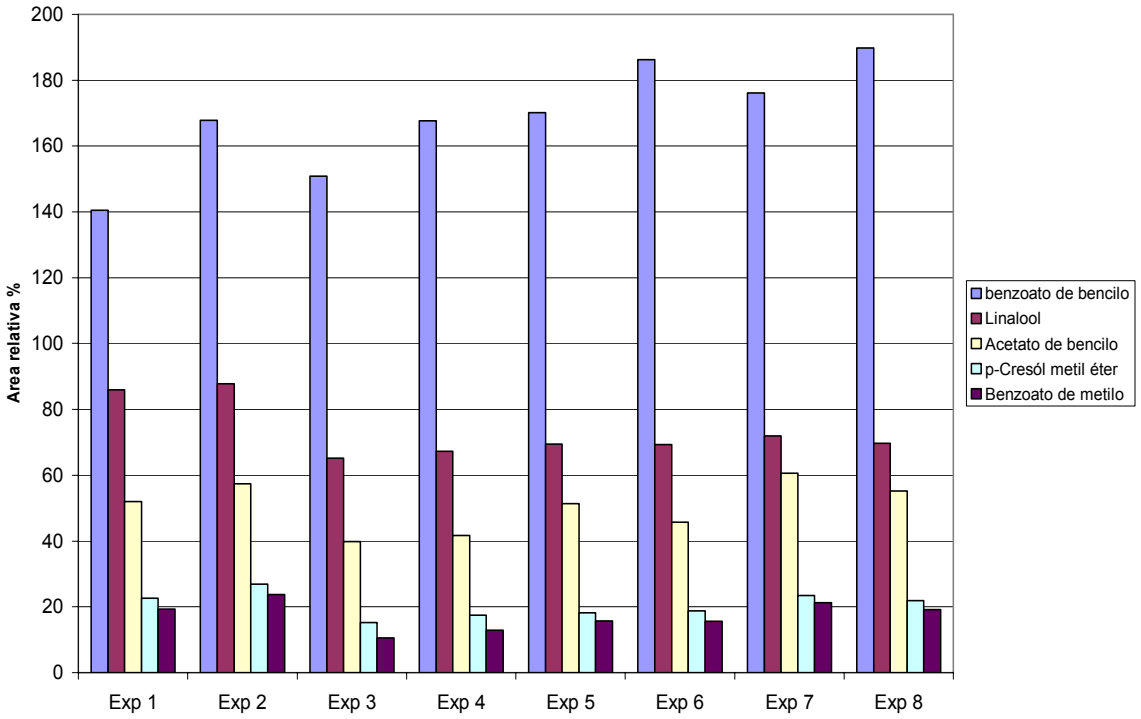


Figura 25. Compuestos mayoritarios de los extractos de flores de *Cananga odorata*, obtenidos por la técnica de ultrasonido, a diferentes horas de extracción, tipo de solvente, y relación peso de flores a volumen de solvente (%p/v). Exp 1: hexano, 1 h, %p/v: 20.05; Exp 2: hexano, 1½ h, %p/v: 20.05; Exp 3: hexano, 1 h, %p/v: 26.73; Exp 4: hexano, 1 ½ h, %p/v: 26.73; Exp 5:éter,1 h, %p/v: 26.73; Exp 6: éter, 1 ½ h, %p/v: 26.73; Exp 7: éter, 1 h, %p/v: 20.05; Exp 8: éter, 1 ½ h, %p/v: 20.05.

La **Tabla 16,** presenta las áreas relativas (%) de los compuestos mayoritarios de los extractos obtenidos. Las variables fueron: tiempo (1 y 1 ½ h), solvente (hexano y éter de petróleo), y peso de flores por volumen de solvente (%p/v).

Tabla 16. Comparación de los componentes mayoritarios de extractos de flores de *Cananga odorata*, obtenidos por ultrasonido, en función de las variables tiempo y solvente (Exp1-Exp8).

Nº [a] pico	I_k Exp [b] DB-5	DB-Wax	Compuesto	Area relativa% Exp 1	Exp2	Exp 3	Exp 4
6	935	1025	α-Pineno	2,9 ± 0,5	3,4 ± 0,4	3,8 ± 0,3	5,10623 ± 0,64
8	965	1529	Benzaldehído	9,3 ± 1,2	9,0 ± 1,8	10,3 ± 2,4	11,6 ± 2,2
10	980	1102	β-Pineno	1,08 ± 0,09	1,28 ± 0,082	1,30 ± 0,08	1,6 ± 0,1
15	1017	1438	*p*-Cresol meti éter	22,7 ± 5,2	27,0 ± 4,5	15,2 ± 4,8	17,5 ± 6,4
16	1033	1193	Limoneno	2,0 ± 0,4	2,3 ± 0,3	1,5 ± 0,3	2,1 ± 0,2
17	1037	1236	1,8 - Cineol	1,2 ± 0,21	2,4 ± 0,17	2,1 ± 0,3	2,2 ± 0,4
22	1089	1624	Benzoato de metilo	19,3 ± 1,1	23,7 ± 2,74	10,58 ± 1,35	12,54 ± 1,69
23	1099	1541	Linalool	84,3 ± 10,3	87,8 ± 11,1	65,2 ± 9,3	61,2 ± 9,7
25	1165	1736	Acetato de bencilo	52,0 ± 6,31	57,5 ± 6,24	39,8 ± 5,84	41,67 ± 5,82
34	1292	2115	1,2 Nitrofeniletano	9,5 ± 3,2	6,3 ± 2,7	6,0 ± 3,0	10,0 ± 2,8
38	1378	1753	Acetato de geranilo	8,0 ± 2,5	11,1 ± 2,1	8,4 ± 2	10,7 ± 1,9
39	1382	1510	α-Copaeno	2,1 ± 0,2	2,6 ± 0,3	3,0 ± 0,17	5,0 ± 0,16
40	1392	1579	β-Cubebeno	1,49 ± 0,22	1,65 ± 0,33	2,02 ± 0,28	3,45 ± 0,22
43	1436	1605	*trans*- β-Cariofileno	8,3 ± 1,7	9,0 ± 1,8	11,4 ± 1,81	18,5 ± 1,5
45	1446	2148	*trans*- Acetato de cinamilo	19,7 ± 1,2	22,8 ± 0,95	17,6 ± 0,85	19,6 ± 0,63
46	1455	2340	*trans*- Isoeugenol	5,06 ± 0,56	4,56 ± 0,45	3,09 ± 0,65	3,32 ± 0,32
48	1470	1680	α-Humuleno	2,8 ± 0,6	3,0 ± 0,3	3,8 ± 0,5	6,41 ± 0,25
49	1493	1722	**D-Germacreno**	51,8 ± 5,2	57,6 ± 4,8	65,4 ± 6,1	99,2 ± 6,6
50	1495	2173	*trans*- Metil isoeugenol	8,3 ± 0,95	9,8 ± 1,2	8,2 ± 0,88	8,7 ± 0,76
51	1510	1740-1743	*trans*-trans- α- Farneseno+Biciclogermacreno	40,0 ± 3,5	40,0 ± 2,9	50,8 ± 4,1	78,2 ± 5,4
53	1526	1763	δ-Cadineno	2,0 ± 0,6	2,7 ± 0,2	2,8 ± 0,18	3,6 ± 0,3
54	1588	1978	Germacreno D-4-ol	7,1 ± 2,1	9,5 ± 2,3	8,9 ± 3,1	12,0 ± 2,4
57	1658	2203	α-muurolol	1,65 ± 0,51	2,25 ± 0,42	2,28 ± 0,48	3,21 ± 0,66
58	1658	2203	*trans-trans*- Farnesol	11,32 ± 2,41	14,83 ± 3,52	12,93 ± 2,01	18,6 ± 2,7
60	1784	2735	Benzoato bencilo	140,5 ± 15,7	167,796 ± 17,2	150,796 ± 16,7	167,64 ± 18,1
61	1834	2260	Acetato de farnesilo	12,33 ± 2,52	11,5 ± 2,1	14,6 ± 3,3	21,8 ± 2,0
62	1834	2260	Salicilato de bencilo	37,9 ± 3,3	39,2 ± 4,1	41,8 ± 4	66,9 ± 5,1

[a]: Número de pico; [b]. índices de Kovàts determinados experimentalmente;

Nota: El corredor de error para los valores promedios determinados fue calculado para un intervalo de confianza del 95%, según la regla de student (μ = promedio ± t*s/√n). T= 12.71; n=2 ; s: desviación estándar.

Continuación **Tabla 16.**

Nº pico	I_k Exp DB-5	DB-Wax	Compuesto	Area relativa% Exp 5	Exp 6	Exp 7	Exp 8
6	935	1025	α-Pineno	4,4 ± 0,6	4,90 ± 0,63	2,4 ± 0,3	3,73 ± 0,64
8	965	1529	Benzaldehído	15,1 ± 1,7	14,4 ± 1,8	8,5 ± 1,1	9,8 ± 1,2
10	980	1102	β-Pineno	1,5 ± 1,1	1,67 ± 0,09	1,14 ± 0,10	1,30 ± 0,11
15	1017	1438	*p*-Cresol meti éter	18,2 ± 3,2	18,9 ± 4,4	23,5 ± 4,7	21,8 ± 6,4
16	1033	1193	Limoneno	2,5 ± 0,4	2,9 ± 0,3	1,8 ± 0,3	3,2 ± 0,2
17	1037	1236	1,8 - Cineol	3,01 ± 0,25	3,17 ± 0,19	2,70 ± 0,33	3,0 ± 0,4
22	1089	1624	Benzoato de metilo	15,7 ± 1,5	15,66 ± 2,82	21,2 ± 2,35	19,22 ± 1,79
23	1099	1541	Linalool	69,4 ± 5,2	69,3 ± 4,2	71,9 ± 6,3	69,6 ± 4,6
25	1165	1736	Acetato de bencilo	51,4 ± 5,31	45,8 ± 6,1	60,6 ± 5,1	55,2 ± 6,3
34	1292	2115	1,2 Nitrofeniletano	8,0 ± 3,1	9,3 ± 3,3	4,9 ± 3,5	8,5 ± 2,8
38	1378	1753	Acetato de geranilo	12,1 ± 3,5	13,5 ± 2,9	8,3 ± 2,8	10,8 ± 2,2
39	1382	1510	α-Copaeno	5,0 ± 0,58	4,8 ± 0,33	1,8 ± 0,17	3,2 ± 0,42
40	1392	1579	β-Cubebeno	3,1 ± 0,25	3,2 ± 0,30	2,0 ± 0,22	2,1 ± 0,23
43	1436	1605	*trans*- β-Cariofileno	16,2 ± 1,9	16,1 ± 1,8	7,3 ± 1,81	11,3 ± 1,41
45	1446	2148	*trans*- Acetato de cinamilo	15,2 ± 1,2	18,3 ± 0,95	18,4 ± 1,1	20,9 ± 1,3
46	1455	2340	*trans*- Isoeugenol	5,3 ± 0,52	5,8 ± 0,55	3,2 ± 0,38	3,4 ± 0,39
48	1470	1680	α-Humuleno	5,3 ± 0,7	5,3 ± 0,8	2,3 ± 0,4	3,7 ± 0,25
49	1493	1722	**D-Germacreno**	94,5 ± 5,1	93,4 ± 4,8	45,3 ± 6,2	70,9 ± 6,6
50	1495	2173	*trans*- Metil isoeugenol	6,8 ± 1,3	8,0 ± 1,4	8,9 ± 1,2	9,2 ± 1,6
51	1510	1740-1743	*trans*-trans- α- Farneseno+Biciclogermacreno	66,0 ± 4,0	66,4 ± 4,1	34,8 ± 3,6	51,3 ± 3,3
53	1526	1763	δ-Cadineno	3,3 ± 0,6	3,7 ± 0,2	2,8 ± 0,18	2,9 ± 0,3
54	1588	1978	Germacreno D-4-ol	12,5 ± 3,1	13,7 ± 3,3	7,0 ± 2,1	9,0 ± 2,4
57	1658	2203	α-muurolol	2,8 ± 0,61	3,9 ± 0,72	2,0 ± 0,48	2,8 ± 0,66
58	1658	2203	*trans-trans*- Farnesol	18,2 ± 3,0	21,2 ± 3,6	14,1 ± 2,01	15,6 ± 2,7
60	1784	2735	Benzoato bencilo	170,1 ± 16,1	186,2 ± 17,2	176,1 ± 16,2	189,8 ± 17,5
61	1834	2260	*cis-trans*- Acetato de farnesilo	18,8 ± 3,52	18,6 ± 2,1	9,4 ± 3,3	17,6 ± 2,0
62	1834	2260	Salicilato de bencilo	23,3 ± 3,3	39,9 ± 4,1	43,9 ± 4,0	46,2 ± 5,1

[a]: Número de pico; [b]. índices de Kovàts determinados experimentalmente;

Nota: El corredor de error para los valores promedios determinados fue calculado para un intervalo de confianza del 95%, según la regla de student (μ = promedio ± t*s/√n). T= 12.71; n=2 ; s: desviación estándar.

Los experimentos (Exp 1-Exp 8), se realizaron como una prueba preliminar para conocer la influencia de las variables en el proceso de extracción; en los experimentos, se evidenció que el éter de petróleo extrae mayor cantidad de benzoato de bencilo, al igual, se obtiene un mayor rendimiento de extracción que con hexano. Este último es un factor determinante en la comercialización de los concretos. En la **Tabla 17,** se presentan los rendimientos de los concretos de flores obtenidos por ultrasonido.

Tabla 17. Rendimiento del concreto de las flores de *Cananga odorata*

Técnica	Solvente	Tiempo de extracción (min)	Rendimiento % p/p
Ultrasonido	éter de petróleo	120	1,52 ± 0,09
Ultrasonido	hexano	120	1,45 ± 0,07

En cuanto a la proporción de cantidad de material vegetal sobre volumen de solvente, no se evidencia una tendencia clara, que relacione este factor con la cantidad de los compuestos en los extractos.

En la **Figura 25,** se observa que el factor más influyente en la cantidad extraída de los analitos, es el tiempo; debido a esto, se realizó un experimento adicional, donde sólo se varió este parámetro, con el fin de conocer el comportamiento de las muestras; incrementando el tiempo en intervalos de ½ h y 1 h.

3.2.1.3 Comparación de la composición química de los extractos obtenidos por la técnica de ultrasonido a diferentes horas de extracción y utilizando éter de petróleo como solvente de extracción.

El éter de petróleo se usó en estos experimentos, no sólo por extraer mayor cantidad de compuestos que el hexano, sino también, porque facilitaría el proceso de eliminación del solvente del extracto de flores (rotoevaporación), para la obtención de los absolutos, disminuyendo de este modo, la pérdida de metabolitos volátiles del extracto.

En las **Figuras 26 y 27,** se puede ver que la cantidad de los compuestos mayoritarios tiende a aumentar hasta las 4 horas de extracción, tiempo después, disminuye.

Aunque el proceso de extracción por ultrasonido se realizó sin calentamiento, el monitoreo de la temperatura, muestra su aumento con el tiempo de extracción. En la **Tabla 18,** se reporta cómo varia la temperatura en función del tiempo, en el sistema de extracción ultrasonido.

Tabla 18. Monitoreo de la temperatura al variar el tiempo de extracción, en la técnica de ultrasonido.

t(h)	T(ºC)
0	28
1/2	34
1	43
1 1/2	43
2	43
2 1/2	43
3	43
31/2	44
4	44
5	44

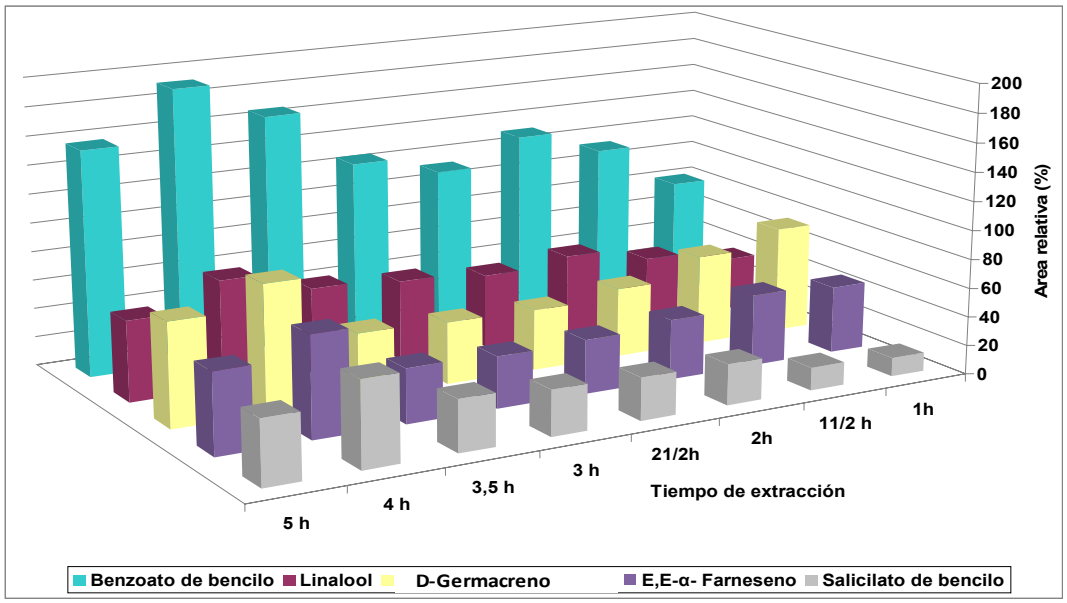


Figura 26. Compuestos mayoritarios de los extractos etéreos de flores de *Cananga odorata*, obtenidos por ultrasonido, para extracciones de diferente duración.

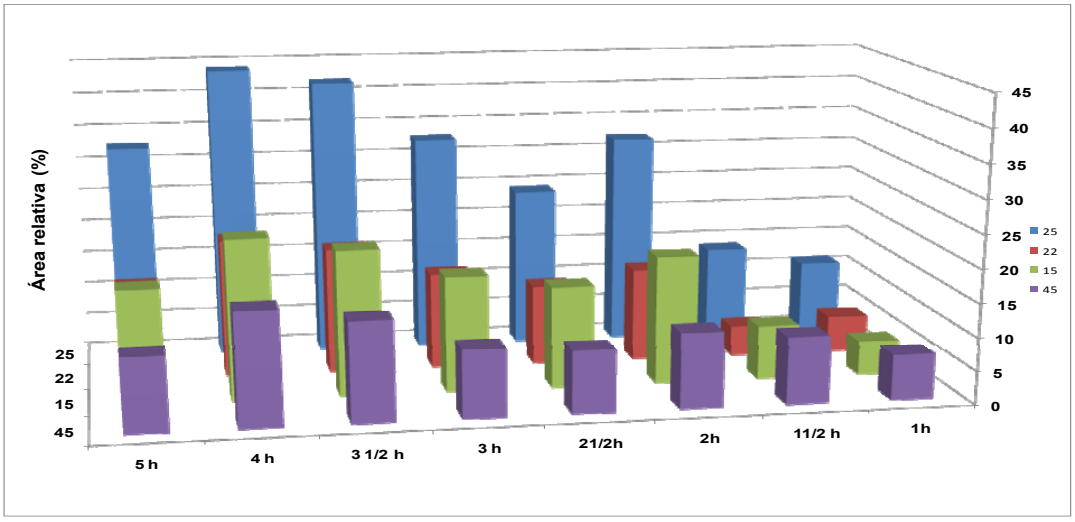


Figura 27. Otros compuestos mayoritarios de los extractos etéreos de flores de *Cananga odorata*, obtenidos por ultrasonido; a diferentes tiempos de extracción. Los números corresponden a los compuestos que aparecen en la **Tabla 19.**

3.2.2 Extractos absolutos de las flores de ylang-ylang: obtenidos a partir del concreto.

3.2.2.1 Comparación de la composición química de los extractos absolutos con los AE y extractos SFE.

En la **tabla 19,** se presenta la comparación de la composición química de los extractos absolutos, con los AE y los extractos SFE, con el fin de conocer las variaciones que genera cada uno de estos procesos. En la **Figura 18,** se observan sus perfiles cromatográficos.

El componente mayoritario de los extractos absolutos y extractos obtenidos por SFE de las flores, fue benzoato de bencilo (25,26–15,25 %); seguido por linalool (12,12%), acetato de bencilo(4,17%), *p*-cresol metil éter (4,01%), benzoato de metilo (3,28%), en el extracto absoluto; mientras que para el extracto SFE, otros compuestos representativos fueron el D-germacreno(15,08%) y el salicilato de bencilo (10.45%).

En el AE de las flores obtenido por MWHD, los componentes mayoritarios fueron: linalool (15,78%), benzoato de bencilo (14,64%), acetato de bencilo (14.41%).

Tabla 19. Cantidades relativas (%) de los principales componentes de los extractos absolutos, AE y extractos SFE de las flores de *Cananga odorata.*

N°[a] pico	I_k[b] DB-5	I_k[b] DB-Wax	Compuesto	Cantidada relativa % Extracto absoluto	MWHD	SFE
1	882	1199	Acetato de 3-metil-3-buten-1-ol	0,12	0,41	0,06
2	899	-	Nonano	1,40	-	-
3	905	-	NI	0,42	-	0,00
4	920	1254	Acetato de 3-metil-2-buten-1-ol	0,14	0,46	0,07
5	923	-	NI	0,04	-	0,00
6	935	1025	α-Pineno	0,84	0,54	0,53
7	954	1059	Canfeno	tr	0,01	0,01
8	965	1529	Benzaldehído	0,97	0,03	1,06
10	980	1102	β-Pineno	0,34	0,25	0,19
11	988	1148	β-Mirceno	0,09	0,07	0,05
12	1005	1320	*cis* -3-Acetato de hexenilo	0,09	0,26	0,06
13	1012	1275	Acetato de hexilo	0,10	0,21	*tr*
15	1017	1438	*p* -Cresol meti éter	4,01	8,43	2,18
16	1033	1193	Limoneno	0,06	0,05	0,04
17	1037	1236	1,8 - Cineol	0,27	0,10	0,70
18	1032	1877	Alcohol bencílico	0,10	0,20	
19	1036	1650	Benceno acetaldehído	0,06	0,79	0,18
20	1047	1256	*trans* -β-Ocimeno	0,22		
21	1058	2068	*p* -Cresol	1,29	0,20	1,10
22	1089	1624	Benzoato de metilo	3,28	9,22	2,27
23	1099	1541	Linalool	12,12	15,78	6,99
24	1128	2069	Veratrol	0,15	0,24	0,13
25	1165	1736	Acetato de bencilo	4,17	14,41	5,48
26	1172	1671	Benzoato de etilo	1,25	0,71	0,26
27	1192	1785	Salicilato de metilo	0,10	0,30	0,19
28	1195	1703	α-Terpineol	0,12	0,15	0,06
29	1217	1795	3,4-Dimetoxytolueno	0,15	0,31	0,08
30	1253	1820	Acetato de 2-feniletilo	0,16	0,51	0,23
31	1268	2039	*trans*- Cinamaldehído	0,28	0,01	0,29
32	1276	1832	*Trans* -Anetol	0,36	0,65	0,26
33	1283	2456	Indol	0,01	0,03	0,08
34	1292	2115	1,2-Nitrofeniletano	1,37	2,32	1,83
35	1316	2061	Anisato de metilo	0,06	0,08	0,15
36	1331	2251	Antranilato de metilo	0,17	0,38	0,23
37	1350	-	3-Metil-tridecano	-	-	0,00
38	1378	1753	Acetato de geranilo	1,92	2,57	1,15
39	1382	1510	α-Copaeno	0,84	0,12	1,65
40	1392	1579	β-Cubebeno	0,44	0,10	1,08
41	1404	-	p- Acetato de anisilo	0,06	0,13	0,11
42	1412	-	α-Gurjuneno	0,17	0,08	4,62
43	1436	1605	*trans*- β- Cariofileno	2,11	0,83	
44	1440	1610	β-Gurjuneno	0,21	0,04	0,34
45	1446	2148	*trans* - Acetato de cinamilo	3,13	6,12	3,01
46	1455	2340	*trans* -isoeugenol	1,17	1,80	0,41
47	1460	-	<allo>-Aromadendreno	*tr*	-	0,13
48	1470	1680	α-Humuleno	0,73	0,28	1,59
49	1493	1722	D-Germacreno	9,25	4,06	15,08
50	1495	2173	*trans* - Metil isoeugenol	1,45	1,98	0,10
51	1510	1740-1743	*trans -trans* - α- Farneseno + Biciclogermacreno	7,27	1,70	11,13
53	1526	1763	δ-Cadineno	0,66	0,56	0,52
54	1588	1978	Germacreno D-4-ol	0,62	0,44	1,43
55	1596	2006	Óxido de cariofileno	0,40	0,06	0,09
56	1602	-	Acetato de isoeugenol	0,07	0,08	0,12
57	1658	2203	α-Muurolol	0,20	0,40	0,12
58	1658	2352	*trans-trans*- Farnesol	-	2,01	2,34
59	1742	-	*trans-trans*- Farnesal	0,18	-	0,15
60	1784	2735	Benzoato de bencilo	25,26	14,64	15,25
61	1834	2260	*cis-trans*- Acetato de farnesilo	2,68	0,65	4,22
62	1834	2260	Salicilato de bencilo	6,99	3,36	10,45

[a] Índices de Kovàts determinados experimentalmente

[b] Promedio de dos extracciones independientes; n=2

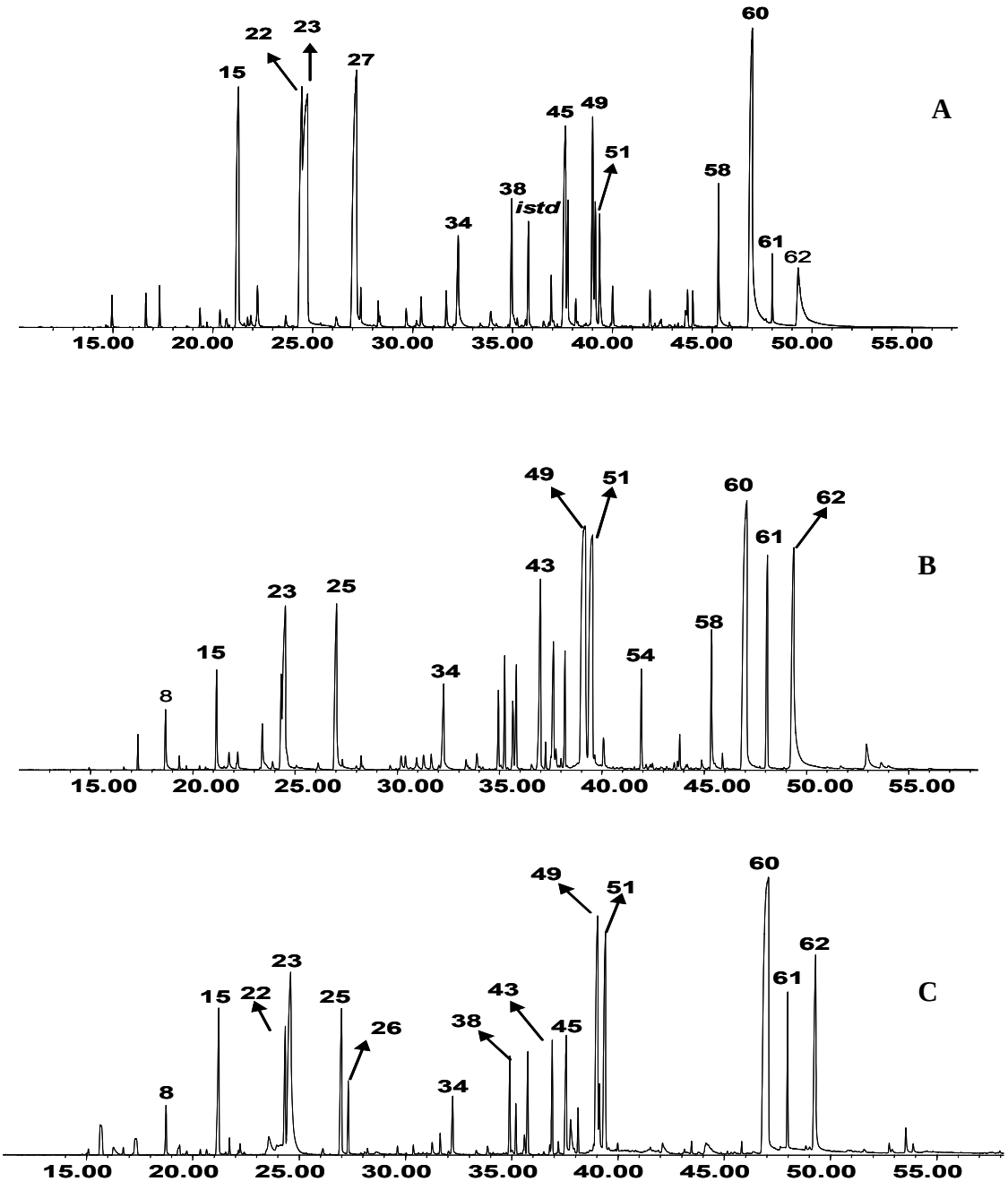


Figura 28. Perfiles cromatográficos de los extractos y AE de las flores de *Cananga odorata*. MWHD (**A**), SFE (**B**), Extracto absoluto **(C**). Columna DB-5 (60m). *Split* (1:30). MSD.

3.2.2.2 Comparación de la composición química de los extractos absolutos, obtenidos en función del tiempo y temperatura de extracción.

Los extractos absolutos se obtuvieron a partir de los concretos de éter de petróleo, extraídos con ultrasonido durante 4 horas, tiempo en el cual se obtuvo una mayor cantidad de compuestos. Después de rotoevaporar el éter de petróleo (Seccion 2.3.4), quedó el concreto, y fue a éste que se le disolvió en etanol absoluto, variando la temperatura (40-42ºC, 52-54ºC, 60-62ºC) y tiempo de extracción (1 y 2 h).

En las **Figuras 29 y 30,** se puede observar la influencia de las variaciones en la temperatura, sobre las áreas relativas de los componentes de los extractos absolutos. La mayor cantidad de compuestos, se obtuvo en el intervalo de 52 a 54 °C. En cuanto al tiempo de extracción (1 y 2 h), los componentes se extrajeron en cantidades similares. Por esto se recomienda 1 hora de extracción con etanol, con el fin de disminuir el gasto energético.

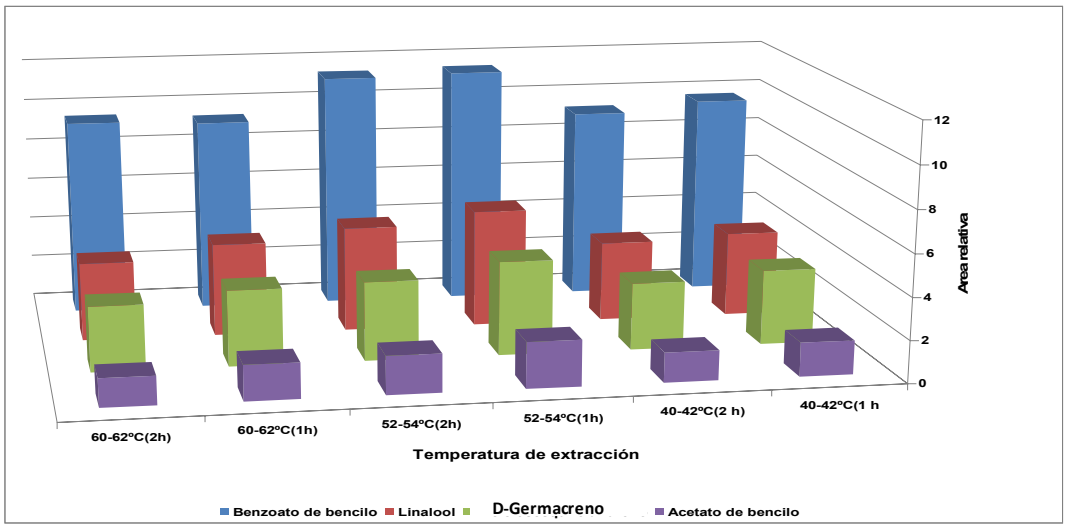


Figura 29. Compuestos mayoritarios del extracto absoluto de flores, obtenidos, variando los parámetros de tiempo y temperatura durante la extracción con etanol absoluto.

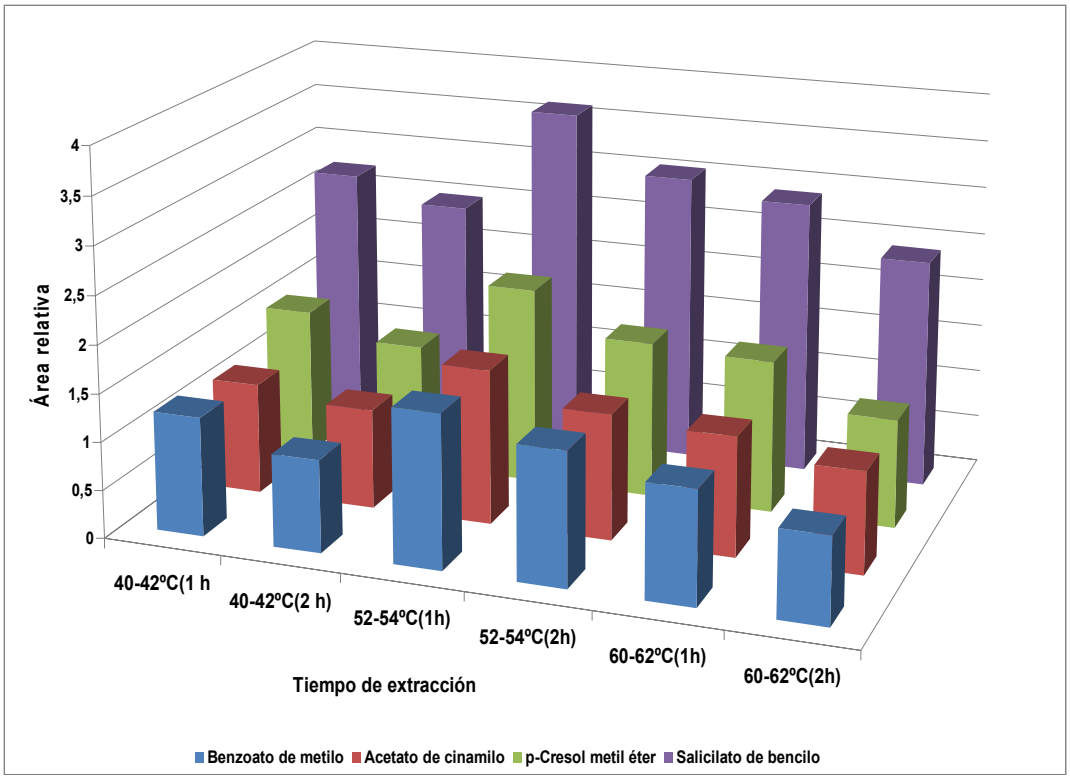


Figura 30. Otros compuestos mayoritarios del absoluto de flores, obtenidos variando los parámetros de tiempo y temperatura durante la extracción con etanol absoluto.

En la **Figura 31,** se observa la distribución de familias de compuestos en los extractos absolutos, el AE obtenido por MWHD y el extracto SFE de las flores de ylang-ylang. En todos los casos se presenta un alto contenido de compuestos oxigenados y, en menor proporción, monoterpenos y sesquiterpenos oxigenados.

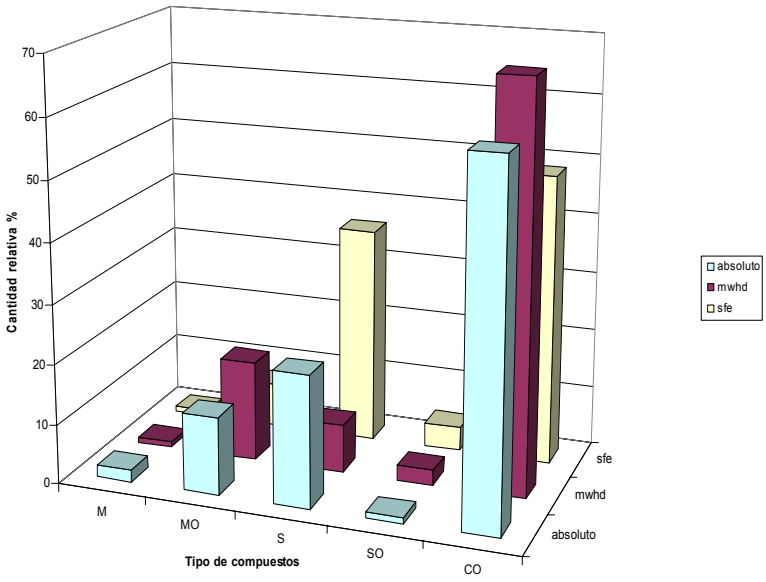
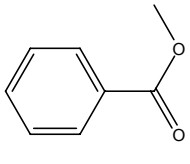


Figura 31. Distribución de familias de compuesto en los absolutos, el AE y el extracto SFE de las flores de ylang-ylang. M: Monoterpenos; MO: Monoterpenos oxigenados; S: Sesquiterpenos; Sesquiterpenos oxigenados.

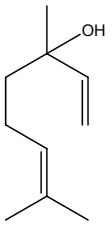
Los compuestos que reportá naves en 1959 [24], para los constituyente más volátiles del concreto, están presentes en los extractos concretos de flores de ylang-ylang Colombianos (*p*-cresol metil éter, benzoato de metilo, linalool, acetato de bencilo y benzoato de bencilo). A diferencia del alcohol bencílico, que está presente en los extractos obtenidos, en el concreto que estudió Naves, no está presente.

No se conoce la composición química reportada en literatura científica de los absolutos de flores de ylang-ylang, sólo en 1982, Kaiser y Lamparsky [25], según el estado del arte de esté libro, identificaron compuestos heterocíclicos de las flores, de los cuales el antranilato de metilo y el fenilnitroetano están presentes en los extractos absolutos Colombianos.

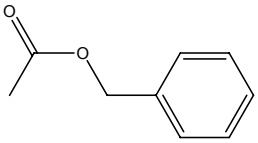
En la **Figura 32,** se ilustran las estructuras de algunos metabolitos secundarios encontrados en los extractos y AE de las flores de ylang-ylang**.**



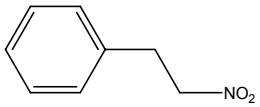
Benzoato de metilo



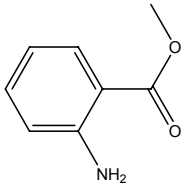
Linalool



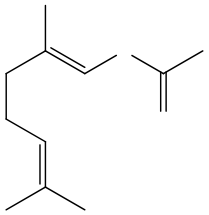
Acetato de bencilo



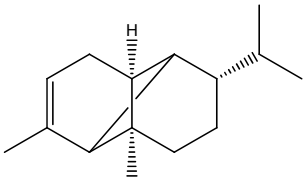
1,2-Nitrofeniletano



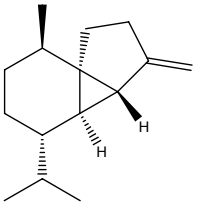
Antranilato de metilo



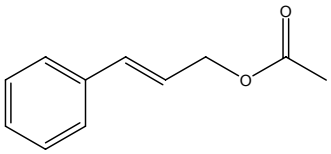
Acetato de geranilo



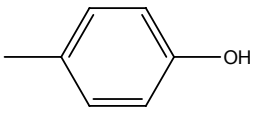
α-Copaeno



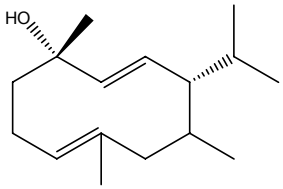
β-Cubebeno



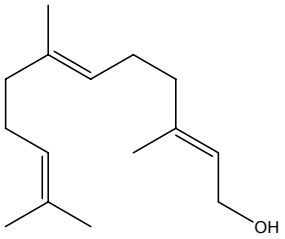
trans-Acetato de cinamilo



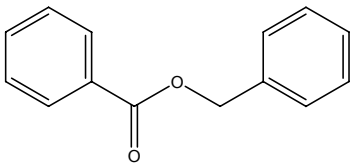
p-Cresol



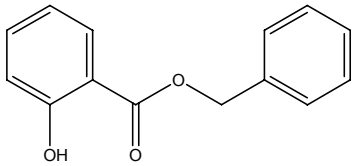
Germacreno D-4-ol



2-*trans*-6-*trans* farnesol



Benzoato de bencilo



Salicilato de bencilo

O

O

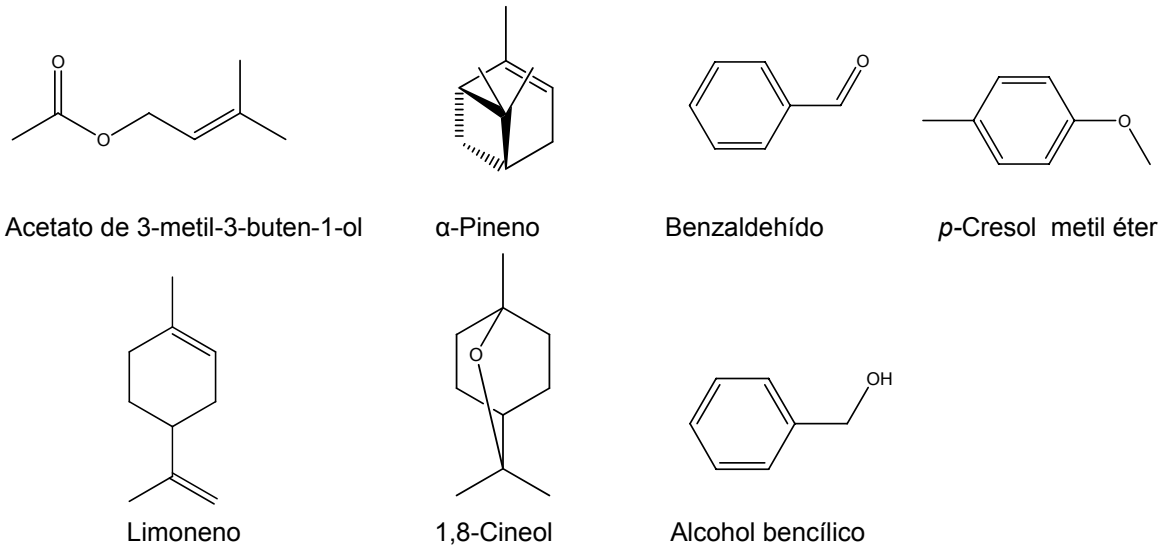


Figura 32. Estructura de los principales metabolitos secundarios encontrados en los extractos y AE de flores de ylang-ylang.

En el **Anexo 1,** aparecen los detalles del proceso de identificación (espectros de masas obtenidos a 70 eV y rutas de fragmentación) que respaldan las asignaciones hechas para la construcción de las tablas de composición de los extractos y AE.

3.3. DETERMINACIÓN DE LOS ÉSTERES MÉTILICOS DE LOS ÁCIDOS GRASOS DE LAS SEMILLAS DE YLANG-YLANG (*Cananga odorata*).

En la **Tabla 20,** se muestran los resultados de las cantidades relativas de los ácidos grasos (FA) de las semillas de ylang-ylang. Como se puede apreciar el éster metílico del ácido linoleíco se encuentra en mayor cantidad (29%), seguido del oleico y palmítíco (12,5 y 6,5%) respectivamente.

Tabla 20. Cantidad relativa de FA de las semillas de ylang-ylang (*Cananga odorata)*.

Metil ésteres del ácido	Nomenclatura de FAs	Cantidad relativa (%)*		
Caproíco	(C6:0)	0,71	±	0,05
Palmítico	(C16:0)	6,5	±	0,2
Palmitoleico	(C16:1)	0,26	±	0,04
Heptadecanoico	(C17:0)	0,072	±	0,003
Esteárico	(C18:0)	1,4	±	0,4
Oleico	(C18:1)	12,5	±	0,9
Linoléico	(C18:2)	29	±	1,2
Araquídico	(C20:0)	0,069	±	0,003
Eicosenoico	(C20:1)	0,10	±	0,01
Eicosadienoico	(C20:2)	0,56	±	0,06
Heneicosanoico	(C21:0)	0,59	±	0,05

*valor promedio (n=3)

El rendimiento de extracción del aceite vegetal de las semillas de ylang-ylang fue de *Ca*. 3,0 %, en base seca. El perfil cromatográfico se muestra en la **Figura 33.**

Aunque los FA en el aceite vegetal de las semillas, son en su mayoría insaturados, y podrían llegar a ser de gran interés en la industria, su bajo rendimiento de extracción comparado con otro tipo de semillas (girasol u olivas, cuyos porcentajes oscilan entre 40-55% y 22 % rerpectivamente), limitan su posible aplicación industrial.

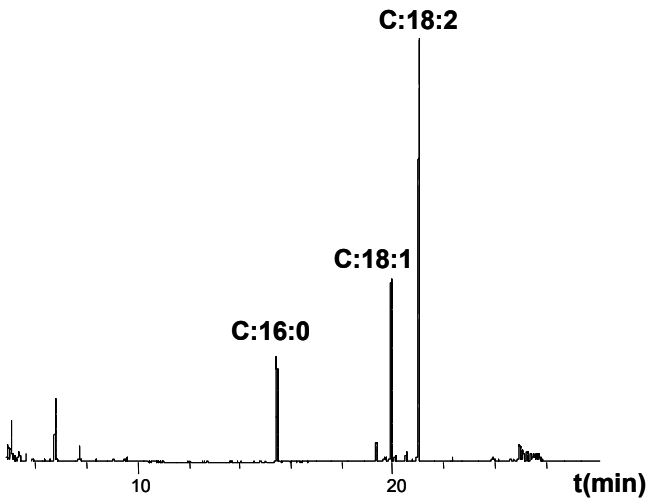


Figura 33. Perfil cromatográfico de los FA presentes en las semillas de ylang-ylang (*Cananga odorata*).

3.4 IDENTIFICACIÓN DE FA EN SEMILLAS DE *CANANGA ODORATA* MEDIANTE ESPECTROMETRÌA DE MASAS

Con el fin de obtener una mayor certeza en la identificación de FA presentes en las muestras bajo estudio, se obtuvieron experimentalmente sus correspondientes espectros de masas (**Anexo2**), los cuales fueron comparados con los de las bases de datos (NBS75K; WILEY 7n, ADAMS Y NISTO2).

3.5 REPRODUCIBILIDAD DE LOS TIEMPOS DE RETENCIÓN Y DE LAS ÁREAS DE LOS PICOS CROMATOGRÁFICOS

Los tiempos de retención (t_R) para los componentes de una muestra pueden variar de una corrida a otra. Cambios en parámetros operacionales del cromatógrafo tales como velocidad del gas de arrastre, modo de inyección, temperatura del horno, entre otros, inciden directamente sobre la velocidad de elución de los compuestos, afectando sus tiempos de retención.

En la **Tabla 21,** se presentan los coeficientes de variación (CV) de los t_R de algunos compuestos presentes en el extracto de flores de ylang-ylang, para tres muestras diferentes. Como se puede observar estos valores oscilaron entre 0.04 y 0.06%. Las buenas prácticas de laboratorio (GLP), exigen que los CV para los tiempos de retención de los compuestos de la muestra, cuando se trabaja con inyección automática, no excedan el 2%. Por lo tanto los valores de CV calculados, garantizan la reproducibilidad y la buena calidad de los análisis cromatográficos realizados.

Tabla 21. Reproducibilidad de los tiempos de retención.

Compuesto	Tiempos de retención min(n=3)			t_R promedio	σ	CV(%)
	1	2	3			
Benzaldehído	18,603	18,617	18,606	18,609	0,01	0,040
p- cresol métil éter	21,10	21,12	21,09	21,10	0,01	0,06
Benzoato de metilo	24,24	24,27	24,24	24,25	0,01	0,05
Linalool	24,35	24,38	24,35	24,36	0,01	0,05
Acetato de bencilo	26,88	26,90	26,88	26,89	0,01	0,05
Acetato de geranilo	34,87	34,87	34,83	34,86	0,02	0,06
trans β-Cariofileno	36,87	36,88	36,84	36,86	0,02	0,05
Acetato de cinamilo	37,51	37,52	37,48	37,50	0,02	0,05
D-Germacreno	38,95	38,95	38,92	38,94	0,02	0,04
trans-trans- Farneseno	39,33	39,34	39,31	39,33	0,02	0,04
Germacreno D-4-ol	41,85	41,88	41,84	41,86	0,02	0,04
Benzoato de bencilo	46,84	46,88	46,85	46,86	0,02	0,05
Acetato de farnesilo	47,95	47,99	47,96	47,97	0,02	0,05
Salicilato de bencilo	49,24	49,29	49,26	49,26	0,03	0,06

σ:Desviación estándar
CV: Coeficiente de variación

Según las normas GLP, los coeficientes de variación para área de picos cromatográficos no deben superar el 10%. Como se observa en la **Tabla 22**, los CV para las áreas medidas en cuentas, de muestras de extracto de flores de ylang-ylang no superan el 6%.

La alta reproducibilidad de los análisis de GC-MS, garantiza una correcta caracterización cualitativa y cuantitativa, de las muestras.

Tabla 22. Reproducibilidad de las áreas cromatograficas de algunos compuestos presentes en los extractos de flores de ylang-ylang.

Compuesto	Áreas			Áreas Promedio	σ	CV(%)
Benzaldehído	20314797	20412678	20502003	20409826	93636	0,5
p- cresol métil éter	29982057	29607062	30103503	29897540,67	258787	0,9
Benzoato de metilo	25356758	25266728	25845360	25489615,33	311355	1,2
Linalool	93772771	93573902	94917442	94088038,33	725135	0,8
Acetato de bencilo	54954949	54886093	55264698	55035246,67	201671	0,4
Acetato de geranilo	14740608	14757685	14889780	14796024,33	81643	0,6
trans- β-Cariofileno	19200454	19034800	19274558	19169937,33	122758	0,6
Acetato de cinamilo	21122076	21231602	21891915	21415197,67	416466	1,9
D-Germacreno	109772297	110114795	111168972	110352021,3	727930	0,7
trans-trans- Farneseno	86131074	87168417	88205188	87168226,33	1037057	1,2
Germacreno D-4-ol	10696291	10639536	11061482	10799103	228992	2,1
Benzoato de bencilo	250554293	251041652	251541996	251045980,3	493866	0,2
Acetato de farnesilo	27845716	28302171	28276451	28141446	256432	0,9
Salicilato de bencilo	72912681	65911484	70061577	69628580,67	3520626	5,1

σ:Desviación estándar

CV: Coeficiente de variación

3.6 ANALISIS CUANTITATIVO DE LOS AE Y EXTRACTOS DE FLORES DE YLANG-YLANG.

3.6.1 Cuantificación de los extractos etéreos de flores, obtenidos por ultrasonido, a diferentes tiempos de extracción.

El benzoato de bencilo y el linalool, identificados en el AE y extractos de flores de ylang.ylang, son los compuestos mayoritarios. Se cuantificaron mediante la técnica cromatográfica de estandarización externa, siguiendo el procedimiento de la **sección 2.5** de la parte experimental.

En la **Tabla 23,** se registran las concentraciones en gramos de compuesto sobre kg de materia vegetal (g /kg MV) de benzoato de bencilo y linalool presentes en los extractos de flores (obtenidos por ultrasonido a diferentes tiempos de extracción) y en el AE.

Tabla 23. Concentración de benzoato de bencilo y linalool, presentes en los extractos concretos y AE de flores de ylang-ylang.

t(h)[a]	Concentración(g/kg)	
	Benzoato de bencilo	Linalool
1	3,1 ± 0,4	2,8 ± 0,3
1 1/2	4,1 ± 0,3	3,40 ± 0,08
2	4,7 ± 0,2	4,2 ± 0,3
2 1/2	4,1 ± 0,2	3,8 ± 0,1
3	4,54 ± 0,01	4,15 ± 0,09
3 1/2	6,01 ± 0,09	4,44 ± 0,03
4	6,9 ± 0,6	5,5 ± 0,5
5	5,7 ± 0,4	4,2 ± 0,4
AE[b]	0,3 ± 0,02	0,75 ± 0,01

[a] Tiempo de extracción en horas
[b] Aceite esencial obtenido por MWHD

Como se observa en la **Tabla 23**, la cantidad de benzoato de bencilo y de linalool en el extracto de las flores, a diferentes horas de extracción, es mayor que en su AE; se resalta, que a las 4 horas de extracción se obtiene la mayor cantidad de estos compuestos (6.9 y 5.5 g/kg respectivamente).

3.6.2 Cuantificación de los extractos absolutos, obtenidos a partir del concreto de flores de ylang-ylang

El benzoato de bencilo y el linalool se cuantificaron en los extractos absolutos, obtenidos en el experimento de la **Seccion 2.3.**

En la **Tabla 24 y** en la **Figura 34,** se presentan las concentraciones (g de compuesto/kg de material vegetal) de benzoato de bencilo y linalool presentes en los extractos absolutos.

Tabla 24. Concentración de benzoato de bencilo y linalool, presentes en los extractos absolutos y AE de flores de ylang-ylang.

T(ºC) y t(h)[a]	Concentración(g/kg)			
	Benzoato de bencilo		Linalool	
40-42ºC (1)	3,6	± 0,1	3,1	± 0,3
40-42ºC (2)	3,5	± 0,4	3,0	± 0,9
52-54ºC (1)	4,49	± 0,09	4,3	± 0,2
52-54ºC (2)	4,3	± 0,6	3,9	± 0,2
60-62ºC (1)	3,6	± 0,5	3,4	± 0,5
60-62ºC(2)	3,5	± 0,1	2,90	± 0,1
AE[b]	0,3	± 0,02	0,8	± 0

[a]Tempetatura y tiempo de extracción
[b] AE de flores obtenido por MWHD

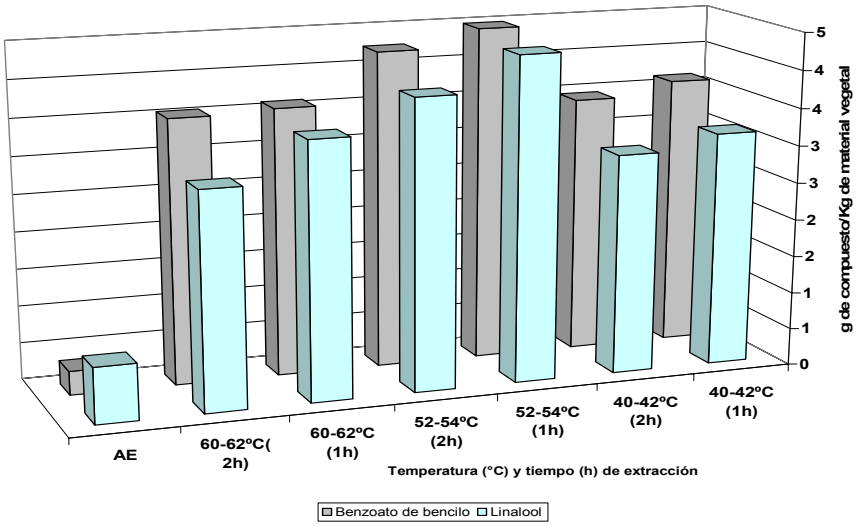


Figura 34. Concentración de benzoato de bencilo y linalool, determinada por GC-MS mediante estandarización externa, en los extractos absolutos. (diferentes tiempos y temperaturas de extracción) y AE de flores de ylang-ylang.

La mayor cantidad de benzoato de bencilo (4,5 g/kg) y linalool (4.3 g/kg), se obtuvo en los extractos absolutos a una temperatura de 52-54°C y a 1 hora de extracción. Se puede concluir que estos compuestos son extraídos en mayor proporción en los extractos, que en el AE (0.3 y 0.8 g/kg).

4. CONCLUSIONES

1. Mediante GC-MS se determinaron más de 20 componentes volátiles y semivolátiles en concentraciones relativas > 0.01%, de hojas de ylang-ylang (*Cananga odorata*), los cuales se aislaron utilizando técnicas destilativas (MWHD) y extractivas (SDE y SFE) mediante GC-MS.

2. La composición química de los extractos de las hojas de ylang-ylang se caracterizó por una alta proporción de sesquiterpenos, siendo el *trans* –β-cariofileno el componente mayoritario. Su bajo contenido de AE, las hace muy poco rentables, como fuentes del mismo.

3. A diferencia de las hojas, los tallos no poseen AE. Sólo fueron identificados 10 compuestos en los extractos SFE y SDE, en cantidades relativas > 0.1% mostrando, que los tallos contienen pocos metabolitos secundarios.

4. El concreto con mayor rendimiento y mayor concentración de metabolitos secundarios, fue aquel que se obtuvo usando éter de petróleo como solvente y 4 horas como tiempo de extracción.

5. Las condiciones experimentales, bajo las cuales se obtuvo el extracto absoluto, con mayor contenido de componentes de interés, fueron: 1 hora de extracción, intervalo de temperaturas de 52 a 54 °C.

6. El benzoato de bencilo y el linalool fueron los componentes mayoritarios de los extractos y AE de las flores de ylang-ylang respectivamente, y se encontraron en mayores cantidades, en los extractos, que en el AE.

7. El perfil cromatográfico obtenido de los FAME de las semillas de ylang-ylang, es típico de un aceite vegetal, encontrándose en mayores proporciones el ácido linoléico (29%), seguido por oleico (12.5%) y el palmítico (6.5%). Aunque es un aceite rico en ácido graso insaturado, su bajo rendimiento, limita su uso en la industria.

5. RECOMENDACIONES

1. La búsqueda de otras condiciones ayuda a complementar los estudios realizados; se recomienda aplicar un diseño de experimentos en las cuales intervengan todas las variables. Además se recomienda lograr controlar la temperatura en un sistema como el ultrasonido, y variar el tiempo de extracción. Esto indicaría el tiempo en el cual, a determinada temperatura, se aislaría la mayor cantidad de componentes de interés, y así poder ahorrar tiempo y por ende costos de energía.

2. En la obtención de los absolutos se recomienda ensayar diferentes temperaturas de enfriamiento por debajo a los 0ºC, para lograr una buena separación de las grasas y de otros compuestos de alto peso molecular.

3. Falta averiguar la mejor relación entre masa vegetal (flores) y solvente (éter de petróleo), porque esto también afecta los costos. Sin embargo, no se determina como variable independiente, porque el tiempo de extracción y la temperatura también son determinantes de la eficiencia de la extracción. Entonces, hay que estudiar sistemáticamente el efecto de todas estas variables para hallar las mejores condiciones de operación.

BIBLIOGRAFÍA

1. STASHENKO, E.E., QUIROZ, N., MARTINEZ, J.R. HRGC/FID/NPD and HRGGC/MSD study of Colombian ylang-ylang (*Cananga odotata*) oils obtained by different extraction techniques, *J. High Resol. Chromat*, 1966, 19. (6), pp. 353-358.

2. HUSAIN, AKHTAR., Essential Oil Plants and Their Cultivation, published by Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants, India,1994.pp. 3-4.

3. STASHENKO, E.E.; MARTINEZ, J.R., MACKU, C., et al., HRGC and GC-MS analysis of essential oils from Colombian ylang-ylang (*Cananga odorata* Hook fill. Et Thomson, forma genuina), *J. High Resol. Chromat*, **1993**, 16. (7), pp. 441-444.

4. STASHENKO, E.E., TORRES, W., MARTINEZ, J.R., A study of the compositional variation of the essential oil of ylang-ylang (*Cananga odorata* Hook Fill. Et Thomson, forma genuina) during flower development, *J. High Resol*. Chromat, **1995,** 18. (7), pp. 101-104.

5. GAYDOU, E., RANDRIAMIHARISOA, R.P., BIANCHINI, J. P., Composition of the essential oils of Ylang-Ylang (*Cananga odorata* Hook Fill. Et Thomson, forma genuina) from Madagascar, *J. Agric. Food Chem*, **1986,** 34. (3), pp. 481-487.

6. INTELIGENCIA DE MERCADOS. **2004**. PLANTAS AROMÁTICAS Y ACEITES ESENCIALES. CORPORACIÓN COLOMBIANA INTERNACIONAL. BOGÓTA, COLOMBIA.10P.[citado20-11-2006][On-line]: http://www.cci.org.co/cci/cci_x/Sim/Perfil%20de%20Productos/perfil%20producto%2024.pdf.

7. INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN DE RECURSOS BIOLÓGICOS ALEXANDER von HUMBOLDT, Estudio del mercado nacional de los aceites esenciales. Biocomercio sostenible. Bogotá**. 2003,** 109P. [On-line]: www.humboldt.org.co\biocomercio. [citado: 15-10- 2006].

8. CALDAS BORRERO., La flora ornamental tropical y espacio público urbano, Textos Universitarios, Banco Popular, **1979**, p.137.

9. WEISS E.A., Essential Oil Crops. Agricultural Adviser. Eaglemont Victoria Australia. CAB international, **1997,** p.10.

10. HARLEY, I.M., CRAIG, R. E., Cananga odorata (ylang-ylang), species profiles for Pacific Island agroforestry, **2005**, 11 p. [On line]: www.traditionaltree.org. [Citado: 20-03- 2006].

11. KIRTIKAR, K.R., BASU, B.D., 2 Ed, Basu Indian medicinal plants, vol. I. India: Lalit Mohan Basu., **1993**.

12. DUKE, J.A., Phytochemical and ethnobotanical database, phytochemical database, USDA-ARSNGRL, Beltsville Agricultural Research Centre, Maryland, USA **2000**. [On line]: www.ars-grin.gov/cgi-bin/duke/ethnobot.pl.

13. GÜENTHER, E., The essential oils. **1995**, Van Nostrand. N.Y., Vol. I-IV.

14. GAYDOU, E.M., RANDRIAMIHARISOA, R.P., BIANCHINI, J.P., et al., Multidimensional data analysis of essential oils. Aplications to ylang-ylang (*Cananga odorata* Hook Fill. Et Thomson, forma genuina) grades classification, J. *Agric. Food Chem*, **1988**, 36. (3), pp. 574-579.

15. MASADA,Y., Analysis of essential oils by gas chromatography and mass spectrometry, Ed. hirowaka publishing company, Japan, **1976**, 334p.

16. FENAROLI, G., Handbook of flavor ingredients, Ed. CRC press, Palo Alto, CA, **1975**, 472.

17. ALBERT Y, STEVEN FOSTER., Enciclopedia of common natural ingredients, used in food, drugs, and cosmetics, 2 ed, Wiley Interscience, New Jersey, **2003,** pp.521-522.

18. SCHMIDT, W., GRIMM, W., Zur kenntnis der niedrig siedenden Anteile eines ylang ylang- oils Comores " Extra" (I. Mittlg.), Miltitzer Der., **1967**, pp. 112-116.

19. Sacchetti, G.; Maietti , S.; Muzzoli, M.; Scaglianti, M.; Manfredini, S.; Radice, M.; Bruni, R., Comparative evaluation of 11 essential oils of dierent origins functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods, *Food Chem.,* **2005**¸ 91.pp. 621-632.

20. SRINIVAS, S.R. Atlas of essential oils, Ed. Bronx, New York, **1986**.

21. BURDOCK, G.A., CARABIN, I.G., Safety assessment of ylang-ylang (*Cananga* spp.) as a food ingredient, *J. Food* Chem. Tox., **2007**, 13p. [On line]: www.Sciencedirect.com. [citado: 2007].

22. DANUTE, A.P., Flower oils and floral compounds in perfumery, published by *Perfurmer & Flavorist*, Illinois, **1993**, pp. 246-250.

23. MWEINET, L'ylang-ylang des Comores, **2000,** <http://www.comores-On-line.com/epices/ylang.htm>.

24. NAVES, Y.R., ARDIZIO, P., Etudes sur les Matières Végétales Volatiles CLVIII, Sur la Composition de l'essence absolue d'Ylang-Ylang, Helv. Chim. Acts, **1959**, 42. (5), pp.1692-1695.

25. KAISER, R., LAMPARSKY, D., Constituants azotés entrante de vuelques absolues de Fleurs et Leurs headspace correspondents. VIIIth Internacional Essential Oil Congreso, Cannes, **1980**, Proceedings, Fedarom 7, Rue Gazon 06130 Grasse, 1982, 90, pp.287-294.

26. SERRANO, M. Estudio de la Variación del Aroma de Flores de Ylang-Ylang. En Función del Tiempo de su Almacenamiento y Hora de Recolección, y de su Posible Actividad Antioxidante *in Vitro*. Bucaramanga, **2002**, pp.93-96. Trabajo de grado (Maestría en Química). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias.

27. BROPHY, J., *et al*., Essential oils from the leaves of some Queensland Annonaceae, *J essent*. *oil Res*, **2004,**16. (2), pp.95-100.

28. CALOPRISCO, E., FOURNERON, D.J., *et al*., Unusual lactones from *Cananga odorata* (Annonaceae), *J. Agric. Food Chem*, **2002**, 50, pp. 78-80.

29. RAHMAN, M.M., *et al*., Antibacterial and cytotoxic compounds from the bark of *Cananga odorata*; *Fitoterapia*, **2005**, 76, pp. 758-761.

30. Tian-Jye, H., *et al*.; Cytotoxic constituents of the fruits of *Cananga odorata*, *J. Nat. Prod,* **2001,** 64, pp. 616-619.

31. BANDONI, Arnaldo (Ed.). Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores, Editorial U.N.L.P ,**2000.**

32. LIGUN WANG, WELLER**.** Recent advances in extraccion of nutraceuticals from plants, 17. (6), **2006**, pp. 300-312.

33. VINATORU, M., An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs, *Ultrason*. *Sonochem*, **2001**, 8(3), pp. 303-313.

34. FORTINEAU, A.D., Chemistry perfumes your daily life, J. Chem Ed, **2004**, 81(1),pp.45-47.[Online]: http://homepages.gac.edu/~sbur/CHE251/perfumes.pdf [Citado 15-06-2006].

35. REVERCHON, E., *et al*., Supercritical CO_2 fractionation of jasmine concrete, *J. Supercrit. Fluids*, **1995**, 8, pp.60-65.

36. JIROVETZ, L., BUCHBAUER, G (Eds)., Processing, analysis and application of essential oils. (Editores)., Processing, analysis and application of essential oils. **2005**. Har Krishan Bhalla & Sons, New Delhi, India. 322p.

37. IKEDA, N;ISHIHARA M., *et al.,* Volatile components of honeysuckle (*Lonicera japonica*) flowers, *Flavor and Fragance journal*, **1994**, 9, pp.325-330.

38. REVERCHON, E., *et al*., Modelling de orange flower concrete fractionation by supercritical CO_2, *J. Supercrit. Fluids*., **1999**, 14, pp.115-121.

39. ROUT, P.K., MISRA, R., *et al*., Extraction of Kewda (*Pandanus fascicularis* Lam.) Flowers With Hexane: Composition of Concrete, Absolute and Wax, *Flavor and Fragance journal*, **2005**, 20(4), pp. 442-444.

40. TUTAS, M., *et.al*., Gas Chromatographic Investigation of Rose Concrete, Absolute and Solid Residue, Flavor and Fragance journal, **2005**, 20. (5), pp.481-486.

41. JOULAIN, D., LAURENT RAYMOND.,The absolute from flowers of *Jasminum auriculatum* Vahl from India, *Flavor and Fragance journal,***1995**, 10, pp.193-197.

42. VERGHESE, J., SUNNY,T.P., Seasonal studies on the concrete and absolute of Indian *Jasminium grandiflorum* L. flowers, *Flavor and Fragance* journal,**1992,** 7, pp. 323-327.

43. ROUT, P., NAIK S.N. Y RAO Y.R., Composition of the concrete, absolute, headspace and essential oil of the flowers of Michelia *champaca* Linn, *Flavor and Fragance* journal **, 2006,** 21. pp, 906-911.

44. STASHENKO, E.E., COMBARIZA, M.Y. y PUERTAS, M. A., Aceites esenciales: Técnicas de extracción y análisis. Laboratorio de Fotoquímica & Cromatografía, Escuela de Química, Facultad de Ciencias, UIS, Bucaramanga, **1998**.

45. MUÑOZ, F., Plantas Medicinales y aromáticas: estudio, cultivo y procesado, Ed. Mundi-Prensa, Madrid, **1987**,365 p.

46. KIRCHNER, J.G. and MILLER, J., Preparation of terpeneless essential oils, Ind. Eng. Chem, **1952,** 44(2), pp.318-321.

47. COMBARIZA, M.Y Y y BLANCO, C., Estudio comparativo de los aceites esenciales de hojas y frutos cítricos colombianos. Bucaramanga, **1995**, pp. 15-20. Trabajo de grado (Química). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias.

48. LUQUE DE CASTRO, M.D., JIMENEZ, M.M., and FERNANDEZ, V., Towards more rational techniques for the isolation of valuable essential oils from plants, Trends. Anal Chem, **1999**, 8(11), pp. 708-716.

49. DURÁN, D.C., Estudio del aceite esencial de *Lippia alba* (Verbenaceae) y de los aspectos fisiológicos en diferentes etapas de su crecimiento bajo tres niveles de luz. Bucaramanga, **2005**, p.30. Trabajo de grado (Químico). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias.

50. BICHI, C and SANDRA, P(Eds)., Capillary gas chromatography in essential oil analysis, Ed. Hüthing Verlag, Heidelberg, **1987**, p.435.

51. JENNINGS, W and RAPP, A., Sample preparations for gas chromatography analysis, Ed Hüthig Verlag, Heidelberg, **1983**, p.103.

52. PARÉ, J.R.J., SIGAMIN, M and LAPOINTE, J., **"**Microwave-Assisted Natural Products Extraction", **1981,** US patent 5.002.784.

53. JEAN, F.I., COLLING, G.J and LORD, D., Essential oils and microwave extratcs of cultivated plants, *Perf. Flav*, **1992**, (17), pp.35-41.

54. KINGSTON, H and HASWELL, S., Microwave-Enhanced Chemistry: fundamentals, sample preparation and applications, Ed. American Chemical Society, Washington, **1997**, (17), pp.3-20.

55. KINGSTON, H and JASSIE L., Introduction to microwave sample preparation, theory and practice, Ed. ACS Professional Reference Book, Washington, **1988**, pp. 7-31.

56. LIKENS, S, T and NICKERSON, G.B., Detection of certain holp oil constituents in brewing products, Am Soc. Brew. Proc*;* **1964**, pp. 5-13.

57. GODEFROOT, M., SANDRA, P., and VERZELE, M., New method for quantitative essential oil analysis, *J.Chromat*, **1981**, pp.203-265.

58. JENNINGS, W. and RAPP, A., Sample preparation for gas chromatographic analysis, Ed. Huthig Verlag, Heildelberg, **1983**,103p.

59. NUÑEZ, A.J., Aislamiento y concentración de trazas orgánicas volátiles en cromatografía gaseosa capilar, Ed. CENIC, la Habana, **1992**, pp.20-26.

60. RAFOLS, W., Aprovechamiento industrial de los productos agrícolas, Ed. Interamericana, México, **1985**, p.470, 496.

61. HAWTHORNE, SB., Analytical-scale supercritical fluid extraction, *Anal. Chem*, **1990**, 62(11), p.633 A.

62. CASTRO, M.D. Luque de, VALCARCEL, M and TENA, M. T., Analytical supercritical fluid extraction, Ed. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg**, 1994**, 321 p.

63. WENCLAWIAK, B., Analysis with supercritical fluid: extraction and chromatography, Ed. Springer-Verlag, Berlin, **1992**, 213 p.

64. JENNINGS, W. and SHIBAMOTO, T., Qualitative analysis of flavor and fragrance volatiles by glass capillary gas chromatography, Ed. Academic Press, London, **1980**, p. 472.

65. KOVÁTS, E., Helv. Chim. Acta*,* **1958**, Vol. 41, 1915p.

66. KONIG, W.A. and JOULAIN, D., The atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons, Ed. Verlag, Hamburg, **1998**, 658 p.

67. ADAMS, ROBERT., Identification of essential oils components by gas chromatography/mass spectroscopy, Ed. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, **1995**, 469 p.

68. SCHREIER, P., Analysis of volatiles, methods and applications, Ed. Walter de Gruyter, New York, **1984**, 1463 p.

69. AZCON, J. and TALÓN, M., Fundamentos de fisiología vegetal, McGraw Hill Interamericana, 1 Ed, Barcellona, **2000**, p.4.

70. BADUI, SALVADOR., Química de alimentos, México: Legman de México, **1996**, pp. 213-220.

71. CHOONG, Y., LIN, HSIU and CHEN, CHUNG., A rapid gas chromatographic method for direct determination of free sterols in animal and vegetable fats and oils, J Food. Drug Anal. 7(4), **1999**, pp. 279-290.

72. LEHNINGER, A.L., Bioquímica, Omega, Barcelona, **1980**, pp.285-289.

73. HAMILTON, R.J. and HAMILTON, S., Lipid analysis, a practical approach, Ed. University Press, Oxford, **1992**, 310p.

74. CHRISTIE, W., The analysis of evening primrose oil. En: industrial crops and products. Vol 10, **1999**, pp.73-83.

75. CHRISTIE, W., Preparation of ester derivatives of fatty acids for chromatographic analysis. En: industrial crops and products. Advances in lipid methology. Dundee: The oil press, **1993**, pp. 69-111.

76. LIU, K.S., Preparation of fatty acid methyl esters for gas-chromatographic analysis of lipids in biological material. En: JAOCS. Vol 71, **1994**, pp.1179-1187.

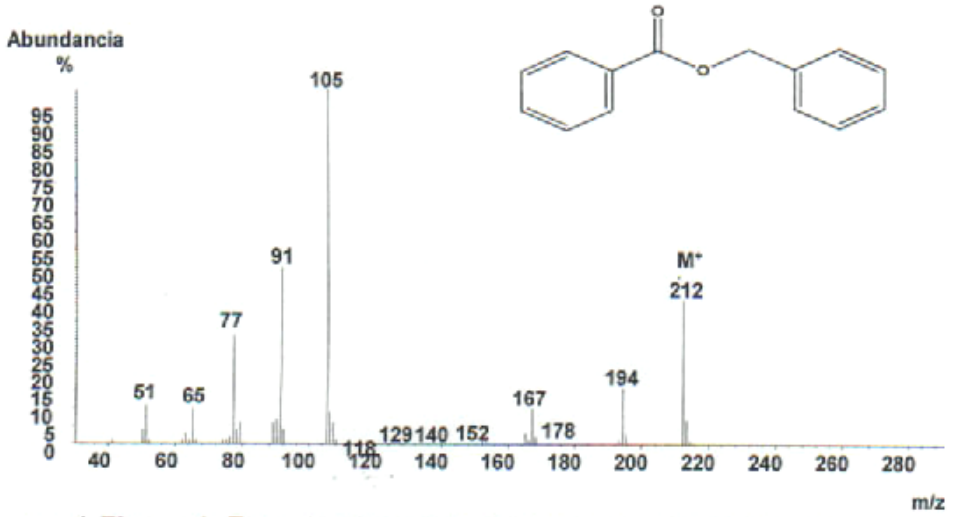
77. CLEMENT, R.E., Gas chromatography, Biochemical and clinical applications, Jhon Wiley Sons, EEUU: **1990**, 393p.

ANEXOS

Anexo 1. Análisis por GC-MS de los principales compuestos de los AE y extractos de La flores, hojas y tallos de ylang-ylang.

Benzoato de bencilo. El espectro de masas (EM) del benzoato de bencilo, componente mayoritario identificado de los extractos concretos y absolutos de las flores de ylang-ylang, se presenta en la **Figura 1.** El ion $M^{+\cdot}$ aparece en m/z 212 (43%), a partir de él se genera el fragmento $(M\text{-}C_7H_7O)^+$, con señal en m/z 105 (100%), el ion pico de base.

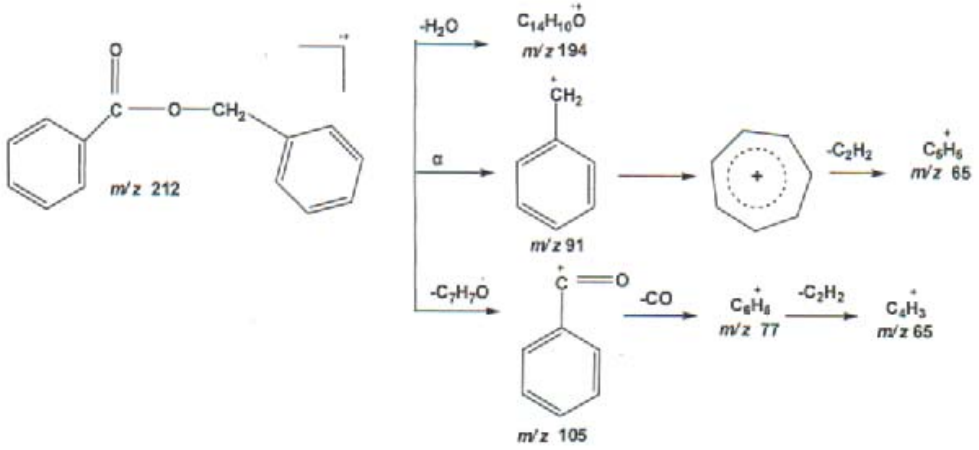
La señal m/z 91(52%) corresponde al ion tropilio $C_7H_7^+$,que es el producto de la ruptura α del $M^{+\cdot}$. El ion $M^{+\cdot}$ por medio de un reordenamiento de esqueleto molecular se fragmenta con pérdida de agua, formando el ion $C_{14}H_{10}O^+$ en m/z 194(18%).



Anexo 1-Figura 1. Espectro de masas del benzoato de bencilo obtenido por EI (70 eV).

En el **Esquema 1,** se observan las rutas de fragmentación de los iones $C_6H_5^+$, $C_5H_5^+$ y $C_4H_3^+$; estos fragmentos son típicos de los compuestos aromáticos

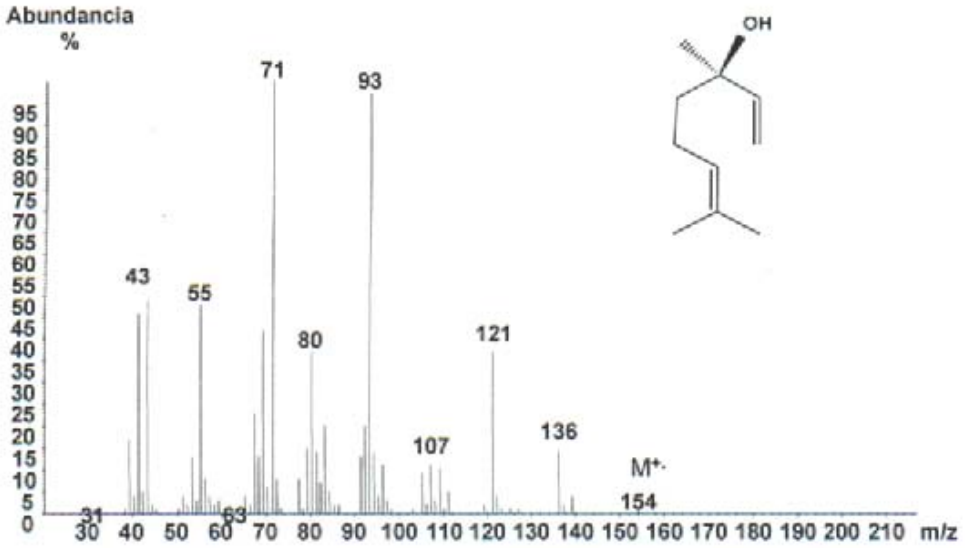
Anexo 1-Esquema 1. Rutas de fragmentación del benzoato de bencilo



Linalool: EL espectro de masas de linalool, componente mayoritario en el AE de ylang-ylang, se ilustra en la **Figura 2.** Presenta el patrón de fragmentación tipico de monoterpenoles. Las rutas de la ionización disociativa por impacto de electrones (70 ev) se observan en el **esquema 2.**

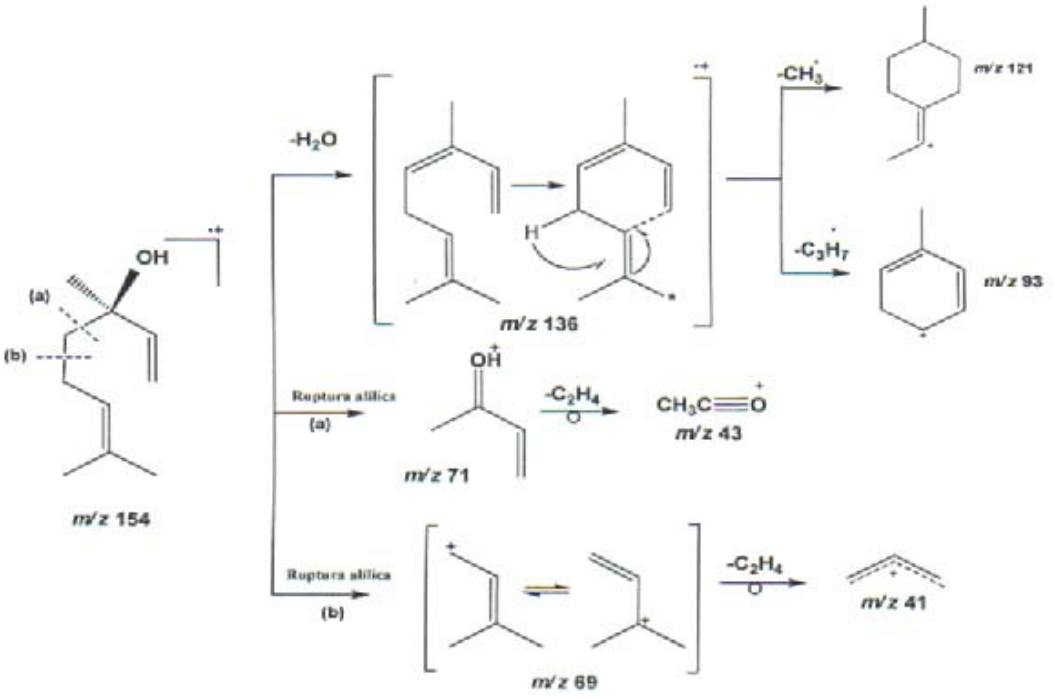
Como se observa en el EM de linalool, el pico molecular $M^{+\cdot}$ en m/z 154 presenta muy baja intensidad (1%). La señal en m/z 93(97%) corresponde al ion $(M-H_2O-C_3H_7)^+$, el cual se genera por la pérdida inicial de H_2O (característica de alcoholes) acompañada de un reordenamiento y posterior eliminación del radical $-C_3H_7^{\cdot}$.

El efecto de los dobles enlaces es determinante en las intensidades de los picos, ya que por rupturas alílicas en el ion $M^{+\cdot}$, **a** y **b**, conducen a la formación de los fragmentos $C_4H_7O^+$ en m/z 71(100%)(**a**), pico de base, y el ion $C_5H_9^+$ en m/z 69 (42%)(**b**); los cuales posteriormente generan fragmentos $(C_2H_3O)^+$en m/z 43(49%) y $(C_3H_5)^+$ en m/z 41(45%).



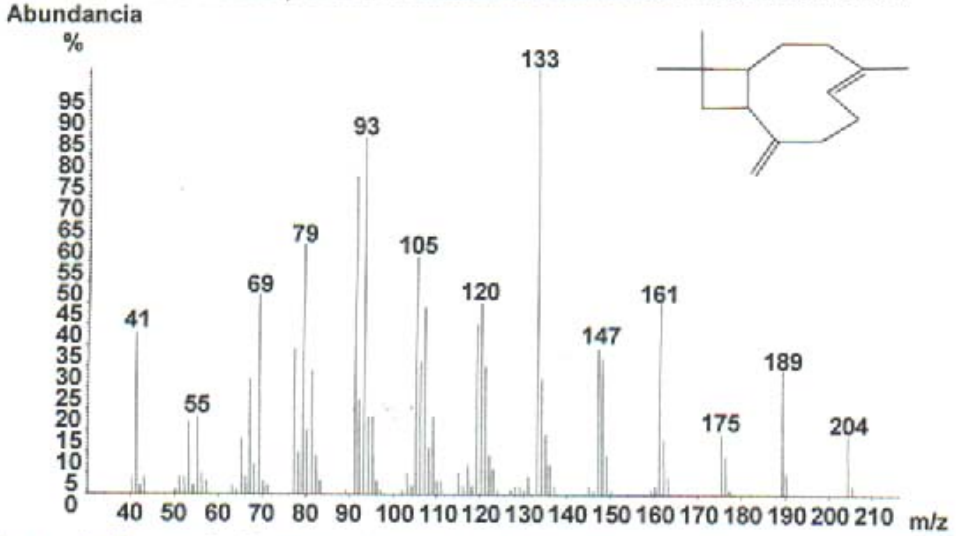
Anexo 1-Figura 2. Espectro de masas del linalool obtenido por EI (70 eV).

Anexo 1-Esquema 2. Rutas de fragmentación del linalool



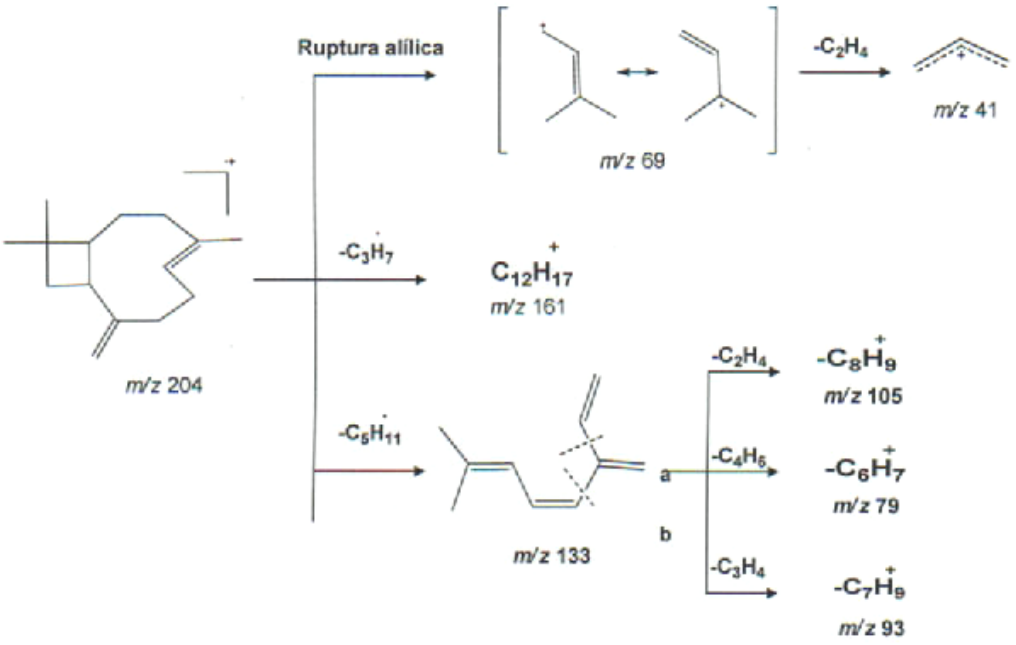
***Trans-β-* Cariofileno.** En la **Figura 4,** Se observa el espectro de masas del *trans*-β-cariofileno; componente mayoritario del AE de hojas de ylang-ylang, caracterizado por una fragmentación abundante y un ion molecular, $M^{+\cdot}$ m/z 204 (14%).

En el **Esquema 4,** se representan Las rutas de la ionización disociativa por impacto de electrones (70ev). El ion pico de base, se forma por dos posibles rutas; a saber: a partir del ion molecular, debido a la pérdida del radical $C_5H_{11}^{\cdot}$ y a la eliminación de eteno del ion m/z 161$(M\text{-}C_3H_7)^{+}$. El ion molecular del *trans*-β-cariofileno experimenta una ruptura arílica, que produce los iones en m/z 69 y m/z 41. A partir del ion, pico de base, se originan los fragmentos en m/z 79, m/z 93, y m/z 105, ocasionados por la eliminación de diferentes moléculas neutra

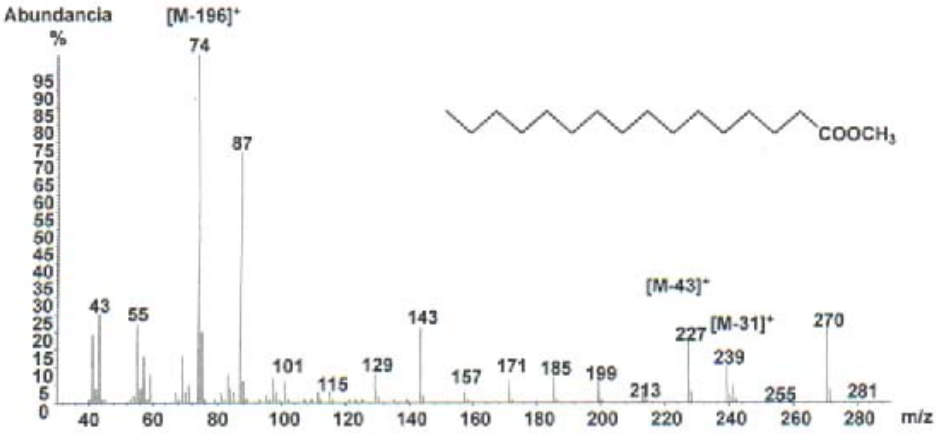


Anexo1-Figura 4. Espectro de masas del *trans*-β- cariofileno obtenido por EI (70 eV).

Esquema 4. Ruta de fragmentación del *trans*-β-cariofileno.



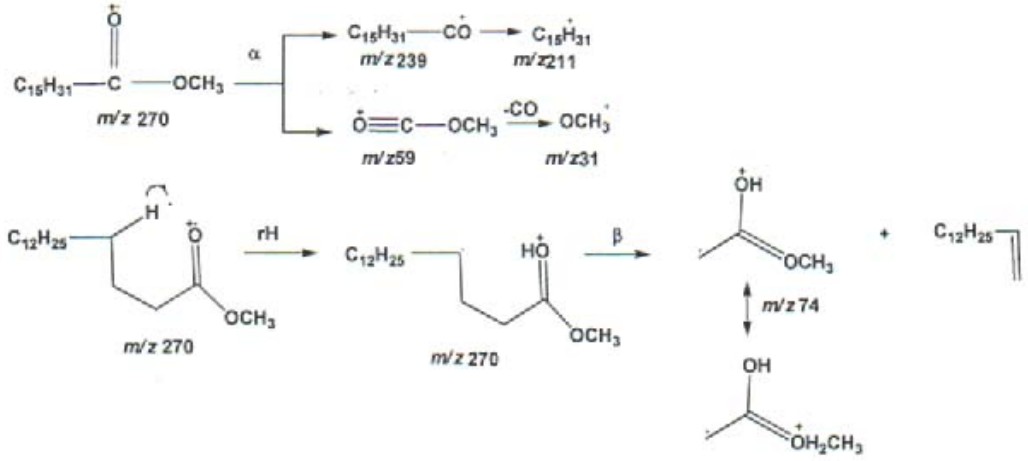
Anexo 2. MS y rutas de fragmentación de los principales FAME de las semillas de ylang-ylang.

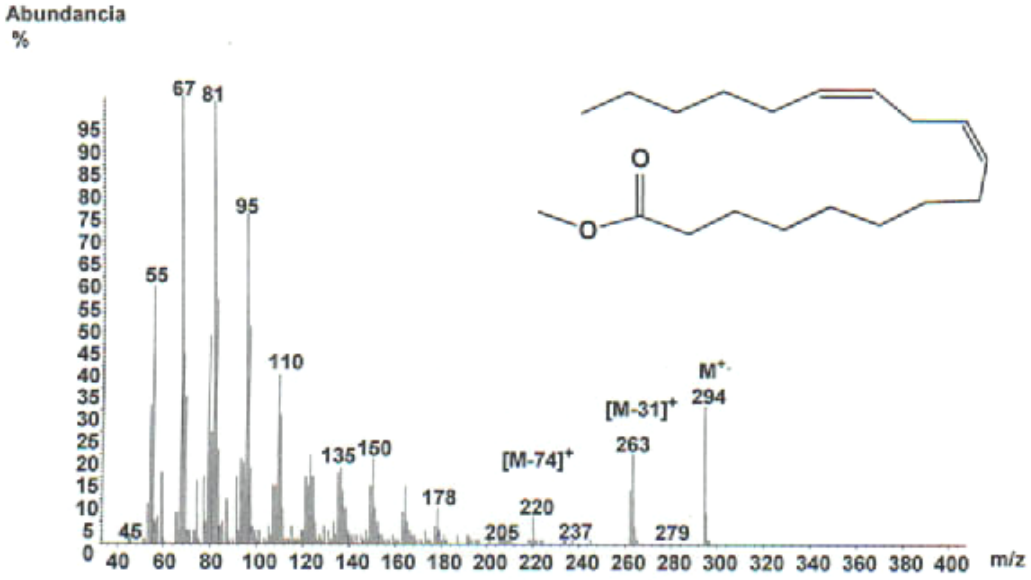


Anexo 2-Figura 5. Espectro de masas del éster metílico del ácido palmítico obtenido por EI (70 eV).

.

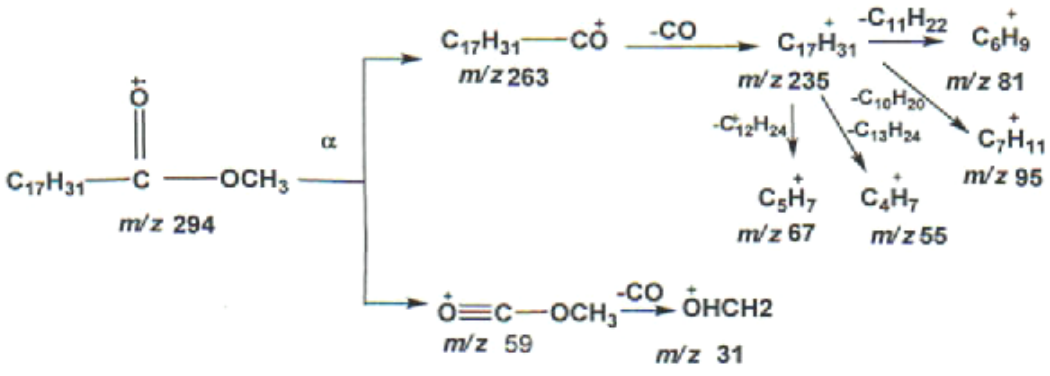
Anexo2-Esquema 5. Fragmentación típica del éster metílico del ácido palmítico.



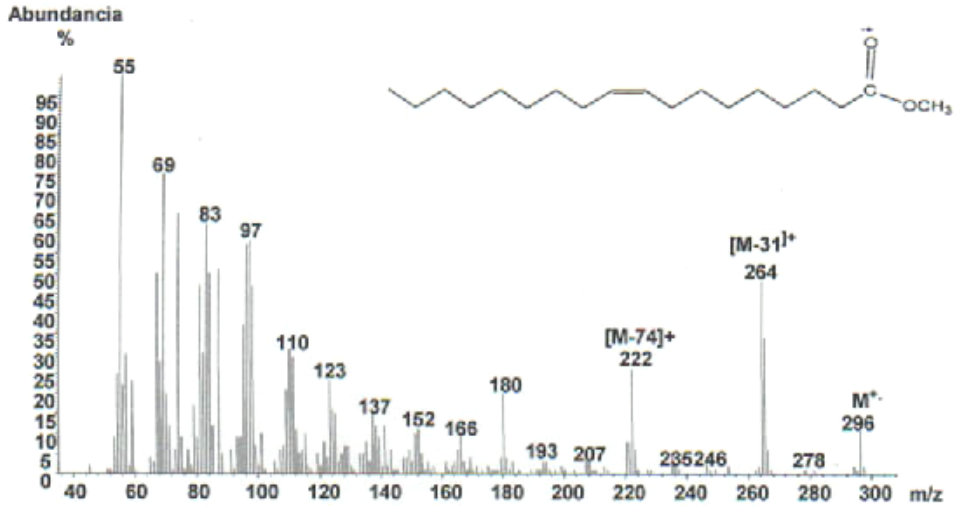


Anexo 2-Figura 6. Espectro de masas del éster metílico del ácido linoléico obtenido por EI (70 eV).

Esquema 6. Fragmentación típica del éster metílico del ácido linoléico.



135



Anexo 2-Figura 7. Espectro de masas del éster metilico del ácido oleico obtenido por EI (70 eV).

Esquema 7. Fragmentación típica del éster metílico del ácido oleico