

**ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA FRAGANCIA DE LAS  
FLORES DE *Posoqueria latifolia*, UTILIZANDO DIFERENTES TÉCNICAS DE  
EXTRACCIÓN**

**OSCAR AUGUSTO ARIZA GALEANO**

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

**ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA FRAGANCIA DE LAS  
FLORES DE *Posoqueria latifolia* UTILIZANDO DIFERENTES TÉCNICAS DE  
EXTRACCIÓN**

**OSCAR AUGUSTO ARIZA GALEANO**

**Trabajo de Grado como requisito  
parcial para optar al título de Químico.**

**Directora:** Elena E. Stashenko, Química, Ph. D.

**Co-director:** Jairo Rene Martínez, Químico, Ph. D.

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

## **AGRADECIMIENTOS**

El autor expresa sus agradecimientos a:

La Dra. Elena E. Stashenko y al Dr. Jairo R. Martínez, por los aportes hechos durante la realización de este trabajo de grado y por haberme permitido pertenecer a esta escuela de formación académica y política.

A Elkin, Alejandro, Mónica, Carlos, Ginna, Johanna, Martín y a todos los compañeros del Laboratorio de Cromatografía, que me dieron de una u otra manera aportes para poder realizar mi trabajo de grado.

A mis padres y hermanas que siempre estuvieron ahí brindando su apoyo para que lograra este objetivo.

A el Dr. Alirio Palma, que me colaboro con parte de la corrección de este libro, y que fue siempre sincero y amable conmigo.

Al Dr. Hernando Moncaleano, por los aportes hechos en la calificación del trabajo de grado.

A todos los profesores de los cuales he recibido su conocimiento para formarme como profesional.

## DEDICATORIA

*Este trabajo de grado se lo dedico a mi hija valentina que desde que nació se convirtió en el motivo más grande que tengo para salir adelante.*

*A mis padres que durante gran parte de mi vida hicieron esfuerzos para que yo pudiera tener una educación digna.*

*A todos los estudiantes, trabajadores y profesores que luchan por la educación pública y por acabar con la injusticia en éste país.*

## RESUMEN

**TITULO: ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA FRAGANCIA DE LAS FLORES DE *Posoqueria latifolia*, UTILIZANDO DIFERENTES TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN\***

**AUTOR:** Oscar Augusto Ariza Galeano\*\*

**PALABRAS CLAVES:** *Posoqueria latifolia*, fragancia, acetato de *cis*-hex-3-enilo, absoluto

*Posoqueria latifolia* es un árbol nativo de América Central y parte de Sur América, tiene flores que presentan un aroma perfumado que se intensifica en las horas de la noche.

En el presente trabajo, se determinó la composición química de la fragancia y de los extractos volátiles de las flores de *Posoqueria latifolia*, usando las técnicas de hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHD), extracción con fluido supercrítico (SFE), destilación-extracción con solvente simultánea (SDE), microextracción en fase sólida en el modo *headspace* (HS-SPME) y la obtención del absoluto.

En total se detectaron 88 compuestos en concentraciones mayores de 0.1%, de los cuales se logró identificar el 86.4%, encontrando compuestos oxigenados que son los responsables de la fragancia de la flor. Específicamente en las fracciones aisladas por las técnicas de SPME, SDE y MWHD de los pétalos de las flores de *Posoqueria latifolia*, se encontraron componentes mayoritarios de *cis*-hex-3-enilo y el acetato de bencilo, que son de gran importancia en la fragancia de la flor. Extractos obtenidos por SFE, MWHD y en el absoluto se detectaron grandes cantidades de hidrocarburos, entre ellos, el tricosano, C<sub>23</sub>, 1-pentacoseno y pentacosano C<sub>25</sub>, algunos de estos compuestos son reportados como kairomonas que utilizan las flores para atraer insectos polinizadores.

---

\* Trabajo de grado

\*\* Universidad Industrial de Santander, Facultad de Ciencias, Escuela de química, Directores: Elena E. Stashenko y Jairo R. Martínez

## ABSTRACT

**Title: STUDY OF THE CHEMICAL COMPOSITION OF THE FRAGRANCE OF *POSOQUERIA LATIFOLIA* FLOWERS, USING DIFFERENT EXTRACTION TECHNIQUES\*.**

**AUTHOR:** Oscar Augusto Ariza Galeano\*\*

**KEYWORDS:** *Posoqueria latifolia*, fragrance, acetate cis-hex-3-enyl, absolute

*Posoqueria latifolia*, a tree native of Central and part of South America, has flowers with a fragrant aroma that intensifies in the night.

The chemical composition of the fragrance and volatile extracts of *Posoqueria latifolia* flowers, was studied, using various techniques, namely, microwave radiation assisted hydrodistillation (MWHD), supercritical fluid extraction (SFE), simultaneous distillation-solvent extraction (SDE), and headspace solid-phase micro extraction (HS-SPME).

A total of 88 compounds were detected at concentrations greater than 0.1%, 86.4% of which were positively identified, finding that oxygenates are responsible for the fragrance of the flower. Fractions isolated by SPME, SDE and MWHD of petals of *Posoqueria latifolia* flowers, were mainly composed of hex-cis-3-enyl and benzyl acetate, which are of great importance in the flower fragrance. The absolute and SFE and MWHD extracts contained large relative amounts of hydrocarbons, including tricosane, C23, 1-pentacosene and pentacosane C25; some of these compounds have been reported as kairomones used by flowers to attract insect pollinators.

---

\* Graduation project.

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

## CONTENIDO

	pag
INTRODUCCIÓN	17
1 MARCO TEÓRICO	19
1.1 MARCO DE ANTECEDENTES	19
1.2 METABOLITOS SECUNDARIOS VOLÁTILES.	22
1.2.1 Biosíntesis de metabolitos secundarios.	23
1.3 FRAGANCIA DE LAS FLORES.	24
1.4 TÉCNICAS DE OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES.	24
1.4.1 Aceites esenciales.	25
1.4.2 Hidrodestilación asistida por la radiación de microondas.	26
1.5 TÉCNICAS DE OBTENCIÓN DE EXTRACTOS.	27
1.5.1 Destilación con vapor-extracción con solvente simultánea.	27
1.5.2 Extracción con fluido supercrítico.	29
1.5.3 Microextracción en fase sólida en el modo <i>headspace</i> .	31
1.5.4 Absolutos y Concretos.	33
1.6 ANÁLISIS INSTRUMENTAL.	35
1.6.1 Cromatografía de gases.	35
1.6.2 Espectrometría de masas.	36
1.6.3 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.	37
1.7 ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES	37

<b>2</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b>	<b>39</b>
<b>2.1</b>	<b>RECOLECCIÓN DE MATERIAL VEGETAL</b>	<b>40</b>
<b>2.2</b>	<b>IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LA PLANTA.</b>	<b>40</b>
<b>2.3</b>	<b>EXTRACCIÓN POR MWHD DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS FLORES DE <i>Posoqueria latifolia</i></b>	<b>40</b>
<b>2.4</b>	<b>EXTRACCIÓN CON FLUIDO SUPERCRÍTICO</b>	<b>41</b>
<b>2.5</b>	<b>DESTILACIÓN-EXTRACCIÓN SIMULTÁNEA</b>	<b>41</b>
<b>2.6</b>	<b>OBTENCIÓN DEL ABSOLUTO</b>	<b>42</b>
<b>2.7</b>	<b>MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA EN EL MODO HEADSPACE.</b>	<b>42</b>
<b>2.8</b>	<b>ANÁLISIS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A UN DETECTOR SELECTIVO DE MASAS.</b>	<b>43</b>
<b>2.9</b>	<b>ANÁLISIS DE CLUSTER Y DE COMPONENTES PRINCIPALES</b>	<b>44</b>
<b>3.</b>	<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS</b>	<b>45</b>
<b>3.1</b>	<b>ANÁLISIS POR GC-MS DEL EXTRACTO DE LAS FLORES DE <i>Posoqueria latifolia</i>, OBTENIDO POR MWHD.</b>	<b>47</b>
<b>3.2</b>	<b>ANÁLISIS POR GC-MS DEL EXTRACTO DE LOS PÉTALOS DE LAS FLORES DE <i>Posoqueria latifolia</i>, OBTENIDO POR MWHD.</b>	<b>50</b>
<b>3.3</b>	<b>ANÁLISIS POR GC-MS DEL EXTRACTO DE LAS FLORES DE <i>Posoqueria latifolia</i>, OBTENIDO POR SDE.</b>	<b>53</b>
<b>3.4</b>	<b>ANÁLISIS POR GC-MS DEL EXTRACTO DE LAS FLORES DE <i>Posoqueria latifolia</i>, OBTENIDO POR SFE.</b>	<b>56</b>
<b>3.5</b>	<b>ANÁLISIS DE LA FRACCIÓN VOLÁTIL DE LAS FLORES DE <i>Posoqueria latifolia</i>, OBTENIDA POR HS-SPME <i>in vivo</i>.</b>	<b>59</b>
<b>3.6</b>	<b>ANÁLISIS DE LA FRACCIÓN VOLÁTIL DE LAS FLORES DE <i>Posoqueria latifolia</i>, OBTENIDA POR HS-SPME <i>in vitro</i>.</b>	<b>62</b>

<b>3.7 ANÁLISIS DEL ABSOLUTO DE LAS FLORES DE</b> <b><i>Posoqueria latifolia</i></b>	<b>65</b>
<b>3.8 ANÁLISIS POR GC-MS DE LOS EXTRACTOS DE</b> <b><i>Posoqueria latifolia.</i></b>	<b>67</b>
<b>3.8.1 Fragmentación de aldehídos.</b>	<b>68</b>
<b>3.8.2 Fragmentación de los ésteres.</b>	<b>69</b>
<b>3.8.3 Fragmentación de los sesquiterpenos.</b>	<b>71</b>
<b>3.8.4 Fragmentación de alcoholes.</b>	<b>72</b>
<b>3.8.5 Fragmentación de hidrocarburos.</b>	<b>74</b>
<b>3.9 COMPARACIÓN ENTRE LAS DIFERENTES TÉCNICAS DE</b> <b>EXTRACCIÓN UTILIZANDO DIFERENTES ANÁLISIS</b> <b>ESTADÍSTICOS.</b>	<b>75</b>
<b>3.9.1 Análisis <i>cluster</i>.</b>	<b>77</b>
<b>3.9.2 Análisis de componentes principales PCA.</b>	<b>79</b>
<b>4 Conclusiones</b>	<b>83</b>
<b>5 Recomendaciones</b>	<b>85</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>86</b>
<b>Anexo 1.</b>	<b>92</b>
<b>Anexo 2.</b>	<b>95</b>
<b>Anexo 3.</b>	<b>102</b>

## ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

<b>AE:</b>	Aceite(s) esencial(es).
<b>AL:</b>	Aldehído(s).
<b>ca.:</b>	Aproximadamente.
<b>e.g.:</b>	Por ejemplo.
<b>ES:</b>	Éstere(s).
<b>GC:</b>	Cromatógrafo de gases o cromatografía gases, según el contexto.
<b>GC-MS:</b>	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.
<b>H:</b>	Hidrocarburo(s).
<b>HD:</b>	Hidrodestilación
<b>HS:</b>	Espacio de cabeza.
<b>HS-SPME:</b>	<i>Headspace</i> -Microextracción en fase sólida.
<b>OH:</b>	Alcohol(es).
<b>PDMS:</b>	Poli(dimetilsiloxano).
<b>PDMS/DVB:</b>	[Poli(dimetilsiloxano)]/divinilbenceno
<b>MWHD:</b>	Hidrodestilación asistida por la radiación de microondas.
<b>P-MWHD:</b>	Extracción de los pétalos asistida por la radiación de microondas.
<b>PCA:</b>	Análisis de componentes principales.
<b>RDA:</b>	Retro-Diels-Alder.
<b>S:</b>	Sesquiterpeno(s).
<b>SDE:</b>	Destilación-extracción con solvente simultánea.
<b>SFE:</b>	Extracción con fluido supercrítico.

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Composición química, reportada por Kaiser 2002, de las flores de <i>Posoqueria latifolia</i> [3].	<b>Pag.</b> <b>21</b>
<b>Tabla 2.</b> Composición química de los extractos de <i>Posoqueria latifolia</i> .	<b>22</b>
<b>Tabla 3.</b> Composición general por clases de compuestos aislados por las diferentes técnicas de extracción.	<b>46</b>
<b>Tabla 4.</b> Compuestos mayoritarios (>1%) en el extracto obtenido por MWHD, usando una columna apolar, de las flores de <i>Posoqueria latifolia</i> .	<b>48</b>
<b>Tabla 5.</b> Cantidad relativa (>1 %) del extracto de los pétalos de las flores de <i>Posoqueria latifolia</i> obtenido por MWHD.	<b>52</b>
<b>Tabla 6.</b> Compuestos principales del extracto obtenido por SDE de las flores de <i>Posoqueria latifolia</i> .	<b>55</b>
<b>Tabla 7.</b> Cantidad relativa(>0.1%) y la identificación de los compuestos presentes en el extracto de las flores de <i>Posoqueria latifolia</i> obtenido por SFE.	<b>57</b>
<b>Tabla 8.</b> Cantidad relativa (%) e identificación de componentes de la fracción volátil <i>in vivo</i> de las flores de <i>Posoqueria latifolia</i> obtenidos por HS-SPME.	<b>60</b>
<b>Tabla 9.</b> Cantidad relativa (%) e identificación de los componentes de la fracción volátil de las flores de <i>Posoqueria latifolia</i> obtenida por HS-SPME <i>in vitro</i> .	<b>63</b>
<b>Tabla 10.</b> Cantidad relativa (%) e identificación de los compuestos presentes en el absoluto de las flores de <i>Posoqueria latifolia</i> .	<b>66</b>
<b>Tabla 1-1.</b> Cantidad relativa (%) e identificación de los compuestos presentes en la fragancia de las flores de <i>Posoqueria latifolia</i> , obtenidos por diferentes técnicas de extracción.	<b>92</b>
<b>Tabla 2-1.</b> Matriz de las técnicas versus los tipos de compuestos para el análisis estadístico.	<b>95</b>

<b>Tabla 2-2.</b> Matriz de las técnicas versus los compuestos para el análisis estadístico.	<b>95</b>
<b>Tabla 2-3</b> Coordenadas de los factores de las variables por correlaciones de los tipos de compuestos.	<b>97</b>
<b>Tabla 2-4</b> Contribución de las variables a los factores por correlaciones de los tipos de compuestos.	<b>97</b>
<b>Tabla 2-5</b> Contribución de las variables a los factores por correlaciones de todos los compuestos.	<b>98</b>
<b>Tabla 2-6</b> Coordenadas de los factores de las variables por correlaciones de todos los compuestos.	<b>100</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Árbol de <i>Posoqueria latifolia</i> en etapa de floración.	<b>19</b>
<b>Figura 2.</b> Iridoides aislados de las hojas de <i>Posoqueria latifolia</i> ; A- posoquenina, B-latifolina.	<b>20</b>
<b>Figura 3.</b> Montaje de hidrodestilación asistida por la radiación de microondas.	<b>27</b>
<b>Figura 4.</b> Montaje de destilación-extracción con solvente simultánea	<b>28</b> <b>30</b>
<b>Figura 5.</b> Montaje de extracción con fluido supercrítico SFE	
<b>Figura 6.</b> Montaje de microextracción en fase sólida en el modo <i>headspace</i> , HS-SPME. Muestreo <i>in-vivo</i> de los volátiles de flores.	<b>32</b>
<b>Figura 7.</b> Equipo de ultrasonido (EMA, E30 H, Elmasonic) utilizado para extraer el concreto.	<b>33</b>
<b>Figura 8.</b> Cromatograma típico del extracto, obtenido por MWHD, de las flores de <i>Posoqueria latifolia</i> .	<b>47</b>
<b>Figura 9.</b> Distribución de compuestos por clases en el extracto de las flores de <i>Posoqueria latifolia</i> , obtenido por MWHD.	<b>49</b>
<b>Figura 10.</b> Cromatograma del extracto de los pétalos de las flores de <i>Posoqueria latifolia</i> , obtenido por MWHD.	<b>51</b>
<b>Figura 11.</b> Distribución por clases de compuestos, presentes en el extracto de los pétalos de las flores de <i>Posoqueria latifolia</i> , obtenido por MWHD.	<b>53</b>
<b>Figura 12.</b> Cromatograma del extracto obtenido por SDE de las flores de <i>Posoqueria latifolia</i> , utilizando una columna apolar.	<b>53</b>
<b>Figura 13.</b> Distribución de clases de compuestos presentes en el extracto de las flores de <i>Posoqueria latifolia</i> , obtenido por SDE.	<b>56</b>

<b>Figura 14.</b> Cromatograma típico del extracto obtenido por SFE de las flores de <i>Posoqueria latifolia</i> .	<b>57</b>
<b>Figura 15.</b> Distribución por clases de compuestos en el extracto obtenido por SFE de las flores de <i>Posoqueria latifolia</i> .	<b>58</b>
<b>Figura 16.</b> Cromatograma de la fracción volátil de las flores de <i>Posoqueria latifolia</i> , obtenido por HS-SPME <i>in vivo</i> .	<b>59</b>
<b>Figura 17.</b> Distribución por clases de compuestos de la fracción volátil de las flores de <i>Posoqueria latifolia</i> , obtenida por HS-SPME <i>in vivo</i> .	<b>61</b>
<b>Figura 18.</b> Cromatograma de la fracción volátil de las flores de <i>Posoqueria latifolia</i> , obtenida por HS-SPME <i>in vitro</i> .	<b>62</b>
<b>Figura 19.</b> Distribución por clases de compuestos presentes en la fracción volátil de las flores de <i>Posoqueria latifolia</i> , obtenida por HS-SPME <i>in vitro</i> .	<b>64</b>
<b>Figura 20.</b> Cromatograma del absoluto de las flores de <i>Posoqueria latifolia</i> .	<b>64</b>
<b>Figura 21.</b> Distribución por clases de compuestos del absoluto de las flores de <i>Posoqueria latifolia</i> .	<b>67</b>
<b>Figura 22.</b> Espectro de masas del fenil acetaldehído. EI, 70 eV.	<b>68</b>
<b>Figura 23.</b> Espectro de masas del acetato de <i>cis</i> -hex-3-en-1-ilo. EI, 70 eV.	<b>70</b>
<b>Figura 24.</b> Espectro de masas del biciclosesquifelandreno. EI, 70 eV.	<b>71</b>
<b>Figura 25.</b> Espectros de masas de 2-metoxi-4-(2-hidroxihexil)-fenol. EI, 70 eV.	<b>73</b>
<b>Figura 26.</b> Espectro de masas del tricosano. EI, 70 eV.	<b>74</b>
<b>Figura 27.</b> Clases de compuestos químicos, aislados de flores de <i>Posoqueria latifolia</i> por diferentes técnicas de extracción	<b>76</b>

<b>Figura 28.</b> Análisis de <i>cluster</i> , usando las clases de compuestos para diferentes técnicas de extracción.	<b>77</b>
<b>Figura 29.</b> Análisis de <i>cluster</i> , usando los compuestos aislados por diferentes técnicas de extracción.	<b>78</b>
<b>Figura 31.</b> Análisis de componentes principales de acuerdo con varias clases de compuestos aislados por diferentes técnicas de extracción.	<b>80</b>
<b>Figura 31.</b> Análisis de componentes principales de los casos usando las variables que son todos los compuestos presentes en los extractos aislados por las diferentes técnicas de extracción empleadas.	<b>82</b>
<b>Figura 3-1.</b> Estructuras de los compuestos obtenidos por los diferentes métodos de extracción	<b>93</b>

## LISTA DE ESQUEMAS

	<b>pag</b>
<b>Esquema 1.</b> Ruta de fragmentación del fenil acetaldehído. EI, 70 eV.	<b>60</b>
<b>Esquema 2.</b> Ruta de fragmentación del acetato de <i>cis</i> -hex-3-en-1-ilo. EI, 70 eV.	<b>61</b>
<b>Esquema 3.</b> Ruta de fragmentación del biciclosesquifelandreno. EI, 70 eV.	<b>6</b>
<b>Esquema 4.</b> Ruta de fragmentación del 2-metoxil-4-(2-hidroxihexil)-fenol. EI, 70 eV.	<b>64</b>
<b>Esquema 5.</b> Ruta de fragmentación del tricosano. EI, 70 eV.	<b>66</b>

## INTRODUCCIÓN

Las Rubiáceas son una familia de plantas Dicotiledóneas, formada por unos 630 géneros y 10.400 especies; tienen hojas opuestas en el tallo, provistas característicamente de estípulas (apéndices foliares) en la base del pecíolo (tallo foliar), estos últimos con frecuencia soldados entre sí y, a veces, se prolongan en grandes estructuras foliosas.

[1].

La familia de las Rubiáceas es de distribución amplia, aunque concentrada en los trópicos, donde casi todas las especies son leñosas. Se trata de una familia de considerable importancia económica. En efecto, a ella pertenece, entre otras, el café, y de ciertas especies se extraen tintes y medicamentos como la quinina y la ipecacuana. Algunas especies nativas de las regiones templadas, como la aspérula y el galio, se cultivan como ornamentales, especialmente, en jardines de rocalla. También se cultivan muchos géneros tropicales por sus flores vistosas y, a menudo, fragantes como las gardenias y el jazmín de embarcadero (*Posoqueria latifolia*). [2].

*Posoqueria latifolia* es un árbol nativo de América Central y parte de Sur América, tiene flores que presentan un aroma perfumado que se intensifica en las horas de la noche. Varias publicaciones presentan estudios de esta especie, en los cuales se han descrito alcaloides indólicos [3] y compuestos iridoides [4]. Otro estudio utilizó la técnica *headspace in vivo* para determinar la composición de la fracción volátil del aroma de las flores, y encontró que el germacreno-D fue el componente mayoritario [5].

En el presente trabajo, se determinó la composición química de la fragancia y de los extractos volátiles de las flores de *Posoqueria latifolia*, usando las técnicas de hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHD), extracción con fluido supercrítico (SFE), destilación-extracción con solvente simultánea (SDE), microextracción en fase sólida en el modo *headspace* (HS-SPME) y la obtención del absoluto.

La composición química del aceite y de los extractos se estableció mediante cromatografía de gases acoplada a un detector selectivo de masas (GC-MS), se determinaron los índices de Kováts en columnas capilares, DB-5MS (fase apolar) y DB-WAX (fase polar), y se estudió la fragmentación de los componentes de las mezclas, analizando sus espectros de masas obtenidos por bombardeo con electrones de 70 eV de energía.

Es de gran importancia determinar la composición química de la fracción volátil de la fragancia de las flores, así como del aceite esencial y de los extractos de SFE y SDE, para encontrar el posible uso agroindustrial de algunos de sus extractos, o simplemente para elaborar y formular un perfume con las características del aroma de estas flores.

Se determinó la composición química de dos secciones diferentes de la flor, obtenidas por MWHD, encontrando que para los pétalos el compuesto mayoritario es el acetato de *cis*-hex-3-enilo, y para la flor, incluyendo 3 cm del tubo que la sostiene, el compuesto mayoritario es el tricosano. Mediante SPME y SDE se obtiene como compuesto mayoritario el acetato de *cis*-hex-3-enilo, mientras que para SFE el componente mayoritario fue el 1-pentacoseno.

La composición química de los extractos muestra la gran cantidad de compuestos oxigenados, responsables de la fragancia tan agradable que libera la flor, sobre todo, en las horas de la noche.

## 1. MARCO TEÓRICO

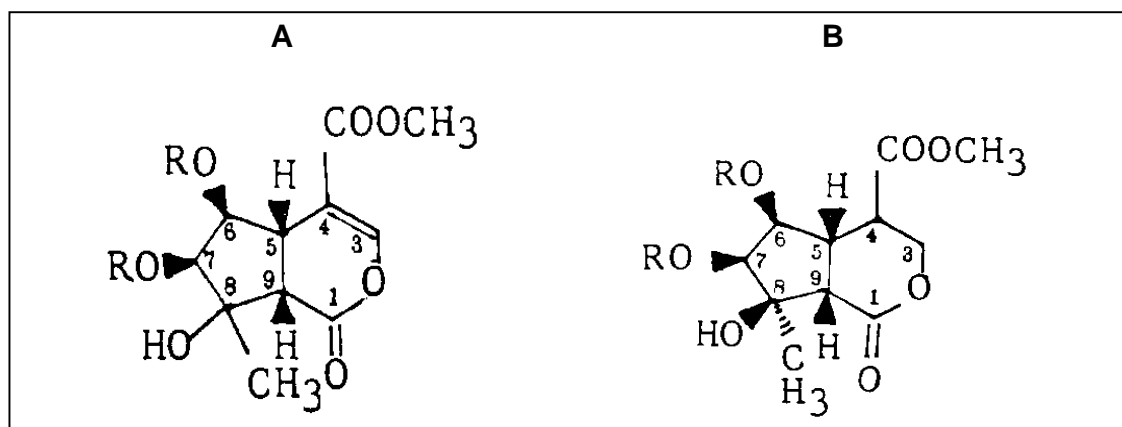
### 1.1 MARCO DE ANTECEDENTES



**Figura 1.** Árbol de *Posoqueria latifolia* en etapa de floración.

*Posoqueria latifolia* es un árbol pequeño, su altura no supera los 7 m, tiene su hábitat preferiblemente a lo largo de los bancos de los ríos en tierras bajas. Las inflorescencias aparecen al final de las ramas y consisten en un racimo de flores blancas con la corola larga y entubada como se puede observar en la **Figura 1**. Durante la noche, las flores liberan un intenso olor floral picante muy agradable [5]. En Colombia es conocido como azuceno [6], jazmín de embarcadero y buqué de novia. En otros países, se conoce como guayabo de mico, jazmín de árbol, jazmín de embarcadero, jazmín de estrella, etc. [7,8].

De la especie *Posoqueria latifolia* se han reportado tres estudios: en el primero, se realizó un estudio sobre las hojas en el cual el material de la planta se extrajo por percolación con etanol hasta agotamiento; después de la evaporación del etanol, el extracto se dividió entre cloroformo y agua para obtener la fracción A (cloroformo). La fase acuosa se mezcló con acetato de etilo para obtener las fracciones B (acetato de etilo) y C (agua). Las fracciones A y B se pasaron por una columna cromatográfica de gel de sílice y se encontraron las sustancias posoquenina y latifonina, respectivamente, que se muestran en la **Figura 2** [4].



**Figura 2.** Iridoides aislados de las hojas de *Posoqueria latifolia*: A-Posoquenina, B-Latifonina [4].

En el segundo, se llevó a cabo el estudio por medio de pruebas *screening*, que permitieron determinar en las hojas la presencia de alcaloides indólicos [3].

En el tercer estudio, se determinó la composición química de un extracto obtenido de una trampa de Porapak, al agregar de 20 a 60 µL de hexano:acetona 10:1. La trampa de Porapak fue previamente instalada en un sistema en el cual recirculaba aire que contenía la fragancia emanada *in-vivo* por la flor de *Posoqueria latifolia*, entre 30 y 120 min [5] En este trabajo, se reporta la siguiente composición química, que aparece en la **tabla 1**.

**Tabla 1.** Composición química, reportada por Kaiser en 2002 [5], de las flores de *Posoqueria latifolia*.

Nombre	Cantidad relativa, %
Germacreno D	34
Isovaleraldoxima	10
2-Metilbutiraldoxima	9
Benzoato de metilo	6,5
Salicilato de bencilo	2,5
<i>trans</i> -Ocimeno	2,2
Acetato de bencilo	1,5
Eugenol	1,2
Salicilato de metilo	1
Tiglatato de bencilo	0,9
1-Nitro-2-metilbutano	0,8
Alcohol bencílico	0,6

El proyecto “Recuperación, sistematización y documentación de las plantas medicinales utilizadas por las comunidades indígenas de la zona de Acaricuara y Yapú, Departamento del Vaupés”, reportó que la *Posoqueria latifolia* tiene propiedades febrífugas y tónicas [9].

En estudios previos realizados por Ariza y colaboradores [10], en el Laboratorio de Cromatografía de la Universidad Industrial de Santander, se ha determinado la composición química de los extractos de las flores de *Posoqueria latifolia* obtenidos por MWHD, SFE y SDE, así como de la fracción volátil de las mismas *in-vivo* por HS-SPME. En la **Tabla 2** se muestra la composición química de los extractos.

**Tabla 2.** Composición química de los extractos de *Posoqueria latifolia*

Compuesto	Cantidad relativa, %			
	MWHD	SFE	SDE	HS-SPME
Hexanal	--	--	4,1	--
<i>cis</i> -3-Metil-butil aldoxima	0,2	--	--	--
<i>trans</i> -3-Metil-butil aldoxima	0,3	--	--	--
Acetato de <i>cis</i> -hex-3-enilo	--	--	14	54
Nonanal	3,4	--	--	--
Acetato de bencilo	2,5	--	16	11
Eugenol	--	--	--	22
Germacreno D	1,1	--	--	--
Benzoato de bencilo	2,5	--	9,7	--
Salicilato de bencilo	8,7	11	7	--
Hidrocarburo, C23	12	8,3	--	--
Pentacoseno	13	27	--	--
Octacoseno	--	11,4	--	--

## 1.2 METABOLITOS SECUNDARIOS VOLÁTILES

Los metabolitos secundarios son compuestos orgánicos que, aparentemente, no tienen una función en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Dichos compuestos no tienen una relación directa y aún bien documentada científicamente en los procesos de fotosíntesis, respiración, transporte de solutos, síntesis de proteínas, asimilación de nutrientes, o la formación de carbohidratos, y lípidos [11,12].

Generalmente, estos metabolitos se encuentran en un grupo de plantas o en algunas especies relacionadas, mientras que los metabolitos primarios se encuentran en todo el reino vegetal [13,14].

Estos compuestos pueden ser divididos en tres grupos: compuestos que tienen nitrógeno, terpenos y sustancias fenólicas.

A los componentes de los metabolitos secundarios volátiles, obtenidos mediante técnicas extractivas y de *headspace*, se les llaman “extractos” y “fracciones volátiles”, respectivamente. Sin embargo, a la mezcla de sustancias obtenida por hidrodestilación, raspado y prensado, en el caso de cítricos, se le denomina “aceite esencial”.

**1.2.1 Biosíntesis de metabolitos secundarios.** Los terpenos son sintetizados a partir de metabolitos primarios mediante dos mecanismos: Uno de los mejor estudiados es el del ácido mevalónico, donde tres moléculas de acetil-coenzima A se unen para formar este ácido, un intermediario de seis carbonos que sufre una serie de reacciones, comenzando con la fosforilación del grupo hidroxilo del alcohol primario, seguido de la descarboxilación y deshidratación, para formar el difosfato de isopentenilo (IPP) el cual es enzimáticamente convertido al difosfato de dimetilalilo (DMAPP), estableciendo un equilibrio entre los dos. Estos productos son el punto de partida para la síntesis de terpenos [15,16].

En otros estudios [15,16], se presentó un segundo mecanismo, que propone que el IPP también puede ser sintetizado a partir de intermediarios de la glicólisis u otras reacciones fotosintéticas que, en conjunto, forman la ruta del metileritritol fosfato (MEP), la cual ocurre en cloroplastos y otros plastidios. En esta ruta, el 3-fosfato gliceraldehído y dos átomos de carbono, derivados del piruvato, se combinan para generar el intermediario MEP, que es, eventualmente, convertido al IPP y al DMAPP [15,16].

### **1.3 FRAGANCIA DE LAS FLORES**

Los productos o “metabolitos secundarios” de las plantas comprenden una vasta serie de compuestos responsables por los “olores característicos”, causticidad y colores de las plantas; también algunas veces proporcionan a la planta sus propiedades culinarias, medicinales o venenosas. Estos productos naturales no parecen tener una función directa, aún completamente definida, en el crecimiento y desarrollo de la planta, en los procesos de fotosíntesis, respiración, en la asimilación y transporte de nutrientes, entre otros; y, a diferencia de los metabolitos primarios (aminoácidos, nucleótidos, carbohidratos, lípidos), su distribución es restringida en la naturaleza, que en algunos casos se limita a especies o subespecies únicas [13,15, 17,18].

Tanto el color, como la fragancia de las flores, son las principales señales para atraer a los insectos polinizadores. Estos compuestos volátiles, constituyentes de la fragancia, permiten a los insectos reconocer específicamente la planta y acceder al polen y néctar, una fuente importante de alimento para muchos insectos [17,19].

Entre los componentes que se encuentran en las fragancias de las flores están: alcoholes, ésteres, compuestos carbonílicos, éteres y terpenos; éstos son los que se encuentran principalmente en la mayoría de los aceites esenciales y fragancias de muchas especies de plantas aromáticas [17,18].

### **1.4 TÉCNICAS DE OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES.**

Hoy en día se encuentran varios procedimientos para obtener aceites esenciales, desde los sistemas a escala de laboratorio, como MWHD y HD, hasta los complejos montajes industriales, tales como HD con arrastre con vapor, HD y

destilación vapor-agua; todos éstos se emplean para la extracción del aceite esencial de las plantas medicinales y aromáticas.

**1.4.1 Aceites esenciales.** Los aceites esenciales son fracciones líquidas volátiles que se obtienen de plantas por destilación por arrastre con vapor de agua o hidrodestilación, y contienen las sustancias que evocan el aroma propio de las plantas [26].

La mayoría de estos aceites se usa en cosméticos; en productos para masajes, en aromaterapia, artesanías o en 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 variedad de enfermedades [20-25].

Los aceites esenciales generalmente son mezclas de muchos componentes que pueden tener 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,  $C_{10}H_{18}O$ ,  $C_{10}H_{16}O$ ,  $C_{10}H_{14}O$ ;
- Sesquiterpenos,  $C_{15}H_{24}$ ;
- Sesquiterpenoides,  $C_{15}H_{26}O$ ,  $C_{15}H_{24}O$ ,  $C_{15}H_{22}O$ .

Los aceites esenciales se pueden hallar en cualquier parte de una planta, por ejemplo, en las flores (rosa, ylang-ylang, geranio), en la cáscara del fruto (naranja, limón), en las hojas (eucalipto, limonaria, ciprés), en la corteza (canela, cedro), en las semillas (cardamomo, anís, eneldo) o en las raíces (sándalo, valeriana) [25, 26].

El valor comercial del aceite esencial y su uso dependen básicamente de su composición química. Las variables que más notoriamente inciden sobre la composición de los aceites esenciales en la planta son: condiciones geobotánicas, método de cultivo, época de recolección, parte de la planta y técnica de obtención del aceite [27].

**1.4.2 Hidrodestilación asistida por la radiación de microondas.** Esta importante técnica ha sido incorporada en aplicaciones biológicas y ambientales, principalmente, para reducir el tiempo de procesos y reacciones químicas. 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 el solvente de extracción [28, 29].

Las microondas son radiaciones electromagnéticas entre 1mm y 1m (30 GHz a 300 MHz), cuyo efecto básico es la interacción con las moléculas de agua, produciendo un aumento rápido de la temperatura. En este procedimiento, MWHD, el vapor, después de su contacto con el material vegetal, se condensa obteniéndose una mezcla de agua y aceite, de la cual se separa, por decantación, el aceite. El equipo de MWHD usado en este trabajo, se muestra en la **Figura 3**.



**Figura 3.** Montaje de hidrodestilación asistida por la radiación de microondas.

## **1.5 TÉCNICAS DE OBTENCIÓN DE EXTRACTOS.**

**1.5.1 Destilación con vapor / extracción con solvente simultánea.** Este método, introducido por primera vez, por Likens y Nickerson [30], combina simultáneamente la hidrodestilación y la extracción con solvente. El SDE es aplicable tanto a matrices fluidas como a no fluidas en suspensión acuosa.

Godefroot y colaboradores [31] diseñaron un equipo de SDE a micro-escala, que se muestra en la **Figura 4**, que permite reducir la cantidad de solvente a emplear, lo que elimina la etapa de concentración, necesaria para el análisis cromatográfico posterior.

En este sistema, el material vegetal, junto con una pequeña cantidad de agua, se introduce en un balón, cuya capacidad puede variar entre 0.1 y 0.5 L, mientras que el solvente (2-10 mL) se adiciona a otro balón, ambos están conectados por vías diferentes al condensador por donde circula una mezcla refrigerante (0-10°C).



**Figura 4.** Montaje de destilación-extracción con solvente simultánea.

Los balones se calientan separadamente hasta lograr punto de ebullición y los vapores generados por cada uno de ellos se condensan y caen en la sección que tiene forma de “U”, lugar donde ocurre la extracción de compuestos volátiles del agua hacia el solvente orgánico. Luego, agua y solvente regresan a sus balones respectivos por conductos separados. De esta forma, se llevan a cabo continuamente la hidrodestilación y la extracción, con una cantidad mínima de solvente, que permite extraer analitos presentes en la matriz, en cantidad suficiente para su análisis por GC.

**1.5.2 Extracción con fluido supercrítico.** Se entiende como fluido supercrítico una sustancia o mezcla llevada, mediante operaciones mecánicas, a una condición de presión y temperatura por encima de su punto crítico. Un fluido supercrítico tiene propiedades tanto de líquido como de gas, otorgándole un gran poder disolvente y una enorme capacidad de penetración (difusión) en sólidos, lo que permite el agotamiento rápido y casi total de las sustancias extraíbles. De este modo, los analitos pueden separarse totalmente de manera sencilla de los extractos, al modificar la presión o la temperatura, hasta que el fluido pase a fase gaseosa [32-34].

Los siguientes fluidos son usados en SFE: dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), agua ( $\text{H}_2\text{O}$ ), etano ( $\text{C}_2\text{H}_6$ ), eteno ( $\text{C}_2\text{H}_4$ ), propano ( $\text{C}_3\text{H}_8$ ), xenón (Xe), óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ), entre otros. El  $\text{CO}_2$  es el de uso más frecuente en la industria [32-34].

La SFE presenta las siguientes ventajas: los extractos obtenidos tienen mayor frescura y aroma natural, se usan temperaturas moderadas o bajas y se evita la degradación térmica de componentes; el extracto está libre de solvente; hay mayor presencia de agentes activos; el rendimiento por extracción es más alto; los extractos se obtienen libres de contaminantes biológicos; el proceso es “amigable” con el ambiente; las variables del proceso son flexibles y los equipos pueden ser

operados automáticamente [32-34].

Otra de las ventajas de la SFE consiste en que el fluido se puede eliminar fácilmente y el solvente se puede reciclar; las temperaturas bajas utilizadas para la extracción no cambian químicamente los componentes del extracto. Sin embargo, el equipo utilizado es relativamente costoso, ya que son necesarias bombas de alta presión y sistemas de extracción resistentes a las altas presiones [32, 34].



**Figura 5.** Equipo Soxhlet de alta presión (J & W Scientific) para la SFE con CO<sub>2</sub>.

La SFE de laboratorio de Cromatografía es una técnica relativamente sencilla: el material vegetal cortado en trozos pequeños, licuado o molido, se empaca en una cámara de acero inoxidable, que se muestra en la **Figura 5**, a través de la cual se

hace circular un fluido en estado supercrítico (e.g., CO<sub>2</sub>), que actúa como solvente de extracción y permite separar los componentes volátiles del material vegetal. El fluido, luego, se descomprime progresivamente, hasta alcanzar la presión y la temperatura ambiente. Se obtiene un extracto, cuyo grado de pureza depende de las condiciones de extracción (60°C y 1100 psi de CO<sub>2</sub>) [32, 34].

**1.5.3 Microextracción en fase sólida en el modo *headspace*.** Las técnicas más conocidas para la extracción de compuestos orgánicos volátiles y semi-volátiles de una muestra sólida o líquida son: *headspace* dinámico o purga y trampa (P&T), para concentración de volátiles; extracción líquido-líquido; extracción en fase sólida y extracción con fluido supercrítico. Sin embargo, estos métodos presentan varios inconvenientes, entre los cuales se destacan su excesivo costo y tiempos prolongados de preparación de la muestra, así como la pérdida de volátiles durante la etapa de concentración [35].

Una nueva técnica de preparación de muestras, que permite eliminar la mayoría de los anteriores inconvenientes, es la microextracción en fase sólida (SPME), desarrollada por Pawliszyn y colaboradores en 1989 [36]; no requiere disolventes o aparatos complicados. Permite obtener compuestos volátiles y no volátiles, a partir de muestras sólidas, líquidas o gaseosas, para su análisis por GC, GC-MS o cromatografía líquida de alta eficiencia, HPLC.

Esta técnica también se usa para el análisis de compuestos en muestras acuosas, tales como hidrocarburos aromáticos, compuestos orgánicos volátiles halogenados, hidrocarburos poliaromáticos, bifenilos policlorados, pesticidas, compuestos nitrogenados, fenoles y sus derivados, entre otros [36, 37].

Pawliszyn y colaboradores [36,37] demostraron que el tiempo de extracción puede ser sustancialmente reducido cuando se utiliza SPME en el modo *headspace*, debido a que la difusión de los analitos en la fase vapor es mucho más rápida que

en la fase acuosa. El equilibrio de los analitos entre la fase gaseosa y la fibra polimérica se alcanza en pocos minutos, mientras que por el método de inmersión en solución acuosa se requieren períodos de muestreo mucho más prolongados. Cuando la fibra recubierta de polímero se introduce directamente en la matriz acuosa, la fibra debe agitarse intensamente, disminuyendo así el tiempo para alcanzar el equilibrio.



**Figura 6.** Montaje de microextracción en fase sólida en el modo *headspace*, HS-SPME. Muestreo *in-vivo* de los volátiles de flores.

La técnica de microextracción en fase sólida involucra la extracción de analitos orgánicos específicos directamente desde la solución o desde su espacio de cabeza, dentro de un vial cerrado o un sistema en el cual se pueda aislar de la mejor manera posible la fase vapor, como en el montaje para realizar SPME *in-vivo* (**Figura 6**), con una fibra de sílice fundida recubierta con un material

adsorbente, por ejemplo, poli(dimetilsiloxano) (PDMS) o poli(acrilato). Después de alcanzar el equilibrio, la fibra que contiene los analitos adsorbidos, es removida del sistema de muestreo y los analitos se desorben térmicamente en el puerto de inyección de un GC. La fibra es reusable, con una vida útil de más de 50 inyecciones, aspecto que reduce considerablemente costos de análisis [36, 37].

**1.5.4 Absolutos y concretos.** Diferentes procesos de extracción pueden ser usados para obtener ingredientes de perfumes: extracción etanólica, expresión, *enfleurage*, destilación, extracción con solventes; este último es el proceso convencional más utilizado para producir fragancias de flores porque permite evitar su degradación, obteniéndose, además, un producto con características organolépticas similares al material natural.



**Figura 7.** Equipo de ultrasonido (EMA, E30 H, Elmasonic) utilizado para extraer el concreto.

Se denomina “concreto” a un extracto de una planta aromática, obtenido con un disolvente no polar; dentro de los más usados están el hexano, éter de petróleo, acetona, acetato de etilo, butano. En este trabajo se utilizó el hexano como solvente; la posterior eliminación del solvente a baja temperatura y vacío, dio como resultado un producto semisólido que contenía no solamente la porción aromática de la planta (terpenos, aldehídos, etc.), sino también parafinas, metil ésteres de ácidos grasos, productos oleosos, cerosos, clorofila, pigmentos, resinas y otros compuestos de alto peso molecular, que le proporcionan la consistencia sólida [38].

Una vez obtenido el concreto, se hace una extracción con etanol a una temperatura de ca. 40 °C. Posteriormente, se procede a un enfriamiento entre -2 y 0 °C, quedando una parte insoluble en el etanol, que se denomina resinoide, y una parte soluble que se separa por filtración a presión reducida y, preferiblemente, manteniendo la temperatura en 0 °C, a la que, después de eliminarle el etanol a baja temperatura y con la ayuda de presión reducida, se le 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 similares al producto natural [39].

También tienen uso en las industrias alimenticias y farmacéutica. Las ventajas que tienen son la facilidad de dosificación, la posibilidad de homogeneizar la calidad, la carencia de problemas por contaminación microbiana y, por ende, una mayor estabilidad. Y 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 hacen el sabor, la textura, la solubilidad y de acuerdo con sus características organolépticas.

## 1.6 ANÁLISIS INSTRUMENTAL

**1.6.1 Cromatografía de gases.** El análisis por GC permite separar 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 aceites esenciales ha sido posible gracias al desarrollo de columnas capilares, que permiten separar las mezclas multicomponente de las sustancias de diversa polaridad o isomería (monoterpenos, sesquiterpenos, etc.). Las fases estacionarias más usadas para el análisis por GC de los aceites esenciales son CARBOWAX 20M [poli(etilenglicol), fase polar] y OV-101 (DB-1, HP-1, SP-30) [poli(dimetilsiloxano), fase apolar [40].

El tiempo de retención no constituye un parámetro totalmente confiable para el análisis cualitativo porque depende de muchas variables experimentales, tales como: tipo de columna, flujo de gas de arrastre, cantidad de muestra inyectada, etc. Kováts [41] 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 Kováts 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, utilizando la siguiente relación matemática para calcularlos, en el caso de que sea una corrida cromatográfica con programación de temperatura:

$$I_K = 100 \cdot n + 100 \cdot [(t_X - t_n) / (t_N - t_n)]$$

donde :

$I_K$ : índice de Kováts.

n: número de carbonos del hidrocarburo patrón que eluye antes del analito de

interés.

$t_x$ : tiempo de retención del analito de interés.

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

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

**1.6.2 Espectrometría de masas.** 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 muy parecidos en la mayoría de los casos; es por eso que su identificación por la MS está basada principalmente en las diferencias cuantitativas (intensidades de los iones) [42,43]. Sin embargo, se han podido encontrar criterios experimentales (relación de las intensidades 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.

En varios trabajos [40], la identificación de sesquiterpenos se realiza con base en los espectros de masas y los índices de Kováts. 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 los espectros de masas (patrones de fragmentación) e índices Kováts de estos componentes [37,40-44].

**1.6.3 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.** 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, cuyo componente más importante es una computadora. 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 [43-46].

## **1.7 ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (PCA).**

El análisis de componentes principales (PCA) es una técnica estadística de síntesis de la información, o de reducción de la dimensión, *i.e.* número de variables que se manejan; es decir, ante un banco de datos con muchas variables, el objetivo será reducirlas a un número menor, sin perder, en lo posible, la información.

Los nuevos componentes principales o factores serán una combinación lineal de las variables originales, independientes entre sí.

Un aspecto clave en el PCA es la interpretación de los factores, ya que no viene dada *a priori*, sino que será deducida tras observar la relación de los factores con las variables iniciales (requeriría, entonces, estudiar tanto el signo como la magnitud de las correlaciones). Esto no siempre es fácil, y es de vital importancia la experiencia del analista sobre la materia de investigación [47].

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

Se llevaron a cabo las siguientes actividades, para realizar la parte experimental de este trabajo; a saber:

- Recolección de material vegetal;
- Identificación taxonómica de la planta;
- Extracción por MWHD del aceite esencial de las flores y pétalos de *Posoqueria latifolia*;
- Obtención por SDE y SFE de los extractos de las flores *Posoqueria latifolia*;
- Obtención del concreto y absoluto de las flores *Posoqueria latifolia*;
- Obtención por HS-SPME de la fracción volátil de la fragancia de las flores *Posoqueria latifolia*;
- Análisis por CG-MS de los diferentes extractos y fracciones;
- Identificación de los metabolitos secundarios utilizando I<sub>K</sub>, MS y bases de datos;
- Análisis estadístico de los componentes principales y grupos funcionales, de acuerdo con la técnica de extracción empleada.

## **2.1 RECOLECCIÓN DE MATERIAL VEGETAL.**

Teniendo en cuenta el momento en que *Posoqueria latifolia* expele mayor olor perceptible, sus flores se recolectaron entre las 6 de la tarde y 8 de la noche, de arboles ubicados en jardines de la Calle 51<sup>a</sup> con Carrera 29 en el barrio La Victoria y de la Universidad Industrial de Santander, de la ciudad de Bucaramanga.

Los procesos de extracción se realizaron inmediatamente después de la recolección, para evitar cualquier influencia sobre la composición química que ejerce de la oxidación visible que presenta, con el tiempo, la flor recolectada.

## **2.2 IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LA PLANTA.**

La identificación se llevó a cabo en el Instituto de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia (Bogotá), cuyos pliegos testigos quedaron almacenados en el Herbario Nacional Colombiano (COL, Bogotá), identificados con los números de *voucher* COL 512080 y 512081.

- Familia: *Rubiaceae*
- Género: *Posoqueria*
- Especie: *latifolia*

## **2.3 EXTRACCIÓN POR MWHF DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS FLORES DE *Posoqueria latifolia***

Para este caso, las flores se picaron en pedazos de ca. 1 cm<sup>2</sup>, se pesaron ca. 300 g y se sometieron a extracción en un equipo de destilación tipo Clevenger, con calentamiento por radiación microondas en un horno doméstico LG *electronics*,

modelo MS-1242ZK, Seoul, Corea del Sur, durante 30 min (3x10 min) a una potencia ca. de 60 Watt.

Debido a la poca cantidad de aceite que se obtuvo, éste se disolvió dentro del *Dean-Stark* con diclorometano (1 mL), y la mezcla se agregó a un vial para su posterior análisis por CG-MS.

## **2.4 EXTRACCIÓN CON FLUIDO SUPERCRÍTICO.**

Para este análisis las flores se picaron en pedazos de ca. 1 cm<sup>2</sup>, se pesaron (10 g), se introdujeron al equipo Soxhlet de alta presión (J & W Scientific, Folsom, CA, EE.UU.), se instaló el balón en la parte inferior del Soxhlet y se puso en el sistema de SFE; después se pesó hielo seco (300 g), que se adicionaron al sistema de SFE. Luego, el sistema se selló herméticamente, se colocó el extractor en un baño de agua tibia ca. a 60 °C, hasta que la presión llegó a 1100 psi, que se mantuvo constante durante 2 h; después el Soxhlet se sacó del baño de agua tibia, colocándolo en un baño de agua fría hasta que la presión bajó a 500 psi. Por último, se despresurizó lentamente hasta presión atmosférica, se abrió y se tomó el balón con el extracto, se le agregó diclorometano (1 mL) y se pasó la mezcla a un vial para su posterior análisis por CG-MS.

## **2.5 DESTILACIÓN-EXTRACCIÓN SIMULTÁNEA CON SOLVENTE.**

En este procedimiento se pesaron las flores previamente picadas (20 g), se adicionaron a un balón de fondo redondo de 50 mL, presionándolas contra el fondo con una varilla de vidrio; luego, se agregaron 15 mL de agua permitiendo mojar todo el material vegetal; posteriormente, se instaló el balón en el sistema de SDE, se agregaron 2 mL de diclorometano a un balón de fondo redondo de 5 mL, y se colocó en el montaje de SDE; después se añadió ca. 1 mL de diclorometano al cuerpo del montaje para que éste hiciera sifón; posteriormente, se calentaron de

manera simultánea los dos balones hasta lograr ebullición, 2 h después de que se vio la primera gota de agua en el dedo frío.

Más tarde, el sistema se dejó enfriar y el solvente en el balón de 5 mL se pasó a un tubo de ensayo para concentrar con nitrógeno gaseoso hasta 1 mL, que finalmente fue transferido a un vial para su respectivo análisis por CG-MS.

## **2.6 OBTENCIÓN DEL ABSOLUTO**

Para la obtención del concreto se utilizó un equipo de ultrasonido marca ELMA E 30 H (ELMA, Alemania) en el cual se instaló un frasco que contenía flores de *Posoqueria latifolia* (20 g) en 100 mL de hexano.

La muestra permaneció 30 min en ultrasonido, después se filtró y concentró utilizando un roto-evaporador marca Büchi, modelo R-205 (Laboratoriums-Technik AG, Suiza) a una presión de 330 mbar y 40 °C. Cuando quedaban menos de 10 mL, la mezcla se transfirió a un tubo de ensayo para eliminar el solvente con flujo de nitrógeno, al residuo obtenido después de eliminar el solvente, se le agregaron 15 mL de etanol absoluto; la mezcla se agitó con una barra magnética durante 20 min, y se procedió a ponerla en una nevera. 24 h después la mezcla fue filtrada al vacío utilizando un embudo Buchner (Schott Duran, Alemania). Por último, se evaporó el alcohol hasta llegar a 2 mL, se tomó una alícuota de 200 µL, que se aforó con diclorometano (1 mL) para analizar por CG-MS

## **2.7 MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA EN EL MODO HEADSPACE.**

Este procedimiento se realizó usando una fibra de PDMS/DVB (65 µm) (Supelco Inc., Bellefonte, EE.UU.).

Se llevó a cabo la extracción de volátiles a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  de la fase vapor de la planta

*in vivo*, colocada en un dispositivo especial para SPME *in vivo* (Véase **Figura 6**), Los tiempos de pre-equilibrio y de exposición de la fibra fueron de 15 y 30 min, respectivamente. Las sustancias extraídas por la fibra se desorbieron térmicamente a 250°C, durante 10 min, en un puerto de inyección del GC-MS, usando un *liner* de volumen reducido especial para SPME.

Por último, se llevó a cabo la extracción de volátiles a  $40 \pm 1^\circ\text{C}$  del espacio de cabeza de un vial para SPME de 10 mL, en el cual se adicionaron 2 g de flores de *Posoqueria latifolia*; el tiempo de equilibrio fue de 15 min y el tiempo de exposición de la fibra, de 30 min. Las sustancias extraídas fueron térmicamente desorbidas a 250°C, durante 10 min, en un puerto de inyección del GC-MS, usando un *liner* de volumen reducido especial para SPME.

## **2.8 ANÁLISIS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A DETECTOR DE MASAS.**

El análisis de las muestras se realizó en un cromatógrafo de gases *Agilent Technologies* 6890 Plus (HP, Palo Alto, California, EE.UU), equipado con un puerto de inyección *split/splitless* (1:30) (250°C), un inyector automático *Agilent* 7863, un sistema de datos HP MS ChemStation (Version D.0200.275), todo esto acoplado a un detector selectivo de masas *Agilent Technologies* MSD 5973.

Las temperaturas de la cámara de ionización y de la línea de transferencia se mantuvieron a 230 y 285 °C, respectivamente.

Se utilizó una columna capilar apolar de sílice fundida, DB-5MS (J & W Scientific, Folsom, CA, EE.UU.) de 60 m x 0.25 mm (d.i.) x 0.25  $\mu\text{m}$  (d<sub>f</sub>), con fase estacionaria 5%-fenil-poli(metilsiloxano) y una columna capilar polar de sílice fundida DB-WAX (J & W Scientific, Folsom, CA, EE.UU) 60 m x 0.25 mm (d.i.) x 0.25  $\mu\text{m}$  (d<sub>f</sub>), con fase estacionaria de poli(etilenglicol).

La identificación de los compuestos se realizó comparando sus espectros de masas con los de las bases de datos (Adams; Wiley 138), y con base en los índices de retención de Kováts, medidos en columnas de diferente polaridad.

## **2.9 ANÁLISIS DE *CLUSTER* Y DE COMPONENTES PRINCIPALES.**

Se determinaron, por medio de PCA, la relación entre los compuestos principales de las flores de *Posoqueria latifolia* y las diferentes técnicas de extracción, así como relación entre grupos funcionales de los compuestos extraídos y las técnicas de extracción; también, se realizó un análisis *clúster* de los grupos funcionales de los compuestos extraídos y las técnicas de extracción.

### 3. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Las flores de *Posoqueria latifolia* presentan oxidación rápida al picarlas, por lo cual, se hizo necesario realizar, en el menor tiempo posible, las extracciones después de este proceso; de esta manera, se evitaron problemas en la reproducibilidad de los resultados, por la eventual “aparición” o “desaparición” de algunos compuestos.

La identificación de los componentes de los extractos obtenidos se hizo con base en los criterios cromatográfico (tiempos de retención, índices de Kováts) y espectrométrico, comparando los espectros de masas con los de las bases de datos Adams, Willey 138 y NIST, lo que permitió la identificación del 90 % del total de los compuestos.

Los análisis se hicieron por triplicado, se calculó para cada compuesto el error con un intervalo de confianza de un 95 %, utilizando el reporte de datos según Student, con un valor de  $t=1,92$  y dos grados de libertad.

En el **Anexo 1, Tabla 1-1**, se reportan los componentes de la fragancia de las flores, obtenidos por diferentes técnicas de extracción, así como sus índices de Kováts teóricos y experimentales de las columnas apolar y polar.

En la **Tabla 3** se observa la composición general de las flores clasificada por clases de compuestos. En ésta, se observa cuántos compuestos fueron aislados por cada clase.

Se puede observar que los métodos con los cuales se logró aislar mayor número de compuestos oxigenados fueron MWHD, SDE, P-MWHD, con 22, 32 y 33 compuestos respectivamente, mientras que los métodos que permitieron aislar más hidrocarburos fueron: extracción del absoluto, MWHD y P-MWHD, con 17, 19, y 20 compuestos presentes, respectivamente. También se observa que la metodología que aisló mas compuestos fue la de P-MWHD; además, se observa que si se compara el número de compuestos aislados por HS-SPME, la metodología *in vitro* presenta mayor número de compuestos, lo cual permite realizar una mejor comparación de la composición química de este método con los otros empleados para caracterizar la flor.

En general, se observa que todas las metodologías tienen diferente distribución en la cantidad y clase de compuestos aislados.

**Tabla 3.** Composición general por clases de compuestos aislados por las diferentes técnicas de extracción.

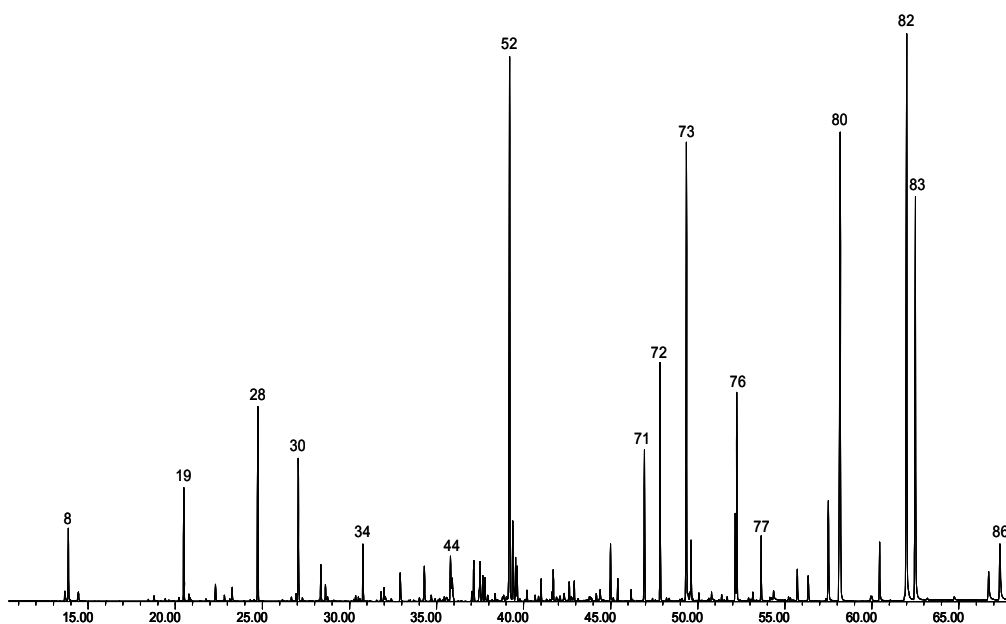
Tipo de compuesto	Número de compuestos aislados						
	MWHD	P-MWHD	SFE	SDE	HS-SPME		Absoluto
					<i>in vivo</i>	<i>in vitro</i>	
Hidrocarburos:	<b>19</b>	<b>20</b>	<b>9</b>	<b>7</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>17</b>
Sesquiterpenos:	7	8	2	1	5	5	2
Alifáticos	12	12	7	6	0	0	12
Comp. Oxigenados:	<b>22</b>	<b>33</b>	<b>11</b>	<b>32</b>	<b>8</b>	<b>12</b>	<b>10</b>
Alcoholes	4	3	5	6	4	1	4
Aldehídos	9	10	1	11	0	1	1
Ésteres	10	20	5	16	4	10	5
Comp. nitrogenados:	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>2</b>
Oximas	2	2	2	2	2	2	2
Compuestos nitro	0	0	0	1	0	1	1
Total de compuestos	<b>43</b>	<b>55</b>	<b>22</b>	<b>42</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>29</b>

En el **Anexo 3**, se pueden observar algunas de las estructuras de los compuestos aislados de las flores por diferentes técnicas de extracción. En este

anexo no se muestran algunas moléculas simples, como el nonanal, tricosano, etc., que sí se encuentran mencionadas en la **Tabla 1-1** del **Anexo 1**.

### 3.1 ANÁLISIS POR CG-MS DEL EXTRACTO DE LAS FLORES DE *Posoqueria latifolia* OBTENIDO POR MWHD.

Al realizar MWHD de las flores de *Posoqueria latifolia*, se observa que la cantidad de AE obtenido fue muy pequeña y, al enfriarse el sistema, el aceite se adhirió a las paredes del condensador tipo Dean-Stark; luego, se presentó la necesidad de recogerlo con diclorometano, la solución se transfirió al vial, para su posterior análisis por CG-MS. Es por eso, que cuando se menciona la técnica MWHD, en este trabajo, se refiere a la obtención de un extracto y no al AE.



**Figura 8.** Cromatograma típico del extracto, obtenido por MWHD, de las flores de *Posoqueria latifolia*. Columna apolar DB-5MS (60), *split* 1:30, detector selectivo de masas (EI, 70 eV). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 1-1** del **Anexo 1**.

En la **Figura 8** puede observarse el cromatograma del extracto obtenido por MWHD, éste contiene 48 picos, reportados en la **Tabla 1-1** del **Anexo 1**, de los cuales se identificaron positivamente el 87,5%, encontrando como componentes principales nonanal, biciclosesquifelandreno, salicilato de bencilo, tricosano, pentacoseno y pentacosano (83).

**Tabla 4.** Compuestos mayoritarios (>1%) en el extracto obtenido por MWHD y analizado en la columna apolar, de las flores de *Posoqueria latifolia*.

pico N°	Compuesto	Indices de Kováts			Cantidad relativa, % ±σ		
		Columna apolar		Columna polar			
		Lit[ 41]	Exp				
8	<i>cis</i> -3-Hexenol	859	860	---	1,1	±	1,0E-01
19	Acetato de <i>cis</i> -hex-3-enilo	1005	1004	1320	1,80	±	1,5E-01
28	Nonanal	1101	1106	1397	3,3	±	3,7E-01
30	Acetato de bencilo	1162	1165	1736	1,8	±	3,9E-01
46	<i>trans</i> -β-Cariofileno	1419	1433	1605	1,5	±	5,3E-01
47	Benzoato de isoamilo	1441	1446	1925	1,3	±	4,7E-01
52	Biciclosesquifelandreno	1493	1494	1719	10	±	1,4E+00
53	Hidrocarburo, C <sub>15</sub>	1500	1499	1500	1,5	±	1,1E-01
71	Benzoato de bencilo	1760	1780	1943	2,2	±	6,0E-01
72	Hexadecanal	1811	1818	2143	3,9	±	8,3E-02
73	Salicilato de bencilo	1864	1886	2406	8	±	1,2E+00
75	Octadecanal	2017	2022	---	1,4	±	1,2E-01
76	Geranil linalool	---	2026	---	3,0	±	3,3E-01
77	Hidrocarburo, C <sub>21</sub>	2100	2098	2100	1,2	±	2,4E-01
80	9-Tricoseno	2271	2271	2317	2,4	±	5,3E-01
81	Hidrocarburo, C <sub>23</sub>	2300	2299	2300	14	±	2,1E+00
82	Hidrocarburo, C <sub>24</sub>	2400	2399	2400	1,3	±	3,0E-01
83	1-Pentacoseno*	2488	2474	---	13,4	±	9,8E-01
84	Hidrocarburo, C <sub>25</sub>	2500	2500	2500	10	±	1,8E+00
86	Hidrocarburo, >C <sub>25</sub>	---	2794	---	2,0	±	5,9E-01

\* identificación tentativa

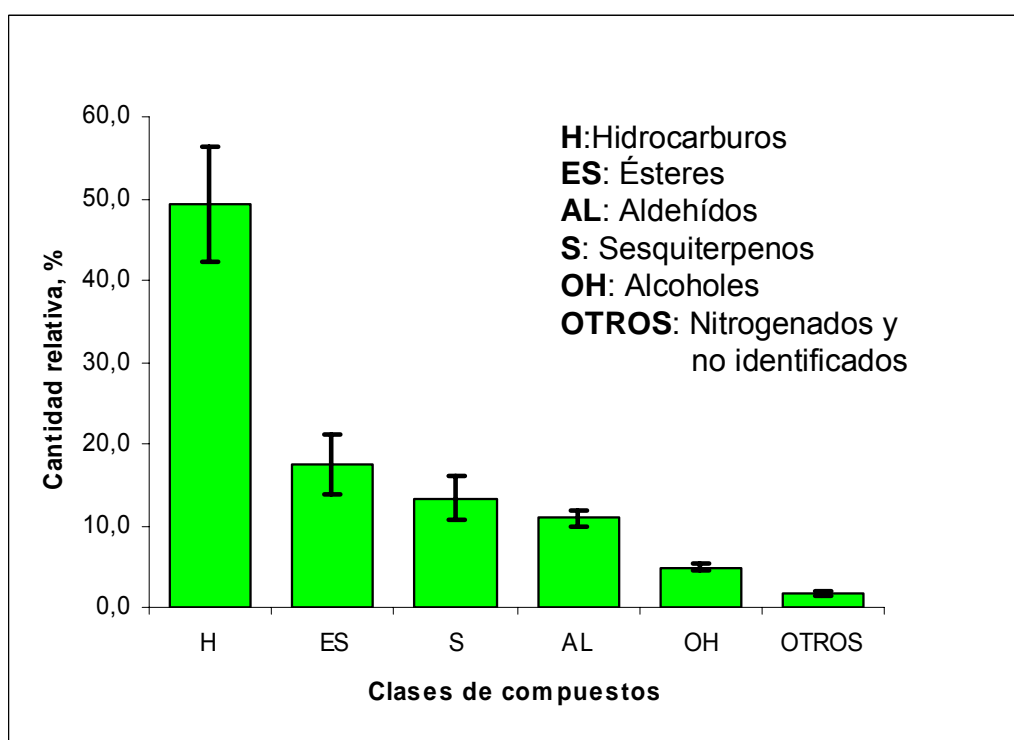
**Nota:** El corredor de error para los valores promedios determinados fue calculado para un intervalo de confianza del 95%, según la regla de Student ( $\mu = \text{promedio} \pm t^*s/\sqrt{n}$ ). T = 2,92; n = 2; s : desviación estándar

En la **Tabla 4** se puede apreciar la cantidad relativa de los compuestos que se encuentran en cantidades > 1%, representando el 83.7% de la composición total

del extracto de las flores de *Posoqueria latifolia* obtenido por MWHD. La cuantificación corresponde a la integración de picos cromatográficos obtenidos por CG-MS en la columna apolar.

En la **Tabla 1-1** del **Anexo 1** se aprecia la composición química del extracto, donde se pueden observar todos los compuestos en cantidades > 0,1%. En esta tabla, se puede notar la presencia de *cis*-3-metil-butilaldoxima y de *trans*-3-metil-butilaldoxima, compuestos nitrogenados encontrados en las flores de *Posoqueria latifolia*, que se mencionan en el trabajo de Kaiser [5].

En la **Tabla 4**, el componente mayoritario es tricosano, un hidrocarburo lineal que pertenece a un subgrupo de feromonas, que producen las plantas llamado kairomonas, que se generan en las plantas para atraer insectos polinizadores [48].



**Figura 9.** Distribución de compuestos por clases en el extracto de las flores de *Posoqueria latifolia*, obtenido por MWHD.

En la **Figura 9** se observa que el extracto obtenido por MWHD está compuesto principalmente por hidrocarburos (H) con 49% de la composición total; los ésteres (ES) 17%, teniendo como principal representante el salicilato de bencilo, con ca. 8,0 %; sesquiterpenos (S), ca. 13,3%, con el biciclosesquifelandreno que contribuye el 9,7%; los aldehídos (AL) ca. 10%, siendo el nonanal el compuesto mayoritario que aporta el 3,3%; alcoholes (OH) con un 4,8% contribuyendo con un 3,0% el geranil linalool. Entre OTROS figuran los compuestos nitrogenados y también los no identificados, con 1,6%.

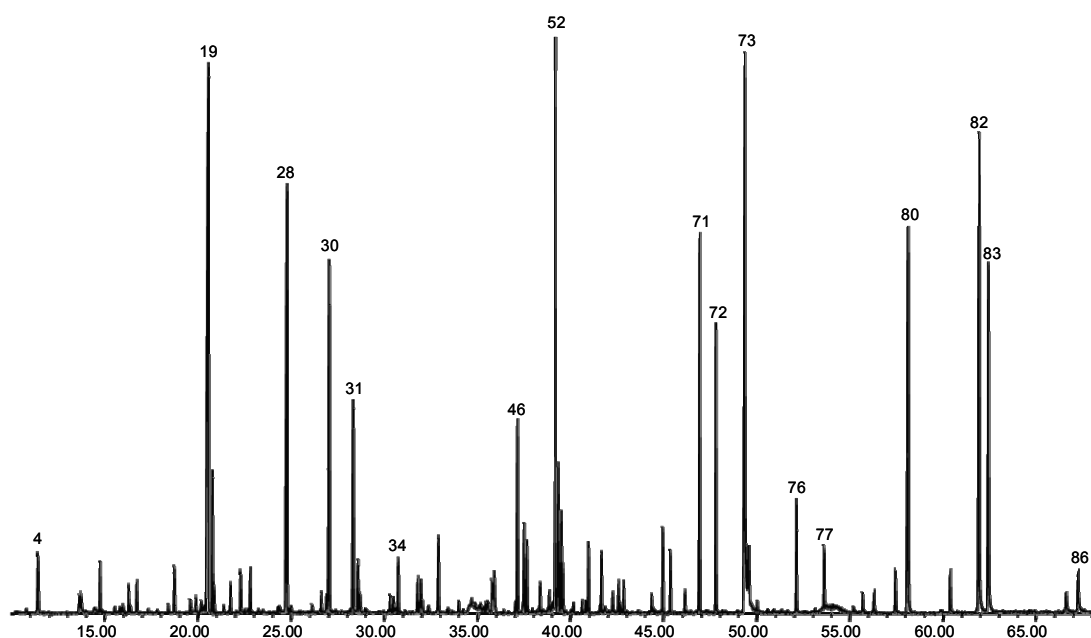
Los ésteres, sesquiterpenos y aldehídos contribuyen en gran parte con el olor de las flores, mientras que el alto contenido de hidrocarburos explica por qué, al enfriarse el sistema de MWHD, el aceite se pega a las paredes del *Dean-Stark*, parcialmente, solidificándose.

### **3.2 ANÁLISIS POR GC-MS DEL EXTRACTO DE LOS PÉTALOS DE LAS FLORES DE *Posoqueria latifolia*, OBTENIDO POR MWHD.**

Al igual que en el caso anterior, al realizar MWHD para los pétalos, no se extrajo suficiente aceite, por lo cual, éste se recuperó desde el *Dean-Stark* con diclorometano. Por eso, se refiere al producto obtenido como “extracto”; sin embargo, visiblemente se logra observar una mayor cantidad de aceite que la que se obtiene de las flores completas.

En el cromatograma mostrado en la **Figura 10**, se puede observar 65 picos >0.1%, de los cuales se identificaron positivamente el 89,2%, y se encontraron como componentes principales: acetato de *cis*-hex-3-enilo (12%), salicilato de bencilo (9,9%), 1-pentacoseno (8,0%), tricosano (7,8%), biciclosesquifelandreno (7,4%), pentacosano (6,0%), benzoato de bencilo (5,3%), nonanal (5,1%), y acetato de bencilo (4,1%).

En la **Tabla 5**, se puede observar la cantidad relativa (%), de los compuestos en cantidades > 1%, en el extracto obtenido por MWHD, de los pétalos de las flores. Los ésteres tienen gran contribución en la composición total, conformando, de esta manera, el principal grupo de compuestos, lo que se ve reflejado en un incremento en los compuestos más volátiles, tal como el acetato de *cis*-hex-3-enilo, compuesto mayoritario en el extracto (12%) de la composición total, mientras que se aprecia una disminución del hidrocarburo C<sub>23</sub> en el extracto, de 14% (flor total) a 7,7% (pétalos).



**Figura 10.** Cromatograma del extracto de los pétalos de las flores de *Posoqueria latifolia*, obtenido por MWHD Columna apolar DB-5MS (60), *split* 1:30, detector selectivo de masas (EI, 70 eV). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 1-1** del **Anexo 1**.

En la **Tabla 1-1** del **Anexo 1**, se pueden observar la cantidad relativa (>0.1%) e identificación de componentes del extracto de los pétalos de las flores de *Posoqueria latifolia*. Se observa la presencia de *cis*-3-metil-butil aldoxima (0,19%)

y *trans*- metil-butil aldoxima en trazas, así como el 1-nitro-2-metil-butano, también reportados por Kaiser (2002) [5], como compuestos responsables de la fragancia de las flores.

**Tabla 5.** Cantidad relativa (>1%) del extracto de los pétalos de las flores de *Posoqueria latifolia* obtenido por MWHD.

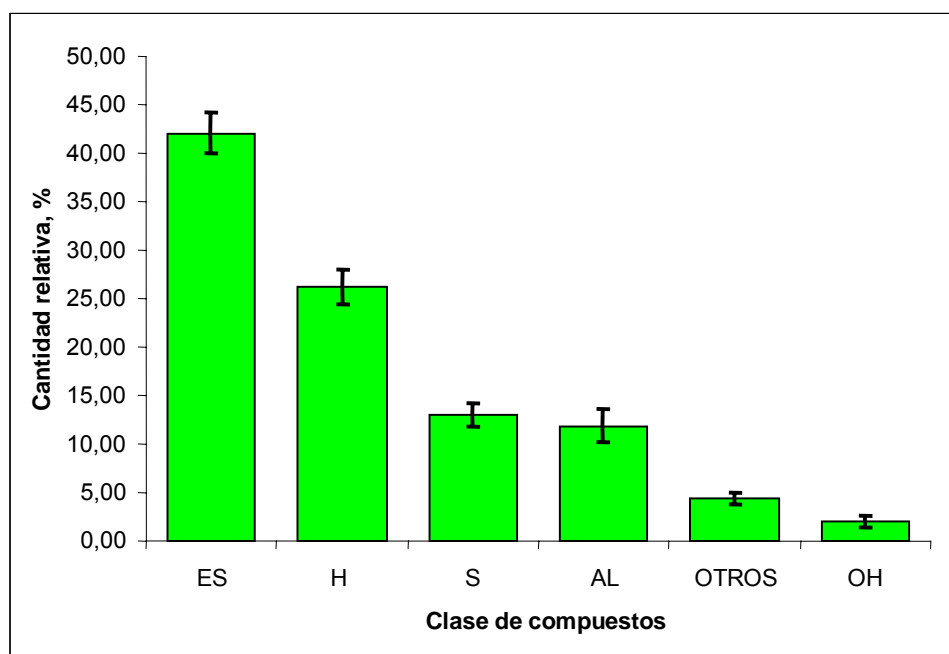
pico N°	Compuesto	Indices de Kováts			Cantidad relativa, % $\pm$ $\sigma$
		Columna apolar		Columna polar	
		Lit[ 41]	Exp		
19	Acetato de <i>cis</i> -hex-3-enilo	1005	1004	1320	12 $\pm$ 2,1E+00
20	Acetato de hexilo	1012	1011	1275	1,37 $\pm$ 4,0E-02
28	Nonanal	1101	1106	1397	5 $\pm$ 1,7E+00
30	Acetato de bencilo	1162	1165	1736	4 $\pm$ 1,1E+00
31	Salicilato de metilo	1192	1198	1785	2,2 $\pm$ 8,4E-01
42	Eugenol	1359	1356	2181	1,2 $\pm$ 2,5E-01
46	<i>trans</i> - $\beta$ -Cariofileno	1419	1433	1605	3,1 $\pm$ 6,0E-01
47	Benzoato de isoamilo	1441	1446	1925	2,0 $\pm$ 5,1E-01
52	Biciclosesquifelandreno	1493	1494	1719	7 $\pm$ 1,2E+00
53	Hidrocarburo, C <sub>15</sub>	1500	1499	1500	1,2 $\pm$ 3,6E-01
55	$\alpha$ -Farneseno	1509	1505	1753	1,2 $\pm$ 2,8E-01
71	Benzoato de bencilo	1760	1780	1943	5 $\pm$ 1,5E+00
72	Hexadecanal	1811	1818	2143	2 $\pm$ 1,3E+00
73	Salicilato de bencilo	1864	1886	2406	9,85 $\pm$ 3,6E-02
76	Geranil linalool	---	2026	---	1,03 $\pm$ 1,5E-02
81	Hidrocarburo, C <sub>23</sub>	2300	2299	2300	8 $\pm$ 1,8E+00
83	1-Pentacoseno*	2488	2474	---	8 $\pm$ 1,6E+00
84	Hidrocarburo, C <sub>25</sub>	2500	2500	2500	6 $\pm$ 1,8E+00

\* identificación tentativa

**Nota:** El corredor de error para los valores promedios determinados fue calculado para un intervalo de confianza del 95%, según la regla de Student ( $\mu = \text{promedio} \pm t^*s/\sqrt{n}$ ).  $T = 2,92$ ;  $n = 2$ ;  $s$ : desviación estándar

En la **Figura 11**, se observa que el extracto de los pétalos obtenido por MWHD está compuesto por ésteres con (42%), acetato *cis*-hex-3-en-ilo contribuye con un 12%; hidrocarburos (26%), siendo componente principal el 1-pentacoseno (8%); sesquiterpenos (13%), entre ellos, el mayoritario- biciclosesquifelandreno (7%); aldehídos (11%), entre ellos el nonanal aporta (5%); alcoholes (1,9%), con el

eugenol (1,2 %) como compuesto principal; y, por ultimo, el grupo de “OTROS” (4,4 %).



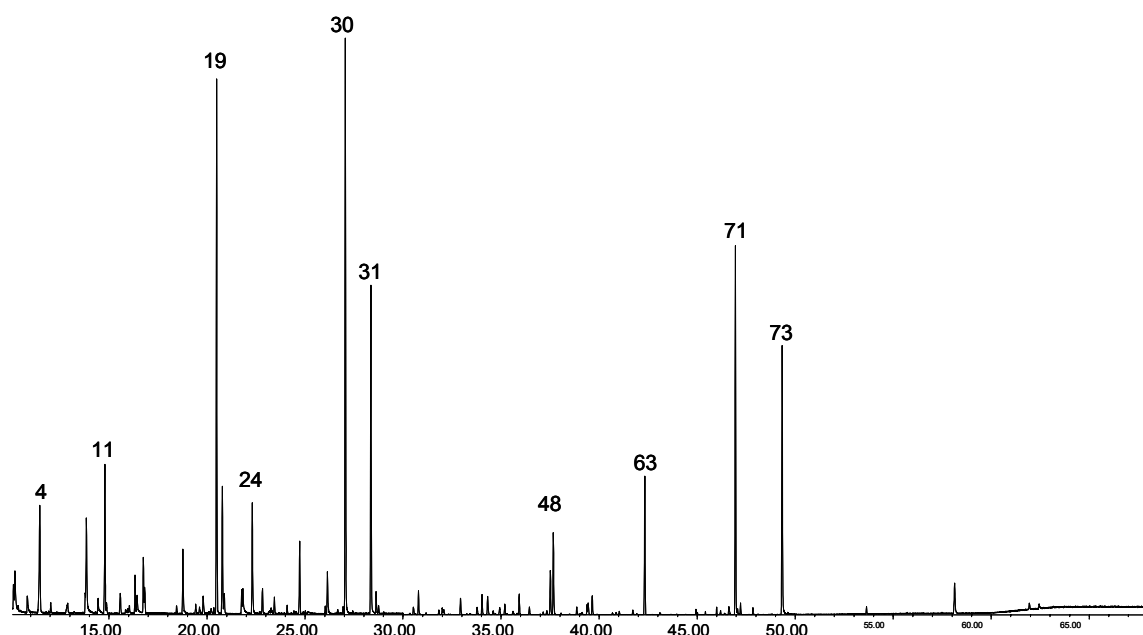
**Figura 11.** Distribución por clases de compuestos, presentes en el extracto de los pétalos de las flores de *Posoqueria latifolia*, obtenido por MWHD.

### 3.3 ANÁLISIS POR GC-MS DEL EXTRACTO DE LAS FLORES DE *Posoqueria latifolia*, OBTENIDO POR SDE.

En el perfil cromatográfico (**Figura 12**) obtenido por SDE se puede observar la fracción más volátil de las flores de *Posoqueria latifolia*. Se identificó positivamente un 95% de los compuestos presentes. Se encontró una variedad de componentes que no se aislaron por MWHD, a saber: *cis*-2-pentenol, hexanal y *cis*-3-hexenol; también se detectaron el acetato de *cis*-hex-3-enilo, el acetato de bencilo, el salicilato de metilo, benzoato de bencilo y el salicilato de bencilo.

En la **Tabla 6**, se reportan compuestos en cantidades relativas >1%. Se observa,

que el componente mayoritario es acetato de *cis*-hex-3-enilo (10%), seguido de benzoato de bencilo (9,4%); también se destacan los ésteres como una clase de compuestos mayoritarios. Cabe mencionar que en la **Tabla 1-1** del **Anexo 1**, aparecen la identificación y la cantidad relativa (>0.1%) de los compuestos presentes en el extracto de las flores de *Posoqueria latifolia*, obtenido por SDE.



**Figura 12.** Cromatograma del extracto de las flores de *Posoqueria latifolia*, obtenido por SDE. Columna apolar DB-5MS (60), *split* 1:30, detector selectivo de masas (EI, 70 eV). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 1-1** del **Anexo 1**.

Es de destacar que por esta técnica de extracción, se pudieron aislar compuestos muy volátiles, incluyendo el 1-nitro-2-metil-butano, *trans*-3-metil-butil aldoxima y la *cis*-3-metil-butil aldoxima, tal como se puede apreciar e la **Tabla 1-1** del **Anexo 1**.

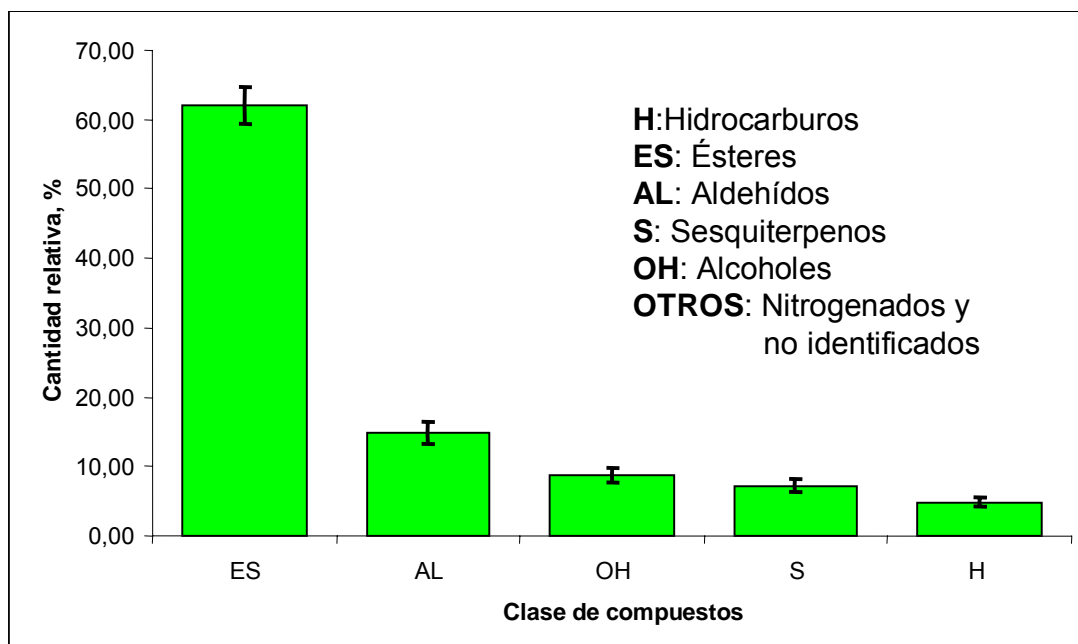
pico N°	Compuesto	Índices de Kováts			Cantidad relativa, % $\pm$ $\sigma$	
		Columna apolar		Columna polar		
		Lit[ 41]	Exp			
2	<i>cis</i> -2-Pentenol	773	772		1,3	$\pm$ 2,6E-01
4	Hexanal	801	806		3,7	$\pm$ 3,1E-01
8	<i>cis</i> -3-Hexenol	859	860		2,4	$\pm$ 3,8E-01
11	Acetato de isopentilo	885	881	1124	3,1	$\pm$ 4,2E-01
14	Acetato de <i>cis</i> -2-pentilo	918	914		1,2	$\pm$ 3,6E-01
16	Acetato de <i>cis</i> -3-de pentilo	920	924		1,3	$\pm$ 2,8E-01
17	Benzaldehído	968	967	1529	1,3	$\pm$ 4,2E-01
19	Acetato <i>cis</i> -hex-3-enilo	1005	1004	1320	10	$\pm$ 2,8E-01
20	Acetato de hexilo	1012	1011	1275	3,01	$\pm$ 1,7E-01
23	Alcohol bencílico	1032	1036		1,2	$\pm$ 1,0E-01
24	Fenil acetaldehído	1042	1047		3,0	$\pm$ 3,4E-02
28	Nonanal	1101	1106	1397	1,9	$\pm$ 3,0E-01
29	Bencil nitrilo	1140	1141		1,2	$\pm$ 1,0E-01
30	Acetato de bencilo	1162	1165	1736	13,41	$\pm$ 1,9E-02
31	Salicilato de metilo	1192	1198	1785	9,00	$\pm$ 4,8E-02
39	<i>trans</i> -2- <i>trans</i> -4-Decadienal	1317	1320	1818	1,02	$\pm$ 8,7E-02
42	Eugenol	1359	1356	2181	2,6	$\pm$ 2,0E-01
47	Benzoato de isoamilo	1441	1446	1925	1,31	$\pm$ 3,3E-02
48	Acetato de cinamilo	1446	1448	2166	3,0	$\pm$ 2,8E-01
63	Óxido de cariofileno	1581	1599	2006	7,3	$\pm$ 8,7E-01
71	Benzoato de bencilo	1760	1780	1943	9,36	$\pm$ 2,2E-02
73	Salicilato de bencilo	1864	1886	2406	5,3	$\pm$ 3,9E-01
81	Hidrocarburo, C <sub>23</sub>	2300	2299	2300	2,2	$\pm$ 1,7E-01

**Nota:** El corredor de error para los valores promedio determinados fue calculado para un intervalo de

confianza del 95%, según la regla de Student ( $\mu = \text{promedio} \pm t \cdot s / \sqrt{n}$ ). T = 2,92; n = 2; s : desviación estándar

**Tabla 6.** Compuestos principales del extracto obtenido por SDE de las flores de *Posoqueria latifolia*.

En la **Figura 13** se observa que el extracto obtenido por SDE está compuesto por ésteres (63%), con componente principal, el acetato de *cis*-hex-3-enilo (10%); hidrocarburos (4,9%), con compuesto mayoritario el hidrocarburo C<sub>23</sub> (2,2%); sesquiterpenos (5,5%), entre ellos el compuesto óxido de cariofileno (5%); aldehídos (14,8%), con el hexanal en cantidad relativa 3,7 %; alcoholes (8,7%) y, por último, el grupo de “OTROS” (2,3%), donde entran compuestos nitrogenados y algunos no identificados.

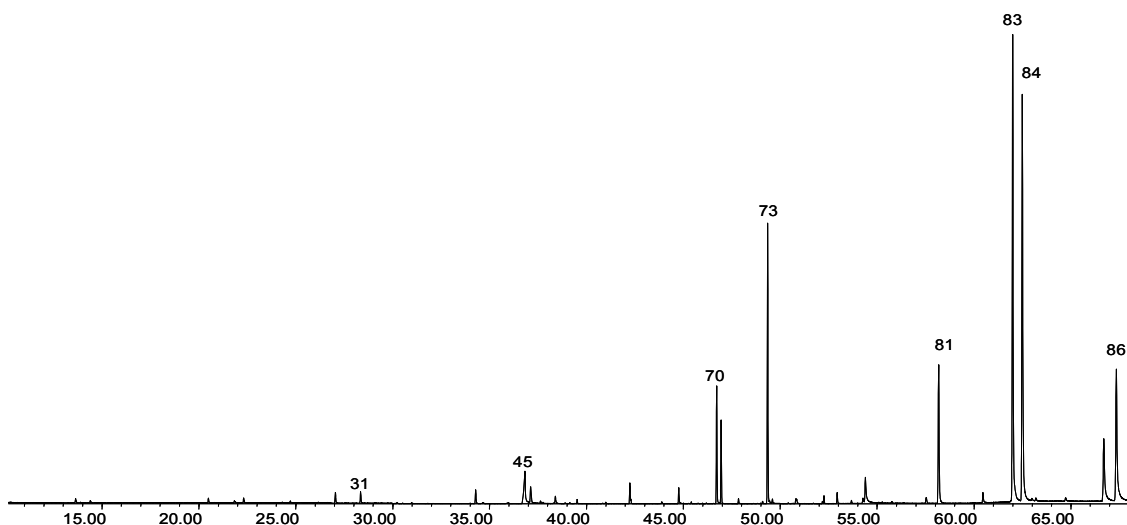


**Figura 13.** Distribución de clases de compuestos presentes en el extracto de las flores de *Posoqueria latifolia*, obtenido por SDE.

### 3.4 ANÁLISIS POR GC-MS DEL EXTRACTO DE LAS FLORES DE *Posoqueria latifolia*, OBTENIDO POR SFE.

El perfil cromatográfico típico de la fracción de los compuestos semivolátiles de las flores de *Posoqueria latifolia* obtenido por SFE, aparece en la **Figura 14**. En el extracto se identificaron positivamente un 81% de los constituyentes y se encontraron, entre otros, el 2-metoxi-4-(3-hidroxihexil)-fenol, el salicilato de bencilo, el hidrocarburo C<sub>23</sub>, 1-pentacoseno\* y el hidrocarburo C<sub>25</sub>.

En la **Tabla 7** aparecen la identificación y la cantidad relativa(>0.1%) de los componentes presentes en el extracto obtenido por SFE. En esta tabla se puede observar que el 1-pentacoseno es el compuesto principal (25 %), seguido del pentacosano (22 %).



**Figura 14.** Cromatograma típico del extracto obtenido por SFE de las flores de *Posoqueria latifolia*. Columna apolar DB-5MS (60), *split* 1:30, detector selectivo de masas (EI, 70 eV). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 1-1** del **Anexo 1**.

**Tabla 7.** Cantidad relativa(>0.1%) de los compuestos presentes en el extracto de las flores de *Posoqueria latifolia* obtenido por SFE.

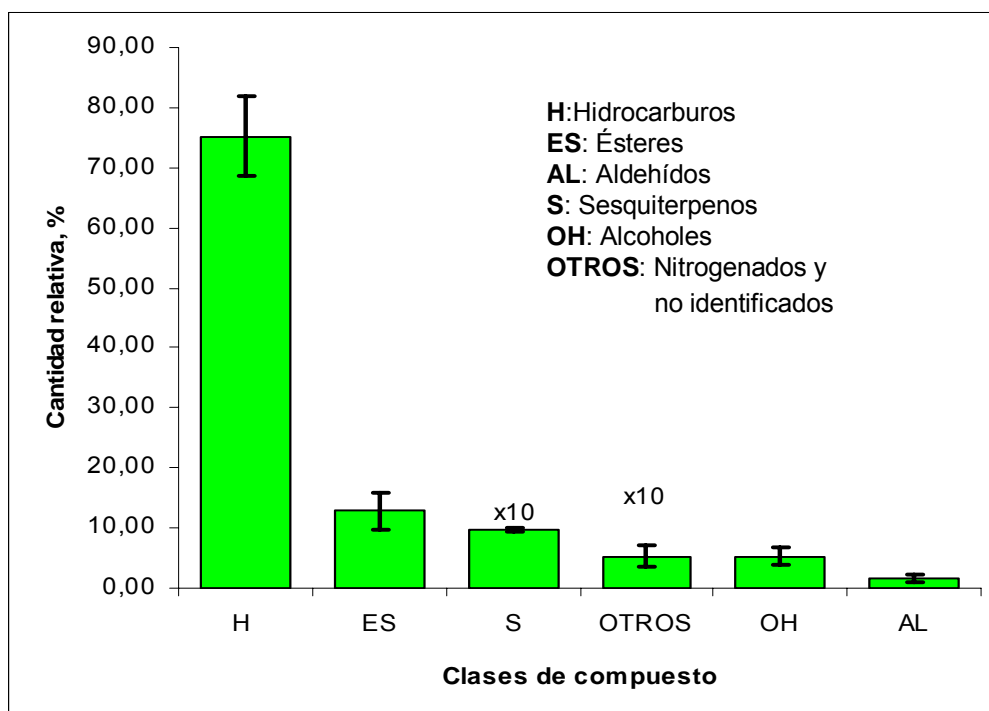
pico N°	Compuesto	Indices de Kováts			Cantidad relativa, % $\pm \sigma$	
		Columna apolar		Columna polar		
		Lit[ 41]	Exp			
30	Acetato de bencilo	1162	1165	1736	0,35	$\pm$ 2,2E-02
31	Salicilato de metilo	1192	1198	1785	0,32	$\pm$ 3,3E-02
42	Eugenol	1359	1356	2181	0,4	$\pm$ 1,3E-01
45	Acido cinámico	1454	1424		2,4	$\pm$ 7,8E-01
46	<i>trans</i> - $\beta$ -Cariofileno	1419	1433	1605	0,7	$\pm$ 2,8E-01
62	Metoxieugenol	1579	1585		0,60	$\pm$ 5,8E-02
67	N.I.	---	1697		0,5	$\pm$ 1,6E-01
70	2-Metoxi-4-(3-hidroxihexil)-fenol*	---	1765		4	$\pm$ 1,2E+00
71	Benzoato de bencilo	1760	1780	1943	3	$\pm$ 1,0E+00
73	Salicilato de bencilo	1864	1886	2406	9	$\pm$ 2,0E+00
76	Geranil linalool	---	2026		0,24	$\pm$ 3,5E-02
78	N.I.	2130	2132		2,1	$\pm$ 8,2E-01
80	9-Tricoseno	2271	2271	2317	0,34	$\pm$ 1,7E-02
81	Hidrocarburo, C <sub>23</sub>	2300	2299	2300	7,4	$\pm$ 8,3E-01
82	Hidrocarburo, C <sub>24</sub>	2400	2399	2400	0,55	$\pm$ 7,7E-02
83	1-Pentacoseno*	2488	2474		25,8	$\pm$ 5,1E-01
84	Hidrocarburo, C <sub>25</sub>	2500	2500	2500	23	$\pm$ 1,5E+00
85	Hidrocarburo, >C <sub>25</sub>		2730		6	$\pm$ 1,8E+00
86	Hidrocarburo, >C <sub>25</sub>		2794		13	$\pm$ 1,9E+00

\* identificación tentativa

**Nota:** El corredor de error para los valores promedio determinados fue calculado para un intervalo de confianza del 95%, según la regla de Student ( $\mu = \text{promedio} \pm t*s/\sqrt{n}$ ). T = 2,92; n = 2; s : desviación estándar

Por su aporte a la fragancia de la flor, entre los compuestos de interés se observan el salicilato de bencilo (9.2 %) y el benzoato de bencilo (2.8%). También se encontró el 2-metoxi-4-(3-hidroxihexil)-fenol, un derivado fenólico.

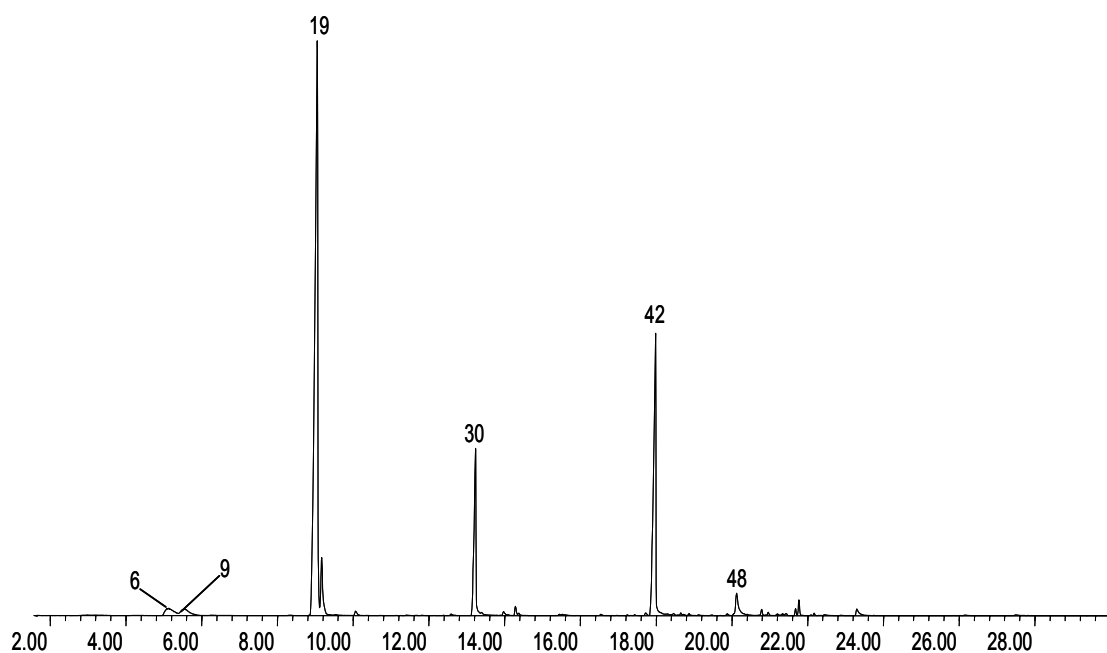
En la **Figura 15** se observa que el extracto obtenido por SFE, está compuesto por ésteres (12.8 %), siendo el salicilato de bencilo (9.2 %) el compuesto mayoritario; hidrocarburos (75 %), entre ellos el principal compuesto fu el 1-pentacoseno (25,8 %); sesquiterpenos (1 %); aldehídos (0,15 %); alcoholes (5.2 %); y por último, OTROS (5.3 %).



**Figura 15.** Distribución por clases de compuestos en el extracto obtenido por SFE de las flores de *Posoqueria latifolia*.

### 3.5 ANÁLISIS DE LA FRACCIÓN VOLÁTIL DE LAS FLORES DE *Posoqueria latifolia*, OBTENIDA POR HS-SPME *in vivo*.

En la **Figura 16** se puede observar la presencia de tres picos cromatográficos correspondiendo en su orden de elución, a: acetato *cis*-hex-3-en-1-ilo; el acetato de bencilo y el tercero, eugenol. Es de observar que esta fracción volátil se analizó en una columna apolar de 30 m, por lo cual los tiempos de retención de los compuestos son mucho más cortos, que los observados en los cromatogramas de las **Figuras 8, 10,12 y 14**.



**Figura 16.** Cromatograma de la fracción volátil las flores de *Posoqueria latifolia*, obtenido por HS-SPME *in vivo*. Columna apolar DB-5MS (30), *split* 1:30, detector selectivo de masas (EI, 70 eV). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 8**.

En la **Tabla 8** se aprecia la composición química de la fracción volátil de las flores de *Posoqueria latifolia*, obtenida por HS-SPME *in vivo*, compuesta básicamente por tres compuestos, que son, en gran parte, los responsables del olor tan agradable que tiene de noche esta flor. Sin embargo, debido a que este muestreo se hizo en un árbol, que se encontraba a 20 min del laboratorio donde se hacía el análisis, no fue posible explorar las diferentes variables que afectan la adsorción de los compuestos sobre la fibra, para determinar las condiciones adecuadas, para obtener una mejor composición de éste extracto, tal como se observa con otras técnicas de extracción.

Dentro de las investigaciones pendientes figura el análisis de la fragancia de flores por SPME, para conseguir composiciones similares a las de los extractos aislados por otras técnicas, con el propósito de estandarizar la técnica HS-SPME *in vivo* como análisis primario (*screening*), antes de la obtención de otro tipo de extractos a partir de las flores.

**Tabla 8.** Cantidad relativa (%) e identificación de componentes de la fracción volátil *in vivo* de las flores de *Posoqueria latifolia* obtenidos por HS-SPME.

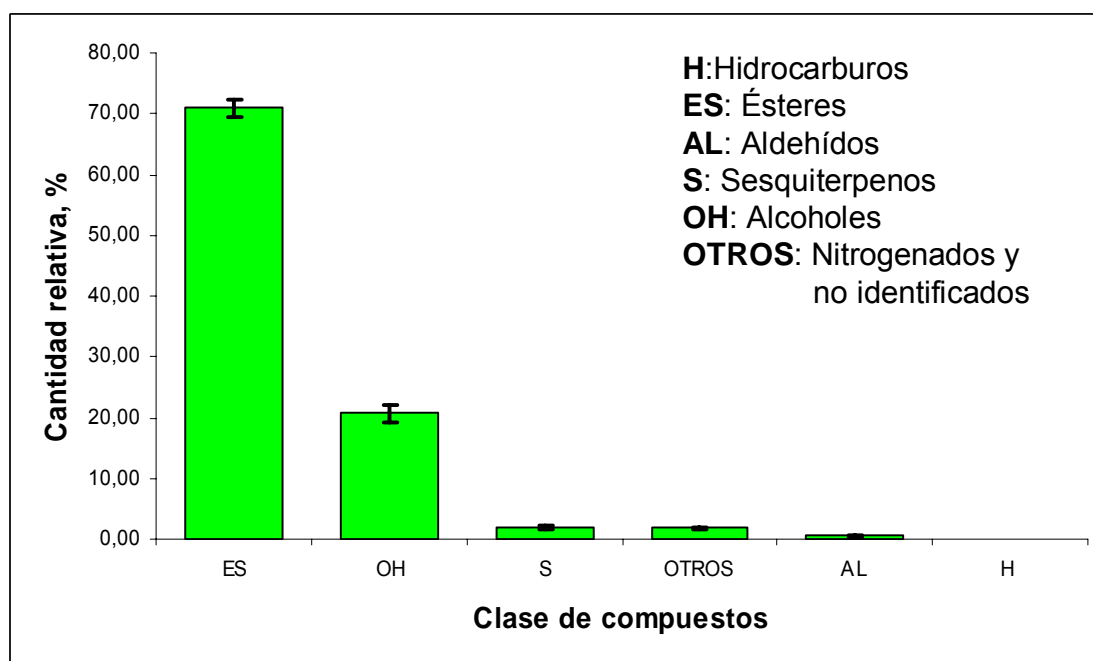
pico N°	Compuesto	Índices de Kováts		Cantidad relativa, % $\pm$ s	
		Columna apolar			
		Lit[ 41]	Exp		
6	<i>cis</i> -3-metil-butil aldoxima	854	855	0,95	$\pm$ 6,6E-02
9	<i>trans</i> -3-metil-butil aldoxima	858	869	0,95	$\pm$ 7,7E-02
10	Hexanol	870	873	0,71	$\pm$ 1,5E-01
19	Acetato <i>cis</i> -hex-3-enilo	1005	1004	60	$\pm$ 1,1E+00
24	Fenil acetaldehído	1042	1047	0,39	$\pm$ 1,2E-01
28	Nonanal	1101	1106	0,25	$\pm$ 3,6E-02
30	Acetato de bencilo	1162	1165	8,8	$\pm$ 1,3E-01
31	Salicilato de metilo	1192	1198	0,37	$\pm$ 6,7E-02
42	Eugenol	1359	1356	20	$\pm$ 1,3E+00
48	Acetato de cinamilo	1446	1448	2,0	$\pm$ 2,6E-01
50	$\alpha$ -Humuleno	1455	1469	0,26	$\pm$ 3,5E-02
52	Biciclosequifelandreno	1486	1494	0,13	$\pm$ 2,4E-02
56	Biciclogermacreno	1500	1507	0,27	$\pm$ 5,3E-02
57	$\delta$ -Cadineno	1523	1527	0,64	$\pm$ 8,9E-02
62	Óxido de cariofileno	1581	1599	0,61	$\pm$ 5,4E-02

**Nota:** El corredor de error para los valores promedios determinados fue calculado para un intervalo de confianza del 95%, según la regla de Student ( $\mu = \text{promedio} \pm t^*s/\sqrt{n}$ ).

T = 2,92; n = 2; s : desviación estándar

En la **Figura 17** se puede apreciar la distribución por clases de compuestos, en la fracción volátil de flores obtenidas por HS-SPME. Los ésteres conforman 71 % de la mezcla, siendo el acetato de *cis*-hex-3-enilo componente principal (59.6 %); los alcoholes alcanzan 20.7 % de la mezcla, con el eugenol como mayoritario (20 %), los aldehídos (0.25 %); los sesquiterpenos (1.9 %), y no se detectaron hidrocarburos en la fracción volátil, aislada por HS-SPME.

El análisis muestra la importancia del acetato de *cis*-hex-3-enilo y del eugenol, como contribuyentes importantes al olor emanado por la flor, en las horas de la noche.

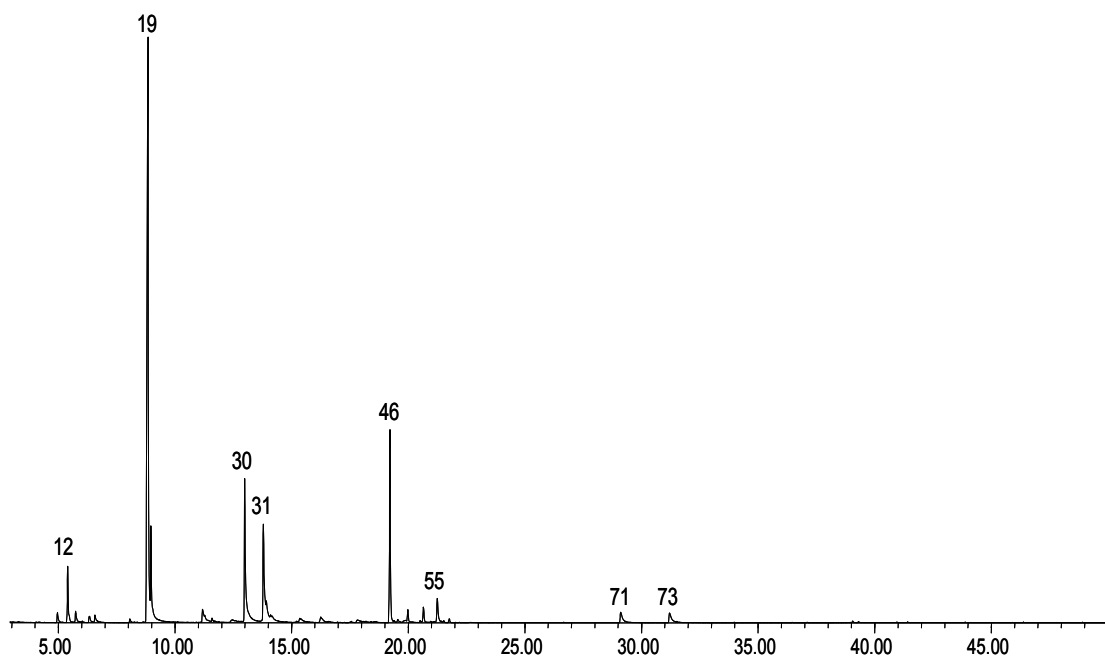


**Figura 17.** Distribución por clases de compuestos de la fracción volátil de las flores de *Posoqueria latifolia* obtenida por HS-SPME *in vivo*.

### 3.6 ANÁLISIS DE LA FRACCIÓN VOLÁTIL DE LAS FLORES DE *Posoqueria latifolia*, OBTENIDA POR HS-SPME *in vitro*.

En el cromatograma de la **Figura 18** se pueden observar 22 picos, entre los cuales los siguientes son de mayor intensidad: acetato de *cis*-hex-3-enilo, el acetato de bencilo y el *trans*- $\beta$ -cariofileno. Al comparar este cromatograma con el obtenido de la fracción volátil aislada por HS-SPME *in vivo*, se puede observar la presencia de más compuestos, aislados de las flores por HS-SPME *in vitro*.

En la **Tabla 9** se aprecia la composición de la fracción volátil de las flores de *Posoqueria latifolia*, obtenida por HS-SPME *in Vitro*, los componentes registrados se encuentran en cantidades > 0.1%. En esta fracción, se identificó el 91% de los compuestos; el componente mayoritario es el acetato de *cis*-hex-3-enilo (47 %), seguido de el *trans*- $\beta$ -cariofileno (11 %) y el acetato de bencilo (10 %).



**Figura 18.** Cromatograma de la fracción volátil de las flores de *Posoqueria latifolia* obtenida por HS-SPME *in vitro*. Columna apolar DB-5MS (30), *split* 1:30, detector selectivo de masas (EI, 70 eV). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 9**.

Si se compara la composición de la fracción volátil, obtenida por SPME *in vivo* con, la de SPME *in vitro*, se observa que la primera la conforman, casi en un 90%, tres compuestos: acetato de *cis*-hex-3-enilo, eugenol y acetato de bencilo; mientras que para la fracción volátil obtenida por HS-SPME *in vitro*, estos tres compuestos solo aportan ca. 59% del total del extracto.

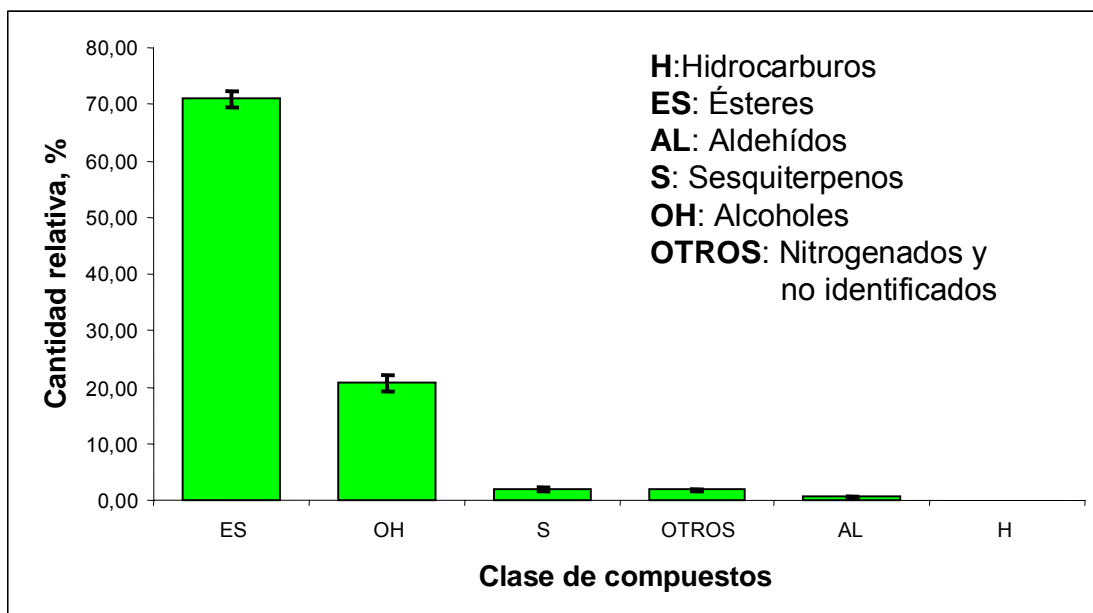
En la fracción volátil obtenida por HS-SPME *in vitro* se registraron compuestos entre los cuales figura el *trans*- $\beta$ -cariofileno, el salicilato de metilo y el acetato de hexilo, entre otros.

**Tabla 9.** Cantidad relativa (%) e identificación de los componentes de la fracción volátil de las flores de *Posoqueria latifolia* obtenida por HS-SPME *in vitro*.

pico N°	Compuesto	Indices de Kováts		Cantidad relativa, % $\pm \sigma$	
		Columna apolar			
		Lit[41]	Exp		
12	Acetato de 2-metil butilo	881	883	3,5	$\pm 8,4E-01$
13	2-Nitro metil butano	890	908	0,8	$\pm 2,1E-01$
14	Acetato <i>cis</i> -pen-2-enilo	918	914	0,57	$\pm 1,8E-02$
15	Acetato de pentilo	915	917	0,5	$\pm 1,8E-01$
18	N.I.		989	0,2	$\pm 6,3E-01$
19	Acetato <i>cis</i> -hex-3-enilo	1005	1004	47	$\pm 1,2E+00$
20	Acetato de hexilo	1012	1011	7,2	$\pm 2,9E-01$
27	Metil benzoato	1093	1100	1,39	$\pm 5,6E-02$
30	Acetato de bencilo	1162	1165	10	$\pm 2,8E-01$
31	Salicilato de metilo	1192	1198	6,9	$\pm 5,9E-01$
32	N.I.		1202	1,8	$\pm 2,8E-01$
34	<i>trans</i> - 2-Decenal	1264	1258	0,5	$\pm 1,4E-01$
35	N.I.		1293	0,85	$\pm 3,3E-02$
42	Eugenol	1359	1361	0,8	$\pm 1,0E-01$
46	<i>trans</i> -Cariofileno	1419	1422	10,7	$\pm 2,7E-01$
50	$\alpha$ -Humuleno	1455	1456	0,8	$\pm 1,0E-01$
52	Biciclosesquifelandreno	1486	1484	1,1	$\pm 1,8E-01$
55	$\alpha$ -Farneseno	1509	1505	1,9	$\pm 2,7E-01$
58	$\delta$ -Cadineno	1523	1527	0,3	$\pm 6,2E-01$
71	Benzoato de bencilo	1760	1780	1,5	$\pm 2,5E-01$
73	Salicilato de bencilo	1864	1886	1,4	$\pm 1,4E-01$

**Nota:** El corredor de error para los valores promedios determinados fue calculado para un intervalo de confianza del 95%, según la regla de Student ( $\mu = \text{promedio} \pm t^*s/\sqrt{n}$ ).  $T = 2,92$ ;  $n = 2$ ;  $s$ : desviación estándar

La gran diferencia entre estas dos métodos se ve marcada, en parte, por dos factores; uno es el calentamiento al que se someten las flores por HS-SPME *in vitro*, lo que permite que pasen al espacio de cabeza compuestos que se encuentran en la flor, y el otro es el hecho de que las flores se picaron lo que produce su oxidación, en este proceso pueden ocurrir reacciones que aumentan o disminuyen la cantidad de metabolitos secundarios en la flor, lo que al parecer influye en la presencia de eugenol. Lo anterior se presume debido a que en los extractos de MWHD y SDE se realizaron con este mismo proceso, el porcentaje del eugenol es bajo (0.5-2.5 %) comparado con el que se observa en el extracto obtenido por SPME *in vivo*.

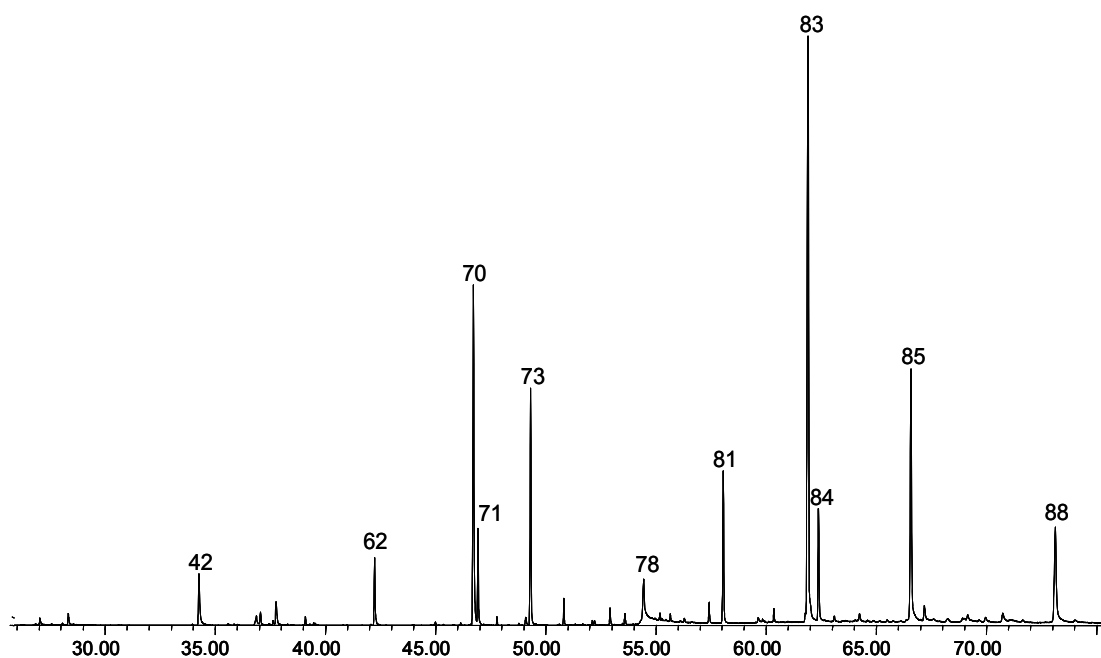


**Figura 19.** Distribución por clases de compuestos presentes en la fracción volátil de las flores de *Posoqueria latifolia*, obtenida por HS-SPME *in vitro*.

En la **Figura 19**, se observa, que los ésteres constituyen el 70.9% de la composición total, entre ellos se destacan compuestos mayoritarios, a saber; acetato de *cis*-hex-3-enilo (47 %) y acetato de bencilo (10 %). También, se observa un aporte importante de los sesquiterpenos (14.7 %).

### 3.7 ANÁLISIS DEL ABSOLUTO DE LAS FLORES DE *Posoqueria latifolia*

En el cromatograma (**Figura 20**) del absoluto de las flores se pueden observar 27 picos (> 0.1%), entre los cuales los mayoritarios son el 1-pentacoseno\* y el 2-metoxi-4-(3-hidroxi-hexil)-fenol, se observa que en su mayoría, el absoluto está compuesto por hidrocarburos > C<sub>20</sub>, lo que no es raro, si se compara con la composición química del absoluto de las flores de *Osmanthus sp*, en el cual los hidrocarburos y ácidos grasos conforman el 68,7% de la composición total [48], o con el aceite esencial obtenido de las flores frescas de *Spartium junceum L*, que contiene tricosano (22.9%), tetracosano (8.9%) y pentacosano (16.1%), constituyendo el 48% del total de su composición química [49].



**Figura 20.** Cromatograma del absoluto de las flores de *Posoqueria latifolia*, Columna apolar DB-5MS (60), *split* 1:30, detector selectivo de masas (EI, 70 eV). La identificación de los compuestos se reporta en la **Tabla 10**.

En la **Tabla 10**, se muestran los componentes presentes en el absoluto de las flores de *Posoqueria latifolia*, en cantidades relativas > 0.1%. Se puede observar

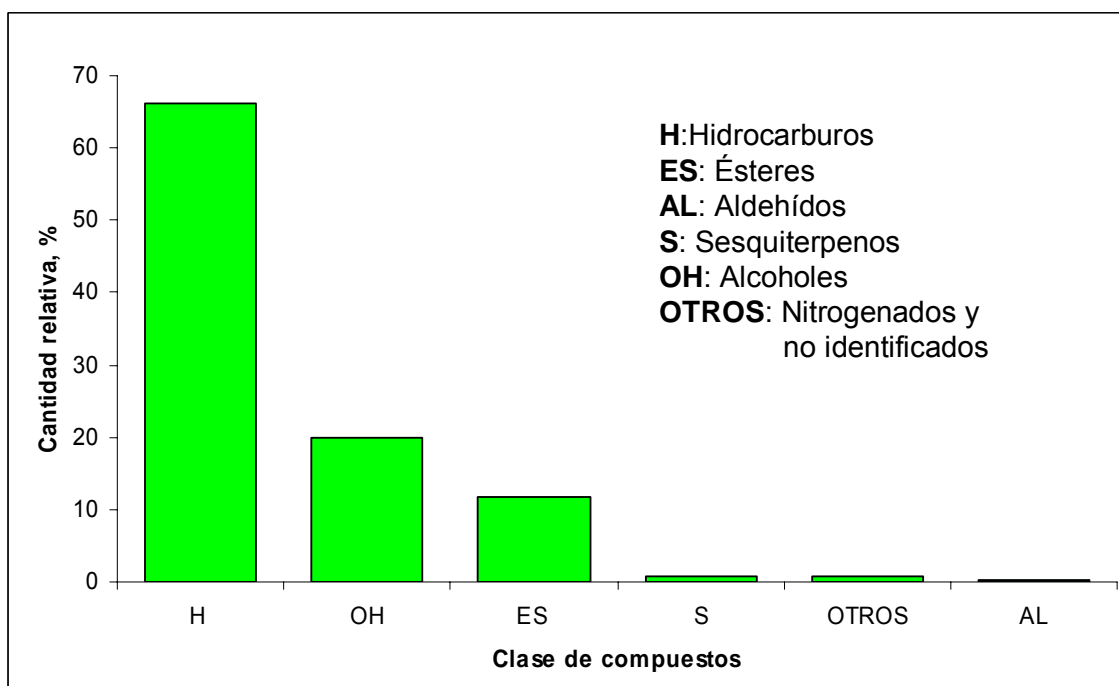
que el componente principal es el 1-pentacoseno, seguido de el 2-metoxi-4-(3-hidroxi-hexil)-fenol (13 %), el cual puede influir en el aroma del absoluto. En general, el absoluto se caracterizó por la presencia de hidrocarburos (> 50%), y compuestos oxigenados como ésteres (20 %), que son responsables de su aroma floral.

**Tabla 10.** Cantidad relativa (%) e identificación de los compuestos presentes en el absoluto de las flores de *Posoqueria latifolia*.

pico N°	Compuesto	Indices de Kováts		Cantidad relativa, %
		Columna apolar		
		Lit[ 41]	Exp	
6	cis-3-Metil-butyl aldoxima	854	855	0,11
9	trans-Isoveraldehido oxima	858	869	0,08
19	Acetato de cis-hex-3-enilo	1005	1004	0,14
28	Nonanal	1101	1106	0,13
30	Acetato de bencilo	1162	1165	0,46
31	Salicilato de metilo	1192	1198	0,55
42	Eugenol	1359	1356	2,8
45	Acido cinámico	1454	1424	0,61
46	trans-β-Cariofileno	1419	1433	0,59
49	trans-Isoeugenol	1451	1455	1,38
52	Biciclosesquifelandreno	1486	1494	0,25
62	Metoxieugenol	1579	1585	2,43
70	2-Metoxi-4-(3-hidroxi-hexil)-fenol	---	1765	13,2
71	Benzoato de bencilo	1760	1780	3,3
73	Salicilato de bencilo	1864	1886	7,4
77	Hidrocarburo, C <sub>21</sub>	2100	2098	0,43
78	N.I.	2130	2132	4,83
79	Hidrocarburo, C <sub>22</sub>	2200	2197	0,68
80	9-Tricoseno	2271	2271	0,77
81	Hidrocarburo, C <sub>23</sub>	2300	2299	5,94
82	Hidrocarburo, C <sub>24</sub>	2400	2399	0,49
83	1-Pentacoseno*	2488	2474	26,19
84	Hidrocarburo, C <sub>25</sub>	2500	2500	4,51
85	Hidrocarburo, >C <sub>25</sub>		2730	13,09
86	Hidrocarburo, >C <sub>25</sub>		2794	1,3
87	Hidrocarburo, >C <sub>25</sub>		2970	0,46
88	Hidrocarburo, >C <sub>25</sub>		3183	7,4

\* identificación tentativa

En la **Figura 21** se aprecia la composición química del absoluto, según las clases de compuestos presentes, *i.e.* los hidrocarburos (66 %), entre ellos, el principal compuesto es el 1-pentacoseno (26 %); los alcoholes (20 %), el principal compuesto el 2-metoxi-4-(2-hidroxihexil)-fenol (13 %); los ésteres (12 %), el salicilato de bencilo (7 %) fue mayoritario; y los otros compuestos contribuyendo con el 1% de la composición total.



**Figura 21.** Distribución por clases de compuestos del absoluto de las flores de *Posoqueria latifolia*.

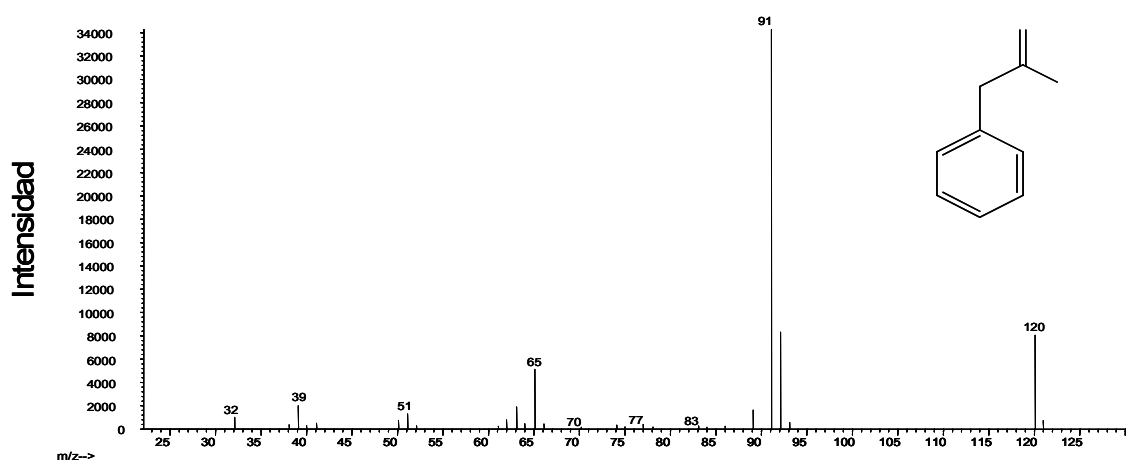
### 3.8 ANÁLISIS POR GC-MS DE LOS EXTRACTOS DE *Posoqueria latifolia*.

La identificación de los componentes presentes en los extractos de la *Posoqueria latifolia* se llevó a cabo empleando índices de retención de Kováts, calculados usando tiempos de retención de patrones de hidrocarburos lineales ( $C_{10} - C_{25}$ ), y los espectros de masas (MS), obtenidos por impacto de electrones (70eV).

Los espectros de masas obtenidos de cada componente de los extractos fueron comparados con los de las bases de datos NBS 75K (75.000 espectros), WILEY 138K (138.000 espectros), y NIST (250.000 registros). También se efectuó un análisis “manual” de las rutas de fragmentación de compuestos.

Se revisó la homogeneidad de cada pico cromatográfico, lo que permitió obtener los fragmentogramas de masas característicos para cada compuesto. A continuación, se presenta el análisis de algunos MS típicos, obtenidos experimentalmente, de compuestos presentes en los extractos de *Posoqueria latifolia*.

**3.8.1 Fragmentación de aldehídos.** Varios aldehídos forman parte de la composición química de las flores de *Posoqueria latifolia* y, aunque se encuentran en pequeñas proporciones, tienen importancia en su fragancia característica. A modo de ejemplo, en la **Figura 22**, se observa el espectro de masas del fenil acetaldéhidó.

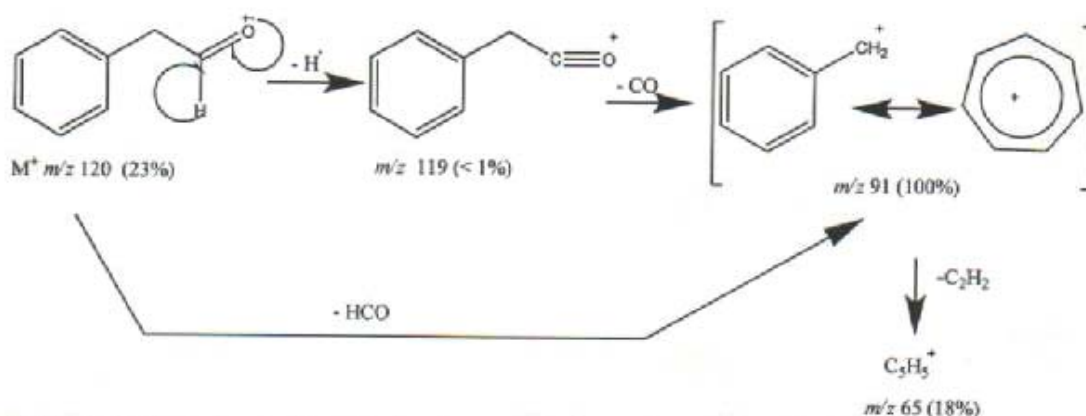


**Figura 22.** Espectro de masas del fenil acetaldéhidó. El, 70 eV.

Este aldehído exhibe en su MS el ion molecular en  $m/z$  120 (23%). La fragmentación del fenil acetaldéhidó se caracteriza por la ruptura bencílica

acompañada de la formación de los fragmentos  $(M-H)^+$  en  $m/z$  119 (2%) y  $(M-HCO)^+$  en  $m/z$  91 (100%), este último confirma la presencia del grupo aldehído en la molécula, y es un fragmento típico en los espectros de masas de aldehídos aromáticos.

El catión bencílico en  $m/z$  91 (100%) decae por la eliminación de una molécula de acetileno ( $C_2H_2$ ) con formación de  $C_5H_5^+$  en  $m/z$  65 (21%), tal como aparece en el **Esquema 1**.



**Esquema 1.** Ruta de fragmentación del fenil acetaldehído. EI, 70 eV.

**3.8.2 Fragmentación de los ésteres.** La transposición de McLafferty y diferentes transposiciones de hidrógeno son procesos típicos, que se observan durante la fragmentación de los ésteres; en el caso de los ésteres alifáticos es común observar la pérdida de los respectivos ácidos.

En la **Figura 23**, se presenta el espectro del acetato de *cis*-hex-3-enilo que como la mayoría de los ésteres (acetato), no presenta su ion molecular; se observan tres picos importantes, a saber, en  $m/z$  82 (80%),  $m/z$  67 (100%) y en  $m/z$  43 (80%); las rutas de fragmentación se muestran en el **Esquema 2**. Se puede observar, que

la formación del catión en  $m/z$  43 (80%) se debe a la pérdida del fragmento  $C_6H_{11}O$ , en forma de radical.

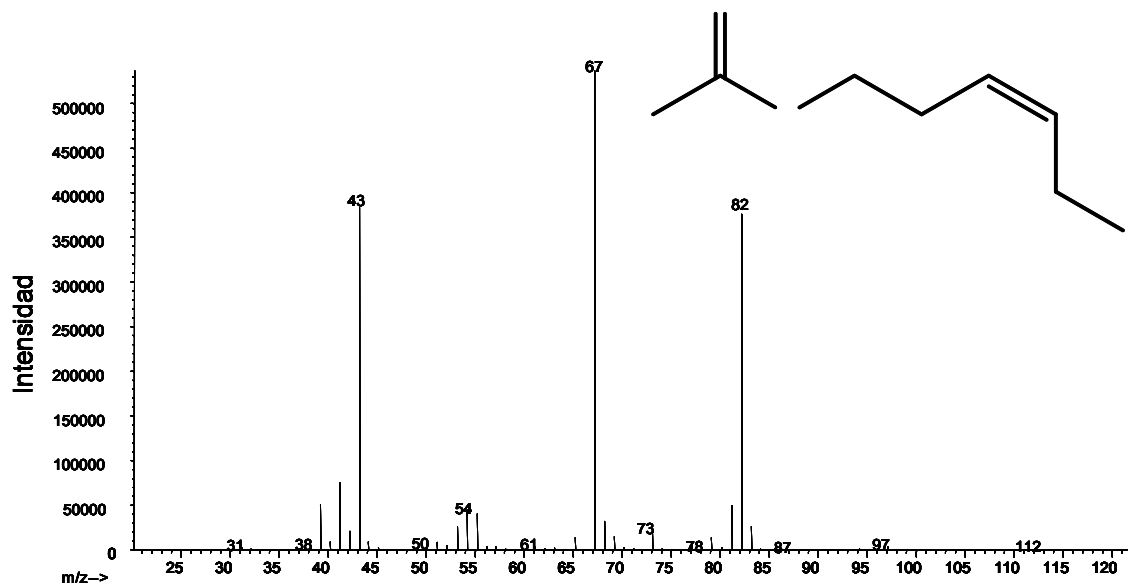


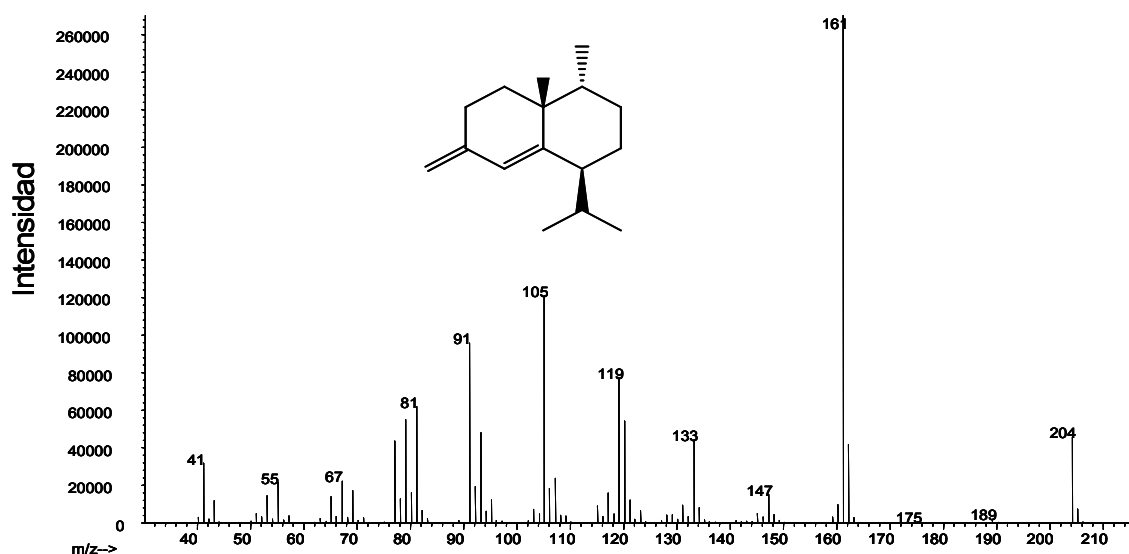
Figura 23 Espectro de masas del acetato *cis*-hex-3-en-1-ilo. EI, 70 eV.



Esquema 2. Ruta de fragmentación del acetato *cis*-hex-3-en-ilo, EI, 70 eV

La formación del ion en  $m/z$  82 (80%) se debe al reordenamiento McLafferty por la transposición de un hidrógeno al oxígeno del grupo carbonílico, desplazando los enlaces para al fin transformarse en ácido acético, y dejar un fragmento estabilizado por dos dobles enlaces, que decae, luego, generando un catión en  $m/z$  67 (100%) por la pérdida de un radical  $\text{CH}_3$ .

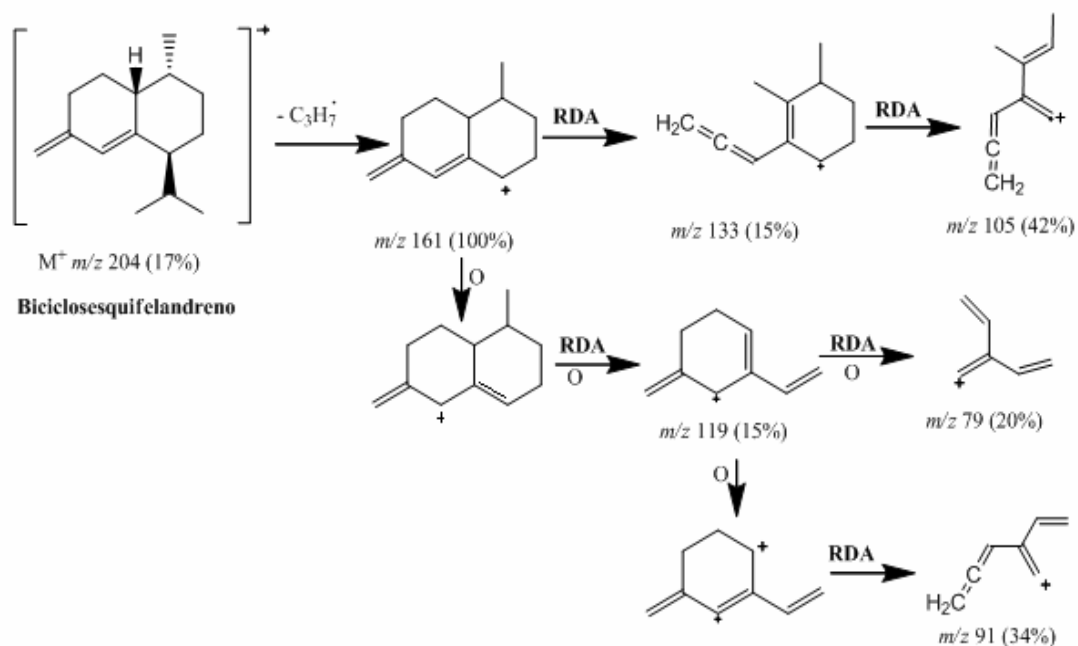
**3.9.3 Fragmentación de los sesquiterpenos.** Los espectros de masas de estos compuestos se caracterizan, en muchos casos, por la presencia de una señal intensa en  $m/z$  161, que corresponde al ion  $(\text{M}-\text{C}_3\text{H}_7)^+$ . La naturaleza cíclica de sesquiterpenos imparte cierta estabilidad a sus iones moleculares [50]; casi para todos los sesquiterpenos se puede observar la formación del ion  $\text{M}^+$  en el espectro.



**Figura 24.** Espectro de masas del bicyclofelandreno. IE, 70 eV.

En la **Figura 24** se muestra el espectro de masas del bicyclofelandreno, en el que se observa el ion molecular  $\text{M}^+$  en  $m/z$  204 (17%) de intensidad media, que decae por la pérdida del radical isopropílico, lo que genera el ion de pico base  $(\text{M}-\text{C}_3\text{H}_7)^+$ , en  $m/z$  161; a partir de éste se generan, por reacciones monomoleculares

consecutivas de tipo *retro Diels-Alder* (RDA), los iones en  $m/z$  133 y 105 (15 y 42%, respectivamente). En el **Esquema 3** se presenta la ruta de fragmentación.

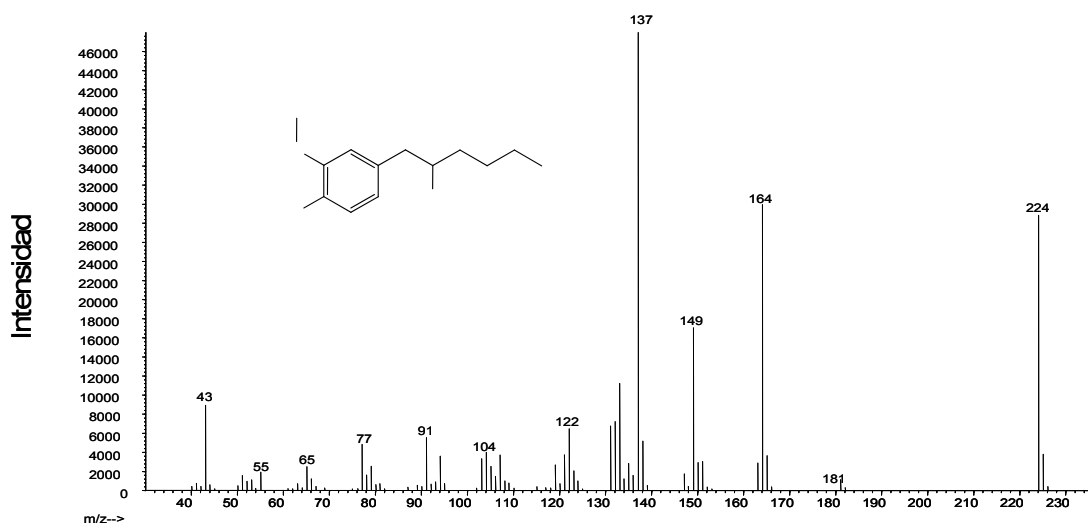


**Esquema 3.** Ruta de fragmentación del biclosesquifelandreno. EI, 70 eV.

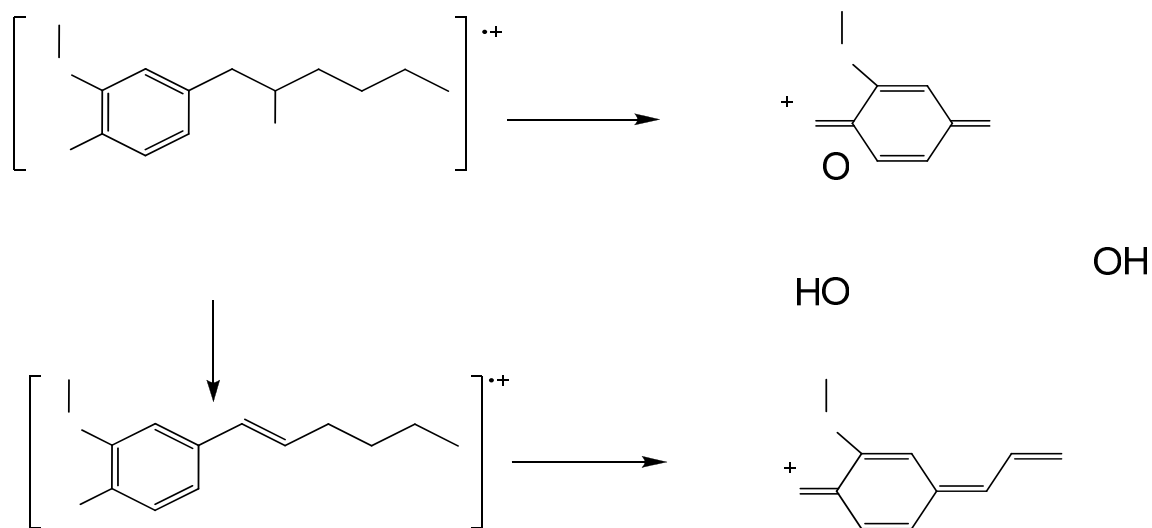
**3.9.4 Fragmentación de alcoholes.** Los alcoholes tienen como característica la pérdida de 18 unidades debido a la salida del  $H_2O$ . Normalmente, el ion molecular no se observa en los espectros de masas, pero en el caso del 2-metoxi-4-(2-hidroxihexil)-fenol el ion molecular sí aparece debido a la estabilización producida por el anillo aromático. En la **Figura 25** se puede observar el espectro de masas de este compuesto, cuyo ion molecular es  $m/z$  224 (61 %).

El 2-metoxi-4-(2-hidroxihexil)-fenol, se identificó, tentativamente, como un derivado del eugenol que aparece en cantidades relativamente altas (13% y 4%) en el absoluto y en el extracto de SFE de las flores. En la **Figura 25** se aprecia el

espectro de masas; los picos mas intensos corresponden al del ion molecular  $m/z$  224 (61 %), iones fragmento en  $m/z$  164 (65 %),  $m/z$  149 (40 %), y, como pico base, el ion  $m/z$  137. En el **Esquema 4** se visualiza la ruta de fragmentación propuesta.



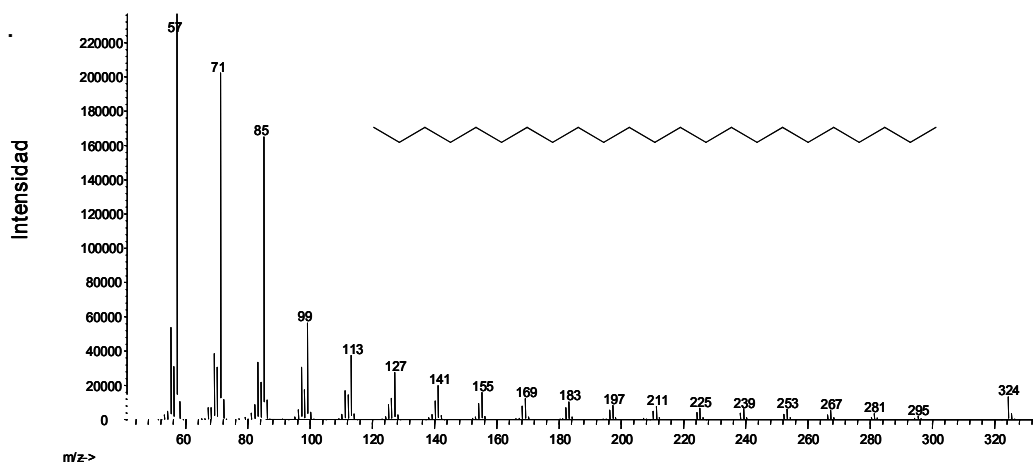
**Figura 25.** Espectros de masas de 2-metoxi-4-(2-hidroxi-hexil)-fenol, IE, 70 eV.



**Esquema 4.** Ruta de fragmentación del 2-metoxi-4-(2-hidroxi-hexil)-fenol. EI, 70 eV

En el espectro del 2-metoxi-4-(2-hidroxihexil)-fenol se observa el ion molecular, que se encuentra estabilizado por el anillo aromático y el grupo metoxi. Al perder  $C_3H_7$  en forma de radical, se genera el fragmento en  $m/z$  181. Los iones en  $m/z$  149 y 164 se forman a partir de la deshidratación del ion molecular y por pérdida sucesiva de radicales  $C_4H_9$  y de  $C_3H_7$ , respectivamente. El ion  $m/z$  164 se puede formar por la deshidratación del ion en  $m/z$  181. Por último, el ion  $m/z$  137 se forma por la pérdida del radical  $C_5H_{10}O$  del ion molecular.

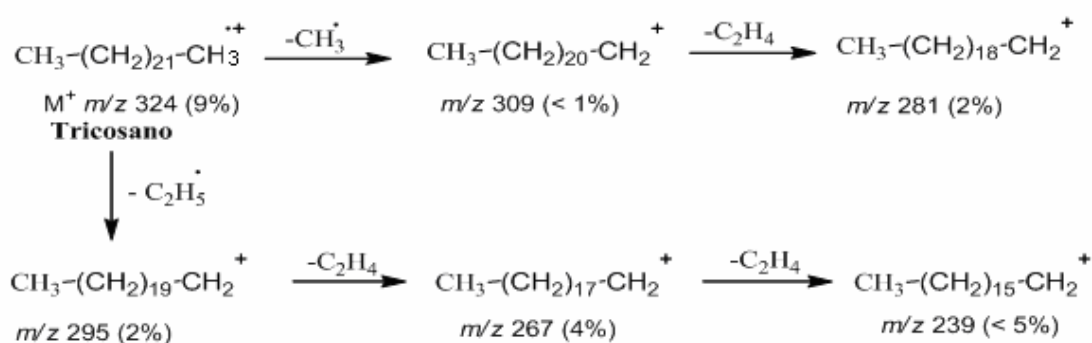
**3.9.5 Fragmentación de hidrocarburos.** En los hidrocarburos el ion molecular suele aparecer, en ocasiones, con una intensidad baja. Su espectro presenta un conjunto de picos separados por 14 unidades de masa, siendo normalmente los picos más intensos que corresponden a los fragmentos  $C_3$  ( $m/z$  43) y  $C_4$  ( $m/z$  57). La presencia de sustituyentes genera la rotura de enlaces en los puntos de ramificación, aumentando así las intensidades de los iones secundarios o terciarios formados por escisión de estos enlaces.



**Figura 26.** Espectro de masas del tricosano,  $C_{23}$ . EI, 70 eV.

El tricosano, un hidrocarburo lineal de 23 carbonos, genera ion molecular en  $m/z$

324, que aparece en la **Figura 26**. El ion en  $m/z$  309 (< 1%) se origina por la pérdida de un radical  $\text{CH}_3$  del ion molecular. Posteriormente, se observa la pérdida consecutiva de 28 unidades debidas a la salida de moléculas neutras de  $\text{C}_2\text{H}_4$ , como es característico de los hidrocarburos lineales. Adicionalmente, aparecen los iones complementarios en  $m/z$  57, 71 y 85, correspondientes a  $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_5$  y  $\text{C}_6$ , respectivamente. En el **Esquema 5** se observa la ruta de fragmentación de este hidrocarburo



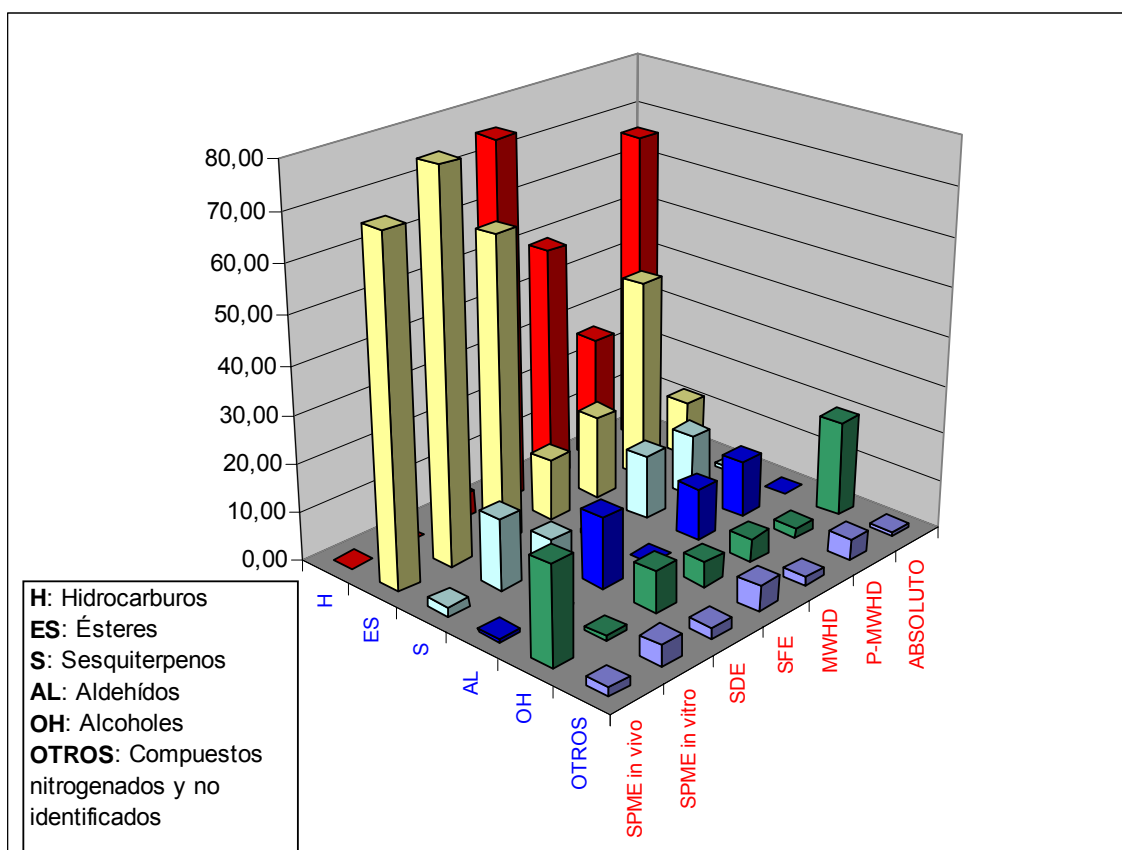
**Esquema 5.** Ruta de fragmentación del tricosano. EI, 70 eV

### 3.9 COMPARACIÓN ENTRE LAS DIFERENTES TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN UTILIZANDO DIFERENTES ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

La **Figura 27** muestra la distribución de clase de compuestos, obtenidos por diferentes técnicas de extracción. Se observa que los ésteres están >11.8% por lo que tienen gran importancia en la fragancia de los flores de *Pososqueria latifolia*, las técnicas que permitieron aislar en mayor proporción ésteres son SDE, HS-SPME *in vivo* y HS-SPME *in vitro*, las cuales son usadas para determinar volátiles en las plantas.

También se aprecia claramente que los hidrocarburos se extraen en mayor grado

por técnicas SFE, MWHD, y están presentes en el absoluto, y, en menor proporción, por la técnica de hidrodestilación P-MWHD.

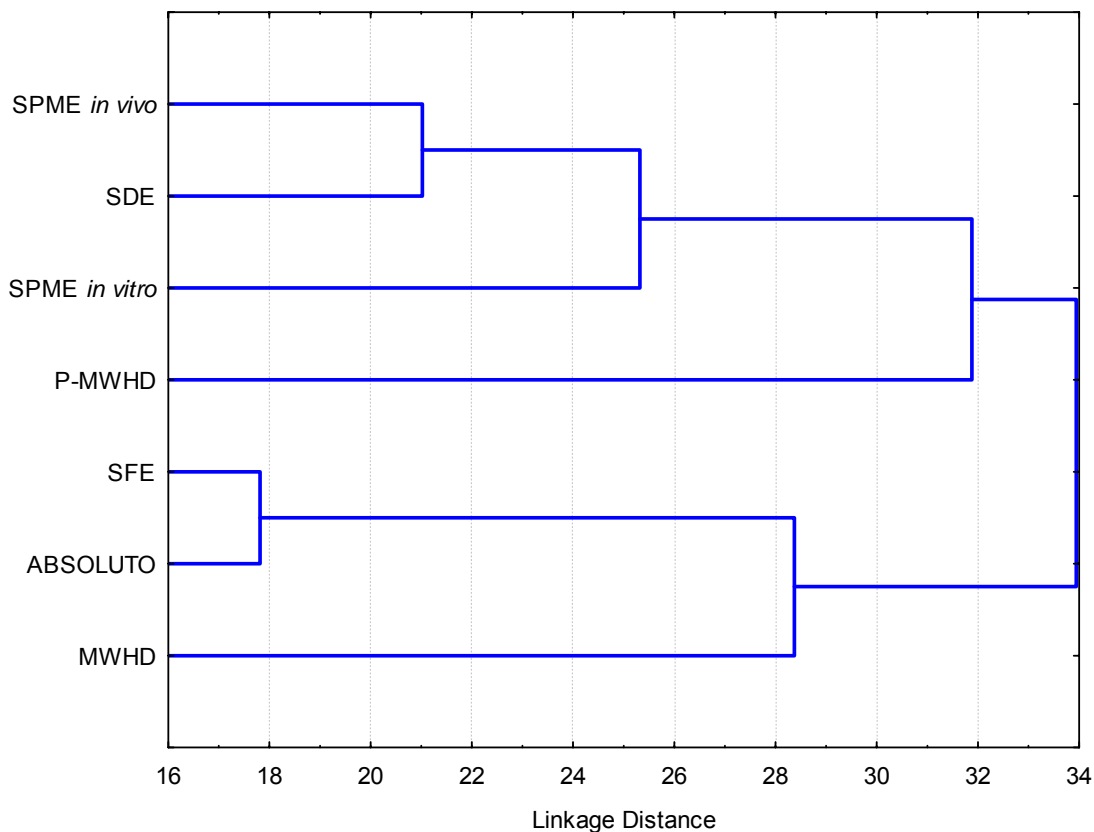


**Figura 27.** Clases de compuestos químicos, aislados de flores de *Posoqueria latifolia* por diferentes técnicas de extracción.

En general, lo que se puede observar, es que la la técnica HS-SPME preferencialmente extrae compuestos más volátiles; en el absoluto (extracción con solvente) presenta compuestos más pesados, así como en el extracto SFE. La hidrodestilación asistida por microondas extrae componentes en cuanto a su polaridad y peso molecular más uniformemente.

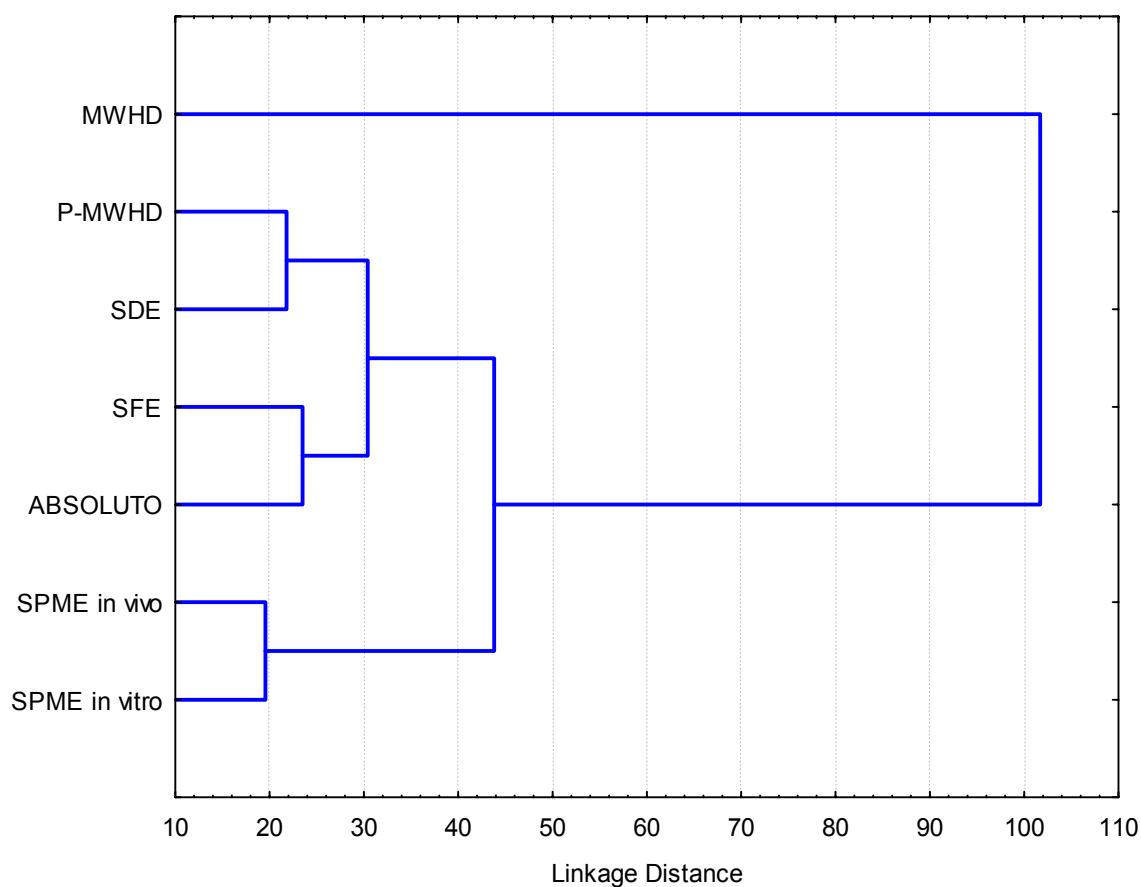
**3.9.1 Análisis de *clusters*.** En el análisis de *cluster* se observan las agrupaciones de las diferentes técnicas. En la **Figura 28**, se pueden observar las agrupaciones según las clases de compuestos. La matriz analizada se encuentra en el **Anexo 2 (Tabla 2-1)**, se observa una agrupación entre SFE y el absoluto, ambas técnicas permiten aislar hidrocarburos en cantidades más altas, que otros métodos.

Otra agrupamiento se observa entre las técnicas SPME *in vivo* y SDE, ambas aíslan ésteres y alcoholes en cantidades prevalentes, estas dos técnicas, a su vez, se relacionan con SPME *in vitro*, y P-MWHD.



**Figura 28.** Análisis de *cluster*, usando las clases de compuestos para diferentes técnicas de extracción.

De igual manera, se realizó el análisis de *cluster*, teniendo en cuenta todos los compuestos encontrados. La matriz con la que se efectuó el análisis se encuentra en el **Anexo 2 (Tabla 2-2)**. Se debe tener en cuenta que ante la presencia de tantas variables, se dificulta determinar cuáles variables o relaciones de éstas son las que generan los agrupamientos.



**Figura 29.** Análisis de *cluster*, usando los compuestos aislados por diferentes técnicas de extracción.

En la **Figura 29** se observan tres agrupaciones importantes, entre los métodos de P-MWHHD y SDE, nuevamente entre SFE y el absoluto, y, por ultimo se agrupan las técnicas de SPME. En la **Tabla 1-1** del **Anexo 1** se constata, que para el

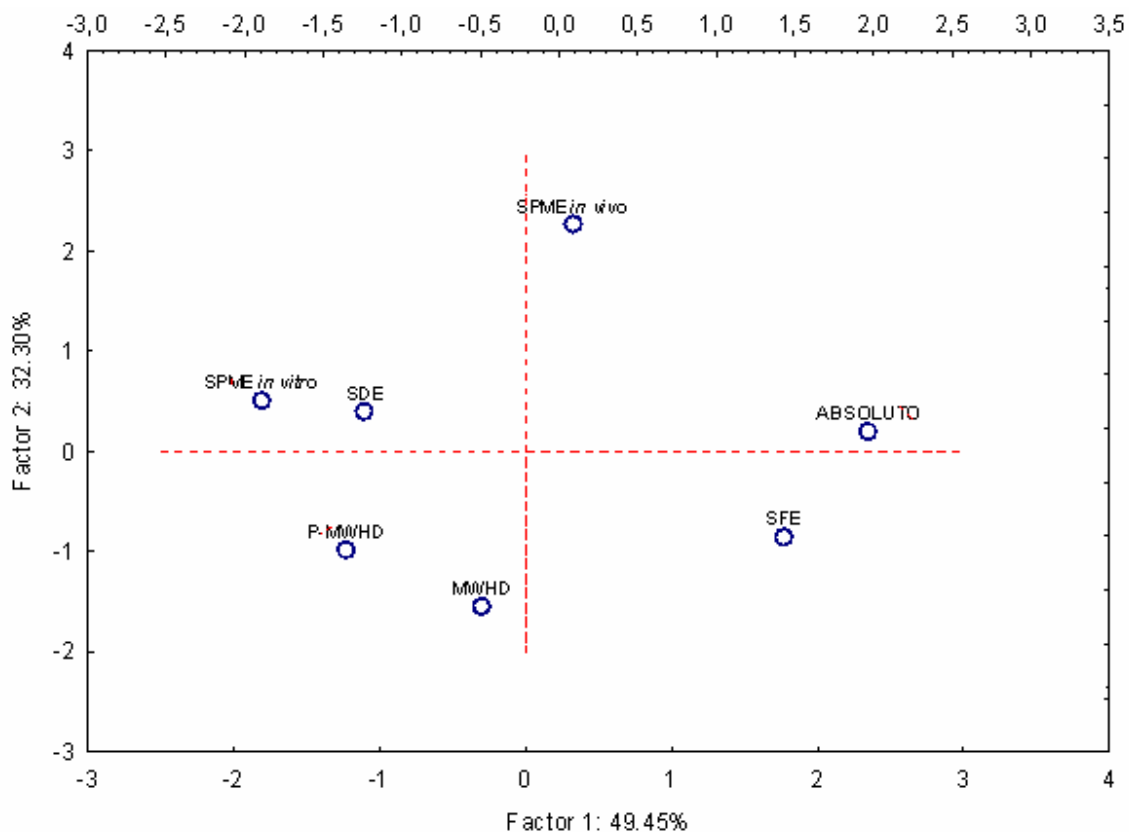
acetato de *cis*-hex-3-en-ilo, las cantidades relativas son similares para las técnicas agrupadas, e.g. para P-MWHD y SDE, y, así, respectivamente, para los otros grupos.

La relación que se observa entre las técnicas P-MWHD, SDE, SFE; y el absoluto se debe a que contienen cantidades relativamente altas de salicilato de bencilo.

**3.9.2 Análisis de componentes principales PCA.** En la **Figura 31** se aprecian las agrupaciones de las diferentes técnicas de extracción, representadas en un plano cartesiano conformado por dos factores que representan el 81.75 % de la información procesada. Para obtener los agrupamientos fue necesario tomar a la variable “OTROS” como suplementaria, en la **Tabla 2-3** del **Anexo 2**, se puede observar la influencia de ésta sobre cada uno de los factores que representan la información total.

En la **Figura 30** se observan 4 grupos; el primero conformado por los métodos de MWHD y P-MWHD, el segundo por SPME-*in vitro* y SDE, el tercero por SFE y el absoluto, y, por último, la técnica SPME *in vivo* que se encuentra aislada de las demás.

En la **Tabla 2-4** del **Anexo 2**, se pueden observar las contribuciones de las variables a los diferentes factores. En esta tabla el Factor 1 está influenciado mayormente por dos variables; sesquiterpenos (S) e hidrocarburos (H); sin embargo, la diferencia entre la influencia de estas dos variables respecto a las otras no es muy grande, por lo que en general para este caso, todas las variables afectan los factores. En la misma tabla también se destaca que las variables que más afectan al factor 2 son los ésteres (ES), alcoholes (OH) e hidrocarburos.



**Figura 30.** Análisis de componentes principales de acuerdo con varias clases de compuestos aislados por diferentes técnicas de extracción.

Para el caso de la **Figura 31** es interesante observar la influencia sobre los factores 1 y 2, y apreciar que las técnicas se desplazan hacia la parte positiva del Factor 1, si aumenta la cantidad de hidrocarburos y de alcoholes, explicando así el desplazamiento hacia la derecha del de SFE y el absoluto. También se aprecia un leve desplazamiento hacia la derecha del Factor 1 de la técnica SPME *in vivo*, debido a la gran cantidad de alcoholes que forma parte de la composición de este extracto. El desplazamiento de las técnicas hacia la izquierda del Factor 1, es debido a la presencia de aldehídos (AL), sesquiterpenos (S) y ésteres (ES), lo que explica el fuerte desplazamiento de SPME *in vitro*, SDE y P-MWHD hacia la izquierda, el hecho que el desplazamiento de SPME *in vitro* sea mayor que las

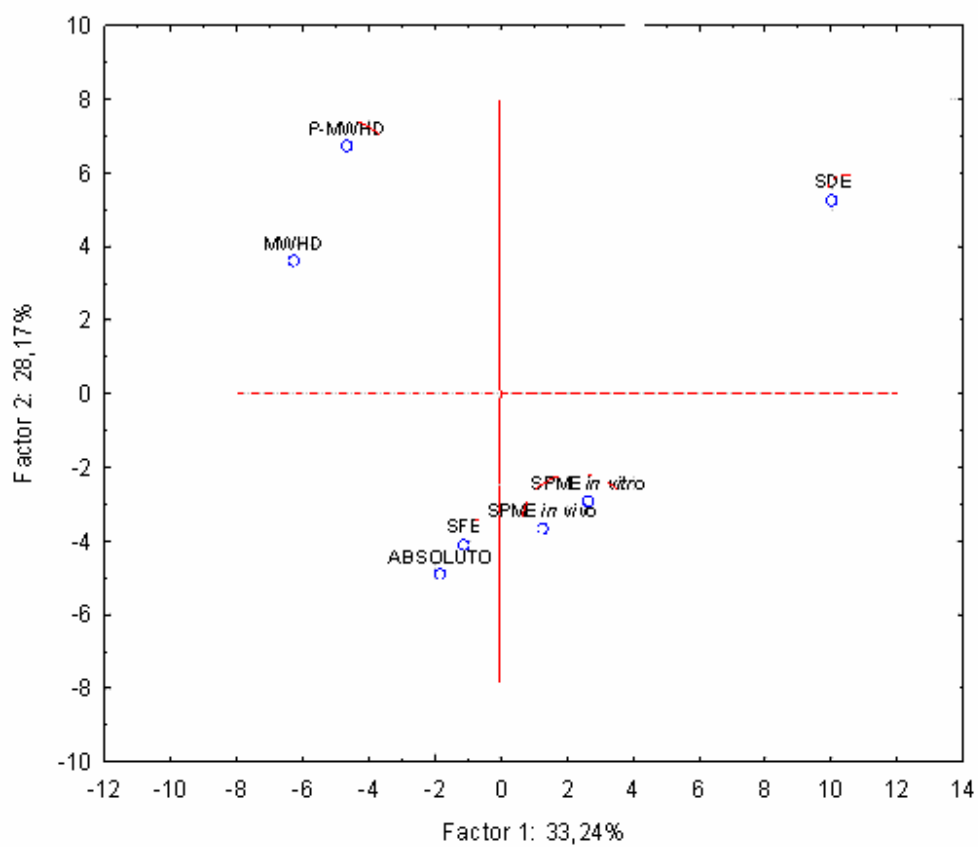
otras dos técnicas, es porque ésta contiene en su composición el 94% de ésteres y sesquiterpenos.

Las técnicas que se desplazan hacia el eje positivo del Factor 2, son las que tienen cantidades altas de ésteres y alcoholes, lo que explica el fuerte desplazamiento de SPME *in vivo* hacia este polo, debido a que el 91.6% de su composición total es de esta clase de compuestos, mientras que las técnicas que se desplazan hacia la izquierda son las que tienen mayor cantidad de hidrocarburos, sesquiterpenos y aldehídos, por lo que las técnicas que se desplazan hacia la izquierda del factor 2, son: SFE, P-MWHD y de P-MWHD.

También se hizo el análisis de PCA con compuestos aislados por las diferentes técnicas de extracción. En la **Figura 31** se pueden observar cuatro grupos; el primero; conformado por P-MWHD y MWHD; el segundo, SFE y absoluto; el tercero, las técnicas de HS-SPME; y por último, SDE que se encuentra distanciada de las demás técnicas.

**Tabla 2-5** del **Anexo 2** se muestra la influencia de las variables sobre las coordenadas para cada factor. En la **Tabla 2-6** del **Anexo 2** se observa la contribución de las variables a los factores. Como se observa en estas tablas, no hay variables que influyan considerablemente más que otras, por lo que se dice que toda la composición química afectan los agrupamientos que se presentaron para este análisis.

Las agrupaciones se observan respecto al tipo de extracción, e.g. las técnicas de extracción SFE y el absoluto se agruparon en el cuadrante inferior izquierdo, estas dos técnicas son extracciones con solvente. La técnica de extracción SDE que se encuentra separada de las utiliza destilación y extracción simultanea, lo que puede explicar su posición en el plano.



**Figura 31.** Análisis de componentes principales de los casos usando las variables que son todos los compuestos presentes en los extractos aislados por las diferentes técnicas de extracción empleadas.

#### 4. Conclusiones

Por primera vez se realizó el estudio de la composición química de los extractos obtenidos de flores de *Posoqueria latifolia*, utilizando 6 diferentes técnicas de extracción, a saber: hidrodestilación asistida por la radiación de microondas, destilación-extracción simultánea con solvente, extracción con fluido supercrítico, micro extracción en fase sólida *in vivo*, microextracción en fase sólida *in vitro* y la obtención del absoluto con un solvente.

En total se detectaron 88 compuestos en concentraciones mayores de 0.1%, de los cuales se logró identificar el 86.4%, usando criterios cromatográfico (índices de retención de Kováts) y espectroscópico (espectros de masas).

En la **Tabla 1-1** del **Anexo 1** se puede ver que los compuestos *cis*-3-metil-butyl aldoxima, *trans*-3-metil-butyl aldoxima, acetato de *cis*-hex-3-en-1-ilo, acetato de bencilo, salicilato de metilo y el eugenol, son compuestos comunes para los extractos obtenidos por todas las técnicas de extracción usadas.

Usando la técnica de HS-SPME se estableció que el compuesto mayoritario de la fragancia de la flor es el acetato de *cis*-hex-3-en-1-ilo seguido del acetato de bencilo participando en cantidades relativas de 45 y 8%, respectivamente.

En los extractos de MWHD, SFE y en el absoluto, se encuentran hidrocarburos lineales saturados e insaturados en cantidades apreciables, algunos de ellos son kairomonas, que sintetiza la flor para atraer a los insectos polinizadores.

En los extractos de la flor de *Posoqueria latifolia* no se detectó el D-germacreno, reportado por Kaiser(2002), pero sí el biciclosesquifelandreno que posee el

espectro de masas muy parecido.

En diferentes extractos obtenidos de la flor de *Posoqueria latifolia*, se encuentran en cantidades importantes compuestos oxigenados, tales como ésteres, aldehídos y alcoholes, responsables de la fragancia floral frutal de esta flor, por lo cual los extractos podrían ser utilizados en las industrias cosméticas o de alimentos, para dar nuevos tonos o sabores a los productos.

## 5. Recomendaciones

Estudiar organolépticamente el absoluto y los aceites de los pétalos y de la flor completa, por parte de expertos catadores para determinar el posible uso en los productos de las industrias de cosméticos o de alimentos, o en ambas..

Estudiar los extractos de las hojas para determinar su posible actividad biológica, debido a la presencia de iridoides, reportados por Stobod (**1980**).

Estudiar más a fondo el proceso de obtención del absoluto de las flores de *Posoqueria latifolia* utilizando diferentes solventes, temperaturas de extracción, condiciones de evaporación de los solventes y filtración, para mejorar la cantidad producto.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Guía de Consultas Botánica II. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura (UNNE) ASTERIDAE-Rubiales-Rubiaceae, 1998-2008 (citada en mayo de **2006**).  
<http://www.biologia.edu.ar/diversidadv/fascIII/23.%20Rubiaceae.pdf>
2. Tabla de Botánica Sistemática, Rubiaceae Universidad de Catania, Departamento de Botánica, (citada en mayo de **2006**).  
[http://www.dipbot.unict.it/sistematica\\_es/Rubi\\_fam.html](http://www.dipbot.unict.it/sistematica_es/Rubi_fam.html)
3. SOTO-SOBENIS, A., CASTILLO, B., Alkaloid screening of herbarium samples of *Rubiaceae* from Panamá, *Pharm. Biol.*, **2001**, Vol. 39, N° 3, , pp. 161-169.
4. G. H. STOBOD, Two New Iridoids From *Posoqueria latifolia*, *J. OF Nat. Prod.*, **1980**, Vol. 43, No. 5, pp. 571-576.
5. KAISER, Roman, Scents from rain forest, *Chimia*, **2000**, Vol. 54 ,No. 6, pp. 346-363
6. MOLINA, Luis F., SÁNCHEZ Gabriel J., GONZÁLEZ Mauricio, Guía de árboles de Santafé de Bogotá, (citada el diciembre de **2005**)  
<http://www.banrep.gov.co/blaavirtual/letra-a/arboles/indice.htm>
7. Nomenclatura botánica de las Américas (citada en septiembre de **2005**)  
<http://www.fundaciondoctordepando.com/GLOSARIOS%20y%20VOCABULARIOS/Nomenclatura%20Bot%20nica-PPP.htm>

8. Ferla Fruits from America, Geo Coppens d'Eeckenbrugge and Dimary Libreros (citada noviembre de **2005**)

[http://www.ciat.cgiar.org/ipgri/fruits\\_from\\_americas/frutales/species%20Posoqueria.htm](http://www.ciat.cgiar.org/ipgri/fruits_from_americas/frutales/species%20Posoqueria.htm)

9. Recuperación, sistematización y documentación de las plantas medicinales utilizadas por las comunidades indígenas de la zona de Acaricuara y Yapú, departamento del Vaupés. (citada noviembre de **2005**).

<http://200.13.202.26:90/pronatta/proyectos/pdf/981974080inf.pdf>

10. ARIZA Oscar A., RUEDA Elkin D., ARCHILA Johanna A., MARTINEZ Jairo R., STASHENKO Elena E., HRGS-MS analysis of secondary metabolites of *Posoqueria s.p.* flowers isolated with various extraction techniques, abstract Chemical analytical congress, Moscú, Russia, junio 25 al 30 de **2006**.

11. IKAN, Raphael, Natural Products. A Laboratory Guide, Ed. Academic Press, San Diego, **1991**, pp., 168-185.

12. KAUFMAN, P. B., CSEKE, L. J., WARBER, S., DUKE, J. A., and BRIELMANN, H. L., Natural Products from Plants, Ed. CRC Press, Boca Raton, **1999**, pp. 9-18.

13. GROS, E. G., POMILIO, A. B., SELDES, A. M., y BURTON, G., Introducción al estudio de los productos naturales, Ed. O.E.A., Buenos Aires, **1985**, pp. 3-12.

14. TOIZ, L. and ZEIGER, E., Plant Physiology, Ed. Sinaver Associates, Sunderland, **2002**, pp. 283-307.

15. TAIZ, LINCOLN. Y ZIEIGER, Eduardo. Plant Physiology. 3ed. Sunderland: Sinauer Associates, Inc., Publishers. **2002**, p.p. 283-290.

16. DEWICK, Paul M. medicinal natural products: a Biosynthetic Approach. 2ed. New York: John Wiley & Sons. **2002**, p.p. 167-301
17. EVANS, William. Farmacognosia. 13ed. Mexico: Interamericana McGraw Hill, **1991**. p.p. 125-155
18. HARBORNE, J. Phytochemical methods. 2ed. London: Ed. Chapman and Hall, **1984**. p.p. 35-85
19. FLAMINI, G.; CIONI, P. y MORELLI, I. Use of solid-phase micro-extraction as a sampling technique in the determination of volatiles emitted by flowers, isolated flower parts and pollen. En: J. Chromatogr. A. Vol. 998 (**2003**), P.p. 229-233
20. CORREA, J.E y BERNAL, H.Y., Especies Vegetales Promisorias de los Países del Convenio Andrés Bello, Santafé de Bogotá, **1989**, Vol 10.
21. CRONQUIST, A., An Integrated System of Classification of Flowering Plants, Ed. Columbia University Press, New York, **1981**, pp. 1262.
22. JOHN C. LEFFINGWELL., Osmanthus, <http://www.leffingwell.com/osmanthus.htm>, consultado 18 de abril de 2006.
23. FENNEMA, O. R., KAREL, M., SANDERSON, G. W., WASTRA, P. and WHITAKER, J. R., Flavor Fragrance and Odor Analysis, Ed. Ray Marsili, New York, **2002**, pp. 25-31.
24. GARCIA BARRIGA, H., Flora Medicinal de Colombia, Ed. Tercer Mundo, Bogotá, **1992**, Vol 3.p.p. 78-85
25. MUÑOZ, F., Plantas medicinales y aromáticas: Estudio, Cultivo y

Procesado, Ed. Mundi-Prensa, Madrid, **1987**, pp. 365.

26. BANDONI, Arnaldo (Ed.), Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica: Su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores, Ed. Universidad Nacional de La Plata, Argentina, **2000**, pp. 13-58, 103-242.

27. STASHENKO, E.E.; QUIROZ, N. and MARTINEZ, J. R., HRGC/FID/NPD and HRGC/MSD Study of Colombian Ylang-Ylang (*Cananga odorata*) Oils Obtained by Different Extraction Techniques, *J. High Resol. Chromatogr.*, **1996**, 19 (6), pp. 359-362.

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

29. KINGSTON, H. & HASWELL, S., Microwave-Enhanced Chemistry: Fundamentals, Sample Preparation and Applications, Ed. ACS, Washington, **1997**, pp. 3-20.

30. LIKENS, S. T. and NICKERSON, G. B., Detection of Certain Hop Oil Constituents in Brewing Products, *Am. Soc. Brew. Chem. Proc.*, **1964**, pp. 5-13.

31. GODEFROOT, M., SANDRA, P. and VERSALE, M., New Method for Quantitative Essential Oil Analysis, *J. Chromatogr.*, **1981**, pp. 203, 225-335.

32. CASTRO, M. D. Luque de, VALCARCEL, M. & TENA, M. T., Analytical Supercritical Fluid Extraction, Ed. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, **1994**, pp. 321.

33. McHUGH, M. A. and KRUKONIS, V. J., *Supercritical Fluid Extraction, Principles and Practice*, Ed. Butterworths, Boston, pp. 1-12.
34. WENCLAWIAK, B., *Analysis with Supercritical Fluid: Extraction and Chromatography*, Ed, Springer-Verlag, Berlín, **1992**, pp. 213.
35. FENNEMA, O. R., KAREL, M., SANDERSON, G. W., WASTRA, P, and WHITAKER, J. R., *Flavor Fragrance and Odor Analysis*, Ed. Ray Marsili, New York, **2002**, pp. 25-31.
36. PAWLISZYN, J., *Solid Phase Microextraction, Theory and Practice*, Ed. Wiley -VCH, New York, **1997**, pp. 247 .
37. PAWLISZYN, J., *Application of Solid-Phase Microextraction*, RSC Chromatography Monographs, Cambridge, **1999**, pp. 655.
38. REVERCHON, et.al , modelling of orange flower concrete fractionation by supercritical CO<sub>2</sub>. *journal of Supercritical Fluids* **1999**, 14 ,115-121.
39. VINATORU,M. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics sonochemistry*, vol 8, issue 3, july **2001**.p 303-313.
40. JENNINGS, W. and SHIBAMOTO, T., *Qualitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatiles by Glass Capillary Gas Chromatography*, Ed. Academic Press, London, **1980**, pp. 472.
41. KOVÁTS, E., *Helv. Chim. Acta*, **1958**, Vol. 41, pp. 1915.
42. KONIG, W. A. and Joulain, D., *The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpene*

Hydrocarbons, Ed. Verlag, Hamburg, **1998**, pp. 658.

43. ADAMS, Robert, Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy, Ed. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, **1995**, 469 p.

44. SCHREIER, P., Analysis of Volatiles, Methods and Applications, Ed. Walter de Gruyter, New York, **1984**, 1463 p.

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

46. Stashenko, E., y Bernal, J., Resonancia magnética nuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ), y acoplamiento; cromatografía de gases –Espectrometría de masas, Bucaramanga, UIS, Departamento de Química, 1991. pag:

47. TERRÁDEZ, M., *Análisis de componentes principales*.  
[http://www.uoc.edu/in3/emath/docs/componentes\\_principales.pdf](http://www.uoc.edu/in3/emath/docs/componentes_principales.pdf)

48. KAISER, R. and D. LAMPARSKY, Volatile Constituents of Osmanthus Absolute. in Essential Oils. B. D. Mookheijee and C. J. Mussinan, eds., Allured Publishing, Wheaton, IL (**1980**), pp. 159-192.

49. MIRALDI E. et al, Identification of Volatile Constituents from the Flower Oil of Spartium junceum, Journal of Essential Oil Research: JEOR, **2004**.

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

## Anexo 1,

**Tabla 1-1.** Cantidad relativa (%) e identificación de los compuestos presentes en la fragancia de las flores de *Posoqueria latifolia*, obtenidos por diferentes técnicas de extracción.

Nº pico (Figuras 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23)	Compuesto	Ik (apolar)	MWHD	MWHD-PETALOS	SFE	SDE	SPME <i>in vivo</i>	SPME <i>in vitro</i>	ABSOLUTO
1	<i>trans</i> -2-Pentenol	770				0,70 ± 5,9E-02			
2	<i>cis</i> -2-Pentenol	772				1,3 ± 2,6E-01			
3	Isoveraldehído	790				0,50 ± 7,8E-02			
4	Hexanal	806		1,0 ± 1,9E-01		3,7 ± 3,1E-01			
5	Acetato de butilo	819				0,31 ± 6,6E-02			
6	<i>cis</i> -3-Metil-butil aldoxima	855	0,247 ± 1,4E-03	0,19 ± 2,4E-02	0,13 ± 1,3E-02	0,37 ± 6,0E-02	0,95 ± 6,6E-02	0,20 ± 5,1E-02	0,11
7	<i>trans</i> -2-Hexenal	858				0,44 ± 3,8E-02			
8	<i>cis</i> -3-Hexenol	860	1,1 ± 1,0E-01	0,49 ± 6,0E-02		2,4 ± 3,8E-01			
9	<i>trans</i> -3-Metil-butil aldoxima	869	0,22 ± 2,3E-02	TRAZAS	TRAZAS	TRAZAS	0,95 ± 7,7E-02	0,23 ± 2,3E-02	0,08
10	Hexanol	873	0,27 ± 3,5E-02			0,52 ± 3,2E-02	0,7 ± 1,5E-01		
11	Acetato de isopentilo	881		0,38 ± 9,2E-02		3,1 ± 4,2E-01			
12	Acetato de 2-metil butilo	883				0,16 ± 3,4E-02		2,0 ± 8,4E-01	
13	2-Metil-nitrobutano	908		0,15 ± 3,3E-02		TRAZAS		7 ± 1,1E+00	
14	Acetato de <i>cis</i> -pen-2-en-1-ilo	914		0,22 ± 4,5E-02		1,2 ± 3,6E-01		0,39 ± 1,8E-02	
15	Acetato de pentilo	917				0,24 ± 2,0E-02		1,4 ± 1,8E-01	
16	Acetato de <i>cis</i> -pen-3-en-1-ilo	924				1,3 ± 2,8E-01			
17	Benzaldehído	967		0,4 ± 1,2E-01		1,3 ± 4,2E-01			
18	N.I.	989				0,49 ± 4,2E-02		1,4 ± 6,3E-01	
19	Acetato de <i>cis</i> -hex-3-en-1-ilo	1004	1,8 ± 1,5E-01	12 ± 2,1E+00	0,11 ± 7,6E-02	10,1 ± 2,8E-01	60 ± 1,1E+00	50 ± 1,2E+00	0,14
20	Acetato de hexilo	1011		1,37 ± 4,0E-02		3,0 ± 1,7E-01		4,0 ± 2,9E-01	
21	2,4-Heptadienal	1013		0,21 ± 2,1E-02		0,9 ± 1,9E-01			
22	1,3-Hexadieno, 3-etil-2-metil	1034		0,23 ± 4,2E-02		0,61 ± 9,5E-02			
23	Alcohol bencílico	1036				1,2 ± 1,0E-01			
24	Fenil acetaldehído	1047	0,3 ± 1,1E-01	0,27 ± 3,2E-02	0,15 ± 6,2E-02	3,04 ± 3,4E-02	0,4 ± 1,2E-01		
25	2-Octenal	1070	0,22 ± 7,1E-02	0,3 ± 1,5E-01		0,7 ± 1,7E-01			
26	Óxido de linalol	1074				0,30 ± 2,6E-02			
27	Benzoato de metilo	1100				0,35 ± 7,3E-02		0,13 ± 5,6E-02	
28	Nonanal	1106	3,3 ± 3,7E-01	5 ± 1,7E+00		1,9 ± 3,0E-01	0,25 ± 3,6E-02	0,56 ± 8,5E-02	0,13
29	Bencil nitrilo	1141				1,2 ± 1,0E-01		0,8 ± 1,7E-01	
30	Acetato de bencilo	1165	1,8 ± 3,9E-01	4 ± 1,1E+00	0,35 ± 2,2E-02	13,41 ± 1,9E-02	8,8 ± 1,3E-01	9,1 ± 2,8E-01	0,46
31	Salicilato de metilo	1198	0,63 ± 4,1E-02	2,2 ± 8,4E-01	0,32 ± 3,3E-02	9,0 ± 4,8E-02	0,37 ± 6,7E-02	2,6 ± 5,9E-01	0,55
32	N.I.	1205		0,68 ± 4,3E-02		0,6 ± 1,2E-01		1,1 ± 2,8E-01	
33	Acetato de octilo	1209		0,23 ± 5,4E-02					
34	<i>trans</i> -2-Decenal	1263	0,76 ± 9,6E-02	0,49 ± 4,1E-02		0,795 ± 7,4E-03			
35	N.I.	1293		0,35 ± 8,1E-02					
36	<i>trans</i> -2- <i>cis</i> -4-Decadienal	1295	0,19 ± 4,7E-02	0,42 ± 1,9E-02		0,52 ± 2,9E-02			
37	Isobutanoato de bencilo	1300		0,21 ± 8,2E-02					
38	Acetato de nonanilo	1308		0,097 ± 5,2E-03					
39	<i>trans</i> -2- <i>trans</i> -4-Decadienal	1320	0,5 ± 1,2E-01	0,96 ± 2,4E-02		1,02 ± 8,7E-02		0,7 ± 1,4E-01	
40	N.I.	1342				0,24 ± 7,3E-02		0,38 ± 3,3E-02	
41	Butanoato de bencilo	1349		0,18 ± 8,5E-02		0,81 ± 6,9E-02			
42	Eugenol	1356	0,50 ± 4,3E-02	1,2 ± 2,5E-01	0,4 ± 1,3E-01	2,6 ± 2,0E-01	20 ± 1,3E+00	6 ± 1,1E+00	2,8

Tabla 1-1 Continuación.

43	Benzoato de butilo	1377			0,41 ± 5,4E-02							
44	Isovalerato de bencilo	1397	0,6 ± 1,0E-01		0,95 ± 6,2E-02			0,51 ± 5,9E-02				
45	Ácido cinámico	1424				2,4 ± 7,8E-01				0,22 ± 3,8E-02		0,61
46	<i>trans</i> -β-Cariofileno	1433	1,5 ± 5,3E-01		3,1 ± 6,0E-01	0,7 ± 2,8E-01				0,34 ± 2,7E-02		0,59
47	Benzoato de isoamilo	1446	1,3 ± 4,7E-01		2,0 ± 5,1E-01			1,31 ± 3,3E-02		0,64 ± 2,3E-02		
48	Acetato de cinamilo	1448	0,3 ± 3,0E-01		0,9 ± 2,5E-01			3,0 ± 2,8E-01	2,0 ± 2,6E-01	0,55 ± 8,0E-02		
49	<i>trans</i> -Isoeugenol	1455										1,38
50	α-Humuleno	1469	0,2 ± 1,4E-01		0,4 ± 1,7E-01				0,26 ± 3,5E-02	0,5 ± 1,0E-01		
51	γ-Muroloeno	1486			0,3 ± 1,4E-01					1,4 ± 4,7E-01		
52	Biciclosesquifelandreno	1494	10 ± 1,4E+00		7 ± 1,2E+00				0,13 ± 2,4E-02	0,7 ± 1,8E-01		0,25
53	Hidrocarburo C <sub>15</sub>	1499	1,5 ± 1,1E-01		1,2 ± 3,6E-01							
54	Tiglato de bencilo	1501			0,49 ± 6,6E-02							
55	α-Farneseno	1505	0,8 ± 2,2E-01		1,2 ± 2,8E-01					0,9 ± 2,7E-01		
56	Biciclogermacreno	1507	0,5 ± 1,6E-01		0,4 ± 1,5E-01				0,27 ± 5,3E-02			
57	γ-Cadineno	1520								1,5 ± 3,2E-01		
58	δ-Cadineno	1527	0,19 ± 1,1E-02		0,112 ± 6,0E-03				0,64 ± 8,9E-02	2,9 ± 6,2E-01		
59	Salicilato de isopentilo	1550			0,7 ± 1,3E-01							
60	N.I.	1554	0,3 ± 1,5E-01		0,6 ± 2,0E-01							
61	Benzoato de <i>cis</i> -hex-3-en-ilo	1577	0,4 ± 2,1E-01		0,58 ± 9,9E-02							
62	Metoxieugenol	1585				0,60 ± 5,8E-02						2,43
63	Óxido de carifileno	1599	0,4 ± 2,4E-01		0,4 ± 2,9E-01			7,3 ± 8,7E-01	0,61 ± 5,4E-02			
64	N.I.	1609	0,33 ± 5,0E-02		0,34 ± 4,5E-02							
65	N.I.	1620	0,32 ± 7,2E-02		0,27 ± 1,9E-02							
66	Salicilato de <i>cis</i> -hex-3-en-1-ilo	1676	0,22 ± 6,4E-02		0,3 ± 1,4E-01							
67	N.I.	1697				0,5 ± 1,6E-01						
68	Hidrocarburo, C <sub>17</sub>	1700	0,915 ± 8,8E-03		0,6 ± 4,1E-01							
69	Pentadecanal	1715	0,4 ± 1,1E-01		0,5 ± 1,5E-01							
70	2-metoxi-4-(3-hidroxihexil)-fenol*	1765			0,3 ± 2,0E-01	4 ± 1,2E+00						13,2
71	Benzoato de bencilo	1780	2,2 ± 6,0E-01		5 ± 1,5E+00	3 ± 1,0E+00	9,36 ± 2,2E-02					3,3
72	Hexadecanal	1818	3,87 ± 8,3E-02		2 ± 1,3E+00					1,5 ± 2,5E-01		
73	Salicilato de bencilo	1886	8 ± 1,2E+00		9,85 ± 3,6E-02	9 ± 2,0E+00	5,3 ± 3,9E-01			1,4 ± 1,4E-01		7,4
74	Hidrocarburo, C <sub>19</sub>	1898	0,97 ± 6,7E-02									
75	Octadecanal	2022	1,4 ± 1,2E-01		0,4 ± 3,0E-01							
76	Geranil linalool	2026	3,0 ± 3,3E-01		1,03 ± 1,5E-02	0,24 ± 3,5E-02						
77	Hidrocarburo, C <sub>21</sub>	2098	1,2 ± 2,4E-01		0,93 ± 4,5E-02							0,43
78	N.I.	2132	0,24 ± 8,1E-02			2,1 ± 8,2E-01						4,83
79	Hidrocarburo, C <sub>22</sub>	2197	0,7 ± 1,8E-01		0,3 ± 1,2E-01							0,68
80	9-Tricoseno	2271	2,4 ± 5,3E-01		0,6 ± 1,3E-01	0,34 ± 1,7E-02						0,77
81	Hidrocarburo, C <sub>23</sub>	2299	14 ± 2,1E+00		8 ± 1,8E+00	7,4 ± 8,3E-01	2,2 ± 1,7E-01					5,94
82	Hidrocarburo, C <sub>24</sub>	2399	1,3 ± 3,0E-01		0,6 ± 1,6E-01	0,55 ± 7,7E-02						0,49
83	1-Pentacoseno*	2474	13,4 ± 9,8E-01		8 ± 1,6E+00	25,8 ± 5,1E-01	0,80 ± 2E-01					26,19
84	Hidrocarburo, C <sub>25</sub>	2500	10 ± 1,8E+00		6 ± 1,8E+00	23 ± 1,5E+00						4,51
85	Hidrocarburo, >C <sub>25</sub>	2730	0,9 ± 1,8E-01		0,38 ± 3,4E-02	6 ± 1,8E+00						13,09

**Tabla 1-1** Continuación.

86	Hidrocarburo, >C <sub>25</sub>	2794	2,0 ± 5,9E-01	1,0 ± 3,6E-01	1,3
87	Hidrocarburo, >C <sub>25</sub>	2970			0,46
88	Hidrocarburo, >C <sub>25</sub>	3183			7,4

\* Identificación tentativa

**Nota:** El corredor de error para los valores promedios determinados fue calculado para un intervalo de confianza del 95 %, según la regla de Student ( $\mu = \text{promedio} \pm t*s/\sqrt{n}$ ). T = 2,92; n = 2; s : desviación estándar

## Anexo 2. Tablas del análisis de estadístico

**Tabla 2-1.** Matriz de las técnicas versus los tipos de compuestos para el análisis estadístico.

TÉCNICA	OTROS	OH	AL	S	ES	H
SPME <i>in vivo</i>	1,90	20,71	0,63	1,90	70,90	0,00
SPME <i>in vitro</i>	4,3	0,8	0,5	14,7	79,7	0,0
SDE	2,25	8,73	14,81	5,50	63,11	4,88
SFE	5,31	5,23	0,15	0,97	12,80	75,23
MWHD	1,67	4,88	10,65	13,31	17,43	49,24
P-MWHD	4,36	1,94	11,86	13,09	42,07	26,26
ABSOLUTO	0,8	19,81	0,13	0,84	11,85	66,09

OH: Alcoholes, AL: Aldehídos, S: Sesquiterpenos, ES: Ésteres, H: Hidrocarburos, OTROS: Compuestos nitrogenados y no identificados.

**Tabla 2-2.** Matriz de las técnicas los compuestos para el análisis estadístico

Compuesto	MWHD	P-MWHD	SFE	SDE	SPME <i>in vivo</i>	SPME <i>in vitro</i>	ABSOLUTO
<i>trans</i> -2-Pentenol	0,00	0,00	0,00	0,70	0,00	0,00	0,00
<i>cis</i> -2-Pentenol	0,00	0,00	0,00	1,26	0,00	0,00	0,00
Isoveraldehído	0,00	0,00	0,00	0,50	0,00	0,00	0,00
Hexanal	0,00	0,95	0,00	3,66	0,00	0,00	0,00
Acetato de butilo	0,00	0,00	0,00	0,31	0,00	0,00	0,00
<i>cis</i> -3-Metil-butil aldoxima	0,25	0,19	0,13	0,37	0,95	0,20	0,11
<i>trans</i> -2-Hexenal	0,00	0,00	0,00	0,44	0,00	0,00	0,00
<i>cis</i> -3-Hexenal	1,10	0,49	0,00	2,44	0,00	0,00	0,00
<i>trans</i> -3-Metil-butil aldoxima	0,22	0,00	0,00	0,00	0,95	0,23	0,08
Hexanol	0,27	0,00	0,00	0,52	0,71	0,00	0,00
Acetato de isopentilo	0,00	0,38	0,00	3,07	0,00	0,00	0,00
Acetato de 2-metil butilo	0,00	0,00	0,00	0,16	0,00	2,01	0,00
2-Metil-nitrobutano	0,00	0,15	0,00	0,00	0,00	6,52	0,00
Acetato de <i>cis</i> -pen-2-en-1-ilo	0,00	0,22	0,00	1,17	0,00	0,39	0,00
Acetato de pentilo	0,00	0,00	0,00	0,24	0,00	1,39	0,00
Acetato de <i>cis</i> -pen-3-en-1-ilo	0,00	0,00	0,00	1,27	0,00	0,00	0,00
Benzaldehído	0,00	0,39	0,00	1,35	0,00	0,00	0,00
N.I.	0,00	0,00	0,00	0,49	0,00	1,38	0,00
Acetato de <i>cis</i> -hex-3-en-1-ilo	1,80	12,00	0,11	10,12	59,65	50,20	0,14
Acetato de hexilo	0,00	1,37	0,00	3,01	0,00	4,00	0,00
2,4-Heptadienal	0,00	0,21	0,00	0,90	0,00	0,00	0,00
1,3-Hexadieno, 3-etil-2-metil	0,00	0,23	0,00	0,61	0,00	0,00	0,00
Alcohol bencílico	0,00	0,00	0,00	1,18	0,00	0,00	0,00
Fenil acetaldehído	0,26	0,27	0,15	3,04	0,39	0,00	0,00
2-Octenal	0,22	0,33	0,00	0,70	0,00	0,00	0,00
Óxido de linalol	0,00	0,00	0,00	0,30	0,00	0,00	0,00

**Tabla 2-2.** Continuación.

Benzoato de metilo	0,00	0,00	0,00	0,35	0,00	0,13	0,00
Nonanal	3,26	5,06	0,00	1,88	0,25	0,56	0,13
Bencil nitrilo	0,00	0,00	0,00	1,22	0,00	0,83	0,00
Acetato de bencilo	1,82	4,00	0,35	13,41	8,85	9,15	0,46
Salicilato de metilo	0,63	2,16	0,32	9,00	0,37	2,56	0,55
N.I.	0,00	0,68	0,00	0,56		1,12	0,00
Acetato de octilo	0,00	0,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>trans</i> - 2-Decenal	0,76	0,49	0,00	0,79	0,00	0,00	0,00
N.I.	0,00	0,35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>trans</i> -2- <i>cis</i> -4-Decadienal	0,19	0,42	0,00	0,52	0,00	0,00	0,00
Isobutanoato de bencilo	0,00	0,21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Acetato de nonanilo	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>trans</i> -2- <i>trans</i> -4-Decadienal	0,53	0,96	0,00	1,02	0,00	0,65	0,00
N.I.	0,00	0,00	0,00	0,24	0,00	0,38	0,00
Butanoato de bencilo	0,00	0,18	0,00	0,81	0,00	0,00	0,00
Eugenol	0,50	1,20	0,44	2,63	20,00	5,84	2,80
Benzoato de butilo	0,00	0,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Isovalerato de bencilo	0,64	0,95	0,00	0,51	0,00	0,00	0,00
Ácido cinámico	0,00	0,00	2,44	0,00	0,00	0,22	0,61
<i>trans</i> - $\beta$ -Cariofileno	1,52	3,06	0,73	0,00	0,00	0,34	0,59
Benzoato de isoamilo	1,29	2,00	0,00	1,31	0,00	0,64	0,00
Acetato de cinamilo	0,34	0,88	0,00	2,97	2,04	0,55	0,00
<i>trans</i> - Isoeugenol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,38
$\alpha$ -Humuleno	0,21	0,39	0,00	0,00	0,26	0,45	0,00
$\gamma$ -Muroleno	0,00	0,30	0,00	0,00	0,00	1,40	0,00
Biciclosesquifelandreno	9,68	7,30	0,00	0,00	0,13	0,66	0,25
Hidrocarburo C <sub>15</sub>	1,46	1,22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Tiglato de bencilo	0,00	0,49	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
$\alpha$ -Farneseno	0,81	1,16	0,00	0,00	0,00	0,89	0,00
Biciclogermacreno	0,49	0,41	0,00	0,00	0,27	0,00	0,00
$\gamma$ -Cadineno	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,48	0,00
$\delta$ -Cadineno	0,19	0,11	0,00	0,00	0,64	2,87	0,00
Salicilato de isopentilo	0,00	0,68	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
N.I.	0,32	0,63	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Benzoato de <i>cis</i> -hex-3-en-ilo	0,44	0,58	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Metoxieugenol	0,00	0,00	0,60	0,00	0,00	0,00	2,43
Óxido de carifileno	0,40	0,38	0,00	7,28	0,61	0,00	0,00
N.I.	0,33	0,34	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
N.I.	0,32	0,27	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Salicilato de <i>cis</i> -hex-3-en-1-ilo	0,22	0,28	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
N.I.	0,00	0,00	0,55	0,00	0,00	0,00	0,00
Hidrocarburo, C <sub>17</sub>	0,91	0,56	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Pentadecanal	0,40	0,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-metoxi-4-(3-hidroxihexil)-fenol*	0,00	0,29	3,95	0,00	0,00	0,00	13,20
Benzoato de bencilo	2,24	5,35	2,81	9,36	0,00	0,00	3,30
Hexadecanal	3,87	2,32	0,00	0,00	0,00	1,45	0,00
Salicilato de bencilo	8,01	9,85	9,21	5,34	0,00	1,35	7,40
Hidrocarburo, C <sub>19</sub>	0,97	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Octadecanal	1,38	0,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Geranil linalool	3,01	1,03	0,24	0,00	0,00	0,00	0,00

**Tabla 2-2.** Continuación.

Hidrocarburo, C <sub>21</sub>	1,16	0,93	0,00	0,00	0,00	0,00	0,43
N.I.	0,24	0,00	2,12	0,00	0,00	0,00	4,83
Hidrocarburo, C <sub>22</sub>	0,68	0,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,68
9-Tricoseno	2,41	0,62	0,34	0,00	0,00	0,00	0,77
Hidrocarburo, C <sub>23</sub>	13,83	7,70	7,44	2,19	0,00	0,00	5,94
Hidrocarburo, C <sub>24</sub>	1,26	0,55	0,55	0,00	0,00	0,00	0,49
1-Pentacoseno*	13,45	7,98	25,79	0,80	0,00	0,00	26,19
Hidrocarburo, C <sub>25</sub>	10,13	6,00	22,66	0,00	0,00	0,00	4,51
Hidrocarburo, >C <sub>25</sub>	0,95	0,38	5,90	0,00	0,00	0,00	13,09
Hidrocarburo, >C <sub>25</sub>	2,02	0,96	0,00	0,00	0,00	0,00	1,30
Hidrocarburo, >C <sub>25</sub>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,46
Hidrocarburo, >C <sub>25</sub>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,40

**Tabla 2-3** Coordenadas de los factores de las variables por correlaciones de los tipos de compuestos

CLASES	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Factor 5
<b>OH</b>	0,614789	0,656798	0,330507	0,285291	-0,005056
<b>AL</b>	-0,549948	-0,409742	0,726573	-0,041734	-0,004318
<b>S</b>	-0,813712	-0,419540	-0,232042	0,328631	-0,004085
<b>ES</b>	-0,720309	0,677040	-0,099562	-0,111536	-0,020485
<b>H</b>	0,781681	-0,617690	-0,082060	-0,014424	-0,022190
<b>*OTROS</b>	-0,269109	-0,292243	-0,550337	-0,637634	0,206596

**OH:** Alcoholes, **AL:** Aldehídos, **S:** Sesquiterpenos, **ES:** Ésteres, **H:** Hidrocarburos, **OTROS:** Compuestos nitrogenados y no identificados.

**Tabla 2-4** Contribución de las variables a los factores por correlaciones de los tipos de compuestos

CLASES	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Factor 5
<b>OH</b>	0,152873	0,267076	0,154366	0,399407	0,026277
<b>AL</b>	0,122327	0,103942	0,74602	0,008547	0,019163
<b>S</b>	0,267807	0,108973	0,07609	0,529976	0,017154
<b>ES</b>	0,209854	0,283791	0,014008	0,061048	0,431298
<b>H</b>	0,247138	0,236218	0,009516	0,001021	0,506108

**OH:** Alcoholes, **AL:** Aldehídos, **S:** Sesquiterpenos, **ES:** Ésteres, **H:** Hidrocarburos, **OTROS:** Compuestos nitrogenados y no identificados.

**Tabla 2-5** Contribución de las variables a los factores, por correlaciones de todos los compuestos.

Compuesto	Factor 1.	Factor 2.	Factor 3.	Factor 4.	Factor 5.	Factor 6.
<i>trans</i> -2-Pentenol	0,022892	0,008783	0,007060	0,000369	0,001137	0,000004
<i>cis</i> -2-Pentenol	0,022892	0,008783	0,007060	0,000369	0,001137	0,000004
Isoveraldehído	0,022892	0,008783	0,007060	0,000369	0,001137	0,000004
Hexanal	0,018029	0,015864	0,004973	0,000883	0,000049	0,000046
Acetato de butilo	0,022892	0,008783	0,007060	0,000369	0,001137	0,000004
<i>cis</i> -3-Metil-butil aldoxima	0,002725	0,000599	0,002854	0,047892	0,062915	0,007965
<i>trans</i> -2-Hexenal	0,022892	0,008783	0,007060	0,000369	0,001137	0,000004
<i>cis</i> -3-Hexenal	0,008451	0,004551	0,000600	0,051331	0,030468	0,000008
<i>trans</i> -3-Metil-butil aldoxima	0,000021	0,005505	0,008416	0,049751	0,038777	0,014791
Hexanol	0,007394	0,000662	0,000272	0,066146	0,027856	0,006615
Acetato de isopentilo	0,020877	0,012073	0,006133	0,000015	0,000214	0,000018
Acetato de 2-metil butilo	0,002771	0,002046	0,042170	0,003930	0,032811	0,000037
2-Metil-nitrobutano	0,001485	0,002460	0,044952	0,004657	0,030126	0,000041
Acetato de <i>cis</i> -pen-2-en-1-ilo	0,024026	0,010332	0,000018	0,001473	0,004102	0,000057
Acetato de pentilo	0,004504	0,001337	0,039294	0,003736	0,034233	0,000040
Acetato de <i>cis</i> -pen-3-en-1-ilo	0,022892	0,008783	0,007060	0,000369	0,001137	0,000004
Benzaldehído	0,017402	0,016612	0,004733	0,001212	0,000128	0,000053
N.I.	0,008728	0,000357	0,032196	0,003197	0,035293	0,000043
Acetato de <i>cis</i> -hex-3-en-1-ilo	0,003030	0,003725	0,041001	0,008692	0,017586	0,007889
Acetato de hexilo	0,013668	0,002839	0,022195	0,010392	0,017886	0,000152
2,4-Heptadienal	0,018724	0,015003	0,005245	0,000569	0,000004	0,000039
1,3-Hexadieno, 3-etil-2-metil	0,015438	0,018795	0,004008	0,002495	0,000584	0,000076
Alcohol bencílico	0,022892	0,008783	0,007060	0,000369	0,001137	0,000004
Fenil acetaldehído	0,021319	0,010546	0,006826	0,002012	0,000002	0,000041
2-Octenal	0,007811	0,028545	0,004291	0,000010	0,000240	0,000092
Oxido de linalol	0,022892	0,008783	0,007060	0,000369	0,001137	0,000004
Benzoato de metilo	0,027203	0,005560	0,000071	0,000013	0,009371	0,000016
Nonanal	0,004904	0,033292	0,000939	0,001225	0,000564	0,000878
Bencil nitrilo	0,025774	0,002724	0,002834	0,000472	0,019211	0,000028
Acetato de bencilo	0,024186	0,002951	0,010060	0,004467	0,002378	0,004833
Salicilato de metilo	0,022499	0,012222	0,000541	0,001076	0,003040	0,000265
N.I.	0,004639	0,003907	0,035230	0,024427	0,008496	0,000286
Acetato de octilo	0,004972	0,014264	0,002980	0,035056	0,024457	0,000344
<i>trans</i> -2-decenal	0,000198	0,033392	0,003286	0,008894	0,006637	0,000071
N.I.	0,004972	0,014264	0,002980	0,035056	0,024457	0,000344
<i>trans</i> -2- <i>cis</i> -4-Decadienal	0,002647	0,035327	0,001741	0,001970	0,000700	0,000195
Isobutanoato de bencilo	0,004972	0,014264	0,002980	0,035056	0,024457	0,000344
Acetato de nonanilo	0,004972	0,014264	0,002980	0,035056	0,024457	0,000344
<i>trans</i> -2- <i>trans</i> -4-Decadienal	0,002770	0,030516	0,005758	0,004648	0,005769	0,000335
N.I.	0,015058	0,000023	0,021430	0,002291	0,033225	0,000043
Butanoato de bencilo	0,018746	0,014974	0,005254	0,000560	0,000004	0,000038
Eugenol	0,001851	0,006325	0,008587	0,024782	0,054763	0,018476
Benzoato de butilo	0,004972	0,014264	0,002980	0,035056	0,024457	0,000344
Isovalerato de bencilo	0,002320	0,037276	0,000027	0,000501	0,000372	0,000254

**Tabla 2-5. Continuación.**

Acido cinámico	0,000441	0,010382	0,008994	0,009350	0,000219	0,118014
<i>trans</i> -β-Cariofileno	0,016991	0,014048	0,000576	0,015951	0,001970	0,000565
Benzoato de isoamilo	0,000347	0,037468	0,002422	0,002105	0,001079	0,000347
Acetato de cinamilo	0,019486	0,006698	0,000019	0,010891	0,022038	0,004824
<i>trans</i> -isoeugenol	0,000771	0,007594	0,017397	0,014712	0,004375	0,087663
α-Humuleno	0,002306	0,001441	0,060539	0,000105	0,000821	0,004069
γ-Muroleno	0,000637	0,000725	0,050426	0,011054	0,020994	0,000100
Biciclosesquifelandreno	0,016869	0,017332	0,000722	0,005048	0,003429	0,000328
Hidrocarburo C <sub>15</sub>	0,016647	0,019012	0,000379	0,003315	0,001259	0,000112
Tiglato de bencilo	0,004972	0,014264	0,002980	0,035056	0,024457	0,000344
α-Farneseno	0,008013	0,010971	0,028268	0,004199	0,007285	0,000312
Biciclogermacreno	0,014890	0,011919	0,001904	0,021230	0,008068	0,002713
γ-Cadineno	0,001605	0,002728	0,044082	0,004043	0,031194	0,000035
δ-Cadineno	0,001324	0,003567	0,052710	0,000234	0,015547	0,000743
Salicilato de isopentilo	0,004972	0,014264	0,002980	0,035056	0,024457	0,000344
N.I.	0,012928	0,021247	0,001709	0,004843	0,004283	0,000268
Benzoato de <i>cis</i> -3-hexilo	0,015385	0,021377	0,001045	0,000153	0,000413	0,000200
Metoxieugenol	0,001047	0,011286	0,023390	0,018798	0,003883	0,038885
Óxido de carfileno	0,021939	0,010161	0,006439	0,001477	0,000153	0,000111
N.I.	0,016322	0,020438	0,000659	0,000630	0,000090	0,000152
N.I.	0,016638	0,019156	0,000400	0,003003	0,001106	0,000115
Salicilato de <i>cis</i> -hex-3-en-1-ilo	0,015376	0,021382	0,001048	0,000161	0,000423	0,000200
N.I.	0,000295	0,005292	0,006179	0,003377	0,000332	0,167501
Hidrocarburo, C <sub>17</sub>	0,016279	0,016189	0,000103	0,010438	0,005105	0,000061
Pentadecanal	0,015817	0,021105	0,000888	0,000005	0,000077	0,000181
2-metoxi-4-(3-hidroxiheptil)-fenol*	0,001212	0,011510	0,024246	0,020811	0,003337	0,030896
Benzoato de bencilo	0,006304	0,018267	0,019300	0,010336	0,000017	0,000050
Hexadecanal	0,013543	0,012291	0,007152	0,007385	0,019451	0,000098
Salicilato de bencilo	0,008784	0,006276	0,021885	0,020230	0,003373	0,018861
Hidrocarburo, C <sub>19</sub>	0,008991	0,004137	0,000511	0,051064	0,030171	0,000009
Octadecanal	0,013456	0,009916	0,000047	0,029849	0,016684	0,000006
Geranil linalool	0,014874	0,010143	0,000107	0,025382	0,014469	0,000889
Hidrocarburo, C <sub>21</sub>	0,020256	0,012663	0,000596	0,000702	0,004056	0,011533
N.I.	0,001570	0,013100	0,027407	0,017888	0,004368	0,013107
Hidrocarburo, C <sub>22</sub>	0,014893	0,000501	0,011039	0,000334	0,018945	0,058361
9-Tricoseno	0,017240	0,003615	0,004270	0,019224	0,025891	0,001661
Hidrocarburo, C <sub>23</sub>	0,018925	0,005232	0,011980	0,001876	0,013407	0,008012
Hidrocarburo, C <sub>24</sub>	0,022166	0,002799	0,007563	0,005474	0,016136	0,003668
1-Pentacoseno*	0,008824	0,005430	0,031080	0,010278	0,005984	0,007658
Hidrocarburo, C <sub>25</sub>	0,007632	0,000960	0,010989	0,001030	0,001059	0,130793
Hidrocarburo, >C <sub>25</sub>	0,001958	0,012380	0,027760	0,018488	0,004309	0,012408
Hidrocarburo, >C <sub>25</sub>	0,018335	0,003626	0,005701	0,003035	0,017357	0,032999
Hidrocarburo, >C <sub>25</sub>	0,000771	0,007594	0,017397	0,014712	0,004375	0,087663
Hidrocarburo, >C <sub>25</sub>	0,000771	0,007594	0,017397	0,014712	0,004375	0,087663

**Tabla 2-6** Coordenadas de los factores de las variables, por correlaciones de todos los compuestos.

Compuesto	Factor 1.	Factor 2.	Factor 3.	Factor 4.	Factor 5.	Factor 6.
<i>trans</i> -2-Pentenol	0,818316	0,466578	-0,318935	-0,054917	-0,088955	0,003994
<i>cis</i> -2-Pentenol	0,818316	0,466578	-0,318935	-0,054917	-0,088955	0,003994
Isoveraldehído	0,818316	0,466578	-0,318935	-0,054917	-0,088955	0,003994
Hexanal	0,726213	0,627070	-0,267670	0,084902	0,018412	0,014274
Acetato de butilo	0,818316	0,466578	-0,318935	-0,054917	-0,088955	0,003994
<i>cis</i> -3-Metil-butil aldoxima	0,282335	-0,121833	0,202792	-0,625395	0,661779	0,187748
<i>trans</i> -2-Hexenal	0,818316	0,466578	-0,318935	-0,054917	-0,088955	0,003994
<i>cis</i> -3-Hexenol	-0,497198	0,335883	-0,092963	-0,647462	-0,460535	-0,005947
<i>trans</i> -3-Metil-butil aldoxima	0,024514	-0,369392	0,348213	-0,637419	0,519550	0,255854
Hexanol	0,465072	0,128078	-0,062648	-0,734981	0,440348	0,171102
Acetato de isopentilo	0,781468	0,547042	-0,297253	0,011220	-0,038571	0,008926
Acetato de 2-metil butilo	0,284691	-0,225188	0,779473	0,179152	-0,477915	0,012873
2-Metil-nitrobutano	0,208453	-0,246926	0,804770	0,195025	-0,457937	0,013394
Acetato de <i>cis</i> -pen-2-en-1-ilo	0,838331	0,506073	-0,016114	0,109670	-0,168971	0,015924
Acetato de pentilo	0,362962	-0,182062	0,752417	0,174667	-0,488155	0,013300
Acetato de <i>cis</i> -pen-3-en-1-ilo	0,818316	0,466578	-0,318935	-0,054917	-0,088955	0,003994
Benzaldehído	0,713467	0,641685	-0,261124	0,099486	0,029799	0,015315
N.I.	0,505284	-0,094009	0,681081	0,161583	-0,495661	0,013790
Acetato de <i>cis</i> -hex-3-en-1-ilo	0,297705	-0,303852	0,768585	-0,266436	0,349885	0,186858
Acetato de hexilo	0,632301	0,265280	0,565485	0,291327	-0,352853	0,025931
2,4-Heptadienal	0,740078	0,609812	-0,274890	0,068184	0,005404	0,013075
1,3-Hexadieno, 3-etil-2-metil	0,672011	0,682548	-0,240313	0,142735	0,063786	0,018362
Alcohol bencílico	0,818316	0,466578	-0,318935	-0,054917	-0,088955	0,003994
Fenil acetaldehído	0,789700	0,511273	-0,313601	-0,128199	0,003428	-0,013450
2-Octenal	0,477995	0,841153	-0,248650	-0,008901	-0,040877	0,020147
Oxido de linalol	0,818316	0,466578	-0,318935	-0,054917	-0,088955	0,003994
Benzoato de metilo	0,892039	0,371251	-0,032034	0,010412	-0,255407	0,008424
Nonanal	-0,378742	0,908407	0,116335	0,100018	0,062669	0,062335
Bencil nitrilo	0,868297	0,259867	0,202054	0,062066	-0,365686	0,011208
Acetato de bencilo	0,841129	0,270455	0,380702	-0,190993	0,128661	0,146253
Salicilato de metilo	0,811251	0,550413	-0,088281	0,093758	-0,145462	0,034259
N.I.	0,368366	0,311188	0,712445	0,446637	-0,243192	0,035546
Acetato de octilo	-0,381363	0,594608	0,207222	0,535065	0,412606	0,039046
<i>trans</i> - 2-decenal	0,076180	0,909780	-0,217579	-0,269512	-0,214948	0,017782
N.I.	-0,381363	0,594608	0,207222	0,535065	0,412606	0,039046
<i>trans</i> -2- <i>cis</i> -4-Decadienal	0,278281	0,935760	-0,158394	0,126836	0,069805	0,029399
Isobutanoato de bencilo	-0,381363	0,594608	0,207222	0,535065	0,412606	0,039046
Acetato de nonanilo	-0,381363	0,594608	0,207222	0,535065	0,412606	0,039046
<i>trans</i> -2- <i>trans</i> -4-Decadienal	0,284673	0,869713	0,288033	0,194821	-0,200401	0,038504
N.I.	0,663691	0,024022	0,555663	0,136774	-0,480916	0,013742
Butanoato de bencilo	0,740518	0,609240	-0,275120	0,067639	0,004980	0,013035
Eugenol	0,232683	-0,395950	0,351736	-0,449871	0,617423	0,285953
Benzoato de butilo	-0,381363	0,594608	0,207222	0,535065	0,412606	0,039046
Isovalerato de bencilo	-0,260482	0,961228	-0,019793	0,063938	0,050858	0,033535

**Tabla 2-6.** Continuación.

Ácido cinámico	-0,113552	-0,507297	-0,359980	0,276336	-0,039024	-0,722693
<i>trans</i> -β-Cariofileno	-0,704986	0,590103	0,091069	0,360926	0,117107	-0,049984
Benzoato de isoamilo	-0,100756	0,963700	0,186787	0,131125	-0,086671	0,039175
Acetato de cinamilo	0,754989	0,407459	0,016387	-0,298230	0,391674	0,146119
<i>trans</i> -isoeugenol	-0,150173	-0,433855	-0,500647	0,346624	-0,174514	0,622870
α-Humuleno	-0,259737	0,189008	0,933931	0,029283	0,075612	0,134202
γ-Muroleno	0,136534	-0,134069	0,852366	0,300452	-0,382283	0,021080
Biciclosesquifelandreno	-0,702457	0,655446	0,101983	-0,203043	-0,154489	0,038082
Hidrocarburo C <sub>15</sub>	-0,697818	0,686483	0,073857	-0,164538	-0,093635	0,022268
Tiglato de bencilo	-0,381363	0,594608	0,207222	0,535065	0,412606	0,039046
α-Farneseno	-0,484148	0,521484	0,638178	0,185172	-0,225194	0,037185
Biciclogermacreno	-0,659976	0,543544	0,165640	-0,416391	0,236991	0,109584
γ-Cadineno	0,216677	-0,260035	0,796944	0,181704	-0,465985	0,012425
δ-Cadineno	0,196792	-0,297349	0,871452	0,043729	-0,328977	0,057356
Salicilato de isopentilo	-0,381363	0,594608	0,207222	0,535065	0,412606	0,039046
N.I.	-0,614961	0,725712	0,156896	0,198878	0,172663	0,034412
Benzoato de <i>cis</i> -3-hexilo	-0,670860	0,727930	0,122685	0,035396	0,053629	0,029732
Metoxieugenol	-0,174975	-0,528913	-0,580513	0,391813	-0,164408	0,414838
Óxido de carfileno	0,801098	0,501850	-0,304592	-0,109811	-0,032637	0,022117
N.I.	-0,690972	0,711764	0,097476	-0,071740	-0,025052	0,025971
N.I.	-0,697627	0,689068	0,075945	-0,156598	-0,087751	0,022602
Salicilato de <i>cis</i> -hex-3-en-1-ilo	-0,670653	0,728002	0,122872	0,036229	0,054238	0,029759
N.I.	-0,092885	-0,362164	-0,298362	0,166062	0,048102	-0,860987
Hidrocarburo, C <sub>17</sub>	-0,690061	0,633472	0,038529	-0,291959	-0,188505	0,016463
Pentadecanal	-0,680213	0,723280	0,113142	-0,006261	0,023098	0,028334
2-metoxi-4-(3-hidroxi-hexil)-feno	-0,188308	-0,534130	-0,591037	0,412262	-0,152400	0,369776
Benzoato de bencilo	0,429430	0,672885	-0,527323	0,290535	-0,010783	-0,014816
Hexadecanal	-0,629412	0,551951	0,321001	-0,245590	-0,367970	0,020807
Salicilato de bencilo	-0,506899	0,394426	-0,561526	0,406467	-0,153241	-0,288916
Hidrocarburo, C <sub>19</sub>	-0,512836	0,320226	-0,085846	-0,645772	-0,458284	-0,006205
Octadecanal	-0,627380	0,495777	-0,025919	-0,493727	-0,340786	0,005150
Geranil linalool	-0,659615	0,501424	-0,039345	-0,455284	-0,317358	-0,062725
Hidrocarburo, C <sub>21</sub>	-0,769753	0,560257	-0,092628	-0,075735	-0,168034	0,225923
N.I.	-0,214313	-0,569830	-0,628383	0,382207	-0,174379	0,240850
Hidrocarburo, C <sub>22</sub>	-0,660042	0,111383	-0,398801	-0,052260	-0,363154	0,508217
9-Tricoseno	-0,710140	0,299356	-0,248021	-0,396224	-0,424533	0,085741
Hidrocarburo, C <sub>23</sub>	-0,744044	0,360131	-0,415448	-0,123764	-0,305500	-0,188307
Hidrocarburo, C <sub>24</sub>	-0,805237	0,263382	-0,330090	-0,211438	-0,335145	-0,127416
1-Pentacoseno*	-0,508056	-0,366885	-0,669170	0,289725	-0,204088	-0,184101
Hidrocarburo, C <sub>25</sub>	-0,472504	-0,154244	-0,397898	0,091723	-0,085840	-0,760818
Hidrocarburo, >C <sub>25</sub>	-0,239314	-0,553964	-0,632426	0,388564	-0,173184	0,234340
Hidrocarburo, >C <sub>25</sub>	-0,732354	0,299778	-0,286600	-0,157447	-0,347594	0,382152
Hidrocarburo, >C <sub>25</sub>	-0,150173	-0,433855	-0,500647	0,346624	-0,174514	0,622870
Hidrocarburo, >C <sub>25</sub>	-0,150173	-0,433855	-0,500647	0,346624	-0,174514	0,622870

**Anexo 3. ESTRUCTURAS DE LOS DIFERENTES COMPUESTOS ENCONTRADOS POR LAS TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN UTILIZADAS**

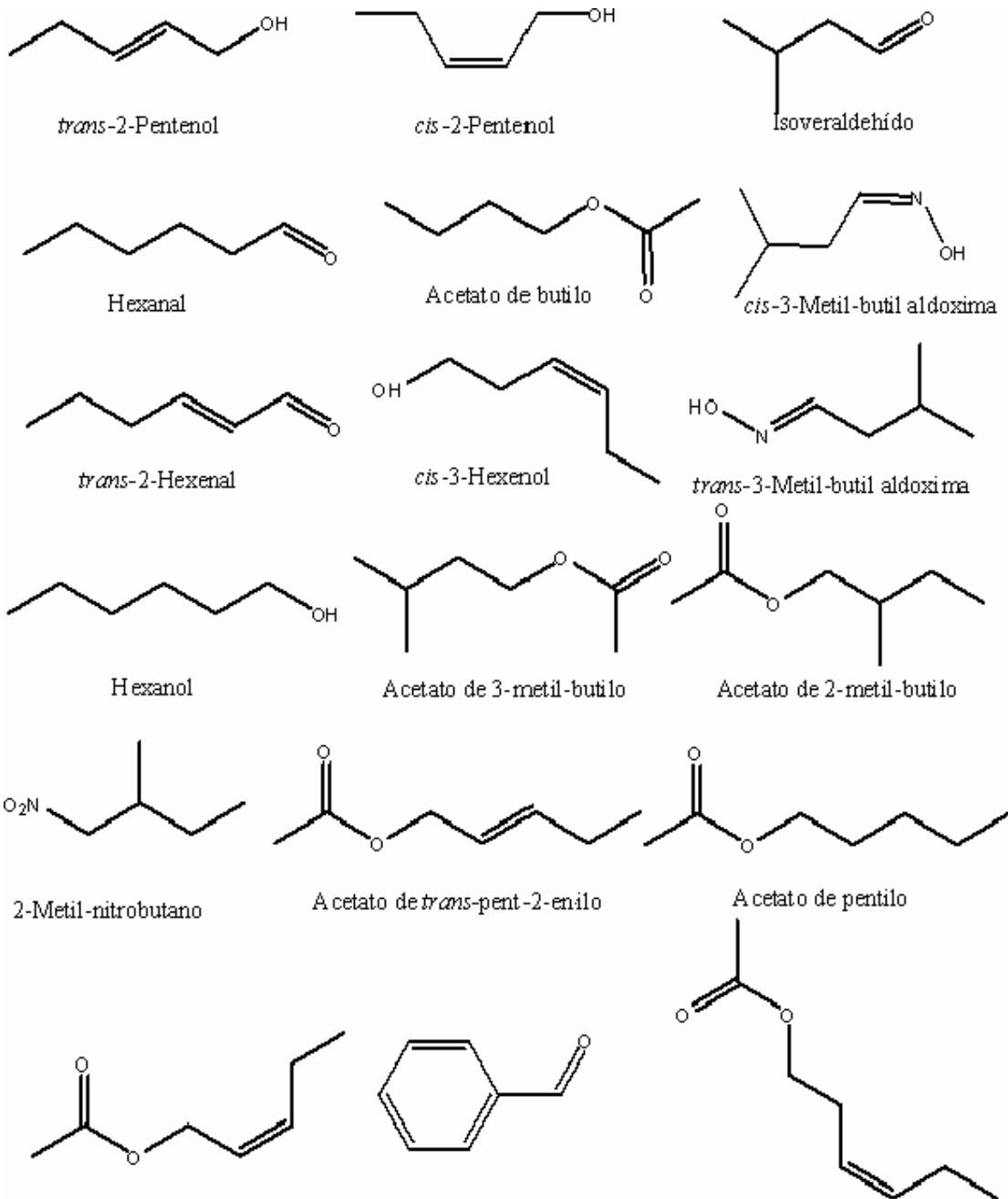


Figura 3-1, Continuación.

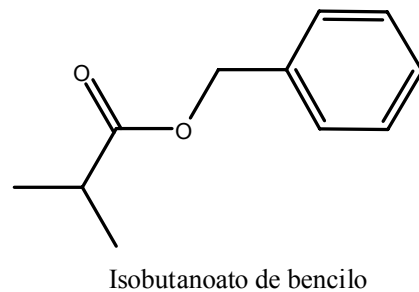
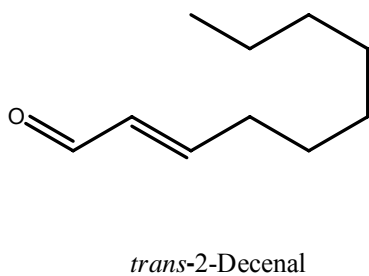
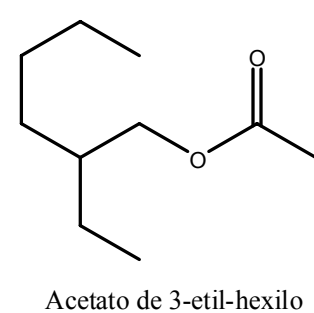
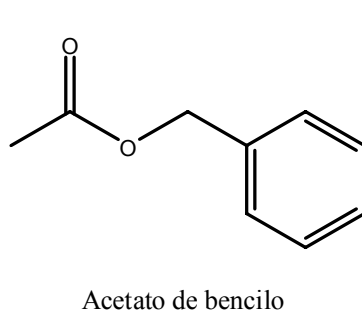
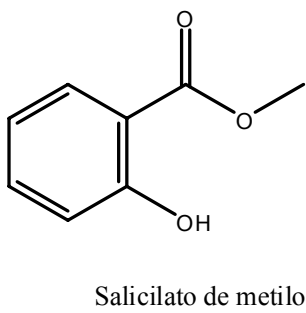
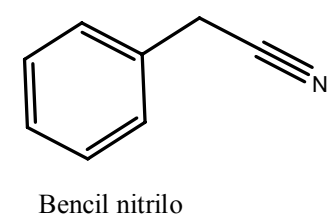
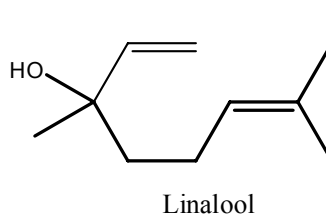
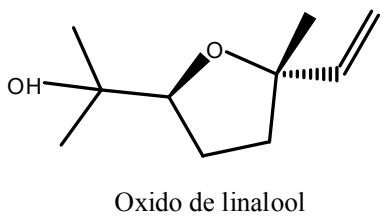
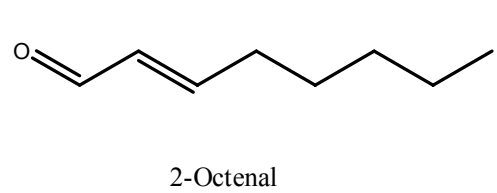
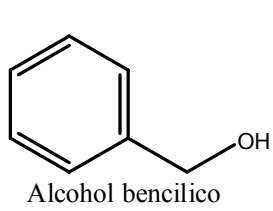
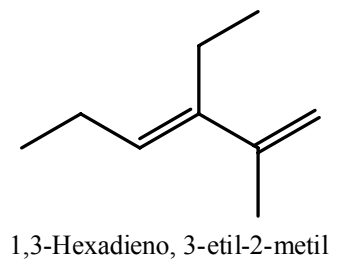
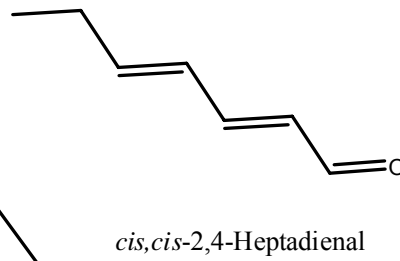
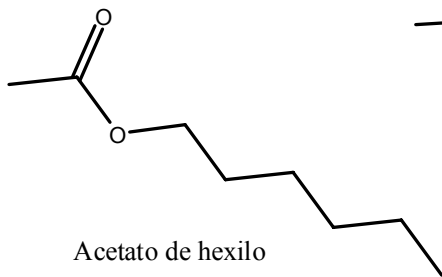
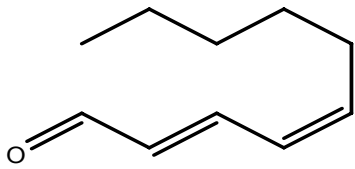
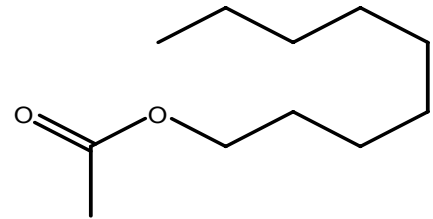


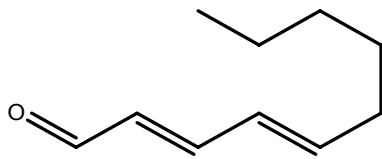
Figura 3-1. Continuación.



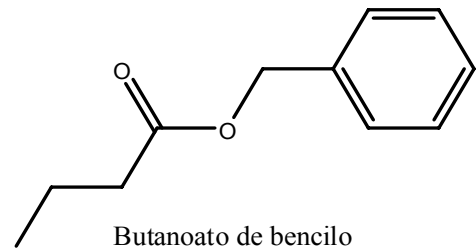
*trans,cis*-2,4-Decadienal



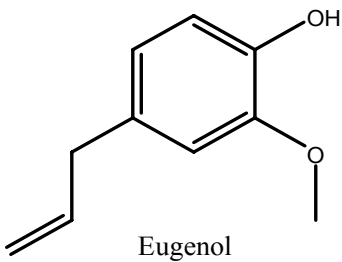
Acetato de nonilo



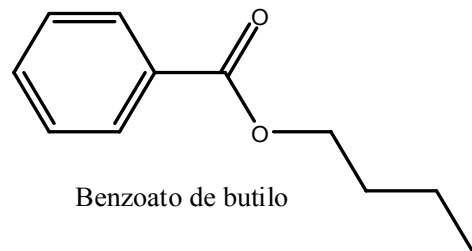
*trans,trans*-2,4-decadienal



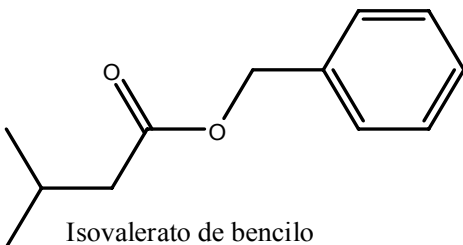
Butanoato de bencilo



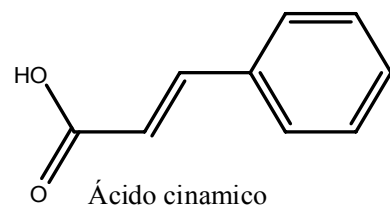
Eugenol



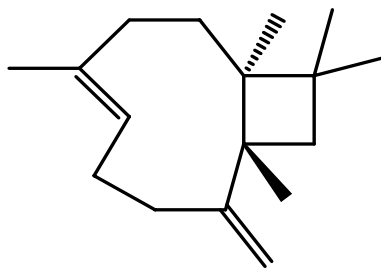
Benzoato de butilo



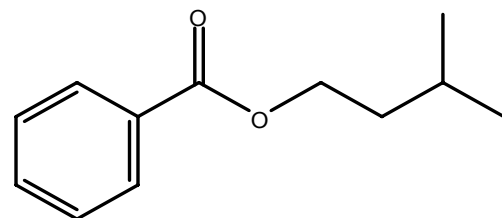
Isovalerato de bencilo



Ácido cinámico

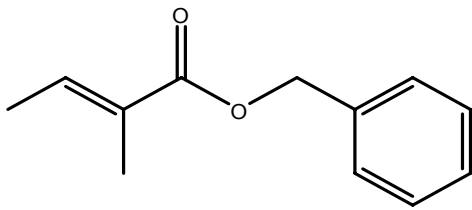


*Trans*-β-Cariofileno

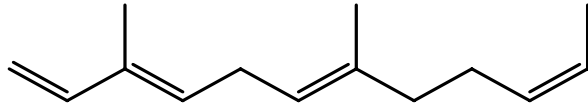


Benzoato de isoamilo

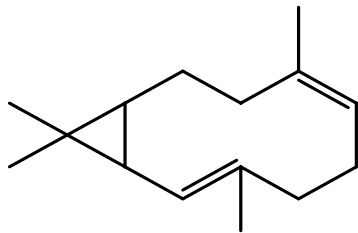
Figura 3-1. Continuación.



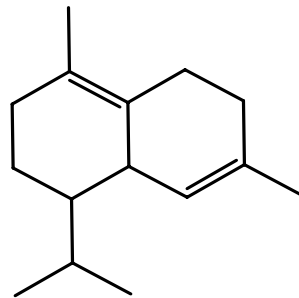
Tiglato de bencilo



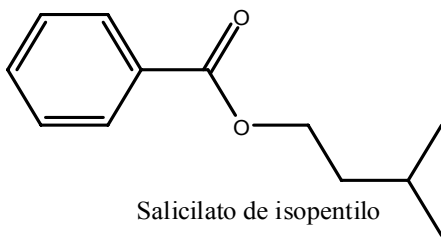
$\alpha$ -Farneseno



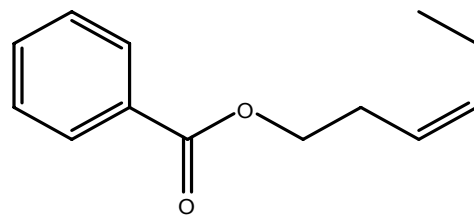
Biclogermacreno



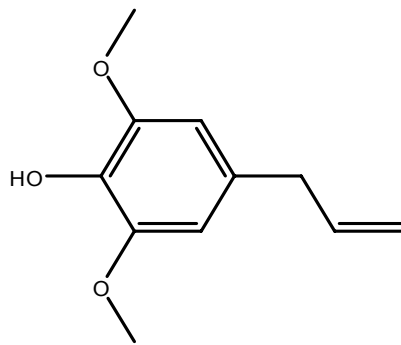
$\delta$ -Cadineno



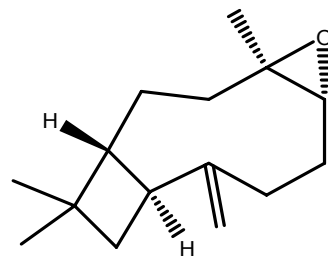
Salicilato de isopentilo



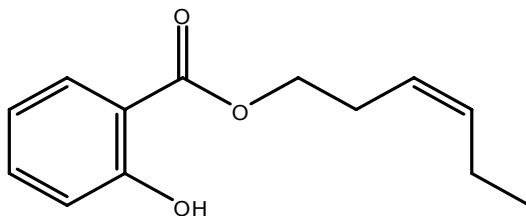
*cis*-Benzoato de hexenilo



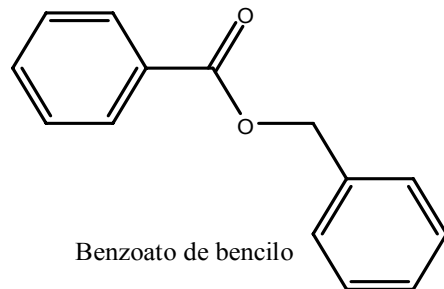
Metoxieugenol



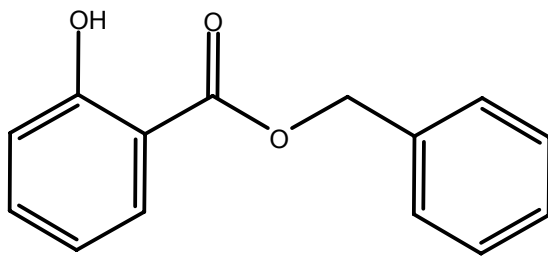
Óxido de cariofileno



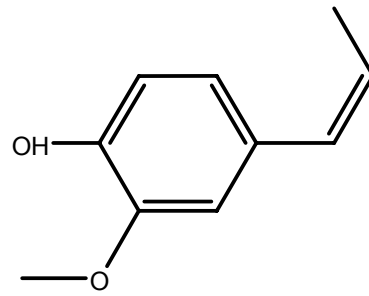
Salicilato de *cis*-hex-3-en-1-ilo



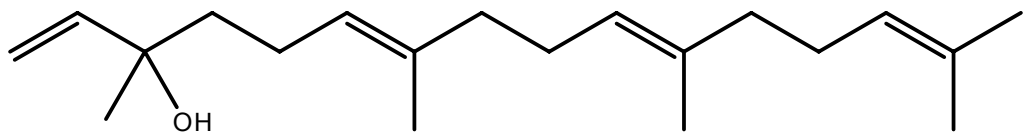
Benzoato de bencilo



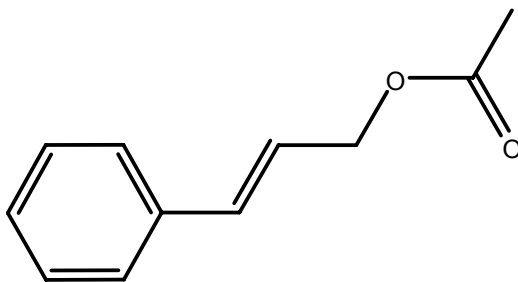
Salicilato de bencilo



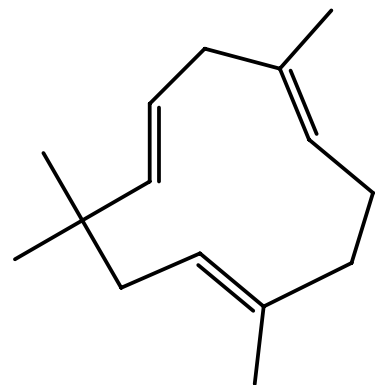
*trans*-Isoeugenol



Geranyl linalool



Acetato de cinamilo



$\alpha$ -Humuleno

**Figura 3-1.** Estructuras de los compuestos obtenidos por los diferentes métodos de extracción