

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, MANAGUA
RECINTO UNIVERSITARIO "RUBÉN DARÍO"
FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍAS
DEPARTAMENTO DE QUIMICA
MONOGRAFIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE
LICENCIADO EN QUIMICA FARMACEUTICA.**



TITULO:

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua, En el período de abril a diciembre, 2013.

Autores:

Tania Vanessa Mayorga Vílchez Br.

Yanoxi Alberto Vargas Pizarro Br.

Tutor:

Msc. Iván Marín Arguello.

Tutor Metodológico:

Msc. Gerardo Mendoza Jiménez.

Managua, Marzo, 2014

Dedicatoria

Primeramente a Dios por habernos permitido dar un paso más hacia la vida y habernos dado salud, ser el manantial de vida y lo necesario para seguir adelante día a día para lograr nuestros objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A nuestros padres por su esfuerzo y sacrificio , sus consejos, sus valores, por la motivación constante que nos ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por brindarnos el amor la comprensión y el apoyo incondicional y la confianza en cada momento de nuestras vidas , sobre todo en nuestros estudios universitarios.

Agradecimientos

A la familia, por permitirnos alcanzar este logro, por su apoyo y motivación siempre, por acompañarnos en las largas jornadas de trabajo, y muy especialmente por confiar en nosotros.

A nuestros queridos compañeros, con quienes compartimos vivencias hermosas en estos años de universidad, a Iris, Rosa, Claudia y Celeste, muchas gracias por su apoyo incondicional, por su compañía y cariño, sin ustedes las veladas de estudio hubiesen sido menos agradables.

A todo el personal de Laboratorio ISNAYA, por su ayuda y apoyo, por su compañía y consejos, especialmente a Lic. Marvin Palma y Lic. Oscar Villavicencio, por las incontables asesorías técnicas, sus consejos y conocimientos.

A la Máster. Rosa Gonzales jefa del departamento de Química por incondicional apoyo, disposición y consejos durante la elaboración de este trabajo.

A Master. Iván Marín, por la orientación y apoyo brindados para superar las dificultades presentadas en el proceso de aprendizaje monográfico.

Opinión del tutor

Entre los conceptos, la teoría y la práctica investigativa existe una marcada diferencia. Los dos primeros elementos son conocimientos prediseñados y transmitidos a lo largo de la vida, el tercer elemento la investigación requiere de destrezas, ingenio y perseverancia. El culminar el presente trabajo monográfico demandó de perseverancia por parte de los autores por la génesis del conocimiento y este se logra solo haciendo.

El análisis instrumental desarrollado a lo largo del presente trabajo exigió por parte de los autores el desarrollo de habilidades y destrezas que solo por medio de un proceso investigativo experimental se pueden lograr. La culminación de esta jornada académica representa un verdadero mérito cualitativo más que un mérito cuantitativo, que pudiese estar representado por la suma de un puntaje.

Al culminar el presente trabajo monográfico los bachilleres autores, desplegaron un sin número de responsabilidades académicas que incluyó desde la búsqueda y caracterización de un químico estándar hasta el dominio de protocolos para el análisis instrumental, claro está que también pasando por los requerimientos académicos de un muestreo y el procesamiento químico de las mismas.

Es debido a este conglomerado de aptitudes y esfuerzo desplegado por los autores que con beneplácito y regocijo manifiesto mi total respaldo al trabajo de tesis presentado por los autores.

Los autores nos delinearon algunas pinceladas del peso de las condiciones ambientales en el contenido de quimiotipos de importancia biológica en la ruta metabólica de la planta juanilama. Oportunamente abrieron el camino para entender algunas de las propiedades medicinales de la hoja de la juanilama. Esto representa un verdadero espacio de investigación para la sociedad.

Tabla de Contenido

| | |
|--|-----|
| Dedicatoria..... | I |
| Agradecimientos | II |
| Opinión del tutor..... | III |
| APARTADO I | 0 |
| ASPECTOS GENERALES..... | 0 |
| 1.1 INTRODUCCION | 1 |
| 1.2 OBJETIVOS..... | 2 |
| 1.2.1. Objetivo general | 2 |
| 1.2.2. Objetivos específicos | 2 |
| 1.3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA..... | 3 |
| 1.4. JUSTIFICACIÓN..... | 4 |
| 1.5. ANTECEDENTES..... | 5 |
| APARTADO II | 7 |
| MARCO DE REFERENCIA..... | 7 |
| 2. MARCO DE REFERENCIA..... | 8 |
| 2.1 La Medicina Natural | 8 |
| 2.2 Aceites Esenciales | 8 |
| 2.2.1 Fuentes y Ubicación de los Aceites Esenciales: | 8 |
| 2.2.2 Clasificación de los Aceites Esenciales..... | 9 |
| 2.2.3 Características generales de los aceites esenciales..... | 11 |
| 2.2.4 clasificación química de los Aceites Esenciales..... | 12 |
| 2.2.5 Métodos de obtención:..... | 12 |
| 2.2.6 Usos de los Aceites Esenciales: | 13 |
| 2.3.7. Generalidades de carvona y cineol | 14 |
| 2.3.8 Factores genéticos y ecológicos | 17 |
| 2.3.9 Variabilidad genética y quimiotipos de lippia alba:..... | 19 |
| 2.3.10 Acciones Farmacológicas | 20 |
| 2.4 Extracción de materias primas vegetales..... | 22 |
| 2.4.1 Mecanismo de Acción del Solvente y Materia prima vegetal | 23 |
| 2.5 Equipo Clevenger..... | 24 |
| 2.5.1 Ventajas y desventajas del equipo Clevenger:..... | 25 |
| 2.6 Cromatografía en capa Fina (TLC)..... | 25 |
| APARTADO III | 27 |
| HIPÓTESIS..... | 27 |
| HIPÓTESIS..... | 28 |
| APARTADO IV | 29 |
| DISEÑO METODOLÓGICO..... | 29 |
| 4. DISEÑO METODOLÓGICO..... | 30 |

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

| | |
|---|----|
| 4.1. Tipo de estudio..... | 30 |
| 4.2. Método de estudio..... | 30 |
| 4.3. Descripción del ámbito de estudio | 30 |
| 4.4. Universo..... | 31 |
| 4.5. Muestra | 31 |
| 4.6. Criterios de selección..... | 31 |
| 4.7. Variables de estudio..... | 31 |
| 4.8. Operacionalización de variables..... | 32 |
| 4.9 Materiales para obtener la información | 33 |
| 4.10 Materiales para procesar información | 33 |
| 4.11. Descripción del método..... | 33 |
| 4.11.1 Recolección de la muestra:..... | 33 |
| 4.11.2 Extracción de aceites esenciales: | 34 |
| 4.11.3 preparación de estándares y soluciones..... | 35 |
| 4.11.4 Identificación de quimiotipos cineol y carvona en planta <i>Lippia alba</i> por cromatografía de capa fina | 35 |
| APARTADO V..... | 37 |
| RESULTADOS..... | 37 |
| APARTADO VI..... | 45 |
| ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS..... | 45 |
| 6.1 ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS..... | 46 |
| APARTADO VII..... | 51 |
| CONCLUSIONES | 51 |
| 7.1 CONCLUSIONES | 52 |
| APARTADO VIII..... | 53 |
| RECOMENDACIONES | 53 |
| 8.1 | 54 |
| REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA | 55 |

Índice de Tablas

| | |
|---|----|
| Tabla 1 Rendimiento Porcentual de Muestras Recolectadas en Rivas y Estelí. | 38 |
| Tabla 2 Rendimiento de los aceites esenciales obtenidos por método clewenger de plantas de <i>Lippia alba</i> provenientes de los departamentos de Rivas y Estelí. | 39 |
| Tabla 3 Rf* de muestras recolectada en Rivas y Estelí | 44 |

Índice de Gráficos

| | |
|--|----|
| Grafica 1RPAE Juanilama Estelí..... | 40 |
| Grafica 2 RPAE de JUANilama, Rivas | 40 |

Resumen

Palabras claves: aceite esencial, Rendimiento porcentual, Quimiotipo, Carvona, Cineol, método Clevenger, Cromatografía de Capa Fina.

La utilización de las plantas aromáticas en la medicina natural tiene sus orígenes en lo más remoto de la historia. Nicaragua posee una amplia variedad de hierbas aromáticas entre ellas: Juanilama.

La Juanilama pertenece a la familia Verbenácea es un arbusto aromático de 1 a 2 metros de alto, la cual crece en laderas, orillas de camino y riveras de los ríos.

Los Aceites esenciales que posee la juanilama son compuestos odoríferos naturales, los cuales contienen una variedad de quimiotipos que varían en dependencia de los factores geográficos. Entre ellos se encuentran: Cineol y Carvona, ambos pertenecen al grupo de monoterpenoides y se les atribuye las propiedades farmacológicas antimicrobiana y expectorante.

La Mayor cantidad de Aceite esencial de dicha planta está presente en las hojas. Para su adecuada extracción se utilizó el método de Hidrodestilación a través del equipo Clevenger y así poder determinar el rendimiento porcentual que posee la planta Juanilama. Para la identificación de los quimiotipos Cineol y Carvona se realizó la aplicación del método cualitativo de Cromatografía de Capa fina.

Las plantas Juanilama de las regiones de Rivas y Estelí en Nicaragua presentan variabilidad en el contenido de su Rendimiento porcentual. Además en su composición química contiene los quimiotipos Cineol y Carvona.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

APARTADO I

ASPECTOS GENERALES

1.1 INTRODUCCION

La utilización de las hierbas aromáticas tiene sus orígenes en lo más remoto de la historia en la medicina natural cuyas cualidades han sido destacadas. En Nicaragua existen gran variedad de hierbas aromáticas, entre las más comunes se encuentran: albahaca, cebollino, cilantro, estragón, laurel, romero, orégano, hierba buena, perejil, salvia, tomillo y Juanilama. Su nombre científico es *Lippia Alba*. Es un arbusto aromático ramificado perenne crece como una enredadera hasta alcanzar una altura de 2 metros, sus hojas son de color verde de forma ovalada, el tallo presenta un tono violeta y sus flores son hermafroditas de color rosado-violáceas.

Su hábitat son los climas tropicales y subtropicales, se extienden geográficamente desde la zona Río Grande de Texas (México), Centro América, Antillas del Caribe y América del Sur. En Nicaragua se encuentran en las zonas costeras del Pacífico y Caribe, Región Central y Norte.

La planta juanilama (*Lippia alba*) es una especie promisoría ya que actualmente se utiliza en diversos países con propósitos medicinales. Precisamente esta realidad ha conducido a un grupo interdisciplinario de investigadores a intentar caracterizar la distribución biogeográfica de la especie en su ámbito natural y detectar variaciones en sus aceites esenciales.

Los aceites esenciales que esta planta posee, contiene numerosos quimiotipos, lo cual esta en dependencia a cambios ambientales, por tanto la importancia de esta investigación radica en extraer de sus hojas los aceites esenciales a través de hidrodestilación, utilizando equipo Clevenger para evaluar el rendimiento porcentual de sus esencias, además de la identificación de los quimiotipos carvona y cineol por cromatografía de capa fina para conocer la composición química que la planta juanilama (*Lippia alba*) presenta en Nicaragua.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo general

Caracterizar los quimiotipos: cineol, carvona por Cromatografía de Capa Fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial que contienen las hojas de planta juanilama (*Lippia alba*) extraídas por método Clevenger. Obtenidas en los Departamentos de Estelí y Rivas, Nicaragua, en el período de Abril a Diciembre, 2013.

1.2.2. Objetivos específicos

1. Extraer los aceites esenciales presentes en las hojas de Juanilama (*Lippia alba*) a través del método de extracción Clevenger.
2. Determinar el rendimiento porcentual del aceite esencial de las hojas de planta Juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas.
3. Identificar los quimiotipos cineol y carvona del aceite esencial de juanilama (*Lippia alba*) por Cromatografía de Capa Fina.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

1.3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La importancia de los aceites esenciales encontrados en la planta Juanilama se ha demostrado a través de recientes estudios en diversas regiones de América, logrando resultados contundentes sobre la identificación de quimiotipos con propiedades farmacológicas.

Existen ciertos factores como: geográficos, topográficos, ambientales, composición del suelo que conlleven a una variabilidad en su composición química, probablemente no sea ninguna sorpresa identificar un nuevo quimiotipo en la investigación. Por este motivo, surge la incógnita ¿que quimiotipos se encuentran en el aceite esencial de la planta Juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en departamento de Rivas y Estelí de Nicaragua?

Se ha decidido realizar esta investigación debido a la carencia de información sobre la composición química que esta planta posee, además no se conocen estudios explicito de la variedad de especies que existen en nuestro país, de esta manera podremos afirmar si hay variabilidad en la composición química en dependencia de los factores geográficos y ambientales.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

1.4. JUSTIFICACIÓN

La necesidad de caracterizar los quimiotipos en la planta *lippia alba* que se encuentra en Nicaragua, para desarrollar nuevas alternativas en el campo de la industria farmacéutica. Se han llevado a cabo múltiples investigaciones que han logrado describir la variabilidad en la composición química contenidos en el Aceite Esencial de *lippia alba* en dependencia a su posición geográfica.

En Nicaragua se han realizado pocos estudios en la determinación de los quimiotipos en la planta juanilama, por lo tanto es probable que se logre identificar nuevos quimiotipos de sus aceites esenciales.

La variabilidad química que existe en las plantas de Rivas y Estelí nos motivó a investigar las características químicas. Por tanto nuestra investigación estará dirigida a identificar dos quimiotipos (carvona y cineol) ya identificados en distintas regiones del continente americano, por tanto, en Nicaragua se podrá confirmar la presencia de estos quimiotipos extraídos del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*).

Con esta investigación se pretende proporcionar información científica en el área de Farmacia de la UNAN, Managua y de esta manera incentivar a los estudiantes de Química Farmacéutica y Química Industrial a desarrollar otras investigaciones de esta índole, dejando bases científicas para posteriores estudios de nuevos proyectos con el mismo objetivo.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

1.5. ANTECEDENTES

Los aceites esenciales son mezclas de varias sustancias químicas biosintetizadas por las plantas, que dan el aroma característico a algunas flores, hojas, árboles, frutos, hierbas, especias, semillas y a ciertos extractos de origen animal. Todos son volátiles y solubles en alcohol. Químicamente son mezclas de ésteres, aldehídos, alcoholes, cetonas y principalmente de terpenos.

Molina y Ruiz (2005), del instituto de promoción humana Somoto Madriz, con el proyecto "Educación Técnica Integral para Jóvenes Rurales, realizaron un estudio sobre las plantas medicinales entre ellas *lippia alba* en laboratorios ISNAYA, Nicaragua, encontrando que la planta contiene: 1.2% de aceite volátil, dentro de este aceite, determinaron dos quimiotipos: 34.1% geranios, 23% Neral. No obstante aún no se puede afirmar que la planta *lippia alba* cultivada en Nicaragua posea esta cantidad de quimiotipos debido a la falta de información. Así mismo indican que se utiliza terapéuticamente para tratar enfermedades como asma, tos y fiebre preparando infusiones de las hojas. También se usan como fomentos o fricciones para la terapia de artritis reumatoide.

Grijalva A. (2005), en su libro Flora útil etnobotánica de Nicaragua, Afirma que la infusión de sus hojas es usada para problemas respiratorios. Además la planta es cultivada como ornamental. Por vía tópica, las hojas trituradas se inhalan para inducir el sueño, la infusión se aplica en afecciones dermatomucosas y flujo vaginal. El extracto alcohólico se usa en fricciones contra resfriados, congestión de las vías respiratorias y reumatismo.

Ciccio y Ocampo (2006): realizaron un estudio investigativo en la Universidad de Costa Rica, sobre la variación anual de la composición química del aceite esencial

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

Lippia alba cultivada en Costa Rica donde se determinó que dicha planta presenta variabilidad de los quimiotipos en dependencia del clima y su ubicación.

En la Universidad de San Carlos, Guatemala. Se realizó un estudio monográfico sobre la caracterización farmacopéica de plantas aromáticas. Entre ellas la Juanilama, cuyo objetivo era contribuir a la fabricación de productos fito farmacéuticos de mejor calidad, utilizó el método de extracción clevenger para la obtención de aceites esenciales de *lippia alba*, para su determinación a través de cromatografía de gases. Obteniendo como resultado que las plantas aromáticas estudiadas en Guatemala tienen quimiotipos de timol en mayor proporción. Morales (2006).

Dellacassa (2010), realizó un estudio investigativo en la Universidad Pontificia Católica de Rio Grande do Sul, Porto Alegre, autor de la revista normalización de productos naturales obtenidos de especies de la flora aromática latinoamericana público que los tres quimiotipos de aceite esencial de *Lippia alba* reportados en Colombia, hacen de esta planta una especie aromática promisoría para su cultivo agro-industrial, por sus altos contenidos de carvona (50%) y citral (55%) compuestos utilizados en las industrias cosmética y de alimentos, y que pueden ser aislados del aceite esencial por diferentes métodos separativos, como destilación fraccionada, para su comercialización y convertir a *Lippia. alba* en una nueva fuente de estos compuestos .

Ricciardi, G. A. L.; Veglia J. F. & Ricciardi; A. I. A, (1998), en el VI Simposio Argentino de Farmacobotánica; Posadas, Misiones, Argentina; han confirmado que *lippia alba* posee actividades antimicrobianas destacables, habiéndose observado su acción sobre: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *S. pyogenes* y *Salmonella typhi*.

El mismo autor ha estudiado la acción del aceite esencial sobre *Candida albicans*. Además se ha confirmado su actividad analgésica y su actividad pectoral, atribuidas ambas a su aceite esencial, sin que se hayan observado efectos tóxicos.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

APARTADO II

MARCO DE REFERENCIA

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

2. MARCO DE REFERENCIA

2.1 La Medicina Natural

Las plantas poseen una gran variedad de principios activos, que están asociadas a los procesos vitales básicos y los metabolitos secundarios participan activamente en el ajuste del vegetal a las condiciones ambientales. Para el ser humano, los metabolitos secundarios, especialmente aquellas de origen vegetal, poseen diversas aplicaciones siendo utilizadas en salud, alimentación, perfumería e higiene personal. (De Rafols, W., 1981).

2.2 Aceites Esenciales

Son los compuestos odoríferos naturales que se encuentran en las plantas y son aislados de las mismas. Generalmente, son líquidos (en algunas ocasiones semisólidos y muy raras veces sólidos) poco solubles en agua pero si volatilizables con vapor, se evaporan a diferentes velocidades bajo presión atmosférica.

El término aceite esencial es utilizado, en general, para designar sustancias volátiles obtenidas por extracción, a base de vapor de las plantas, o por otros métodos. El termino popular más común con el que se conocen estas sustancia es el de *esencias*, también se conocen por el nombre de aceites volátiles o etéreos. (Chanjin N. E. 1999):

2.2.1 Fuentes y Ubicación de los Aceites Esenciales:

Los aceites esenciales se encuentran presentes en distintas partes de la planta: Las flores (como en el caso de la lavanda, el jazmín y la rosa), todo el árbol (como sucede con el eucaliptus), en las hojas (la citronela), madera (el sándalo), en la raíz (el vetiver), en la resina que exudan (el incienso, la mirra y el benjuí), en la cáscara de los frutos (el limón, la naranja y la bergamota).

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

Los tejidos vegetativos, poseen células esféricas con diferentes cavidades o canales en el parénquima, las cuales dan el olor a las flores, estas se encuentran en las glándulas odoríferas, donde son liberados.

2.2.2 Clasificación de los Aceites Esenciales.

Los aceites esenciales se pueden clasificar en base a diferentes criterios: Consistencia, origen y naturaleza química de los componentes mayoritarios.

a. Consistencia

De acuerdo con su consistencia los aceites esenciales se clasifican en: Esencias, Bálsamos y Resinas.

- Las esencias: son líquidos volátiles a temperatura ambiente.
- Los bálsamos: son extractos naturales obtenidos de un arbusto o un árbol. Se caracterizan por tener un alto contenido de ácido benzoico y cinámico, así como sus correspondientes ésteres. Son de consistencia más espesa, son poco volátiles y propensos a sufrir reacciones de polimerización, son ejemplos el bálsamo de copaiba, el bálsamo del Perú, Benjuí, bálsamo de Tolú, Estoraque, etc.
- Resinas: son productos amorfos sólidos o semisólidos de naturaleza química compleja. Pueden ser de origen fisiológico o fisiopatológico. Por ejemplo, la colofonia, obtenida por separación de la oleoresina trementina. Contiene ácido abiético y derivados. Dentro del grupo de las resinas podemos encontrar a su vez una serie de posibles combinaciones o mezclas

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

- Oleorresinas: son mezclas homogéneas de resinas y aceites esenciales. Por ejemplo, la trementina, obtenida por incisión en los troncos de diversas especies de *Pinus*. Contiene resina (colofonia) y aceite esencial (esencia de trementina) que se separa por destilación por arrastre de vapor. Se utilizan extensamente para la sustitución de especias de uso alimenticio y farmacéutico por sus ventajas (estabilidad y uniformidad química y microbiológica, facilidad de incorporar al producto terminado).
- Gomorresinas: son extractos naturales obtenidos de un árbol o planta. Están compuestos por mezclas de gomas y resinas.

b. Origen

De acuerdo a su origen los aceites esenciales se clasifican como: Naturales, Artificiales y Sintéticos.

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

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

por lo tanto son mucho más utilizados como aromatizantes y saborizantes (esencias de vainilla, limón, fresa, etc.). (Martínez, A. 2003).

c. Naturaleza química

El contenido total en aceites esenciales de una planta generalmente es bajo (inferior al 1%), mediante extracción se obtiene en una forma muy concentrada que se emplea en los diversos usos industriales. La mayoría de ellos, son mezclas muy complejas de sustancias químicas. La proporción de estas sustancias varía de un aceite a otro y también durante las estaciones, a lo largo del día, bajo las condiciones de cultivo y genéticamente.

El término quimiotipo alude a la variación en la composición del aceite esencial, incluso dentro de la misma especie. Un quimiotipo es una entidad químicamente distinta, que se diferencia en los metabolitos secundarios. Existen pequeñas variaciones (ambientales, geográficas, genéticas, etc.) que producen poco o ningún efecto a nivel morfológico que sin embargo producen grandes cambios a nivel de fenotipo químico.

2.2.3 Características generales de los aceites esenciales

Las características de los aceites esenciales son generalmente líquidos a temperatura ambiente, volátiles, aromáticos, incoloros, o amarillentos, menos densos que el agua, insolubles en agua, lipófilo, solubles en disolventes orgánicos apolares, solubles en alcoholes de alta graduación, índice de refracción elevado, extraíbles por arrastre de vapor de agua o expresión, poder rotatorio(quirales)

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

2.2.4 clasificación química de los Aceites Esenciales.

Los componentes químicos de los aceites se clasifican en terpenoides y no terpenoides.

- No terpenoides: En este grupo tenemos sustancias alifáticas de cadena corta, sustancias aromáticas, sustancias con azufre y sustancias nitrogenadas. No son tan importantes como los terpenoides en cuanto a sus usos y aplicaciones.
- Terpenoides: Son los más importantes en cuanto a propiedades y comercialización. Son una clase de sustancia química que se halla en los aceites esenciales, resinas y otras sustancias aromáticas de muchas plantas, como los pinos y cítricos. Los terpenoides se derivan de unidades de isopreno (C5) unidas en cadena. Principalmente se encuentran monoterpenos (C10), aunque también son comunes los sesquiterpenos (C15) y los diterpenos (C20). Pueden ser alifáticos, cíclicos o aromáticos. Según los grupos funcionales pueden ser: Alcoholes, Cetonas, Aldehídos, Esteres, Éteres e Hidrocarburos.

2.2.5 Métodos de obtención:

Destilación por arrastre de vapor: se define como el proceso para obtener el aceite esencial de una planta aromática, mediante el uso del vapor saturado a presión atmosférica.

Por efecto de la temperatura del vapor (100 °C) en un cierto tiempo, el tejido vegetal se rompe liberando el aceite esencial.

Disolución en grasa (enfleurage): Los aceites son solubles en grasas y alcoholes de alto porcentaje. Sobre una capa de vidrio se coloca una fina película de grasa y sobre ella los pétalos de flores extendidas. La esencia pasa a la grasa,

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

así hasta saturación de la grasa. Posteriormente con alcohol de 70°, se extrae el aceite esencial.

Extracción con disolventes orgánicos: que penetran en la materia vegetal y disuelven las sustancias, que son evaporadas y concentradas a baja temperatura. Después, se elimina el disolvente, obteniendo la fracción deseada los más empleados son el éter de petróleo, con punto de ebullición de 30 a 70 °C, que se evapora fácilmente y es inflamable, benceno, que disuelve también ceras y pigmentos, y alcohol, que es soluble en agua. Se emplea cuando hay componentes de peso molecular elevado que no son lo suficientemente volátiles.

Extracción con gases en condiciones super críticas. Se emplean gases, principalmente CO₂, a presión y temperatura superiores a su punto crítico. En esas condiciones se obtienen buenos rendimientos y se evitan alteraciones de los componentes de la esencia.

2.2.6 Usos de los Aceites Esenciales:

- **Industria Alimentaria:** Se emplean para condimentar carnes preparadas, embutidos, sopas, helados, queso, en la preparación de bebidas alcohólicas y no alcohólicas, especialmente refrescos. Estas esencias también se emplean en la producción de caramelos, chocolates y otras golosinas. Los más utilizados por esta industria son el Cilantro, Naranja y menta, entre otros.
- **Industria Farmacéutica:** Se usan en cremas dentales (aceite de menta e hinojo), analgésicos e inhalantes para descongestionar las vías respiratorias (eucalipto). Son utilizados en la fabricación de neutralizantes de sabor desagradable de muchos medicamentos (naranjas y menta, entre otros).

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

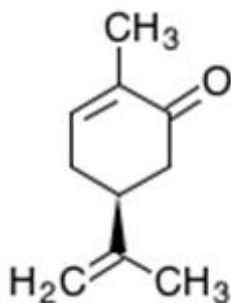
2.3.7. Generalidades de carvona y cineol

Nombre: Carvona

Formula: C₁₀H₁₄O

Peso molecular: 150.2176 g/mol

Estructura Molecular 2.1:



Fuente: www.genome.jp/dbgetbin/www_bget?map00902

Ruta metabólica: Biosíntesis de monoterpenoides

La carvona es una cetona y se produce por la oxidación de alcoholes y son moléculas bastante estables.

La carvona es un monoterpeno oxigenado quiral de gran interés por sus diversas aplicaciones, entre las cuales se ha reportado su uso como ingrediente importante de fragancias, aromas y agente antimicrobiano. Es un compuesto no irritante, no sensibilizante, no hepatotóxico, algunos trabajos reportan que la dosis letal media (LD₅₀) de este compuesto en ratas es 1,64 g/kg (Jager, W., Mayer, M. et al. 2000).

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

Fuentes naturales de la Carvona: La fuente natural de la carvona son las semillas de alcaravea (*Carum carvi* L), las cuales han sido usadas como saborizantes en panes, quesos, salsas, licores, en medicina alternativa como (laxantes, tratamientos menstruales). Además se usa para cosméticos, pastas dentales, confiterías y preparaciones farmacéuticas.

Aplicaciones de la carvona: su uso más amplio esta en las aplicaciones culinarias y se reportan propiedades estimulantes, carminativas y antiespasmódicas. La carvona es uno de los compuestos quimiopreventores que ha presentado interés para las industrias farmacéutica y alimenticia. Se emplea industrialmente en la elaboración de goma de mascar, fabricación de jabones y en la preparación de cremas dentales.

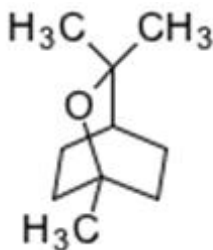
Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

Nombre: Cineol

Formula: C₁₀H₁₈O

Peso molecular: 154.2493 g/mol

Estructura Molecular 2.2:



Fuente: www.genome.jp/dbgetbin/www_bget?map00902

Ruta metabólica: Biosíntesis de monoterpenoides.

El cineol (también llamado eucaliptol) es un éter u oxido monoterpénico y principal componente del aceite de eucalipto.

El cineol es expectorante y mucolítico y el componente principal de medicamentos para la tos.

Propiedades farmacológicas: tiene propiedades antisépticas particularmente de las vías respiratorias y urinarias. Es también anti-pirético, balsámico y estimulante.

Usos: se utiliza generalmente por vía externa en inhalaciones para mejorar la respiración en casos de gripes o sinusitis. Se utiliza en aceite desde hace muchos años para friccionar el pecho en ungüentos sobre el tórax y la espalda.

2.3.8 Factores genéticos y ecológicos

En el caso de *lippia alba*, especie aromática de la familia Verbenaceae, su distribución biogeográfica abarca tanto regiones del trópico, como sucede en los bosques secos de Centroamérica o en las regiones húmedas del Caribe y de América del Sur, como la región del Amazonas, de clima tropical y subtropical o en las regiones subtropicales secas de América del Sur (Cono Sur) y del Norte (norte de México y Texas). Esta distribución tan amplia condiciona a la planta a presentar una gran variabilidad genética, con el propósito de ocupar los diversos hábitats naturales disponibles, situación que lleva a su adaptación a las diversas regiones biogeográfica de América. (Dellacassa, E. 2010).

La presencia de biotipos en diversas regiones de América, contribuye a que la especie se adapte con mayor facilidad, a las condiciones reinantes en cada sitio, variando a su vez el contenido de aceites esenciales o de metabolitos secundarios en sus órganos.

Los biotipos que se encuentran en las regiones subtropicales de América (tanto en el hemisferio Norte como en el hemisferio Sur) se caracterizan por presentar ramas péndulas, y se asume que esta característica es una respuesta a épocas de temperaturas bajas. Por el contrario, las plantas de los biotipos que crecen en los trópicos [entre los 23.5° Norte y al sur del Ecuador y que comprenden un 38% de la superficie terrestre presentan ramas con crecimiento erecto.

Precisamente, la presencia de biotipos de *lippia alba*, con características propias en América, que presentan diferencias morfológicas distintivas, se correlaciona con variaciones en el contenido de los aceites esenciales que se pueden agrupar en quimiotipos.

La distribución biogeográfica de los quimiotipos (que son individuos de una misma especie que se diferencian entre sí en cuanto a que presentan una composición

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

química distinta del aceite) de *lippia alba*, en América y el Caribe, responde a dos factores:

a) Respuesta a factores ecológicos.

b) Respuesta a condiciones genéticas de la especie.

En relación con el factor ecológico, la evidencia es la existencia de quimiotipos por región biogeográfica. Estos poseen características propias. Como consecuencia, la presencia de un determinado quimiotipo refleja la capacidad de la especie para responder a las diversas condiciones extrínsecas del medio ecológico (coordenadas geográficas, clima, suelo, exposición solar, etc.).

En las últimas décadas se ha encontrado que muchas de las especies de la flora aromática están formadas por dos o más quimioformas o variedades químicas, conocidas actualmente como quimiotipos. Estas especies son homogéneas desde el punto de vista morfológico y citológico, pero químicamente “poliformas” en cuanto a la composición de los aceites esenciales.

Se hace referencia a que existe una correlación estrecha entre los quimiotipos y su hábitat, aunque esta situación no es cierta para todas las especies. Hay especies que presentan áreas de difusión bien definidas para cada uno de los quimiotipos, pero también existen especies que presentan quimiotipos diferentes en el mismo sitio de distribución natural.

¿Por qué es importante caracterizar la distribución biogeográfica de especies aromáticas y medicinales?

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

En América es poco común que un recurso natural aromático tenga una amplia distribución biogeográfica de manera que su distribución contemple tanto regiones tropicales como subtropicales (estacional), y tanto regiones secas como húmedas. Para que se dé esta situación, el recurso debe presentar una amplia plasticidad y adaptarse a las condiciones climáticas propias de cada región. Se encontró que la planta nativa *lippia alba*, es una especie promisoriosa ya que se utiliza actualmente en diversos países con propósitos medicinales.

Además, tiene un comercio pequeño establecido en diversos países y presenta numerosos quimiotipos, produciendo aceites esenciales de composiciones muy diferentes.

Precisamente, esta realidad ha conducido a un grupo interdisciplinario de investigadores, a intentar caracterizar la distribución biogeográfica de la especie en su ámbito natural y a detectar variaciones en sus aceites debida a los cambios ambientales y que pueden llevar a pequeñas diferencias morfológicas de la especie, con el objetivo de ver la posibilidad de normalizar el aceite esencial presente en *Lippia alba* y así complacer las demandas del mercado actual y futuro.

2.3.9 Variabilidad genética y quimiotipos de lippia alba:

Es importante señalar la variabilidad genética de la especie *lippia alba*, presente en forma silvestre en América. Hasta donde se sabe, no se conocen investigaciones que profundicen en el aspecto de la variabilidad genética de la especie, en su lugar, se hace referencia a diversas observaciones de índole morfológica. Por otra parte, tomando en consideración que las rutas metabólicas que llevan a la construcción de los terpenoides y fenilpropenoides (en un caso), que constituyen los aceites esenciales, están controladas enzimáticamente, y ante la gran diversidad de composiciones de los mismos, se puede concluir que la

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

especie *lippia alba* posee una amplia variabilidad genética que se expresa en la síntesis de esas sustancias. (Dellacassa, E. 2010)

“La síntesis de los metabolitos secundarios está influenciada igualmente por factores externos y técnicos, como lo son los climáticos, el suelo, la latitud y altitud, incluyendo forma de plantación, tiempo de corte y fertilización” (Ming, L.C.2002)

2.3.10 Acciones Farmacológicas

Las principales virtudes de esta especie radican en la actividad antiespasmódica y antimicrobiana de los componentes de su aceite esencial. No obstante, estas actividades pueden variar debido a los distintos quimiotipos hallados en diferentes regiones de América. Para una mejor comprensión se describirán las distintas actividades biológicas realizadas de acuerdo a la actividad terapéutica propuesta. (Bolaños, A.D., 2004)

- Actividad digestiva:

Estudios en humanos revelaron el efecto antiespasmódico de la decocción de la hoja fresca en dosis de 120-240 mL/día, proveniente a una preparación en base a 12-20 g/L.

Estudios en ratas demostraron que la administración por vía oral durante 5 días consecutivos de 12,5 g/k de hojas secas no produce irritación en la mucosa gástrica. Adicionalmente su suministro a ratas revelo ser efectivo en la prevención de úlceras gástricas inducidas por indometacina (50 mg/k, vía oral) tanto en periodos cortos (24 horas) como en plazos más prolongados (5 días).

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

- Actividad Antimicrobiana:

El aceite esencial demostró actividad inhibitoria *in vitro* frente a los hongos *trichophyton mentagrophytes*, *absidia ramosa*, *Microsporum gypseum* y *candida albicans*. Mientras que el extracto etanolico lo ha sido también frente a *Neurospora crassa*, extractos elaborados con las hojas evidenciaron actividad insecticidas (sobre agentes contaminantes de granos almacenados) y antimicótica frente a fitopatogenos tales como *Dreschlea oryzae* y *Fusarium moniliforme*.

La maceración hidroalcoholica de las hojas de *lippia alba* demostró actividad inhibitoria *in vitro* frente a *staphilococcus aureus*, *Streptococcus pyogens* y *Salmonella typhi*, la mayorías de estos agentes involucrados en procesos infecciosos del árbol respiratorio. En cambio, la actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Esherichia coli* y *Bacillus subtilis* fue considerada nula.

- Actividad en SNC

Componentes del aceite esencial evidenciaron ejercer un efecto convulsivante significativo en ratas tratadas con pentilenetetrazol, lo cual fue constatado a través de un mayor periodo de latencia entre cada convulsion, y una mayor sobrevida en los animales tratados respecto a un grupo control.

La infusión acuosa de las hojas no demostró actividad sedante o hipnótica en ratones. En cambio, un estudio en ratones demostró que la fracción no volátil (rica en flavonoides) extractada en etanol 80% (v/v) de las hojas de *lippia alba* presenta efecto sedativo y miorrelejante. Los componentes del aceite esencial pertenecientes a quimiotipos ricos en *citral*, *B-mirceno* y *limoneno* demostraron efectos sedantes y miorrelejantes luego de su administración en ratones, en dosis de 100-200 mg/kg. solo en muy altas dosis se pudo verificar una inducción del sueño barbitúrico.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

Efectos adversos y /o tóxicos

La administración de la infusión de hoja a humanos en dosis hasta 720 mL/día no produjo síntomas de intolerancia digestiva ni efectos tóxicos. La DL₅₀ del extracto etanolico administrado a ratones por vía intraperitoneal fue de 1 g/kg. Estudios de toxicidad aguda en ratones indicaron que la infusión de hojas y flores no produjo muertes hasta dosis de 67 g/k.

Contraindicaciones

Ante la falta de datos confiables de inocuidad, no se recomienda su empleo durante el embarazo y lactancia.

Interacciones medicamentosas

Se ha relacionado la posible hepatotoxicidad entre infusiones de *lippia alba* y acetaminofén (paracetamol) en conejos. Se ha postulado que los metabolitos de esta planta emplean el sistema enzimático de la citocromo P450, para su biotransformación, de manera similar al descrito para el paracetamol, lo cual significaría una disminución en las reservas de glutatión y facilitar así los efectos tóxicos de esa droga a nivel hepático.

2.4 Extracción de materias primas vegetales

Para la extracción de los aceites esenciales se debe tomar en consideración la etapa de madurez de las hojas debido a que si se toman hojas jóvenes se corre el riesgo de pérdida en la concentración del aceite esencial.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

“Los periodos de sequía y lluvia influyen en los contenidos de los aceites esenciales, aumentando su concentración en época de sequía y disminuyendo en época lluviosas”. (Ocampo, R.A. Martínez, J.V., 2000).

“El contenido de los principios activos varía según el periodo del día en general, los aceites esenciales alcanzan su mayor concentración alrededor del mediodía”. (Ocampo, R.A. Martínez, J.V., 2000)

La industria utiliza plantas secas porque facilita su conservación por periodos de tiempo prolongado, interrumpiendo el proceso de degradación causados por enzimas y fermentos, impidiendo el desarrollo de microorganismos y reacciones de oxidación de hidrólisis. Además las plantas que contienen aceites esenciales o sustancias volátiles deben ser secadas a temperatura inferior de 40°C. Con respecto al contenido de humedad en las plantas frescas, varía entre 80% - 60%, sin embargo, la hoja presenta una pérdida de secado en un 20% - 75%.

El rango obtenido de rendimiento del aceite esencial de las hojas está de acuerdo con los encontrados para la mayoría de las plantas aromáticas cultivadas (0.5-1.5%). Es probable que la influencia de las diferentes condiciones ambientales y tratamientos agronómicos aplicados afecte el rendimiento y composición de los aceites esenciales. (Ocampo, R.A. Martínez, J.V., 2000)

2.4.1 Mecanismo de Acción del Solvente y Materia prima vegetal

Cuando el material vegetal se pone en contacto con el solvente se inicia un proceso opuesto al proceso de secado el cual consiste en: Reconstituir el estado original de la célula. Inicialmente el solvente penetra en la célula vegetal y expelle el aire contenido en el citoplasma dándose inicio de esta forma al proceso extractivo. La penetración del solvente en la célula induce a un momento dipolar

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

en la molécula de los compuestos que van hacer extraídos de esta manera las sustancias extraíbles se adhieren a las moléculas del solvente.

2.5 Equipo Clevenger

Cuando se usa vapor saturado, pero la materia prima está en contacto íntimo con el agua generadora del vapor, se le llama “hidrodestilación” (Günther., 1948.)

El equipo Clevenger (Günther, 1948), usado en muchos laboratorios y considerado en varios estándares internacionales, como el más adecuado para la determinación del contenido total del aceite esencial de una planta aromática.

Anexo V

Está compuesto de un balón, donde se deposita la materia prima molida y una cantidad conocida de agua destilada. Se calienta constantemente, el aceite esencial con el agua presente se evaporan continuamente. Un condensador va acoplado al balón y una conexión en forma de D, permite acumular y separar el aceite esencial de la mezcla condensada. El agua floral condensada regresa al balón por el rebose de la conexión.

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

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

2.5.1 Ventajas y desventajas del equipo Clevenger:

Las ventajas de este equipo son: su simplicidad y flexibilidad para trabajar con aceites de diferente densidad y naturaleza.

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

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

2.6 Cromatografía en capa Fina (TLC)

La cromatografía en capa fina es una técnica cromatográfica utilizada, para separar componentes puros que forman parte de una mezcla. Esta separación se consigue mediante la diferencia entre las fuerzas de adhesión de las moléculas de los componentes a una fase móvil (normalmente un disolvente) y a una fase estacionaria (la llamada capa fina, que puede ser papel o gel de sílice). Esta diferencia se traduce en un mayor o menor desplazamiento o movilidad de cada componente individual, lo cual permite su separación e identificación.

En este método se utilizan como soporte placas de vidrio, plástico, aluminio, etc. En las que se deposita una fina capa de absorbente (gel de sílice, almidón, polvo de celulosa, etc.), Cuyo espesor puede ajustarse a conveniencia. A la altura de 1.5 cm de una de las bases se marca debidamente con un lápiz fino una línea

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

teniendo cuidado de no romper la capa absorbente. Esta línea servirá de base para situar las muestras a analizar.

Una vez realizada la cromatografía, hay que identificar el compuesto. Escogemos la distancia recorrida desde el origen, pero esta distancia depende del tiempo, además de otros factores y, por lo tanto está muy en función de las condiciones experimentales. La diversidad de absorbentes y eluyentes disponibles, permiten que esta técnica sea de utilidad para separar e identificar un amplio repertorio de biomoléculas.

Una vez revelada la placa se puede establecer un coeficiente de relación entre la distancia alcanzada por el frente y la distancia alcanzada por una sustancia específica, a esta relación se conoce con el nombre de factor de retención (rf) (distancia de la sustancia/frente de la fase móvil). (Manual de laboratorio de farmacognosia y fotoquímica. 2008).

El (rf) es un valor relativo para cada sustancia y depende las condiciones cromatográfica con que se haya trabajado (fase móvil, fase estacionaria, eluente, y el tiempo de saturación). para el reconocimiento por cromatografía en capa fina de los metabolitos secundarios cineol, y carvona se utiliza una fase estacionaria de sílice gel 60, fase móvil: tolueno: acetato de etilo 93:7, y vainillina como revelador. En estas condiciones el factor de retención para la carvona es: 0.46 emitiendo un color rojo-violeta, y para el cineol: 0.45 emitiendo un color azul intenso. Los valores de Rf siempre son menores o iguales a uno ($R_f = 1$).Rovessac, F. Rovessac, A. (2003).

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

APARTADO III

HIPÓTESIS

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

HIPÓTESIS

El rendimiento porcentual de aceite esencial, extraído de las hojas de planta juanilama (*Lippia alba*), es variable de acuerdo a las condiciones geográficas de la región donde se obtiene la planta, así mismo las hojas recolectadas en las regiones pacifico sur (Rivas) y central norte (Estelí) de Nicaragua contienen los quimiotipos carvona y cineol.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

APARTADO IV

DISEÑO METODOLÓGICO

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

4. DISEÑO METODOLÓGICO

4.1. Tipo de estudio

Esta investigación monográfica es de tipo clásica experimental ya que se observa una relación causal entre la variable independiente y dependiente, con un grupo experimental de estudio y un grupo de control.

Por el periodo y secuencia de su estudio es una investigación transversal debido a que se estudiaron las variables simultáneamente en un determinado momento

4.2. Método de estudio

Se utiliza el método hipotético-deductivo, ya que se planteó una hipótesis y se comprobó experimentalmente.

4.3. Descripción del ámbito de estudio

Esta investigación se desarrolló en:

Laboratorio ISNAYA de la Fundación, Centro Nacional de la Medicina Popular de Estelí. Se ha realizado la extracción de los aceites esenciales de la planta juanilama (*lippia alba*), identificación de quimiotipos cineol y carvona, determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

4.4. Universo

Se recolectaron diez muestras en total de hojas adultas de la planta juanilama, cinco en la región de Rivas y cinco en la región de Estelí, con un peso aproximado a cien gramos por muestra. De las muestras recolectadas se procedió a pesar veinte gramos de cada una para su proceso de ensayo analítico.

4.5. Muestra

De la planta Juanilama (*lippia alba*) se tomaron para cada muestra, 100 gramos del material vegetal (hojas) para la extracción de aceites esenciales durante el periodo de tiempo correspondiente al mes de abril del 2013.

Se tomaron hojas adultas en buen estado, para garantizar mayor rendimiento porcentual de aceite esencial.

4.6. Criterios de selección

- **Criterios de inclusión:** Hojas adultas en buen estado, sin daños ocasionados por factores ambientales y fitopatológicos.
- **Criterios de exclusión:** las muestras serán excluidas del estudio si presentan mohos, decoloración, picaduras de insectos y deterioradas por parásitos

4.7. Variables de estudio

Variables Independientes:

- Factores geográficos

Variables dependientes:

- Presencia del *cineol* y *carvona* en el aceite esencial.
- Rendimiento porcentual del aceite esencial.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

4.8. Operacionalización de variables

| Variables Independientes | | | | |
|--------------------------|---|--|---|--------------------------|
| Variable | Concepto | Indicadores | Valores | Unidad de medida |
| Factores geográficos | Se denomina así al conjunto de circunstancias astronómicas y geográficas que influyen en la determinación de los distintos tipos de climas del planeta. | Altitud Temperatura Humedad relativa | No existe un valor de referencia científica publicado | m.s.n.m °C H.R (%) |

| Variables Dependientes | | | | | |
|---|---|---|---|------------------|-------------------------------------|
| Variable | Concepto | Indicadores | Valores | Unidad de medida | Referencia |
| Presencia del cineol y carvona en el aceite esencial. | Son compuestos químicos que constituyen el olor en los aceites esenciales de las plantas. | Factor de retención colorimetría | 0.46 (carvona) 0.40(cineol) Rojo violeta(carvona) Azul(cineol) | Cm | (H.Wagner., S. Bladt. 1996) |
| Rendimiento porcentual del aceite esencial. | Es la cantidad en volumen(mL) de aceites esenciales contenido por cada 100 g de muestra | Se determina como el volumen de aceite esencial obtenido entre el peso de la muestra. | 0.5-1.5 % | mL/100 g | (Ocampo, R.A. Martinez, J.V., 2000) |

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

4.9 Materiales para obtener la información

- Fichas técnicas de recolección de muestras
- GPS

4.10 Materiales para procesar información

- Microsoft Excel 2010
- Microsoft Word 2010
- Matrices comparativas
- Matrices de síntesis
- Graficas de barras

4.11. Descripción del método

4.11.1 Recolección de la muestra:

Las muestras se recolectaron en las regiones de crecimiento silvestre o cultivo de Estelí, finca el Cortijo y Rivas en comunidades aledañas a playa Ostional, municipio de San Juan del Sur. Se seleccionaron cinco plantas de distintos lugares, correspondientes a los departamentos anteriormente mencionados. (Anexos I)

De cada muestra se cortaron las base de las hojas adultas utilizando una tijera manual de podar o común. Se desecharon partes, decoloradas, infectadas o deterioradas por insectos o parásitos, posteriormente se lavaron con abundante agua potable e hipoclorito de sodio 0.5 % para eliminar posibles presencia de microorganismos que puedan interferir en la muestra.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

Se secaron en condiciones libres de la humedad, sol, polvo, durante ocho días. Estando la muestra completamente seca, luego se almacenaron en papel craft (papel madera) se sellaron y se identificaron con una etiqueta o código para los posteriores análisis.

4.11.2 Extracción de aceites esenciales:

Se utiliza un destilador (Clevenger). Se toma un matraz de 500 ml y se añaden 200 ml de agua destilada, luego se coloca en balanza analítica. Se agrega el contenido de 20 g de la muestra y se toma el peso, luego se agita vigorosamente para lograr cierta disolución. Se coloca en el balón el peso prescrito de la muestra y se añaden algunos trozos de porcelana porosa, Colocando a continuación el conjunto refrigerante (condensador). Se introduce agua a través del embudo N, hasta que alcance el nivel B. Se quita el tapón y se adicionan 0.5 ml de xileno (grado reactivo, Fisher Scientific), usando una pipeta cuyo extremo contacte con la porción inferior del tubo K. Se coloca de nuevo el tapón K asegurándose que el orificio coincida con la ranura. Se calienta a ebullición el líquido del matraz, ajustando la velocidad de destilación entre 2 ml y 3 ml por minuto, salvo que se haya prescrito otra cosa.

Se interrumpe la calefacción y después de al menos 10 minutos se lee el volumen de xileno en el tubo graduado, se introduce en el matraz la cantidad prescrita del líquido y se continúa la destilación tal como se describió anteriormente durante el tiempo y la velocidad prescritos. Después de otros 10 min. Se lee el volumen de líquido recogido en el tubo graduado, restándose el volumen de xileno anotado anteriormente. Esta diferencia representa la cantidad de aceite esencial en la muestra ensayada. Se calcula el resultado, expresándolo en mililitros por 100 g de muestra.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

4.11.3 preparación de estándares y soluciones

Para la identificación de quimiotipos cineol y carvona se utilizó como fase móvil, Tolueno y acetato de etilo en proporción (93:7). Se tomó una probeta de 100 ml a la cual, se agregó 93 ml de tolueno y 7 ml de acetato de etilo y se trasvaso a un matraz volumétrico de 100 ml. En la preparación del revelador químico se pesó 1 g de vainillina y se trasvaso a un matraz volumétrico de 100 ml aforando con ácido sulfúrico concentrado.

En un beaker de 10 ml se tomaron 100 μ l de estándar carvona (99% pureza) y se agregaron 500 μ l de fase móvil (tolueno: acetato de etilo 93:7). En otro beaker se tomaron 100 μ l de estándar cineol (99% pureza) y se agregaron 500 μ l de fase móvil (tolueno: acetato de etilo 93:7).

4.11.4 Identificación de quimiotipos cineol y carvona en planta *Lippia alba* por cromatografía de capa fina

Aplicación de la muestra: se tomó una placa de sílice gel 60 F254 en la cual, con un lápiz y una regla se trazó una línea horizontal, desde el borde inferior de la placa hasta el centro de la misma con una distancia de 2.5 cm. Luego se procedió a marcar la ubicación de la muestra a una distancia de 2.5 cm.

En el siguiente paso se procedió a aplicar en los puntos de ubicación correspondiente a cada muestra un volumen aproximadamente de 10 μ L de estándares y de aceites esenciales correspondiente a cada muestra extraída.

Luego se activó la cromatoplaqueta previamente por calentamiento a 100⁰C por 10 minutos. Posteriormente se procedió a trasvasar 100 mL de fase móvil, tolueno: acetato de etilo (93:7) hacia una cámara de saturación.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

Se dejó reposar por 30 min, y luego se introdujo la cromatoplaca, se tapó y se dejó en reposo durante 45 minutos. Después de haber transcurrido el tiempo de migración del solvente se verifico que haya recorrido una distancia de 15 a 20 cm. Una vez que la fase móvil haya completado su recorrido se saca la placa de la cámara de saturación.

Revelado post-cromatográfico: una vez seca se colocó en la cámara de esprayado para asperjarlo con el revelador químico, vainillina: ácido sulfúrico, luego se dejó secar por 5 minutos a temperatura ambiente. A continuación se identificó la posición de las manchas sobre la cromatoplaca a través de la lámpara UV con un rango de 254 a 365 nm.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

APARTADO V

RESULTADOS

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

En base a los objetivos de estudios se demuestran los siguientes resultados:
 Tabla 1 Rendimiento Porcentual de Muestras Recolectadas en Rivas y Estelí.

| Código de la muestra | Lugar de procedencia | Volumen de pre destilación (mL) | Volumen de destilación (mL) | Volumen del Aceite Esencial(mL) | Peso de Muestra (g) | Porcentaje del Aceite Esencial (%) |
|----------------------|----------------------|---------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|---------------------|------------------------------------|
| R-01 | Rivas | 0.50 mL | 0.70 mL | 0.20 mL | 20.01 | 0.99% |
| R-02 | Rivas | 0.50 mL | 0.79 mL | 0.29 mL | 20.00 | 1.45% |
| R-03 | Rivas | 0.50 mL | 0.64 mL | 0.14 mL | 20.00 | 0.70% |
| R-04 | Rivas | 0.50 mL | 0.63 mL | 0.13 mL | 20.00 | 0.65% |
| R-05 | Rivas | 0.50 mL | 0.60 mL | 0.10 mL | 20.00 | 0.50% |
| E-01 | Estelí | 0.50 mL | 0.56 mL | 0.06 mL | 20.05 | 0.30% |
| E-02 | Estelí | 0.50 mL | 0.64 mL | 0.14 mL | 20.08 | 0.70% |
| E-03 | Estelí | 0.50 mL | 0.60 mL | 0.10 mL | 20.01 | 0.50% |
| E-04 | Estelí | 0.50 mL | 0.70 mL | 0.20 mL | 20.01 | 1.00% |
| E-05 | Estelí | 0.50 mL | 0.60 mL | 0.10 mL | 20.03 | 0.50% |

En la tabla no1. Se observa que en base al peso de las muestras extraídas y el volumen de aceite esencial, se obtuvo el rendimiento porcentual de aceite esencial.

El rango obtenido del rendimiento del aceite esencial de las hojas está de acuerdo para la mayoría de las plantas aromáticas (0.5-1.5%). (Ocampo, R.A. Martínez J.V., 2000).

Para calcular el rendimiento porcentual de aceite esencial, ilustrados en la tabla no.1, seguimos el procedimiento del manual de la Organización Mundial de la Salud titulado "Control de calidad de métodos para plantas medicinales".

(The World Health Organization., 1998).

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

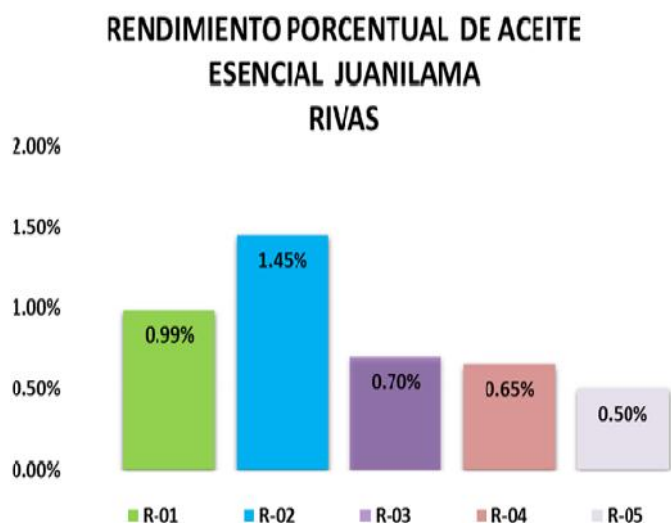
Tabla 2 Rendimiento de los aceites esenciales obtenidos por método Clevenger de plantas de *Lippia alba* provenientes de los departamentos de Rivas y Estelí.

| Código de Muestra | Localidad | Departamento | Condiciones geográficas | | | Rendimiento (%) | Quimiotipo |
|-------------------|---------------------|--------------|-------------------------|----------------|------------------------|-----------------|-------------------|
| | | | Altitud (m.s.n.m) | Temperatura °C | Humedad Relativa (HR%) | | |
| R-01 | Ostional | Rivas | 49 | 35 | 70 | 0.99% | Carvona Cineol |
| R-02 | Finca Valona | Rivas | 50 | 36 | 70 | 1.45% | Carvona Cineol |
| R-03 | Monte de Cristo sur | Rivas | 55 | 30 | 70 | 0.70% | Carvona Cineol |
| R-04 | San Antonio sur | Rivas | 50 | 33 | 70 | 0.65% | Carvona Cineol |
| R-05 | San Antonio | Rivas | 54 | 31 | 70 | 0.50% | Carvona Cineol |
| E-01 | Finca el Cortijo | Estelí | 800 | 27 | 64 | 0.30% | Carvona Cineol |
| E-02 | Finca el Cortijo | Estelí | 800 | 27 | 64 | 0.70% | Carvona Cineol |
| E-03 | Finca el Cortijo | Estelí | 800 | 27 | 64 | 0.50% | Carvona Cineol |
| E-04 | Finca el Cortijo | Estelí | 800 | 27 | 64 | 1.00% | Carvona Cineol |
| E-05 | Finca el Cortijo | Estelí | 800 | 27 | 64 | 0.50% | Carvona Cineol |

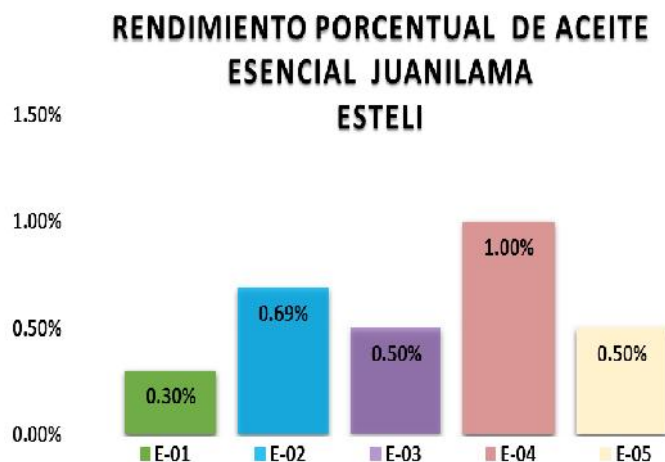
En la presente tabla se observan las localidades, condiciones geográficas y rendimiento porcentual de aceite esencial de cada muestra extraída, Por otra parte, Las muestras del departamento de Rivas y Estelí difieren, tanto en sus condiciones geográficas como en el rendimiento porcentual.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

Grafica 1 RPAE Juanilama Estelí



Grafica 2 RPAE de Juanilama, Rivas



En la gráfica no.1 y 2 se observan los rendimientos porcentuales del aceite esencial para las muestras extraídas de las hojas de planta juanilama (*Lippia alba*), se demostró que las condiciones geográficas fueron de mayor influencia, debido a que las muestras recolectadas en el Departamento de Rivas resulto obtener mayor rendimiento porcentual de aceite esencial en referente al Departamento de Estelí.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

Cromatografía de capa fina

Para la identificación de Carvona y Cineol de las extracciones del aceite esencial de las hojas secas de *Lippia alba* se obtuvieron los siguientes resultados:

Ilustración 1: recorrido de las bandas correspondientes a los estándares de referencias

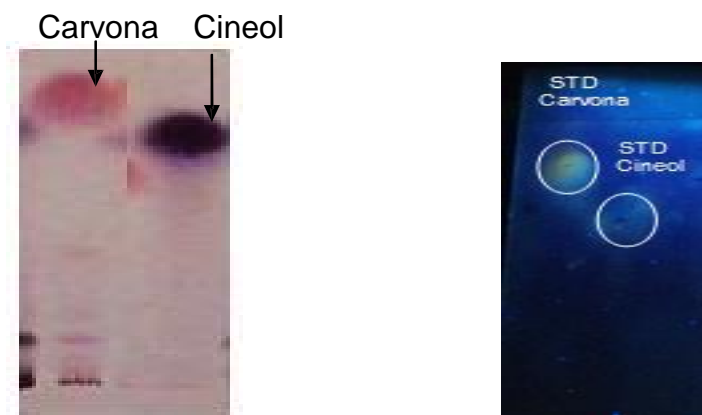


Foto de referencia: H.Wagner., S.Bladt. (1996)

Foto obtenida en el ensayo

Para tener mejor visualización del recorrido de las manchas y del color característico de cada estándar, se procedió a revelar la cromatoplaaca asperjando con ácido sulfúrico y vainillina al 1 %.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

Ilustración 2: Cromatoplaqueta de muestras de Estelí

Imagen de la cromatoplaqueta No. 1 con revelador químico a 366 nm.



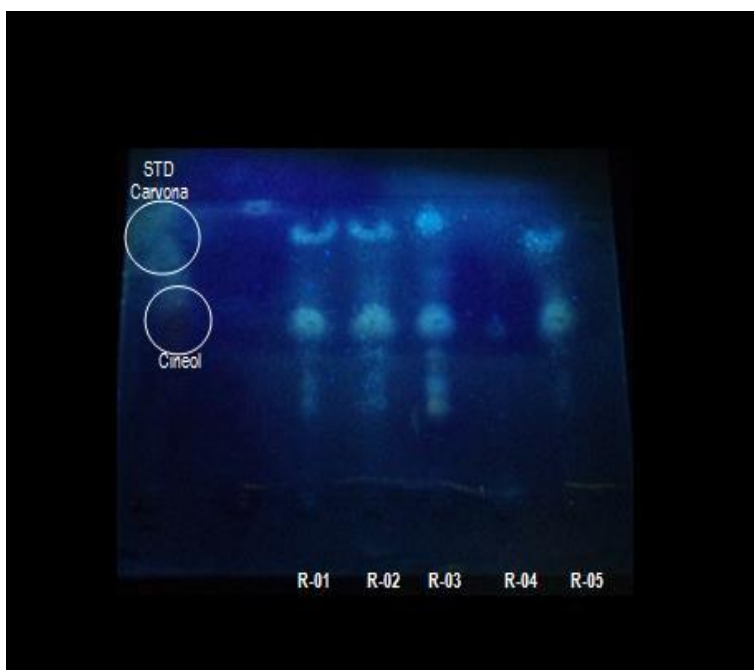
Fuente: fotografía tomada en el ensayo

En la ilustración n°. 2 se demostró la presencia de los quimiotipos Cineol y Carvona. Ya que el color de las manchas de los estándares de referencia coinciden con las muestras de aceite esencial extraídas en el departamento de Estelí.

En la segunda placa cromatográfica se aplicaron los estándares de referencias junto a las cinco muestras de aceite esencial extraídas de la planta juanilama del Departamento de Rivas. Imagen de la cromatoplaqueta n°. 2 a 366 nm conteniendo estándares de referencia y muestras extraídas del aceite esencial juanilama en el Departamento Rivas.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

Ilustración 3: cromatoplaqa de muestras de Rivas



Fuente: fotografía tomada en el ensayo

Se observó cinco bandas con manchas características a los colores de cineol y carvona, por la posición de los estándares se ha identificado los quimiotipos de interés, cabe mencionar que la técnica de asperjar el revelador químico hacia la cromatoplaqa influyo a la hora de observar el color de la mancha, pues el revelador no se distribuyó de manera uniforme sobre la placa y por ende, se perdió visibilidad en la lámpara UV-254/366 nm.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

Tabla 3 Rf* de muestras recolectada en Rivas y Estelí

| No. Muestra | Carvona | Cineol |
|--------------------|----------------|---------------|
| STD** | 0.4545 | 0.4090 |
| R-01 | 0.4818 | 0.3636 |
| R-02 | 0.4848 | 0.3909 |
| R-03 | 0.4909 | 0.3909 |
| R-04 | 0.4545 | N.D*** |
| R-05 | 0.4909 | 0.4090 |
| Promedio | 0.4805 | 0.3886 |
| E-01 | 0.4836 | 0.3636 |
| E-02 | 0.4454 | N.D*** |
| E-03 | 0.4545 | 0.3909 |
| E-04 | 0.4545 | 0.409 |
| E-05 | 0.4545 | 0.409 |
| Promedio | 0.4585 | 0.3931 |

*= los cálculos para obtener los valores de factor de retención en la tabla 1 y 2 se muestran en Anexos (VII).
 **=Estándar de referencia
 ***=No Detectable

En la tabla No. 3 se muestran los valores RF de los estándares (Carvona y Cineol) y de las muestras recolectadas en cada departamento. Cabe mencionar que se recolectaron 5 muestras de cinco sitios distintos para cada departamento para un total de diez muestras, lo cual indica que no se aplicó replicas por triplicado por cada sitio.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

APARTADO VI

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 ANALISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En relación a los resultados obtenidos sobre el Rendimiento Porcentual de Aceite Esencial (RPAE) en los Departamentos de Estelí y Rivas, ilustrados en las gráficas 1 y 2 determinamos que los valores máximos corresponden a la muestra E-04, departamento de Estelí, localizada en la finca El Cortijo, 800 msnm a 27 °C, con un rendimiento de 1.00% y la muestra R-02 del departamento de Rivas, ubicada en finca Valona, 50 msnm a 36 °C con un rendimiento de 1.45%.

Por otro lado los valores mínimos obtenidos en el ensayo fueron determinados para las muestras E-01 del departamento de Estelí, localizada en la finca El Cortijo, con un rendimiento de 0.30% y la muestra R-05 recolectada en el departamento de Rivas, comarca San Antonio a 54 msnm, 31 °C, con un rendimiento de 0.50%.

Así que contrastando los resultados máximos y mínimos reflejados en la gráfica No. 1 y 2, la diferencia entre ambas escalas es de 3 veces mayor el valor máximo del valor determinado para el mínimo.

Los resultados proporcionados en las muestras recolectadas en el departamento de Rivas, presentaron mayor rendimiento de aceite esencial con respecto a las muestras recolectadas en Estelí.

En los datos presentados en tabla 1 y 2 observamos que las muestras del departamento de Rivas y Estelí presentan distintas temperaturas en la época de recolección de la muestra procesadas.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

Según la tabla No.2 se observa que las muestras recolectadas a mayor temperatura, obtuvieron altos rendimientos porcentuales del aceite esencial y las muestras recolectadas a menor temperatura presentaron bajos rendimientos porcentuales de aceite esencial.

También en la tabla No.2 se especifica la altitud (msnm) de cada muestra recolectada, presentando mayor rendimiento porcentual aquellas que fueron recolectadas a menor altitud, por otra parte, presentaron menor rendimiento porcentual de aceite esencial la que fueron recolectadas a mayor altitud.

Según el Instituto Nicaragüense de Estudios Territoriales (INETER): en el boletín climático mensual de Abril 2013, reportaron que los valores promedio de humedad relativa del aire (HR) para el departamento de Rivas fue 70% y Estelí 64%.

En la tabla No.2 de RPAE se observa que al recolectar la muestra en las condiciones geográficas como: menor altitud, mayor temperatura y humedad relativa del aire, el valor obtenido para el RPAE es alto. Mientras que a mayor altitud, menor temperatura y humedad relativa del aire el valor del RPAE es bajo.

En general las muestras recolectadas en el departamento de Rivas tienen mayor RPAE en comparación a las de Estelí, probablemente esto se asocie a factores geobotánicos.

Las condiciones óptimas del cultivo para obtener mayor RPAE probablemente sean las condiciones ambientales bajo las cuales se encuentra las muestras del departamento de Rivas.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

Según (Ocampo, R.A. Martinez, J.V., 2000) en su manual de agrobiotecnología de plantas medicinales nativas afirma que los periodos de sequía y lluvia influyen en los contenidos de los aceites esenciales, aumentando su concentración en época de sequía y disminuyendo en época lluviosa.

Así mismo (Dellacassa, E., Soler, P. Menéndez y P.Moyna 1990) en su estudio “aceites esenciales de *lippia alba*” dice que el rendimiento de esencia depende de la planta y varía en promedio desde unas cuantas milésimas por ciento del peso del vegetal hasta valores promedios entre 1-3%. También afirma que la composición de una esencia puede cambiar con la época de la recolección, lugar geográfico o por pequeños cambios genéticos.

Sin embargo, no todo se puede retribuir a las condiciones geográficas, además confrontamos un proceso de error de ensayo, lo cual se vincula muy intrínsecamente con la familiarización de la técnica utilizada para la extracción de los quimiotipos carvona y cineol.

Durante el proceso de extracción con el equipo clewenger confrontamos factores como: vaporización del material vegetal y tiempo de extracción, los cuales, probablemente incidieron en la pérdida de aceite esencial, ya que al evaporarse el material vegetal, parte del aceite esencial es arrastrado al ambiente.

Para calcular el rendimiento porcentual de aceite esencial, ilustrados en la tabla no.1, seguimos el procedimiento del manual de la Organización Mundial de la Salud titulado “Control de calidad de métodos para plantas medicinales”.

(The World Health Organization., 1998).

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

Con respecto a la identificación de los quimiotipos (carvona y cineol) mostrados en las ilustraciones 2 y 3, en el aceite extraído de la planta juanilama recolectadas en el departamento de Rivas y Estelí mediante la técnica de cromatografía de capa fina alcanzamos a identificar la presencia de ambos quimiotipos a través de las características cualitativas de cada muestra, con el color de manchas de los estándares de referencias y posición de recorrido en la cromatoplaca.

En la tabla No.3 se refleja los Factores de Retención (FR) de los estándares de carvona y cineol, seguidamente de los valores correspondientes a cada muestra analizada en los departamentos de Estelí y Rivas.

En relación a los resultados promedios de factor de referencia para el quimiotipo carvona en ambos departamentos, se aproximan al valor de estándar de referencia. De igual manera ocurre con los promedios de factor de referencia para el quimiotipo carvona.

De esta manera se confirma que los factores de retención de los estándares coinciden con la posición de las manchas visualizadas, sin embargo hay muestras (E-02 y E-04) que no logramos obtener los factores de retención debido a falta de visualización del recorrido en la cromatoplaca

De acuerdo con la referencia bibliográfica consultada (ver anexos VII, inciso c) los valores de factor de retención son valores relativos, es decir, pueden levemente variar en cada experimento dependiendo de las condiciones de saturación en la cámara cromatográfica, la actividad de la capa absorbente, y la composición de la fase móvil. Por tanto no se omite que en la ejecución de las cromatoplaca existan condiciones metodológicas que induzcan variaciones en la obtención del RF.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

Según H.Wagner., S.Bladt. (1996): el factor de R_f del Cineol es de 0.40 cm, emitiendo color azul. Por otra parte, el factor de referencia para carvona es 0.46 cm, de color rojo- violeta. No obstante, se ha detectado variantes en el recorrido de los metabolitos secundarios. Esto pudo ser ocasionado por la mala distribución de la fase móvil sobre la cromatoplaca, otra causa fue la falta de manejo de la técnica al inyectar la muestra, lo cual ocasiono mala distribución en los componentes de las muestra sobre la fase móvil, modificando la mancha y por ende se dificulto tomar los factores de retención. Tabla 1: Rendimiento porcentual de aceite esencial de las muestras recolectadas en departamentos, Rivas y Estelí.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

APARTADO VII

CONCLUSIONES

7.1 CONCLUSIONES

Con base a los resultados obtenidos y objetivos del estudio se presentan las siguientes conclusiones:

1. Las muestras recolectadas en el departamento de Rivas tienen mayor rendimiento porcentual de aceite esencial en comparación al departamento de Rivas.
2. La planta juanilama (*lippia alba*) de ambos departamentos, contienen dentro su composición química los quimiotipos carvona y cineol.
3. Los rendimientos de aceites esenciales de la planta juanilama (*lippia alba*) son afectados por factores geobotánicos como: altitud, suelo, clima, temperatura.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

APARTADO VIII

RECOMENDACIONES

8.1 .RECOMENDACIONES

1. Proceso de secado: la selección y colocación en las bandejas de secado debe realizarse de manera uniforme y controlar una temperatura constante para no tener una variación en la concentración de los aceites.
2. Proceso de extracción tomar en cuenta la temperatura y el tiempo para evitar pérdidas de aceites esenciales, ya que no debe de sobrepasar los 100 °C y el punto crítico de análisis debe tener como tiempo máximo 3 horas para tener un rango de resultado de 0.30% a 1.45%.
3. Etapa de identificación de cromatografía de capa fina siempre aplicar en la cromatoplaca la muestra de aceite esencial debe estar diluida bajo el rango de 100 microlitros del estándar concentrado en 500 microlitros de fase móvil para evitar mala distribución del recorrido del analito a identificar.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. AOAC. (1980). *Official Methods of Analysis*. association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C.
2. AZCÓN-BIETO, J. y TALÓN, M. (2000) *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Interamericana-McGraw-Hill, Madrid.
3. Bolaños, A.D., (2004). Tratado de fitofármacos y nutraceuticos: la medicina popular tradicional. Centro NAO.p-953.
4. Ciccio, J. & Ocampo, R. (2006). Variación anual de la composición química del aceite esencial de *lippia alba* (verbenaceae) cultivada en costa rica. Recuperado del 12 de abril del 2012, de www.latindex.ucr.ac.cr
5. Chanjin N. E. Comparación del rendimiento de aceite esencial de *Lippia Alba* extraído en el laboratorio y el extraído en la planta piloto y propuesta de escalonamiento a nivel industrial, Guatemala (tesis de graduación Facultad de Ingeniería) 1999 (pp. 10-25).
6. Craveiro, A.A., J.W. Alencar, F.J.A. Matos, C.H.S.Andrade & M.I.L. Machado.(1981). Essential oilsfrom Brazilian Verbenaceae. Genus *Lippia*. J. NatProd.44(5): 598-601.
7. Ciccio, J.F. & R.A. Ocampo. (1998) Estudio del aceite esencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. ex Britton & Wilson (Verbenaceae) de Costa Rica. Informe parcial Proyecto IV.6. La flora Iberoamericana y su aprovechamiento para la producción de aromas y fragancias de interés industrial (mimeografiado).

8. Dellacassa, E. (2010) en Normalización de productos naturales obtenidos de especies de la Flora Aromática Latinoamericana. (Cap. 8) recuperado el 25 de noviembre del 2012, de www.ebooks.pucrs.br/edipucrs/normalización.com
9. Dellacassa, E., E. Soler, P. Menéndez & P. Moyna. (1990). Essential oils of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown and *Aloysia chamaedrifolia* Cham. (Verbenaceae) from Uruguay. *Flav. Fragr. J.* 5: 107-108.
10. Frighetto, N.J.G. de Oliveira, A.C. Siani & K.C.das Chagas. (1998). *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. (Verbenaceae) as a source of linalool. *J. Essent. Oil Res.* 10:578-580.
11. Fun, C.E. & A. Baerheim Svendsen. (1990). *The essential oil of Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. *J. Essent. Oil Res.* 2: 265-267.
12. Fischer, U., R. López, E. Pöll, S. Vetter, J. Novak & C.M. Franz. (2004). *Two chemotypes within Lippia alba populations in Guatemala. Flavour Fragr. J.* 19:333-335.
13. Grijalva, A. (2005). *Flora Útil etnobotánica de Nicaragua*. editorial: Managua.
14. Gerosén-Robineau, L., (2005). *Farmacopea Vegetal Caribeña*. TRÁMIL, Edit.Universitaria, UNAN, León, Nicaragua. (pp.254-257).
15. Gómes, E.C., L.C. Ming, O.E.A. Moreira, G. Miguel, M.D. Miguel, V.A. Kerver, A. Conti & A.W. Filho. (1993). *Constituents of the essential oil from Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. (Verbenaceae). *Rev. Brasil. Farm.* 74(2): 29-32.
16. Gerosén, L., 2007. *Farmacopea Vegetal Caribeña*. República Dominicana: Tramil. pp 254-256.

17. Günther., (1948): Scanningcenter: Osmania University. Scanner: 5. Digitalpublication date: 2005/06/27. /details/ 1948), recuperado en el mes de Diciembre del 2014, de la página web:<http://www.archive.org>.
18. Jager, W., Mayer, M. et al. (2000): *metabolism of the monoterpene carvone by rat and human liver microsome. J.Pharm.Pharmacol.*
19. Lorenzo, D., D. Paz, P. Davies, R. Vila, S. Cañigüeral & E. Dellacassa. 2001. *Composition of a new essential oil type of Lippia alba (Mill.) N.E. Brown from Uruguay. Flavour Fragr. J.* 16: 356-359.
20. Leclercq, P.A., H. Silva Delgado, J. García, J.E. Hidalgo, T. Cerrutti, M. Mestanza, F. Ríos, E. Nina, L. Nonato, R. Alvarado & R. Menéndez. 1999. Aromatic plant oils of the Peruvian Amazon. Part 1. *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. and *Cornutia odorata* (Poeppig) Poeppig ex Schauer, Verbenaceae. *J. Essent. Oil. Res.* 11:753-756.
21. Martínez, A. (2003). *Aceites esenciales*. Recuperado el 08 de agosto del 2013 de farmacia.udea.edu.co/~ff/esencias2001b.pdf.
22. Molina, L. & Ruiz, F. (2005). *Plantas Aromáticas y Medicinales*. Instituto de Promoción Humana: Madriz..
23. Manual de laboratorio de farmacognosia y fitoquímica (2008). Recuperado del 03 de enero del 2013, de www.farmacia.udea.edu.co/~ff
24. Ming, L.C; Stefanini, M., Rodríguez, (2002) S.Ação de fitorreguladores no crescimento da erva-cidreira-brasileira. *Horticult. Brasil.* 20: (1), pp. 18-23.
25. Ocampo, R.A. Martínez, J.V., (2000) *Manual de agrobiotecnología de plantas medicinales nativas*.pp.78-85.

26. Pino, J.A., A.G. Ortega, A. Rosado, M. Rodríguez & R. Baluja. 1996. *Composición y propiedades antibacterianas del aceite esencial de Lippia alba (Mill.) N.E.Brown. Rev.Cubana Farm.* 30(1)..
27. Ricciardi, G. A. L.; Veglia J. F. & Ricciardi; A. I. A (1998) "Fitoquímica de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ("sal-via morada"); VI Simposio Argentino de Farmacobotánica; Posadas, Misiones, U. Na. M.
28. Retamar, J.A. (1994). *Variaciones fotoquímicas de la especie Lippia alba (salvia morada) y sus aplicaciones en la química fina.* *Essenze Deriv. Agrum.*(pp. 55-60).
29. Ricciardi, G.; Veglia, J.; Ricciardi, A.; y Bandoni, A. Fitoquímica de Verbenáceas (*Lippias* y *Aloysias* del Nordeste Argentino. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas*2000 [online]:http://www.plantasmedicinales.org/archivos/fitoquimica_verbenaceas.pdf?PHPSESSID=1e496d3726b76699241f4d51c66e30d6.html[Consultado 10 de mayo 2006].
30. Ricciardi, G.; y Ricciardi, A. Efecto de las variaciones estacionales
31. Sobre la composición química del aceite esencial de plantas de "Salvia morada" de Sáenz Peña (Chaco). *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas*, 2001[online]:<http://www.unne.edu.ar/cyt/2001/8-Exactas/E-011.pdf> [Consultado de mayo 2006].
32. Fundación Alfonso Martín Escudero. (1999). *Las Plantas de Extractos. Bases para un Plan de Desarrollo del Sector:* Madrid.

33. Stashenko, E., Jaramillo, B., & Martínez, J., (2004) *Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of Lippia alba (Mill.) N.E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity*. J. Chromatography. A. 1025, (pp 93-103)
34. Stashenko, E.E., B.E. Jaramillo & J.R. Martínez. 2004. Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its *in vitro* antioxidant activity. J.Chromatog. 1025: 93-103.
35. Velasco Negueruela, J.A., et al. (1993) *Volatile constituents of four Lippia species from Córdoba, Argentina*. J. Essent. Oil Res.
36. Taiz, L. and Zeiger, E. (2002). *Plant Physiology, American Journal of Botany* 90: 1560-1566. Third Edition. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
37. Tucker, A.O. & M.J. Maciarello. 1999. *Volatile Leaf Oil of the "Licorice Verbena" (Lippia alba (Mill.) N.E. Brown ex Britton and P. Wils. var. carterae Moldenke) from the North American Herb Trade*. J. Essent. Oil Res. 11: 314-316.
38. United States Pharmacopeia (2007). *Cromatografía (Nf 25 ed, vol.1) Estados Unidos:port city press, Baltimore*.
39. Wagner H., S. Bladt. 1996: *Plant drug analysis. A thin layer chromatography*, Springer-Verlag, 2da. ed. , Berlin.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

ANEXOS

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

ANEXOS I



Figura N° 1

Planta juanilama (*lippia alba*)
Comarca San Antonio, Rivas.
Imagen tomada por autores.



Figura N° 2 planta
juanilama (*lippia alba*)
Jardín de finca Carmelas,
Comarca San Antonio,
Rivas.
Imagen tomada por
autores.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.



Figura N^o 3

Planta juanilama (*Lippia alba*) recolectada del jardín de finca Carmelas, Comarca San Antonio, Rivas.

Imagen tomada por autores.



Figura N^o 4

Planta juanilama (*Lippia alba*) recolectada de Finca Valona.

Imagen tomada por autores.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.



Figura N^o 5

Planta juanilama (*lippia alba*)

Se cortan las hojas en buen estado.

Imagen tomada por autores



Figura N^o 6

Las hojas se lavaron con abundante agua potable e Hipoclorito de sodio 0.5% para eliminar Presencia de microorganismos

Imagen tomada por autores

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.



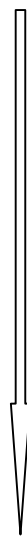
Figura N° 7

Muestra seca 8 días después de haber sido recolectada
Imagen tomada por autores.



Figura N° 8

Se sellaron con papel craft
(madera)
Se etiquetaron y almacenaron



Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

ANEXOS II



Figura N° 1

La muestra se tamiza para pulverizar el material vegetal.

Fotos tomada por autores



Figura N° 2.

Pesar aproximadamente 20 g de material vegetal y adicionarlos a un balón de 500 mL conteniendo 200 mL de agua destilada.

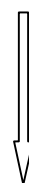


Figura N° 3.

Colocar el balón conteniendo la muestra

En el destilador clevenger,
Encender la malla calefactora hasta alcanzar los 100 °C.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

ANEXOS III

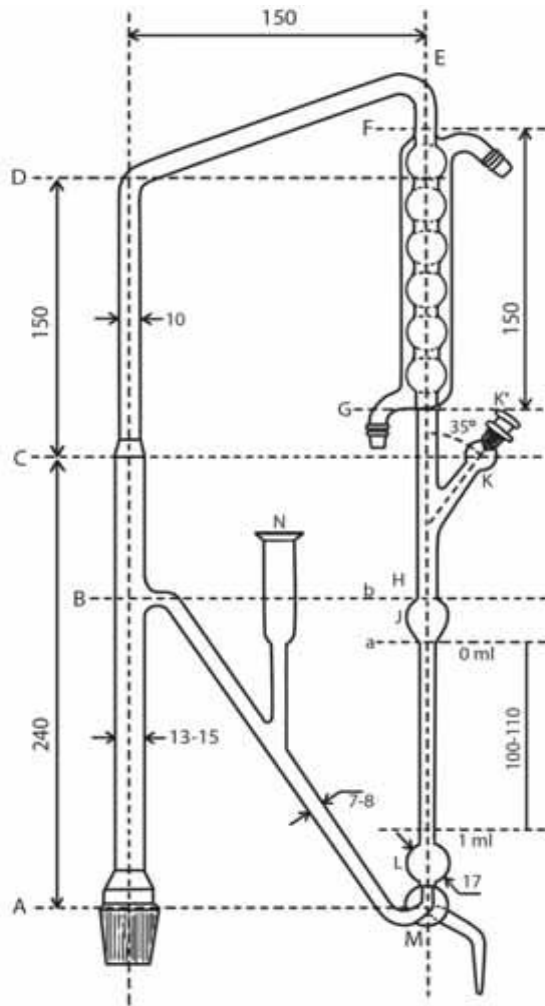
Ubicación de los Sitios de Muestreo para Planta Juanilama (*Lippia alba*)



Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

ANEXOS IV

Figura N^o.1 Equipo Clevenger en vidrio Pyrex (Günther, 1948)



Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

ANEXOS V

Tabla no.4. Materiales y Reactivos

| MATERIALES | UNIDADES |
|--|----------|
| Balones pyrex, 500 mL | 4 |
| Beaker pyrex, 50 mL | 1 |
| Probeta schott, Duran | 2 |
| Micropipeta eppendorf 500 μ L | 1 |
| Puntas para micropipetas | 10 |
| Fiola, pyrex | 1 |
| Capillares Fisher Scientific 20 μ L | 12 |
| Embudos | 2 |
| Espátulas | 2 |
| Tamiz 2mm | 1 |
| Cámara de saturación, CANNAG | 1 |
| Cromatoplas, TLC aluminium Sheets, 20 x 20 cm, Silica gel 60 F | 10 |
| Viales , Agilent technologies, 2MI | 10 |
| Pisetas | 2 |

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

Tabla no.4.1. Materiales y Reactivos

| EQUIPOS | UNIDADES |
|---|----------|
| Balanza Analítica , METTLER PM 2000 | 1 |
| Destilador Clevenger, SCHMMIZOAG, Graduación 0.05 mL, vol. Max 3 mL | 1 |
| Destilador Clevenger, WERTHEIM, Graduación 0.01 mL, vol. Max 3 mL | 1 |
| Mantas Calefactoras, GLASS –COOL, TM106, 220 VOLT, SERIE: 137654A | 1 |
| Mantas Calefactoras, GLASS –COOL, TM106, 220 VOLT, SERIE:146891A | 1 |
| Lámpara Fluorescente, CAMAG, Rango: 254 nm-366nm | 1 |
| Refrigerante DLK 20 LAUDA | 1 |
| Cámara de Esprayado, CANNAG | 1 |

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

Tabla no.4.2 Materiales y Reactivos

| NOMBRE | CANTIDAD | FUENTE |
|---|----------|--|
| Agua destilada | 3 L | Donado por: Laboratorios ISNAYA |
| Perlas de ebullición | 10 g | Donado por: Laboratorios ISNAYA |
| Xileno, grado reactivo, Fisher Scientific | 5 mL | Donado por: Departamento de Química UNAN-MANAGUA |
| Alcohol Etílico 90%, Fisher Scientific | 500 mL | Donado por: Laboratorios ISNAYA |
| Tolueno, J.T.BAKER | 200 mL | Donado por: Departamento de Química UNAN-MANAGUA |
| Acetato de Etilo, SIGMA-ALDRICH, PARA GRADO(pesticide residue analysis) | 15 mL | Donado por: Departamento de Química UNAN-MANAGUA |
| ÁcidoSulfúrico, Densidad: 1.84 kg/L, Fisher Scientific | 100 mL | Donado por: Departamento de Química UNAN-MANAGUA |
| Vainillina, Fisher Scientific | 1 g | Donado por: Laboratorios ISNAYA |
| Solución Estándar CARVON, ART-818409 (R)-(-), Merck-Schuchardt | 0.5 mL | Donado por: Laboratorios ISNAYA |
| Solución Estándar Eucalyptol, Fluka. | 0.5 mL | Donado por: Laboratorios ISNAYA |

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

ANEXOS VI

a) Cálculos de Rf para las muestras de Estelí:

Carvona

$$\begin{aligned} \text{STD} &= \frac{5.1}{11} = 0.4636 \\ \text{E - 01} &= \frac{5.3}{11} = 0.4836 \\ \text{E - 02} &= \frac{4.9}{11} = 0.4454 \\ \text{E - 03} &= \frac{5}{11} = 0.4545 \\ \text{E - 04} &= \frac{5}{11} = 0.4545 \\ \text{E - 05} &= \frac{5}{11} = 0.4545 \end{aligned}$$

Cineol

$$\begin{aligned} \text{STD} &= \frac{4.5}{11} = 0.4090 \\ \text{E - 01} &= \frac{4.5}{11} = 0.4090 \\ \text{E - 02} &= \text{N.D} \\ \text{E - 03} &= \frac{4.5}{11} = 0.4090 \\ \text{E - 04} &= \frac{4.5}{11} = 0.4090 \\ \text{E - 05} &= \frac{4.5}{11} = 0.4090 \end{aligned}$$

Cálculos de Rf

para las muestras de Rivas:

Carvona

$$\begin{aligned} \text{STD} &= \frac{5}{11} = 0.4545 \\ \text{R - 01} &= \frac{5.3}{11} = 0.4818 \\ \text{R - 02} &= \frac{5.3}{11} = 0.4848 \\ \text{R - 03} &= \frac{5.4}{11} = 0.4909 \\ \text{E - 04} &= \frac{5}{11} = 0.4545 \\ \text{E - 05} &= \frac{5.4}{11} = 0.4909 \end{aligned}$$

Cineol

$$\begin{aligned} \text{STD} &= \frac{4.5}{11} = 0.4090 \\ \text{R - 01} &= \frac{4}{11} = 0.3636 \\ \text{R - 02} &= \frac{4.3}{11} = 0.3909 \\ \text{R - 03} &= \frac{4.3}{11} = 0.3909 \\ \text{R - 04} &= \text{N.D} \\ \text{E - 05} &= \frac{4.5}{11} = 0.4090 \end{aligned}$$

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

a) Ficha técnica de recolección de la muestra de Rivas

N° de muestra: -----
R-01

Código de la muestra: -----
24/04/2013

Fecha de recolección: -----
Ostional

Lugar de recolección: -----
11:40 am

Hora recolección: -----
Yanoxi Vargas

Nombre del recolector: -----
Nicaragua

País: -----
Rivas

Departamento: -----
San Juan del Sur

Municipio: -----
Playa Ostional

Comarca: -----
Patio de Mercedes Vargas

Nombre de la propiedad: -----
Pertenencia de la propiedad:
 Privada Cooperativa otro:

Mercedes Vargas

Nombre del representante legal: -----

Condiciones Ambientales
35 °C

Temperatura ambiental: -----

Periodo de recolección seco húmedo

Topografía de la zona de recolección de la muestra:

Plana Ondulada Accidentada

16P0635386/1228628

Coordenadas geográfica (UTM): -----
49

Altitud (mts): -----

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

b) c) Ficha técnica de recolección de la muestra de Estelí

Datos Generales

01

N° de muestra: -----

E-01

Código de la muestra: -----

04/05//2013

Fecha de recolección: -----

Finca Cortijo

Lugar de recolección: -----

1:00 pm

Hora recolección: -----

Tania Mayorga

Nombre del recolector: -----

Nicaragua

País: -----

Estelí

Departamento: -----

Estelí

Municipio: -----

La Sirena

Comarca: -----

Finca Cortijo

Nombre de la propiedad: -----

Pertenencia de la propiedad:

Privada Cooperativa otro:

Nombre del representante legal: -----

Condiciones Ambientales

27^oC

Temperatura ambiental: -----

Periodo de recolección seco húmedo

Topografía de la zona de recolección de la muestra:

Plana Ondulada Accidentada

Coordenadas geográfica (UTM): -----

800

Altitud (mts): -----

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

| FECHA | ACTIVIDAD | LUGAR |
|--------------------------|---|---------------------------------------|
| 17de Abril de 2012 | Selección del tema de investigación | UNAN |
| 24 de abril de 2012 | Revisión del tema de investigación | UNAN |
| 18 de julio de 2012 | Desarrollo del tema | UNAN |
| 14 de Agosto de 2012 | Elaboración de los objetivos específicos | UNAN |
| 20 de septiembre de 2012 | Finalización del protocolo de tesis monográfica | UNAN |
| 28 de Octubre de 2012 | Revisión de Diseño Metodológico por. Msc. Ivan Marín y Msc. Gerardo Mendoza | Vía correo electrónico |
| 12 de Noviembre de 2012 | Revisión del método de extracción por: Msc. Ivan Marín. | UNAN |
| 07 de Diciembre de 2012 | Documentación bibliográfica | Casa de Br.Tania Mayorga Vílchez |
| 24 de Abril de 2013 | Recolección de la muestra en Rivas | Municipio de San Juan del Sur, Rivas. |
| 04 de Mayo de 2013 | Recolección de la muestra de Estelí | Finca el Cortijo |
| 09 de Mayo de 2013 | Extracción de aceites esenciales juanilama muestras de Rivas | Lab.ISNAYA/Estelí |
| 10 de Mayo de 2013 | Extracción de aceites esenciales juanilama muestras de Estelí | Lab.ISNAYA/Estelí |
| 11 de Mayo de 2013 | Identificación de Carvona | Lab.ISNAYA/Estelí |

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

| | | |
|--------------------------|---|-----------------------------------|
| | y Cineol | |
| 02 de Junio de 2013 | Realización de Resultados | Casa de Br. Tania Mayorga Vílchez |
| 20 de Junio de 2013 | Revisión de Resultados Por: Msc. Ivan Marín | UNAN |
| 15 de Julio de 2013 | Revisión de Tesis Monográfica Por: Msc. Ivan Marín | UNAN |
| 18 de Agosto de 2013 | Revisión de Discusión de Resultados | UNAN |
| 05 de Septiembre de 2013 | Correcciones de Resultados | UNAN |
| 05 de Noviembre de 2013 | Revisión de Tesis, problemas de Redacción | UNAN |
| 04 de Diciembre de 2013 | Revisión de redacción de Resultados | UNAN |
| 06 de Enero de 2014 | Revisión de Tesis Monográfica | Café las Flores |
| 27 de Enero de 2014 | Revisión de redacción de Resultados | UNAN |
| 07 de Febrero de 2014 | Revisión de redacción de Resultados | UNAN |

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

Cronograma

Glosario

Aceite Esencial: mezcla sustancias químicas biosintetizadas por las plantas que dan el aroma característico.

Alambique: aparato utilizado para destilación de líquidos mediante proceso de evaporación y condensación.

Alelopatía: fenómeno biológico por el cual un organismo produce uno o más compuestos bioquímicos.

Asperjar: rociar o esparcir en forma de pequeñas gotas el agua u otros líquidos.

Carvona: terpeno presente en varios aceites esenciales.

Cineol: éter presente en varios aceites esenciales

Decumbentes: Dicho de una planta, postrada, que tiene los tallos rastreros y tendidos sobre el suelo.

Destilación Fraccionada: es un proceso físico utilizado en química para separar mezclas (generalmente homogéneas) de líquidos mediante el calor

Fenológico: en las plantas, cada una de las etapas por las que pasan a lo largo de un período vegetativo.

Fosforilación: es la adición de un grupo fosfato, o no fosfato molecular criogenizado inorgánico a cualquier otra molécula.

Geobotánica: es la "ciencia de la vegetación" que estudia la relación entre la vida vegetal y el medio terrestre.

Lippia Alba: nombre científico de la planta Juanilama

Lipófilo: comportamiento de las moléculas de afinidad por los lípidos.

Zigomorfias: parte de la planta que posee un solo plano de simetría bilateral.

Parénquima: tejido vegetales fundamentales que prevalecen en la mayoría de los órganos.

Identificación de quimiotipos cineol, carvona por cromatografía de capa fina, con determinación del rendimiento porcentual del aceite esencial de planta juanilama (*Lippia alba*) obtenidas en Estelí y Rivas, Nicaragua. En el período de Abril a Diciembre, 2013.

Perenne: es un adjetivo que refiere aquello incesante o continuo

Quimiotipos: alude a la variación en la composición del aceite esencial, incluso dentro de la misma especie es una entidad químicamente distinta, que se diferencia en los metabolitos secundarios

µL: Microlitros

STD: estándar de referencia

ND: no detectado

Rf: Factor Retención

mL: mililitros

msnm: metros sobre el nivel del mar

V/m: masa sobre volumen

g: gramos

UV: ultra violeta

RPAE: Rendimiento Porcentual de Aceite Esencial.