



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**“Ensayo *in vitro* de la actividad
inhibitoria de radicales libres de
aceites esenciales.”**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA
P R E S E N T A N

Pérez Santiago América Jannine

Silva Castañeda Ana Luisa

Asesor: Q.F.B. Brígida Del Carmen Camacho Enríquez

Coasesor: Q. Mario Arturo Morales Delgado

Coasesor: Dra. Ana María Velázquez Sánchez

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. MÉXICO, 2015.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo Profesional**

Ensayo in vitro de la actividad inhibitoria de radicales libres de aceites esenciales.

Que presenta la pasante: **América Jannine Pérez Santiago**

Con número de cuenta: **304266177** para obtener el Título de la carrera: **Química Farmacéutico Biológica**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 17 de septiembre de 2015.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. René Miranda Ruvalcaba	
VOCAL	M. en C. Virginia Benitez Solís	
SECRETARIO	Q.F.B. Brígida del Carmen Camacho Enriquez	
1er. SUPLENTE	Q. Juana Cabrera Hernández	
2do. SUPLENTE	M. en C. Eva Hernández Godínez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

IHM/prc*



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo Profesional

Ensayo in vitro de la actividad inhibitoria de radicales libres de aceites esenciales.

Que presenta la pasante: **Ana Luisa Silva Castañeda**
Con número de cuenta: **303310002** para obtener el Título de la carrera: **Química Farmacéutico Biológica**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 17 de septiembre de 2015.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. René Miranda Ruvalcaba	
VOCAL	M. en C. Virginia Benitez Solís	
SECRETARIO	Q.F.B. Brígida del Carmen Camacho Enriquez	
1er. SUPLENTE	Q. Juana Cabrera Hernández	
2do. SUPLENTE	M. en C. Eva Hernández Godínez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

IHM/prc*

Agradecimientos

A la profesora **Q.F.B. Brigida Camacho Enriquez** y al **profesor Q. Mario Arturo Morales Delgado** por compartir con nosotras su amistad, alegrías, enseñanzas, conocimientos y experiencias de vida, y apoyarnos en este proyecto que también es suyo.

A la **Dra. Ana María Velázquez, Q.F.B. Adriana Ganem y Q.F.B. Ma. Guadalupe Rebollar Barrera** por su valiosa asesoría durante el desarrollo de este proyecto.

A la **M. en C. Edith López Villafranco**, investigadora de la FESC Iztacala por su apoyo en la identificación de los materiales vegetales utilizados en este ensayo in vitro y a su equipo de trabajo del Herbario Etnobotánico IZTA.

Al **T.A. Draucin Jiménez Celi**, (titular B) responsable del Taller de soplado de vidrio, por auxiliarnos en la fabricación de las trampas de Clevenger. Al Departamento de Química Medicinal y al **Dr. Enrique Ángeles Anguiano** por su apoyo que nos brindaron en el uso del espectrofotómetro infrarrojo Modelo Nicolet iS10FT. LEM de Farmacia por facilitarnos el acceso a balanzas analíticas y material de laboratorio.

A nuestro jurado de examen, **Dr. Rene Miranda Ruvalcaba, M en C. Virginia Solís, Q. Juana Cabrera y Q. Eva Arrellanes Hernández**, por sus aportaciones, mejoras y perspectivas de este proyecto de tesis.

A todos los chicos que estuvieron antes, durante y después en el Laboratorio de Fitoquímica y Farmacognosia pero en especial a **Alejandra Sánchez Barrera alias la jefa, Miguel Trejo, Mellisa, Imelda, Lizbeth, Mario, Isboset Luna, Lidia Martínez, Carlos Leyva**, aprendimos mucho de ustedes y esperamos que hayamos podido enseñarles algo, pero lo que más disfrutamos es haber compartido muchas risas, charlas, canciones mal cantadas, las salidas al cine y las convivencias, que al igual nos apoyamos en tristezas, frustraciones pero siempre estuvimos unidos y estará unido este laboratorio. Esperamos haber dejado un buen legado para las generaciones de tesis y alumnos que se encuentran laborando en el laboratorio.

A la UNAM por ser alma mater y ser una institución que siempre está a la vanguardia de los avances tecnológicos, sociales y culturales a nivel nacional e internacional; a la FES Cuautitlán y a sus profesores por la sólida formación académica, humana y personal que nos dio durante 5 años.

A **la tropa morita y cartel de los pinkys**, anexados que compartieron aventuras, equipos de trabajo y de estudio saben que nunca olvidaremos los gratos momentos que vivimos con ustedes desde risas y diferencias. **Jazmin Alvarez, Yesenia Chavez, Cristhian Ortega, Evett Castillo, Ricardo, Violeta Castetillo, Roberto Constatino, Oscar Tinoco, Daniela Amado, Monica Rivera, Miriam, Georgina Balderas, Zayuri, Oscar Rodriguez, Miguel Hernandez, Mariana Cancino, Lourdes Carrillo, Fernando Santos, Sandra Jimenez. Lucero Vargas, Arely Martinez, Nancy, Marco Alemán, Alfonso Tayde, Uriel, Hugo Sánchez, Ester, Luis Guerrero.**

Jannine

La palabra Gracias puede significar muchas cosas, pero a lo que respecta a mí no solo quiero que sea un simple Gracias a las personas que fueron importantes en este proyecto académico que realice a lado de una gran persona.

"Todos los cambios, incluso los más deseados, acarrearán cierta melancolía, porque lo que dejamos atrás es parte de nosotros mismos; Hay que morir en una vida antes de poder entrar en otra." Anatole France

Primeramente a **DIOS** por darme la fortaleza, sabiduría, haberme bendecido en la vida y mi camino, por darme triunfos, alegrías, esperanzas, anhelos, frustraciones, por ser quien soy, y estar conmigo, y nunca déjame vencer, darme esta oportunidad de seguir creciendo en la vida, académicamente y profesionalmente.

"El vínculo que te une a tu auténtica familia no es de sangre, sino de respeto y de goce mutuo" (Richard Bach).

A mi hermosa familia ha sido el pilar principal de mi vida. Principalmente a mis padres **José Guadalupe Pérez Hernández** y **Aurelia Santiago Ramírez** por darme la oportunidad de ser su hija, su amor, confianza, respeto, apoyo en mis decisiones, y estar siempre a mi lado. Los amo mucho. Pero en especial a ti Mami porque nunca te rindes en enseñarme lo bello que es la vida, desde pequeña creíste en mi potencial, y nunca me has abandonado. A mis hermanos **Juan Carlos, José Guadalupe (chepo), Jessica** por ser mis guardianes que siempre me cuidan, sé que siempre nos apoyaremos y por darme a mi mejores tesoros **Zairus Haziél, Kenia Abril, Jessica Michell** y al bebe que viene en camino. A mis cuñadas y cuñado **Gabriela Pérez Gómez y Abril Vargas Córdova, Jorge Luis Romero Castañeda**.

"El verdadero amigo es el que te quiere tal y como eres, te defiende, te dice las cosas por tu bien y lo daría todo por ti" (Gandhi)

A ti **Ana Luisa Silva Castañeda** porque siempre has creído en mí y me diste la oportunidad de ser tu amiga, compañera, cómplice y colega. Por siempre atesorare los buenos y malos momentos que vivimos porque eso nos hizo madura y tomar decisiones para nuestras vidas. Y volvería escogerte a ti para hacer cualquier trabajo, me demostraste que eres una persona sencilla, humilde, defiendes tus ideales, responsable, honesta. Te quiero mucho amiga. Te doy las gracias por abrirme las puertas de tu casa, familia y corazón.

A mis grandes amigos que considero que ya son parte de familia, son personas que saben quién soy: **Ismael Ramírez** eres la persona que me aterrizas al suelo con tus comentarios y consejos acertados y **Luis Salazar (Balu)** eres la persona que me dices las cosas que yo quiero escuchar, son mi equilibrio emocional. Pero sé que me quieren mucho y me han cuidado como una hermana, siempre están cuando más los he necesitado. Por eso son mis personas favoritas y los quiero mucho.

"La experiencia es un maestro feroz, pero está claro que te hace aprender." (C.S. Lewis)

Bueno con los que respecta con mi demás amigos y compañeros que estuvieron conmigo en este proceso lo diré cronológicamente.

Primeramente le agradezco a **Química Delta** por que dio la primera oportunidad de trabajar en especial a **Ing. Gerardo Zamora y Ing. Guillermo Ortega**. Me permitió conocer personas importantes que creyeron en mí, en mis capacidades y cualidades. Me dejó grandes amigos como **Alejandro Padilla (Rojo), Reyes Cárdenas, Israel Bernal, Concho, Yessica Baños, Dulce Pineda**. Pero en especial a dos personitas al cual quiero mucho, que me enseñaron y me brindaron su experiencia profesional y de vida. Eduardo López Rocha y Rigoberto Gonzales están presentes en mi desarrollo profesional y creen que estoy hecha para cosas increíbles.

Después a **Fiabila México** porque me permitió crecer profesionalmente y tomar riesgo profesionales. Conocí personas que me enseñaron cosas nuevas y que las cosas no solo vienen de los libros.

A mis amigos que estuvieron ahí en justo momento que más necesitaba palabras que necesitaba escuchar en los momentos que me encontraba en desesperación emocional y que me volvieron enseñar que era lo más me gustaba que es ir al cine y disfrutar la película con amigos. A ti **Luis Mosco y Eduardo Jiménez**.

Ya para acabar con estos agradecimientos, me permito agradecerme y dedicarme unas palabras.

Estaba buscando alguien que me inspirara, me motivara, me apoyara, me mantuviera enfocada... alguien que me amara, me apreciara, me hiciera feliz y en todo este camino me di cuenta que me estaba buscando a mí misma.

Ana Luisa

A **Dios**, por tantas bendiciones y amor que gratuitamente en cada instante de mi vida me da a manos llenas, a ti mi Dios y Señor por poner a las personas indicadas para guiarme en todos los aspectos de mi vida, por la fuerza y perseverancia y tantas otras cosas que me han ayudado a ser quien soy y cumplir esta gran meta.

A mi mamá **Angela Castañeda Arroyo** que en cada etapa de mi vida me ha sido mi guía y una de mis inspiraciones, que con su ejemplo, consejo y amoroso cuidado me enseña a cumplir mis metas y a levantarme cuando tropiezo; todas las palabras que pudiera decirle para agradecerle no serían suficientes, ni expresarían con exactitud todo lo que en mí siento, pero hay una frase que se asemeja mucho a mis sentimientos y es que te amo mucho. Gracias por ser mi mamá.

A mi papá **Ángel Silva Ayala** que le agradezco todo el amor que me tienes y por la compañía y el cuidado que me proporcionas, que a pesar de no ser tan expresivo lo comprendo, también por tus buenos ejemplos especialmente el de proteger y sin medida estar con tu familia.

A mi hermana **Manuela Silva Castañeda**, mi compañera y una de mis segundas mamás, que con tu cuidado y amor me enseñó desde pequeña a ser la mujer en la que me convertí, quizá no sería la misma no estuvieras a mi lado, que aunque la vida y la distancia nos pueda separar que amor que nuestros padres nos enseñaron a tenernos no unirá siempre, gracias Mony.

A mis tías **Susy, Peru y Carmen Castañeda Arroyo** por ser mis otras segundas mamás, cada una de ustedes me ha dado mucho amor, consejos y ánimo para realizar no solo esta meta que es muy importante para mi vida y han contribuido a que cumpliera con ello; el orden en que coloque sus nombres no es de prioridad saben que las quiero mucho a las tres y les agradezco por estar presentes en mi camino.

A mis primos y tíos **Oscar, Mario, Rafa, Migue, Lalo, Alfredo, Saúl, Evodio y Cruz**, también les agradezco por sus consejos palabras de ánimo cariño sincero y amor incondicional que sin importar la distancia y actividades particulares me he sentido sola, se que su apoyo estará siempre presente y el mío para con ustedes.

A mis amigos y amigas Jazmín Álvarez, Cristhian Ortega, Jannine Pérez y Yesenia Maya por su sincera amistad y su continua ayuda que sin ella la carrera me hubiera resultado más difícil, por compartir su vida, aprendizaje y hasta la familia conmigo, no los olvidare nunca todos forman parte de mi presente, hay situaciones que especialmente me hacen acordarme de alguna patoaventura que juntos disfrutamos, los quiero mucho.

A mi compañera de tesis y amiga Jannine que tantos momentos de trabajo junto a ti me enseñaron que las diferencias por grandes que sean se pueden superar si hay amistad verdadera, después de esta enorme prueba podemos formar parte de cualquier equipo de trabajo, aprovecho para felicitarte por titularte ahora sí eres QFB, no te rindas recuerda que con perseverancia, trabajo y amor se pueden vencer los obstáculos, mucha suerte en tu vida personal y profesional.

1. INDICE	I
1.1 Índice de diagramas de flujo	III
1.2 Índice de figuras	IV
1.3 Índice de fotografía	IV
1.4 Índice de gráfica	V
1.5 Índice de ilustraciones	V
1.6 Índice de tablas	VI
1.7 Lista de abreviaturas y símbolos	VII
2. Introducción	1
3. Marco teórico	2
3.1 Plantas medicinales	2
3.1.1 Definición	2
3.2 Aceites esenciales	8
3.2.1 Antecedentes	8
3.2.2 Definición	8
3.2.3 Generalidades físicas	8
3.2.4 Composición química	8
3.2.5 Métodos de obtención	12
3.2.6 Control de calidad de los aceites esenciales	13
3.2.7 Aceites esenciales en la industria	14
3.3 Radicales libres	15
3.3.1 Detección	16
3.3.2 Clasificación molecular	16
3.3.3 Funciones en el organismo	17
3.3.4 Daño a biomoléculas	17

3.4	Inhibidores de radicales libres	18
3.4.1	Clasificación	18
3.5	Métodos de estudio de la actividad inhibitoria de radicales libres	18
3.6	Polimerización	19
3.6.1	La reacción de condensación o por etapas	20
3.6.2	Reacción por adicción o en cadena	20
3.6.3	La polimerización por radicales libres	21
3.6.4	Iniciadores	21
3.7	Inhibición de polimerización	21
3.8	Reacción de polimerización	23
3.8.1	Reactivos	23
3.9	Índice de refracción	26
3.10	Refractividad Molar	26
4.	Objetivo General	27
4.1	Objetivos particulares	27
5.	Hipótesis	27
6.	Metodología	28
6.1	Aceites Esenciales	28
6.1.1	Material vegetal	28
6.2	Métodos de obtención de los AE	29
6.2.1	Destilación por arrastre de vapor	29
6.2.2	Hidrodestilación con trampa de Clevenger	31
6.2.3	Hidrodestilación con trampa de Dean-Stark (trampa de agua)	33
6.2.4	Expresión	34
6.3	Control de calidad de los aceites esenciales	35
6.3.1	Prueba organoléptica	36
6.3.1.1	Color	36

6.3.2	Pruebas físicas	36
6.3.2.1	Densidad (Método del picnómetro)	36
6.3.3	Pruebas espectrales	37
6.4	Metodología de la actividad inhibitoria de los radicales libres por la reacción de polimerización de MMA	37
6.4.1	Destilación de MMA	37
6.4.2	Reacción de polimerización	38
6.4.3	Prueba de la actividad inhibitoria en la reacción de polimerización	40
7.	Resultados y análisis de resultados	42
7.1	Aceite esencial	42
7.1.1	Material vegetal	42
7.1.2	Métodos de obtención	47
7.1.3	Control de calidad	49
7.2	Metodología de la actividad inhibitoria de los radicales libres por la reacción de polimerización de MMA	56
7.2.1	Reacción de polimerización	56
7.2.2	Prueba de la actividad inhibitoria en la reacción de polimerización	58
8.	Conclusión	62
9.	Prospectivas	63
10.	Referencia	64

1.1 Índice de diagramas de flujo

DIAGRAMA DE FLUJO 1. DESTILACIÓN POR ARRASTRE DE VAPOR	31
DIAGRAMA DE FLUJO 2. HIDRODESTILACIÓN CON TRAMPA DE CLEVINGER	32
DIAGRAMA DE FLUJO 3. HIDRODESTILACIÓN CON TRAMPA DE DEAN–STARK	33
DIAGRAMA DE FLUJO 4. EXPRESIÓN (PRENSADO DE CÍTRICOS)	35
DIAGRAMA DE FLUJO 5. DESTILACIÓN METACRILATO DE METILO	38
DIAGRAMA DE FLUJO 6. POLIMERIZACIÓN TIEMPO 0 MIN	39
DIAGRAMA DE FLUJO 7. REACCIÓN DE POLIMERIZACIÓN	40

1.2 Índice de figuras

FIGURA 1. ESQUEMA DE LAS RUTAS BIOSINTÉTICAS DE LOS COMPONENTES PRINCIPALES DE ACEITES ESENCIALES.....	11
FIGURA 2. REACCIÓN DE CONDENSACIÓN NYLON 66.....	20
FIGURA 3. MECANISMO DE LA REACCIÓN DE POLIMERIZACIÓN DEL METACRILATO DE METILO	25
FIGURA 4. CONTROL DE CALIDAD DE LOS ACEITES ESENCIALES	35
FIGURA 5. ESPECTRO DE ABSORCIÓN INFRARROJA DE ACEITE ESENCIAL DE AJENJO	102
FIGURA 6. ESPECTRO DE ABSORCIÓN INFRARROJA DE ACEITE ESENCIAL DE ANÍS ESTRELLA.....	103
FIGURA 7. ESPECTRO DE ABSORCIÓN INFRARROJA DE ACEITE ESENCIAL DE CANELA	104
FIGURA 8. ESPECTRO DE ABSORCIÓN INFRARROJA DE ACEITE ESENCIAL DE COMINO	105
FIGURA 9. ESPECTRO DE ABSORCIÓN INFRARROJA DE ACEITE ESENCIAL DE ENEBRO.....	106
FIGURA 10. ESPECTRO DE ABSORCIÓN INFRARROJA DE ACEITE ESENCIAL DE EPAZOTE	107
FIGURA 11. ESPECTRO DE ABSORCIÓN INFRARROJA DE ACEITE ESENCIAL DE LAUREL.....	108
FIGURA 12. ESPECTRO DE ABSORCIÓN INFRARROJA DE ACEITE ESENCIAL DE LAVANDA FLOR.....	109
FIGURA 13. ESPECTRO DE ABSORCIÓN INFRARROJA DE ACEITE ESENCIAL DE LAVANDA.....	110
FIGURA 14. ESPECTRO DE ABSORCIÓN INFRARROJA DE ACEITE ESENCIAL DE NUEZ MOSCADA.....	111
FIGURA 15. ESPECTRO DE ABSORCIÓN INFRARROJA DE ACEITE ESENCIAL DE PERICÓN.....	112
FIGURA 16. ESPECTRO DE ABSORCIÓN INFRARROJA DE ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO	113
FIGURA 17. ESPECTRO DE ABSORCIÓN INFRARROJA DE ACEITE ESENCIAL DE PIMIENTA	114
FIGURA 18. ESPECTRO DE ABSORCIÓN INFRARROJA DE ACEITE ESENCIAL DE ROMERO	115
FIGURA 19. ESPECTRO DE ABSORCIÓN INFRARROJA DE ACEITE ESENCIAL DE RUDA.....	116
FIGURA 20. ESPECTRO DE ABSORCIÓN INFRARROJA DE ACEITE ESENCIAL DE SEMILLA DE CARDAMOMO.....	117
FIGURA 21. ESPECTRO DE ABSORCIÓN INFRARROJA DE ACEITE ESENCIAL DE SEMILLA DE CILANTRO.....	118
FIGURA 22. ESPECTRO DE ABSORCIÓN INFRARROJA DE ACEITE ESENCIAL DE TORONJA	119
FIGURA 23. ESPECTRO DE ABSORCIÓN INFRARROJA DE ACEITE ESENCIAL DE TORONJIL BLANCO	120
FIGURA 24. ESPECTRO DE ABSORCIÓN INFRARROJA DE ACEITE ESENCIAL DE TORONJIL MORADO	121

1.3 Índice de fotografía

FOTOGRAFÍA 1. EQUIPO DE DESTILACIÓN POR ARRASTRE DE VAPOR.....	30
FOTOGRAFÍA 2. EQUIPO DE HIDRODESTILACIÓN CON TRAMPA DE CLEVANGER.....	32
FOTOGRAFÍA 3. EQUIPO DE HIDRODESTILACIÓN CON TRAMPA DE DEAN-STARK	33
FOTOGRAFÍA 4. PRENSADO DE CRÍTICOS	34
FOTOGRAFÍA 5. DESTILACIÓN DE METACRILATO DE METILO	38
FOTOGRAFÍA 6. REFRACTÓMETRO ZEIGER, SOLAR TIPO ABBE.....	41

FOTOGRAFÍA 7. EQUIPO DE LA PRUEBA <i>IN VITRO</i> DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA DE LOS AE	59
FOTOGRAFÍA 8. AJENJO. <i>ARTEMISIA ABSINTHIUM</i> L	72
FOTOGRAFÍA 9. ANÍS ESTRELLA. <i>ILLCIUM VERUM HOOKER</i>	73
FOTOGRAFÍA 10.CANELA. <i>CINNAMOMUM ZEYLANICUM NEES</i>	74
FOTOGRAFÍA 11.CLAVO. <i>SYZYGIUM AROMATICUM (L.) MERRIL & L.M. PERRY</i>	75
FOTOGRAFÍA 12. COMINO. <i>COMINUM CYMINUM</i> L.....	76
FOTOGRAFÍA 13. ENEBRO. <i>JUNIPERUS SSP.</i>	77
FOTOGRAFÍA 14.EPAZOTE. <i>TELOXYS AMBROSIODES (L.) W.A. WEBER</i>	78
FOTOGRAFÍA 15. EUCALIPTO. <i>EUCALYPTUS CAMALDULENSIS DEHNH</i>	79
FOTOGRAFÍA 16. LAUREL. <i>LITSEA GLAUDESCENS H.B.K.</i>	80
FOTOGRAFÍA 17. LAVANDA. <i>LAVANDULA DENTATA</i>	81
FOTOGRAFÍA 18. NUEZ MOSCADA. <i>MYRISTICA FRAGANS HOUTT</i>	82
FOTOGRAFÍA 19. ORÉGANO. <i>LIPPIA GRAVEOLENS KUNT</i>	83
FOTOGRAFÍA 20. PERICÓN. <i>TAGETES LUCIDA CAV.</i>	84
FOTOGRAFÍA 21.PIMIENTA. <i>PIMENTA DIOICA (L.) MERRIL</i>	85
FOTOGRAFÍA 22. PIRUL. <i>SCHINUS MOLLE L.</i>	86
FOTOGRAFÍA 23.POLEO. <i>CUNILA LYTHRIFOLIA BENTH</i>	87
FOTOGRAFÍA 24.ROMERO. <i>ROSMARINUS OFFICINALIS L.</i>	88
FOTOGRAFÍA 25.RUDA. <i>RUTA CHALEPENSIS L.</i>	89
FOTOGRAFÍA 26. SEMILLAS DE CARDAMOMO. <i>ELETTARIA CARDAMOMUM (L.) MATON</i>	90
FOTOGRAFÍA 27.SEMILLAS DE CILANTRO. <i>CORIANDRUM SATIVUM L.</i>	91
FOTOGRAFÍA 28.TÉ LIMÓN. <i>CYMBOPOGON CITRATUS (DC. EX NEES) STAPF</i>	92
FOTOGRAFÍA 29.TORONJA. <i>CITRUS X PARADISI MACFADY</i>	93
FOTOGRAFÍA 30.TORONJIL BLANCO. <i>AGASTACHE MEXICANA (KUNTH). LINT & EPLING SSP. XOLOCOTZI</i>	94
FOTOGRAFÍA 31.TORONJIL MORADO. <i>AGASTACHE MEXICANA (KUNTH). LINT & EPLING</i>	95

1.4 Índice de gráfica

GRÁFICA 1. RELACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN Y SU FRACCIÓN MOLAR DE MMA.....	57
GRÁFICA 2. FRACCIÓN MOLAR DE CADA ACEITE ESENCIAL.....	59
GRÁFICA 3. COMPORTAMIENTO INHIBITORIO DE LOS ACEITES ESENCIALES	61

1.5 Índice de ilustraciones

ILUSTRACIÓN 1. EQUIPO DE HIDRODESTILACIÓN.....	13
ILUSTRACIÓN 2. CERTIFICADO DEL HERBARIO IZTA.....	96

ILUSTRACIÓN 3. CERTIFICADO DE HERBARIO IZTA	97
ILUSTRACIÓN 4. CERTIFICADO DE HERBARIO IZTA	98
ILUSTRACIÓN 5. CERTIFICADO DE HERBARIO IZTA	99
ILUSTRACIÓN 6 CERTIFICADO DE HERBARIO IZTA.....	100
ILUSTRACIÓN 7. TABLAS DE MUNSEL.....	126
ILUSTRACIÓN 8. TABLAS DE MUNSELL	126
ILUSTRACIÓN 9. TABLAS DE MUNSELL	126

1.6 Índice de imágenes

IMAGEN 1. ESPECIES REACTIVAS	16
IMAGEN 2. CURVAS DE INHIBICIÓN Y RETARDO	22
IMAGEN 3. ÍNDICE DE REFRACCIÓN	26

1.7 Índice de tablas

TABLA 1. CARACTERÍSTICAS DE LAS PLANTAS MEDICINALES	3
TABLA 2. COMPONENTES COMUNES DE LOS ACEITES ESENCIALES	9
TABLA 3. PARÁMETROS UTILIZADOS PARA EL CONTROL DE CALIDAD DE LOS ACEITES ESENCIALES	14
TABLA 4. INDUSTRIAS USUARIAS DE PRODUCTOS AROMÁTICOS NATURALES Y ACEITES ESENCIALES	14
TABLA 5. PROPIEDADES FÍSICAS DEL PERÓXIDO DE BENZOILO	23
TABLA 6. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL MONÓMERO DE METACRILATO DE METILO	23
TABLA 7. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL POLÍMERO DE METACRILATO DE METILO	24
TABLA 8. CONDICIONES DE LA MATERIA PRIMA.....	29
TABLA 9. CRITERIOS DE SELECCIÓN DEL MÉTODO DE OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES	29
TABLA 10. LISTADO DE PLANTAS.....	42
TABLA 11. LUGAR DE ADQUISICIÓN DE LA MATERIA PRIMA	43
TABLA 12. IDENTIFICACIÓN ETNOBOTÁNICA	45
TABLA 13. CONDICIONES DEL MATERIAL VEGETAL PREVIAS A LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL	46
TABLA 14. MÉTODOS DE OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL	47
TABLA 15. COLOR	49
TABLA 16. PARÁMETROS FÍSICOS	50
TABLA 17. ESPECTRO DE ABSORCIÓN INFRARROJA DE ACEITE ESENCIAL DE CLAVO.....	52
TABLA 18. ESPECTRO DE ABSORCIÓN INFRARROJA DE ACEITE ESENCIAL DE ANÍS ESTRELLA.....	53
TABLA 19. ESPECTRO DE ABSORCIÓN INFRARROJA DE ACEITE ESENCIAL DE EUCALIPTO	54
TABLA 20. ESPECTRO DE ABSORCIÓN INFRARROJA DE ACEITE ESENCIAL DE POLEO	55
TABLA 21. CONDICIONES DEL ENSAYO IN VITRO	56

TABLA 22. ÍNDICES DE REFRACCIÓN DEL MMA EN FUNCIÓN DEL TIEMPO	57
TABLA 23. ENSAYO IN VITRO DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA DE LOS ACEITES ESENCIALES	58
TABLA 24. CAPACIDAD DE INHIBICIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES	60
TABLA 25. INFORMACIÓN ESTADÍSTICA DE INTERVALOS DE CONFIANZA DE LA CAPACIDAD INHIBITORIA DE AE 61	
TABLA 26. FRACCIÓN MOLAR DE MMA.....	123
TABLA 27. FRACCIÓN MOLAR DEL MMA PARA CADA ACEITE ESENCIAL	124

Anexos

ANEXO 1	71
ANEXO 2.....	101
ANEXO 3.....	122
ANEXO 4.....	125

1.8 Lista de abreviaturas y símbolos

ADN: Acido desoxirribonucleico

AE: Aceite esencial

ABTS: 2,2´Azino-*bis*-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato) de amonio

ERN: Especies reactivas de nitrógeno

ERO: Especies reactivas de oxígeno

DDPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo

FRAP: Ferric reducing ability of plasma (Poder de reducción antioxidante del ion férrico)

g: Gramo

mL: mililitro

MMA: Metacrilato de metilo

OMS: Organización Mundial de la Salud

CG: Cromatografía de gases

EM: Espectrofotometría de masas

RMN: Resonancia magnética nuclear

RSE: Resonancia de spin electrónico

CAT: Catalasa

SOD: Superóxidodismutasa

GSH-PX: Glutatiónpoxidasa

ORAC: Actividad de absorción de radicales de oxígeno

R: Especie radical

Trolox o TEAC: Equivalente a la capacidad antioxidante

PMMA: Polímero de metacrilato de metilo

FHEUM: Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos

NMX: Norma mexicana

O₂: Oxígeno

H₂O₂: Peróxido de hidrógeno

⁻OH: ión hidroxilo

NaClO: Hipoclorito de sodio

1. Introducción

Las plantas aromáticas medicinales en México han recobrado importancia en la industria farmacéutica, alimentaria y cosmética, debido al aprovechamiento de los recursos naturales en países desarrollados en los que se realizan estudios donde se demuestra que tienen sustancias con potencial terapéutico y preventivo.

A pesar de la invasión farmacológica (medicina alópata) mundial, las personas siguen recurriendo a las plantas medicinales para aliviar sus enfermedades comunes.

Un reporte de la Organización Mundial de la Salud (OMS) indica que en algunos países asiáticos y africanos el 80% de la población depende de la medicina tradicional para recibir atención primaria de salud; en países desarrollados del 70% - 80% de la población ha recurrido alguna vez a una forma de medicina alternativa o complementaria (la acupuntura, herbolaria, etc.), por lo que la OMS y sus Estados Miembros están promoviendo el uso de la medicina tradicional en la atención de salud. (Xiaorui, 2002)

La medicina tradicional posee una práctica milenaria, que demuestra que hay reducción de los efectos adversos o secundarios en comparación con tratamientos de la medicina alópata.

La actividad biológica de las plantas medicinales se atribuye a los metabolitos secundarios, que las constituyen como: glicósidos, cumarinas, flavonoides, aceites esenciales, etc., cuya actividad antioxidante, entre otras, ha sido relevante en los últimos tiempos.

En la actualidad existe en los seres vivos, enfermedades como cáncer, diabetes, estrés oxidativo y hasta el envejecimiento prematuro, que son causadas por diversos agentes, como los radicales libres que se encuentran en el ambiente, pero también son generados por el organismo mismo, llevando a cabo reacciones de oxido-reducción en las células, promoviendo un gran número de enfermedades, es por estas razones que los antioxidantes son importantes para el mantenimiento de la salud; así la inquietud del grupo de investigación del Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica L-324 de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán se dio a la tarea de desarrollar un ensayo *in vitro* que permita evaluar la actividad inhibitoria de radicales libres con aceites esenciales de plantas medicinales aromáticas.

2. Marco teórico

3.1 Plantas medicinales

Durante mucho tiempo las plantas han tenido una aplicación fármaco-terapéutica, en la actualidad la demanda socioeconómica ha obligado a la producción a gran escala en las zonas de origen, pero el cultivo resulta excesivamente lento o difícil y la explotación de la flora espontánea puede inducir a la extinción de algunas especies vegetales, promoviendo así, la búsqueda de los principios activos en otras fuentes vegetales o por medio de síntesis química. En la actualidad, el cultivo de las plantas medicinales tiene por objeto incrementar la producción de las especies vegetales y un alto grado de homogeneidad.

De las plantas medicinales que se comercializan en las principales ciudades y algunas regiones del país (aproximadamente 350 especies) ya sean frescas, secas, enteras, partes de ella o en mezclas diversas, son adquiridas en puestos de herbolaria de los mercados populares, plazas dominicales, etc., de casi 4000 especies que son empleadas por la población mexicana, alrededor de 250 de ellas han sido validadas farmacológica y clínicamente, 1500 son utilizadas regularmente sin procesar, pero lo más importante es que éstas, forman parte de unas 3600 especies medicinales silvestres que se colectan o se cultivan en un huerto familiar o comercial, es por todo esto, que todavía hay mucho trabajo por realizar para apoyar la medicina tradicional mexicana.(Zepeda, 2002)

3.1.1 Definición

Según la OMS es toda planta que en uno o más de sus órganos contiene sustancias que pueden ser utilizadas con fines terapéuticos;(Kuklinski, 2003) establece que las plantas medicinales son cualquier vegetal que contenga, en cualquiera de sus órganos, alguna sustancia con actividad farmacológica que se pueda utilizar con fines terapéuticos o que se pueda emplear como prototipo para obtener nuevos fármacos por síntesis o hemisíntesis farmacéutica.

Las plantas medicinales que son utilizadas para la obtención de aceite esencial comúnmente son las plantas herbáceas.

Algunas de las familias de plantas más importantes generadoras de aceite esencial por su alta concentración de terpenos son:

- Lauráceas
- Mirtáceas
- Pináceas
- Rosáceas
- Rutáceas
- Umbelíferas

En la tabla 1 se muestra algunos ejemplos de plantas medicinales con la descripción de sus características importantes.

TABLA 1. Características de las plantas medicinales

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE POPULAR	FAMILIA BOTÁNICA	FARMACOLOGÍA TERAPÉUTICA	DESCRIPCIÓN	FACTORES CLIMÁTICOS	COMPONENTES
<i>Artemisia absinthium</i> L.*	Ajenjo	<i>Asteraceae/ Compositae</i>	Antibiótico, relajante y estimulante de músculo liso	Hojas blancas-gris-verde, flores amarillentas, frutos secos y comprimidos	Clima cálido-templado	Linalool, α -tuyona, acetato de sabinilo o crisantenilo
<i>Illicium verum</i> Hooker*	Anís estrella	<i>Illiciaceae</i>	Acción antibiótica, antifúngica, antiviral	Hojas largas verdes y lustrosas	Clima cálido	Limoneno, <i>trans</i> -anetol, estragol, α -pineno, linalool
<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Nees*	Canela	Lauraceae	Actividad antibiótica, relajante y espermaticida	Hojas lustrosas, flexibles y rosáceas	Clima cálido-templado	Cinamaldehído, acetato de cinamilo, eugenol, alcanfor, limoneno
<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merril & L.M. Perry*	Clavo	<i>Myrtaceae</i>	Actividad antiinflamatoria	Hojas verdes oscuro en el anverso, puntiagudas, flores blancas y azules	Regiones tropicales	Eugenol, geraniol, cuminaldehído, fenchona, β -pineno
<i>Cominum cyminum</i> L.	Comino	<i>Apiaceae/ Umbelliferae</i>	Actividad antimicrobiana, fungicida, antiséptico y antidiarreico	Flores blancas o lilas, la semilla de comino es el fruto	Clima cálido-templado	Cumaldehidos, cuminaldehido, cumeno
<i>Juniperu</i> ssp.	Enebro	<i>Cupressaceae</i>	Utilizado como ingrediente aromatizante de la ginebra	Hojas escamosas, verde-grisáceo, frutos con aspecto de bayas aromáticas	Clima cálido.	Sabineno, canfeno, α -fenqueno, α -pineno

Continuación Tabla 1. Características de las plantas medicinales.

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE POPULAR	FAMILIA BOTÁNICA	FARMACOLOGÍA TERAPÉUTICA	DESCRIPCIÓN	FACTORES CLIMÁTICOS	COMPONENTES
<i>Teloxys ambrosioides</i> (L.) W.A. Weber Sin: <i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	Epazote	<i>Chenopodiaceae</i>	Actividad antiparasitaria, padecimientos gástricos, antihelmíntica, antibiótica y fungicida	Hojas verdes o purpúreas, aromáticas con bordes irregulares, flores pequeñas en racimos delgados	Clima cálido-templado	Ascaridol, <i>p</i> -cimeno, limoneno, mirceno, β -pineno, alcanfor, safrol
<i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh.	Eucalipto	<i>Myrtaceae</i>	Actividad en las vías respiratorias (descongestión)	Hojas adultas falciformes y juveniles lanceoladas blanco-azulado, flores hermafroditas	Zonas pantanosas y húmedas	Eucaliptol (cineol), α -pineno, limoneno
<i>Litsea glaucescens</i> H.B.K.	Laurel	<i>Lauraceae</i>	Actividad antifúngico, bactericida. Efecto en trastornos estomacales y espasmos	Hojas puntiagudas brillantes, flores amarillentas, frutos globosos pequeños y negros	Clima cálido-templado	Linalool, cineol
<i>Lavandula dentata</i> L.	Lavanda	<i>Lamiaceae/Labiatae</i>	Antiespasmódica, diurética, hipotensora, antiséptica, cicatrizante. En perfumería y cosmética	Hojas lineares, flores en espiga laxas terminadas por un penacho de hojas a ovaladas violetas	Clima cálido	<i>o</i> -cimeno, canfeno, dipenteno, linalool, geraniol, cineol, borneol y alcanfor
<i>Myristica fragrans</i> Houtt.	Nuez moscada	<i>Myristicaceae</i>	Alucinógeno	Hojas largas, flores pequeñas, frutos olorosos y redondos	Clima cálido-semicálido	Sabineno, safrol, miristicina

Continuación Tabla 1. Características de las plantas medicinales.

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE POPULAR	FAMILIA BOTÁNICA	FARMACOLOGÍA TERAPÉUTICA	DESCRIPCIÓN	FACTORES CLIMÁTICOS	COMPONENTES
<i>Lippia graveolens Kunth</i>	Orégano	<i>Verbenaceae</i>	Efecto antitusivo y abortivo	Hojas suaves al tacto, flores alargadas y blancas	Clima cálido-templado	Carvacol, borneol, canfeno, cineol, eugenol
<i>Tagetes lucida Cav.</i>	Pericón	<i>Asteraceae/ Compositae</i>	Efecto hipotensor, diurético y antibiótico	Hojas verde oscuro, flores agrupadas en racimo amarillentas	Clima cálido-seco-templado	Estragol
<i>Pimenta dioica (L.) Merril.</i>	Pimienta	<i>Myrtaceae</i>	Actividad antifúngica y antibiótica	Hojas lustrosas y aromáticas, flores en racimos	Clima cálido-semicálido	δ -cadineno, cineol, limoneno, eugenol, α -pineno
<i>Schinus molle L.</i>	Pirul	<i>Anacardiceae</i>	Actividad antibacterial, hipotensora	Hojas pequeñas y alargadas, flores pequeñas color crema, frutos pequeños rosas	Clima cálido-templado	Carvacrol, geraniol, piperina
<i>Cunila lythrifolia Benth. *</i>	Poleo	<i>Lamiaceae/Labiatae</i>	Enfermedades del aparato respiratorio y digestivo	Hojas largas, con olor a menta, flores púrpura-azulosas, frutos ovalados amarillos	Clima cálido-templado	Clovandiol, acacetina
<i>Rosmarinus officinalis L. *</i>	Romero	<i>Lamiaceae/Labiatae</i>	Espasmolítico, hepatoprotector, antiinflamatorio, antiséptico y cicatrizante	Hojas verde oscuras, por debajo blanquecinas, flores de color azul o violáceas pálidos	Clima cálido-seco	1,8-cineol, α -pineno, alcanfor

Continuación Tabla 1. Características de las plantas medicinales.

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE POPULAR	FAMILIA BOTÁNICA	FARMACOLOGÍA TERAPÉUTICA	DESCRIPCIÓN	FACTORES CLIMÁTICOS	COMPONENTES
<i>Ruta chalepensis</i> L.*	Ruda	<i>Rutaceae</i>	Actividad útero-constrictora y estimulante de contracciones uterinas, abortiva	Hojas compuestas de hojitas finas verde-azul, flores amarillas	Clima cálido-templado	Rutina α y β -pineno, mirceno, canfeno
<i>Elettaria cardamomum</i> (L.) Maton	Semilla de cardamomo	<i>Zingiberaceae</i>	Actividad estimulante y carminativa	Hojas envainadas, alternas, lanceoladas, flores blancas-amarillas	Clima cálido-húmedo	Limoneno, cineol, borneol
<i>Coriandrum sativum</i> L.	Semilla de Cilantro	<i>Apiaceae/ Umbelliferae</i>	Actividad antibiótica, potenciadora del barbitúrico, relajante	Hojas olorosas, flores blancas-lilas	Clima cálido-templado	Alcanfor, borneol, canfenol, cineol, geraniol, limoneno, linalool
<i>Cymbopogon citratus</i> (DC. ex Nees) Stapf	Té limón	<i>Poaceae/ Graminae</i>	Actividad antiinflamatoria del aparato gástrico, antiespasmódico, eupéptico, antibiótica y diurético	Hojas alargadas, ásperas verdes, flores agrupadas en espigas	Clima cálido-templado	Geraniol, alcanfor, citral, citronelol, limoneno, acetato de nerol, cimbopogona, mentol, mentona

Continuación Tabla 1. Características de las plantas medicinales.

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE POPULAR	FAMILIA BOTÁNICA	FARMACOLOGÍA TERAPÉUTICA	DESCRIPCIÓN	FACTORES CLIMÁTICOS	COMPONENTES
<i>Citrus x paradisi Macfady</i>	Toronja	<i>Rutaceae</i>	Actividad astringente o antidiarreica y fungicida	Hojas ovales, flores blancas aromáticas, frutos grandes globosos amarillo-naranja	Clima cálido-templado	Sabineno, mirceno, limoneno, geraniol, linalool, citronela, β-pineno
<i>Agastache mexicana (Kunth.) Lint. & Epling ssp. xolocotzi</i>	Toronjil blanco	<i>Lamiaceae/Labiatae</i>	Relajante, problemas gástricos, tos, diarrea	Hojas forma de lanza con bordes dentados con pelos por el envés, flores en racimo terminales con forma tubular de color blanco	Clima cálido-templado	Limoneno, mentona, isopulegona, pulegona
<i>Agastache mexicana (Kunth.) Lint & Epling</i>	Toronjil morado	<i>Lamiaceae/Labiatae</i>	Relajante, problemas gástricos, tos, diarrea	Hojas forma de lanza con bordes dentados con pelos por el envés, flores en racimo terminales con forma tubular de color rojo morado, frutos color café	Clima cálido-templado	Limoneno, linalool, metilchavicol

Fuente:(Valdés, Talavera, & Fernández Galiano)(Fonnegra G. & Jiménez Ramírez, 2014)(Infojardin, 2012)(Gutierrez Durán, 1994)(UNAM, 2013)

3.2 Aceites esenciales

3.2.1 Antecedentes

El término “aceite esencial” se utiliza por primera vez en el siglo XVI por Paracelso (médico y farmacéutico) quien utilizó aceites esenciales como medicamentos y los consideró como la “quintaesencia” o elemento inmaterial presente en todo ser, propuesta por Aristóteles dos mil años antes y que junto a la tierra, el aire, el agua y el fuego constituyen los elementos fundamentales que forman todo ser vivo o inanimado, según la teoría aristotélica.

Entre los siglos XVI y XVII, se obtuvieron por primera vez en las farmacias de todo el mundo, la mayor parte de los aceites esenciales de que se dispone en la actualidad. (Ortuño Sánchez, 2006)

3.2.2 Definición

Los aceites esenciales se definen como una mezcla compleja de sustancias químicas volátiles, que tienen la capacidad de generar olor y sabor; su composición química es variada, principalmente se basa en componentes de origen terpenoide, sobre todo mono y sesquiterpenos, y fenilpropanoides entre otros. Los aceites esenciales generalmente se obtienen por destilación por arrastre de vapor o prensado de plantas o partes de ellas (hojas, flores, pericarpio, frutos, semillas o raíces).

3.2.3 Generalidades físicas

Son líquidos translúcidos a temperatura ambiente, volátiles, incoloros, amarillos o ligeramente amarillos, menos densos que el agua, solubles en disolventes orgánicos e insolubles en agua, el estado de agregación de algunos aceites esenciales es modificado a temperatura baja, presentando punto de congelación como el aceite de anís estrella. (Trease & Eduard, 1982)

La coloración de los aceites esenciales de ajeno y manzanilla es excepcional; el primero es verde oscuro y el segundo azul. Algunos aceites como clavo y canela son más densos que el agua.

3.2.4 Composición química

La composición de los aceites esenciales depende de varios factores como: el origen botánico, el ciclo vegetal (la composición y proporción varían según la fase), las condiciones ambientales, las características del cultivo y el procedimiento de obtención.

Los componentes se pueden clasificar en terpenoides y no terpenoides:

Los **terpenoides** son hidrocarburos acíclicos y cíclicos cuyas formas moleculares son múltiples, fórmulas condensadas de unidades isoprenoides, que constituyen un conjunto amplio de metabolitos secundarios típicos de las plantas medicinales y otros vegetales; éstos se encuentran almacenados en ciertas plantas por lo que

presentan interés taxonómico; además son las moléculas más representativas constituyendo el 90% de los aceites esenciales. (Arraiza Bermúdez Cañete, 2011)

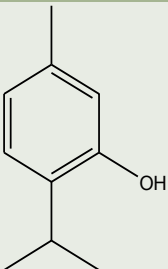
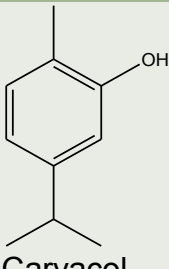
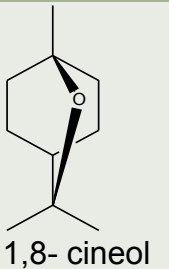
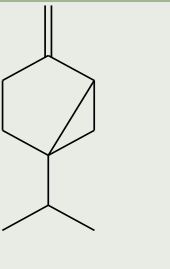
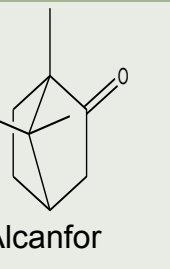

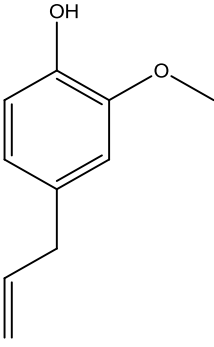
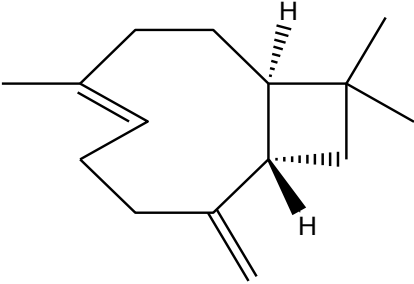
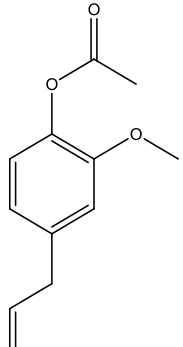
Los **no terpenoides** son sustancias alifáticas de cadena corta, suelen ser hidrocarburos o sustancias con función oxigenada, como: los fenilpropanoides (C₆-C₃), compuestos con estructura C₆-C₁, derivados cumarínicos, y algunos otros componentes con nitrógeno o con azufre.

Las sustancias C₆-C₁ y C₆-C₃ son sustancias volátiles de bajo peso molecular, generalmente oxigenadas, con funciones de alcoholes, aldehídos, fenoles, ácidos o éteres.

Sustancias nitrogenadas: son poco frecuentes, hay aminas alifáticas volátiles (metilamina, etilamina, etc.), las sustancias con azufre: son menos frecuentes que las nitrogenadas. Ciertas especies contienen isotiocianatos y otras contienen sulfuros o disulfuros.

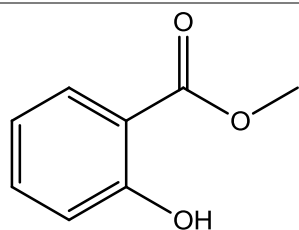
En la tabla 2. Se esquematiza la clasificación de los compuestos presentes en los aceites esenciales y ejemplos.

Tabla 2. Componentes comunes de los aceites esenciales

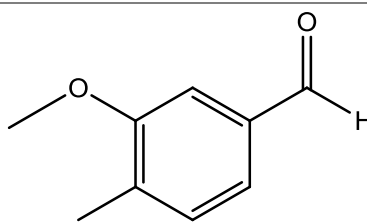
Terpenos					
					
Timol	Carvacol	1,8- cineol	Sabineno	Alcanfor	α-pineno
No terpenos					
Sustancias C ₆ - C ₃					
					
Eugenol	β-cariofileno	Acetato de isoeugenol			

Continuación de la Tabla 2. Componentes comunes de los aceites esenciales

Sustancias C₆ – C₁

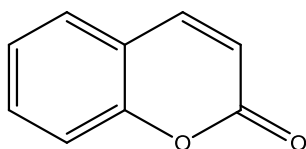


Salicilato de metilo

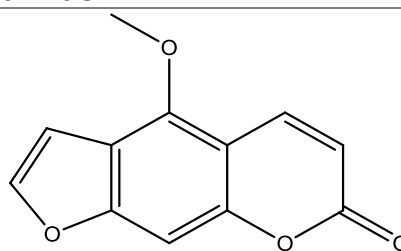


Vainillina

Cumarinas

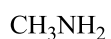


Cumarina

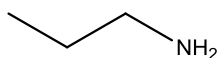


Bergapteno

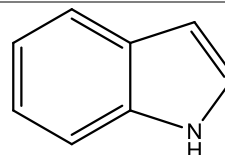
Sustancias Nitrogenadas



Metilamina

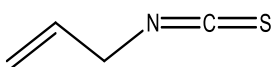


Propilamina

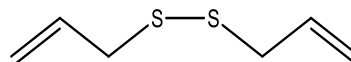


Indol

Sustancias con azufre



Isotiocianato de alilo



Disulfuro de dialilo

En el siguiente esquema se muestra una propuesta de ruta biosintética para la síntesis de terpenos a través del ácido mevalónico, para visualizar su formación, teniendo como intermediario al isopentenil pirofosfato para la formación de mono, sesqui, tri y tetraterpenos.

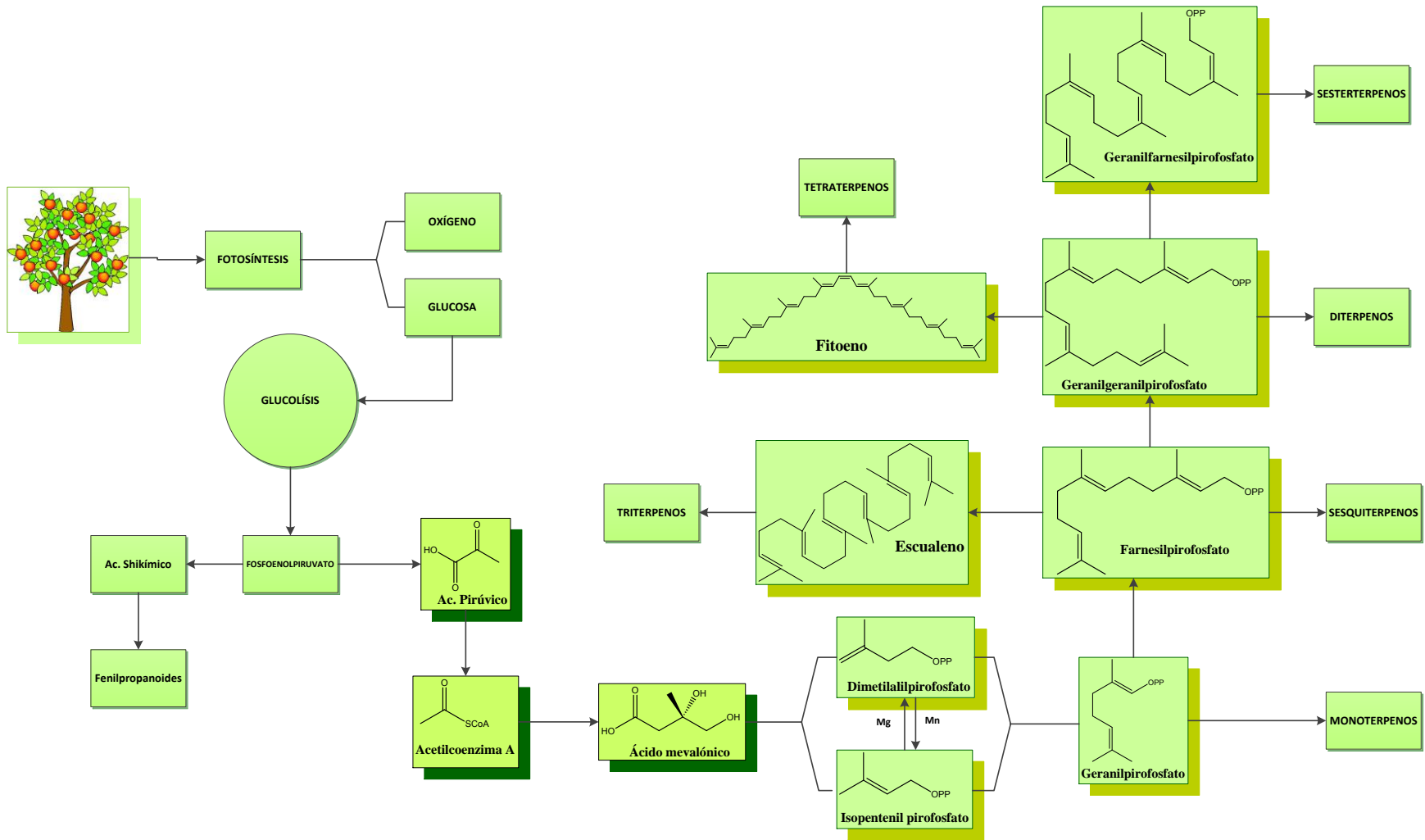


Figura 1. Esquema de las rutas biosintéticas de los componentes principales de aceites esenciales

3.2.5 Métodos de obtención

Los aceites esenciales se pueden extraer de las materias vegetales mediante varios métodos como:

- Extracción con disolventes orgánicos
- Enfleurage
- Extracción con fluidos supercríticos
- Hidrodestilación con método de Clevenger
- Expresión de pericarpio
- Destilación por arrastre de vapor

3.2.5.1 Extracción con disolventes orgánicos

La materia prima seca se pone en contacto con el disolvente orgánico que penetra en la muestra y solubiliza las sustancias, se aplica agitación para mejorar la eficiencia de la operación, los disolventes se recuperan post-destilación y así se obtiene el aceite esencial (Sánchez Castellanos, 2006). La desventaja de este método es que el disolvente puede solubilizar pigmentos; sustancias no propias de los aceites esenciales.

3.2.5.2 Enfleurage (enflorado)

Es empleado para la obtención de esencias florales; la materia prima es puesta en contacto con un aceite vegetal, la esencia es solubilizada en este último hasta la saturación, se obtiene una mezcla que es separada por alcohol etílico.

3.2.5.3 Extracción con fluidos supercríticos

Se hace circular un líquido supercrítico (gas a presión y temperatura superiores a su punto crítico) a través de la materia prima, que solubiliza y arrastra las esencias; se elimina el líquido supercrítico por eliminación de las condiciones supercríticas hasta alcanzar la presión y temperatura ambiente, obteniendo la esencia pura. (Martínez M., 2001)

3.2.5.4 Hidrodestilación con método de Clevenger

La Hidrodestilación simple consiste en sumergir directamente el material vegetal a tratar, previamente triturado, en un recipiente con agua que a continuación se somete a ebullición. Los vapores heterogéneos se condensan sobre una superficie fría y el aceite esencial se separa por diferencia de densidad. (Camacho, Morales, Sánchez, Velázquez, & Ángeles, en revisión)

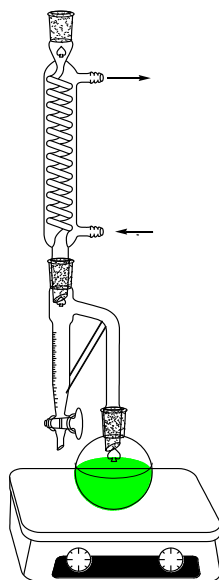


Ilustración 1. Equipo de hidrodestilación

Fuente: (Camacho, Morales, Sánchez, Velázquez, & Ángeles, en revisión)

3.2.5.5 Expresión de pericarpio

La corteza de los cítricos es exprimida mecánicamente para liberar el aceite, se deja caer un rocío de agua que arrastra el aceite; se separan por diferencia de densidades. (Rodríguez Álvarez, Alcaraz Meléndez, & Real Cosío, 2012)

3.2.5.6 Extracción por arrastre de vapor

Se lleva a cabo la vaporización selectiva del componente volátil del resto que no es volátil, en esta técnica el vegetal no está en contacto con el agua, el vapor de agua se inyecta a través de la masa vegetal.

Esta técnica solo se puede aplicar para materiales insolubles en agua, ya que el producto destilado volátil formará dos capas al condensarse, lo cual permitirá la separación del producto del agua. (Bruneton, 2001)

3.2.6 Control de calidad de los aceites esenciales

Los aceites esenciales son matrices complejas que necesitan analizarse por diferentes técnicas para garantizar la calidad, seguridad del consumidor y su comercialización. Por lo tanto, hay una amplia gama de técnicas analíticas disponibles (organolépticos, físicos, químicos, cromatográficos y análisis espectroscópico) (tabla 3). El análisis olfativo generalmente lo efectúa un evaluador entrenado, comparándolo con un estándar de la muestra. Los análisis físico y organoléptico son técnicas simples, baratas y rápidas para identificar falsificaciones de manera burda y no finas. (Tiên Do, Hadji-Minaglou, Antoniotti, & Fernández, 2015)

Tabla 3. Parámetros utilizados para el control de calidad de los aceites esenciales

Características organolépticas	Olor Color
Determinaciones físicas	Densidad Miscibilidad en etanol Índice de refracción Poder rotatorio
Índices químicos	Índice de acidez Índice de fenoles Índice de esteres Determinación de aldehídos y cetonas
Cromatografía	Cuantificación de los componentes principales Análisis por cromatografía de gases (CG-EM,CG)
Espectrofotometría	Ultravioleta Infrarrojo
Espectroscopia	RMN

Fuente:(Díaz Fajardo, 2007)

3.2.7 Aceites esenciales en la industria

Son ampliamente empleados como materias primas en las industrias: Cosmética, Alimentaria, Farmacéutica, etc.

Tabla 4. Industrias usuarias de productos aromáticos naturales y aceites esenciales

Industrias	Aplicaciones
Alimenticia	Salsas
	Condimentos
	Bebidas refrescantes
	Alimentos procesados y enlatados
Licorera	Aperitivos
	Saborizantes
Cosmética	Perfumes
	Dentífricos
	Crema, lociones
Farmacéutica	Veterinaria
	Antisépticos
	Analgésicos
	Aromaterapia

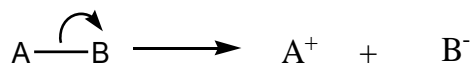
Continuación Tabla 4. Industrias usuarias de productos aromáticos naturales y aceites esenciales

Industrias	Aplicaciones
Uso doméstico	Desodorantes
	Desinfectantes de ambiente
	Jabones
Pinturas	Enmascaradores de olores
	Disolventes biodegradables
Petroquímica y minería	Utiliza esencias o terpenos derivados de ellas como vehículos flotantes y lubricantes
Textil	Elaboración de enmascaradores de olores
	Tratamiento con mordientes después del teñido
Agroquímica	Bioinsecticidas
	Aleloquímicos

3.3 Radicales libres

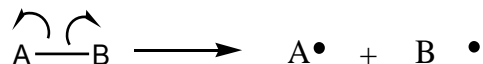
Los radicales libres son especies químicas muy reactivas, que tienen al menos un electrón desapareado en sus orbitales exteriores y tienden a captar un electrón de otros átomos con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica.

Virtualmente todos los enlaces químicos están formados por dos electrones, que pueden romperse de dos formas diferentes; en la primera los dos electrones de enlace permanecen unidos a uno de los fragmentos:



Ya que los dos fragmentos poseen carga diferente, este proceso se denomina heterólisis.

En la segunda los dos electrones que los constituyen se dividen simétricamente:



a este proceso se le denomina homólisis y a los fragmentos radicales libres.

La homólisis térmica facilita la descomposición en una reacción de compuestos y se utilizan como iniciadores de procesos radicalarios; cuando las moléculas se calientan a temperaturas suficientemente elevadas se rompen los enlaces formándose los radicales, sin embargo, algunos compuestos que poseen enlaces “débiles” se descomponen para formar radicales libres a temperaturas inferiores, pudiendo emplearse estos compuestos como iniciadores de reacciones radicalarias a temperaturas entre 50 y 150°C.

Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón que necesita, la molécula que lo pierde se convierte a su vez en un radical libre, iniciándose así una reacción en cadena.

Al igual, existe formación de radicales libres por reacciones fotoquímicas, éstas se dan cuando se suministra la energía necesaria para la separación de un enlace mediante cualquier forma de radiación electromagnética, por ejemplo irradiación ultravioleta, visible o rayos X. Este proceso lo podemos considerar como fotólisis homolítica por que la separación del enlace se lleva a cabo.

3.3.1 Detección

Debido al corto tiempo de vida media de los radicales libres que, es de milisegundos, el método que actualmente se utiliza para su detección es por espectroscopia de resonancia de spin electrónico (ESR), pero este procedimiento no se utiliza para el estudio de la participación de radicales libres en sistemas biológicos y los investigadores han recurrido a inferir su presencia mediante la identificación de los productos de reacciones de radicales libres. (García Ruano, 1975)

3.3.2 Clasificación molecular

Los radicales libres se forman como consecuencia de reacciones metabólicas dentro de la célula o de manera espontánea; dentro de la célula existen muchos sitios de formación de especies reactivas derivadas del oxígeno o del nitrógeno, las cuales clasifican en: especies reactivas de oxígeno (ERO) y especies reactivas de nitrógeno (ERN).

Las ERO se forman por la reducción secuencial de oxígeno, primero produce el radical superóxido considerado como el más reactivo debido a que su estructura química requiere de tres electrones para reequilibrarse y cuando los obtiene crea un desequilibrio aún mayor en comparación con el de un solo electrón, el radical perhidroxilo, el peróxido de hidrógeno y finalmente el radical hidroxilo. (Maldonado, y otros, 2010)

Las ERN se caracterizan por un desequilibrio entre la producción de ERO y la capacidad antioxidante de las células, se forma el radical peróxinitrito por la reacción del radical superóxido con el óxido nítrico.

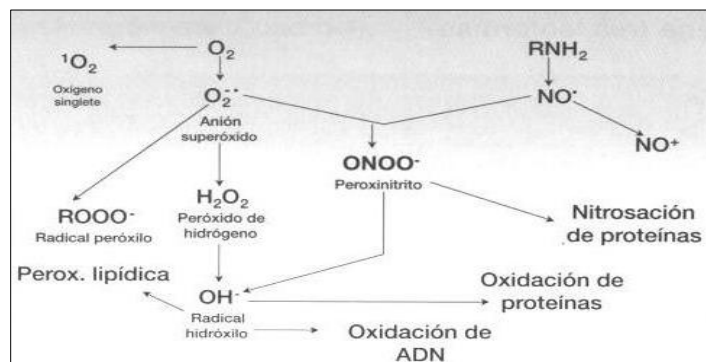


Imagen 1. Especies reactivas

3.3.3 Funciones en el organismo

Los radicales libres o sus derivados funcionan como mediadores fisiológicos en la regulación del tono vascular, percepción de la presión de oxígeno, regulación de funciones que son controladas por concentración de oxígeno, así como potenciar la transducción de señales intracelulares de varios receptores de la membrana, incluyendo el receptor de antígeno de linfocitos y respuestas de estrés oxidante que aseguran el mantenimiento del sistema redox (reacciones de oxidación-reducción).

En el sistema inmune actúan en contra de infecciones bacterianas, el O_2 es el mediador del inicio del proceso fagocítico; los fagocitos principalmente los leucocitos polimorfonucleares y macrófagos captan el oxígeno en forma acelerada, aproximadamente cien veces más rápido que en su estado no activado, por lo que a este fenómeno se le conoce como estallido respiratorio, que es empleado para eliminar patógenos, por alta su capacidad antioxidante tales como: O_2 , H_2O_2 , $\cdot OH$ y el $NaClO$.

3.3.4 Daño a biomoléculas

Si bien los radicales libres son elementos fundamentales en el metabolismo, también constituyen un riesgo, especialmente para las células y las biomoléculas, como los ácidos nucleicos, proteínas, polisacáridos y lípidos.

El oxígeno es capaz de adicionarse a las bases nitrogenadas o a las pentosas del ADN, formándose el radical peroxilo, lo que provoca daños estructurales y mutaciones, a su vez, todos los aminoácidos presentes en las proteínas tienen residuos susceptibles de reaccionar con el radical hidroxilo. Los aminoácidos fisiológicos, la tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina, metionina y cisteína son los más propensos a presentar procesos oxidantes.

En las enzimas, puede impedir su actividad catalizadora y en los polisacáridos, cuya función es estructural, ocasiona su despolimerización, lo que da lugar a procesos degenerativos.

Un caso especial es el del ácido hialurónico, un polisacárido cuya función reside en mantener la viscosidad del fluido sinovial, la exposición a agentes oxidantes, sobre todo al radical superóxido, provoca su fragmentación, lo que conduce a la desestabilización del tejido conectivo y a la pérdida de viscosidad del fluido sinovial, alteración que ocurre en la artritis reumatoide.

Los lípidos, especialmente aquellos que contienen ácidos grasos poli-insaturados son especialmente susceptibles a desarrollar procesos de oxidación no controlados. (Maldonado, y otros, 2010)

3.4 Inhibidores de radicales libres

Los inhibidores de radicales libres son un conjunto de compuestos químicos y/o productos biológicos que contrarrestan de una manera directa o indirecta los efectos nocivos de los oxidantes o radicales libres, tales como oxidación a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos.

Su función es impedir que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar éstos, interactúan rápidamente con los radicales libres del oxígeno y con sus especies reactivas que con el resto de las moléculas presentes, en un determinado microambiente.

3.4.1 Clasificación

Se han clasificado en dos principales grupos: enzimáticos y no enzimático, cuando estos sistemas fracasan se produce un exceso de radicales libres.

El sistema de inhibidores de radicales libres enzimáticos o endógenos se refiere a enzimas que constituyen la primera línea de defensa celular frente al daño oxidante y proporcionan una función protectora frente a los oxidantes biológicos, disminuyendo la concentración intracelular de radicales libres, entre ellas destacan la catalasa (CAT), superóxidodismutasa (SOD), glutatiónperoxidasa (GSH-PX, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, NADPH-quinonaoxidoreductasa y la epóxido hidrolasa, entre otras. La enzima superóxidodismutasa permite la descomposición del ion superóxido en peróxido de hidrógeno y cuya acumulación se evita por el sistema de catalasa/glutatión peroxidasa, transformándolo en oxígeno no molecular, agua y glutatión oxidado.

El sistema de inhibidores de radicales libres no enzimáticos o exógenos está determinado por una serie de compuestos llamados depuradores de radicales libres, los cuales retrasan la producción y acción de éstos últimos; los más conocidos son las vitaminas C y E, los carotenoides, selenio y flavonoides, entre otros.

Una vez superados los mecanismos antioxidantes del organismo es imposible inactivar la reactividad química de las ERO o de las ERN, presentándose el estrés oxidativo, que se caracteriza por un desequilibrio entre la producción reactivas del oxígeno y la capacidad antioxidante de las células.

3.5 Métodos de estudio de la actividad inhibitoria de radicales libres

La determinación de la actividad inhibitoria de radicales libres de los extractos obtenidos de plantas medicinales es importante, estas permite determinar el grado de protección frente a la oxidación y deterioro de la planta medicinal que disminuye su calidad. Durante los últimos años se han desarrollado una gran cantidad de métodos para evaluar la actividad inhibitoria de radicales libres principalmente de alimentos basados en distintos aspectos: como la reducción de metales (FRAP), la

capacidad de captación de radicales peroxilo (ORAC, TRAP), de radicales hidroxilo (ensayo de la deoxirribosa), de radicales generados a partir de ciertas moléculas orgánicas (ABTS, DDPH), en la cuantificación de productos generados durante la peroxidación lipídica.

- El método DDPH (2,2-difenil-2-picrilhidrazilo) se basa en la baja estabilidad de su radical, la cual se atribuye a la deslocalización del electrón y se genera una coloración violeta. Cuando una disolución de DDPH entra en contacto con una sustancia que puede donar un átomo de hidrógeno o con otra especie radical (R) se produce la forma reducida DDPH-H ó DDPH-R con la consecuente pérdida del color.
- Otro método se basa en la medida de reacción con radicales, tales como ABTS⁺. La unidad de medida o comparativa es el factor Trolox® o TEAC (Trolox Equivalente Antioxidant Capacity). Los compuestos que tienen la habilidad para “secuestrar” los radicales generados durante la oxidación, inhiben la propagación de éste, transfiriéndoles protones o electrones. (Díaz Fajardo, 2007)

También se han realizado pruebas con la reducción del hierro, está basada en la capacidad de reducir el complejo férrico 2,4,6-tripiridil-s-triazina(Fe⁺³+TPTZ⁻) a su forma ferrosa (Fe⁺²+TPTZ⁻). La capacidad de reducir los metales es importante debido a que éstos están involucrados en los procesos de propagación de la cadena radical extendiendo el proceso del daño celular en el organismo.

- Actividad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC): Se emplea para la determinación de la actividad antioxidante de alimentos y suplementos nutricionales. Este método mide la degradación oxidativa de la fluoresceína después de interactuar con los radicales peroxilo. La protección ejercida por los antioxidantes se cuantifica a través de la fluorescencia. (Magalhaes, 2008)
- Potencia antioxidante reductora férrica (FRAP): Este método evalúa la actividad reductora de Fe⁺³ a Fe⁺² de una sustancia. Se emplea habitualmente en los diferentes fluidos del organismo, así como diferentes componentes y complementos de la dieta. (Houghton Mifflin Company, 2005)

3.6 Polimerización

Polímero, estructura de alto o bajo peso molecular, que se forma uniendo elementos repetitivos entre sí, de pequeñas unidades químicas simples. En algunos casos la repetición es lineal, de forma semejante a una cadena conformada por eslabones. En otros casos las cadenas son ramificadas o intercaladas formando retículos tridimensionales; las unidades repetitivas son moléculas llamadas monómeros, y al proceso de unión se llama polimerización. (Bruice, 2008)

Los procesos de polimerización se llevan a cabo por adición y condensación, es decir, son reacciones por etapas y en cadena.

3.6.1 La reacción de condensación o por etapas

Constituye un pequeño porcentaje de polímeros sintéticos, la mayoría son polímeros naturales. Donde se forman por reacciones intermoleculares de moléculas bifuncionales (moléculas con dos grupos funcionales). Cuando los grupos funcionales reaccionan, en la mayor parte de los casos se pierden una molécula pequeña, como H₂O. (Bruice, 2008)

En la figura 2 se ejemplifica la polimerización sintética por condensación del Nylon 66.

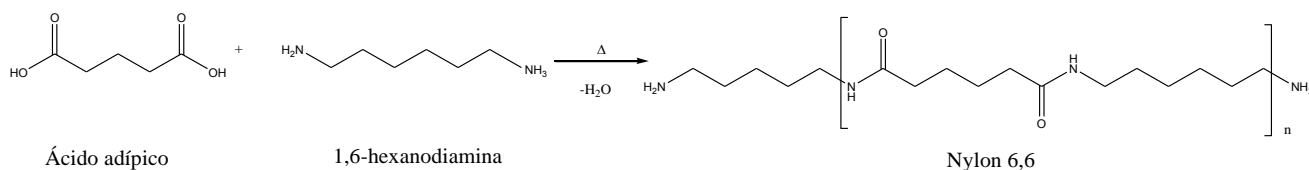


Figura 2.Reacción de condensación nylon 66

Fuente: (Bruice, 2008)

3.6.2 Reacción por adición o en cadena

Se efectúa por uno de tres mecanismos: polimerización por radicales libres, polimerización catiónica o polimerización aniónica. Cada mecanismo tiene tres fases distintas: fase de iniciación que da apertura a la polimerización; fase de propagación, que hace crecer la cadena y fase de término, que detienen el crecimiento de la cadena.

Polimerización catiónica. El iniciador es un electrófilo que se adiciona al monómero y hace que se transforme en un catión. El iniciador que más se utiliza es un ácido de Lewis como BF₃.

Polimerización aniónica. El iniciador es un nucleófilo o base de Lewis, que reacciona mediante una adición tipo Michael con el monómero para formar un intermediario reactivo (carbanión), para la formación del polímero. La reacción nucleófilo-monómero no sucede con facilidad porque los alquenos mismos ya son ricos en electrones, por consiguiente el iniciador debe ser un nucleófilo muy bueno como amiduro de sodio o bien *n*-butil-litio. El monómero debe contener un sustituyente atractor de electrones para disminuir su densidad electrónica (carbonilos α,β -insaturados). (Bruice, 2008)

3.6.3 La polimerización por radicales libres

Es una reacción rápida, poco estereoselectiva y consta de las etapas de iniciación o activación, propagación y terminación, mismas que son características de las reacciones en cadena.

En la etapa de iniciación se requiere de una molécula capaz de generar radicales libres, como los iniciadores que son compuestos que tienen algún enlace fácil de romper homolíticamente por la acción de la luz o el calor. Ésta tiene lugar por apertura del doble enlace, lo que origina la formación de un radical libre, generalmente por combinación con un radical libre previamente preformado que proviene de la descomposición de un iniciador. (Fred W. Billmeyer, 1975)

El grado de polimerización es proporcional a la concentración del monómero e inversamente proporcional a la raíz cuadrada de la concentración del iniciador, además depende de la temperatura, a través de las constantes cinéticas. (Collins, 2006)

3.6.4 Iniciadores

Los iniciadores pueden ser orgánicos (peróxidos) o inorgánicos, todos se caracterizan por generar radicales libres muy estables, el más comúnmente utilizado es el peróxido de benzoilo, que se descompone térmicamente a suficiente velocidad en dos radicales libres a temperaturas aproximadas a 70°C, se producen al mismo tiempo una descomposición inducida y otra unimolecular, por lo que es mayor la rapidez de su descomposición.

La activación del doble enlace en la polimerización por radicales libres puede realizarse no sólo por la adición de determinadas moléculas que actúan como iniciadores químicos en condiciones suaves (temperatura < 100°C, irradiación ultravioleta), sino también por acción del calor (activación térmica), necesitándose temperaturas elevadas o de determinadas radiaciones (fotoquímica o radioquímica).

Los electrones desapareados buscan estabilizarse, si encuentran algún electrón con cual aparearse, lo harán; así este nuevo par electrónico establece un nuevo enlace químico entre el fragmento de iniciador y uno de los carbonos del doble enlace de la molécula del monómero y mientras esta reacción tiene lugar, una vez y otra vez, siempre se forma otro radical; el proceso de adicionar más y más moléculas monoméricas a las cadenas en crecimiento se denomina reacción de propagación.

Finalmente los electrones desapareados van a encontrar una forma de aparearse sin generar un nuevo radical, entonces la propagación finalizará y se le denomina reacción de terminación.

3.7 Inhibición de polimerización

Los inhibidores neutralizan todos los radicales libres, procedentes del iniciador de los centros activos de las cadenas o del monómero.

La polimerización se detiene completamente hasta que se consume el inhibidor. Los retardadores son menos efectivos que los inhibidores y solamente neutralizan una fracción de los radicales. Hay mecanismos de inhibición donde se puede llevar a cabo la desactivación de los centros de iniciación o con la reducción de la velocidad de generación de la reacción; mientras que un retardador lo relaciona con la interrupción de propagación de las cadenas de monómeros.

Sin embargo, hay ciertas sustancias que pueden actuar como inhibidores, retardantes o ambos, esto va depender de la concentración que se utilice.

En la Imagen 2, se presenta una forma idealizada de los fenómenos de inhibición y de retardo en la polimerización. En la curva A muestra la polimerización normal, la curva B, una inhibición ideal en el que la polimerización se encuentra en la fase de iniciación; es decir, la polimerización transcurre a la misma rapidez que la inhibición. En la curva C se presenta un retardo ideal, en éste se observa que la polimerización comienza al mismo tiempo que en ausencia del retardador, pero ocurre a una rapidez menor. Por último, en la curva D se presenta una inhibición no ideal donde la polimerización empieza después del tiempo de iniciación, pero a una rapidez cuando no hay inhibidor. En la curva E, se observa una inhibición seguida de un retardo.

Los inhibidores y retardadores ideales destruyen los radicales libres sin producir especies capaces de reiniciar la polimerización.

Los tipos de inhibidores

- Inhibidores fenólicos
- Inhibidores quinonas
- Inhibidores de compuestos nitroaromáticos
- Inhibidores de compuestos inorgánicos
- Los efectos de oxígeno a temperaturas bajas (Fred W. Billmeyer, 1975)

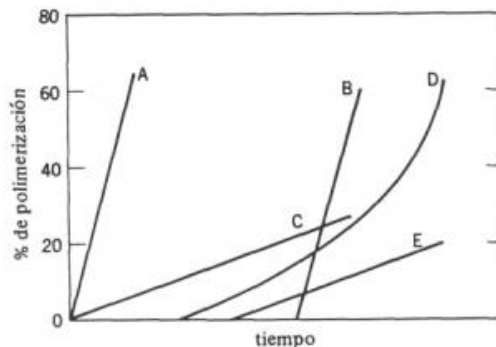


Imagen 2. Curvas de inhibición y retardo

Fuente: (Fred W. Billmeyer, 1975)

3.8 Reacción de polimerización

3.8.1 Reactivos

Los reactivos que se utilizaron para el ensayo *in vitro* de la actividad inhibitoria de radicales libres de aceites esenciales fueron los siguientes:

3.8.1.1 Peróxido de benzoilo

El peróxido de benzoilo es uno de los peróxidos orgánicos más importantes por sus aplicaciones farmacéuticas, cosméticas e industriales. Es usado para el tratamiento del acné, el aclaramiento del cabello y dientes, polimerización de estireno, entre otras.

Tabla 5. Propiedades físicas del peróxido de benzoilo

Apariencia	Sólido blanco con olor a almendras amargas
Densidad relativa	0.53g/cm ³
Punto de fusión	100-105°C
Temperatura de descomposición	>70°C

3.8.1.2 Metacrilato de metilo

Compuesto orgánico líquido incoloro, tóxico e inflamable, también conocido como monómero de metacrilato de metilo, que al ser polimerizado vía radicales libres forma polimetacrilato de metilo (Química Delta, 2010). Su principal aplicación es la producción del plástico transparente, usados también en pinturas y recubrimientos.

Tabla 6. Propiedades físicas y químicas del monómero de metacrilato de metilo *

Apariencia	Líquido, incoloro con olor característico
Densidad	0.94 g/mL a 20°C
Punto de ebullición	100.3°C
Punto de fusión	- 48°C
Densidad relativa de vapor	>1 a 20°C
Presión de vapor	40hPa a 20°C
Viscosidad	0.6mPa a 20°C
pH	No aplica
Solubilidad	Soluble en la mayoría de los compuestos orgánicos

Fuente: (Química Delta, 2010)

* Se encuentra estable con trazas de inhibidores como hidroquinona, topanol.(Química Delta, 2010)

El polímero de metacrilato de metilo (PMMA), es un plástico claro, usado como material irrompible en reemplazo del cristal, también se encuentra en las pinturas acrílicas. Además disminuye a temperaturas bajas la viscosidad de aceites.

En la tabla 7. Se encuentra algunas de sus propiedades físicas y químicas del PMMA.

Tabla 7. Propiedades físicas y químicas del polímero de metacrilato de metilo

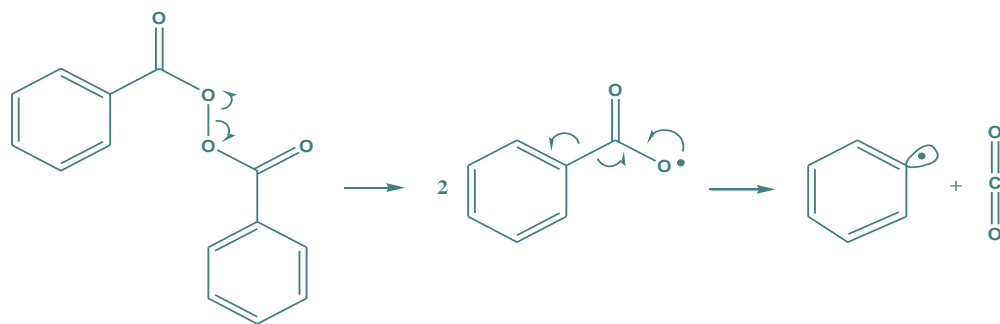
Apariencia	Plástico incoloro, olor afrutado
Densidad	1.17-1.20g/mL a 20°C
Índice de refracción	1.49
Temperatura de transición vítrea	3.79°K
Temperatura de deflexión 1.8MPa	341.3- 371.5°K
Temperatura de uso continuo	364- 382°K
Soluble	Etanol, isopropanol, metiletilcetona, ácido fórmico
Insoluble	Tetracloruro de carbono, butilen glicol

Fuente:(James, 1999)

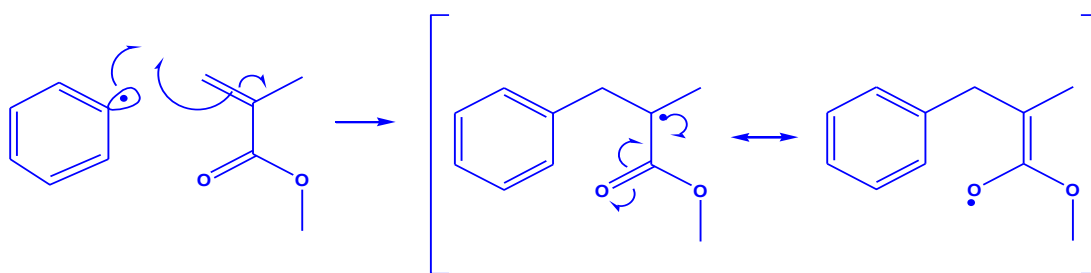
En la figura 3 se muestra la propuesta del mecanismo de reacción de polimerización del metacrilato de metilo vía radicales libres.

- **Etapa de inicio:** Se caracteriza por la formación del radical a partir del peróxido de benzoilo que reacciona con el monómero de metacrilato de metilo y así dar comienzo a la cadena del polímero.
- **Etapa de propagación:** Como su nombre lo indica se propaga la reacción en cadena, es decir, hay un aumento o crecimiento en la longitud de la cadena polimérica.
- **Etapa de terminación:** Se verifica el final de la cadena ya sea por el choque de ésta con otro radical libre o por desproporción (pérdida de un átomo de hidrógeno para dar en uno de los extremos de la cadena una insaturación) la desactivación del radical libre indicando el porcentaje de polimerización o en su caso su solidificación.

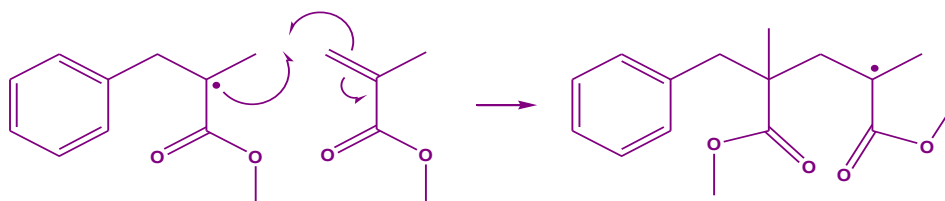
RUPTURA HOMOLÍTICA DE PERÓXIDO DE BENZOILO



ETAPA DE INICIACIÓN



ETAPA DE PROPAGACIÓN



ETAPA DE TERMINACIÓN

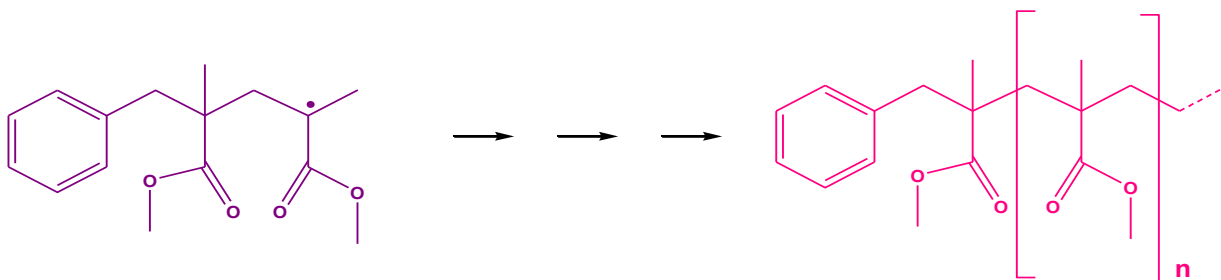


Figura 3. Mecanismo de la reacción de polimerización del metacrilato de metilo

3.9 Índice de refracción

La refracción solo se produce si la onda incide oblicuamente sobre la superficie de separación de los dos medios y éstos tienen índice de refracción distinta. El índice de refracción es una medida que determina la reducción de la velocidad de la luz al propagarse en un medio homogéneo y donde la temperatura es determinante para la precisión.

El índice fue descubierto experimentalmente por Willebrad Snell en 1621 donde dice "la razón entre el seno del ángulo de incidencia y el seno de ángulo de refracción es una constante llamada p de refracción como se muestra en la imagen 3.

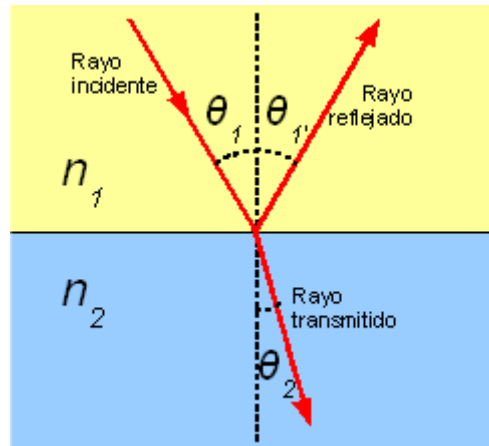


Imagen 3. Índice de refracción

Fuente: (Blog de Física, 2013)

Así también el índice de refracción depende de:

- Temperatura
- Presión
- Longitud de onda (dispersión) (λ)
- Concentración especies (si se tratara de una mezcla)

El índice de refracción de los líquidos varían de 1.3 a 1.8 y en sólidos es de 1.3 a 2.5 o mayor.

3.10 Refractividad Molar

Existen varios modelos para la determinación de la propiedad aditiva que correlaciona la refracción óptica con la estructura química de las cadenas poliméricas. (Vargas Muñoz, 1994)

La refractividad molar, es una magnitud fisicoquímica de fácil determinación en el caso de líquidos ya que se aplica la expresión de Lorentz-Lorentz. (Delgado Cirilo, Minguillón Llombart, & Joglar Tamargo, 2003)

$$R = \frac{M_0 n^2 - 1}{\rho n^2 + 2}$$

En donde M_0 es el peso molecular de la unidad estructural (i.e. de la unidad monoméricas), ρ es la densidad del monómero, la expresión de Lorentz-Lorentz está basada en la teoría electromagnética. (Vargas Muñoz, 1994)

3. Objetivo General

Desarrollar un ensayo *in vitro* utilizando una reacción de polimerización para evaluar la actividad inhibitoria de radicales libres de aceites esenciales.

4.1 Objetivos particulares

- Llevar a cabo la búsqueda bibliográfica para determinar el estado actual de la investigación.
- Identificar el material vegetal en el Herbario Etnobotánico IZTA, UNAM.
- Extraer y caracterizar los diferentes aceites esenciales a evaluar.
- Considerar los criterios de control de calidad de plantas medicinales de la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos (FHEUM), NMX-F-074-SCFI-2011 y Tiên Do, Hadji-Minaglou, Antoniotti, & Fernández (2015) para evaluar cada aceite obtenido.
- Establecer las condiciones de trabajo de la reacción de polimerización.
- Investigar qué parámetros fisicoquímicos pueden conducir a evaluar la actividad inhibitoria de radicales libres.
- Implementar el ensayo para evaluar cada aceite obtenido.

4. Hipótesis

En una reacción de polimerización vía radicales libres (metacrilato de metilo y peróxido de benzoilo) la hidroquinona actúa como inhibidor; si sustituimos a ésta por aceites esenciales y se inhibe la polimerización, entonces se podrá inferir la actividad inhibitoria de radicales libres de los aceites esenciales.

5. Metodología

Para facilitar el desarrollo del ensayo *in vitro*, la metodología se dividió en dos etapas:

1. Aceite esencial
 - Obtención del aceite esencial
 - Control de calidad de los aceites esenciales obtenidos
2. Desarrollo del ensayo mediante la reacción sintética de polimerización vía radicales libres del MMA
 - Purificación de MMA
 - Reacción de polimerización y condiciones de reacción
 - Implementación del ensayo *in vitro*

6.1 Aceites Esenciales

6.1.1 Material vegetal

Para seleccionar el material vegetal, primeramente se llevó a cabo una investigación bibliográfica, que permitió listar todas aquellas plantas que biosintetizan aceites esenciales, así como, la parte de la planta que presenta el mayor contenido. Después de esto se seleccionaron todas aquellas que fueran fáciles de conseguir en los mercados y viveros.

6.1.1.1 Adquisición del material vegetal

El material vegetal se adquirió en los siguientes sitios

1. Mercado de Sonora: Fray Servando Teresa de Mier 419, Merced Balbuena, 15800 Ciudad de México, Distrito Federal.
2. Mercado de Infonavit Centro, Cuautitlán Izcalli México.
3. Molino de harinas y especias Barrio Tlatilco, Teoloyucan Edo. de México.

6.1.1.2 Identificación Botánica

Se llevó a cabo la herborización de las plantas y frutos, considerando las que se adecuaron al ensayo, cumpliendo con los siguientes datos importantes: lugar, día, hora de recolección. Se colocaron por separado en hojas de papel secante y cartón acanalado; en cuanto a las semillas se colocó 1 g de éstas en recipientes de plástico. Después se trasladaron al Herbario Etnobotánico IZTA, para obtener su certificado de identificación taxonómica.

6.1.1.3 Condiciones de manejo de la materia prima

Fue necesario establecer condiciones de trabajo de la materia prima previo a la obtención de los aceites esenciales, en la tabla 8 se observa dichas condiciones.

Tabla 8. Condiciones de la materia prima

Materia prima	Condición
Planta aérea	Fresco
Hojas y flores	Fresco, excepto la hojas de menta blanca, clavo y orégano que se trabaja en seco
Bayas	Seco
Semillas	Seco
Corteza	Seco
Pericarpio de cítricos (cáscara de cítricos)	Fresco

6.2 Métodos de obtención de los AE

En la tabla 9 se muestra el método de obtención del aceite esencial se seleccionó de acuerdo a los siguientes criterios:

- La densidad del aceite esencial
- Naturaleza de la materia prima (caso particular de los cítricos, en los que el aceite se almacena en la cáscara).*

Tabla 9. Criterios de selección del método de obtención de aceites esenciales

Método de obtención	Criterios
Hidrodestilación con trampa de Dean-Stark	La densidad mayor del aceite esencial con respecto al agua (partes aéreas de la planta)
Hidrodestilación con trampa de Clevenger	La densidad del aceite esencial menor que el agua (botones florales)
Arrastre de vapor	La densidad del aceite esencial menor al agua (partes aéreas de la planta)
Expresión	Cítricos *

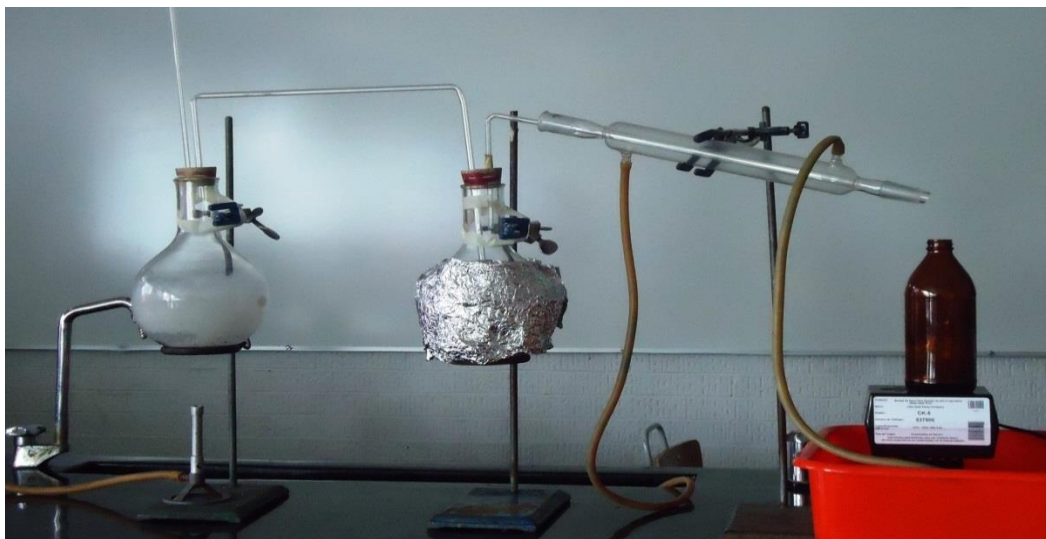
6.2.1 Destilación por arrastre de vapor

Preparación de la materia prima:

Seleccionar la parte utilizada del material vegetal desechando todo el material que no cumpla con las características de la droga vegetal (tierra, restos de otras plantas, insectos, etc.), posteriormente disminuir el tamaño de partícula (triturar, trocear, moler, etc.) del material empleado.

Pesar entre 100-200 g en una balanza granataria, colocarlo en un matraz bola de 2 L y agregar perlas de ebullición. En otro matraz bola de 2 L, colocar 1 L de agua destilada y perlas de ebullición.

Montar el equipo que se muestra en la fotografía 1.



Fotografía 1. . Equipo de destilación por arrastre de vapor

Foto tomada en el Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica (L-324) de la FES Cuautitlán 2014.

Calentar con el mechero el matraz generador de vapor (2-3 h), calentando ocasionalmente el matraz contenedor de la materia prima, cuide no quemarla. Colecte el destilado recibéndolo en un contenedor protegido de la luz.

Separar la mezcla aceite-agua por diferencia de densidades utilizando un embudo de separación. Para eliminar remanentes de agua, secar con la mínima cantidad de sulfato de sodio anhidro. Decantar el AE en un vial protegido de la luz y conservarlo a una temperatura de 4°C en el refrigerador. Caracterizar el AE. (ver en el diagrama de flujo1)

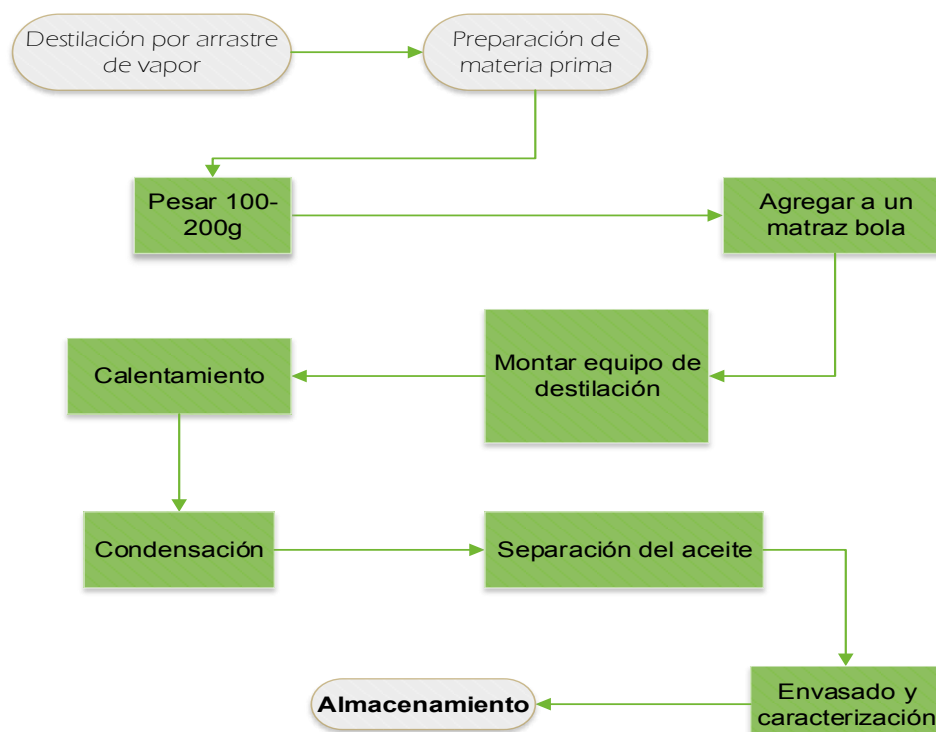


Diagrama de flujo 1. Destilación por arrastre de vapor

6.2.2 Hidrodestilación con trampa de Clevenger

Preparación de la materia vegetal:

Seleccionar la parte utilizada del material vegetal desechando todo el material que no cumpla con las características de la droga vegetal (tierra, restos de otras plantas, insectos, etc.) posteriormente disminuir el tamaño de partícula (triturar, trocear, moler, etc.) del material empleado.

Pesar entre 100-200 g de materia prima, por otro lado en un matraz bola de 2 L agregar 250 mL de agua destilada, una barra magnética. Colocar la materia prima, agregar 750 mL más de agua destilada. Montar el equipo que se muestra en la fotografía 2.



Fotografía 2. Equipo de hidrodestilación con trampa de Clevenger

Foto tomada en el Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica (L-324) de la FES Cuautitlán 2014.

Calentar por un espacio de 2-2.5 h, el aceite esencial se separa en el tubo graduado de la trampa de Clevenger. Finalizado el tiempo de calentamiento. Enfriar y coleccionar el aceite. Si el aceite presenta remanentes de agua, secar con sulfato de sodio anhidro y decantar. Conservar el aceite en un vial de vidrio color ámbar a una temperatura de 4°C en el refrigerador. Caracterizar el aceite de acuerdo a los criterios marcados por la FHEUM. (ver en el diagrama de flujo 2)

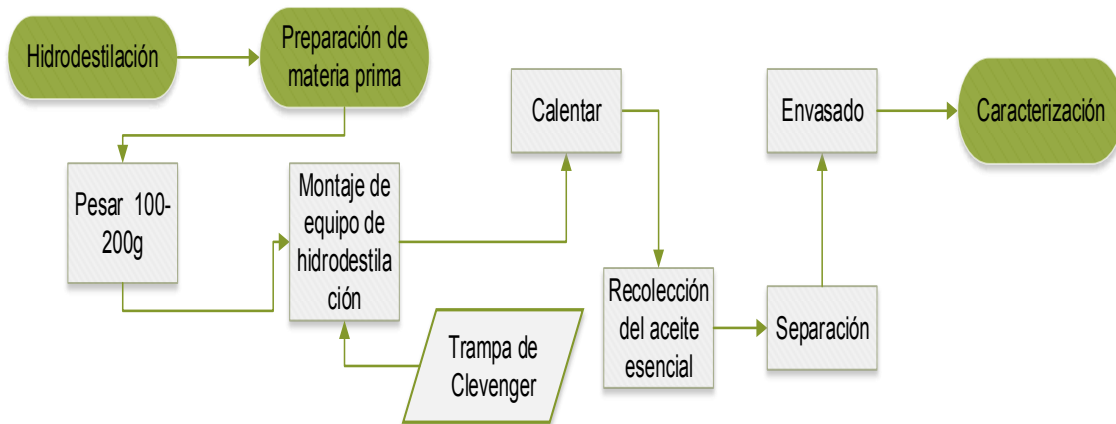
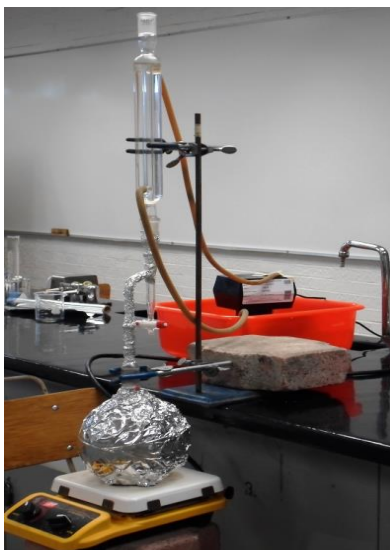


Diagrama de flujo 2. Hidrodestilación con trampa de Clevenger

6.2.3 Hidrodestilación con trampa de Dean-Stark (trampa de agua)

Este método se utiliza para aceites que tienen una densidad más grande que el agua, como el aceite de clavo. El procedimiento para este método es similar al de hidrodestilación, únicamente se cambia la trampa Clevenger por trampa Dean-Stark. Montar el equipo que se muestra en la fotografía 3. Calentar y cuando empiece a destilar colecte la mezcla aceite-agua cuidando que el matraz bola no se quede sin agua (colecte aproximadamente 500 mL). Colocar la mezcla aceite-agua en un vaso de precipitado, separar, secar y caracterizar. (ver en el diagrama de flujo 3)



Fotografía 3. Equipo de hidrodestilación con trampa de Dean-Stark

Foto tomada en el Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica (L-324) de la FES Cuautitlán 2014.

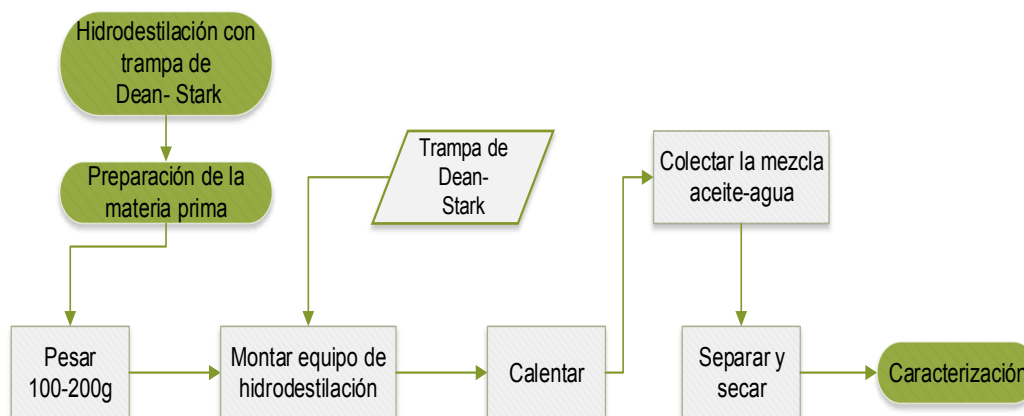


Diagrama de flujo 3. Hidrodestilación con trampa de Dean-Stark

6.2.4 Expresión

Preparación de la materia prima:

Lavar aproximadamente 1 Kg de cualquier cítrico, quitando la suciedad que pueda tener y secar.



Fotografía 4. Prensado de cítricos

Foto tomada en el Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica (L-324) de la FES Cuautitlán 2014.

Partir y quitar el gajo, para solo ocupar el pericarpio (cáscara), después dejarla remojar en una charola con 1.5 L de agua destilada por aproximadamente 12 h en refrigeración. En un exprimidor manual, tal como se muestra en la fotografía 4, se presan las cáscaras dejando caer continuamente agua destilada, recibiendo la mezcla agua-aceite en un vaso metálico, tapar con papel aluminio y conservaren refrigeración por 12 h a 4°C. Centrifugar la mezcla a 3500 rpm por 15 min. Separar el sobrenadante (aceite esencial). Caracterizar y conservar. (ver en el diagrama de flujo 4)

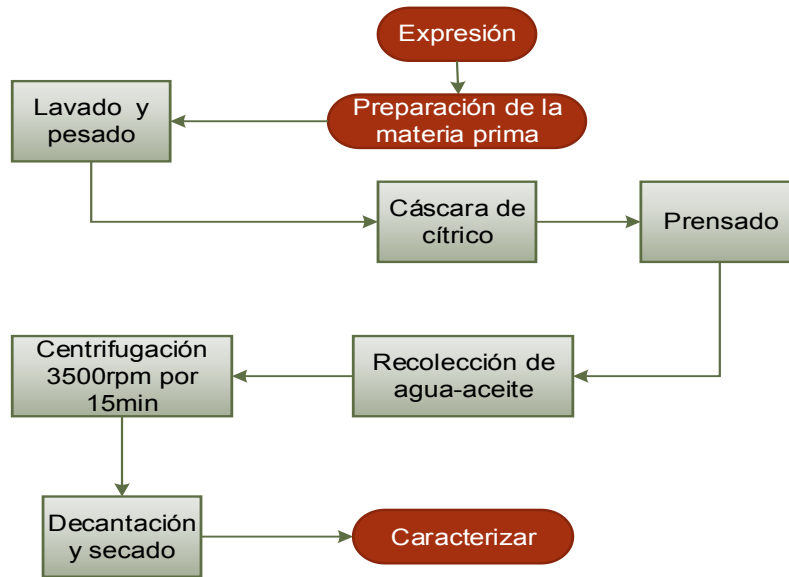


Diagrama de flujo 4. Expresión (prensado de cítricos)

6.3 Control de calidad de los aceites esenciales

Para llevar a cabo el control de calidad de los aceites esenciales se tomaron los criterios de la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos (2013), NMX-074-SCFI-2011 y Tiên Do, Hadji-Minaglou, Antoniotti, & Fernández (2015), únicamente se seleccionaron, aquellas pruebas que se podían implementar con los equipos que se contaba en la FESC (figura 4).

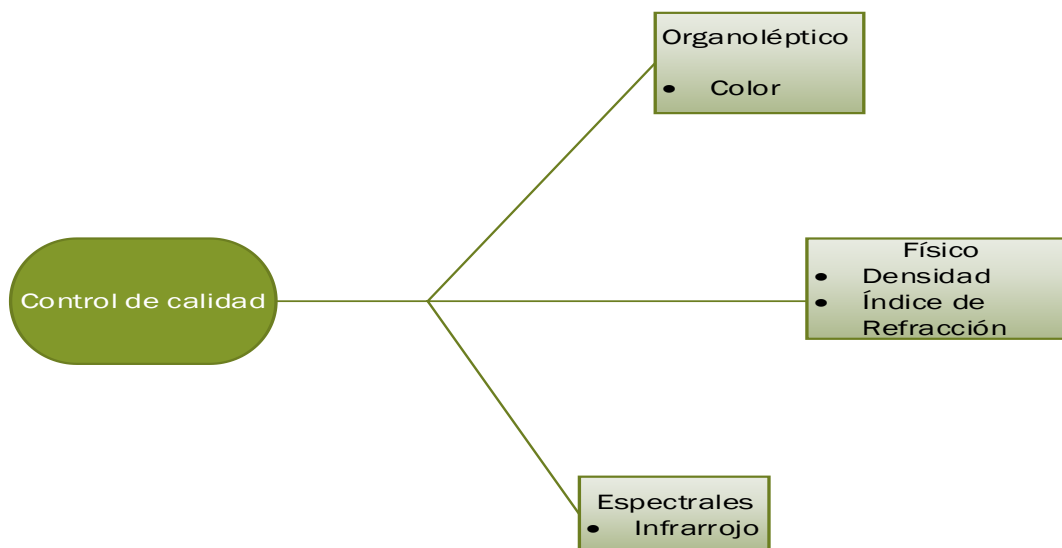


Figura 4. Control de calidad de los aceites esenciales

6.3.1 Prueba organoléptica

6.3.1.1 Color

La determinación del color se efectúa por la comparación de los aceites esenciales con los diferentes patrones de color establecido en las tablas Munsell (Anexo 4); se utilizan placas de porcelana o tubos de ensaye y se registra el número correspondiente.

6.3.2 Pruebas físicas

6.3.2.1 Densidad (Método del picnómetro)

El método consiste en primeramente, poner a peso constante el picnómetro y después determinar la masa a volúmenes iguales de agua y aceite a una temperatura de 20°C.

Determinación de resultados: La densidad relativa se calcula con las siguientes expresiones:

$$G_2 = M_2 - M$$
$$G_1 = M_1 - M$$

$$\rho = \frac{G_1}{G_2}$$

Donde:

M_1	Masa del picnómetro con muestra
M_2	Masa del picnómetro con agua
M	Masa del picnómetro vacío
G_1	Masa neta del aceite o grasa
G_2	Masa neta del agua

Densidad relativa del aceite o grasa a temperatura T (°C) con respecto a la temperatura de referencia del agua. La expresión de los resultados se hace hasta milésimas. (NMX-075-SCFI-2012, 2012)

6.3.2.2 Índice de refracción

Este método se basa en la determinación del índice de refracción, por la observación directa del ángulo de refracción manteniendo la sustancia dentro de las condiciones de intensidad, variación de la luz y homogeneidad en la muestra. Para esta prueba se empleó el refractómetro ZEIGEN® Solar tipo ABBE. (NMX-F-074-SCFI-2011., 2011)

Expresión de resultados:

El promedio de las lecturas efectuadas nos da el índice de refracción buscado:

$$R = R' + K(T' - T)$$

R es la lectura de la temperatura de referencia a T en K ($^{\circ}C$)

R' es la lectura de la temperatura T' en K' ($^{\circ}C$)

T es la temperatura de referencia

T' temperatura a la cual se hizo la lectura R'

K 0.55 para grasas y 0.58 para aceites

Correcciones por temperatura

K 0.00035 para $T=20$ $^{\circ}C$

K 0.00036 para $T=40, 50, 60$ $^{\circ}C$

K 0.00037 para $T=80$ $^{\circ}C$ y más

6.3.3 Pruebas espectrales

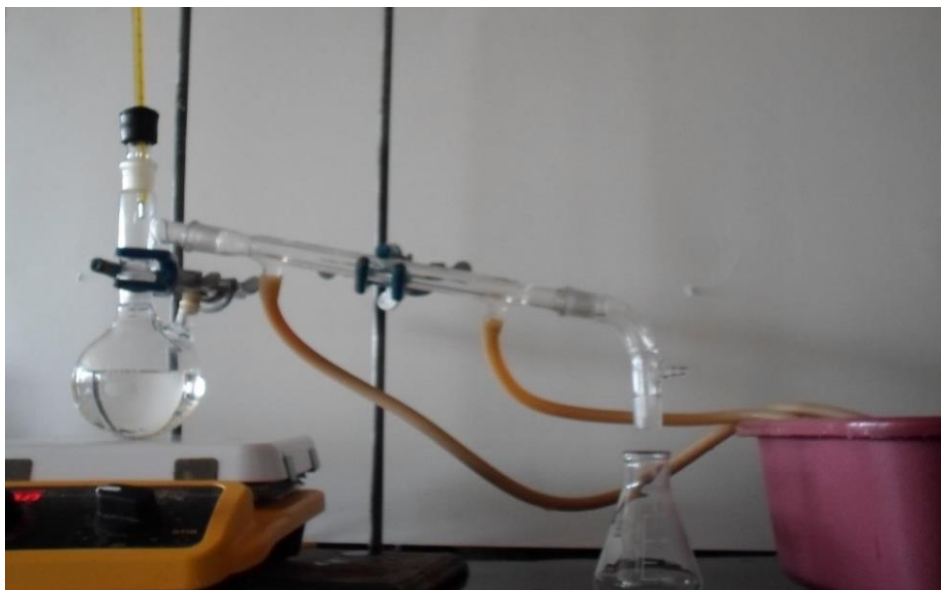
6.3.3.1 Espectrofotometría de absorción de infrarrojo

Esta técnica se realizó en el espectrofotómetro infrarrojo Modelo Nicolet iS10FT, con punta de diamante.

6.4 Metodología de la actividad inhibitoria de los radicales libres por la reacción de polimerización de MMA

6.4.1 Destilación de MMA

Medir 150 mL de MMA y colocarlo en un matraz bola de 250 mL y agregar un agitador magnético pequeño. Colocarlo en una parrilla sujetando con unas pinzas. Montar el equipo de destilación simple que se muestra en la fotografía 5, destilación de MMA. Calentar y agitar hasta llegar a la temperatura de ebullición. Separar la cabeza, y únicamente colectar el cuerpo (fracción entre 90-93 $^{\circ}C$). (ver en el diagrama de flujo 5)



Fotografía 5. Destilación de Metacrilato de metilo

Foto tomada en el Laboratorio de Fitoquímica y Farmacognosia (L-324) de la FES Cuautitlán 2014.

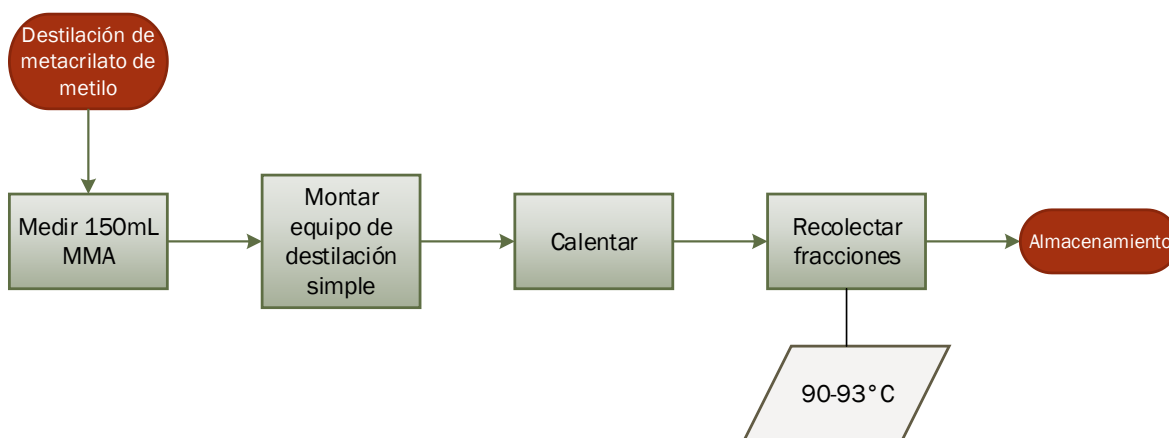


Diagrama de flujo 5. Destilación metacrilato de metilo

6.4.2 Reacción de polimerización

6.4.2.1 Condiciones del ensayo

Pesar 20 mg de peróxido de benzoilo en un tubo de ensayo y agregar 2 mL MMA, tapar y homogenizar. Agregar trazas de hidroquinona y nuevamente homogenizar. Tomar como el tiempo 0 de la reacción. (ver en el diagrama de flujo 6)

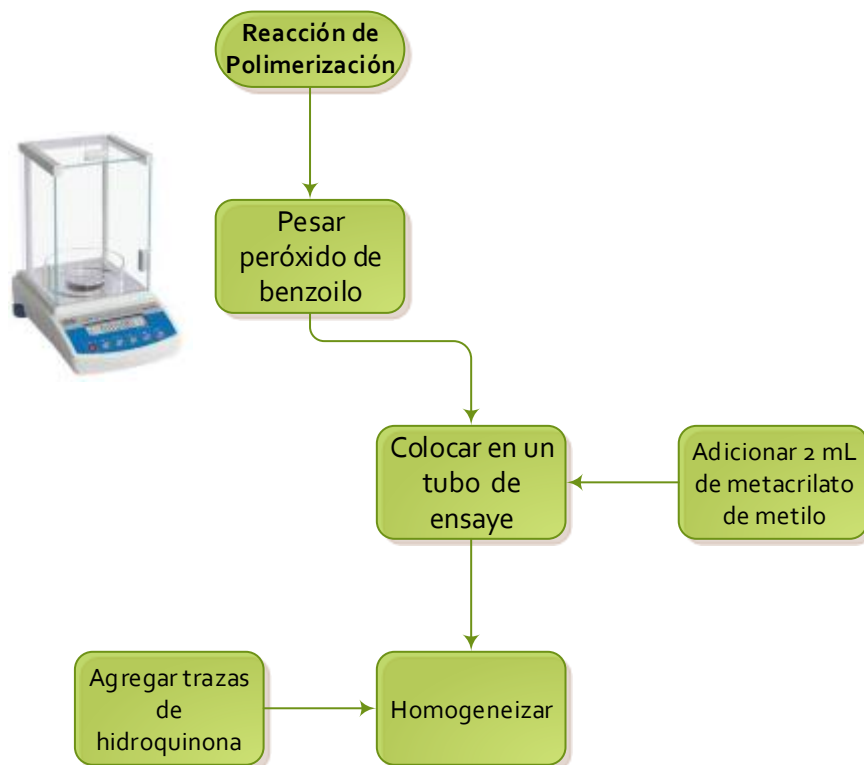


Diagrama de flujo 6. Polimerización tiempo 0 min

Para los siguientes tiempos agregar únicamente 2 mL de MMA y 20 mg de peróxido de benzoilo, introducir el tubo de ensaye en baño María Riosa Modelo B-40 a una temperatura de $80 \pm 2^\circ\text{C}$ por un tiempo de 2 min, cumplido el tiempo, inmediatamente retirar del baño María, agregar trazas de hidroquinona y homogeneizar (estos últimos pasos no deben de superar los 30 s). Preparar una serie de tubos siguiendo el mismo procedimiento con un tiempo de secuencia de 2 a 20 min. (2, 4, 6,...,20). Efectuar por triplicado.

Dejar enfriar cada uno de los tubos a temperatura ambiente y realizar la lectura de índice de refracción en el refractómetro, previamente calibrado con agua destilada o con un disolvente de índice de refracción conocido. (ver en el diagrama de flujo 7)

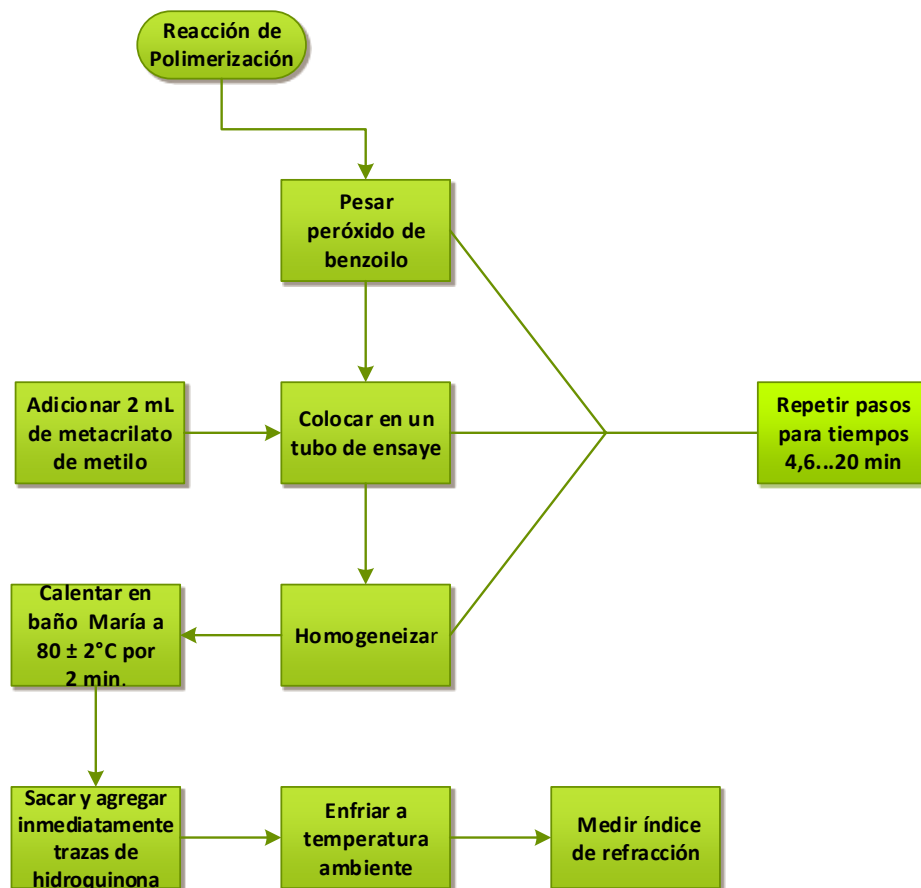
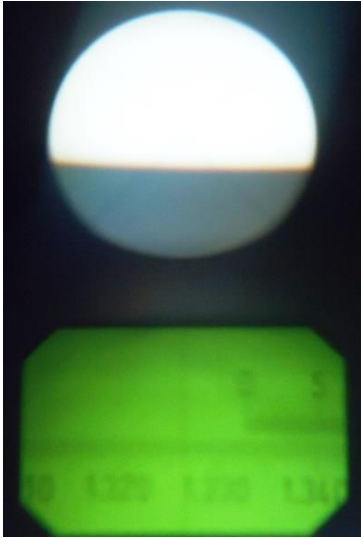


DIAGRAMA DE FLUJO 7.Reacción de polimerización

6.4.3 Prueba de la actividad inhibitoria en la reacción de polimerización

Pesar 20 mg de peróxido de benzoilo en un tubo de ensaye y agregar 2 mL MMA, tapar y mezclar e inmediatamente agregar 30 μ L de aceite esencial homogenizando, introducir el tubo de ensaye en el baño María a una temperatura de $80 \pm 2^\circ\text{C}$ por un tiempo de 18 min y retirar, se realiza para cada uno de los aceites esenciales. Efectuar por triplicado. Dejar enfriar a temperatura ambiente y realizar la lectura de índice de refracción. (ver en el diagrama de flujo 8)

Apoyándose con la literatura obtener el índice de refracción molar.



Fotografía 6. Refractómetro Zeiger, solar tipo Abbe

Foto tomada en el Laboratorio de Fitoquímica y Farmacognosia (L-324) de la FES Cuautitlán 2014.

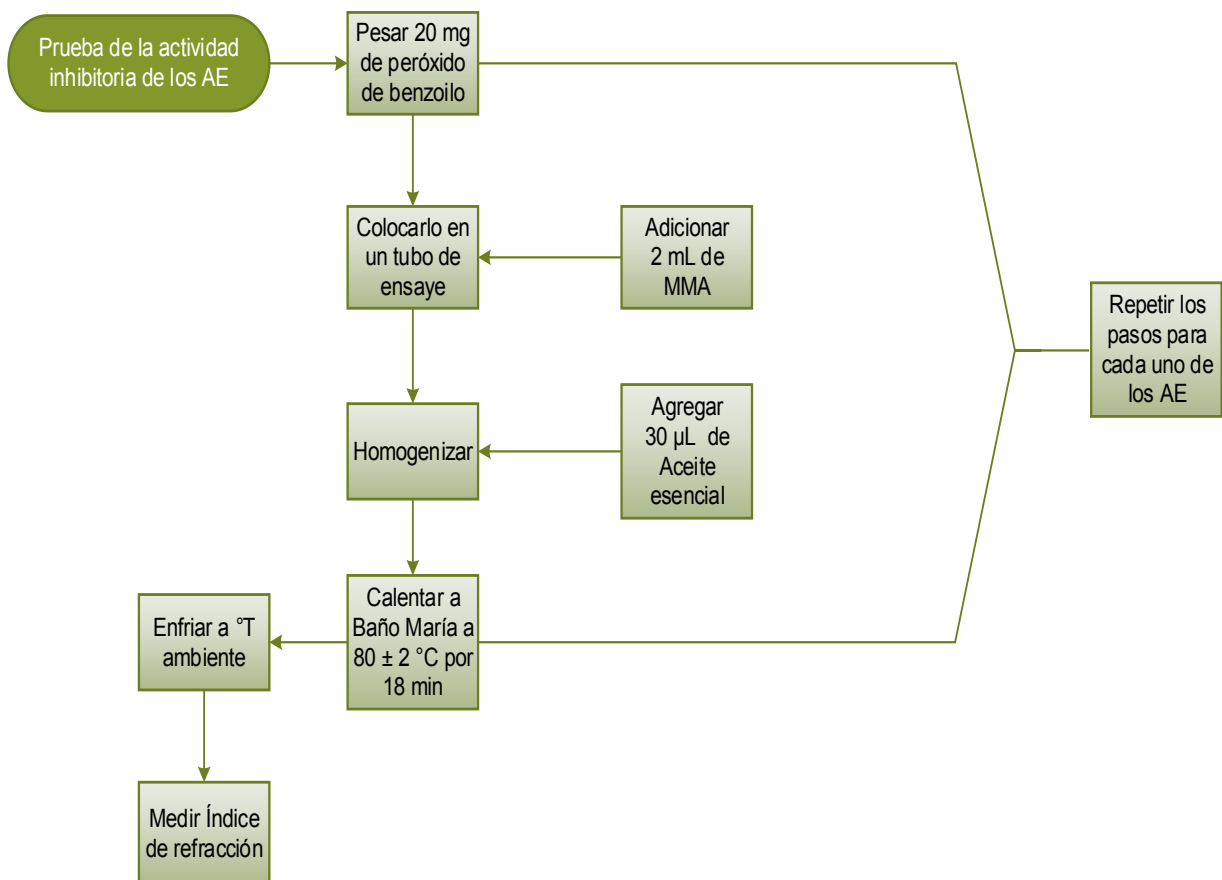


Diagrama de flujo 8. Prueba de la actividad en la reacción de polimerización

6. Resultados y análisis de resultados

7.1 Aceite esencial

7.1.1 Material vegetal

En base a la investigación bibliográfica efectuada se seleccionan 40 especies vegetales con propiedades medicinales y frecuentemente utilizadas por la medicina tradicional, así como la parte utilizada para la obtención de aceite esencial.

Tabla 10. Listado de plantas

Nombre común	Parte utilizada
Ajenjo	Parte aérea
Albahaca	Hojas
Anís estrella	Fruto
Árnica	Parte aérea
Canela	Corteza
Clavo	Hojas/botones florales
Comino	Semilla
Enebro	Bayas
Epazote	Parte aérea
Eucalipto	Hojas
Hierbabuena	Hojas
Hinojo	Parte aérea
Laurel	Hojas
Lavanda	Flores
Lavanda	Hojas
Lima	Pericarpio
Limón	Pericarpio
Mandarina	Pericarpio
Manzanilla	Tallo, hojas y flores
Mejorana	Parte aérea
Menta blanca	Tallos y hojas
Naranja	Pericarpio
Nuez moscada	Frutos
Orégano	Hojas
Pericón	Flores y hojas
Pino	Hojas y ramas
Pimienta	Frutos
Pirul	Hojas y frutos

Continuación de la Tabla 10. Listado de plantas

Nombre común	Parte utilizada
Poleo	Hojas
Romero	Hojas
Ruda	Parte aérea
Salvia	Hojas y flores
Cardamomo	Semilla
Cilantro	Semilla
Té limón	Hojas
Tomillo	Tallos y hojas
Toronja	Pericarpio
Toronjil azul	Parte aérea
Toronjil blanco	Parte aérea
Toronjil morado	Parte aérea
Verbena	Tallos y hojas

7.1.1.1 Adquisición del material

El material vegetal se adquirió en:

1. Mercado Sonora: Fray Servando Teresa de Mier 419, Merced Balbuena, 15800 Ciudad de México, Distrito Federal.
2. Mercado de Infonavit Centro, Cuautitlán Izcalli México.
3. Molino de harinas y especias, Barrio Tlatilco, Teoloyucan Edo. de México.

Tabla 11. Lugar de adquisición de la materia prima

Nombre común	Adquisición
Ajenjo	1
Albaca	1
Anís estrella	3
Árnica	1
Canela	3
Clavo	3
Comino	3
Enebro	2
Epazote	1
Eucalipto	1
Hierba buena	1
Hinojo	1
Laurel	1
Lavanda	2
Lavanda Flor	2

Continuación de la Tabla 11. Lugar de adquisición de la materia prima

Nombre común	Adquisición
Lima	2
Limón	2
Mandarina	2
Manzanilla	1
Mejorana	1
Menta blanca	1
Naranja	2
Nuez moscada	1
Orégano	3
Pericón	1
Pino	2
Pimienta	3
Pirul	1
Poleo	1
Romero	1
Ruda	1
Salvia	1
Semilla de Cardamomo	1
Semilla de Cilantro	1
Té limón	1
Tomillo	1
Toronja	2
Toronjil azul	1
Toronjil blanco	1
Toronjil morado	1
Verbena	1

7.1.1.2 Identificación botánica

Como se reporta en la tabla 10 se analizaron 40 plantas o partes de plantas, de éstas, se hizo una segunda selección de acuerdo a la cantidad de aceite esencial obtenido. El resultado de la segunda selección fueron 24 plantas que se enviaron al Herbario Etnobotánico IZTA (tabla 12), para su identificación.

Tabla12. Identificación etnobotánica

Nombre popular	Nombre científico	Familia botánica	No. Registro
Ajenjo	<i>Artemisia absinthium</i> L.	Asteraceae/ Compositae	2057 IZTA
Anís estrella	<i>Illicium verum</i> Hooker	Illiciaceae	2073 IZTA
Canela	<i>Cinnamomum</i> <i>zeylanicum</i> Nees	Lauraceae	2092 IZTA
Clavo	<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merrill & L.M. Perry	Myrtaceae	2069 IZTA
Comino	<i>Cominum cyminum</i> L.	Apiaceae/Umbelliferae	2091 IZTA
Enebro	<i>Juniperu</i> ssp.	Cupressaceae	2071 IZTA
Epazote	<i>Teloxys ambrosioides</i> (L.) W.A. Weber Sin: <i>Chenopodium</i> <i>ambrosioides</i> L.	Chenopodiaceae	2190 IZTA
Eucalipto	<i>Eucalyptus</i> <i>camaldulensis</i> Dehnh.	Myrtaceae	2062 IZTA
Laurel	<i>Litsea glaucescens</i> H.B. K.	Lauraceae	2189 IZTA
Lavanda	<i>Lavandula dentata</i> L.	Lamiaceae/Labiatae	2265 IZTA
Nuez moscada	<i>Myristica fragrans</i> Houtt	Myristicaceae	2066 IZTA
Orégano	<i>Lippia graveolens</i> Kunth	Verbenaceae	2072 IZTA
Pericón	<i>Tagetes lucida</i> Cav.	Asteraceae/ Compositae	2059 IZTA
Pimienta	<i>Pimenta dioica</i> (L.) Merrill	Myrtaceae	2068 IZTA
Pirul	<i>Schinus molle</i> L.	Anacardiceae	2058 IZTA
Poleo	<i>Cunila lythrifolia</i> Benth. *	Lamiaceae/Labiatae	2264 IZTA
Romero	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Lamiaceae/Labiatae	2192 IZTA
Ruda	<i>Ruta chalepensis</i> L.	Rutaceae	2002 IZTA
Semilla de cardamomo	<i>Elettaria cardamomum</i> L. Maton	Zingiberaceae	2070 IZTA
Semilla de cilantro	<i>Coriandrum sativum</i> L.	Apiaceae/ Umbelliferae	2067 IZTA
Té limón	<i>Cymbopogon</i> <i>citratu</i> (DC. ex Nees) Stapf	Poaceae/ Graminae	2191 IZTA
Toronja	<i>Citrus x paradisi</i> Macfady	Rutaceae	2064 IZTA
Toronjil blanco	<i>Agastache mexicana</i> (Kunth.) Lint. & Epling ssp. <i>xolocotzi</i>	Lamiaceae/Labiatae	2061 IZTA
Toronjil morado	<i>Agastache mexicana</i> (Kunth.) Lint. & Epling	Lamiaceae/Labiatae	2063 IZTA

7.1.1.3 Condiciones de la material vegetal

En la tabla 13 se muestran las condiciones que se establecieron al material vegetal, previas a la obtención de los aceites esenciales.

Tabla 13. Condiciones del material vegetal previas a la extracción del aceite esencial

Nombre común	Parte utilizada	Condición	Temporada de adquisición
Ajenjo	Parte aérea	Fresco	Enero
Albaca	Hoja	Fresco	Junio
Anís estrella	Fruto	Seco	Julio
Árnica	Parte aérea	Fresco	Enero
Canela	Corteza	Seco	Junio
Clavo	Botones florales	Seco	Junio
Comino	semillas	Seco	Junio
Enebro	Bayas	Seco	Enero
Epazote	Parte aérea	Fresco	Febrero
Eucalipto	Hojas	Fresco	Junio
Hierbabuena	Hojas	Fresco	Junio
Hinojo	Parte aérea	Fresco	Enero
Laurel	Hojas	Fresco	Marzo
Lavanda	Flores	Fresco	Diciembre
Lavanda	Hojas	Fresco	Diciembre
Lima	Pericarpio	Fresco	Noviembre
Limón	Pericarpio	Fresco	Julio
Mandarina	Pericarpio	Fresco	Mayo
Manzanilla	Tallo, hojas y flores	Fresco	Junio
Mejorana	Parte aérea	Fresco	Junio
Menta blanca	Tallos y hojas	Seco	Junio
Naranja	Pericarpio	Fresco	Enero
Nuez moscada	Semilla	Seco	Junio-julio
Orégano	Hojas	Seco	Mayo
Pericón	Flores y hojas	Fresco	Junio
Pino	Hojas y ramas	Fresco	Marzo
Pimienta	Fruto	Seco	Junio
Pirul	Hojas y frutos	Fresco	Junio
Poleo	Hojas	Fresco	Diciembre
Romero	Hojas	Fresco	Junio
Ruda	Parte aérea	Fresco	Enero
Salvia	Hojas y flores	Fresco	Junio
Semilla de cardamomo	Fruto	Seco	Marzo
Semilla de cilantro	Semilla	Seco	Agosto
Té limón	Hojas	Fresco	Julio
Tomillo	Tallos y hojas	Fresco	Junio
Toronja	Pericarpio	Fresco	Mayo
Toronjil azul	Planta aérea	Fresco	Enero
Toronjil blanco	Planta aérea	Fresco	Enero
Toronjil morado	Planta aérea	Fresco	Enero
Verbena	Tallos y hojas	Fresco	Marzo

Las condiciones de manejo del material vegetal son factores que se consideran importantes ya que de estos depende la mayor concentración AE contenido en la planta.

La temporada de obtención y la parte de la planta a utilizar varía según los compuestos que se pretendan obtener, así como el tipo, la temporada de cultivo y recolección, clima y tipo de riego ya que de esto depende la producción de metabolitos secundarios.

7.1.2 Métodos de obtención

En la tabla 14 se muestra la materia prima y los métodos de obtención aplicados y el rendimiento obtenido.

Tabla 14. Métodos de obtención del aceite esencial

Nombre común	Método de obtención	Rendimiento experimental (%)	Rendimiento teórico (%)
Ajenjo	Hidrodestilación TC	0.49	0.2-1.5 ^a
Albaca	Hidrodestilación TC	N/D	0.028 ^b
Anís estrella	Hidrodestilación TC	4.2	~5.0 ^c
Árnica	Hidrodestilación TC	N/D	-
Canela	Destilación por arrastre de vapor	0.5	1-2 ^c
Clavo	Hidrodestilación TDS	2	15-18 ^c
Comino	Hidrodestilación TC	1.94	3.8 ^d
Enebro	Hidrodestilación TC	0.8	2.54 ± 0.21 ^e
Epazote	Hidrodestilación TC	0.48	~ 1.0 ^f
Eucalipto	Hidrodestilación TC	1.2	1-3.0 ^c
Hierbabuena	Hidrodestilación TC	N/D	1.2-3.9 ^h
Hinojo	Hidrodestilación TC	N/D	~3.17 ⁱ
Laurel	Hidrodestilación TC	1.08	0.1-1.15 ^j
Lavanda (flores)	Hidrodestilación TC	0.6	~4.6 ^k
Lavanda	Hidrodestilación TC	0.8	~4.6 ^k
Lima	Expresión: Prensado	N/D	-
Limón	Expresión: Prensado	N/D	-
Mandarina	Expresión: Prensado	N/D	-
Manzanilla	Hidrodestilación TC	N/D	0.2-0.4 ^q
Mejorana	Hidrodestilación TC	N/D	0.5 – 3 ^q
Menta blanca	Hidrodestilación TC	N/D	0.1 - 1.0 ^q
Naranja	Expresión: Prensado	N/D	0.3 -0.5 ^q
Nuez moscada	Hidrodestilación TC	2.75	12.5 hexano ^l
Orégano	Hidrodestilación TC	3.25	~0.26 ^m
Pericón	Hidrodestilación TC	0.5	~0.7 ⁿ
Pino	Hidrodestilación TC	N/D	-
Pimienta	Hidrodestilación TC	1.7	~1.1 ^g
Pirul	Hidrodestilación TC	0.14	~0.75 ^ñ
Poleo	Hidrodestilación TC	0.3	NR
Romero	Hidrodestilación TC	0.4	0.4-1.2 ^o

Continuación de la Tabla 14. Métodos de obtención del aceite esencial

Nombre común	Método de obtención	Rendimiento experimental (%)	Rendimiento teórico (%)
Ruda	Hidrodestilación TC	0.69	5.51 peso seco ^p
Salvia	Hidrodestilación TC	N/D	-
Semilla de cardamomo	Hidrodestilación TC	6	1-5 ^q
Semilla de cilantro	Hidrodestilación TC	0.41	0.8-1.0 ^q
Té limón	Hidrodestilación TC	1.1	
Tomillo	Hidrodestilación TC	N/D	0.161 ^b
Toronja	Expresión: Prensado	0.71	0.5-1 ^q
Toronjil azul	Hidrodestilación TC	N/D	NR
Toronjil blanco	Hidrodestilación TC	0.59	~0.9 ^r
Toronjil morado	Hidrodestilación TC	1.19	~1.2 ^r
Verbena	Hidrodestilación TC	N/D	NR

Notas: N/D: No determinado. La cantidad del aceite esencial fue insuficiente para determinar % rendimiento TC: Trampa de Cleverger; TDS: Trampa Dean-Stark. NR: No reportado. a: (Orave, Raal, Arak, Mürissepp, & Kailas, 2006); b:(Lucchesi, Chemat, & Smadja, 2004); c:(Budavari, O'Neil, & Heckelmann, 1989); d: (Rong & Zi-Tao, 2004); e: (Angioni, Barra, Coroneo, Dessi, & Cabras, 2003); f: (Pino, Marbot, & Real, 2003); g:(Pino J. , Marbot, Real, & al., 2003); h: (Kokkini, Karousou, & Lanaras, 1995); i: (Musa Özcan & Chalchat, 2010); j: (Jiménez, Lorea, Jankowski, & Ricardo, 2011); k: (Luu Thai, y otros, 2013); l: (Adiani, Gupta, Chatterjee, Variyar, & Sharma, 2015); m:(Felice Senatore & Rigano, 2001); n:(Rica., 2004); ñ: (Hayouni, y otros, 2008); o: (Boutekedjiret, Bentahar, Belabbes, & Bessiere, 2003); p: (Mejrib, Abderrabbab, & Mejria, 2010); q: (Oils, Esoteric, 2015); r:(Estrada, y otros, 2004)

Se obtiene el AE de las 40 especies vegetales, de los cuales la mayor parte se obtuvo la cantidad necesaria para considerarse en el ensayo, mostrándose en la Tabla 14 la comparación de porcentaje de rendimiento de algunos AE, con datos reportados en la literatura coincidiendo favorablemente como el ajeno, laurel, eucalipto, y de forma contraria como anís estrella, toronjil blanco, canela, sin embargo hay que considerar que únicamente resulta representativa pero no repercute en los resultados experimentales, debido a que las condiciones de trabajo son diferentes a las teóricas y los métodos de obtención coinciden en algunos casos.

Tomando como factor las condiciones del área de trabajo (temperatura, humedad relativa, presión atmosférica), de igual forma las condiciones del equipo evitando fugas de presión de vapor, variación de temperatura en la parrilla, recirculamiento de agua, generando las limitantes para no poder comparar con las especificaciones reportadas; considerando lo anterior se puede decir que las condiciones utilizadas en este ensayo resultan ser las óptimas para la obtención de los AE.

7.1.3 Control de calidad

A continuación se muestran los resultados de las diferentes pruebas aplicados a los aceites esenciales obtenidos:

Primero se llevó a cabo la prueba de color que corresponde a una de las pruebas organolépticas. Este tipo de pruebas son de apreciación del analista. Y para dar un soporte técnico se apoyó de la notación de las tablas de Munsell.

7.1.3.1 Color

En la tabla 15 se muestra la comparación entre las técnicas utilizadas para medir la prueba de color.

Tabla15. Color

Nombre común	Color	Notaciones de Munsell	Literatura
Ajenjo	Verde oscuro	5Y4/3	Verde pardusco
Anís estrella	Incoloro	2.5Y8/1	Incoloro-amarillo pálido
Canela	Amarillo	2.5Y7/8	Amarillo claro
Clavo	Ligeramente amarillo	10YR8/8	Incoloro-amarillo pálido
Comino	Amarillo	10YR8/4	Incoloro- amarillo
Enebro	Amarillo claro	5Y8/6	Incoloro- amarillo verdoso pálido
Epazote	Amarillo	2.5Y8/2	Incoloro-amarillo pálido
Eucalipto	Amarillo claro	5Y8/6	Incoloro-amarillo pálido
Laurel	Incoloro	2.5Y8/1	-
Lavanda	Amarillo claro	5Y8/3	Incoloro-amarillo
Flores de lavanda	Amarillo claro	5Y8/3	Incoloro-amarillo
Nuez moscada	Ligeramente amarillo	2.5Y8/2	Incoloro-amarillo pálido
Orégano	Amarillo	10YR8/8	-
Pericón	Ligeramente amarillo	10YR8/4	-
Pimienta	Incoloro	2.5R8/1	Incoloro-amarillo
Pirul	Ligeramente amarillo	5Y8/3	
Poleo	Amarillo claro	10YR8/4	
Romero	Incoloro	10YR8/2	Incoloro-amarillo pálido
Ruda	Amarillo claro	10YR8/6	Amarillo pálido
Semilla de cardamomo	Incoloro	5Y8/2	Incoloro-amarillo pálido
Semilla de cilantro	Incoloro	5Y8/3	Incoloro-amarillo pálido
Té limón	Amarillo claro	5Y8/4	Amarillo rojizo-rojo pardusco
Toronja	Amarillo claro	5Y8/6	-
Toronjil blanco	Ligeramente amarillo	10YR8/4	-
Toronjil morado	Incoloro	2.5R8/1	-

Las tablas de Munsell nos dan valores que dependen del matiz, claridad y pureza para poder establecer un número de Munsell para cada aceite. La literatura indica colores muy similares a los experimentales, las diferencias son minúsculas ya que dependiendo del analista que evalúe este parámetro será el resultado. Además que varíen el tiempo de exposición a la luz y aire, aun las condiciones de almacenamiento sea el óptimo para evitar cierta exposición existe ese riesgo. Ya que esta prueba se hace al instante.

7.1.3.2 Parámetros físicos

En la tabla 16. Se muestran los parámetros físicos como la densidad e índice de refracción evaluados a los aceites esenciales. Estos parámetros indican la pureza de los aceites esenciales y la descomposición de los mismos.

Tabla16. Parámetros físicos

Nombre común	Densidad Reportada (g/mL)	Densidad Experimental (g/mL) a 20°C	Índice de refracción reportado	Índice de refracción experimental a 20°C
Ajenjo	0.925-0.955 ^{18°C}	0.8775	1.460-1.474 ^{120°C}	1.1648
Anís estrella	Cerca de 1.006	0.9733	-	1.5468
Canela	1.000-1.003	1.0306	1.565-1.582 ^{20°C}	1.5938
Clavo	1.038-1.060 ^{25°C}	1.0758	1.530 ^{20°C}	1.5158
Comino	0.900-0.935	1.0320	1.4950-1.5020 ^{20°C}	1.5143
Enebro	0.854-0.879 ^{25°C}	0.6997	1.4780-1.4880 ^{20°C}	1.4813
Epazote	0.95-0.980 ^{25°C}	0.9134	1.4723-1.4790 ^{20°C}	1.4778
Eucalipto	0.905-0.925 ^{25°C}	0.7381	1.4580-1.4700 ^{20°C}	1.4778
Laurel		0.9144		1.4678
Lavanda flor	0.875-0.888 ^{25°C}	0.8215	1.159-1.47 ^{20°C}	1.4678
Lavanda	-	0.9412	-	1.4608
Nuez moscada	0.859-0.924	0.8854	1.4740-1.4880	1.4898
Orégano		0.9570		1.5013
Pericón		0.9897		1.5323
Pimienta	0.89-0.9	0.8896	1.4935-1.4977	1.4758
Pirul		0.7941		1.4873
Poleo		*		1.4578
Romero	0.894-0.912	0.7959	1.464-1.476	1.4688
Ruda	0.832-0.845	0.8958	1.430-1.440	1.4313
Semilla de cardamomo	0.917-0.947	0.9081	1.4630-1.4660	1.4608
Semilla de cilantro	0.863-0.875	0.1666	1.4620-1.4720	1.4553

Continuación de la Tabla 16. Parámetros físicos

Nombre común	Densidad Reportada (g/mL)	Densidad Experimental (g/mL) a 20°C	Índice de refracción reportado	Índice de refracción experimental a 20°C
Té limón	0.895-0.908	0.6618	1.483-1.489	1.4868
Toronja	-	0.5102	-	1.4703
Toronjil blanco	-	0.8886	-	1.4658
Toronjil morado	-	0.9316	-	1.5103

Nota*: La cantidad no fue la suficiente para determinar la densidad, cantidad real 0.5g.

Debido a que la cantidad de los aceites esenciales es pequeña se efectúa con el método de picnómetro (NMX-075-SCFI-2012, 2012) con la variante que se utiliza un matraz volumétrico de 1 mL a peso constante; parámetro que permite la conversión de la cantidad de volumen a peso para determinar la cantidad de aceite esencial utilizada en el ensayo. El índice refracción se sigue su determinación conforme la norma (NMX-F-074-SCFI-2011., 2011) y con su interpretación de datos para los aceites esenciales, según los indicados en la norma para los aparatos Abbe; ISO 280 indica a las condiciones de 20°C un amplio rango de índice de refracción de 1.450-1.590 (K.Hüsnü Can Baser, 2010), tomando esta especificación 21 aceites utilizados en el ensayo entran dentro de ésta, a diferencia de los aceites esenciales de ajeno, canela y ruda.

También en la tabla 16 se muestran datos teóricos tanto de densidad como de índice de refracción, los cuales difieren en su mayoría con los experimentales, esto se puede deber al métodos de extracción del aceite esencial, porcentaje de rendimiento, almacenamiento del mismo AE, métodos de evaluación de la prueba, equipo de laboratorio y las condiciones de la área de trabajo, utilizadas para su evaluación en los datos teóricos son específicas y no coinciden con los experimentales, razón por la cual no es posible realizar una comparación entre ambos datos. Sin dejar de destacar que estos resultados teóricos no suelen ser en su mayoría reproducibles.

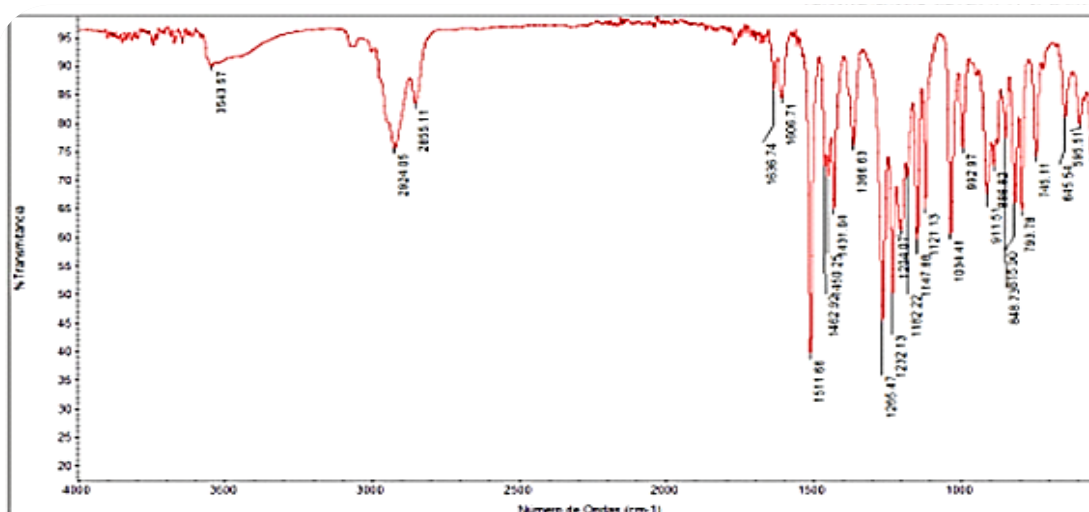
7.1.3.3 Parámetros espectrales

Indican la pureza llegando a establecer los tipos de enlaces presentes en los compuestos mayoritarios en el aceite esencial basándose en el número de bandas teóricas reportadas en la literatura. Con respecto a la actividad inhibitoria que presentaron los AE se elige cuatro al azar para su interpretación, considerando dos componentes mayoritarios respectivamente.

El eugenol es el componente principal del aceite esencial del clavo en una proporción de 80-85% y en menor proporción el cariofileno, acetato de isoeugenol y α -cariofileno.

En la tabla 17 corresponde al espectro infrarrojo del aceite esencial de clavo solo se hace interpretación de dos componentes mayoritarios como el acetato de isoeugenol y el eugenol.

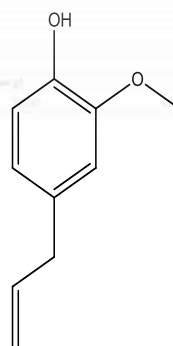
Tabla 17. Espectro de absorción infrarroja de aceite esencial de clavo



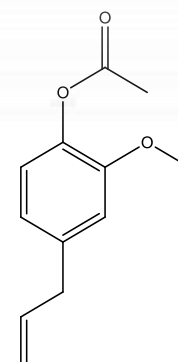
Número de barridos de la muestra: 32
 Número de barridos del fondo: 32
 Resolución: 4.000
 Ganancia de la muestra: 8.0
 Ajuste del espejo: 0.4747
 Altura: 150.00

Fecha: 22/02/2011
 Hora: 11:41
 Usuario: B.D.
 Resolución: 4.000
 Ajuste del espejo: 0.4747
 Altura: 150.00

Tempo de prueba: Tue Feb 22 11:46:34 2011



Eugenol



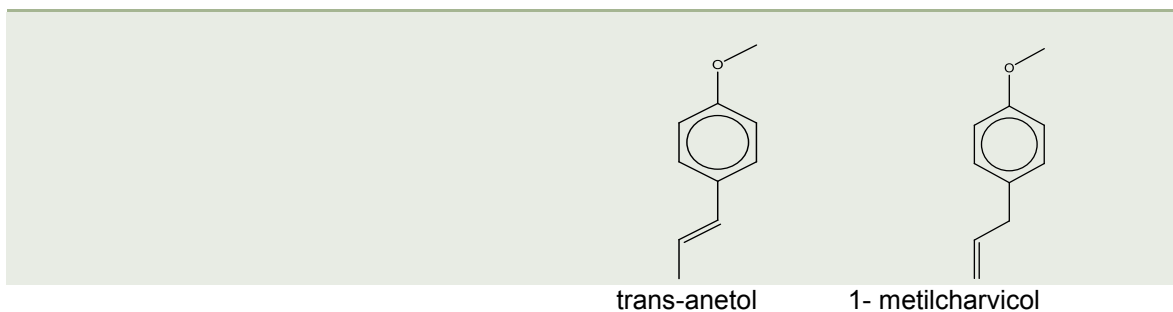
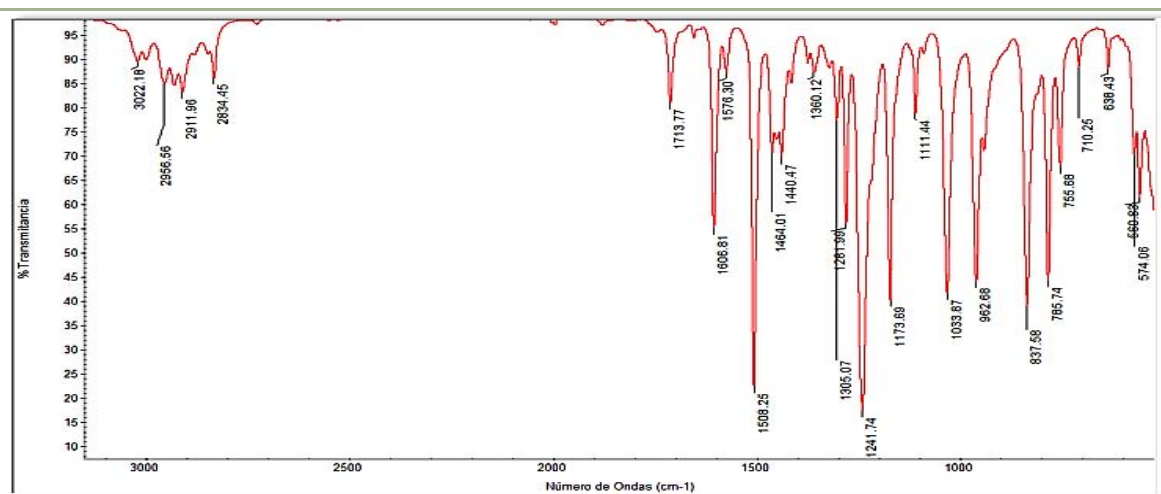
Acetato de isoeugenol

Grupo funcional	Numero de onda teórica(cm ⁻¹)	Numero de onda experimental(cm ⁻¹)
Alcanos		
C-H st	3000-2840	2924.05 2855.11
Alquenos		
C=C st	1690-1630	1636.74 1636.74
=CH δ ip	1420-1290	1431.04 1366.63
Aromáticos		
arC-C	1625-1575	1606.71 1511.66
O-H st	3650-3200	3543.37
C-O-C st as	1310-1000	1182.22, 1121.13 1142, 1034.41

Los componentes mayoritarios del aceite esencial del anís estrella es el *trans*-anetol con un 70-94%, que al igual se encuentra en su forma *cis*-anetol y de manera minoritaria se encuentran α -pipeno, 1-metilcharvicol

En la tabla 18 se muestra al espectro infrarrojo del AE de anís estrellase hace interpretación de dos componentes como el *trans*-anetol y 1- metilcharvicol

Tabla 18. Espectro de absorción infrarroja de aceite esencial de anís estrella



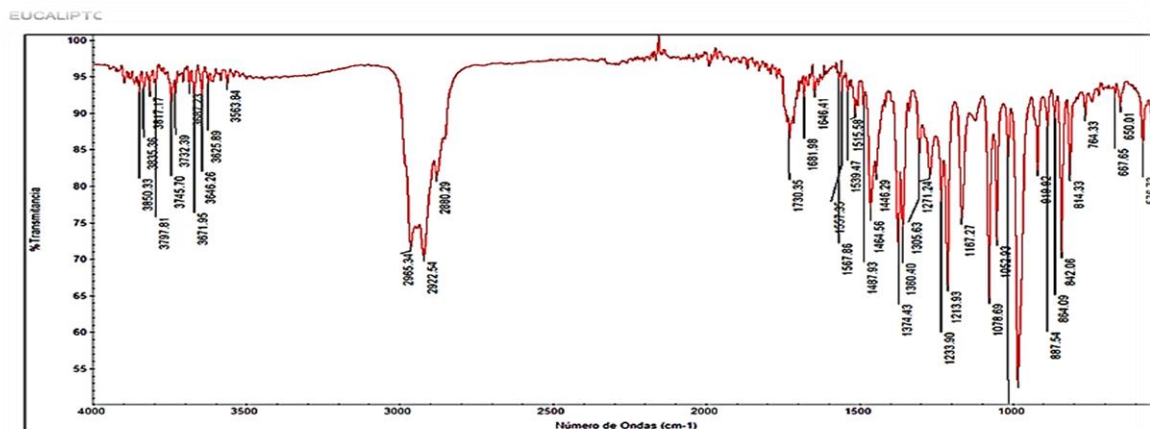
Grupo funcional			
	Numero de onda teórica (cm ⁻¹)	Numero de onda experimental(cm ⁻¹)	
Alcanos			
C-H st	3000-2840	3022.16	2956.55
CH₃δ as	1470-1430	1464.01	N/A
CH₂δ	1475-1450	1440.47	1440.47
Alquenos			
C=C st	1635-1610	1606.81	1606.81
=CHδoop	990-960	952.68	N/A
=C-H δ ip	1420-1290	1425.12	1360.12
Aromáticos			
arC-C δip	1625-1575	1576.3	1576.3
-C-O-C st as	1310-1000	1241.74,	1305.07
sobretonos	2000-1650	2000-1800 ¹	2000-1800
=CH δoop,	860-760	837.58-785.74 ¹	837.58-785.74
arC-Cγ			

Nota: aromáticos p- disustituídos.

El aceite esencial del eucalipto tiene como componentes principales el *p*-cimeno en una proporción del 68.43% y 1,8-cineol 13.92%, en menor proporción α -pineno y α -limoneno.

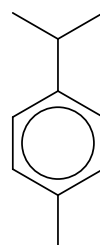
En la tabla 19 se muestra el infrarrojo del aceite esencial de eucalipto haciendo interpretación de los dos componentes: *p*-cimeno y 1,8-cineol.

Tabla 19. Espectro de absorción infrarroja de aceite esencial de eucalipto

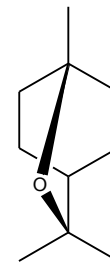


Número de barridos de la muestra: 52
 Número de barridos del fondo: 32
 Resolución: 4.000
 Ganancia de la muestra: 8.0
 Velocidad del espejo: 0.4747
 Apertura: 150.00

Tiempo de recogida: Mie Sep 14 17:31:56 2011 (C)



p-cimeno



1,8-cineol

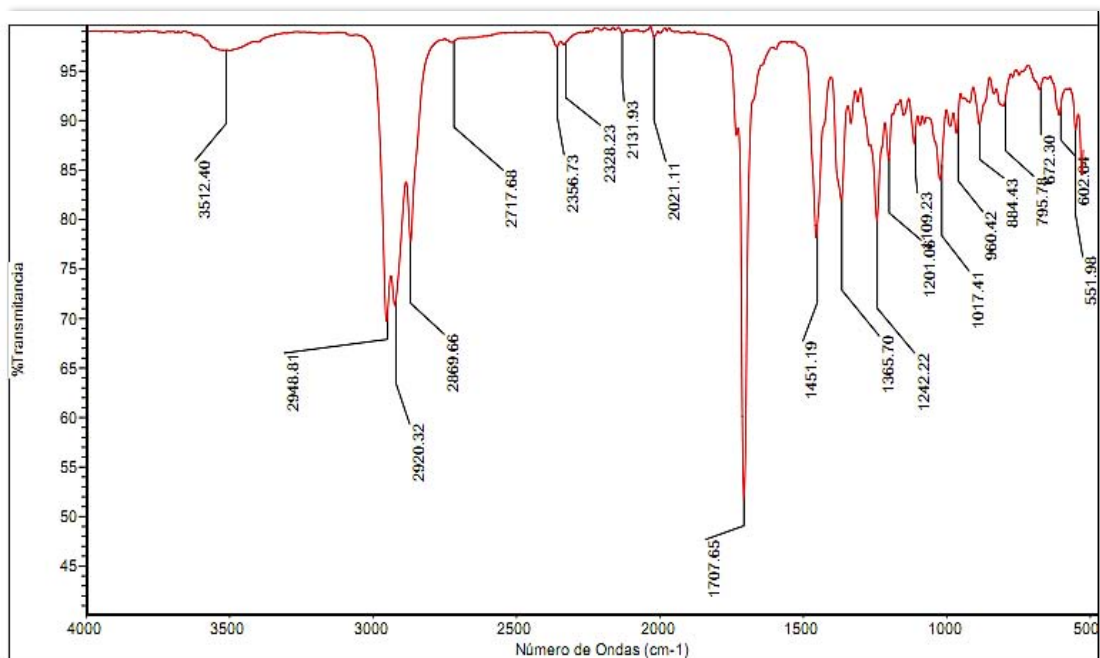
Grupo funcional	Numero de ondas teóricas (cm ⁻¹)	Numero de ondas experimentales (cm ⁻¹)
Alcanos		
C-H st	3000-2840	2955.34-2922.54
CH ₃ δ as	1470-1430	1464.56-1446.29
CH ₃ γ	1250-800	1167.27
CH ₃ δ sy	1395-1365	1374.43-1360.40
Aromático		
ArC-C	1625-1575	1567.86
Sobretonos	2000-1600	2000-1800 ¹
=CH δoop, arC-C γ	860-760	842.06-814.33 ¹
Ester		
C-O-C st as	≈1100	N/A
	≈850	1078.68
		842.06

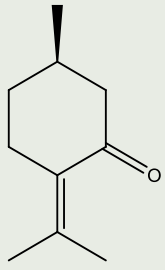
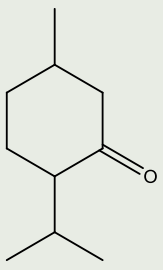
Nota: N/A. no aplica, ¹ aromáticos *p*- disustituidos

Los principales componentes del aceite esencial de poleo son mentona con un 63%, pulegona, α - pineno, β -cariofileno.

En la tabla 20 se muestra el infrarrojo del AE de poleo haciendo la interpretación correspondiente de la mentona y pulegona.

Tabla 20. Espectro de absorción infrarroja de aceite esencial de poleo



Grupo funcional			
		pulegona	mentona
Alcanos	Número de ondas teórica (cm ⁻¹)	Número de ondas experimentales (cm ⁻¹)	
C-H st	3000-2840	2948.81	2920.32
CH ₃ δ as	1470-1430	1451.19	N/A
CH ₃ δ sy	1395-1365	N/A	1365.70
Alquenos			
=CHδ ip	1420-1290	1242.22	N/A
Cetona			
C=O st	1775-1650	1707.65	1707.65

Nota: N/A. no aplica

7.2 Metodología de la actividad inhibitoria de los radicales libres por la reacción de polimerización de MMA

7.2.1 Reacción de polimerización

El mecanismo de reacción de la polimerización de metacrilato de metilo es vía radicales libres, misma que se da en pasos o mejor conocida como reacción en cadena en donde los radicales libres son iniciados por un catalizador como el peróxido de benzoilo (con un enlace fácil de romper homolíticamente por la acción de luz o calor).

Se utilizó esta reacción por ser una de la más conocidas y económicas; por ser vía radicales libres se podría determinar si estos son captados en las etapas de iniciación o propagación se puede dar la actividad inhibitoria de los aceites esenciales.

7.2.1.1 Condiciones del ensayo

En la tabla 21 se observan las condiciones establecidas para el ensayo, considerando los siguientes factores:

- Temperatura: La temperatura del ensayo se establece a $80\pm 2^{\circ}\text{C}$, tomando como referencia la temperatura de ebullición del MMA ($90-93^{\circ}\text{C}$); ya que a menor temperatura mayor el tiempo de reacción y viceversa.
- Tiempo: Se determinó el tiempo en el que se formaba el polímero (sólido), observándose que al llegar a los 20 min., era imposible tomar el índice de refracción (ver tabla 22), debido a que el polímero es un sólido, se estableció como tiempo de ensayo 18 min.
- Metacrilato de metilo: La cantidad de MMA se mantuvo constante durante todo el ensayo.
- Peróxido de benzoilo: Al igual que en el párrafo anterior la cantidad de peróxido se mantiene constante.

Tabla 21. Condiciones del ensayo *in vitro*

Nombre	Cantidad
Peróxido de benzoilo	20 mg
Metacrilato de metilo	2 mL
Tiempo de ensayo	18 min
Temperatura del ensayo	$80\pm 2^{\circ}\text{C}$

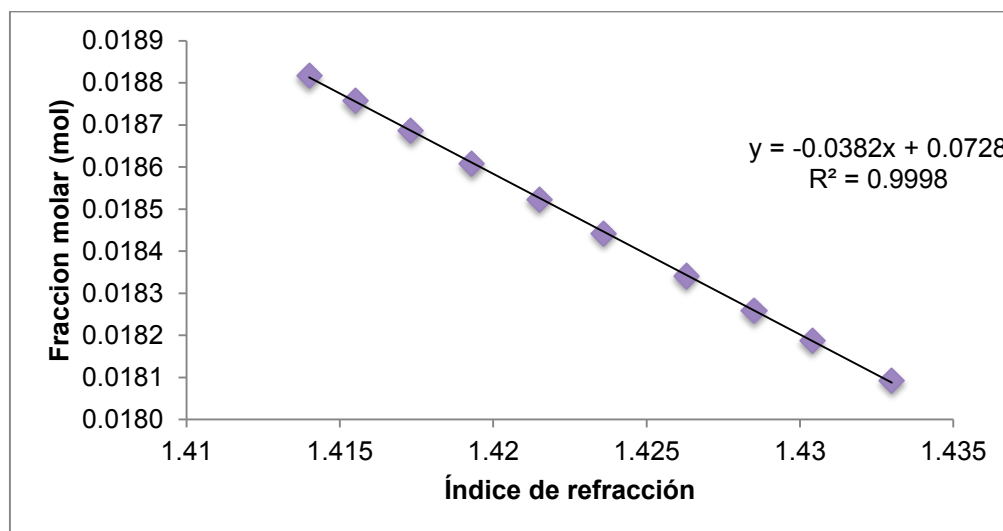
Tabla 22. Índices de refracción del MMA en función del tiempo

Tiempo (min)	Índice de refracción	Refractividad molar (cm ³ /mol)	Fracción molar (mol)
20	N/D	N/D	N/D
18	1.4330	27.6230	0.0181
16	1.4304	27.4783	0.01819
14	1.4285	27.3723	0.01826
12	1.4263	27.2495	0.01834
10	1.4236	27.0984	0.01844
8	1.4215	26.9808	0.01852
6	1.4193	26.8573	0.01861
4	1.4173	26.7449	0.01869
2	1.4155	26.6436	0.01876
0	1.4140	26.5591	0.01882

Como se puede observar en la tabla 22 el índice de refracción cambia con respecto al tiempo, porque el monómero se va transformando en el polímero.

De acuerdo a las condiciones de ensayo establecidas, el MMA no llega a la polimerización total, siempre se tendrá una mezcla monómero/ polímero. Se optó por seguir la reacción a través del monómero porque siempre se encuentra en una mayor proporción que el polímero formado, lo que nos lleva a considerar que al índice de refracción, el MMA contribuye en mayor proporción, efectuando así, los cálculos de fracción molar con respecto a éste. En la gráfica 1 se representa la relación del índice de refracción con respecto a la fracción molar de MMA.

Considerando lo anterior y analizando la reacción, se puede considerar la siguiente afirmación: a mayor fracción mol de MMA mayor actividad inhibitoria y a menor fracción mol de MMA menor actividad inhibitoria.



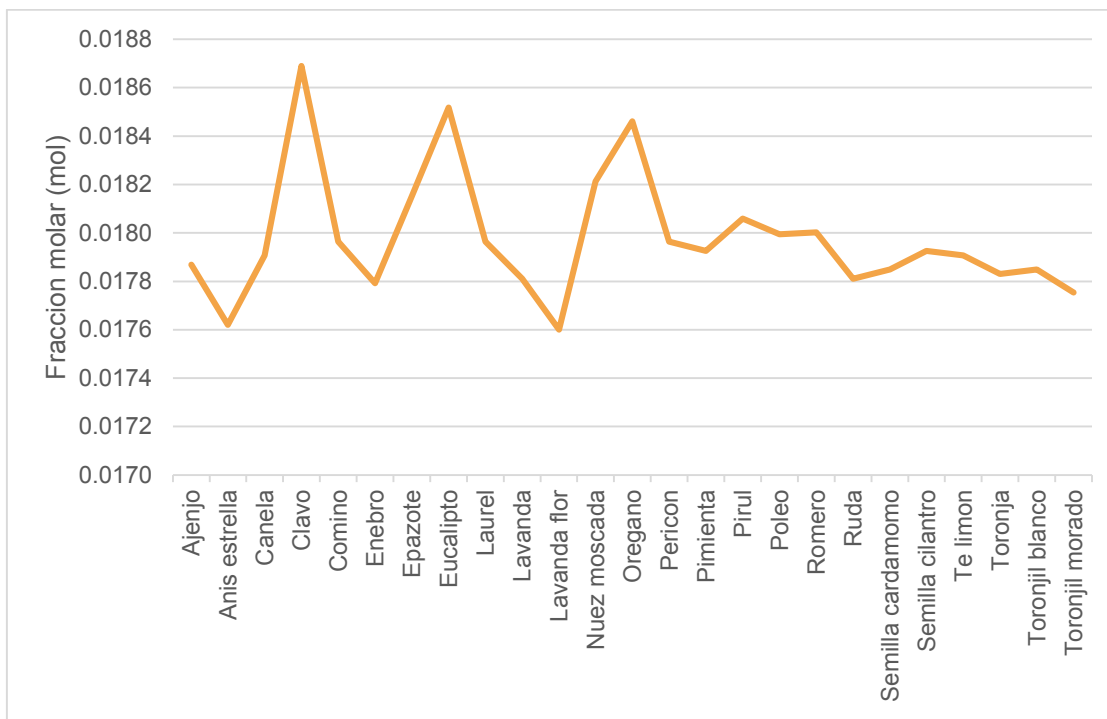
Gráfica 1. Relación del índice de refracción y su fracción molar de MMA

7.2.2 Prueba de la actividad inhibitoria en la reacción de polimerización

En la tabla 23 se presenta el ensayo *in vitro* de la actividad inhibitoria de radicales libres de aceites esenciales determinado mediante la reacción de polimerización del metacrilato de metilo manteniendo las condiciones establecidas para la reacción. Respectivamente en la gráfica 2 se muestra la fracción molar de monómero de metacrilato de metilo por cada aceite esencial evaluado.

Tabla 23. Ensayo *in vitro* de la actividad inhibitoria de los aceites esenciales

Aceites esenciales	Índice de refracción	Fracción molar (mol)
Ajenjo	1.438	0.0179
Anís estrella	1.4445	0.0176
Canela	1.437	0.0179
Comino	1.4165	0.0187
Clavo	1.4355	0.0180
Enebro	1.44	0.0178
Epazote	1.4306	0.0182
Eucalipto	1.421	0.0185
Laurel	1.4355	0.0180
Lavanda flor	1.4395	0.0178
Lavanda	1.445	0.0176
Nuez moscada	1.429	0.0182
Orégano	1.4225	0.0185
Pericón	1.4355	0.0180
Pimienta	1.4365	0.0179
Pirul	1.433	0.0181
Poleo	1.4347	0.0180
Romero	1.4345	0.0180
Ruda	1.4395	0.0178
Semilla de cardamomo	1.4385	0.0178
Semilla de cilantro	1.4365	0.0179
Te limón	1.437	0.0179
Toronja	1.439	0.0178
Toronjil blanco	1.4385	0.0178
Toronjil morado	1.441	0.0178



Gráfica 2. Fracción molar de cada aceite esencial



Fotografía 7. Equipo de la prueba *in vitro* de la actividad inhibitoria de los AE

Foto tomada en el Lab de Fitoquímica y Farmacognosia de la FES Cuautitlán. 2014

Para obtener la fracción molar para cada AE se emplea la fórmula de la Grafica 1.

$$y = -0.0382x + 0.0728$$

Donde

x = índice de refracción de cada AE

y = la fracción molar de la reacción para cada aceite esencial que está participando.

Para determinar el porcentaje de inhibición que se presenta en la tabla 24 se hace uso de la siguiente fórmula:

0.01882 mol (fracción molar MMA) ----- 100% inhibición de la polimerización
 Fracción molar para cada AE ----- X% inhibición

Se tomó el tiempo 0 de polimerización compuesto de metacrilato de metilo, peróxido de benzoilo y trazas de hidroquinona como el 100% de inhibición de polimerización (fracción mol=0.01882), debido a que al no permitir que la reacción diera inicio solo se encuentra el monómero de metacrilato de metilo.

Tabla 24. Capacidad de inhibición de los aceites esenciales

Aceite esencial	Inhibición %	Aceite esencial	Inhibición %
Ajenjo	94.9437	Pericón	95.4511
Anís estrella	93.6243	Pimienta	95.2481
Canela	95.1467	Pirul	95.9586
Comino	95.4511	Poleo	95.6135
Clavo	99.3077	Romero	95.6541
Enebro	94.5377	Ruda	94.6392
Epazote	96.4457	Semilla de cardamomo	95.2481
Eucalipto	98.3943	Semilla de cilantro	94.8422
Laurel	95.4511	Te limón	95.1467
Lavanda flor	94.6392	Toronja	94.7407
Lavanda	93.5228	Toronjil blanco	94.8422
Nuez moscada	96.7705	Toronjil morado	94.3348
Orégano	98.0898		

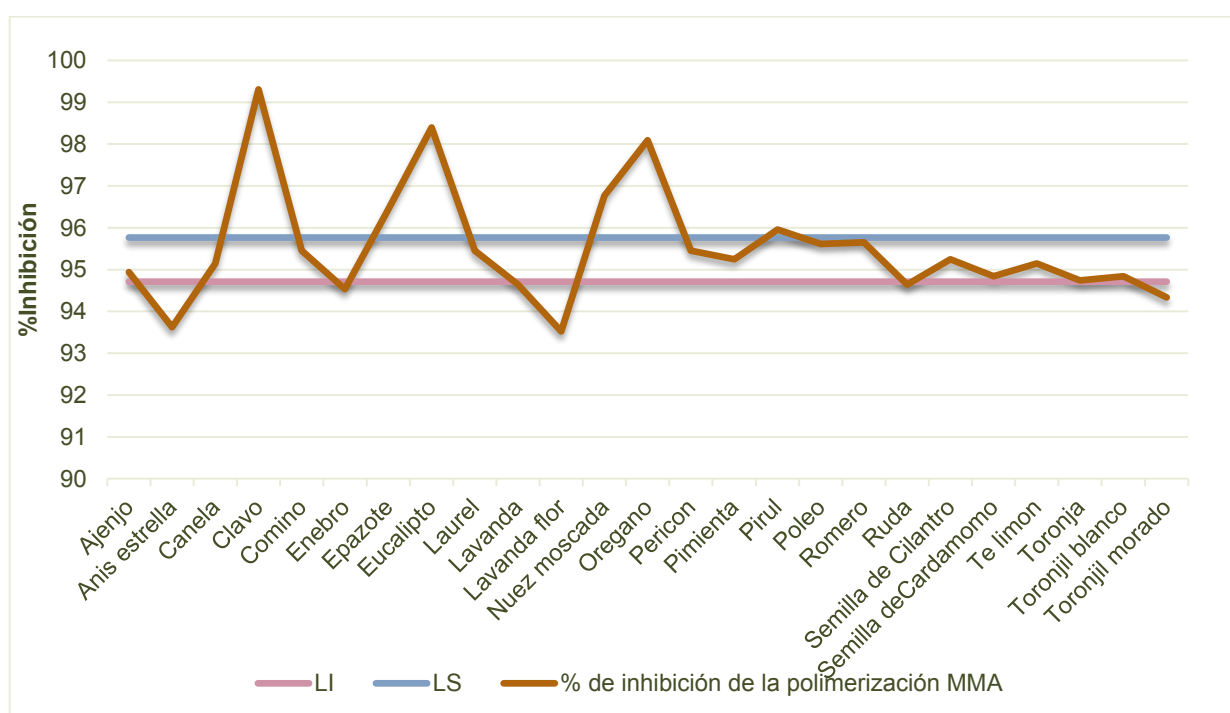
Se considera que por un corto periodo de tiempo la velocidad de polimerización es igual a 0; es decir que se tiene una inhibición ideal (en la etapa de iniciación).

El determinar el porcentaje de inhibición de la polimerización vía radicales libres es confirmar que los aceites esenciales de algunas plantas aromáticas medicinales tienen la capacidad de capturar estos radicales libres que se forman en el medio y evitar, frenar o retardar su formación dependiendo estrechamente del comportamiento que el aceite esencial presente como inhibidor.

La actividad inhibitoria de los aceites esenciales que se utilizaron en el ensayo, se ha delimitado para tener una mejor apreciación del comportamiento que cada uno presenta. Para comprobar; se llevó a cabo el método estádisco diferencial el cual nos demuestra conclusiones acerca de las características del comportamiento de la capacidad inhibitoria de los AE, basándose en los dos tipos de estimaciones la puntual e intervalos de confianza. Los cuales se tomaron del 95% con valores de tablas de Z llevando a cabo los cálculos en hojas de Excel.

Tabla 25. Información estadística de intervalos de confianza de la capacidad inhibitoria de AE

media	95.2481
σ	1.3792
valor z	1.96
margen	0.5301
Límite inferior (LI)	94.717
Límite superior (LS)	95.778



Gráfica 3. Comportamiento inhibitorio de los aceites esenciales

Como se puede observar en la gráfica 3, todos los aceites presentaron actividad inhibitoria de radicales, pero se pueden establecer siguientes intervalos de confianza.

- Debajo de 94.717% retardador no ideal
- Entre 94.718% y 95.777% retardador ideal
- Arriba de 95.778% inhibidor ideal

En esta gráfica se observa que los aceites esenciales que se localizan en el límite superior que tienen un porcentaje mayor al 95.778% son caracterizados según su comportamiento en inhibidores ideales entre los que se encuentran el clavo,

orégano y eucalipto, los cuáles inhiben la formación del polímero y por lo tanto captan los radicales libres de la reacción.

Los aceites de clavo y orégano contienen compuestos fenólicos (eugenol, carvacrol y timol) que por su naturaleza, fácilmente se oxidan por la capacidad de captar los radicales libres, hecho que se comprueba por los resultados obtenidos en la inhibición de la polimerización. En el caso del eucalipto el componente principal es un éter (1,8-cineol) y además contiene componentes con insaturaciones (α -pineno y β -pineno) los éteres al igual que las insaturaciones también pueden oxidarse y captar el radical libre del peróxido de benzoilo y por ende inhibir la reacción de polimerización.

Los que se encuentra en el centro presentan un comportamiento de retardadores ya que su actividad inhibitoria se da en la etapa de propagación haciendo que la reacción sea lenta y que no se formen más cadenas. Este grupo en particular es de mayor importancia para desarrollar y validar este método. Este grupo de aceites van a reducir la cantidad de radicales libres que se encuentren en la reacción, por lo que su mecanismo es "la combinación o desproporción de radicales libres". Lo anterior hace suponer que algunos de sus componentes son químicamente complejos haciendo que el producto de reacción de retardador - mezcla polimérica sea estable o semi estable para iniciar una cadena pero a una velocidad de reacción lenta.

Los aceites que se encuentran en el límite inferior menor al 94.717% son aceites que por la actividad inhibitoria que presentan no son los óptimos, es decir, que sus componentes no contienen la suficiente cantidad de grupos fenólicos o tal vez se hayan degradado por las condiciones propias del ensayo, disminuyendo así el poder de captación de los radicales libres, que se generan en la reacción de polimerización.

7. Conclusión

- Se desarrolló el ensayo *in vitro* en la reacción de polimerización de metacrilato de metilo donde se evaluó la actividad y capacidad inhibitoria de los radicales libres de cada aceite esencial empleado.
- Se llevó a cabo satisfactoriamente la investigación de los materiales vegetales empleados para el ensayo.
- Se obtuvieron los certificados y registros de identificación etnobotánica de los materiales vegetales expedidos por el Herbario Etnobotánico IZTA.
- La obtención de los aceites esenciales se llevó a cabo por métodos de acuerdo a las condiciones propias del material vegetal.

- El control de calidad de los aceites esenciales se evalúa según los criterios de las normas NMX y de la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos (FHEUM). (Tiên Do, Hadji-Minaglou, Antoniotti, & Fernández, 2015) y algunos con criterios según la ISO 280 (K.Hüsnü Can Baser, 2010).
- Se establecieron las condiciones de reacción de polimerización manteniendo constante la temperatura, tiempo de reacción de 18 min y la concentración del monómero e iniciador.
- Los parámetros fisicoquímicos establecidos para evaluar la actividad y capacidad inhibitoria de radicales libres son el índice de refracción y refractividad molar.
- Se desarrolló la metodología para evaluar la actividad inhibitoria de radicales libres mediante la reacción de polimerización de metacrilato de metilo vía radicales libres y la capacidad de inhibición a partir de la fracción molar del monómero de MMA de los aceites esenciales.
- Los aceites esenciales poseen actividad inhibitoria de los radicales libres, en la reacción de polimerización vía radicales libres de metacrilato de metilo, dando como verdadera la hipótesis planteada.
- Se determinó que los aceites esenciales de clavo, eucalipto, epazote, nuez moscada, orégano y pirul inhiben la polimerización del MMA por la acción que éstos presentan de captar los radicales libres.
- Finalmente se observó que este método es ideal, para muestras insolubles en agua y se puede aplicar de forma directa sin necesidad de utilizar cosolventes, además que se utiliza en cantidades mínimas. La reacción se puede llevar a cabo en un tiempo de 18 min a diferencia de otros métodos y que no es sensible de la luz.

8. Prospectivas

- Por lo que se refiere al control de calidad del aceite esencial, específicamente de la determinación de color se sugiere el uso de estándares de aceites esenciales mediante un colorímetro o el uso de las Tablas de Musell como un método general.

- Para la validación del método y la metodología se debe de trabajar con cada uno los AE de la parte media de la gráfica 3, para obtener la reproducibilidad, precisión, exactitud y tolerancia de resultados.
- El índice de refracción y refractividad molar utilizado en este ensayo como herramienta de evaluación de la actividad y capacidad inhibitoria de radicales libres se propone sustituir por viscosidad.
- Se sugiere trabajar con algunos de los componentes puros presentes en los aceites esenciales para llevar a cabo una propuesta de mecanismo de reacción y comprobar de qué manera estos actúan.
- Se propone implementar el ensayo con extractos vegetales con el propósito de medir su capacidad antioxidante, en especial de todos aquellos que son insolubles en agua, debido a que las pruebas que actualmente se utilizan son para extractos polares o si se quiere evaluar los no polares, forzosamente se debe utilizar un cosolvente.
- Investigar si los extractos no polares son compatibles con el ensayo propuesto.
- Esta investigación está dirigida a propuestas de interés biológico, farmacológico y toxicológico para comprobar las diferentes propiedades que los aceites esenciales empleados en este ensayo tienen o se presume que están presentes.

9. Referencia

Articulos

- Adiani, V., Gupta, S., Chatterjee, S., Variyar, P., & Sharma, A. (2015). Activity guided characterization of antioxidant components from essential oil of Nutmeg (*Myristica fragrans*). *J Food Sci Technol*, 52(1), 221–230.
- Angioni, A., Barra, A. M., Coroneo, V., Dessi, S., & Cabras, P. (2003). Chemical Composition of the Essential Oils of *Juniperus* from Ripe and Unripe Berries and Leaves and Their Antimicrobial Activity. *J. Agric. Food Chem.*, 51(10), 3073–3078.
- Boutekdjiret, C., Bentahar, F., Belabbes, R., & Bessiere, J. M. (2003). Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. *Flavour Fragr. J*, 18, 481–484.

- Estrada, R., Hernández, E., García, A., Soto, M., Linares, E., Bye, R., . . . Martínez, M. (2004). Comparative chemical composition of *Agastache mexicana* subsp. *mexicana* and *A. mexicana* subsp. *xolocotziana*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 32, 685–694.
- Felice Senatore, F., & Rigano, D. (2001). Essential oil of two *Lippia* spp. (Verbenaceae) growing wild in Guatemala. *Flavour and Fragrance Journal*, 169–171.
- Harborne J, B. (1998). *Phytochemical methods; a guide to modern techniques of plant analysis*. Londres: Chapman and Hall.
- Hayouni, A., Chraief, I., Abedrabba, M., Bouix, M., Leveau, J.-Y., Mohammed, H., & Hamdi, M. (2008). Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: Their chemical compositions and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat. *International Journal of Food Microbiology*, 125, 242–251.
- Huang, D. B. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal and Food Chemistry*, 1841-1856.
- Jiménez, N., Lorea, F., Jankowski, C., & Ricardo, R. (2011). Essential Oils in Mexican Bays (*Litsea* spp., Lauraceae): Taxonomic Assortment and Ethnobotanical Implications. *Economic Botany*, 65(2), 178–189.
- Kokkini, S., Karousou, R., & Lanaras, T. (1995). Essential oils of spearmint (Carvone-rich) plants from the island of Crete (Greece). *Biochemical Systematics and Ecology*, 23(4), 425–430.
- Lucchesi, M., Chemat, F., & Smadja, J. (2004). Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: Comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography A*, 1043(2), 323–327.
- Luu Thai, D., Le Ngoc, H., Ngo Duy Anh, T., Jian, Z., Mammucari, R., & Foster, N. (2013). Comparison of Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Lavender (*Lavandula angustifolia* L.) Essential Oils Extracted by Supercritical, Hexane and Hydrodistillation. *Food Bioprocess Technol*, 6, 3481.
- Maldonado, O., Jiménez, E. N., Guapillo, B., Vargas, M., Ceballos, G., & Méndez, E. (2010). Radicales Libres y su papel en las enfermedades. *Rev Med UV*, 32-39.
- Magalhaes, L. M. (2008). Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytical Chimica Acta*, 1-19.

- Mastelic, J., Jerkovic, I., Blazevic, I., Radinic, A., & Krstulovic, L. (2007). Hydrodistillation-adsorption method for the isolation of water-soluble, non-soluble and high volatile compounds plant materials. *Talanta*, 885-891.
- Mejrib, J., Abderrabbab, M., & Mejria, M. (2010). Chemical composition of the essential oil of *Ruta chalepensis* L: Influence of drying, hydro-distillation duration and plant parts. *Industrial Crops and Products*, 32(3), 671–673.
- Musa Özcan, M., & Chalchat, J. C. (2010). Comparison of chemical composition of essential oil obtained from different parts of *foeniculum vulgare* ssp. *Piperitum* used as condiment. *Journal of Food Biochemistry*, 34, 1268–1274.
- Orave, A., Raal, A., Arak, E., Mürissepp, M., & Kailas, T. (2006). Composition of essential oil of *Artemisia Absinthium*, of different geographical regions. *Proc. of the Estonian Acad.of Sci. Chem.*, 55(3), 155-165.
- Pino, J., Marbot, R., & Real, I. (2003). Essential Oil of *Chenopodium ambrosioides* L. from Cuba. *Journal of Essential Oil Research*, 15(3), 213-214.
- Pino, J., Marbot, R., Real, I., & al., e. (2003). Chemical composition of the aerial part of *Piper nigrum* L. from Cuba. *Journal of Essential oil Research*, 15(3), 209-210.
- Rica., A. s. (2004). Ciccío, JF. *Rev Biol Trop.*, 52(4), 853-7.
- Rodríguez Álvarez, M., Alcaraz Meléndez, L., & Real Cosío, S. M. (2012). *Procedimientos para la extracción de aceites esenciales en planta aromáticas*. La Paz: Publicación CIB.
- Rong, L., & Zi-Tao, J. (2004). Chemical composition of the essential oil of *Cuminum cyminum* L. from China. *Flavour and Fragrance Journal*, 19(4), 311-314.
- Southorn, P. A., & Powis, G. (1988). Free radicals in medicine.I.Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clinic Proceedings*, 381-389.
- Tiên Do, T. K., Hadji-Minaglou, F., Antoniotti, S., & Fernández, X. (2015). Authenticity of essential oils. *Trends in Analytical Chemistry*, 66, 146–157.

Libros

- Bruice, P. Y. (2008). *Química Orgánica*. México: Pearson Educación.
- Bruneton, J. (2001). *Farmacognosia; Fitoquímica, plantas medicinales*. España: Acribia.

- Budavari, S., O'Neil, M. S., & Heckelmann, P. (1989). *The Merck Index*. New Jersey: Merck & Co., Inc.
- Camacho, B., Morales, M., Sánchez, A., Velázquez, A., & Ángeles, E. (en revisión). *Manual de Farmacognosia y Fitoquímica*. México: UNAM-FESC.
- Cerpa, M. G. (2007). *Hidrodestilación de Aceites Esenciales: Moldeado y Caracterización*. España: Universidad Valladolid.
- Collins, E. (2006). *Experiments in Polymer Science*. USA: Wiley Interscience.
- Delgado Cirilo, A., Minguillón Llombart, C., & Joglar Tamargo, J. (2003). *Introducción a la Química Terapéutica (segunda ed.)*. España: Diaz de Santos.
- Dominguez, X. (1988). *Métodos de investigación fitoquímica*. México: Limusa.
- Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos. (2013). México.
- Fred W. Billmeyer, J. (1975). *Ciencia de los Polimeros*. Madrid: Reverte.
- García Ruano, J. (1975). *Introducción a la química de los radicales libres*. Madrid: Alhambra.
- J. Grassmann, E. F. (2003). *Essentialoils: Properties and Uses*. En *Encyclopedia of Food Science and Nutrition* (págs. 2177, 2178). Munich: Technical University of Munich.
- James, M. (1999). *Polymer data Handbook*. Cincinnati: Oxford University Press.
- K.Hüsñü Can Baser, B. G. (2010). *Handbook of Essential oils sciene, technology, and applications*. USA: CRC Press.
- Martínez, M. (1996). *Plantas Medicinales de México*. México: Botas applications.
- Kuklinski, C. (2003). *Farmacognosia; estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. España: Ediciones Omega.
- Trease, G., & Eduard, E. (1982). *Farmacognosia (2 ed.)*. México: Compañía Editorial Continental México.
- Valdés, B., Talavera, S., & Fernández Galiano, E. (s.f.). *Flora Vascular de Andalucía Occidental*.

Normatividad

NMX-075-SCFI-2012. (2012). NMX-075-SCFI-2012-Alimentos-Aceites y grasas vegetales o animales. Determinación de la Densidad Relativa. 2012: Diario Oficial de la Federación.

NMX-F-074-SCFI-2011. (2011). NMX-F-074-SCFI-2011. Alimentos para humanos- Aceites Esenciales, Aceites y Grasas vegetales o animales determinación del Índice de Refracción con el Refractómetro de Abbe. México: Diario Oficial de la Federación.

Tesis

Díaz Fajardo, O. L. (2007). Estudio comparativo de la composición química y evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial de *Aloysia triphyllia* en tres zonas de Colombia. Colombia: Universidad Industrial de Santander Escuela de Química.

Flores, M. C. (2012). Investigación de los aceites, sus características y finalidad de uso. Análisis del estado de su regulación en Chile y el Mundo. Santiago de Chile: Universidad de Chile.

Vargas Muñoz, S. (1994). Síntesis y caracterización de Polímeros híbridos orgánicos e inorgánicos, los cuales poseen. México: UAM.

Zepeda, J. (2002). Estudio etnobotánico en el uso de las plantas medicinales, en los municipios de San Juan del Río. México: Tesis UNAM.

Web

Arraiza Bermúdez Cañete, M. P. (2011). Uso Industrial de Plantas Aromáticas y Medicinales. Recuperado el 25 de Julio de 2012, de Aceites Esenciales: <http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema7.pdf>

Barnes Joanne, A. L. (2007). Herbal Medicines. Londres: PhP.

Blog de Física. (13 de Marzo de 2013). Recuperado el 26 de Enero de 2014, de http://www.google.com.mx/search?q=indice+de+refraccion&biw=1024&bih=499&source=Inms&tbm=isch&sa=X&ei=m7loVMLPJMG0yASI4IKADw&ved=0CAYQ_AUoAQ#facrc=_&imgdii=_&imgsrc=zYPFRxYWujyl7M%253A%3BsSw5shYI-xlkjM%3Bhttp%253A%252F%252F4.bp.blogspot.com%252F-nkdZahJhisl

- Fonnegra G., R., & Jiménez Ramírez, S. L. (9 de 02 de 2014). Planta medicinales aprobadas en Colombia . Obtenido de http://books.google.es/books/about/Plantas_medicinales_aprobadas_en_Colombi.html?id=K8eI-7ZeFpsC
- Gutierrez Durán, M. C. (1994). Dialnet-datos históricos y bibliográficos del género lavandula-587763.pdf. Recuperado el 18 de Abril de 2014
- Houghton Mifflin Company. (2005). Science Dictionary Copyright (C). Recuperado el 27 de Mayo de 2013, de The American Heritage: http://www.houghtonmifflinbooks.com/booksellers/press_release/studentsscience/mtor.shtm
- Infojardin. (15 de 08 de 2012). Obtenido de <http://articulos.infojardin.com/Frutales/fichas/pomelos-cultivo-pomelo.htm>,
- Martínez M., A. (2001). Recuperado el 19 de Abril de 2013, de <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/esencias2001b.pdf>
- Octavio, M. S. (8 de Octubre de 2010). Radicales libres y su papel en las enfermedades. Recuperado el 15 de Febrero de 2014
- Oils, Esoteric. (6 de Marzo de 2015). Cardamom oil (Elettaria cardamomum) - information on the origin, source, extraction method, chemical composition, therapeutic properties and uses. Recuperado el 24 de Abril de 2015, de Oils, Esoteric: <http://www.essentialoils.co.za/essential-oils/cardamom.htm>
- Ortuño Sánchez, M. F. (2006). Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. Recuperado el 28 de Septiembre de 2012, de http://books.google.com.mx/books?id=cW5TsDKqx9wC&pg=PA8&lpg=PA8&dq=RSE%3%91A+HIST%3%93RICA+Los+aceites+esenciales,+resinas,+extractos&source=bl&ots=LIYVNRfDfI&sig=GYXPOrP9pV9nbsXOa_iEU2z4WIA&hl=es&sa=X&ei=zZThUpb6H4bj2wXvZQ&ved=0CCYQ6AEwAA#v=onepage&q=
- Quesada Hernández, A. (5 de Noviembre de 2008). Las plantas medicinales. Recuperado el 3 de Diciembre de 2013
- Quimica Delta. (13 de Mayo de 2010). Recuperado el 22 de Mayo de 2013, de [http://www.quidelta.com.mx/Productos-Servicios/Mercados/Intermediarios-Quimicos/Monomero-de-Metil-Metacrilato-\(MMA\)](http://www.quidelta.com.mx/Productos-Servicios/Mercados/Intermediarios-Quimicos/Monomero-de-Metil-Metacrilato-(MMA))

Sánchez Castellanos, F. J. (Octubre de 2006). Segundo Congreso de Internacional de Plantas Medicinales y Aromáticas. Recuperado el 17 de Mayo de 2013, de http://sisav.valledelcauca.gov.co/CADENAS_PDF/AROMATICAS/c05.pdf

Trujillo CPR, M. R. (Marzo de 2007). Logrosan. Recuperado el 25 de Septiembre de 2014

UNAM. (23 de 05 de 2013). Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana. Obtenido de <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Clavo&id=7066>

Xiaorui, Z. (12 de septiembre de 2002). Medicina tradicional, Medicamentos Esenciales y Políticas Farmacéutica. Recuperado el 22 de julio de 2012, de Organizacion Mundial de la Salud: http://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/

ANEXO 1

Fotografías y Certificados de las ejemplares del Ensayo



Fotografía 8. Ajenjo. *Artemisia absinthium* L

Foto tomada en el Herbario IZTA de la FES- Iztacala 2013



Fotografía 9. Anís estrella. *Illicium verum* Hooker.

Foto tomada en el Herbario IZTA de la FES- Iztacala 2013



Fotografía 10. Canela. *Cinnamomum zeylanicum* Nees

Foto tomada en el Herbario IZTA de la FES-Iztacala 2013



Fotografía 11. Clavo. *Syzygium aromaticum* (L.) Merril & L.M. Perry

Foto tomada en el Herbario IZTA de la FES- Iztacala 2013



Fotografía 12. Comino. *Cominum cyminum* L.

Foto tomada en el Herbario IZTA de la FES- Iztacala 2013



Fotografía 13. Enebro. *Juniperus ssp.*

Foto tomada en el Herbario IZTA de la FES- Iztacala 2013



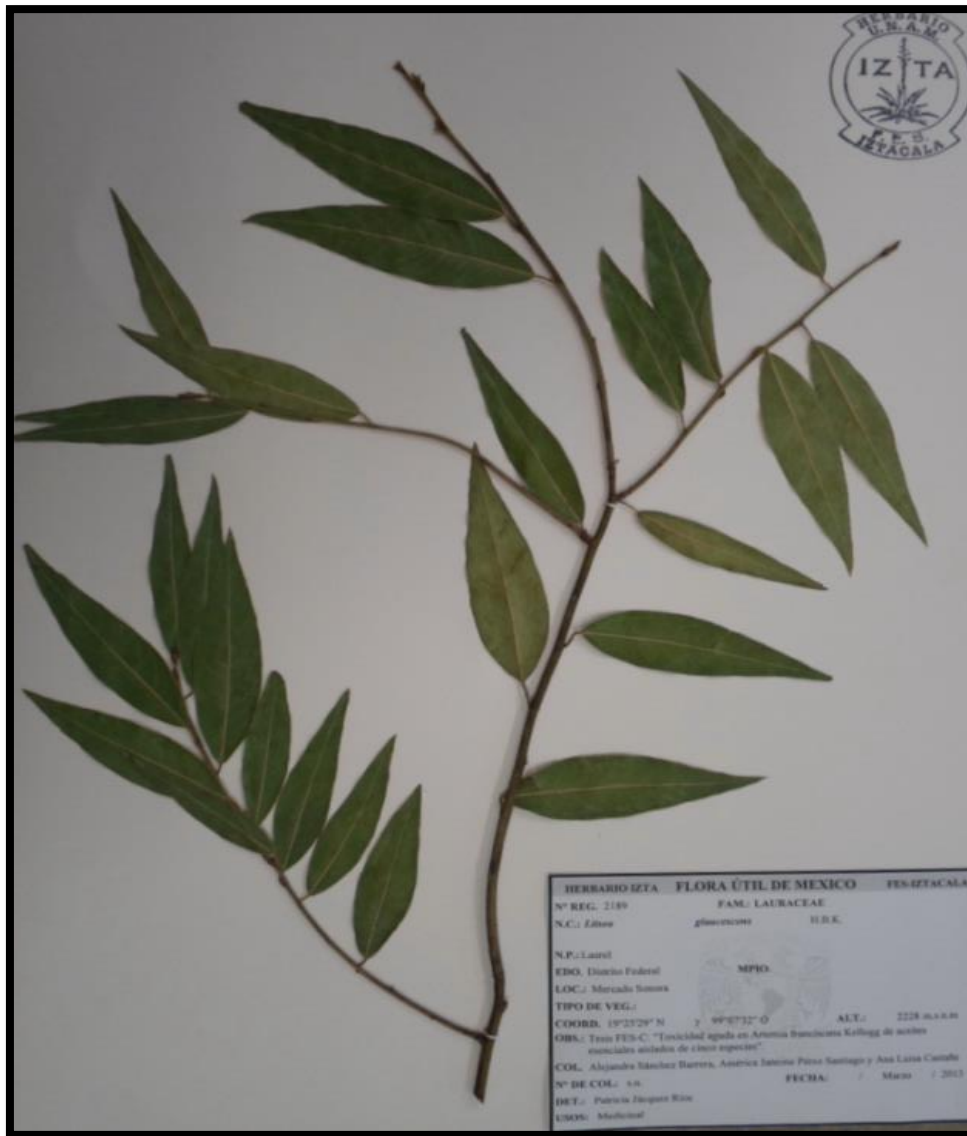
Fotografía 14. Epazote. *Teloxys ambrosioides* (L.) W.A. Weber.

Foto Tomada en el Herbario IZTA de la FES- Iztacala 2013



Fotografía 15. Eucalipto. *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh

Foto tomada en el Herbario IZTA de La FES- Iztacala 2013



Fotografía 16. Laurel. *Litsea glaucescens* H.B.K.

Foto Tomada En El Herbario IZTA De La FES- Iztacala 2013



Fotografía 17. Lavanda. *Lavandula dentata*

Foto tomada en el Herbario IZTA de la FES- Iztacala 2013



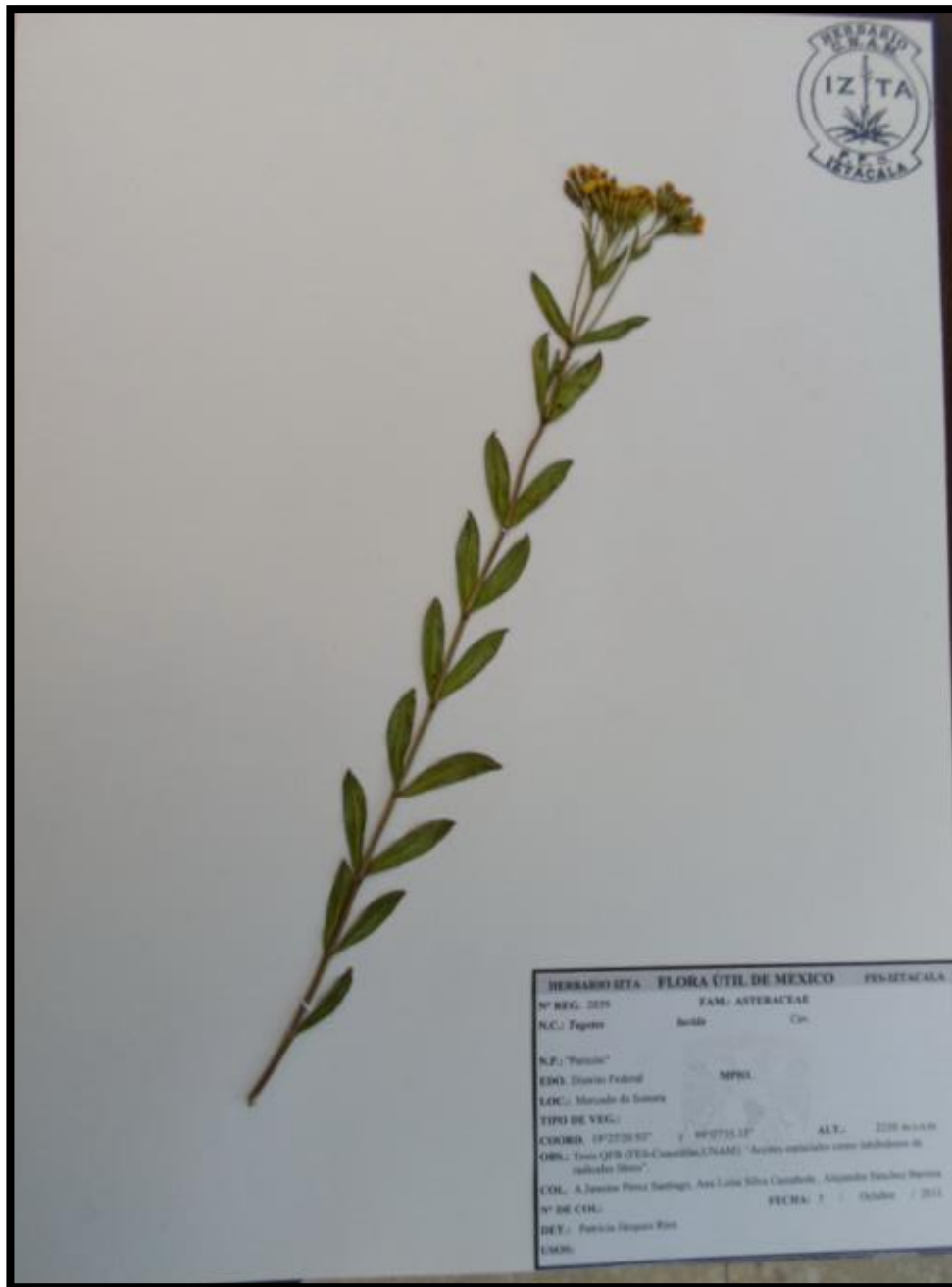
Fotografía 18. Nuez Moscada. *Myristica fragans* Houtt

Foto tomada en el Herbario IZTA de FES-Iztacala 2013



Fotografía 19. Orégano. *Lippia graveolens* kunt

Foto Tomada En El Herbario IZTA de la FES-Iztacala 2013



Fotografía 20. Pericón. *Tagetes lucida* Cav.

Foto tomada en el Herbario IZTA de la FES Iztacala 2013



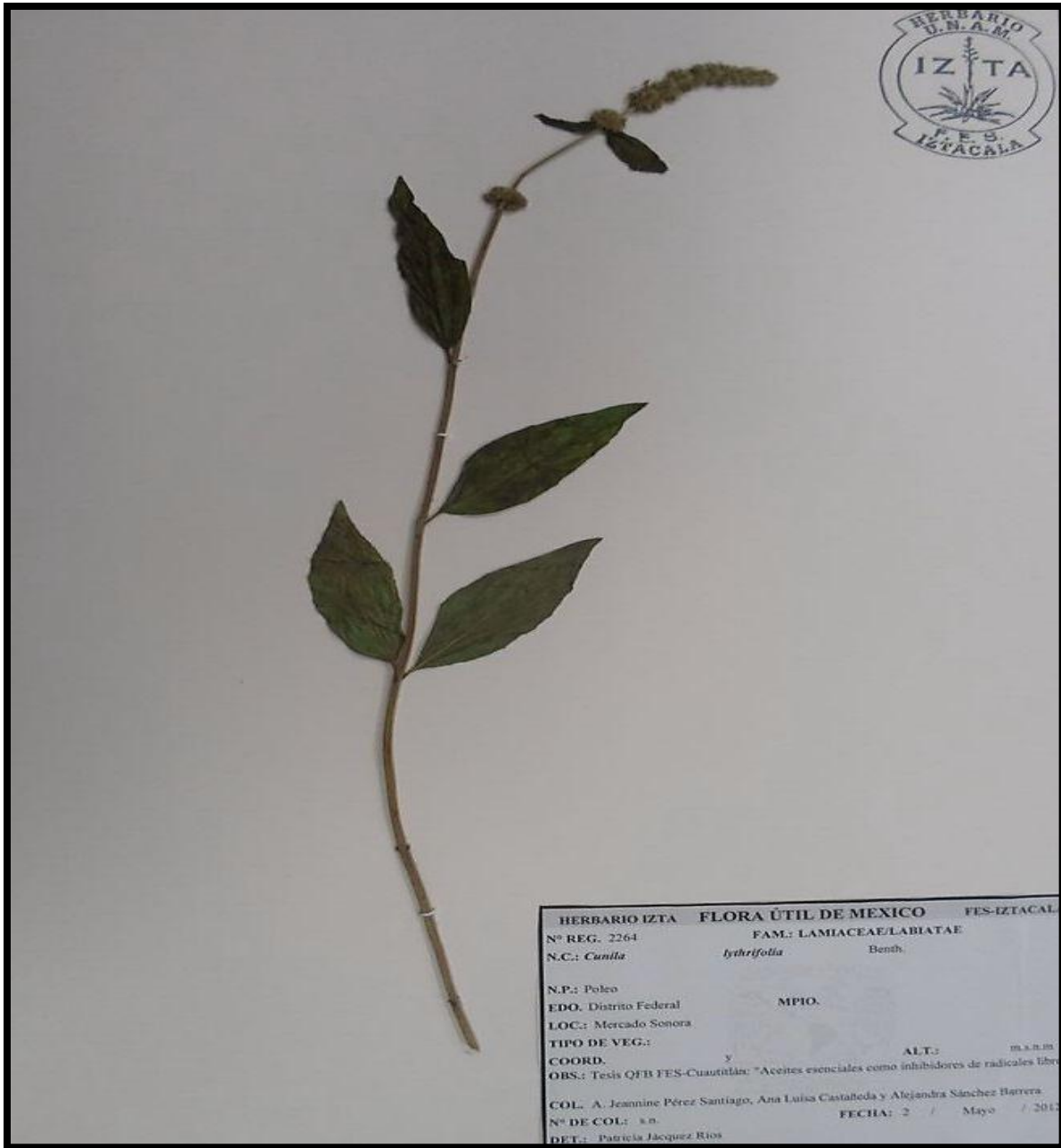
Fotografía 21. Pimienta. *Pimenta dioica* (L.) Merril

Foto tomada en el Herbario IZTA de la FES- Iztacala 2013



Fotografía 22. Pirul. *Schinus molle* L.

Foto tomada en el Herbario IZTA de la FES- Iztacala 2013



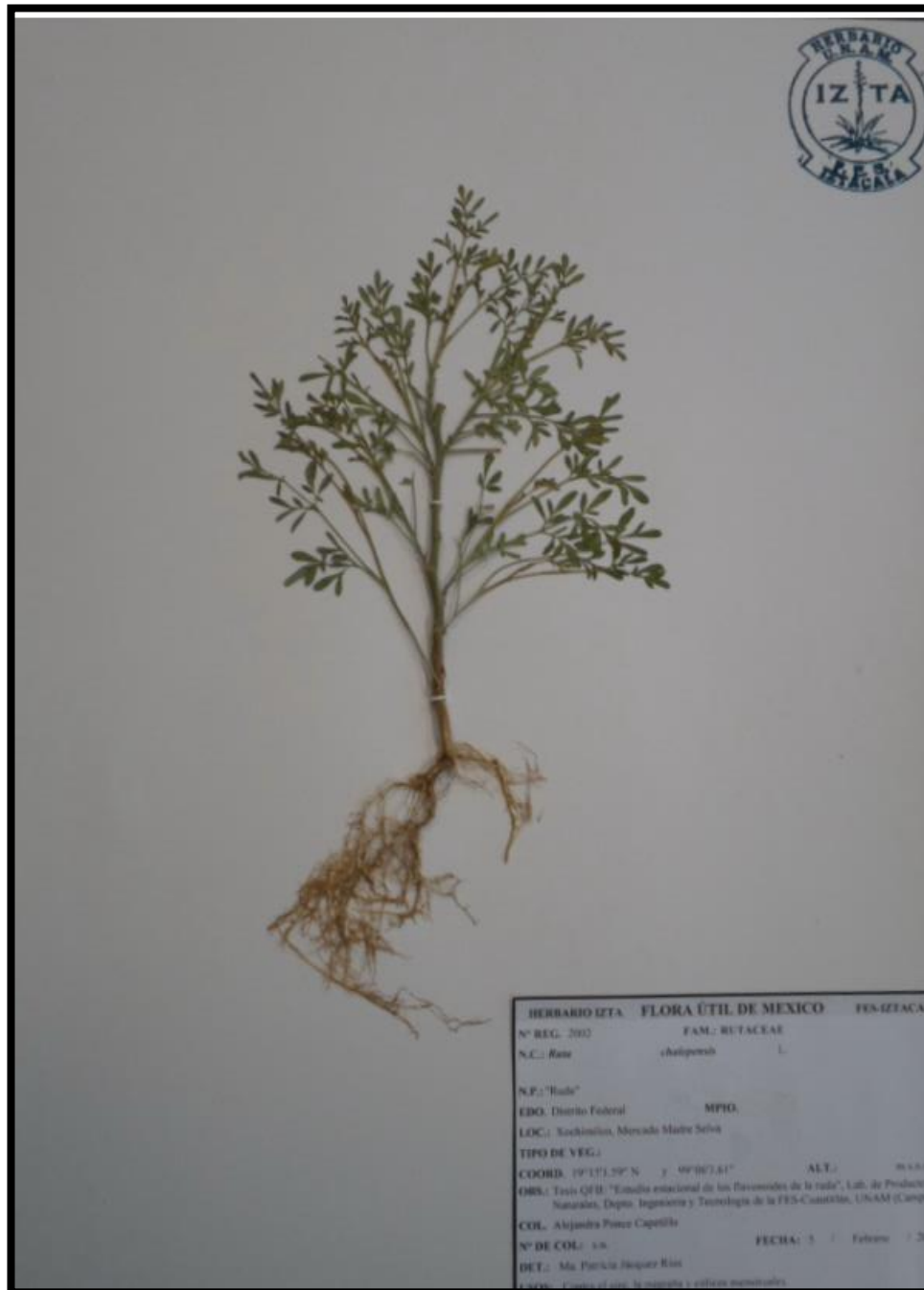
Fotografía 23. Poleo. *Cunila lythrifolia* Benth

Foto tomada en el Herbario IZTA de la FES- Iztacala 2013



Fotografía 24. Romero. *Rosmarinus officinalis* L.

Foto tomada en el Herbario IZTA de la FES- Iztacala 2013



Fotografía 25. Ruda. *Ruta chalepensis* L.

Foto tomada en el Herbario IZTA De La FES- Iztacala 2013



Fotografía 26. Semillas de cardamomo. *Elettaria cardamomum* (L.) Maton

Foto tomada en el Herbario IZTA de la FES-Iztacala 2013



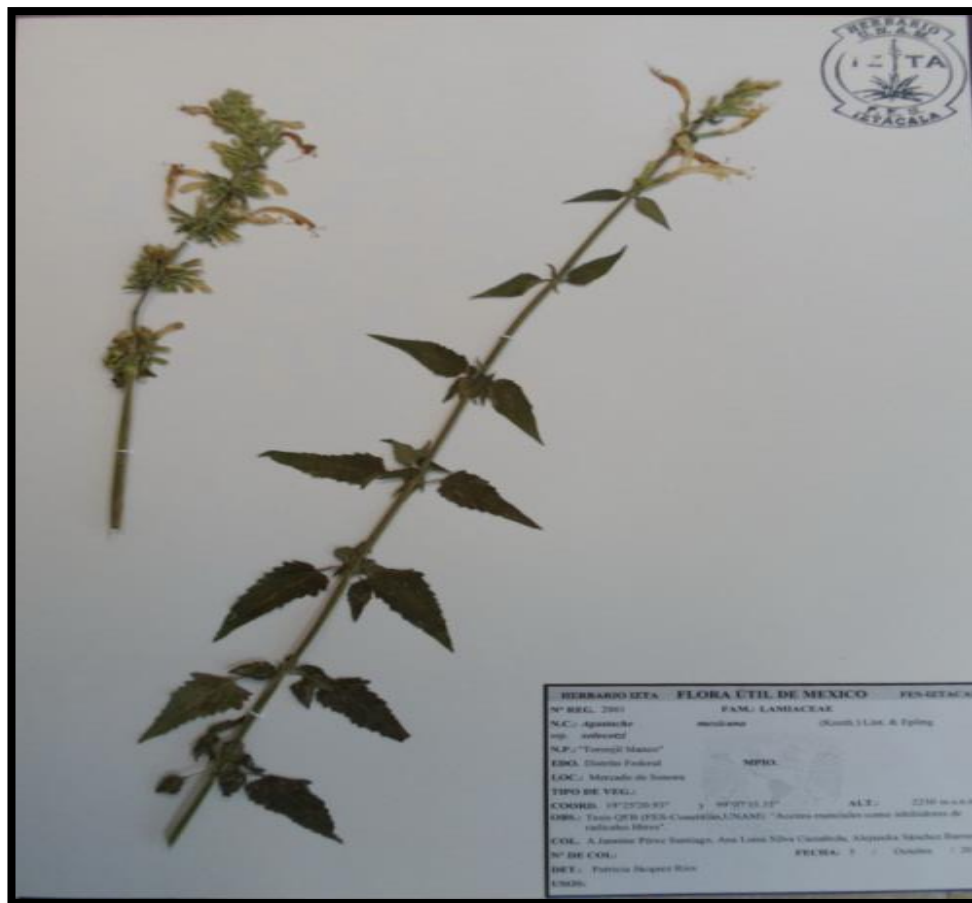
Fotografía 27. Semillas de cilantro. *Coriandrum sativum* L.

Foto tomada en el Herbario IZTA de la FES- Iztacala 2013



Fotografía 28. Té limón. *Cymbopogon citratus* (dc. ex Nees) Stapf

Foto tomada en el Herbario IZTA de la FES- Iztacala 2013



Fotografía 30. Toronjil blanco. *Agastache mexicana* (Kunth) Lint & Epling
ssp. xolocotzi

Foto tomada en el Herbario IZTA de la FES- Iztacala 2013



Fotografía 31. Toronjil Morado. *Agastache mexicana* (Kunth). Lint & Epling

Foto tomada en el Herbario IZTA de La FES- Iztacala 2013



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA
HERBARIO IZTACALA



FESI/IZTA/006/2012

**A. JANNINE PÉREZ SANTIAGO,
ANA LUISA SILVA CASTAÑEDA Y
ALEJANDRA SÁNCHEZ BARRERA,
FES-CUAUTITLÁN, UNAM
P R E S E N T E S .**

Por este conducto me permito entregar a ustedes la identificación taxonómica del material botánico de respaldo del Proyecto de Tesis intitulado: **“Aceites esenciales como inhibidores de radicales libres”**, realizado en el Laboratorio de Productos Naturales de la Sección de Tecnología Farmacéutica del Departamento de Ingeniería y Tecnología de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM (Campo 1) y bajo la dirección de la Q.F.B. Brígida del Carmen Camacho Enríquez, Así mismo, les informo que las plantas y muestras de mercado han sido integradas en la **Colección Etnobotánica** del Herbario Iztacala con los siguientes números de registro (se anexa listado).

Sin otro particular, les envío un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Los Reyes Iztacala, Méx., 6 de marzo de 2012


M. EN C. MA. EDITH LÓPEZ VILLAFRANCO
RESPONSABLE DEL HERBARIO IZTA



Ccp: Q.F.B. Brígida del Carmen Camacho Enríquez, Presente.

Av. De los Barrios No. 1, Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Edo. de México.
C. P. 54090, A. P. 314, Tel/Fax: 5623-1378.
herbario_izta@campus.iztacala.unam.mx

Ilustración 2. Certificado de Herbario IZTA



Listado de identificación de plantas y muestras de mercado:
Proyecto de Tesis "Aceites esenciales como inhibidores de radicales libres"

NOMBRE CIENTÍFICO	FAMILIA	NOMBRE POPULAR	NO. REGISTRO
<i>Artemisia absinthium</i> L.	ASTERACEAE/ COMPOSITAE	"Ajenjo" (planta)	2057 IZTA
<i>Schinus molle</i> L.	ANACARDIACEAE	"Pirul" (planta)	2058 IZTA
<i>Tagetes lucida</i> Cav.	ASTERACEAE/ COMPOSITAE	"Pericón" (planta)	2059 IZTA
<i>Citrus aurantifolia</i> (Christm.) Swingle	RUTACEAE	"Limón" (planta)	2060 IZTA
<i>Agastache mexicana</i> (Kunth.) Lint. & Epling ssp. <i>xolocotzi</i>	LAMIACEAE/LABIATAE	"Toronjil blanco" (planta)	2061 IZTA
<i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh.	MYRTACEAE	"Eucalipto" (planta)	2062 IZTA
<i>Agastache mexicana</i> (Kunth.) Lint. & Epling	LAMIACEAE/LABIATAE	"Toronjil morado" (planta)	2063 IZTA
<i>Citrus x paradisi</i> Macfady	RUTACEAE	"Toronja" (planta)	2064 IZTA
<i>Citrus reticulata</i> Blanco	RUTACEAE	"Mandarina" (planta)	2065 IZTA
<i>Myristica fragans</i> Houtt	MYRISTICACEAE	"Nuez moscada" (muestra de mercado)	2066 IZTA
<i>Coriandrum sativum</i> L.	APIACEAE/ UMBELLIFERAE	"Semilla de cilantro" (muestra de mercado)	2067 IZTA
<i>Pimenta dioica</i> (L.) Merrill	MYRTACEAE	"Pimienta" (muestra de mercado)	2068 IZTA
<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merril & L.M. Perry	MYRTACEAE	"Clavo" (muestra de Mercado)	2069 IZTA
<i>Elettaria cardamomum</i> (L.) Maton	ZINGEBERACEAE	"Semilla de Cardamomo" (muestra de mercado)	2070 IZTA
<i>Juniperus</i> sp	CUPRESSACEAE	"Enebro" (muestra de mercado)	2071 IZTA
<i>Lippia graveolens</i> Kunth	VERBENACEAE	"Orégano" (muestra de mercado)	2072 IZTA
<i>Illicium verum</i> Hooker	ILLIACIACEAE	"Anís estrella" (muestra de mercado)	2073 IZTA



FESMIZTA/077/2012

A. JANNINE PÉREZ SANTIAGO,
 ANA LUISA SILVA CASTAÑEDA Y
 ALEJANDRA SÁNCHEZ BARRERA,
 FES-CUAUTITLÁN, UNAM.
PRESENTE.

Por este conducto me permito entregar a ustedes la identificación taxonómica del material botánico de respaldo del Proyecto de Tesis intitulado: "**Aceites esenciales como inhibidores de radicales libres**", realizado en el Laboratorio de Productos Naturales de la Sección de Tecnología Farmacéutica del Departamento de Ingeniería y Tecnología de la Facultad de Estudios Superiores, UNAM (Campo 1) y bajo la dirección de la Q.F.B. Brígida del Carmen Camacho Enriquez. Así mismo, les informo que dicho material ha sido integrado a la **Colección Etnobotánica del Herbario Iztacala** con los siguientes números de registro:

NOMBRE CIENTÍFICO	FAMILIA BOTÁNICA	NOMBRE POPULAR	NO. DE REGISTRO
<i>Cymbopogon scolymus</i> L.	ASTERACEAE/COMPOSITAE	"Alcachofa" (muestra de mercado)	2090 IZTA
<i>Cominum cymbrium</i> L.	APIACEAE/UMBELLIFERAE	"Comino" (muestra de mercado)	2091 IZTA
<i>Quercus molle</i> Willd.	LAURACEAE	"Canelo" (muestra de mercado)	2092 IZTA

Sin otro particular, les envío un cordial saludo.

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
 Los Reyes Iztacala, Estado de México, 6 de junio de 2012

M. EN C. MA. EDITH LÓPEZ VILAFRANCO
 RESPONSABLE DEL HERBARIO IZTACALA

Cop: Q.F.B. Brígida del Carmen Camacho Enriquez, Proceña.



Oficina de gestión académica
 Tel: 55231141 • 55231142
 Fax: 55231143
 Av. Pedro de Alarcón s/n • Jardines de la UNAM
 Cuernavaca, CDMX
 E-mail: gta@unam.mx

tel: 55231141
 Edificio La Perla
 Av. de los Reyes s/n
 Los Reyes Iztacala, Cuernavaca
 Estado de México, CP 76000, México
 Tel: 55231141
 E-mail: gta@unam.mx



Ilustración 4. Certificado de Herbario IZTA



FESUH/32/2013

ALEJANDRA SÁNCHEZ BARRERA,
 AMÉRICA JANNINE PÉREZ SANTIAGO Y
 ANA LUISA SILVA CASTAÑEDA,
 Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM
 Presente.

Por esta conducto me permito proporcionar a usted la identificación taxonómica del material botánico de campo de trabajo de tesis: "Toxicidad aguda en *Artemia franciscana* Kellogg de aceites esenciales aislados de cinco especies", que se realizó en el Laboratorio de Productos Naturales de la Sección de Tecnología Farmacéutica del Departamento de Ingeniería y Tecnología de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (Campo 1) y bajo la dirección de la QFB Brígida de Carmen Camacho Enriquez.

Así mismo, les informo que las plantas han sido integradas en la Colección Etnobotánica de Herbario Iztacala con los siguientes números de registro:

NOMBRE CIENTÍFICO	FAMILIA	NOMBRE POPULAR	NO. DE REGISTRO
<i>Litsea glaucescens</i> HBK.	LAURACEAE	"Laural"	2189 IZTA
<i>Teloxys ambrosioides</i> (L.) W.A. Weber Sin: <i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	CHENOPODIACEAE	"Epecate"	2190 IZTA
<i>Cymbopogon citratus</i> (DC. ex Nees) Stapf	POACEAE/GRAMINAE	"Te limón"	2191 IZTA
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	LAMIACEAE/LABIATAE	"Romero"	2192 IZTA

Sin otro particular, les envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE
 "POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
 Los Reyes Iztacala, Edo. de México., 26 de junio de 2013

M. EN C. MA. EDITH LÓPEZ VILLAFRANCO
 RESPONSABLE DEL HERBARIO IZTACALA



Cop: QFB Brígida del Carmen Camacho Enriquez, Directora de Tesis, FES Iztacala



2013
 Tel: 5623 1111 - 1122 - 1110
 Fax: 5623 1111
 Calle de los Reyes, s/n, Los Reyes Iztacala,
 Estado de México, C.P. 56200
 P.O. Box 56200

Herbario IZTACALA
 Calle de los Reyes, s/n, Los Reyes Iztacala,
 Estado de México, C.P. 56200
 Tel: 5623 1111 - 1122 - 1110
 Fax: 5623 1111
 E-mail: herbario@fesi.iztacala.unam.mx



Ilustración 5. Certificado de Herbario IZTA



**A. JANNINE PÉREZ SANTIAGO,
 ANA LUISA SILVA CASTAÑEDA,
 ALEJANDRA SÁNCHEZ BARRERA,**
 Alumnas de la Carrera de Química Farmacéutica Biológica,
 Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.
 Presentes.

Por este conducto me permito proporcionar a ustedes la identificación taxonómica del material botánico de respaldo del proyecto de investigación: "Aceites esenciales como inhibidores de radicales libres", que se realiza en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM bajo la dirección de la QFB Brígida del Camero Camacho Enriquez.

Así mismo, les informo que las plantas han sido integradas en la Colección Etnobotánica del Herbario Iztacala con los siguientes números de registro:

NOMBRE CIENTÍFICO	FAMILIA	NOMBRE POPULAR	NO. DE REGISTRO
<i>Cunila thyrsifolia</i> Berth.	LAMIACEAE/LABIATAE	"Poleo"	2264 IZTA
<i>Lavandula dentata</i> L.	LAMIACEAE/LABIATAE	"Lavanda"	2265 IZTA
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	LAMIACEAE/LABIATAE	"Romero"	2265 IZTA
<i>Nerium oleander</i> L.	APOCYNACEAE	"Rosa de mar"	2267 IZTA
<i>Cupressus lindleyi</i> Klotzsch	CUPRESSACEAE	"Ciprés"	2268 IZTA
<i>Cydonia oblonga</i> Mill.	ROSACEAE	"Membrillo"	2269 IZTA
<i>Quercus crassipes</i> H. & B.	FAGACEAE	"Encino"	2270 IZTA

Sin otro particular, les envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
 Los Reyes Iztacala, Edo. de México, 2 de abril de 2014


M. ENC. MA. EDITH LÓPEZ VILAFRANCO
 RESPONSABLE DEL HERBARIO IZTACALA



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
 CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
 DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA
 CALLE DE LOS REYES IZTACALA
 CDMX, MÉXICO, C.P. 50500
 TELÉFONO: 5623 1111
 FAX: 5623 1112



SECRETARÍA GENERAL ACADÉMICA
 TEL: 5623 1111 - 5623 1112
 FAX: 5623 1110
 CALLE DE LOS REYES IZTACALA
 CDMX, MÉXICO, C.P. 50500
 E-MAIL: SGAC@UNAM.mx

Ilustración 6. Certificado de Herbario IZTA

**Espectros de
espectrofotometría de
absorción infrarroja de
los aceites esenciales**

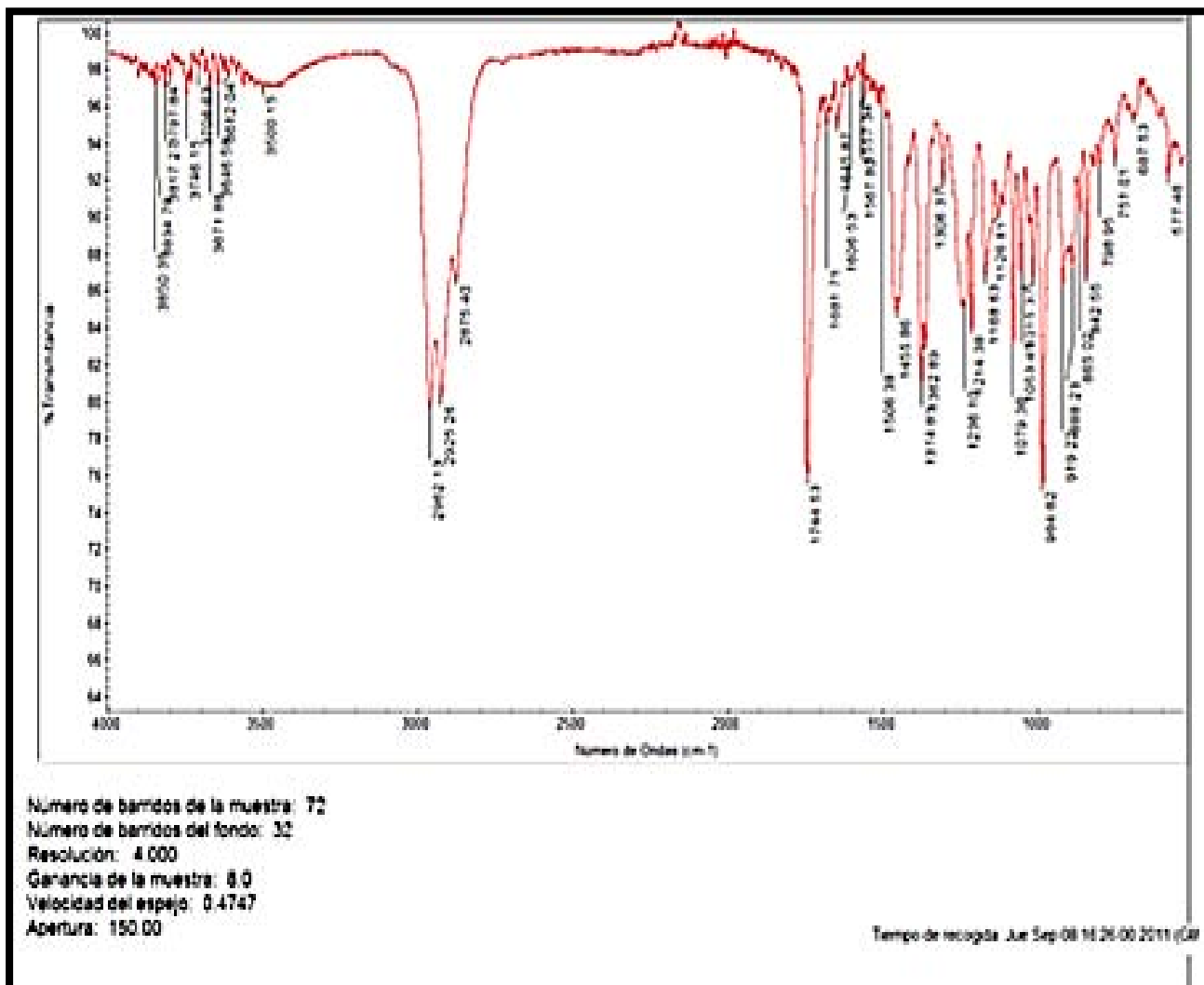


Figura 5. Espectro de absorción infrarroja de aceite esencial de ajonjolí

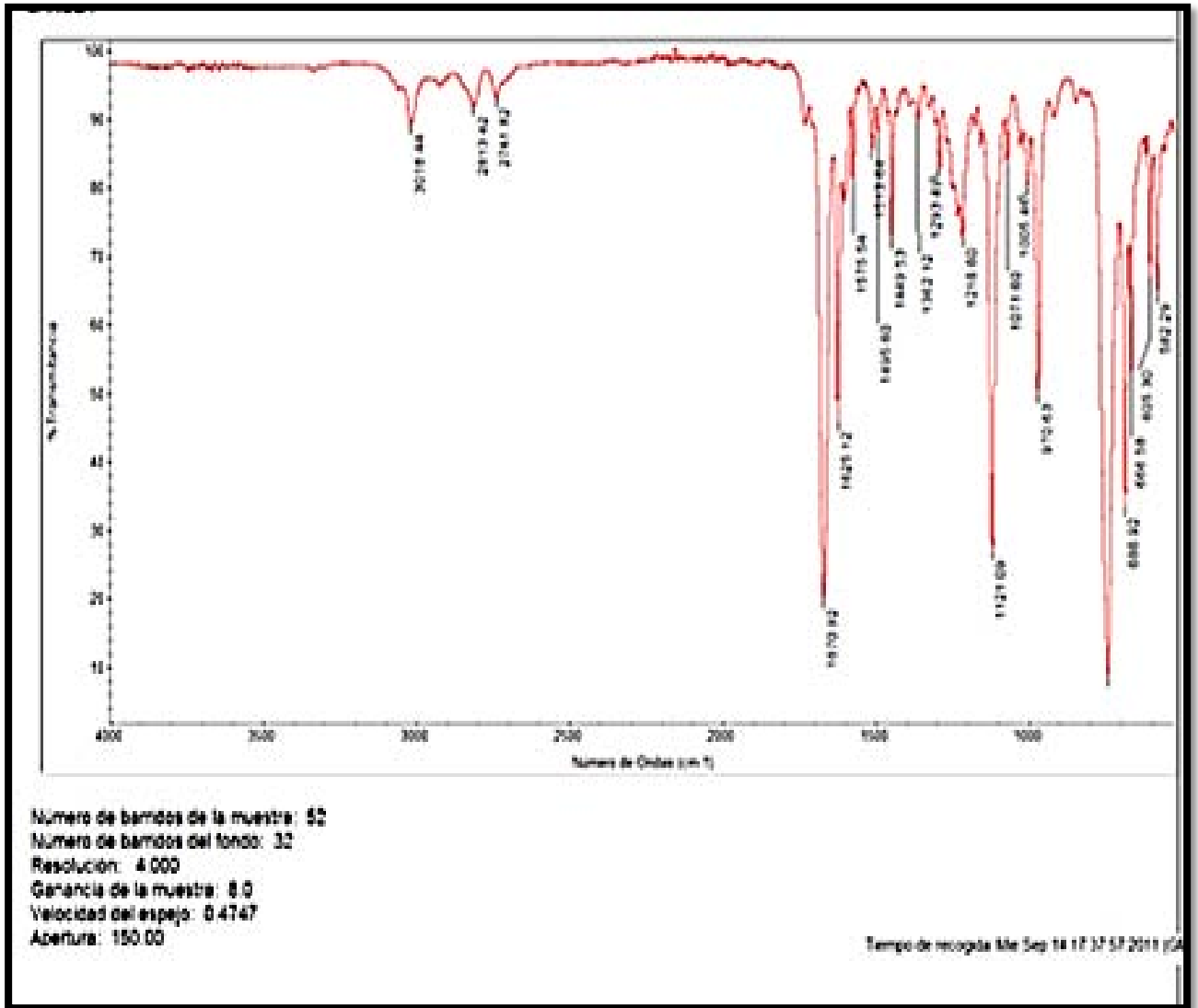


Figura 6. Espectro de absorción infrarroja de aceite esencial de anís estrella

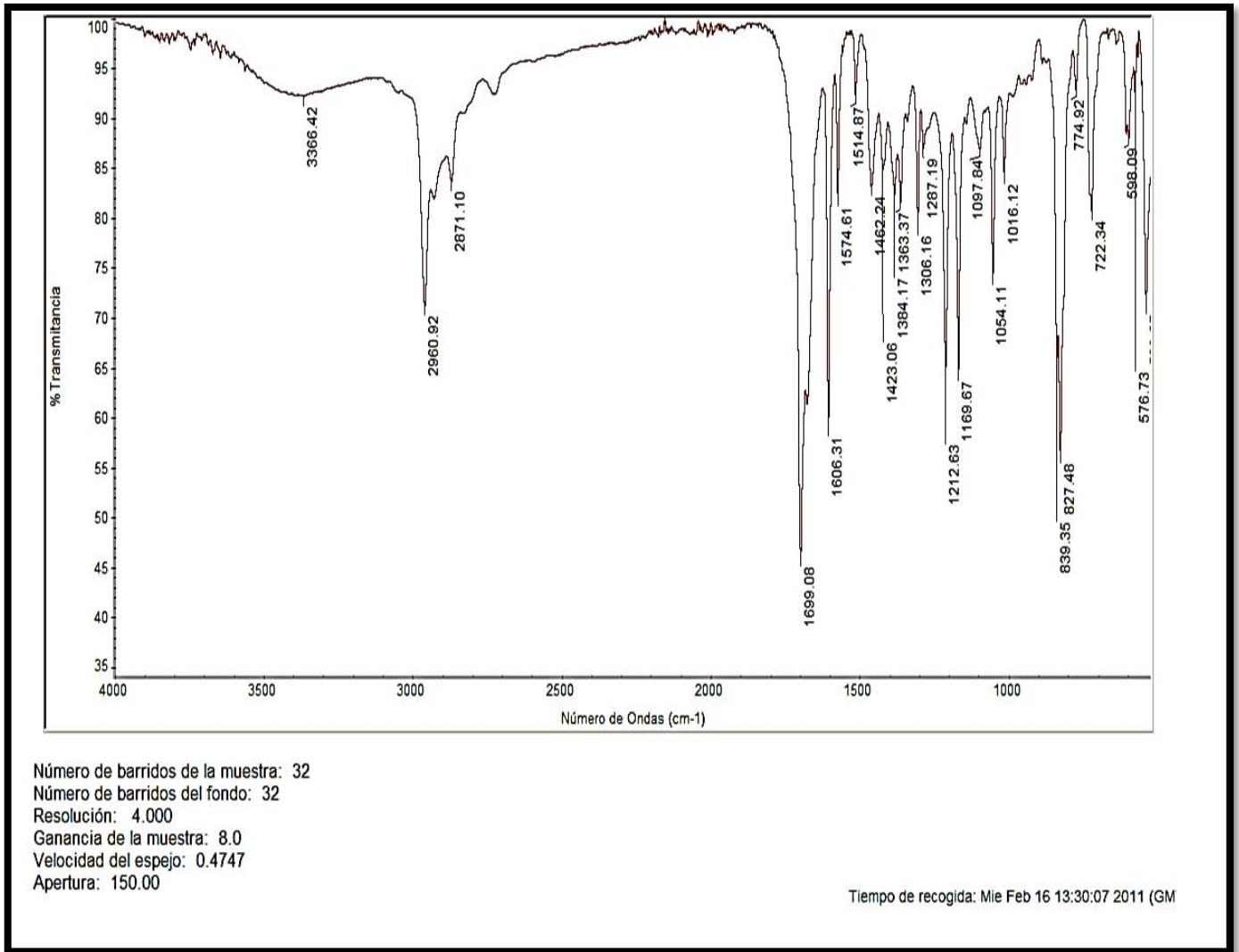


Figura 7. Espectro de absorción infrarroja de aceite esencial de canela

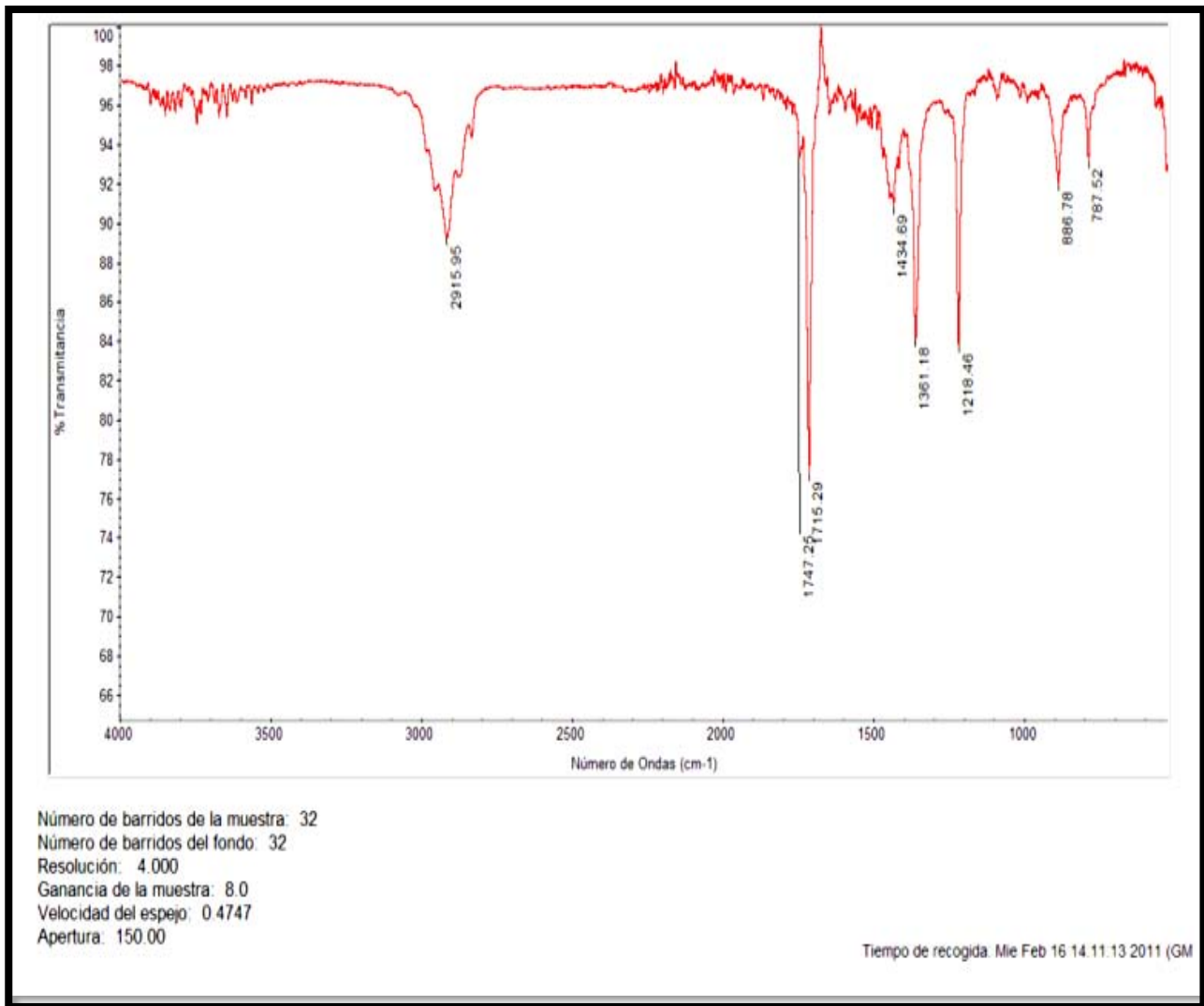


Figura 8. Espectro de absorción infrarroja de aceite esencial de comino

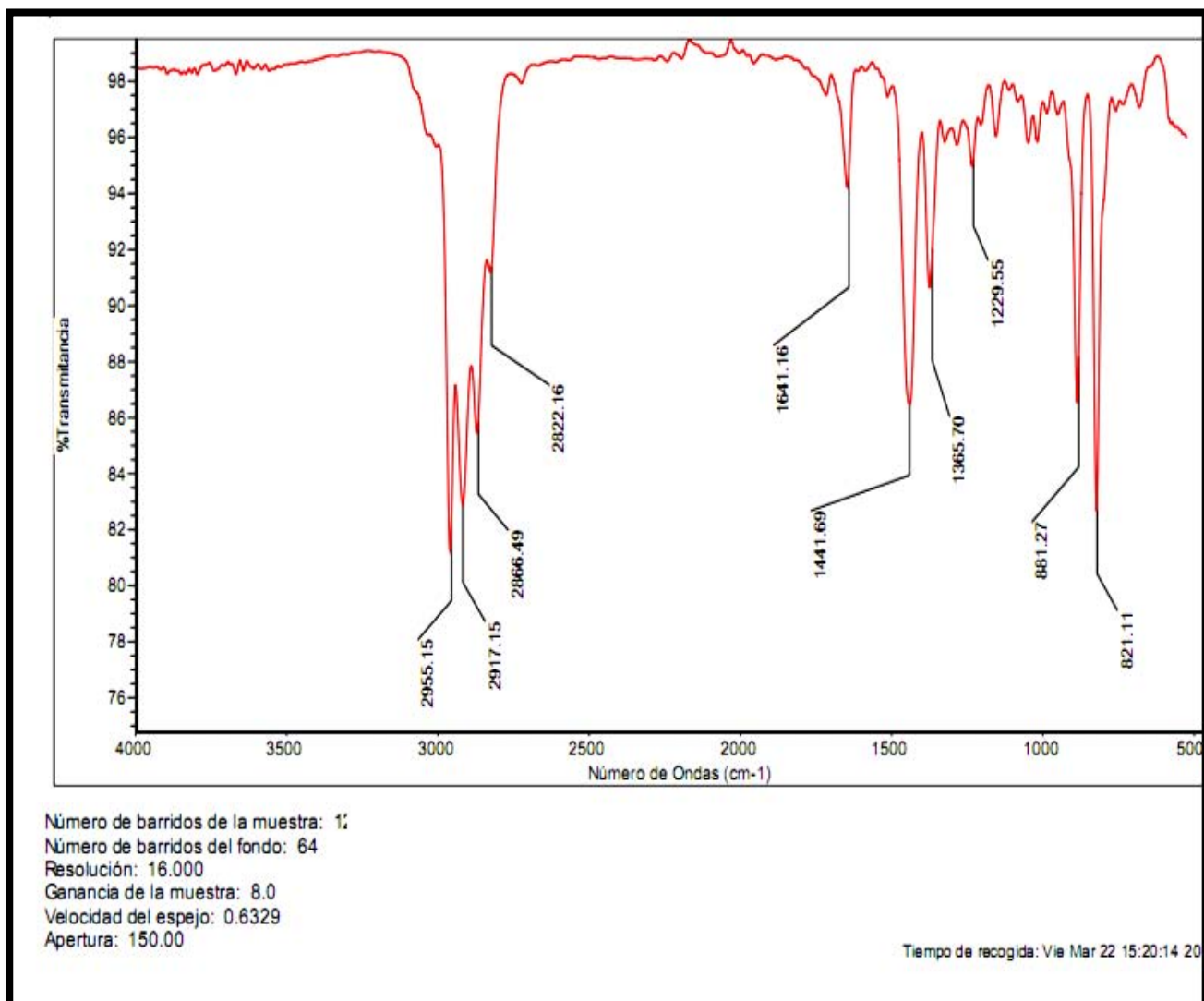


Figura 9. Espectro de absorción infrarroja de aceite esencial de eucalypto

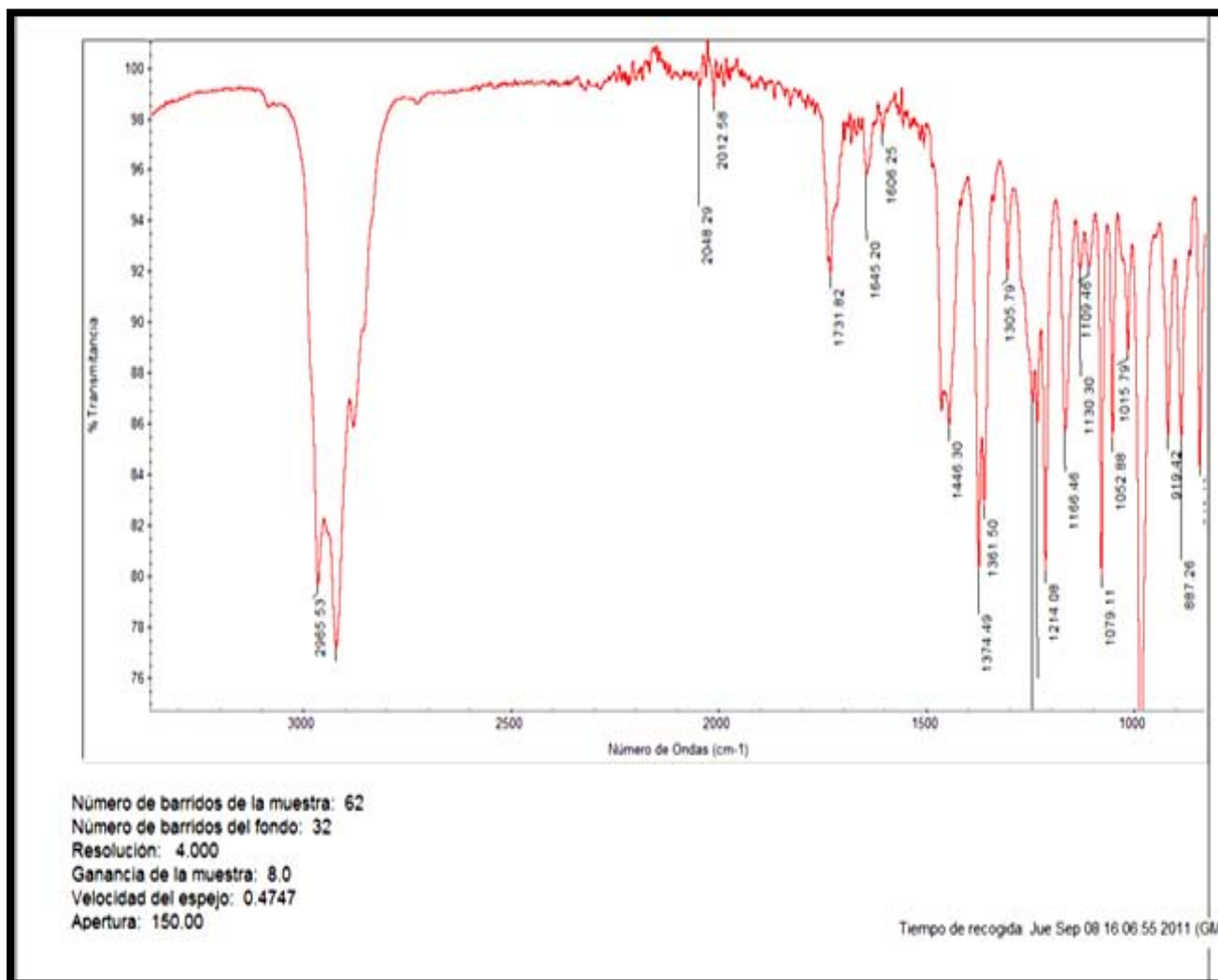


Figura 10. Espectro de absorción infrarroja de aceite esencial de epazote

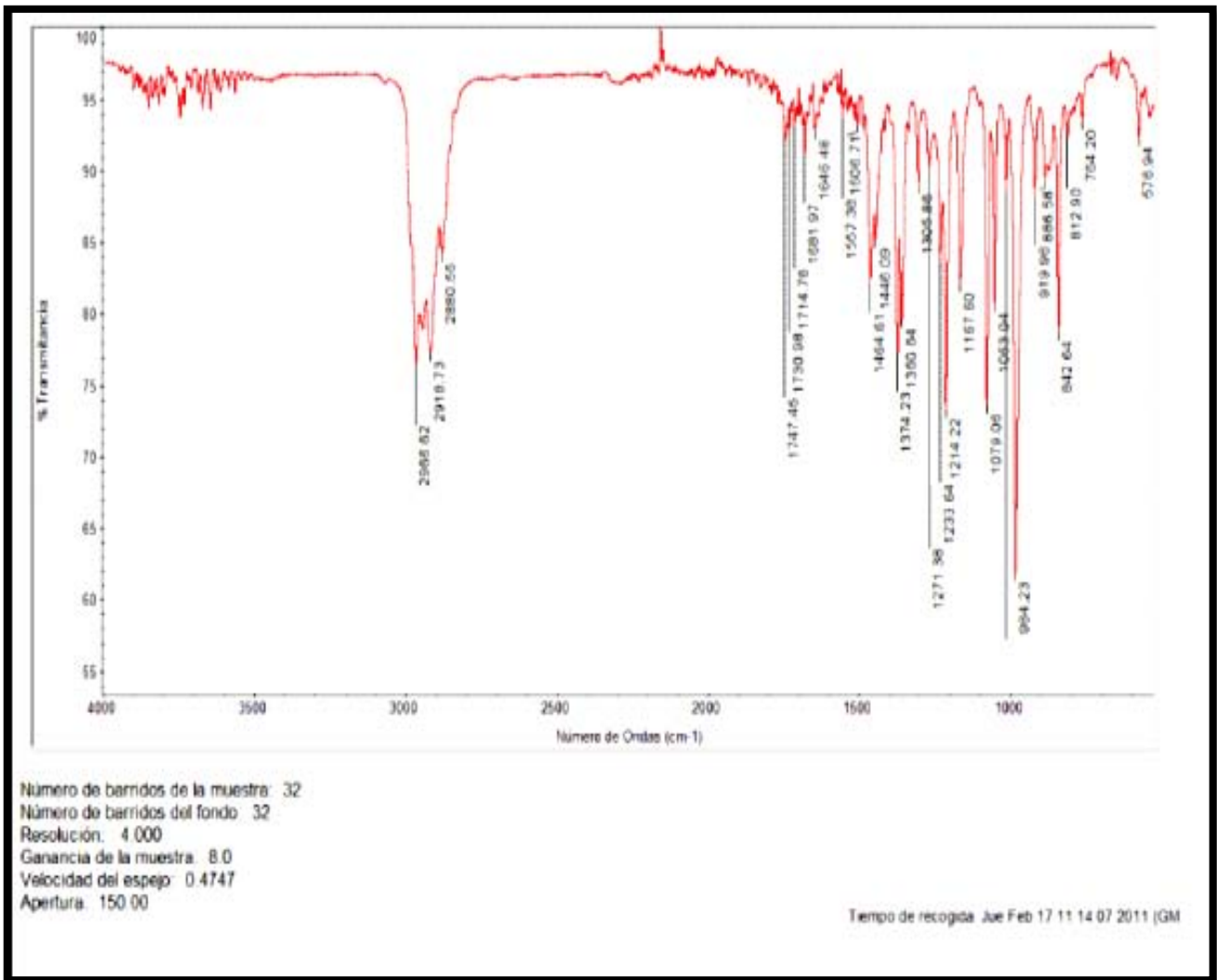


Figura 11. Espectro de absorción infrarroja de aceite esencial de laurel

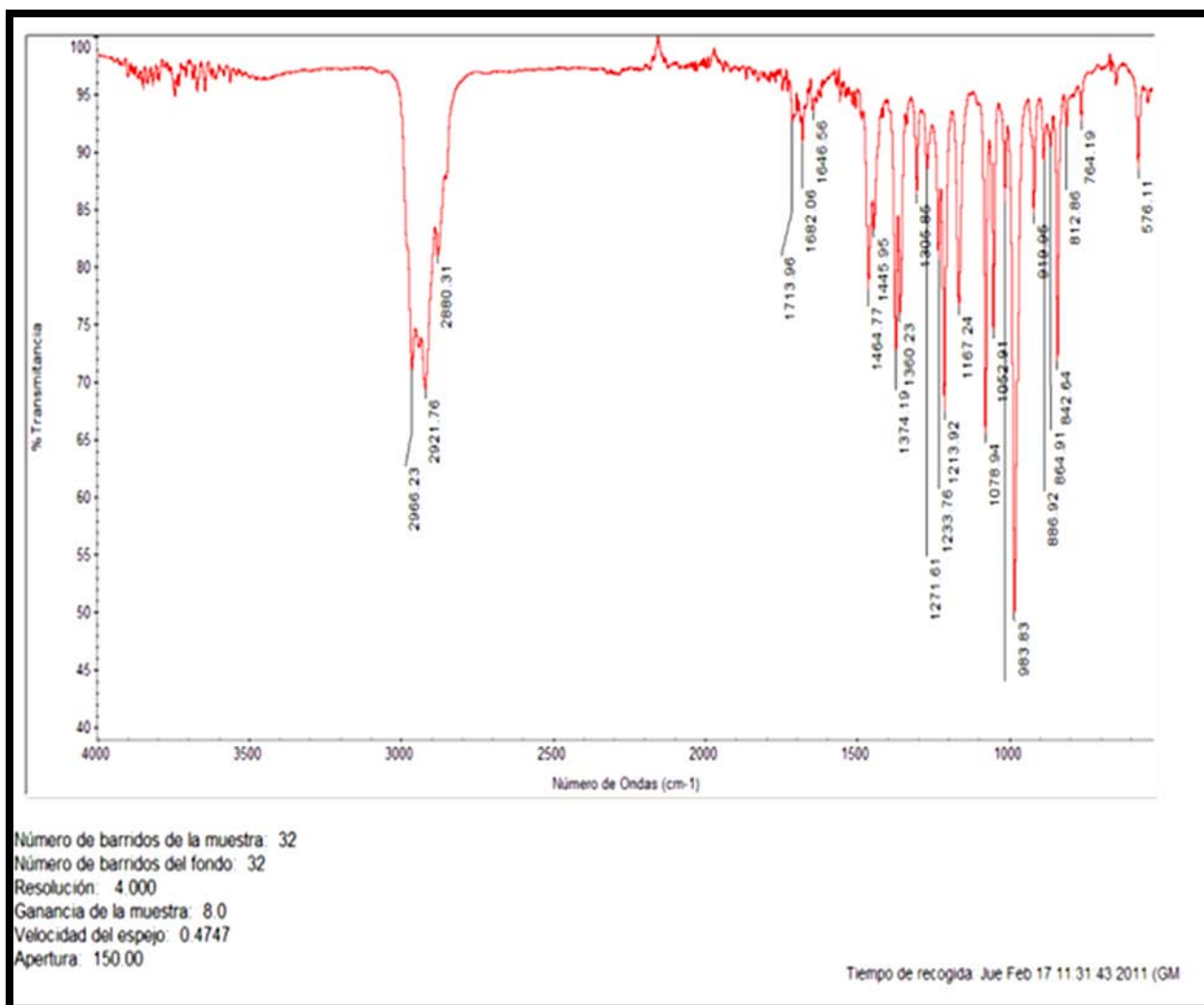
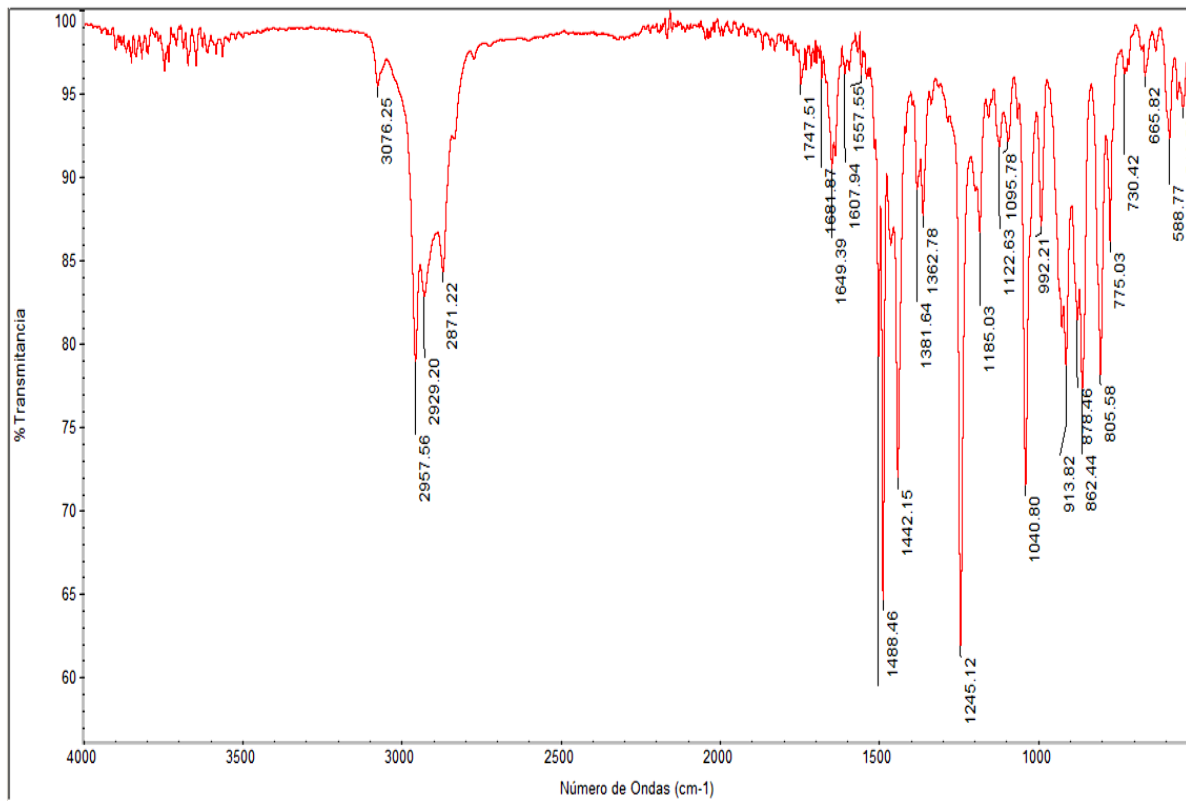


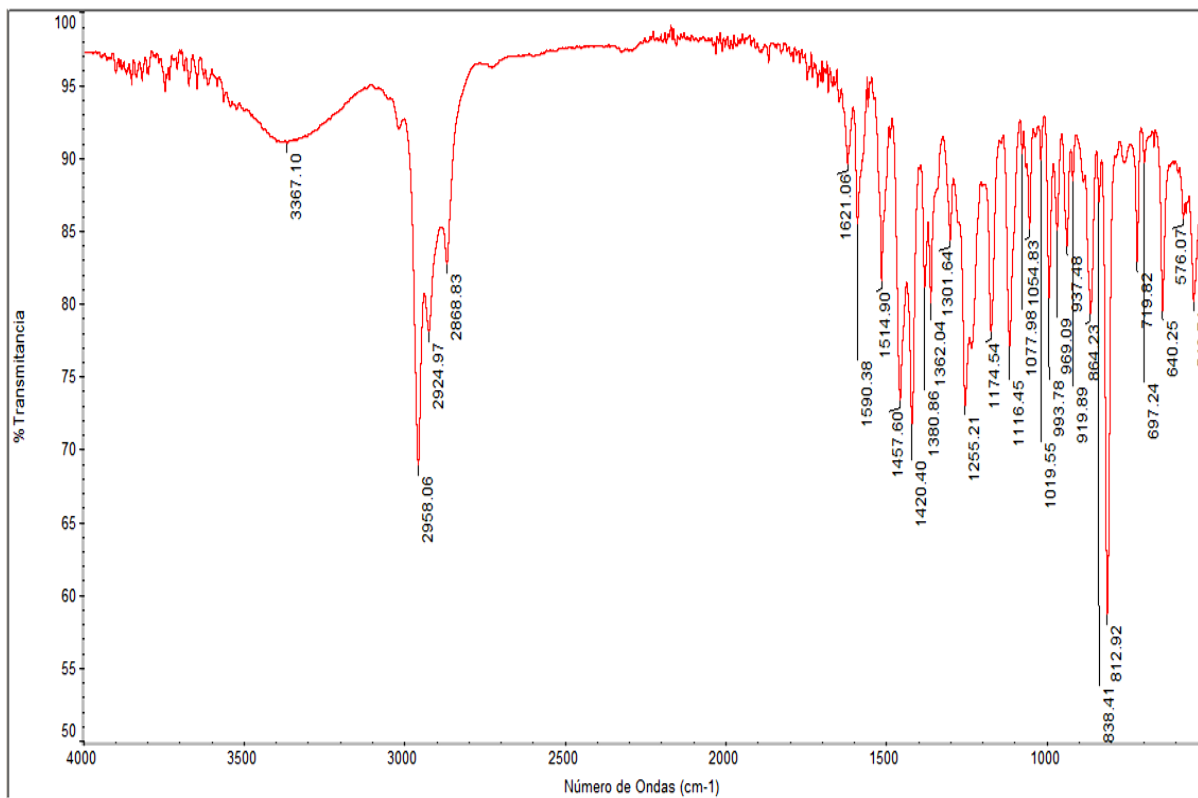
Figura 12. Espectro de absorción infrarroja de aceite esencial de lavanda flor



Número de barridos de la muestra: 32
 Número de barridos del fondo: 32
 Resolución: 4.000
 Ganancia de la muestra: 8.0
 Velocidad del espejo: 0.4747
 Apertura: 150.00

Tiempo de recogida: Mie Feb 16 12:52:15 2011 (GM)

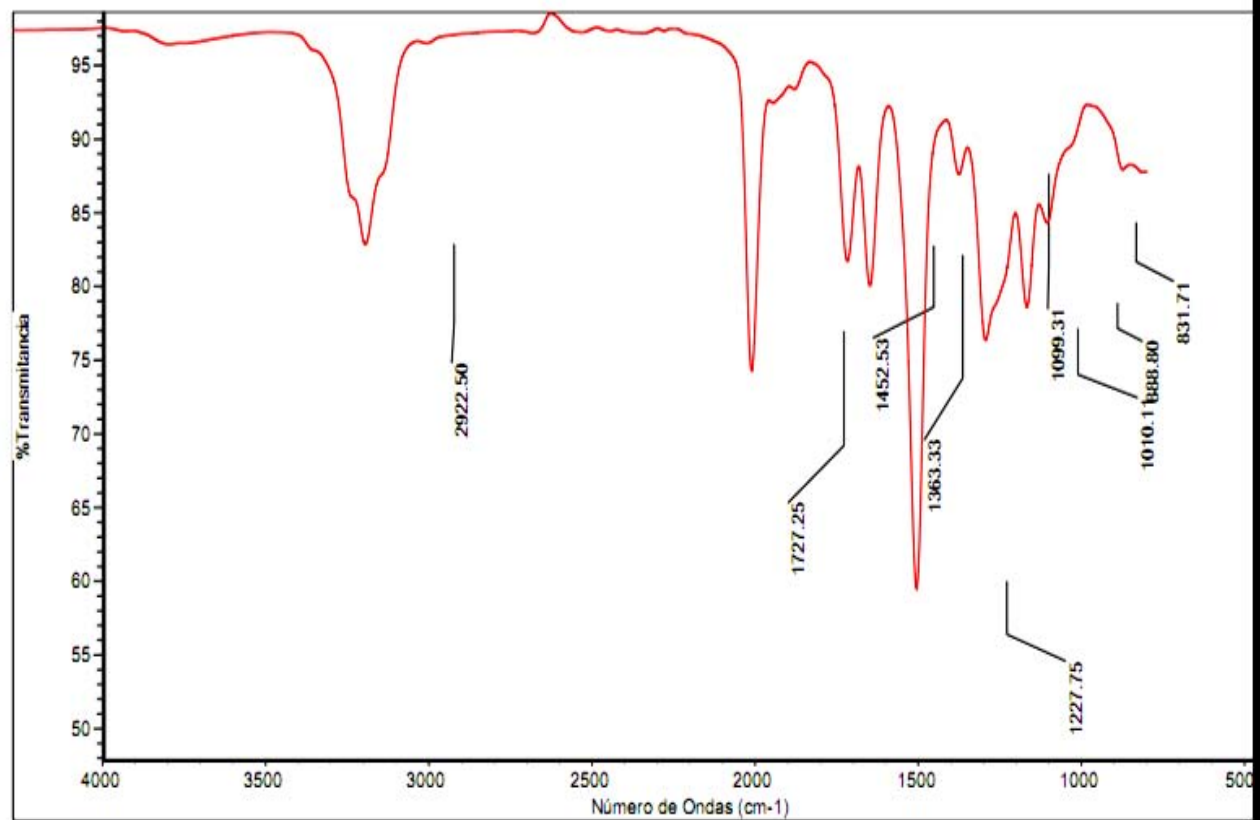
Figura 13. Espectro de absorción infrarroja de aceite esencial de lavanda



Número de barridos de la muestra: 32
 Número de barridos del fondo: 32
 Resolución: 4.000
 Ganancia de la muestra: 8.0
 Velocidad del espejo: 0.4747
 Apertura: 150.00

Tiempo de recogida: Mie Feb 16 12:40:56 2011 (GM)

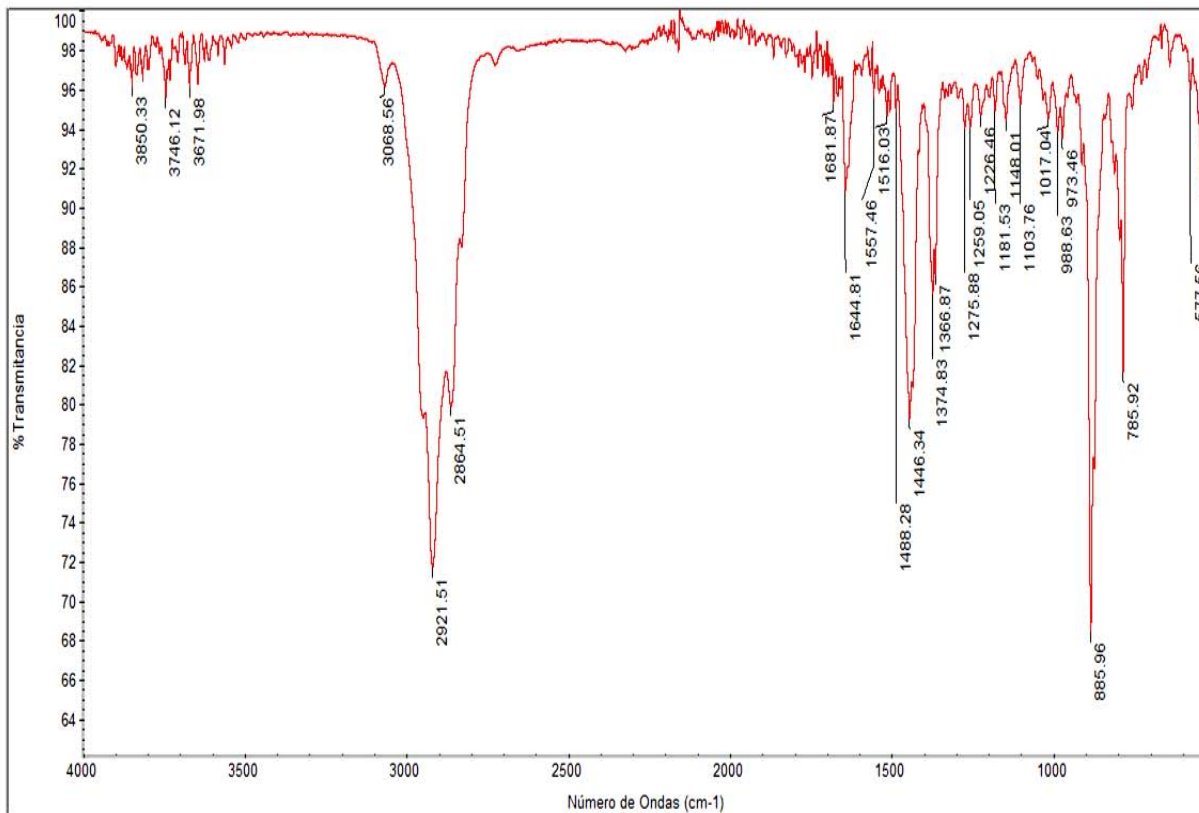
Figura 14. Espectro de absorción infrarroja de aceite esencial de nuez moscada



Número de barridos de la muestra: 1;
Número de barridos del fondo: 140
Resolución: 32.000
Ganancia de la muestra: 8.0
Velocidad del espejo: 0.6329
Apertura: 80.00

Tiempo de recogida: Jue Mar 13 14:20:19 20

Figura 15. Espectro de absorción infrarroja de aceite esencial de pericón



Número de barridos de la muestra: 32
 Número de barridos del fondo: 32
 Resolución: 4.000
 Ganancia de la muestra: 8.0
 Velocidad del espejo: 0.4747
 Apertura: 150.00

Tiempo de recogida: Mie Feb 16 12:59:18 2011 (GM)

Figura 16. Espectro de absorción infrarroja de aceite esencial de orégano

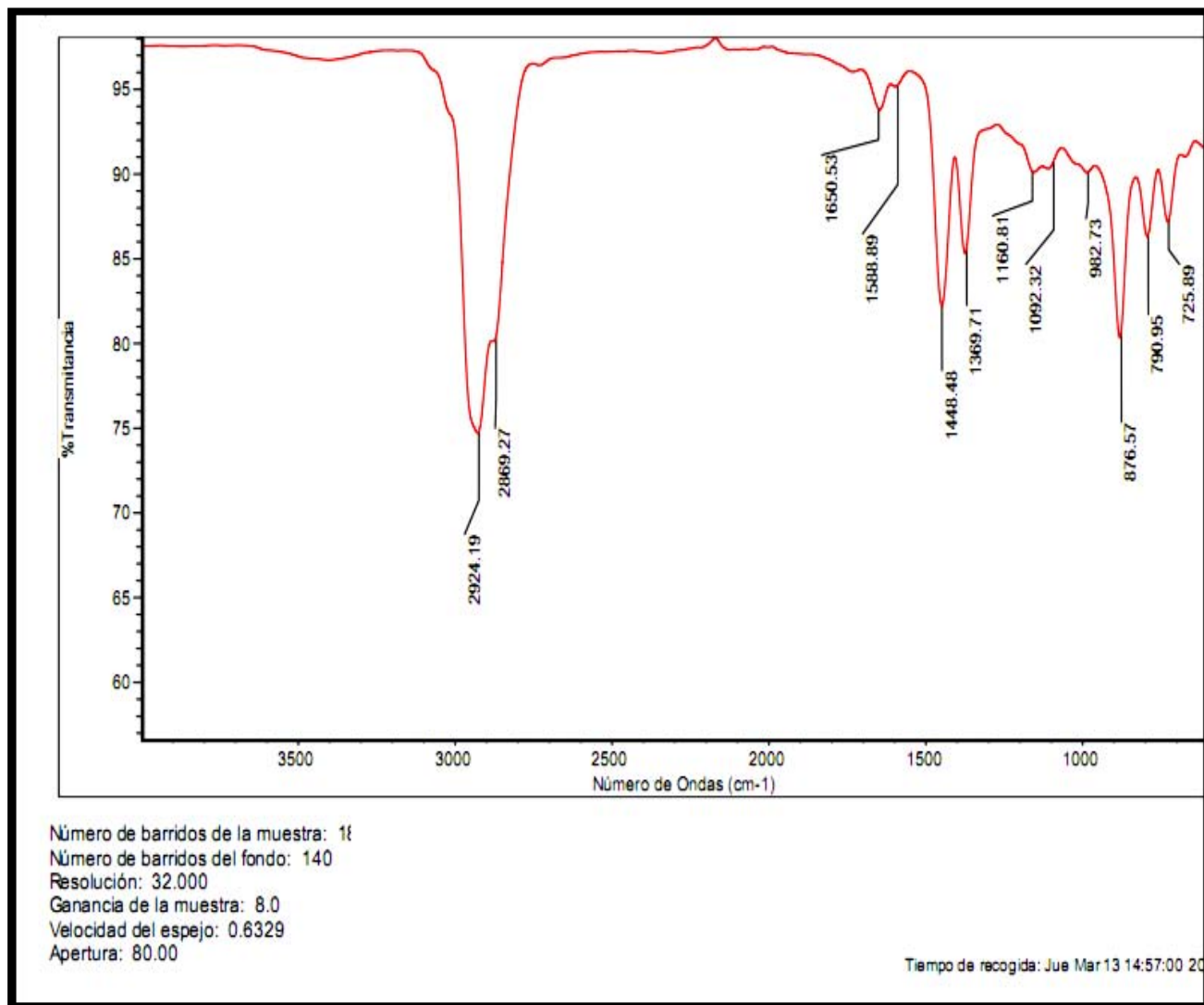


Figura 17. Espectro de absorción infrarroja de aceite esencial de pimienta

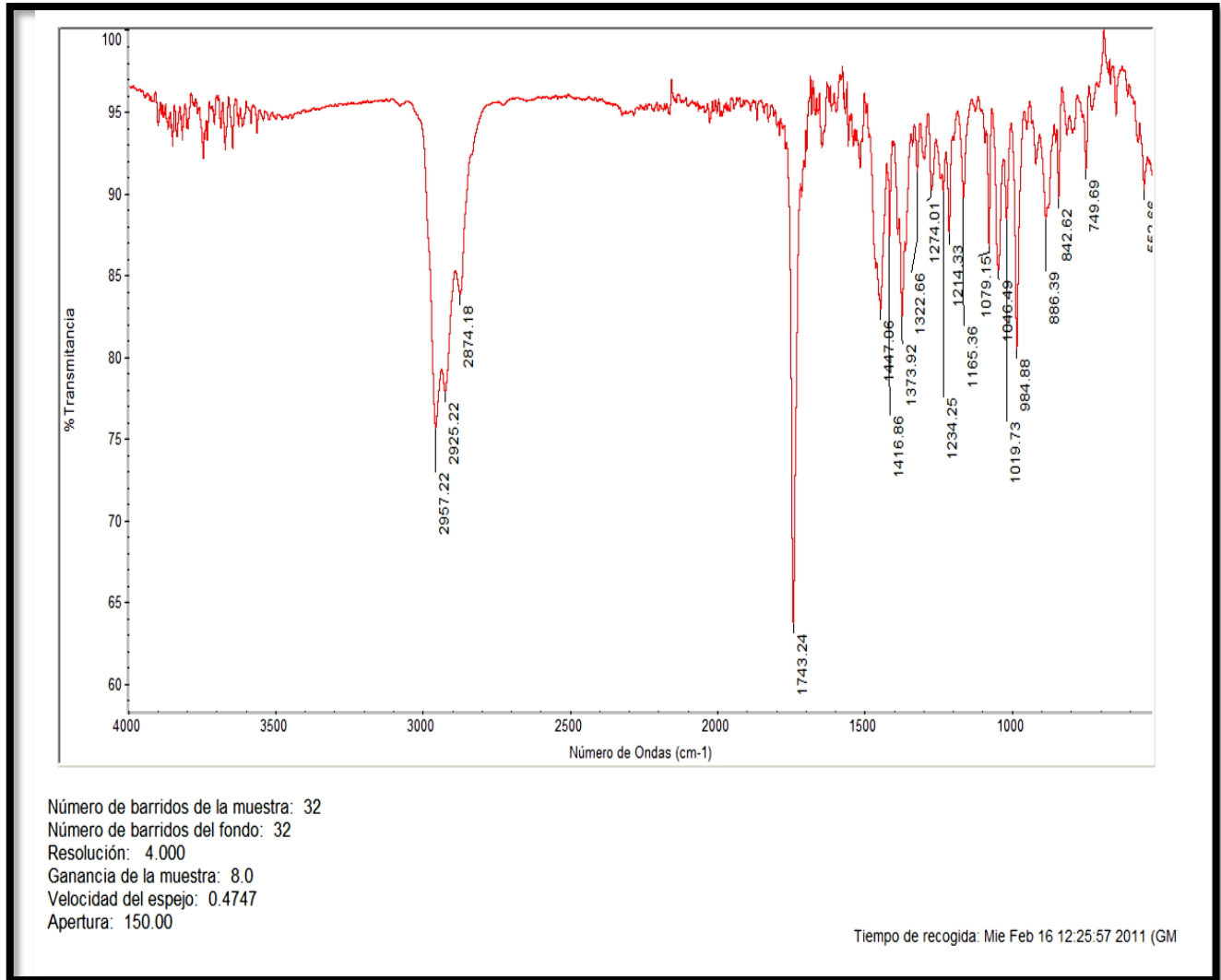
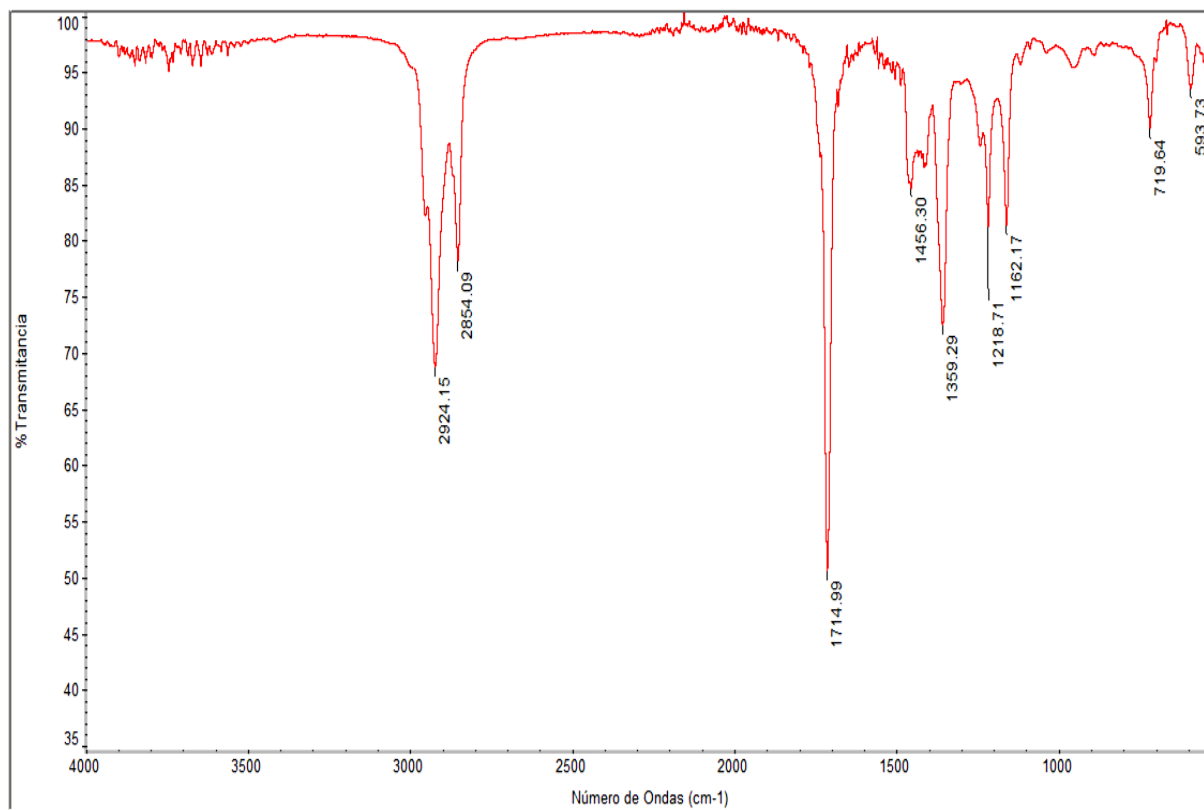


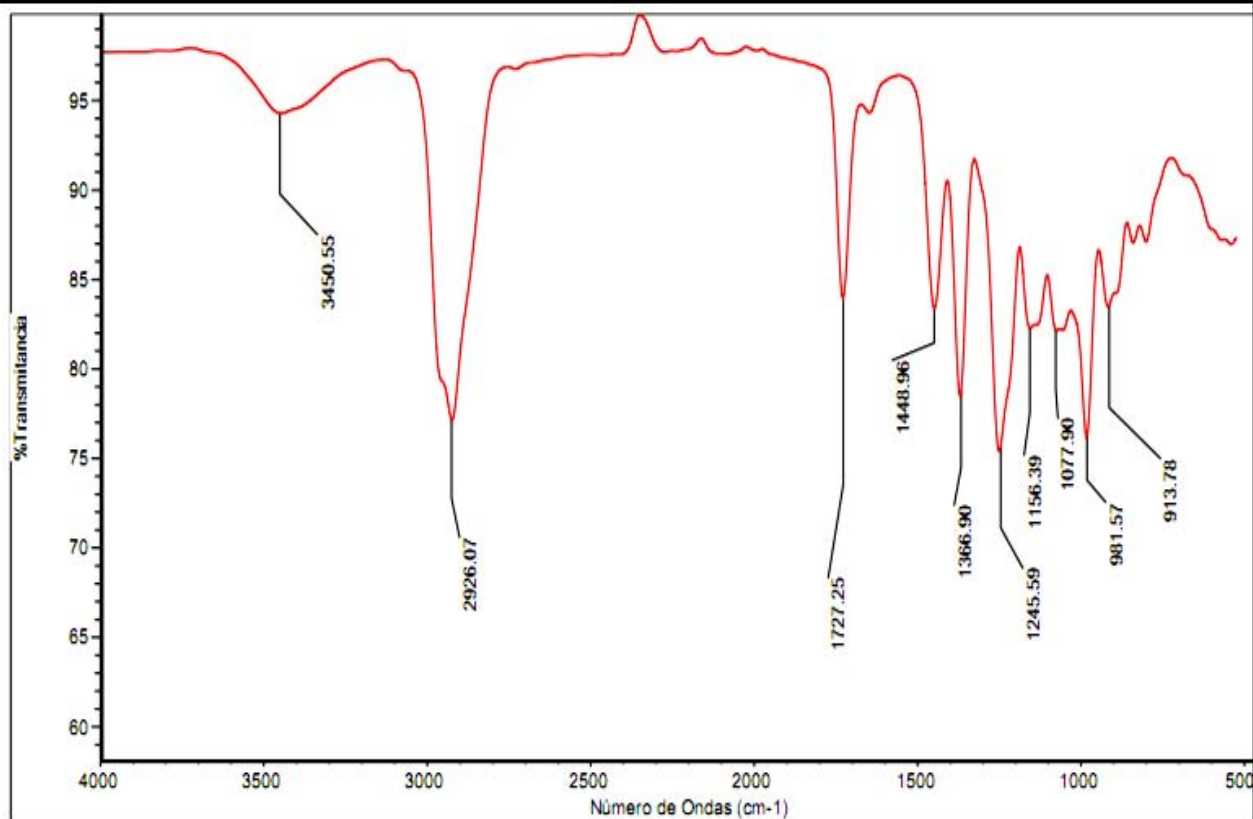
Figura 18. Espectro de absorción infrarroja de aceite esencial de romero



Número de barridos de la muestra: 32
Número de barridos del fondo: 32
Resolución: 4.000
Ganancia de la muestra: 8.0
Velocidad del espejo: 0.4747
Apertura: 150.00

Tiempo de recogida: Jue Feb 17 11:09:08 2011 (GM)

Figura 19. Espectro de absorción infrarroja de aceite esencial de ruda



Número de barridos de la muestra: 1;
Número de barridos del fondo: 140
Resolución: 32.000
Ganancia de la muestra: 8.0
Velocidad del espejo: 0.6329
Apertura: 80.00

Tiempo de recogida: Jue Mar 13 14:30:13 20

Figura 20. Espectro de absorción infrarroja de aceite esencial de semilla de cardamomo

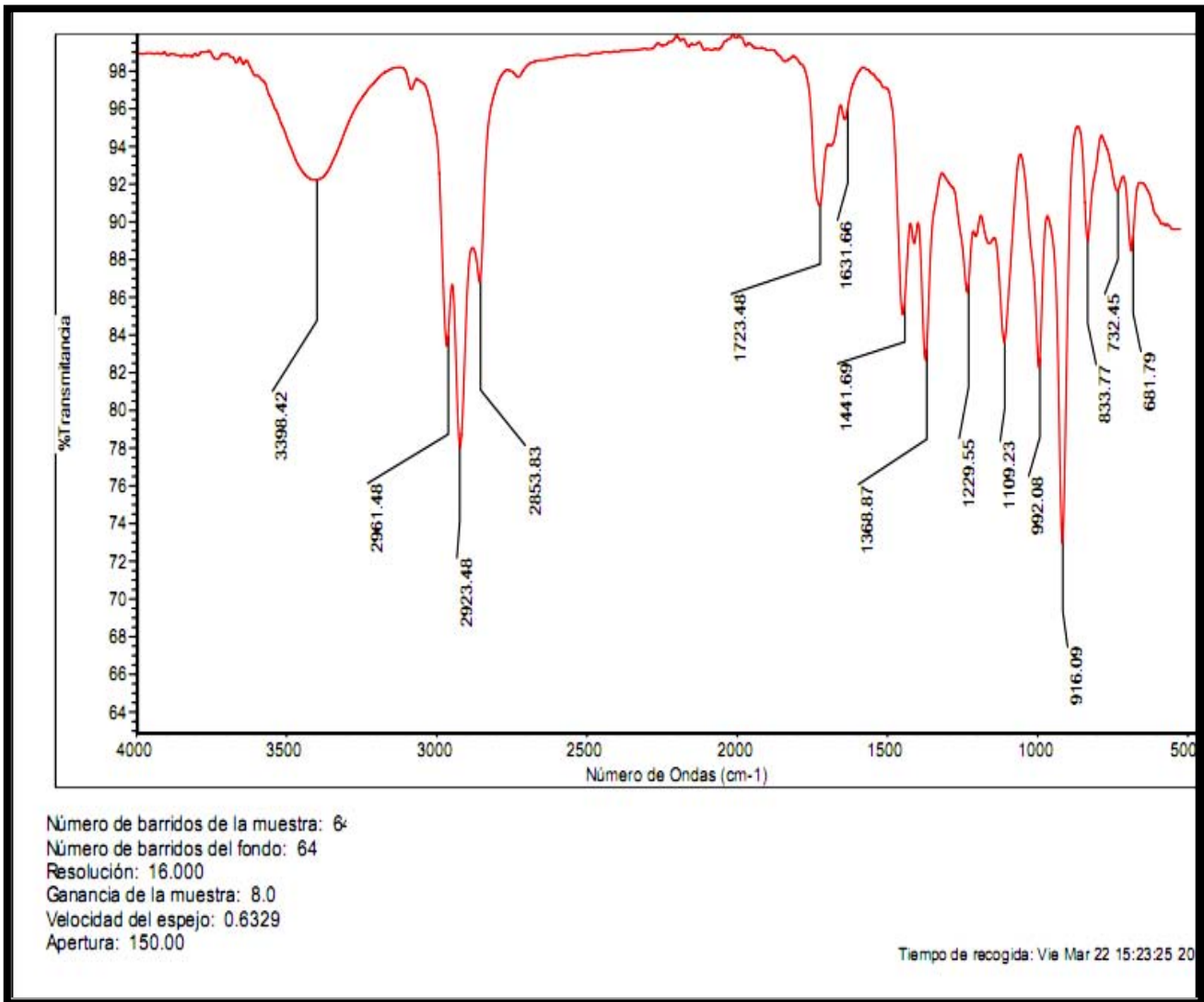


Figura 21. Espectro de absorción infrarroja de aceite esencial de semilla de cilantro

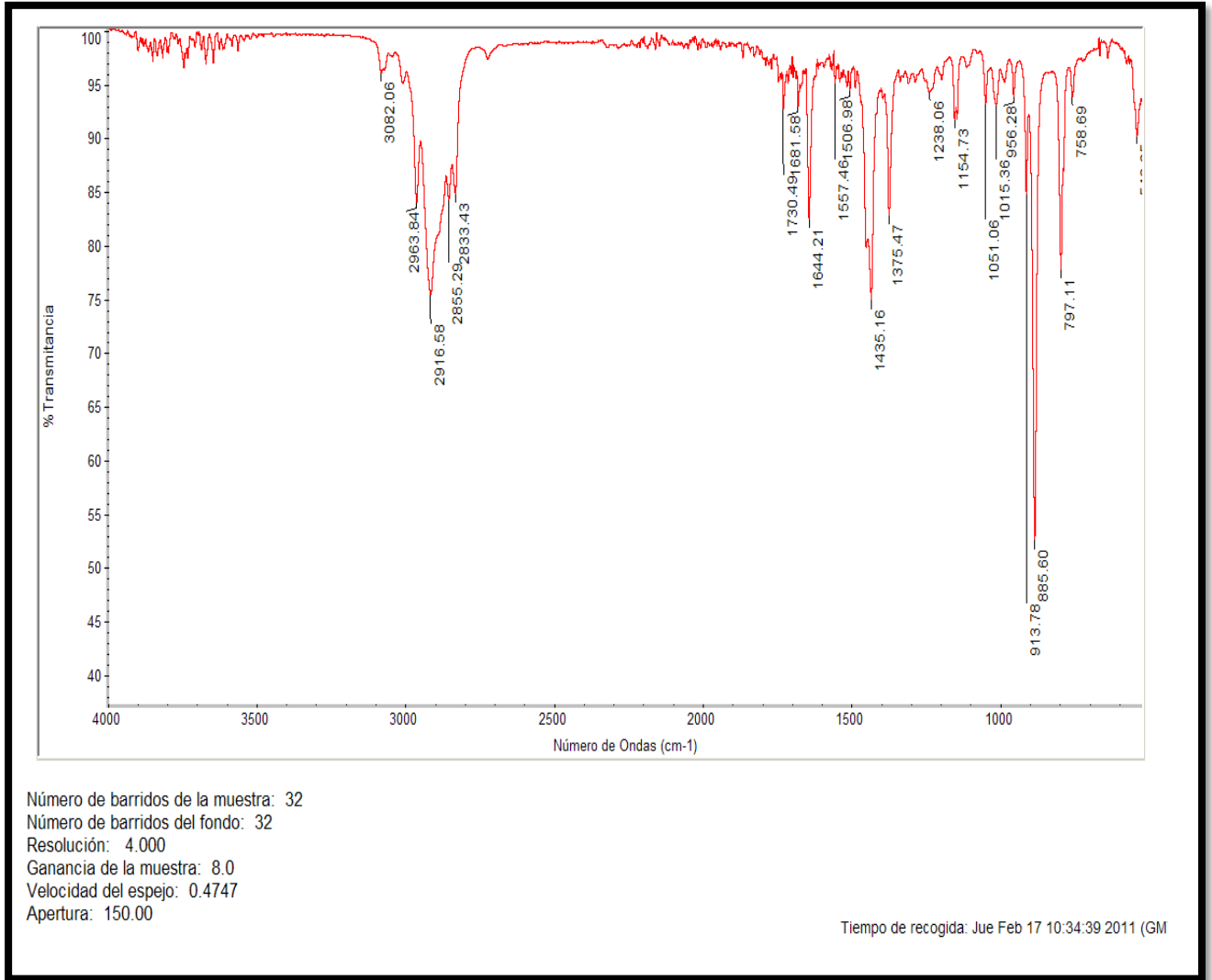


Figura 22. Espectro de absorción infrarroja de aceite esencial de toronja

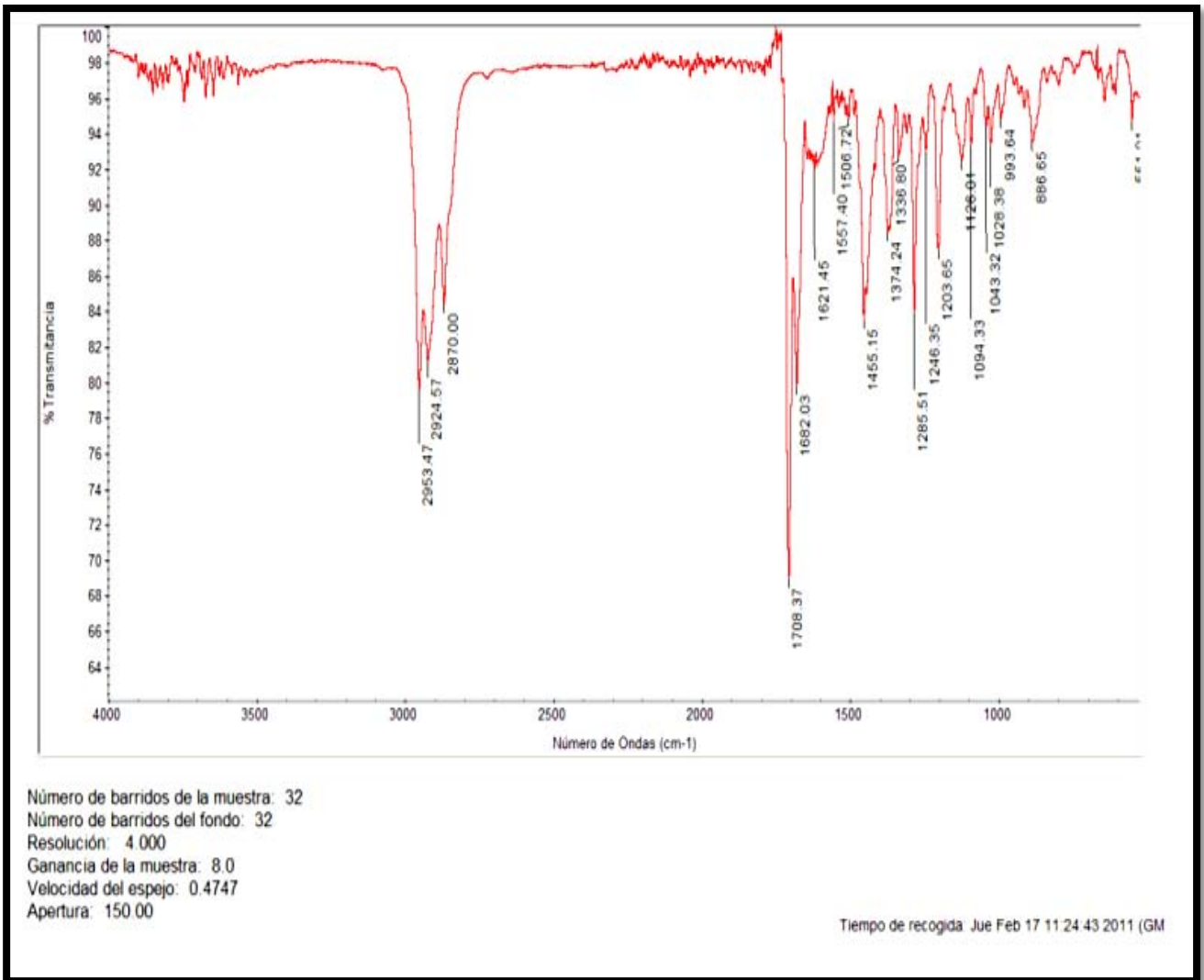


Figura 23. Espectro de absorción infrarroja de aceite esencial de toronjil blanco

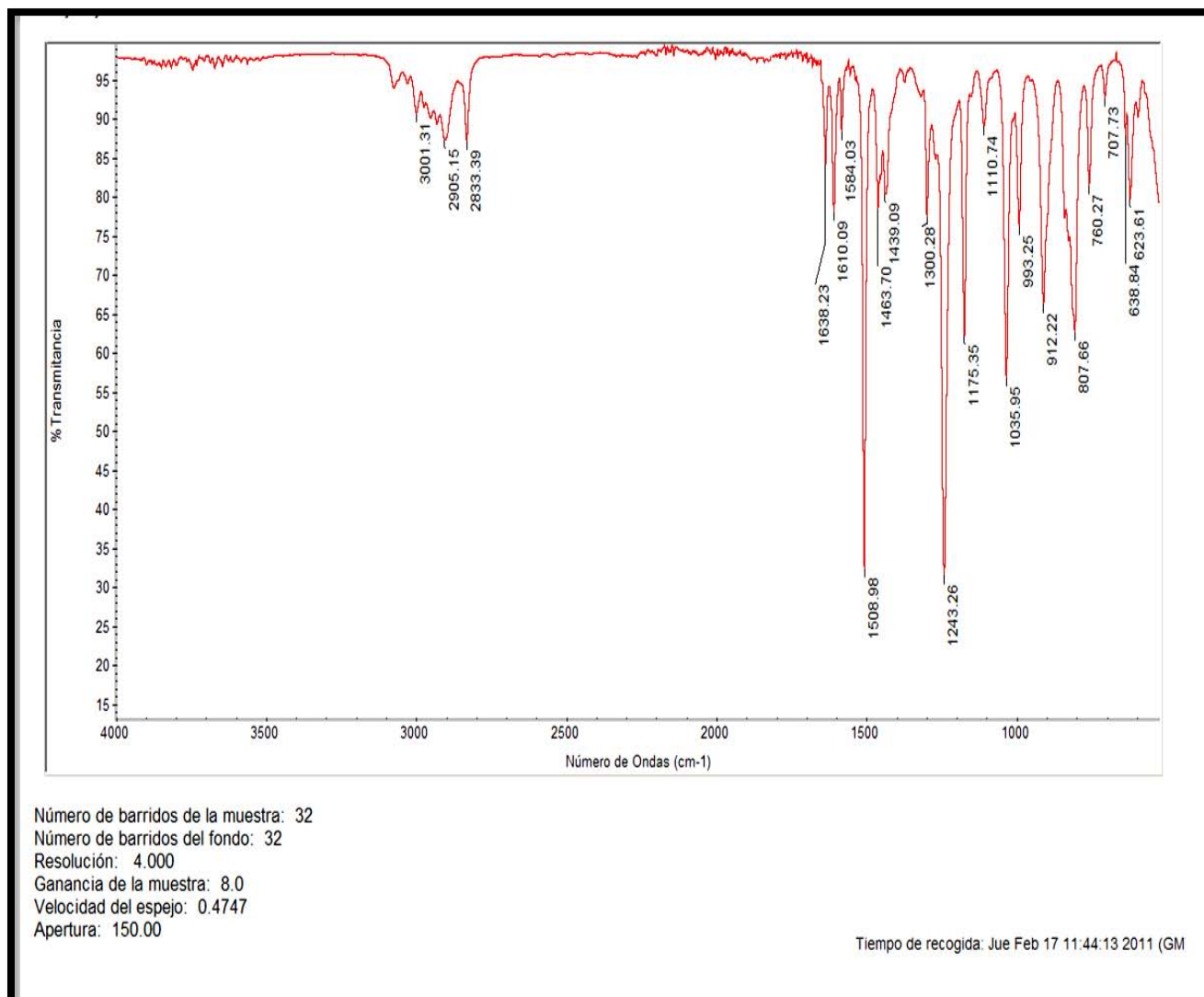


Figura 24. Espectro de absorción infrarroja de aceite esencial de toronjil morado

ANEXO 3

Resultados

Tabla 26. Fracción molar de MMA

tiempo	n experimental	$\frac{M}{\rho}$	n-1	n+2	$\frac{n^2 - 1}{n^2 + 2}$	R	X1	n
18	1.433	106.284501	1.053489	4.053489	0.25989684	27.6230	0.9615	0.0181
16	1.4304	106.284501	1.04604416	4.04604416	0.25853503	27.4783	0.9665	0.01819
14	1.4285	106.284501	1.04061225	4.04061225	0.25753826	27.3723	0.9703	0.01826
12	1.4263	106.284501	1.03433169	4.03433169	0.25638241	27.2495	0.9747	0.01834
10	1.4236	106.284501	1.02663696	4.02663696	0.25496139	27.0984	0.9801	0.01844
8	1.4215	106.284501	1.02066225	4.02066225	0.25385426	26.9808	0.9844	0.01852
6	1.4193	106.284501	1.01441249	4.01441249	0.25269264	26.8573	0.9889	0.01861
4	1.4173	106.284501	1.00873929	4.00873929	0.25163504	26.7449	0.9931	0.01869
2	1.4155	106.284501	1.00364025	4.00364025	0.25068193	26.6436	0.9968	0.01876
0	1.414	106.284501	0.999396	3.999396	0.24988673	26.5591	1	0.01882

Tabla 27. Fracción molar del MMA para cada aceite esencial

	índice de refracción	b*x	y	y*100	%
Ajenjo	1.438	-0.0549316	0.0179	1.7868	94.9436769
Anís estrella	1.4445	-0.0551799	0.0176	1.76201	93.6243358
Canela	1.437	-0.0548934	0.0179	1.79066	95.1466525
Clavo	1.4165	-0.0541103	0.0187	1.86897	99.3076514
Comino	1.4355	-0.0548361	0.0180	1.79639	95.4511158
Enebro	1.44	-0.055008	0.0178	1.7792	94.5377258
Epazote	1.4306	-0.05464892	0.0182	1.815108	96.4456961
Eucalipto	1.421	-0.0542822	0.0185	1.85178	98.3942614
Laurel	1.4355	-0.0548361	0.0180	1.79639	95.4511158
Lavanda	1.4395	-0.0549889	0.0178	1.78111	94.6392136
Lavanda flor	1.445	-0.055199	0.0176	1.7601	93.522848
Nuez moscada	1.429	-0.0545878	0.0182	1.82122	96.770457
Orégano	1.4225	-0.0543395	0.0185	1.84605	98.0897981
Pericón	1.4355	-0.0548361	0.0180	1.79639	95.4511158
Pimienta	1.4365	-0.0548743	0.0179	1.79257	95.2481403
Pirul	1.433	-0.0547406	0.0181	1.80594	95.9585547
Poleo	1.4347	-0.05480554	0.0180	1.799446	95.6134963
Romero	1.4345	-0.0547979	0.0180	1.80021	95.6540914
Ruda	1.4395	-0.0549889	0.0178	1.78111	94.6392136
Semilla cardamomo	1.4385	-0.0549507	0.0178	1.78493	94.8421892
Semilla cilantro	1.4365	-0.0548743	0.0179	1.79257	95.2481403
Te limón	1.437	-0.0548934	0.0179	1.79066	95.1466525
Toronja	1.439	-0.0549698	0.0178	1.78302	94.7407014
Toronjil blanco	1.4385	-0.0549507	0.0178	1.78493	94.8421892
Toronjil morado	1.441	-0.0550462	0.0178	1.77538	94.3347503

ANEXO 4

Tablas de Munsell

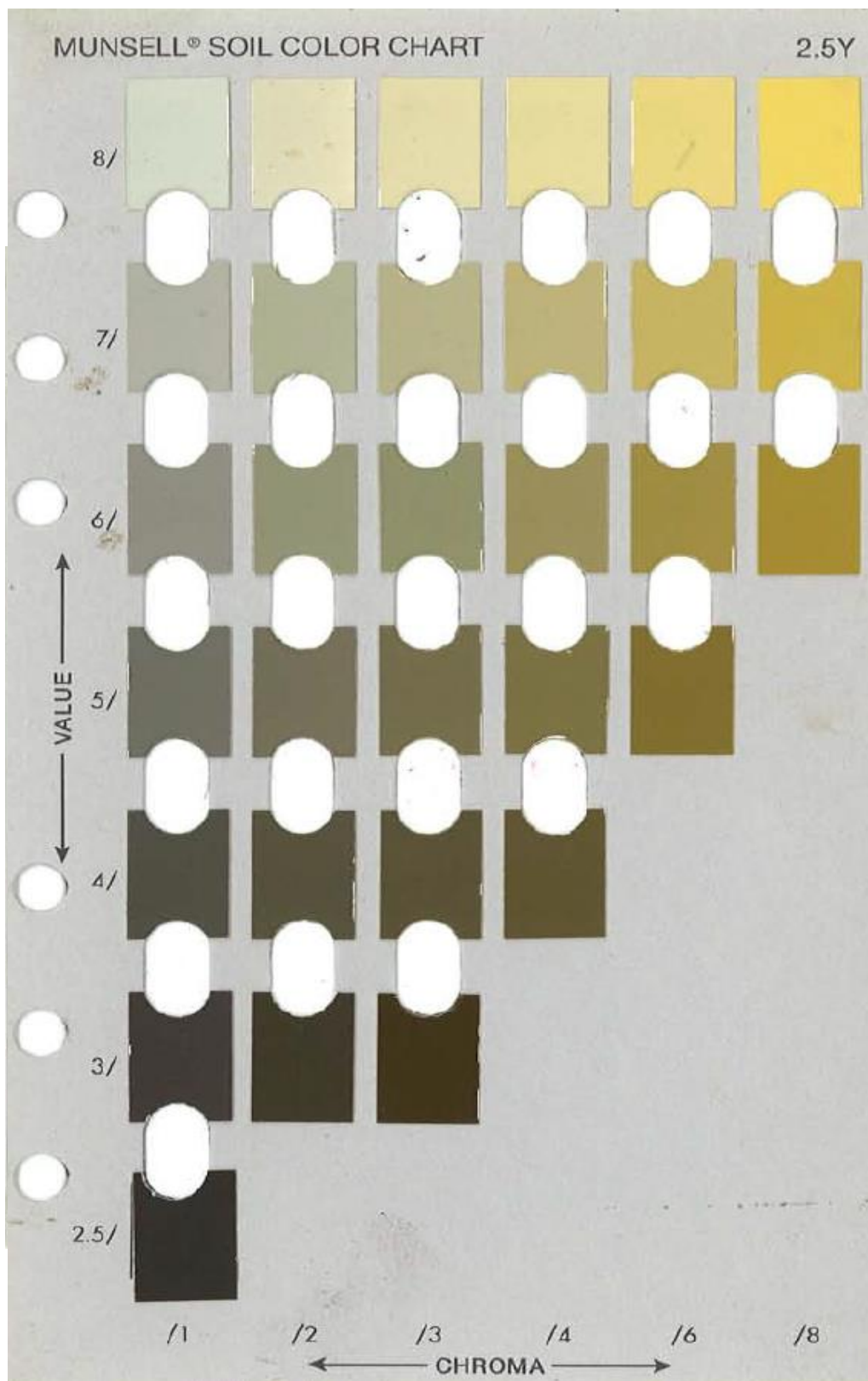


Ilustración 7. Tablas de MUNSELL

Ilustración 8. Tablas de Munsell

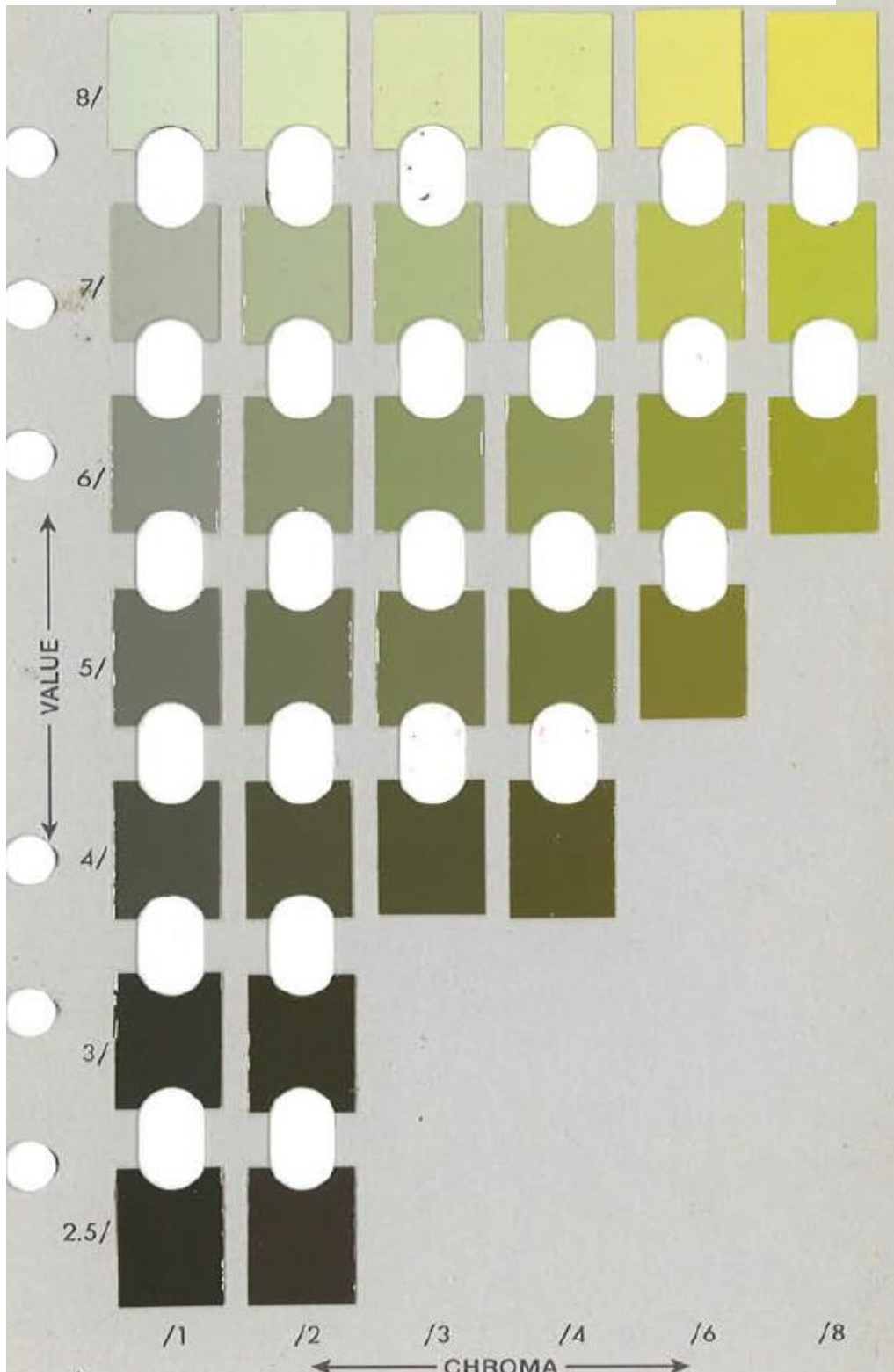


Ilustración 9. Tablas de Munsell.