



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL

ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERÍA QUÍMICA
E INDUSTRIAS EXTRACTIVAS

CARACTERIZACIÓN DE LOS PRINCIPALES
COMPONENTES ACTIVOS PRESENTES EN
HOJAS Y FLORES DE LA PLANTA PERICÓN
(*Tagetes lucida*) POR GC-MS

TESIS PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO QUÍMICO INDUSTRIAL

P R E S E N T A

Hilde Eliane Juárez Sánchez

ASESOR: M. en C. Jesús Torres Calderón



MÉXICO, D.F.

Marzo 2015

“Sea cual sea la carrera o profesión a la que alguien se dedique, es primordial encausarla siempre a la grandeza, pues en la medida que aportemos un grano de arena, seremos recordados por nuestros semejantes.”

Anónimo

“Felicidad no es hacer lo que uno quiere, sino querer lo que uno hace”

Jean Paul Sartre

“Con una voluntad fuerte, incluso los débiles pueden tener grandes poderes.”

Kate Morton

“Nada es tan peligroso para el progreso de la mente humana que suponer que nuestras ideas científicas son finales, que no existen misterios en la naturaleza, que nuestros triunfos son completos, y que no existen nuevos mundos por conquistar.”

Sir Humphry Davy

“Hay quienes se consideran perfectos, pero es sólo porque exigen menos de sí mismos”

Hermann Hesse

“Si hubiera elegido ser carpintero, sería buen carpintero; si hubiera elegido ser electricista, sería ahora un muy buen electricista. Siempre creí que la superación del oficio, esta ligada a la superación del ser entero.”

Mario Moreno “Cantinflas”

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Politécnico Nacional y a la Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas por haberme brindado la mejor educación profesional.

A todos los maestros que fueron pilar fundamental en mi educación.

Al Dr. Samuel Siles Alvarado por la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo, por compartir sus conocimientos y por su asesoría en este trabajo.

A mis compañeros de laboratorio por sus consejos, su ayuda y por tantos momentos divertidos.

A mis sinodales por el tiempo que dedicaron a este trabajo.

DEDICATORIA

A mi mamá: Cristina, por ser ejemplo de fortaleza y por todo el amor que siempre me ha demostrado.

A mi papá: Juan, quien siguiendo el ejemplo de sus padres siempre buscó la superación de sus hijos; y que donde estés, sé que estas orgulloso.

A mis hermanos: Angélica, Jananí y Emmanuel, a quienes agradezco su apoyo, sus regaños, tantas risas a través de los años, y de quienes he aprendido mucho.

A mi “Mucha Familia”, que de alguna u otra forma han estado siempre acompañándome y brindándome muchos momentos de alegría.

A Yaz y Diego, quienes me han demostrado que no se necesita un vínculo de sangre para ser hermanos, y quienes han estado a mi lado en todo momento y con los que he compartido y vivido tantas cosas.

A Stephanie y Nelda, por tantos años de amistad, a pesar de la distancia.

A todos mis amigos de ESIQIE: Amaranta, Lupita, Liliana, Gil, Martha, Luis, Oscar, Eva, Jessi, Karen, Pau, Beli, Lili, Ale y Zauza; por los pocos o muchos años juntos, y por compartir conmigo logros, risas y frustraciones.

RESUMEN

México es un país con una gran diversidad vegetal, que en conjunto con su historia y sus costumbres, hacen de la Medicina Tradicional un método de medicina alternativa usado por la mayoría de la población.

Un padecimiento muy común entre las mujeres alrededor del mundo, son los cólicos menstruales; dicho padecimiento muchas veces les impide realizar sus actividades diarias.

El pericón (*Tagetes lucida*), es una planta que gracias a su efecto antiespasmódico es utilizada para el tratamiento de cólicos menstruales

Para caracterizar los componentes del pericón, se usaron hojas y flores (secas y molidas), y se realizaron una serie de extracciones con diferentes solventes. Primeramente con C_6H_{14} , seguida de una segunda extracción con solución Agua:Etanol (70(HCl 0.5%):30) y finalmente una extracción líquido-líquido con $CHCl_3$ y CCl_4 .

Finalmente la caracterización y/o identificación, se realizó mediante las técnicas de TLC y GC-MS. Los resultados nos muestran una gran cantidad de compuestos, entre los que se encuentran cumarinas, terpenos, alcoholes, aminas y esteres

ÍNDICE

RESUMEN	V
ÍNDICE DE TABLAS	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
ABREVIATURAS.....	1
INTRODUCCIÓN	3
CAPITULO 1: FUNDAMENTOS.....	5
1.1 <i>Tagetes lucida</i> Cav.	5
1.1.1 Clasificación Taxonómica y Generalidades	5
1.1.2 Composición Química.....	6
1.2 Productos Naturales.....	7
1.2.1 Extracción de Productos Naturales.....	9
1.3 Técnicas de Análisis	11
1.3.1 Cromatografía de Capa Delgada	11
1.3.2 Cromatografía de Gases.....	11
1.3.3 Espectrometría de Masas	12
1.3.4 Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas	13
CAPITULO 2: METODOLOGÍA.....	14
2.1 Preparación de la muestra	14
2.2 Extracción	14
2.2.1 Extracción de Hojas	14
2.2.2 Extracción de Flores	15
2.3 Análisis Cromatográfico	15
2.3.1 TLC	15
2.3.2 GC-MS.....	15
CAPITULO 3: INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	19
3.1 TLC	19
3.2 GC-MS	21
CONCLUSIÓN	97

Referencias	98
ANEXO 1 FRAGMENTOGRAMAS	102
ANEXO 2 IDENTIFICACIÓN Y COMPARACIÓN DE COMPUESTOS SEMEJANTES EN MUESTRAS DIFERENTES	110
ANEXO 3: IONES PRINCIPALES PARA LA INTERPRETACIÓN DE MS	119

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. 1 Compuestos identificados en la planta Pericón.....	7
Tabla 1. 2.1 Clasificación de Terpenos	8
Tabla 3.1. 1 Identificación de Spots	19
Tabla 3.1. 2 Relaciones de Frente	21
Tabla 3.2 1 Tiempos de Retención y Compuestos en E1 (FO-IV-2-CHCl ₃)	24
Tabla 3.2 2 Tiempos de Retención y Compuestos en E2 (FO-III-2-CHCl ₃).....	25
Tabla 3.2 3 Tiempos de Retención y Compuestos en E3 (FO-III-1).....	26
Tabla 3.2 4 Tiempos de Retención y Compuestos en E4 (FO-III-3-CCl ₄)	26
Tabla 3.2 5 Tiempos de Retención y Compuestos en E5 (FO-IV-1)	27
Tabla 3.2 6 Tiempos de Retención y Compuestos en E6 (FO-IV-3-CCl ₄).....	28

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 1 Bosquejo de <i>Tagetes lucida</i>	5
Figura 2.1. 1 Extracción de Hojas	17
Figura 2.1. 2 Extracción de Flores.....	18
Figura 3.1. 1 Placas TLC.....	20
Figura 3.2. 1 Fragmentograma parcial de la muestra E1	22
Figura 3.2. 2 Espectro del compuesto $R_t=13.20$ min, en E1.....	22
Figura 3.2. 3 Mecanismo de Formación de los Iones más representativos para 7-Metoxicumarina.	23

ABREVIATURAS

'	Minutos
°C	Grados Celsius
C ₆ H ₁₄	Hexano
CCl ₄	Tetracloruro de Carbono
CHCl ₃	Cloroformo
e _{film}	Espesor del Film
EI	Energía de los Electrones de Impacto
EtOH	Etanol
eV	Electrón-volts
Ext	Extracción
FA	Fase Acuosa
FAE	Fase Acuoetanólica
FB	Fórmula Bruta
FIT	Probabilidad
FO	Fase Orgánica
g	Gramos
GC	Cromatografía de Gases
GC-MS	Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas
H ₂ O	Agua
HCl	Ácido Clorhídrico
He	Helio
I ₂	Yodo
kg	Kilogramo
KHz	Kilo Hertz
m	Metro
m/z	Masa/Carga
M ⁺	Ion Molecular
MeS	Metabolitos Secundarios
mg	Miligramos
min	Minutos
mL	Mililitros
mm	Milímetro
MP	Metabolitos Primarios
MS	Espectrometría de Masas
MT	Medicina Tradicional
nm	Nanómetro
nr	No revelado
pH	Potencial de Hidrógeno
PM	Peso Molecular
RES	Residuo
R _f	Relación de Frente
R _t	Tiempo de Retención
R _T	Distancia Total del Eluyente

s	Segundos
SPM	Síndrome Pre-Menstrual
T _{col}	Temperatura de la Columna
T _{fuelle}	Temperatura de la Fuente
T _{inyec}	Temperatura del Inyector
TLC	Cromatografía de Capa Delgada
T _{transf}	Temperatura de la línea de Transferencia
US	Ultrasonido
USA	Estados Unidos de América
UV	Ultravioleta
λ	Longitud de Onda
μm	Micrómetro
Φ_{int}	Diámetro Interior

INTRODUCCIÓN

La Medicina Tradicional (MT) es vista alrededor del mundo como una amplia variedad de terapias y prácticas que varían entre países, y es considerada como una medicina “complementaria”.

En toda América Latina la MT es un legado de recursos y prácticas curativas, parte de creencias culturales [1]. Específicamente en México el uso de esta se debe principalmente a su gran diversidad de especies de plantas (se estima que el país tiene entre 5 mil y 10 mil especies de plantas medicinales o potencialmente curativas) [2].

Una problemática común en los países en desarrollo es la difícil adquisición de medicamentos alópatas, en su mayoría debido a su costo; es por ello que gran parte de la población busca resolver sus problemas de salud recurriendo a la MT.

Uno de los padecimientos más comunes dentro de la población femenina son los cólicos menstruales, un mal que día a día aqueja a más mujeres en todo el mundo; y que muchas de ellas buscan combatir recurriendo a “remedios caseros” basados en el uso de plantas medicinales.

Alrededor del mundo la población femenina sufre de diferentes trastornos relacionados con el ciclo menstrual, como amenorrea, dismenorrea o Síndrome Pre-Menstrual (SPM). De acuerdo a estudios realizados al menos el 71% de las mujeres de entre 12 y 18 años sufren del SPM [3], el cual incluye una serie de malestares entre los que destacan irritabilidad, cambio de humor, cólicos, dolor de cabeza y fatiga.

Dentro de la diversidad de plantas conocidas para el tratamiento de estos malestares, se encuentra el **Pericón** (*Tagetes lucida*). Dicha planta ha sido utilizada desde tiempos remotos en el tratamiento contra infecciones estomacales, desordenes ginecológicos, e incluso como remedio contra la malaria [4, 5, 6]. Su referencia más antigua se menciona en el Códice Florentino del siglo XVI donde se comenta que se usa en el tratamiento “para los que tienen cámaras (diarrea), los que escupen sangre y para los que tienen fiebre” [7]. Actualmente es utilizada como remedio alternativo para el tratamiento de cólicos menstruales, al igual que el orégano (*Origanum vulgare* L.), la ruda (*Ruta graveolens*), el tomillo (*Thymus vulgaris* L.), el cedrón (*Aloysia citriodora*) [4], entre otros.

Frecuentemente las plantas del género *Tagetes* son empleadas para el tratamiento de dolores de estómago y cólicos menstruales. Las más conocidas

son *Tagetes erecta* (Cempasúchil), *Tagetes filifolia* Lag. (Anisillo) y *Tagetes tenuifolia* (Aceitillo).

Dada la amplia variedad de usos de la planta Pericón, es muy importante conocer más a fondo su composición química y en particular sus metabolitos secundarios, ya que estos son los principales responsables de la actividad biológica. De esa manera se puede controlar mejor la uniformidad del producto, la dosificación y la aplicación eficiente de esta planta.

En el presente trabajo se busca extraer y separar los principales componentes potencialmente activos de la planta *Tagetes lucida*. Los compuestos obtenidos serán analizados por medio de la técnica instrumental GC-MS, con el fin de correlacionar su posible estructura con la actividad biológica conocida.

CAPITULO 1: FUNDAMENTOS

1.1 *Tagetes lucida*

1.1.1 Clasificación Taxonómica y Generalidades

El pericón (*Tagetes lucida*), es una planta herbácea perenne, caducifolia, erecta. De la familia Asteraceae, tribu *Tageteae*, del género *Tagetes* [8] [9]. Se le conoce también con los nombres de Hierbanís, periquillo, yauhtli (náhuatl), tzitz ak (otomí), yita perico (mixteco), presenta también una sinonimia botánica *Tagetes florida* Sweet [4].

Puede llegar a medir de 30 cm a 1 m de alto, muy ramificada y con olor similar al anís. Las hojas son de un mismo ancho tanto en la parte axial como en la distal, con los bordes dentados y de color verde oscuro. Las flores están dispuestas en formas de cabezuelas agrupadas en racimos, están en las partes terminales de la planta y son de color amarillo. Sus frutos son negros y pequeños [4].



Figura 1.1 1 Bosquejo de *Tagetes lucida* [10]

Crece de forma silvestre en clima cálido, semicálido, seco, semiseco y templado; es común encontrarla cerca de milpas, matorrales xerófilos y pastizales [11]. Originaria de México y Guatemala, se extiende desde el noroccidente de México hasta Honduras. Cabe señalar que el género *Tagetes* se encuentra desde el suroeste de Estados Unidos hasta Argentina; haciendo posible llegar a encontrar la especie *T. lucida* a lo largo de estos territorios [4, 6, 9]. En países como USA, Francia, Inglaterra y Costa Rica se cultiva para ser utilizada como condimento alimenticio [12].

Sus partes aéreas, son utilizadas en infusión para tratar padecimientos como dolor de estómago, diarrea, cólico menstrual, tranquilizante, como remedio contra la malaria, y en infusiones para baño post-parto [8, 4, 13]. Se conoce actividad antibiótica in vitro de un extracto etanólico de flores y hojas sobre *Streptococcus pyogenes*; así como actividad inhibitoria de extractos diclorometánicos y metanólicos sobre *Campylobacter jejuni*, entre otros. [4, 9, 14]. Sin embargo una infusión concentrada puede provocar efectos vasodilatadores llegando a ser abortivo [8]. El extracto etanólico acuoso de la planta puede ejercer hipertensión a una dosis de 5 mg/kg [15].

En el área alimenticia se usa para condimentar elotes y chayotes, o como sustituto del tarragón (*Artemisia dracunculus*). También se utiliza en rituales religiosos. El humo que produce la planta al quemarse ahuyenta a mosquitos [4, 12].

1.1.2 Composición Química

En el aceite esencial de las partes aéreas de *Tagetes lucida*, se han identificado 53 compuestos, entre los que destacan anetol, metileugenol y estragol (metilchavicol) [16].

Tabla 1. 1 Compuestos identificados en la planta Pericón

Familia	Compuesto
Terpenos, Aceites Esenciales	Limoneno, β -ocimeno, cariofileno, mirceno, éter metílico de eugenol, eugenol, tagetona [6]. Anetol, metileugenol y estragol [16]
Cumarinas	Dimetilalileter de 7-hidroxicumarina, 6,7,8 trimetoxicumarina, 7,8-dihidroxicumarina, 6,7-dimetoxicumarina, 6,7-dihidroxicumarina, 6-hidroxi-7-metoxicumarina, 7-metoxicumarina, y 6-metoxi-7-hidroxicumarina [17].
Flavonoides	Patuletina, quercetagetina y quercentina [5].
Otros	Gomas, dextrinas y Sales minerales [6].

1.2 Productos Naturales

La fitoquímica es el estudio de los constituyentes químicos de las plantas; dicho estudio abarca biosíntesis, metabolismo, distribución natural, función biológica, aislamiento, purificación y estructura química [18].

Se conoce como Metabolitos Primarios (MP) a aquellas moléculas que participan en los procesos químicos que intervienen de forma directa en la supervivencia, crecimiento y actividad celular de todo ser vivo, además de ser los componentes mayoritarios de los mismos [19, 9].

Por otra parte se conoce como Metabolitos Secundario (MeS, generalmente llamados Productos Naturales) a todas aquellas sustancias elaboradas por los seres vivos durante sus procesos metabólicos, pero cuya función u objetivo es muy poco conocido en la mayor parte de los casos. Son muy poco abundantes y generalmente exclusivos en géneros, familias y/o especies. Muchos de estos metabolitos secundarios son producidos por las plantas como sustancias que forman parte de sus sistemas de defensa o como recursos de respuesta químico-biológica a las heridas producidas por daño mecánico, o para defensa contra

ataque de microorganismos patógenos [20]. La importancia que tienen, radica en que muchos de estos compuestos químicos tienen una actividad biológica de gran importancia terapéutica y son utilizados desde tiempos remotos en la preparación de medicamentos en la medicina tradicional [18].

Tomando en cuenta los tipos o familias de compuestos encontrados en las plantas, los metabolitos secundarios podemos agruparlos en:

Terpenoides y Esteroides

Los terpenoides son especies químicas formadas por la unión de dos o más unidades de isopreno. La mayoría contiene átomos de carbono en múltiplos de cinco; de acuerdo al número de carbonos pueden clasificarse de la siguiente manera:

Tabla 1. 2.1 Clasificación de Terpenos

Nombre	Número de Carbonos
Monoterpenos	10 (2x5)
Sesquiterpenos	15 (3x5)
Diterpenos	20 (4x5)
Sesterpenos	25 (5x5)
Triterpenos	30 (6x5)
Tetraterpenos o carotenoides	40 (8x5)
Politerpenos	(nx5)

Por otro lado los esteroides son alcoholes secundarios políciclicos con estructura de ciclopentanofenantreno [18, 19].

Alcaloides

Considerado el grupo más grande y heterogéneo de los metabolitos secundarios. Debido a su complejidad y amplia variedad puede decirse que son compuestos sólidos, cristalinos, incoloros, de reacción básica y contienen uno o más átomos de nitrógeno en su estructura [18].

Flavonoides

Son un grupo de metabolitos secundarios cuyas estructuras derivan del núcleo aromático flavano o 2-fenilbenzopirano. Se dividen en varias clases de acuerdo con el nivel de oxidación del anillo central de pirano; las dos clases más importantes son: flavonoles o 3-hidroxi flavonas y las antiocianidinas.

Cumarinas

Son especies químicas clasificadas dentro de los compuestos aromáticos, debido a que poseen un anillo aromático unido a uno o más sustituyentes hidroxilo. Se les considera derivados de la lactona, además de que presentan un gran número de modificaciones biogénicas.

Muchos autores [21, 22, 23] las clasifican de acuerdo a su estructura, como: Cumarinas simples, Furanocumarinas y Piranocumarinas.

Cromenos y Benzofuranos

Los cromenos representan un reducido grupo de compuestos fenólicos que presentan un anillo aromático unido a un anillo de pirano; mientras que el núcleo de los benzofuranos está formado por la fusión de un anillo bencénico y uno furánico, este tipo de estructuras aparece en muchos metabolitos secundarios como las cumarinas [24, 19, 25].

1.2.1 Extracción de Productos Naturales

Los procedimientos de extracción de los MeS contenidos en las plantas dependerán de la escala de producción, de las características físico químicas de la materia prima, de la naturaleza del solvente y otros. Entre los usados podemos mencionar:

Infusión

Las partes de interés de la planta son introducidas en agua, preferentemente hirviendo (puede ser en frío), y se deja reposar hasta que el conjunto llegue a temperatura ambiente. Los principios activos pasan al agua por difusión [18, 25].

Decocción

Utilizado generalmente para extraer los compuestos de las partes duras de la planta (raíces, ramas, otros), consiste en poner a hervir en un volumen específico de agua la parte de interés de la planta, dejando en ebullición de 15 a 20 minutos si se trata de flores, hojas y/o raíces tiernas, y de 30 a 40 minutos, si se trata de raíces duras, leñosas o cortezas [26].

Maceración

Es el procedimiento más antiguo y consiste en colocar las partes de la planta y el solvente seleccionado en un recipiente de vidrio y dejarlo reposar por tiempos prolongados que pueden ir desde tres días hasta algunos meses. Si bien los compuestos pasan al solvente por difusión, las concentraciones obtenidas son mucho más elevadas debido al tiempo de operación [18, 26].

Percolación

Es el procedimiento más utilizado para la preparación de tinturas y extractos. Consiste en colocar el material vegetal adecuadamente fraccionado en un percolador equipado de un regulador de flujo del solvente. Se hace pasar el solvente por gravedad, regulando su flujo para optimizar la extracción. Estos dispositivos pueden ser colocados en serie [27].

Extracción continua

Las partes de la planta, adecuadamente fraccionadas, son introducidas en un recipiente, a través del cual se va a forzar el paso del solvente seleccionado a una velocidad que asegure una extracción eficiente. Aunque existe una gran diversidad de dispositivos para este proceso, los componentes de la planta son extraídos por arrastre y difusión [18].

Extracción Ultrasónica (Sonicación)

Este procedimiento involucra el uso de ondas ultrasónicas que pueden ir desde 20 hasta 2000 kHz, este tratamiento aumenta la permeabilidad de las paredes celulares y produce cavitación. Esto hace que los compuestos de interés son liberados y pasan al solvente, tanto por difusión como por agitación mecánica. Si bien no es muy frecuente, se sabe de algunos casos en los que se detectó la formación de radicales libres que deterioran ciertos componentes extraídos [27].

1.3 Técnicas de Análisis

Los extractos obtenidos primero fueron analizados por TLC para saber más sobre su polaridad, y posteriormente fueron analizados por GC-MS.

1.3.1 Cromatografía de Capa Delgada

La Cromatografía es una técnica de separación en la cual los componentes de una mezcla son discriminados a partir de las diferencias de velocidad a la que son transportados a través de una fase móvil (gas o líquido) por una fase estacionaria activa [28].

La Cromatografía de Capa Delgada (TLC por sus siglas en inglés), permite determinar el grado de pureza de un compuesto, comparar muestras o realizar el seguimiento de una reacción [29]. En TLC la fase estacionaria (Alúmina o Gel Sílice) es sostenida por una placa, y la fase móvil orgánica (generalmente una mezcla de solventes), viaja a través de la placa por capilaridad de forma ascendente, permitiendo que los componentes interactúen con la fase estacionaria. Los compuestos son observados utilizando el revelador adecuado, y pueden caracterizarse por sus Relaciones de frente (R_f) [30].

1.3.2 Cromatografía de Gases

Es una técnica de separación analítica, donde la fase móvil que es un gas inerte, se hace pasar a través de una fase estacionaria inmisible fija en una columna. Las dos fases se eligen de tal forma que los componentes de la muestra se distribuyen en grados distintos entre la fase móvil y la fase estacionaria. La columna se encuentra dentro de un recinto donde la temperatura es controlada cuidadosamente. Los sistemas de detección a elegir, dependerán del tipo de compuestos que se quieran analizar. Compuestos termosensibles o muy polares no pueden ser analizados por esta técnica [31].

1.3.3 Espectrometría de Masas

La Espectrometría de Masas (MS por sus siglas en inglés) es una técnica de análisis instrumental destructiva, de alta especificidad y sensibilidad; permite identificar compuestos con un alto grado de certeza, a partir de la detección de fragmentos iónicos formados a partir de fragmentos neutros. Es la única técnica que permite discriminar isótopos.

Las moléculas en el analito son sometidas a una acción de alta energía llamada ionización, los iones fragmentados son separados por su relación masa/carga (m/z). Posteriormente son enviados a un multiplicador iónico que amplifica la señal de la corriente iónica, para generar un fragmentograma (conformado por espectros de masas).

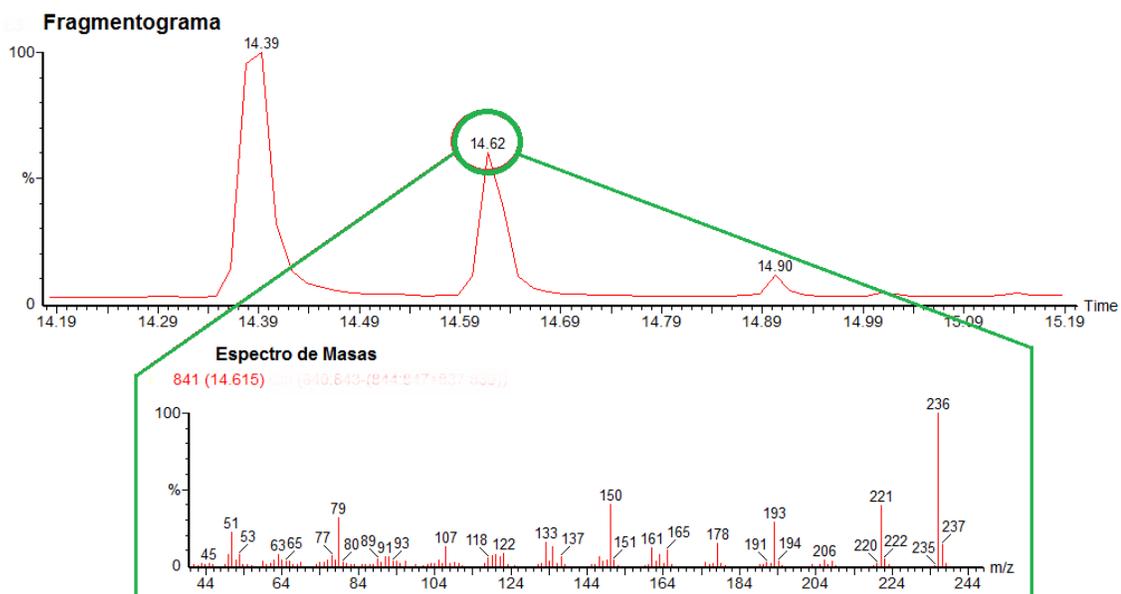


Figura 1.3. 1 Desglose de un Fragmentograma

La identificación estructural de los iones formados permite la reconstrucción de la molécula inicial.

Cabe señalar que las fragmentaciones siguen un patrón característico, dependiendo de la molécula [32].

1.3.4 Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas

Como ya se mencionó anteriormente, la Espectrometría de Masas es una técnica de alta especificidad, sin embargo su principal desventaja es que los compuestos que van a introducirse al equipo deben ser químicamente puros, lo cual es una limitante. Es por ello que para complementar la técnica, se realizaron diseños de técnicas combinadas de análisis; siendo una de ellas GC-MS.

La Cromatografía de Gases permite separar los componentes de una mezcla, para después usar el Espectrómetro de Masas como detector, permitiendo llevar a cabo la separación e identificación de los componentes en una sola operación.

CAPITULO 2: METODOLOGÍA

2.1 Preparación de la muestra

La materia prima fue adquirida en el mercado local (Central de Abastos de la Ciudad de México) y secada a la sombra. Se separaron hojas y flores y fueron molidas finamente (molino domestico para café).

2.2 Extracción

2.2.1 Extracción de Hojas

Se pesaron 30g de materia prima y se les agregaron aproximadamente 200 mL de C_6H_{14} , posteriormente fueron puestos a sonicación en un Baño de Ultrasonidos (BRASONIC® 8510R-DTH, 40KHz) por 60 minutos. Los sólidos fueron separados por filtración con algodón y papel, respectivamente, para una mejor separación, obteniendo una fase orgánica (FO-III-1) y un residuo (RES-III-1). Al residuo RES-III-1 se le agregaron aproximadamente 250 mL de solución Agua:Etanol (70(HCl 0.5%):30) y fue puesto a sonicación por 60 minutos; los sólidos se separaron por filtración con algodón y papel. De esta última filtración se obtuvieron un residuo (RES-III-2) y una fase acuo-etanólica (FAE-III-1). La fase acuo-etanólica se llevó a un pH básico (≈ 8) agregando unas gotas de Hidróxido de amonio y se dividió en dos fracciones para realizar una purificación con dos solventes diferentes.

La primer fracción fue extraída con $CHCl_3$ (3x40mL) obteniéndose una fase acuosa (FA-III-1- $CHCl_3$) y una fase orgánica (FO-III-2- $CHCl_3$).

La segunda fracción fue extraída con CCl_4 (3x40mL) para obtener una fase acuosa (FA-III-2- CCl_4) y una fase orgánica (FO-III-3- CCl_4).

2.2.2 Extracción de Flores

Se pesaron 35g de materia prima y se les agregaron aproximadamente 300 mL de C_6H_{14} , posteriormente fueron puestos a sonicación en un Baño de Ultrasonidos (BRASONIC® 8510R-DTH, 40KHz) por 60 minutos. Los sólidos fueron separados por filtración con algodón y papel, obteniendo una fase orgánica (FO-IV-1) y un residuo (RES-IV-1). Al residuo RES-IV-1 se le agregaron aproximadamente 250 mL de solución Agua:Etanol (70(HCl 0.5%):30) y fue puesto a sonicación por 60 minutos; los sólidos se separaron por filtración con algodón y papel. De esta filtración se obtuvieron un residuo (RES-IV-2) y una fase acuo-etanólica (FAE-IV-1). La fase acuo-etanólica (pH≈8) se dividió en dos fracciones para realizar una purificación con dos solventes diferentes.

La primer fracción fue extraída con $CHCl_3$ (3x40mL) obteniéndose una fase acuosa (FA-IV-1- $CHCl_3$) y una fase orgánica (FO-IV-2- $CHCl_3$).

La segunda fracción fue extraída con CCl_4 (3x40mL) para obtener una fase acuosa (FA-IV-2- CCl_4) y una fase orgánica (FO-IV-3- CCl_4).

2.3 Análisis Cromatográfico

2.3.1 TLC

Todas las fracciones del proceso de purificación fueron evaluadas por TLC (placas de vidrio Merck, Silicagel FG₂₅₄ 60) en cada una de sus etapas. Las fases móviles empleadas fueron:

Mezcla 1: Cloroformo-Acetato de Etilo-Metanol	6:3:1
Mezcla 2: Butanol-Acetona-Agua-Ácido Acético	6:8:5:1

Después de ser desarrolladas, las placas fueron reveladas con vapores de I_2 y con luz UV.

2.3.2 GC-MS

Los análisis por GC-MS fueron realizados por un equipo Perkin Elmer Clarus 600. Las condiciones de operación fueron:

- ↪ Columna Capilar Elite-5 MS
- ↪ Longitud de Columna: 30m
- ↪ Φ_{int} : 0.32 mm
- ↪ e_{film} : 0.25 μm
- ↪ Fase Móvil: He
- ↪ T_{inyec} : 250°C
- ↪ T_{col} : 60°C, 5min; 60-270°C, 20°C/min; 270°C, 5 min.
- ↪ T_{trans} : 280°C
- ↪ T_{fuente} : 280°C
- ↪ EI: 70 eV
- ↪ m/z : 25-450
- ↪ Tiempo de barrido: 0.9 s

Las muestras analizadas por esta técnica se muestran a continuación, su proceso de obtención se describe en las figuras 2.1 y 2.2.

- ↪ E1= FO-IV-2-CHCl₃
- ↪ E2= FO-III-2-CHCl₃
- ↪ E3= FO-III-1
- ↪ E4= FO-III-3-CCl₄
- ↪ E5= FO-IV-1
- ↪ E6= FO-IV-3-CCl₄

Los nombres E1, E2, etc., fueron dados para simplificar los nombres de las muestras.

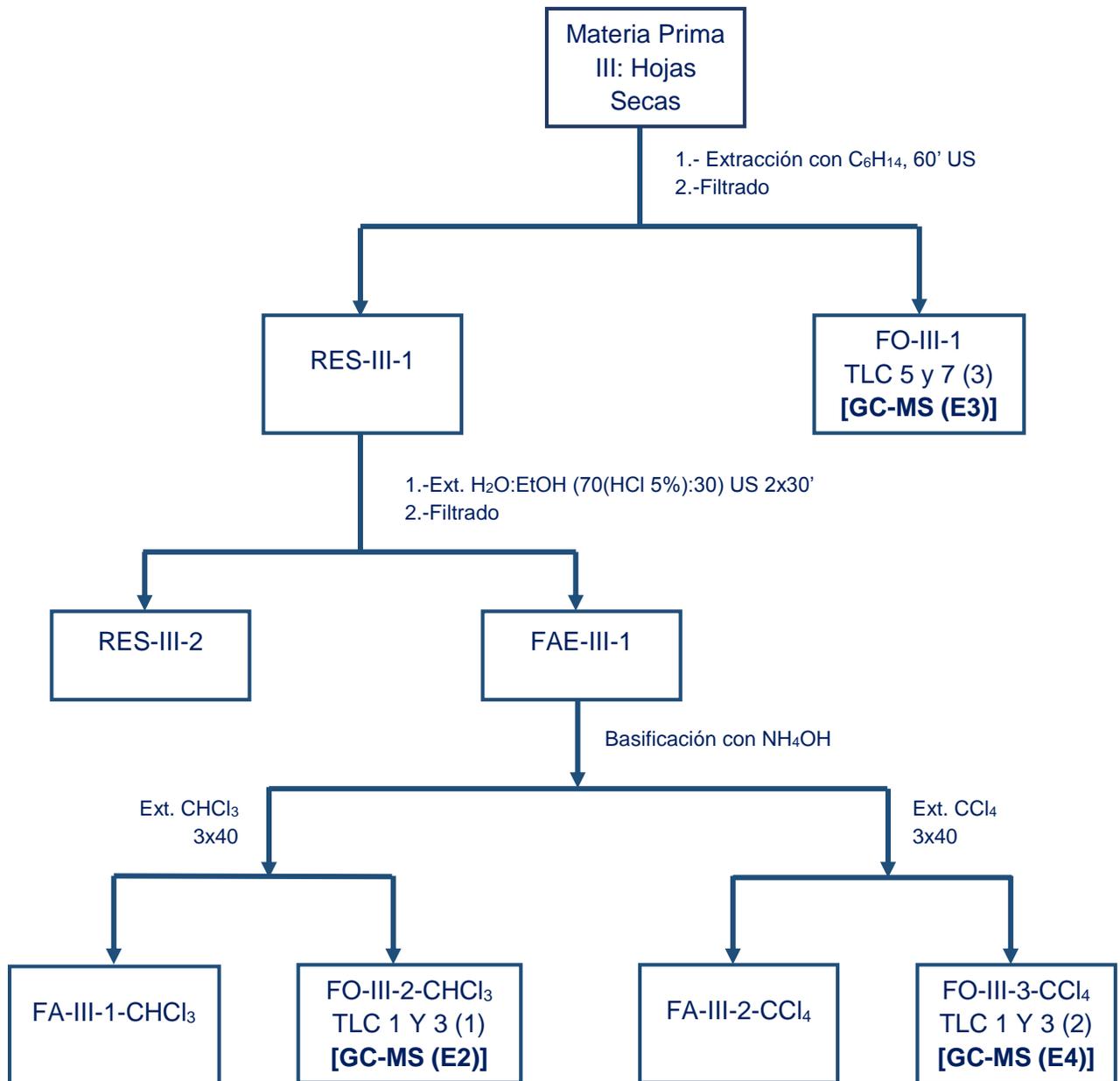


Figura 2.1. 1 Extracción de Hojas

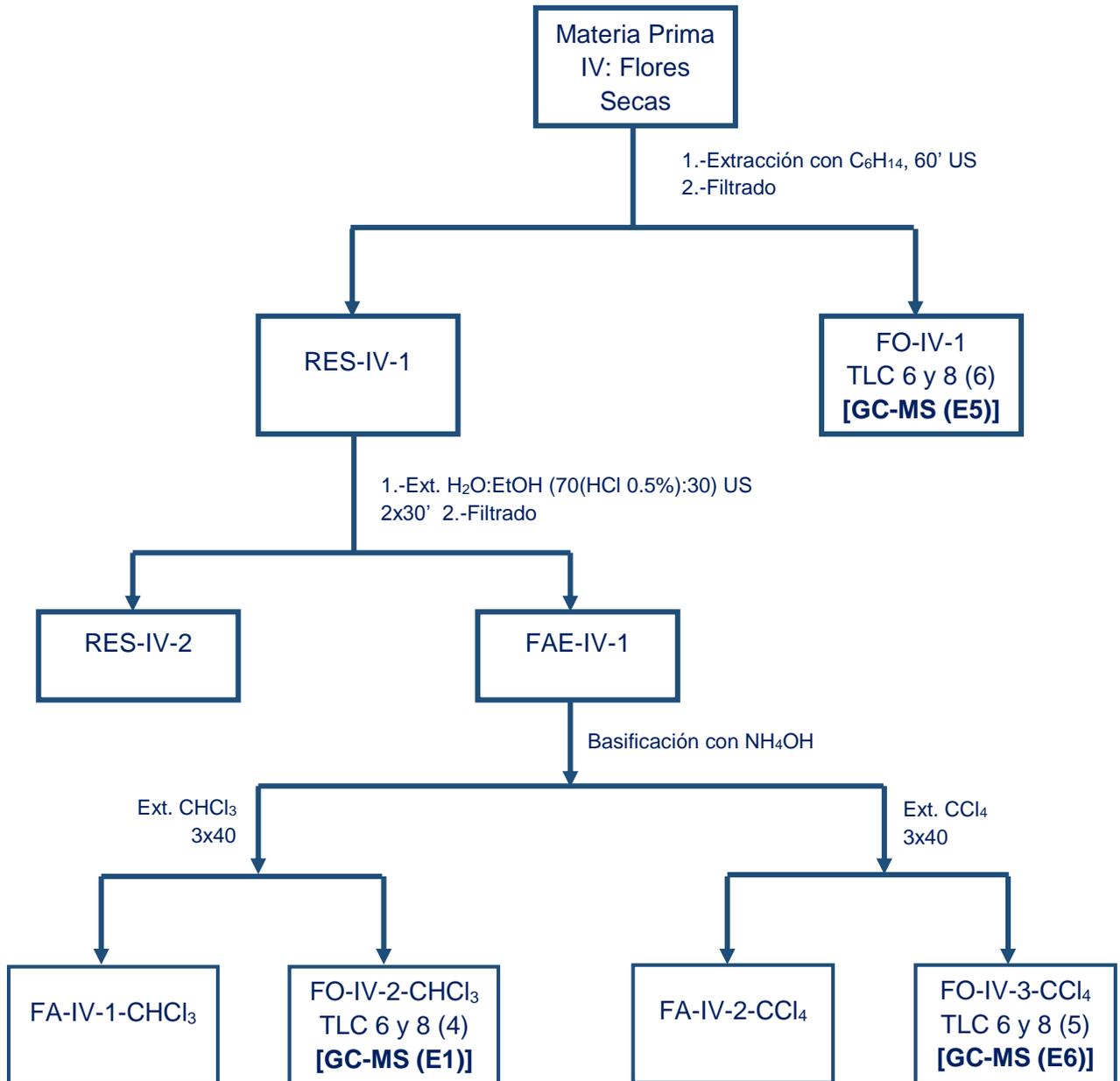


Figura 2.1. 2 Extracción de Flores

CAPITULO 3: INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

3.1 TLC

Los componentes de las diferentes fracciones fueron caracterizadas por la medida de su relación de frentes:

$$R_f = \frac{d_m}{d_0}$$

Donde:

R_f: Relación de frente.

d_m: Distancia recorrida por la muestra.

d₀: Distancia recorrida por el solvente.

Tabla 3.1. 1 Identificación de Spots

Placa	Spot	Muestra	Fase
1	1	FO-III-2-CHCl ₃	Cloroformo: Acetato de Etilo: Metanol (6:3:1)
	2	FO-III-2-CCl ₄	
	3	FO-III-1	
2	4	FO-IV-2-CHCl ₃	
	5	FO-IV-2-CCl ₄	
	6	FO-IV-1	
3	1	FO-III-2-CHCl ₃	Butanol: Acetona: Agua: Ácido Acético (6:8:5:1)
	2	FO-III-2-CCl ₄	
	3	FO-III-1	
4	4	FO-IV-2-CHCl ₃	
	5	FO-IV-2-CCl ₄	
	6	FO-IV-1	

Las placas que se observan en la Figura 3.1.1, muestran la separación de las fases, así como el agente revelador con que fue posible observarlas.

Contorno azul= UV ($\lambda = 245 \text{ nm}$).
Contorno rojo= Vapores de Yodo
Contorno violeta= UV & I_2



Figura 3.1. 1 Placas TLC

Como podemos ver (placas 1 a 4) las diferentes fracciones obtenidas contienen de 2 a 5 compuestos o grupos de compuestos. La mejor separación fue obtenida con la mezcla 1 (placas 1 y 2), pero fue necesario el uso de dos reveladores. En las placas 3 y 4 puede observarse que los compuestos empezaron a separarse, sin embargo, su separación no fue eficiente.

Las relaciones de frente obtenidas se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 3.1. 2 Relaciones de Frente

Placa		1			2			3	4
d ₀ / cm		8.05			8.35			8.1	8.4
Mancha		A	B	C	A	B	C		
R _f	1	UV	0.51	0.51	n.r.				
		I ₂	0.61	0.61	n.r.				
	2	UV	0.51	0.61	n.r.				
		I ₂	n.r.	n.r.	n.r.				
	3	UV	0.50	0.77	0.68				
		I ₂	0.60	0.83	n.r.				
	4	UV				0.47	0.58	n.r.	
		I ₂				n.r.	n.r.	n.r.	
	5	UV				0.47	0.56	n.r.	
		I ₂				n.r.	n.r.	n.r.	
	6	UV				0.47	0.56	0.64	
		I ₂				n.r.	n.r.	n.r.	
	1	UV							0.84
		I ₂							0.84
	2	UV							0.85
		I ₂							0.85
	3	UV							0.94
		I ₂							0.90 0.88
	4	UV							0.86
		I ₂							0.86
	5	UV							0.85
		I ₂							0.85
	6	UV							0.85
		I ₂							0.99

A,B,C= Manchas en las diferentes capas. 1,2, etc.= Número de spots

3.2 GC-MS

Los fragmentogramas obtenidos (Anexo 1) muestran semejanzas significativas, principalmente en aquellas fracciones obtenidas con el mismo solvente (E1 y E2, E4 y E6, E3 y E5); lo cual es corroborado por los espectros de masas de los compuestos contenidos en cada fracción (Anexo 2).

Para proponer y confirmar la estructura de los diferentes compuestos, se realizó la interpretación de los espectros de masa con la ayuda de los mecanismos de

fragmentación, explicando la formación de los principales fragmentos iónicos (Anexo 3).

Como ejemplo podemos mostrar la interpretación de un compuesto contenido en la fracción E1, con tiempo de retención (R_t) de 13.20 minutos (Figura 3.2.1).

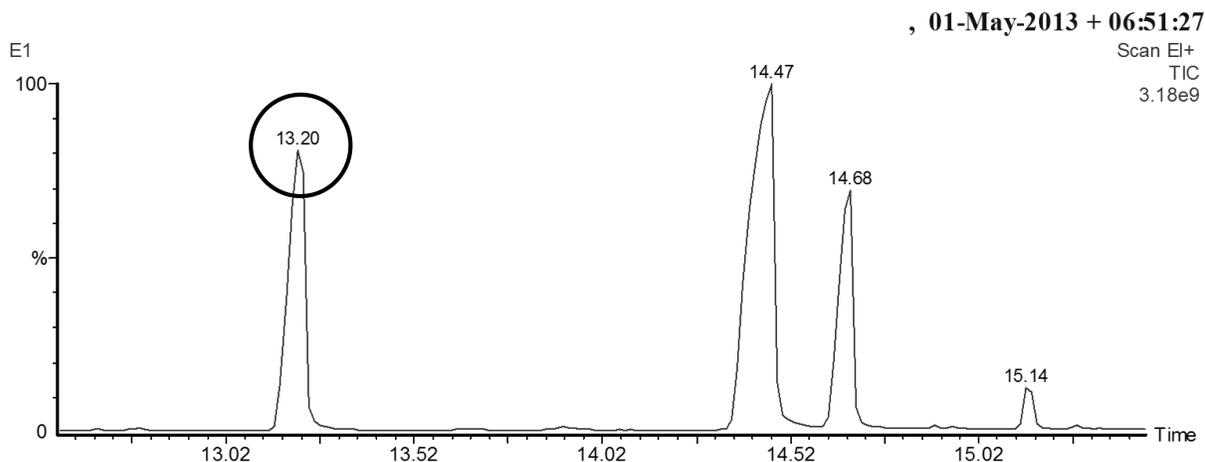


Figura 3.2. 1 Fragmentograma parcial de la muestra E1

Del fragmentograma, con un R_t de 13.20 minutos, obtenemos el espectro de masas, el cual nos permite sacar las características generales del compuesto.

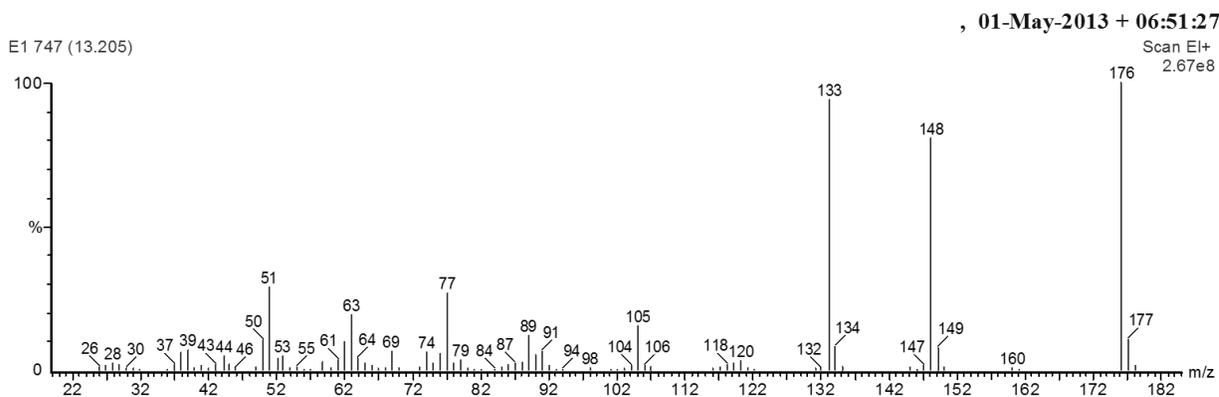


Figura 3.2. 2 Espectro del compuesto $R_t=13.20$ min, en E1.

Sobre la base de una interpretación preliminar de su espectro de masas (Figura 3.2.2) y con el apoyo de la biblioteca de referencia, incorporada en el sistema, se propone como sustancia la 7-Metoxicumarina, su estructura fue confirmada con la interpretación de los mecanismos de formación de los iones más representativos

como son: 176(100), 148(80), 105(15), 133(94), 77(26) y 51(28) [m/z (%)] (Figura 3.2.3).

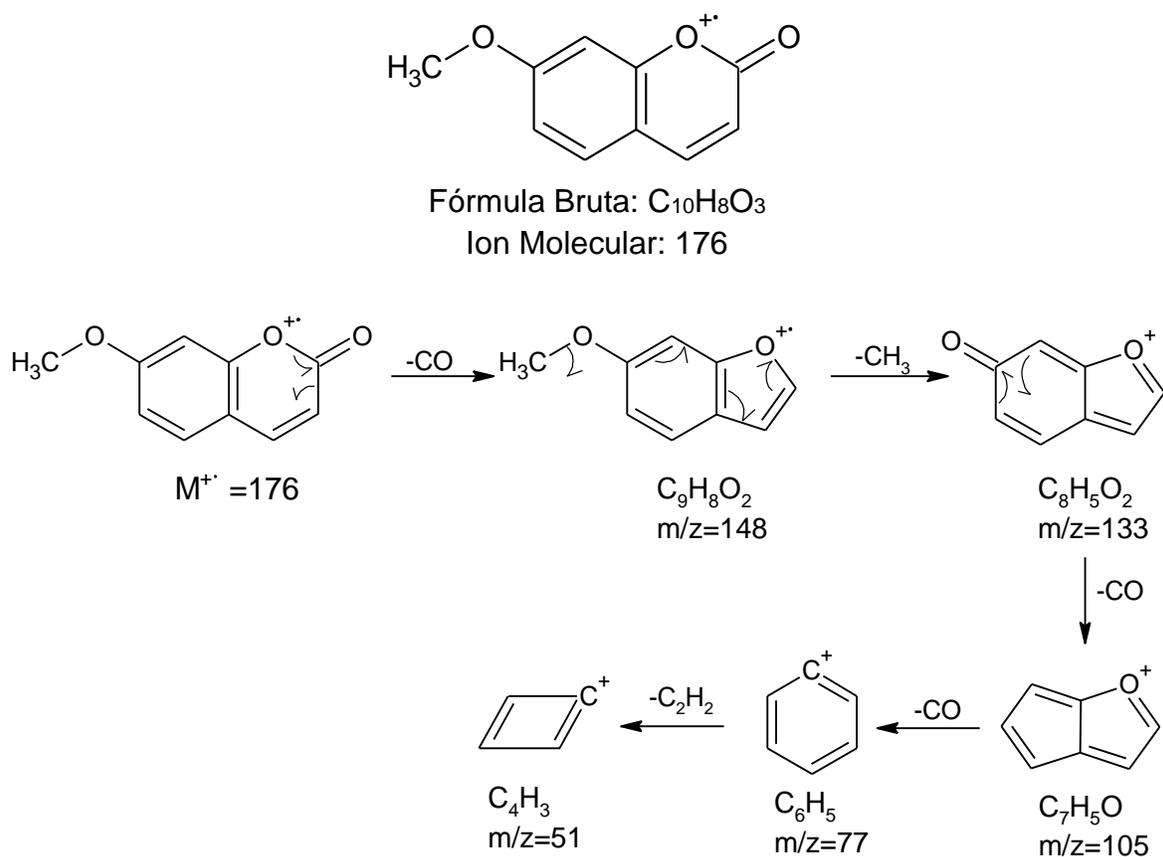


Figura 3.2. 3 Mecanismo de Formación de los Iones más representativos para 7-Metoxicumarina.

Las moléculas siempre se van a fragmentar de la misma forma, siguiendo un patrón característico, es por ello que de acuerdo a sus iones característicos se puede hacer un análisis preliminar para proponer una estructura.

Las Tablas 3.2.1 a 3.2.6 muestran los compuestos encontrados en cada una de las fracciones (una vez confirmados por su mecanismo de fragmentación) y podemos observar por una parte la complejidad de las muestras y por otra parte la presencia de compuestos idénticos y/o semejantes.

Tabla 3.2 1 Tiempos de Retención y Compuestos en E1 (FO-IV-2-CHCl₃)

R_t (min)	Nombre	Compuesto	FB	PM	FIT
7.68	D-Limoneno	2	C ₁₀ H ₁₆	136	968
10.77	Eugenol	8	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	969
10.89	Acetato de Geranilo	9	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	908
11.07	Éter Metílico de Eugenol	10	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	178	967
11.85	Decanoato de Metilo	17	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	214	958
13.2	7-Metoxicumarina	21	C ₁₀ H ₈ O ₃	176	959
13.91	7-Hidroxycumarina	22	C ₉ H ₆ O ₃	162	917
14.47	6,7-Dimetoxicumarina	26	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	206	983
14.68	3,4,7-Trimetoxicumarina	28	C ₁₂ H ₁₂ O ₅	236	789
14.9	10-Octadecanoato de Metilo	29	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296	943
15.14	2,3-Dihidro-6-Metilcumarina	30	C ₁₀ H ₁₀ O ₂	162	830
15.28	Dodecanamida	31	C ₁₂ H ₂₅ ON	199	946
15.97	7-Hidroxi-6-Metoxicumarina	32	C ₁₀ H ₈ O ₄	192	836
16.1	5-Octadecanamida	34	C ₁₈ H ₃₅ ON	281	956

Tabla 3.2 2 Tiempos de Retención y Compuestos en E2 (FO-III-2-CHCl₃)

R_t (min)	Nombre	Compuesto	FB	PM	FIT
7.67	D-Limoneno	2	C ₁₀ H ₁₆	136	950
9.48	Octanoato de Etilo	5	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	982
10.5	Decanoato de Metilo	7	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	186	920
10.77	Eugenol	8	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	964
10.89	Acetato de Geranilo	9	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	954
13.17	7-Metoxicumarina	21	C ₉ H ₆ O ₃	162	983
13.96	11-Hexadecanoato de Metilo	23	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	268	988
14.06	Hexadecanoato de Metilo	25	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	982
14.38	6,7-Dimetoxicumarina	26	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	236	981
14.62	3,4,7-Trimetoxicumarina	28	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	206	799
14.9	11-Octadecanoato de Metilo	29	C ₁₂ H ₁₂ O ₅	236	986

Tabla 3.2 3 Tiempos de Retención y Compuestos en E3 (FO-III-1)

R_t (min)	Nombre	Compuesto	FB	PM	FIT
7.67	D-limoneno	2	C ₁₀ H ₁₆	162	978
9.97	3,7-Dimetil-2,6-Octadienol	6	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	154	975
10.77	Eugenol	8	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	164	934
10.9	Acetato de Geranilo	9	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	196	987
11.07	Éter Metílico de Eugenol	10	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	178	859
11.3	Cariofileno	11	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	204	988
11.42	7,11-Dimetil-3-Metilen-1,6,10-Dodecatrieno	12	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	204	986
11.7	β-Cubebeno	14	C ₁₅ H ₂₄	204	959
11.75	Hexilresorcinol	15	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	194	838
11.8	γ-Elemeno	16	C ₁₅ H ₂₄	204	921
11.9	δ-Cadieno	18	C ₁₅ H ₂₄	222	969
13.19	7-Metoxicumarina	21	C ₉ H ₆ O ₃	162	984
14.54	Ácido N-Hexadecanoico	27	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	961
14.77	6,7-Dimetoxicumarina	26	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	206	993
15.2	3,4,7-Trimetoxicumarina	28	C ₁₂ H ₁₂ O ₅	236	794
16.39	2,3-Dihidro-6-Metilcumarina	30	C ₁₀ H ₁₀ O ₂	162	847
19.34	7-Hidroxi-6-Metoxicumarin	32	C ₁₀ H ₈ O ₄	192	903

Tabla 3.2 4 Tiempos de Retención y Compuestos en E4 (FO-III-3-CCl₄)

R_t (min)	Nombre	Compuesto	FB	PM	FIT
13.17	7-Metoxicumarina	21	C ₉ H ₆ O ₃	162	976
14.62	3,4,7-Trimetoxicumarina	28	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	206	764

Tabla 3.2 5 Tiempos de Retención y Compuestos en E5 (FO-IV-1)

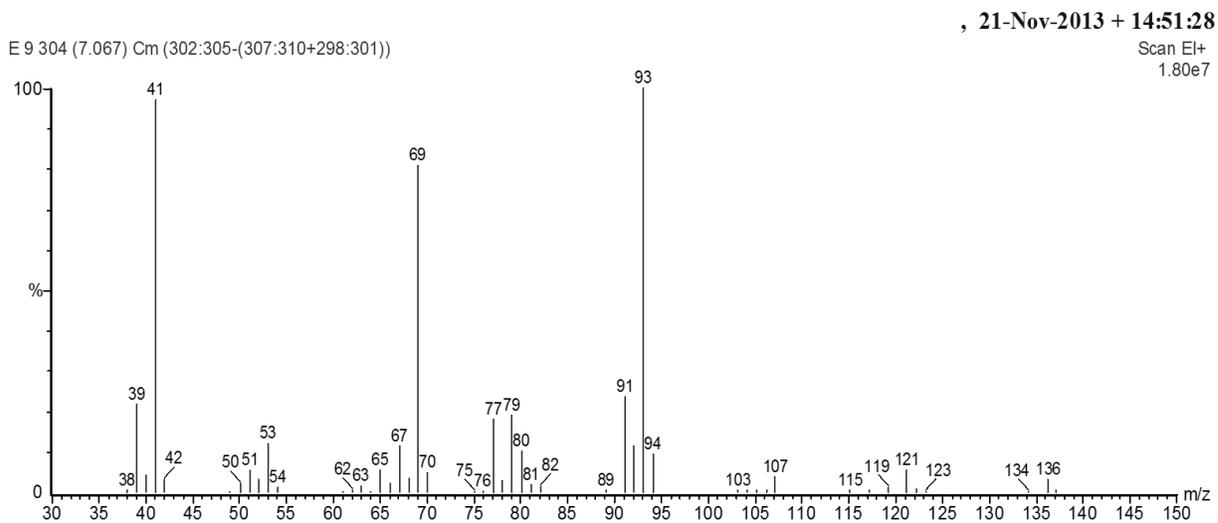
R_t (min)	Nombre	Compuesto	FB	PM	FIT
7.07	β-Mirceno	1	C ₁₀ H ₁₆	136	945
7.88	B-Ocimeno	3	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	989
8.87	1,2-Dimetil-4-Etil Benceno	4	C ₁₀ H ₁₄	196	816
9.77	3,7-Dimetil-2,6- Octadienol	6	C ₁₀ H ₁₈ O	178	931
10.77	Eugenol	8	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	987
10.9	Acetato de Geranilo	9	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	969
11.05	Éter Metílico de Eugenol	10	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	178	988
11.3	Cariofileno	11	C ₁₅ H ₂₄	204	838
11.55	α-Cariofileno	13	C ₁₅ H ₂₄	204	950
11.7	β-Cubebeno	14	C ₁₅ H ₂₄	204	973
11.9	δ-Cadineno	18	C ₁₅ H ₂₄	204	968
12.1	Nerolidol	19	C ₁₅ H ₂₆ O	222	980
12.32	Espatulenol	20	C ₁₅ H ₂₄ O	220	970
13.19	7-Metoxicumarina	21	C ₉ H ₆ O ₃	162	987
14.04	5,8-Dimetoxicumarina	24	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	206	786
14.54	Ácido N- Hexadecanoico	27	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	971
14.77	6,7-Dimetoxicumarina	26	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	206	990
15.2	3,4,7- Trimetoxicumarina	28	C ₁₂ H ₁₂ O ₅	236	765
16	Pitol	33	C ₂₀ H ₄₀ O	296	984
16.4	2,3-Dihidro-6- Metilcumarina	30	C ₁₀ H ₁₀ O ₂	162	840
19.34	7-Hidroxi-6- Metoxicumarina	32	C ₁₀ H ₈ O ₄	192	904

Tabla 3.2 6 Tiempos de Retención y Compuestos en E6 (FO-IV-3-CCl₄)

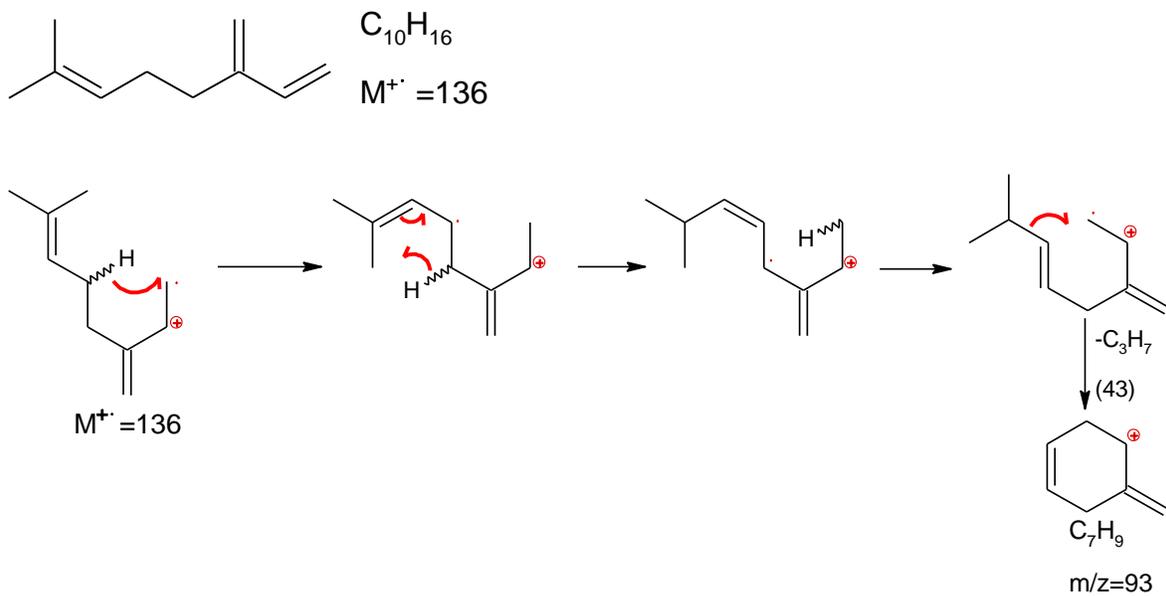
R_t (min)	Nombre	Compuesto	FB	PM	FIT
7.7	D-Limoneno	2	C ₁₀ H ₁₆	136	946
11.85	Dodecanoato de Metilo	17	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	214	778
13.17	7-Metoxicumarina	21	C ₉ H ₆ O ₃	162	983
14.39	6,7-Dimetoxicumarina	26	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	236	974
14.62	3,4,7-Trimetoxicumarina	28	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	206	777

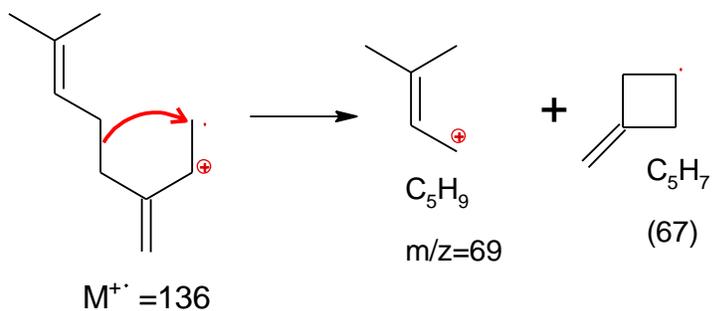
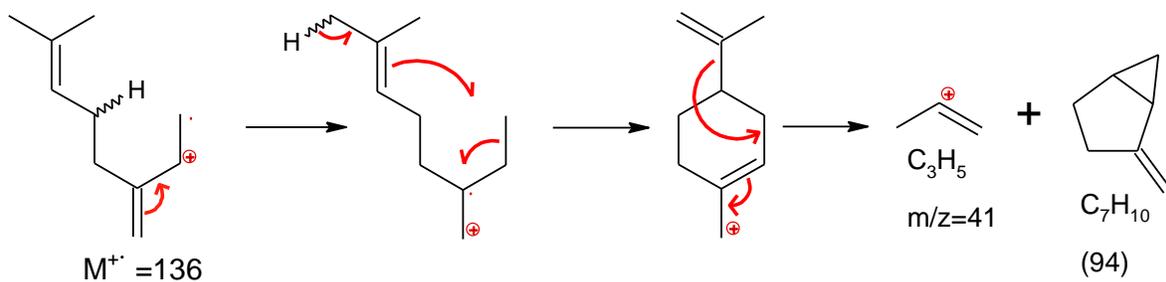
La interpretación de cada uno de los espectros se muestra a continuación.

Espectro 1



Compuesto 1: β -Mirceno



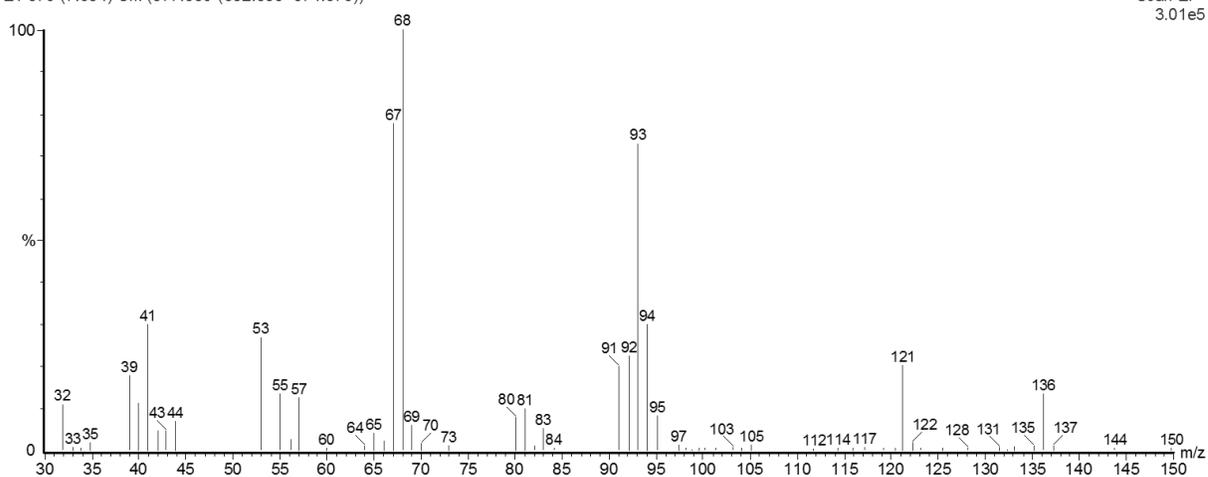


Espectro 2

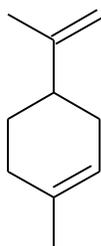
E1 379 (7.684) Cm (377:380-(382:385+374:376))

, 01-May-2013 + 06:51:27

Scan EI+
3.01e5

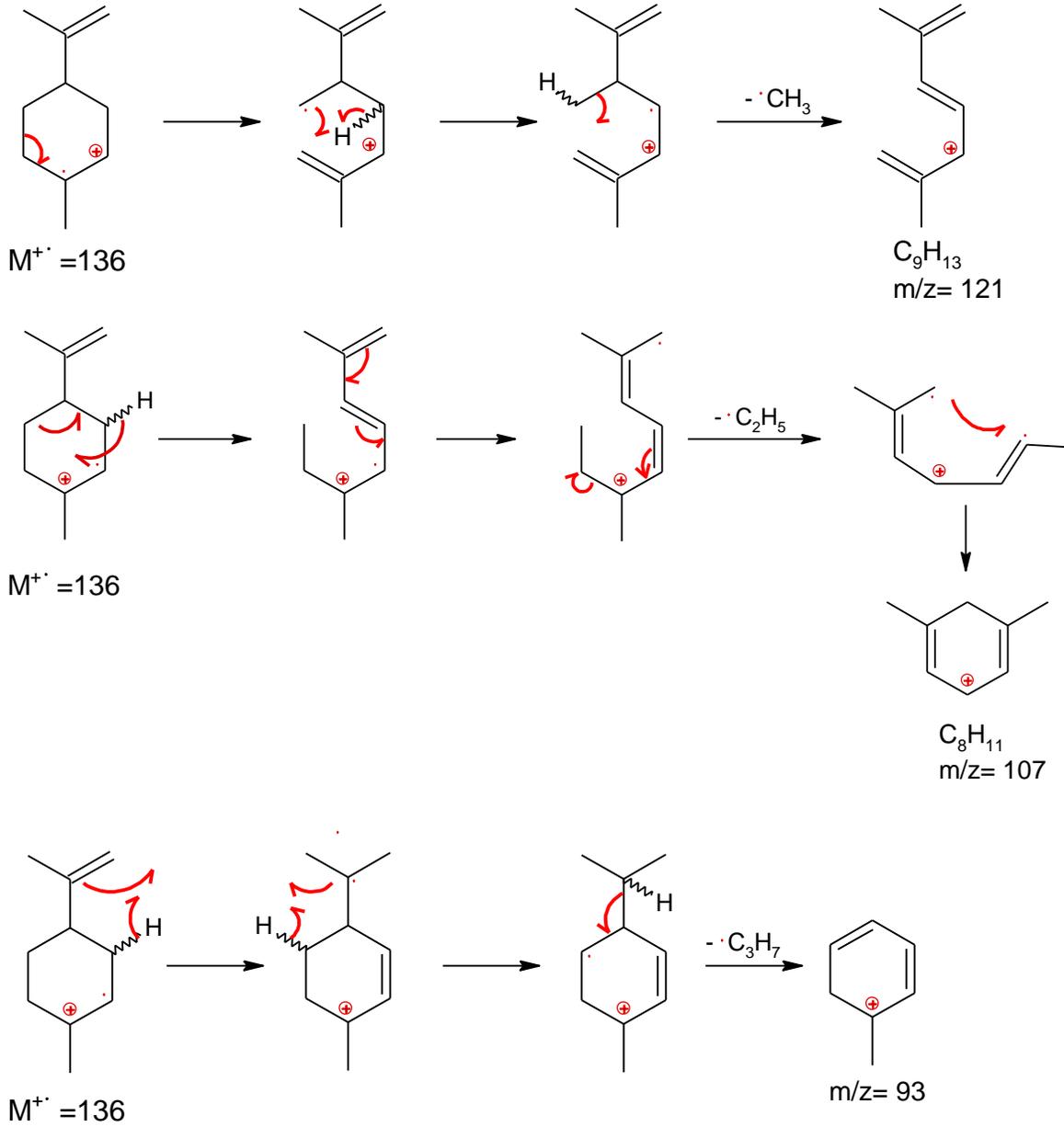


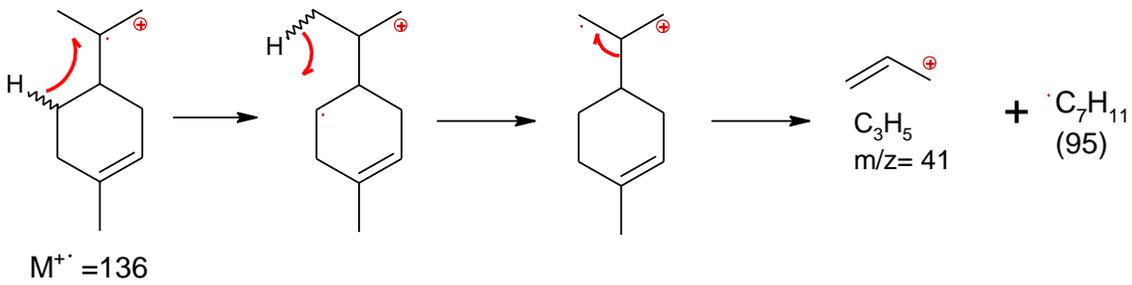
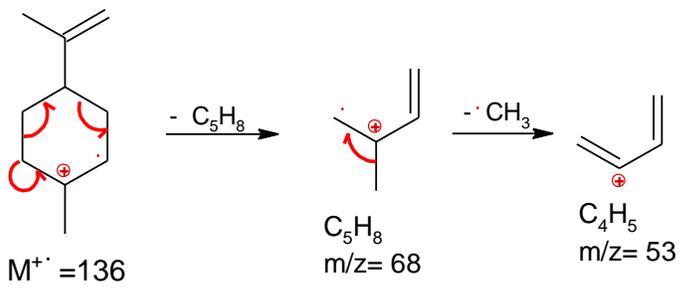
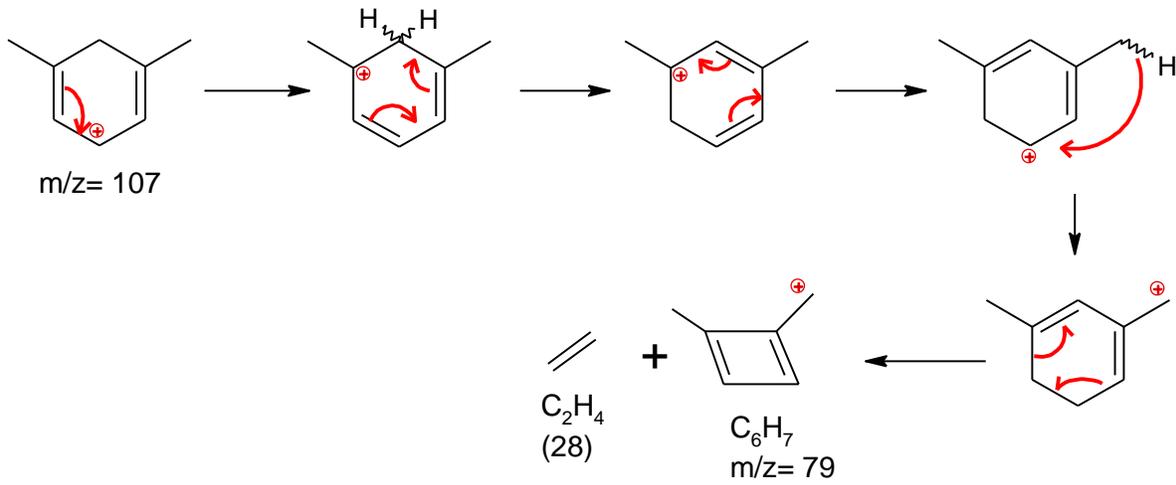
Compuesto 2: Limoneno



$C_{10}H_{16}$

 $M^+ = 136$



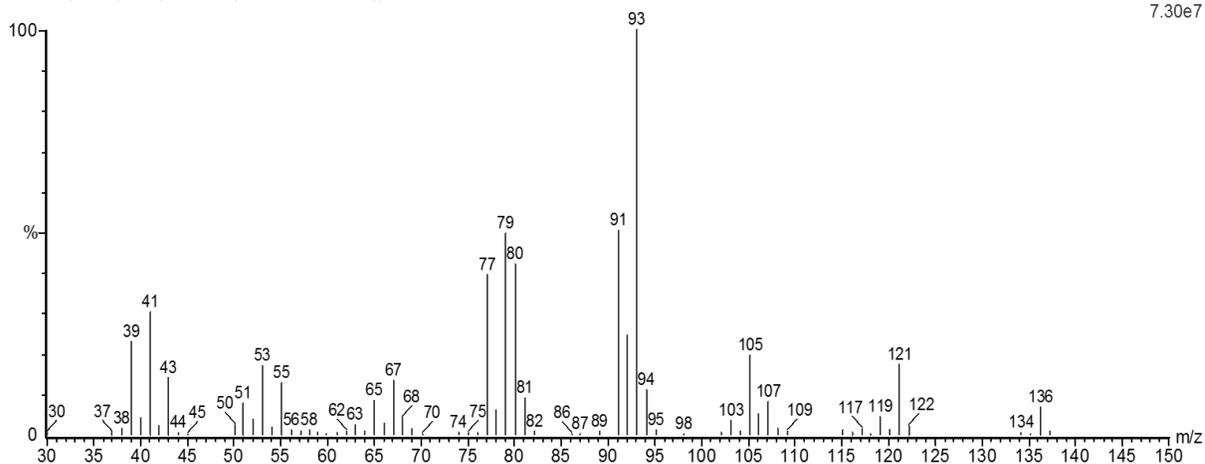


Espectro 3

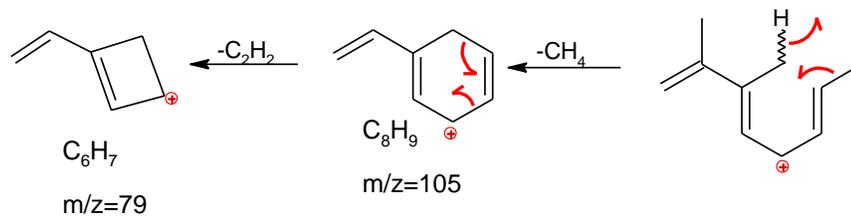
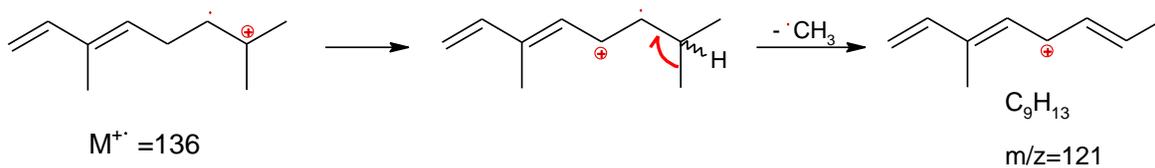
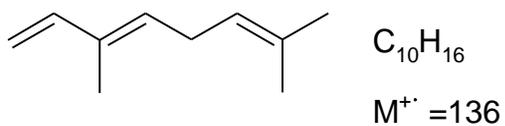
, 21-Nov-2013 + 14:51:28

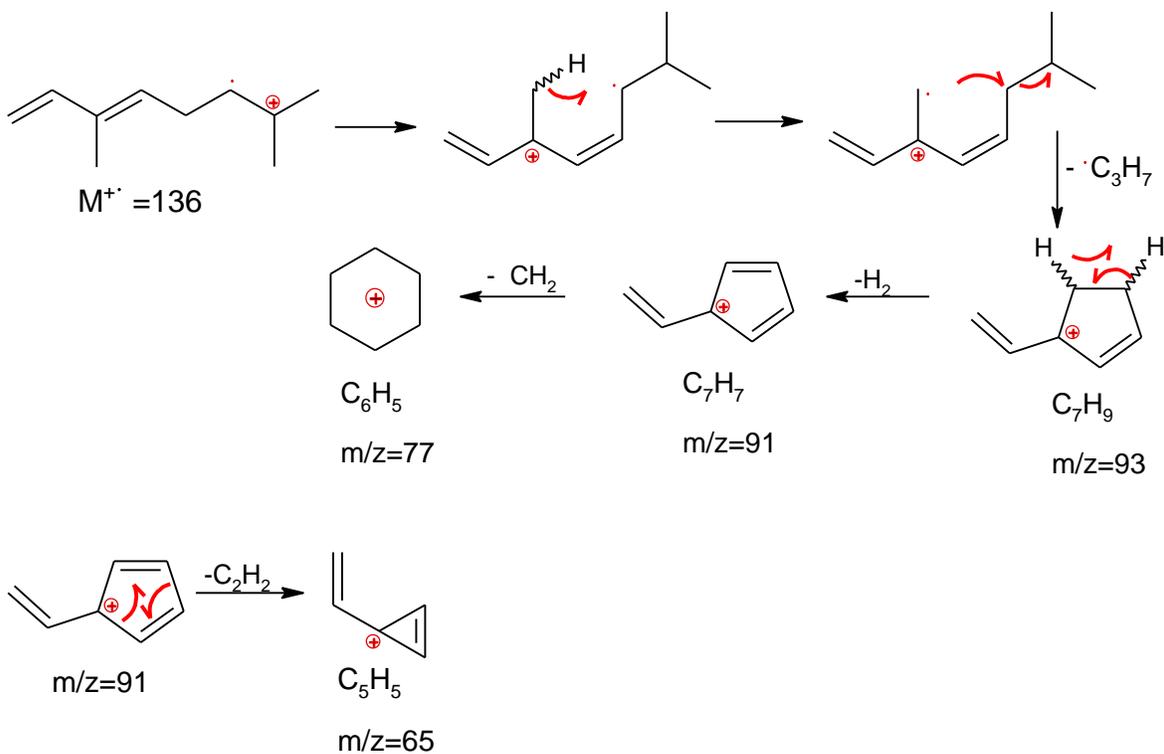
E 9 353 (7.884) Cm (352:355-(356:360+348:350))

Scan EI+
7.30e7



Compuesto 3: β -Ocimeno



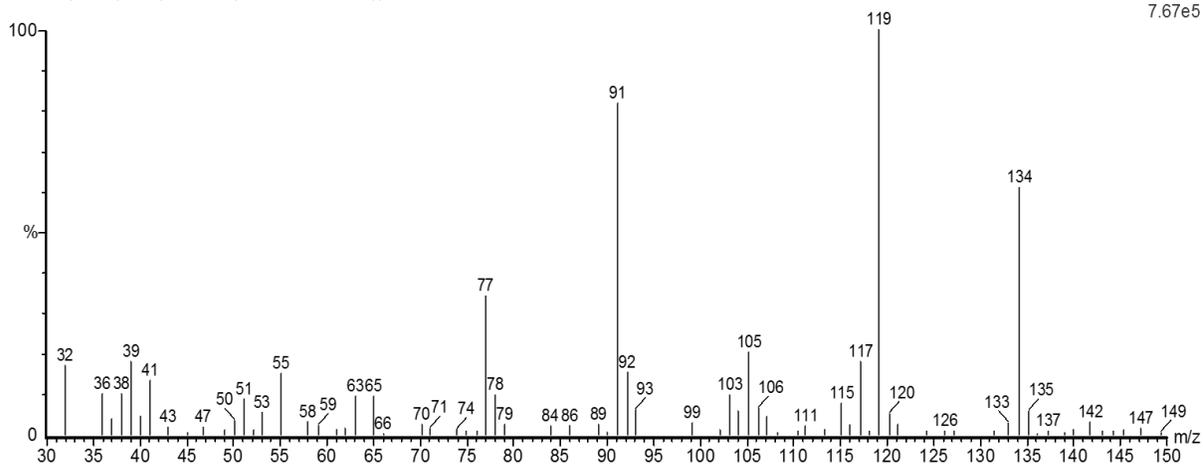


Espectro 4

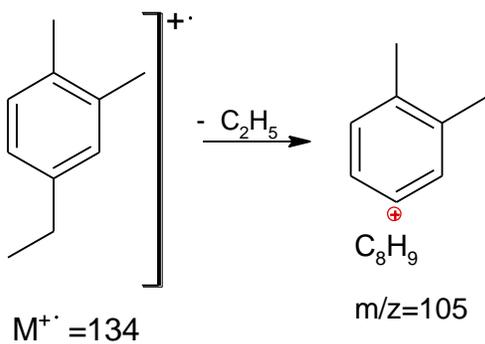
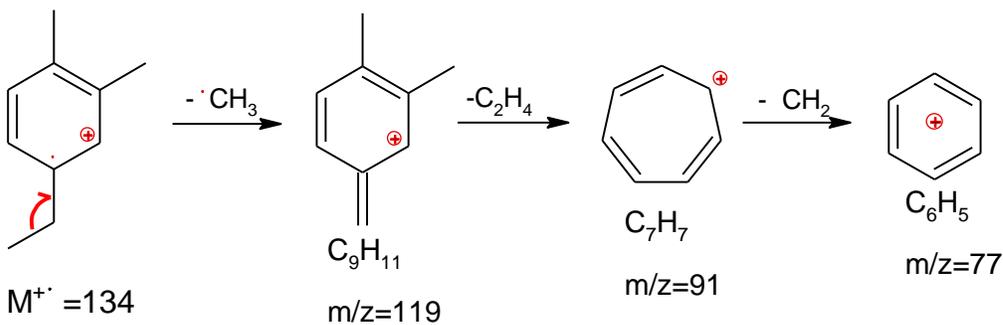
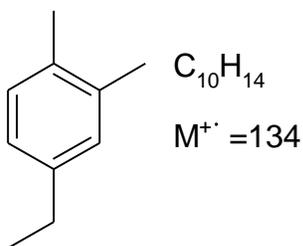
, 21-Nov-2013 + 14:51:28

E 9 412 (8.867) Cm (410:413-(414:417+407:409))

Scan EI+
7.67e5



Compuesto 4: 1,2-Dimetil-4-Etil Benceno

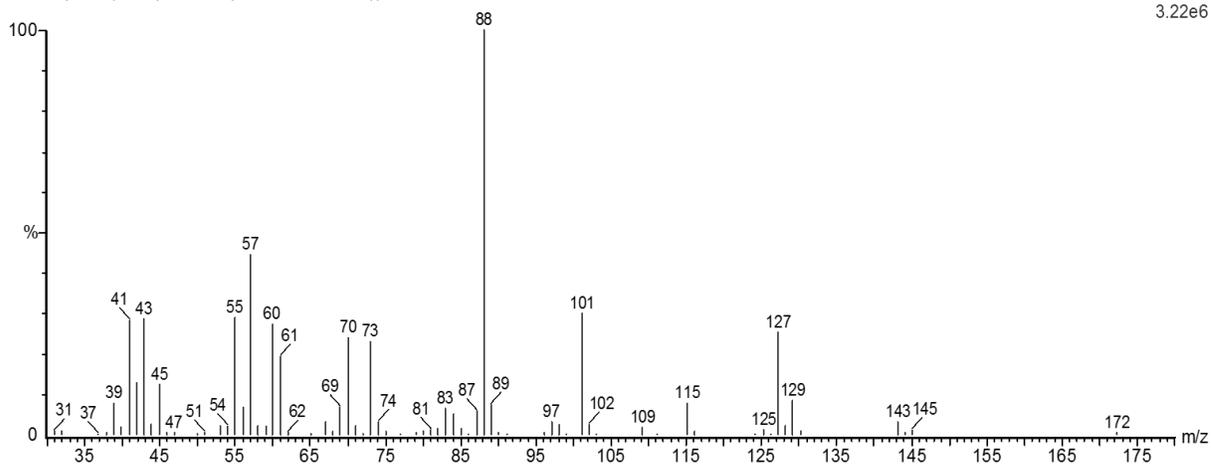


Espectro 5

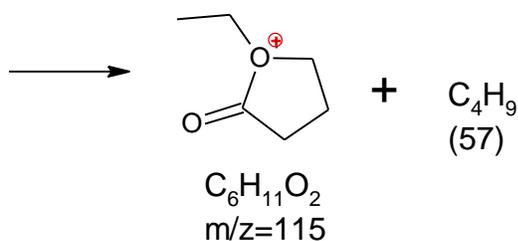
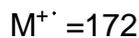
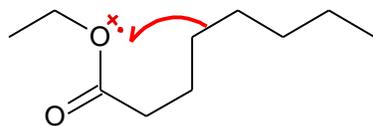
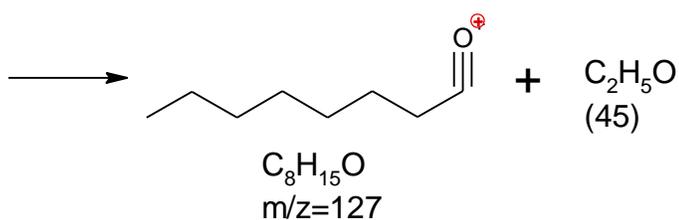
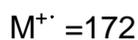
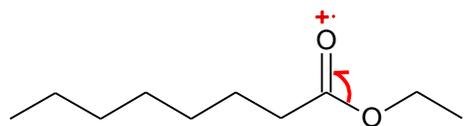
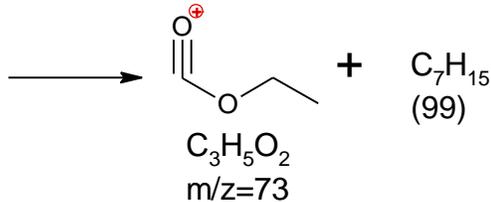
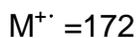
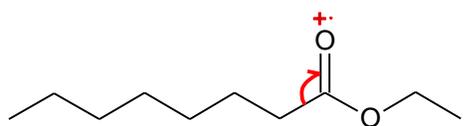
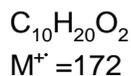
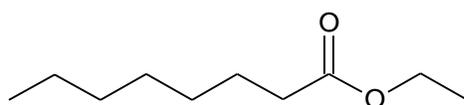
, 01-May-2013 + 07:21:25

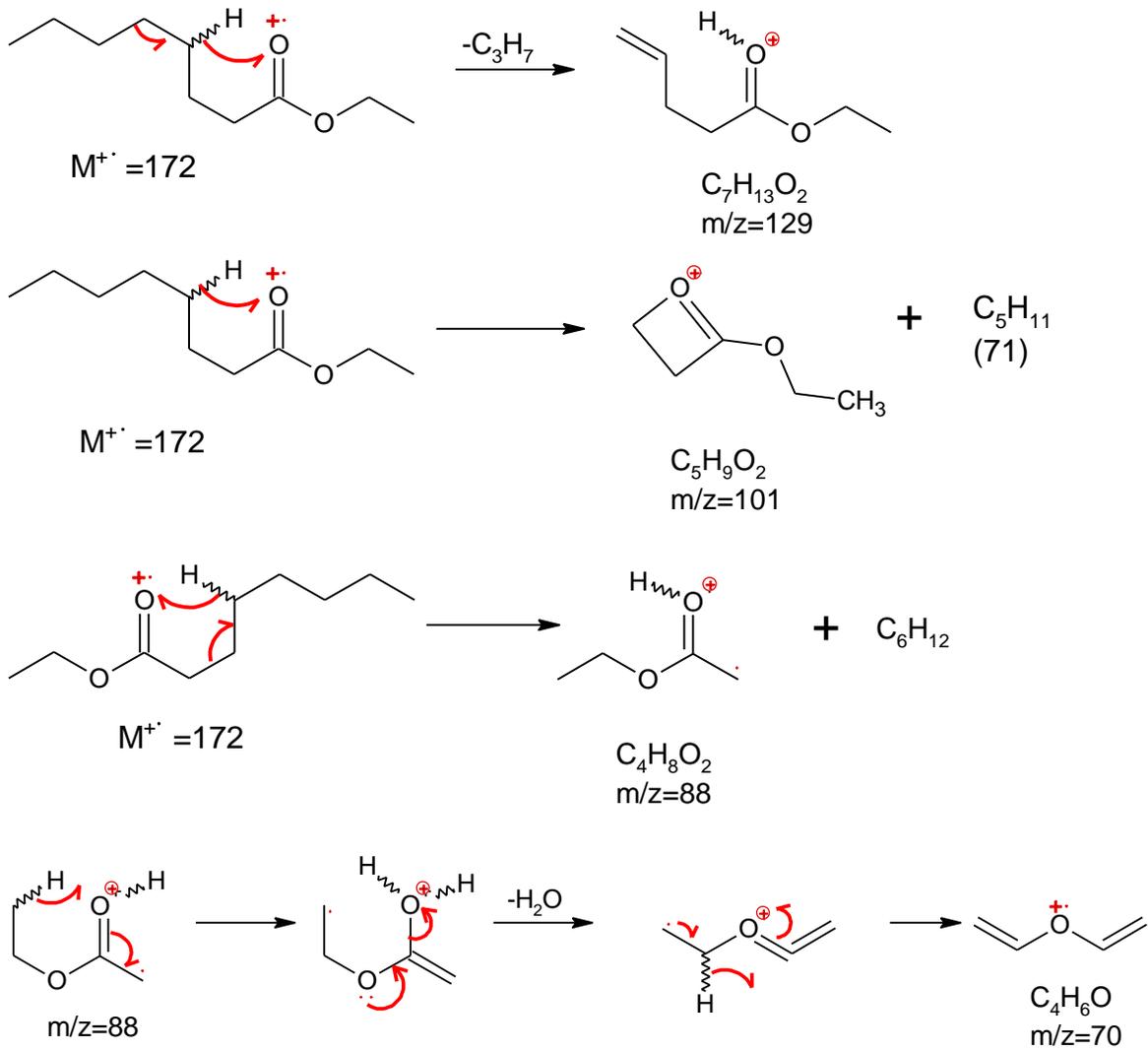
E2 499 (9.484) Cm (497:501-(503:507+492:496))

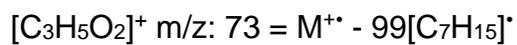
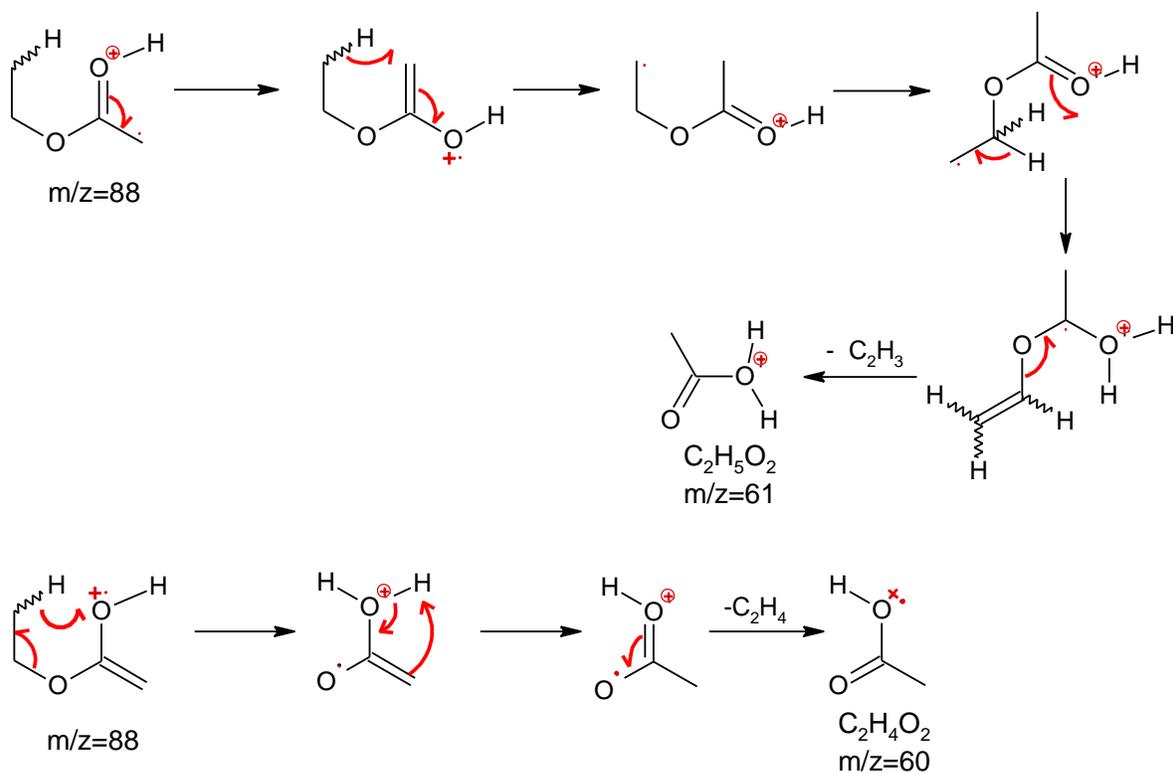
Scan EI+
3.22e6



Compuesto 5: Octanoato de Etilo







Serie de los alcanos (m/z): 43, 57, 71, 85, 99.

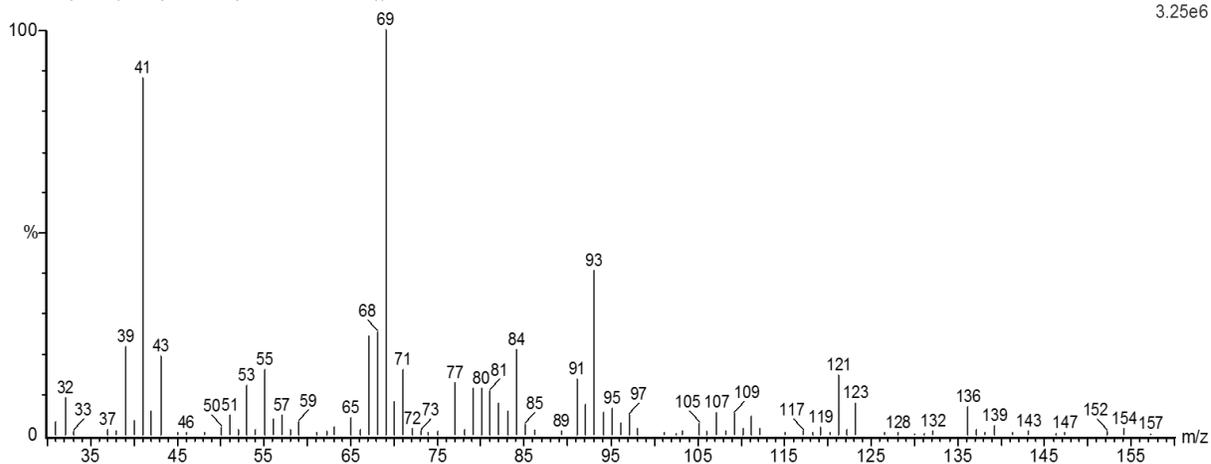
Serie de los alquenos (m/z): 41, 55, 69, 83, 97.

Espectro 6

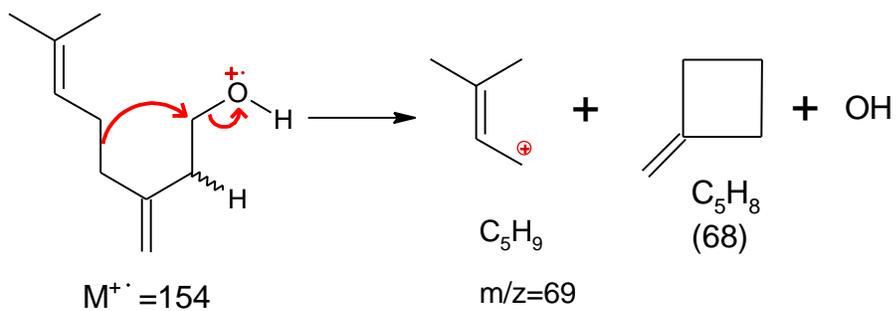
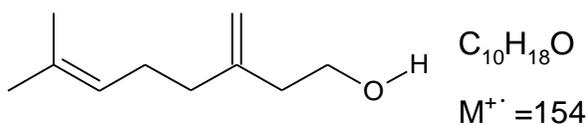
, 21-Nov-2013 + 14:51:28

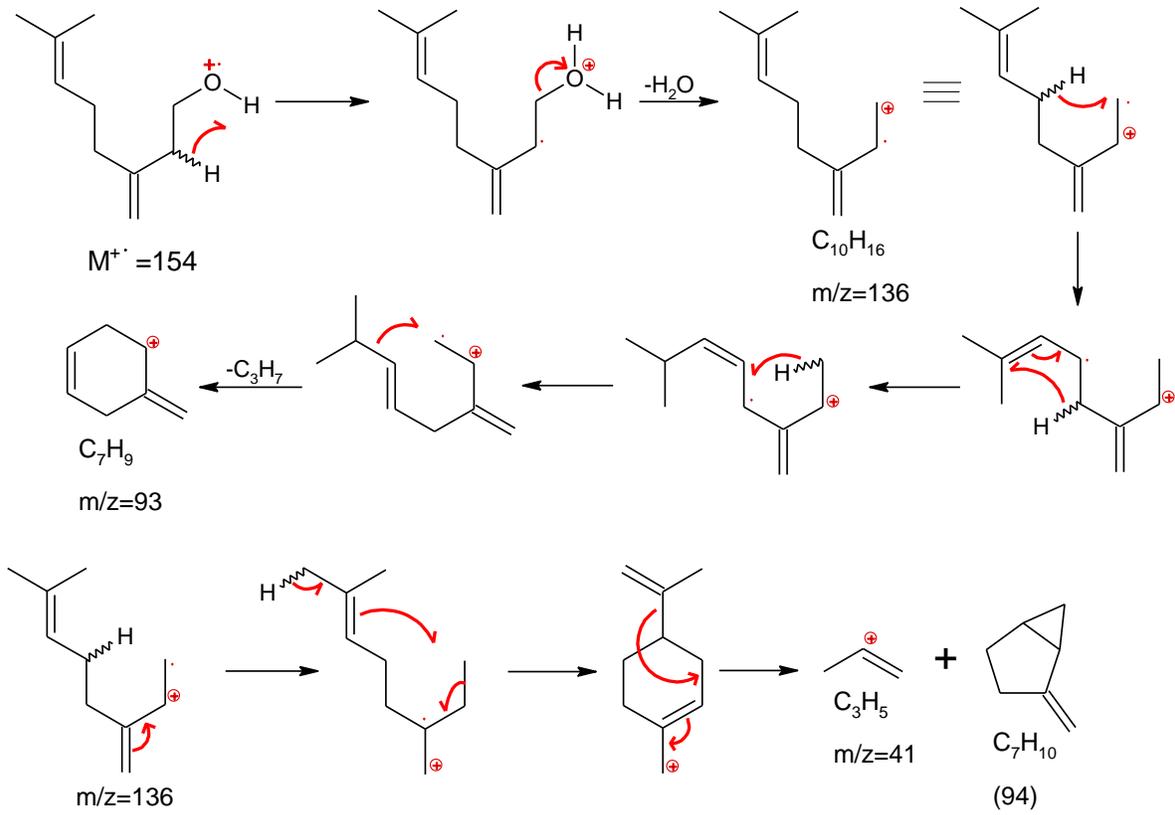
E 9 466 (9.768) Cm (464:468-(469:471+461:463))

Scan EI+
3.25e6



Compuesto 6: 3,7-Dimetil-2,6-Octadienol



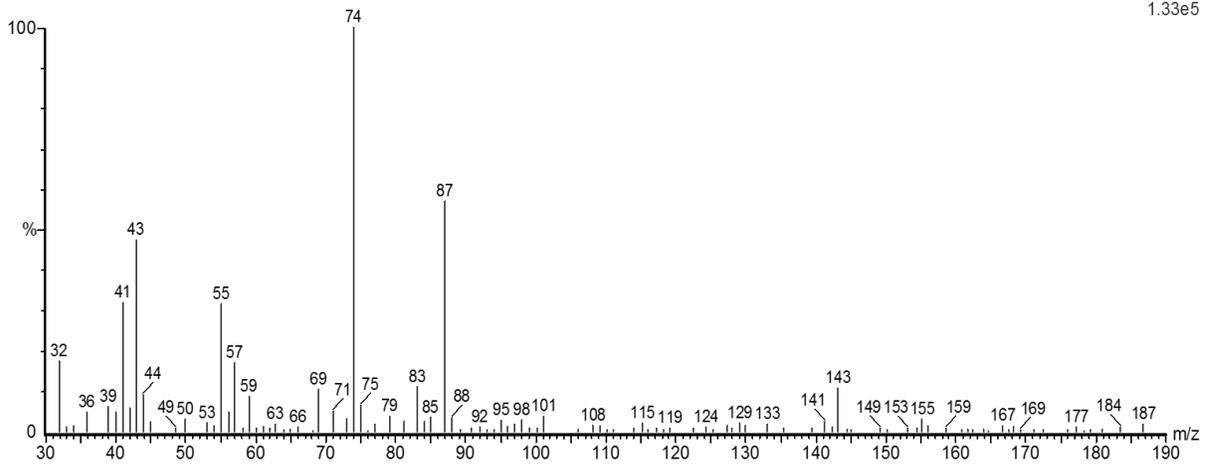


Espectro 7

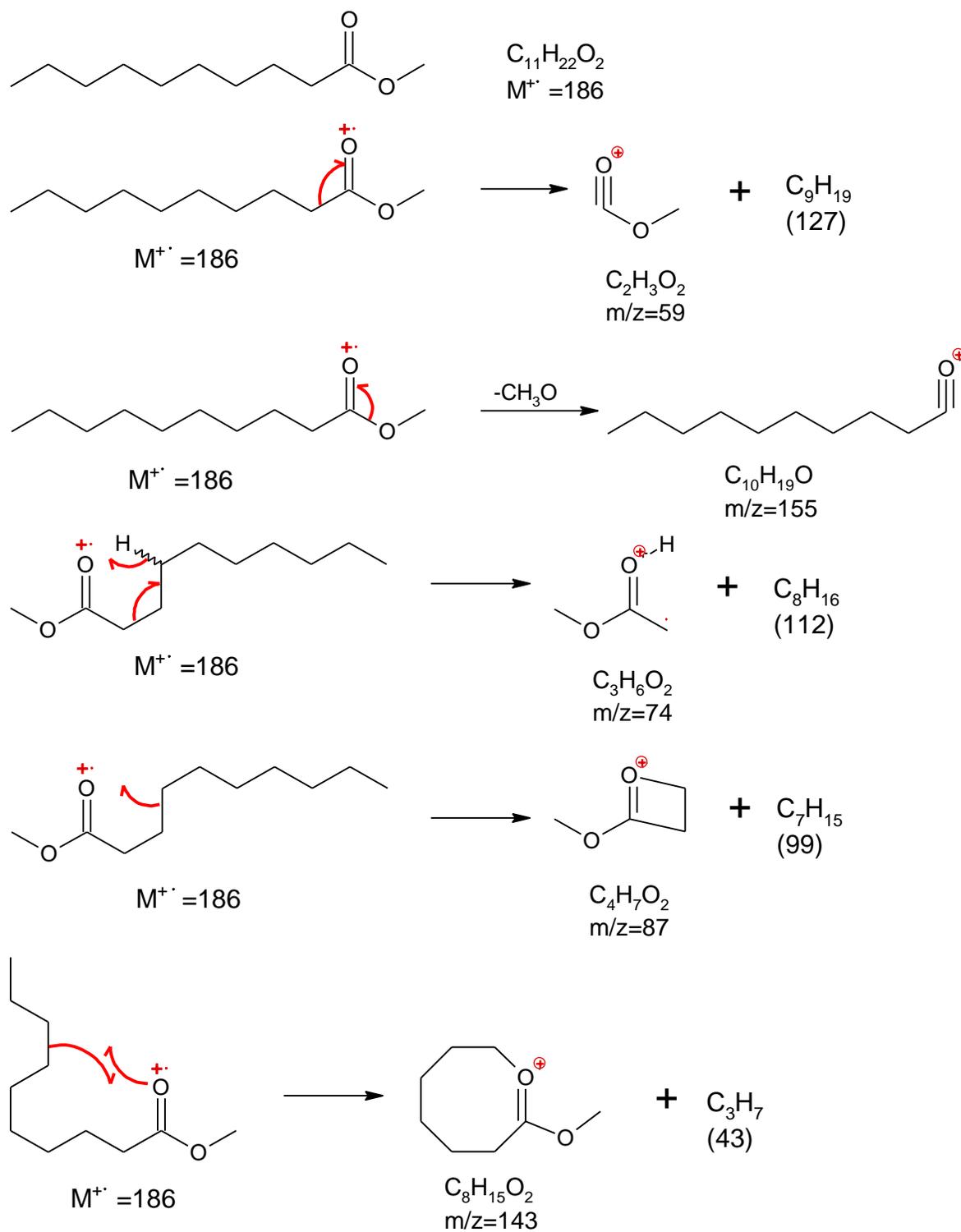
E2 567 (10.505) Cm (566:569-(570:573+562:565))

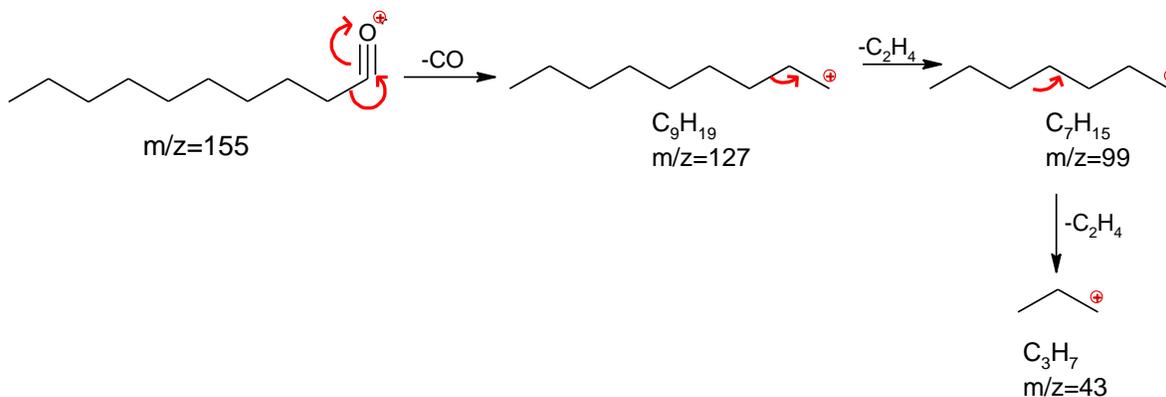
, 01-May-2013 + 07:21:25

Scan EI+
1.33e5

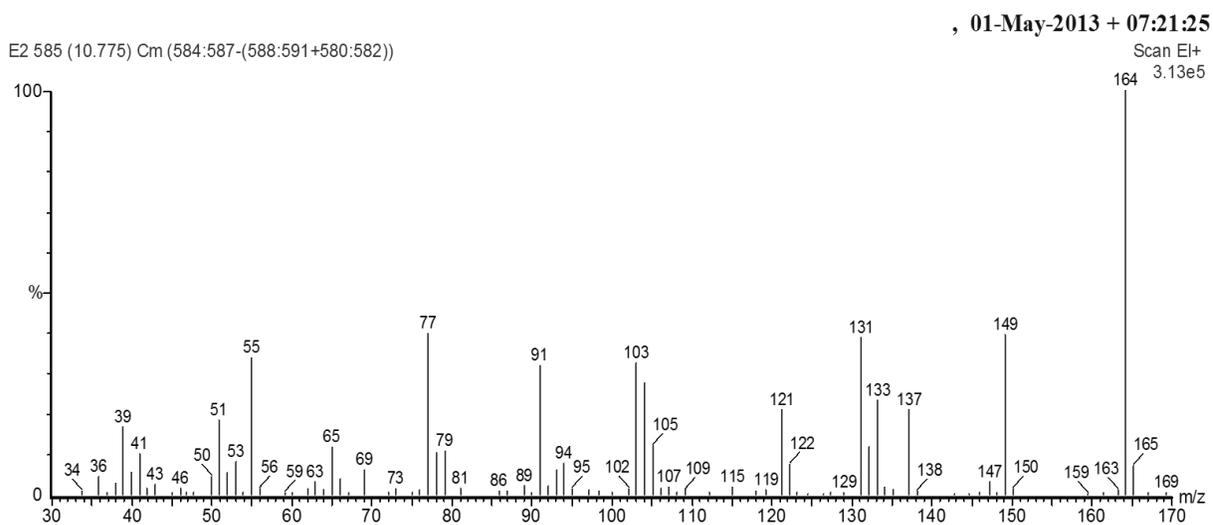


Compuesto 7: Decanoato de metilo

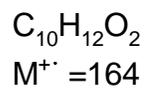
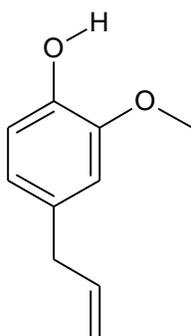


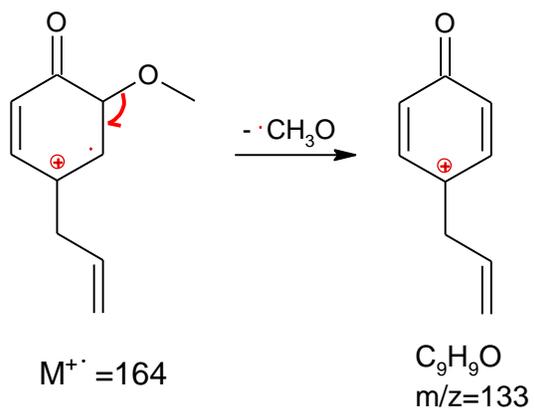
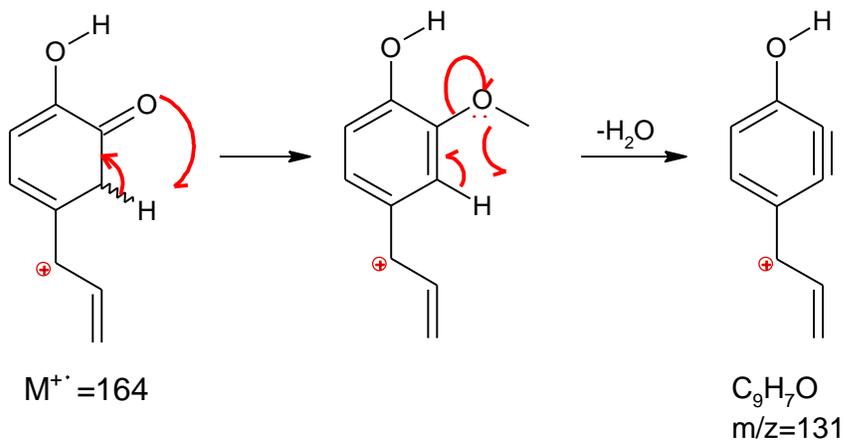
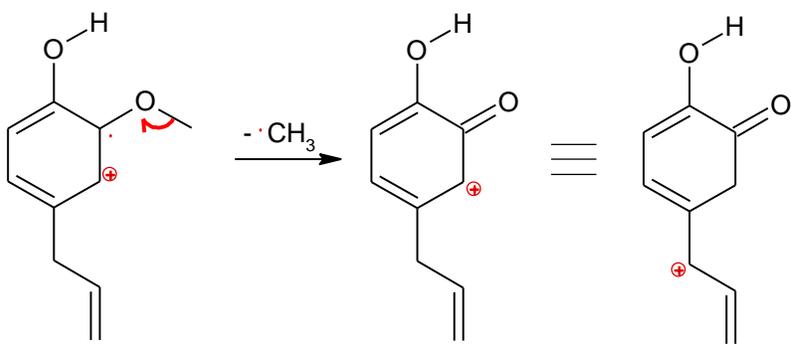


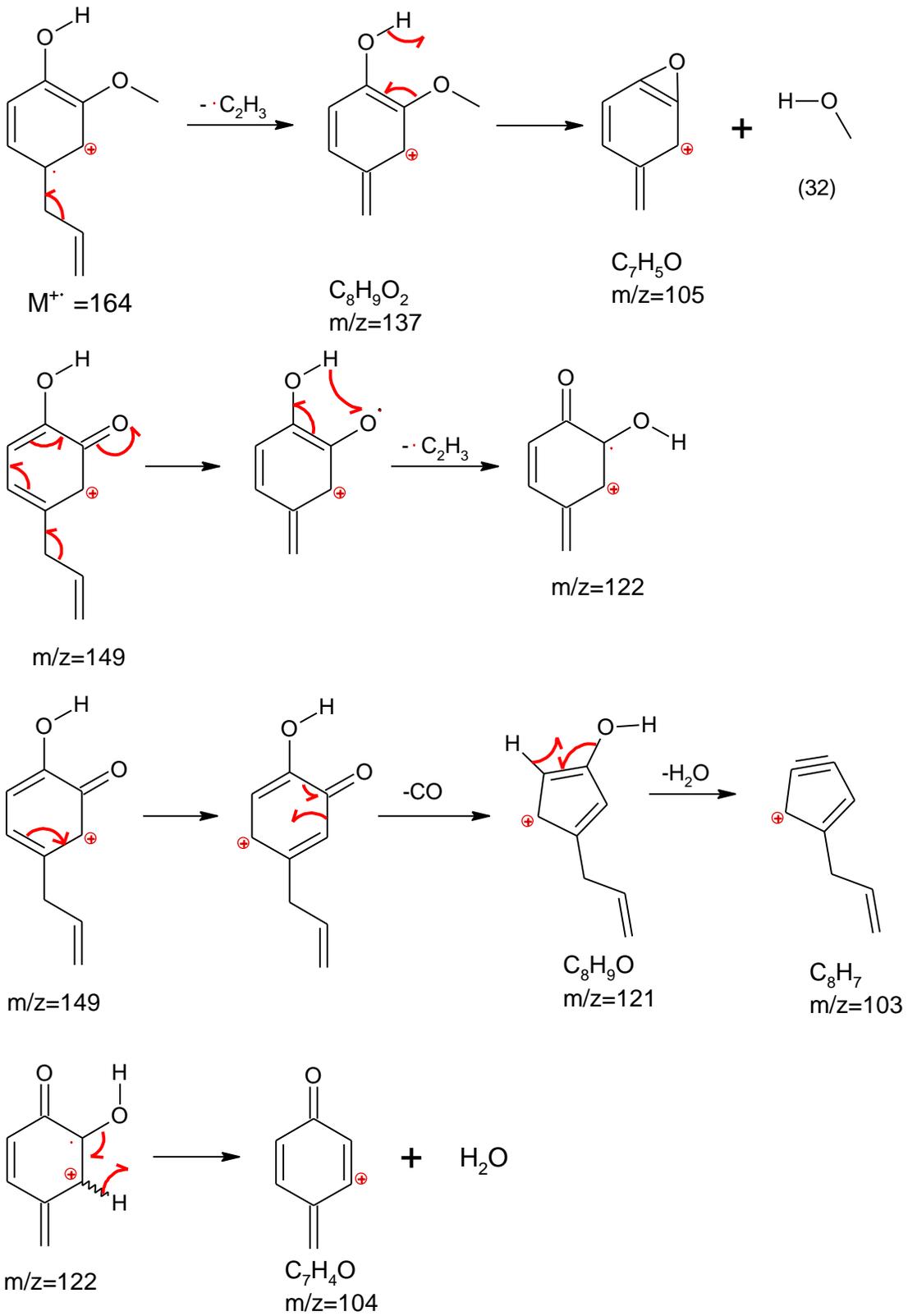
Espectro 8

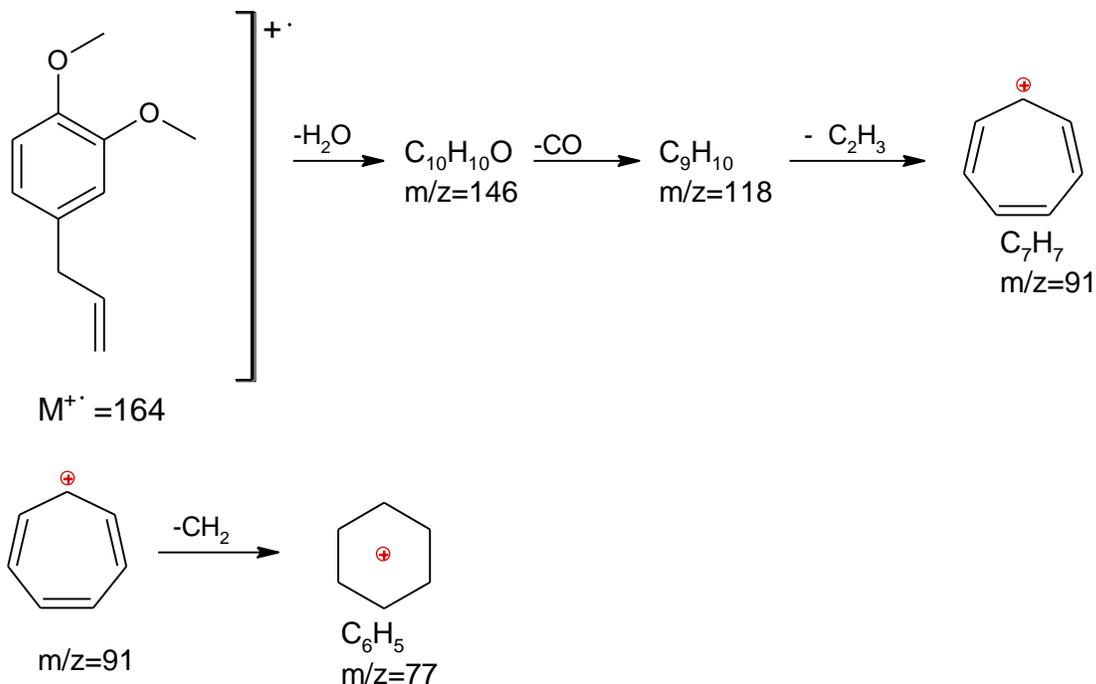


Compuesto 8: Eugenol







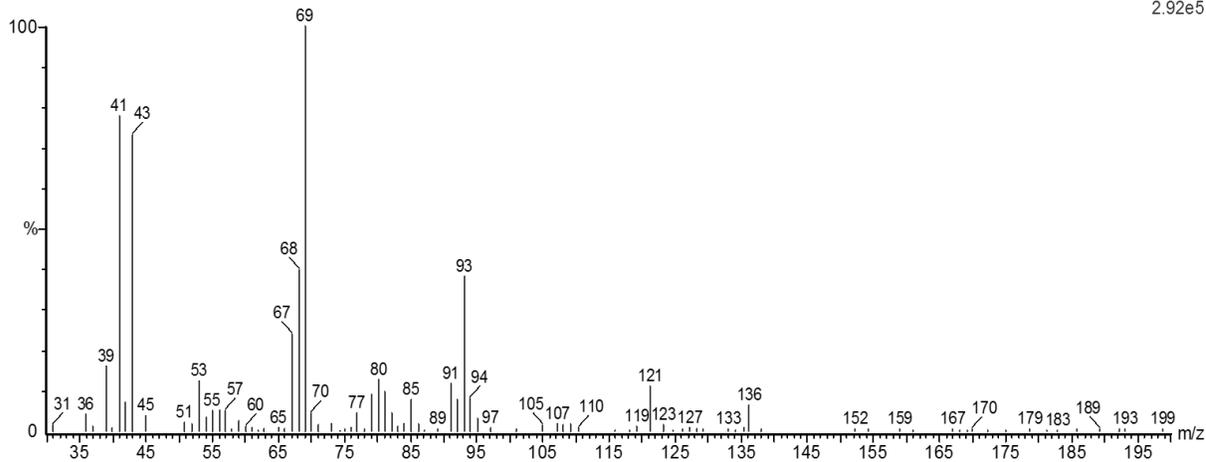


Espectro 9

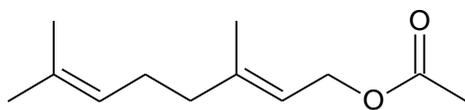
E2 593 (10.895) Cm (592:595-(596:599+588:591))

, 01-May-2013 + 07:21:25

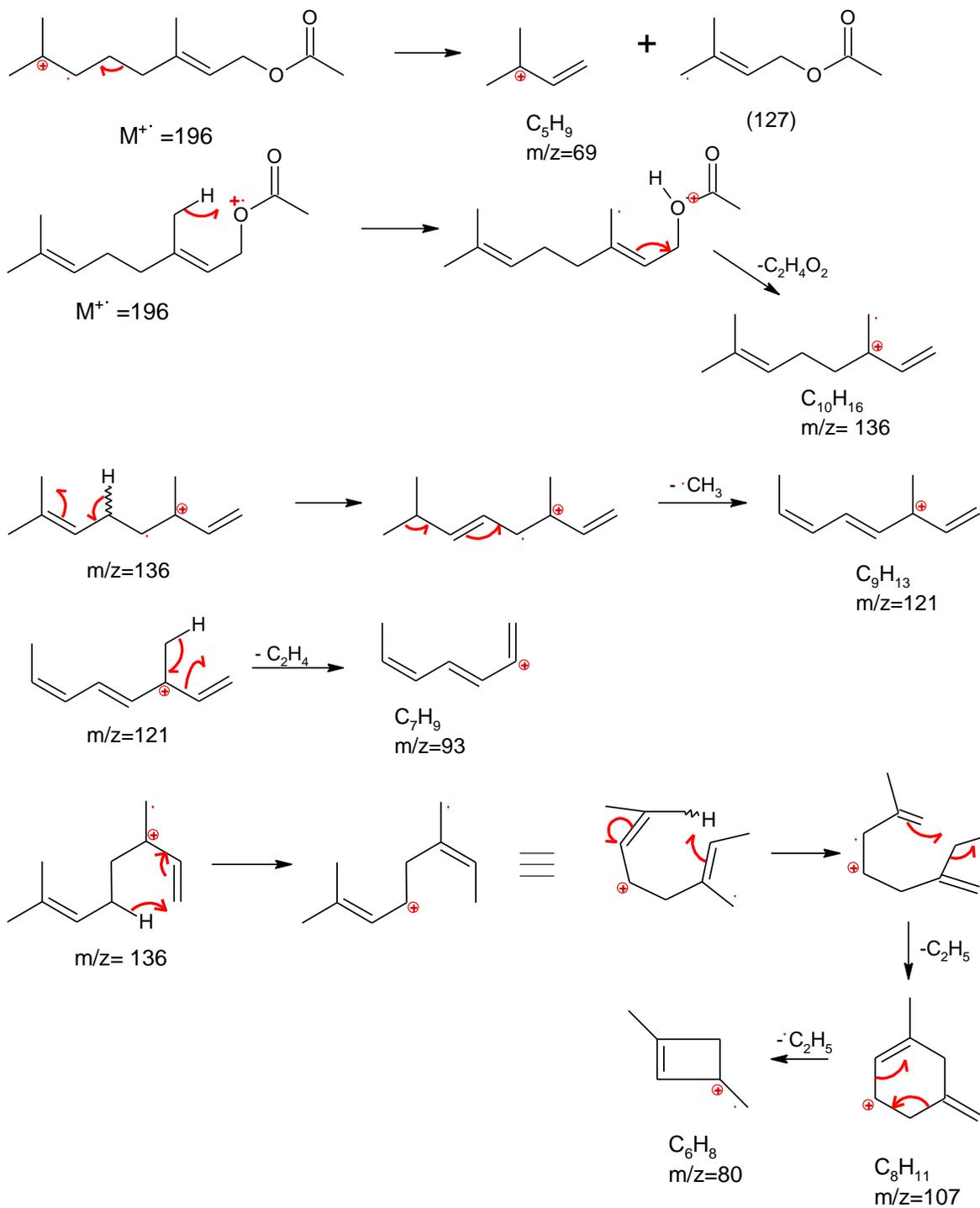
Scan El+
2.92e5

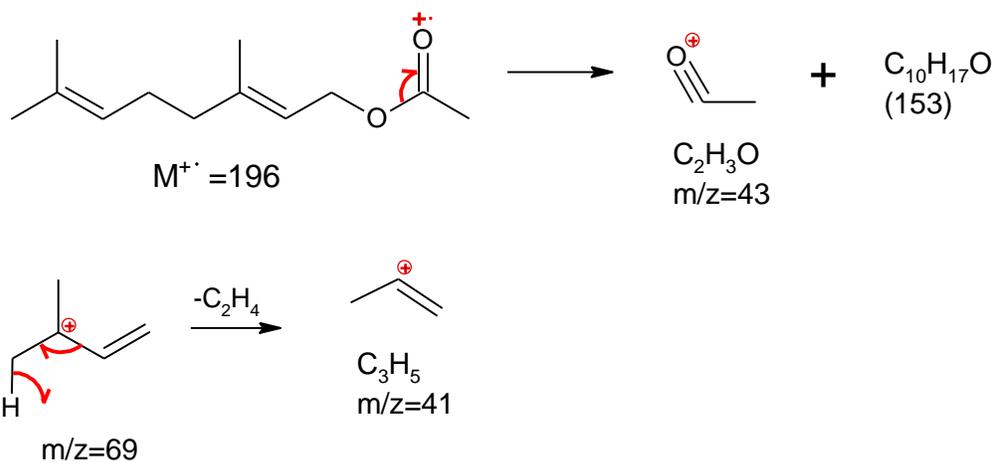


Compuesto 9: Acetato de Geranilo



$C_{12}H_{20}O_2$
 $M^{+\cdot} = 196$



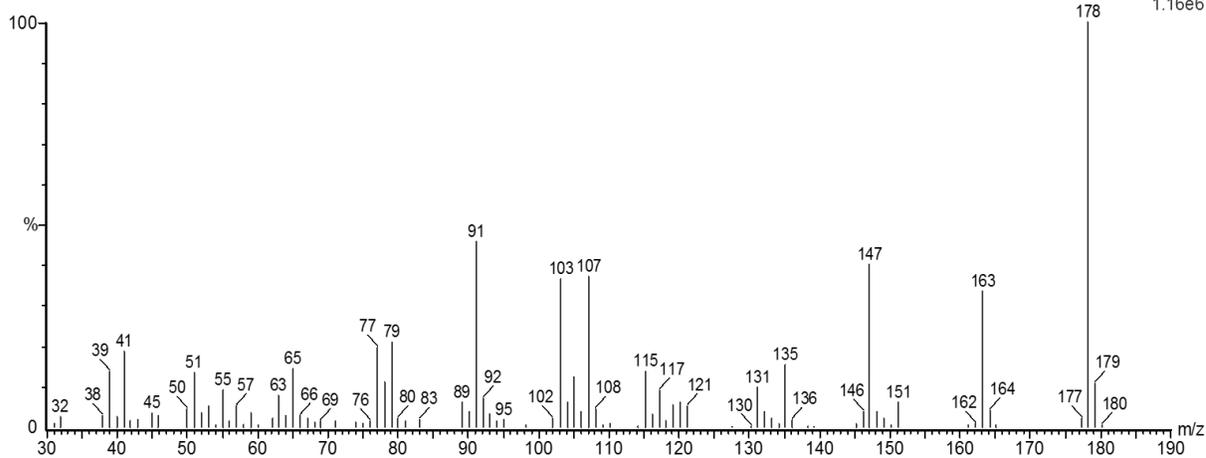


Espectro 10

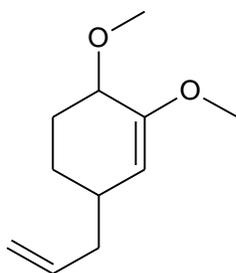
E1 605 (11.075) Cm (603:606-(607:611+599:602))

, 01-May-2013 + 06:51:27

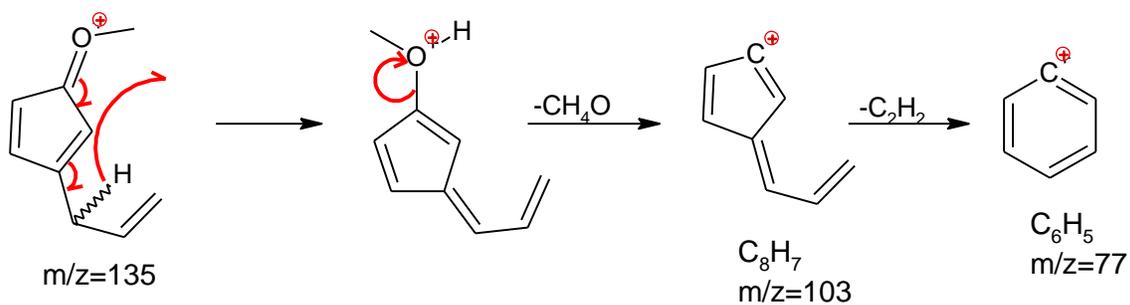
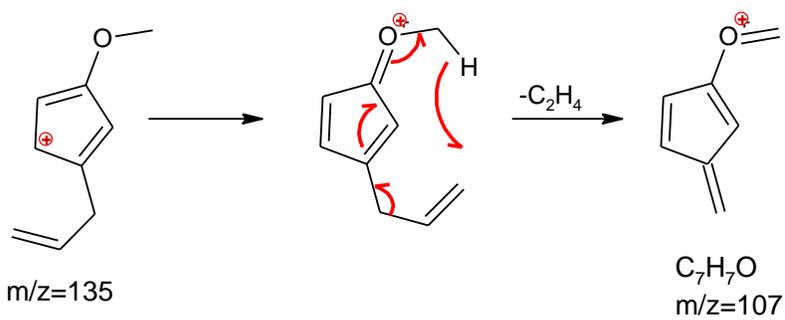
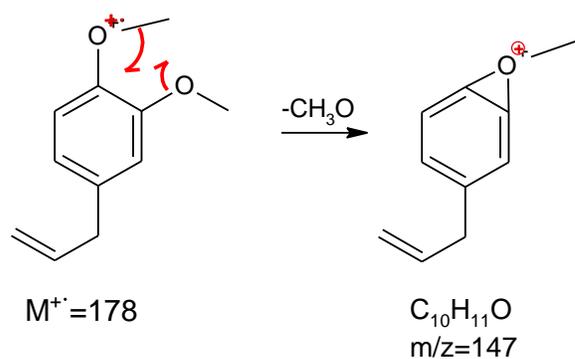
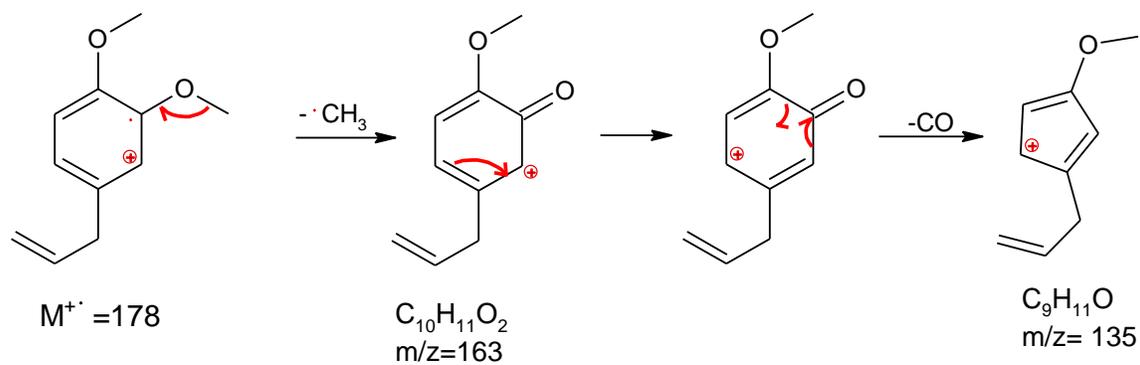
Scan EI+
1.16e6

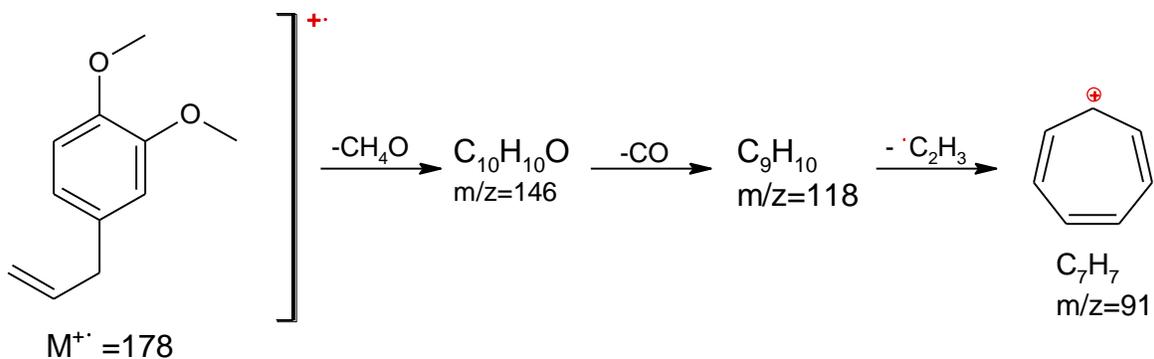


Compuesto 10: Éter Metílico de Eugenol



$C_{11}H_{14}O_2$
 $M^+ = 178$



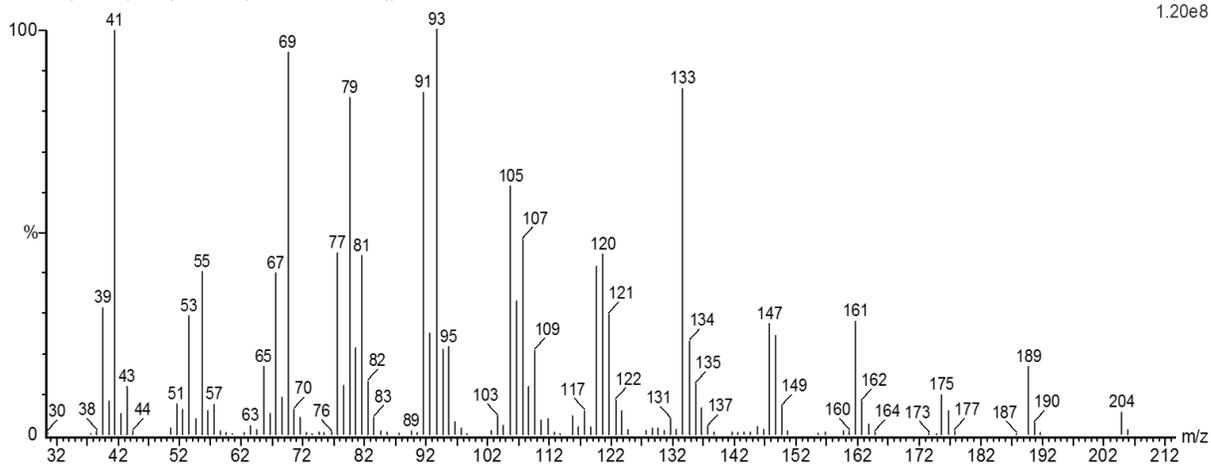


Espectro 11

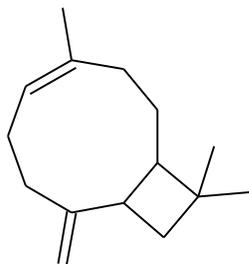
, 21-Nov-2013 + 14:51:28

E 9 558 (11.301) Cm (557:560-(561:563+554:556))

Scan EI+
1.20e8

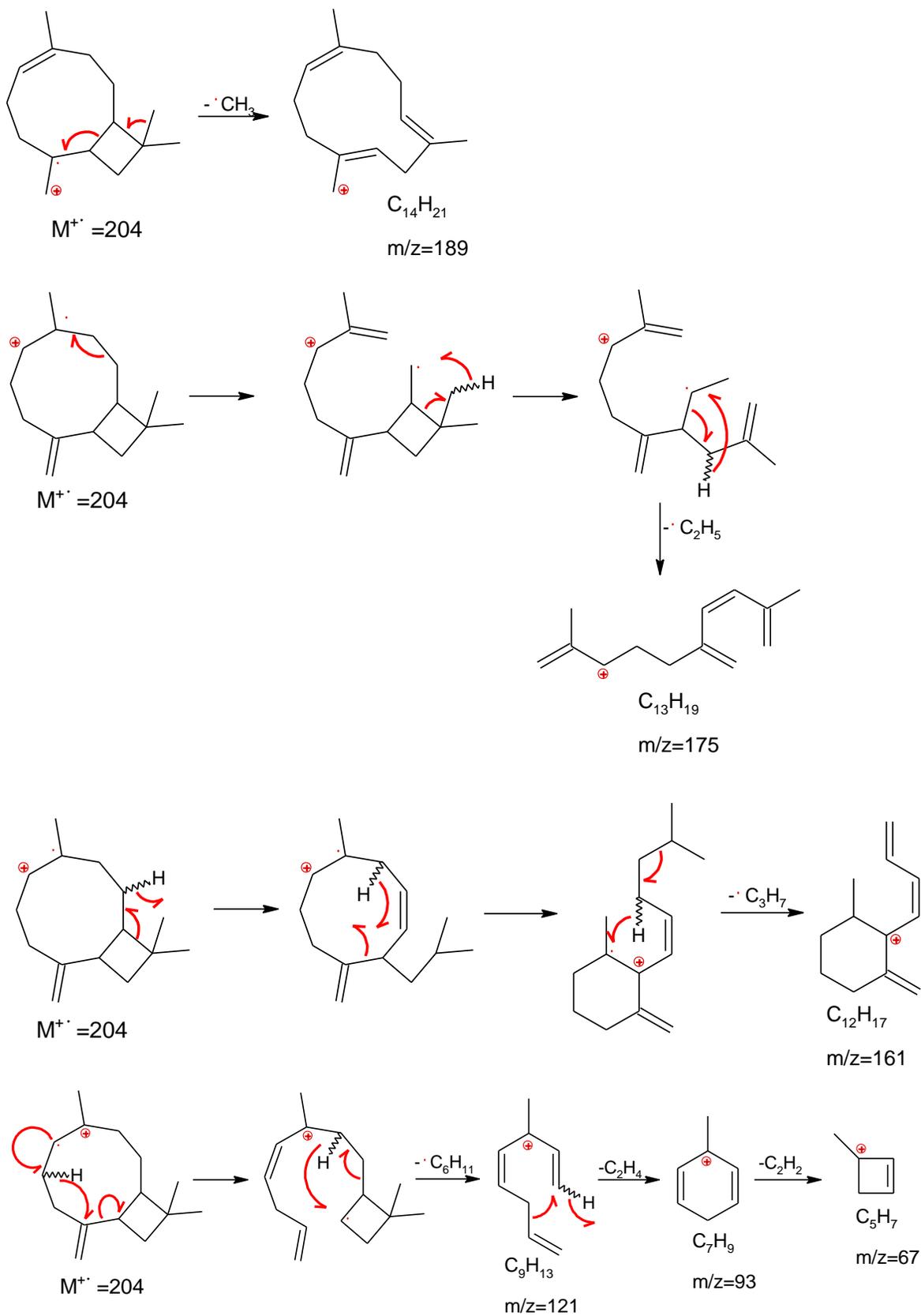


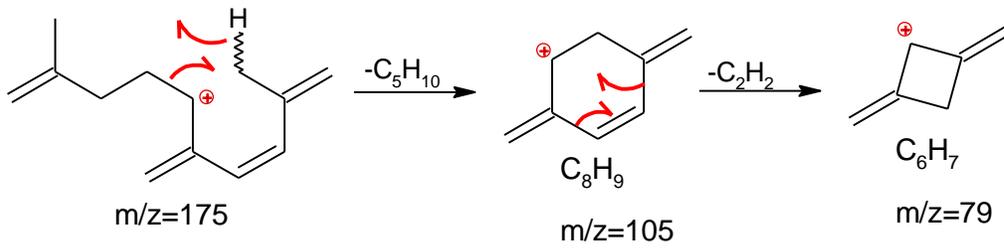
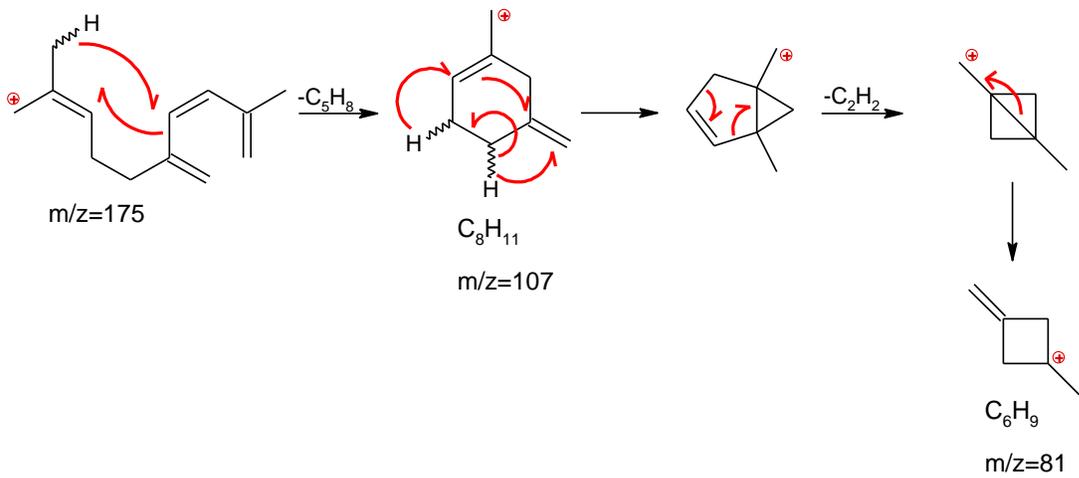
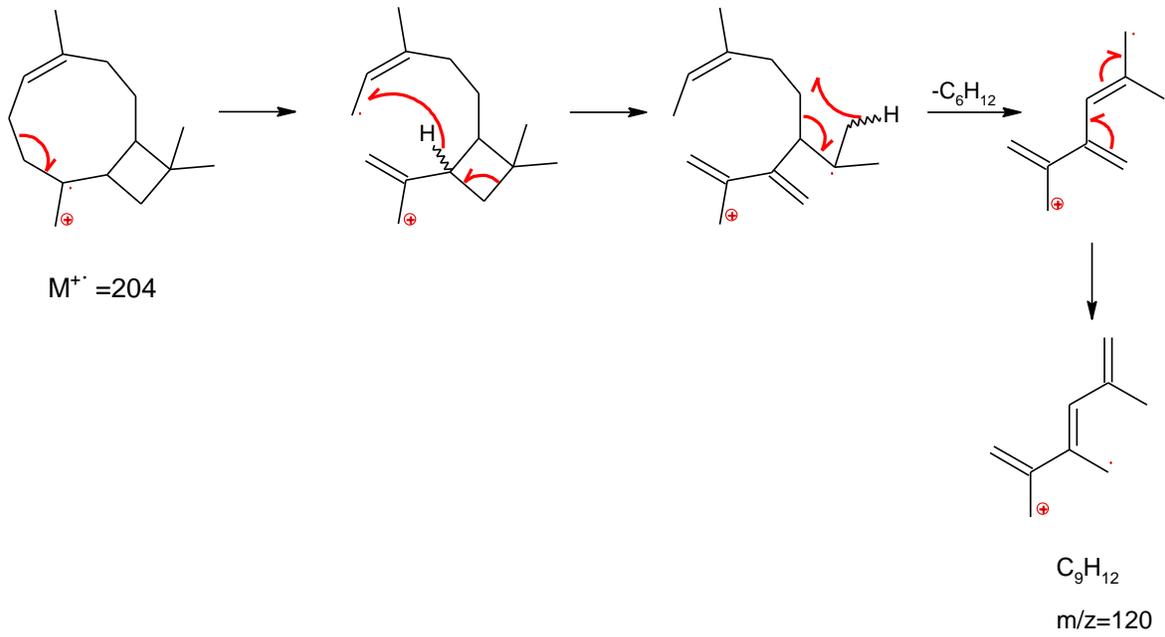
Compuesto 11: Cariofileno

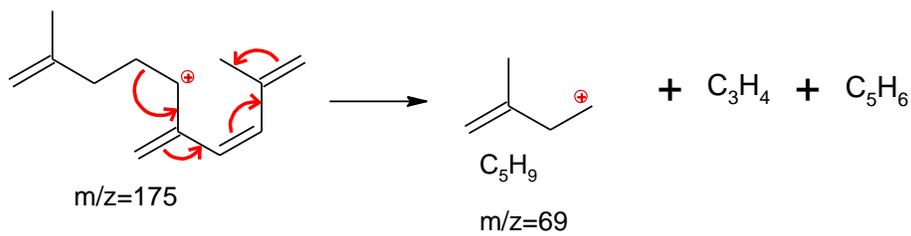
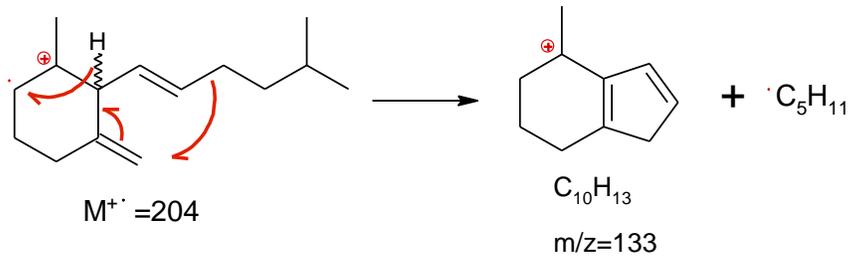
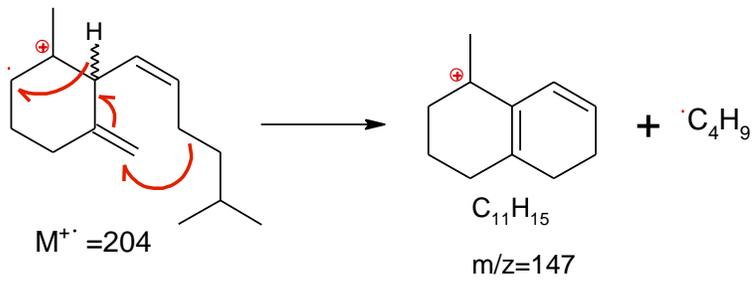
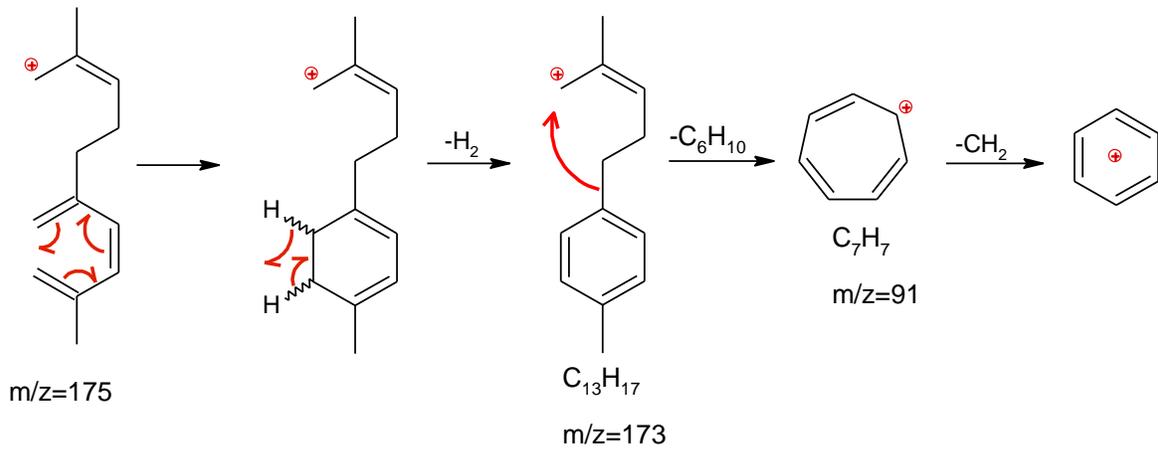


$C_{15}H_{24}$

$M^{+} = 204$





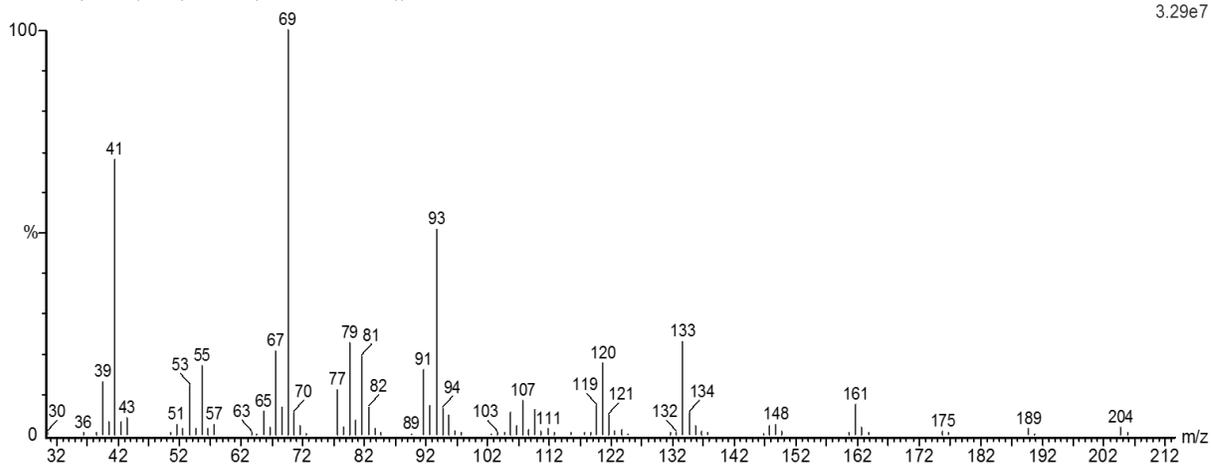


Espectro 12

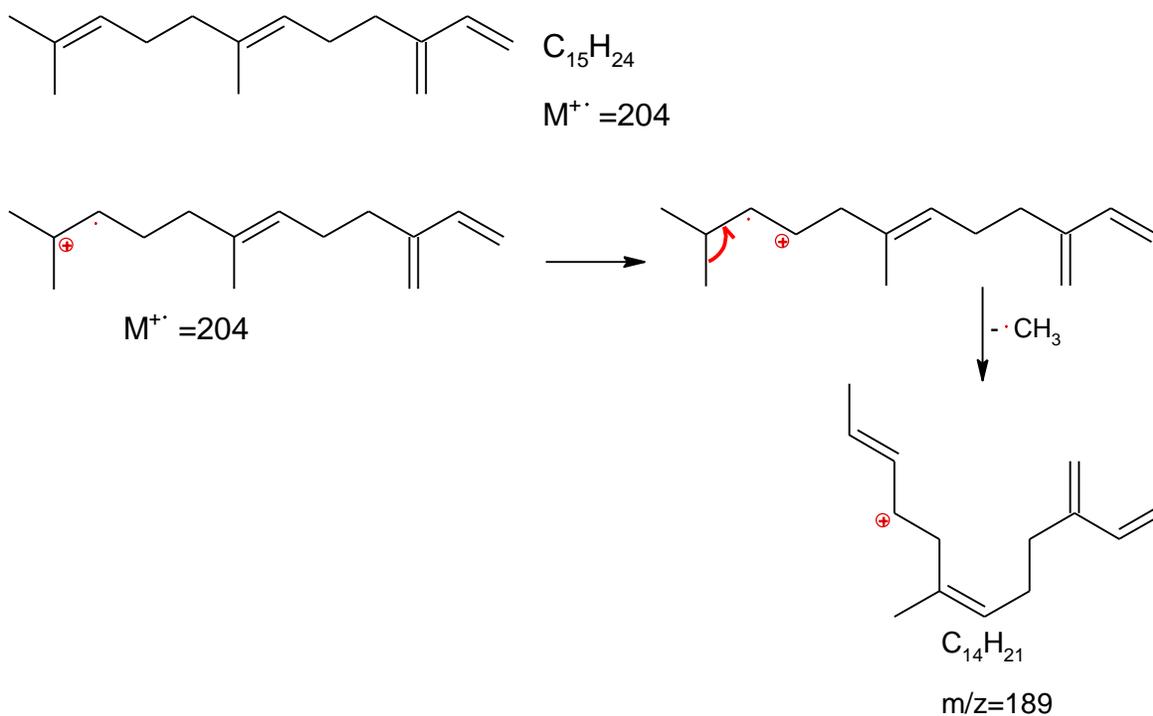
, 21-Nov-2013 + 15:23:34

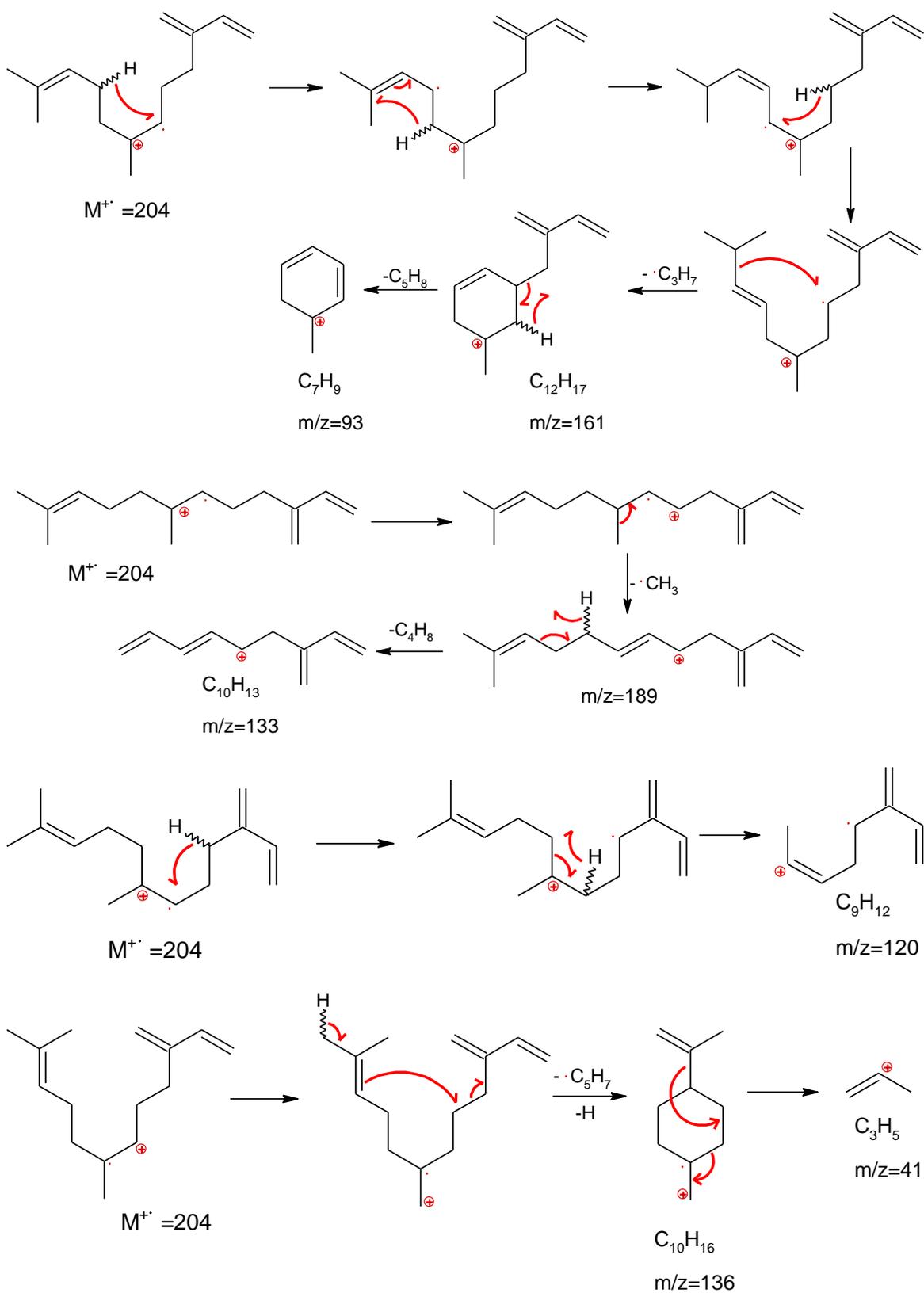
E 10 565 (11.419) Cm (564:566-(567:568+562:563))

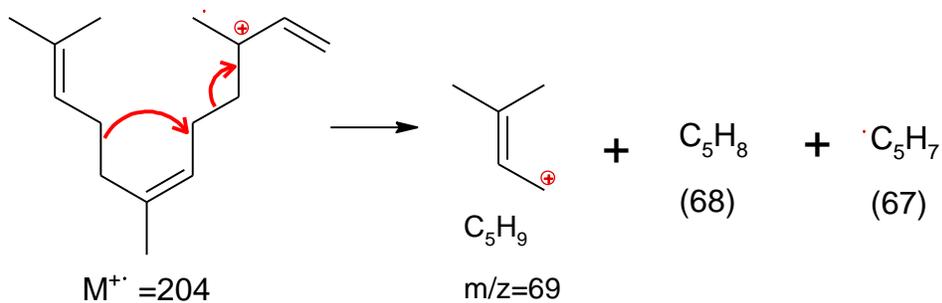
Scan EI+
3.29e7



Compuesto 12: 7,11-Dimetil-3-Metilen-1,6,10-Dodecatrieno





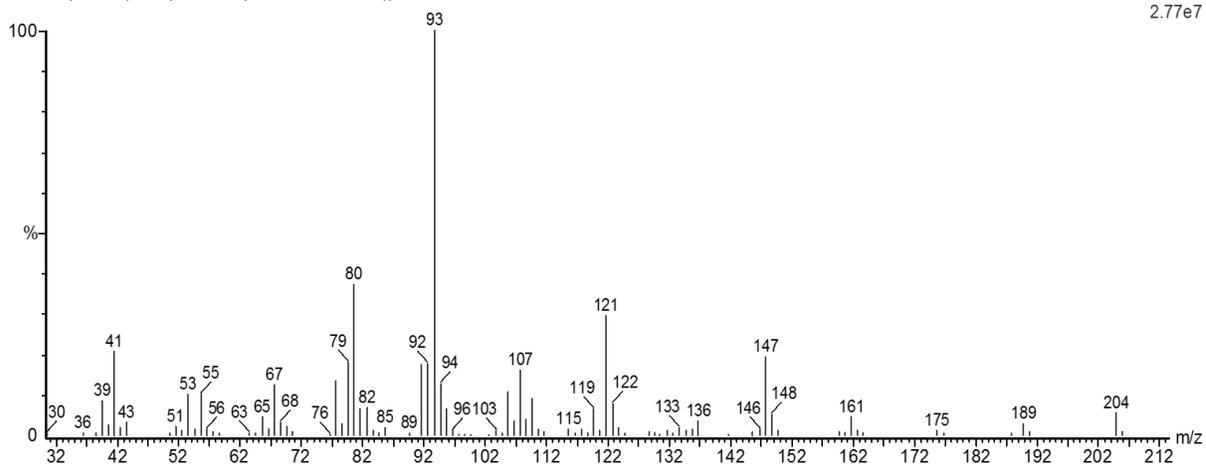


Espectro 13

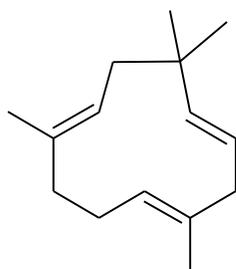
E 9 573 (11.552) Cm (571:574-(575:577+568:570))

, 21-Nov-2013 + 14:51:28

Scan EH+
2.77e7

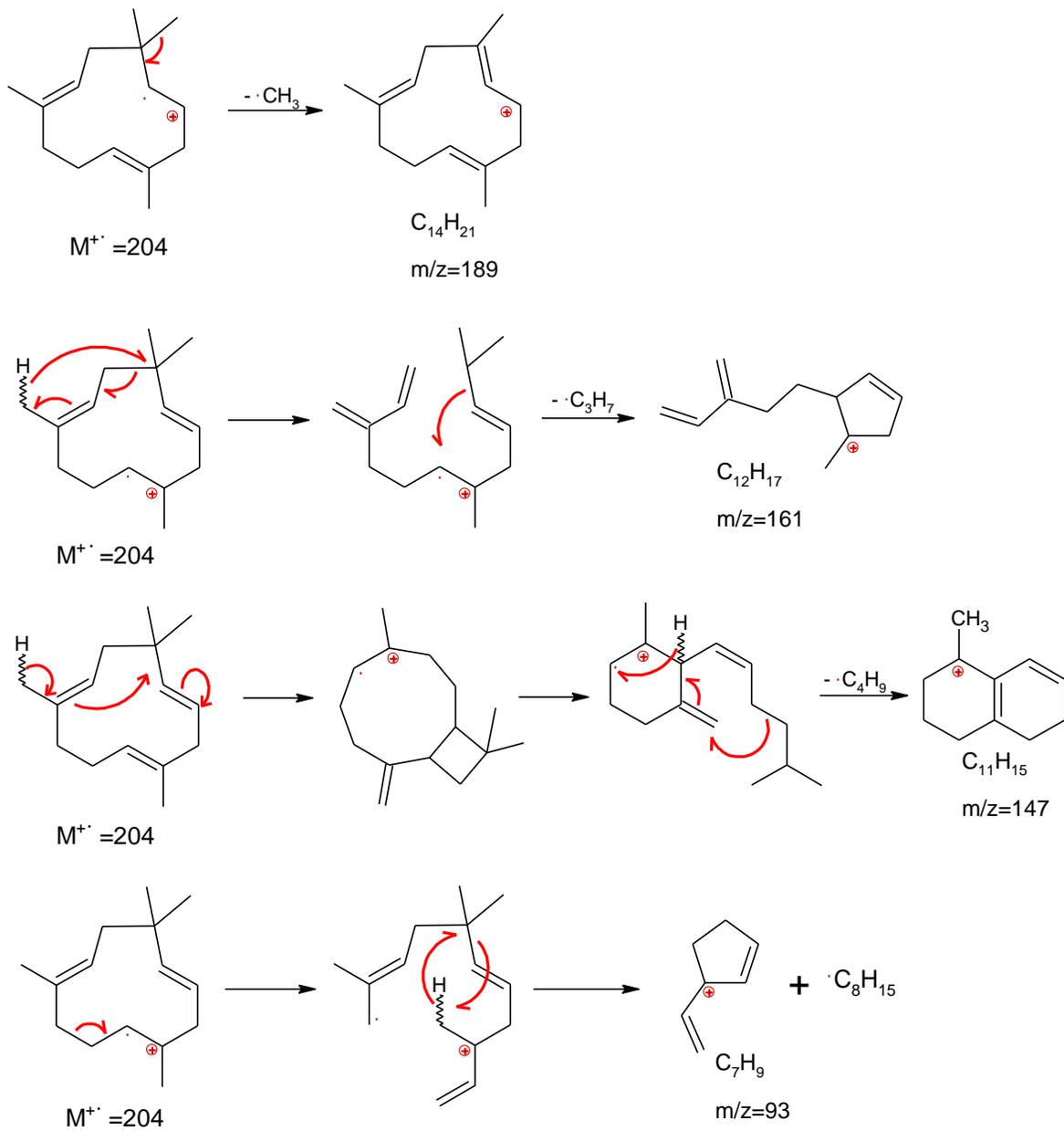


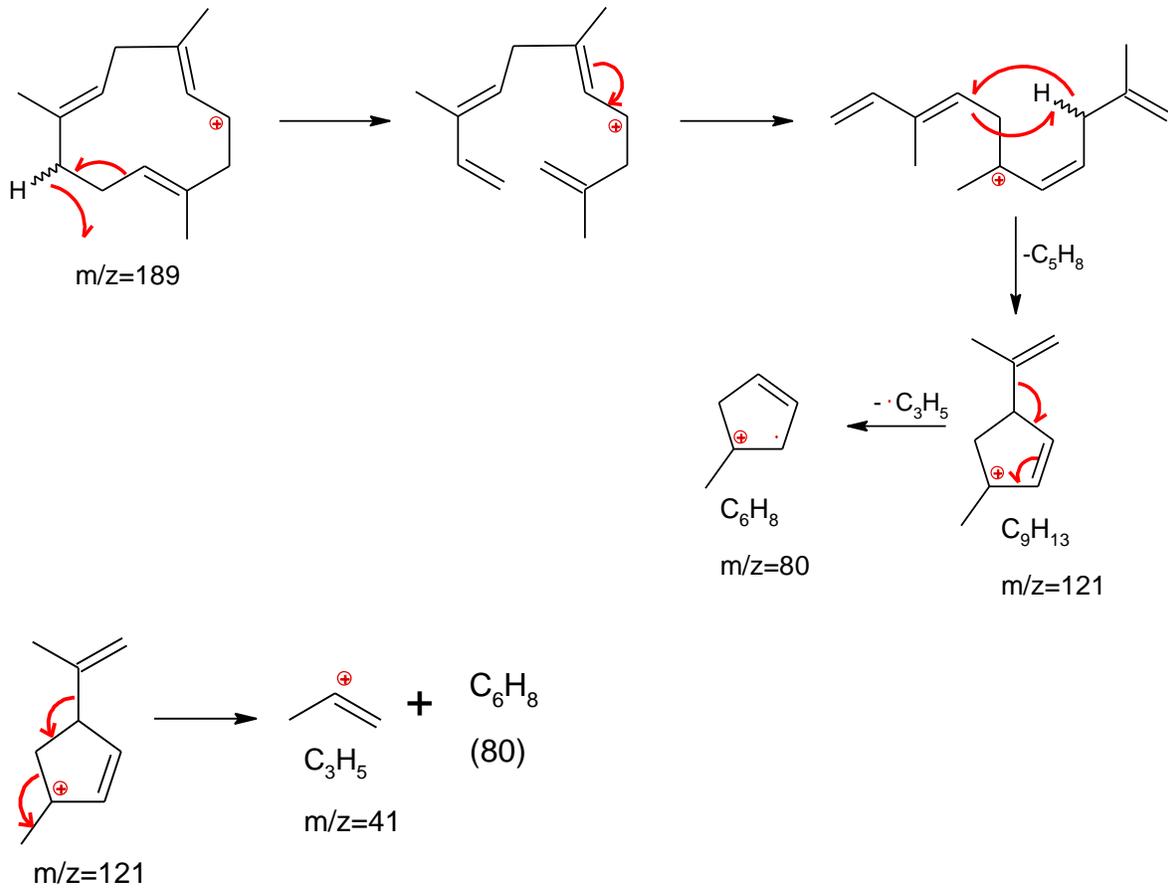
Compuesto 13: α -Cariofileno



$C_{15}H_{24}$

$M^+ = 204$



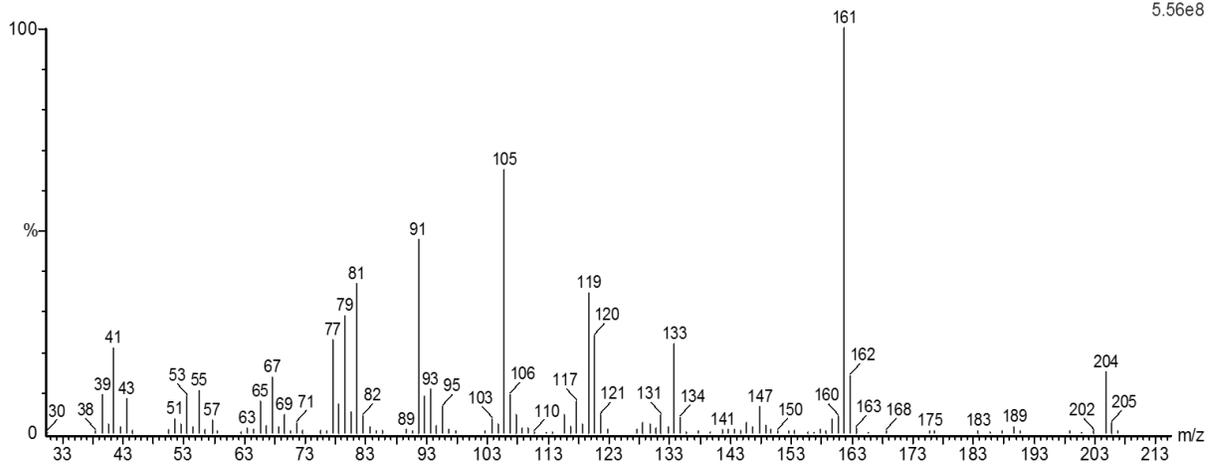


Espectro 14

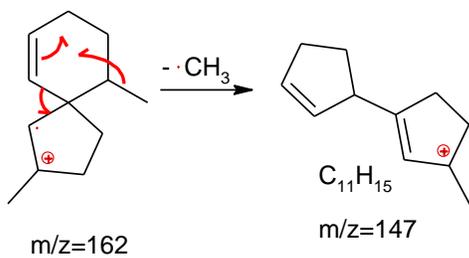
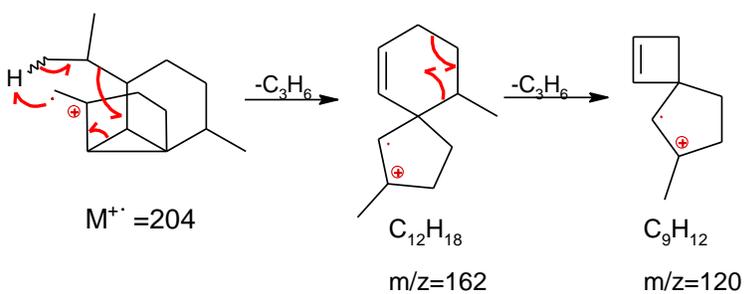
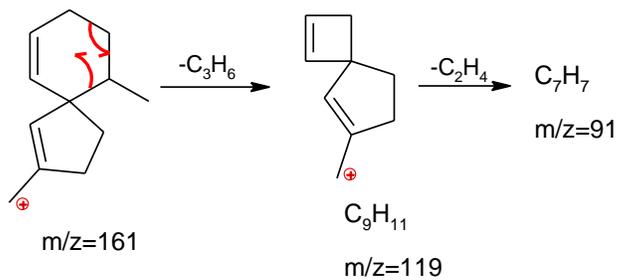
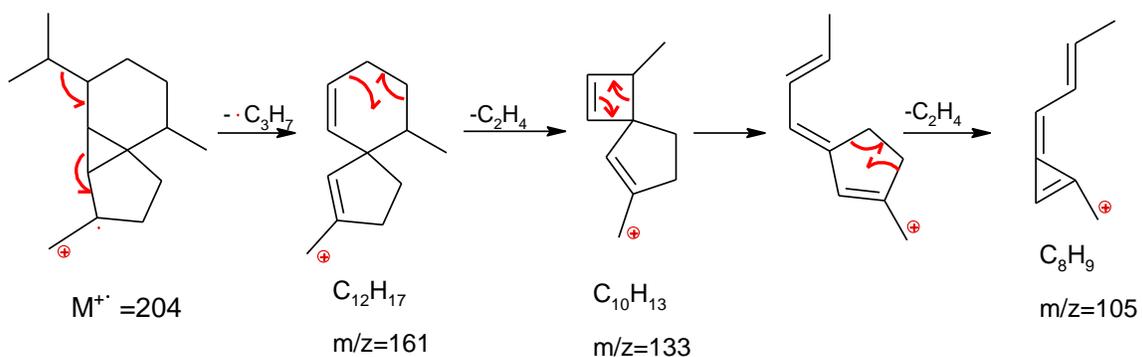
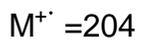
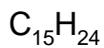
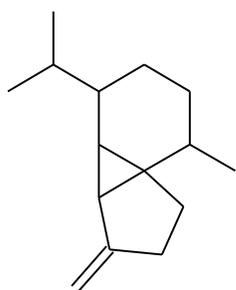
E 9 582 (11.702)

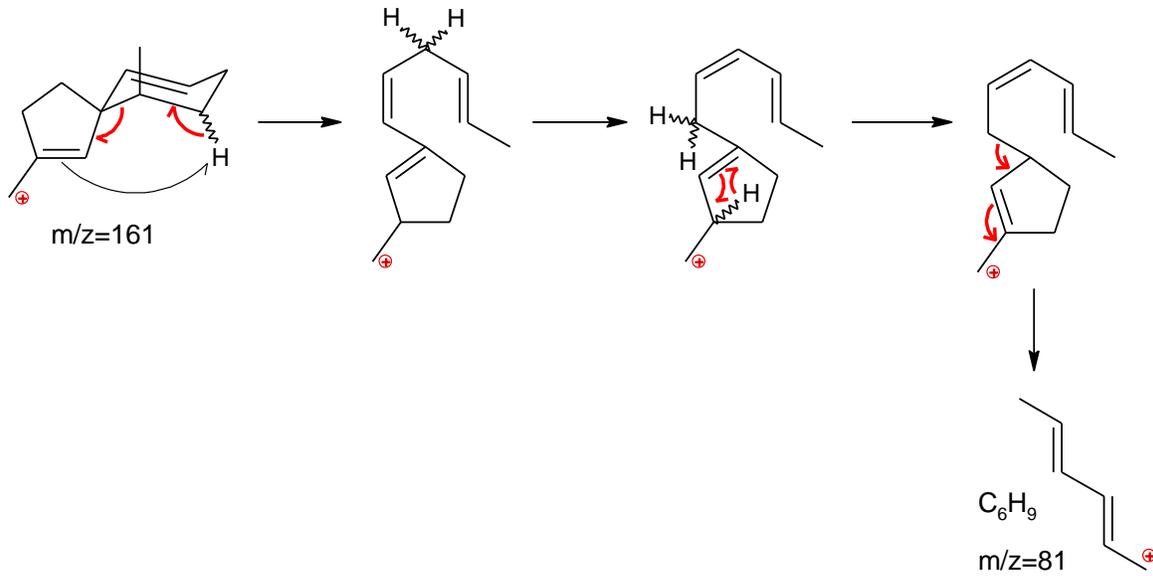
, 21-Nov-2013 + 14:51:28

Scan E1+
5.56e8



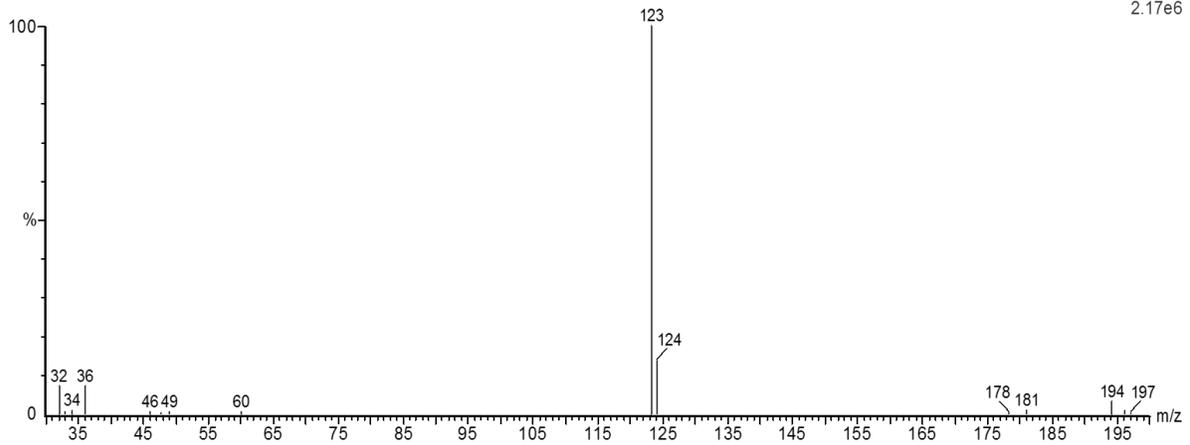
Compuesto 14: β -Cubebeno





Espectro 15

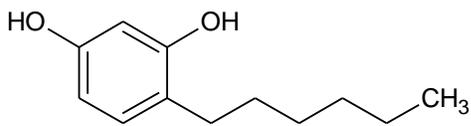
E 10 585 (11.752) Cm (584:586-(587:589+582:583))



, 21-Nov-2013 + 15:23:34

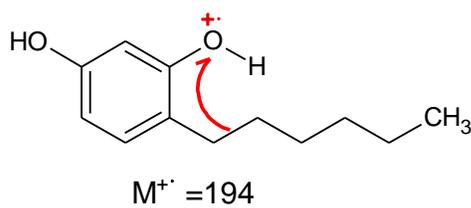
Scan EI+
2.17e6

Compuesto 15: Hexilresorcinol

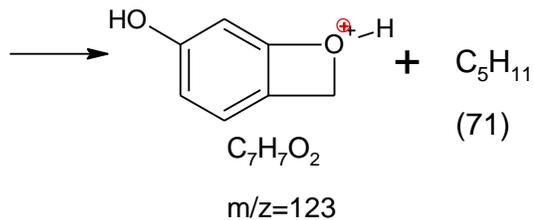


$C_{12}H_{18}O_2$

$M^{+} = 194$



$M^{+} = 194$



$C_7H_7O_2$

$m/z=123$

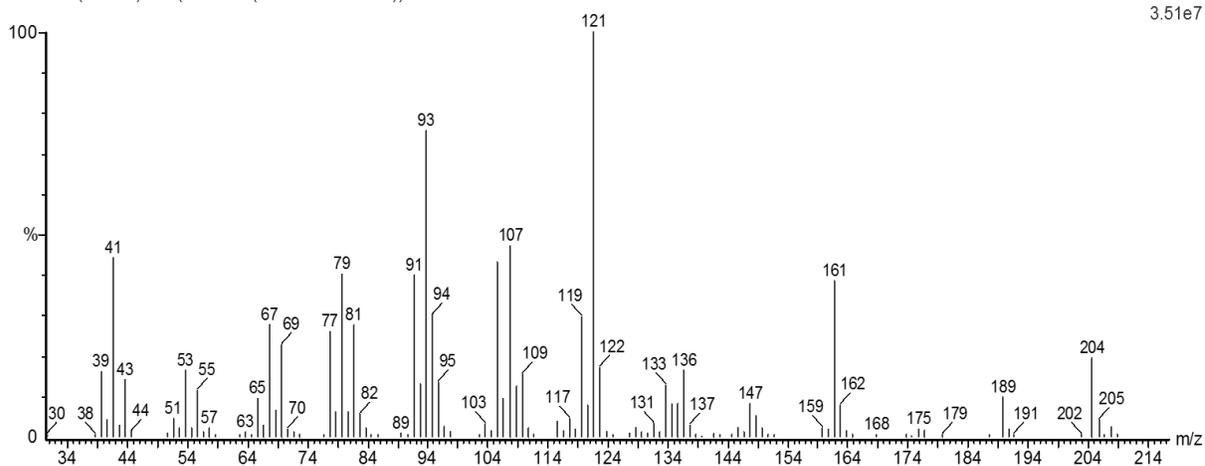
C_5H_{11}
(71)

Espectro 16

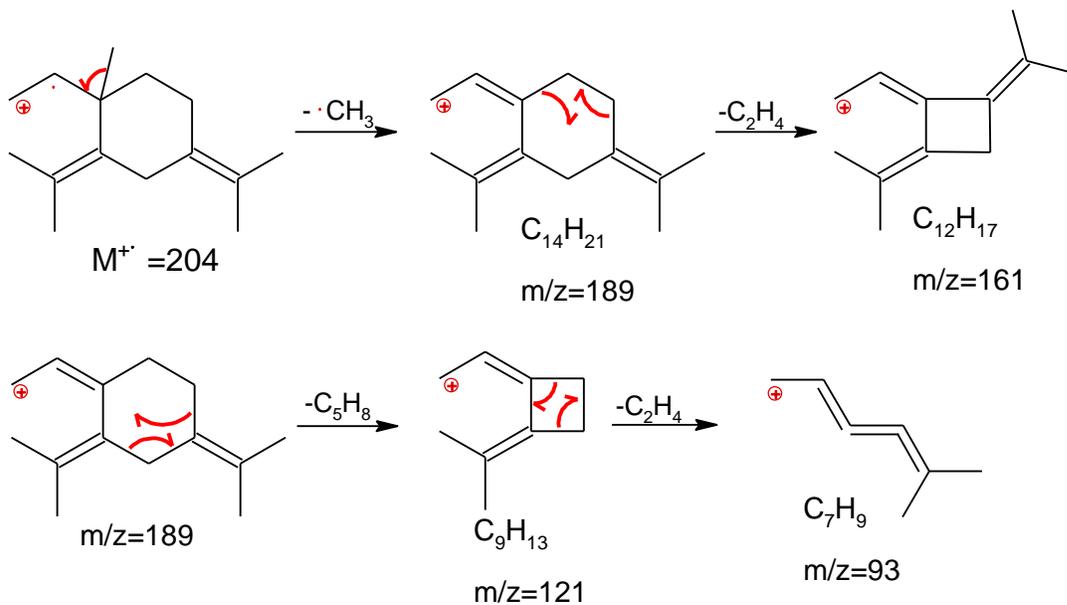
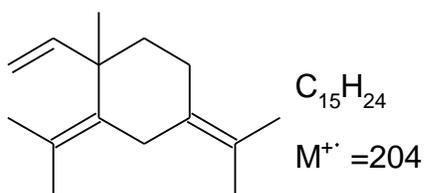
, 21-Nov-2013 + 15:23:34

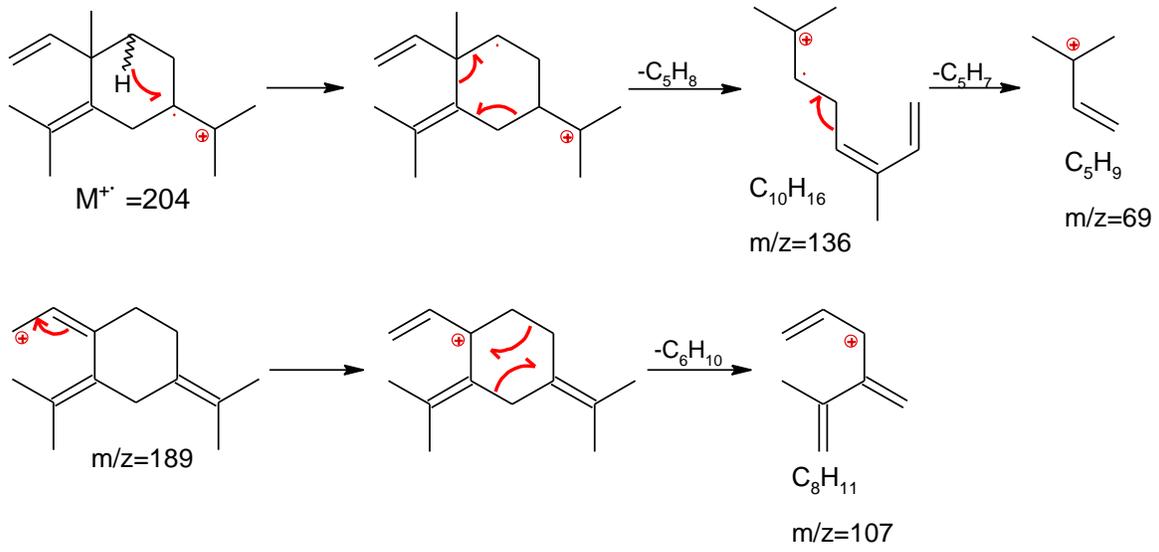
E 10 588 (11.802) Cm (587:589-(590:591+584:586))

Scan EI+
3.51e7



Compuesto 16: γ -Elemeno



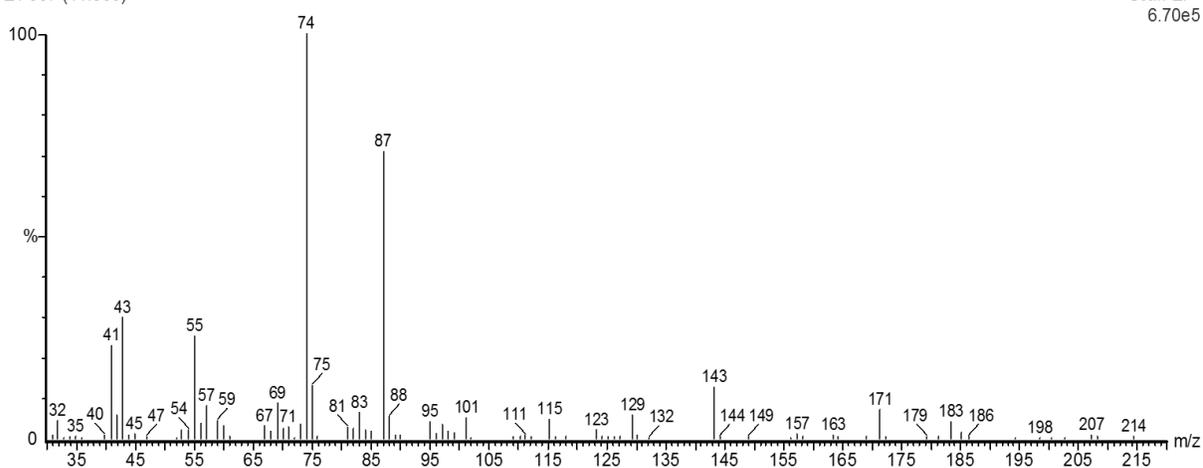


Espectro 17

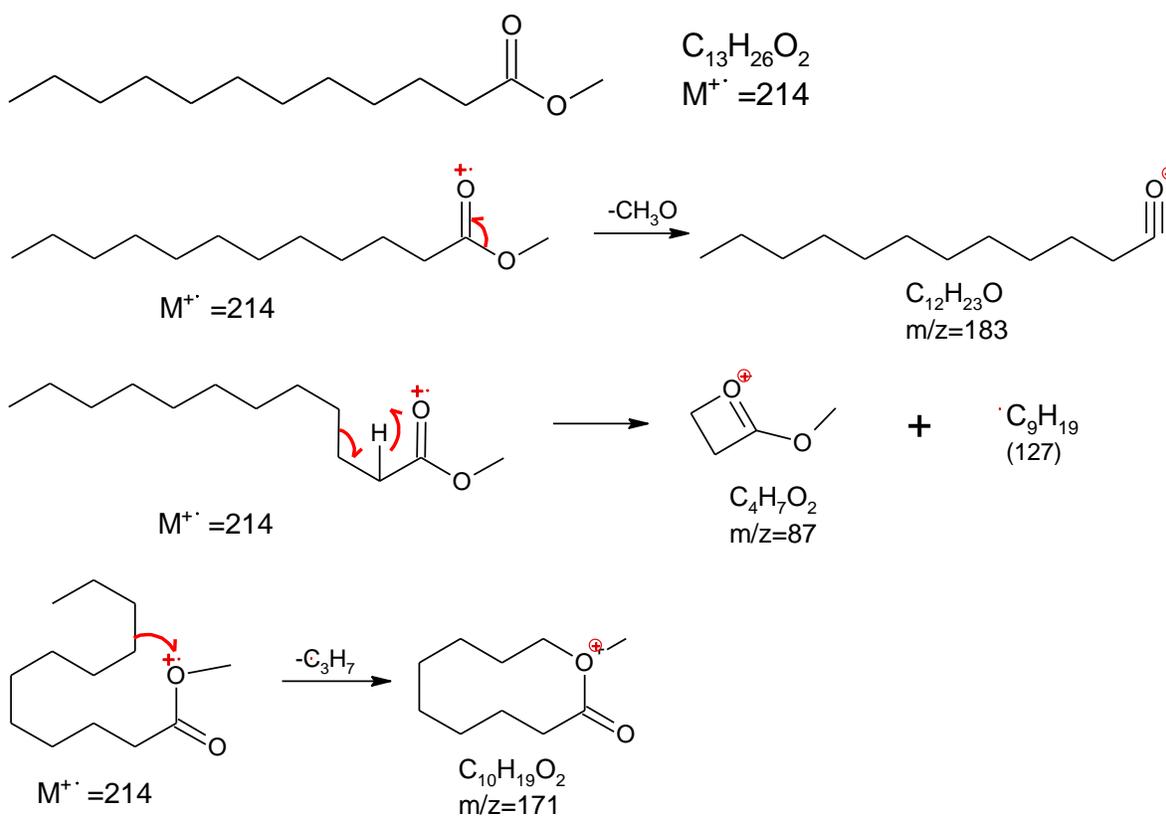
, 01-May-2013 + 06:51:27

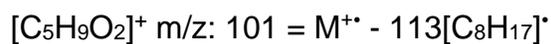
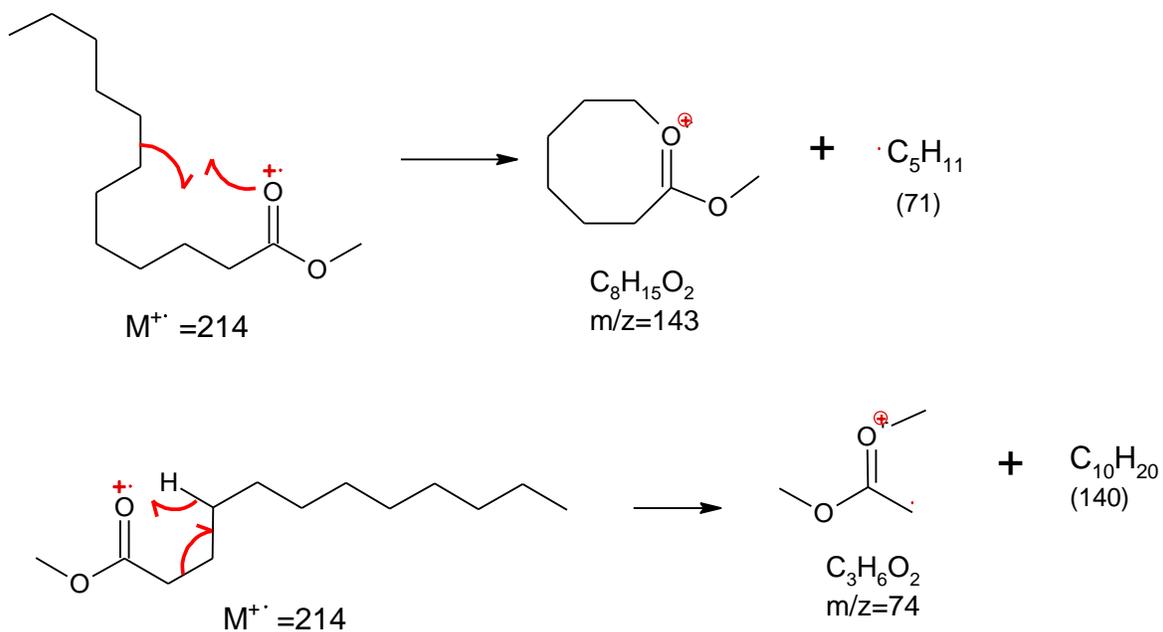
E1 657 (11.855)

Scan EI+
6.70e5



Compuesto 17: Dodecanoato de Metilo





Serie de los alcanos (m/z): 43, 57, 71, 85, 99.

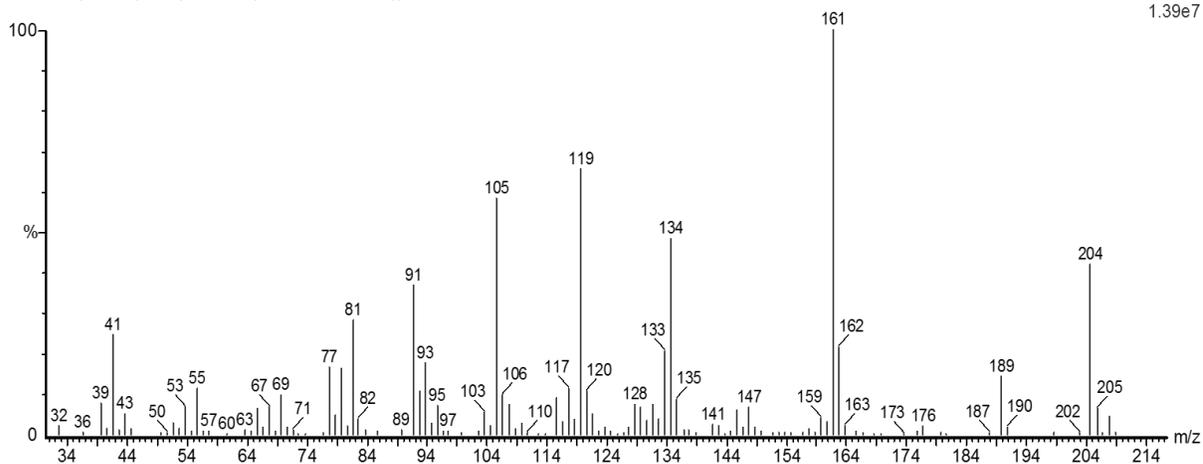
Serie de los alquenos (m/z): 41, 55, 69, 83, 97.

Espectro 18

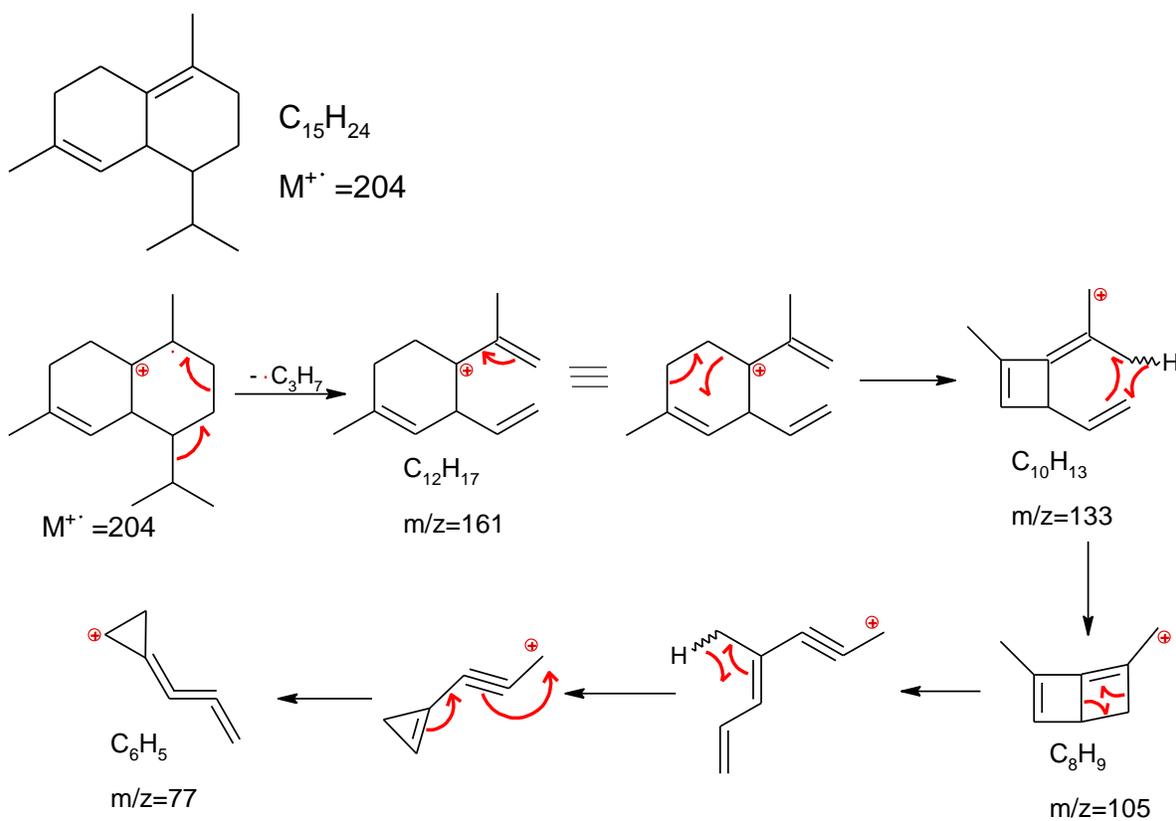
, 21-Nov-2013 + 15:23:34

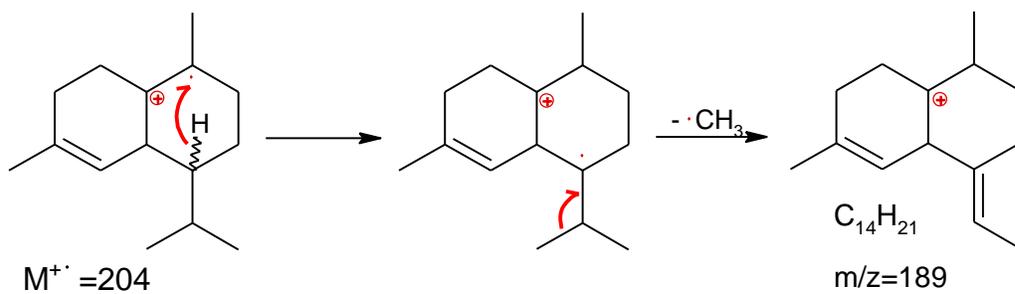
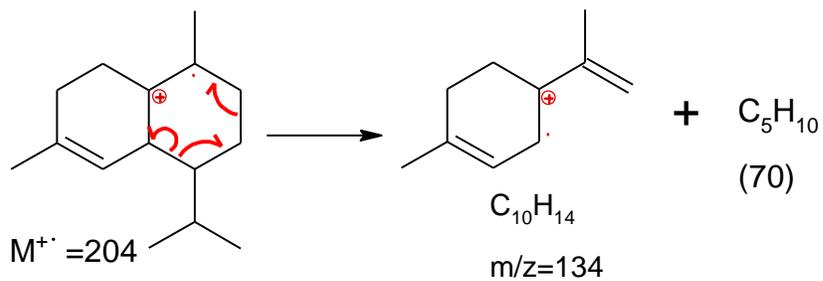
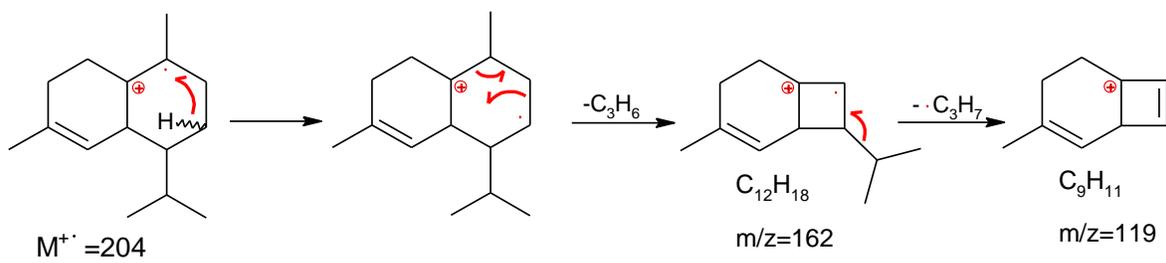
E 10 594 (11.902) Cm (593:595-(596:598+591:592))

Scan EI+
1.39e7



Compuesto 18: δ -Cadieno



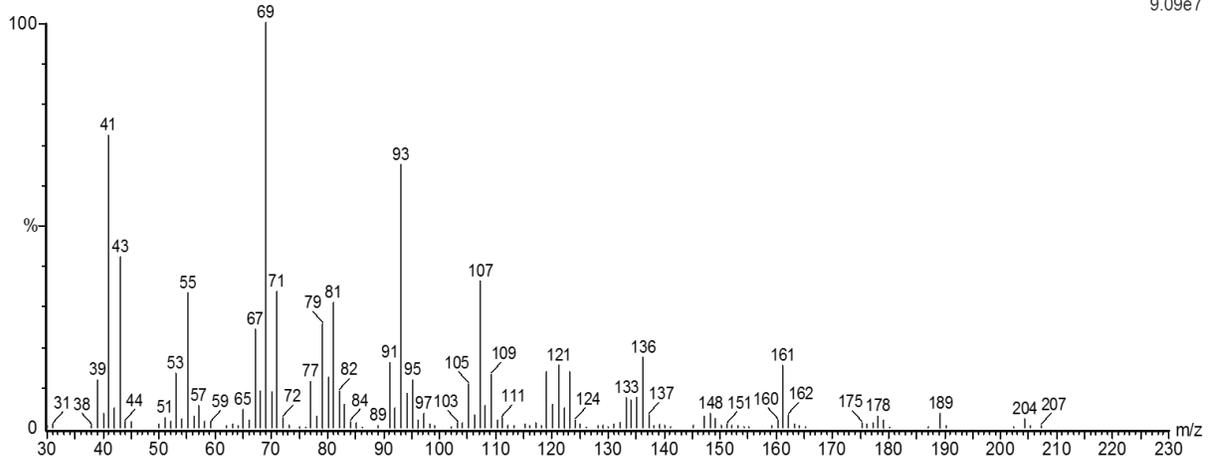


Espectro 19

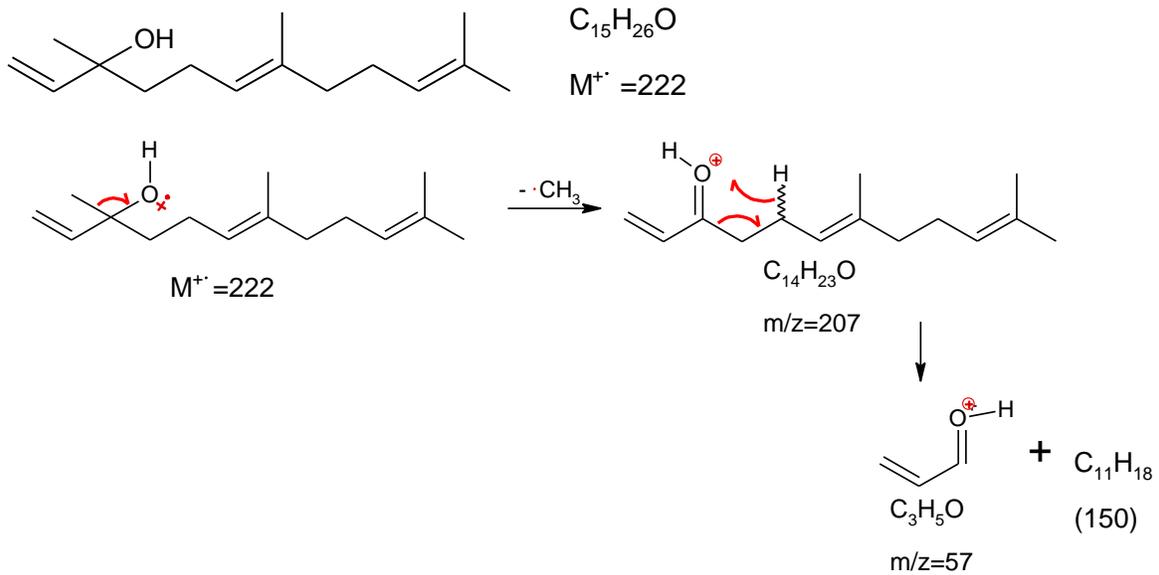
, 21-Nov-2013 + 14:51:28

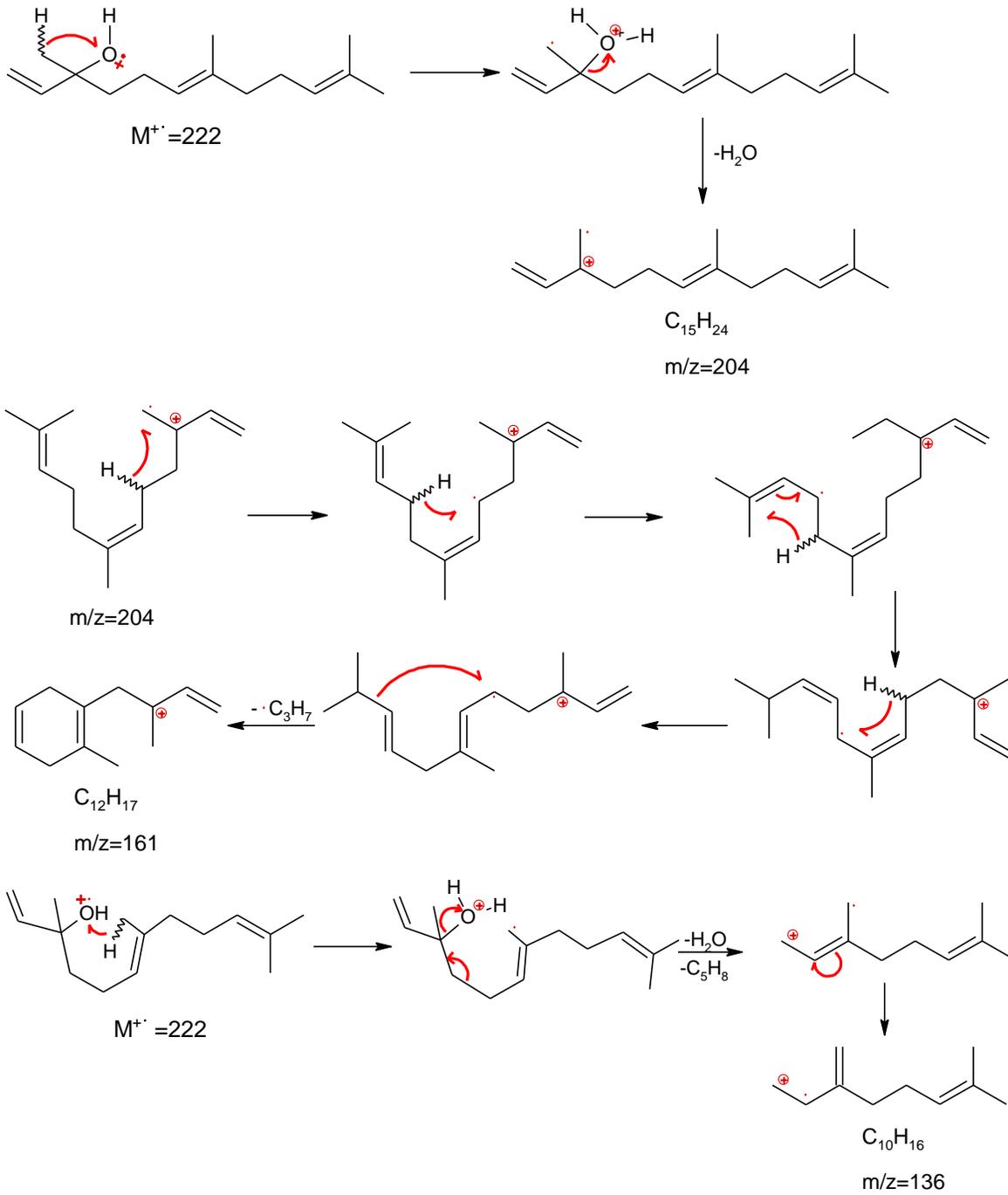
E 9 606 (12.102) Cm (605:608-(610:612+603:604))

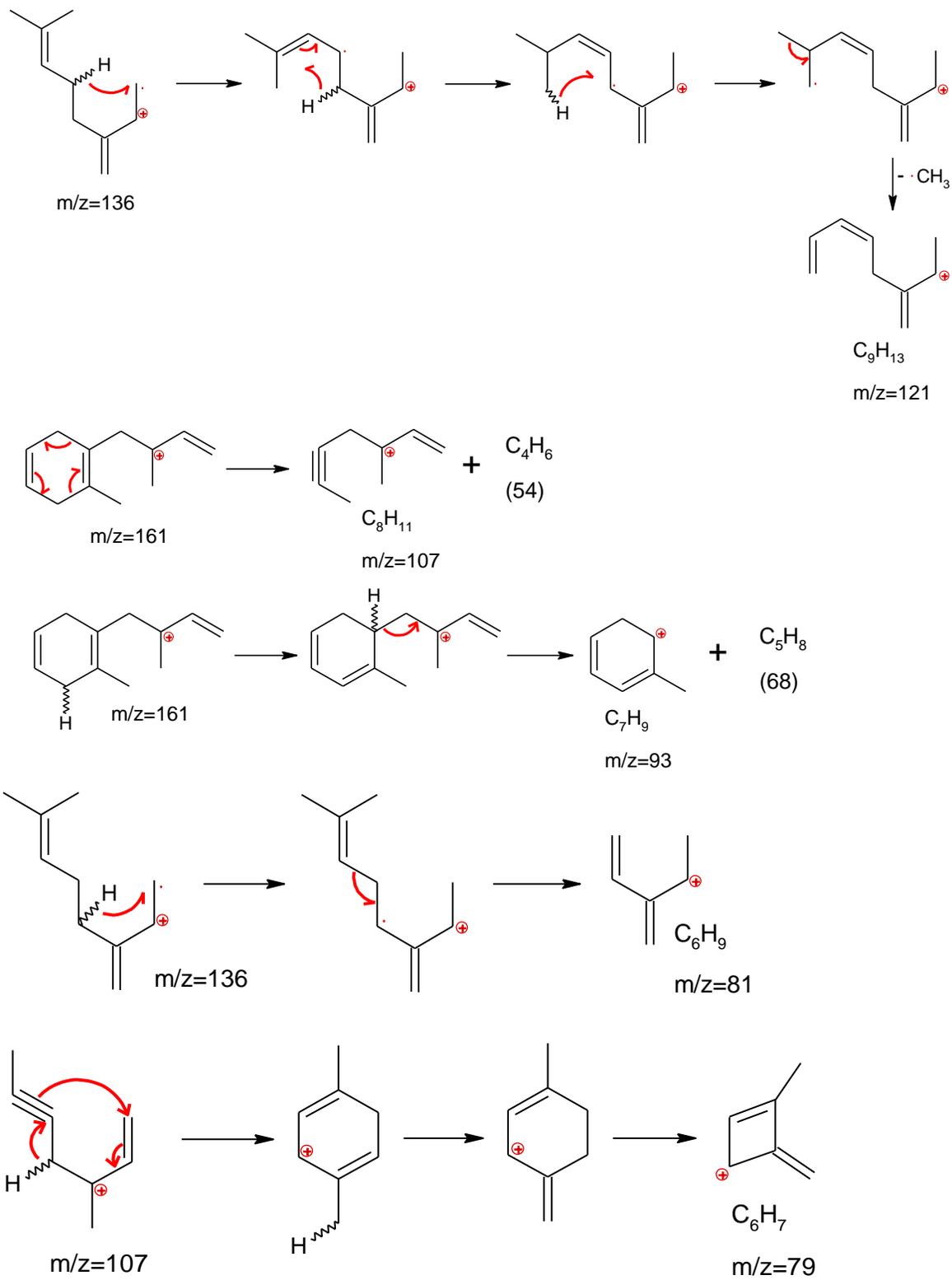
Scan EI+
9.09e7

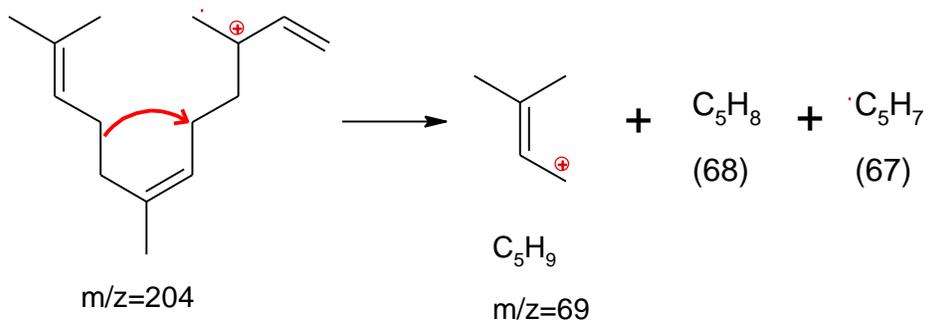


Compuesto 19: Nerolidol







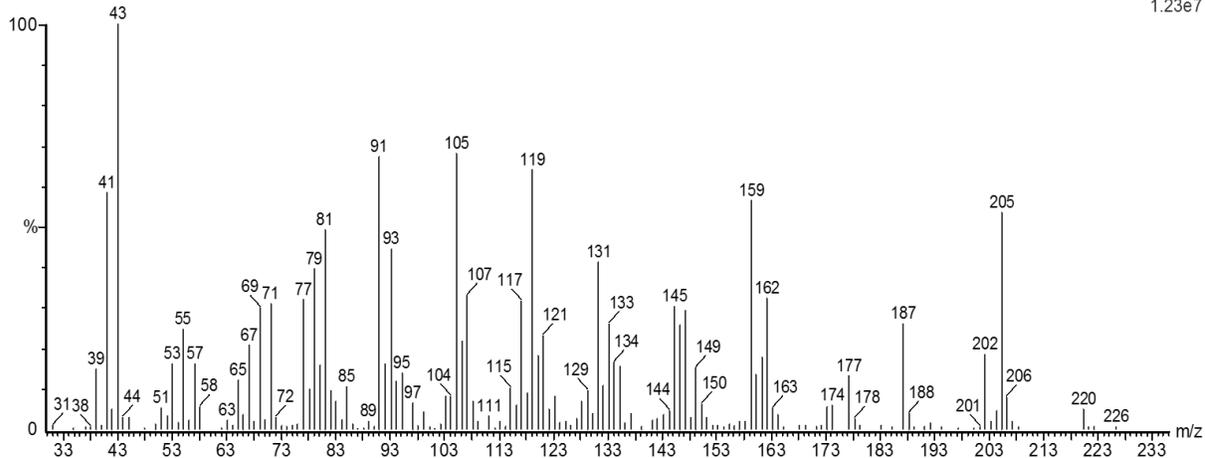


Espectro 20

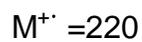
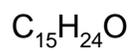
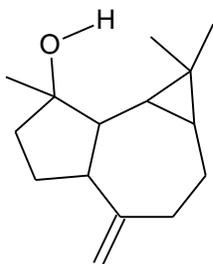
E 9 619 (12.318) Cm (617:620-(621:623+615:616))

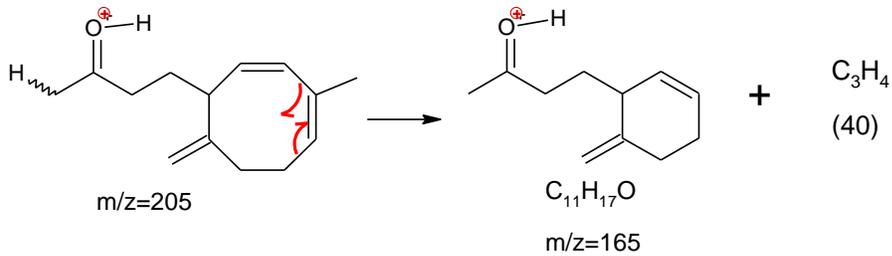
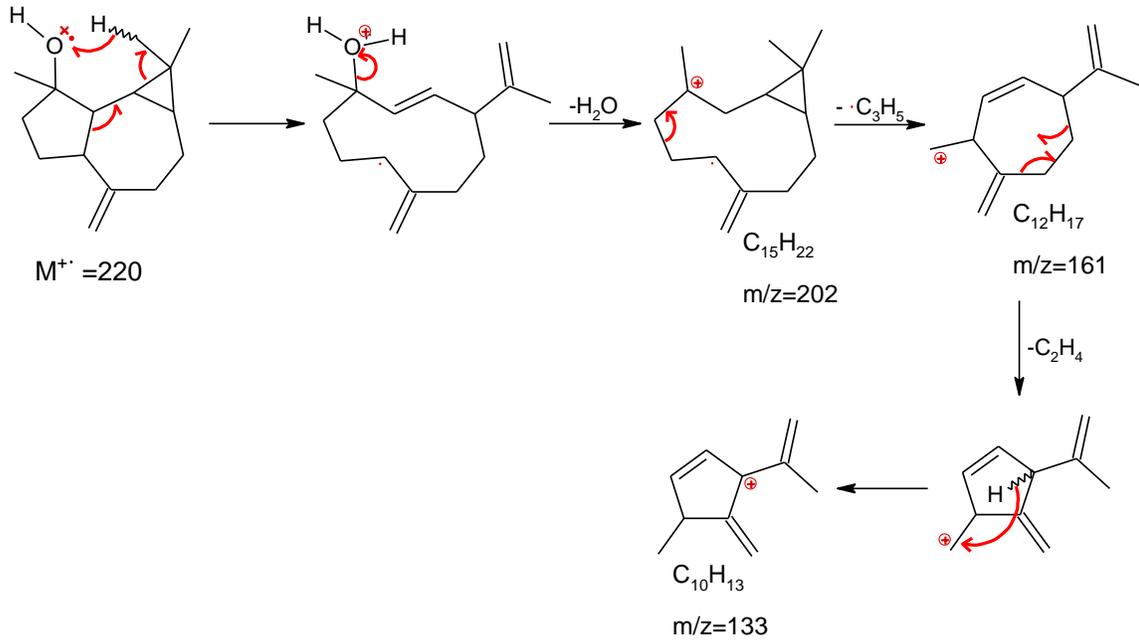
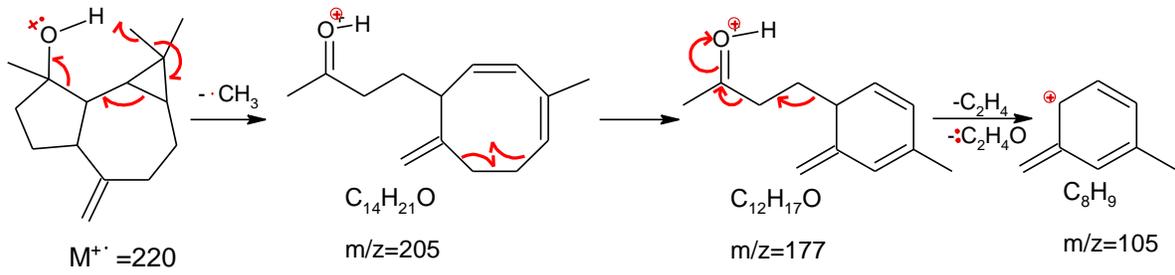
, 21-Nov-2013 + 14:51:28

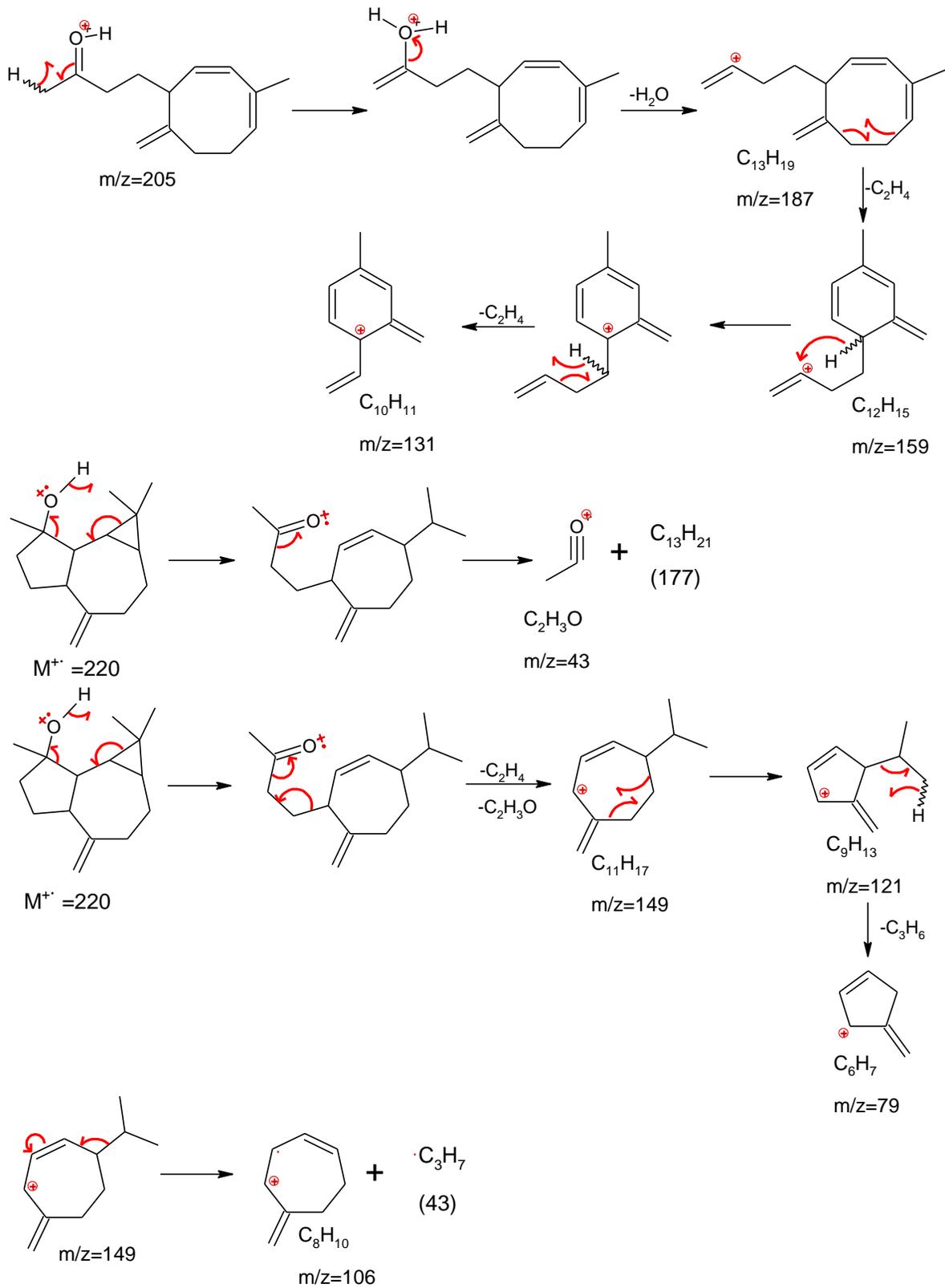
Scan EI+
1.23e7

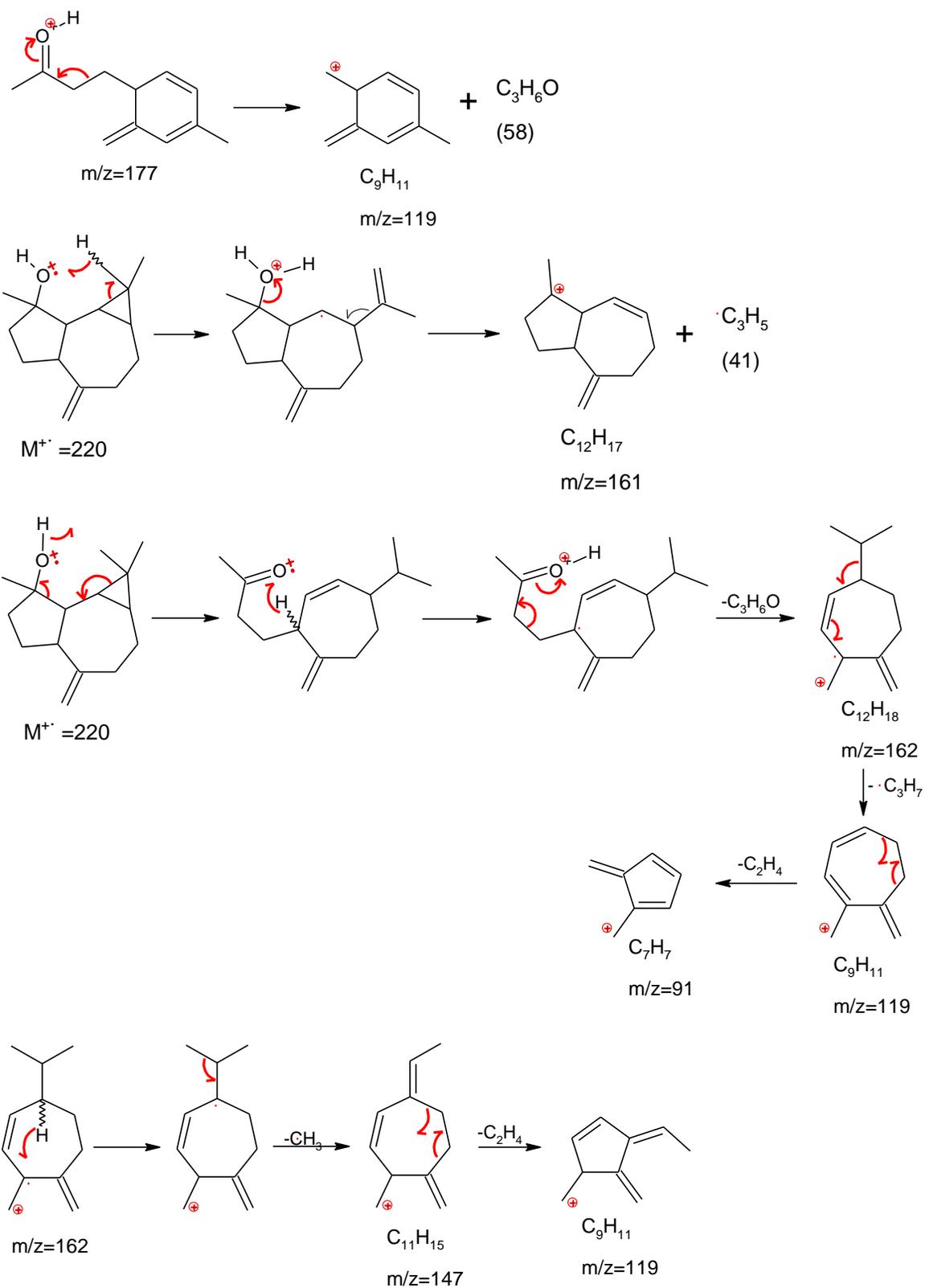


Compuesto 20: Espatulenol







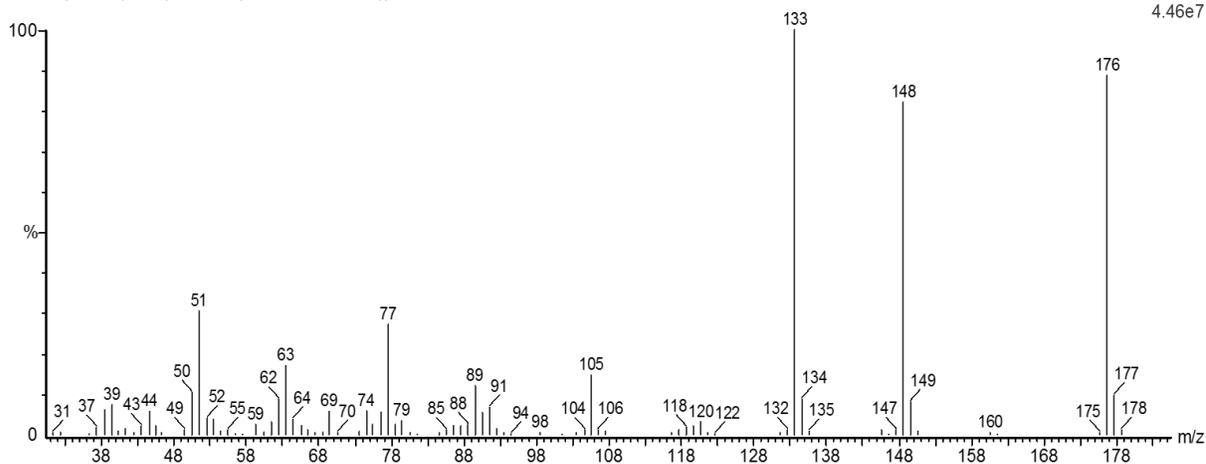


Espectro 21

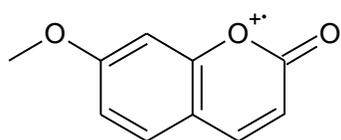
, 01-May-2013 + 07:21:25

E2 745 (13.175) Cm (743:747-(748:750+740:742))

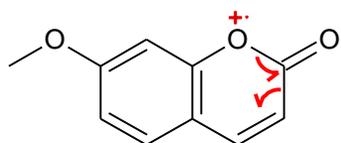
Scan EI+
4.46e7



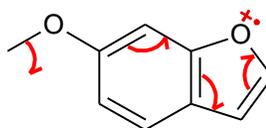
Compuesto 21: 7-Metoxicumarina



$C_{10}H_8O_3$
 $M^+ = 176$



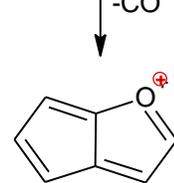
$-CO$



$-CH_3$



$-CO$



$-CO$



$-C_2H_2$

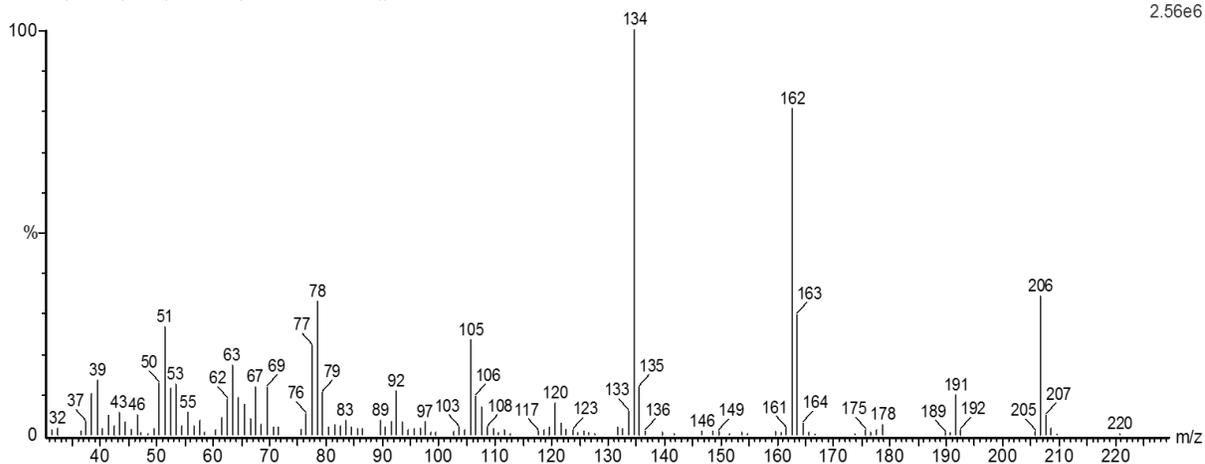


Espectro 22

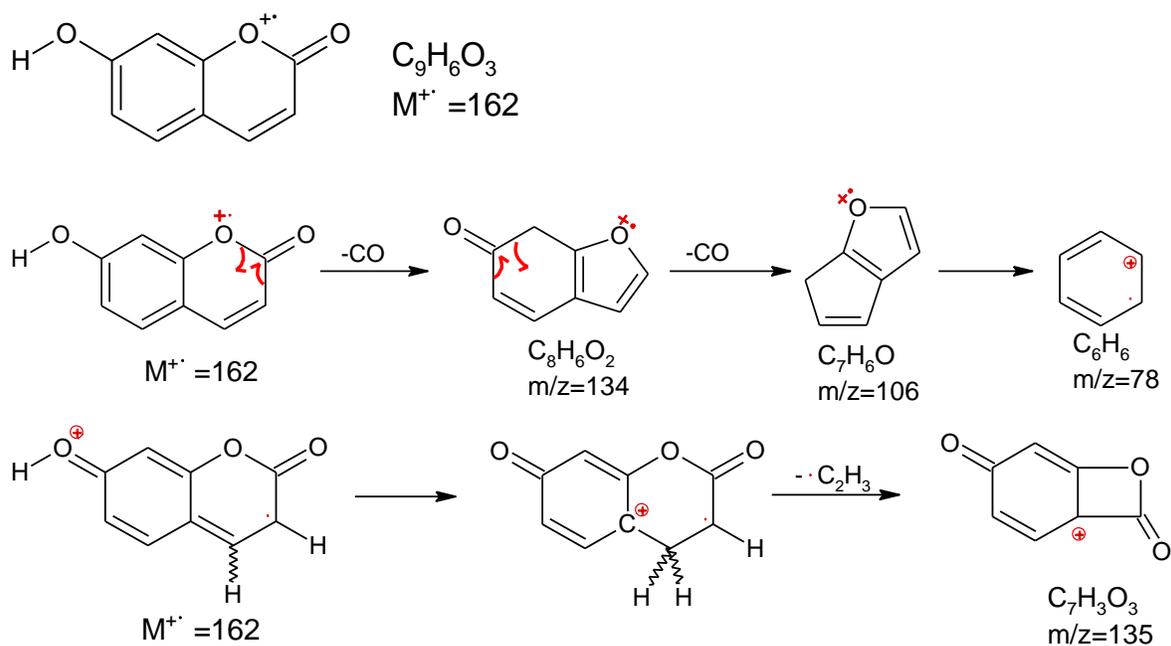
, 01-May-2013 + 06:51:27

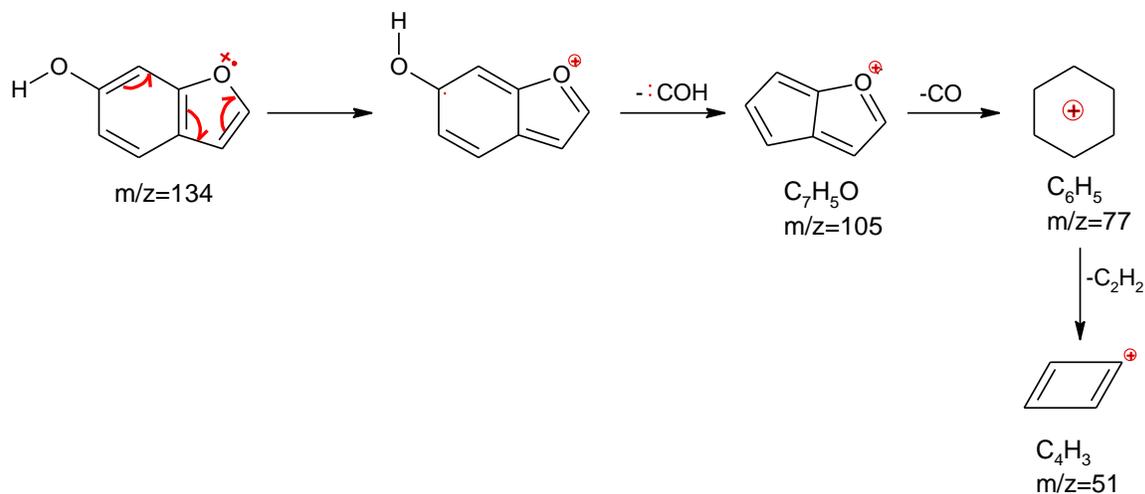
E1 794 (13.910) Cm (792:799-(802:805+786:791))

Scan EI+
2.56e6



Compuesto 22: 7-Hidroxycumarina



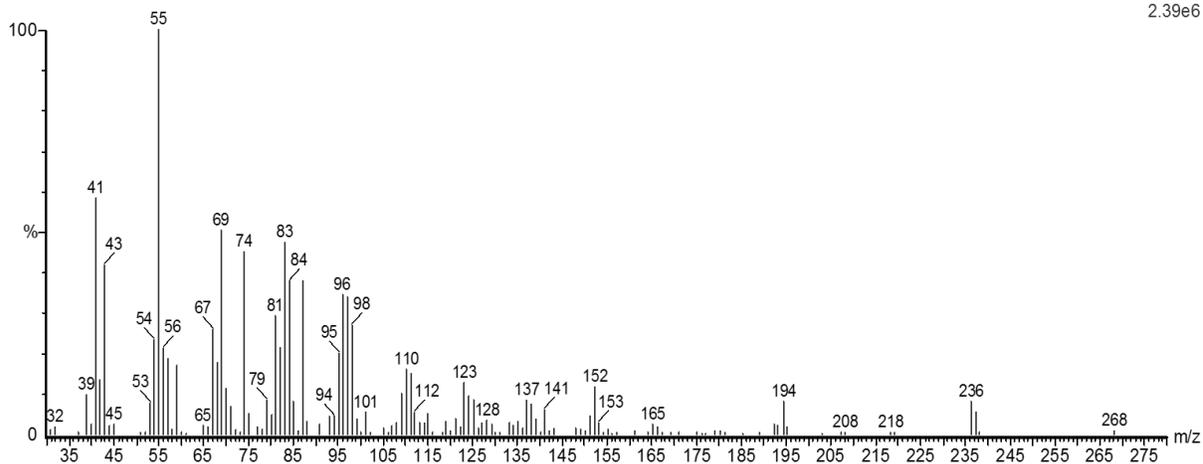


Espectro 23

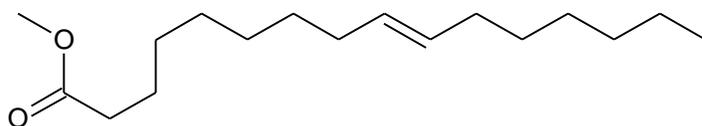
E2 797 (13.955) Cm (796:798-(800:802+793:795))

, 01-May-2013 + 07:21:25

Scan EI+
2.39e6

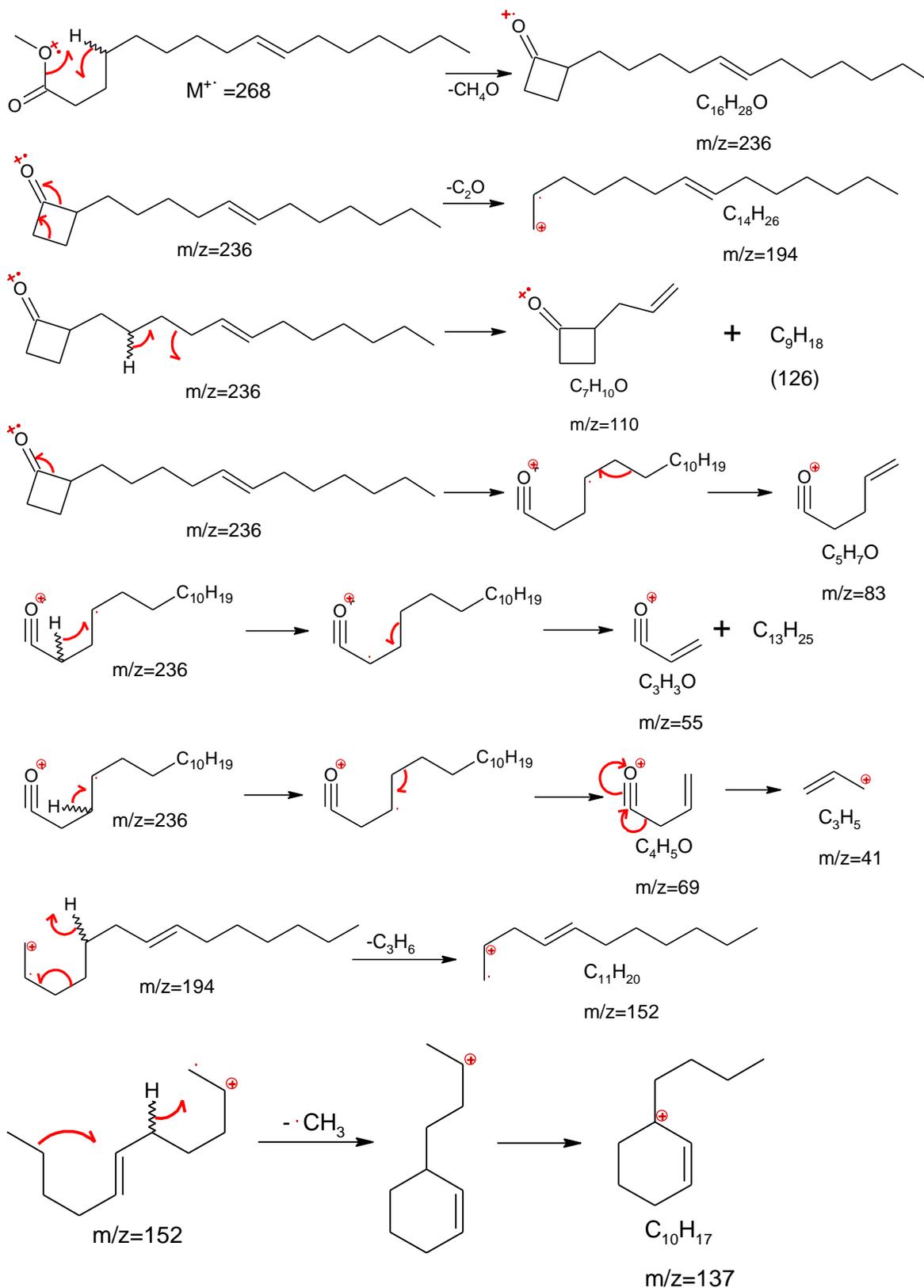


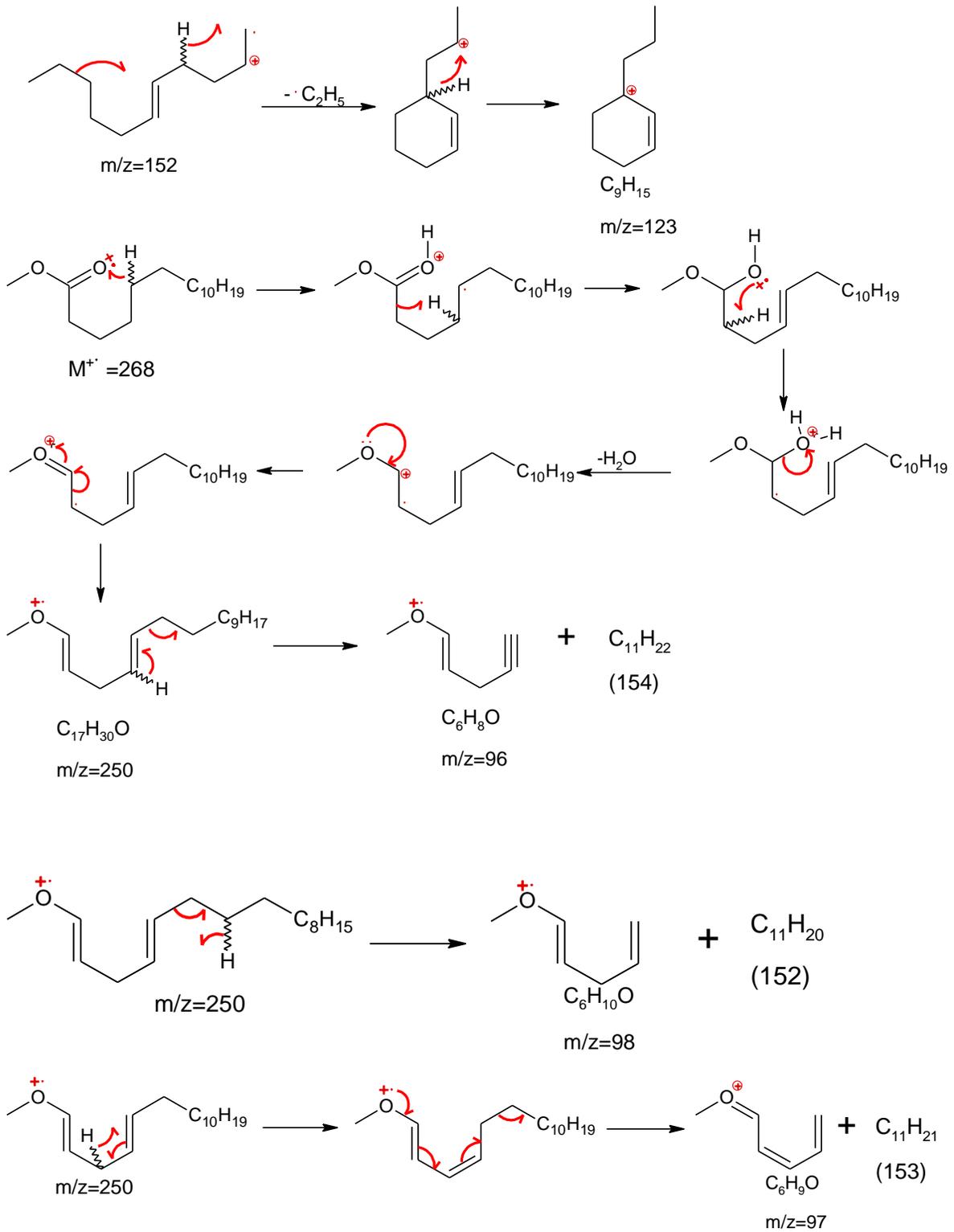
Compuesto 23: 11-Hexadecenoato de Metilo

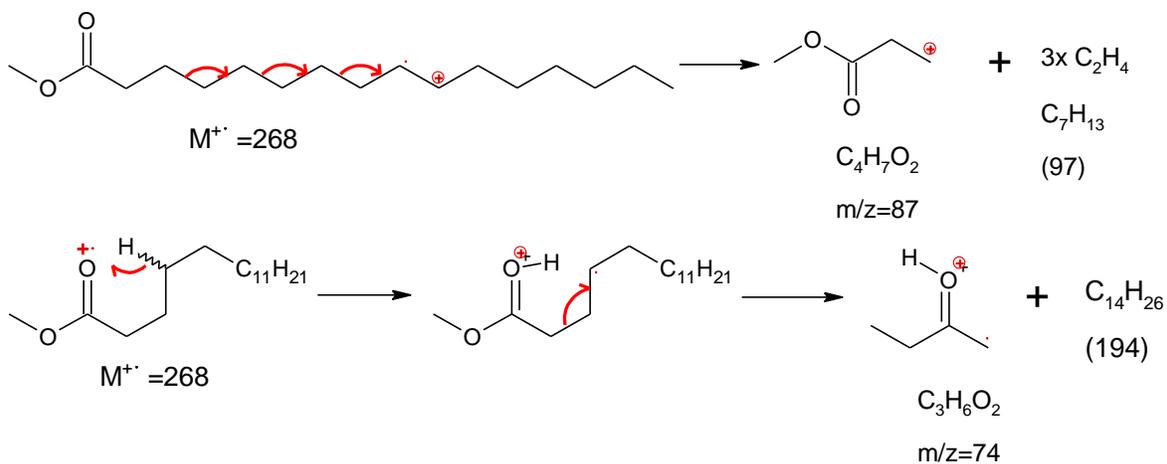


$M^+ = 268$

$C_{17}H_{32}O_2$



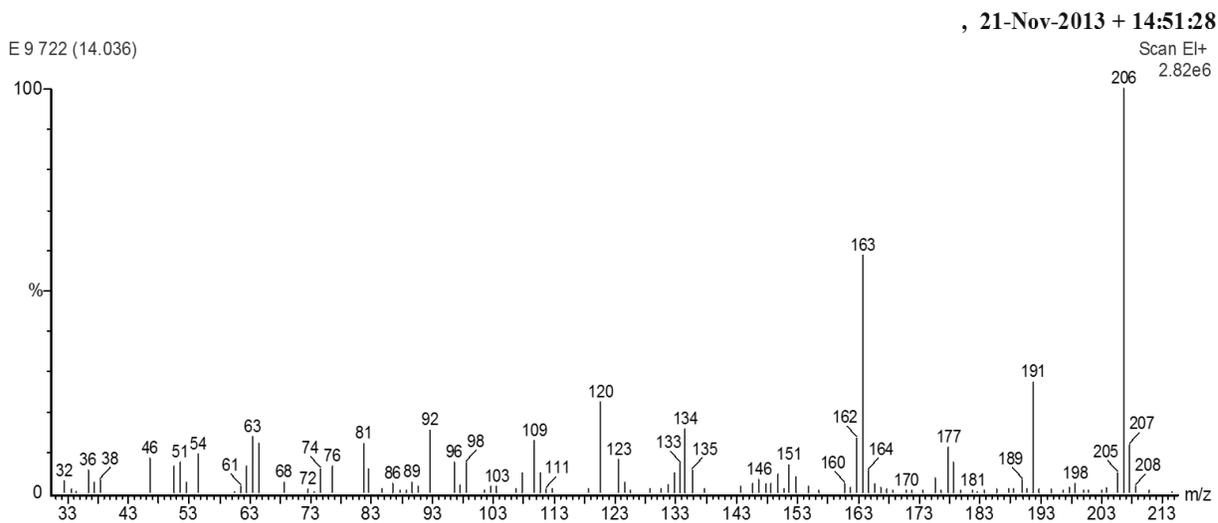




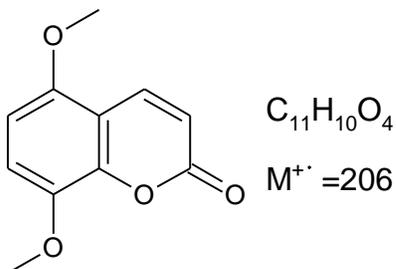
Serie de los alcanos (m/z): 43, 57, 71, 85, 99.

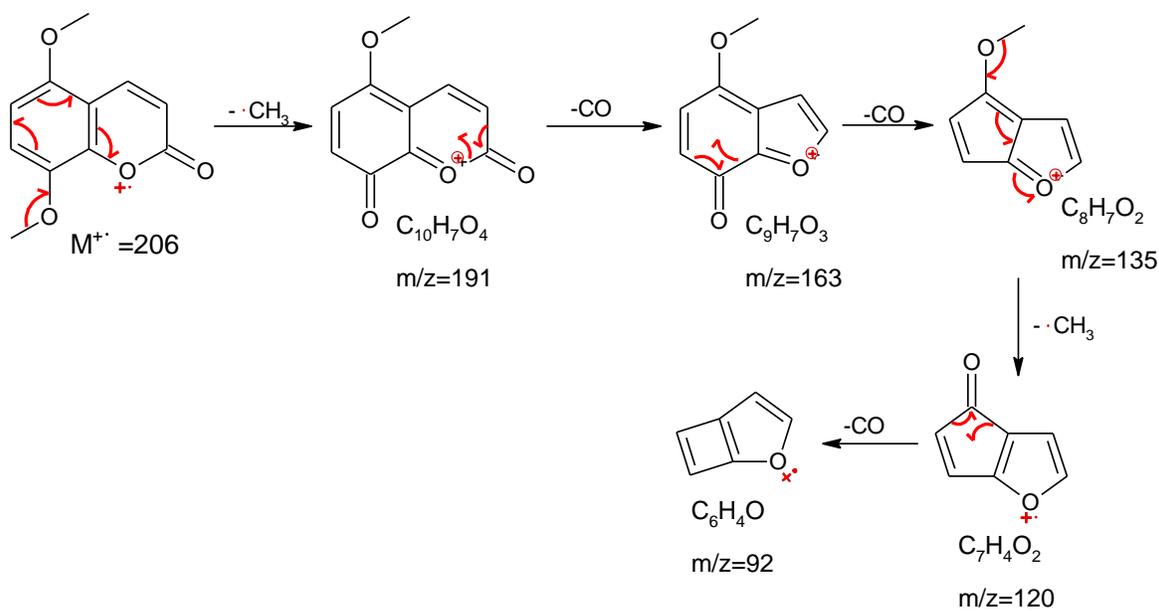
Serie de los alquenos (m/z): 41, 55, 69, 83, 97.

Espectro 24



Compuesto 24: 5,8-Dimetoxicumarina



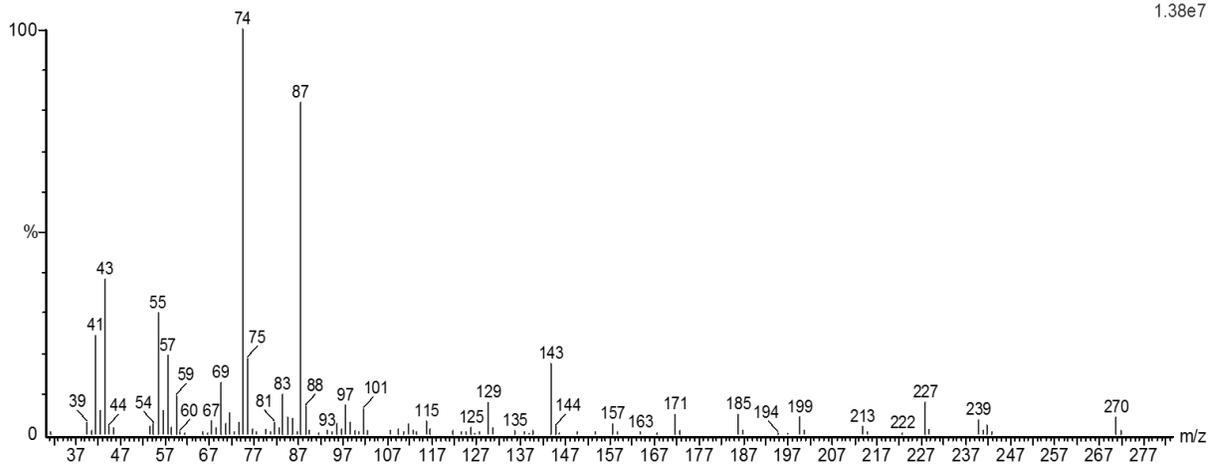


Espectro 25

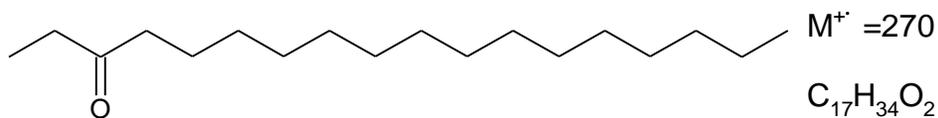
E2 804 (14.060) Cm (802:805-(806:808+800:801))

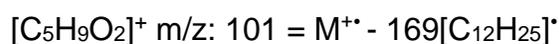
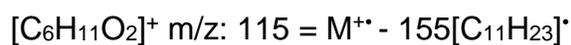
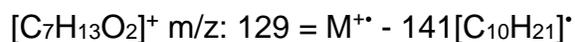
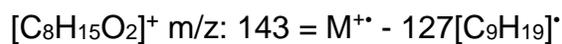
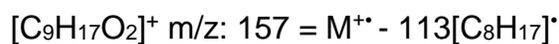
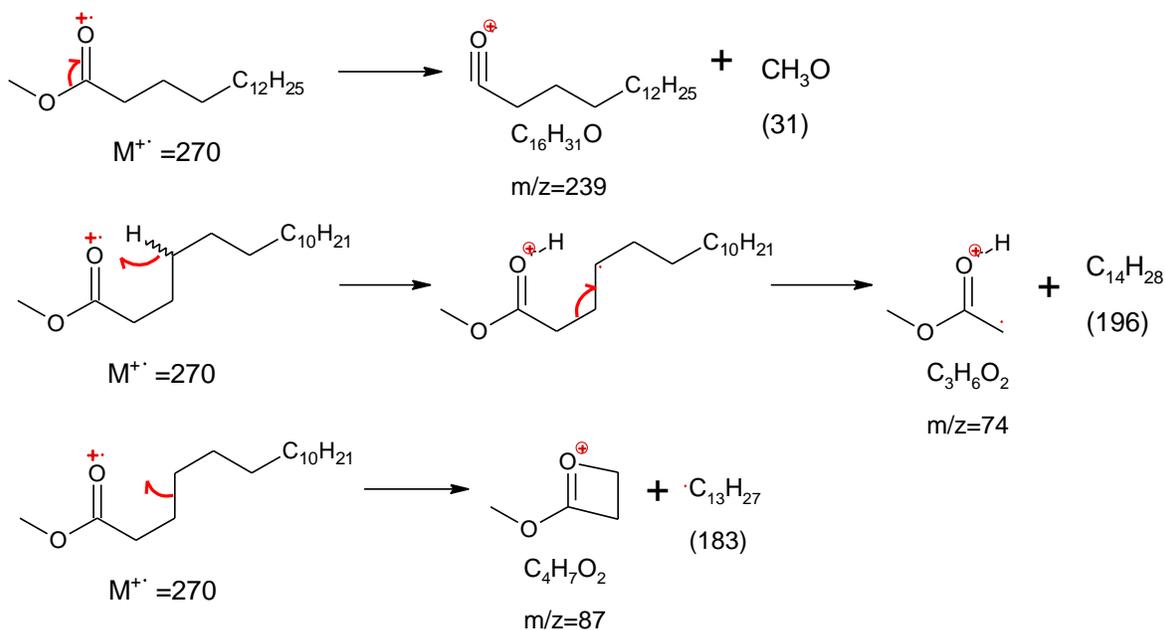
, 01-May-2013 + 07:21:25

Scan EI+
1.38e7



Compuesto 25: Hexadecanoato de Metilo





Serie de los alcanos (m/z): 43, 57, 71, 85, 99.

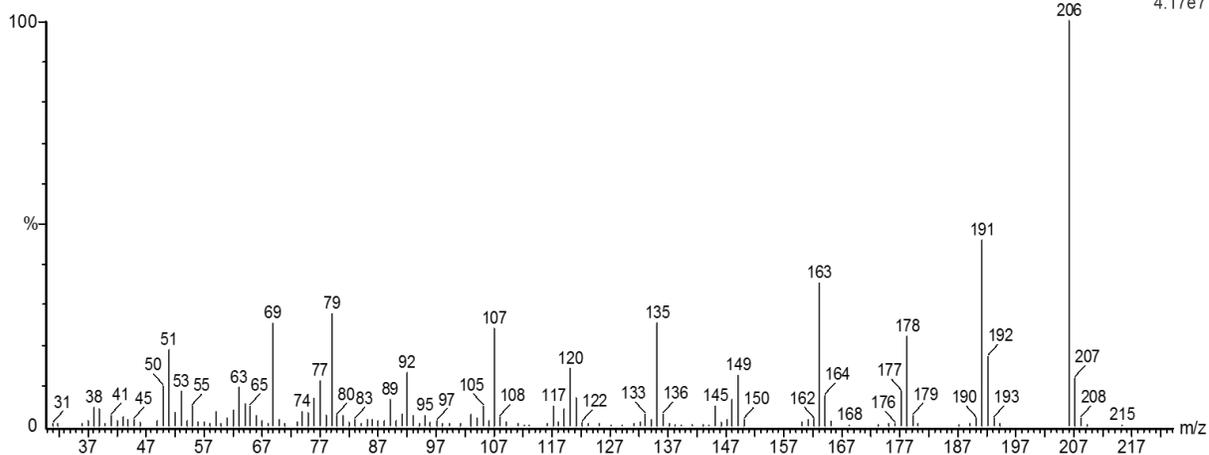
Serie de los alquenos (m/z): 41, 55, 69, 83, 97.

Espectro 26

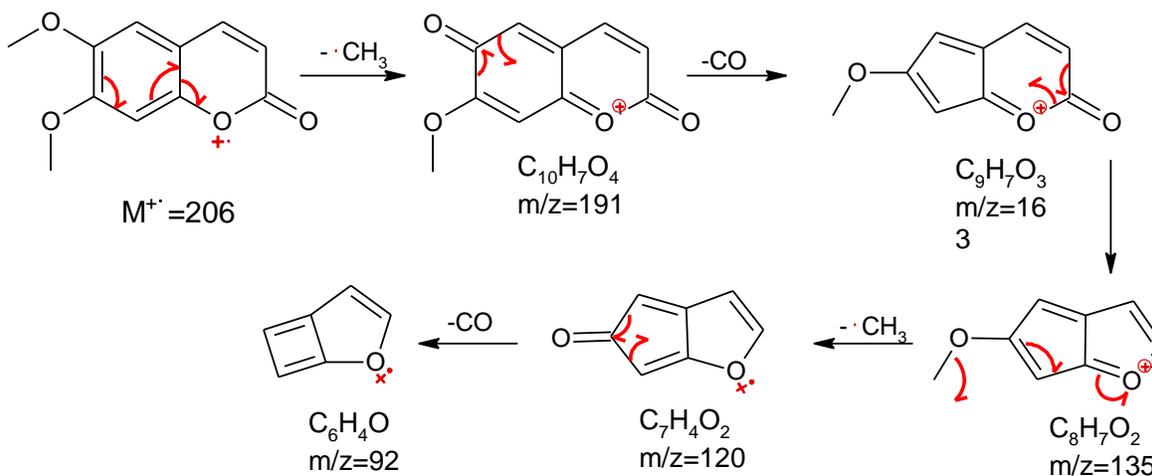
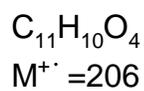
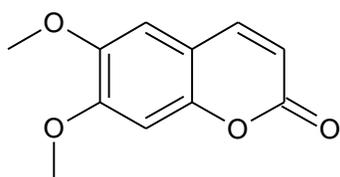
E 9 766 (14.769) Cm (763:769-(770:773+760:762))

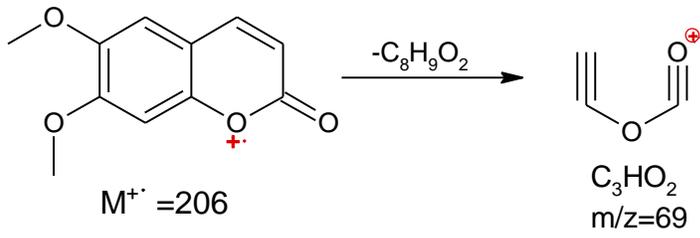
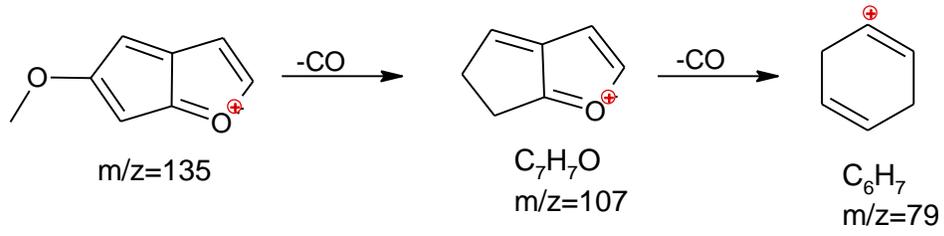
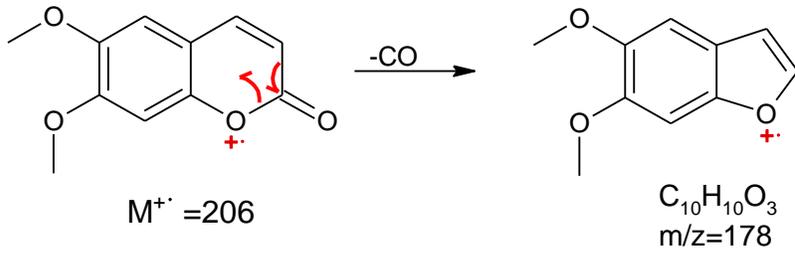
, 21-Nov-2013 + 14:51:28

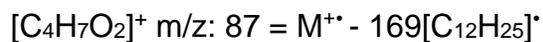
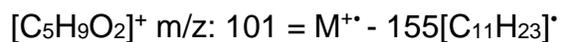
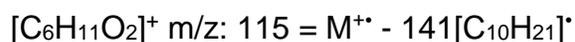
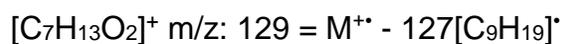
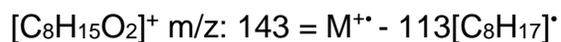
Scan EI+
4.17e7



Compuesto 26: 6,7-Dimetoxicumarina







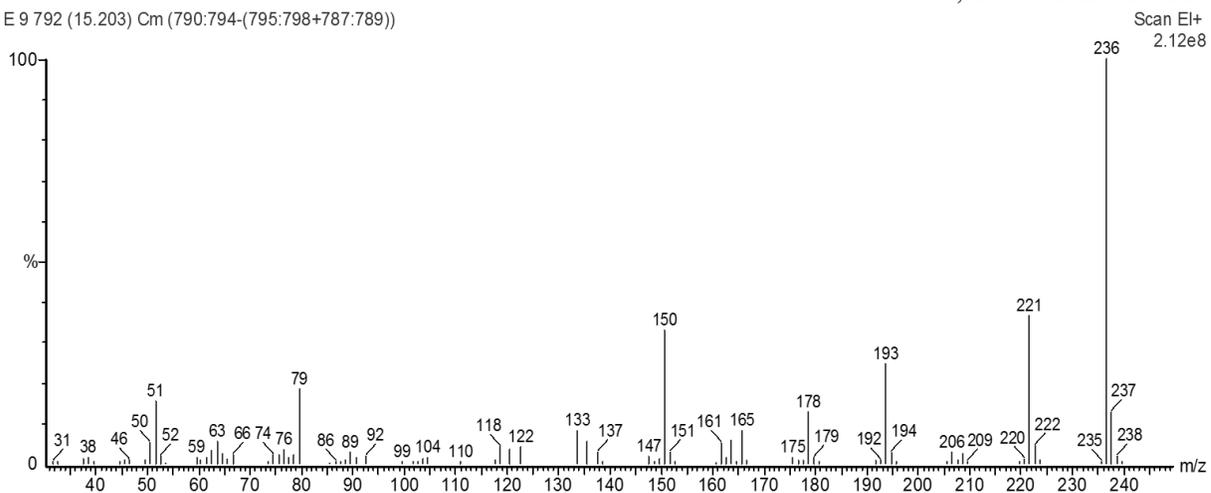
Serie de los alcanos (m/z): 43, 57, 71, 85, 99.

Serie de los alquenos (m/z): 41, 55, 69, 83, 97.

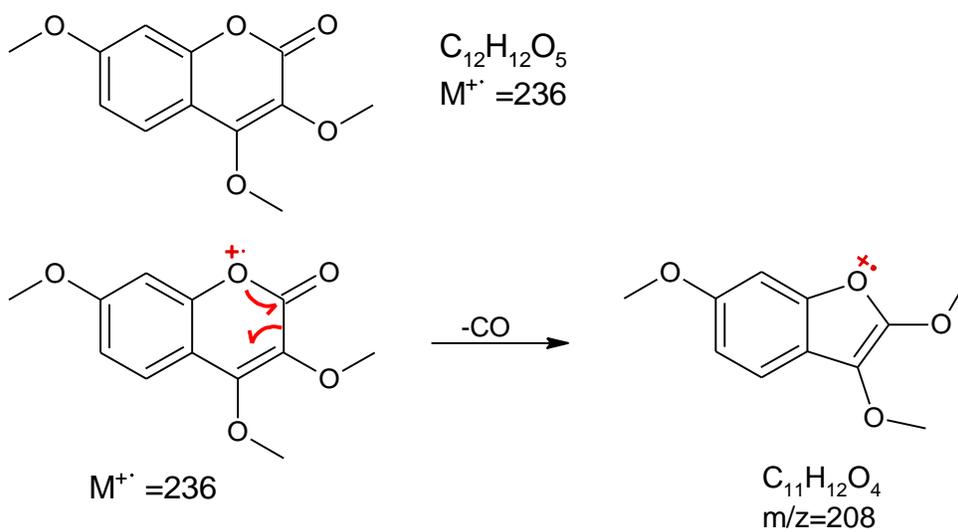
Espectro 28

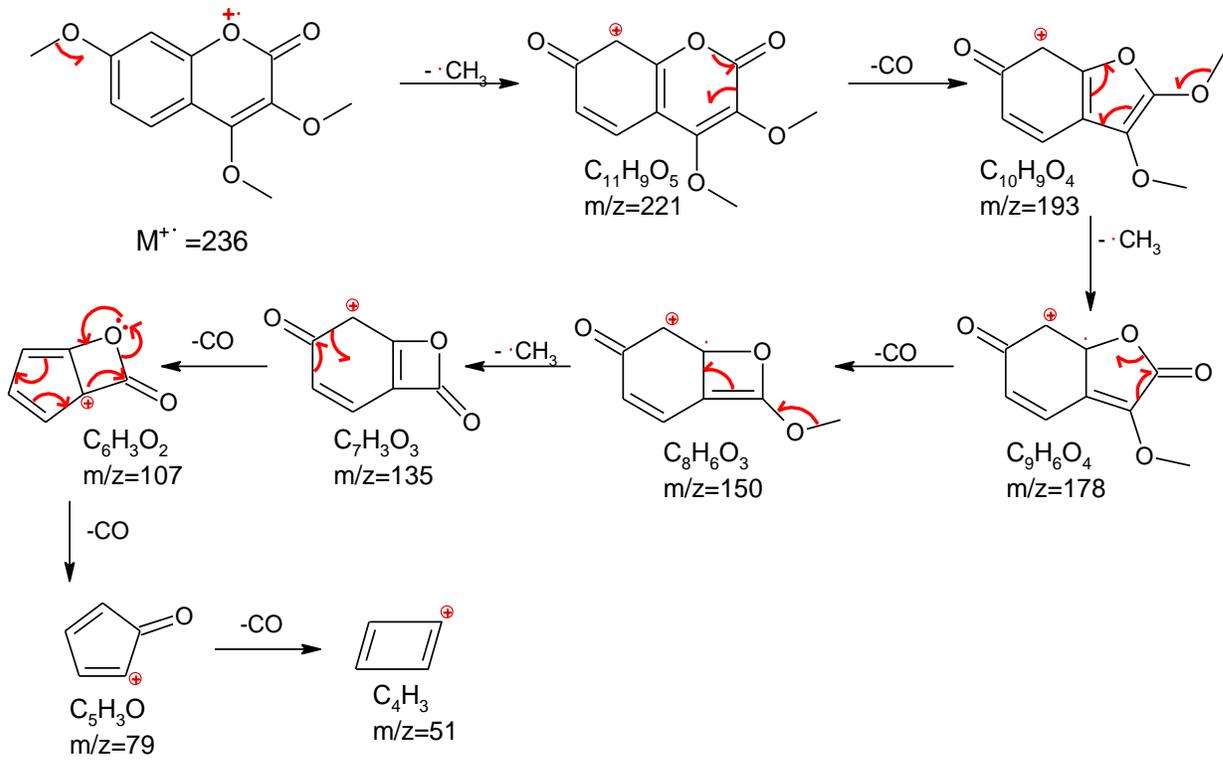
E 9 792 (15.203) Cm (790:794-(795:798+787:789))

, 21-Nov-2013 + 14:51:28



Compuesto 28: 3,4,7-Trimetoxicumarina



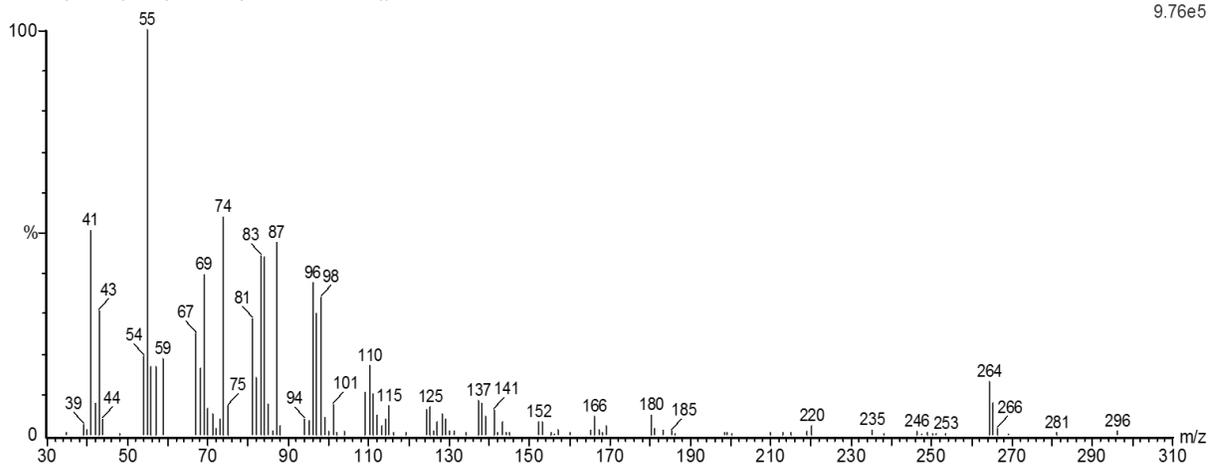


Espectro 29

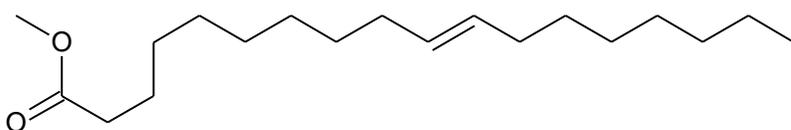
, 01-May-2013 + 06:51:27

E1 860 (14.900) Cm (859:861-(862:863+857:858))

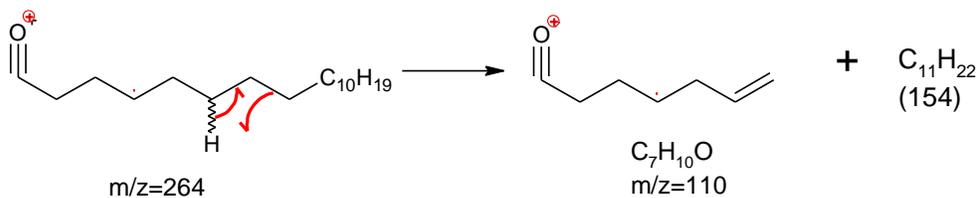
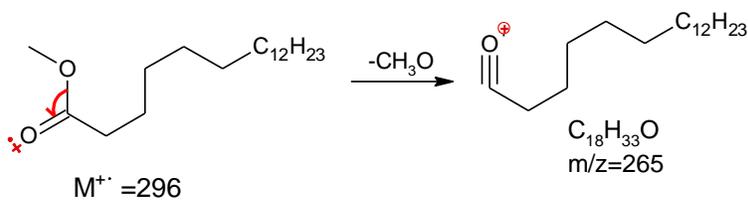
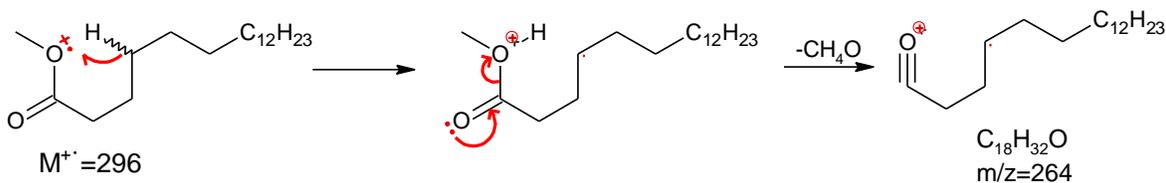
Scan EI+
9.76e5

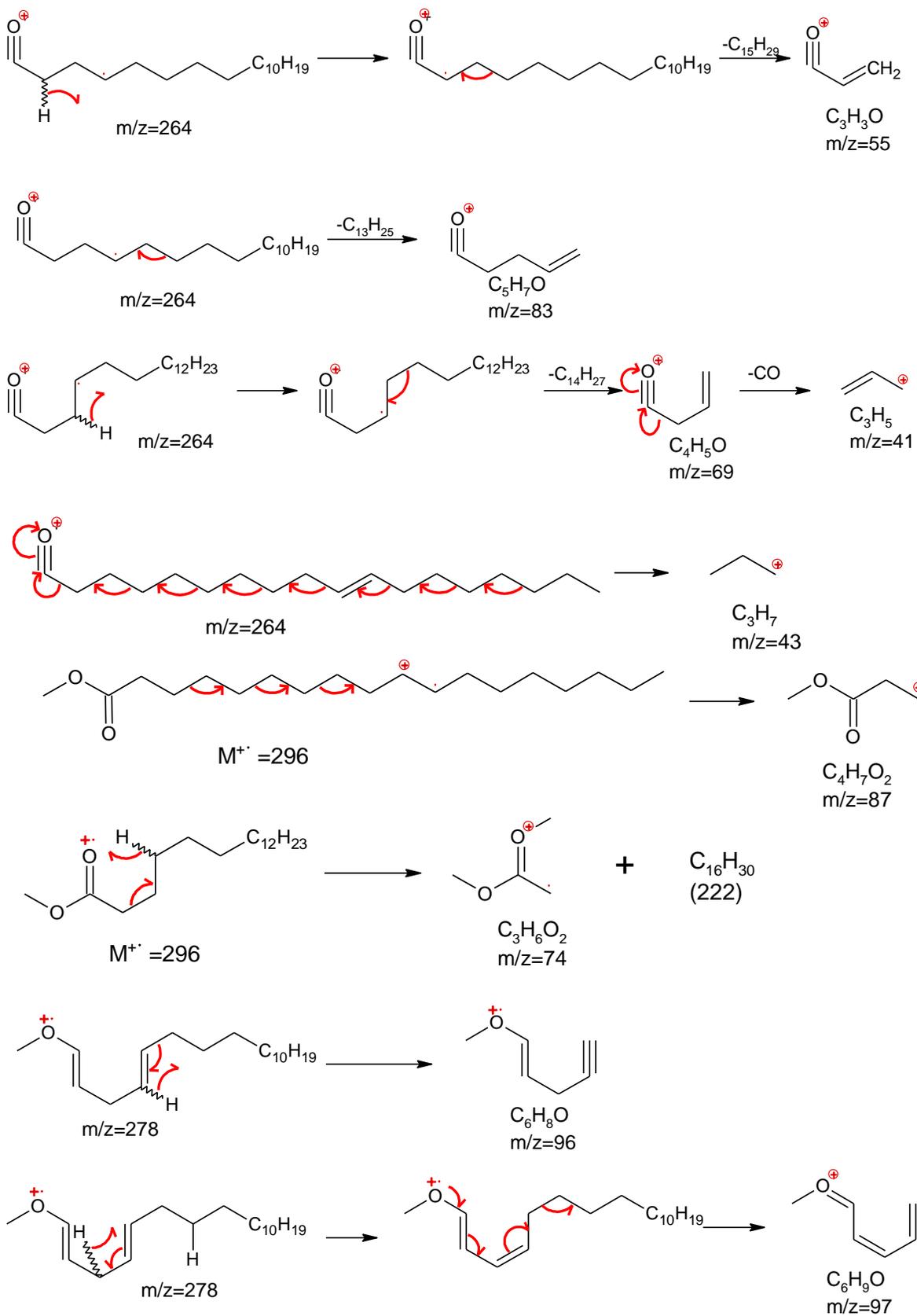


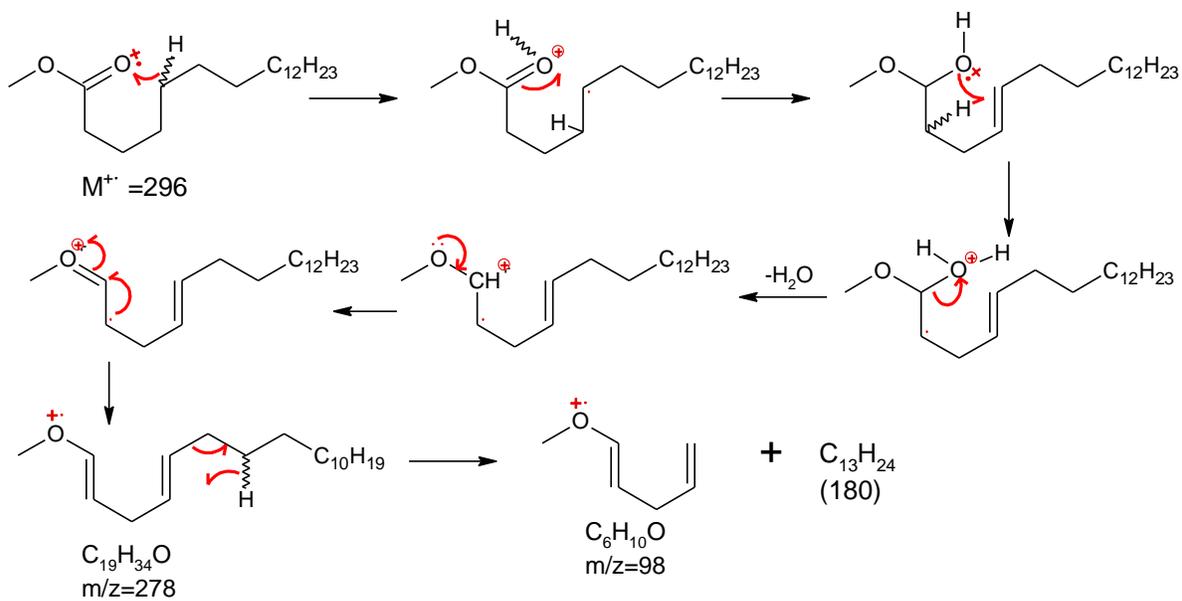
Compuesto 29: 10-Octadecenoato de Metilo



$C_{19}H_{36}O_2$
 $M^+ = 296$







Serie de los alcanos (m/z): 43, 57, 71, 85, 99.

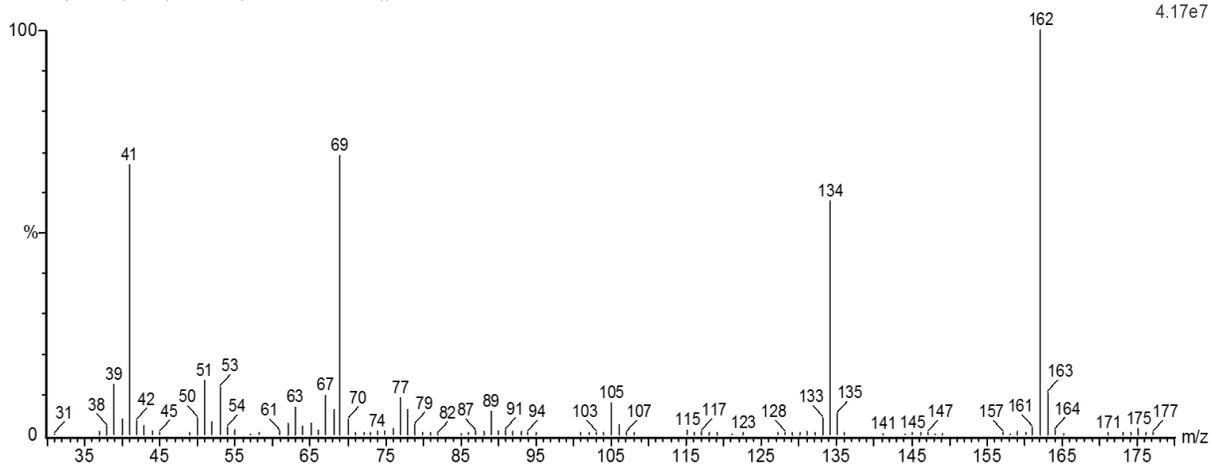
Serie de los alquenos (m/z): 41, 55, 69, 83, 97.

Espectro 30

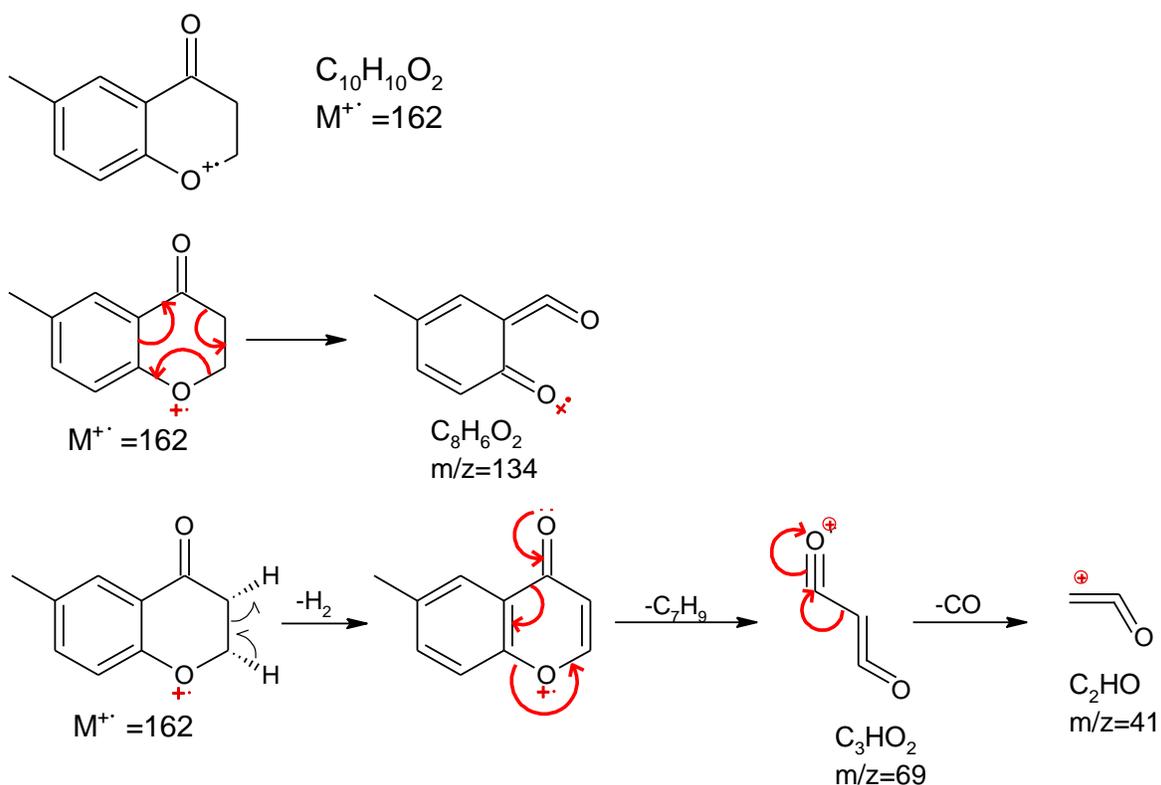
E1 876 (15.140) Cm (875:878-(879:880+872:874))

, 01-May-2013 + 06:51:27

Scan EI+
4.17e7



Compuesto 30: 2,3-Dihidro-6-Metil Cromona

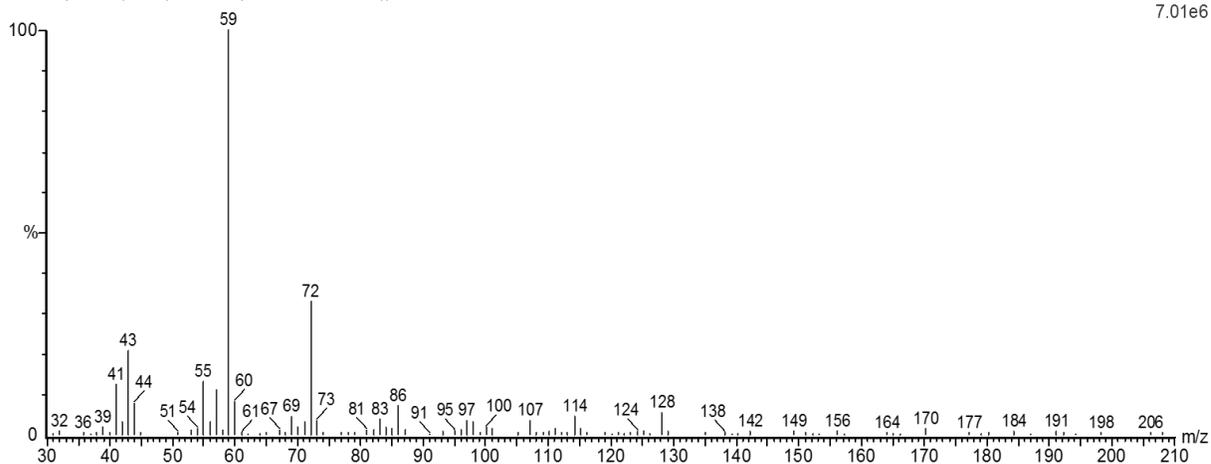


Espectro 31

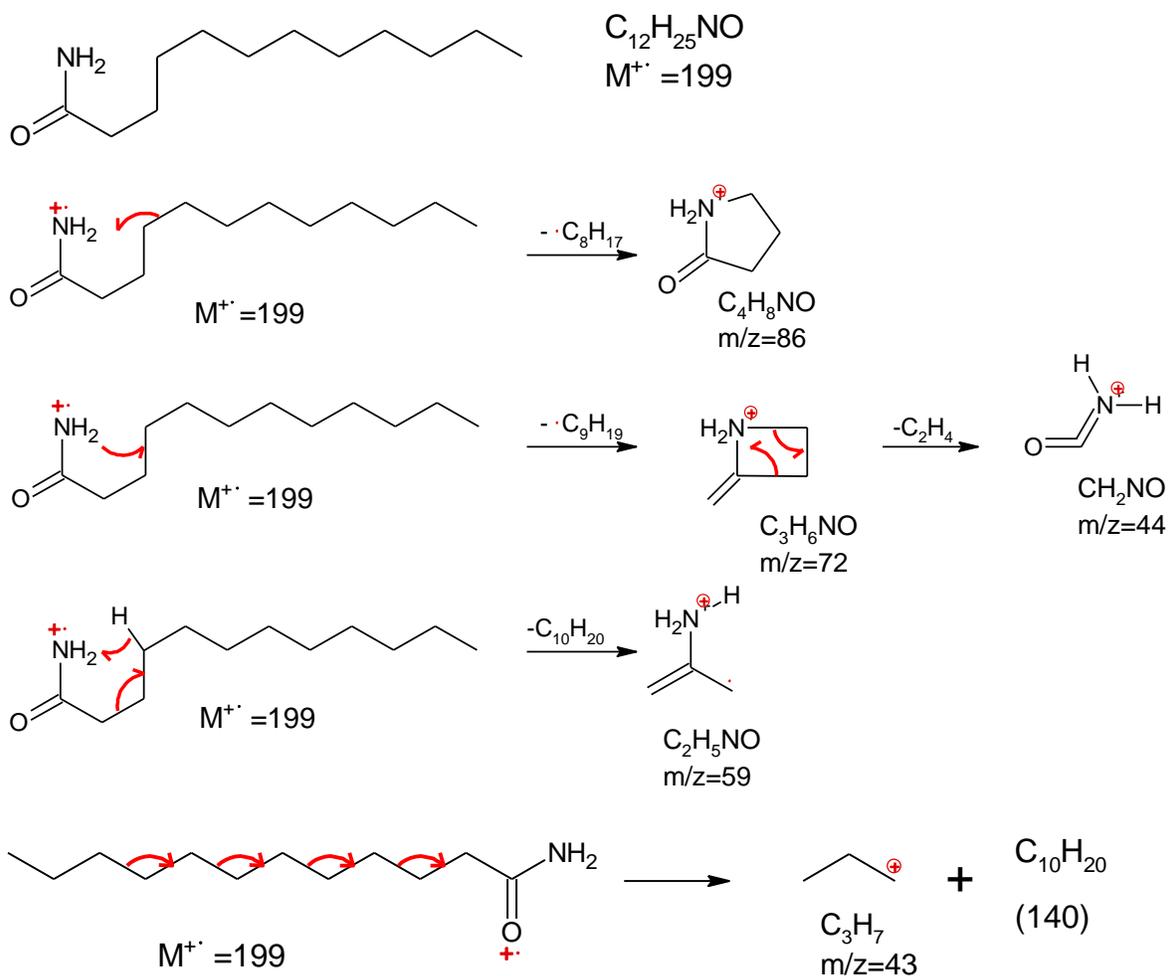
, 01-May-2013 + 06:51:27

E1 885 (15.275) Cm (884:886-(887:888+882:883))

Scan EI+
7.01e6



Compuesto 31: Dodecamida

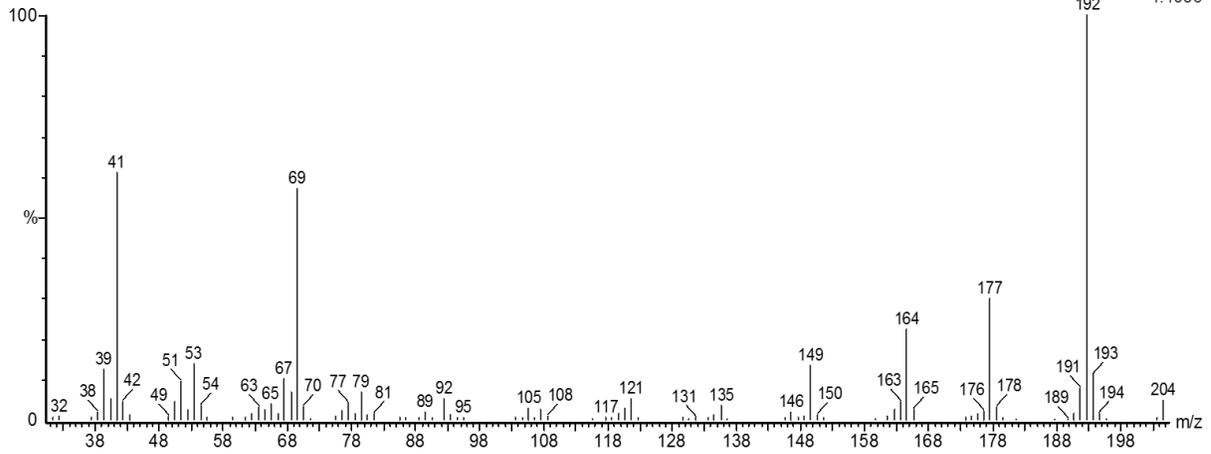


Espectro 32

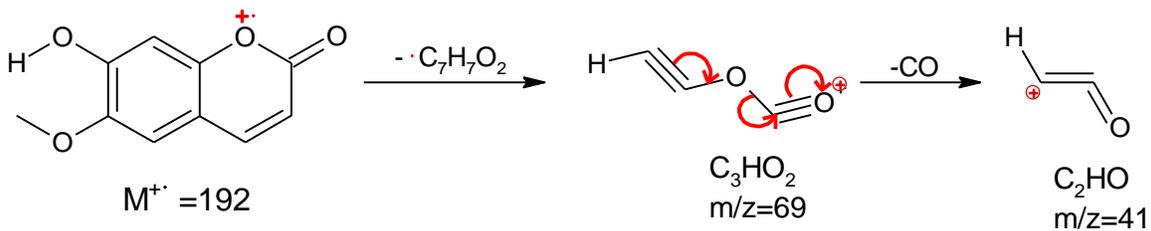
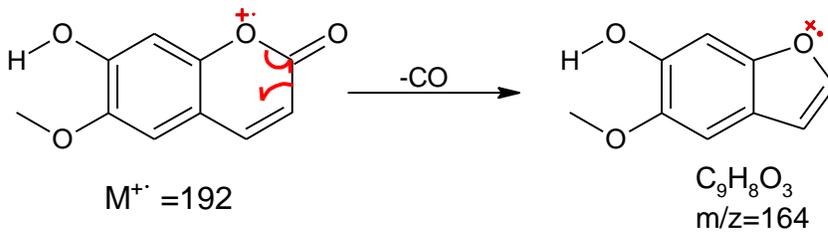
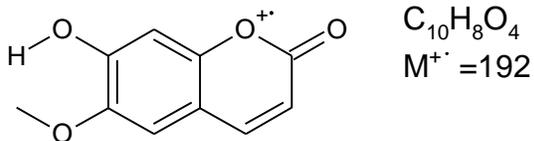
E1 931 (15.965) Cm (930:933-(935:937+926:928))

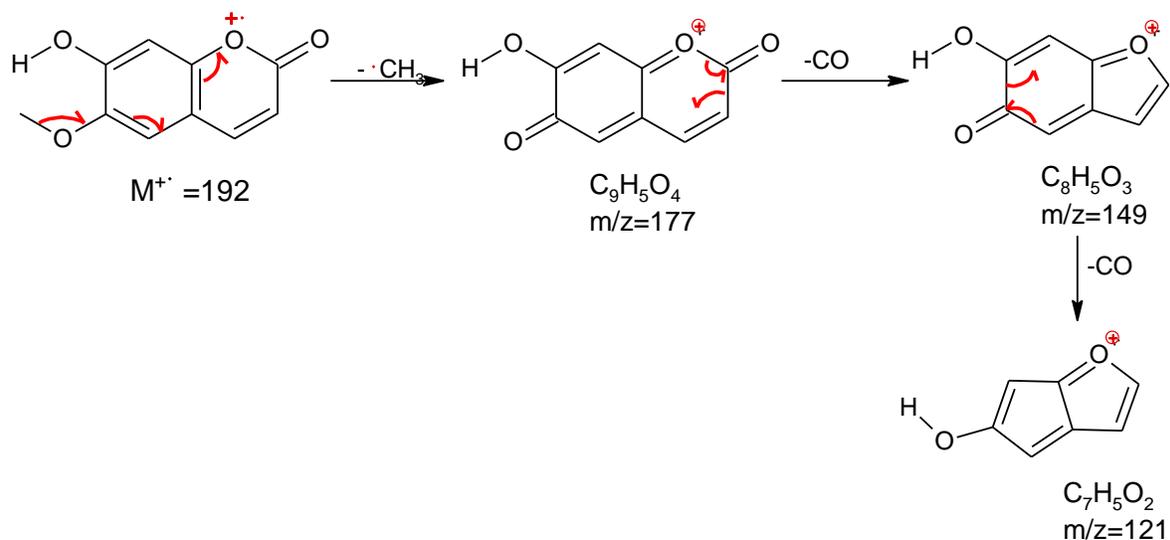
, 01-May-2013 + 06:51:27

Scan EI+
4.40e6



Compuesto 32: 7-Hidroxi-6-Metoxicumarina



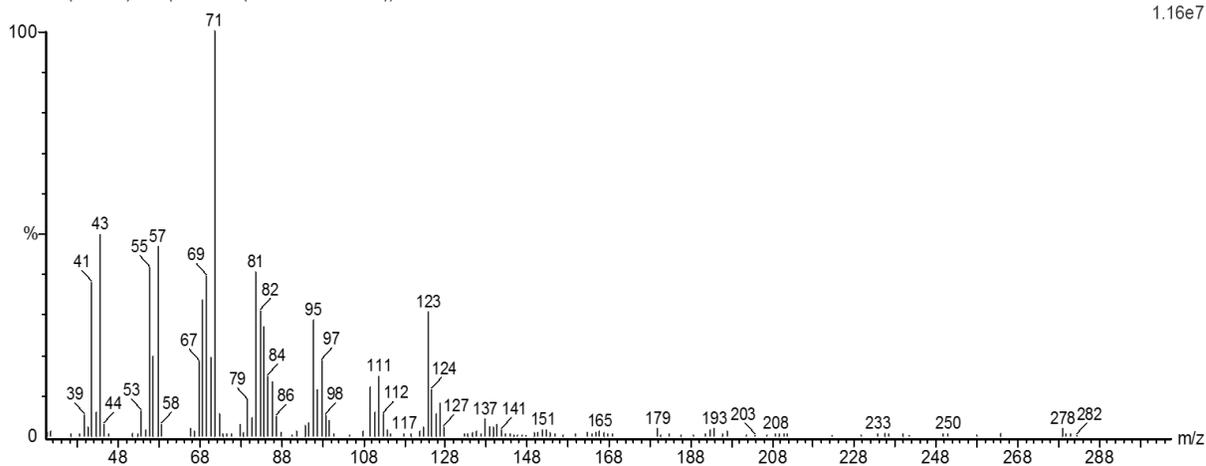


Espectro 33

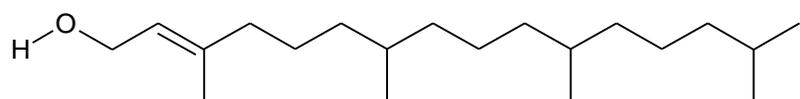
E 9 840 (16.003) Cm (838:842-(844:845+836:837))

, 21-Nov-2013 + 14:51:28

Scan EI+
1.16e7

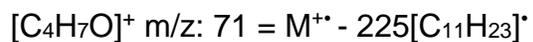
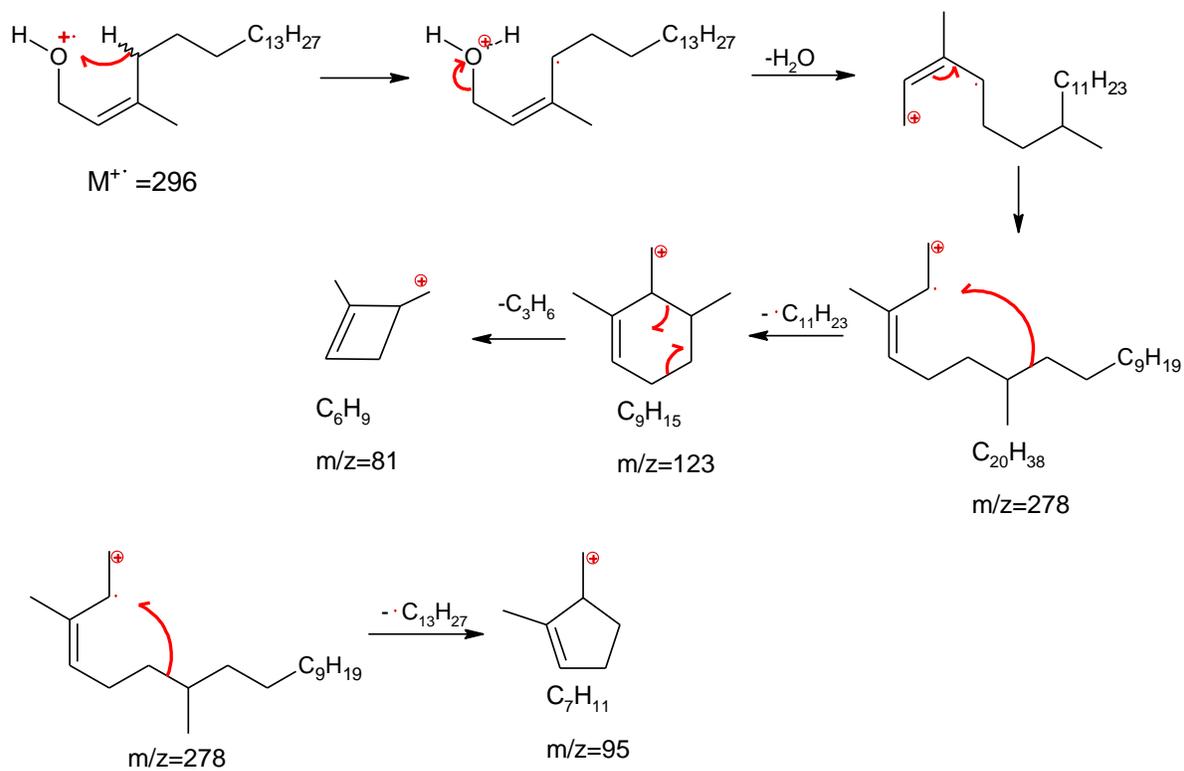


Compuesto 33: Fitol



$C_{20}H_{40}O$

$M^+ = 296$



Serie de los alcanos (m/z): 43, 57, 71, 85, 99, 113.

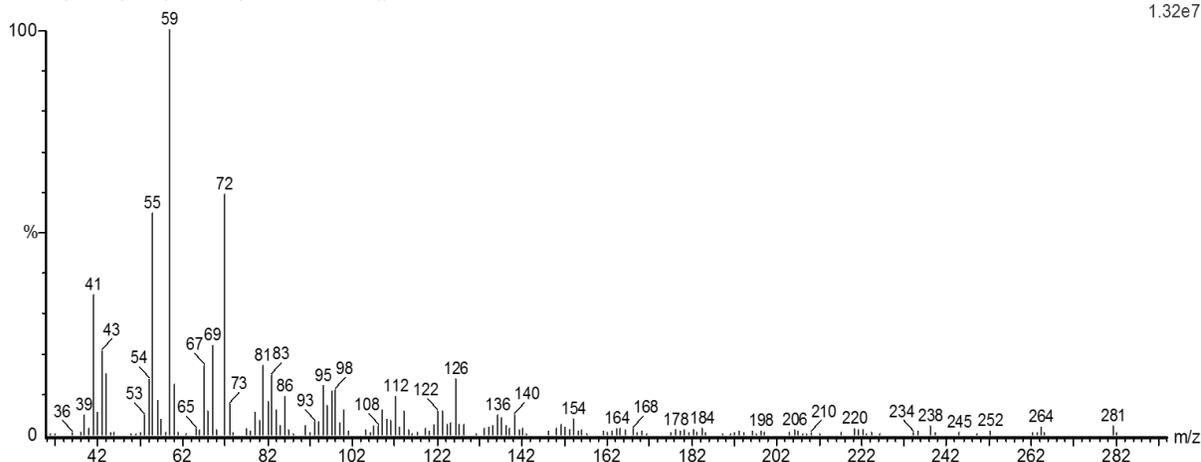
Serie de los alquenos (m/z): 41, 55, 69, 83, 97, 111.

Espectro 34

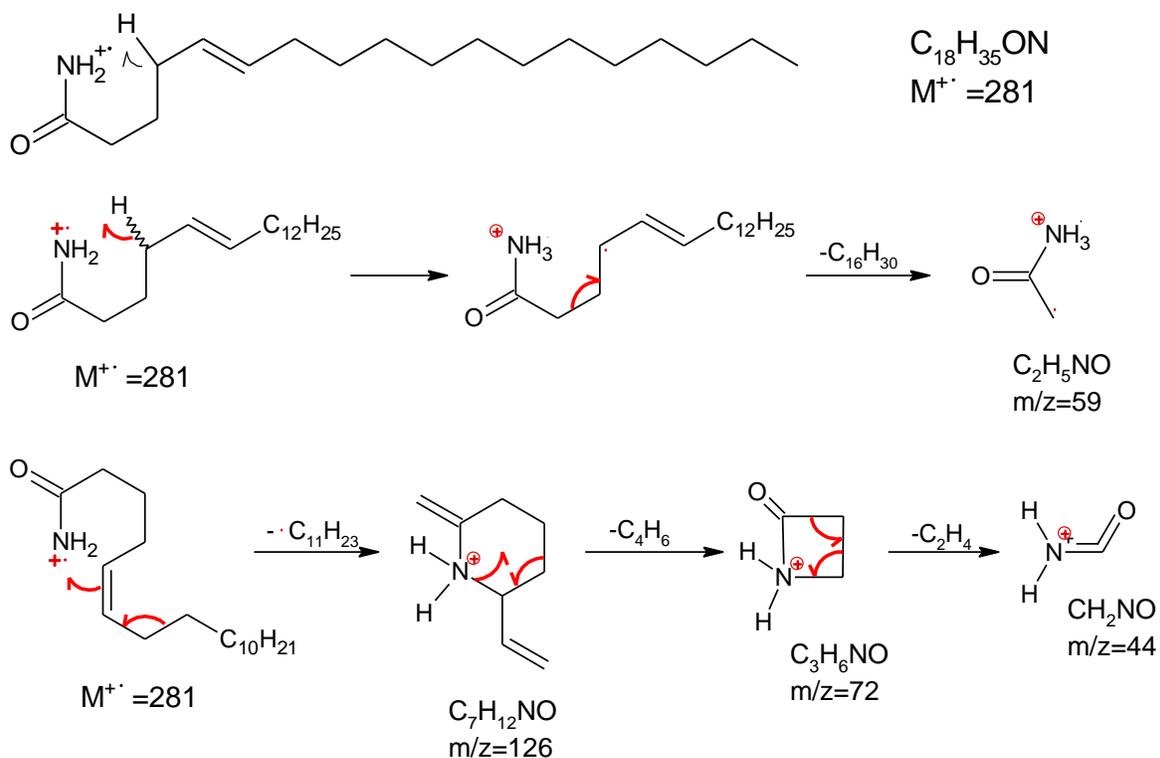
, 01-May-2013 + 06:51:27

E1 940 (16.100) Cm (939:945-(947:951+934:937))

Scan EI+
1.32e7



Compuesto 34: 9-Octadecanamida



Serie de los alcanos (m/z): 43, 57, 71, 85, 99, 113.

Serie de los alquenos (m/z): 41, 55, 69, 83, 97, 111.

CONCLUSIÓN

Debido a la naturaleza de los solventes, se puede decir que los compuestos extraídos con solventes poco o nada polares son compuestos de baja polaridad, que van desde terpenos simples hasta alcoholes terpénicos.

Puede observarse que al aumentar la polaridad del solvente, los compuestos extraídos disminuyen, pero muestran una mayor complejidad estructural.

Los solventes obtenidos con un solvente aprótico polar son esencialmente esteres terpénicos y esteres metílicos de algunos ácidos grasos.

Es importante hacer notar que en todos los extractos (polares y apolares) se encuentran derivados cumarinicos con diferentes tipos de sustituyentes, más o menos complejas.

Tomando en cuenta que las propiedades terapéuticas de este producto son aprovechadas por extracción acuosa en caliente podríamos inferir que en tales condiciones los compuestos extraídos son compuestos polares hidrosolubles como los grupos fenólicos, lo cual sería coincidente con los derivados de la cumarina.

Se identificaron un total de 34 compuestos en un rango de m/z de 136 a 296 unidades, los cuales fueron: 6 esteres (3 insaturados), 7 cetonas (cumarinas), 12 alquenos, 3 alcoholes (1 insaturado y 2 dioles), 2 fenoles sustituidos, 2 amidas, 1 compuesto aromático y 1 ácido carboxílico.

Dentro de los compuestos encontrados, las cumarinas son conocidas por efectos antiinflamatorios y antivirales, que en conjunto con los demás metabolitos secundarios presentes en la planta, pueden dar a esta sus propiedades medicinales.

Para confirmar las propiedades específicas de los compuestos presentes en la planta, es necesario purificar los extractos y llevar a cabo pruebas biológicas.

Referencias

- [1] Organización Mundial de la Salud, «Temas de Salud: Medicina Tradicional,» OMS, 2002. [En línea]. Available: http://www.who.int/topics/traditional_medicine/es/. [Último acceso: 25 Enero 2014].
- [2] F. Guzmán Aguilar, «Medicina Tradicional: esencial para la salud de los Mexicanos,» *El Universal Online*, 18 Octubre 2012.
- [3] A. M. David, Z. J. Di Bella, A. C. Lopes y M. Valsberg, «Incidence of Pre-menstrual Syndrome in Sports Practice,» *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, vol. 15, nº 5, pp. 330-333, 2009.
- [4] Universidad Nacional Autónoma de México, «Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana,» 2009. [En línea]. Available: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=peric%C3%B3n&id=8002>. [Último acceso: 25 Noviembre 2013].
- [5] L. R. Abdala, «"Flavonoids of the aerial parts from *Tagetes lucida* (Asteraceae)",» *Biochemical Systematics and Ecology*, nº 27, pp. 753-754, 1999.
- [6] C. M. Ac Santa Cruz, «"Extracción a nivel de laboratorio de aceite esencial crudo de Pericón (*Tagetes lucida* Cav.) y utilización del desecho sólido para la extracción del colorante natural, para su uso en el teñido de fibras naturales,» de *Tesis de Licenciatura*, Guatemala, Universidad de San Carlos Guatemala, 2005, pp. 48-50.
- [7] B. d. Sahagún, *Historia General de las cosas de la Nueva España*, vol. 1, 1946, p. 9.
- [8] H. Vibrans, «*Tagetes lucida* Cav.,» CONABIO, 14 Julio 2009. [En línea]. Available: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/tagetes-lucida/fichas/ficha.htm>. [Último acceso: 13 Mayo 2014].
- [9] A. I. Ortiz Vollbert, «Bioactividad del extracto etanólico de *Tagetes lucida* Cav. sobre diversos hongos y bacterias fitopatógenos,» México D.F., Universidad Nacional Autónoma de México, 2009, pp. 33-39.

- [10] «Informations Documents,» [En línea]. Available: <http://informations-documents.com/environnement/coppermine15x/displayimage.php?pid=3671>. [Último acceso: 24 Febrero 2015].
- [11] E. D. Olvera Sánchez, «Estudio Fitoquímico y Evaluación Antimicrobiana de *Tagetes lucida* (PERICON),» México, D.F., Universidad Nacional Autónoma de México, 2007, pp. 21-25.
- [12] J. F. Ciccío, «A source of almost pure methyl chavicol: volatile oil from the aerial parts of *Tagetes lucida* (Asteraceae) cultivates in Costa Rica,» *Revista de Biología Tropical*, vol. 52, nº 4, pp. 853-857, Diciembre 2004.
- [13] G. Guadarrama Cruz, F. Alarcon Aguilar, R. Lezama Velasco, G. Vazquez Palacios y H. Bonilla Jaime, «Antidepressant-like effects of *Tagetes lucida* Cav. in the forced swimming test,» *Journal of Ethnopharmacology*, nº 120, pp. 277-281, 2008.
- [14] V. G. Samol Juárez y B. C. Santizo Paz, «Actividad Inhibitoria de Extractos y Aceites Esenciales de especies condimentarias, alimenticias y medicinales contra *Campylobacter jejuni*,» Guatemala, Universidad de San Carlos, 2011, pp. 19-36, 46-51.
- [15] V. Zúñiga Girón, «Determinación del efecto de un compuesto aislado de *Tagetes lucida* Cav. con actividad vasodilatadora y antihipertensiva en rata SHR,» Cuautitlán Izcalli, Edo. de México, UNAM Cuautitlán, 2013, pp. 69-71.
- [16] K. K. Jiménez Martínez, «Estudio Químico y Actividad Antimicrobiana de la infusión de *Tagetes lucida* Cav.,» de *Tesis de Licenciatura*, México, D.F., Universidad Nacional Autónoma de México, 2013, pp. 6-19.
- [17] C. L. Céspedes, G. Avila, A. Martínez, B. Serrato, J. C. Calderón-Mugica y R. Salgado Garciglia, «Antifungal and Antibacterial Activities of Mexican Tarragon (*Tagetes lucida*),» *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, nº 54, pp. 3521-3527, 2006.
- [18] C. Valencia Ortiz, de *Fundamentos de Fitoquímica*, Primera ed., México D.F., Trillas, 1995, p. 7.
- [19] O. Lock de Ugaz, «Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales,» de *Manual de Fitoterapia*, Lima, Perú, Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica de Perú, 1988, p. 44.

- [20] G. Sepúlveda Jiménez, «La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas,» *Revista Mexicana de Fitopatología*, vol. 21, nº 003, pp. 355-363, Diciembre 2003.
- [21] T. Swain, *Biochemistry of Plant Phenolics*, New York: Academic Press, 1979.
- [22] R. Murray y e. al., *The Natural Coumatins*, New York: Jhon Wiley and Sons LTD, 1982.
- [23] G. Billek, *Biosynthesis of Aromatic Compounds*, Oxford: Pergamon Press, 1966.
- [24] I. Martínez Solís y E. Castillo García, *Manual de Fitoterapia*, Barcelona: Elsevier Doyma, S.L., 2007, p. 35.
- [25] D. Castro Restrepo, «Metabolitos Secundarios,» de *Cultivo y Producción de plantas aromáticas y medicinales*, Antioquía Colombia, Fondo Editorial Universidad Católica de Oriente, 2013, pp. 75-76.
- [26] M. Villar López y O. Villavicencio Vargas, «Farmacología de Plantas Medicinales,» de *Manual de Fitoterapia*, Lima, Perú, Organización Panamericana de la Salud, 2001, pp. 70-76.
- [27] United Nations Industrial Development Organization (UNIDO), «Extraction Technologies of Medicinal and Aromatic Plants,» International Center of Science and High Technology, Italia , 2008.
- [28] D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler y S. R. Crouch, «Separaciones Cromatográficas,» de *Fundamentos de Química Analítica*, Octava Edición ed., Thomson, p. 931.
- [29] Universidad Autónoma Metropolitana, «Docencia/Prácticas,» [En línea]. Available:
<http://www.uam.es/docencia/jppid/documentos/practicas/actuales/guion-p6.pdf>. [Último acceso: 6 Junio 2014].
- [30] m. F. Striegel y J. Hill, «Scientific Tools for Conservation,» de *Thin-Layer Chromatography for binding media analysis*, Los Angeles CA, The Getty Conservation Institute, 1996, p. 5.

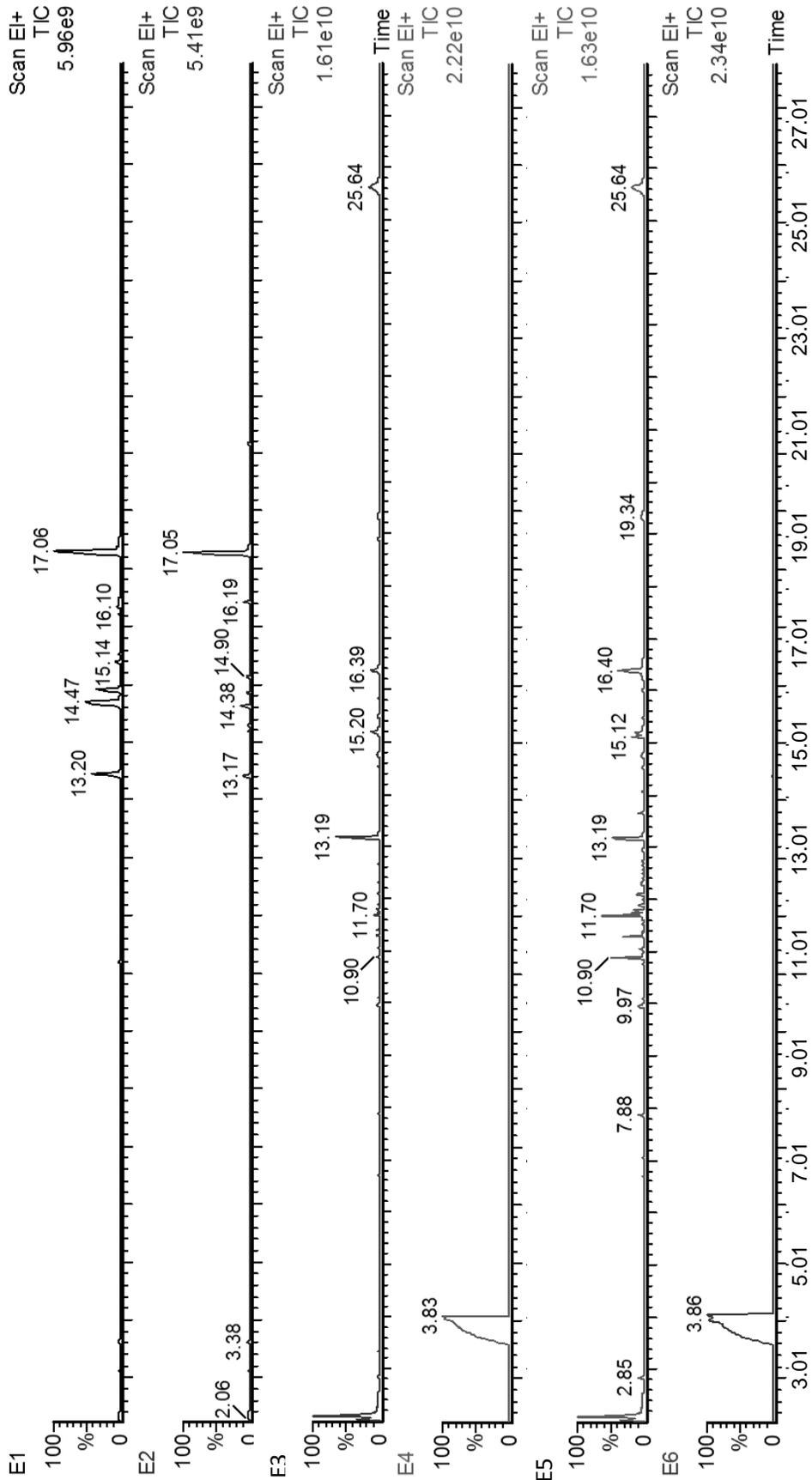
- [31] D. A. Skoog, F. J. Holler y S. R. Crouch, «Introducción a las Separaciones Cromatográficas,» de *Principios de Análisis Instrumental*, Sexta Edición ed., México, D.F., Cengage Learning, 2010, p. 762.
- [32] D. C. Harris, «Espectrometría de Masas,» de *Análisis Químico Cuantitativo*, Tercera Edición ed., Barcelona, Reverté, 2012, pp. 518-519.

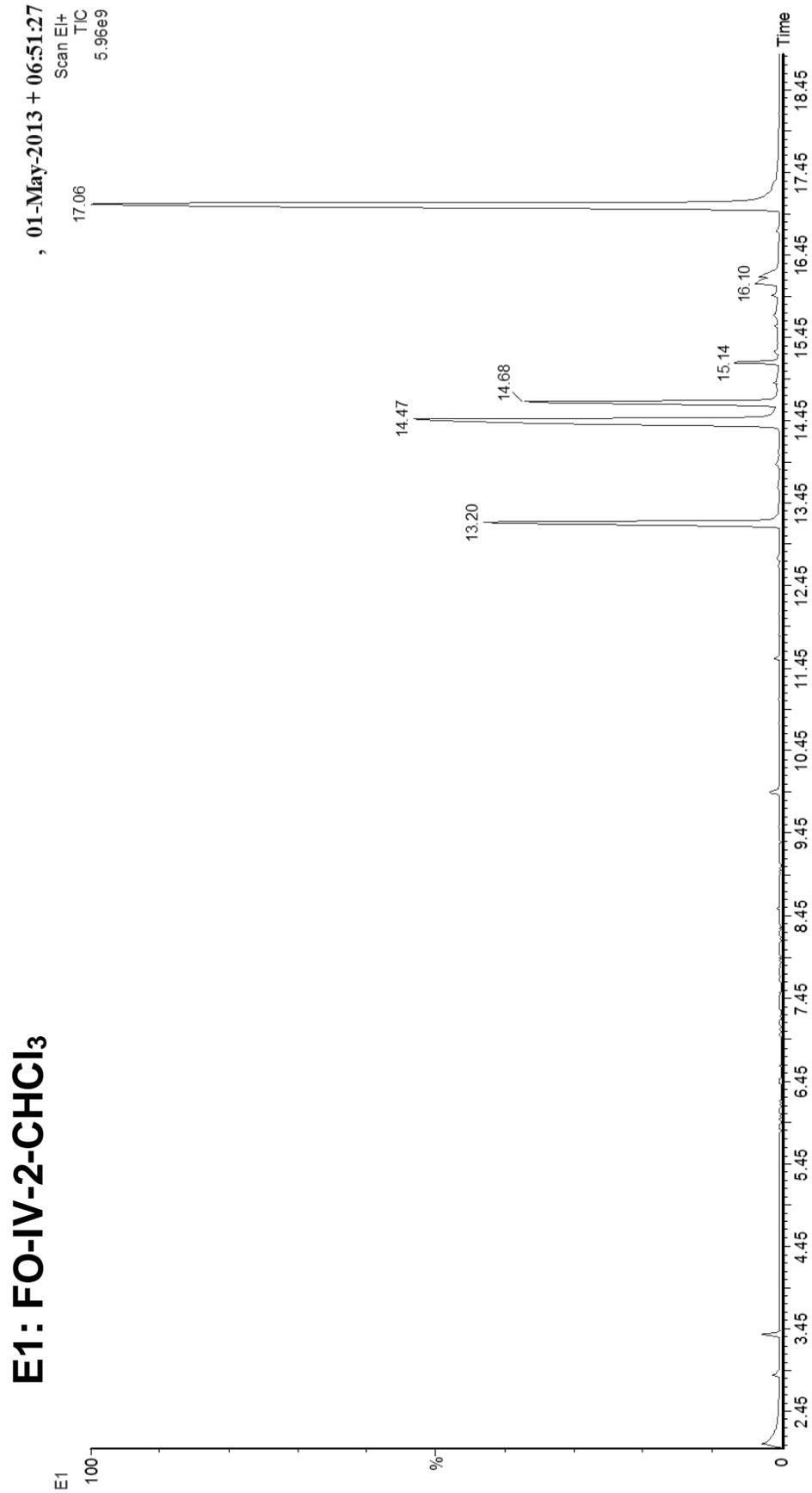
ANEXO 1

FRAGMENTOGRAMAS

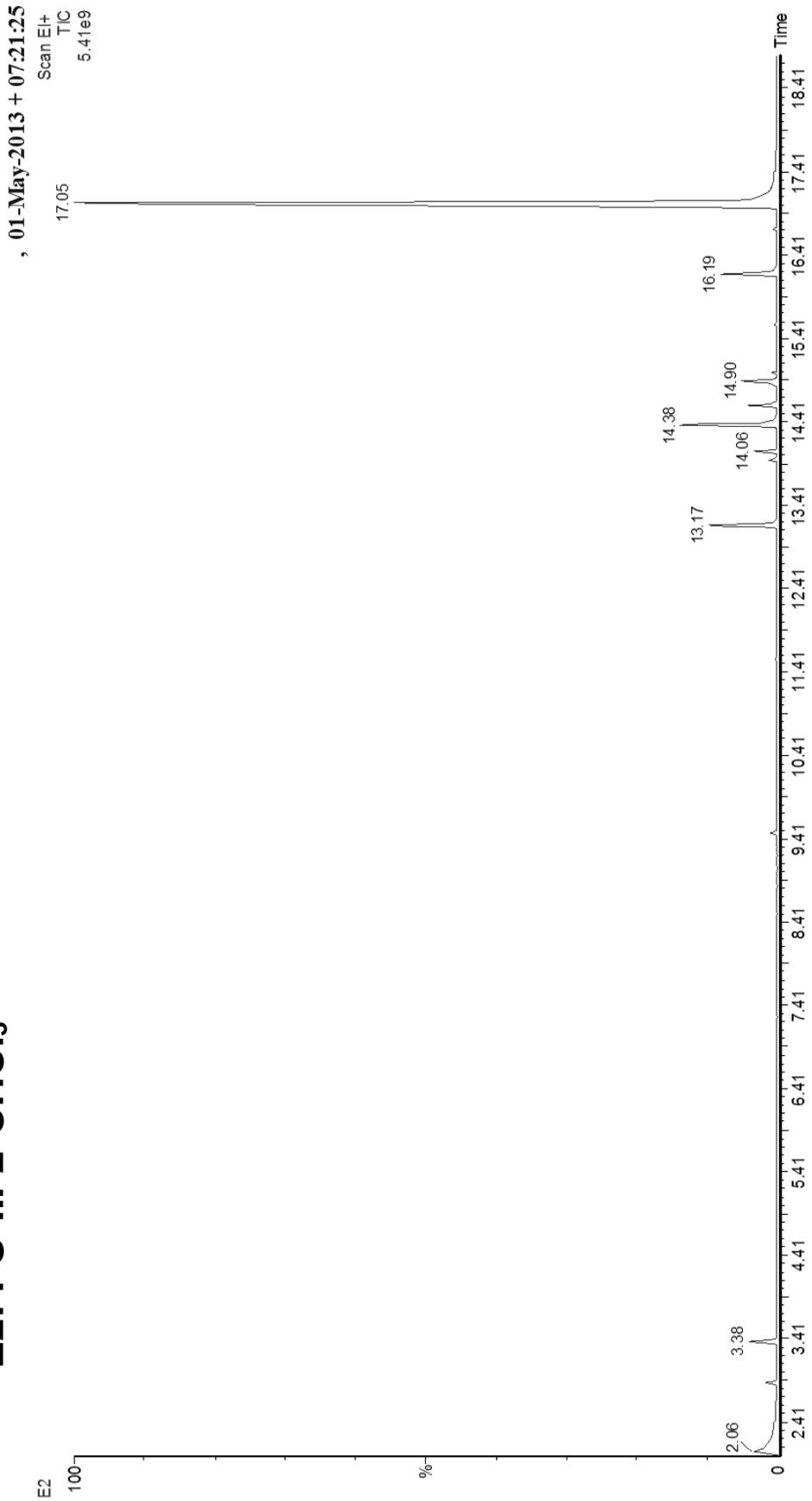
TODAS LAS MUESTRAS

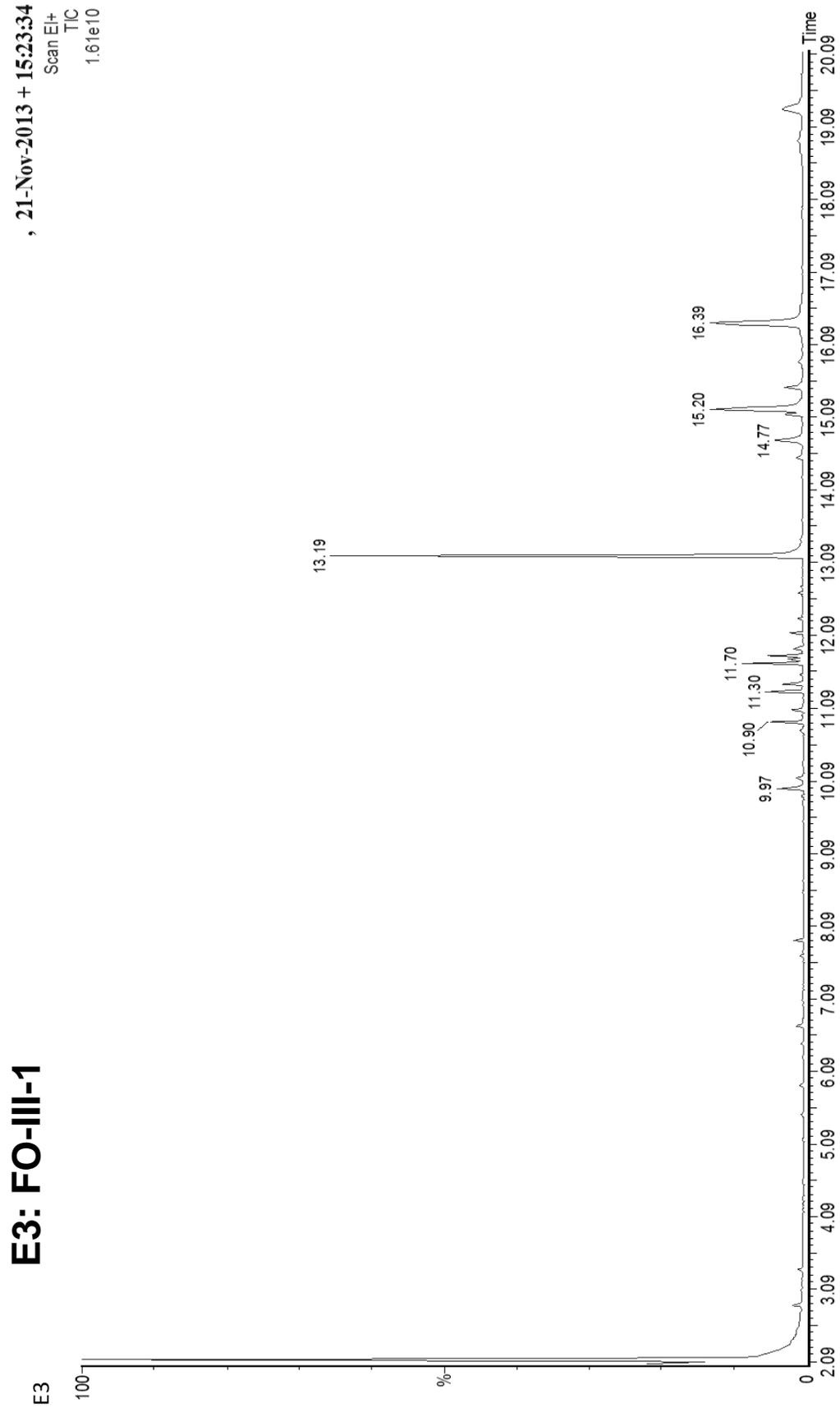
, 01-May-2013 + 06:51:27





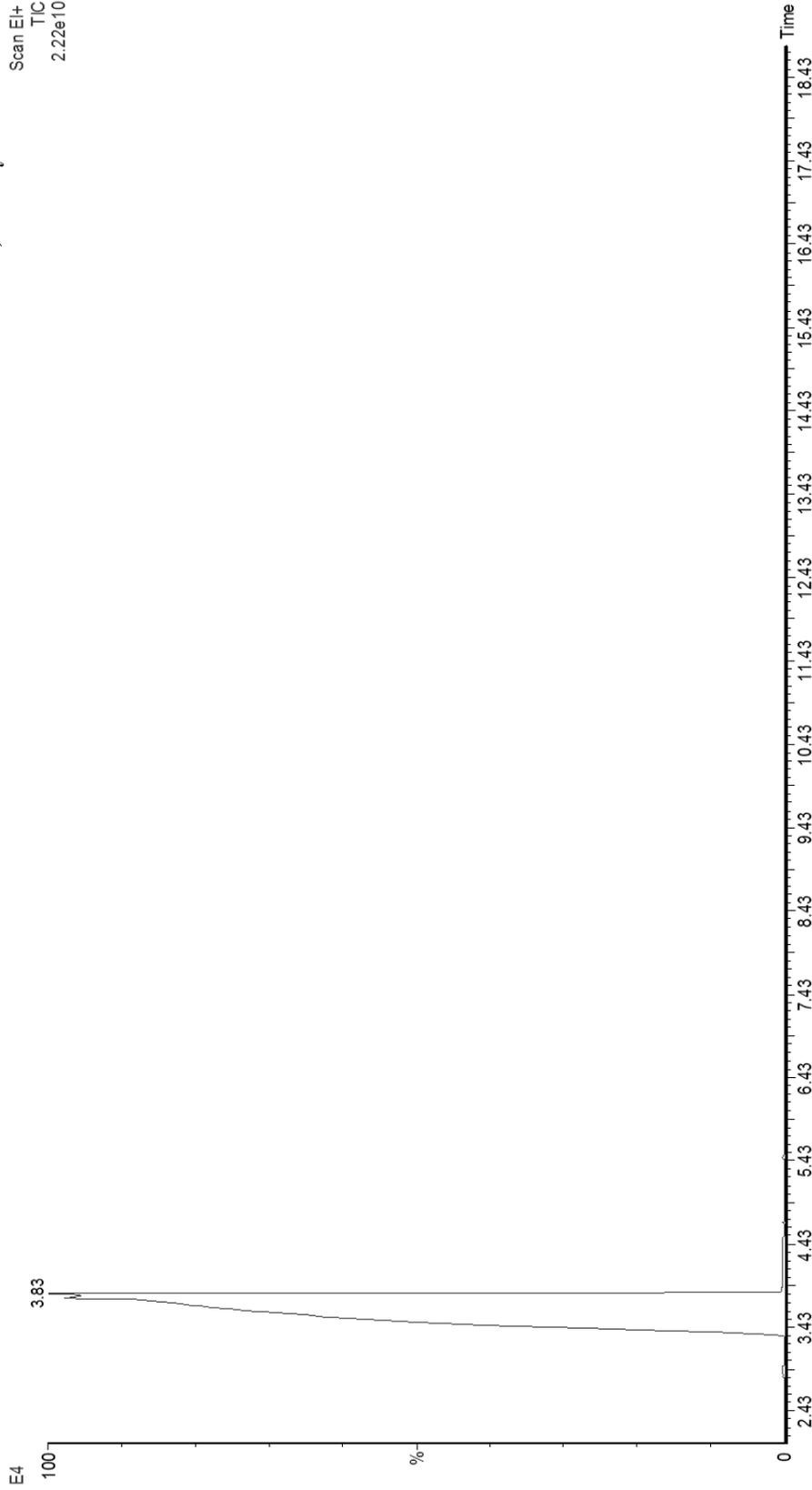
E2: FO-III-2-CHCl₃



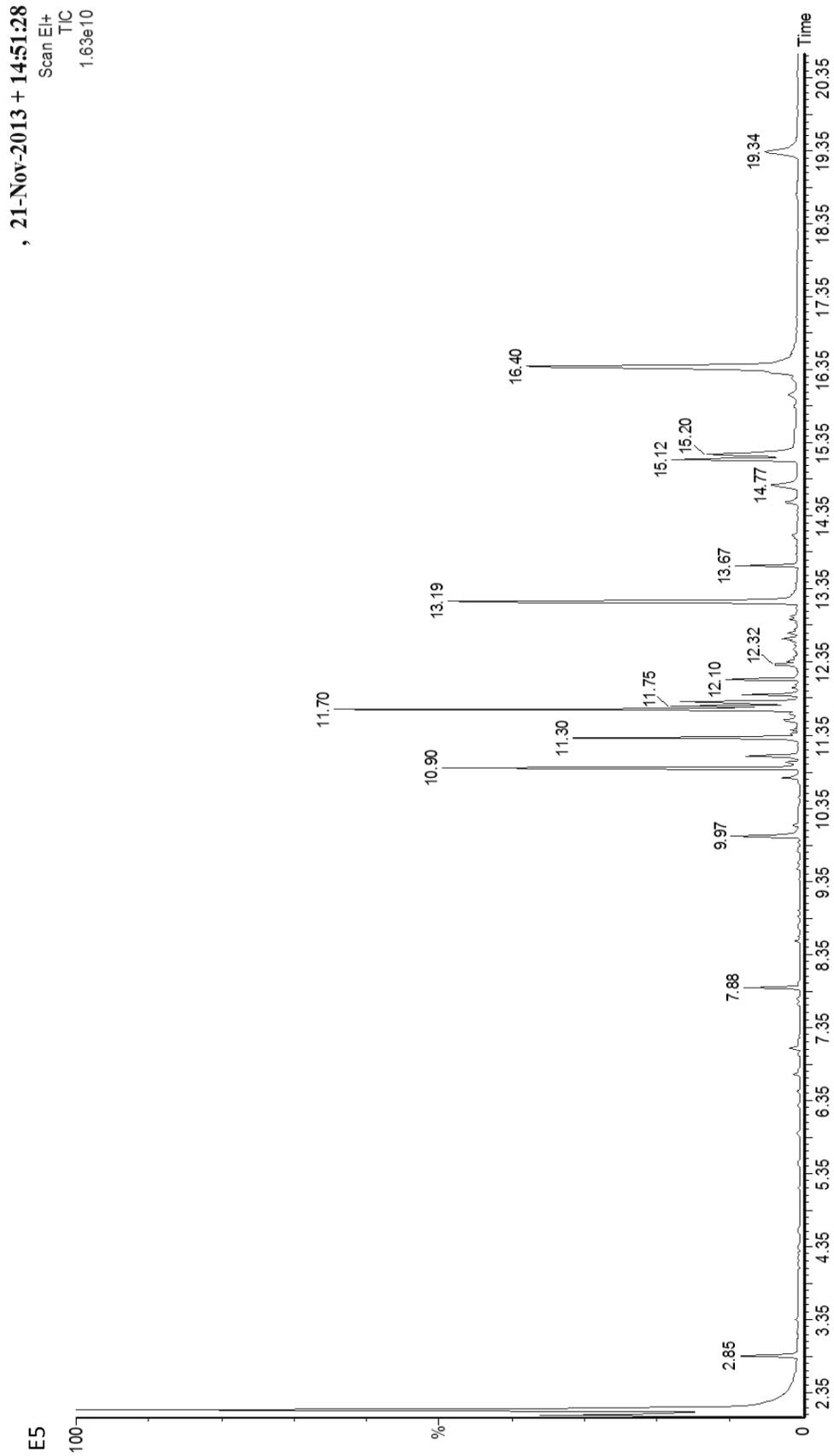


E4: FO-III-3-CCl₄

, 01-May-2013 + 08:21:19
Scan E1+
TIC
2.22e10

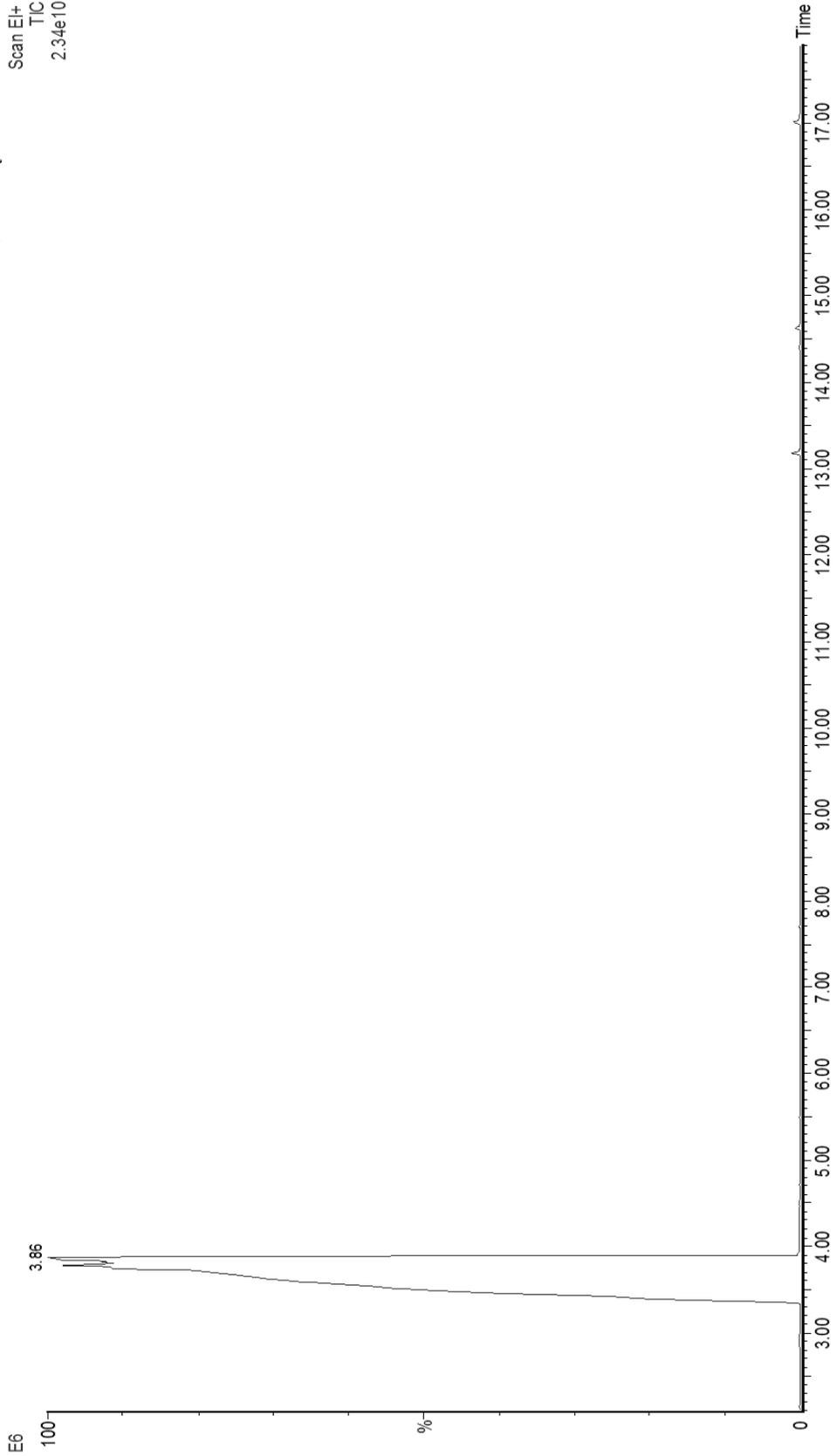


E5: FO-IV-1



E6: FO-IV-3-CCl₄

, 01-May-2013 + 09:21:12
Scan E1+
TIC
2.34e10



ANEXO 2

IDENTIFICACIÓN Y

COMPARACIÓN DE

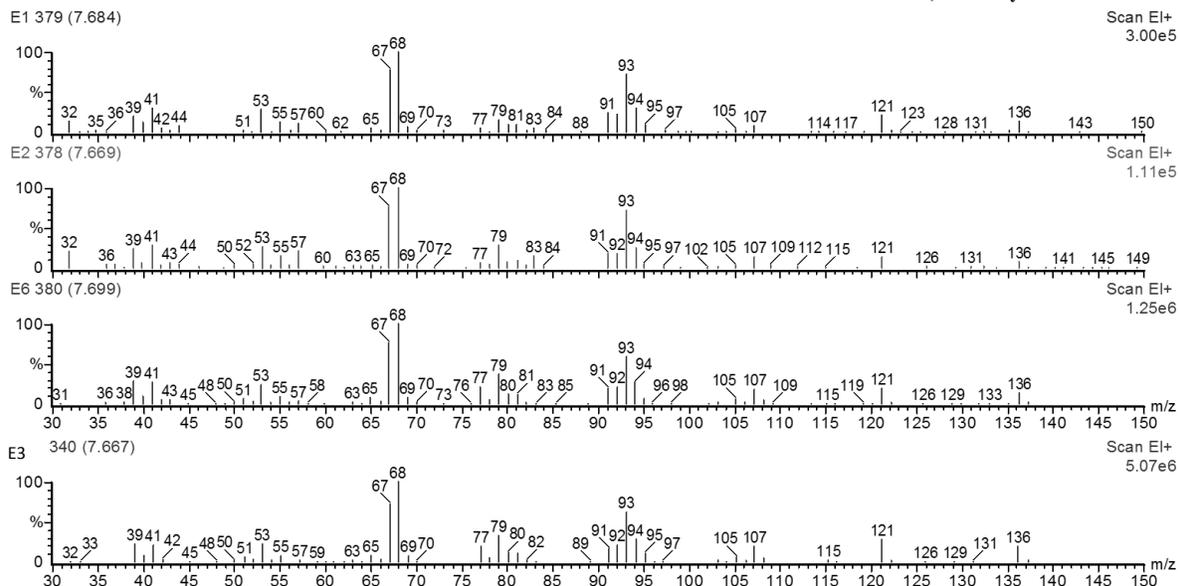
COMPUESTOS

SEMEJANTES EN

MUESTRAS DIFERENTES

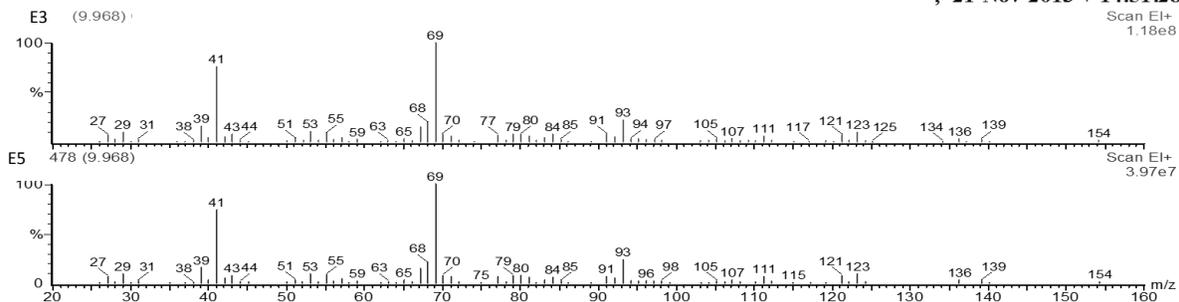
Espectro 2, Compuesto 2: D-Limoneno

, 01-May-2013 + 06:51:27

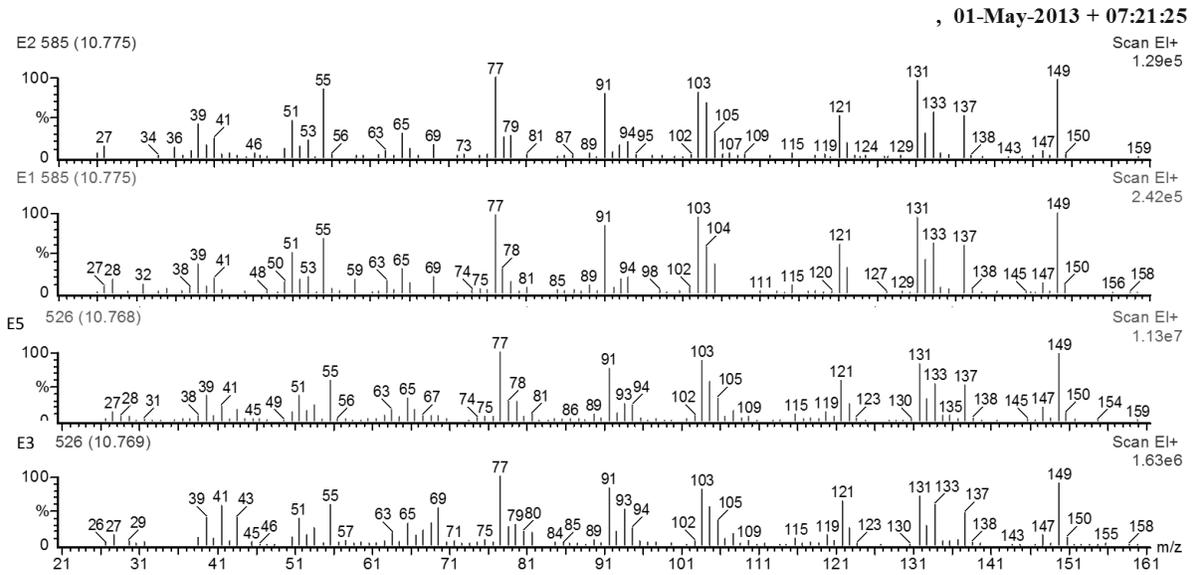


Espectro 6, Compuesto 6: 3,7-dimetil-2,6-Octadien-1-ol,

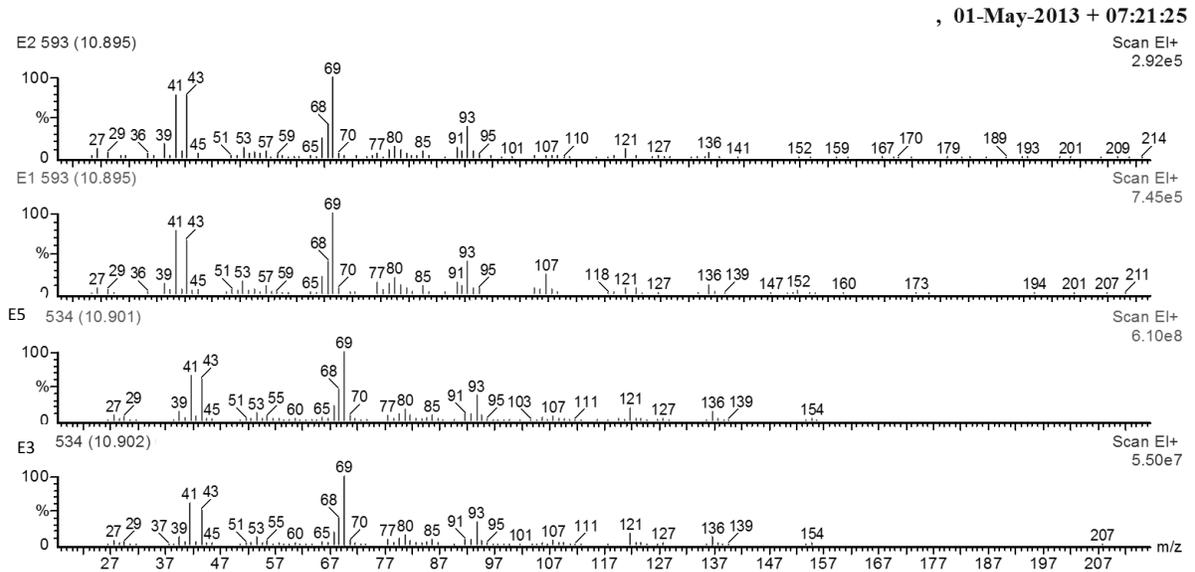
, 21-Nov-2013 + 14:51:28



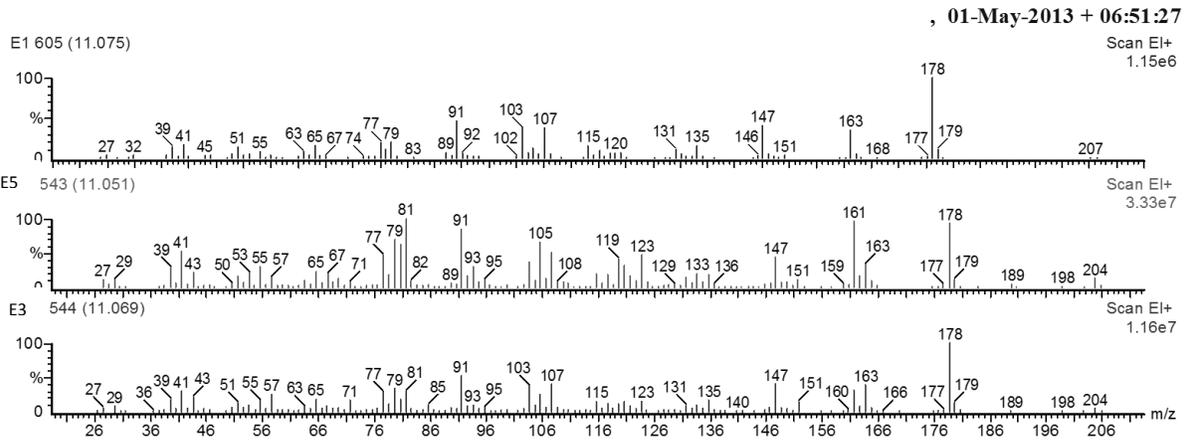
Espectro 8, Compuesto 8: Eugenol



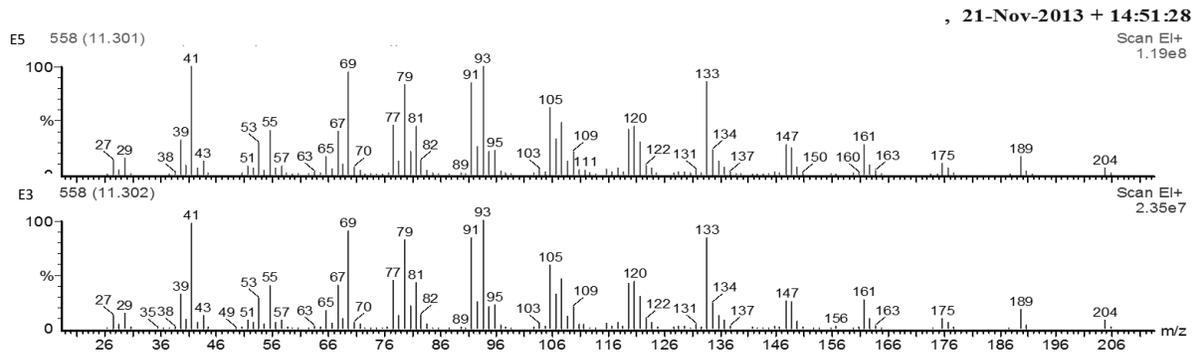
Espectro 9, Compuesto 9: Acetato de Geranilo



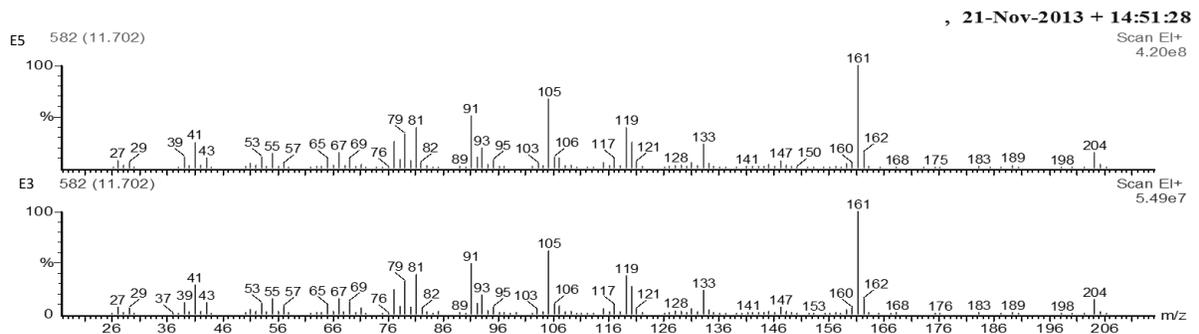
Espectro 10, Compuesto 10: Éter metílico de Eugenol



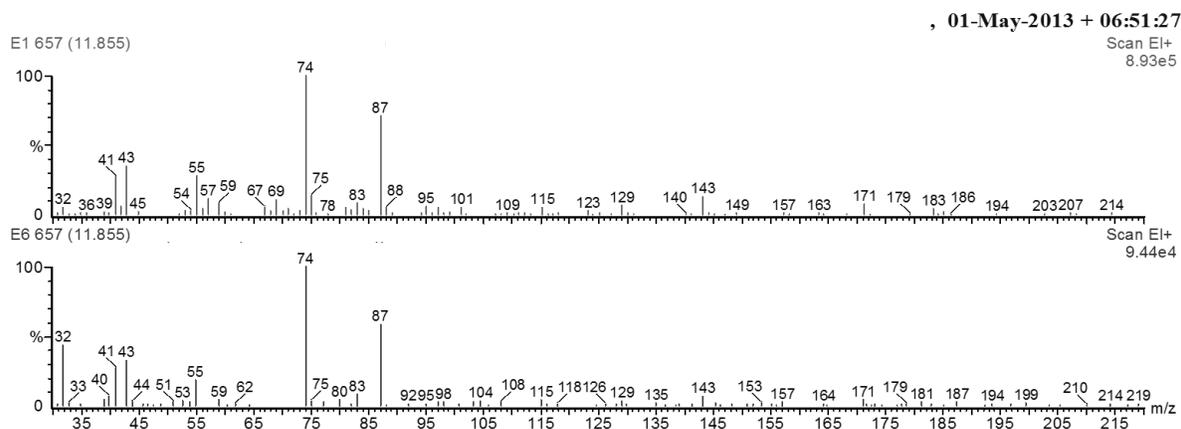
Espectro 11, Compuesto 11: Cariofileno



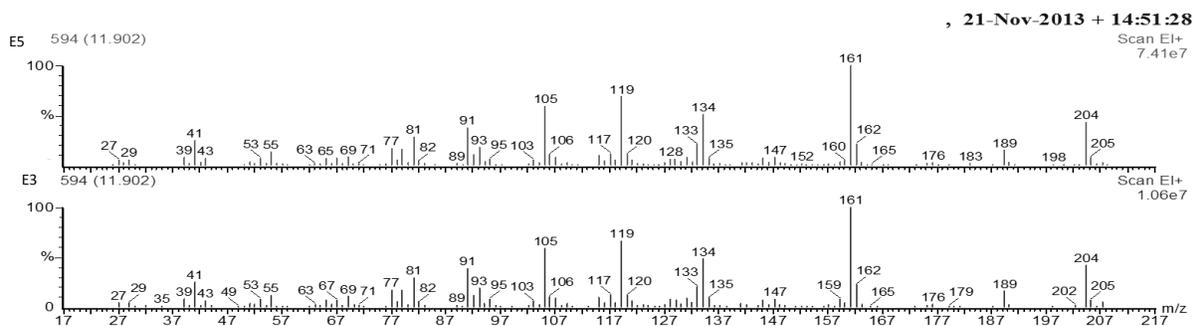
Espectro 14, Compuesto 14: β -Cubebeno



Espectro 17, Compuesto 17: Dodecanoato de Metilo

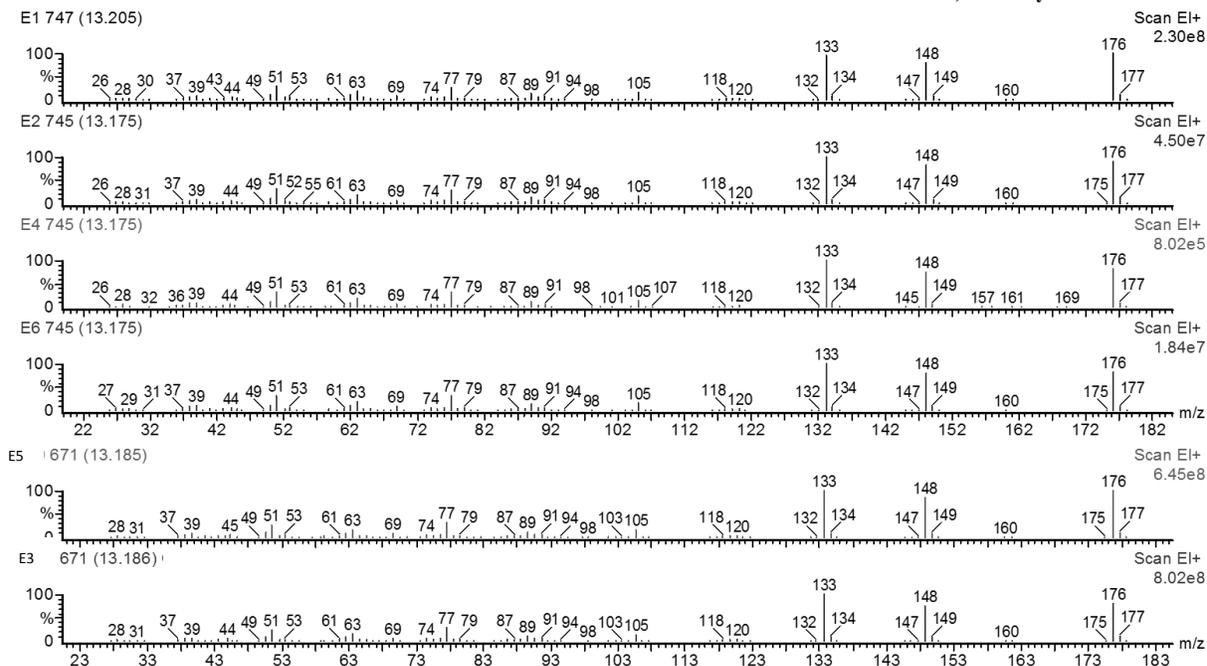


Espectro 18, Compuesto 18: δ -Cadineno



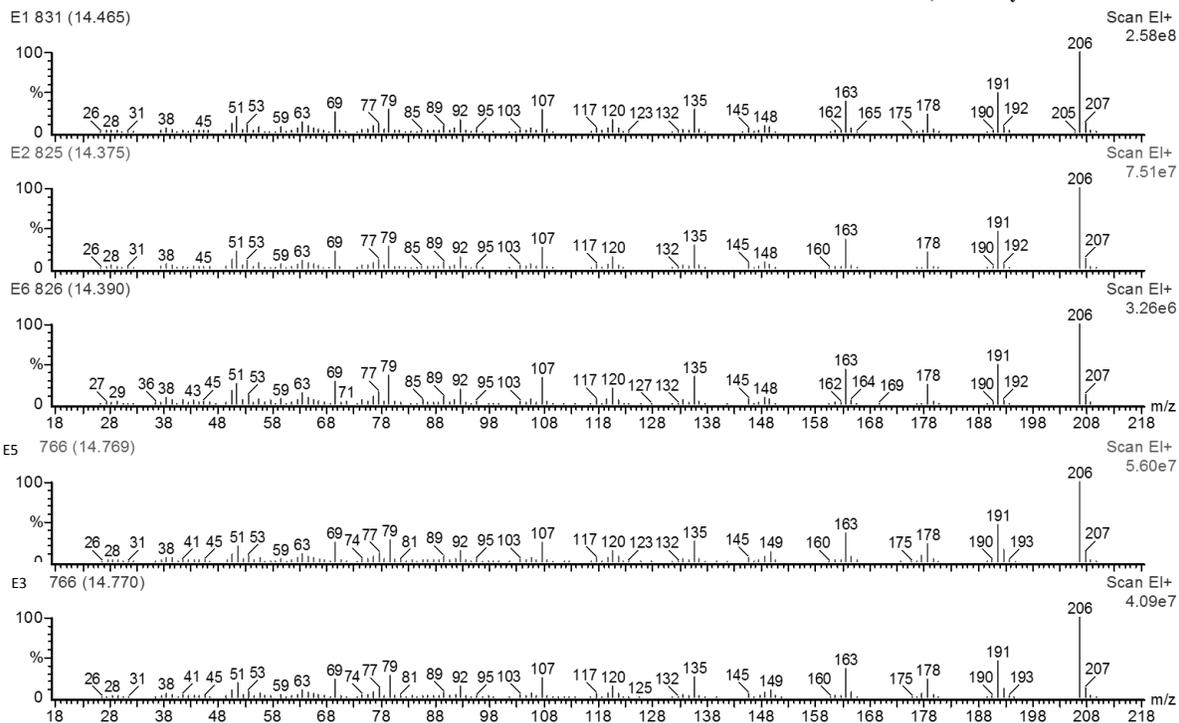
Espectro 21, Compuesto 21: 7-Metoxicumarina, Herniarina

, 01-May-2013 + 06:51:27



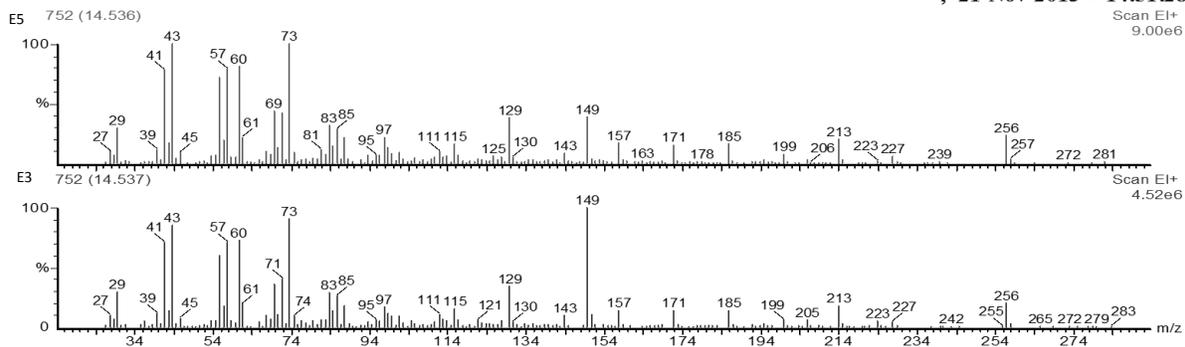
Espectro 26, Compuesto 26: 6,7-Dimetoxicumarina,

, 01-May-2013 + 06:51:27



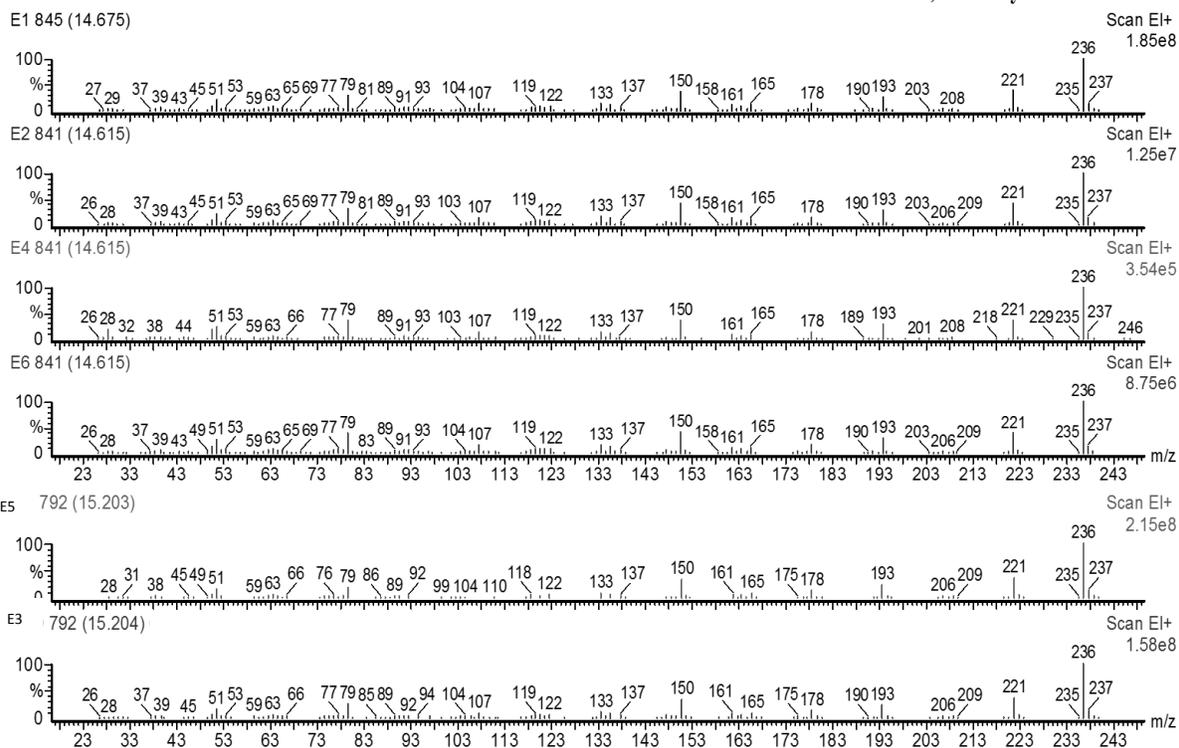
Espectro 27, Compuesto 27: Ácido N-hexadecanoico, Ácido Palmítico

, 21-Nov-2013 + 14:51:28



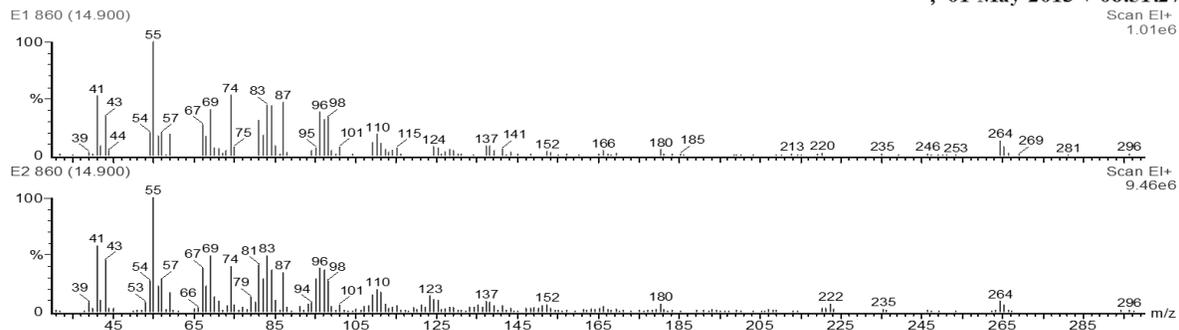
Espectro 28, Compuesto 28: 3,4,7-Trimetoxicumarina

, 01-May-2013 + 06:51:27



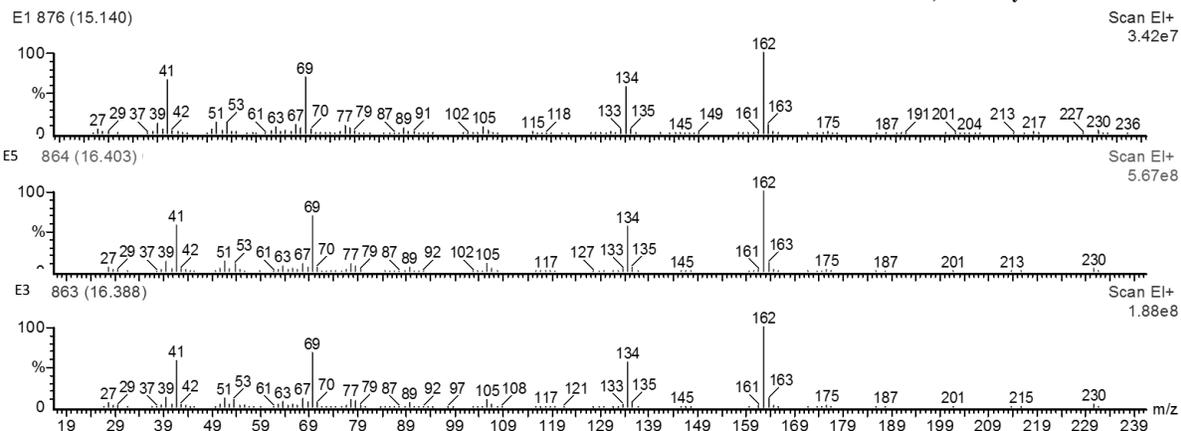
Espectro 29, Compuesto 29: 10-Octadecanoato de Metilo

, 01-May-2013 + 06:51:27



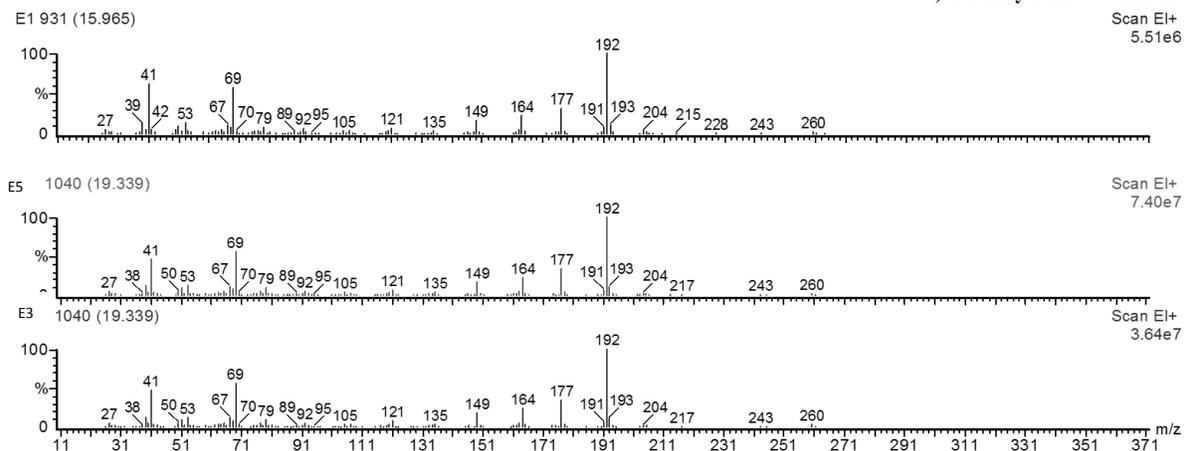
Espectro 30, Compuesto 30: 2.3-Dihidro-6-metilcromona

, 01-May-2013 + 06:51:27



Espectro 32, Compuesto 32: 7-Hidroxi-6metoxicumarina

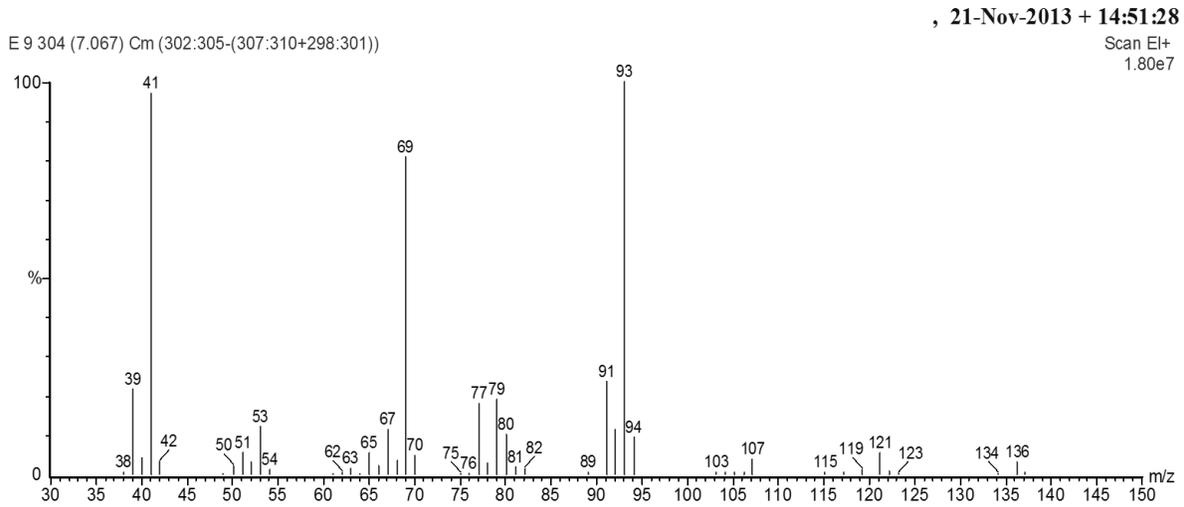
, 01-May-2013 + 06:51:27



ANEXO 3: IONES PRINCIPALES PARA LA INTERPRETACIÓN DE MS

En las siguientes tablas se muestra un desglose de los principales iones y su porcentaje de intensidad en cada uno de los espectros; los cuales fueron la base para la interpretación de los espectros y los mecanismos de fragmentación.

Como ejemplo tenemos el espectro de la fracción E5, con un R_t de 7.07 minutos, sus iones principales son 136, 93, 69 y 41 cuyos porcentajes de intensidad son 3%, 100%, 81% y 97% respectivamente.



R _t (min)	Compuesto	FB	M ⁺	Ion	Intensidad (%)
7.07	1	C ₁₀ H ₁₆	136	136	3
				93	100
				69	81
				41	97
7.67 7.68 7.7	2	C ₁₀ H ₁₆	136	136	13.5
				121	20
				107	26
				93	72
				79	36
				68	100
				53	33
7.88	3	C ₁₀ H ₁₆	136	136	7
				121	17
				105	20
				93	100
				91	50
				79	50
				77	39
8.87	4	C ₁₀ H ₁₄	134	134	61
				119	100
				105	18
				91	80
				77	33
9.48	5	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	172	0.36
				143	3
				129	8
				127	25
				115	8
				101	30
				99	0.15
				97	3
				88	100
				87	6
				85	1
				83	6
				73	23
				71	2
70	24				
69	7				
61	19				

Continuación

				60	27
				57	44
				55	29
				43	28
				41	28
9.77 9.97	6	C ₁₀ H ₁₈ O	154	154	1
				136	6
				93	40
				69	100
				41	88
10.5	7	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	186	186	0.17
				171	0.42
				157	0
				155	3
				143	11
				129	2
				127	1
				115	2
				101	4
				99	0.3
				97	2
				87	57
				85	3
				83	12
				74	100
				73	4
				71	6
				69	11
				59	8
				57	19
				55	34
				43	50
				41	31
				186	0.17
				171	0.42
				157	0
				155	3
				143	11
				129	2
				127	1
				115	2
				101	4

Continuación

				99	0.3
				97	2
				87	57
				85	3
				83	12
				74	100
				73	4
				71	6
				69	11
				59	8
				57	19
				55	34
				43	50
				41	31
10.77	8	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	149	37
				146	0
				137	22
				133	23
				131	36
				122	12
				121	23
				118	0.38
				105	13
				104	22
				103	35
				91	32
				77	40
10.89 10.9	9	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	196	0
				136	10
				121	3
				107	20
				93	34
				80	19
				69	100
				43	68
				41	79
11.05 11.07	10	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	178	178	100
				163	34
				147	40
				146	4
				135	15
				118	2

Continuación

				107	37
				103	37
				91	45
				77	20
11.3	11	C ₁₅ H ₂₄	204	204	5
				189	16
				175	10
				173	0
				161	28
				147	27
				133	85
				121	29
				120	45
				107	48
				105	61
				93	100
				91	85
				81	44
				79	83
				77	45
				69	94
67	40				
11.42	12	C ₁₅ H ₂₄	204	204	2
				189	1
				175	0
				161	7
				148	3
				134	5
				133	23
				120	18
				93	51
				71	2
				69	100
				57	2
				55	17
				43	4
41	3				
11.55	13	C ₁₅ H ₂₄	204	204	4
				189	3
				161	3
				147	19
				121	29
				93	100

Continuación

				80	37
				41	20
11.7	14	C ₁₅ H ₂₄	204	204	15
				162	14
				161	100
				147	6
				133	22
				120	24
				119	35
				105	65
				91	48
				81	37
				11.75	15
176	0				
123	100				
92	0				
11.8	16	C ₁₅ H ₂₄	204	204	29
				189	10
				161	41
				136	17
				121	100
				107	45
				93	72
				69	21
11.85	17	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	214	214	0.11
				183	4
				171	7
				143	13
				129	6
				115	5
				101	5
				99	2
				97	5
				87	71
				85	3
				83	7
				74	100
				71	4
				69	10
				57	11
55	27				
43	35				

Continuación

				41	27
11.9	18	C ₁₅ H ₂₄	204	204	42
				189	15
				162	21
				161	100
				134	51
				133	20
				119	69
				105	59
				77	17
12.1	19	C ₁₅ H ₂₆ O	222	222	0
				207	0
				204	2
				161	15
				136	17
				121	15
				107	36
				93	65
				81	30
				79	25
69	100				
57	5				
12.32	20	C ₁₅ H ₂₄ O	220	220	5
				205	51
				202	17
				187	25
				177	13
				165	0
				162	31
				161	18
				159	54
				149	16
				147	29
				133	26
				131	40
				121	24
				119	60
106	22				
105	67				
91	69				
79	44				
43	100				

Continuación

13.17 13.19 13.2	21	C ₁₀ H ₈ O ₃	176	176	100
				148	81
				133	94
				105	15
				77	27
				51	29
13.91	22	C ₉ H ₆ O ₃	162	162	81
				135	12
				134	100
				106	9
				105	23
				78	33
				77	22
				51	27
13.96	23	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	268	268	0
				236	8
				194	8
				152	12
				137	8
				123	13
				110	16
				99	4
				98	27
				97	34
				96	34
				87	39
				85	8
				83	47
				74	46
				71	7
				69	51
				57	19
				55	100
43	42				
41	58				
14.04	24	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	206	206	100
				191	27
				163	59
				135	5
				120	22
14.06	25	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	92	15
				270	4

Continuación

				255	0
				241	2
				239	3
				227	8
				213	2
				199	4
				185	5
				171	5
				157	2
				143	17
				129	8
				115	3
				101	6
				87	82
				85	4
				83	10
				74	100
				71	5
				69	13
				57	19
				55	30
				43	38
				41	24
14.38	26	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	206	206	100
14.39				191	48
14.47				178	22
14.77				163	38
				135	28
				120	15
				107	28
				92	15
				79	27
	69	25			
14.54	27	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	256	23
				239	0
				227	6
				213	20
				211	0
				199	8
				185	16
				183	0
171	15				

Continuación

				157	17
				155	0
				143	8
				141	3
				129	38
				127	4
				115	16
				113	5
				101	9
				99	8
				87	21
				85	28
				73	99
				71	44
				60	81
				59	5
				57	78
				45	8
				43	100
14.62	28	C ₁₂ H ₁₂ O ₅	236	236	100
14.68				221	40
15.2				208	3
				193	26
				178	14
				150	36
				135	11
				107	12
				79	28
				51	19
14.9	29	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296	296	0.51
				278	0
				265	8
				264	13
				110	17
				98	34
				97	30
				96	34
				87	47
				83	44
				74	54
				69	39
				55	100

Continuación

				43	30
				41	50
15.14 16.39 16.40	30	C ₁₀ H ₁₀ O ₂	162	162	100
				134	58
				69	69
				41	66
15.28	31	C ₁₂ H ₂₅ NO	199	199	0
				86	7
				72	33
				59	100
				44	8
				43	19
15.97 19.34	32	C ₁₀ H ₈ O ₄	192	192	100
				177	30
				164	22
				149	15
				121	5
				69	56
				41	59
16	33	C ₂₀ H ₄₀ O	296	296	0
				278	2
				123	29
				95	28
				85	13
				83	28
				81	39
				71	100
				69	39
				57	48
				55	42
				43	50
				281	2
16.1	34	C ₁₈ H ₃₅ NO	281	126	14
				72	60
				59	100
				44	15

