UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE QUITO

CARRERA:
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de: INGENIEROS EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

TEMA:
VARIACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE HIERBA LUISA (*Cymbopogon citratus*) Y JENGIBRE (*Zingiber officinale*) EN FUNCIÓN DE LAS CONDICIONES AMBIENTALES Y DEL TIPO DE SUELO DE LA ZONA DE CULTIVO EN LAS PROVINCIAS DE ESMERALDAS, MANABÍ, SANTO DOMINGO, PICHINCHA, IMBABURA, CARCHI, SUCUMBÍOS Y NAPO

AUTORES:
MAURICIO FABIÁN FLORES MEJÍA
BYRON GEOVANNY PATIÑO POZO

TUTOR:
CHRISTIAN FABRICIO LARENAS URÍA

Quito, junio del 2016

Cesión de derechos de autor

Nosotros Flores Mejía Mauricio Fabián y Patiño Pozo Byron Geovanny, con documento de identificación N° 1719928150 y 1723733992 respectivamente, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autores del trabajo de titulación intitulado: "Variación de la composición química de los aceites esenciales de Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*) y Jengibre (*Zingiber Officinale*) en función de las condiciones ambientales y del tipo de suelo de la zona de cultivo en las provincias de Esmeraldas, Manabí, Santo Domingo, Pichincha, Imbabura, Carchi, Sucumbíos y Napo", mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingenieros en Biotecnología de los Recursos Naturales , en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en nuestra condición de autores nos reservamos los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

.....	.....
Nombre: Flores Mejía Mauricio Fabián	Nombre: Patiño Pozo Byron Geovanny
Cédula: 1719928150	Cédula: 1723733992
Fecha: junio 2016	Fecha: junio 2016

Declaratoria de coautoría del docente tutor

Yo, declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el trabajo de titulación "Variación de la composición química de los aceites esenciales de Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*) y Jengibre (*Zingiber Officinale*) en función de las condiciones ambientales y del tipo de suelo de la zona de cultivo en las provincias de Esmeraldas, Manabí, Santo Domingo, Pichincha, Imbabura, Carchi, Sucumbíos y Napo" realizado por Flores Mejía Mauricio Fabián y Patiño Pozo Byron Geovanny, obteniendo un producto que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana para ser considerados como trabajo final de titulación.

Quito, junio del 2016

.....

Christian Fabricio Larenas Uría

1705586046

Dedicatoria

A Dios que con su infinito poder supo guiarme por un buen camino.

A mi madre y mi hermano, siendo siempre el pilar fundamental de mi vida y motivo diario de mi superación.

A mi abuelita, angelito que desde el cielo me mira.

Mauricio Flores

A mis padres, pues son ellos el pilar de mi vida y motivo en este momento de mi formación profesional.

A mí esposa, por su apoyo incondicional y ayuda en cada decisión importante.

Geovanny Patiño

Índice

Introducción 1

Capítulo 1. Marco teórico 4

1.1. *Cymbopogon citratus* (Hierba luisa) 4

a. Descripción botánica. 4

a. Taxonomía *Cymbopogon citratus*. 4

b. Composición química 5

1.2. *Zingiber officinale* (Jengibre) 5

a. Descripción botánica 5

b. Taxonomía de *Zingiber officinale* 6

c. Composición química 6

1.3. Variables edafológicas 7

1.4. pH 7

1.5. Conductividad Eléctrica 7

1.6. Textura del suelo. 8

1.7. Humedad del suelo. 9

1.8. Materia orgánica. 9

1.9. Fósforo en el suelo 10

1.10. Hierro en el suelo 10

1.11. Nitrógeno en el suelo 11

1.12. Potasio en el suelo....11
1.13. Variables de los aceites esenciales....12
1.14. Destilación por arrastre de vapor....12
1.15. Índice de refracción....12
1.16. Densidad....13
1.17. Cromatografía de gases acoplada a masa (CG-MS)....13
1.18. Factores ambientales....13
Capítulo 2. Marco metodológico....16
2.1. Fase de recolección y muestreo....16
2.2. Recolección y muestreo de especies vegetales....16
2.3. Procedimiento de recolección y muestreo de Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*)....16
2.4. Procedimiento de recolección y muestreo del Jengibre (*Zingiber officinale*)....17
2.5. Recolección y muestreo del suelo de especies vegetales....18
2.6. Análisis de aceites esenciales....18
2.7. Destilación....18
2.8. Densidad....19
2.9. Índice de refracción....19
2.10. Rendimiento....20
2.11. Cromatografía acoplada a masas (GC-MS)....20

2.12. Análisis de suelos....22
2.13. Textura....22
2.14. Humedad....24
2.15. Conductividad y pH....25
2.16. Materia orgánica....25
2.17. Análisis de macronutrientes y micronutrientes del suelo....26
2.18. Análisis de K....27
2.19. Análisis de Fe....27
2.20. Análisis P....28
2.21. Análisis de N....28
2.22. Análisis estadístico....28
Capítulo 3. Resultados y discusión....30
3.1. Composición química y rendimiento de los aceites esenciales....30
3.2. Jengibre (*Zingiber officinale*)....30
3.3. Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*)....32
3.4. Conglomeración de las muestras por medio de variables climáticas y edafológicas....33
3.5. Correlación entre variables climáticas, edafológicas y quimio tipos de los aceites esenciales de hierba luisa y jengibre en relación a los sitios de recolección....41

3.6. Conglomeración de sitios de recolección por medio de sus componentes principales 46

Conclusiones 50

Referencias 52

Índice de tablas

Tabla 1. Especificaciones para la calibración del equipo GC-MS.....20

Tabla 2. Número, tamaño de abertura y posición de los tamices.....23

Tabla 3. Prueba Kruskal-Wallis. Jengibre *(Zingiber officinale)*.....30

Tabla 4. Prueba Kruskal-Wallis. Hierba luisa *(Cymbopogon citratus)* 32

Tabla 5. Grupos formados con los sitios de recolección (V. Ambiental). Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) 34

Tabla 6. Grupos formados con los sitios de recolección (V. Ambiental). Jengibre (*Zingiber officinale*) 35

Tabla 7. Grupos formados con los sitios de recolección (V. Edafológica). Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) 37

Tabla 8. Grupos formados con los sitios de recolección (V. Edafológica). Jengibre (*Zingiber officinale)* 40

Tabla 9. Grupos de sitios de recolección formados en los cuadrantes 1, 2, 3 y 4 del CCA 44

Tabla 10. Grupos de sitios de recolección formados en los cuadrantes 1, 2, 3 y 4 del PCA.....478

Índice de figuras

Figura 1. Agrupación de sitios de recolección de hierba luisa según las variables climáticas 33

Figura 2. Agrupación de sitios de recolección de jengibre según las variables climáticas 35

Figura 3. Agrupación de sitios de recolección de hierba luisa según las variables climáticas 37

Figura 4. Agrupación de sitios de recolección de jengibre según las variables climáticas 39

Figura 5. Agrupación de sitios de recolección, v. climático, v. edafológico y quimiotipos. 42

Figura 6. Colores de sitios para el CCA expresado en un triplot.....43

Figura 7. Conglomeración de sitios de recolección, v. climático, v. edafológico, quimiotipos y rendimiento 47

Índice de anexos

Anexo 1. Códigos de sitios para rotulación de muestras 66

Anexo 2. Encuesta realizada a los ciudadanos de los sitios a recolectar 67

Anexo 3. Certificados de autentificación de las especies: hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) y jengibre (*Zingiber officinale*).....68

Anexo 4. Posicionamiento geográfico mostrado en el mapa por medio del programa informático QGIS.....72

Anexo 5. Datos registrados en sitios de recolección (GPS, altitud, humedad relativa, temperatura, luminiscencia) 73

Anexo 6. Datos personales de los proveedores de los sitios de recolección.....74

Anexo 7. Quimiotipos de interés y el tiempo de retención 75

Anexo 8. Instrucciones de uso del kit de fósforo 76

Anexo 9. Escala de color del kit de fósforo 77

Anexo 10. Reactivos para el kit de fósforo 77

Anexo 11. Tabla master de resultado obtenidos en los análisis de la investigación.....78

Anexo 12. Proveedores de los sitios de recolección de las especies: hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) y jengibre (*Zingiber officinale*).....79

Anexo 13. Recolección de las especies: hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) y jengibre (*Zingiber officinale*) 81

Anexo 14. Equipos utilizados en el análisis de las muestras 82

Resumen

El objetivo de esta investigación fue analizar la composición química (geranial, neral, cariofileno y pineno) de los aceites esenciales de las especies: hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) y jengibre (*Zingiber officinale*), en las provincias de Esmeraldas, Manabí, Santo Domingo, Pichincha, Imbabura, Carchi, Sucumbíos y Napo, evaluando la influencia de factores ambientales (temperatura, humedad relativa, altitud) y factores edafológicos (textura, materia orgánica, pH, conductividad eléctrica, macro y micronutrientes).

El análisis de los aceites esenciales se desarrolló por medio de cromatografía de gases acoplado a masas (GC-MS), para obtener la concentración de compuestos químicos de interés; a continuación, la evaluación de suelo se realizó a través de análisis gravimétricos, mineralización; entre, otros logrando obtener datos de interés según los factores edafológicos citados anteriormente. El análisis estadístico se hizo por medio de los programas informáticos R versión 3.2.3 y, Paleontological Statistics (PAST) versión 3.11.

Como resultado de los análisis físicos y químicos a los aceites esenciales de las dos especies vegetales de interés, se determinó que existe relación estadística entre la concentración de los quimiotipos geranial, neral, cariofileno y pineno con los factores edafológicos y los factores ambientales de las ocho provincias de estudio. De modo que se evidencia que estas variables contribuyen al rendimiento de los aceites esenciales otorgando un valor de interés industrial.

Palabras clave: compuestos, químicos, edafológico, ambientales, aceites

Abstract

The objective of this research was to analyze the chemical composition (geranialdehyde, neral, caryophyllene, pinene) of essential oils of species: lemongrass (*Cymbopogon citratus*) and ginger (*Zingiber officinale*), in the provinces of Esmeraldas, Manabí, Santo Domingo, Pichincha, Imbabura, Carchi, Sucumbíos and Napo, assessing the influence of environmental factors (temperature, relative humidity, altitude) and soil factors (texture, organic matter, pH, electrical conductivity, macro and micronutrients).

Analysis of the essential oils was developed by chromatography coupled to mass (GC-MS) to obtain the amount of concentration of chemical compounds of interest; then for the evaluation of soil it was conducted by gravimetric analysis mineralization, including being able to obtain data of interest according edaphic factors mentioned above. To end the statistical analysis was done by means of software R version 3.2.3 and Paleontological Statistics (PAST) version 3.11.

As a result of the physical and chemical essential oils of the two plant species of interest, analysis determined that there is statistical relationship between the concentration of chemotype, geranialdehyde, neral, caryophyllene and pinene with soil factors and environmental factors of eight provinces of study. So it is evident that these variables contribute to performance of essential oils giving a value of industrial interest.

Keywords: compounds, chemicals, edaphic, environmental, oils

Introducción

La gran diversidad de flora del Ecuador es una fuente interminable de compuestos químicos de diverso interés y aplicaciones en la vida cotidiana (Navarrete, Muriel, Balslev, & Macía, 2008), estudiada y reconocida en diversas publicaciones de carácter económico y socio-cultural, dado que las plantas vasculares sobrepasan las 25000 (Estrella, Manosalvas, Mariaca, & Ribadeneira, 2005); de estas 5172 se categorizan como especies útiles, considerando que el 60 % son medicinales (Navarrete, Muriel, Balslev, & Macía, 2008). Su valor es más pronunciado dentro de las comunidades rurales, para aliviar alguna molestia es usual que se acuda a los recursos vegetales, dependiendo de este modo casi exclusivamente de ellos (Navarrete, Muriel, Balslev, & Macía, 2008), se emplea para los dolores más comunes como dolor de estómago, cabeza, músculos y los malestares del resfrió, siendo para este último la especie más utilizada la *Cymbopogon citratus* (hierba luisa).

Dentro del uso alimenticio, las plantas nativas del país se utilizan como saborizante o condimento de comidas y bebidas, muchas de ellas aplicadas por las comunidades indígenas, aunque cabe destacar que también su empleo no radica únicamente en estos espacios culturales, ya que es bien conocido su uso en la inmensa mayoría de preparaciones autóctonas como modernas, tanto en restaurantes o en preparados caseros, dentro de estas plantas un claro ejemplo es el jengibre (*Zingiber officinale)* como saborizante natural.

Por otro lado el mercado global de productos del cuidado personal tiene un crecimiento del 5 % anual según datos de Euronitor (PETROECUADOR, 2015), para Ecuador la industria cosmética ha crecido a grandes pasos, mejorando su tecnología en

cada producto, siendo los cosméticos bio u orgánicos los que lideran las ventas, en este caso los aceites esenciales y extractos tienen mayor interés dentro de esta industria como uno de los ingredientes aromáticos, por ende la alta gama de aceites esenciales genera una fuerte competencia por lo que se ve la necesidad de productos diferenciados, en especial aquellos con fragancia.

Una vez detallado su interés cosmético y medicinal la presente investigación se centra en los aceites esenciales también llamados aceites etéreos, al hablar de ellos estos se consideran como sustancias químicas biosintetizadas de origen natural o de origen sintético, además de sus excelentes capacidades antimicrobianas y anti patógenas (Roig, Soto Ortiz, Vega Marrero1, & Tamajón Navarro, 2002), cabe resaltar al mismo tiempo que su valor depende de la riqueza de principios activos y de la dificultad de su extracción, por tanto las especies *Cymbopogon citratus y Zingiber offinale* son estudiadas principalmente por los compuestos químicos como el geranial, neral, citral, curcumeno, terfenol, pineno y miriceno entre los importantes (Gagan, Shir, & Panchal, 2011).

En este mismo sentido varias publicaciones referente a los compuestos químicos de los aceites esenciales de la mayoría de especies, mencionan que la composición de los aceites esenciales puede variar dependiendo de su ubicación, el tiempo de recolección, así como también las características del suelo de cultivo, por tal motivo es importante contar con información que nos permita establecer estadísticamente las similitudes y diferencias de la composición química de los aceites, especialmente en referencia a la ubicación geográfica, de manera que justifique el interés creciente por las plantas medicinales de nuestro país.

Por este motivo resolvimos presentar esta guía de trabajo práctico en investigación tecnológica con la finalidad de analizar la variación de la composición química de los aceites esenciales provenientes de las plantas conocidas como Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*) y Jengibre (*Zingiber offinale*), en función de las características del suelo de las zonas de cultivo y en correspondencia de ocho provincias de estudio siendo estas; Esmeraldas, Manabí, Santo Domingo, Pichincha, Imbabura, Carchi, Sucumbíos y Napo. De modo que para cumplir con lo mencionado se establecieron objetivos puntuales, iniciando por el levantamiento de las muestras representativas, tanto de suelo como de estructuras vegetales, estableciendo la ubicación geográfica y las características climáticas (temperatura, humedad y altura), como variables de estudio, con el fin además de generar un mapa georreferenciado de los mismos. Una vez transportadas las muestras al laboratorio se continuó con la extracción del aceite esencial mediante técnicas de arrastre de vapor, con el propósito de realizar los análisis físicos químicos de los mismos tomando en consideración los cuatro compuestos de mayor interés (geranial, neral, pineno y cariofileno) y finalmente cumplir con la determinación de similitudes entre especies en función de la relación de los compuestos químicos con los factores ambientales, por medio del análisis estadístico no paramétrico.

Capítulo 1

Marco teórico

1.1. *Cymbopogon citratus* (Hierba luisa)

a. Descripción botánica**.**

Planta herbácea, perenne de aspecto robusto, presenta tallos cortos de forma ramificada, posee una altura de 1 a 2 m con nudos ceríferos, sus hojas son de olor característico, parecido a limón, que se amontonan cerca a la base y sus medidas son aproximadamente entre 0.30 a 1m de largo y de 1 hasta 1.5 cm de ancho, su forma es pedalada con bordes y nervio central duros. Semifloresencia compuesta de racimos terminal y axilar, de forma particulada de 30 a 60 cm de largo (Moscoso & Agustina, 2013). Las raíces se encuentran en una profundidad de entre los 0.30 a 0.90 m. Crece en zonas con temperatura media entre 22 y 28º C, con precipitaciones pluviales en el rango de 1,500 a 4,000 mm/año con lluvias bien distribuidas y su pH es de 5 y 7.5 (Soto Ortiz, Vega Marrero1, & Tamajón Navarro.2, 2002).

a. Taxonomía de *Cymbopogon citratus*.

Reino: Plantae

División: Spermatophyta.

Clase: Monocotyledonae

Orden: Cyperales

Familia: Poaceae

Género: Cymbopogon

Especie: C. citratus (Forest & Starr, 2013)

b. Composición química

La composición química del aceite esencial *Cymbopogon citratus* varía según el origen geográfico, entre los principales componentes se encuentran los compuestos de hidrocarburos como terpenos alcoholes, cetonas esteres y aldehídos, principalmente el citral (mezcla de dos aldehídos monterpenos estereoisoméricos), el geranial isómero trans (40-62 %) domina sobre la neral isómero cis (25-38 %), citronelal, terpineno, mirceno, metilheptano y pineno (Gagan, Shir, & Panchal, 2011).

1.2. *Zingiber officinale* (Jengibre)

a. Descripción botánica

Es una planta perene aromática, raíz tipo tuberosa, los tallos son erectos, de forma oblicua, redondo, anual, invertido por las suaves vainas de las hojas, 2 o 3m de altura, con inflorescencias amarillo-verdosas (Puangpen, 1999). Rizomas lateralmente comprimidos de 7-15 cm de largo y 1-1,5 cm de ancho. Surgen ramas largas de aproximadamente 1-3 cm que terminan en hendiduras o en brotes no desarrollados. El parénquima del tubérculo puede ser de color amarillo, blanco o rojo, dependiendo de la variedad. Está recubierto por una piel de color marrón que puede ser o bien gruesa o delgada, dependiendo la edad del tubérculo (Gupta & Sharma, 2014).

Se desarrolla en una altura predilecta de 400 a 800 m.s.n.m. Con un clima subtropical, al igual que en un clima tropical, con temperaturas entre 25 a 30 °C; la luminiscencia del sector debe ser alta y su pluviosidad de 2000 mm; en lo que respecta al suelo debe adquirir un pH entre 5 y 7,5, teniendo un pH de 6,5 (TECA, 2006).

b. Taxonomía de *Zingiber officinale*

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsia

Orden: Zingiberales

Familia: Zingiberaceae

Género: Zingiber

Especie: Z. officinale (Gupta & Sharma, 2014).

c. Composición química

El jengibre contiene una sustancia llamada gingerol, un líquido oleoso constituido por fenoles homólogos, la cual produce su característico sabor picoso (Evans, 2002). En el tubérculo, se identificó compuesto de la serie de gingeroles, que comprende la mayor abundancia y actividad el: (5-hidroxi-1-(4-hidroxi-3-metoxi fenil) 3-un-decan) (Mustafa, Srivastava, & Jensen , 1993). Entre los componentes de mayor importancia identificados, se puede señalar: mono y sesquiterpenos, cafeno, β-felandreno, curcumeno, cineol, acetato de geranil, terfineol, terpenos, borneol, geraniol, linalool (Kiuchi, Shibuya, & Sankawa, 1993), α-zingibereno (30-70%), β-sesquifellandreno (10-15%); hay una ligera cantidad de shogaol identificado en tubérculos disecados (Awang, 1991). Los compuestos que dan el aroma al aceite esencial lo constituyen en, su mayoría sesquiterpenos, con zingiberenos (Ali, 1998). Por otra parte, los componentes con menor porcentaje de cantidad en el aceite

son: metilegingediol, gingediacetatos, metilegingediacetatos y C20 – dialdeido (Evans, 2002).

1.3. Variables edafológicas

Las propiedades físicas (textura y humedad) (Rango, 1985), químicas (pH, conductividad eléctrica, macro y micronutrientes) (Fassbender H. , 1982) y biorgánicas (materia orgánica) (Burbano, 1989); son propiedades o variables fundamentales para ser analizadas en cualquier tipo de suelo y conocer la calidad del mismo para su posterior aprovechamiento.

1.4. pH

El pH o potencial de hidrógeno, es una propiedad química del suelo, que determina el grado de adsorción de iones hidrógeno activos (H^+) proveniente de la interface liquida del suelo y su interacción entre componentes líquidos y sólidos (Thompson & Troeh, 2002), la asociación de iones es el primordial indicador en la disponibilidad de nutrientes para las plantas, así como la solubilidad y movilidad de los constituyentes inorgánicos presentes en el suelo (FAO, 2009). La medición del pH es influenciada por; disolución, efecto de sales solubles, efecto del anhídrido carbónico (Hans W, 1975). En el suelo se pueden presentar varas condiciones generales; condiciones de alcalinidad (suelos de áreas secas con precipitación pluvial menor que la evapo traspiración) y condiciones de acidez (frecuente en regiones tropicales, calientes y húmedas) (Kass, 2000).

1.5. Conductividad Eléctrica

Es la propiedad que nos permite medir el contenido de sales del suelo (CIAT, 1981), encontrándose influenciada por diversos factores como; la porosidad, textura,

aumento de los coloides, además de su relación directa con la cantidad de materia orgánica y de agua en el suelo (Siqueira, 2008).

1.6. Textura del suelo.

El suelo está compuesto por partículas de naturaleza mineral, que de acuerdo a su diámetro se clasifican en fracciones de arena, limo y arcilla, por lo que es considerada como una de las características físicas de mayor importancia debido a que influye sobre el comportamiento físico del suelo como el movimiento y disponibilidad de la humedad, nutrimentos, aireación la resistencia y susceptibilidad del suelo a la degradación (FAO, 2000). Su fraccionamiento sigue una función logarítmica entre los límites de 0.25 a 0.5 mm, siendo en correspondiente medida para la fracción arcillosa de medidas menor a 0.002 mm, fracción limosa entre 0.002 y 0.05 mm, y fracción arena entre 0.05 y 2.0 mm (Delgadillo & Alcalá Martinez, 2010).

Dentro de clasificación que utiliza la FAO se entiende; para arena fina con un diámetro de 0.05 a 0.1 mm, arena fina con un diámetro entre 0.1 a 0.25 mm, arena media con un diámetro de 0.25 a 0.5 mm, arena gruesa con un diámetro de 0.5 a 1.0 mm y arena muy fina con un diámetro de 1.0 a 2.0 mm. En cuanto a la composición de la clasificación textural, la arena no tiene capacidad de agregación es decir no se unen sus partículas entre sí, además de un intercambio catiónico bajo. Las partículas del limo no forman una estructura; al igual que la arena, comportándose como granos individuales en el suelo, con un intercambio catiónico igualmente bajo. La arcilla en cambio se origina de la alteración química de la roca, sus partículas tienen la capacidad de agregación (Lopez, 2006).

1.7. Humedad del suelo.

La humedad es el estado de un horizonte al tiempo en que el perfil es descrito. (FAO, 2009), por ende se entiende por humedad del suelo a la masa de agua por unidad de masa de sólidos contenidos en el suelo, esta variable influye en muchas propiedades físicas, tales como la densidad aparente, espacio poroso, consistencia, succión de agua y color del suelo, por tanto la humedad del suelo es muy dinámica y depende de los factores climáticos, así como también la vegetación, las características y condiciones físicas del perfil (Delgadillo & Alcalá Martinez, 2010).

1.8. Materia orgánica.

Constituye un sistema complejo formado por las plantas, animales y microorganismos, cuyo residuo más el resto de la actividad físico química cumplen un papel relevante en la fertilidad del suelo, expresándolo en porcentaje (Kass, 2000). La remoción de esta variable depende de su naturaleza, la concentración de pH y la presencia de carbonatos (Delgadillo & Alcalá Martinez, 2010), en los suelos agrícolas la cantidad de materia orgánica representa entre el 1 % y 3% además es influenciada según diversas investigaciones, por factores como la temperatura, la vegetación y el relieve además de la correlación de la precipitación y el contenido de CO orgánico presente en los horizontes. (Sánchez, Ruiz, & Rios, 2005).

Desde el punto de vista químico la materia orgánica está constituida por compuestos orgánicos, siendo estos los hidratos de carbono, monosacáridos, oligosacáridos, lignina, taninos, ácidos grasos además de lípidos y resinas, como primer grupo constituyente y de sales minerales siendo estos aniones y cationes como el segundo (Lopez, 2006).

1.9. Fósforo en el suelo

Es considerado como elemento esencial para el crecimiento de la planta (macronutriente primario) de una lista de 19 elementos (Fernández, 2007). En el suelo se lo encuentra como fosfato ligado a elementos de Ca^{2+}, Fe^{2+}, Mg^{2+} y Al^{3+} (BaranČíková , Liptaj , & Prónayová , 2007). Además, el fósforo tiene la función de almacenar y de transferencia energética, además forma macromoléculas estructurales (ácidos nucleicos, fosfolípidos) (Fernández, 2007).

En la liberación del fósforo, que se encuentra en el suelo, se utiliza la disolución ácida, utilizando HNO_3, con el fin de disolver los elementos ligados al fosforo (Rojas, 2015).

1.10. Hierro en el suelo

Es uno de los 4 elementos más abundantes en la corteza terrestre, siendo un micronutriente esencial, utilizado por todo ser vivo en el planeta (Crichton & Charloteaux-Wauters , 1987). Se lo encuentra en dos estados de oxidación: Fe^{+3} y Fe^{+2}, la forma de asimilación es por medio de los quelatos (sideróforos), de preferencia Fe^{+2} al Fe^{+3} (Emery, 1982). Es constituyente de proteínas (grupo prostético) y enzimas, aporta a la construcción de la clorofila; actúa como catalizador en procesos de oxidación-reducción de la planta (AgroEstrategias, 2007).

Para su determinación, se extrae de la muestra el Fe^{+3} y Fe^{+2}, con HNO_3, para su cuantificación por iones Fe^{+2}, en un espectrofotómetro de AA (absorbancia de luz) (Benton, 1930).

1.11. Nitrógeno en el suelo

Es uno de los elementos más cuantiosos en el planeta (78% en el aire), formando también parte de los macronutrientes primaros (2% en el suelo) (Diéz, 1999). Se encuentra de formas gaseosas como: N_2O, NO, NO_2, en el aire del suelo y esta disuelto en el mismo en forma de: NO_3^- y NH^{4+}, la cual la planta puede absorber directamente a través de su raíz (Mengel, 1991). El nitrógeno está encargado de ayudar en la estructuración de la clorofila, aminoácidos, proteínas y enzimas; asimismo estimulan el crecimiento radicular (hormona) (Diéz, 1999).

La determinación de nitrógeno en el suelo se lo realiza mediante la separación de los NO_3^- y NH_4^+, en medio ácido (HNO_3), acelerando y facilitando la oxidación de la materia orgánica para convertirlos a N^{+3}; en otras palabras, la parte orgánica se lleva a minerales de nitrógeno (Benton, 1930).

1.12. Potasio en el suelo

Es un macronutriente principal, el cual se encuentra en pequeñas cantidades en el suelo (0.4-3%), según el tipo de suelo, por lo tanto no es tomado como índice de fertilidad (Pequeño, Lopez, Hernández, & Bernaldo de Quirós, 1966), el potasio puede ser fácilmente absorbido por la planta en forma su forma iónica K^+; encontrándose de diferentes formas en el suelo, ya sea como K estructural (90% del K total), K soluble (aprovechado por las plantas), K intercambiable, K fijado (se dispone luego para las plantas) (Brady, 1999). Los roles en los que participa el potasio, es en la fotosíntesis regulando la entrada de CO_2 a través de las estomas activas más, de 60 sistemas enzimáticos, mantiene la turgencia y es indispensable en la formación del fruto (Rivero, 1968).

En el análisis de potasio en el suelo hay que tener en cuenta que se puede extraer tanto los métodos suaves con reactivos de solución salina o agua, o como también por agresivos en medio ácido (HNO_3) (IPNI, 2005).

1.13. Variables de los aceites esenciales

Las propiedades físicas (índice de refracción, destilación, densidad) (Domínguez, 1985) ayudan a determinar la calidad del aceite esencial para uso industrial principalmente. Por otra parte, las propiedades químicas (composición química) (Al Di Cara, 1983) pueden ser analizadas gracias a la cromatografía de gases acoplada a masa y así obtener con mayor criterio la calidad de un aceite y el uso respectivo (Casas, García, Guadayol, & Olivé, 1994).

1.14. Destilación por arrastre de vapor

Es un tipo de destilación en el cual una mezcla, volatiliza sus diferentes componentes por medio de la condensación, formando dos fases inmiscibles (acuosa y oleosa), a presiones y temperaturas distintas (Wankat, 1988). Utiliza el principio de fases líquido-vapor, además el producto es puro en comparado con el compuesto que no se volatiliza (Peredo, Palou, & López, 2009). Varios factores influyen en el rendimiento y composición de los aceites: tamaño de partícula del tejido, densidad del lecho y el tiempo de extracción (Arango, Hurtado, Castillo, & Santacruz, 2009).

1.15. Índice de refracción

“Es la relación de la velocidad de la luz, de una longitud de onda definida en el vacío y su velocidad en el medio en estudio” (Sirilin, 2006, pág. 3).

Los factores que influyen en la medición son: la longitud de onda de la luz (línea D del sodio 589 nm) y la temperatura (20, 25, 40 ˚C) (NTE INEN-ISO 6320, 2013). Sirve básicamente para identificar y caracterizar el tipo de aceite analizado (Matissec, Schnepel, & Steiner, 1992).

1.16. Densidad

Determina el peso (g o kg) de cualquier objeto a partir de su volumen (ml o cm^3) (Gonzáles, 2007). En los aceites esenciales, la densidad del agua (1 g/ml) se utiliza como parámetro constante; ya que los demás aceites tienen densidades menores (NTE INEN-ISO 6320, 2013), pero algunas especies eximen esa regla, esto siendo estas: *Syzygium aromaticum, Cinnamomum verum, Allium sativum* (Cáceres, 1996).

1.17. Cromatografía de gases acoplada a masa (CG-MS)

Son dos técnicas acopladas en un equipo (cromatografía de gases y espectrometría de masas), ya que permite la separación de compuestos con una alta sensibilidad (capacidad selectiva), con un alto grado de efectividad (Casas, García, Guadayol, & Olivé, 1994). El tiempo de retención de cada molécula sirve para detectar por separado cada tipo de componente, dividiendo las moléculas por la relación masa carga (Hoffman & Stroobant, 2007). Las áreas bajo los picos son proporcionales con la concentración de los compontes, esto sirve para la determinación cuantitativa para su posterior interpretación (Casas, García, Guadayol, & Olivé, 1994).

1.18. Factores ambientales.

Diversos factores climáticos pueden afectar el cultivo de los vegetales en su crecimiento, desarrollo, y cantidad de metabolitos secundarios (Evans, Trease and Evans

"Pharmacognosy", 2002) siendo la temperatura, la lluvia, la duración del día, la humedad y la altitud los principales factores (Alonso, 2004).

La temperatura afecta en el control del desarrollo de la planta y su metabolismo sin embargo las plantas son capaces de adaptarse a esta variación, pero en general la cantidad de los aceites parece elevarse a temperaturas superiores de 12 ^{o}C y producir una perdida si excede los 30 – 32 ^{o}C (Osorio Durango, 2014), por tanto a medida que aumenta la temperatura se incrementa la absorción de micro y macro elementos por actividad bioquímica hasta un límite óptimo sobre el cual decrece progresivamente hasta paralizarse, (Oliveira Prendes, Khouri, & López, 2006). La temperatura y la humedad influyen en la velocidad de neutralización de la acidez del suelo (Kass, 2000). Además, las condiciones de humedad y temperatura afectan a la respiración del suelo tanto espacialmente como estacionalmente (USDA, 1999).

Las lluvias anuales y su distribución continua producen una pérdida de aceites esenciales provenientes de las hojas, además su efecto en la humedad y retención del agua se relaciona con el rendimiento de algunos principios activos (Meruane & Gerreaud, 2015).

La intensidad de luz influye en la cantidad de heterósidos y alcaloides producidos, por tanto a una exposición prolongada afecta aumenta o disminuye el rendimiento de los aceites dependiendo de la especie (Evans, 2002), En cuanto a la altitud, este factor es dependiente de las características genéticas de la especie es decir que el desarrollo de las plantas principalmente de uso medicinal es necesario determinar las condiciones en las cuales florecen así como su fenología (Osorio Durango, 2014). En la región andina del Ecuador se determina que la altitud modera el calor del suelo debido a que el país se

encuentra en zona tórrida, se alude además que la zona geográfica de la cordillera impide la circulación de los vientos y la nubosidad a manera de barrera lo que genera un clima de contraste. Por lo tanto, este hecho determina un juicio al mencionar los pisos térmicos o isotermos (Fassbender H. , 1975).

Capítulo 2

Marco metodológico

2.1. Fase de recolección y muestreo

Los análisis expuestos a continuación fueron realizados en los laboratorios de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Girón, Sur Y Cayambe.

2.2. Recolección y muestreo de especies vegetales

Se revisó bibliografía existente acerca de puntos de cosecha, además de realizar encuestas a los vendedores en mercados de la zona (Ver anexo 2), decidiendo efectuar la recolección en proveedores que cultiven masivamente las especies de estudio.

Para la rotulación (código) de las muestras se escribió, la especie, el lugar (ciudad, cantón o barrio), la provincia y su fecha de recolección, para mantener un orden entre muestra y muestra (Ver anexo 1).

Una vez recolectada las especies se envió al Herbario de la Pontifica Universidad Católica del Ecuador (Herbario QCA) para corroborar su autentificación (Ver anexo 3).

Los puntos de recolección guardados en el GPS GARMIN OREGON 550, sirvieron para crear un mapa de posicionamiento global por medio de programa informático Q GIS. (Ver anexo 4)

2.3. Procedimiento de recolección y muestreo de Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*)

La recolección se realizó manualmente con un machete, obteniendo una cantidad de 5 kilos del tejido de la planta, en este caso las hojas, a continuación, se pesó con la balanza de bolsillo ESPLB WH-A15. Colocando la muestra en una bolsa plástica OXO

biodegradables, debidamente rotulada con el código de muestra y fecha (Seco, Invernón, González, López, & Devesa, 2012).

Se fotografió el cultivo, para después registrar los datos de ubicación satelital y altitud, por medio del GPS GARMIN OREGON 550. Los datos de temperatura y humedad relativa se midieron usando el equipo ATMOSFERIC DATA CENTER BRUNTON-ADC PRO. Para finalizar se pidió los datos personales al agricultor los cuales son: número de teléfono celular, número de teléfono fijo, e-mail y el tipo de fertilización o control de plagas que utiliza (Ver anexo 5 y 6).

2.4. Procedimiento de recolección y muestreo del Jengibre (*Zingiber officinale*)

La recolección se realizó manualmente con un machete obteniendo una cantidad de 10 kilos del tejido de la planta, en este caso el tubérculo, posteriormente se pesó con la balanza de bolsillo ESPLB WH-A15. Colocando la muestra en una bolsa plástica OXO biodegradables, debidamente rotulada con el código de muestra, fecha (Seco, Invernón, González, López, & Devesa, 2012).

Se fotografió el cultivo, para después registrar los datos de ubicación satelital y altitud, por medio del GPS GARMIN OREGON 550. Los datos de temperatura y humedad relativa se midieron usando el equipo ATMOSFERIC DATA CENTER BRUNTON-ADC PRO. Para finalizar se pidió los datos personales al agricultor los cuales son: número de teléfono celular, número de teléfono fijo, e-mail y el tipo de fertilización o control de plagas que utiliza (Ver anexo 5 y 6).

2.5. Recolección y muestreo del suelo de especies vegetales

Se delimitó la extensión del terreno, procediendo así a perforar un con barretón a una profundidad de 20 cm, en la zona donde se cultiva la especie vegetal. Tomando 1 kg de muestra de toda la superficie delimitada (Roberts & Henry, 2014), para concluir se coló la muestra en una bolsa plástica con cierre hermético, debidamente rotulada con el código de muestra, fecha (Ver anexo 1).

2.6. Análisis de aceites esenciales

vshdbashdsahdgasjd

2.7. Destilación

Para realizar el análisis de los aceites esenciales de las especies recolectadas, se procedió a extraer el aceite esencial en un equipo de destilación por arrastre de vapor usando un equipo de acero inoxidable con una capacidad de 100 litros, de las muestras recolectadas (cortadas o trozadas); en el caso de la hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) 5 kg durante 5 horas (Sukari, y otros, The Malaysian Journal Anal. Sci.), y en el caso del jengibre (*Zingiber officinale*) 10 kg durante 8 horas (Vásquez, Alva, & Marreros, 2001), posterior a la destilación, se dejó decantar la fase acuosa de la fase aceitosa en un embudo de decantación por dos horas, filtrando y eliminando el excedente de agua en los aceites con una cucharada de sulfato de sodio (Arango, Hurtado, Castillo, & Santacruz, 2009).

Finalmente se procedió a almacenar en frascos ámbar, rotularlos y refrigerarlos. Los datos del peso de la muestra y el volumen del aceite extraídos son guardados en una base de datos.

2.8. Densidad

Se realizó por triplicado y en cada replica se desarrolló tres mediciones, utilizando el densitómetro DENSITY METER DM40 METTLER TOLEDO; a parte de esto, se procedió a medir de la densidad por medio del picnómetro de cristal, así obtendremos una variabilidad menor.

Para proceder con los análisis del densitómetro; se tomó 2 ml de aceite esencial, lavando el equipo con cetona, después de cada cambio de muestra. Obteniendo resultados los cuales fueron almacenados en una base de datos.

En la medición por picnómetro se pesó en una balanza analítica ML240 METTLER TOLEDO, el picnómetro vacío, después el picnómetro con agua destilada y finalmente el picnómetro con 1 ml de la muestra. Obteniendo resultados los cuales fueron almacenados en una base de datos y calculados por medio de la siguiente fórmula (NTE INEN-ISO 6320, 2013).

$$Densidad = \frac{P_{PAC} - P_P}{P_{PAG} - P_P}$$

Donde:

P_P= peso del picnómetro vacío

P_{PAG}= peso del picnómetro + agua destilada

P_{PAC}= peso del picnómetro +aceite esencial

2.9. Índice de refracción

En el análisis se efectuó por triplicado, utilizando el refractómetro ATAGO NAR IT LIQUID colocando 3 gotas de aceite en el prisma, para observar por el ocular; girando

la perilla de compensación de color hasta que aparezca una línea clara y definida en el campo de visión, para leer la escala inferior. Obteniendo resultados los cuales fueron almacenados en una base de datos (NTE INEN-ISO 6320, 2013).

2.10. Rendimiento

Una vez registrado el peso de la muestra (kg), el volumen de los aceites esenciales (ml) y su respectiva densidad (g/ml), se procedió al cálculo del rendimiento en porcentaje del aceite esencial mediante la siguiente fórmula (Navarrete, Gil, Durango, & Garcia, 2010).

$$\%Rendimiento = \frac{aceite\ obtenido\ g}{carga\ vegetal\ g} \times 100$$

Donde:

Aceite obtenido g= volumen de aceite obtenido × densidad del aceite esencial

Carga vegetal g= peso de la muestra vegetal

2.11. Cromatografía acoplada a masas (GC-MS)

Utilizando una micropipeta de 1000 µl, se extrajo diclorometano para aplicarlo en un vial, después se colocó 10 µl de los aceites esenciales de las dos especies con una micropipeta en recipiente antes mencionado, se dispuso la preparación en una inyección de vidrio con una cantidad de 2 µl en el cromatógrafo de gases VARIAN 3900 acoplado a un espectrofotómetro de masas VARIAN 2100 calibrado antes de su uso de la siguiente manera:

Tabla 1

Especificaciones para la calibración del equipo GC-MS

Status del inyector EFC	
Flow ready	Yes
Pressure ready	Yes
Type 1 pressure setpoint	7.9 psi
Actual pressure	7.9 psi
Column flow	1 ml/min
Linear velocity	36.5 cm/sec
Total flow	58.8 ml/min
Split state	On
Split ratio	50

Temp zones	Set
Col. Oven	55
1177	280

Operation	
Endtime	70 min

Nota. Elaborado por Flores M. & Patiño G., 2016.

Esperando 70 minutos a que termine de ser analizada en el equipo; ejecutando el análisis por triplicado.

Los resultados obtenidos por el GC-MS fueron almacenados en una base de datos, en la cual se registra cuatro compuestos químicos de interés (geranial, neral, pineno, cariofileno); tanto de jengibre (*Zingiber officinale*) como de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*), la identificación se hizo relacionando en el tiempo de retención y área debajo

del pico para saber cuál es el compuesto químico ya que la mayoría de ellos se encontraban con nombres IUPAC (Ver anexo 7) ((Wankat, 1988).

2.12. Análisis de suelos

Lo primero que se realizó para el análisis de suelos; fue secar las muestras en una estufa MEMMERT SNB400 a 250 ºC por 3 días, después se molió las muestras con un mortero hasta obtener muestras uniformes. Se rotuló, pesó y almacenó en fundas con cierre hermético.

Cabe señalar que todos los análisis de suelo; excepto la granulometría, se los realiza por triplicado y en cada repetición se mide tres veces (Benton, 2001).

2.13. Textura

En este análisis se utilizó un tamiz rotatorio DURATAP ADVANTECH DT168 con un grupo de tamices de número y apertura estándar, dispuestos de la siguiente manera.

Tabla 2.

Número, tamaño de abertura y posición de los tamices

ABERTURA (μm)	# TAMIZ
2000	10
850	20
425	40
250	60
106	140
53	270
45	325
0	R

Nota. Elaborado por: Flores M. & Patiño G. (2016).

μm= Unidad métrica: micrómetros

Posteriormente de dispuso colocar la muestra en el tamiz número 10 (tamiz de residuos no se lo toma en cuenta); realizando una acción mecánica vibratoria, por un tiempo de 2 minutos, para después proceder a pesar los residuos en una balanza analítica ML240 METTLER TOLEDO; desde el tamiz numero 20 al 325 y la cubeta (R), una vez acabado el pesaje las muestras de suelo se reservan en fundas plásticas con cierre hermético, rotulado (Jiménez & Ortiz, 2000).

El almacenamiento de los resultados se lo hace mediante una base de datos y su cálculo se lo determina por porcentaje de la siguiente manera:

$$\%Tamaño\ de\ particula = \frac{Peso\ de\ tamiz + suelo}{Peso\ total} \times 100$$

Donde:

Peso total= Peso del tamiz 20-325 y R

Luego para saber la textura del suelo, se sumó los porcentajes de los primeros cinco tamices (20-270) ya que estos determinan la textura de arena; por su tamaño de abertura, para la textura de limo, se la interpreta con el tamiz 325 y finalmente la arcilla con R (Villachica, Felipe, & Bazán, 1972).

2.14. Humedad

Antes de realizar el análisis de humedad; se procedió a tarar capsulas de porcelana en la estufa MEMMERT SNB400 a 120 ºC durante 12 horas, en seguida se llevó las capsulas a un desecador para su enfriamiento, pesándolas hasta llegar a peso constante, en la balanza analítica ML240 METTLER TOLEDO, registrando el peso de la cápsula vacía (Rodríguez, 2012).

Una vez taradas las cápsulas, se dispuso a colocar 10 gr de suelo (molido y tamizado) en las capsulas; se registró el peso en la balanza analítica, de las capsulas con el suelo y se puso en una estufa a 300 ºC durante 4 horas, se enfrió en un desecador hasta obtener peso constante medido en una balanza analítica, finalizado esto fue registrado en una base de datos.

El cálculo del porcentaje de humedad se lo desarrolló mediante la siguiente Fórmula (Centro Internacional del Mejoramiento de Maiz y Trigo, 2013).

$$\%Humedad = \frac{P_{CM} - P_S}{P_H} \times 100$$

Donde:

P_{CM}= peso crisol + muestra original

P_S= peso muestra seca

P_H= peso muestra original

2.15. Conductividad y pH

En este método se colocó 10 gr de suelo (molido y tamizado) y 20 ml de agua destilada (relación 1:2), en un vaso de precipitación de 50 ml, con una varilla de vidrio se procedió a agitar durante 15 min para que la mezcla permanezca homogénea y esperar 2 minutos para su reposo.

Se encendió el potenciómetro METTLER TOLEDO SEVEN MULTI anteriormente calibrado con sus estándares (4, 7, 10 pH), se llevó a cabo la colocación del sensor de pH y de conductividad en la muestra, hasta que el equipo estabilice la medida; para registrar lo medido en una base de datos (Espinosa & Molina, 1999).

2.16. Materia orgánica

Antes de realizar el análisis de materia orgánica, se realizó la tarada de crisoles de porcelana en la mufla THERMOLYNR FURNACEI 400 a 500 ºC durante 12 horas, para luego enfriarlos en un desecador y pesarlos hasta llegar a peso constante en la balanza analítica ML240 METTLER TOLEDO, registrando el peso del crisol vacío (Rodríguez, 2012).

Después de ser tarados los crisoles, se colocó 5 gr de suelo (molido y tamizado) en los mismos, se registró el peso de la balanza analítica colocándolos en la mufla a 500 ºC durante 4 horas, enfriándolos en un desecador hasta obtener peso constante medido en la balanza analítica, el cual fue archivado en una base de datos.

El en cálculo para el porcentaje de materia orgánica se manejó la siguiente ecuación (Sadzawka, y otros, 2006).

$$\%MO = \left(\frac{P_M - P_{SC}}{P_{SC} - P_C}\right) \times 100$$

Donde:

P_M= peso muestra

P_{SC}= peso suelo calcinado

P_C= peso del crisol

2.17. Análisis de macronutrientes y micronutrientes del suelo

Para ejecutar este análisis primero se tuvo que mineralizar los suelos por medio de un equipo de reflujo, pesando 3 g de suelo (anotado en la base de datos) para posteriormente colocarlo en un balón de 250 ml, más núcleos de ebullición (trozos de vidrio) y 10 ml de ácido nítrico (HNO_3); se calentó colocado la plancha de calor a temperatura media, durante 1 hora, para dejarlo enfriar por 30 minutos, luego filtrar al vacío con la bomba GAST DOA P7004 AA el contenido y aforarlo en balones de 250 ml con agua ultra pura del purificador MILLIPORE DIRECTQ, finalmente se los rotuló y almacenó. El cálculo de K, Fe, P, se desarrolló por medio de las siguientes ecuaciones

dejando sus datos en moles para homogenizar datos a fin de un correcto análisis (Day & Underwood, 1989).

$$[Nutriente]\ en\ un\ litro = \frac{[Nutriente\ ppm] \times ml\ disolucion}{1000}$$

$$g\ Nutriente = \frac{[Nutriente] en\ un\ litro \times 1000}{P_{suelo}}$$

$$kg\ Nutriente = \frac{g\ nutriente}{1000}$$

$$PM\left({}^{kg}/_{mol}\right) = \frac{PM_{nutriente}}{1000}$$

$$Nmoles\ nutriente = \frac{kg\ nutriente}{PM\ nutriente}$$

$$[Nutrinente](\log) = (Nmoles\ nutriente \times 10) \times log$$

2.18. Análisis de K

Primero se tuvo que efectuar los estándares a concentraciones de: 1, 2.5, 5, 10 y 25 ppm, para la curva de calibración en el equipo de espectrofotometría de absorción atómica VARIAN SPECTRA AA55. Una vez desarrollada la curva, se midió las muestras (suelo mineralizado) en longitud de onda de 766.5 nm directamente de los balones de 250 ml; otorgando resultados en concentración (ppm), para registrarlos finalmente en una base de datos.

2.19. Análisis de Fe

Se produjo estándares a concentraciones de: 1, 2.5, 5 y 10 ppm, para la curva de calibración en el equipo de espectrofotometría de absorción atómica VARIAN SPECTRA AA55, en longitud de onda 248.3 nm. A continuación, se aforó 1ml de las muestras (suelo

mineralizado) en balones de 100 ml con agua ultra pura del purificador MILLIPORE DIRECTQ. Después de tomar las concentraciones (ppm) de las muestras se inscribió en una base de datos (Benton, 1930).

2.20. Análisis P

Se elaboró estándares a concentraciones de: 0.5, 1, 2, 4 ppm. Posterior a eso se colocó 2 ml de estándar, se añadió 5 gotas de reactivo PO_4^{-1}, en seguida se agregó 9 gotas de reactivo PO_4^{-2}; una vez agitado, se dejó reposar por un lapso de 15 minutos y se comparó con la tabla de colores (Ver anexo 8, 9 y 10) (EASY-LIFE, 2014), a continuación, se llevó la muestra a celdas de cristal realizando la curva de calibración y trabajando a una longitud de onda de 725 nm en el espectrofotómetro UV JASCO V360.

El mismo procedimiento que se cumplió para los estándares; se reprodujo con las muestras (selo mineralizado) en el espectrofotómetro UV, arrojándonos datos de concentración (ppm), guardando los resultados en una base de datos (Rojas, 2015).

2.21. Análisis de N

Este tipo de análisis se lo realizó en el Laboratorio De Suelos De La Universidad Politécnica Salesiana, sede Cayambe, por el método de Kjeldahl, por medio del equipo de destilación KJELTEC FOSS8100, ensayo PEE LSA10 del laboratorio citado, con muestra de suelo molida y tamizada (rotulada), enviándonos el porcentaje de N en cada muestra analizada (UNE 77318, 2001).

2.22. Análisis estadístico

Es uno de los análisis esenciales en esta investigación, ya que los resultados obtenidos por el mismo (ver anexo 11), sirven para agrupar caracteres externos y perfiles

bioquímicos de las especies estudiadas; por lo tanto, se realizó un análisis no paramétrico, utilizando la prueba de Kruscal-Wallis con corrección de la significación de Bonferroni, echa en el programa informático R versión 3.2.3, en seguida se efectuó evaluaciones multivariadas comenzando por un Análisis Clúster, un Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) y un Análisis de Componentes Principales (PCA) utilizando el programa Paleontological Statistics (PAST) versión 3.11.

Con los datos obtenidos en la tabla master (Ver anexo 11) se agrupó perfiles bioquímicos de los aceites esenciales, por medio del nivel de significancia ($p<0.05$). Asimismo, se asoció variables climáticas y edafológicas, para aceptar hipótesis y a su vez relacionarlo con sus variables.

Finalizando el análisis con una conclusión de la influencia de los aspectos edafológicos y ambientales en la composición química, concentración y rendimiento en los aceites esenciales de los puntos muestreados.

Capítulo 3

Resultados y discusión

3.1. Composición química y rendimiento de los aceites esenciales

Para el análisis de la composición química de los aceites esenciales de jengibre (*Zingiber officinale*) y hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) se tomó en cuenta cuatro compuestos (geranial, neral, pineno, cariofileno) característicos hallados en por medio del equipo GC-MS (área). Además, se analizó el rendimiento de los aceites esenciales de cada especie en conjunto a las variables citadas.

3.2. Jengibre (*Zingiber officinale*)

Tabla 3

Prueba Kruskal-Wallis. Jengibre *(Zingiber officinale)*

	Kruskal-Wallis				
	Cariofileno	Pineno	Geranial	Neral	Rendimiento
CHI^2	32.89	3.20	7.20	7.20	7.20
GL	2	2	2	2	2
P	**0.19**	**0.20**	**0.027**	**0.03**	**0.03**

Nota. Elaborado por: Flores M. & Patiño G., 2016.

GL= grados de libertad, P=probabilidad

P<0.05

La prueba de Kruskal-Wallis arrojó valores de probabilidad menores al p establecido (0.05) en los compuestos químicos geranial y neral; asimismo el caso del rendimiento, interpretando que en estos grupos existe una diferencia estadísticamente significativa entre las muestras con respecto a las variables mencionadas.

Por el contrario, en lo que respecta a los compuestos químicos cariofileno y pineno la probabilidad fue mayor; esto significa que, en los grupos no existe una diferencia estadísticamente significativa probablemente por las presencias de varios quimiotipos en el aceite esencial.

Se conoce que el cariofileno ocupa el papel de supervivencia evolutiva (sistema de defensa contra insectos), además de capacidad anti fúngica en la planta (Corey, Mitra, & Uda, 1964). El sesquiterpeno se encuentra mayoritariamente en la raíz del genero *Zingiber* en concentraciones de 42.2% (Sabulal, y otros, 2006).

El pineno, por otra parte, cumple la función de repelente de insecto y en particular del fílum artrópodo (Neiro, Verbel, & Stashenko, 2010). Este monoterpeno se localiza en la raíz del género *Zingiber* en concentraciones considerables (17,9%) (Chau, Thang, Nguyen, Dai, & Isiaka , 2015).

Aunque estos dos compuestos se los menciona en solo en el jengibre, también aparecen en la hierba luisa, aunque no hay bibliografía del porqué de su existencia, se supone que su expresión se debe a las variables climáticas tanto como las edafológicas, además de las trazas de compuestos que existe en los aceites (Zekaria, 1996).

Puede que esto sea factor para que en el análisis de pineno y cariofileno del jengibre hayan salido probabilidades altas. También podrían interferir factores de edad, recolección, medio ambiente, entre otras variables (Rosner & Rosner, 2010).

3.3. Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*)

Tabla 4

Prueba Kruskal-Wallis. Hierba luisa *(Cymbopogon citratus)*

	Kruskal-Wallis				
	Cariofileno	Pineno	Geranial	Neral	Rendimiento
CHI^2	41.17	44.03	41.30	38.43	46.79
GL	15	15	15	15	15
P	**<0.001**	**<0.001**	**<0.001**	**<0.001**	**<0.001**

Nota. Elaborado por: Flores M. & Patiño G., 2016.

GL= grados de libertad, P=probabilidad

P<0.05

El citral (monoterpenoides) comprende dos isómeros geranial y neral, los cuales se los encuentra en la mayoría de aceites esenciales (Leyva, Ferrada, Martínez, & Stashenko, 2007). En el caso del género *Cymbopogon* son los compuestos con mayor concentración (65-85%) (Lawless, 1995). Además, cumple el papel de feromona de alarma contra insectos (Kuwahara, Fukami, Ishhii, Matsumoto, & Wada, 1980)

La evaluación de Kruskal-Wallis dio cifras menores al p establecido (0.05), tanto en los compuestos químicos como en el rendimiento del aceite esencial, lo que expresa que, en todos los grupos existe una diferencia estadísticamente significativa entre las muestras y las variables descritas. Además, evalúa rangos de los grupos siendo un análisis no paramétrico, al cual se añade la corrección de Bonferroni siendo utilizada cuando los grupos son grandes, al saber de antemano que homogeneidad de varianzas debe estar siempre presente (Rosner & Rosner, 2010).

3.4. Conglomeración de las muestras por medio de variables climáticas y edafológicas

A continuación, se analiza por medio de un Clúster con distancias euclidianas; siendo este, un método estadístico multivariado para la formación de grupos dependiendo del grado de similitud expresando los resultados en un dendrograma o graficas de árbol (Johnson, 1998). Los sitios de recolección, en relación a las variables ambientales: temperatura (˚C), humedad relativa (%) y altitud (m.s.n.m) de las especies de hierba luisa y jengibre respectivamente.

Dendrograma de similitud de 16 sitios de recolección (hierba luisa) considerando variables ambientales basado en distancias euclidianas

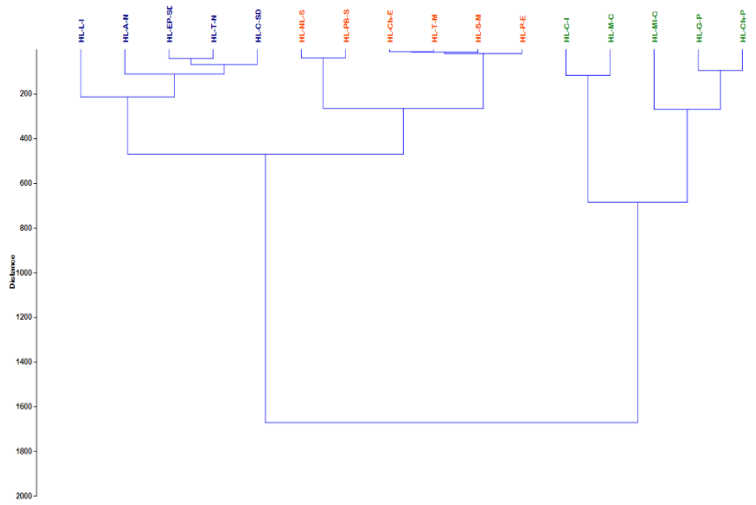


Figura 1. Agrupación de sitios de recolección de hierba luisa según las variables climáticas

Elaborado por: Flores M. & Patiño G., 2016

El dendrograma muestra una aglomeración de 3 grupos como lo describe la siguiente tabla:

Tabla 5

Grupos formados con los sitios de recolección (V. Ambiental). Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*)

Grupos		Sitios
1	●	HL-L-I;HL-A-N;HL-EP-SD;HL-T-N;HL-C-SD
2	●	HL-NL-S;HL-PB-S;HL-Ch-E;HL-T-M;HL-S-M;HL-P-E
3	●	HL-C-I;HL-M-C;HL-MI-C;HL-G-P;HL-Ch-P

Nota. Elaborado por: Flores M. & Patiño G., 2016

Codificación de sitios ver anexo 1

A continuación, el grupo 1 y 2 se unen formando un grupo de mayor tamaño, observando una conglomeración de 2 grandes grupos en conjunto con el grupo 3 para el análisis por sitios de recolección.

La asociación de grupo 1 se debe a su estrecha semejanza en lo que respecta a la temperatura y altitud, concluyendo en similitudes con el ecosistema de Bosque Siempre Verde Pie Montano de Cordillera Occidental de los Andes propio de las provincias de Santo Domingo de los Tsachilas e Imbabura (Cerón, Palacios, Valencia, & Sierra., 1999) y el ecosistema Bosque Siempre Verde Pie Montano del Norte de la Cordillera Oriental de los Andes propio de la provincia de Napo (Palacios, Cerón, Valencia, & Sierra, 1999).

En el grupo 2 el ecosistema Bosque Semideciduo de Tierras Bajas del Jama-Zapotillo pertenecientes a las provincias de Manabí y Esmeraldas (Cerón, Palacios, Valencia, & Sierra., 1999), comparten similitud con el ecosistema Bosque Siempre Verde de Tierras Bajas del Aguarico-Putumayo Caquetá concerniente a la provincia de Sucumbíos (Josse, y otros, 2003), debido a las variables de temperatura y altura registradas.

Para finalizar el grupo 3 reúnen las provincias de Carchi, Imbabura y Pichincha resultando en un ecosistema Bosque y Arbustal Semideciduo del Sur de los Valles (Valencia, Cerón, Palacios, & Sierra, 1999), este grupo tiene las tres variables con una reducida diferencia entre datos, por eso aparecen en un grupo aparte ya que su similitud es alta a diferencia del grupo 1 y 2 que se unen para formar un grupo más grande acompañado del grupo 3.

Dendrograma de similitud de 3 sitios de recolección (jengibre) considerando variables ambientales basado en distancias euclidianas

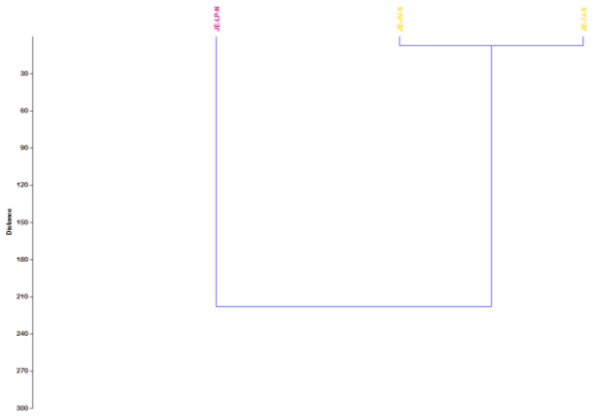


Figura 2. Agrupación de sitios de recolección de jengibre según las variables climáticas

Elaborado por: Flores M. & Patiño G., 2016

El dendrograma expone claramente la formación de 2 agrupaciones enlistadas en la siguiente tabla:

Tabla 6

Grupos formados con los sitios de recolección (V. Ambiental). Jengibre (*Zingiber officinale*)

Grupos		Sitios
1	●	JE-LP-N
2	●	JE-JV-S;JE-7J-S

Nota. Elaborado por: Flores M. & Patiño G., 2016

Codificación de sitios ver anexo 1

Dos sitios de una misma provincia (Sucumbíos) se unen para formar el grupo 2, correspondiente a un ecosistema Bosque Siempre Verde de Tierras Bajas del Aguarico-Putumayo Caquetá (Palacios, Cerón, Valencia, & Sierra, 1999), por tener datos casi idénticos de las variables pese a ser sitios lejanos.

Notoriamente el grupo 1 lo conforma la provincia de Napo siendo un ecosistema de Bosque Siempre Verde de tierras bajas del Napo-Curaray (Palacios, Cerón, Valencia, & Sierra, 1999), (Josse, y otros, 2003), por sus valores únicos expuestos en el análisis.

A continuación, se desarrolla el análisis Clúster con distancias euclidianas relacionando los sitios de recolección y las variables edafológicas: humedad (%), textura (arena, arcilla limo%), materia organiza (%), pH, conductividad eléctrica (µs/cm); cantidad de N, Fe, P, K (log-mol) de las especies de hierba luisa y jengibre respectivamente.

Dendrograma de similitud de 16 sitios de recolección (hierba luisa) considerando variables edafológicas basadas en distancias euclidianas

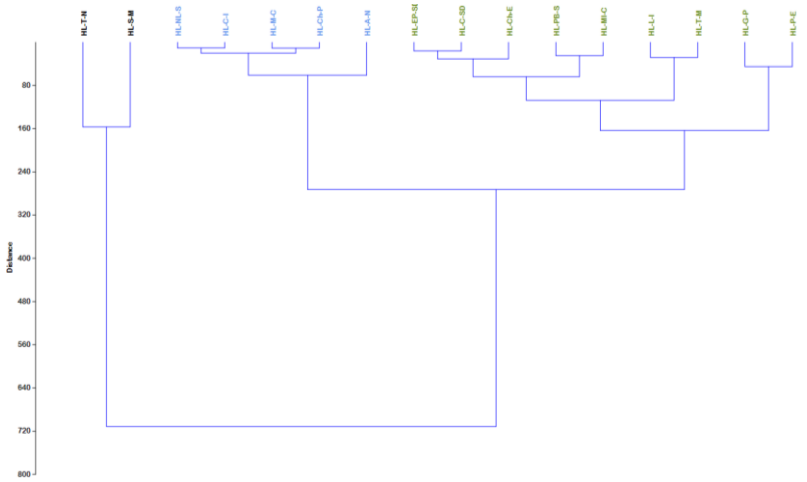


Figura 3. Agrupación de sitios de recolección de hierba luisa según las variables climáticas

Elaborado por: Flores M. & Patiño G., 2016

El dendrograma arroja aglomeraciones de 3 grupos citadas en la siguiente tabla:

Tabla 7

Grupos formados con los sitios de recolección (V. Edafológica). Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*)

Grupos		Sitios
1	●	HL-T-N;HL-S-M
2	●	HL-NL-S;HL-C-I;HL-M-C;HL-Ch-P;HL-A-N
3	●	HL-EP-SD;HL-C-SD;HL-Ch-E;HL-PB-S;HL-MI-C;HL-L-I; HL-T-M;HL-G-P;HL-P-E

Nota. Elaborado por: Flores M. & Patiño G., 2016

Codificación de sitios ver anexo 1

Después el grupo 2 y 3 forman un grupo de mayor tamaño independiente del grupo1. Se nota que los tres grupos bien diferenciados constan, de variables dependientes tácitamente importantes (fertilización, alrededores del cultivo, plagas) que afectan directa o indirectamente el carácter edafológico del cultivo (Ver anexo 6).

En el grupo 3, el tipo de aglomeración formado se debe a causa de que en cada sitio el cultivo tenía algún tratamiento químico agrónomo (abono, plaguicida, herbicida). Se sabe que los plaguicidas, abonos y herbicidas tienen interacción de tipo coloidal con el suelo afectando positiva o negativamente en el cultivo dependiendo de la dosis administrada (Sánchez & Sánchez , 1984). También se conoce que la acumulación de cierto tipo de pesticidas en el suelo se debe a variables edafológicas como: materia orgánica, textura y pH del suelo, que a su vez las modifican siendo un factor el continuo uso de estos productos químicos (Uzcátegui, Araujo, & Mendoza, 2001). Los abonos químicos sirven de tratamientos de adición de macro y micronutrientes al suelo interactuando en las características edafológicas del cultivo, no obstante, su desmesura puede causar daños por salinidad (Martínez, Ojeda, Hernández, Martínez , & Quezada, 2011).

La conglomeración del grupo 2 es el resultado de que en los sitios de cultivo practicaban técnicas agrónomas 100% orgánicas. Los abonos orgánicos aparte de aumentar la cantidad de macro y micronutrientes en el suelo del cultivo dependiendo de la dosis, también aumentan la cantidad de materia orgánica, humedad, mantiene un pH óptimo (Ouédrogo, Mando, & Zombré, 2001), capacidad de intercambio iónico y elimina la acidez intercambiable (Trinidad A. , 1998).

Para finalizar en el grupo 1, los sitios utilizaban los dos tipos de técnicas (fertilizantes y compost) esto se debe a que, si existe una la combinación equilibrada de las dos, las características edafológicas tienen mayor actividad con la especie cultivada (Compagnoni & Potzolu, 2001), siendo el factor de mayor interés para nuestra investigación el aumento de biomasa como efecto de su aplicación (Montaño, Simosa, & Perdomo, 2009).

Dendrograma de similitud de 3 sitios de recolección (jengibre) considerando variables edafológicas basadas en distancias euclidianas

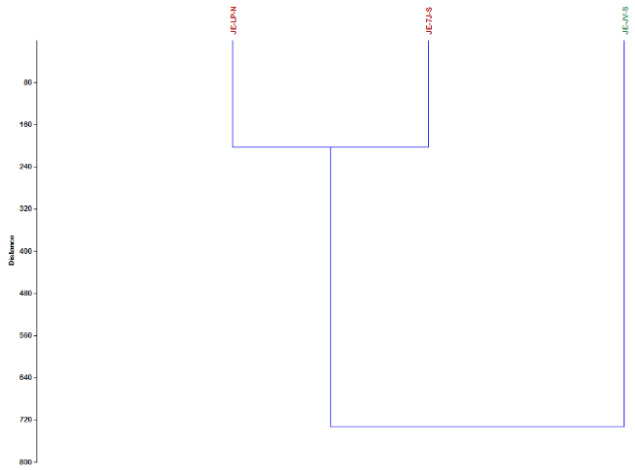


Figura 4. Agrupación de sitios de recolección de jengibre según las variables climáticas

Elaborado por: Flores M. & Patiño G., 2016

Los resultados obtenidos en el dendrograma reúnen 2 grupos que están registrados en la siguiente tabla:

Tabla 8

Grupos formados con los sitios de recolección (V. Edafológica). Jengibre (*Zingiber officinale)*

Grupos	Sitios
1	JE-LP-N;JE-7J-S
2	JE-JV-S

Nota. Elaborado por: Flores M. & Patiño G., 2016

Codificación de sitios ver anexo 1

El grupo 1 representa a dos sitios de recolección totalmente alejados, aunque la similitud encontrada en los dos radica, en que utilizaban abono foliar para la producción de jengibre, el cual interacciona con los nutrientes directamente en la hoja difundiéndose por los espacios intercelulares de las células epidérmicas (un símil de la raíz) (Franke, 1986), se trabaja en conjunto con los nutrientes del suelo, de hecho, ayuda a corregir el aporte de nutrientes edafológicos en fases de crecimiento de la especie (Trinidad & Aguilar, 2000).

El grupo 2 por otra parte tiene características distintas a los sitios antes mencionados, ya que en el cultivo solo se aplicaba fertilizantes de acción directa con el suelo, interactuando en la acumulación de macro y micronutrientes para su desarrollo (Martínez, Ojeda, Hernández, Martínez , & Quezada, 2011).

3.5. Correlación entre variables climáticas, edafológicas y quimio tipos de los aceites esenciales de hierba luisa y jengibre en relación a los sitios de recolección

Para la correlación se utilizó el Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) formando parte de los métodos multivariados ya que permite evaluar un grupo de datos y sus variables dentro de un conjunto más grande; en otras palabras, uniendo grupos de variables (Vertel, 2010), se relacionó las variables edafológicas (humedad, textura, materia organiza, pH, conductividad eléctrica), macro y micronutrientes (N, P, K, Fe), variables ambientales (humedad relativa, temperatura, altitud), quimiotipo de aceites esenciales (gerencial, neral, pineno, cariofileo) y los sitios de recolección de las dos especies.

Los datos para el análisis fueron tomados de los promedios de las variables y logaritmo en base 10 para macro y micronutrientes en molares.

Triplot de CCA de *Zingiber officinale* y *Cymbopogon citratus*

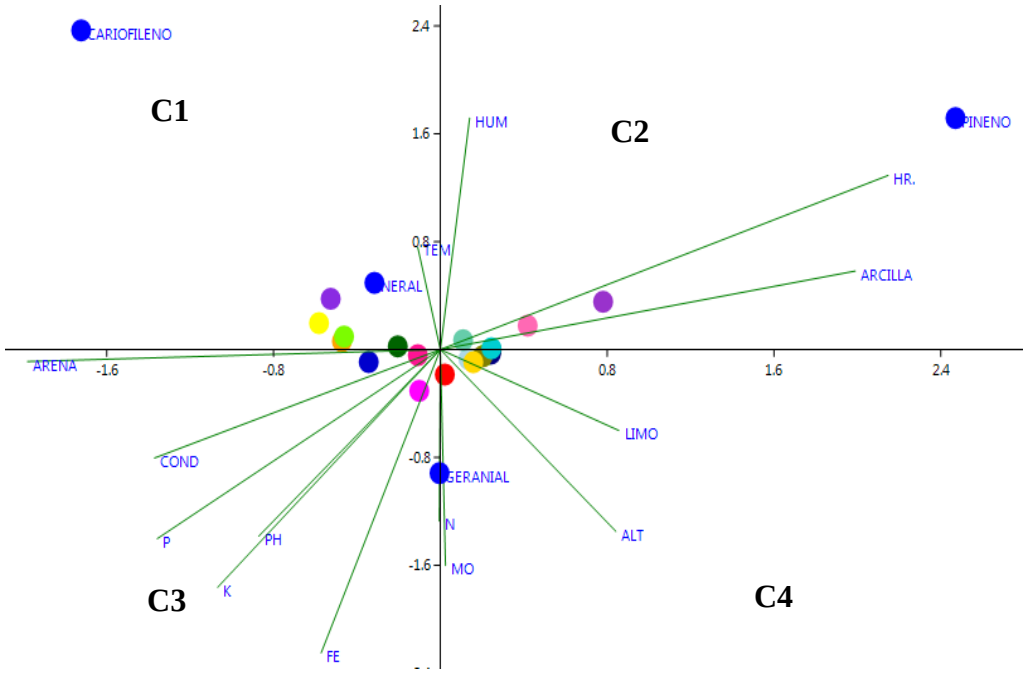


Figura 5. Agrupación de sitios de recolección, v. climático, v. edafológico y quimiotipos.

Elaborado por: Flores M. & Patiño G., 2016

La figura o triplot destaca por combinar variables (climáticas, edafológicas), composiciòn (quimiotipos) y frecuencia (sitios de recolección) (Vertel, 2010) los dos últimos citados se los representa por medio de puntos, a diferencia de las variables representadas por vectores. De igual manera se realizó una prueba de permutación Monte Carlo, esto sirvió para acordar la relación entre las variables y los activos (individuos y frecuencia) (Ter-Braak & Smilauer, 2002), arrojando resultados a las 10000 permutaciones de p=0.00002 lo que significa que existe una relación entre las variables y la composición del aceite esencial. Para la mejor visualización se utilizó colores para los sitios de recolección explicados en la siguiente gráfica.

Colores de los sitios de recolección

Figura 6. Colores de sitios para el CCA expresado en un triplot

Elaborado por: Flores M. & Patiño G., 2016

Según Vertel (2010), para facilitar la interpretación del triplot se puede dividir en cuadrantes realizando pequeñas agrupaciones; así obtenemos 4 cuadrantes referenciados en la siguiente tabla:

Tabla 9

Grupos de sitios de recolección formados en los cuadrantes 1, 2, 3 y 4 del CCA

Cuadrantes	Sitios
1	HL-NL-S;HL-PB-S;HL-Ch-E;HL-P-E;HL-T-N
2	HL-S-M;HL-T-M;HL-A-N;JE-LP-N
3	HL-G-P;HL-M-C;JE-JV-S
4	HL-Ch-P;JE-7J-S; HL-EP-SD;HL-C-SD;HL-MI-C; HL-L-I;HL-C-I

Nota. Elaborado por: Flores M. & Patiño G., 2016

Codificación de sitios ver anexo 1

Podemos afirmar que el **cuadrante 1** se encuentra los sitios únicamente de la especie de hierba luisa relacionados por la variable temperatura, concentración de neral y cariofileno. En el **cuadrante 2** agrupados por las variables de pineno, humedad del suelo, humedad relativa, y porcentaje de arcilla.

El **cuadrante 3** reunidos por la semejanza de las variables porcentaje de arena, conductividad eléctrica, pH, N, P, K, Fe y geranial. Finalmente, en **cuadrante 4** conglomerados por las variables N, geranial, materia orgánica, altitud y porcentaje de limo. Cabe recalcar que las variables de N y geranial se las toma en los dos cuadrantes ya que aparecen en la línea divisoria de cada cuadrante.

Con respecto al cuadrante 1 tenemos una aglomeración de 5 sitios de una sola especie; hierba luisa, esto se da ya que al citral lo componen dos isómeros (neral y geranial) concentrando una gran cantidad en el aceite esencial (75%) (Tajidin, Ahmad, Rosenani, Azimah, & Munirah, 2012), esto se debe a la temperatura en la que crece, teniendo una relación igualitaria entre temperatura y cantidad de citral producido, a mayor

temperatura mayor cantidad de citral (Mayazaki, 1965). El cariofileno se mantiene alejado al igual que el pineno (cuadrante 2) pese a que en el jengibre y la hierba luisa se los encuentra, esto se debería a que podrían ser trazas con notable concentración en la composición total de aceite (Zekaria, 1996).

Un punto a destacar es la unión que realiza el geranial con el nitrógeno, esto se debe a que los dos guardan una estrecha relación, ya que cualquier abono que se aporta en el suelo ayuda a la asimilación de nitrógeno y esto a su vez ayuda al aumento de biomasa, por consiguiente, aumenta la calidad y cantidad de aceite esencial en especial la concentración del geranial (Munsi & Mukherjee, 1981).

Según Loma (1989), los requerimientos del suelo para el jengibre son suelos húmicos (alto contenido de materia orgánica), en cambio Alonso (2004), exclama que para su crecimiento el suelo debe ser arenoso y con buen drenaje, finalmente Masabni y King (2014) expresan que el suelo óptimo es el arcilloso. De acuerdo al triplot el jengibre se encuentra en tres cuadrantes (C2, C3, C4) corroborando lo antes citado que el jengibre puede crecer en los tres tipos de suelo siempre y cuando tenga condiciones de drenaje y materia orgánica óptimos.

En la hierba luisa las condiciones edafológicas para su óptimo crecimiento son de suelos franco arenoso, arcilloso (Alarcón, 2011), acertando en los grupos formados por el análisis (C2 y C3). Existe un grupo de hierba luisa que se ubica en el cuadrante del limo reiterando lo explicado por Girando (2003), que expresa que la hierba luisa se adapta a distintos suelos (profundos, drenaje óptimo).

Observando el **cuadrante 3** nos damos cuenta que se agrupan 3 sitios totalmente distintos, pero lo notable de su agrupación es que mayoritariamente se da por factores de suelo ya expuestos N, P, K, Fe (macro y micronutrientes), conductividad eléctrica y pH (factores edafológicos). Tenemos sitios con el uso de diferentes tipos de tecnologías agrónomas, HL-G-P utiliza fertilizantes en la producción de hierba luisa, HL-M-C el cuidado y cultivo es totalmente orgánico, JE-JV-S emplea abono foliar, lo que significa que los tres sitios tienen una interacción activa con el suelo. Como resultado se expresa lo dicho por Vázquez y García (1995), el proceso de difusión depende de factores como la conductividad eléctrica, el pH, textura; entre otros, para la absorción de macro y micronutrientes hacia las especies ya mencionadas.

3.6. Conglomeración de sitios de recolección por medio de sus componentes principales

Esta evaluación se realizó por medio del análisis de componentes principales (PCA) siendo un método multivariado descriptivo muy utilizado en todo tipo de investigaciones que abarcan gran cantidad de datos, reduciendo el tamaño de los datos con la formación de grupos de similitud (Green, 1978). Se utilizó la matriz de correlación, ya que esta da importancia a todas las variables para su posterior interpretación (González, Díaz, Torres, & Garnica, 1994).

Para el análisis fueron tomados los datos de los promedios de las variables edafológicas (humedad, textura, materia organiza, pH, conductividad eléctrica), variables climáticas (humedad relativa, temperatura, altitud), variables de los aceites esenciales

(geranial, neral, pineno, cariofileo, rendimiento) y logaritmo en base 10 de los macro y micronutrientes en molares en relación con los sitios de recolección de las dos especies.

Para distinguir mejor los puntos utilizamos diferentes tipos de colores para cada sitio de recolección explicados den la figura 6, asimismo la codificación de los sitios lo muestra el anexo1. En el blipot de PCA se asignó cuadrantes para facilitar su discusión.

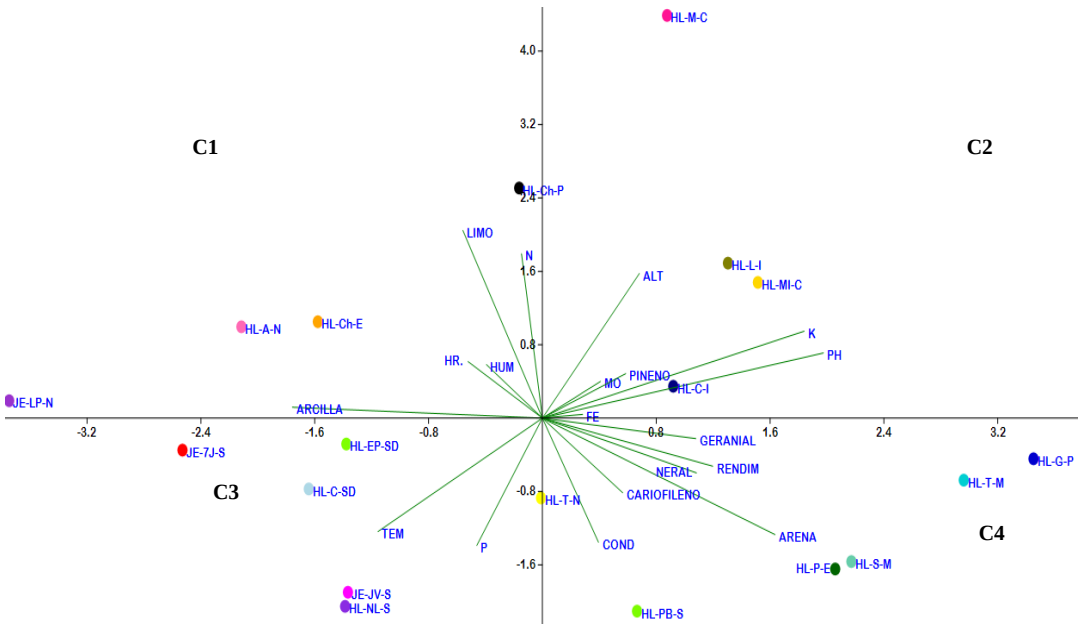


Figura 7. Conglomeración de sitios de recolección, v. climático, v. edafológico, quimiotipos y rendimiento

Elaborado por: Flores M. & Patiño G., 2016

Observamos que el biplot realiza varias asociaciones en los 4 cuadrantes. El **C1** une 4 sitios de recolección. El **C2** asocia a 4 sitios, igualmente en el **C3** la agrupación de 6 sitios y para finalizar con el **C4** concentrando 6 sitios. La agrupación de los sitios está claramente explicada en la siguiente tabla:

Tabla 10

Grupos de sitios de recolección formados en los cuadrantes 1, 2, 3 y 4 del PCA

Cuadrantes	Sitios
1	JE-LP-N;HL-A-N;HL-Ch-E;HL-Ch-P
2	HL-M-C;HL-L-I;HL-C-I;HL-MI-C
3	JE-7L-S;HL-C-SD;HL-EP-SD;JE-JV-S;HL-NL-S;HL-T-N
4	HL-T-N;HL-PB-S;HL-P-E;HL-S-M;HL-T-M;HL-G-P

Nota. Elaborado por: Flores M. & Patiño G., 2016

Codificación de sitios ver anexo 1

Una acotación interesante es la del sitio HL-T-N el cual tiene gran afinidad con varias variables del cuadrante 3 y 4, por ejemplo con los quimiotipos neral geranial, neral y cariofileno, de igual manera con el rendimiento del aceite esencial lo que significa que el rendimiento del aceite esencial y los quimiotipos expuestos podrían tener una relación estrecha como lo afirma Viturro y otros (1997), que la calidad del quimiotipo del aceite se basa en el rendimiento y este a su vez en tipo de la zona de cultivo.

Este rasgo lo de muestran los demás sitios del **C4** y los de **C2**, además explica lo dicho por (Quintero, González, & Vera, 1999), el aceite esencial de *Cymbopogon citratus* contiene gran cantidad de citral y también cantidades de cariofileno concentradas en el aceite esencial (Matasyoh, Wagara, Nakavuma, & Kiburai, 2001).

Por otra parte, el aceite esencial de *Zingiber officinale* no se muestra en estos grupos, ya que la variable rendimiento es relativamente baja a comparación del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* como lo ratifica Vásquez y otros (2001), que al momento de cortar

el tubérculo se rompen las paredes celulares, perdiendo gran parte del aceite esencial en el proceso.

En **C3** los 5 sitios comparten afinidad por las variables de temperatura y P, por el mismo hecho que la temperatura ayuda a mineralizar los fosfatos disponibles en el suelo en épocas de altas temperaturas y lluvias moderadas (Numera & Meza, 2012).

Finalmente, en **C2** la variable más importante a considerar es el nitrógeno, por ser uno de los elementos importantes en la acumulación de biomasa (Munsi & Mukherjee, 1981), por medio de la fertilización aumentando la calidad y concentración de quimiotipos en los aceites esenciales de las dos especies (Beech, 1990).

Conclusiones

Los aceites esenciales de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) y jengibre (*Zingiber officinale*) contienen importantes cantidades de geranial, neral, pineno y cariofileno. En el caso del aceite esencial de hierba luisa se encontró trazas considerables de pineno, en casi todos los sitios de recolección, exceptuando: Nueva Loja (Sucumbíos), Chigua (Esmeraldas) y Guayllabamba (Pichincha) pese a que en bibliografía se comenta la inexistencia o poca cantidad del quimiotipo mencionado en el aceite esencial. El sitio de Tosagua (Manabí) presenta la más alta concentración de neral y geranial, así como un alto rendimiento (0.43%) de aceite esencial de hierba luisa, resultando así en el sitio óptimo para la recolección y posterior extracción de estos dos quimiotipos característicos de la especie. Por otra parte, el sitio Jivino Verde (Sucumbíos) tiene una alta concentración de cariofileno en el aceite esencial de jengibre, que sumado a su rendimiento (0.11%), lo califica como sitio óptimo para recolección y posterior extracción de estos dos quimiotipos característicos de la especie.

Los sitios 7 de Julio (Sucumbíos), Jivino Verde (Sucumbíos), Congona (Santo Domingo), El Poste (Santo Dommingo), Nueva Loja (Sucumbíos), Tena (Napo), resultan ser sitios de mayor correlación entre la especie vegetal y los factores edafológicos; como resultado se produce un aumento de biomasalo, que determina mayor calidad y concentración de quimiotipos de los aceites esenciales. Con esto se concluye que los factores ambientales, factores edafológicos, concentración de quimiotipos y rendimiento de los aceites esenciales están estrechamente correlacionados. Los sitios mencionados tienen alto valor industrial para la producción de aceites esenciales de las especies vegetales de interés.

Recomendaciones

Debe verificarse que al momento de la recolección de las especies de interés su fenología debe estar en el punto máximo para obtener un alto rendimiento, de igual modo verificar que los factores climáticos como la temperatura y precipitación pluvial no sean excesivos, dado que las especies pueden presentar perdida de los aceites esenciales y afectar la calidad de los resultados.

Al tomar la muestra de suelo es importante determinar qué tipo de abono se usó y cuáles son las características del cultivo in situ, ya que estos datos se contrastan con el valor de los resultados analíticos, de forma que la inspección del sitio es una información concluyente en el análisis.

Para la extracción de los aceites esenciales se recomienda que las muestras sean frescas; considerando que, al momento de su almacenamiento no se debe utilizar refrigeración alguna, ya que es una variable que puede modificar críticamente las características de los aceites.

El estudio para la recolección de datos de proveedores debe ser la instancia primordial; los datos proporcionados por entidades estatales y privadas son escasos o con información caduca, por tanto, se propone un reconocimiento o censo para obtener una base de datos con la ubicación de los sitios de cultivo de las especies de interés para futuras investigaciones.

Referencias

AgroEstrategias. (2007). Hierro. Disponibilidad, funciones y síntomas de deficiencia. *agroEstrategias*, 2-3.

Al Di Cara, J. (1983). Encyclopedia of Chemical Processing and Design. En J. Al Di Cara, *Essential Oils* (Vol. 19, págs. 352-381). U.S.A: Marcel Dekker.

Alarcón, J. (2011). *Plantas aromáticas y medicinales. Enfermedades de importancia y sus usos terapéuticos. Medidas para la temporada invernal.* Bogotá: Produmedios.

Ali, M. (1998). *Text Book of Pharmacognosy* (Segunda ed.). CBS.

Alonso, J. (2004). *Tratado de fitofármacos y nutracéuticos.* Buenos Aires: Corpus.

Arango, O., Hurtado, A., Castillo, P., & Santacruz, M. (2009). ESTUDIO DE LAS CONDICIONES DE EXTRACCIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR DEL ACEITE ESENCIAL DE LAUREL DE CERA (Morella pubescens). *Facultad de Ingeniería Agroindustrial, 7*(2), 41-42.

Awang, D. C. (1991). Ginger. *Canadian Pharmaceutical Journal, Revue Pharmaceutique Canadienne*, 309-311.

BaranČíková , G., Liptaj , T., & Prónayová , N. (2007). Phosphorus fractions in arable and mountain siols and theri humic acids. *Soil and Water Research, 4*(2), 141-148.

Beech, D. (1990). The effect of carrier and rate of nitrogen application on the growth and oil production of lemongrass (Cymbopogon citratus) in the Ord Irrigation Area. *Exp. Agric., 30,* 243-250.

Benton, J. (1930). Extractable Nitrate–Nitrogen. En J. Benton, *LABORATORY GUIDE FOR CONDUCTING SOIL TESTS AND PLANT ANALYSIS* (págs. 121-122). Londres: CRC.

Benton, J. (1930). Micronutrients (B, Cl, Cu, Fe, Mn, and Zn). En J. Benton, *LABORATORY GUIDE FOR CONDUCTING SOIL TESTS AND PLANT ANALYSIS* (págs. 93-94). Londres: CRC Pess.

Benton, J. (2001). *LABORATORY GUIDE FOR CONDUCTING SOIL TESTS AND PLANT ANALYSIS.* Londres : CRC.

Brady, N. (1999). *The Nature and Properties of soils* (Doceava ed.). New Jersey: Prentice Hall.

Burbano, H. (1989). *El Suelo: Una visión sobre sus componentes biorgánicos.* Pasto, Colombia: Universidad de Nariño.

Cáceres, A. (1996). *Plantas de Uso Medicinal en Guatemala.* Guatemala: Universitaria: Dirección General de Extensión.

Casas, J., García, J., Guadayol, J., & Olivé, J. (1994). *Análisi instrumental 2: Cromatografía i electroforesi.* Barcelona: UPC.

Centro Internacional del Mejoramiento de Maiz y Trigo. (2013). Contenido de Humedad del Suelo. *Mas Agro,* 1-3.

Cerón, C., Palacios, W., Valencia, R., & Sierra., R. (1999). Las Formaciones Naturales de la Costa del Ecuador. En Propuesta Preliminar de un Sistema de Clasificación de

Vegetación para el Ecuador Continental. *Proyecto INEFAN-GEF-BIRF y EcoCiencia* , 55-78.

Chau, L., Thang, T., Nguyen, T., Dai, D., & Isiaka , O. (2015). Constituents of essential oils from the leaves, stems and roots of Zingiber gramineum and. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas, 14*(6), 449-455.

CIAT. (1981). *Química de los Suelos Inundados* . Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT.

Compagnoni, L., & Potzolu, G. (2001). Cría moderna de las lombrices y utilización rentable del humus. *Vecchi*, 127.

Corey, E., Mitra, R., & Uda, H. (1964). Total Synthesis of d,l-Caryophyllene and d,l-Isocaryophyllene. *J. Am. Chem. Soc., 86*(3), 485-492.

Crichton , R., & Charloteaux-Wauters , M. (1987). Iron transport and storage. *Europ. J. Biochem., 164*, 485-506.

Day, R., & Underwood, A. (1989). *Quimica Analítica Cuantitativa* (Quinta ed.). Madrid: Prentice Hall Hispanoamérica.

Delgadillo, L., & Alcalá Martinez, J. (2010). *Manual de Procedimientos Analíticos.* Mexico.

Diéz, J. (1999). OPTIMIZACIÓN DE LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA: PROCEDIMIENTOS DE ANALISIS DE SUELO, TOMA DE MUESTRA Y ELECCIÓN DEL TIPO DE FERTILIZANTE. *Edafología, 6*, 73-84.

Domínguez, X. (1985). *Métodos de investigación fitoquímica.* Mexico: Limusa.

EASY-LIFE. (2014). EASY-LIFE PHOSPHATE PO4 ULTRA SENSITIVE. *Easy Life International BV, 1*(6), 1-2.

Emery, T. (1982). Iron metabolism in human and plants. *Am. Sci., 70*, 626-632.

Espinosa, J., & Molina, E. (1999). ACIDEZ Y ENCALADO DE LOS SUELOS. En J. Espinosa, & E. Molina, *Acidez potnecial* (pág. 4). San José: IPNI.

Estrella, J., Manosalvas, R., Mariaca, J., & Ribadeneira, M. (2005). *Biodiversidad y recursos genéticos: Una guía para su uso y acceso en el Ecuador.* Quito: ABYA-YALA.

Evans, W. C. (2002). *Trease and Evans "Pharmacognosy".* Saunders Elsevier.

Evans, W. C. (2002). *Trease and Evans "Pharmacognosy".* Edinburg: Saunders Elsevier.

FAO. (2000). *Manual de Prácticas Integradas de Manejo y Conserva de Suelos.* Ibadan, Nigeria: FAO.

FAO. (2009). *Guía para la descripción de suelos* . Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Recuperado el 01 de 02 de 2016, de ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/011/a0541s/a0541s00.pdf

Fassbender, H. (1975). *Quimica de suelos con énfasis en suelos de America Latina.* Costa Rica.

Fassbender, H. (1982). *Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina.* San José, Costa Rica: IICA.

Fernández, M. (2007). Fósforo: amigo o enemigo. *Redalyc*, 51-57.

Forest, & Starr, K. (21 de March de 2013). Cymbopogon citratus. *Invasive Species Compedium*, pág. 3. Obtenido de http://www.cabi.org/isc/datasheet/17377#tab1-nav

Franke, W. (1986). The basis of foliar absorption of fertilizers with special regard to the mechanism. *Scherin Agrochemical Division*, 17-25.

Gagan, S., Shir, R., & Panchal, V. (2 de Marso de 2011). Scientific basis for the therapeutic use of Cymbopogon citratus, stapf (Lemon grass). *Journal of Advanced Pharmaceitical Technology & Research, v.2(1)*, 4. Obtenido de http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3217679/

Giraldo, G. (2003). Barreras Vivas. (CIAT, Ed.) *Proyecto Comunidades y Cuencas*, 1-3.

Gonzáles, J. (2007). DENSIDAD RELATIVA = SPECIFIC GRAVITY,. *Tiempo Real S.A.*, 1.

González, P., Díaz, A., Torres, E., & Garnica, E. (1994). UNA APLICACIÓN DEL ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES EN EL ÁREA EDUCATIVA. *Economía, 9*, 56-71.

Green, P. (1978). *Analysing Multivariate Data.* Illinois, USA: The Dryden Perss.

Gupta, S., & Sharma, A. (2014). Medicinal properties of Zingiber officinale Roscoe - A Review. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences, 9*(5), 124-129.

Hans W, F. (1975). *Química de los suelos con énfasis en suelos de America Latina.* (M. d. Cruz., Ed.) Costa Rica, Turrialba: Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA.

Hoffman, E., & Stroobant, V. (2007). *Mass Spectrometry: Principles and Applications.* Londres: John Wiley y Sons.

IPNI. (2005). Sulfato de potasio. *Fuentes de nutrientes específicos, 5*, 1.

Jiménez, J., & Ortiz, M. (2000). Propiedades Físicas de Suelo que Condicionen el Desarrollo de Frutales en la Región de O´Higgins. *INIA*(227), 17-54.

Johnson, D. (1998). *Métodos multivariados aplicados al análisis de datos.* (C. Pérez , Trad.) Mexico: International Thomson.

Josse, C., Navarro, G., Comer, P., Evans, R., Faber-Langendoen, D., Fellows, M., . . . Teague, J. (2003). Ecological systems of Latin America and the Caribbean: A working classification of terrestrial systems. *Nature Serve*.

Kass, D. (2000). *Fertilidad de suelos.* Costa Rica: Universidad Estatal a Distancia.

Kiuchi, F., Shibuya, M., & Sankawa, V. (1993). Inhibitors of prostaglandin biosynthesis from ginger. *Chem Pharm Bull, 30*, 754.

Kuwahara, Y., Fukami, S., Ishhii, S., Matsumoto, K., & Wada, Y. (1980). Pheromone study on acarid mites. III. Citral: isolation and identification from four species of acarid mites, and its possible role. *Jap. J. Sanit. Zool., 41*, 49-52.

Lawless, J. (1995). *The Illustrated Encyclopedia of Essential Oils: The Complete Guide to the Use of Oils in Aromatherapy and Herbalism.* United Kingdome: Element Books.

Leyva, M., Ferrada, P., Martínez, J., & Stashenko, E. (2007). RENDIMIENTO Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE Zingiber officinale

EN FUNCIÓN DEL DIÁMETRO DE PARTÍCULA. *Scientia et Technica*, 187-188.

Loma, J. (1989). *Suelos agrícolas, su conservación y fertilización.* México: Hispanoamericana.

Lopez, A. (2006). *Manual de Edafología.* Sevilla.

Martínez, F., Ojeda, D., Hernández, A., Martínez , J., & Quezada, G. (2011). EL EXCESO DE NITRATOS: un problema actual en la agricultura. *SynthesiS*(57), 11-16.

Masabni, J., & King, S. (2014). Jardinería facil: Jengibre. *AgriLife*, 5-14.

Matasyoh, J., Wagara, I., Nakavuma, J., & Kiburai, A. (2001). Chemical composition of Cymbopogon citratus essential oil and its effect on mycotoxigenic Aspergillus species. *African Journal of Food Science, 5*(3), 138-142.

Matissec, R., Schnepel, F., & Steiner, G. (1992). *Análisis de los alimentos: Grasas y sustancias acompañantes.* Berlín, Alemania: SpringerVerlag.

Mayazaki, Y. (1965). Grass and oil yields from lemon-grass and the quality of oil. Japanese J. Trop. *Japanese J.*, 37-41.

Mengel, K. (1991). Available nitrogen in soils and its determination by the Nmin method and by electrultrafiltration (EUF). *Fert. Res., 28*, 251-262.

Meruane , C., & Gerreaud, R. (2015). Determinación de Humedad en la Atmósfera. 2.

Montaño, N., Simosa, J., & Perdomo, A. (2009). Respuesta de tres cultivares de berenjena (Solanum melogenaL.) a diferentes combinaciones de fertilizante orgánico y fertilizante químico. *UDO Agrícola, 9*(4), 807-815.

Moscoso, A., & Agustina, L. (2013). *Comparación del efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico con el eceite esencial de Cymbop "Hierba luisa" sobre una cepa de Candida albicans.* Trujillo.

Munsi, P., & Mukherjee, S. (1981). Response of Java Citronella (Cymbopogon winterianus Jowitt) to harvesting intervals with different nitrogen levels. *Acta Hort., 188*, 225-230.

Mustafa, T., Srivastava, K. C., & Jensen , K. B. (1993). Drug Development Report: Pharmacology of ginger, Zingiber officinale. *6*, 24.

Navarrete, C., Gil, J., Durango, D., & Garcia, C. (2010). Extracción y Caracterización del Aceite Esencial de Mandarina Obtenido de Residuos Agroindustriales. *Dyna, 77*(162), 85-92.

Navarrete, H., Muriel, M., Balslev, H., & Macía, M. (2008). *Enciclopedia de las Plantas útiles del Ecuador.* Quito: Herbario AAU.

Neiro, L., Verbel, J., & Stashenko, E. (2010). Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technology*, *101*, 372-378.

NTE INEN-ISO 6320. (2013). *ACEITES Y GRASAS DE ORIGEN ANIMAL Y VEGETAL. DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN. (IDT).* Quito: INEN.

NTE INEN-ISO 6320. (2013). *ACEITES Y GRASAS DE ORIGEN ANIMAL Y VEGETAL. DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN. (IDT).* Quito: INEN.

NTE INEN-ISO 6320. (2013). *ACEITES Y GRASAS DE ORIGEN ANIMAL Y VEGETAL. DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN. (IDT).* Quito: INEN.

NTE INEN-ISO 6320. (2013). *ACEITES Y GRASAS DE ORIGEN ANIMAL Y VEGETAL. DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN. (IDT).* Quito: INEN.

Numera, G., & Meza, C. (2012). EL FÓSFORO ELEMENTO INDISPENSABLE PARA LA VIDA VEGETAL. *PROGRAMA DE TECNOLOGIA QUÍMICA. LABORATORIO DE ANÁLISIS DE SUELOS*, 13-15.

Oliveira Prendes, J., Khouri, E., & López, M. (2006). *Analisis de suelos y plantas y recomendaciondes de abonado.* Oviedo: Ediciones de la Universidad de Oviedo .

Osorio Durango, E. (2014). *Farmacognosia.* Antioquia.

Ouédrogo, E., Mando, A., & Zombré, N. (2001). Use of compost to improve soil properties and crop productivity under low input agricultural system in West Africa. *Agriculture, Ecosistems and Environment, 84*(3), 259-266.

Palacios, W., Cerón, C., Valencia, R., & Sierra, R. (1999). Las Formaciones Naturales de la Amazonía del Ecuador. En Propuesta Preliminar de un Sistema de Clasificación de Vegetación para el Ecuador Continental. *Proyecto INEFAN/GERF-BIRF y EcoCiencia*, 109-119.

Pequeño, J., Lopez, A., Hernández, A., & Bernaldo de Quirós, E. (1966). *Agroquímica* (Vol. 1). La Habana: Universitaria.

Peredo, H. A., Palou, E., & López, A. (2009). Aceites esenciales: métodos de extracción. *Temas Selectos de Ingenieria de Alimentos, 3*(1), 24-32.

PETROECUADOR. (2015). *Ingredientes naturales para cosméticos,acites esenciales en Francia.* Quito.

Puangpen, S. (1999). Thai Zingiberaceae : Species Diversity And. *IUPAC*, 1-2.

Quintero, A., González, N., & Vera, A. (1999). Obtención y análisis cromatográfico del aceite esencial de Cymbopogon citratus (Limonaria). *Inst. Biol. Exper., 1*, 211-214.

Rango, V. (1985). *Manual de laboratorio de Mec{anica de Suelos* (Segunda ed.). Madellín: Universidad Nacional de Colombia.

Rivero, J. (1968). *Potasio. Su función. Los estados los estados de carencia en los agrios* (Segunda ed.). España.

Roberts, T., & Henry, J. (2014). El Muestreo de suelos: Los Beneficios de un Buen Trabajo. *Informaciones Agronomicas, 2*(42), 4-13.

Rodríguez, M. (2012). Prácticas de edafología y climatología. En M. Rodríguez, *Dterminación de la humedad relativa de suelo* (pág. 23). La Rioja: Iberus.

Rodríguez, M. (2012). Prácticas de edafología y climatología. En M. Rodríguez, *Determinación de carbono y de la materia orgánica* (pág. 33). La Rioja: Iberus.

Roig, J., Soto Ortiz, R., Vega Marrero1, G., & Tamajón Navarro, A. (2002). Indtructivo Técnico para el Cultivo de Cymbopogon citratus. *Cubana Plant Med*, 89-95.

Rojas, C. (2015). Interpretación de la Disponibilidad de Fósforo en laos Suelos de Chile. *Centro Regional de Investigación INNIA La Platina*, 24-27.

Rosner, B., & Rosner, R. (2010). *Fundamentals of Biostatistics.* Duxbury.

Sabulal, B., Dan, M., Kurp, R., Pradeep, N., Valsamma, R., & George, V. (2006). Caryophyllene-rich rhizome oil of Zingiber nimmonii from South India: Chemical characterization and antimicrobial activity.2006. *Phytochemistry, 67*(22), 69-73.

Sadzawka, R., Carrasco, M., Grez, R., Mora, M., Flores, H., & Neaman, A. (2006). *Métodos de análisis de suelos recomendados para los suelos de chile.* Santiago, Chile: INIA.

Sánchez, B., Ruiz, M., & Rios, M. (2005). *Materia orgánica y actividad biológica del suelo en relacion con la altitud en la cuenca del Río Maracay.* Aragua: Agronomia Trop.

Sánchez, M., & Sánchez , C. (1984). Los Plaguicidas Absorción y Evolucion en el Suelo. *Temas de Divulgación*, 23-32.

Seco, I., Invernón, V., González, M., López, E., & Devesa, J. (2012). Manual de laboratorio de Botánica. El herbario. Recolección, procesamientoe identificación de plantas vasculares. *Reduca (Biología), 5*(2), 15-24.

Siqueira, G. (2008). *Medida de la Conductividad Aparente del Suelo por Inducción Electromagnetica y Variavlilidad Espacial de Propiedades Fsicas y Químicas del Suelo.* Santiago de Compostela : Universidad de Santiago de Compostela.

Sirilin, E. (2006). Física de la Luz. En E. Sirilin, *La Luz en el Teatro* (págs. 3-4). Buenos Aires: Facultad de Arquitectura, Diseño y Urbanismo.

Soto Ortiz, R., Vega Marrero1, G., & Tamajón Navarro.2, A. L. (mayo de 2002). Instructivo Técnico del cultivo de Cymbopogon citratus (DC)Stapf (caña santa).

Revista cubana de Plantas Medicinales, v.2002 (2), 2-4. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962002000200007#cargo

Sukari, M., Mohd, N., Yap, A., Tang, S., Neoh, B., Rahmani, E., . . . Yuso, U. (The Malaysian Journal Anal. Sci.). Chemical constituents variations of essential oils from rhizomes of four Zingberaceae species. *2008, 12*(3), 638-644.

Tajidin, N., Ahmad, S., Rosenani, A., Azimah, H., & Munirah, M. (2012). Chemical composition and citral content in lemongrass (Cymbopogon citratus) essential oil at three maturity stages. *African Journal of Biotechnology, 11*(11), 2685-2693.

TECA. (13 de Julio de 2006). *Siembra y cosecha de jengibre(Zingiber officinarum)*. Recuperado el 11 de Febrero de 2016, de Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación: http://teca.fao.org/es/read/3756

Ter-Braak, C., & Smilauer, P. (2002). *Reference Manual and CANOCO-DRAW for Windows User's guide: Software for Canonical Community Ordination* (Vol. 4.5). New York, USA: CANOCO.

Thompson, L., & Troeh, F. (2002). *Los suelos y su fertilidad.* Bogotá: Reverté.

Trinidad, A. (1998). Abonos Orgánicos. *SAGARPA*, 2-8.

Trinidad, S., & Aguilar, D. (2000). FERTILIZACIÓN FOLIAR, UN RESPALDO IMPORTANTE EN EL RENDIMIENTO DE LOS CULTIVOS. *IRENAT*, 240-255.

UNE 77318. (2001). *Calidad de suelo. Determinación de nitrógeno total. Método Kjeldahl moficado.* Madrid: AENOR.

USDA. (1999). *Guía para la evaluación de la calidad y salud del suelo.*

Uzcátegui, J., Araujo, Y., & Mendoza, L. (2001). RESIDUOS DE PLAGUICIDAS ORGANOCLORADOS Y SU RELACIÓN CON PARÁMERTOS FÍSICO-QUÍMICOS EN SUELOS DEL MUNICIPIO PUEBLO LLANO, ESTADO MÉRIDA. *Bioagro, 23*(2), 115-120.

Valencia, R., Cerón, C., Palacios, W., & Sierra, R. (1999). Los Sistemas de clasificación de la Vegetación propuestos para el Ecuador En: Propuesta preliminar de un Sistema de Clasificación de Vegetacíon para el Ecuador continental. *Proyecto INEFAN/GEF-BIRF y EcoCiencia*, 19-28.

Vásquez, O., Alva, A., & Marreros, J. (2001). EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE JENGIBRE (Zingiber officinale). *Revista Amazónica de Investigación Alimentaria, 1*(1), 38-42.

Vázquez, B., & García, S. (1995). Nutrición Mineral. Fisiología Vegetal. *Pueblo y Educación*, 158-165.

Vertel, M. (2010). Comparación entre el análisis canónico de correspondencias y el análisis factorial múltiple en tablas de frecuencias-variables continuas. *Departamento de Estadística Facultad de Ciencias Universidad Nacional de Colombia*, 23-28.

Villachica, L., Felipe, M., & Bazán, T. (1972). La textura del suelo. *El Manual de Edafología*, 29-37.

Viturro, C., Molins, A., Saavedra, O., Molina, S., & Zampini, M. (1997). Resultados de la campaña 93-94 de los ensayos con lemongrassen la provincia de Jujuy. *AIPA, 15*, 191-197.

Wankat, P. C. (1988). Equilibrium Staged Separations. Sperations in Chemical. *Food Chemistry Yield and Composition of the Essential Oil of Satureja hortensis*(99), 99-123.

Zekaria, D. (1996). Los aceites esenciales: una altenativa a los microbianos. *Laboratorios Calier*, 1-6.

Anexos

Anexo 1. Códigos de sitios para rotulación de muestras

Especie	Cantón	Provincia	Código
Hierba luisa	Chavespamba	Pichincha	HL-Ch-P
Hierba luisa	Guayllabamba	Pichincha	HL-G-P
Hierba luisa	El poste	Santo Domingo	HL-EP-SD
Hierba luisa	Congona	Santo Domingo	HL-C-SD
Hierba luisa	Chigue	Esmeraldas	HL-Ch-E
Hierba luisa	Palestina	Esmeraldas	HL-P-E
Hierba luisa	Nueva Loja	Sucumbíos	HL-NL-S
Jengibre	7 de julio	Sucumbíos	JE-7J-S
Jengibre	Jivino verde	Sucumbíos	JE-JV-S
Hierba luisa	Piedra blanca	Sucumbíos	HL-PB-S
Hierba luisa	Carpuela	Imbabura	HL-C-I
Hierba luisa	Lita	Imbabura	HL-L-I
Hierba luisa	Mira	Carchi	HL-MI-C
Hierba luisa	Mascarilla	Carchi	HL-M-C
Jengibre	Las playas	Napo	JE-LP-N
Hierba luisa	Tena	Napo	HL-T-N
Hierba luisa	Archidona	Napo	HL-A-N
Hierba luisa	Tosagua	Manabí	HL-T-M
Hierba luisa	San Antonio	Manabí	HL-S-M

Nota: Elaborado por: Flores & Patiño, 2016.

Anexo 2. Encuesta realizada a los ciudadanos de los sitios a recolectar

ENCUESTA

Provincia:

Nombre del informante:

Cedula de identidad:

1. ¿Comercializa limoncillo/ hierba luisa?

SI ☐ NO ☐

2. ¿En dónde se puede encontrar limoncillo/ hierba luisa en la provincia?

---

3. ¿Conoce los datos de quien le provee del producto?

---

1. ¿Comercializa jengibre?

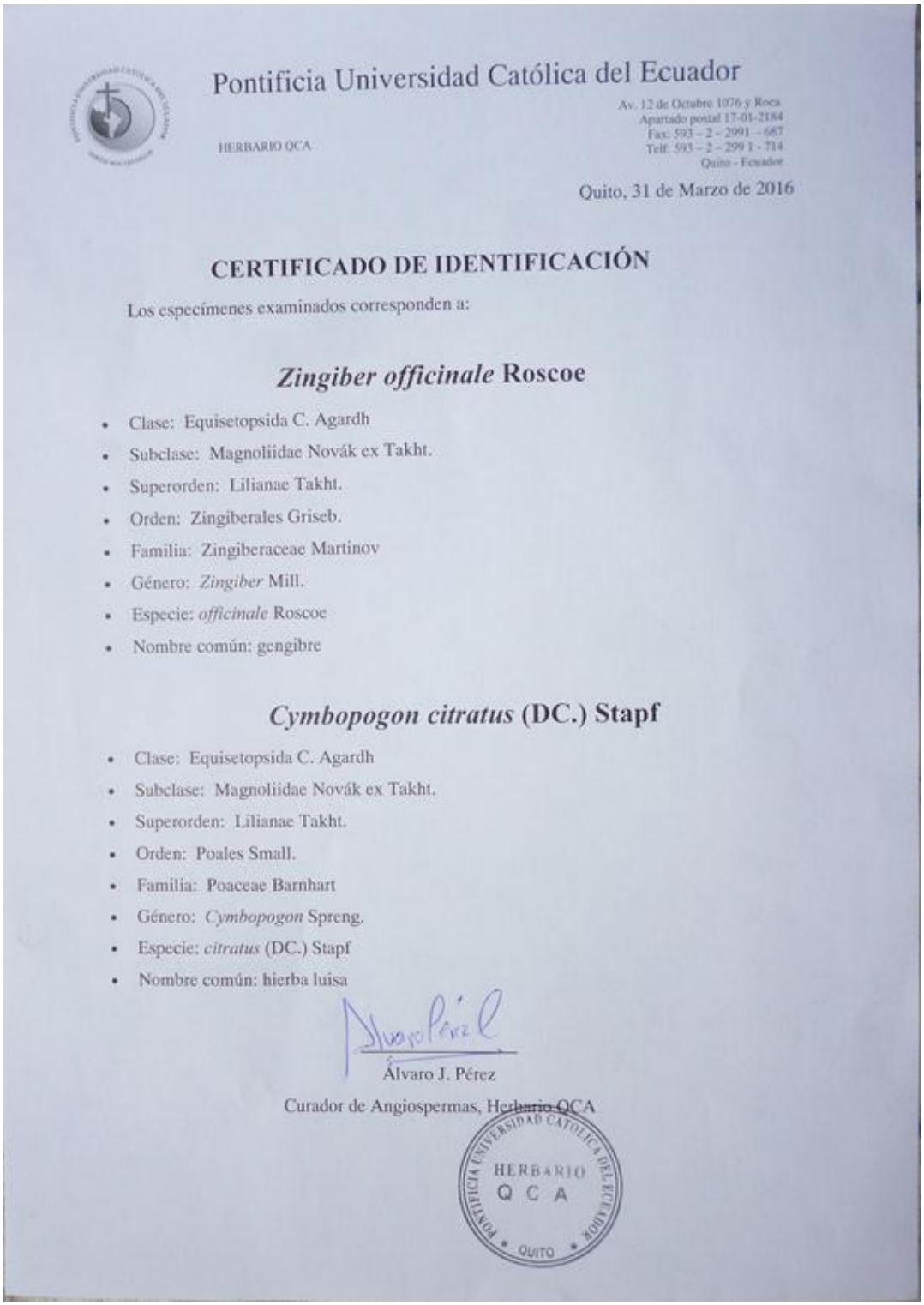
SI ☐ NO ☐

2. ¿En dónde se puede encontrar limoncillo/ hierba luisa en la provincia?

---

3. ¿Conoce los datos de quien le provee del producto?

Anexo 3. Certificados de autentificación de las especies: hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) y jengibre (*Zingiber officinale*)



Pontificia Universidad Católica del Ecuador

HERBARIO QCA

Av. 12 de Octubre 1076 y Roca
Apartado postal 17-01-2184
Fax: 593 – 2 – 2901 - 687
Telf: 593 – 2 – 299 1 - 714
Quito - Ecuador

Quito, 31 de Marzo de 2016

CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN

Los especímenes examinados corresponden a:

***Zingiber officinale* Roscoe**

- Clase: Equisetopsida C. Agardh
- Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.
- Superorden: Lilianae Takht.
- Orden: Zingiberales Griseb.
- Familia: Zingiberaceae Martinov
- Género: *Zingiber* Mill.
- Especie: *officinale* Roscoe
- Nombre común: gengibre

***Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf**

- Clase: Equisetopsida C. Agardh
- Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.
- Superorden: Lilianae Takht.
- Orden: Poales Small.
- Familia: Poaceae Barnhart
- Género: *Cymbopogon* Spreng.
- Especie: *citratus* (DC.) Stapf
- Nombre común: hierba luisa

Álvaro J. Pérez

Curador de Angiospermas, Herbario QCA

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
HERBARIO
Q C A
QUITO

Anexo 4. Posicionamiento geográfico mostrado en el mapa por medio del programa informático QGIS

Anexo 5. Datos registrados en sitios de recolección (GPS, altitud, humedad relativa, temperatura, luminiscencia)

PROVINCIA	ESPECIE	SECTOR	UBICACIÓN GEOGRÁFICA		ALTURA msnm	HR%	PRESIÓN kPa	TEMP ˚C	LUMIN
CARCHI	HL	MIRA	17N 0829236	0060258	2438	72	102,7	28	4
	HL	MASCARILLA	17N 0824776	0053214	1520	85	102,3	27	6
IMBABURA	HL	CARPUELA	18N 0166038	0049241	1636	82	102,4	29	7
	HL	LITA	17N 0780258	0093159	743	87	101,5	23	12
PICHINNCHA	HL	GUAYLLABAMABA	17M 0793863	9992824	2136	18	101,6	18	10
	HL	CHAVEZPAMBA	17N 0788819	0013857	2208	78	101,5	22	8
NAPO	HL	TENA	18M 186556	9891032	542	93	101,7	31	2
	JE	BARRIO LAS PLAYAS	18M 0166628	9889714	504	93	101,7	31	2
	HL	ARCHIDONA	18M 0188243	9900543	612	82	101,8	27	2
ESMERALDAS	HL	PALESTINA	17N 0676514	0118116	12	73	101	30	2
	HL	CHIGUE	17N 0676566	0118115	20	83	101,3	24	2
SUCUMBIOS	HL	NUEVA LOJA	18N0290202	0008446	297	58	101	32	2
	HL	PIEDRA BLANCA	18M0290800	9992764	262	71	101,3	30	2
	JE	7 DE JULIO	18M0297755	9977384	284	69	101,9	31	2
	JE	JIVINO VERDE	18M0295714	9980296	291	69	101,9	33	2
MANABI	HL	TOSAGUA	17M0584934	9912635	23	92	101,1	26	2
	HL	SAN ANTONIO	17M0592662	9921969	11	90	101	27	2
SANTO DOMINGO	HL	EL POSTE	17M0699244	9970509	502	97	101,3	27	4
	HL	CONGONA	17M0704807	9969614	466	60	101,1	34	3

Nota. Elaborado por: Flores & Patiño, 2016.

Anexo 6. Datos personales de los proveedores de los sitios de recolección

PROVINCIA	ESPECIE	SECTOR	PROVEEDOR	TELÉFONO	TRATAMIENTO
CARCHI	HL	MIRA	Segundo Enríquez	06281045	Orgánico
	HL	MASCARILLA	Rodolfo Folleco	0991423699	Químico
IMBABURA	HL	CARPUELA	Leonardo Anangono	0998765638	Orgánico
	HL	LITA	Patricio Armijos	0998659321	Químico
PICHINNCHA	HL	GUAYLLABAMABA	Néstor Gómez	0982668524	Químico
	HL	CHAVEZPAMBA	Nelly Almeida	0222782292	Orgánico
NAPO	HL	TENA	Simón Titín	0995586034	Orgánico + Químico
	JE	BARRIO LAS PLAYAS	Fanny Vargas	0998216274	Abono foliar
ESMERALDAS	HL	ARCHIDONA	Gonzalo Kumchikiai	0997008277	Orgánico
	HL	PALESTINA	Miguel Vera	0939724271	Químico
	HL	CHIGUE	Mayra Aguiles	062887231	Químico
SUCUMBIOS	HL	NUEVA LOJA	Rubén Chinche	0994501940	Orgánico
	HL	PIEDRA BLANCA	Aso. San Francisco	0994501940	Químico
	JE	7 DE JULIO	Isidro Zapata	0984043723	Abono foliar
	JE	JIVINO VERDE	Aníbal Vargas	0982606030	Químico
MANABI	HL	TOSAGUA	Neira Sornosa	0985855501	Químico
	HL	SAN ANTONIO	Lorena Ortiz	09988788334	Orgánico + Químico
SANTO DOMINGO	HL	EL POSTE	María España	0992155292	Químico
	HL	CONGONA	José Conde	0999838275	Químico

Nota. Elaborado por: Flores & Patiño, 2016.

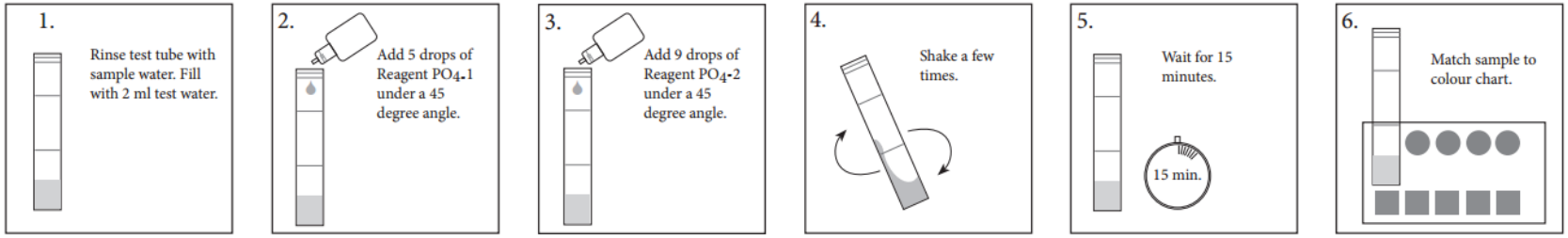
Anexo 7. Quimiotipos de interés y el tiempo de retención

Compuesto químico	Nombre IUPAC	Fórmula molecular	Tiempo de retención (min)
Geranial o Citral a	2,6-Octadienal, 3,7-dimethy	C10H16O	38.1 a 38.9
Neral (isómero del geranial citral b)	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl	C10H16O	35.1 a 35.5
Pineno	Bicyclo[3,1,1]heptane, 6,6-d	C10H16	11.1 a 11.4
Cariofileno	4,-trimethyl-8-methylene-bicyclo -4-ene	C10H24	51.1 a 51.3

Nota. Elaborado por: Flores & Patiño, 2016.

Anexo 8. Instrucciones de uso del kit de fósforo

EASY-LIFE ® PHOSPHATE PO_4 ULTRA SENSITIVE



NL

Easy-Life® Test PO4: bepaling FOSFAAT in aquaria.

Deze ultra sensitieve test meet het gehalte aan ortho-fosfaat in zoet- en zeewater. Ortho-fosfaat (PO_4) is het opgeloste anorganisch fosfaat en niet fosfor (P). Deel het resultaat door 3 om het fosforgehalte te berekenen. Bij verwachting dat het gehalte aan PO_4 boven de 2.0 mg/L ligt, dan kan het monster verdund worden met gedestilleerd of osmose water.

Testbereik: zie kleurkaart, meten bij kamertemperatuur.
Laag: 0.00 – 0.02 – 0.05 – 0.10 mg/L PO_4
Hoog: 0.0 – 0.2 – 0.5 – 1.0 – 1.5 – 2.0 mg/L PO_4

Test procedure
- Spoel eerst de testbuis met monster (aquariumwater). Vul testbuis met 2 ml monster met behulp van de spuit (1).
- Onder een schuine hoek **5** druppels PO_4-1 toevoegen (2).
- Onder een schuine hoek **9** druppels PO_4-2 toevoegen (3).
- Schud even om te mengen (4).
- Na 15 minuten wordt de uiteindelijke kleur bereikt (5).
- Vergelijk de kleur van het monster met de kleurkaart (6).

Inhoud testkit: 10ml testbuisje met dop, 5ml spuit, kleurkaart, reagens PO_4-1, reagens PO_4-2.
Na gebruik alles opbergen in het doosje. Donker bewaren tussen 4 en 35 gr. Celsius. Niet bevriezen. Buiten bereik van kinderen en huisdieren houden.

ES

Easy-Life® Test PO4: Procedimiento para la determinación del FOSFATO en acuarios.

Esta prueba ultrasensible mide los niveles de ortofosfato en agua dulce y salada. El ortofosfato (PO_4) es el fosfato inorgánico disuelto, no el fosfóro (P). Divida el resultado por 3 para calcular el nivel de fósforo. Si espera que el nivel de PO_4 sea superior a 2.0 mg/L, puede diluir la muestra con agua destilada o de ósmosis.

Rango de la prueba: ver tabla de colores, medir a temperatura ambiente
Bajo: 0.00 – 0.02 – 0.05 – 0.10 mg/L PO_4
Alto: 0.0 – 0.2 – 0.5 – 1.0 – 1.5 – 2.0 mg/L PO_4

Procedimiento de prueba
- En primer lugar aclare el tubo de ensayo con una muestra (agua del acuario). Llene el tubo de ensayo con 2 ml de agua de muestra con ayuda de la jeringuilla (1).
- Incline la botella con el reactivo PO_4-1 y añada **5** gotas (2).
- Incline la botella con el reactivo PO_4-2 y añada **9** gotas (3).
- Agite para mezclar (4).
- El líquido alcanzará su color definitivo una vez transcurridos 15 minutos (5).
- Compare el color de la muestra con la tabla de colores (6).

Contenido del kit de prueba: tubos de ensayo de 10ml con tapón, jeringuilla de 5ml, tabla de colores, reactivo PO_4-1, reactivo PO_4-2.

Guarde el kit de prueba en la caja tras su utilización. Conservar en un lugar oscuro, a una temperatura entre 4 y 35 grados centígrados. No congelar. Mantener fuera del alcance de los niños y de los animales domésticos.

FR

Easy-Life® Test PO4: détermination de la teneur de PHOSPHATE dans des aquariums.

Ce test ultrasensible mesure la teneur en orthophosphate dans l'eau douce et de mer. L'orthophosphate (PO_4) est le phosphate anorganique dissout et non du phosphore (P). Diviser le résultat par 3 pour calculer la teneur en phosphore. Si l'on s'attend à ce que la teneur en PO_4 soit supérieure à 2,0 mg/L, l'échantillon peut être dilué à l'eau distillée ou osmosée.

Plage de test: voir tableau de couleurs, mesurer à température ambiante
Faible: 0.00 – 0.02 – 0.05 – 0.10 mg/L PO_4
Élevée: 0.0 – 0.2 – 0.5 – 1.0 – 1.5 – 2.0 mg/L PO_4

Procédure de test
- Rincer préalablement l'éprouvette à l'aide d'un échantillon (eau de l'aquarium). Remplir l'éprouvette de 2 ml d'échantillon à l'aide de la seringue(1).
- Ajouter **5** gouttes PO_4-1 (2) selon un angle de 45°.
- Ajouter **9** gouttes PO_4-2 (3) selon un angle de 45°.
- Agiter brièvement pour mélanger (4).
- Après 15 minutes, la couleur finale est atteinte (5).
- Comparer la couleur de l'échantillon au tableau de couleurs (6).

Contenu du test : éprouvette de 10 ml avec bouchon, seringue de 5 ml, tableau de couleurs, réactif PO_4-1, réactif PO_4-2.
Après utilisation, ranger le tout dans la boîte. À conserver à l'abri de la lumière, à une température entre 4 et 35 degrés Celsius. Ne pas congeler. À conserver en dehors de la

E

Easy-Life® Test PO4: Procedure for determining PHOSPHATE in aquariums.

This ultrasensitive test measures the levels of orthophosphate in fresh- and saltwater. Orthophosphate (PO_4) is the dissolved inorganic phosphate, not phosphorus (P). Divide the result by 3 to calculate the phosphorus level. If you expect the level of PO_4 to be higher than 2.0 mg/L, you can dilute the sample with distilled water or osmosis water.

Range of test: please see colour chart; measure at room temperature
Low: 0.00 – 0.02 – 0.05 – 0.10 mg/L PO_4
High: 0.0 – 0.2 – 0.5 – 1.0 – 1.5 – 2.0 mg/L PO_4

Test procedure
- First, rinse the test tube with a sample (water from aquarium). Fill the test tube with 2 ml of sample water with the aid of the syringe (1).
- Tilt the bottle with reagent PO_4-1 and add **5** drops (2).
- Tilt the bottle with reagent PO_4-2 and add **9** drops (3).
- Shake to mix (4).
- The liquid will reach its definite colour after 15 minutes (5).
- Compare the colour of the sample to the colour chart (6).

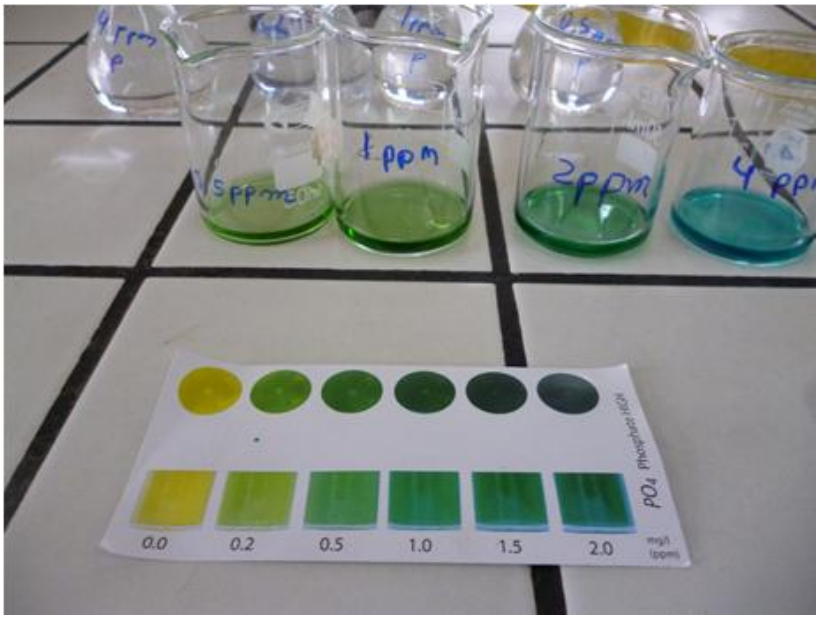
Contents of test kit: 10ml test tube with cap, 5ml syringe, colour chart, reagent PO_4-1, reagent PO_4-2.

Store the test equipment in the box after use. Store in a dark place at a temperature between 4 and 35 degrees Celsius. Do not freeze. Keep out of reach of children and animals.

Manufacturer: Easy Life International BV - Spoorallee 18 - NL-6921 XK - Duiven - The Netherlands - www.easylife.nl

V1- 06/2014

Anexo 9. Escala de color del kit de fósforo



Elaborado por: Flores & Patiño, 2016.

Anexo 10. Reactivos para el kit de fósforo

Elaborado por: Flores & Patiño, 2016.

Anexo 11. Tabla master de resultado obtenidos en los análisis de la investigación

MUESTRA	ALT (msnm)	HR (%)	TEM (ºC)	HUM (%)	ARENA (%)	LIMO (%)	ARCILLA (%	MO (%)	PH	COND (µs/cm	N (Log)	FE (Log)	P (Log)	K (Log)	GERANIAL	NERAL	PINENO	CARIOFILENO	RENDIM (%)
HL-Ch-P	2208	78	22	11,97	84,51	9,94	5,55	4,90	6,38	124,17	1,04	0,73	0,85	1,15	1,15E+10	9,75E+09	4,53E+09	2,45E+05	0,30
HL-Ch-P	2208	78	22	10,05	84,51	9,94	5,55	4,97	6,31	135,23	1,04	0,68	0,84	1,14	1,38E+10	1,10E+10	6,30E+09	2,80E+05	0,30
HL-Ch-P	2208	78	22	11,59	84,51	9,94	5,55	4,96	6,36	141,98	1,04	0,75	0,62	1,15	2,05E+10	1,76E+10	8,81E+09	3,81E+05	0,30
HL-G-P	2136	18	18	12,36	97,48	2,03	0,49	4,47	8,90	592,33	1,04	0,85	1,06	1,42	1,12E+10	9,34E+09	0,00E+00	1,12E+09	0,50
HL-G-P	2136	18	18	8,59	97,48	2,03	0,49	4,50	8,97	454,00	1,04	0,87	0,95	1,42	1,11E+10	8,89E+09	0,00E+00	1,12E+09	0,50
HL-G-P	2136	18	18	12,07	97,48	2,03	0,49	4,30	8,92	493,00	1,00	0,71	1,00	1,41	1,12E+10	8,65E+09	0,00E+00	1,05E+09	0,50
HL-EP-SD	502	97	27	8,29	91,09	7,79	1,12	1,25	5,27	433,00	1,38	0,75	0,98	0,53	1,19E+10	9,25E+09	3,50E+09	1,17E+05	0,27
HL-EP-SD	502	97	27	17,26	91,09	7,79	1,12	1,28	5,29	433,60	1,38	0,88	0,91	0,58	1,08E+10	8,44E+09	2,55E+09	9,87E+04	0,27
HL-EP-SD	502	97	27	8,69	91,09	7,79	1,12	1,20	5,33	440,00	1,38	0,85	0,97	0,58	1,75E+10	1,44E+10	4,90E+09	1,85E+05	0,27
HL-C-SD	466	60	34	6,65	81,76	5,76	12,48	2,44	5,57	456,33	1,42	0,90	0,82	0,67	2,96E+10	2,42E+10	7,97E+09	3,14E+05	0,24
HL-C-SD	466	60	34	11,78	81,76	5,76	12,48	2,40	5,55	434,00	1,42	0,94	0,96	0,67	2,95E+10	2,41E+10	9,36E+09	2,81E+05	0,24
HL-C-SD	466	60	34	4,02	81,76	5,76	12,48	2,47	5,57	430,33	1,40	0,99	0,87	0,73	5,60E+10	5,09E+10	1,65E+10	5,79E+05	0,24
HL-Ch-E	20	83	24	10,09	83,91	9,24	6,85	1,80	6,79	415,00	1,32	0,85	0,76	1,20	2,05E+09	1,70E+09	0,00E+00	6,96E+04	0,14
HL-Ch-E	20	83	24	7,56	83,91	9,24	6,85	1,82	6,83	405,00	1,28	0,87	0,93	1,17	1,87E+09	1,66E+09	0,00E+00	7,20E+05	0,14
HL-Ch-E	20	83	24	9,80	83,91	9,24	6,85	1,86	6,87	405,00	1,32	1,13	0,92	1,20	2,98E+09	2,86E+09	0,00E+00	1,18E+09	0,14
HL-P-E	12	73	30	4,74	93,88	5,51	0,61	3,99	7,93	622,33	0,90	0,94	0,94	1,35	2,44E+10	2,28E+10	2,69E+09	2,28E+09	0,35
HL-P-E	12	73	30	8,78	93,88	5,51	0,61	3,97	7,97	612,67	0,85	1,37	0,95	1,34	2,60E+10	2,44E+10	2,78E+09	2,40E+09	0,35
HL-P-E	12	73	30	9,74	93,88	5,51	0,61	3,98	7,99	439,00	0,90	1,24	1,05	1,35	3,52E+10	3,54E+10	5,25E+09	3,41E+09	0,35
HL-NL-S	297	58	32	13,22	95,11	2,44	2,44	3,31	5,85	124,63	0,70	0,45	0,92	0,58	2,03E+09	1,47E+09	0,00E+00	7,63E+05	0,20
HL-NL-S	297	58	32	17,74	95,11	2,44	2,44	3,30	5,97	116,03	0,60	0,88	1,12	0,55	4,84E+09	1,51E+10	0,00E+00	1,82E+09	0,20
HL-NL-S	297	58	32	10,00	95,11	2,44	2,44	3,29	6,00	117,90	0,70	0,85	0,98	0,58	4,84E+09	1,51E+10	0,00E+00	1,82E+09	0,20
JE-7J-S	284	69	31	11,60	85,08	6,79	8,13	6,18	5,74	165,97	1,42	1,07	1,18	0,98	9,52E+09	6,66E+09	1,37E+09	1,67E+05	0,05
JE-7J-S	284	69	31	8,10	85,08	6,79	8,13	6,17	5,74	155,43	1,42	1,06	1,23	0,97	7,81E+09	7,68E+09	8,86E+05	2,07E+05	0,05
JE-7J-S	284	69	31	9,64	85,08	6,79	8,13	6,19	5,70	174,03	1,42	1,11	1,16	0,99	1,15E+10	8,08E+09	1,77E+09	1,89E+05	0,05
JE-JV-S	291	69	33	11,60	89,05	5,68	5,27	5,72	6,21	923,67	1,49	1,07	1,13	0,87	1,86E+10	1,32E+10	1,30E+09	5,49E+05	0,11
JE-JV-S	291	69	33	10,20	89,05	5,68	5,27	5,70	6,14	1037,67	1,49	1,03	1,15	0,89	2,97E+10	2,13E+10	9,91E+05	8,61E+05	0,11
JE-JV-S	291	69	33	12,12	89,05	5,68	5,27	5,71	6,15	1035,00	1,46	1,11	1,36	0,87	1,64E+10	1,16E+10	8,50E+05	4,36E+05	0,11
HL-PB-S	262	71	30	12,57	93,80	3,33	2,87	4,12	5,89	975,00	1,04	1,14	0,90	1,00	1,33E+10	1,21E+10	1,96E+05	1,91E+09	0,10
HL-PB-S	262	71	30	13,97	93,80	3,33	2,87	4,14	5,84	74,20	1,00	1,10	0,89	1,03	4,88E+10	5,99E+10	6,30E+05	9,32E+09	0,10
HL-PB-S	262	71	30	13,30	93,80	3,33	2,87	4,13	5,79	84,37	1,00	1,13	0,94	1,00	4,00E+10	3,76E+10	7,53E+05	6,28E+09	0,10
HL-C-I	1636	82	29	3,03	93,34	3,76	2,90	3,19	8,12	150,03	1,00	1,00	0,90	1,36	8,99E+09	7,14E+09	2,57E+09	7,83E+04	0,24
HL-C-I	1636	82	29	4,60	93,34	3,76	2,90	3,19	8,22	113,40	1,00	0,88	0,81	1,35	9,56E+09	7,25E+09	1,89E+09	7,85E+04	0,24
HL-C-I	1636	82	29	3,32	93,34	3,76	2,90	3,20	8,21	92,80	0,95	0,96	0,88	1,35	8,90E+09	7,06E+09	2,16E+09	7,22E+04	0,24
HL-L-I	743	87	23	4,35	87,90	10,29	1,81	13,27	8,41	372,00	1,04	1,02	1,00	1,39	1,95E+10	1,59E+10	5,54E+09	1,83E+05	0,12
HL-L-I	743	87	23	4,92	87,90	10,29	1,81	13,27	8,10	279,67	1,00	0,94	0,88	1,39	2,35E+10	1,83E+10	5,25E+09	2,12E+05	0,12
HL-L-I	743	87	23	7,56	87,90	10,29	1,81	13,28	8,08	274,33	1,04	1,03	0,98	1,40	2,32E+10	1,86E+10	6,40E+09	2,61E+05	0,12
HL-MI-C	2438	72	28	19,42	94,95	4,88	0,16	1,61	7,44	345,00	1,43	0,99	0,62	1,30	1,93E+10	1,41E+10	4,54E+09	2,93E+05	0,16
HL-MI-C	2438	72	28	19,40	94,95	4,88	0,16	1,62	7,43	360,00	1,48	1,40	0,62	1,29	2,48E+10	1,93E+10	7,04E+09	3,57E+05	0,16
HL-MI-C	2438	72	28	19,71	94,95	4,88	0,16	1,61	7,49	357,67	1,48	1,68	0,86	1,31	2,07E+10	1,65E+10	6,61E+09	3,28E+05	0,16
HL-M-C	1520	85	27	16,42	84,49	14,49	1,02	5,12	8,59	142,84	1,26	0,60	0,85	1,62	2,16E+10	1,80E+10	3,40E+09	1,33E+09	0,07
HL-M-C	1520	85	27	17,35	84,49	14,49	1,02	5,13	8,65	97,69	1,26	1,20	0,90	1,62	2,95E+10	2,47E+10	3,59E+09	1,80E+09	0,07
HL-M-C	1520	85	27	17,32	84,49	14,49	1,02	2,13	8,60	144,56	11,26	1,12	0,95	1,62	3,79E+10	3,36E+10	5,85E+09	2,40E+09	0,07
JE-LP-N	504	93	31	16,56	83,85	7,04	9,11	2,19	5,43	378,67	1,00	0,60	1,00	0,63	1,32E+09	1,06E+09	1,17E+09	6,00E+05	0,07
JE-LP-N	504	93	31	15,20	83,85	7,04	9,11	2,15	5,47	351,67	0,95	0,80	0,87	0,66	1,39E+05	1,44E+05	2,42E+05	7,15E+04	0,07
JE-LP-N	504	93	31	16,71	83,85	7,04	9,11	3,53	5,45	372,00	0,95	0,90	0,94	0,66	3,15E+05	1,90E+05	1,45E+05	7,92E+04	0,07
HL-T-N	542	93	31	12,98	91,12	7,40	1,48	3,53	6,94	889,00	1,08	1,04	0,95	1,27	9,50E+09	9,60E+09	2,48E+05	2,33E+09	0,29
HL-T-N	542	93	31	13,55	91,12	7,40	1,48	3,50	6,89	911,00	1,11	0,93	0,99	1,27	1,24E+10	1,30E+10	3,88E+05	3,09E+09	0,26
HL-T-N	542	93	31	13,88	91,12	7,40	1,48	3,54	6,85	1035,00	1,11	0,82	0,95	1,26	7,12E+09	6,71E+09	4,01E+05	1,69E+09	0,26
HL-A-N	612	82	27	10,62	80,97	6,73	12,30	2,43	5,40	131,10	1,77	1,02	0,82	0,68	2,13E+10	1,83E+10	8,55E+09	1,06E+09	0,39
HL-A-N	612	82	27	19,20	80,97	6,73	12,30	2,41	5,52	200,03	1,77	1,07	0,90	0,68	1,69E+10	1,46E+10	7,51E+09	8,55E+05	0,39
HL-A-N	612	82	27	15,90	80,97	6,73	12,30	2,40	5,54	221,73	1,78	1,10	0,85	0,66	1,25E+10	1,02E+10	5,33E+09	9,63E+05	0,39
HL-T-M	23	92	26	10,47	97,09	2,81	0,10	3,43	8,37	283,87	0,70	1,06	0,97	1,49	3,56E+10	3,11E+10	9,62E+09	3,09E+05	0,43
HL-T-M	23	92	26	9,57	97,09	2,81	0,10	3,42	8,31	284,33	0,78	0,92	0,85	1,50	3,51E+10	3,06E+10	9,46E+09	2,91E+05	0,43
HL-T-M	23	92	26	9,35	97,09	2,81	0,10	3,43	8,42	288,00	0,78	0,53	0,78	1,48	2,42E+10	2,09E+10	7,89E+09	1,98E+05	0,43
HL-S-M	11	90	27	10,93	93,11	5,66	1,23	2,98	7,90	1059,33	0,85	0,97	1,01	1,37	3,15E+10	2,69E+10	8,77E+09	7,66E+05	0,31
HL-S-M	11	90	27	14,97	93,11	5,66	1,23	2,99	7,90	875,00	0,70	1,00	1,04	1,36	2,53E+10	2,11E+10	7,38E+09	6,13E+05	0,31
HL-S-M	11	90	27	8,65	93,11	5,66	1,23	2,98	7,83	1371,33	0,78	0,57	1,04	1,36	4,15E+10	6,55E+10	2,58E+10	1,92E+09	0,31

Elaborado por: Flores & Patiño, 2016.

Anexo 12. Proveedores de los sitios de recolección de las especies: hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) y jengibre (*Zingiber officinale*)

Elaborado por: Flores & Patiño, 2016.

Elaborado por: Flores & Patiño, 2016.

Anexo 13. Recolección de las especies: hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) y jengibre (*Zingiber officinale*)

Elaborado por: Flores & Patiño, 2016.

Anexo 14. Equipos utilizados en el análisis de las muestras

Elaborado por: Flores & Patiño, 2016.

Elaborado por: Flores & Patiño, 2016.