

UNIVERSIDAD INTERNACIONAL DE LAS AMÉRICAS

ESCUELA DE FARMACIA

**EVIDENCIA DEL POSIBLE EFECTO QUE POSEEN LAS
CONDICIONES CLIMÁTICAS COSTARRICENSES SOBRE LA
COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS EXTRACTOS DE LA
PLANTA *SAVIA ROSMARINUS L.* Y SU POSIBLE ACTIVIDAD
FARMACOLÓGICA EN RELACIÓN CON LOS METABOLITOS
PRESENTES EN LOS EXTRACTOS OBTENIDOS DE PLANTAS
CULTIVADAS EN Bajos del Toro Y Grecia, Y SU ACTIVIDAD
REPORTADA.**

AUTORA:

LAURA FABIANA HERNÁNDEZ BARRANTES

TUTOR:

LIC. JAVIER RODRIGO ALPÍZAR CORDERO

SAN JOSÉ, COSTA RICA, ABRIL2022

Tabla de contenido

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	17
Planteamiento del problema.....	17
Objetivos.....	19
Objetivo general.....	19
Objetivos específicos.....	19
Justificación.....	20
Antecedentes.....	21
Antecedentes históricos.....	21
Antecedentes internacionales.....	22
Antecedentes nacionales.....	24
Proyecciones.....	25
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	26
Plantas medicinales.....	26
Historia de las plantas medicinales.....	26
Definición.....	29
Propiedades terapéuticas en las plantas medicinales según sus componentes.....	29
Principales formas de preparación y uso de las plantas medicinales.....	30
Principales métodos de siembra para plantas medicinales.....	31
Factores limitantes para el uso clínico de plantas medicinales.....	32
Perspectiva de la Organización Mundial de la Salud (OMS) sobre el uso de plantas medicinales con fines terapéuticos.....	33
Uso de las plantas medicinales en Costa Rica.....	35
Influencia de variables de crecimiento en las plantas medicinales.....	36
Suelo.....	37
Humedad.....	38
Nutrición.....	38
Época de siembra.....	38
Reproducción.....	39
Luz.....	40

Precipitación.	41
Temperatura.	41
Viento.	42
Industria farmacéutica y su relación con las plantas medicinales	42
Rentabilidad del uso de las plantas medicinales en la industria.	44
Planta de Romero (<i>Savia rosmarinus</i>).	45
Historia del romero.	46
Hábitat, distribución y variables del entorno que le favorecen a la planta de romero. .	47
Apariencia y características físicas.	47
Taxonomía.	48
Usos en la salud humana.	49
Contraindicaciones del romero como medicina terapéutica.	52
El romero y su uso en la industria farmacéutica	52
Capacidad antioxidante del romero.	54
<i>¿Qué es un agente antioxidante?</i>	54
Formas de dosificación del romero como planta medicinal.	55
Otros usos.	56
Uso del romero en la industria alimenticia.	56
Uso del romero en la industria de la cosmetología.	57
Uso en la industria agrícola	57
Composición química del romero.	58
Efectos tóxicos del romero.	60
Dosis máxima del aceite esencial de romero.	61
Aceites esenciales	61
Historia de los aceites esenciales.	62
Clasificación de los aceites esenciales según su procedencia u origen.	62
Técnicas de la recolección, secado y conservación de las plantas que contienen aceites esenciales.	63
Factores que pueden afectar la extracción de un aceite esencial.	64
Tiempo de secado del material.	64
Tiempo de extracción.	64
Presión del vapor.	64
Material del tanque.	64

Condensación interior	64
Factor de empaquetamiento	64
Eficiencia del condensador	64
Deterioros posibles en los aceites esenciales naturales	65
Composición química de los aceites esenciales	65
Compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos)	66
Terpenos	66
Fenilpropanos	69
Aceite esencial de romero	71
Identificación y cuantificación de los principales componentes del aceite esencial de la planta de romero	71
Métodos de extracción de aceites esenciales	74
Extracto y su definición	74
El proceso de extracción	75
Principales métodos de extracción	76
Destilación por arrastre de vapor	76
Extracción por disolventes	77
Extracción de fluidos supercríticos	78
Hidrodestilación	78
Extracción por microondas	78
Extracción por prensado	79
Maceración	79
Optimización de los procesos de extracción	80
Metabolitos secundarios	80
Metabolitos secundarios en plantas medicinales	80
Clasificación	82
Terpenoides	82
Compuestos fenólicos	82
Glicósidos	83
Compuestos nitrogenados o alcaloides	83
Metabolitos secundarios en la planta de romero	84
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO	89

Enfoque de la investigación	89
Diseño de la investigación	90
Fuentes de información	90
Muestra.	90
Criterios de inclusión y exclusión.	91
Unidades de análisis	92
Instrumento.	95
Recolección de análisis de datos	95
Recolección de datos.	95
Análisis de datos.	96
Instrumentos, materiales, reactivos, equipos y procedimiento utilizado para llevar a cabo la extracción del aceite esencial de romero por ambos métodos y pruebas funcionales requeridas.	97
Recolección de las muestras.	97
Fraccionamiento de las muestras de romero.	98
Procedimiento de extracción de arrastre por vapor.	100
Procedimiento de separación de fases de los extractos obtenidos por arrastre.	102
Procedimiento de extracción por maceración.	104
Procedimiento de secado y concentración del extracto obtenido por arrastre por vapor para la obtención del aceite esencial.	105
Procedimiento de secado y concentración del extracto obtenido a partir de la técnica de maceración.	108
Pruebas de identificación para metabolitos secundarios funcionales, equipo, materiales, reactivos y procedimiento	109
Prueba de Shinoda (Flavonoides)	110
Prueba de Lieberman-Burchard (LB) (triterpenos y esteroides)	112
Prueba de cloruro férrico. (Fenoles)	113
CAPÍTULO IV: ANÁLISIS DE RESULTADOS	114
CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	166
Conclusiones	166
Recomendaciones	169
REFERENCIAS	171

Índice de figuras

Figura 1. Herbario antiguo en España.....	27
Figura 2. Libro sobre utilidad de las plantas medicinales en Costa Rica.....	36
Figura 3. Ciclo de reproducción sexual y asexual de las plantas.....	40
Figura 4. Plantaciones de la planta de Romero en Perez Zeledon, Costa Rica.....	46
Figura 5. Apariencia de la planta de romero floreada.....	48
Figura 6. Imagen descriptiva/informativa sobre los principales usos del romero en la salud humana.....	51
Figura 7. Ejemplar de aceite de romero, marca comercial Green Harmony, utilizado en la industria farmaceutica internacional.....	53
Figura 8. Ejemplar de shampoo comercial de romero utilizado a nivel farmaceutico para cuidados del cabello.....	53
Figura 9. Principales estudios farmacologicos sobre la planta de romero.....	54
Figura 10. Principales plantas utilizadas en la industria alimenticia en donde se puede observar el romero como ejemplo.....	57
Figura 11. Estructura de algunos de los principales componentes biocativos en el aceite de esencial de romero.....	59
Figura 12. Unidad del isopreno.....	66
Figura 13. Principales terpenos presentes en las plantas medicinales, beneficios en la salud y ejemplos de especies en las que se encuentran.....	67
Figura 14. Ejemplos de las estructuras moleculares de algunos monoterpenos naturales presentes en las plantas medicinales.....	68
Figura 15. Ejemplos de las estructuras moleculares de algunos sesquiterpenos naturales presentes en las plantas medicinales.....	69

Figura 16. Estructura molecular del ácido shikimico.....	70
Figura 17.Estructura molecular de los principales fenilpropanos presentes en aceite esenciales.....	70
Figura 18. Aspecto fisico- estetico del aceite esencial de romero.....	71
Figura 19. Ejemplo de equipo de un cromatógrafo de gases acoplado a masas.....	72
Figura 20. Procedimiento ilustrado del funcionamiento de un cromatógrafo de gases acoplado a masas.....	74
Figura 21. Ilustración del equipo identificado en el procedimiento de extracción de arrastre por vapor.....	76
Figura 22. Producto final listo para el reposo de un proceso de extraccion por maceracion de una planta.....	79
Figura 23. Ruta de distribucion de la relacion entre los metabolitos primarios y secundarios de las plantas.....	81
Figura 24. Estrcutura quimica del fenol.....	83
Figura 25. Estructura molecular de los principales metabolitos secundarios presentes en la planta de romero.....	85
Figura 26. Cuadro de los principales metabolitos en la planta de romero, actividad biológica y usos/ aplicaciones.....	86
Figura 27. Planta tomada de Bajos del Toro, Sarchi.....	97
Figura 28. Planta tomada de los Ángeles de Grecia.....	98
Figura 29. Muestras listas para empezar el deshoje, Bajos del toro izquierda y Grecia a la derecha.....	99
Figura 30. Proceso de lavado de las muestras.....	99
Figura 31. Equipo a utilizar para arrastre por vapor.....	101
Figura 32. Equipo de arrastre por vapor con la muestra de Grecia.....	101

Figura 33. Muestra de Grecia al final de la extracción.....	102
Figura 34. Eliminación de la fase acuosa (éter), mediante separación de fases.....	103
Figura 35. Beakers con la fase acuosa y oleosa, tanto Grecia como Bajos del toro.....	104
Figura 36. Picado de las muestras de Bajos del toro.....	105
Figura 37. Muestras después de la decantación del sulfato.....	107
Figura 38. Proceso de evaporación del éter en la capilla, para ambas muestras.....	107
Figura 39. Muestras de maceración al cabo de una semana, listas para su purificación....	109
Figura 40. Muestras de Grecia y Bajos del toro durante la realización de Shinoda.....	111
Figura 41. Muestra de Grecia donde se observa la reacción exotérmica al agregar el magnesio.....	111
Figura 42. Muestras de ambos lugares durante la realización de LB.....	112
Figura 43. Muestras de ambos lugares durante la realización de prueba de cloruro férrico.....	113
Figura 44. Proceso de deshoje de las muestras.....	120
Figura 45. Muestras de romero ya deshojadas, lavadas e identificadas	120
Figura 46. Proceso de arrastre por vapor de Bajos del toro al inicio.....	122
Figura 47. Aspecto de la muestra final de Bajos del Toro un tanto	123
Figura 48. Muestra del extracto final de Grecia	124
Figura 49. Muestras de ambos extractos finales del proceso de arrastre por vapor, en los embudos separadores.....	124
Figura 50. Proceso de lavado de las muestras con éter élico	125

Figura 51. Separacion de la fase oleosa y acuosa de las muestras de romero.....	126
Figura 52. Extractos finales obtenidos del proceso de arrastre por vapor.....	127
Figura 53. Muestra de Grecia durante la colocacion del sulfato de sodio.....	128
Figura 54. Muestras finales rotuladas de aceite esencial puro de romero.....	129
Figura 55. Paquete final con ambas muestras de arrastre por vapor entregadas a CIPRONA.....	130
Figura 56. Proceso de colocacion de las muestras en los envases correspondientes.....	131
Figura 57. Muestras de maceración embotelladas para cumplir una semana de reposo.....	132
Figura 58. Muestras obtenidas despues de la filtración del material macerado	133
Figura 59. Filtracion al vacío de ambas muestras de maceracion.....	134
Figura 60. Colocacion del sulfato en las muestras respectivas.....	135
Figura 61. Cromatograma compelto de la muestra de Grecia.....	140
Figura 62. Cromatograma completo de la muestra de Bajos del toro.....	141
Figura 63. Pruebas de cloruro férrico, LB y Shinoda de izquierda a derecha respectivamente de la muestra de B. TORO- MACERACION.....	146
Figura 64. Pruebas de Shinoda, LB y cloruro férrico de izquierda a derecha respectivamente de la muestra de GRECIA- MACERACION.....	147
Figura 65. Pruebas de cloruro férrico, LB y Shinoda de izquierda a derecha respectivamente de la muestra de B. TORO- ARRASTRE POR VAPOR.....	147
Figura 66. Pruebas de cloruro férrico, Shinoda y LB, de izquierda a derecha respectivamente de la muestra de GRECIA- ARRASTRE POR VAPOR.....	148
Figura 67. Número de registro y coordenadas geograficas de cada lugar de toma de las muestras.....	153

Figura 68. Ejemplo de tabla entregada por parte del IMN con los datos mes a mes durante un año, correspondiente a la variable lluvia de la muestra de los Bajos del Toro.....153

Índice de tablas

Tabla.1 Operacionalización de categorías para datos cualitativos.....	92
Tabla 2. Operacionalización de variables para datos cuantitativos.....	94
Tabla 3. Ficha técnica informativa de la planta de romero.....	114
Tabla 4. Cuadro comparativo de las muestras finales de los cuatro extractos de romero.....	136
Tabla 5. Compuestos identificados por GC-MS en muestras de aceite esencial de romero.....	139
Tabla 6. Compuestos y sus cantidades en microlitros, para cada una de las muestras de arrastre.....	143
Tabla 7. Cuadro de resultados de pruebas de caracterización en los cuatro extractos.....	148
Tabla 8. Conformación de los principales componentes presentes en las muestras de aceite esencial de romero en maceración y arrastre por vapor y la actividad terapéutica correspondiente de cada componente.....	149
Tabla 9. Promedio lluvia B. Toro.....	155
Tabla 10. Promedio temperatura máxima B. Toro.....	156
Tabla 11. Promedio temperatura mínima B. Toro.....	156
Tabla 12. Promedio humedad relativa B. Toro.....	156
Tabla 13. Promedio velocidad del viento B. Toro.....	157
Tabla 14. Promedio lluvia Grecia.....	157
Tabla 15. Promedio temperatura máxima Grecia.....	157
Tabla 16. Promedio temperatura mínima Grecia.....	158
Tabla 17. Promedio humedad relativa Grecia.....	158
Tabla 18. Cuadro comparativo de los porcentajes promedio anuales, de cada parámetro climático para ambas localidades.....	158
Tabla 19. Cuadro comparativo de gramos de muestra, gramos de aceite y porcentaje de aceite esencial para las muestras de Grecia y Bajos del Toro, obtenidas con arrastre por vapor.....	163

Resumen

El presente trabajo de investigación presenta el objetivo de generar una comparación entre dos distintas muestras de la planta de romero (*Savia rosmarinus L.*) tomadas de dos distintas localidades, de manera que estas puedan ser cuantificadas con respecto a sus componentes activos y comparadas, analizando qué tanto afectan o no las variables del entorno a la cuantificación y medición de la fitoquímica de ambas muestras.

Por medio de dicha investigación se quiere intentar generar datos confiables y fundamentados que logren verificar cuál o cuáles condiciones o variables pueden influir en que los principales componentes con función farmacológica de la planta de romero se encuentren en mayor o menor proporción, y cómo estas concentraciones de sus componentes activos estarían directamente relacionados con la capacidad de respuesta terapéutica de cada componente del romero como planta medicinal en el área clínica e industrial.

Para lograr llevar a cabo esta investigación, se procedió a realizar primeramente la recolección de las muestras en ambas localidades que correspondían a Grecia y Bajos del Toro, seguidamente se realizaron las extracciones paso a paso por dos métodos, arrastre por vapor y maceración, para ambas muestras, obteniendo así 4 muestras finales, a las que se le procedió a secar lo más posible el solvente utilizado que fue el éter etílico, las dos muestras de maceración se dejaron reposar durante una semana, para ya después proceder a realizar las pruebas de laboratorio para identificar los metabolitos secundarios más importantes, pruebas que también se le hicieron a las muestras de arrastre por vapor, todo esto realizado en los laboratorios de la Universidad Internacional de las Américas.

Después de toda la preparación y la búsqueda de un aceite, lo más puro posible, se procedió a llevar las dos muestras de arrastre por vapor a análisis, ya que fue considerado el mejor método de extracción en esta investigación, por lo que se seleccionaron para el análisis en el Centro de investigaciones en productos naturales (CIPRONA). Dichas muestras se llevan a análisis por cromatografía de gases acoplado a espectrofotometría de masas, en el cual se lleva a cabo la inyección de una muestra de 0,5 microlitros de cada una de las muestras, con una jeringa micrométrica en el puerto de inyección con una corrida total de 70 minutos, para así obtener el reporte final solicitado y llevar a cabo el análisis de este.

Como resultado, se obtuvo una serie de puntos que realmente coincidían bastante con lo estipulado a nivel de la literatura sobre el tema. Después del análisis realizado en CIPRONA. UCR, se obtiene un reporte sobre la cuantificación y análisis de las dos muestras, tanto de Grecia como Bajos del Toro, que fueron extraídos con el método de arrastre por vapor en los laboratorios de la UIA. Dicho reporte arroja resultados sobre compuestos identificados y sus % de área mayoritarios, de esta manera destaca la muestra de Bajos del Toro, ya que presenta compuestos realmente importantes en mayor proporción como lo son el alfa-pineno, beta-pineno, beta-mirceno, 1,8 cineol, 4-terpineol y el acetato de borilo, dichos componentes son los que presentan las funciones biológicas y terapéuticas como antioxidantes y anticancerígenas conocidas sobre esta planta, sus componentes en porcentajes más altos que llevan a pensar que dicha muestra tiene mejores propiedades farmacológicas y que según lo estudiado, el clima y el ambiente de crecimiento pueden haber favorecido estos resultados comparándolos con la muestra de Grecia. La muestra de Grecia presentó componentes en mayor proporción como el alcanfor, el linalol, isoborneol y el transgeraniol que sin duda también son componentes con funciones, tanto a nivel terapéutico como antibacteriana, pero no con tanta trascendencia y estudios como los de la otra muestra.

De las pruebas funcionales se realizaron Shinoda, Lieberman-Burchard y Cloruro férrico, se obtuvieron resultados positivos en las tres primeras pruebas, mayormente en las muestras obtenidas por maceración, ya que su método hace que sea más limitada la obtención de algunos compuestos volátiles, porque lo que están presentes más sustancias en dichas muestras como por ejemplo los flavonoides y triterpenos.

Por otra parte, la muestra de Bajos del Toro de arrastre, con sus compuestos en porcentajes más altos y su relación con los reportes meteorológicos solicitados al IMN confirman que a la planta de romero le es más factible el clima un poco más húmedo y de montaña/ laderas para contener metabolitos secundarios importantes en proporciones más altas, y que dadas las diferencias mostradas en el análisis se puede concluir que definitivamente las distintas variables que rodean a las plantas medicinales pueden ser favorecedoras o no para su riqueza fitoquímica y el rendimiento de su aceite esencial, siendo esto proporcional al tratamiento, mantenimiento y uso que hay que darle a cada planta si quiere ser usada a nivel industrial para aprovechar sus características y funciones al máximo posible.

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

Planteamiento del problema

En los últimos años, las plantas medicinales han adquirido gran importancia en terapias alternativas o complementarias en varias regiones del mundo. Las plantas con acción medicinal o funcional tienen la característica común de poseer un elevado contenido en sustancias o principios activos, con propiedades químicas, bioquímicas u organolépticas muy específicas, que permiten su utilización con fines terapéuticos, aromáticos y dietéticos-gastronómicos. El romero es una de las plantas pertenecientes a la familia Lamiaceae, hasta el año 2017 la especie era conocida por el nombre científico *Rosmarinus officinalis*, ahora un sinónimo, llevando esto a su nuevo y actualizado nombre de especie *Savia rosmarinus L*, cuyas propiedades cubren estos aspectos y que ha generado más investigaciones dadas sus propiedades químicas y sus posibles aplicaciones medicinales e industriales. (Avila, y otros, 2011)

Los metabolitos que contiene reportan actividades antimicrobianas, antiinflamatorias y antioxidantes, cabe destacar que estos metabolitos secundarios son el producto de las reacciones enzimáticas de las plantas, con funciones de atracción, defensa o señalización. Algunos factores que afectan la producción de estos metabolitos son la zona geográfica, el estrés generado por la sequía y otras variables, ya que las plantas reducen la biosíntesis de estas moléculas, cambiando la composición química de sus aceites esenciales y sus extractos, es decir de sus metabolitos secundarios en general. (Flores, Saenz, Castañeda, & Narro, 2021)

Desde la antigüedad hasta el día de hoy las plantas que poseen aceites esenciales han sido usadas como una fuente de tratamientos profilácticos y medicinales, debido a que contienen moléculas volátiles con actividad biológica, como la antioxidante, antimicrobiana, antiséptica, antiinflamatoria, anticancerígena, analgésica y sedante. (Flores, Saenz, Castañeda, & Narro, 2021)

El poder preservativo y terapéutico del romero reside en su aceite esencial y extractos, cuya composición química varía dependiendo de las condiciones ecológicas en las que se desarrollan y sin embargo, todos ellos contienen componentes de actividad biológica, como las moléculas fenólicas (ácido carnosínico, carnosol y ácido rosmárico), responsables de la fuerte actividad antioxidante, aprovechada en la preservación de alimentos y en la terapéutica de mecanismos

anticáncer y antidiabetes, convirtiendo al romero en una planta de gran interés para las industrias médica y de alimentos. (Flores, Saenz, Castañeda, & Narro, 2021)

Una vez descrito lo anterior se hace necesario establecer la pregunta a la cual se busca dar una respuesta con la siguiente investigación: ¿Cuál de los extractos utilizados obtiene una mayor riqueza a nivel de metabolitos secundarios y moléculas con actividad farmacológica según sus condiciones de crecimiento y variables relacionadas al método de extracción?

Objetivos

Objetivo general

Determinar si las variaciones en condiciones climáticas costarricenses influyen sobre la composición química de los extractos y su posible actividad farmacológica, mediante la caracterización de los extractos obtenidos de dos plantas de romero cultivadas en Bajos del Toro y Grecia.

Objetivos específicos

Sintetizar las características de la planta *Savia Rosamrinus L.* en cuanto a metabolitos presentes y actividad farmacológica reportada, mediante la revisión de los reportes hallados en la literatura.

Caracterizar cualitativa y cuantitativamente, los extractos obtenidos de dos plantas cultivadas en Bajos del Toro y Grecia, mediante tamizaje fitoquímico, cromatografía de gases y espectrofotometría de masas.

Predecir las posibles características farmacológicas de los extractos obtenidos relacionando los metabolitos detectados y/o cuantificados con las propiedades farmacológicas reportadas.

Justificación

El desarrollo de este trabajo se basa en la recopilación de información y de datos para lograr obtener los resultados requeridos, que tienen como objetivo y función generar una base sólida y analizada sobre la comparación que se desea realizar entre dos muestras distintas de la planta de romero que serán recolectadas en dos diferentes condiciones de crecimiento, de manera que puedan así ser comparadas y estudiadas para poder responder a la pregunta planteada.

Costa Rica como tal es un país en desarrollo, lo que lleva a que mucho porcentaje de la población no tenga acceso a medicamentos, constituyendo así el uso de los medicamentos naturales, incluyendo aceites esenciales como el único recurso terapéutico disponible para la población más pobre de este tipo de países. (Sharapin , Machado, Souza, Rocha De Albuquerque, & Lopez De Almeda, 2000)

Tal cual lo mencionan Flores et al, en el año 2021, la planta de romero ha ganado gran importancia en el campo de la investigación por sus diversos atributos biológicos como antiinflamatorio, antimicrobiano, antioxidante y anticancerígeno, entre otros; resultados que debe a sus metabolitos secundarios. Gracias también a su valor económico, propiedades biológicas y aplicaciones de sus metabolitos secundarios, así como las generalidades en torno a su extracción, esta tiene gran trascendencia a nivel industrial y farmacológico, lo que la proyecta como una planta ejemplar para investigaciones a nivel de medicina y farmacología que benefician ampliamente a estos y otros ámbitos y genera opciones e ideas para realizar diferentes revisiones sobre ella, por su gran riqueza y funcionabilidad.

Dicha investigación también nutre otras áreas de la ciencia, como lo es la industria alimenticia, cosmética, producción orgánica, producción de pieles. El potencial antioxidante de los extractos de romero ha permitido su uso de forma regular en el control de la oxidación de lípidos al interrumpir las reacciones en cadena de los radicales libres, lo que permite su aplicación como preservativo natural. (Flores, Saenz, Castañeda, & Narro, 2021).

La aromaterapia y utilización de las plantas medicinales han tenido un gran crecimiento y aceptación en el mercado mundial en los últimos años. La comercialización de los aceites esenciales puros obtenidos de las plantas como ingredientes de los productos, ha creado una mayor demanda y ha motivado a la búsqueda de nuevos aromas, más exóticos y con propiedades pseudo-

farmacológicas que generen avances en el desarrollo de nuevos productos que ayuden a mejorar la salud humana. (Venegas, 2016)

Sin embargo, a pesar de que han aumentado las investigaciones y estudios científicos de las plantas medicinales, todavía no se conocen muchos de los principios activos a los que deben las plantas sus extraordinarias cualidades. (Estrada, 2010), lo que lleva a plantear dicho trabajo para contribuir a la ciencia, la práctica de la investigación y el adentrarse en las muchas preguntas y vacíos que aún existen en el tema de las plantas medicinales y que pueden generar importantes aportes en el desarrollo científico y farmacológico en el país.

En este trabajo se realizará una revisión bibliográfica y un análisis de laboratorio, en el cual se desea llevar a cabo un proceso comparativo de los componentes activos que se obtendrán de los diferentes metabolitos secundarios obtenidos de dos extractos de la planta de romero mediante dos distintos métodos de extracción, con el fin de determinar cómo estos resultados pueden verse afectados por distintas variables con respecto al contenido activo de cada uno y de esta manera lograr determinar cuál de los extractos analizados y cuál de los métodos empleados para la extracción resulta una mejor opción en dicho proceso, generando así una búsqueda exhaustiva de información que se obtendrá de artículos científicos, libros, tesis, informes y sitios web verificados, los cuales serán agregados y tomados por estar apegados a la información que se desea encontrar con el fin de hallar las respuestas acertadas para la investigación y poder generar el conocimiento que se desea con dicho trabajo.

Antecedentes

Antecedentes históricos

Font Quer en el año 1961 menciona en su libro *Plantas medicinales: El Dioscórides renovado*, que el aceite esencial de romero fue obtenido por primera vez hacia el año 1330 por Ramón Llull y desde entonces, se emplea en perfumería. En el siglo XVI la reina Isabel de Hungría lo utilizó para tratar el reumatismo que padecía convirtiéndose en uno de los remedios más famosos de la corte de Luis XIV. Los boticarios empleaban el romero en gran número de preparados, pero en la actualidad sólo el aceite esencial está incluido en las farmacopeas. Durante algún tiempo se pensó que el nombre genérico, *Rosmarinus*, derivaba del latín *ros* (rocío) y *marinus* (mar), rocío del mar. Actualmente, los etimologistas se inclinan a pensar que proviene de la unión de dos

vocablos griegos, rhos, arbusto y myrinos, aromático, que concuerdan perfectamente con las características de la planta.

Para el año 2001, los autores Lemes, Rodríguez y Acosta, plantearon su artículo llamado; Multiplicación vegetativa de *Rosmarinus officinalis* L. (Romero), en el cual realizan un experimento probando 3 tipos de estacas de romero: yemas terminales, intermedias, y con talón plantadas en 5 sustratos: tierra y materia orgánica; materia orgánica y gravilla de roca silicea; zeolitas; materia orgánica proveniente de troncos descompuestos de palma real y meollo en 3 fechas diferentes durante 2 años, los cuales pudieron demostrar que la zeolita fue el mejor sustrato, así como las estacas de yemas terminales con las que se pudo obtener un elevado número de plántulas de excelente calidad y su propagación durante todo el año.

En el año 2002, Muñoz Santana publicó un artículo titulado Plantas medicinales españolas: *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) (romero), el cual consiste en una monografía sobre *Rosmarinus officinalis* L. en la que se incluye la descripción botánica, ecología, corología, cultivo, recolección y conservación de la especie. Se analizan las características morfológicas y anatómico-microscópicas de los órganos oficiales para lograr estudiar las aplicaciones terapéuticas de este. Una vez analizada la composición química y su acción farmacológica, también se hace referencia a su posible toxicidad, contraindicaciones y control de calidad. Una característica importante mencionada es que el romero contiene un aceite esencial cuya composición varía según la procedencia geográfica, parte de la planta y etapa de desarrollo en el momento de la recolección.

Antecedentes internacionales

Para el año 2011, Ávila Sosa & otros, mencionaron en su publicación titulada: Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): una revisión de sus usos no culinarios, que el romero es muy rico en principios activos, presentando acción sobre casi todos los órganos del cuerpo humano al tener un alto contenido en aceites esenciales, cuyos ingredientes activos son flavonoides, ácidos fenólicos y principios amargos. Resaltan también que dependiendo del lugar geográfico donde crezcan las plantas, condiciones de tipo de suelo, clima y altura sobre el nivel del mar se va a llevar a diferentes cantidades y tipos de moléculas bioactivas presentes, por ejemplo, las variedades de romero originarias de Portugal se caracterizan por poseer altas cantidades de mirceno, mientras que en Francia es el alcanfor y en Marruecos el cineol los que se encuentran en mayor concentración.

En el artículo titulado Mechanical properties of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) stalks, los autores Arévalo, Castillo y Londoño para el año 2013, realizan un seguimiento de la manipulación de los tallos de romero con el fin de investigar características físicas, reológicas y dar recomendaciones para las labores de cosecha y pos-cosecha, así como para encontrar parámetros de diseño de herramientas de cosecha. Sabiendo que el comportamiento mecánico de los tallos de romero corresponde a un material viscoelástico, anisotrópico y de muy alta variabilidad se logra llegar a la conclusión de que incluso la manera y fuerza de corte con la que se realice la recolección de la planta a la hora de la acción manual puede afectar en sus propiedades finales y generar daños estructurales que lleven a diferentes resultados funcionales.

Ponce, Guadalupe y Arana en el año 2015, mediante la publicación de su artículo llamado Estudio bromatológico de *Rosmarinus officinalis* l. “romero” y obtención del aceite esencial, proceden a realizar la extracción del aceite esencial de hojas frescas y deshidratadas de la especie vegetal *Rosmarinus officinalis* L. “romero”, con la finalidad de determinar si la especie cultivada satisface los estándares internacionales. Se obtiene que en el caso de las hojas del romero prevalece un alto contenido de ácido rosmarínico y su derivado rosmaricina, también está presente el ácido carnósico que se caracteriza por ser inestable, degradándose por incremento de la temperatura y exposición a la luz; en presencia de oxígeno puede oxidarse para formar carnosol, rosmanol, epirosmanol y 7-metilepirosmanol, por otra parte, el alcohol borneol del romero es el principal componente indicador de su calidad comercial.

En el año 2020, Fung Boix & otros, mencionan en su artículo que lleva por título; Assessment of the Antioxidative Potential of *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) Irrigated with Static Magnetic Field-Treated Water, llevan a cabo una investigación en la cual se quiere evaluar como el tratamiento de las aguas en los cultivos de romero puede influir y beneficiar en la riqueza antioxidante de sus componentes, con base en que la especie *Rosmarinus officinalis* L. (romero) contiene diferentes compuestos fenólicos que presentan valor como medicina antioxidante natural. Se determina que el riego con agua tratada con un campo magnético estático (SMF) es una posible estrategia para aumentar el rendimiento del romero. Se obtuvieron datos en los cuales se observan diferencias significativas en el contenido fenólico y la actividad antioxidante entre extractos acuosos de plantas de control y plantas regadas con agua tratada con SMF.

Flores, Sáenz, Castañeda y Narro mencionan en el año 2021 en su artículo; Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios, que el romero como planta presenta muchos diversos atributos biológicos como lo son efectos antiinflamatorios, antimicrobianos, antioxidantes, anticancerígenos, entre otros; resultados que se deben a sus metabolitos secundarios como el ácido carnósico, el carnosol, el ácido rosmárico, el alcanfor, entre otros más, generando así un potencial efecto al ser aplicado en la ciencia. También se menciona en este artículo, algunas de las metodologías que buscan la extracción de los componentes biológicamente activos del romero.

Antecedentes nacionales

En el año 2016, Ovares Rodríguez en su tesis; Determinación de los rendimientos y caracterización de aceites esenciales por hidrodestilación a partir de *Lippia alba* y *Rosmarinus officinalis*, realiza un procedimiento con un equipo de hidrodestilación en el cual se colocan muestras vegetales de romero, las cuales son analizadas mediante cromatografía de gases y un espectrofotómetro de masas, obteniendo como resultado componentes como 1,8-cineol y α -pineno identificando a la planta con un quimiotipo *cineoliferum*, lo que lleva a la autora a la conclusión de que el método no es lo suficientemente provechoso con respecto a otros estudios que analizan otros métodos diferentes de extracción. También se comenta sobre la amplia gama de factores que influyen en la obtención del aceite esencial, entre las que se encuentran la parte de la planta utilizada, técnica de extracción, el origen de la planta, la época de cosecha, entre otros.

Venegas en el 2016, plantea su tesis que lleva por título: Evaluación de las condiciones experimentales para la extracción de aceite esencial de romero para su uso como antioxidante en aceites comerciales. En dicho trabajo se realiza un estudio teórico de los diferentes tipos de extracción, aplicaciones de los aceites y variables que afectan a este. Luego con dicha investigación se realizaron pruebas antioxidantes en aceite vegetales que ayudaban a determinar la aplicabilidad del aceite esencial obtenido como antioxidante con cromatografías de gases que contribuía a caracterizar sus componentes y determinar la capacidad de cada uno. De esta manera se obtuvo que los principales componentes encontrados en los aceites esenciales fueron: alfa-pineno, cineolo, biciclo-hept-3-en-2-ona, linalool, canfeno y borneol.

Proyecciones

1. Obtener respuesta a cuál y por qué uno de los métodos utilizados durante el proceso de extracción resulta más factible y de mayor interés para la extracción de la planta de romero.
2. Analizar variables que hayan podido influir entre que una muestra obtenida sea mejor que las otras muestras.
3. Conocer más ampliamente los usos y características principales de la planta de romero que puedan llevar a su mayor reconocimiento y mejor uso farmacológico.
4. Crear una ficha técnica/ informativa que le permita al usuario encontrar la información más importante sobre el romero como planta medicinal.
5. Poder identificar cuáles componentes activos se encuentran en las muestras de la planta que se utilizaron y también cuáles de ellos se encuentran en mayor y menor porcentaje.
6. Se generará también un aporte a otras áreas de la ciencia contribuyendo de manera amplia a la botánica, la farmacognosia, la medicina y otras que puedan así usar dicho trabajo como base para otras futuras investigaciones.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

Plantas medicinales

La terapéutica popular que hace uso de especies vegetales medicinales tiene una gran importancia en lo que es la manifestación sociocultural y científica significativa, que fundamenta su acción en el empirismo de las personas que estén interesadas en el proceso de salud-enfermedad, mediante la observación, el estudio de casos y la experiencia ancestral del uso de dichas plantas en el ámbito clínico, lo cual con el paso de los años, ha permitido el aprovechamiento de los recursos fitoterapéuticos que existen en los ecosistemas de esta entidad geográfica y étnica de culturas antiguas como lo es América Central para la utilización de estos productos. (Patiño, Saavedra, & Martínez, 2014)

Historia de las plantas medicinales.

Las plantas han sido utilizadas a lo largo miles de años en diferentes partes del mundo por sus propiedades nutritivas y medicinales; y aunque su empleo con fines terapéuticos estuvo durante mucho tiempo asociado a ritos mágicos y religiosos, habría que resaltar que esta utilización está íntimamente ligado al conocimiento de la planta. En los últimos años se ha estudiado el efecto en la salud de los posibles compuestos bioactivos presentes en las plantas y de esta manera se puede asegurar que actualmente existe más información sobre sus propiedades funcionales, medicinales y/o toxicológicas y como estas pueden ser ampliamente aprovechadas. (Avila Sosa, y otros, 2012)

Los primeros herbolarios datan de la época de los asirios, los babilonios y los fenicios y constituyen una recopilación de los conocimientos de la época sobre las propiedades curativas de las plantas, comenzando la historia de la fitoterapia. Desde el año 3.000 a.C. hasta hoy en día, hay numerosas referencias y escritos como el famoso papiro egipcio de Ebers (cerca de 1.500 a.C.) que contiene muchas preparaciones medicamentosas a base de vegetales, que son actualmente aún utilizados. (Frete & Mendoza, 2010)

Figura 1. Herbario antiguo en España.



Nota: (Ceballos, 2013)

El siglo XVII marcó el apogeo de las plantas medicinales y aromáticas, que hasta entonces se emplearon de manera limitada como medicina; esto debido a que su número había aumentado, pues fueron apareciendo otras muchas nuevas plantas, en las que se pueden destacar la manigueta de Guinea y el anís estrellado de China, las cuales eran comúnmente utilizadas en la medicina general. Para finales del siglo XVIII, su valor principal era el curativo y desde eso su uso e investigación ha sido ascendente. (Fretes & Mendoza, 2010)

La mayoría de las veces los descubrimientos fueron simplemente resultados en la búsqueda incesante de nuevos alimentos para consumir. En esta incansable exploración de recursos alimenticios, los antepasados comprobaron en su propio cuerpo qué plantas eran comestibles y cuáles de ellas curaban o atenuaban sus males, etc., lo que los llevó a experimentar los diversos efectos que éstas les producían. (Petenatti, Del Vito, Petenatti, Caffini, & Marchevsky, 2016)

Las medicinas del reino vegetal que ahora se usan no han sido descubiertas por las ciencias de las sociedades modernas, sino por pruebas de ensayo y error practicadas durante milenios, por diferentes culturas del pasado. La arqueología nos informa que algunas de las drogas actuales más preciadas y de mayor uso son herencia del pasado oscuro de la prehistoria. Esto ha significado el

nacimiento de la nueva fitoterapia, en que la preparación y la validación de las formulaciones a base de diversas especies vegetales las realizan profesionales especializados, capaces de satisfacer las necesidades que el usuario de la fitoterapia reclama en aspectos importantes como la prevención de las enfermedades y la búsqueda de la salud. (Carballo, Cortada, & Gadano, 2005)

Teniendo en cuenta el uso de las plantas medicinales, podemos decir que existen cuatro tipos generales de medicina. Ellas son: asiática, europea, indígena y neo-occidental. Tanto la asiática como la europea datan 97 de miles de años atrás, se encuentran en las farmacopeas y son por lo tanto las más conocidas; en el caso de la indígena es distinto, ya que es transmitida oralmente y de manera más informal. (Carballo, Cortada, & Gadano, 2005)

El desarrollo histórico de la herboristería europea llevó, a partir del siglo XIX, a la incorporación de las plantas a las farmacopeas de alopátia, naturopatía u homeopatía, y las bases de su acción terapéutica fueron ampliamente estudiadas por químicos medicinales y farmacéuticos, los cuales formaron las bases más importantes para la utilización de estas plantas en la actualidad y que gracias a estos descubrimientos actualmente pueden ser altamente estudiadas e investigadas. (Carballo, Cortada, & Gadano, 2005)

El uso y aplicaciones para el remedio de enfermedades, constituye un conocimiento que se transmite en forma oral y escrita de generación en generación. La forma de administrar sus medicamentos era mediante cocimientos, aceraciones, emplastos, polvos secos, aceites, etc., muchas veces acompañados de conjuros, mandas, rezos o limpieas. Las plantas medicinales han formado parte trascendental de la historia y de la cultura de los pueblos indígenas. (Cosmé, 2008)

Actualmente se posee un mejor conocimiento de las propiedades medicinales de estas plantas, se ha incrementado su número gracias a nuevos descubrimientos, se han desentrañado científicamente secretos de sus principios activos y se han descrito con mucha más precisión sus propiedades, contraindicaciones y efectos secundarios, lo que ha redundado en una más correcta sistematización de su uso y posología. (Carballo, Cortada, & Gadano, 2005)

Es reconocido que las plantas medicinales y aromáticas constituyen un mercado cada vez más promisorio para los países iberoamericanos, en parte por el surgimiento en el ámbito mundial del “consumo verde”, que reconoce la unidad y relación, lo más sana posible del hombre con la naturaleza, la búsqueda de fuentes terapéuticas en ésta; y, en gran medida por la necesidad creciente

de recuperar las raíces, la cultura y la identidad de los pueblos. En la actualidad se estima que alrededor del 80% de la población mundial recurre a la medicina tradicional herbolaria para la atención primaria de la salud. (Fretes & Mendoza, 2010)

Definición.

Son todas aquellas plantas que contienen en alguno de sus órganos, principios activos y metabolitos secundarios, los cuales, administrados en dosis suficientes, producen efectos curativos en las enfermedades de los hombres y de los animales en general. Se calcula que de las 260.000 especies de plantas que se conocen en la actualidad el 10% se pueden considerar medicinales. El estudio de los componentes de las plantas medicinales se centra en las sustancias que ejercen una acción farmacológica sobre el ser humano o los seres vivos. (Cosmé, 2008)

Los llamados principios activos dentro de las plantas medicinales constituyen sustancias que ejercen una acción farmacológica, beneficiosa o perjudicial, sobre el organismo vivo. Su utilidad primordial, a veces específica, es servir como una droga o medicamento que alivie las enfermedades o restablezca la salud perdida en los organismos que decidan así utilizarlos. (Flores, Saenz, Castañeda, & Narro, 2021)

Propiedades terapéuticas en las plantas medicinales según sus componentes.

Los principios activos son sustancias que han de servir como droga o medicamento que alivie una enfermedad, y estos pueden ser diferenciados y clasificados de manera que se estudien individualmente según sus características químicas. En la mayor parte de las plantas medicinales se encontrarán algunos como los mencionados a continuación.

1. Heterósidos: Se encuentran en toda la planta, de preferencia en hojas, flores, y raíces.
2. Sulfurados: como ajo, cebolla, berros. Se obtienen del metabolismo de las proteínas.
3. Cianógenos: estimulan la respiración y mejoran digestión; pueden ser mortales en exceso.
4. Fenólicos simples: tienen acción cáustica y se encuentra diluido en la savia de los brotes jóvenes de las plantas.
5. Cumarínicos: están repartidos tanto en las hojas, como en los frutos, semillas y raíces y tienen efectos anticoagulantes.

6. Flavonoides: son beneficiosos ante problemas de corazón y circulación. Cada uno de estos posee propiedades medicinales específicas y particulares, lo que tienen en común es que sus propiedades son activadas y extraídas con el agua, en infusión o cocción.
7. Mucílagos y gomas: tienen propiedades antiinflamatorias y emolientes en la piel.
8. Alcaloides: se utilizan en medicina para aumentar y disminuir la presión; actúan sobre el sistema nervioso.
9. Taninos: tienen propiedades astringentes y antisépticas; se aplican externamente en el tratamiento de heridas o tejidos inflamados. Para extraerlos se requiere de una cocción de la planta de por lo menos 10 minutos. Se encuentran principalmente en raíces y corteza, luego en hojas.
10. Aceites esenciales: son ligeramente volátiles, de olor característico. Proporcionan efectos estimulantes en la piel y mucosas, son expectorantes y laxantes.
11. Principios amargos: estimulan la secreción de jugos gástricos, glándulas salivares y biliares.

(Fretes & Mendoza, 2010)

Principales formas de preparación y uso de las plantas medicinales.

1. Infusiones: se realiza vertiendo varias hojas o alguna parte de planta en agua hirviendo, y se deja reposar al menos por unos 5 minutos. Estas se beben cuando ya estén tibias según las dosis indicadas para cada planta.
2. Extractos: maceraciones acuosas o alcohólicas.
3. Tinturas: maceraciones frescas en alcohol de 70%, se dejan reposar en tiempo de 10 días o hasta seis semanas.
4. Jarabes: estos consisten en disoluciones de 150 a 200 gramos de azúcar en 100 gramos de agua, añadiéndole las partes de plantas.
5. Polvo: partes de plantas secas y pulverizadas que podrán ser utilizadas de manera sólida y para luego llevar a disolución.
6. Tinturas: maceraciones en alcohol de la planta entera o de sus partes, que se dejan reposar hasta por tres semanas.
7. Gotas: provienen de las infusiones, usualmente se administran vía oral.
8. Jugos o zumos: las plantas se cortan en pedazos pequeños que se machacan hasta obtener la savia que es consumida vía oral.

9. Maceración directa: se desmenuzan y machacan hojas, flores, frutos o semillas (dependiendo de la parte anatómica de la planta que se ocupe), en el solvente más adecuado, que puede ser desde agua, alcohol, vino, y hasta aceites.
10. Baños: se preparan con un cocimiento o infusión concentrada de la planta a utilizar que posteriormente se mezclan con el agua tibia de la tina en donde el paciente se sumergirá.
11. Cataplasmas: consiste en la aplicación directa de la hierba machacada sobre la zona que se desea tratar.
12. Compresas: aplicación directa en compresas calientes de infusión o cocimiento.
13. Inhalación: es la aspiración de los vapores que se obtienen en un cocimiento de la planta medicinal que se quiere utilizar.

(Fretes & Mendoza, 2010)

Principales métodos de siembra para plantas medicinales.

La siembra puede ser realizada en forma directa en el suelo, en almácigos y/o en macetas. Dependiendo del material de propagación a ser utilizado y de las especies que se van a plantar, la siembra puede darse de las siguientes formas:

1. Semillas: lo normal en la multiplicación por semillas es realizar la siembra en recipientes como bandejas o macetas, pero también se puede realizar directamente en el suelo. Si la siembra se hace en el suelo, éste debe estar muy bien preparado, mullido, suelto y enriquecido con mantillo o turba y arena.
2. Estacas o esquejes: generalmente, las estacas o esquejes se plantan en recipientes a cubierto, aunque también esta operación se puede hacer al aire libre, directamente en el suelo. Como sustrato se usa arena con turba a partes iguales. Antes de plantar las estacas, para favorecer el enraizamiento, se impregna o moja la base, 2 o 3 cm, con hormonas de enraizamiento, ya sea líquido o en polvo.
3. Acodo: El acodado consiste en desarrollar raíces a un tallo sin separarlo de la planta madre. Una vez que ha enraizado se separa, obteniéndose otra planta independiente, que vivirá con sus propias raíces. Se siembra directamente a campo o en macetas.
4. División de plantas: la división de las plantas es una técnica de propagación sencilla y la más rápida para obtener nuevos ejemplares. Se puede practicar en especies que hayan

ramificado bien por abajo, que tengan muchos brotes desde la base del suelo. Consiste en dividir cepellón de tierra y raíces en 2 o más trozos. Las partes divididas serán plantas completas listas para replantar en tierra o macetas.

5. Hijuelos: una forma fácil para tener unas cuantas plantas consiste en extraer hijuelos enraizados que se originan en la base de plantas viejas. Listas para plantar en tierra o macetas.

(Fretes & Mendoza, 2010)

Factores limitantes para el uso clínico de plantas medicinales.

Al igual que en el uso de los medicamentos convencionales, cuando se da el uso de plantas medicinales, hay que tomar en cuenta algunas de las limitaciones para determinar si es factible o no el consumo de un producto natural específico o no mediante un estudio del historial clínico del paciente a consumirlo, u otras limitantes que pueden ir apareciendo en el camino cuando ya se lleva un periodo de uso del producto natural.

En las distintas regiones donde se utilizan estas preparaciones se busca establecer modos de control para disminuir los riesgos del consumo, al mismo tiempo que explicitar científicamente sus acciones terapéuticas para que sean usadas de la manera más correcta y responsable posible. En algunas regiones como Asia, existe una gran dificultad para controlar la incorporación de hierbas potencialmente tóxicas o metales pesados, ya que no son considerados dañinas en el sitio de origen. En Europa, Alemania corresponde al líder en el proceso de regulación racional de las plantas medicinales y, por otra parte, Estados Unidos clasificó a varias plantas medicinales bajo el rótulo de “suplementos dietarios”, quedando de este modo fuera de la evaluación de la FDA (Food and Drug Administration), y llevando un uso mucho más libre que en otros países. (Carballo, Cortada, & Gadano, 2005)

Generalmente, la actividad farmacológica de las hierbas medicinales se asocia a la toxicidad de estas y el efecto tóxico inducido depende de la dosis consumida. Por esto resulta importante estudiar las plantas tóxicas como fuente de productos activos, para que sus dosis puedan ser verificadas sabiendo que no habrá un daño alto en su consumo. Una de las formas de evaluación de toxicidad está dada por su efecto sobre el patrimonio genético, nivel de análisis propio de la “genética toxicológica”, disciplina cuyo principal objetivo es implementar ensayos y métodos para

la evaluación del riesgo producido por agentes que se encuentran en el medio ambiente y cuya presencia puede alterar la integridad del patrimonio genético y la salud de los pacientes que los consumen. (Carballo, Cortada, & Gadano, 2005)

Para ello debe valerse de los denominados marcadores biológicos o biomarcadores que indican: exposición a sustancias tóxicas (en los planos molecular o celular), efectos adversos en la salud o susceptibilidad a distintos agentes. Estos biomarcadores representan cambios en el organismo, o en la célula, que pueden ser cuantificados en diferentes sistemas biológicos y de esta manera lograr medir la peligrosidad de estos productos. (Carballo, Cortada, & Gadano, 2005)

Los compuestos químicos pueden interactuar directa o indirectamente con el ADN, produciendo cambios que afectan el funcionamiento celular y que a largo plazo causan trastornos en la salud, particularmente transformaciones malignas. De ahí la importancia de detectar en sus etapas iniciales la acción sobre el material genético mediante biomarcadores de efecto y de esta manera prevenir sucesos a futuro que pongan en peligro la salud y vida de los consumidores de estos productos naturales. (Carballo, Cortada, & Gadano, 2005)

Los eventos dañinos farmacológicamente predecibles son, generalmente, dosis dependientes, y, por tanto, previsibles, disminuyendo la dosis, o suspendiéndose el consumo en caso de presentar alergia. A su vez, el consumo crónico puede traer efectos retardados como carcinogénesis o teratogénesis. Los usuarios de preparados realizados con plantas medicinales deben considerar que estas medicinas son usualmente formuladas con materiales sin tratamiento (crudos), los cuales pueden contener un amplio rango de sustancias que pueden modificar sus características farmacocinéticas y farmacognósicas, y que esto puede llegar a influir directamente en su función terapéutica. (Carballo, Cortada, & Gadano, 2005)

Perspectiva de la Organización Mundial de la Salud (OMS) sobre el uso de plantas medicinales con fines terapéuticos.

Según la OMS, cada vez son más los pacientes que sufren consecuencias negativas derivadas del uso de medicinas herbarias, esto porque no se le da el seguimiento debido a su uso. Una de las principales causas de estos riesgos es la mala calidad de estas medicinas, incluyendo ciertos inconvenientes como la presencia de materiales de planta crudos y una incorrecta identificación de la especie de planta a utilizar. Por ello, la OMS considera de vital importancia un seguimiento y trazabilidad directa en el cultivo, la recogida y la clasificación de plantas correctos

para asegurar la calidad y la seguridad de los productos y evitar de esta manera los efectos no deseados. (XAVI, 2004)

La creciente importancia que los fitoterápicos y las plantas medicinales han adquirido en los últimos años, ha llevado a los distintos países y organizaciones internacionales dependientes de las Naciones Unidas, entre ellas la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), a legislar rectamente sobre el uso y aplicación de las plantas medicinales. Esto se ha acompañado por un desarrollo más bien anárquico de las reglamentaciones implementadas que buscan el mayor beneficio para el paciente que los consume. (Fretes & Mendoza, 2010)

En la normativa **40a de la Asamblea Mundial de la Salud (1987)**, se reafirmaron los principales puntos de las resoluciones precedentes y las recomendaciones formuladas en 1978, en la Conferencia Internacional sobre la Atención Primaria de la Salud, que instó a los estados miembros a emprender programas que contemplen la identificación, evaluación, preparación, cultivo y conservación de las plantas medicinales utilizadas en medicina tradicional, así como asegurar el control de calidad de los medicamentos derivados de ellas, aplicando técnicas modernas, normas apropiadas y prácticas correctas de fabricación de dichas materias primas. (Fretes & Mendoza, 2010)

Por otro lado, también existe el riesgo de amenaza para la diversidad biológica derivada de la cosecha de materias primas para medicinas herbarias y otros productos de asistencia médica naturales. Según la OMS, si no se controlan estas prácticas, se puede llegar a la extinción de las especies y la destrucción de hábitats naturales y recursos. La OMS considera que las nuevas directrices son un paso importante para asegurar la buena calidad de las medicinas naturales, así como garantizar el cultivo de nuevas generaciones que protejan las especies y lleven a un consumo responsable de ellas. (XAVI, 2004)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha venido orientando la investigación y aplicación de la Medicina Natural y Tradicional (MT) a los países desarrollados y especialmente a los “en vías de desarrollo”. La incorporación de las plantas medicinales en la Atención Primaria de Salud (APS), constituye un gran desafío del día a día para los sistemas de salud. Según la ya mencionada institución, el uso de las plantas medicinales constituye una terapia más natural, más inocua, efectiva, de un costo racional y asequible en las diferentes poblaciones. Para establecer el

uso seguro y eficaz es necesaria la correcta identificación taxonómica de las especies y el origen de estas. (Soria & Ramos, 2015)

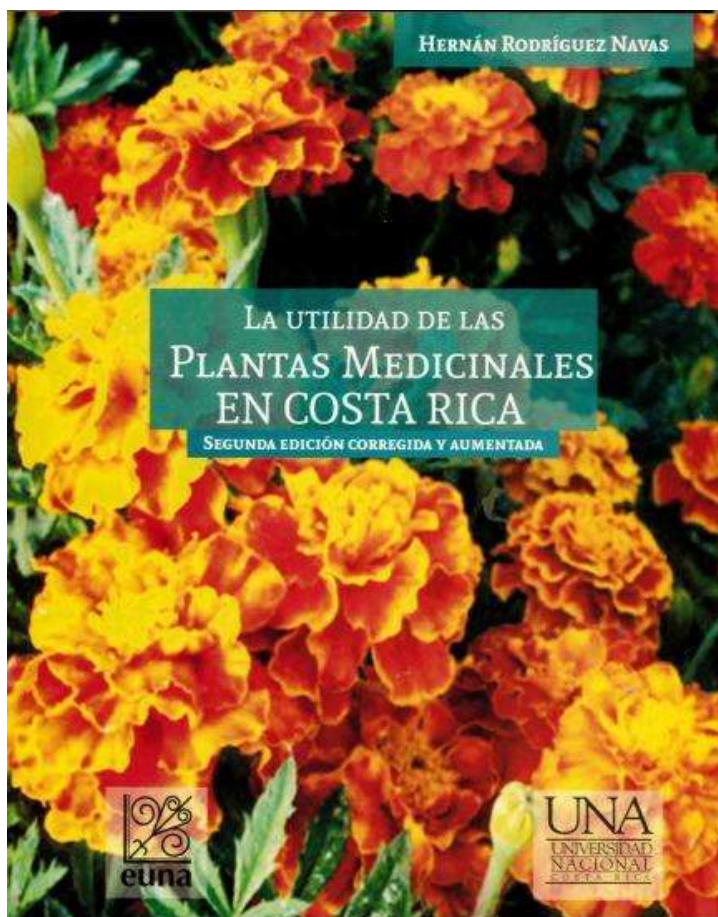
Uso de las plantas medicinales en Costa Rica

Tal como lo comenta Arkele en 1993, en Costa Rica se tiene un 25% del territorio nacional como reserva forestal, y al poseer esta riqueza tan grande, se tiene la capacidad de suministrar muchas plantas o materiales medicinales a compañías farmacéuticas, para que de esta manera se realicen las evaluaciones necesarias con respecto a la aplicación en la industria farmacéutica o agrícola de dichas plantas. Para ese momento lo que se pretendía con esta información era fomentar a la población costarricense para que protegiera adecuadamente esas fuentes de riqueza, con el fin de que las compañías hicieran las inversiones en la realización de estudios en las plantas naturales, para obtener nuevas alternativas farmacológicas. (Akerle, O,1993).

En Costa Rica se cuentan con alrededor de 10 000 y 12 000 especies vegetales. Estas son fuente de agroindustria, industria química, productos veterinarios y plaguicidas. Las plantas producen alrededor de 30 000 metabolitos secundarios para su defensa. Los plaguicidas orgánicos, también, sirven para veterinaria y fármacos humanos. Costa Rica tiene 360 plantas plaguicidas comprobadas. La investigación científica de las plantas medicinales tiene un costo económico muy elevado. (Rodríguez, 2017)

Con respecto a las plantas medicinales y su relevancia histórica en Costa Rica, se denota el aporte realmente importante que suministró la Universidad de Costa Rica por medio de la Vicerrectoría de Investigación, quienes fueron los creadores del Centro de Investigación en Productos Naturales (CIPRONA) en el año 1979; dicho centro investigativo e interdisciplinario trabaja en colaboración con otros centros de investigación e instituciones públicas, para la creación y búsqueda exhaustiva de información científica sobre las plantas con usos medicinales, sus metabolitos y otros de manera que esto pueda ser aprovechado para el desarrollo de estas áreas trascendentales en la farmacia y su relación con el uso clínico. (Hernández, 2008).

Figura 2. Libro sobre utilidad de las plantas medicinales en Costa Rica



Nota: (Rodríguez, 2017)

Influencia de variables de crecimiento en las plantas medicinales.

En el cultivo de las plantas medicinales, la producción agroecológica se debe desarrollar sobre la base de prácticas agrícolas que eviten la contaminación del medio ambiente y que no sólo reporten beneficios al suelo, sino que también permitan que este proporcione las condiciones necesarias para el buen desarrollo de las plantas y una menor susceptibilidad al ataque de las plagas.

De esta manera, se deben aplicar tecnologías novedosas en las cuales se tengan presente las interacciones planta-suelo-condiciones-climáticas-plagas; esta debe ser la forma actual de explotación de las plantas medicinales, seres vivos en constante interacción con el medio que las rodea. (Acosta, 2005)

El adecuado manejo de un cultivo exige el conocimiento de las tecnologías para su explotación y su vinculación con las condiciones climáticas. Las características biológicas de las plantas medicinales y sus requerimientos climatológicos están muy vinculadas, por esta razón las

condiciones para su cultivo son diferentes y muchas no se pueden reproducir en todas las épocas del año (Acosta, 2005). Existen un conjunto de condiciones climatológicas que, a la hora de interaccionar directamente con el crecimiento de la planta, permiten que se dé un desarrollo de una diversidad de flora, y que procesados ya a nivel industrial pueden hacer que se obtengan productos con mayor valor agregado que generen desarrollo industrial y terapéutico mejor para las compañías. (Patiño, Saavedra, & Martinez, 2014)

Las condiciones del cultivo, tipo de planta, tipo de suelo, desarrollo de la planta, lugar de cultivo y los parámetros operacionales del proceso de extracción son las variables que inciden sobre la composición y el rendimiento de los aceites esenciales. Las variaciones en la eficiencia de la extracción están relacionadas directamente con los parámetros operacionales, tales como tiempo, temperatura de la extracción y cantidad de agua empleada, entre otros. (Venegas, 2016)

Por lo antes expuesto es indudable que, para la obtención de drogas de calidad, la trazabilidad de las plantas medicinales juega un papel muy importante, por tanto, es necesario realizar investigaciones destinadas a mejorar los conocimientos agronómicos relativos al cultivo sostenible de estas plantas y asegurar un producto más factible para el cliente. (Acosta, 2005)

Es claro que las plantas, al igual que otros seres vivos son cambiantes y dependientes del entorno que les rodea, por lo tanto, es evidente que todas aquellas variables que se encuentren a su alrededor podrían ser capaces de generar una influencia, ya sea negativa o positivamente en las distintas características tanto estéticas como de composición química de dichas plantas. Estos factores llevarán a que una muestra de una planta medicinal específica contenga o no, mayor o menor cantidad de componentes activos y secundarios en su riqueza fitoquímica, lo cual será directamente proporcional a su riqueza como materia prima para utilizarla con fines terapéuticos. De esta manera, en este apartado, se requiere enlistar cuáles son esos factores que podrían generar cierto tipo de influencia en las plantas medicinales que se utilizan en el día a día. Entre las principales variables se encuentran:

Suelo.

Es de fundamental importancia a la hora del sembrado de las distintas plantas medicinales que se realice un estudio previo de los suelos a través del análisis de estos, cuyo resultado dará informaciones más precisas de las condiciones reales de dichos suelos, tanto en lo referente a la disponibilidad de nutrientes como a las condiciones químicas que favorecen o afectan a cada

materia en específico, de manera que esto funcione como base o fundamento para obtener las mejores condiciones de crecimiento y riqueza metabólica deseada, que terminará siendo directamente proporcional a la respuesta terapéutica que presente la planta. (Fretes & Mendoza, 2010)

Humedad.

El agua es un componente principal de la fotosíntesis porque ayuda a los tejidos a permanecer firmes y a mover nutrientes a través de la planta en sus tejidos. El agua también permite que las raíces puedan tener movimiento en el suelo y actúa como solvente para los minerales e hidratos de carbono que viajan hacia arriba en la planta. Demasiada agua, sin embargo, puede ahogar a la planta. Un ambiente constantemente húmedo puede, además, estimular el crecimiento de hongos, que pueden debilitar o matar a la planta, tal cual se comentó en las otras variables, todas las necesidades dependerán de la especie de la planta medicinal que se quiera investigar. (Miller, 2021)

Nutrición.

La nutrición hace referencia a las necesidades químicas de las plantas para lograr cumplir con los niveles básicos de componentes internos que le permitan el mejor crecimiento y riqueza posible. La mayoría de las plantas precisan de carbono, hidrógeno y oxígeno para crecer adecuadamente. Estos elementos están presentes en el aire y el agua, pero las plantas también precisan de seis nutrientes que deben estar fácilmente disponibles, nitrógeno, potasio, calcio, fósforo, magnesio y azufre, los cuales son absorbidos del suelo y brindan la base para un crecimiento saludable. Además de estos elementos, las plantas necesitan cantidades de traza de hierro, zinc, manganeso, níquel, molibdeno, boro, cobalto, cloro y cobre. Estos elementos son cruciales para el crecimiento y la mayoría puede ser absorbido de suelos bien fertilizados y tratados. Diferentes especies de plantas requieren niveles variables de estos elementos, pero por lo general los primeros tres ya mencionados son a menudo requeridos en mayor cantidad. (Miller, 2021)

Época de siembra.

El manejo correcto de las especies según la época del año permite lograr un mayor rendimiento de material vegetal y fundamentalmente de sus principios activos. Es importante también determinar la etapa del ciclo vegetativo de la planta donde se ha acumulado la máxima concentración de los principios activos con alto rendimiento de material vegetal. (Acosta, 2005)

Existen una serie de factores que condicionan el momento óptimo de cosecha, como la edad, la que varía considerablemente de una a otra especie. Hay especies que necesitan una cosecha en una edad más joven para su correcto crecimiento, y por otro lado hay otras especies que necesitan su estado de madurez para así determinar el momento idóneo para su cosecha. (Acosta, 2005)

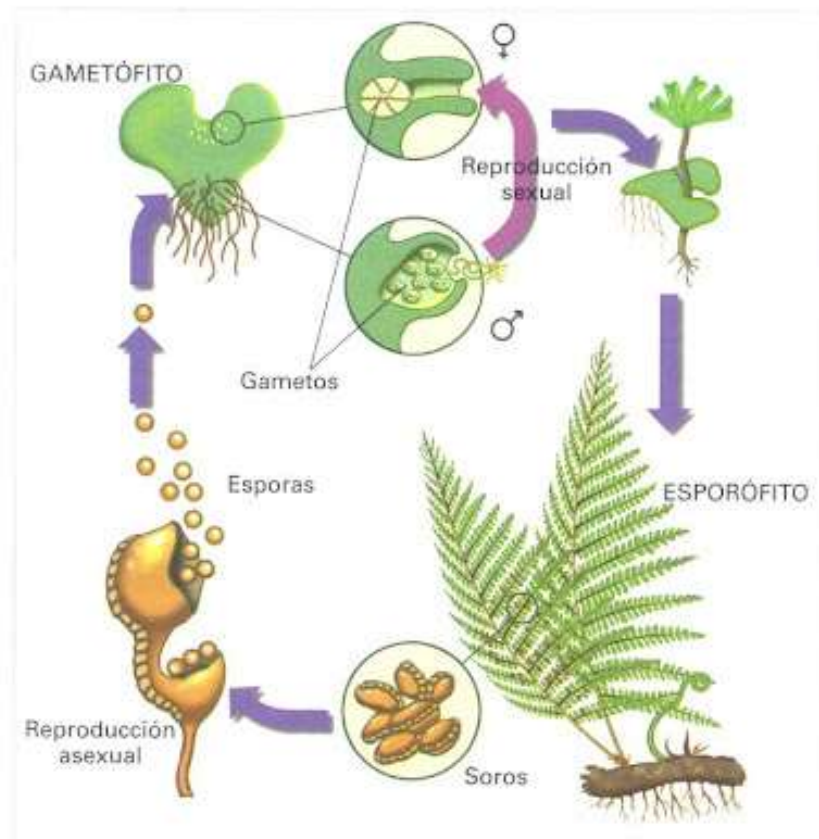
Reproducción.

Hay dos tipos de propagación, una sexual y otra asexual. Se encontrarán plantas que se pueden propagar por estos dos métodos y otras que solamente por uno de ellos. La propagación sexual es la que se realiza por medio de semillas y la asexual es la que se realiza por medio de cualquier parte vegetativa.

1. Propagación sexual: con este tipo de propagación se observará un inconveniente principal, el cual consiste en que no se obtienen plantas exactamente iguales a la planta madre, ya que es el resultado de la combinación de genes, tanto del padre como de la madre. Por tanto, quizás la descendencia no conserve las buenas características que interesan de la madre y no se pueda seguir obteniendo la línea deseada. Una de las utilidades de la multiplicación por semillas es para obtener híbridos, es decir, cuando si se quieren cruzar dos especies distintas con algún propósito.
2. Propagación asexual: en esta se obtienen individuos genéticamente idénticos a la planta madre (son clones) y por lo tanto, mantienen sus mismas características. Por ejemplo, esta manera de reproducción puede ser utilizada para mantener hojas con colores variados o flores de un determinado tipo y así seguir un linaje específico.

(Fretes & Mendoza, 2010)

Figura 3. Ciclo de reproducción sexual y asexual en las plantas.



Nota: (Integración Biológica IDRA, 2010)

Luz.

Una planta que recibe suficiente luz solar estará más capacitada para producir los nutrientes que precisa para crecer adecuadamente. A medida que la cantidad disminuye en invierno, también lo hacen la fotosíntesis y el crecimiento. (Miller, 2021)

Mediante la fotosíntesis, las hojas convierten la energía de la luz solar en alimento para su crecimiento. Cuando las hojas están dañadas, no pueden producir suficiente energía alimentarse y mantenerse saludable. Así, se vuelven débiles, susceptibles a enfermedades y a ser atacadas por insectos, siendo muy probable que mueran. Generalmente, mayor cantidad de luz equivale a mayores niveles de fotosíntesis, sin embargo, a medida que la intensidad de la luz aumenta, la velocidad de la fotosíntesis finalmente alcanza un punto máximo. Este punto donde la intensidad de la luz no aumenta la velocidad de la fotosíntesis se denomina punto de saturación de la luz.

Cuando se alcanza este punto, la curva de la velocidad de la fotosíntesis se vuelve plana. (Olvera, 2019)

Cada fuente de luz da una combinación distinta, por lo tanto, un efecto distinto en tus plantas, de manera que cada color de luz también tendrá relación directa con una longitud de onda específica. Con dicha información, se puede verificar que los resultados de crecimiento de distintas plantas variarán de forma radical en función de la iluminación que reciban, por eso elegir una buena iluminación (artificial o solar) es importante para tener los mejores resultados. (Olvera, 2019)

Precipitación.

La mayoría de las especies vegetales obtienen el agua del suelo. El agua se mueve a través del suelo, penetra al interior de las raíces y pasa a la parte aérea desde donde casi la totalidad pasa a la atmósfera por el proceso de transpiración. En su conjunto, el agua del suelo, planta y atmósfera constituye un circuito continuo en el que ésta se desplaza esta agua de acuerdo con las gradientes de energía. El estado hídrico de las plantas, dentro de cierto límite, es el resultado del intercambio de agua entre dos fuentes principales, el agua del suelo y de la atmósfera. Si la planta pierde más agua a la atmósfera de la que absorbe, se produce un déficit hídrico. (Acevedo, 2000)

Los científicos creen que el agua ácida disuelve los nutrientes y minerales en el suelo y luego los lava antes de que los árboles y otras plantas pueden usarlos para crecer. Al mismo tiempo, la lluvia ácida provoca la liberación de sustancias tóxicas en los suelos, tales como el aluminio. Estos son muy perjudiciales para los árboles y las plantas, incluso si el contacto es limitado. Las sustancias tóxicas también son transportadas mediante los arroyos, ríos y lagos. Cuando las hojas de las plantas reciben con frecuencia esta niebla ácida, su capa de cera protectora puede desgastarse, la pérdida de ella crea manchas marrones. (Olvera, 2019)

Temperatura.

La temperatura juega como tal un rol bastante importante en el crecimiento de la planta, pero al igual que con el sol, los valores adecuados dependen de la planta o la especie de cada una. Las especies de estación fría, por ejemplo, no florecen si la temperatura es muy cálida. Por otro lado, las plantas de estación cálida entrarán en latencia si las temperaturas son muy bajas. Los valores extremos pueden afectar el crecimiento y el vigor de cualquier planta. Las temperaturas altas pueden forzar a las plantas a usar los nutrientes creados mediante la fotosíntesis a una tasa más alta de la que son producidos. En climas fríos, la fotosíntesis es más lenta, al igual que el

crecimiento. En períodos de latencia, esto es esperado, pero si las temperaturas caen inesperadamente durante la estación de crecimiento, esto puede afectar significativamente al crecimiento, la floración, y la reacción que tenga la planta en dicha necesidad. (Miller, 2021)

Los procesos bioquímicos y fisiológicos, relacionados con la síntesis, transporte y degradación de sustancias en las plantas, están influenciados por el régimen térmico en el que se desarrollan. Por otra parte, el grado de relación que estas poseen con la cinética de las reacciones bioquímicas y el mantenimiento de la integridad de las membranas también influirán en su comportamiento. (Murray y Keely 2009).

Viento.

El viento como tal tiene dos variables importantes: la dirección y la velocidad. Además, tiene otras varias características, pues puede ser seco, húmedo, frío o cálido. Todos estos elementos pueden ser beneficiosos o dañinos y pueden generar cierto impacto según el tipo de cultivo que se requiera producir. (Gonzales, 2019)

Hay algunas importantes implicaciones directas del viento y su velocidad sobre las plantas en las cuales se pueden incluir, el movimiento que este le genere a la planta, el daño físico de hojas y frutos, el aborto de flores y la rotura de ramas. Realmente debe haber una adecuada adaptación de las plantas a los vientos pues la longitud de los tallos y el crecimiento de la planta se pueden ver afectados y esto dañar los objetivos de su plantación. (Gonzales, 2019)

Se ha observado que el viento contribuye a disminuir la temperatura foliar, produciendo un descenso del déficit de presión de vapor (DPV) en la capa límite de la hoja, y consecuentemente reduce la tasa transpiratoria. Estudios realizados con especies de regiones desérticas, alpinas y subalpinas han mostrado que la capa límite ejerce una fuerte influencia sobre el intercambio de calor entre la hoja y la atmósfera circundante. El viento puede influenciar también en la forma en la cual la hoja pierde energía debido a su influencia de la capa límite sobre la transpiración al remover el aire saturado de humedad de la superficie foliar. (Golbert, 2010)

Industria farmacéutica y su relación con las plantas medicinales

El desarrollo de la Química Farmacéutica ha contribuido a la utilización de los productos naturales activos como modelos en el laboratorio de síntesis. Sin embargo, a pesar de ello, muchos principios activos se siguen obteniendo de las plantas, ya sea porque no son fáciles de sintetizar o

bien por el alto costo que ello puede suponer frente a la accesibilidad que representa su obtención directa a partir de la naturaleza. Los productos naturales son, además una fuente importante de las denominadas herramientas farmacológicas, las cuales consisten en fármacos que presentan una gran afinidad y especificidad por determinados receptores, siendo útiles para estudiar el mecanismo de acción de otros fármacos. (Consejo General de Colegios Oficiales Farmaceuticos, 2017)

Además de sus aplicaciones actuales o potenciales en otros campos, las plantas validadas, ya sea por el uso ininterrumpido por etnias primitivas o por pruebas preclínicas y clínicas, tienen un alto significado e importantes aplicaciones en la medicina moderna. Algunas de ellas son fuente directa de agentes terapéuticos (en muchos casos insustituibles por productos sintéticos), otras se emplean como materia prima para la fabricación de medicamentos semisintéticos más complejos, y en otros casos la estructura química de sus principios activos puede servir de modelo para la elaboración de drogas sintéticas; finalmente, los metabolitos secundarios de algunas plantas medicinales pueden ser utilizados como “marcadores taxonómicos” en la búsqueda de nuevos medicamentos, tanto en el reino vegetal como en otros grupos de organismos que favorecen directamente a la industria farmacéutica. (Petenatti, Del Vito, Petenatti, Caffini, & Marchevsky, 2016)

Diferentes cadenas farmacéuticas a nivel industrial ya procesan medicamentos a base de plantas medicinales, como jarabes, pastillas y otros compuestos obtenidos en forma natural. La demanda de estos productos en la actualidad va en aumento en muchas regiones de Centroamérica, así como en el mundo entero, quienes tienden hacia el consumo de medicinas alternativas. (Fretes & Mendoza, 2010)

El incremento en el uso de productos farmacéuticos ha dado por resultado la disminución del consumo de preparados tradicionales de la medicina popular, como lo son las plantas medicinales. Sin embargo, en algunas áreas rurales, la medicina tradicional es aún utilizada en igual o mayor medida que las formulaciones farmacéuticas, y en algunos casos, como en las enfermedades menores, los tratamientos tradicionales sustituyen a la medicina académica. (Carballo, Cortada, & Gadano, 2005)

A pesar de que como ya fue mencionado, sí es común ver el uso de las plantas medicinales a nivel industrial, está claro que su uso no es del todo explotado y que aún hay muchas limitaciones que hacen que su uso se quede un poco atrás de los medicamentos no naturales dentro del *marketing*

farmacéutico. La poca producción a nivel comercial se debe, entre otros factores, al desconocimiento de las formas de producción y la falta de capacitación en el manejo del cultivo por los productores y los técnicos que otorgan asistencia técnica del sector público y privado en la industria de los productos naturales. (Fretes & Mendoza, 2010)

El apoyo gubernamental hacia este sector es bastante limitado y cuestionado, por no decir que prácticamente nulo, por lo que la ausencia de investigación agrícola, crédito oportuno y el poco establecimiento de canales de comercialización, constituyen obstáculos determinantes para el desarrollo y la difusión de las plantas medicinales y aromáticas. (Fretes & Mendoza, 2010)

Rentabilidad del uso de las plantas medicinales en la industria.

Tanto las plantas medicinales como los productos que de ellas se obtienen, presentan cada vez más importancia en la terapia de un alto número de afecciones y se considera que representan más de la mitad de las drogas de actual uso clínico. Un gran porcentaje de los medicamentos que se emplean en el mundo desarrollado están basados en plantas, ya sea en forma directa o como extractos, o bien sus principios activos aislados, combinados, transformados u obtenidos por vía sintética o semisintética. (Petenatti, Del Vito, Petenatti, Caffini, & Marchevsky, 2016)

A nivel mundial, el consumo de hierbas aromáticas y medicinales ha tenido un crecimiento sostenido de 4% anual, durante la última década, representando un mercado de 1500 millones de dólares para las hierbas medicinales. (Ponce, J., Guadalupe, L., & Arana, C., 2011).

La industria química fue desarrollando complejos procesos de síntesis orgánica, generando nuevas medicinas, en la convicción de que los productos sintéticos llegarían a reemplazar totalmente a los principios naturales en la terapéutica. Sin embargo, no fue posible realizar la síntesis de numerosas sustancias de origen natural, y las plantas que los contienen fueron y siguen siendo explotadas industrialmente para su obtención. Por otro lado, existen aproximadamente medio millón de plantas, las cuales no han sido del todo investigadas y cuyos principios bioactivos podrían ser decisivos en la curación de enfermedades actuales o venideras. (Petenatti, Del Vito, Petenatti, Caffini, & Marchevsky, 2016)

El comercio mundial de hierbas medicinales, al igual que el de otros recursos económicos, ha estado fuertemente condicionado por conflictos geopolíticos (especialmente las guerras mundiales y regionales), factores económicos (como barreras arancelarias y no arancelarias) y las

situaciones políticas cambiantes registradas en algunos países productores. Todo ello ha incentivado el interés en cultivar las plantas útiles en terceros países, con condiciones ecológicas y políticas más favorables que permitan de manera más llevadera el uso de estas plantas. (Petenatti, Del Vito, Petenatti, Caffini, & Marchevsky, 2016)

Los recursos que representan las plantas medicinales necesitan especial estudio, protección y uso racional. Hoy se conoce únicamente las propiedades terapéuticas de sólo el 1% de las plantas que integran la flora mundial; en tanto que el 25 % de los medicamentos procede de plantas o contienen sus principios activos. Por ello las plantas medicinales representan un muy amplio campo que vale la pena seguir investigando para lograr así la obtención de nuevos recursos terapéuticos, teniendo especial cuidado en su conservación y respetando su diversidad biológica. (Petenatti, Del Vito, Petenatti, Caffini, & Marchevsky, 2016)

Planta de Romero (*Savia rosmarinus*)

Dentro de la familia Lamiaceae destaca la importancia del género *Rosmarinus*, que contiene las siguientes especies: *R. laxiflorus*, *R. eriocalyx*, *R. tomentosus*, *R. lavandulaceus* y *R. officinalis*, ahora titulada *Savia rosmarinus* siendo esta última la más utilizada, gracias a que sus metabolitos secundarios se encuentran en casi todas las partes de la planta (hojas, tallos, flores y raíces) mostrando éstas una gran variedad de actividades biológicas benéficas. (Flores, Saenz, Castañeda, & Narro, 2021)

El romero es una planta mediterránea cuyo término se deriva del griego “(rhops y myrinos)” que significa “arbusto marino” por su crecimiento cercano a las costas. Es una planta rica en principios activos y con acción sobre casi todos los órganos de cuerpo humano. Al tener un alto contenido en aceites esenciales, cuyos ingredientes activos son flavonoides, ácidos fenólicos y principios amargos, genera una acción tónica y estimulante sobre el sistema nervioso, circulatorio y corazón, además de ser colerético, colagogo, antiespasmódico, diurético, emenagogo y antigodanotrópico. (Avila Sosa, y otros, 2012)

A lo largo de estos años se ha demostrado que el limitado uso de los aceites esenciales en la aplicación de la medicina natural ha permitido realizar el estudio necesario para llevar a cabo su más alto porcentaje posible de desarrollo agrícola e industrial, se ha visto que, en el caso del romero, su recolección es factible en casi todas las épocas del año. Además, se ha encontrado que

tiene un porcentaje de rendimiento aceptable, lo cual da como resultado que se una planta con un alto potencial de rentabilidad (Patiño, Saavedra, & Martínez, 2014)

Figura 4. Plantaciones de la planta de romero en Pérez Zeledón, Costa Rica



Nota: (Vivero La Bonita, 2020)

Historia del romero.

En la antigüedad los boticarios empleaban el romero en gran número de preparados, pero en la actualidad sólo el aceite esencial está incluido en las farmacopeas. Durante algún tiempo se pensó que el nombre genérico, *Rosmarinus*, derivaba del latín ros (rocío) y marinus (mar), rocío del mar. En la actualidad, los etimologistas se inclinan a pensar que proviene de la unión de dos vocablos griegos, rhos, arbusto y myrinos, aromático, que concuerdan perfectamente con las características de la planta. (Font Quer, 1961)

Entre los griegos y romanos de la época clásica, el romero adquirió ya cierta importancia, hasta tal punto que fue considerada una hierba sagrada. La utilizaban como incienso o como amuleto, principalmente en las bodas y para alejar el mal de ojo. Posteriormente, en la edad media,

fue usado como sahumo, que no es otra cosa que quemar el romero para que el humo purifique las estancias. Se sahumaban sobre todo los dormitorios de personas enfermas. (Farmacia Jaime, 2017)

Hábitat, distribución y variables del entorno que le favorecen a la planta de romero.

Es nativa del Mediterráneo, del norte y sur de África, así como de Asia Occidental, crece en muchos lugares del planeta (en suelos secos o moderadamente húmedos), alcanzando una altura de 1 a 2 metros. No tolera suelos anaeróbicos. Es una planta que fácil propagación que no requiere cuidados especiales, se adapta a suelos de baja fertilidad y riego ocasional. Su período de floración es de mayo a junio y el de fructificación es de primavera a verano. En Europa y Estados Unidos de América es conocida como “rosemary” y en Brasil como “Alecrim”. (Flores, Saenz, Castañeda, & Narro, 2021)

Su hábitat natural se localiza en terrenos cubiertos de matorrales o bosques mediterráneos, caracterizado por primaveras lluviosas, inviernos frescos, veranos secos y otoños calurosos. Crece sobre suelos de origen calcáreo, terrenos pedregosos o arenosos de buen drenaje, ya que es poco exigente en cuanto a humedad. Por otra parte, es importante mencionar que de manera promedio requiere un mínimo de 6 horas de radiación solar directa durante el día. (Vázquez, 2019)

Suelos con alto contenido de materia orgánica produce plantas más vigorosas, pero poco aromáticas, a diferencia de las que se desarrollan sobre terrenos áridos. El pH influye en la calidad del aceite esencial, en suelos ácidos el contenido de eucaliptol y terpineol es mayor, mientras que en suelos básicos se incrementa el alcanfor. (Vazquez, 2019)

Se ubica en altitudes menores a los 1.500 msnm, siendo así una especie que tolera los ambientes gélidos, hasta los 10 °C bajo cero. Esta especie se puede localizar a mayor nivel altitudinal, pero su rendimiento y calidad de los aceites esenciales es menor. Su presencia es frecuente sobre terrenos intervenidos, degradados por la tala o quema, sobre taludes rocosos y erosionados. (Vázquez, 2019)

Apariencia y características físicas.

El romero es una hierba leñosa, erecta y elevada, que puede sobrepasar el metro de altura. Puede medir entre 50 y 150 cm de altura y sus hojas hasta 3 cm de largo y 4 mm de ancho. Las hojas de romero es el lugar donde se concentran los principios activos de la planta y poseen entre 1,0 y 2,5% de aceite esencial, además de diterpenos, flavonoides y polifenoles. (Velez, y otros,

2019) Posee hojas lineares, de color siempre verde por el haz y blancas por el envés. Sus flores, azuladas o blancas con manchas violeta, nacen en ramilletes y se intercalan entre las hojas. Perteneciente a la familia Lamiaceae nativa de la región mediterránea. (Farmacia Jaime, 2017)

La raíz es del tipo pivotante y su tallo se encuentra extensamente ramificado desde la base formando una maraña intrincada. Cuando las plantas se encuentran más jóvenes, los tallos están cubiertos por una velloidad de tonos blanquecinos o grisáceos. A medida que pasa el tiempo, la pilosidad desaparece y los tallos adquieren un color rojizo y una textura quebradiza. Las hojas de forma lanceolada son muy abundantes, opuestas y enteras, carecen de pedicelo y nacen directamente del tallo. Sobre las hojas se localizan pequeñas glándulas que contienen aceites esenciales que le aporta un olor fuerte y agradable. (Vazquez, 2019)

Figura 5. Apariencia de la planta de romero floreada.



Nota: (Saez, 2018)

Taxonomía.

- Reino: Plantae
- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsida

- Subclase: Asteridae
- Orden: Lamiales
- Familia: Lamiaceae
- Subfamilia: Nepetoideae
- Tribu: Mentheae
- Género: *Rosmarinus*
- Especie: *Rosmarinus officinalis* L.

(Vazquez, 2019)

En la medicina tradicional y moderna, las aplicaciones de las plantas de la familia Lamiaceae son muy variadas, debido a la presencia de diversos metabolitos, componentes principales de los aceites esenciales como los ácidos orgánicos, saponinas y taninos, entre otros, que poseen propiedades antifúngicas, antiinflamatorias, antimicrobianas, antioxidantes, antibacterianas, antialérgicas, astringentes, anticarcinogénicas, hepatoprotectoras, antivirales, antitumorales, insecticidas y acaricidas. (Flores, E., Saenz, A., Castañeda, A., & Narro, R., 2021).

Usos en la salud humana.

En la medicina tradicional se ha usado en el tratamiento del asma bronquial, la epilepsia, el dolor de cabeza, malestares gastrointestinales, cólicos biliares y renales, el control de alergias, pérdida del apetito, anomalías circulatorias, complemento en el tratamiento del dolor muscular, de articulaciones y en inflamaciones, también como antiespasmódico, carminativo, diurético, antirreumático, antidepresivo, ansiolítico, potenciador de la fertilidad humana y la memoria, en el tratamiento de enfermedades inflamatorias y de la diabetes mellitus, potenciador de la cognición y de la circulación sanguínea, expectorante, en el tratamiento de la dismenorrea, desórdenes respiratorios, dolor de garganta y de estómago, en desórdenes de la piel, el alivio de enfermedades cardiovasculares, el tratamiento de lesiones orales, como atenuante de cataratas, tratamiento de alergias cutáneas, como tónico en el tratamiento de las flatulencias, tensión nerviosa y control de la caspa. (Flores, Saenz, Castañeda, & Narro, 2021)

El romero contiene el terpeno cineol que posee un alto potencial para estimular la memoria, la concentración y el aprendizaje. Siendo utilizado en el tratamiento del Alzheimer, su consumo regula la actividad de la enzima acetilcolinesterasa y evita el rompimiento de los neurotransmisores. (Vazquez, 2019)

Se le ha atribuido además una actividad antiplaquetaria, debido a que inhibe al ácido araquidónico, al colágeno, y a la trombina; en consecuencia, la secreción de serotonina y la liberación de ácido araquidónico se ven disminuidos. Lo que media la actividad del ácido carnósico es la inhibición de la movilización de calcio citosólico. Por otra parte, se ha reportado el efecto antitumoral del ácido carnósico contenido en el aceite de romero de forma experimental, tanto in vivo como in vitro, estos hallazgos resaltaron el incremento de la apoptosis de las células del cáncer hepático, la inhibición del glioma inducido por el factor de necrosis tumoral y la protección frente al tumor cutáneo y mamario. (Avila Sosa, y otros, 2012)

Muchos estudios in vivo e in vitro han investigado los efectos del aceite esencial de romero con el fin de demostrar que sus principios bioactivos tienen importantes propiedades biológicas. Los resultados de los estudios pertinentes que se han investigado muestran que hay diferentes compuestos biológicamente activos en el aceite esencial de romero que presentan actividad antioxidante, actividad citotóxica y anticancerígena. También se dice que mejora la cognición y también tiene el potencial de influir en el nivel de glucosa en pacientes diabéticos, modifica la fermentación microbiana ruminal y mejora la reabsorción ósea. El aceite esencial de romero, sin embargo, no mejora la respuesta inmune y existen informes sobre sus efectos adversos sobre la fertilidad. También tiene efectos citoprotectores a nivel de la membrana, particularmente la de los eritrocitos, protegiéndolos del daño oxidativo provocado por los radicales libres. Se recomienda también su uso cutáneo como coadyuvante en el alivio de los músculos menores y dolores articulares y su dosificación se basa en la tradición, empleándolo durante un periodo de dos semanas. (Avila Sosa, y otros, 2012)

Figura 6. Imagen descriptiva/ informativa sobre los principales usos del romero en la salud humana

BENEFICIOS DEL ROMERO

El romero es una planta aromática que ha sido empleada con propósitos medicinales desde los tiempos de la antigua Grecia.

Cuando escuches la palabra romero, uno de las primeras cosas que se te viene a la mente es un olor a frescura que tiene un toque muy parecido al cítrico, un masaje relajante, un minuto sin estrés.

BENEFICIOS DEL ROMERO PARA LA SALUD

 Mejora la función cerebral.	 Protege el cerebro.	 Ayuda a combatir el cáncer.
 Facilita a los asmáticos.	 Ayuda a controlar el peso.	 Tiene propiedades antioxidantes.
 Es antimicrobiano.	 Tiene propiedades antiinflamatorias.	 Previene la formación de coágulos de sangre.
 Tiene propiedades antidiabéticas.	 Ayuda el tracto gastrointestinal y al sistema renal.	 Protege el hígado.
 Protege los pulmones.	 Es analgésico.	 Reduce los espasmos.
 Mejora el estado de ánimo.	 Ayuda a reducir la tos.	 Favorece el crecimiento del cabello.
 Aumenta el movimiento.	 Combate la artritis.	 Protege la piel.

 **La Gota De Las Vitaminas**
Con Un Enfoque En Evidencia Probada

Nota: (Gabriel, 2018)

Contraindicaciones del romero como medicina terapéutica.

Como toda otra planta o producto usado a nivel terapéutico, el romero presenta ciertas contraindicaciones o precauciones en eso, en las que se puede encontrar:

Botasaris en el año 1995, resalta que el uso del extracto de romero no se recomienda en asma, tosferina, lesiones extensas de la piel y heridas abiertas, enfermedades agudas de la piel, fiebre alta, infecciones graves, trastornos circulatorios e insuficiencia cardíaca. (Avila Sosa, y otros, 2012)

En personas convalecientes o de salud precaria, el consumo del aceite esencial de romero puede ocasionar cefaleas, espasmos musculares o irritación intestinal. Una dosis alta puede tener efectos neurotóxicos y causar convulsiones, más aún puede tener efectos abortivos. Su uso tópico puede causar prurito. (Vazquez, 2019)

Se recomienda no administrar el aceite esencial de romero si se sospecha un estado de gestación, a niños pequeños o madres lactantes. Tampoco a personas con gastritis, úlceras intestinales, colitis crónica, intestino irritable, enfermedades hepáticas o cualquier enfermedad neurológica. (Vazquez, 2019)

El romero y su uso en la industria farmacéutica.

Durante el Siglo XX, las industrias químicas fueron desarrollando complejos procesos de síntesis orgánica de plantas medicinales, generando así nuevas medicinas que permitieron combatir eficazmente numerosas enfermedades. El romero claramente no es una excepción a esto, y con el paso de los años más se justifican sus beneficios en la salud humana, y son más las aplicaciones industriales de esta planta.

Existe producción industrial de sustancias que se venden como antioxidantes naturales y que son, fundamentalmente, extractos de romero, de dicha manera se pueden encontrar diferentes productos cosméticos y farmacéuticos en el mercado a los que se puede tener acceso para diferentes afecciones de la salud. (Luna, 2020)

El romero es una planta muy rica en principios activos y posee numerosas propiedades medicinales, entre otras, es antiséptico, antiespasmódico, aromatizante, depurativo, estimulantes estomacales, carminativo, facilita la expulsión de la bilis, diurético o hipotensor. (Luna, 2020)

Los resultados de un reciente estudio clínico indican que el extracto hidroalcohólico de romero posee componentes que incrementan el contenido de las mucosas en grupos sulfhídricos, lo que se traduciría en un efecto antiulcerogénico. Dicho efecto se atribuye a la actividad de los compuestos antioxidantes que son comúnmente explotados en la industria farmacéutica. (Farmacia Jaime, 2017)

Figura 7. Ejemplar de aceite de romero,marca comercial Green Harmony,utilizado en la industria farmaceutica internacional



Nota: (Supersano,2022)

Figura 8. Ejemplar de shampoo comercial de romero utilizado a nivel farmacéutico para los cuidados del cabello



Nota: (Maret, 2015)

Figura 9. Principales estudios farmacológicos sobre la planta de romero.

Efecto	Forma de utilización	Referencias
Actividad antibacteriana	Aceite esencial	Miresmaili 2006, Oluwatuyi <i>et al.</i> 2006, Rozman & Jerzek 2009
	Extractos etanólicos y acuosos	Barni <i>et al.</i> 2009
Actividad antiviral	Extractos hidroetanólicos	Nolkemper <i>et al.</i> 2006, 2008
Actividad antiparasitaria	Aceite esencial	Abe <i>et al.</i> 2002
Actividad antioxidante	Extracto acuoso	Genena <i>et al.</i> 2008
Actividad en el sistema nervioso central		
Estimulador	Aceite esencial	Tsuji <i>et al.</i> 2008, Miranda & Huajuca 2004
	Extracto acuoso	Burnett <i>et al.</i> 2004, Martínez <i>et al.</i> 2004
Mejorador de memoria	Extracto acuoso	Peng <i>et al.</i> 2007
Liberación de dopamina	Extracto de hojas	Sozio <i>et al.</i> 2008
Captación de monoaminas, citoprotectores a nivel de la membrana (eritrocitos)	Aceite esencial	Gholamreza & Mohammad 2005
Activación neuronal	Extracto acuoso	Rau <i>et al.</i> 2006
Inhibición de neurotransmisores	Extractos hidroetanólicos	Waggas & Balawi 2008
	Aceite esencial	Apostolidis <i>et al.</i> 2006
Acción antiinflamatoria	Aceite esencial	Asada 1999
Acción diurética	Extracto acuoso	Martínez <i>et al.</i> 2004
	Extractos hidroetanólicos	Haloui & Lovedec 2000
Propiedades a nivel celular		
Homeostásis celular	Extractos hidroetanólicos	Bakirel <i>et al.</i> 2008
Regulación de ácidos grasos	Extracto acuoso	Bustanji & Issa 2010
Crecimiento celular	Aceite esencial	Cantrell <i>et al.</i> 2005
Aumenta la oxidación microsomal en hígado	Extracto acuoso	Zhu <i>et al.</i> 1998
Cólicos menstruales	Aceite esencial	Miresmaili 2006
Anticonceptivo	Extracto de hojas	González-Trujano <i>et al.</i> 2006
Prevención cardiovascular	Aceite esencial	Islamcevic 2007
Efecto dermatoprotector	Hojas de romero	Fuchs <i>et al.</i> 2005
Acción en el sistema gastrointestinal		
Reducción de lesión ulcerosa	Extractos hidroetanólicos	Correa <i>et al.</i> 2000

Nota: (Avila Sosa, y otros, 2012)

Capacidad antioxidante del romero.

¿Qué es un agente antioxidante?

Los antioxidantes son compuestos de estructuras variadas, cuya función principal es servir de sistema de defensa contra los agentes oxidantes, retrasando o previendo procesos de deterioro, daño o destrucción provocados por la oxidación. Dentro de los antioxidantes de origen natural más estudiados, se pueden encontrar: los derivados de ácidos fenólicos, flavonoides, terpenos, tocoferoles, fosfolípidos y ácidos orgánicos polifuncionales. (Venegas, 2016)

Las primeras investigaciones sobre la actividad antioxidante de las plantas aparecieron en los años 50's, cuando Chipault en 1952 hicieron un estudio sobre 72 plantas, poniendo a prueba su capacidad antioxidante, el romero y la salvia demostraron ser las plantas con mayor contenido de antioxidante, además de ser muy efectivas. Los compuestos activos de la salvia y el romero que presentaron mayor actividad antioxidante son los ácidos fenólicos, flavonoides, pigmentos naturales (capsaicina y curcumina) y terpenos (rosmanol, ácido carnósico, carnosol, epirosmanol e isorosmanol. (Avila Sosa, y otros, 2012)

Se ha observado que la actividad antioxidante de los extractos de romero específicamente se debe particularmente a los ácidos caféico y rosmarínico, estos últimos poseen una doble función: como antioxidante y estimulante de la producción de prostaglandina E2 e inhibidor de la producción de leucotrienos B4 en leucocitos polimorfonucleares en el ser humano. Por otra parte, el ácido carnósico es un excelente inactivador de radicales peróxilo, es decir es un antioxidante primario, y no solo inhibe la formación de hidroperóxidos sino también previene a su descomposición. (Avila Sosa, y otros, 2012)

Una característica del extracto de romero es que su actividad antioxidante se incrementa conforme el pH disminuye, posiblemente debido a que tanto el ácido carnósico como el carnosol son más estables y su efecto protector puede durar más tiempo durante la oxidación. (Avila Sosa, y otros, 2012)

Formas de dosificación del romero como planta medicinal.

El romero puede consumirse de varias formas, tales como:

- Hojas frescas
- Hojas secas (deshidratadas)
- Polvo
- Extracto
- Aceite esencial de romero
- Infusión

(Gabriel, 2018)

Otros usos.

Los principales usos del romero son en cosméticos, saborizantes de comida, mejoradores de alimentos perecederos, estimulantes del crecimiento del cabello, como aroma en la preparación de perfumes y fragancias, como aditivo para shampoo, crema y jabón, en colorantes naturales de lociones y enjuagues bucales. (Flores, Saenz, Castañeda, & Narro, 2021)

Uso del romero en la industria alimenticia.

Existen diversas aplicaciones de compuestos derivados de romero en la ciencia de alimentos. Un gran interés de este radica en los bioactivos contenidos en las plantas de uso medicinal como nuevas fuentes de antioxidantes naturales en la industria alimentaria. El uso de extracto de romero se ha estudiado ampliamente en pollo y carne como un antioxidante natural. La carne es muy susceptible a la oxidación debido a los factores intrínsecos como el tipo de carne, procesamiento y condiciones de almacenamiento. (Avila Sosa, y otros, 2012)

Antes del cocimiento, las reacciones de los radicales libres causan la autooxidación en las carnes, cambiando el sabor, color y aroma de la carne. Durante el cocimiento, los lípidos en la carne pueden generar que los volátiles que se oxidan produzcan sabores y olores discordantes. Los componentes volátiles, como los alcoholes, aldehídos, furanos e hidrocarburos, también formados durante la oxidación a temperaturas más bajas, aumentan su concentración durante el cocimiento. Después del cocimiento, la oleoresina de romero ha probado que logra evitar la oxidación de lípidos y la formación de olores. (Avila Sosa, y otros, 2012)

Figura 10. Principales plantas utilizadas en la industria alimenticia en donde se puede observar el romero como un ejemplo.



Nota: (Freepik, 2021)

Uso del romero en la industria de la cosmetología.

Del romero se extrae un aceite esencial muy volátil de singular aroma que es utilizado para la fabricación de lociones, colonias, champús y jabones. De manera artesanal, las hojas secas o frescas se emplean también para inhalaciones que favorecen la circulación sanguínea del cutis. También se pueden encontrar diversos productos cosméticos o de cuidado personal que utilizan el romero en sus formulaciones, como enjuagues bucales o cremas de dientes que fortalecen las encías y por otro lado los enjuagues capilares o champús que ayudan a revitalizar el cuero cabelludo. El agua de romero contiene vitaminas y minerales que mejoran la salud del cabello, incluso estimula el crecimiento del cabello en caso de alopecia. (Vazquez, 2019)

Uso en la industria agrícola

Los arbustos de romero se cultivan alrededor de cultivos comerciales debido a su poder repelente, muchas veces tóxico contra algunas larvas de insectos. Asimismo, se siembra sobre

terrenos intervenidos o degradados para evitar los problemas erosivos causados por la lluvia o el viento. (Vazquez, 2019)

Composición química del romero.

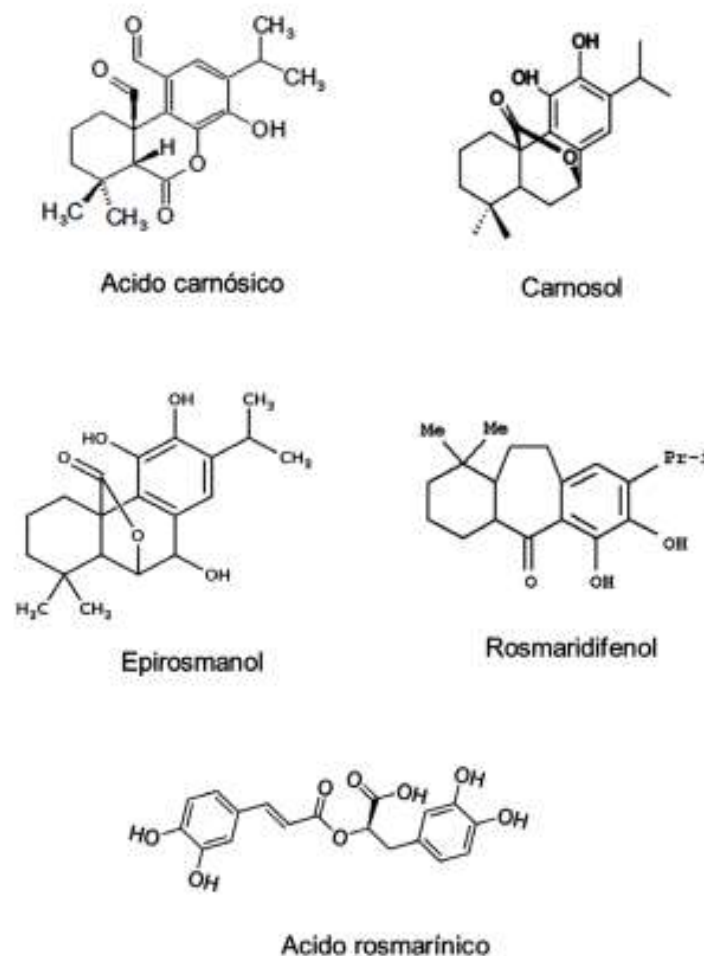
Los componentes que confieren las propiedades farmacológicas del romero pueden agruparse en las categorías de flavonoides, terpenoides (monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos) y derivados hidroxicinámicos. Una gran cantidad de investigaciones se centran hoy en día, en el estudio del romero, destacando aquellas que han demostrado los efectos farmacológicos de sus moléculas fenólicas contra procesos inflamatorios, cardiopatías isquémicas, aterosclerosis, úlceras gástricas, deficiencias respiratorias y algunos tipos de cáncer. (Flores, Saenz, Castañeda, & Narro, 2021)

Diferentes trabajos de investigación afirman que dependiendo del lugar geográfico donde crezcan las plantas y en qué condiciones de tipo de suelo, clima y altura sobre el nivel del mar generan diferentes cambios en cantidad y tipos de moléculas bioactivas presentes, por ejemplo, las variedades de romero originarias de Portugal se caracterizan por poseer altas cantidades de mirceno, mientras que en Francia es el alcanfor y en Marruecos el cineol los que se encuentran en mayor concentración. (Avila Sosa, y otros, 2012)

Sin embargo, la composición del aceite esencial de romero puede variar significativamente, en función de otros distintos factores como la parte de la planta recolectada, el grado de desarrollo de la planta en el momento de la recolección o la procedencia geográfica como se mencionó anteriormente. Un ejemplo de ello, y relacionado al párrafo anterior, en el área mediterránea se distinguen principalmente dos tipos de esencias de romero: los tipos Marruecos y Túnez, que tienen un elevado contenido de 1,8-cineol, y el tipo español, con menor contenido en 1,8-cineol. (Lopez, 2008)

De manera general, la composición química del aceite esencial de romero ha sido descrita en trabajos que indican el tipo de moléculas activas presentes. Se ha identificado la presencia de diferentes componentes como α -pineno, β -pineno, canfeno, ésteres terpénicos como el 1,8-cineol, alcanfor, linalol, verbinol, terpineol, carnosol, rosmanol, isorosmanol, 3-octanona, isobanil-acetato y β -cariofileno; los ácidos vanílico, caféico, clorogénico, rosmarínico, carnósico, ursólico, oleanólico, butilínico, betulínico, betulina, α -amirina, β -amirina, borneol, y acetato de bornilo. (Avila Sosa, y otros, 2012)

Figura 11. Estructura de algunos de los principales componentes biocativos en el aceite esencial de romero.



Nota: (Avila Sosa, y otros, 2012)

También posee diversas proteínas, vitaminas y minerales como retinol (vitamina A), (vitamina B1), riboflavina (vitamina B2), niacina (vitamina B3), vitaminas B6, C E y K. Además, los elementos minerales calcio, fósforo, hierro, magnesio, potasio, sodio y zinc. (Vazquez, 2019)

En el caso de las hojas del romero prevalece un alto contenido de ácido rosmarínico y su derivado rosmaricina, también está presente el ácido carnósico que se caracteriza por ser inestable, su degradación se da por incremento de la temperatura y exposición a la luz; en presencia de oxígeno puede oxidarse para formar carnosol, rosmanol, epirosmanol y 7- metil-epirosmanol. (Avila Sosa, y otros, 2012)

La composición química del aceite esencial de romero varía de acuerdo con su procedencia geográfica, parte de la planta y estado de desarrollo. De esta forma, se diferencian tres tipos de aceites: camforiferum (alcanfor superior al 20%), cineoliferum (alto contenido de 1,8-cineol) y verbenoniferum (verbenona superior al 15%). (Vazquez, 2019)

Efectos tóxicos del romero.

Se han descrito posibles efectos secundarios dañinos de aceite de romero.

Primeramente, en los años 90's, se informó de un efecto anti-implante del romero y del extracto acuoso de hojas de romero en ratas Wistar. El aceite de romero, ingerido por vía oral, puede desencadenar convulsiones, los pacientes epilépticos deben tener precaución en el uso de este aceite, y nunca se debe ingerir cantidades superiores a las utilizadas en los alimentos, especialmente durante el embarazo. Las ratas fueron tratadas por sonda con dosis de aceite de romero de 300, 1000 o 2000 mg/kg, particularmente la dosis más alta mostró un aumento en el número de células micro nucleadas, migración del ADN del hígado y de los leucocitos y el cromosoma en las células de la médula ósea en las ratas. (Avila Sosa, y otros, 2012)

También se ha demostrado con la amplia investigación que las preparaciones tópicas que contienen aceite de romero son potencialmente nocivas para las personas hipersensibles que pueden ser alérgicas al alcanfor. Teniendo en cuenta el alto consumo de aceite esencial de romero, los informes de algunos efectos secundarios nocivos, y la falta de evaluaciones in vivo genotóxico y mutagénico de este aceite, se hace necesario examinar la genotoxicidad / potencial mutagénico de la administración aguda de aceite de romero en células de roedores utilizando ensayos de micronúcleos y aberraciones cromosómicas. (Avila Sosa, y otros, 2012)

Aunque la probabilidad de presentar una intoxicación por el consumo de infusiones de romero es muy baja, una sobredosis podría derivar en un cuadro caracterizado por espasmo abdominal, vómitos, gastroenteritis, hemorragia uterina e irritación renal. (Lopez, 2008)

Se deduce que no conviene a personas con gastritis agudas, úlcera gastroduodenal, hepatopatías, epilepsia y Parkinson. Deberá evitarse durante el embarazo, ya que puede tener efectos abortivos y tampoco es recomendable en la lactancia. Pero por lo general, los extractos de romero, incluyendo el aceite esencial son bien tolerados en animales y humanos. (Avila Sosa, y otros, 2012)

Dosis máxima del aceite esencial de romero.

El Reglamento (UE) N° 723/2013 de la Comisión, publicado el 26 de julio del 2013, modificó el anexo II del Reglamento (CE) no 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo relativo a la utilización de extractos de romero como antioxidantes en carnes y pollo, en el que se autoriza el uso del E 392 a una dosis máxima añadida de 15 mg/Kg de peso. (Hill D,2016).

Por otra parte, cuando es utilizado en la salud humana, las dosis recomendadas de romero para aprovechar sus beneficios de manera segura son de 4 a 6 gramos de hojas secas diariamente y de 2 a 4 ml de extracto líquido 3 veces al día. (Hill D,2016).

Aceites esenciales

Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos volátiles producidos por organismos vivos y aislados únicamente por medios físicos, ya sea prensado o destilación, de toda una planta o parte de ella con origen taxonómico conocido. Las referencias modernas definen un aceite esencial como la esencia, o estrato, que es fuente del aroma y sabor de una planta. (Hill, 2016).

Los compuestos aromáticos volátiles son pequeñas moléculas orgánicas que tienden a cambiar del estado líquido al gaseoso a temperatura ambiente. Estas moléculas son tan increíblemente pequeñas que una sola gota de aceite esencial contiene aproximadamente 40,000,000,000,000,000,000 (40 millones de trillones) de ellas. La palabra “volátil” enfatiza su tendencia a evaporarse rápidamente a temperatura ambiente. Esta propiedad es lo que les da su olor extremadamente potente. Las propiedades físicas y químicas de los compuestos aromáticos volátiles les permiten entrar rápidamente al estado gaseoso, moverse por el aire e interactuar directamente con los sensores olfatorios de la nariz. (Hill, 2016)

Estas sustancias cumplen distintas funciones ecológicas en las plantas, ya que pueden actuar como mensajeros internos, como sustancias protectoras de herbívoros o para atraer insectos para la polinización (Franz & Novak, 2010). La variedad de olores y sabores depende del tipo y cantidad de constituyentes en el aceite. (Tongnuanchan & Benjakul, 2014). Sin embargo, estos constituyentes pueden variar dependiendo de la parte de la planta recolectada, el grado de desarrollo en el momento de su recolección, la procedencia geográfica, entre otros, como ya fue explicado anteriormente. (Velez, y otros, 2019)

Estos aceites con componentes volátiles obtenidos de las plantas pueden obtenerse de distintas partes anatómicas de estas. Las partes de una planta que contienen la mayor cantidad de aceite esencial son usualmente las partes que corren mayores riesgos de invasión por microorganismos: la corteza, la savia, las hojas, las semillas, las cáscaras de las frutas y plantas enteras. Estos contienen entre 85 y 99% de componentes volátiles y entre 1 y 15% de componentes no volátiles. El aceite esencial es el compuesto más estudiado de la planta debido a que los principios bioactivos que lo conforman tienen importantes propiedades biológicas como lo son su actividad antioxidante, citotóxica y anticancerígena. (Velez, y otros, 2019)

Como consecuencia de que no todos los aceites esenciales se obtienen de la misma manera, es sumamente necesario conocer las características de las materias primas de las plantas a utilizar, así como la forma en que se obtendrán los aceites esenciales. Para satisfacer las condiciones de multifuncionalidad, economía, fiabilidad, resistencia a la temperatura, calidad de los aceites esenciales, es necesario el conocimiento de los factores que dependen de cada planta, de manera que se tomen en cuenta a la hora de analizar la metodología de extracción para saber cuál es la más conveniente. (Patiño, Saavedra, & Martinez, 2014)

Historia de los aceites esenciales.

Los aceites esenciales se llaman “esenciales” porque son la “esencia” de una planta. En la edad media, se creía que los aceites esenciales eran esenciales para la vida, y esto los hizo ganarse el apodo con que se conocen hasta la actualidad. (Hill, 2016)

Clasificación de los aceites esenciales según su procedencia u origen.

De acuerdo con su origen los aceites esenciales se clasifican como naturales, artificiales y sintéticas.

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

lo tanto, son mucho más utilizados como aromatizantes y saborizantes (esencias de vainilla, limón, fresa, etc.). (Martinez, 2001)

Aunque en los aceites esenciales, tanto los monoterpenos, los sesquiterpenos y los fenilpropanos se les encuentra en forma libre, más recientemente se han investigado los que están ligados a carbohidratos, ya que se considera que son los precursores inmediatos del aceite como tal. (Martinez, 2001)

Técnicas de la recolección, secado y conservación de las plantas que contienen aceites esenciales.

El hecho de separar, cortando o partiendo una sección del cuerpo vegetal, sea por medio de una navaja afilada o, en el caso de un vegetal leñoso, con unas tijeras de jardinero, produce un cierto número de transformaciones biológicas en la parte separada de la planta a utilizar. Por otra parte, es importante que se determine específicamente para cada planta la época de la recolección que más de adecúe a esta, tanto de las plantas silvestres como de las cultivadas, esto en función del contenido de materias activas a lo largo de su ciclo vegetativo y cuando es más efectiva la recolección. (Patiño, Saavedra, & Martinez, 2014)

A la hora de la recolección, las células vegetales empezaran a marchitarse con los primeros cortes de sus ramas a la hora de empezar la separación. Al separar la parte aérea de su raíz se provoca ante todo la interrupción del flujo alimenticio y de transpiración (en la que ocurre la ascensión del agua hasta las células, transportando los nutrientes que lleva disueltos). Si la planta no es inmediatamente extendida al aire en finas capas, corre el peligro de estropearse la muestra. (Patiño, Saavedra, & Martinez, 2014)

Las enzimas que contiene y los agentes que favorecían la formación de materias activas dentro de ella, empiezan ahora a descomponerla. En el organismo vegetal las anteriores reacciones de síntesis orgánica comienzan a ser suplantadas por reacciones de degradación, y el producto se transforma desde el punto de vista químico a un producto más degradado. Una incorrecta forma de secado aumenta aún más la cantidad de productos de degradación sin valor terapéutico, perdiendo así el principio activo y sus principales componentes la calidad o rendimiento de sus muestras. (Patiño, Saavedra, & Martinez, 2014)

Factores que pueden afectar la extracción de un aceite esencial.

Tiempo de secado del material.

Este método se utiliza para realizar la mayor cantidad de secado del material y extraer la humedad y de esta manera facilitar la extracción del material

Tiempo de extracción.

Cuando ya pasó el tiempo de extracción total del aceite y si se mantiene ahí el proceso, puede que este vapor llegue a dañar causando arrastre y emulsión del aceite de manera que haya una disminución en el rendimiento de este.

Presión del vapor.

Si la presión de vapor es muy alta, mayor a 41000 Pa, puede darse una hidrólisis del aceite haciendo que disminuya, tanto el rendimiento como la calidad de este.

Material del tanque.

El material del tanque de extracción debe ser de acero inoxidable tipo 304 preferiblemente.

Condensación interior.

Esta condensación se puede evitar de manera que se realice una limpieza a los 30 minutos del inicio del proceso, haciendo que el tanque se mantenga bien aislado.

Factor de empaquetamiento.

El material no debe quedar suelto o con mucho espacio entre la materia, ya que esto puede provocar que el proceso termine muy rápido, haciendo que haya alto consumo energético y si queda muy junto o apretado el material entonces puede disminuir mucho el rendimiento del aceite, por lo que debe estar en un empaquetamiento intermedio.

Eficiencia del condensador.

Se debe tener una temperatura adecuada, ya que si el líquido refrigerante sale tibio pueden presentarse pérdidas significativas.

(Venegas,2016)

Deterioros posibles en los aceites esenciales naturales.

Generalmente el deterioro es atraído a reacciones generales como:

- Oxidación
- Resinificación
- Polimerización 250
- Hidrolisis de ésteres y
- Interacción de grupos funcionales

Estos procesos parecen estar activados e inducidos por distintas variables como el calor, aire, oxígeno, humedad, luz y en algunos casos posiblemente por metales. Como regla general, cualquier aceite esencial debe ser tratado antes de almacenarlo, removiéndole impurezas metálicas, humedad y materia suspendida. Según la teoría los envases deben quedar completamente llenos, colocándose en un lugar fresco y protegido de la luz. Antes de sellar los recipientes es conveniente burbujear con nitrógeno o anhídrido carbónico para desalojar del envase la cámara de aire que pudiera haber quedado dentro del aceite, esto ya a nivel más industrial.

(Patiño, Saavedra, & Martinez, 2014)

Composición química de los aceites esenciales.

Los aceites esenciales puros son mezclas complejas con más de 200 componentes, que se pueden clasificar en dos grupos: una fracción volátil que constituye de 90 % a 95 % del peso del aceite, la cual contiene los hidrocarburos monoterpénicos y los sesquiterpénicos, así como sus derivados oxigenados junto con aldehídos alifáticos, alcoholes y ésteres; y un residuo no volátil que comprende 1 % a 10 % peso del aceite, que contiene hidrocarburos, ácidos grasos, esteroides, carotenoides, ceras y flavonoides (Prats & Jimenez, 2009).

La composición química de los aceites esenciales es lo que les da la habilidad de afectar los sistemas del cuerpo. Las moléculas de los aceites esenciales pueden apoyar selectivamente la función de las estructuras subcelulares que realizan los procesos que nos mantienen vivos y efectuarse en ellos de manera, ya sea positiva o negativa. (Hill, 2016)

Los diferentes compuestos de un aceite esencial se conocen como constituyentes. Cada constituyente tiene su propia estructura distinta, lo cual significa que la forma, el tamaño y el arreglo de los vínculos químicos de esa molécula son únicos. Los diferentes constituyentes de un aceite esencial determinan, tanto su aroma como los beneficios que ofrece. (Hill, 2016)

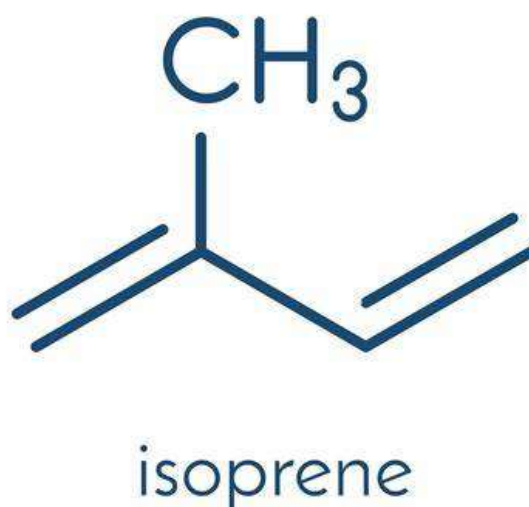
Compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos).

Los compuestos alifáticos son una familia de compuestos orgánicos formados por hidrocarburos, tanto cíclicos como de cadena abierta, que no poseen anillos aromáticos en su estructura. Esto incluye a los alcanos, cicloalcanos, alquenos, dienos, polienos, alquinos, diinos y otros más. (Hill, 2016)

Terpenos.

Estas son la clase de moléculas aromáticas sintetizadas por las plantas. Cada planta tiene cientos de enzimas especiales que son llamadas terpeno sintasas que trabajan juntas para construir estos compuestos usando bloques de construcción más pequeños llamados unidades de isopreno, que tienen cinco carbonos. (Hill, 2016)

Figura 12. Unidad del isopreno.



Nota: (Alamy, 2017)

Figura 13. Principales terpenos presentes en las plantas medicinales, beneficios en la salud y ejemplos de especies en las que se encuentran.



TERPENOS

TERPENOS	EFFECTOS	SE ENCUENTRA TAMBIÉN EN	BENEFICIOS MEDICINALES
MIRCENO	Sedante, relajante, aumenta los beneficios psicoactivos del THC.	Mango, tomillo, cítrico, citronela, hojas de laurel.	Antiséptico, antifúngico, antiinflamatorio.
CARIOFILENO	No hay efectos físicos notables.	Plinlenta, madera, especias.	Antioxidante, antiinflamatorio, espasticidad muscular, dolor, insomnio.
LINALOOL	Sedante y calmante.	Lavanda, cítricos, laurel, abedul, palo de rosa.	Insomnio, estrés, depresión, ansiedad, dolor, convulsiones.
PINENO	Retención de memoria y atención.	Pinocha, coníferas, salvia.	Antiinflamatorio, broncodilatador.
HUMELENO	Inhibe el apetito.	Lúpulo, cilantro.	Antiinflamatorio, antibacteriano, analgésico.
LIMONENO	Eleva el ánimo y alivia el estrés.	Cortezas cítricas, enebros, menta.	Antidepresivo, analgésico, reflujo gástrico, antifúngico.

Nota: (Kalapa, 2021)

Hay tres clases principales de terpenos: monoterpenos, sesquiterpenos y diterpenos. Los diterpenos a veces están presentes en algunos aceites esenciales, pero únicamente en cantidades muy pequeñas. Su gran peso molecular evita que se evaporen durante la destilación por arrastre de vapor. Los monoterpenos y los sesquiterpenos son los compuestos principales que se encuentran en los aceites esenciales. Debido a sus diferencias en tamaño y estructura, los monoterpenos y los sesquiterpenos tienen diferentes efectos en el cuerpo. (Hill, 2016)

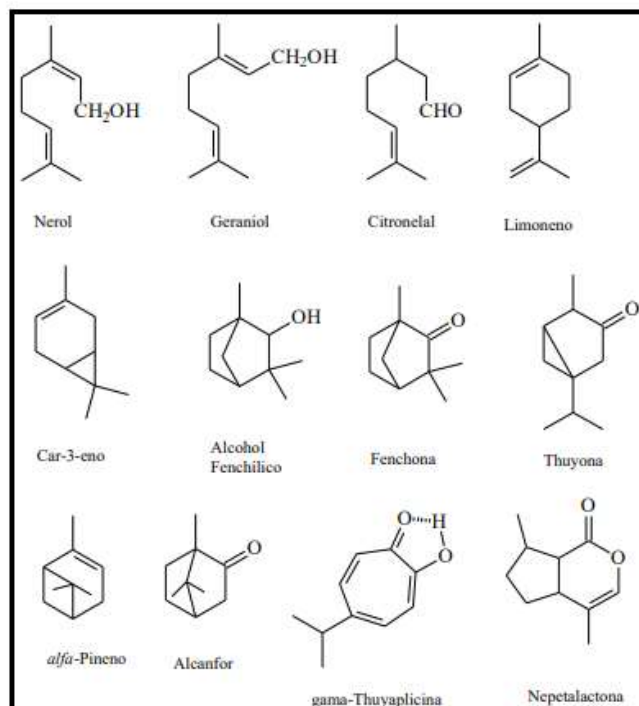
Los monoterpenos se encuentran en alguna cantidad en casi todos los aceites esenciales, están formados por dos unidades de isopreno, por lo que están constituidos por 10 átomos de carbono. Tienen fuertes efectos en las membranas celulares debido a que son lo suficientemente pequeños para caber entre las moléculas grasas que forman la membrana celular. también son lo

suficientemente pequeños para pasar completamente por ella y afectar objetivos dentro de la célula. Se cree que hay más de 2000 variedades de monoterpenos, cada una con su actividad biológica única. (Hill, 2016)

Los sesquiterpenos, con 15 carbonos, están formados por tres unidades de isopreno (Yurkanis, 2008). Estos provienen biosintéticamente de geranilpirofosfato y farnesilpirofosfato, respectivamente; y de acuerdo con su estructura se clasifican según el número de ciclos como acíclicos, monocíclicos, bicíclicos (Martínez, 2003).

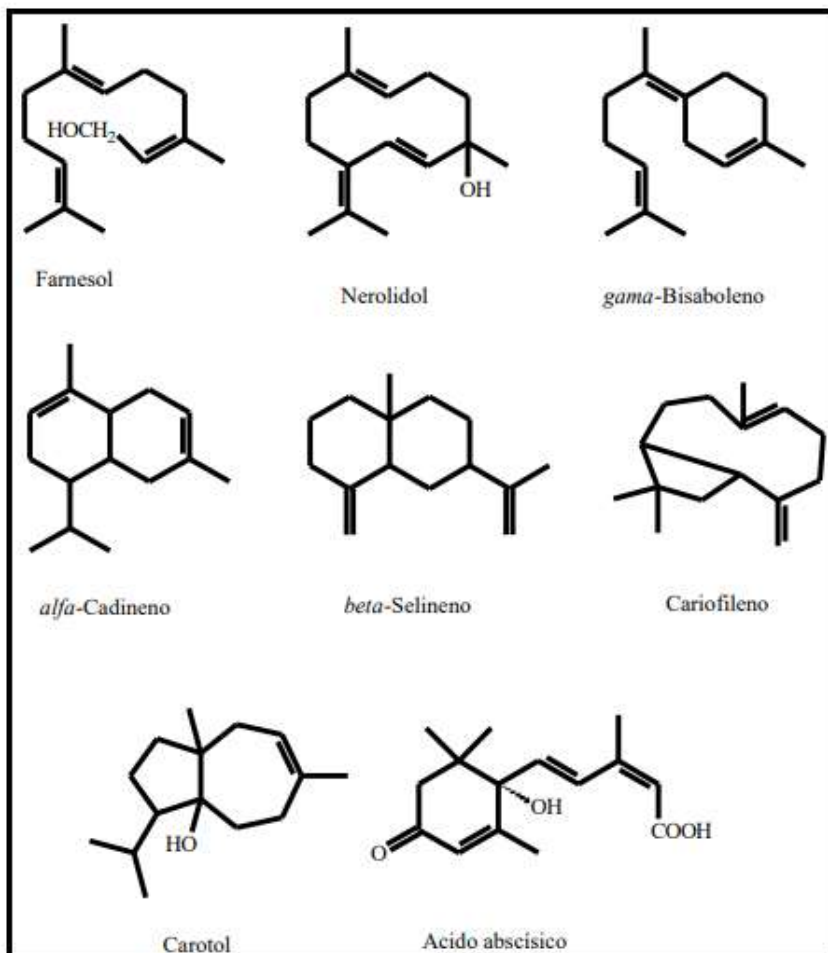
Debido a su alto peso molecular, los sesquiterpenos son menos volátiles que los monoterpenos y, por lo tanto, menos prevalentes en los aceites esenciales en general. Se cree que hay más de 10,000 diferentes variedades de sesquiterpenos. Dichos compuestos no son lo suficientemente pequeños como para pasar por la membrana celular tan eficientemente como los monoterpenos, pero tienen formas únicas que les permiten adherirse a los espacios de estructuras proteínicas tridimensionales afectando la actividad proteínica. Los sesquiterpenos se conocen por activar varios receptores de la superficie celular. (Hill, 2016)

Figura 14. Ejemplos de las estructuras moleculares de algunos monoterpenos naturales presentes en las plantas medicinales.



Nota: (Martinez, 2001)

Figura 15. Ejemplos de las estructuras moleculares de algunos sesquiterpenos naturales presentes en las plantas medicinales.

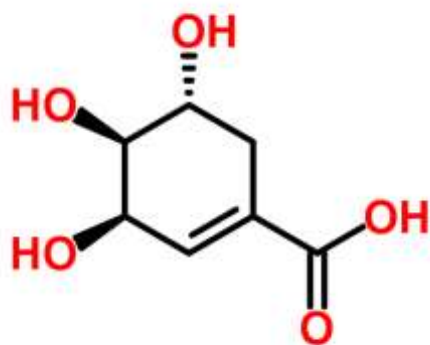


Nota: (Martinez, 2001)

Fenilpropanos.

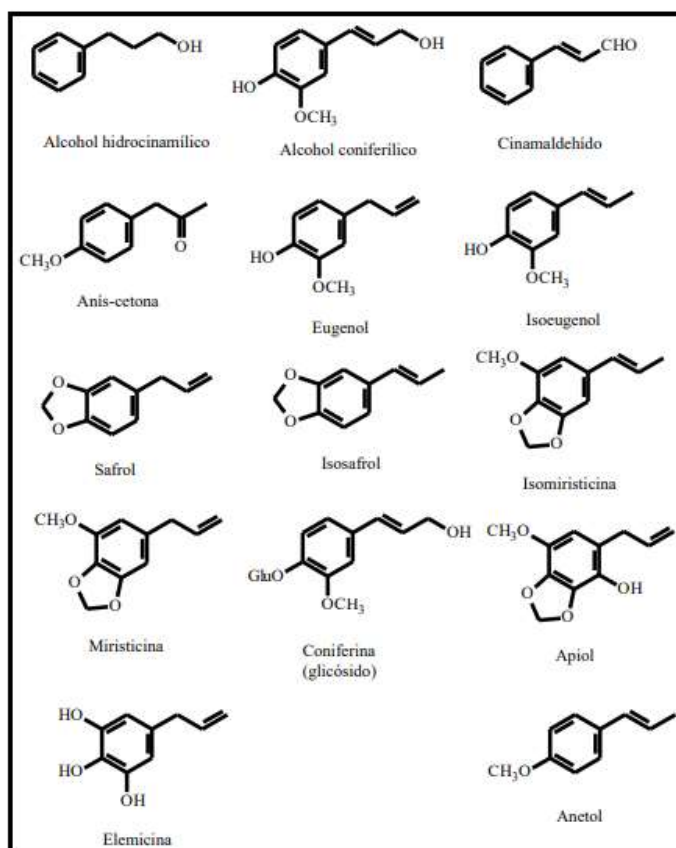
Los fenilpropanos son sustancias naturales ampliamente distribuidas en los vegetales, están caracterizados por un anillo aromático unido a una cadena de 3 carbonos y son derivados biosintéticamente del ácido shíkimico. (Martínez, 2003).

Figura 16. Estructura molecular del ácido shikimico.



Nota: (Bedri,2020)

Figura 17. Estructura molecular de los principales fenilpropanos presentes en aceites esenciales.



Nota: (Martinez, 2001)

Aceite esencial de romero.

Según distintos expertos y la trascendencia que ha tenido la planta de romero, se asegura que el aceite esencial de dicha planta tiene un gran potencial para ser usado en aplicaciones farmacológicas y biotecnológicas. Pero, por otra parte, también puede ser explotado en diferentes productos comerciales como suplemento, cosméticos y nuevas formulaciones. Tiene un color amarillo transparento y es de consistencia viscosa, característica de un aceite, presenta un olor fuerte a romero y tiene una sensación fresca al tacto.

Figura 18: Aspecto físico-estético del aceite esencial de romero.



Nota: (Manisse, 2020)

Identificación y cuantificación de los principales componentes del aceite esencial de la planta de romero.

Si bien, existen distintas maneras de cuantificar la composición de los componentes principales de un aceite esencial de una planta, en este apartado se va a comentar específicamente de la cromatografía gaseosa acoplada a masas, ya que es la técnica utilizada en este trabajo de investigación y también la más comúnmente utilizada en el país para fines de cuantificación de aceites por sus grandes ventajas y rápidos y efectivos resultados.

La cromatografía en fase gaseosa es un medio excelente para la separación, caracterización y análisis cuantitativo de los aceites esenciales. En la espectrometría de masa, se puede hacer una identificación o cuantificación de los picos casi completa. Antes de la cromatografía, muchos aceites esenciales son separados en grupos funcionales, pero no es estrictamente necesario. (Patiño, Saavedra, & Martinez, 2014)

Figura 19. Ejemplo de equipo de un cromatógrafo de gases acoplado a masas.



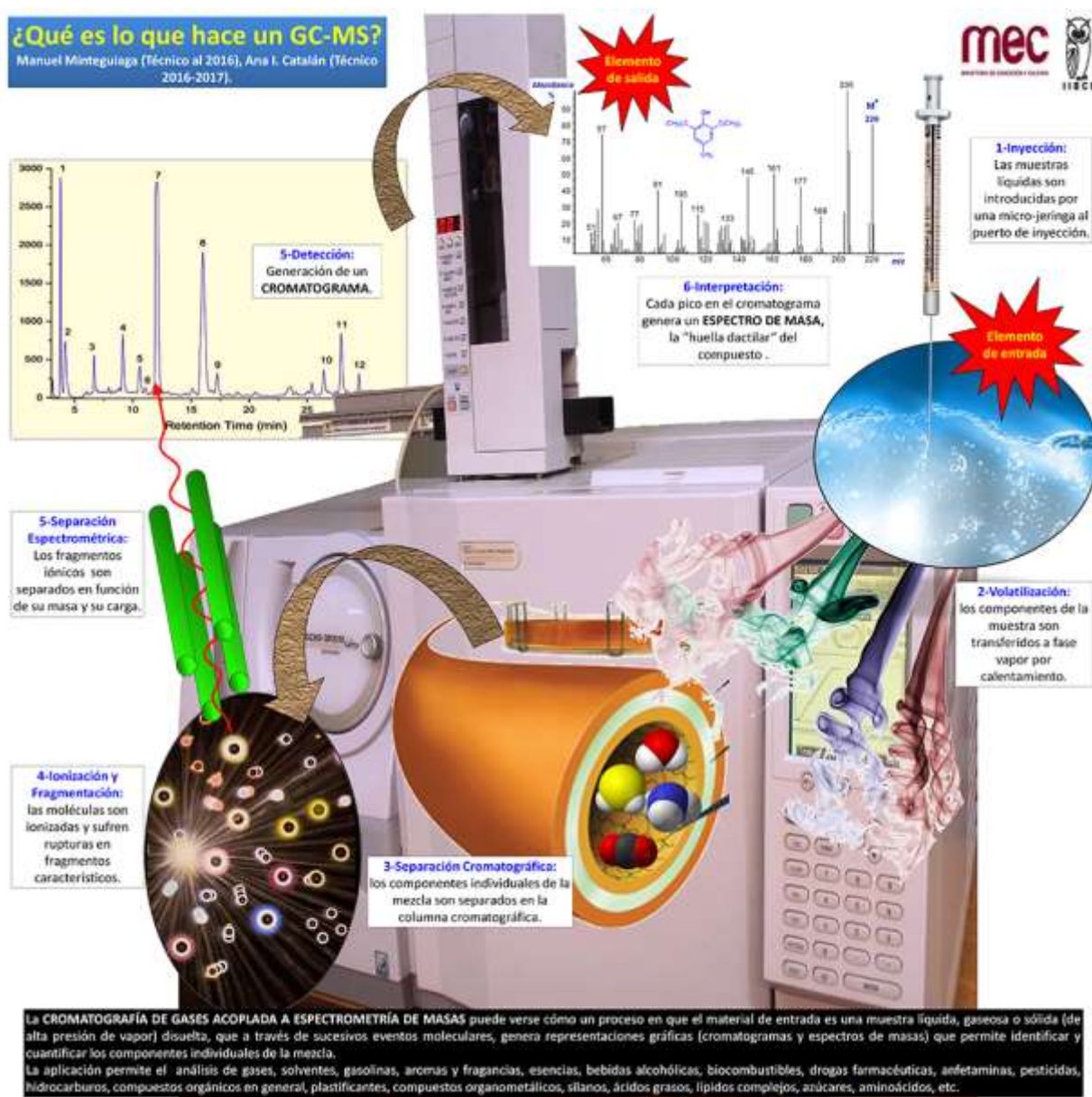
Nota: (Solinsa, 2019)

El modo estándar, adecuado para aproximadamente el 95% de las aplicaciones de las columnas, es la inyección directa. La muestra es inyectada con una jeringa hipodérmica a través de un séptum de goma (o hule) de silicona autosellante, a un alineador de vidrio contenido en un bloque metálico, donde es vaporizada y barrida hacia la columna. Este bloque se calienta a una temperatura que se fija en un valor suficientemente alto para lograr convertir prácticamente en forma instantánea la muestra líquida en vapor. La cantidad de muestra inyectada es del orden de μL para líquidos y algo superior para gases. (RUA, 2016)

En este método son estas tracciones de grupo las que se pasan a cromatografía para lograr ser identificadas. El aceite esencial se inyecta a menudo completo sin ninguna separación preliminar. Esto tiene la desventaja de que la separación de los componentes no es completa y directa, aunque también por otra parte, el uso del aceite completo tiene sus ventajas, si se tiene en mente las limitaciones del procedimiento. Primeramente, es un método muy rápido puesto que no se toma tiempo una separación preliminar. Segundo, se puede obtener cromatogramas característicos, como lo llamado “huellas digitales” de un aceite esencial específico. Este tipo de cromatograma es útil para control de calidad cuando la identificación de los componentes no es tan importante como el cromatograma característico del aceite. (Patiño, Saavedra, & Martinez, 2014)

En la cromatografía de gases, la muestra primeramente se volatiliza para luego ser inyectada en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de un gas inerte, y a diferencia de la mayoría de los tipos de cromatografía, la fase móvil no tiene una interacción directa con las moléculas del analito; sino que su única función es la de transportar el analito a través de la columna. En los análisis de los componentes de un aceite esencial mediante cromatografía gaseosa se utiliza como parámetro de medición la comparación de los tiempos de retención (t_r) de cada uno de los analitos, o tiempo transcurrido entre la inyección de la muestra y la aparición del pico cromatográfico. (Venegas, 2016)

Figura 20. Procedimiento ilustrado del funcionamiento de un cromatógrafo de gases acoplado a masas.



Nota: (Minteguiaga, 2016)

Métodos de extracción de aceites esenciales

Extracto y su definición.

La palabra extracto viene del latín *extractus* que significa "arrastrado hacia afuera". Esto es literalmente lo que ocurre con los principios activos de las plantas cuando se someten a un proceso de extracción y sus principios activos son extraídos, arrastrados. Los aceites esenciales también

son un producto extractivo, pero son mezclas aromáticas que se obtienen con técnicas diferentes respecto al resto de extractos. (Porru, 2021)

Con la llegada de la revolución industrial, empezó a hacerse notoria la necesidad de producir extractos en cantidades cada vez más grandes que los métodos artesanales pudieran alcanzar, lo que hizo que estos métodos fueran adaptándose poco a poco a la escala industrial con la finalidad de obtener aún mejores resultados en las extracciones, como lo es la obtención de aceites esenciales de plantas. (Manual de Laboratorio, Química de Aromas, 2018)

El proceso de extracción

En la fitoterapia la técnica de extracción de principios activos vegetales es un proceso que implica una relación directa sólido/líquido. La parte sólida está constituida por la planta o sus partes y el líquido es el fluido (llamado solvente) utilizado para extraer las sustancias activas de la planta. La obtención de principios activos vegetales con la extracción es un método que utilizaban ya las civilizaciones antiguas y su origen se desconoce. Los solventes tradicionalmente más empleados para los extractos han sido el agua y el alcohol. Hoy día estos líquidos todavía se utilizan en algunas técnicas de extracción. (Porru, 2021)

El extracto es el resultado que se obtiene y que en principio se presenta en un estado líquido. Sin embargo, los extractos no siempre son líquidos porque el proceso de extracción puede prever una segunda fase en la que los principios activos son separados del solvente. En estos casos el resultado final será un extracto seco. (Porru, 2021)

Se pueden encontrar una gran variedad de métodos para la extracción de aceites esenciales y metabolitos secundarios a partir del material vegetal de las plantas. Los materiales herbales contienen importantes componentes bioactivos, cuyo aislamiento y purificación se da mediante la extracción como un primer paso de recuperación, descrito como un fenómeno de transporte donde los componentes de interés en la matriz son transferidos a un disolvente adecuado a lo que se busca obtener. (Flores, Saenz, Castañeda, & Narro, 2021). Estos pueden incluir el uso de dióxido de carbono líquido o microondas, aunque comúnmente se usa destilación a baja o alta presión empleando agua hirviendo o vapor de agua. (Velez, y otros, 2019)

Con respecto al tema del recolectado de las muestras, las hierbas, hojas y flores para el corte no proveniente entre el almacenamiento y conservación se pueden llegar a degradar y es necesario

que haya un periodo corto en la recolección antes de llevar a cabo la extracción como tal. Para la mejor extracción del aceite esencial es necesario que el intervalo de tiempo entre el proceso de recolección y el proceso de obtención del aceite sea de diez a treinta horas. Ciertas materias vegetales se les deben reducir el tamaño y así favorecer la obtención del aceite, siendo necesario la existencia de molinos o cortadoras. (Patiño, Saavedra, & Martinez, 2014)

Principales métodos de extracción.

Destilación por arrastre de vapor.

La destilación por arrastre consiste en vaporizar dos líquidos inmiscibles a una temperatura menor a la de ebullición de cada uno de los componentes volátiles presentes, usando para ello una corriente directa de vapor agua. El vapor calienta la mezcla hasta su punto de ebullición y luego los vapores generados se condensan y finalmente los dos líquidos inmiscibles (agua y aceite esencial), se separan por gravedad. (Tshilenge, 2009). Debido a que los aceites esenciales son solubles en lípidos (lo cual significa que se mezclan rápidamente con otros aceites), se separan fácilmente del agua. (Hill, 2016)

Figura 21. Ilustración del equipo identificado en el procedimiento de extracción de arrastre por vapor.



Nota: (Obtencionblogger, 2021)

Este método permite la máxima difusión del vapor a través del material vegetal, reduciendo los daños que pudieran sufrir los componentes de las esencias extraídas. El rendimiento obtenido en la extracción en general es muy variado entre 0,01% y 2% y varía en función de la composición de la planta, así como del método utilizado. (Velez, y otros, 2019). La condición más importante para que este proceso se lleve a cabo es que el componente volátil sea insoluble en agua, ya que el producto destilado forme dos fases al condensarse. (Venegas, 2016)

En la destilación por arrastre de vapor los factores como el tamaño de partícula del material vegetal, el factor de empaquetamiento y el tiempo de extracción influyen en la composición y rendimiento de los aceites obtenidos. Estudiando el efecto del tamaño de partícula y el tiempo de extracción en el rendimiento del aceite esencial, se ha observado un mayor rendimiento cuando se trabaja con menores tamaños de partícula y tiempos de extracción prolongados. (Venegas, 2016)

Es uno de los métodos más utilizados para extraer los aceites esenciales, ya que se considera que se obtiene mejor calidad del destilado que con los métodos modernos. En este tipo de destilación el control de la temperatura es muy importante, ya que lo que se busca es que se abran los poros sin destruir la planta, o que ella se fracture o se quemé el aceite esencial. El agua obtenida como producto de la destilación se le conoce como agua floral, que puede ser utilizada para el tratamiento de la piel, para máscaras faciales y son preferibles cuando la persona es sensible al aceite esencial puro. (Velez, y otros, 2019)

Las principales ventajas que se encuentran gracias a la utilización de estos métodos son: buenos rendimientos del aceite extraído, obtención de un aceite bastante puro, pocos solventes e impurezas, bajo costo y tecnología no sofisticada. Por otro lado, las principales desventajas radican en que puede haber procesos colaterales como polimerización y resinificación de los terpenos, hidrólisis de ésteres y destrucción térmica de algunos componentes. (Venegas, 2016)

Extracción por disolventes.

Esta extracción consiste en la agitación continua de material vegetal molido, macerado o picado (mayor área de contacto) con el disolvente, y se realiza a temperatura y presión ambiental, ya sea por lotes o continuo (percolación o lixiviación). Los disolventes más utilizados son el etanol, metanol, isopropano, hexano, ciclohexano, tolueno, xileno, ligroina, éter etílico, entre otros. Se debe evitar los solventes clorados y el benceno debido a su peligrosidad para la salud. Los disolventes pueden ser recuperados, una vez terminada la destilación, y pueden ser reutilizados. El

material residual obtenido de la destilación contiene concentrados de materias odoríficas y se le conoce como concreto (Paredes & Quinatoa, 2010).

Este método puede usarse con cualquier tipo de material vegetal, pero se usa más comúnmente con flores que son demasiado frágiles para aguantar las condiciones requeridas para la destilación por arrastre de vapor. El material vegetal es lavado con un solvente para extraer por disolución los compuestos fragantes. Algunos compuestos comúnmente extraídos por este método son los de jazmín y vainilla. (Hill, 2016)

Extracción de fluidos supercríticos.

Esta técnica consiste en el uso de fluidos supercríticos (SCF) para realizar la extracción de aceites esenciales. Dicho método tiene grandes ventajas con respecto a los métodos tradicionales, ya que es más flexible debido a la posibilidad de modulación continua del disolvente de alimentación/ selectividad del SCF y además permite la eliminación de disolventes orgánicos contaminantes. Así mismo, representa un ahorro por el postproceso de extraer los disolventes para su posterior eliminación (Reverchon & De Marco, 2010).

Hidrodestilación.

Este proceso consiste en colocar agua en la parte inferior del tanque y luego se coloca una rejilla que soporta el material vegetal que va a ser extraído. La salida del vapor puede ser lateral o ubicarse en la tapa, el cual pasa al condensador donde el vapor es condensado junto con el aceite esencial obtenido y se recolectan en un separador de fases o florentino, el cual debe tener la suficiente altura y diámetro para evitar pérdidas del aceite y además permita la recolección. La ventaja de este método es que involucra un bajo costo de fabricación del equipo y su operación no requiere de servicios de energía eléctrica, aire u otros. (Paredes & Quinatoa, 2010)

Extracción por microondas.

El material vegetal es calentado directamente por las microondas, lo que conlleva a la consistencia en la calidad y además minimiza el impacto ambiental al no utilizar combustibles fósiles o sistemas menos eficientes como la calefacción indirecta por electricidad. La mayor ventaja de este método es que es fácil de controlar con respecto a las tecnologías convencionales: se puede obtener una mejor calidad del producto y por tanto, tener una producción más económica, dado que el sistema de calentamiento se puede detener en cualquier momento. (Tshilenge, 2009).

Extracción por prensado.

En este método el material vegetal se somete a presión, ya sea de forma continua o por lotes. Dentro de los equipos que se utilizan se tienen el tornillo sin fin de alta o baja presión, extractor expulsor, extractor centrifugo, extractor decantador y rodillos de prensa. Los aceites obtenidos por prensado y/o raspado, se les comercializa como “expresión en frío” y cumplen las funciones de odorizantes y saborizantes (Paredes & Quinatoa, 2010).

La extracción por prensado en frío se usa exclusivamente con frutas cítricas, ya que es una manera de extraer aceite de la capa más externa de la cáscara de la fruta. La fruta pasa por cilindros filosos que raspan la superficie de la cáscara para abrir los pequeños depósitos que contienen el aceite esencial. Entonces se rocía agua sobre las frutas para recoger el aceite esencial. La mezcla acuosa resultante es entonces filtrada y centrifugada para separar el aceite esencial del agua. (Hill, 2016)

Maceración.

La maceración se asemeja a la extracción por disolventes, la diferencia es que el material permanece varios días sumergido; en este sistema se usa aceite, grasa fundida, y aún alcohol etílico. (Patiño, Saavedra, & Martinez, 2014) Esta maceración puede darse tanto con calor o fría.

Figura 22. Producto final listo para el reposo de un proceso de extracción por maceración de una planta.



Nota: (Puente, 2009)

Optimización de los procesos de extracción

Algunos estudios de análisis químico sugieren que los valores de ácidos grasos no saturados y saturados que son obtenidos en los extractos de las plantas, pueden generar implicaciones en que una muestra de aceite vegetal obtenida llegue a ser más o menos saludable, con mayor superior en calidad y valor energético que otras. Aunque estos valores pueden servir de guía, es importante considerar que el perfil de ácidos grasos variará fuertemente en relación con las condiciones del suelo y clima. Dichos procesos podrían influir directamente en lo que es la estabilidad, la calidad y el consumo del aceite vegetal como tal, llevando a la conclusión del necesario proceso de análisis de los extractos obtenidos para corroborar cuál de ellos puede ser más idóneo para los distintos procesos o fines con los que se lleva a cabo la extracción. (Pilco, 2015)

Metabolitos secundarios

Metabolitos secundarios en plantas medicinales.

Las plantas, organismos autótrofos, además del metabolismo primario presente en todos los seres vivos, poseen un metabolismo secundario que les permite producir y acumular compuestos de naturaleza química diversa. Estos compuestos derivados del metabolismo secundario se denominan metabolitos secundarios, se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas, muchos desempeñan funciones ecológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes o colorantes, entre otros. Estos se sintetizan en pequeñas cantidades y no de forma generalizada, estando a menudo su producción restringida a un determinado género de plantas, a una familia, o incluso a algunas especies. (Avalos & Perez, 2009)

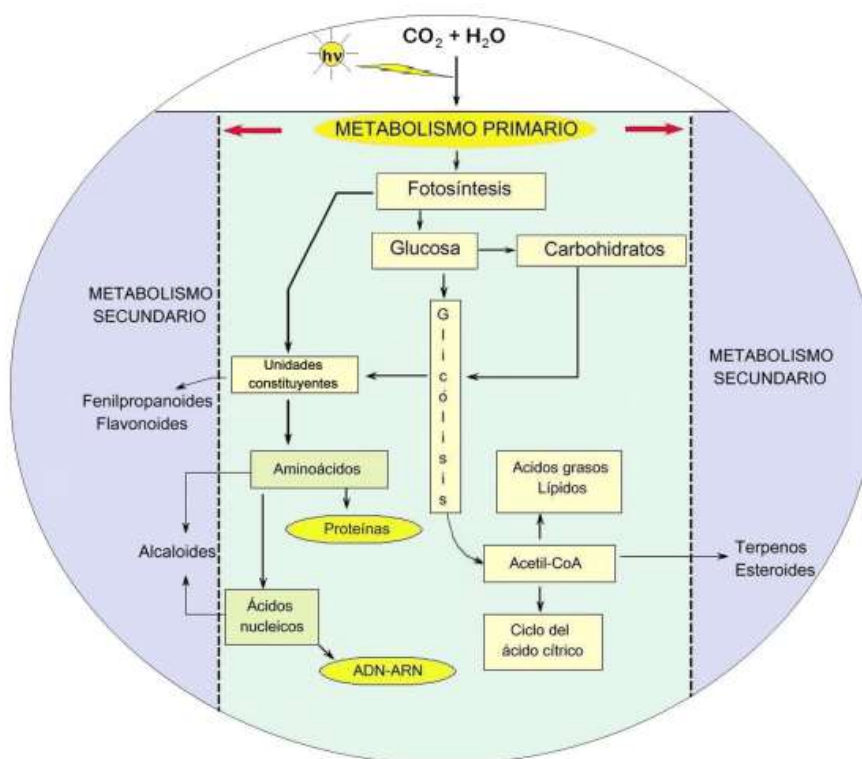
Consisten en las diversas moléculas orgánicas que no tienen una función directa con procesos del metabolismo primario como la fotosíntesis, respiración, asimilación y transporte de nutrientes, procesos anabólicos y catabólicos de aminoácidos y proteínas, azúcares simples y complejos, así como diferentes tipos de grasas y lípidos. Los organismos, incluyendo las plantas, se encuentran en constante cambio y adaptación al ambiente, entre las principales adaptaciones están los ya mencionados metabolitos secundarios. (Camacho, Ramos, Avila, Sanchez, & Lopez, 2020)

Las sustancias químicas que producen las plantas como defensa son muy variadas y poseen diferentes funciones, inhiben la acción de agentes patógenos y evitan su ataque, otros provocan

efectos negativos a distintos niveles del organismo, como irritación al contacto, náuseas o alteraciones gástricas. Algunos de estos compuestos son las saponinas, compuestos fenólicos que incluyen los ácidos fenólicos y polímeros complejos como los taninos y la lignina. Estos fitoquímicos tienen la capacidad de provocar efectos farmacológicos y toxicológicos en los animales y humanos. También tienen efectos bactericidas o bacteriostáticos en el microbiota ruminal, y actúan como inhibidores de la fermentación. (Camacho, Ramos, Avila, Sanchez, & Lopez, 2020)

La síntesis activa de metabolitos secundarios es inducida por la planta al exponerse a estrés ambiental, como: el ataque de organismos herbívoros, fitopatógenos, alta densidad vegetal, competencia con otros organismos por nutrientes, falta o exceso de luz o cualquier otro tipo de condición que provoque estado de tensión en la planta. (Camacho, Ramos, Avila, Sanchez, & Lopez, 2020)

Figura 23. Ruta de distribución de la relación entre los metabolitos primarios y secundarios de las plantas.



Nota: (Avalos & Perez, 2009)

Clasificación.

Terpenoides.

Constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios, en este grupo se pueden encontrar diversos tipos de hormonas lipídicas, pigmentos, ácidos grasos y aceites aromáticos. Se sintetizan a partir de metabolitos primarios por dos rutas: la del ácido mevalónico, activa en el citosol, o bien la ruta del metileritritol fosfato (MEP) que funciona en cloroplastos y genera también IPP. (Camacho, Ramos, Avila, Sanchez, & Lopez, 2020)

La ruta biosintética de estos compuestos da lugar, tanto a metabolitos primarios como secundarios de gran importancia para el crecimiento y supervivencia de las plantas. Suelen ser insolubles en agua y derivan todos ellos de la unión de unidades de isopreno (5 átomos de C). De esta forma, los terpenos se clasifican por el número de unidades de isopreno. (Avalos & Perez, 2009)

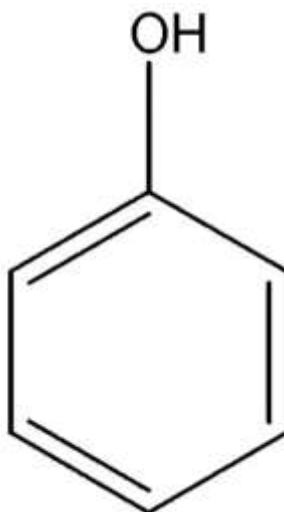
Muchos terpenoides son comercialmente interesantes por su uso como aromas y fragancias en alimentación y cosmética, o por su importancia en la calidad de productos agrícolas. Otros compuestos terpenoides tienen importancia medicinal por sus propiedades anticarcinogénicas, antiulcerosas, antimalariales, antimicrobianas, etc. (Avalos & Perez, 2009)

Compuestos fenólicos.

Entre los más importantes están las cumarinas, diversos flavonoides, azúcares estructurales como lignina y taninos. Los aminoácidos aromáticos se pueden dirigir tanto al metabolismo primario como al metabolismo secundario. Tienen propiedades antioxidantes, apoyan el funcionamiento adecuado de los sistemas cardiovascular, circulatorio, digestivo, gastrointestinal, inmunitario, nervioso y respiratorio. (Camacho, Ramos, Avila, Sanchez, & Lopez, 2020)

Las plantas sintetizan una gran variedad de productos secundarios que contienen un grupo fenol. Estas sustancias reciben el nombre de compuestos fenólicos, polifenoles o fenilpropanoides y derivan todas ellas del fenol, un anillo aromático con un grupo hidroxilo. (Avalos & Perez, 2009)

Figura 24. Estructura química del fenol.



Nota: (Avalos & Perez, 2009)

Glicósidos.

Entre los más destacados se encuentran las saponinas, los diferentes grupos de glicósidos (cardíacos o cianogénicos). Su nombre hace referencia al enlace glicosídico que se forma cuando una molécula de azúcar se condensa con otra que contiene un grupo hidroxilo. (Camacho, Ramos, Avila, Sanchez, & Lopez, 2020)

Existen tres grupos de glicósidos de particular interés: saponinas, glicósidos cardíacos y glicósidos cianogénicos. (Avalos & Perez, 2009)

Compuestos nitrogenados o alcaloides.

Los alcaloides son metabolitos secundarios de vegetales que se sintetizan mediante aminoácidos. Un alcaloide, por lo tanto, es un compuesto químico que cuenta con nitrógeno que proviene del proceso metabólico de un aminoácido. (Camacho, Ramos, Avila, Sanchez, & Lopez, 2020)

Los alcaloides son una gran familia de más de 15.000 metabolitos secundarios que tienen en común tres características: son solubles en agua, contienen al menos un átomo de nitrógeno en la molécula, y exhiben actividad biológica. La mayoría son heterocíclicos, aunque algunos son

compuestos nitrogenados alifáticos (no cíclicos). Se encuentran en el 20% aproximadamente de las plantas vasculares, la mayoría dicotiledóneas herbáceas. (Avalos & Perez, 2009)

En humanos, los alcaloides generan respuestas fisiológicas y psicológicas la mayoría de ellas consecuencia de su interacción con neurotransmisores. A dosis altas, casi todos los alcaloides son muy tóxicos. Sin embargo, a dosis bajas tienen un alto valor terapéutico como relajantes musculares, tranquilizantes, antitusivos o analgésicos. Se sintetizan normalmente a partir de lisina, tirosina y triptófano, aunque algunos como la nicotina y compuestos relacionados derivan de la ornitina (Avalos & Perez, 2009)

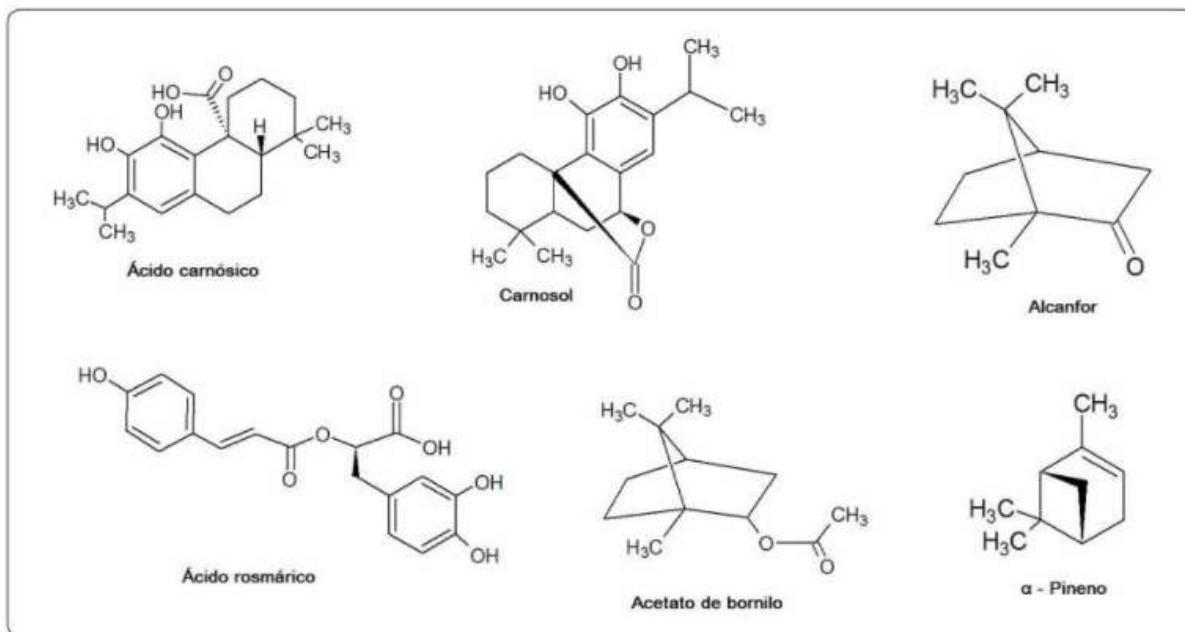
Metabolitos secundarios en la planta de romero.

Los componentes que confieren las propiedades farmacológicas del romero pueden agruparse en las categorías de flavonoides, terpenoides (monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos) y derivados hidroxicinámicos. (Flores, E., Saenz, A., Castañeda, A., & Narro, R., 2021).

En el romero se encuentran dos principales constituyentes activos: los flavonoides (como la diosmetina, diosmina, hispidulina, apigenina, luteolina y sinensetina, entre otros) y algunos metabolitos secundarios en los que se encuentran los triterpenoides (como la rosmariquinona, el ácido carnósico, ácido ursólico, ácido oleanólico y la picrosalvina, entre otros). Sus moléculas fenólicas pueden atrapar los radicales libres e incrementar de forma indirecta la producción de antioxidantes celulares endógenos. El romero posee alrededor de un 0.5-2.5% de aceite esencial, conformado en su mayor parte por 1,8-cineol, alcanfor, α -pineno, canfeno y borneol. El aceite esencial de mayor calidad es obtenido de sus hojas, donde se encuentra la mayoría de los tricomas glandulares que lo secretan. (Flores, Saenz, Castañeda, & Narro, 2021)

Se ha reportado que en los extractos de romero alrededor del 24% de las moléculas volátiles que contiene pertenecen a los terpenos (como la verbenona), acetato de bornilo, alcanfor y α/β cariofileno, se ha identificado una composición mayor de α -pineno, borneol y 1,8-cineol. Contiene rosmanol, isorosmanol, rosmadial y metil carnosato, moléculas con propiedad antioxidante. También se ha aislado la salvigenina y la cirsimaritina, así como alcoholes triterpénicos, ácido oleanólico, rosmaquinonas. Otros metabolitos de importancia encontrados son también el ácido ursólico y betulínico. (Flores, Saenz, Castañeda, & Narro, 2021)

Figura 25. Estructura molecular de los principales metabolitos secundarios presentes en la planta de romero.



Nota: (Flores, E., Saenz, A., Castañeda, A., & Narro, R., 2021).

Figura 26. Cuadro de los principales metabolitos en la planta de romero, actividad biológica y usos/ aplicaciones.

Metabolitos	Actividad biológica	Usos/aplicaciones
Ácido carnósico.	Antioxidante, antimicrobiana, hepatoprotectora, hipoglucémica, hipolipemiente, anticáncer, vasorrelajante, antiinflamatoria y antitumoral.	Control de la oxidación en los alimentos, conservador de alimentos preparados y como tónico en el alivio de la circulación.
Camosol.	Antioxidante, antimicrobiana, hepatoprotectora, hipoglucémica, hipolipemiente, anticáncer, vasorrelajante, antiproliferativa, antifúngica, antiinflamatoria y antidiabética.	Control de la oxidación en los alimentos, conservador de alimentos preparados, como tónico en la mejora de la circulación y como aditivo en el tratamiento de la caspa.
Ácido rosmárico.	Antioxidante, antimicrobiana, hepatoprotectora, hipoglucémica, hipolipemiente, anticáncer, neuroprotectora, antiproliferativa y antiviral.	Control de la oxidación en los alimentos y conservador de alimentos preparados.
Rosmaridifenol.	Antioxidante.	Control de la oxidación en los alimentos.
Ácido ursólico.	Antioxidante, citotóxica, anticancerígena, hipouricémico y proapoptótica.	Control de la oxidación en los alimentos y como tónico en el control del ácido úrico.
α -pineno.	Antimicrobiana, antiinflamatoria, antioxidante, antifúngica, antibacteriana, antiparasitaria, insecticida, hepatoprotectora, hipoglucémica, hipolipemiente y anticáncer.	Promotor del crecimiento e inmunestimulante en peces, control de plagas en la agricultura y como conservador de alimentos preparados.
β -pineno.	Antiparasitaria e insecticida.	Tratamiento de enfermedades parasitarias en peces, promotor del crecimiento e inmunestimulante en peces y en el control de plagas en la agricultura.
Acetato de bornilo.	Antimicrobiana, insecticida, antioxidante, hepatoprotectora, hipoglucémica, hipolipemiente, anticáncer y antifúngico.	Promotor del crecimiento e inmunestimulante en peces, control de plagas en la agricultura, así como en el control y tratamiento de la caspa.
Alcanfor.	Antimicrobiana, antiinflamatoria, antioxidante, insecticida, antimutagénica, hepatoprotectora, hipoglucémica, hipolipemiente, anticáncer, antifúngica, antiproliferativa e inmunomoduladora.	Promotor del crecimiento e inmunestimulante en peces, control de plagas en la agricultura y como conservador de alimentos preparados.
1,8-cineol.	Antimicrobiana, antiinflamatoria, antidepresiva, antioxidante, relajante muscular, hepatoprotectora, hipoglucémica, hipolipemiente, anticáncer, antiinflamatoria, antiviral, antinociceptiva, insecticida y antifúngico.	Tratamiento de enfermedades parasitarias en peces, promotor del crecimiento e inmunestimulante en peces, fumigante natural contra plagas, así como en el control y tratamiento de la caspa.

α -cariofileno.	Insecticida y antifúngico.	Control de plagas en la agricultura así como en el control y tratamiento de la caspa.
β -cariofileno.	Insecticida y antifúngico.	Control de plagas en la agricultura, así como en el control y tratamiento de la caspa.
Verbenona.	Insecticida y antioxidante.	Promotor del crecimiento e inmunoestimulante en peces y control de plagas en la agricultura.
Borneol.	Antifúngica y antioxidante.	Promotor del crecimiento e inmunoestimulante en peces, control de plagas en la agricultura, así como en el control y tratamiento de la caspa.
Rosmanol.	Antinociceptivo, ansiolítico, antidepresivo y anticancerígeno.	Como tónico en el tratamiento de la depresión y como analgésico para aliviar el dolor de cabeza.
Isorosmanol.	Antioxidante.	Conservador de alimentos preparados.
Rosmadial.	Antioxidante.	Conservador de alimentos preparados.
Metil camosato.	Antioxidante	Conservador de alimentos preparados.
Salvigenina.	Antinociceptiva, ansiolítica y antidepresiva.	Como tónico en el tratamiento de la depresión y como analgésico para aliviar el dolor de cabeza, garganta y estómago.
Cirsimaritina.	Antinociceptiva, ansiolítica y antidepresiva.	Como tónico en el tratamiento de la depresión y como analgésico para aliviar el dolor de cabeza, garganta y estómago.
Ácido oleanólico.	Antiviral, antitumoral, antioxidante y antiproliferativa.	Conservador de alimentos preparados y suplemento nutricional.
Rosmaquinona.	Antioxidante y antiinflamatoria.	Conservador de alimentos preparados.
Ácido betulínico.	Antioxidante.	Conservador de alimentos preparados.
Limoneno.	Anticancerígena y hepatoprotectora.	Como tónico coadyuvante en tratamientos del cáncer.
Mirceno.	Analgésica, antibacteriana y antioxidante.	Promotor del crecimiento e inmunoestimulante en peces.
Canfeno.	Antifúngica.	Promotor del crecimiento e inmunoestimulante en peces, así como en el control y tratamiento de la caspa.
Ácido cafeico.	Antibacteriana, antioxidante y antitumoral.	Control de la oxidación en alimentos y conservador de alimentos preparados.
α -terpineol.	Analgésica y antioxidante.	Como tónico en el alivio del dolor de cabeza, garganta y estómago.

Terpinoleno.	Antifúngica y antibacteriana.	Aditivo aromático en jabones y como tratamiento en el control de la caspa.
Galocatequina.	Antioxidante.	Control de la oxidación en alimentos y conservador de alimentos preparados.
P-cimeno.	Antioxidante.	Promotor del crecimiento e inmunoestimulante en peces.
Diosmina.	Antiinflamatoria.	Ayuda en el alivio de la circulación periférica.
Hispidulina.	Antioxidantes y antiinflamatorias.	Conservador de alimentos preparados.
Luteolina.	Antiinflamatoria, antimicrobiana y antiproliferativa.	Conservador de alimentos preparados.
Quercetina.	Antioxidante.	Control de la oxidación en alimentos y conservador de alimentos preparados.
Apigenina.	Antioxidante y antibacteriana.	Control de la oxidación en alimentos y conservador de alimentos preparados.
Ácido clorogénico.	Antioxidante, nefroprotectora y anti infecciosa.	Conservador de alimentos preparados.
Ácido p-cumárico.	Antibacteriana.	Conservador de alimentos preparados.
α -terpineno.	Antioxidante y antibacteriana.	Control de la oxidación en alimentos y conservador de alimentos preparados.
Geraniol.	Insecticida.	Fumigante natural en el control de plagas.
Timol.	Insecticida.	Fumigante natural en el control de plagas.
Sabineno.	Antifúngica e insecticida.	Fumigante natural en el control de plagas.
α -felandreno.	Antifúngica e insecticida.	Fumigante natural en el control de plagas.
Eugenol.	Acaricida, antifúngica, antiproliferativa, antiinflamatoria y antioxidante.	Conservador de alimentos preparados en el tratamiento y control de la caspa.
Carvacrol.	Insecticida.	Fumigante natural en el control de plagas.
δ -3-careno.	Insecticida.	Fumigante natural en el control de plagas.

Nota: (Flores, E., Sáenz, A., Castañeda, A., & Narro, R., 2021).

CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO

En este espacio se procede a explicar cuál es la metodología que será utilizada en la investigación, exponiendo de esta manera cuál corresponde al enfoque y el diseño de la investigación y los pasos correspondientes del procedimiento realizado, para así lograr dar con la resolución de dicho trabajo mediante la definición del tipo de información que se tomará en cuenta y de qué manera será recopilada dicha información, determinando también los criterios que van a definir la selectividad con la que se delimitará la información que será base para el correcto desarrollo de la investigación.

Enfoque de la investigación

En el libro de "Metodología de la investigación" y mediante la consulta de este, la presente investigación se ajusta a un enfoque mixto, ya que tal cual se explica este enfoque lo que hace es combinar tanto la parte cualitativa que corresponde a lo probabilístico y la parte cualitativa que es la parte propositivas, lo que permite generar una mejor y más amplia perspectiva del problema que se procede a investigar. (Hernández-Sampieri y Mendoza, 2008).

El objetivo de la metodología de investigación mixta no es sustituir los métodos cuantitativos y cualitativos, sino buscar la integración de las fortalezas de ambas y disminuir debilidades potenciales, tal como menciona Hernández-Sampieri en el año 2014. La actualidad lleva a las investigaciones a concretar las formulaciones epistemológicas generales en las que se fundamentan los métodos cualitativos, en propuestas metodológicamente más precisas y actuales, asumiendo que se está en un momento apasionante en la investigación cualitativa en el que se aprecia una clara tendencia también en el uso de la metodología mixta. (Gomez, 2015)

El proceso de investigación mixto implica una recolección, análisis e interpretación de datos cualitativos y cuantitativos que el investigador haya considerado necesarios para su estudio. Este método representa un proceso sistemático, empírico y crítico de la investigación, en donde la visión objetiva de la investigación cuantitativa y la subjetiva de la investigación cualitativa pueden fusionarse para dar respuesta a problemas humanos. (Ortega, 2018)

Diseño de la investigación

De acuerdo con Hernández et al, (2014), el diseño de investigación es “el plan o estrategia que se desarrolla para obtener la información que se requiere en una investigación y responde al planteamiento” (p.128). La metodología de este tipo mixto permite la recolección y análisis de investigación, tanto cualitativas como cuantitativas a partir del tema que se desea investigar, según el tiempo en que se proceda a la recolección de datos, llevando a un avance sustancial en el conocimiento a una mejor interpretación y discusión, integrando de la comparación de las bases de datos, tanto de la parte estadística como de la parte hipotética de la teoría fundamentada que afirme los descubrimientos realizados. El diseño de esta investigación se adapta y adopta este modelo con la finalidad de utilizar sus ventajas y la reducción de debilidades de ambos métodos (Hernández-Sampieri et al, 2014).

Según la adaptación que se da a partir de investigación y lectura del libro, el modelo de triangulación concurrente es el que mejor se acomoda a dicha investigación. A partir de esta metodología se pretende llevar a cabo un análisis de datos cuantitativos según la aplicación de métodos de extracción a dos diferentes muestras de la planta de romero que serán recolectadas en distintas condiciones, para analizar los metabolitos secundarios obtenidos generando así una base de resultados de manera que estos datos sirvan para estudios posteriores o para tomar en cuenta en caso de la necesidad de obtener extractos de la planta de romero. Por otra parte, se quiere también enfocar en llevar a cabo una investigación con respecto a las características y bases teóricas que fundamentan los extractos realizados de dicha planta para conocerla de manera más amplia y así atar cabos sueltos con respecto a los resultados que van a ser obtenidos en la práctica experimental de obtención de los extractos.

Fuentes de información

Se llevó a cabo una utilización de fuentes de información, algunas fuentes primarias que componen artículos científicos de algunas revistas confiables, indexadas, ya que eran las que tenían relación con la presentación del objeto de la investigación. Por otra parte, las fuentes secundarias que incluirán algunos artículos confiables, trabajos finales de graduación, bibliografías.

Muestra.

Por otra parte la capacidad operativa de recolección y análisis, el entendimiento del fenómeno, en el cual el número de casos permite dar respuesta a las preguntas de la investigación

y finalmente la naturaleza del fenómeno de análisis son puntos importante y accesibles para determinar si la recolección de información lleva mucho o poco tiempo para de esta manera establecer la estrategia de muestreo más adecuada que permita alcanzar los objetivos de la investigación, en la cual es imprescindible tomar en consideración los tres factores para determinar o sugerir el número de casos según el muestreo. (Baptista, Fernández y Hernández 2014).

Tomando en cuenta estos aspectos previamente analizados en el Libro de Metodología, se llega a la conclusión de que el tipo de muestreo es un muestreo secuencial para métodos mixtos, el cual se va a hacer según los recursos, materiales y recolección de plantas que se genere durante la realización de la práctica, de manera que la toma de las muestras será no probabilística.

Criterios de inclusión y exclusión.

Se realizará una investigación de tipo mixto, el cual engloba los campos cualitativos y cuantitativos. Para los criterios de inclusión las muestras serán únicamente tomadas de plantas de romero que se encuentren en edades maduras que permitan realizar procesos de extracción y análisis de sus metabolitos secundarios. Se incluirán todos aquellos artículos relacionados con el tema de la investigación, con amplitud de idiomas.

En los criterios de exclusión, se apartarán todas aquellas muestras que no sean la planta indicada, que no se encuentren en la edad vegetativa deseada, o que tengan algún tipo de limitación que no le permitan plantearse como muestra para la investigación. Con respecto a los artículos se excluirán aquellos que se encuentren lejos de llenar el objetivo planteado en esta investigación o que no presenten la debida confirmación de su validez.

Unidades de análisis

Cuadro 1. Operacionalización de categorías para datos cualitativos.

Objetivo	Categoría de análisis	Subcategoría	Definición conceptual	Instrumento
Llevar a cabo una revisión bibliográfica de la planta de romero, generalidades, componentes y beneficios que presenta en la salud humana.	Caracterización de las generalidades de la planta mediante una ficha técnica.	Componentes, propiedades, usos en la salud, dosis máxima beneficios, etc.	Revisión bibliográfica: recopilación de información más relevante sobre un tema específico.	Toma de información de artículos y revisiones bibliográficas del romero.
Efectuar los extractos de la planta de romero mediante los dos diferentes métodos de extracción en las muestras recolectadas.	Proceso de extracción.	Toma de muestras. Utilidad de métodos de extracción. Obtención de extractos.	Extracción en plantas: obtención de los componentes principales y metabolito secundarios de la materia que se analiza.	Utilización de los métodos de extracción seleccionados para llevarlos a cabo con las muestras de romero.
Evaluar el contenido de metabolitos secundarios característicos	Evaluación de los componentes principales y metabolitos	Obtención de componentes y metabolitos. Análisis de los componentes y	Obtención de metabolitos secundarios: se obtienen dichos componentes que	Utilización de sistemas de evaluación y equipo especializado

presentes en los extractos de la planta de romero y cuantificar el contenido de compuestos activos en cada uno de ellos según las condiciones en las que se encuentren.	secundarios obtenidos.	sus cuantificaciones. Comparación de condiciones y como afectan o benefician las propiedades del aceite.	son compuestos químicos sintetizados a partir de componentes primarios, a partir de los distintos métodos de extracción.	para medir componentes activos de los extractos obtenidos.
---	------------------------	--	--	--

Fuente: Elaboración propia (2021)

Cuadro 2. Operacionalización de variables para datos cuantitativos.

Objetivo	Variable	Indicador	Definición conceptual	Definición operacional
Efectuar los extractos de la planta de romero mediante los dos diferentes métodos de extracción en las muestras recolectadas.	Realizar el proceso de extracción.	Obtención de cantidad justas de los extractos para proceder al análisis.	Extracción en plantas: obtención de los componentes principales y metabolito secundarios de la materia que se analiza.	Mediante métodos se lleva a cabo todo el proceso de extracción y obtención del aceite esencial del romero.
Evaluar el contenido de metabolitos secundarios característicos presentes en los extractos de la planta de romero y cuantificar el contenido de compuestos activos en cada uno de ellos según las condiciones en las que se encuentren.	Evaluación y cuantificación de los componentes activos y metabolitos secundarios.	Porcentajes y cantidades de cada componente para lograr una comparación.	Obtención de metabolitos secundarios: se obtienen dichos componentes que son compuestos químicos sintetizados a partir de componentes primarios, con los distintos métodos de extracción.	Análisis de los porcentajes y contenidos que fueron obtenidos en el proceso de extracción mediante una técnica de laboratorio.

Fuente: Elaboración propia (2021)

Instrumento.

Gracias al desarrollo de los métodos mixtos y la ahora posibilidad de hacer compatibles los programas de análisis cuantitativo y cualitativo, muchos de los datos recolectados por los instrumentos pueden ser variables, destacando la observación y los registros históricos y documentados.

Para dicha investigación se implementará principalmente, el método de observación como instrumento, tanto para la parte cualitativa como la para la parte cuantitativa, de manera que esta será sistematizada y lógica para muchas técnicas del proceso de investigación y consigo a esto la obtención de información sea estrictamente de calidad. De esta manera es empleado de modo simultáneo como una herramienta de recolección de datos mediante el registro visual, donde requiere que una persona que estudia el fenómeno y contemplan elementos de teoría (Campos y Lule, 2012)

Recolección de análisis de datos

Recolección de datos.

Para este apartado se tomarán en cuenta, principalmente, los objetivos que han sido ya definidos en la investigación y el método de resolución de cada uno de ellos. Con base en la muestra definida y a los objetivos ya mencionados, se determina a que es a lo que se desea llegar con dicha investigación para así definir las distintas variables que delimitarán el estudio y ampliar también la parte de generalidades bibliográficas que serán la base de datos para la parte práctica. Seguido de esto se procederá a realizar los procesos de extracción de las muestras de la planta de romero según la utilización de los distintos métodos de extracción escogidos y fuentes de información ya consultadas, llevando a los resultados y datos que posteriormente se analizarán.

Dicho proceso será realizado en la Universidad Internacional de las Américas en un lapso determinado para lograr generar una comparación entre los métodos de extracción utilizados, y las distintas muestras por recolectar, de manera que se logre analizar los componentes obtenidos de dichos extractos con la utilización de distintas herramientas y ayuda de equipos experimentales que justifiquen los resultados obtenidos y los validen como correctos.

La obtención de cada uno de los datos o resultados obtenidos irá de acuerdo con los objetivos específicos ya planteados al inicio de esta investigación y anteriormente explicado en el Cuadro 1. De esta manera, gracias a la búsqueda exhaustiva de artículos, fuentes y también las distintos procesos e instrumentos de extracción se dará la obtención de los datos y resultados, tanto teóricos como cuantitativos.

Dichas pruebas a realizar deben ajustarse a los horarios de los laboratorios de la Universidad Internacional de las Américas, así mismo a los horarios del estudiante encargado y tutor, después de una correcta negociación de horarios y obtención de los resultados se procederá a realizar el trabajo final con los aspectos que requiera dicha investigación.

Análisis de datos.

Para el análisis de los datos se pretende ir consecutiva y ordenadamente cumpliendo cada uno de los objetivos planteados con el tiempo, teniendo un periodo que va desde enero hasta marzo del año 2022 para realizar los procesos de extracción en la Universidad Internacional de las Américas y llevar a cabo análisis y cuantificación en el CIPRONA, UCR. Mediante los instrumentos utilizados se logrará también llevar a cabo las extracciones de los principales componentes y metabolitos secundarios de la planta de romero según las distintas muestras de dicha planta que serán debidamente escogidas, no probabilísticas que se ajusten a las muestras deseadas para la investigación y así de esta manera poder obtener los aceites esenciales deseados.

Los datos ya obtenidos de cada uno de los extractos previamente tratados con la instrumentación y cristalería de procesos, se someterán a distintas pruebas de revisión y análisis en las cuales diferentes instrumentos ayudarán a cuantificar y evaluar las composiciones químicas de cada extracto, dentro de estos instrumentos se pueden encontrar pruebas de identificación de grupos funcionales, GC-MS y otros, también mediante distintos medios de representación como lo son cuadros, figuras y gráficos se logrará una mejor comprensión de los datos y resultados obtenidos, la clasificación de la relevancia de estos y el correcto análisis que compruebe y justifique los otros estudios consultados para la base de este trabajo de investigación.

Instrumentos, materiales, reactivos, equipos y procedimiento utilizado para llevar a cabo la extracción del aceite esencial de romero por ambos métodos y pruebas funcionales requeridas.

En este apartado se describirán detalladamente todos los materiales, cristalería y equipo necesario para llevar a cabo esta investigación que fue realizada en los laboratorios de la Universidad Internacional de las Américas.

Recolección de las muestras.

El primer paso realizado fue la recolección de las muestras correspondientes, de manera que fueron tomadas dos muestras distintas, una de ellas ubicada en Los Ángeles de Grecia, esta se encontraba al aire libre, en un patio de una casa familiar, rodeada de otras plantas, mientras que la otra muestra fue tomada de Los Bajos del Toro, Sarchí, esta se encontraba en una maceta al aire libre. Ambas muestras fueron recolectadas el 01/02/2022. Ambas plantas tenían entre 3 y 4 años de vida, desde el momento de su plantación.

Figura 27. Planta tomada de Bajos del Toro, Sarchí.



Nota:(Elaboración propia)

Figura 28. Planta tomada de Los Ángeles de Grecia.



Nota: (Elaboración propia)

Fraccionamiento de las muestras de romero.

Materiales y equipo

- Tijeras
- 2 beakers de 2000 ml
- Colador
- Rotuladores
- Espátulas
- Agua

Después de la recolección de las plantas mediante la toma de las ramas, aproximadamente 20 ramas de cada muestra, estas se llevaron a los laboratorios de la universidad y se deshojaron por

completo, se lavaron las hojas con un colador para escurrir el agua, de manera que se fueron colocando en un beaker de 2L donde también se dejaron reposar en agua unos 5 minutos y se lavaron nuevamente. Ya secas correctamente con servilletas de papel se dejaron separadas en dos beakers distintos y rotulados de manera que se lograrán identificar para montar el equipo y lograr llevar a cabo las extracciones por ambos métodos.

Figura 29. Muestras listas para el deshoje, Bajos del Toro a la izquierda y Grecia a la derecha.



Nota: (Elaboración propia)

Figura 30. Proceso de lavado de las muestras.



Nota: (Elaboración propia)

Procedimiento de extracción de arrastre por vapor.

Materiales, reactivos y equipo.

- Plantillas de agitación y calor
- Balones de 500 ml
- Prensas universales
- Balones de tres boquillas
- Termómetros
- Mangueras
- Condensador
- Refrigerante
- Espátulas
- Tubo destilador
- Codos de destilación
- Soportes
- Beakers recolectores
- Muestras de romero
- Agua destilada
- Éter etílico

Para empezar el proceso se instaló todo el equipo de destilación de arrastre por vapor, cuando ya se tenían montados dos sistemas de extracción, uno para cada muestra, se colocaron la muestra de Grecia en uno y la de Bajos del Toro en otra, para cada una se colocó la mitad del balón con la muestra sin que quedara demasiado apretada y luego se llenó el balón donde estaba la muestra con agua hasta cubrir la muestra, de esta manera se empezó a esperar hasta que las primeras gotas de extracto empezaron a salir por la boquilla del final hacia el beaker recolector.

Se esperaron alrededor de 4 horas y media para lograr obtener las primeras gotas de extracto y así seguir esperando hasta obtener el total del extracto para ambas muestras, que fue alrededor de las 6 pm, unas casi 7 horas después de empezado el proceso, cuando ya se detuvo el proceso de

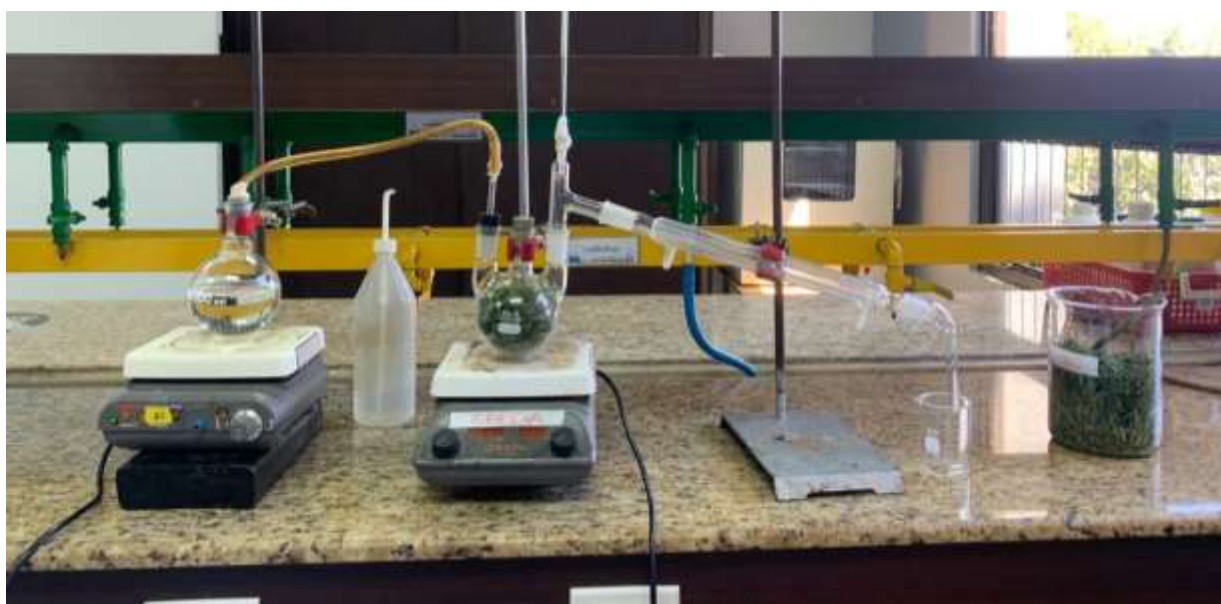
destilación con arrastre por vapor se obtuvo así dos extractos que seguidamente se iban purificar para obtener el aceite esencial de romero puro.

Figura 31. Equipo a utilizar para el arrastre por vapor



Nota: (Elaboración propia)

Figura 32. Equipo de arrastre por vapor con la muestra de Grecia.



Nota: (Elaboración propia)

Figura 33. Muestra de Grecia al final de la extracción.



Nota: (Elaboración propia)

Procedimiento de separación de fases de los extractos obtenidos por arrastre.

Materiales y equipo.

- Soportes universales
- Prensas
- Embudos separadores
- Probeta de 100 ml
- Beakers recolectores
- Envases para las muestras finales
- Agua destilada
- Muestras de romero
- Éter etílico

Cuando ya se obtuvieron las muestras de ambos extractos por la destilación, estos se pasaron cada uno a un embudo separador por aparte y se lavaron las muestras con 25 ml de éter etílico (ya que este es más afín a la muestra de aceite esencial de romero), de manera que se eliminaba el residuo de éter y se recolectaba la parte oleosa. Esto se realiza porque del arrastre por

vapor se obtiene la muestra con mucha agua, por tanto, estas se lavaron con el éter para obtener la mayor cantidad de aceite esencial puro. Este proceso se repitió 3 veces seguidas y luego la parte oleosa se transfirió a unos pequeños envases rotulados y sellados, de manera que se dejaron reposar para que se evaporara la mayor cantidad de éter etílico y se procediera a secar los restos de este éter en el siguiente apartado.

Figura 34. Eliminación de la fase acuosa (éter) mediante separación de fases.



Nota: (Elaboración propia)

Figura 35. Beakers con la fase acuosa y oleosa, tanto Grecia como Bajos del Toro.



Nota: (Elaboración propia)

Procedimiento de extracción por maceración.

Materiales y equipo.

- Tabla de picar
- Cuchillo
- Espátulas
- 2 botellas grandes de ámbar
- Probeta de 100 ml
- Éter etílico

De lo que sobró de las plantas de ambos lugares se tomaron dos muestras de 50 gramos aproximadamente y se cortaron en una tabla de picar finamente, después de esto se colocaron en las botellas ámbar previamente lavadas y rotuladas y después se añadió éter etílico en ambas botellas hasta tapar la muestra. De esta manera se cerraron y se dejaron reposar por 7 días exactos para que haya el contacto entre la muestra y el solvente, para que de esta manera al abrirlas nuevamente se pudiera obtener el extracto de romero por este método y el aceite esencial deseado.

Figura 36. Picado de la muestra de Bajos del toro.



Nota: (Elaboración propia)

Procedimiento de secado y concentración del extracto obtenido por arrastre por vapor para la obtención del aceite esencial.

Materiales y equipo

- Muestras de romero ya separadas
- Espátulas
- Removedores
- Termómetro
- Plantilla de calentamiento y agitación
- Envase de aluminio para baño maría
- Beakers de 200 ml
- Sulfato de sodio anhidro
- Capilla
- Agua

Para este procedimiento, primeramente se tomaron las muestras que se habían guardado después de la separación de fases, se toma nuevamente la fase oleosa, y se procede a secar el éter restante, ya que se sabe que por buena que sea la destilación siempre habrá restos de agua y también del éter que se quiere secar, por lo tanto, primero en los envases donde estaba cada una se colocaron 3 puntas de espátulas de sulfato de sodio anhidro, esto para secar el éter y el agua que aun residía en las muestras, se agitó con un agitador y se decantó el sulfato de manera que quedara lo sólido separado del líquido.

Se pasaron las muestras líquidas a dos beakers pequeños en donde residía el aceite y aún un poco de residuos de otros componentes. Por esta razón lo que queda de éter va a ser evaporado en un baño maría midiendo la temperatura para cumplir los 34,6 grados centígrados de ebullición del éter, esto para ambas muestras, se hace en la capilla porque este es relativamente tóxico e inflamable porque lo que se pretende evitar el contacto con dicho compuesto. Cuando este éter estaba casi todo evaporado, se pasaron las muestras a los recipientes oficiales para el aceite, esto con el sentido de que cuando quede el aceite puro ya se encuentre en su recipiente oficial y no haya pérdidas a la hora del traspaso. Ya obtenido este aceite de Grecia y de Bajos del Toro, de cada uno de ellos se sacó una muestra en otros dos recipientes rotulados y preparados para el mismo aceite, esto porque las primeras muestras se enviaron a CIPRONA para la realización de la cuantificación de los componentes por medio del método de cromatografía de gases acoplado a espectrofotometría de masas (GC-MS), y estas otras que fueron tomadas de esas mismas muestras se utilizaron para realización de pruebas de caracterización de grupos funcionales que serán explicadas más adelante.

El proceso de GC-MS se llevó a cabo en los laboratorios de CIPRONA, para las dos muestras, tanto de Grecia como Bajos del Toro obtenidas por arrastre por vapor. Las muestras fueron empaquetadas y llevadas a las instalaciones con los formularios correspondientes. Acá se llevó a cabo el proceso de análisis completo y a los 15 días después se obtuvo ya un reporte detallado de los resultados obtenidos. Dicho proceso tuvo un costo adicional y se decidieron llevar únicamente las muestras obtenidas por arrastre por vapor a causa de que esta se considera la mejor técnica para la extracción de este aceite según la literatura, por lo que se esperaban mejores resultados, y también por el alto costo de las pruebas y la limitación monetaria solo fue posible llevar estas dos muestras a cuantificar.

Figura 37. Muestras después de la decantación del sulfato.



Nota: (Elaboración propia)

Figura 38. Proceso de evaporación del éter en la capilla, para ambas muestras.



Nota: (Elaboración propia)

Procedimiento de secado y concentración del extracto obtenido a partir de la técnica de maceración.

Materiales y equipo.

- Muestras de maceración
- Erlenmeyer 1 L
- Equipo de filtración al vacío
- Espátulas
- Sulfato de sodio

Para este proceso, primeramente, se abrieron las muestras de maceración, tanto de Grecia como de los Bajos del Toro, que llevaban una semana de estar en reposo y contacto con su solvente. Se sacó la parte líquida de los envases de ámbar y se llevó a filtración al vacío para obtener la mezcla líquida lo más libre de partículas posible. Después de esto este líquido que aún contenía mucho éter, fue tratado con sulfato de sodio anhidro para lograr secar el éter lo más posible, de manera de que después de unos minutos y agitación constante el sulfato se adhiere en el fondo del envase y se obtiene la muestra líquida con aún menos éter en un beaker rotulado para cada muestra, después de esto se envasan para la pronta realización de pruebas de caracterización.

Figura 39. Muestras de maceración al cabo de una semana, listas para su purificación.



Nota: (Elaboración propia)

Pruebas de identificación para metabolitos secundarios funcionales, equipo, materiales, reactivos y procedimiento

Material y equipo.

- Muestras de romero
- Prensas para tubos de ensayo
- Tubos de ensayo
- Plantillas
- Espátulas
- Termómetros
- Envase aluminio
- Goteros
- Etanol
- Agua
- Reactivo Lieberman-Burchard

- Cloroformo
- Ácido clorhídrico
- Anhidro acético
- Éter etílico
- Magnesio metal

En este apartado se describirán las pruebas que se le realizaron a las 4 muestras finales, las cuales correspondían a 2 muestras de Grecia, una obtenida con arrastre por vapor y una por maceración, y otras 2 muestras, pero de Bajos del Toro, una de ellas obtenida por arrastre por vapor y la otra por maceración. Dichas pruebas fueron realizadas como un complemento al análisis por GC-MS, para determinar en el laboratorio de la UIA la presencia o ausencia de los grupos funcionales más importantes en las muestras de aceite esencial de romero, especialmente en las de maceración que no fueron llevadas al CIPRONA.

Se describirán los equipos, reactivos, materiales utilizados y también la metodología de cada una de las pruebas realizadas. Para la realización de dichas pruebas se tomaron muestras de cada una de las cuatro muestras en tubo de ensayo y en baño maría se evaporó el éter lo más posible para que quedara el aceite esencial lo más puro que se pudiera. Seguido de esto se realizaron cada una de las tres pruebas a las cuatro muestras.

Prueba de Shinoda (Flavonoides)

En esta prueba se toma 1 ml de la muestra ya con el solvente evaporado, se le añaden seguidamente una punta pequeña de espátula de trozos de magnesio sólido y por último, se agrega unas 5 gotas de HCl concentrado con cuidado. Se agrega un poco de etanol a las muestras como solvente. La prueba es positiva si se obtiene una coloración amarilla/naranja/rojo.

Figura 40. Muestras de Grecia y Bajos del toro durante la realización de Shinoda



Nota: (Elaboración propia)

Figura 41. Muestra de Grecia donde se observa la reacción exotérmica al agregar el magnesio.



Nota: (Elaboración propia)

Prueba de Lieberman-Burchard (LB) (triterpenos y esteroides)

Para esta prueba se disuelve la muestra del extracto en 1 ml de cloroformo en un tubo de ensayo, después de esto y por aparte se colocan 3 gotas de ácido sulfúrico en 1 ml de anhídrido acético, después se hace la mezcla de ambos. Una prueba positiva arroja una coloración verde/azul.

Figura 42. Muestras de ambos lugares durante la realización de LB.

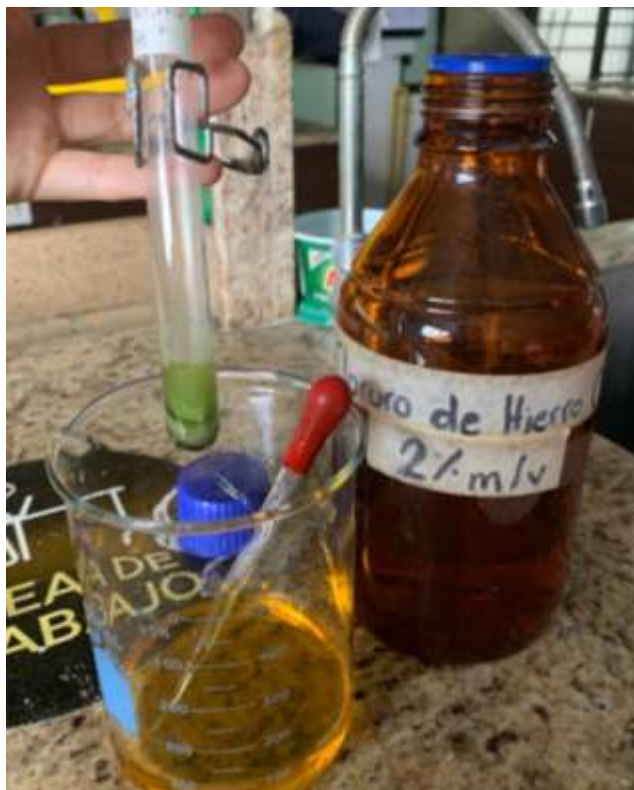


Nota: (Elaboración propia)

Prueba de cloruro férrico. (Fenoles)

El procedimiento de esta prueba consiste en colocar unas 5 gotas del reactivo que ya se encontraba listo a la muestra del extracto en un tubo de ensayo. Un resultado positivo sería una coloración verde o azul pardo.

Figura 43. Muestras de ambos lugares durante la realización de prueba de cloruro férrico.



Nota: (Elaboración propia)

CAPÍTULO IV: ANÁLISIS DE RESULTADOS

Para lo que respecta a este apartado, se expondrán los resultados obtenidos durante todo el desarrollo, tanto bibliográfico como experimental que conlleva esta investigación, de manera que se irán explicando cada uno de ellos, relacionándolos directamente con los objetivos específicos que se plantearon al inicio del proyecto, buscando así responder a dichos objetivos, discutiendo y analizando la información obtenida para así lograr saldar la pregunta anteriormente plantada y cumplir con las necesidades de este trabajo de investigación.

Primeramente, en el primer objetivo se quería sintetizar una revisión bibliográfica puntual, sobre la información más relevante sobre la planta de romero y su relación directa con sus usos a nivel del área de la salud y la farmacia como tal. Por lo tanto, se procedió a indagar minuciosamente sobre estos aspectos y de esta manera se consideró que realizar una ficha técnica/ para exponer la información requerida. Esta ficha, presenta los principales aspectos y características sobre la planta de romero, de esta manera se permitiría un acceso rápido y resumido sobre información básica y el uso de esta planta a nivel terapéutico, para que quien quisiera sacar provecho de esta planta pudiera utilizar este material como un método informativo calificado, y tener acceso a los puntos más importantes y críticos sobre esta planta medicinal, los cuidados que hay contemplar y la trascendencia que presenta en la salud humana.

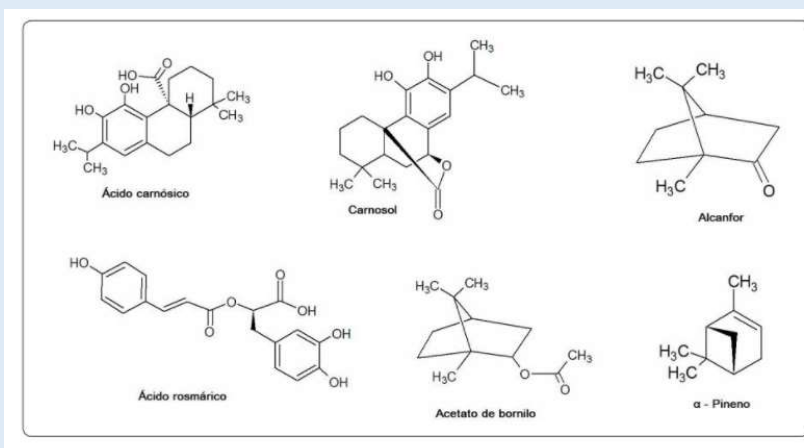
Tabla 3. Ficha técnica/informativa de la planta de romero.

FICHA TÉCNICA: PLANTA DE ROMERO (<i>SAVIA ROSMARINUS L.</i>)	
TAXONOMÍA	<ul style="list-style-type: none"> • Reino: Plantae • División: Magnoliophyta • Clase: Magnoliopsida • Familia: Lamiaceae • Especie: <i>Savia rosmarinus L.</i> <p>(Vazquez, 2019)</p>
CARACTERÍSTICAS Y APARIENCIA	Es una hierba leñosa, erecta con un poco más de un metro de altura.

	<p>Sus hojas son lineares color verde que nacen directamente del tallo, sus flores son azuladas-violeta y nacen en ramilletes. (Vazquez, 2019)</p>  <p>(Divina, 2010)</p>
<p>HABITAT Y CONDICIONES QUE LE FAVORECEN</p>	<p>Originaria del Mediterráneo. Crece en suelos moderadamente húmedos de bosque, se adapta a baja fertilidad. Necesita alrededor de 6 horas del sol al día. Se ubica en altitudes menores a 1500 msnm, tolera bien ambientes fríos hasta 10 grados bajo cero. (Vázquez, 2019)</p>
<p>PARTES QUE SE USAN</p>	<p>Sus metabolitos secundarios se encuentran en casi todas las partes de la planta como hojas, tallos, flores y raíces, pero definitivamente la parte más utilizada y con más concentración de componentes importantes son las hojas. (Flores, Saenz, Castañeda, & Narro, 2021)</p>
<p>COMPOSICIÓN QUÍMICA</p>	<p>Esta planta medicinal al igual que muchas otras, presenta una inmensa cantidad de componentes ricos, sin embargo, en esta área se comentarán e ilustrarán las principales moléculas con funciones importantes a nivel de salud:</p> <ul style="list-style-type: none"> • α-pineno

- β -pineno
- β - mirceno
- canfeno
- borneol
- acetato de bornilo
- 1,8-cineol
- alcanfor
- linalol
- carnosol
- verbenona
- ácido rosmarínico
- ácido carnósico
- ácido ursólico
- ácido oleanólico
- ácido butilínico

(Avila Sosa, y otros, 2012)



(Flores, E., Saenz, A., Castañeda, A., & Narro, R., 2021).

PRINCIPALES MÉTODOS DE ADMINISTRACIÓN

- Romero en polvo para disolver
- Aceite esencial
- Infusión
- Shampoo
- Jabón

	<ul style="list-style-type: none"> • Hojas frescas <p>(Gabriel, 2018)</p>
<p>USOS COMO TRATAMIENTO EN LA SALUD HUMANA</p>	<p>Se utiliza principalmente para:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Asma bronquial • Antiviral • Antioxidante • En cáncer, por sus efectos en el crecimiento celular • Epilepsia • Cólicos menstruales • Malestar gastrointestinal • Cólicos biliares y renales • Anomalías circulatorias, antiplaquetario • Antiespasmódico • Diurético • Potenciador de la memoria, concentración y aprendizaje • Tratamiento de enfermedades inflamatorias • Dolor de garganta • Desórdenes de la piel • Control de la caspa • Control de la caída del cabello • Tratamiento en diabéticos <p>(Avila Sosa, y otros, 2012)</p>
<p>OTROS USOS</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Industria alimenticia: como antioxidante, preservante • Industria cosmética: shampoos, cremas, jabones, enjuagues bucales, cremas de dientes. • Industria agrícola: por su poder repelente se utiliza para el cuidado de los cultivos. <p>(Vazquez, 2019)</p>
<p>DOSIS MÁXIMA</p>	<p>Las dosis recomendadas de romero son de 4 a 6 gramos de hojas secas diariamente y de 2 a 4 ml de extracto líquido 3 veces al día.</p>

	(Hill D,2016).
CONTRAINDICACIONES	<p>No se recomienda en:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Tosferina • Heridas abiertas de la piel • Fiebre alta • Parkinson • Úlceras intestinales • Intestino irritable • Insuficiencia cardiaca • En personas convalecientes, puede ocasionar dolores de cabeza, vómitos o irritación intestinal, en dosis muy altas puede causar convulsiones • No administrar en estado de gestación, niños pequeños, madres lactantes. • Alergias a alguno de sus componentes. <p>(Vazquez, 2019)</p>

Nota: (Elaboración propia, 2022)

Con respecto al segundo objetivo, el cual exponía el efectuar los extractos de las muestras recolectadas mediante los métodos de extracción de arrastre por vapor y maceración, de manera que fueron realizados ambos en los laboratorios de la Universidad Internacional de las Américas, obteniendo así los 4 aceites esenciales finales.

Primeramente, con las muestras que ya habían sido recolectadas, colocándolas en dos envases distintos rotulados, uno para la muestra de Grecia y el otro para la muestra de los Bajos del Toro, cuando ya se tenían las hojas completamente secas e identificadas para cada lugar, se procedió a llevar a cabo la obtención del aceite esencial para cada muestra por ambos métodos.

Extracción de arrastre por vapor

Para este proceso, se tomó tanto de la muestra de Grecia como la muestra de Bajos del Toro, ya que se pretendía realizar todo el proceso de extracción para lograr generar el aceite esencial proveniente de ambas, y llevar a cabo una comparación entre ellas más adelante.

Primeramente, se tomaron las muestras recolectadas hacía no más de 24 horas, es importante resaltar como lo menciona Patiño y otros en el 2014, que las hierbas, hojas y flores de una planta medicinal entre el periodo del corte de las muestras y su almacenamiento se suelen degradar, por lo que es necesario un periodo corto entre la recolección y el inicio del proceso. Para la mejor extracción del aceite esencial es necesario que el intervalo de tiempo entre el proceso de recolección y el proceso de obtención del aceite sea de diez a treinta horas.

A las muestra ya recolectadas se empezaron a retirar y desechar las hojas dañadas o en mal estado, luego se tomaron las que estaban en buen estado y se lavaron adecuada y cuidadosamente, para proceder a secarlas con servilletas de papel, para retirar la mayor cantidad de humedad posible, ya que se conoce por medio de la literatura que una incorrecta forma de secado puede llegar a aumentar aún más la cantidad de productos de degradación sin valor terapéutico, perdiendo así el principio activo parte de su calidad. (Patiño, Saavedra, & Martinez, 2014). Cuando ya estaban lista se colocaron en sus respectivos envases rotulados para así lograr diferenciar las muestras.

Figura 44. Proceso de deshoje de las muestras.



Nota: (Elaboración propia, 2022)

Figura 45. Muestras de romero ya deshojadas, lavadas e identificadas.



Nota: (Elaboración propia, 2022)

Después, se montaron los equipos de arrastre por vapor, técnica escogida por su funcionamiento especializado en aceites esenciales volátiles, que consiste en un proceso en el cual

el vapor de agua se introduce al extractor por la parte inferior; y una vez ya se haya establecido un equilibrio, el vapor forma en el aceite esencial de la planta vegetal, un sistema no miscible, de manera que dicho aceite esencial se calienta por medio del vapor de agua proveniente de la caldera y es desalojado del tejido vegetal mezclándose con el vapor del agua, por último, la mezcla de vapor de aceite esencial se hace pasar por una superficie fría en donde se condensa obteniéndose en forma líquida, tal como lo mencionan Patiño, Saavedra, & Martínez en el año 2014. Se debe tomar en cuenta lo que exponen en el Manual de Laboratorios 2018, sobre el control de la temperatura, durante el proceso, ya que controlar la cantidad de vapor necesario para realizar la extracción puede ser imprescindible para obtener un mejor resultado, si se utiliza una cantidad muy grande, esta se condensará al final del proceso y puede generar que no se evidencie una separación física clara de las fases, dificultando la posterior extracción del aceite esencial.

Ya entendiendo el funcionamiento del proceso se empieza a armar el equipo con cada una de sus partes correspondientes, colocando las plantillas en sus lugares correctos, el termómetro, el sistema de enfriamiento con agua y botellas de hielo, las cuales se estaban cambiando cada cierto tiempo por nuevas botellas durante el proceso para que hubiera un enfriamiento constante, seguidamente se colocaron las muestras de Grecia y Bajos del Toro en los balones de tres boquillas que van en el centro del sistema cubriendo así la muestra con agua, se utiliza agua, ya que aunque en otros experimentos se utilizan alcoholes, se toma en cuenta que la temperatura tan baja a la que hierve el alcohol, en comparación con la de ebullición del agua, da lugar a una gran pérdida de esencia, por no ser suficiente el calor para desprenderla por completo de planta. (Patiño, Saavedra, & Martinez, 2014). Con respecto a la cantidad de muestra colocada en el balón, fueron de 100,2130 g de la muestra de Grecia y 100,9510 g en la muestra de Bajos del Toro.

Después de que ya se tenía todo el equipo con la muestra lista, se empezó a llevar a cabo el proceso de la destilación de arrastre por vapor, el cual, para la obtención de aceites esenciales, suele ser bastante lento. Efectivamente la primera gota se obtuvo alrededor de 4 horas después del inicio del proceso siendo de la muestra de Grecia, y esto se da por que como lo mencionan en el Manual de Laboratorios de plantas aromáticas en el año 2018, las destilaciones por arrastre de vapor suelen durar usualmente entre 3, 4 o más horas, según la hierba que se trate, y se obtiene de ellas muy poca cantidad de esencia, esto se debe a que el contenido en aceites de las plantas es bajo, y por

ello es necesario destilar abundante cantidad de hierbas para obtener un volumen que justifique el gasto de destilación. Los rendimientos suelen ser menores al 1%.

Con el paso del tiempo y alrededor de unas 6-7 horas después de iniciado, se concluyó el proceso de extracción para ambas muestras, ya que se había obtenido para entonces la mayor cantidad posible de extracto, para ese momento, ya no salían más gotas, por lo que se detuvo el proceso y se prosiguió con la obtención del aceite esencial. El material final de la planta se puede observar en la **Figura 47**, en la cual se logra ver bastante deteriorada la muestra, ya que como lo dicen Patiño, Saavedra, & Martínez en el año 2014 para el momento de la extracción es normal que las células vegetales empiecen a marchitarse y dañarse por las altas temperaturas y la interrupción en su transpiración dándole un aspecto más oscuro y marchitado.

Figura 46. Procesos de arrastre por vapor de Bajos del Toro al inicio.



Nota: (Elaboración propia, 2022)

Figura 47. Aspecto de la muestra final de Bajos del Toro.



Nota: (Elaboración propia, 2022)

Al finalizar el proceso de extracción, se notó que el extracto de Grecia a pesar de ser mucha más cantidad se encontraba más diluido, por lo que el color era mucho más transparente y se veía menos aceitoso o viscoso, mientras que la muestra de Bajos del Toro, a pesar de ser menos cantidad de extracto se notaba más concentrada y viscosa, y presentaba un color notoriamente amarillento.

Figura 48. Muestra del extracto final de Grecia.



Nota: (Elaboración propia, 2022)

Figura 49. Muestras de ambos extractos finales del proceso de arrastre por vapor, en los embudos separadores.



Nota: (Elaboración propia, 2022)

Seguidamente y cuando ya se tenían ambos extractos listos después del arrastre, se colocaron en embudos separadores para notar lo más posible la diferencia de las fases; sin embargo, está claro que aún en estas muestras existía una gran cantidad de agua y de humedad, por lo que se procedió a quitar esa agua con lavados de éter etílico, el cual es el solvente seleccionado para el romero, haciendo así 3 lavados de 25 mL de éter, en los cuales se colocaba el éter, se agitaba para mezclar y luego se colocaba en la prensa para que se sentara y se observaran mejor la fase acuosa y la oleosa, descartando así la fase acuosa y continuando con otro lavado hasta cumplir los 3 (**Figura 51**). Para el final de estos lavados se obtuvieron los extractos, ya con solo la fase oleosa para seguir con el proceso.

Figura 50. Procesos de lavado de las muestras con éter etílico.



Nota: (Elaboración propia, 2022)

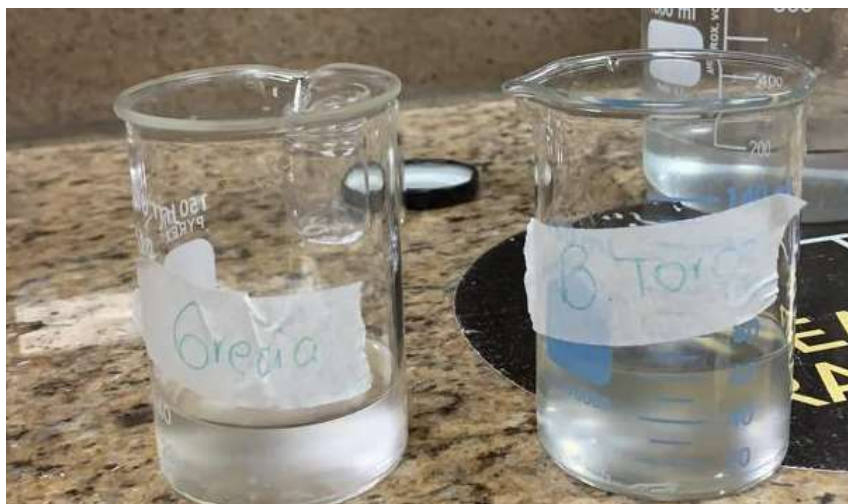
Figura 51. Separación de la fase oleosa y acuosa de las muestras de romero.



Nota: (Elaboración propia, 2022)

En la **Figura 52.** se logra observar lo anteriormente explicado con respecto a la cantidad obtenida al final del proceso de arrastre, a pesar de que la muestra de Grecia era de más volumen al finalizar el proceso de arrastre por vapor, es notorio que ya después de los lavados realizados con el éter, la muestra de Grecia disminuye su volumen y pasa a ser la que tiene menos cantidad, evidenciando que al inicio se veía más muestra, pero estaba menos concentrada de aceite, ya que presentaba mayor cantidad de agua, agua que fue secada al realizar los lavados por lo que se lograba observar menor cantidad de volumen en ella. Mientras que la muestra de Bajos del Toro se puede observar en misma esta imagen con un volumen mayor, esto a causa de que a pesar de que efectivamente disminuyó su cantidad comparándola con la muestra antes de los lavados de éter, la disminución no es tan considerable, ya que la muestra tenía más concentración oleosa, se encontraba más aceite en esta por lo que perdió menos volumen. Ambas muestras eran de un color transparente, pero la muestra de Bajos del oro era ligeramente más turbia/ amarillenta.

Figura 52. Extractos finales obtenidos del proceso de arrastre por vapor.



Nota: (Elaboración propia, 2022)

A pesar de que las muestras en este momento contienen el aceite esencial en los frascos, los lavados que se realizaron con éter hacen que aun hayan pequeñas cantidades de este disolvente orgánico en el aceite, y a pesar de que en los lavados la fase acuosa fue eliminada, no es posible eliminar por completo el éter de las muestras sin perder el aceite esencial, de esta manera se buscó un método por el cual se pudiera eliminar este éter lo mayormente posible, y que así quedaran los aceites esenciales correspondientes a ambos lugares, lo más puro posibles para su análisis.

Por lo tanto, se procedió primeramente a utilizar sulfato de sodio anhidro para eliminar el agua mediante el secado de las fases restantes, se seleccionó esta sal, ya que como lo menciona Kataleya en el 2014, el sulfato de sodio anhidro(polvo) tiene propiedades higroscópicas (propiedad que presenta la capacidad de algunas sustancias de absorber humedad de un medio específico) y por lo tanto, es utilizado ampliamente como desecante en el laboratorio o las industria químicas, conociendo dicha información sobre el sulfato de sodio anhidro, se adicionó la sal desecante a cada una de las muestras con agitación hasta lograr el secado del aceite esencial, después de esto se decantó el aceite y se eliminó la muestra sólida que arrastró los desechos. Como segundo y último paso de obtención del aceite esencial. Finalmente se procede a terminar de eliminar la mínima cantidad de éter restante mediante un proceso de evaporación del éter en baño maría en la capilla, de manera la mezcla se lleva a una temperatura de 34.6 grados Celsius, la cual es la temperatura

de ebullición del éter, cuidando que se elimine el éter de las muestras, pero evitando que se evaporen o dañen durante dicho proceso los aceites esenciales. En la **Figura 54**. Se pueden observar las muestras finales de aceite esencial de romero procedente de Grecia y Bajos del Toro, obtenidas con destilación de arrastre por vapor. Como se puede observar las cantidades de aceite eran diminutas y presentaban un olor bastante significativo a romero, la muestra de Bajos del Toro era un poco más de cantidad, más aceitosa y amarillenta.

Figura 53. Muestra de Grecia durante la colocación del sulfato de sodio.



Nota: (Elaboración propia, 2022)

Figura 54. Muestras finales rotuladas de aceite esencial puro de romero.



Nota: (Elaboración propia, 2022)

De estas muestras finales se tomó una mínima cantidad de cada una y se transfirieron a recipientes rotulados y aptos, esto para la realización de pruebas de caracterización a ambas muestras más adelante. El resto de ambos aceites se empaclaron y alistaron para hacer la entrega en las instalaciones en el Centro de Investigación de Productos Naturales (CIPRONA) que pertenece a la Universidad de Costa Rica, lugar con el que ya se había llegado a un acuerdo y contrato para la realización de una cromatografía de gases acoplado a masas, la cual fue escogida porque es un medio excelente para la separación, caracterización y análisis cuantitativo de los aceites esenciales y puede mostrar picos completos para cada componente, tal cual lo comentan Patiño y otros en 2014. Se eligió esta entidad por la cercanía de sus instalaciones a las instalaciones de la UIA, por sus precios, excelente servicio, atención al público y su seriedad con todo el proceso de contribución en este trabajo de graduación. Esta idea se llevó a cabo, ya que se pretendía lograr analizar y cuantificar las moléculas principales y metabolitos secundarios que se encontraban en las muestras obtenidas del arrastre por vapor, lo cual será ampliamente explicado más adelante en el desarrollo del tercer objetivo específico dentro de este mismo apartado.

CIPRONA solicitaba la entrega de las muestras en recipientes sellados, identificados correctamente y con el aceite esencial lo más puro posible, para llevar a cabo de la mejor manera el proceso de análisis, también se entregaron las muestras dentro de tres capas de empaques de

bolsa plástica, ya que le realizan una desinfección y cuarentena a causa de la situación actual mundial del COVID-19, por lo que era necesario dicho empaque para evitar cualquier daño o transformación de las muestras.

Figura 55. Paquete final con ambas muestras de arrastre por vapor entregadas a CIPRONA.



Nota: (Elaboración propia, 2022)

Extracción por maceración

Este otro método de extracción fue elegido por que se deseaba llevar a cabo un método más manual y sencillo, en comparación al método de arrastre por vapor, por lo que la maceración se planteaba como una buena idea para obtener por medio de ella moléculas menos volátiles, y una gama más amplia de componentes en estas muestras, para así por medio de las pruebas de caracterización poder verificar la diferencia de moléculas que se pueden encontrar en dos métodos de extracción tan distintos.

Para el proceso de extracción por maceración se tomó una cantidad de 50,0890 gr de muestra de Grecia y 50,4560 gr de muestra de Bajos del Toro, ambas muestras se tomaron de las muestras inicialmente deshojadas, lavadas y secadas, ya que se hizo suficiente cantidad destinada, tanto para la extracción por arrastre como para esta de maceración, dicho proceso consiste en poner en contacto el material fragmentado con una corriente de disolvente, en este caso éter, hasta que

éste se apodera de toda la esencia del aceite, tal como lo explican Patiño, Saavedra, & Martínez en el año 2014 en su trabajo titulado “Extracción por arrastre de vapor de aceite esencial del romero”.

Dichas cantidades se tomaron y se picaron con un cuchillo en una tabla de picar, de manera que no quedaran muy pequeñas ni tampoco muy grandes para lograr obtener los resultados deseados, ya que como lo mencionan Patiño y otros en el año 2014, ciertas materias vegetales se les deben reducir el tamaño y así favorecer la obtención del aceite, ya que de esta manera se logra aumentar la superficie de contacto y obtener la forma más apta de reacción, por lo que la operación preliminar a la extracción es generalmente la trituration. Ya con ambas muestras idealmente picadas, se envasaron en botellas ámbar que se encontraban en los laboratorios de la universidad, estas fueron anteriormente lavadas, secadas y rotuladas de manera que ambas muestras pudieran ser correctamente identificadas, cuando ya se tenía cada muestra en su botella correspondiente se les vertió éter etílico hasta que tapara la muestra dentro de la botella, se escoge este solvente, ya que se sabe que uno de los factores más importantes para lograr el éxito en este método es la selección correcta del disolvente en el cual se va a colocar la muestra de la planta.

Figura 56. Proceso de colocación de las muestras en los envases correspondientes.



Nota: (Elaboración propia, 2022)

El disolvente a elegir debe presentar varias características importantes como, por ejemplo, ser selectivo para la muestra de romero en este caso, se debe disolver de forma rápida y totalmente, debe tener un bajo punto de ebullición, ser químicamente inerte a la interacción con el aceite,

evaporarse completamente sin dejar cualquier residuo odorífero (que libera un olor), y entre lo posible ser de bajo precio y fácil acceso. Se han empleado muchos disolventes, pero el mejor para el caso de la planta de romero es el éter purificado tal cual se menciona en la teoría. (Patiño, Saavedra, & Martínez, 2014), razón por la cual se escoge para esta investigación.

Después de que ya se tuvieran las botellas con las muestras y el solvente se taparon y cerraron lo más posible para ser guardadas por siete días exactos para dejar interactuar los componentes y que las moléculas importantes del aceite esencial empezaran a mostrarse con el éter. Estas se guardaron en un lugar de temperatura, humedad y luz controlada para evitar que las muestras sufrieran algún tipo de daño que pudiera afectar en los resultados finales. Ya que se conoce que las condiciones de almacenamiento pueden afectar directamente en las muestras finales. Así como lo mencionan Patiño y otro en el año 2014, los envases en un proceso de maceración deben quedar completamente llenos, colocándose en un lugar fresco y protegido de la luz, ya que los procesos de degradación usualmente parecen estar activados por calor, aire (oxígeno, humedad, luz y en algunos casos posiblemente por presencia de metales).

Figura 57. Muestras de maceración embotelladas para cumplir una semana de reposo.



Nota: (Elaboración propia, 2022)

Al cabo de una semana se procedió a presentarse en el laboratorio de la universidad para lo revisión correspondiente de las muestras de maceración que se habían dejado reposando, de manera que se destaparon y observaron para ver los cambios sufridos en ese periodo, se notó que tenían un

olor sumamente fuerte a romero y que habían adoptado ambas un color verde muy intenso característico de la planta.

Después de esto se sacó el material dentro de las botellas y se colaron los residuos de plantas aparte, conservando la parte líquida, sin embargo, aún se podían observar ciertos residuos sólidos en las muestras de interés, por lo que se realizó una filtración al vacío, la cual como lo explican Lab. Cevallos en el 2022, consiste en una técnica de separación de mezclas sólido-líquido, funciona de manera que la mezcla se introduce en un embudo buchner con el papel de filtro acoplado al fondo, y este embudo se coloca sobre el Kitasato, entonces, desde el fondo del embudo se aplica con una bomba, un vacío que succiona la mezcla, quedando el sólido atrapado entre los poros del filtro, pero sin cubrirlos, mientras que el resto de la mezcla atraviesa el filtro y queda depositada en el fondo del recipiente para así poder obtener una mezcla libre de partículas, de dicha manera, se colocó la muestra en la parte superior del embudo buchner y el líquido que se quería conservar caía abajo en el Erlenmeyer utilizado, mientras que los residuos de planta quedaban retenidos a la hora de la filtración en la parte superior del embudo, de esta manera se descartó la muestra sólida y se conservó la líquida, la cual tenía las moléculas que nos importaban del romero pero también mucho éter etílico, por lo que se procedió a buscar una muestra más pura.

Figura 58. Muestras obtenidas después la filtración del material macerado.



Nota: (Elaboración propia, 2022)

Figura 59. Filtración al vacío de ambas muestras de maceración.



Nota: (Elaboración propia, 2022)

Seguidamente se procedió a utilizar nuevamente el sulfato de sodio anhidro para secar el éter (del cual ya fue explicado su mecanismo), ya que, en estas muestras, al igual que en las de arrastre aún había una cantidad considerable de éter que se quería eliminar. De esta manera, se agregó el sulfato de sodio con una espátula a cada una de las muestras y se revolvió para que el sulfato secara al éter del aceite esencial, después de esto se observó que en estas muestras el sulfato se secaba tanto porque había mucho éter, entonces se solidificaba y se quedaba pegado en el fondo del Erlenmeyer. Siendo así, se pasó la fase líquida a un beaker para cada una de las muestras, y se descartó el sulfato.

Figura 60. Colocación del sulfato en las muestras respectivas.



Nota: (Elaboración propia, 2022)

Tabla 4. Cuadro comparativo de las muestras finales de los cuatro extractos de romero.

	Apariencia a la vista	Olor	Color
Muestra Grecia arrastre por vapor	Muestra entre oleosa y líquida.	Olor ligero a romero, se detectaba al olfato la presencia de éter.	Transparente y con una tonalidad muy poco visible, ligeramente color hueso.
Muestra Grecia maceración	Muestra completamente líquida y ligera.	Olor sumamente fuerte a romero.	Color verde intenso.
Muestra Bajos del toro arrastre por vapor	Muestra más viscosa y de apariencia oleosa por completo.	Olor fuerte a romero, aunque no tan fuerte como en las muestras de maceración.	Muestra con tonalidad amarillenta por completo.
Muestra Bajos del toro maceración	Muestra mayoritariamente líquida, se observaba un poco más oleosa que la muestra de Grecia por el mismo método. Pegajosa al tacto.	Olor sumamente fuerte a romero.	Color verde intenso.

Nota: (Elaboración propia, 2022)

Seguidamente se procederá a presentar los resultados del tercer objetivo específico de este trabajo de graduación, de manera que se den respuestas a las necesidades de dicho objetivo. Este apartado pretende mostrar los resultados, la discusión, y el análisis de los dos extractos del aceite esencial obtenidos por el método de destilación de arrastre por vapor, y también las pruebas de caracterización de las muestras de maceración, las cuales fueron explicadas en el objetivo anterior, de dicha manera, se llevaron ambas muestras a análisis y cuantificación para analizar los porcentajes en los que se encontraban los componentes resaltados que serán explicados más adelante, y así poder hacer una relación directa con los resultados obtenidos de las condiciones climáticas en las que se encontraban cada una de las muestras que fueron tomadas de reportes que fueron solicitados al Instituto Meteorológico Nacional, y así mezclar ambos resultados y analizarlos para buscar una conclusión que indique cuál fue la muestra más favorecida con respecto a riqueza en sus componentes activos con funciones farmacológicas.

Primeramente, es importante resaltar que como se explicó anteriormente, durante el proceso experimental se obtuvieron 4 muestras finales como resultado de los extractos obtenidos de dos diferentes métodos de extracción, de manera que se tenían 2 muestras de arrastre por vapor, una de Grecia y otra de Bajos del Toro, y también dos muestras obtenidas por extracción por maceración, una muestra para cada lugar. A pesar de que se deseaba llevar a analizar las 4 muestras esto no fue posible ya que el método de análisis se llevó a cabo de manera extraordinaria a la universidad, en los laboratorios de CIPRONA (Centro de investigación de productos naturales), en la Universidad de Costa Rica, lo cual tenía un costo adicional alto por cada una de las muestras que se quisieran analizar, por dichas razones, se decidió que se escogerían únicamente dos muestras, y las muestras escogidas fueron las dos de arrastre por vapor lo que no podrá permitir realizar una comparación de las cuatro muestras finales pero si de ambas muestras obtenidas con arrastre por vapor.

La razón por la cual se decidieron tomar estas dos, fue primeramente porque este método, según lo investigado, tiene una gran afinidad por los materiales sensibles a la temperatura como los compuestos naturales aromáticos, tal como lo comentan en el Manual de Laboratorios de compuestos aromáticos, 2018, y como la investigación se basa en un producto natural aromático como lo es el romero, se conocía que según la teoría sí iban a obtener la mayor cantidad de componentes importantes por el método de arrastre que por el de maceración.

Otra razón por la cual se decidió que estas dos muestras eran las que se querían llevar a los laboratorios de CIPRONA, es por la larga trascendencia y común uso de esta técnica a nivel de obtención de aceites esenciales en muchas investigaciones, ya que su validez es alta y con frecuencia es utilizada para separar aceites esenciales de tejidos vegetales, gracias a esta técnica se pueden obtener altos porcentajes de rendimiento y pureza de las muestras y ser ampliamente aprovechado por lo que las muestras obtenidas por este método fueron las elegidas para analizar, ya que se sabía que de ellas podían cuantificarse los metabolitos volátiles con más importancias farmacológica.

Con respecto a la técnica utilizada para el análisis y cuantificación de los componentes, se llevó por medio de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GCMS), la combinación de estas técnicas permite analizar y cuantificar compuestos trazas en mezclas complejas con un alto grado de efectividad, de manera que está indicada para la separación de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles. (Sarria, 2017)

El proceso inició con llevar las muestras personalmente a los laboratorios de CIPRONA en San Pedro, San José, Costa Rica, las muestras debían ir completamente cubiertas, ya que pasan por un proceso de desinfección en las instalaciones de esta entidad. El análisis se llevó a cabo con un equipo GCMS-QP 5000 marca SHIMADZU. La columna utilizada fue una MDN-5S, 30m, 0,25 m, marca SUPELCO. El ámbito de masa utilizado correspondía a 30-600mz, el impacto electrónico fue de 70 eV y el tiempo total de la corrida fue de 70 minutos.

El proceso empieza y se da la separación, lo cual depende de la distribución de las sustancias estudiadas entre las fases móvil y estacionaria que conforman el sistema. Una vez separadas las sustancias son fragmentadas y analizadas en función de su patrón de fragmentación, el cual puede ser comparado con información contenida en una base de datos de espectros de masas para su identificación preliminar. La identificación definitiva, así como la cuantificación de cada sustancia debe hacerse mediante el empleo de sustancia de referencia, tal como lo menciona Sarria en su proyecto titulado "Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas" en el año 2017. Explicado esto, es importante mencionar que la inyección se llevó a cabo con una jeringa micrométrica, se inyectaron 0,5 microlitros de la muestra en el puerto de inyección del equipo y de ahí empezó el proceso cromatográfico. Los resultados se brindaron confrontando los espectros de masas con las librerías NIST21 y WILEY139.

Los resultados obtenidos fueron brindados por CIPRONA, vía correo electrónico, 15 días después de la entrega de las muestras. En dicho reporte se muestran los principales componentes presentes en cada una de las muestras y el cromatograma correspondiente, de manera que se expondrán seguidamente para así llevar a cabo su análisis.

Tabla 5. Compuestos identificados por GC-MS en muestras de aceite esencial de romero.

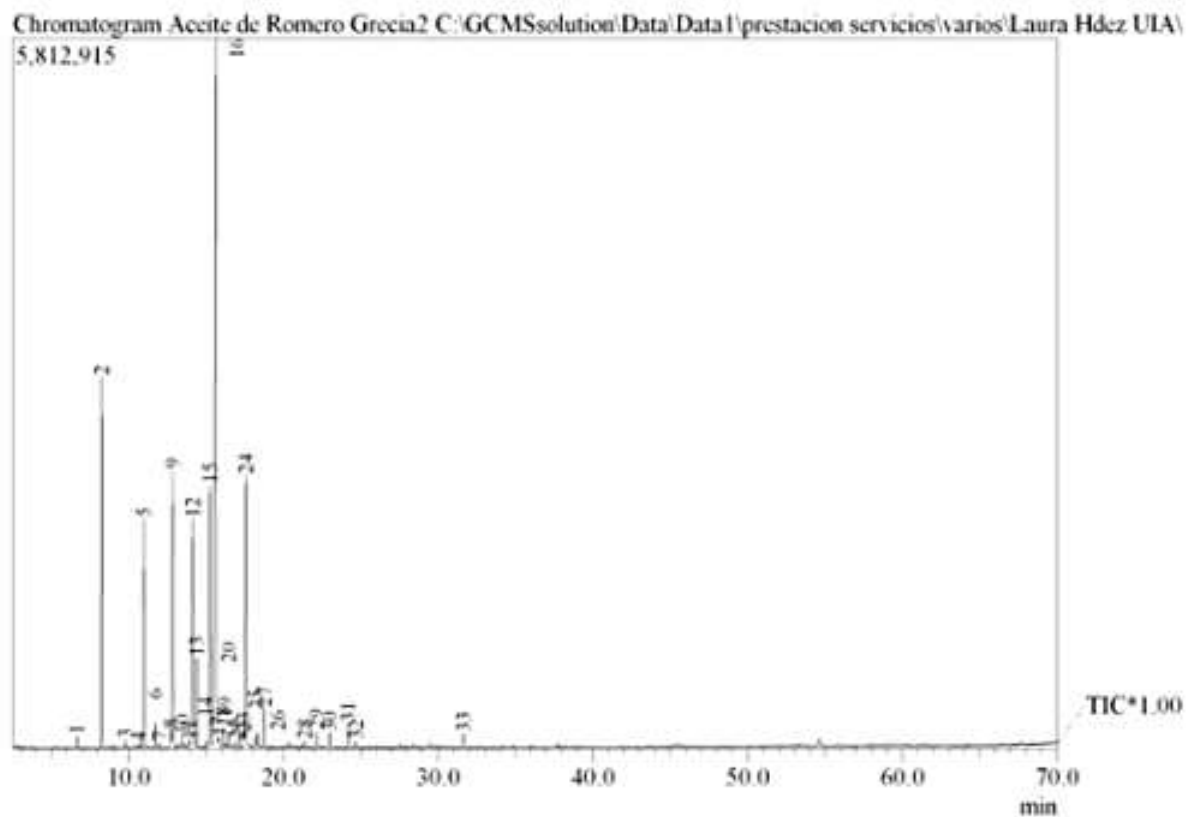
#	Aceite de Romero B. Toro UIA		Aceite de Romero Grecia UIA		Compuesto
	Área	% Área	Área	% Área	
1	1164364	0.99	-	nd	α -Pinoeno
2	201948	0.17	-	nd	β - Pinoeno
3	214056	0.18	-	nd	β - Mirceno
4	20422784	17.28	8122843	7.95	1,8-cineol
5	6094475	5.16	6316931	6.18	Linalol
6	4258950	3.60	9630379	9.42	Alcanfor
7	8463830	7.16	9754358	9.55	Isoborneol
8	2507364	2.12	-	nd	4-Terpineol
9	6139940	5.19	8374734	8.20	α -Terpineol
10	44080635	37.29	38387995	37.57	Verbenona
11	10219014	8.64	9684091	9.48	trans-geraniol
12	10219014	8.64	1182325	1.16	Acetato de borilo
13	721767	0.61	434327	0.43	Acetato de geranilo
	118208558	100		100	

% de área relativa = área de cada pico/área total del cromatograma *100

nd: no detectado

Nota: (CIPRONA, 2022)

Figura 61. Cromatograma completo de la muestra de Grecia.

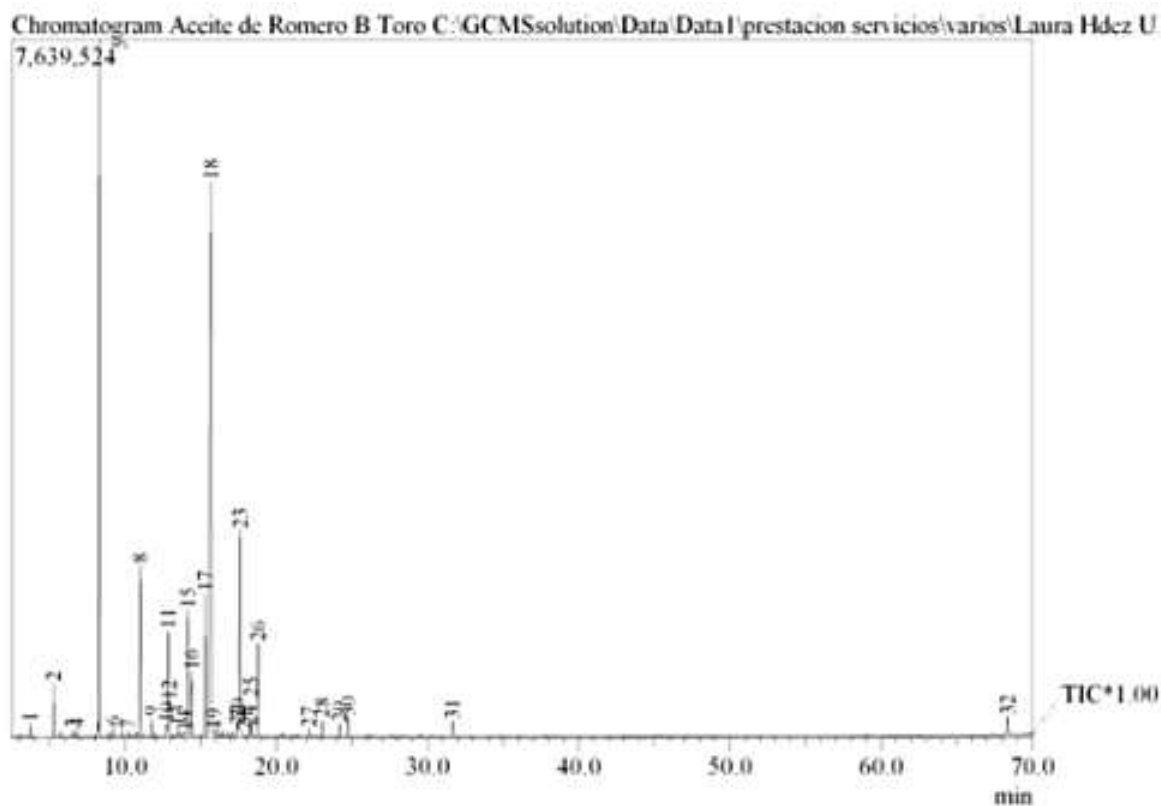


Peak Report TIC

Peak#	R. Time	Area	Area%	Name
1	6.641	261369	0.26	
2	8.247	8122843	7.95	1,8-Cineole
3	9.785	161511	0.16	
4	10.650	118539	0.12	
5	10.978	6316931	6.18	Linalool
6	11.730	605683	0.59	
7	11.991	109607	0.11	
8	12.713	521317	0.51	
9	12.844	9630379	9.42	Camphor
10	13.470	209072	0.20	
11	13.875	306101	0.30	
12	14.132	9754358	9.55	Isoborneol
13	14.395	2687083	2.63	Terpinen-4-ol
14	14.983	193218	0.19	
15	15.250	8374734	8.20	alpha-Terpineol
16	15.640	38387995	37.57	Verbenone
17	15.815	256378	0.25	
18	16.091	578125	0.57	
19	16.233	172520	0.17	
20	16.468	301342	0.29	
21	16.850	175519	0.17	
22	17.124	323503	0.32	
23	17.422	363200	0.36	
24	17.568	9684091	9.48	trans-Geraniol
25	18.214	241510	0.24	
26	18.324	404579	0.40	
27	18.764	1182325	1.16	Bornyl acetate
28	21.369	237942	0.23	
29	22.135	596756	0.58	
30	22.999	434327	0.43	Geranyl acetate
31	24.177	823462	0.81	
32	24.695	188443	0.18	
33	31.635	459140	0.45	
		102183902	100.00	

Nota: (CIPRONA, 2022)

Figura 62. Cromatograma completo de la muestra de Bajos del Toro.



Peak Report TIC

Peak#	R.Time	Area	Area%	Name
1	3.725	337018	0.29	
2	5.292	1164364	0.99	alpha-Pinene
3	6.516	201948	0.17	beta-Pinene
4	6.799	214056	0.18	beta-Myrcene
5	8.290	20422784	17.28	1,8-Cineole
6	9.209	269868	0.23	
7	10.235	203863	0.17	
8	11.005	6094475	5.16	Linalool
9	11.758	617779	0.52	
10	12.732	510177	0.43	
11	12.858	4258950	3.60	Cumpher
12	12.933	1273061	1.08	
13	13.497	275169	0.23	
14	13.900	297752	0.25	
15	14.155	8463830	7.16	Isoborneol
16	14.417	2507364	2.12	Terpinen-4-ol
17	15.286	6139940	5.19	alpha-Terpineol
18	15.688	44080635	37.29	Verbenone
19	15.850	301003	0.25	
20	16.117	648991	0.55	
21	16.497	262728	0.22	
22	17.442	434030	0.37	
23	17.602	10219014	8.64	trans-Geraniol
24	18.237	298387	0.25	
25	18.356	478620	0.40	
26	18.793	3859876	3.27	Bornyl acetate
27	22.152	436984	0.37	
28	23.025	721767	0.61	Geranyl acetate
29	24.199	650859	0.55	
30	24.727	821141	0.69	
31	31.661	763737	0.65	
32	68.393	978388	0.83	
		118208558	100.00	

Nota: (CIPRONA, 2022)

Con lo que respecta a estos resultados y su análisis, en la **Tabla 5**. se pueden visualizar los componentes principales y sus áreas según GC-MS en ambas muestras de aceite esencial de romero obtenido por arrastre por vapor, donde se logran observar la presencia mayoritaria de los componentes según su % de área relativa. En esta misma tabla se encuentra primero al lado izquierdo la muestra de Bajos del Toro, en donde resaltan el alfa- pineno, beta-pineno, beta-mirceno, 1,8 cineol, 4-terpineol, acetato de borilo y acetato de geranilo. Por otro lado, la muestra de Grecia, al derecho de la tabla presenta mayor porcentaje de los componentes de linalol, alcanfor, isobornel, alfa-terpineol y verbenona. Incluso, los componentes alfa- pineno, beta-pineno, beta-mirceno y 4-terpineol, no lograron ser detectados en la muestra correspondiente a Grecia.

En **las Figuras 63 y 64**. se pueden observar los cromatogramas completos de las muestras de Grecia y Bajos del Toro, correspondientemente. En estos cromatogramas se logran observar los picos numerados correspondientes a cada uno de los componentes encontrados en las muestras de aceite esencial, de manera que se logre visualmente entender la comparación de las áreas según cada pico de cada componente.

Ya entendiendo como están distribuidas las figuras anteriormente mencionadas, se logra observar cómo cada componente cuanto mayor porcentaje de área relativa presenta, tiene un pico más alto en el cromatograma, y a menor porcentaje de área menor tamaño del pico. Por ejemplo, para ambas muestras se logra observar el pico de la verbenona como el más alto, y también el 1,8 cineol en ambas. Por otro lado, en la muestra de Bajos del Toro, resalta el pico del trans-geraniol y en la de Grecia el pico del alcanfor.

Seguidamente y como material de apoyo, se presenta una tabla de elaboración propia en donde se pueden observar las cantidades en microlitros de cada uno de los componentes que se contenían en las muestras de aceite esencial de romero.

Dichas cantidades se calcularon sabiendo que de cada una de las muestras obtenidas se inyectaron 0,5 μL totales de aceite esencial en el equipo. De manera que los 0,5 μL corresponden al 100% de la muestra inyectada. Por lo tanto, se realiza una operación en la cual se sabe que cada porcentaje de componente en la tabla corresponderá una "x" cantidad de μL de ese mismo componente.

<p>Muestra de cálculo: Alfa-pineno B. Toro $\rightarrow \frac{0,99\% \times 0,5 \mu\text{L}}{100}$: $4,95 \times 10^{-3} \mu\text{L}$ de alfa-pineno.</p>

Tabla 6. Componentes y sus cantidades en μL , para cada una de las muestras de arrastre.

#	Aceite de Romero B. Toro.		Aceite de Romero Grecia.		Compuesto
	μL	% Área	μL	% Área	
1	$4,95 \times 10^{-3}$	0.99	0	nd	α -Pinoeno
2	$8,5 \times 10^{-4}$	0.17	0	nd	β - Pinoeno
3	9×10^{-4}	0.18	0	nd	β - Mirceno
4	0,0864	17.28	0,0398	7.95	1,8-cineol
5	0,0258	5.16	0,0309	6.18	Linalol
6	0,018	3.60	0,0471	9.42	Alcanfor
7	0,0358	7.16	0,0478	9.55	Isoborneol
8	0,0106	2.12	0	nd	4-Terpineol
9	0,0260	5.19	0,041	8.20	α -Terpineol
10	0,1865	37.29	0,1879	37.57	Verbenona
11	0,0432	8.64	0,0474	9.48	Trans-geraniol
12	0,0432	8.64	$5,8 \times 10^{-3}$	1.16	Acetato de bornilo
13	$3,05 \times 10^{-3}$	0.61	$2,15 \times 10^{-3}$	0.43	Acetato de geranilo
	0,4853	100	0,4499	100	TOTAL

Nota: (Elaboración propia, 2022)

En esta tabla, se puede observar la cantidad de microlitros que hay de cada uno de los componentes que se encontraron en las muestras inyectadas, tanto para Bajos del Toro, como para Grecia, los componentes de cada muestra no suman el total de los 0,5 microlitros totales inyectados, ya que como se puede observar en el listado de componentes que se encuentran en la parte inferior de las **Figuras 61 y 62** respectivamente, hay varios componentes que no se han logrado identificar en ambas muestras, y usualmente son componentes orgánicos de bajo peso molecular, que a pesar de que en los picos del cromatograma se notan muy pequeños, representan un volumen dentro del

total de la muestra inyectada y que sumados entre sí hacen que quede un vacío en el volumen final observado en la tabla inferior.

De manera extra a los resultados por GCMS de los componentes presentes en las muestras correspondientes a Grecia y Bajos del Toro, se quisieron llevar a cabo algunas pruebas de laboratorio de caracterización de metabolitos en tubos de ensayo, de manera que en los laboratorios de la Universidad Internacional de las Américas se lograra evidenciar la presencia o ausencia de algunos componentes como flavonoides, triterpenos y fenoles. Las pruebas realizadas serán explicadas a continuación y corresponden a Shinoda, Lieberman-Burchard y Cloruro férrico, esto para cada una de las 4 muestras, tanto de arrastre como de maceración.

Prueba de Shinoda

Esta prueba indica la presencia de flavonoides en las muestras, y un resultado positivo arroja colores naranjosos o rojizos. Se realiza mediante la colocación de una punta de espátula de limadura de magnesio en la muestra seguida de añadir unas 2 gotas de HCl concentrado en la muestra en un tubo de ensayo, lo cual generaba una reacción exotérmica inmediata con espumeo y aumento de la temperatura del tubo de ensayo a la colocación del ácido.

Esta prueba dio positiva en las muestras de maceración de ambos lugares, tanto Grecia como Bajos del Toro. Con colores naranjas intensos en ambas muestras. Los resultados positivos en estas muestras tienen lógica ya que el método de maceración en material vegetales suele presentar en los análisis componentes flavonoides por ser un poco más afín a la obtención de estos componentes.

En las muestras de arrastre, la prueba dio negativa en la muestra de Bajos del Toro con una coloración blanca hueso, y positiva en la muestra de Grecia con un color naranja claro. El resultado esperado para esta muestra en ambos aceites era el negativo, ya que el método de extracción se inclina más hacia la obtención de moléculas volátiles a causa de su selectividad por estas moléculas, sin embargo, en la muestra de Grecia se puede observar una ligera prueba positiva a flavonoides que puede indicar la filtración de algunos de estos componentes en esta muestra, durante el arrastre por vapor.

Los flavonoides como tales, tienen distintas funciones a nivel terapéutico, dentro de las que se pueden encontrar la función antioxidante, la cual indica su capacidad de neutralizar los radicales

libres que se producen en el organismo, también tienen propiedades anticancerígenas, ya que inhiben lentamente la multiplicación de las células cancerígenas, propiedades como estimulantes de la circulación y hasta protectores de la mucosa gástrica, así como lo menciona Monsterrat Enrich en su investigación sobre propiedades de los flavonoides, publicada en el 2021.

Prueba de Lieberman-Burchard (LB)

La prueba de LB es una prueba utilizada para identificar la presencia de triterpenos y esteroides en las muestras del aceite, una coloración azulada oscuro brinda un resultado positivo a presencia de triterpenos. se disuelve la muestra del extracto en 1 ml de cloroformo en un tubo de ensayo, después de esto se colocan 3 gotas de ácido sulfúrico en 1 ml de anhídrido acético, haciendo la mezcla de todo.

Dicha prueba se mostró positiva para las dos muestras de maceración, con colores verdes oscuros. Como ya se comentó anteriormente el método de maceración es mucho menos selectivo, lo que permite la filtración de más componentes como los son los triterpenoides y esteroides, razón por la cual las dos muestras obtenidas por dicho método arrojan un resultado positivo.

Y por otro lado, esta prueba dio negativa en las dos muestras de arrastre por vapor. Dichos resultados se deben a que el método de arrastre por vapor es mucho más selectivo y se limita a la obtención mayoritariamente de compuestos más volátiles como son los monoterpenos, que de hecho son conocidos como la esencia de los compuestos volátiles. Basándose también en relación con los resultados del análisis de GC-MS presentado anteriormente, se puede evidenciar la presencia mayoritaria de monoterpenos, razón por la cual dicha prueba es negativa.

Las principales funciones de los triterpenos están relacionadas de manera general a la actividad anticancerosa con el contenido de estos compuestos, a la cual se pueden añadir también propiedades inmunomoduladores, antiinflamatorias, hipoglucemiantes, hipolipemiantes y hepatoprotectoras. (International Mycotherapy Institute, 2014)

Prueba de cloruro férrico

Para la prueba de cloruro férrico, esta funciona de manera que detecta la presencia de OH fenólicos, conlleva un procedimiento, el cual consiste en colocar unas 5 gotas del reactivo que ya se encontraba listo a la muestra del extracto en un tubo de ensayo. Una coloración que pase amarillo-naranja a colores verdes azulados arroja un resultado positivo.

Esta prueba se presentó positiva para las 4 muestras, tanto las dos de maceración como las dos de arrastre, la diferencia fue que las pruebas de maceración dieron un color verde más oscuro como grisáceo, y las muestras de arrastre dieron como resultados verdes más claritos cercanos a amarillentos. Tal como lo explican Ardoino, Boreis, & Toso, 2013 en su trabajo sobre caracterización fitoquímica, la aparición de coloración varía de acuerdo con la cantidad y posición de los oxhidrilos fenólicos presentes: amarilla indica la presencia de 1 -OH, verde grisáceo 2 -OH adyacentes y azul negro 3 -OH adyacentes, Por lo que se podría decir que las muestra maceración presentan 2-OH en el aceite esencial y las de arrastre indican la presencia de 1-OH.

El resultado positivo en las muestras se evidencia gracias a lo investigado bibliográficamente en donde autores como Conrado, con su investigación en el 2011, hablan de la común presencia fenólica en los extractos vegetales naturales, ya que estos se encuentran formando parte de algunas estructuras celulares de las plantas y árboles, mientras que otros se forman como productos del metabolismo, lo cual el romero no es la excepción y por esto se pueden observar positivos en esta prueba. Resaltando también que entre las principales propiedades que presentan estos compuestos, están las desinfectantes, plaguicidas, antisépticas, edulcorantes, oxidantes, colorantes y detonantes que han despertado el interés industrial por su diversidad de aplicaciones.

Figura 63. Pruebas de cloruro férrico, LB y Shinoda de izquierda a derecha respectivamente de la muestra de B. TORO-MACERACIÓN.



Nota: (Elaboración propia, 2022)

Figura 64. Pruebas de Shinoda, LB y cloruro férrico, de izquierda a derecha respectivamente de la muestra de GRECIA-MACERACIÓN.



Nota: (Elaboración propia, 2022)

Figura 65. Pruebas de cloruro férrico, LB y Shinoda de izquierda a derecha respectivamente de la muestra de B. TORO-ARRASTRE POR VAPOR.



Nota: (Elaboración propia, 2022)

Figura 66. Pruebas de cloruro férrico, Shinoda y LB, de izquierda a derecha respectivamente de la muestra de B. GRECIA- ARRASTRE POR VAPOR.



Nota: (Elaboración propia, 2022)

Tabla 7. Cuadro de resultados de pruebas de caracterización en los cuatro extractos.

	Prueba Shinoda	Prueba Cloruro férrico	Prueba Lieberman-Burchard
Muestra Grecia arrastre	POSITIVA	POSITIVA	NEGATIVA
Muestra Bajos del Toro arrastre	NEGATIVA	POSITIVA	NEGATIVA
Muestra Grecia maceración	POSITIVA	POSITIVA	POSITIVA
Muestra Bajos del Toro maceración	POSITIVA	POSITIVA	POSITIVA

Nota: (Elaboración propia, 2022)

En el siguiente cuadro se procede a unificar y exponer la manera precisa cuales son los metabolitos secundarios encontradas para ambas muestras y cuáles son las funciones terapéuticas atribuidas a dichos metabolitos, de manera que se logre visualizar la conformación de cada muestra.

Tabla 8. Conformación de los principales componentes presentes en las muestras de aceite esencial de romero en maceración y arrastre por vapor y la actividad terapéutica correspondiente de cada uno.

Actividad terapéutica	Componente con actividad correspondiente al extracto de:	
	Bajos del Toro	Grecia
Antioxidante	Flavonoides y polifenoles Alcanfor 1,8-cineol Verbenona Linalol	Flavonoides y polifenoles Alcanfor 1,8-cineol Verbenona Linalol
Antimicrobiana	Flavonoides Alfa-pineno 1,8 cineol Beta-mirceno Isoborneol Acetato de bornilo	Flavonoides Isoborneol 1,8-cineol
Anticancerígenas	Alcanfor 1,8-cineol Acetato de bornilo	Alcanfor 1,8-cineol
Antifúngica	1,8-cineol Alcanfor	Alcanfor 1,8-cineol
Anticonceptivo	1,8- cineol	1,8-cineol
Analgésica	Beta-mirceno Alfa-terpineol	Alfa-terpineol
Inmunomoduladora	Alcanfor	Alcanfor
Hipoglicemiantes	Fenoles	Fenoles

Insecticida	Acetato de bornilo Trans-geraniol Linalol Beta-pineno Alcanfor	Acetato de bornilo Trans-geraniol Linalol Alcanfor
Acción estimulante del sistema nervioso y cardiaco	Flavonoides Ácidos fenólicos	Flavonoides Ácidos fenólicos
Antiinflamatorios	Fenoles Alfa-pineno	Fenoles
Antitumorales	Fenoles	Fenoles
Repelente	Isoborneol	Isoborneol
Protección de la mucosa gástrica	Flavonoides	Flavonoides
Hepatoprotectora	Acetato de bornilo	

Nota: (Elaboración propia, 2022)

Conociendo así la conformación de las muestras de romero obtenidas, tanto de arrastre por vapor como de maceración, mediante los métodos de GC-MS y las pruebas funcionales, seguidamente se va a comentar sobre la relación de los componentes encontrados en el análisis de estas muestras, de manera que según lo investigado a nivel bibliográfico se pueda evidenciar las principales funciones de estos componentes y observar como las cantidades en porcentaje que se encuentran en cada uno de ellos son directamente proporcionales a la funcionalidad terapéutica de un compuesto específico. Lo que lleva a la discusión del porqué una de las muestras puede ser más rica que otra a nivel de funciones terapéuticas y farmacológicas, dándole así más peso con respecto a sus propiedades a nivel del mejoramiento de la salud humana.

Según Ávila Sosa y otros en el 2011, el romero es una planta rica en principios activos y con acción sobre casi todos los órganos del cuerpo humano, ya que contiene un alto porcentaje de aceites esenciales, cuyos ingredientes activos son flavonoides, ácidos fenólicos y principios amargos, que consigo generan una acción tónica y estimulante sobre el sistema nervioso,

circulatorio y corazón, además de ser colerético, colagogo, antiespasmódico, diurético, emenagogo y antigodanotrópico.

Mierlici, 2009, demostró la presencia de polifenoles y flavonoides, sustancias con propiedades antioxidantes, en extractos hidroalcohólicos obtenidos del romero, por otra parte, Apostolidis y otros. (2006), estudiaron y evaluaron los fitoquímicos presentes en el romero, y determinaron que los fenoles contenidos en dicha planta estaban asociados con mejorías en pacientes con diabetes relacionada con la gestión de la alfa-glucosidasa, la inhibición de la alfa-amilasa pancreática y la hipertensión. También demostraron sobre los compuestos fenólicos, que al activarlos se muestran efectos antitumorales y antiinflamatorios. Dichas funciones pueden relacionarse con la prueba de cloruro férrico en las muestras, tanto de Grecia como Bajos del Toro por ambos métodos, ya que estas arrojaron resultados positivos que demuestran la presencia de compuestos fenólicos, que indican las funciones mencionadas en las muestras obtenidas.

Por otra parte, en relación con la presencia de flavonoides, nuevamente Apostolidis en el 2006, indica que los flavonoides presentes en el extracto de hoja de romero afectan a la membrana celular de las bacterias, ya que la actividad citotóxica influye directamente a la fase mitótica de las bacterias Gram positivas y Gram negativas, por destacar a la *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.* y *S. aureus*. Dicha teoría fundamenta la presencia de los flavonoides positivos en la prueba de Shinoda, para las muestras de romero obtenidas por maceración, lo que indica una función antibacteriana activa en estas muestras. En el análisis obtenido por GC-MS no se reportó ningún flavonoide ya que esta técnica es mas afín a lo que son compuestos volátiles, por lo que, en las pruebas de caracterización para flavonoides, que fue Shinoda, esta resulto negativa en ambas muestras de arrastre por vapor.

Avila Sosa y otros (2011) reportaron la actividad antimicrobiana y citotoxicidad del α -pineno, 1,8 cineol, canfeno, β -mirceno, alcanfor y borneol, contenidos en el aceite de romero, los cuales demostraron un efecto moderado con el grupo de bacterias gram positivas y gram negativas, de manera que estos componentes del romero participaban en la inhibición completa de la germinación de algunas bacterias, lo cual afectaba directamente a la membrana celular de estas, llevando así a una reducción de la mitosis bacteriana. Nuevamente fundamentando la función antibacteriana en las muestras, se puede relacionar con la presencia activa de algunos de los componentes anteriormente mencionados en las muestras de arrastre por vapor analizadas mediante

la GC-MS, en donde se pueden observar la presencia en porcentajes altos de componentes como el 1,8 cineol o el alcanfor, que generan una relación directa con la función antibacteriana en estas muestras obtenidas con el método de arrastre por vapor.

Otra investigación que fundamenta las funciones principales de algunos de los componentes del romero es "Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios", en la cual Flores, E., Saenz, A., Castañeda, A., & Narro, R. exponen que:

El alfa-pineno, el beta-pineno y el acetato de bornilo presentan también importantes funciones como antimicrobianos e insecticidas. El alfa-pineno y el acetato de bornilo presentan entre si las características hipoglicemiantes y anticancerígenas.

El alcanfor y el 1,8 cineol, presentan también actividad antioxidante, pero comparten también propiedades como hepatomoduladoras, antifúngicas y anticancerígenas. Del alcanfor resalta también su propiedad como inmunomodulador. Mientras que del 1,8 cineol se pueden mencionar propiedades importantes como anticonceptivo, antidepresivo y relajante muscular.

La verbenona destaca por ser un excelente antioxidante de calidad. Por otra parte, el beta-mirceno comparte sus mismas propiedades con el alfa-terpineol, en las que resaltan su parte analgésica y antioxidante como también lo son la mayoría de los demás compuestos.

El trans-geraniol, por su parte, destaca por ser un componente insecticida por excelencia y que es comúnmente utilizado para el control de plagas a nivel industrial. El isoborneol, por su parte, actúa como un repelente de gran calidad.

El acetato de geraniol, tiene una función más que todo cosmética, ya que es comúnmente utilizado como aditivo en perfumes o jabones, por su olor dulce/ cítrico. El linalol, por su parte, al igual que el trans-geraniol, presenta muy buenas propiedades insecticidas, y también es usado en fragancias y productos de limpieza. De menor manera, el linalol tiene leves propiedades antioxidantes y ansiolíticas.

La mayoría de los componentes mencionados anteriormente se encuentran en los datos obtenidos mediante el análisis por cromatografía de gases acoplada a masas, que fue realizado en el CIPRONA, lo cual podría llevar al análisis de que a causa de que las muestras obtenidas con arrastre por vapor contienen estos componentes que fueron explicados en los párrafos anteriores,

el indicio positivo de estos es evidencia de las posibles funciones terapéuticas presentes en dichas muestras.

De manera que se podría decir que la muestra de Grecia obtenida por maceración, la muestra de Bajos del Toro por maceración y la prueba de Grecia por arrastre contienen resultados positivos para flavonoides, lo que indica que estas muestras tienen función antioxidante, propiedades anticancerígenas, propiedades de la circulación y de protección de la mucosa gástrica.

A manera de discusión y comparación de los resultados de cada componente y sus funciones se puede mencionar que:

Con respecto a los compuestos fenólicos, estos están presentes en las cuatro muestras, tanto de arrastre como de maceración, de manera que se sabe que estos compuestos presentan función antioxidante, función positiva en pacientes con diabetes. También de los compuestos fenoles se ha demostrado función antitumorales y antiinflamatorias, de manera que, con la teoría anteriormente expuesta, se puede decir que las cuatro muestras posiblemente presentan las propiedades terapéuticas mencionadas, esto relacionándolo directamente con el resultado positivos de fenoles mediante las pruebas de caracterización.

Por otra parte, con las muestras de arrastre por vapor, se puede decir que tienen funciones antibacterianas, insecticidas, antifúngicas, inmunomoduladores, anticancerígenas, hipoglicemiantes, hepatomoduladoras. La muestra de Bajos del Toro presenta propiedades anticonceptivas, antidepresivas y relajantes gracias a su alto contenido de 1,8 cineol.

También, gracias a que ambas muestras de arrastre por vapor tienen altos porcentajes de alcanfor se puede decir que ambas tienen gran propiedad inmunomoduladora, ya que este es el compuesto con mayor porcentaje en toda la muestra.

A pesar de que ambas muestras tienen gran contenido de verbenona, la muestra de Grecia tiene una leve ventaja, se podría decir que ambas muestras por arrastre presentan una alta función antioxidante. Otros compuestos que destaca en ambas muestras son el iso-borneol y el linalol, por lo que se podría decir que ambas muestras contienen una alta función repelente.

Para finalizar este objetivo, se puede decir que la muestra de aceite esencial de romero de Bajos del Toro obtenida por arrastre por vapor es la que presenta los mayores porcentajes de componentes activos y metabolitos secundarios, lo que le confiere también la mayor cantidad de

propiedades farmacoterapéuticas con influencia en la salud humana, generando que esta muestra pueda ser relacionada con las funciones mencionadas en los párrafos anteriores. Sin dejar de lado que la muestra de Grecia también presentó buenos resultados en porcentajes inferiores a B. Toro.

Seguidamente se van a comentar los resultados obtenidos del Instituto Meteorológico Nacional (IMN), estos resultados fueron solicitados personalmente vía correo con el Departamento de Información Meteorológica de Costa Rica, de manera que se tuvo que enviar una carta para la solicitud de estos informes generando un compromiso del uso responsable de dichos datos y firmada por la estudiante y el tutor de carrera. De dicha manera se obtiene un reporte de las principales variables climáticas que se presentaban en los dos lugares de la recolección de las plantas, Grecia y Bajos del Toro, para fundamentar y discutir lo investigado durante la realización de este trabajo y como parte del tercer objetivo específico que pretendía lograr relacionar qué tanto las condiciones climáticas podían influir en la concentración de los componentes comúnmente presentes en el aceite de romero, y cuáles condiciones, basándose en los % mayoritarios de los componentes, le eran más favorables a las muestras de la planta de romero para posicionarse como la que presentaba el mejor perfil farmacoterapéutico, razón que se puede confirmar con la teoría expuesta en el apartado de marco teórico de este trabajo de investigación y que se reafirma con lo que comentan Rodríguez, Chinae, & Arias, 2019, quienes afirman que las variables climáticas constituyen un factor determinante en el desarrollo fisiológico de los cultivos de plantas, con una marcada influencia sobre la actividad fotosintética, la composición de la planta y la formación del material vegetal, lo que hace de gran relevancia el estudio del comportamiento del crecimiento de las plantas y su relación con el rendimiento en unas condiciones específicas.

El reporte brindado por el IMN brindaba el servicio de datos sobre el comportamiento de los elementos climáticos más relevantes de la localidad de B. Toro- Volcán Poás (No. 84 221), hay que aclarar que el instituto no tenía los datos correspondientes a Bajos del Toro exactamente, sino de Volcán Poás, los cuales fueron tomados como referencia por la similitud de sus condiciones y por la cercanía entre ellos, y por otro lado la localidad de Grecia (84295). Se solicitó la información de ambos lugares, lugares de donde se tomaron las muestras por periodos mensuales desde el 10/02/2021 hasta el 10/02/2022, de manera que se obtuvieron los datos de cada día durante un año completo (a excepción de unos los días que no se encontraban reportados). A causa de que efectivamente eran muchísimos datos, se procedió a tomar los informes meteorológicos sobre

lluvia(mm), temperatura máxima y mínima(°C), humedad relativa promedio (%) y velocidad de viento promedio(m/s), de manera que cada una de las tablas brindadas por el instituto se tomaron y se promediaron para cada una de las variables, por ejemplo, se tomó la primera tabla que correspondía a lluvia y se hizo un promedio tomando cada día de cada mes desde el 10 febrero 2021 hasta el 10 febrero del 2022 para obtener un promedio mensual, y también se realizó un promedio de todos los meses para obtener un promedio anual, para de esta manera, arralar un poco la cantidad de datos y facilitar su análisis.

Figura 67. Número de registro y coordenadas geográficas de cada lugar de toma de las muestras.

	COORDENADAS GEOGRAFICAS	
	LATITUD NORTE	LONGITUD OESTE
No. 84 221	10° 11' 21"	84° 13' 55.2"
No. 84 295	10° 02' 20.9"	84° 20' 55.4"

Nota: (IMN, 2022)

Figura 68. Ejemplo de tabla entregada por parte del IMN con los datos mes a mes durante un año, correspondiente a la variable lluvia de la muestra de Bajos del toro.

		Lluvia (mm)																															
Año	Mes	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8	Día 9	Día 10	Día 11	Día 12	Día 13	Día 14	Día 15	Día 16	Día 17	Día 18	Día 19	Día 20	Día 21	Día 22	Día 23	Día 24	Día 25	Día 26	Día 27	Día 28	Día 29	Día 30	Día 31	
2021	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2021	3	2.7	0.8	0	1	0.7	0	0	0.2	5.8	5.8	1.2	2.4	0.4	0	0.2	0.2	0.4	2.4	3.8	1	2.8	0	2.8	0	0.2	2.1	1.2	0.8	1.2	5.2	2.8	
2021	4	1.6	3.6	2.2	0.4	0.8	0.4	0.2	17.8	3.8	23.8	4.8	2.4	3.1	49.8	24.2	9.2	4.4	5.2	71.4	8.4	2.6	0.4	0.6	0.6	0.4	1.8	0.4	5.8	24.8	0.4	-	
2021	5	1.8	74.4	1.8	14.4	2.8	0	1.2	0.4	0.2	7.2	4.2	3.4	5.8	8.6	1.2	0	0	0	0.2	3.4	24.8	17.4	3.6	3	1	2.2	3	18.4	7.2	3.8	0.2	
2021	6	0	0	0	1.2	2.4	1.8	0.8	19.6	2.8	8.8	37	7.4	1	32.6	11.8	18.2	9	3.8	2.8	27	3.6	3.8	14.8	3.6	0.4	0.8	17.4	3.8	12.4	0.4	4.8	-
2021	7	0	2	10	27.4	27	3.8	2.8	2	3.8	22.2	30.2	0.4	1	0.2	0.2	0.4	2	4	1.4	1.4	9.2	8.2	71.2	9.4	3.4	8	20	0.8	15.8	0.4	1.8	
2021	8	22.2	20.4	12.2	6.4	0.4	1.8	22.4	2.6	1.8	2.4	18.8	3	1.2	3	3.8	0.2	14.4	10.6	24.4	4.8	29.2	63.4	24.4	4.8	4.4	17.6	39.2	0.4	0.8	13.6	6.1	
2021	9	7	2	0.2	0.4	1	28.2	1.6	13.2	37.8	0.8	2.6	18.2	41.4	22.6	12.2	0.2	3.2	0.8	0.2	0	0	8	14.6	3.4	0.8	2.6	24.2	3	16.4	9.2	-	
2021	10	0.4	0.2	9.4	3.8	11.4	5	7.6	0.2	1.4	2.8	5.8	0.8	14.2	0.2	11.8	1.2	4.8	9.0	17.6	12.6	0.2	2.8	0.4	10.8	1.4	0.6	0	2.4	5	43.6	8.8	
2021	11	0.4	11.4	12.6	18.8	4.4	14.6	6.4	13.2	5.8	0.8	2.6	0.4	1	0.2	0.2	0.2	0.4	0.6	1.2	1.2	4.4	1.4	1.6	0.2	3.2	0.8	7.2	3.6	18.4	4.2	-	
2021	12	16.4	5.8	15.4	4.6	8	1.2	3.2	1.6	0.8	3.4	0	0.4	24.6	10.2	1	3	15.4	1.2	0.8	1.6	0	1.8	1.6	1.4	15.2	4.4	0	0	0	0	0	
2022	1	0.2	0	12.4	3.8	0.2	0	0	0.4	0.2	0.8	5.8	2.8	0.2	0.8	0.4	0	0	0.8	1	0.4	2.6	1.2	4	0	0	0	0	0	0	0	0	
2022	2	0	0	0	1.4	0.8	1.4	0.8	1.2	0.4	1.2																						

Nota: (IMN, 2022)

PROMEDIOS DE MUESTRA DE BAJOS DEL TORO (84 221)

Tabla 9. Promedio lluvia B. Toro.

LLUVIA (mm)

Promedios en base a cada día del mes.	32,61	33,20	31,56	30,59	30,42	30,05	29,90	30,18	30,05	29,93	30,8	31,58	32,01
PROMEDIO TOTAL ANUAL:31 °C													

Nota: (Elaboración propia, 2022)

Tabla 16. Promedio temperatura mínima Grecia.

TEMPERATURA MÍNIMA (°C)													
	feb	marzo	abril	mayo	jun	jul	agos	set	oct	nov	dic	ene	feb
Promedios en base a cada día del mes.	15,59	15,62	18,03	18,25	18,19	18,15	18,37	17,99	18,20	17	16,38	14,73	14,42
PROMEDIO TOTAL ANUAL:16,99 °C													

Nota: (Elaboración propia, 2022)

Tabla 17. Promedio humedad relativa Grecia.

HUMEDAD RELATIVA PROMEDIO (%)													
	feb	marzo	abril	mayo	jun	jul	agos	set	oct	nov	dic	ene	feb
Promedios en base a cada día del mes.	70,94	67,70	78,87	86,06	88,2	88,25	90,19	90	90,58	86	81,81	75,13	73,8
PROMEDIO TOTAL ANUAL: 82,12 %													

Nota: (Elaboración propia, 2022)

Tabla 18. Cuadro comparativo de los porcentajes promedios anuales de cada parámetro climático para ambas localidades.

Parámetro climático	Localidad	
	Bajos del Toro	Grecia

Promedio lluvia (mm)	7,50	5,49
Temperatura máxima(°C)	15,22	31
Temperatura mínima (°C)	8,30	16,99
Humedad relativa (%)	91,12	82,12
Velocidad del viento (m/s)	3,87	No indica

Nota: (Elaboración propia, 2022)

A manera de discusión de estos cuadros promediados, es importante mencionar que cada uno de los datos reportados (especialmente los promedios) son solo un material de apoyo y tienen el objetivo de ejemplificar y plantar de manera visible, cuáles fueron las condiciones a la que se encontraban las muestras de romero, tanto en Grecia como en Bajos del Toro, para poder observar cuales componentes se evidenciaban en más o en menos cantidad según las condiciones climáticas en las que se encontraran y si estas pueden haber afectado o beneficiado a las muestras de ambas localidades, de alguna manera.

Como se puede observar en las **Tabla 18**, se reportan en ellas los promedios de las variables principales brindadas por el IMN para la muestra de Volcán Poás/Bajos del Toro, de esta manera se pueden encontrar el promedio de lluvia: 7,50 mm, temperatura max: 15,22°C, temperatura min: 8,30°C, humedad relativa: 91.12% y velocidad del viento: 3,87 m/s. Con respecto a la temperatura promedio de esta muestra se debe tener cuidado, ya que como fue explicado anteriormente, los datos están principalmente basados en el área de Volcán Poás, no exactamente en los Bajos del Toro, de manera que se buscó información alterna para encontrar la temperatura promedio exactamente de la zona de recolección de la muestra y gracias a los reportes brindados por Climate Data Org, 2022, se pudo obtener que el clima tiene un comportamiento entre frío/ cálido y templado con una temperatura promedio de 17,2 °C. mensualmente Los demás datos brindados por el IMN sí fueron similares a los otros encontrados.

Seguidamente, en la **Tabla 18**, se logran observar los promedios de las variables principales brindadas por el IMN para la muestra de Grecia, de manera que se pueden encontrar el promedio de lluvia: 5,49mm, temperatura max: 31°C, temperatura min: 16,99°C y humedad relativa: 82.12%. La condición de velocidad del viento no fue suministrada por parte del IMN por razones desconocidas, por lo tanto, no se reportó.

Como ya fue mencionado, las muestras de mayor interés son las de arrastre por vapor, por su preferencia en la técnica para la obtención del aceite esencial de romero, lo cual también fue la razón de su escogencia para el análisis de GC-MS, estas dos muestras son las que principalmente se estarán comparando en relación con los cuadros de promedio de condiciones climáticas, ya que la única manera de hacer esta relación es mediante los porcentajes de área de cada componente obtenidos del CIPRONA. Información con la que no cuentan las muestras de maceración, por lo cual se va a omitir de este análisis.

Con estos datos a mano, y recordando también los datos planteados en la **Tabla 5**, en la cual se exponían los porcentajes en los que se encontraban los componentes principales reportados en el análisis de GC-MS de las muestras de romero de arrastre por vapor, se puede hacer una relación entre estas dos bases de datos.

De dicha manera se puede decir que como ya se había comentado la muestra de B. Toro de arrastre por vapor, presenta una mayor cantidad de compuestos como el alfa- pineno, beta-pineno, beta-mirceno, 1,8 cineol, 4-terpineol, acetato de borilo y acetato de geranilo, comparándola con la muestra de Grecia, que presenta mayor porcentaje de los componentes de linalol, alcanfor, isoborneol y alfa-terpineol. La verbenona como tal se encuentra en cantidades muy similares entre ambas muestras. Por lo que se puede decir que las variables climatológicas anteriormente expuestas en las tablas promedio, posiblemente influyeron en los resultados de los componentes finales de ambas muestras, favoreciendo más a unas que a otras.

Visualizando esto y para tomar la primera variable, que es lluvia, se puede tomar la información expuesta en (ABC, 2005), en donde menciona que cada especie vegetal según su variedad, tiene requerimientos propias de cantidad de lluvia o agua, para que su desarrollo sea efectivos y exitoso, y también para que se pueda obtener un buen rendimiento de esta, siendo así, es posible que la planta de romero como tal pueda sufrir variaciones en su rendimiento según la cantidad de agua que se le suministre en el lugar que esta crezca, haciendo que esto pueda beneficiar o no a los componentes y las cantidades en que se contengan en las muestras, lo que lleva a concluir que en este caso un porcentaje de lluvia promedio de 7,50 mm en Bajos del Toro fue más factible para que la planta tuviera mejores características físicas según su desarrollo en comparación a la de Grecia, ya que como se puede observar en la **Figura 29**, la planta de Bajos del toro se lograba observar más verde, de hojas más largas y con más follaje en comparación a la de Grecia. Por otro

lado, la muestra de B. toro también presentó un porcentaje de rendimiento de aceite esencial ligeramente más alto, lo cual está relacionado con que sus componentes se encuentran en mayor cantidad, ya que estaba más concentrado el aceite.

Con respecto a la segunda variable, que confiere a la temperatura, como lo mencionan Rodríguez, China y Arias en el año 2019, esta variable tiene una fuerte influencia en la fotosíntesis de las plantas medicinales, se sabe que las plantas utilizan la fotosíntesis para crear oxígeno y glucosa para sí misma, ya que son los elementos básicos necesarios para el crecimiento de la planta, lo que lleva a decir que si no hay suficiente calor o si más bien hay de más, esto podría influir directamente en el crecimiento de la planta y consecuentemente en su composición, de manera que se podría decir que en Costa Rica para la planta de romero, le es más factible una temperatura máxima que oscile entre los 15-20 °C, ya que no es ni demasiado caliente, ni demasiado frío y resulta para la muestra utilizada una mayor presencia de metabolitos secundarios. Dicha variable se puede decir que tuvo una influencia en los resultados finales para colocar a la muestra de Bajos del Toro, con su condición de temperatura específica como la muestra que arrojó mejores resultados con respecto al análisis de GC-MS.

Para el desarrollo de la tercera variable, correspondiente a humedad, ya se había mencionado que la planta de romero era muy fácil de adecuar a cualquier tipo de humedad, sin embargo, se observan mejores resultados con humedades altas que se acompañaran de presencia de luz alrededor de 6 horas al día, esto para mantener un flujo de aire y temperatura constantes que no se vayan a los extremos. La extracción del aceite esencial de romero se puede realizar con las hojas frescas (recién cortadas), o con las hojas secas (días después de la recolección), esto tiene que ver con la humedad de agua presente en las muestras si son utilizadas de una u otra manera. Hay investigaciones que indican que las hojas secas son las más apropiadas para la obtención de la mayor cantidad de componentes y otras que hablan de que para la mejor extracción del aceite esencial es necesario que el intervalo de tiempo entre el proceso de recolección y el proceso de obtención del aceite sea de diez a treinta horas cuando máximo, tal como lo comentan Patiño y otros en el 2014.

En esta investigación se tomaron las muestras y se realizó la extracción con menos de 24 horas de diferencia, lo que podría indicar que la humedad iba a ser importante por el corto periodo entre un proceso y otro. La humedad que se contiene en las partes de las plantas se obtiene

mayormente del agua absorbida del suelo donde están plantadas, y acá es donde se expone el valor promedio de humedad de la muestra de Bajos del Toro que correspondía a 91,12% promedio anual en base a todos los días de cada mes durante un año completo del mes de feb 2021 al mes de feb 2022, la cual es bastante alta. Dicha variable generó influencia en el extracto final, y no solo en esta muestra sino también en la de Grecia, ya que fue muy difícil eliminar por completo las trazas de agua presentes en el aceite. Sin embargo, la muestra de Bajos del Toro con su humedad muestra haber favorecido los resultados de sus metabolitos secundarios de cierta manera, aunque se puede pensar que también podía haber afectado a que componentes tan importantes, como alfa-pineno, beta-pineno y beta-mirceno se encontraran en muy bajos porcentajes.

Para la última variable, que consistía en velocidad de viento promedio, se puede observar que el promedio obtenido fue únicamente para la muestra de Bajos del Toro, ya que los datos de la localidad de Grecia no fueron brindados por el IMN. Es importante recalcar que la variable del viento no afecta de manera directa a la composición química de la planta, sino más bien expone cierto peligro de daño de las muestras, ya que una fuerte velocidad del viento puede dañar o doblar las ramas de la planta si se encuentra al aire libre, como lo era el caso de la planta de Bajos del Toro, que presentaba una velocidad de viento promedio de: 3,87 m/s, lo cual corresponde a 13, 9554 hm/h, aunque este no representa un valor muy alto, sí es significativo si se considera el tamaño de la planta, ya que puede llegar a dañar la erección de las ramas por el bajo peso que estas presentan y causa de este daño que baje el rendimiento y calidad del aceite si se toman ramas dañadas. Dicha muestra de Bajos del Toro se podía observar levemente doblada hacia el lado derecho (**Figura 27**), lo que puede ser causa del viento que de cierta manera la golpeaba y hacía que sus ramas se doblaran.

Rendimiento de extracción

Este apartado en los resultados se realiza para evidenciar el rendimiento obtenido por parte de las dos muestras de arrastre por vapor, de manera que en comparación con la teoría se pueda observar la diferencia de resultados con respecto a la cantidad de aceite esencial obtenido desde cada muestra.

Tal como se menciona en aceites esenciales aromáticos, 2015, la teoría fundamenta que en promedio 80 gramos de muestra de una planta aromática obtenida por arrastre por vapor, arrojan un resultado de 0,4 g de aceite esencial aproximadamente, por lo cual, si se aplica dicha relación

en las muestras de romero, 100,9510 gramos de muestra de Bajos del Toro se obtendrían 0,5048 gramos de aceite. Mientras que la muestra de Grecia con 100,2130 gr de muestra durante el arrastre proporciona 0,5011 gramos de aceite esencial. Lo que significa que 0,5048% y 0,5011% son los porcentajes de rendimiento teórico calculado para cada una de las muestras de romero obtenidas.

Tabla 19. Cuadro comparativo de gramos de muestra, gramos de aceites y porcentaje de aceite esencial para las muestras de Grecia y Bajos del Toro, obtenidas con arrastre por vapor.

	Gramos de muestra de la planta	Gramos de aceite esencial	% de rendimiento de aceite esencial
Muestra Bajos del Toro	100,9510	0,5048	0,5096
Muestra Grecia	100,2130	0,5011	0,5021

Nota: (Elaboración propia, 2022)

El porcentaje de rendimiento teórico del aceite esencial de romero corresponde a un promedio de 0,88 %, sin embargo, los valores a nivel industrial datan entre el 1 y 2% de rendimiento total. (Manual de Laboratorio, Química de Aromas, 2018). Sabiendo que el porcentaje de rendimiento promedio del aceite esencial de romero corresponde a 0,88%, se puede observar que ambas muestras con valores cercanos al 0,5% de rendimiento teórico, se encuentran por debajo del valor teórico, lo cual evidencia que el rendimiento de las muestras no fue el deseado con respecto a la teoría expuesto en los artículos, ya que como lo indican en el trabajo, no todos los productos botánicos producen suficiente aceite esencial para que sea rentable extraerlo del producto botánico.

Tal como se mencionaba anteriormente, el rendimiento de los materiales vegetales puede variar significativamente, razón que se apoya con la investigación publicada por Ovares, en el 2016, en la que comenta que, para el caso de romero, la hoja suele contener entre 1% a 2,5 % de aceite esencial, cuya composición podrá ser variables entre los diferentes quimiotipos y la etapa de desarrollo de la planta para el momento de recolección. Este rendimiento también puede variar según la metodología que haya sido aplicada durante la extracción y el estado del material vegetal. Por ejemplo, el material vegetal proveniente de hojas y tallos frescos se les suele reportar rendimientos de 0,6%, obtenidos mediante una destilación de arrastre por vapor, lo cual coincide con el rendimiento de las muestras obtenidas en este trabajo de investigación, que respectan a

muestras de hojas y tallos de romero fresco que con un 0,5 % de rendimiento promedio, solo están en desventaja con un 0,1% en comparación a la teoría reportada.

A manera de cierre de este apartado se desea equiparar la información obtenida y dar un entendimiento unificado de lo que fueron los resultados obtenidos.

De manera que se tome en cuenta como la información teórica investigada y los resultados obtenidos a nivel experimental van completamente de la mano, y que una correcta revisión bibliográfica sobre los temas que así lo requieran va a llevar a una metodología y proceso de laboratorio más seguro y confiable. Dicho esto, se puede evidenciar con este trabajo, que ambos métodos de extracción fueron realizados con éxito en el laboratorio, y que tanto el método de extracción con arrastre por vapor, como el método de maceración permitieron identificar metabolitos secundarios presentes en las muestras de aceite esencial de romero obtenidos de este proyecto.

Gracias al análisis mediante cromatografía de gases-masas, se pudo evaluar las muestras de arrastre por vapor de ambas localidades, técnica que arrojó resultados de componentes como el alfa- pineno, beta-pineno, beta-mirceno, 1,8 cineol, 4-terpineol, acetato de bornilo y acetato de geranilo en la muestra de B. Toro, los cuales le otorgaban prioritariamente posibles funciones antibacterianas, anticancerígenas, antioxidantes, anticonceptivas y antidepresivas por su alta incidencia en el sistema nervioso. Por otro lado, la muestra de Grecia presenta mayor porcentaje de los componentes de linalol, alcanfor, isoborneol, alfa-terpineol y verbenona, que le confieren importantes propiedades farmacoterapéuticas como lo es su capacidad antioxidante gracias a la verbenona, su capacidad inmunomoduladora por su pico alto de alcanfor en el cromatograma, y funciones insecticidas importantes.

Las muestras obtenidas por el método de maceración para ambas localidades, fueron posteriormente llevadas a pruebas de identificación de metabolitos secundarios, que mostraron la presencia de fenoles, flavonoides y triterpenos en las cuatro muestras, pero más que todo en las de maceración, lo que indicaba que las dos muestras de maceración presentaban posiblemente funciones antiinflamatorias, antitumorales e incidencia en el tratamiento de la diabetes, por su influencia en la reducción de las enzimas productoras de glucosa.

Es importante mencionar también que a la hora de pensar en el uso de una planta como el romero, se debe estudiar y evaluar cuáles son los métodos de extracción de las propiedades de la planta que se deben llevar a cabo según los intereses específicos de su uso, y que dependiendo de la localidad y las características del lugar donde se encuentren plantadas las muestras a utilizar, es posible que se obtengan resultados variables a causa de estas condiciones que pueden ser determinantes para que unos componentes se encuentren en mayor o menor proporción que otros, como por ejemplo se evidenciaron en esta tesis como lo son la lluvia, la temperatura y la humedad.

Dicho esto, se puede evidenciar con este trabajo que la planta de romero constituye a un material vegetal con una amplia gama de funciones no solo en la industria culinaria y cosmética, sino también en el ámbito de la medicina terapéutica, que si es aprovechada y procesada de la manera correcta se puede sacar gran uso de ella y crear nuevos productos a base de sus aceites u otras formas farmacéuticas, que permitan ayudar a personas con afecciones en salud en las que el romero pueda ser un buen aliado en su mejora.

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

Para este apartado se pretende hacer un cierre a la investigación realizada y los resultados obtenidos de ella, sintetizando los puntos más importantes del trabajo finalizado de manera que se responda a la pregunta inicial y se presente el alcance del proyecto y los límites observados.

- La realización de fichas técnicas informativas es un material de apoyo contundente y de gran peso para el uso responsable de las plantas medicinales, como el romero, ya que permite informar a quien use esta planta sobre las principales cualidades y cuidados a tener, para que su uso sea correcto y se eviten la mayor cantidad de complicaciones posibles en los pacientes que la utilicen con funciones terapéuticas.
- Al llevar a cabo la comparación de los dos métodos de extracción diferentes se demostró que el método de arrastre es más factible si se quieren obtener los metabolitos secundarios más volátiles del aceite esencial de romero, mientras que si se quiere obtener metabolitos menos volátiles se puede realizar el método de maceración que permite la obtención de componentes como flavonoides y fenoles.
- El proceso, periodo de recolección, fraccionamiento, secado y metodología de la extracción influyen directamente en la calidad y el rendimiento del aceite esencial de romero, esto se evidencia por ejemplo en los extractos obtenidos del arrastre, en los cuales la cantidad de humedad era mucha porque la planta estaba fresca (recién recolectada) y no se llevó a un secado con calor antes de la extracción, lo que llevó a obtener extractos con mucha cantidad de agua que debía ser correctamente eliminada para no incidir en los resultados finales.
- El aceite esencial obtenido con arrastre por vapor de ambas localidades contiene sustancias como acetato de bornilo, alcanfor, isoborneol, trans-geraniol, verbenona y otros en común según lo identificado por el análisis de gases masas.
- El método de maceración evidenció mayormente la presencia de flavonoides, triterpenos y fenoles, tanto para la muestra de Grecia como la de Bajos del Toro, que lograron ser identificados mediante pruebas de identificación de metabolitos secundarios.

- La muestra de aceite esencial de Bajos del Toro obtenida por arrastre fue la que presentó los metabolitos secundarios con la mayor posible importancia farmacoterapéutica a causa de que en el análisis gases-masas presentó componentes como alfa-pineno, beta-pineno, beta-mirceno, 1,8 cineol, trans-geraniol, entre otros, los cuales según lo investigado en la literatura posiblemente presentarían importantes funciones antioxidantes, anticancerígenas y antimicrobianas que la hacen perfilarse como la muestra de mayor calidad terapéutica.
- La muestra de Grecia obtenida con arrastre por vapor presentó importantes metabolitos secundarios como el alcanfor, la verbenona y el linalol, a las que se les confieren posibles funciones inmunomoduladoras, y antioxidantes.
- La muestra de maceración según los metabolitos presentes gracias a las pruebas de identificación, muestran que podrían tener una buena actividad antiinflamatoria, antitumoral y propiedades para el tratamiento de la diabetes, que le confieren los flavonoides y polifenoles, funciones que podrían ser confirmadas mediante pruebas de actividad farmacológica.
- La técnica de arrastre en corriente de vapor al igual que la maceración logran separar, de las hojas del romero, metabolitos de interés como flavonoides, terpenos y/o esteroides, y compuestos fenólicos lo que fue evidenciado mediante resultados positivos con las pruebas de las pruebas de Shinoda, Lieberman Burchard y cloruro férrico.
- La cromatografía de gases acoplada a masas constituye una técnica de cuantificación excelente, si se desea llevar a cabo una separación y caracterización de los metabolitos secundarios en un aceite esencial como el de romero, de manera que se puede verificar en dicha tesis con la identificación llevada a cabo por esta técnica en CIPRONA, que permite por medio de picos y porcentajes en el cromatograma, visualizar las cantidades en las que se encuentran los porcentajes mayoritarios de metabolitos secundarios del aceite esencial de romero.
- Las condiciones climáticas en las que crecen las plantas medicinales tiene una posible influencia en su composición química, por lo tanto, en su perfil terapéutico, razón que se puede observar en este trabajo donde según el análisis realizado los

porcentajes en ambas localidades difieren entre sí y se cree posible que su entorno haya influido en los resultados.

- El cultivo de las especies vegetales en condiciones que son óptimas para su crecimiento va a incidir directamente en la calidad y concentración de los componentes que se desarrollan, tal y como se demostró en el contenido de las muestras de arrastre por vapor de ambas localidades, las cuales presentaban distintos porcentajes de componentes entre ellas.
- El aceite esencial de romero según la muestra de B. Toro, obtenida con arrastre por vapor, logra evidenciar que las condiciones de frío, humedad media, y lluvia continua podrían favorecer a la presencia de componentes volátiles en mayor proporción que justificaría su capacidad antioxidante y antimicrobianas.

Recomendaciones

En este apartado se describirán las principales recomendaciones y puntos a tomar en cuenta para obtener mejores resultados y darle seguimiento a la investigación, para beneficio de futuros tesisistas y a la línea de investigación que se debe generar en la carrera de farmacia como parte de nuestro desarrollo como futuros profesionales integrales y críticos.

- Con respecto a la riqueza de los metabolitos secundarios en esta y otras plantas medicinales se recomienda estudiar de manera correcta el lugar de plantación y crecimiento de la planta de interés para así poder aprovechar las características de la planta lo más posible.
- En el caso de romero en Costa Rica, para futuras formulaciones, se recomienda buscar muestras en condiciones climatológicas más frías y húmedas para obtener resultados favorecedores a componentes volátiles, como el caso de Bajos del Toro.
- Para futuras formulaciones de romero, se recomienda analizar el método por el cual se llevará a cabo la obtención del aceite esencial según el objetivo de la formulación, de manera que si se requiere aprovechar mayormente los compuestos volátiles con funciones antioxidantes y anticancerígenas se use el método de arrastre, y si se desea obtener una mayor gama de componentes como alcoholes y flavonoides con funciones antibacterianas y antiinflamatorias se lleve a cabo la extracción del aceite por un método como maceración.
- Para futuras investigaciones se recomienda utilizar más cantidad de material vegetal para llevar a cabo el extracto, ya que esto permitiría la aplicación del aceite obtenido en la creación de una formulación farmacéutica a base de este. También apoyar esta formulación con la realización de pruebas de actividad farmacológica, como la prueba antioxidante, que no fue posible realizar en este trabajo por limitaciones de tiempo, presupuesto y cantidad de muestra, pero que definitivamente podrían ser de gran ayuda para fundamentar lo anteriormente planteado.
- Se recomienda para esta investigación, llevar a cabo una mayor trazabilidad sobre las plantas de romero seleccionadas, de manera que se conozca más ampliamente cuáles variables pueden haber afectado directamente a las plantas y que hayan generado un cambio en los resultados de la composición de estas.
- Para futuras investigaciones, tomar en cuenta en el análisis de las condiciones de crecimiento de la planta, a la variable del suelo, llevar a cabo un estudio de su composición y

comportamiento, de manera que se analice como podría esta variable afectar a los metabolitos secundarios con actividad farmacológica en la planta de romero.

- También en este apartado se desea hacer un llamado e incitar a los otros profesionales relacionados al tema, a que continúen en la investigación del romero y las otras plantas medicinales que se han encontrado o las que aún faltan por estudiar, manteniéndose así en la constante actualización de los datos sobre sus grandes propiedades y usos, y de esta manera se cultive una investigación fluida que contribuya a la ciencia para lograr así el mejor desarrollo posible de esta, tanto en Costa Rica como a nivel mundial.

- Se recomienda también, a la Universidad Internacional de las Américas y a otras universidades nacionales a alentar a los estudiantes a realizar investigaciones a nivel de la medicina natural, para cada vez lograr tener más información de valor sobre este tema y se genere un apoyo por parte de las universidades con respecto a suministro de materiales y equipos que faciliten su estudio y hagan más llevaderos los análisis.

- Dentro de este apartado se hace también referencia a las industrias, para que introduzcan más la medicina natural en sus laboratorios y se promueva su uso, siempre cumpliendo las directrices establecidas y con la responsabilidad y cuidado de las especies que esto amerita.

- Por otra parte, se recomienda a las instituciones de salud, tanto privadas como públicas, que faciliten capacitaciones a sus empleados sobre el uso de las plantas medicinales y los productos que surgen de ellas, de manera que el profesional de la salud conozca bien, tanto los puntos negativos como los positivos sobre el uso de estas plantas y puedan ser usadas de la manera más correcta posible.

- Por último, pero no menos importante, se hace un llamado a la población que utiliza plantas medicinales con fines terapéuticos, para que haya una concientización sensata sobre el uso de estas plantas, sus dosis, efectos secundarios y contraindicaciones, de manera que se entienda que no por ser productos naturales significa que no hay peligro, sino que se conozca sobre el cuidado que hay que tener con estas plantas y promover así su uso responsable y limitado.

REFERENCIAS

- ABC. (2005). Condiciones climáticas en el crecimiento de las plantas. *Obtenido en <https://www.abc.com.py/edicion-impresa/interior/influencia-de-la-lluvia-sobre-el-desarrollo-de-las-plantas-831041.html?msclkid=7c29037ba6f311ecae3ed3794fc790fb>*.
ABC
- Aceites aromáticos. (2015). *Aceites esenciales*. Tripod. Obtenido de <https://aromaticas.tripod.com/Aceites.htm>
- Acevedo, E. (2000). *INTERACCIONES SUELO-AGUA-RAIZ EN EL PROCESO DE ABSORCIÓN DE AGUA POR LAS PLANTAS*. Chile: FAC. AGRON. UNIV. CHILE. Obtenido de <https://bibliotecadigital.ciren.cl/bitstream/handle/20.500.13082/22176/INTERACCIONES%20SUELO-AGUA-RAIZ%20EN%20EL%20PROCESO%20DE.pdf?sequence=1>
- Acosta, L. (2005). *Cultivo de plantas medicinales, su producción agroecológica*. REV CUBANA PLANT MED. Obtenido de <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v10n3-4/pla013-405.pdf>
- Akerele, O. (1993). Las plantas medicinales: un tesoro que no debemos desperdiciar. Foro Mundial de la Salud. (pp. 390-392).
- Ardoino, S., Boreis, M., & Toso, R. (2013). *Caracterización fitoquímica de Prosopis flexuosa var. flexuosa (algarrobo) y Prosopis flexuosa var. depressa (alpataco), plantas con acción farmacológica*. La Pampa: Revista Ciencias Veterinarias, Obtenido de <http://www.biblioteca.unlpam.edu.ar/pubpdf/revet/v15n1a10ardoino.pdf?msclkid=f748bf0ca62311ecaade7925a897161f>
- Arevalo, C., Castillo, B., & Londoño, M. (2013). Mechanical properties of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) stalks. *Agronomía Colombiana*. Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180328569009>
- Avalos, A., & Pérez, E. (2009). *Metabolismo secundario de plantas*. Madrid: Reduca. Obtenido de https://eprints.ucm.es/id/eprint/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf

- Avila, R., Rhode, A., Vera, O., Davila, R., Melgoza, N., & Meza, R. (2011). Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): sus usos no culinarios. *Ciencia y Mar*, XV. Obtenido de <https://biblat.unam.mx/hevila/Cienciaymar/2011/no43/3.pdf>
- Ávila Sosa, R., Navarro Cruz, A., Vera López, O., Dávila Márquez, R., Melgosa Palma, N., & Mesa Pluma, R. (2012). *Romero (Rosmarinus officinalis L.): una revisión de sus usos no culinarios*. Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. Obtenido de <https://biblat.unam.mx/hevila/Cienciaymar/2011/no43/3.pdf>
- Baptista, P. Fernández C, & Hernández R. (2014). *Metodología de la Investigación*. Editorial McGraw Hill.
- Camacho, M., Ramos, D., Ávila, N., Sánchez, E., & López, S. (2020). *The physico-chemical plant defenses and its effect on ruminant feeding*. Chapingo: Scielo. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792020000300443&lang=es
- Campos, G. y Lule, N. (2012). La observación, un método para el estudio de la realidad. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3979972>
- Carballo, M., Cortada, C., & Gadano, A. (2005). *RIESGOS Y BENEFICIOS EN EL CONSUMO DE LAS PLANTAS MEDICINALES*. Buenos Aires, Argentina: CIGETOX - Citogenética Humana y Genética Toxicológica. Departamento de Bioquímica Clínica. Obtenido de <http://www.ubiobio.cl/theoria/v/v15/a10.pdf>
- Ceballos, L. (2013). *El herbolario mágico*. Obtenido de <https://blog.esmadrid.com/blog/es/2013/02/07/el-herbolario-magico/>
- Cevallos. (2022). *Equipo de filtración al vacío*. Quito: Pura Química. Obtenido de <https://labcevallos.com/equipo-de-filtracion-al-vacio/14150>
- CIPRONA. (2022). *Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas de muestras de romero UIA*. Universidad de Costa Rica, CIPRONA, San José, Costa Rica. Obtenido de [file:///C:/Users/NEW%20USER/Desktop/Fabiana%20Hernandez_AE%20Romero_1137-1138-2022%20%20GCMS%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/NEW%20USER/Desktop/Fabiana%20Hernandez_AE%20Romero_1137-1138-2022%20%20GCMS%20(2).pdf)

- Climate Data Org. (2022). *Clima Bajos del Toro (Costa Rica)*. Obtenido de <https://es.climate-data.org/america-del-norte/costa-rica/alajuela/bajos-del-toro-513468/#:~:text=Bajos%20del%20Toro%20es%20una%20ciudad%20con%20precipitaciones,La%20precipitaci%C3%B3n%20es%20de%202827%20mm%20al%20a%C3%B1o.?msclkid=49955ea9a6eb11ec91dac3d6>
- Conrado, M. (2011). *COMPUESTOS FENOLICOS Y EL MEDIO AMBIENTE*. Matanzas, Cuba: Centro de Tecnología Enzimática (CETENZ). Obtenido de <http://monografias.umcc.cu/monos/2009/AGRONOMIA/m09agr9.pdf?msclkid=94ce726da62d11ecb0411fd3e1f7a545>
- Cosmé, I. (2008). El uso de las plantas medicinales . *Revista Intercultural*. Obtenido de https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/8921/tra6_p23-26_2010-0.pdf;sequence=1
- Enrich, M. (2021). *Propiedades de los Flavonoides*. Botanical online. Obtenido de <https://www.botanical-online.com/plantas-medicinales/flavonoides-propiedades-caracteristicas?msclkid=ab1b933fabbb11eca4ab5b33883690d8>
- Farmacia Jaime. (08 de 07 de 2017). *La planta de Romero*. Obtenido de https://farmaciadejaime.es/smartblog/35_romero-historia-usos-medicinales.html
- Flores, E., Saenz, A., Castañeda, A., & Narro, R. (2021). Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios. *Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 23. doi:<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.266>
- Font Quer, P. (1961). *Plantas medicinales: El Dioscorides renovado*. Malaga: Peninsula.
- Fretes, F., & Mendoza, C. (2010). *PLANTAS MEDICINALES Y AROMÁTICAS. UNA ALTERNATIVA DE PRODUCCIÓN COMERCIAL*. Paraguay: USAID. Obtenido de https://www.usaid.gov/sites/default/files/documents/1862/plantas_medicinales.pdf
- Fung, Y., Esther, A., Hendrix, S., Gomez, L., Beenaerts, N., Martinez, C., . . . Cuypers, A. (2020). Assessment of the Antioxidative Potential of *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae)

Irrigated with Static Magnetic Field-Treated Water. *Biological and Applied Sciences*. doi:<https://doi.org/10.1590/1678-4324-2020190142>

Gabriel, M. (2018). *¿Para qué sirve el romero?, 21 beneficios y efectos secundarios*. La guía de las vitaminas. Obtenido de <https://laguiadelasvitaminas.com/para-que-sirve-el-romero/>

Golbert, A. (2010). *El viento y la vida de las plantas*. REDALYC.ORG. Cuyo, Argentina: Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Obtenido de [https://www.redalyc.org/pdf/3828/382837646017.pdf#:~:text=De%20acuerdo%20con%20Woolley%20%281961%29%20el%20viento%20puede,aire%20saturado%20de%20hum b poedad%20de%20la%20superficie%20foliar.](https://www.redalyc.org/pdf/3828/382837646017.pdf#:~:text=De%20acuerdo%20con%20Woolley%20%281961%29%20el%20viento%20puede,aire%20saturado%20de%20hum%20b%20poedad%20de%20la%20superficie%20foliar.)

Gonzales, J. (2019). *LAS IMPLICACIONES DEL VIENTO EN LA PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y LOS PROCESOS DE CULTIVO*. Bogotá: La República. Obtenido de <https://www.agronegocios.co/agricultura/las-implicaciones-del-viento-en-la-produccion-agricola-y-los-procesos-de-cultivo-2877688>

Hernández, A. (2008). Las plantas medicinales. *Revista Biocenosis*. (pp. 20-21).

Hernández-Sampieri, R., & Torres, C. P. M. (2018). *Metodología de la investigación* (Vol. 4). México^ eD. F DF: McGraw-Hill Interamericana.

Hill, D. (2016). *MANUAL DE QUÍMICA DE ACEITES DOTERRA*. Washinton DC: The doTERRA Oil Chemistry Wheel. Obtenido de <https://media.doterra.com/us/es/brochures/essential-oil-chemistry-handbook.pdf>

Instituto Meteorológico de Costa Rica. (2022). Costa Rica: IMN.

International Mycotherapy Institute. (2014). *Importancia terapéutica de los triterpenos en Ganoderma lucidum*. España. Obtenido de <https://imispain.com/publicaciones/triterpenosganodermaalucidum/#:~:text=En%20general%20se%20relaciona%20la%20actividad%20anticancerosa%20con,se%20encuentran%20en%20la%20mayor%C3%ADa%20de%20los%20?msclkid=6ea95dd3a63111ecbad6be08eff33545>

- Kataleya, K. (2014). *BALANCE DE MATERIA EN LA PRODUCCION DE SULFATO DE SODIO*. SCRIBD. Obtenido de <https://es.scribd.com/doc/247985203/BALANCE-DE-MATERIA-EN-LA-PRODUCCION-DE-SULFATO-DE-SODIOo-docx#:~:text=El%20sulfato%20de%20sodio%20anhidro%20tiene%20propiedades%20higroscopicas,celulosa%20y%20como%20aditivo%20en%20la%20fabricacin%20del%20vidrio>.
- Lemes, C., Rodriguez, C., & Acosta, L. (2001). Multiplicación vegetativa de *Rosmarinus officinalis* L. (Romero). *Revista Cubana de plantas medicinales*, 3. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962001000300001
- Lopez, T. (2008). *El romero. Planta aromática con efectos antioxidantes*. ELSEVIER. Obtenido de <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-el-romero-planta-aromatica-con-13124840>
- Luna, J. (2020). *Propiedades y usos medicinales de la planta de Romero*. Farmacia El Javillo. Obtenido de <https://farmaciaseljavillo.com/propiedades-y-usos-medicinales-de-la-planta-de-romero/>
- Manual de Laboratorio, Química de Aromas. (2018). *Extracción de aceites esenciales a través de arrastre con vapor*. Quimicafacil.net. Obtenido de <https://quimicafacil.net/manual-de-laboratorio/extraccion-aceites-esenciales-arrastre-vapor/?msclkid=d3860095a5ae11ec959eff58ba6f2ce4>
- Martínez, A. (2003). *Universidad de Antioquia*. Universidad de Antioquia, Facultad Química Farmacéutica, Medellín. Recuperado de <http://www.med-informatica.com/>
- Miller, R. (2021). *Principales factores que afectan el crecimiento de las plantas*. Obtenido de https://www.ehowenespanol.com/principales-factores-afectan-crecimiento-plantas-info_263449/
- Muñoz Centeno, L. (2002). Plantas medicinales: *Rosmarinus officinalis* (romero). *Popular Music Research Today Revista*, Research Gate.

- Olvera, L. (2019). *Cómo afecta la luz al crecimiento de las plantas?* Lifehacks. Obtenido de <https://luisaolvera.com/cu-l-es-la-mejor-luz-artificial-para-plantas/>
- Ortega, A. O. (2018). *Enfoques de la investigación*. Reserach gate. Obtenido de https://www.researchgate.net/profile/Alfredo-Otero-Ortega/publication/326905435_ENFOQUES_DE_INVESTIGACION/links/5b6b7f9992851ca650526dfd/ENFOQUES-DE-INVESTIGACION.pdf
- Ovares Rodriguez, J. (2016). *Determinación de los rendimientos y caracterización de aceites esenciales por hidrodestilación a partir de Lippia alba y Rosmarinus officinalis*. Universidad de Costa Rica, San Jose. Obtenido de <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/5569/1/40655.pdf>
- Paredes, D. O., & Quinatoa, F. D. (2010). *Desarrollo de un Sistema de Extracción de Aceites Esenciales*. Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Mecánica, Riobamba
- Patiño, L., Saavedra, A., & Martínez, J. (2014). *Extracción por arrastre de vapor de aceite esencial del romero*. Sucre, Bolivia: Ciencias Tecnológicas y Agrarias, Handbook -©USFX. Obtenido de https://www.usfx.bo/nueva/Dicyt/Handbooks/Ciencias%20Tecnol%3gicas%20y%20Agrarias_2/Ciencias%20Tecnol%3gicas%20y%20Agrarias_Handbook_Vol%20II/PAPERS_25/art15.pdf
- Petenatti, M., Del Vito, L., Petenatti, E., Caffini, N., & Marchevsky, E. (2016). *LAS PLANTAS MEDICINALES COMO RECURSOS TERAPÉUTICOS NATURALES*. Argentina: Revista Farm. Obtenido de <http://www.anfyb.com.ar/info/revistas/2017/4-Petenati.pdf>
- Ponce, J., Guadalupe, L., & Arana, C. (2011). ESTUDIO BROMATOLÓGICO DE Rosmarinus officinalis L. Y OBTENCION DEL ACEITE ESCENCIAL. (ISSN, Ed.) *Ciencia e investigación*. Obtenido de <https://core.ac.uk/download/pdf/304895931.pdf>
- Pilco, G. (2015). *OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCION DEL ACEITE DE UNGURAHUA*. Ecuador: Universidad Técnica de Ambato. Obtenido de <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/9366/1/AL%20558.pdf>

- Porru, A. (2021). *¿Qué son los extractos de plantas medicinales?* NOTAS NATURALES. Obtenido de <https://www.notasnaturales.com/extractos-de-plantas-medicinales/>
- Prats, M. S., & Jimenez, A. (2009). Essential Oils GC Analysis. En J. Cazes, *Encyclopedia of Chromatography*. Taylor and Francis Group, LLC.
- Reverchon, E., & De Marco, I. (2010). Essential Oils Extraction and Fractionation Using Supercritical Fluids. En K. H. Baser, *Handbook of Essential Oils: Science, Technology and Applications*. CRC Press.
- Rodríguez, H. (2017). *La utilidad de las plantas medicinales en Costa Rica*. Universidad Nacional de Costa Rica. Obtenido de <https://www.euna.una.ac.cr/index.php/EUNA/catalog/book/193>
- Rodríguez, L., China, A., & Arias, J. (2019). *INFLUENCIA DE LAS VARIABLES CLIMÁTICAS EN LOS PROCESOS FISIOLÓGICOS DEL DESARROLLO DEL CULTIVO DE LA PAPA (SOLANUM TUBEROSUM L.) Y SU RELACIÓN CON EL RENDIMIENTO*. Matanzas, Cuba: CD monografías. Obtenido de <http://monografias.umcc.cu/monos/2019/FCA/mo19248.pdf?msclkid=aed2d95ca67e11ecb7abd2bff8e86963>
- RUA. (2016). *CROMATOGRAFÍA DE GASES*. Obtenido de <https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/8247/4/T3gascromat.pdf?msclkid=b6a7cb39a5c911ec86920e7d3abaabcd>
- Saéz, A. (2018). *De la farmacopea a la cocina: romero*. Cienfuegos. Obtenido de <http://www.5septiembre.cu/de-la-farmacopea-a-la-cocina-romero/>
- Sánchez Gómez, M. C. (2015, abril 7). La dicotomía cualitativo-cuantitativo: posibilidades de integración y diseños mixtos. *Campo Abierto. Revista De Educación*, 1(1), 11-30. Recuperado a partir de <https://mascvuex.unex.es/revistas/index.php/campoabierto/article/view/1679>
- Sarria, R. (2017). *CROMATOGRAFIA DE GASES ACOPLADO A ESPECTROMETRÍA DE MASAS*. Cauca: Research Gate. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/324558249_CROMATOGRAFIA_DE_GASES_ACOPLADO_A_ESPECTROMETRIA_DE_MASAS?msclkid=ccd2f0bea5bb11eca20ddd16366e9dea

- Soria, N., & Ramos, P. (2015). *Uso de plantas medicinales en la Atención Primaria de Salud en Paraguay: algunas consideraciones para su uso seguro y eficaz*. Paraguay: SCIELO. doi:[https://doi.org/10.18004/Mem.iics/1812-9528/2015.013\(02\)08-017](https://doi.org/10.18004/Mem.iics/1812-9528/2015.013(02)08-017)
- Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014). Essential Oils: Extraction, Bioactivities and Their Uses for Food Preservation. *Journal of Food Science*, 79(7).
- Tshilenge, J. (2009). *Steam Extraction of Essential Oils: Investigation of Process Parameters*. Tesis Máster, University of Johannesburg, Departamento de Tecnología de Ingeniería Química, Suráfrica.
- Valverde, P. V. (2016). *Evaluación de las condiciones experimentales para la extracción de aceite esencial de romero para su uso como antioxidante en aceites comerciales*. Escuela de Ingeniería Química, San Jose. Obtenido de <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/4008/1/40654.pdf>
- Vázquez, J. (2019). *Romero: características, hábitat, propiedades, cultivo*. LIFEDER. Obtenido de <https://www.lifeder.com/romero/>
- Velez, B., Meza, P., Moreira, K., Pin, D., Oyervide, A., & Riera, M. (2019). *Obtención de aceite esencial de romero con fines cosméticos*. Portoviejo, Ecuador. doi:[10.33412/pri.v10.1.2170](https://doi.org/10.33412/pri.v10.1.2170)
- XAVI. (2004). *La OMS presenta nuevas directrices para plantas medicinales*. España. Obtenido de <https://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/la-oms-presenta-nuevas-directrices-para-plantas-medicinales.html>

