



Revista EIA
ISSN 1794-1237
e-ISSN 2463-0950
Año XVIII/ Volumen 18/ Edición N.35
Enero-Junio de 2021
Reia35016 pp. 1-11

Publicación científica semestral
Universidad EIA, Envigado, Colombia

**PARA CITAR ESTE ARTÍCULO /
TO REFERENCE THIS ARTICLE /**

Sarria-Villa, R.A.; Gallo-Corredor, J.A.;
Urbano, F. (2021). Caracterización
de los Aceites Esenciales del *Pinus
oocarpa* por Cromatografía de Gases-
Espectrometría De Masas (Gc-Ms)
Aceites Esenciales by Gc-Ms.
Revista EIA, 18(35), Reia35016.
pp. 1-11.
[https://doi.org/10.24050/reia.
v18i35.1341](https://doi.org/10.24050/reia.v18i35.1341)

✉ *Autor de correspondencia:*

Sarria-Villa, R.A. (Rodrigo Andrés):
Ph.D, Departamento de Química,
Universidad del Cauca.
Correo electrónico:
rodrigov@unicauca.edu.co

Recibido: 10-07-2019
Aceptado: 15-12-2020
Disponible online: 26-01-2021

Caracterización de los Aceites Esenciales del *Pinus oocarpa* por Cromatografía de Gases- Espectrometría De Masas (Gc-Ms) Aceites Esenciales by Gc-Ms

✉ RODRIGO ANDRÉS SARRIA-VILLA¹
JOSÉ ANTONIO GALLO-CORREDOR¹
FRANKLY URBANO¹

1. Departamento de Química, Universidad del Cauca

Resumen

En el departamento del Cauca existen más de 1400 hectáreas de bosques de pino, cultivados con fines madereros. La especie *Pinus oocarpa* entre otros es una de las coníferas más cultivadas, su follaje contiene cierta cantidad de aceites esenciales, los cuales son usados en la industria cosmética y farmacéutica principalmente. La extracción de estos aceites se realiza por arrastre con vapor de agua con el fin de obtener las fracciones más volátiles. En este trabajo se realizó la extracción del aceite esencial del follaje de *Pinus Oocarpa* empleando arrastre de vapor de agua. Para la caracterización del aceite, se realizaron pruebas espectroscópicas y fisicoquímicas tales como densidad, índice de refracción, solubilidad y punto de ebullición con el fin de determinar y establecer características del aceite esencial obtenido. Mediante cromatografía de gases con detector FID se determinó el tiempo de retención del α -pineno y finalmente la cuantificación del analito (0.252%), la espectrometría de masas permitió corroborar la presencia de α -pineno en el aceite esencial e identificar otros compuestos presentes.

Palabras Claves: *Pinus oocarpa*, Cromatografía de gases, Aceites esenciales, Follaje.

Characterization of the Essential Oils of the *Pinus oocarpa* by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (Gc-Ms)

Essential Oils by Gc-Ms

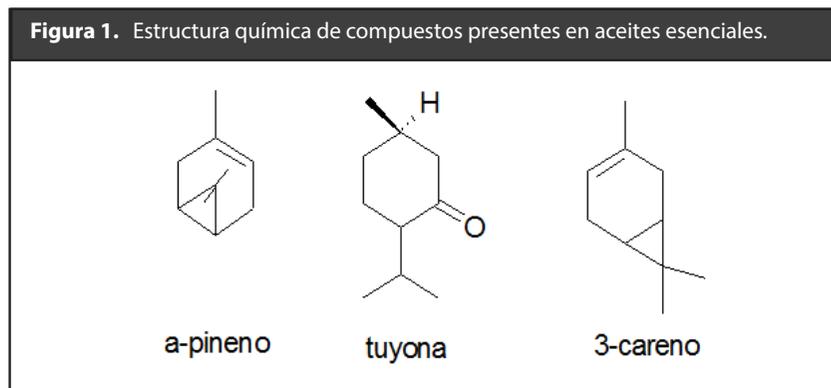
Abstract

In the department of Cauca there are more than 1400 hectares of pine forests, cultivated for wood purposes. The species *Pinus oocarpa* among others is one of the most cultivated conifers, its foliage contains a certain amount of essential oils, which are used in the cosmetic and pharmaceutical industry mainly. The extraction of these oils is done by dragging them with water vapor in order to obtain the most volatile fractions. In this work, the extraction of the essential oil from the foliage of *Pinus Oocarpa* was carried out using water vapor drag. For the characterization of the oil, spectroscopic and physicochemical tests were carried out, such as density, refractive index, solubility and boiling point in order to determine and establish the characteristics of the essential oil obtained. Gas chromatography with an FID detector was used to determine the α -pinene retention time and finally the analyte quantification (3.5%). Mass spectrometry confirmed the presence of α -pinene in the essential oil and identified other compounds present.

Key Words: *Pinus oocarpa*, Gas chromatography, Essential oils, Foliage.

1. Introducción

Tal vez no existe un campo de investigación de mayor importancia en los países subdesarrollados, como el estudio de sus recursos naturales, que nos permitirá centrarnos en la realidad que nos rodea. La utilidad de los procesos técnicos de aislar constituyentes químicos de las plantas, como los estudios de sus fórmulas, estructuras y propiedades químicas, farmacológicas entre otras, permite la inter-relación con disciplinas como bioquímica de plantas y biogénesis de los compuestos naturales, taxonomía química, farmacología, química estructural, uso y aplicación de los compuestos en los procesos industriales, etc. (Quert et al., 2000). Los aceites esenciales (AE) se encuentran muy difundidos en el reino vegetal, principalmente en las fanerógamas, en las que se encuentran repartidas en unas 60 familias, de estos los más importantes son: *Compositae*, *Labiatae*, *Myrtaceae*, *Rosáceae*, *Rutaceae* y *Umbeliferae* (Moshonas et al., 1970). Los AE se utilizan en perfumería, en la fabricación de licores, barnices, pinturas, cremas y productos farmacéuticos. Ellos se encuentran en un determinado órgano vegetal, ya sea en flores, hojas, frutas, semilla, raíces o en toda la planta. En los aceites esenciales encontramos mezclas complejas volátiles cuya composición es de terpenos como α -pineno el cual es mostrado en la figura 1, sesquiterpenos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ácidos y ésteres; junto con otros restos no volátiles constituidos por alcanfores y materiales céreos (Berrio, 1992; Gallo-Corredor et al., 2012).



En Colombia existen varias productoras de papel, algunas de ellas lo fabrican a partir de material reciclado, otras como Smurfit Cartón de Colombia, lo fabrican a partir de madera que proviene de bosques cultivados por sí mismas. En el proceso de tala de estos bosques, los volúmenes que se producen diariamente de residuos son muy grandes, tanto de follaje y corteza. Estos residuos forestales que comprenden la madera subutilizada y los residuos de tala, árboles imperfectos y árboles no comerciales, ya no tienen aplicación alguna. En la mayoría de los casos estos residuos son abandonados en los mismos terrenos de producción, donde se pueden generar incendios, afectando el medio ambiente, o están siendo acumulados en lugares no apropiados y por su elevada humedad son lábiles a diversos procesos de fermentación y descomposición, ocasionando graves problemas de contaminación (Gallo-Corredor et al., 2015).

El *Pinus oocarpa* es un árbol de hasta 25 metros, presenta hojas (acículas) alargadas como agujas en grupos de 5 y pocas veces de 3 a 4 de color verde claro. Su principal producto no maderable es la resina, pero también se extraen aceites esenciales (esencia de trementina) de la resina y de sus hojas. El follaje es obtenido en grandes cantidades considerando que las podas a los árboles se realizan dos veces antes de la operación de tumba y que después de esta operación las hojas son retiradas de los árboles y dejadas en el suelo como desecho (Berrio, 1992). Una alternativa para el aprovechamiento del follaje de las diversas variedades cultivadas en el sector agroforestal es someter dicho material a un proceso de extracción de aceites esenciales que le dé valor agregado, con lo cual se optimizan los recursos forestales con los cuales cuentan las empresas. Lo anterior puede producir efectos económicos favorables, ya que los recursos que antes eran considerados como desecho en el sector forestal, como es el caso del follaje, pueden dar paso a una nueva actividad económica que generaría no solo mayores ingresos al sector forestal, sino empleo constante que garantizaría el incremento en el nivel de vida de las comunidades en donde se encuentran las plantaciones (Teophile, 1997).

2. Materiales y métodos

2.1 Equipos

Se empleó un equipo de cromatografía de gases Hewlett Packard serie 6890 con detector de ionización de llama, una columna capilar HP-INOWax (Polyethylene Glycol) 19091N-102, un espectrómetro de masas Hewlett Packard serie HP 5973, un ultrasonido Branson 1510, un refractómetro ABBE MARK II (Digital refractometer model 10480), una estufa ACEB de 1000 W.

2.2 Reactivos y materiales

Se emplearon estándares de α -pineno al 97.1% y geraniol (Estándar interno) al 98%, hexano, metanol, etanol, éter etílico, tetracloruro de carbono, disulfuro de carbono, sulfato de sodio anhidro marca Merk y los gases de helio, nitrógeno e hidrógeno de AP Aga. Balanza analítica mettler AE200, con cuatro cifras significativas, filtros de nitrocelulosa para jeringa Acrodisc 0.45 μ m, jeringa para Cromatografía de Gases, Hamilton de 10.0 μ L (\pm 0.1), septa de PTFE/goma Supelco.

2.3 Metodología

Toma de muestras reales

La investigación se realizó con hojas recolectadas en la Finca "San Benito" municipio de Cajibío al norte del Cauca. Plantación experimental con una edad de 19 años, perteneciente a Smurfit Cartón de Colombia y manejadas por la Cooperativa Agroforestal del Cauca (Cootraforc). El tipo de bosque de estudio clasificado como mesofítico, altitud de 1840 msnm, latitud de 2° 31' Norte, longitud de 76° 35'; temperatura de 15 a 25 °C, vientos ligeros o tormentas, humedad del 60%, precipitación mayor a los 2000 mm, un promedio de 4 meses sin lluvia y 12 horas de luz diurna (Cooperativa agroforestal del Cauca, Cootraforc). La muestra de follaje fue recolectada de forma aleatoria en sacos de polipropileno. Teniendo en cuenta que el follaje de *Pinus oocarpa* presentara características físicas similares. La cantidad de muestra recolectada fue de aproximadamente 20 Kg por cada ensayo usándose una cantidad final de 700 g. Esta se guardó en un lugar fresco y seco, para evitar el crecimiento de hongos y deterioro del follaje.

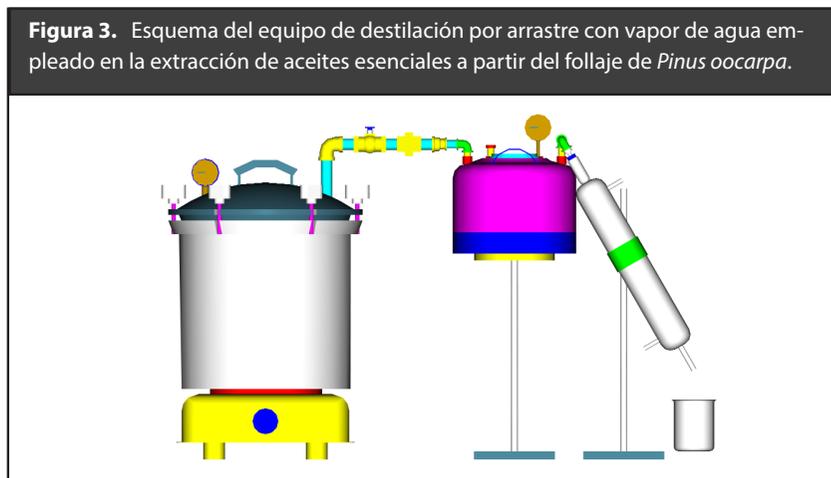
Figura 2. Muestra de follaje de *Pinus Oocarpa*.



Obtención del aceite esencial de *Pinus oocarpa*

El método de extracción utilizado en este estudio fue el de destilación por arrastre con vapor de agua. El equipo de destilación se preparó con antelación para cualquier extracción. Primero se debe calentar el calderín hasta que alcance una presión de 25 psi, luego la muestra de follaje de *Pinus oocarpa* previamente pesada se introduce en el recipiente para muestras y se abre la válvula manual hasta que la presión en dicho

recipiente sea de no más de 1 psi, trabajando a una temperatura promedio de 90 oC y controlando el goteo del destilado. En la figura 3 se presenta el esquema del equipo de destilación empleado.



Propiedades fisicoquímicas

Cada muestra de AE se separó del agua por decantación, luego el AE se diluyó en éter etílico, se secó con sulfato de sodio anhidro y se filtró, en campana de extracción se evaporó el solvente a temperatura ambiente por 24 horas o hasta que no se percibiese olor a éter etílico. Todas las muestras de AE se mantienen a 5 oC en refrigerador. La densidad se midió en un picnómetro con capacidad para 1.0 mL de agua y se procedió a calcular de forma matemática el valor presentado por el aceite. El índice de refracción se midió con una gota de AE en un refractómetro ABBE MARK II a 25 oC. Se probó la solubilidad de 0.5 mL de aceite esencial en etanol al 95% y 50%, n-Hexano, cloroformo, éter etílico, metanol y disulfuro de carbono y se determinó su punto de ebullición (Martinez, 2003; Dominguez, 1973).

Análisis espectroscópico

Los equipos utilizados para el estudio espectroscópico del aceite esencial fueron un equipo UV-VIS Intralab 2000, utilizando hexano de grado analítico y un equipo infrarrojo IR Thermo-IR 200, usando pastillas de KBr.

Determinación cromatográfica GC-MS

Para la determinación se fijaron las condiciones óptimas de trabajo tales como volumen de inyección de 0.2 μ L, flujo del gas de arrastre (He) de 0.5 mL/min, temperatura del inyector de 220 °C, temperatura del detector FID de 230 °C, modo Split 3:1, programa de temperatura del horno desde 50°C por 4 min, un incremento de 10°C/min hasta 220°C y mantenido por 2 min a esta temperatura. La corroboración de los compuestos de interés se realizó por medio del detector de espectrometría de masas con modo de ionización de impacto electrónico a 70 eV. Un scanner del rango de masas entre 50 y 500 m/z. Al espectrómetro de masas se le realizó tuning empleando perfluorotributilamina PFTBA y los espectros de masas de las muestras de

aceite esencial fueron corroborados usando la biblioteca Wiley instalada junto con el software del equipo.

Estandarización de la metodología analítica

Se preparó una solución estándar de referencia de 1000 ppm a partir de 11.32 μL de α -pineno y se diluyó con n-hexano en un balón aforado de 10.0 mL. También se preparó una solución estándar de referencia para el patrón interno de 1000 ppm, midiendo 11.39 μL de geraniol y diluyéndolos con n-hexano hasta 10.0 mL en un balón aforado. Se prepararon soluciones por dilución del estándar de referencia, con el fin de obtener un rango de concentraciones de 1 a 10 ppm y de 10 a 100 ppm del compuesto objeto de estudio (α -pineno). La concentración de patrón interno en la curva de 1-10 ppm fue de 20 ppm y en la curva de 10-100 ppm fue de 100 ppm. Estas soluciones se inyectaron tres veces, por cada concentración y a partir de los datos obtenidos de las áreas y sus respectivas concentraciones, se trazaron las curvas correspondientes. Los datos obtenidos de esta manera, se utilizaron para hallar el rango de linealidad del método y la sensibilidad del mismo por medio del límite de detección y cuantificación.

Validación del método

Para el método cromatográfico se evaluó linealidad, la precisión en cuanto a repetitividad y reproducibilidad. Se evaluó la exactitud teniendo en cuenta la recuperación del patrón interno usado y la sensibilidad fue evaluada en cuanto a límite de detección y cuantificación.

Composición de los aceites esenciales de *Pinus Oocarpa*

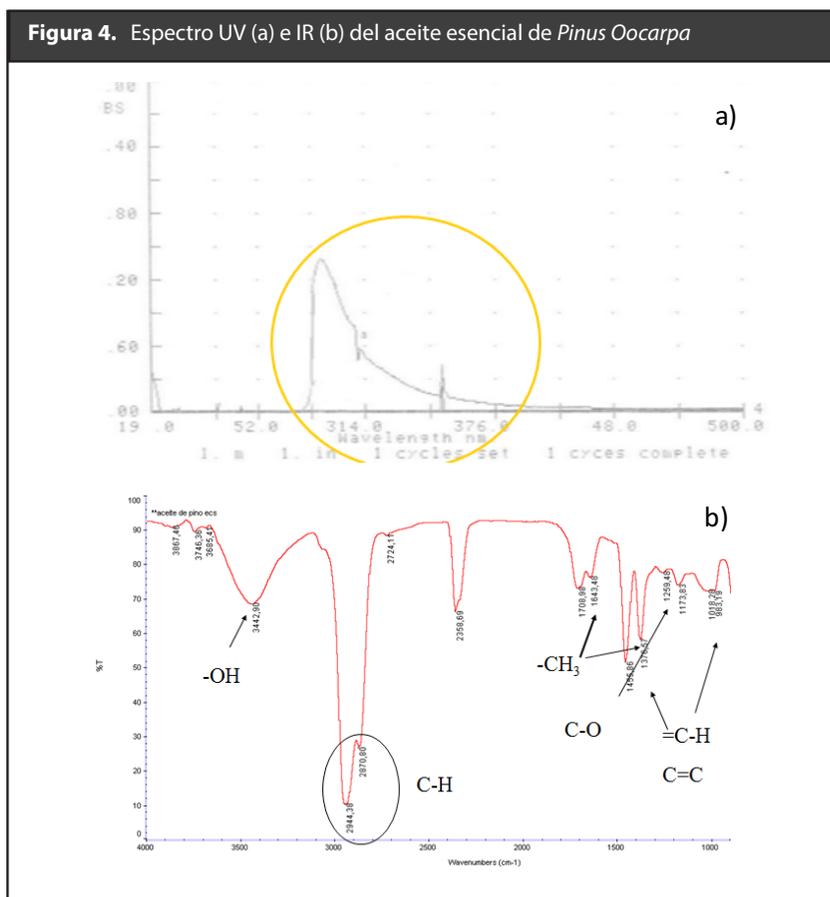
De acuerdo a las condiciones cromatográficas estandarizadas y validadas se analizó la composición de los aceites esenciales de *Pinus Oocarpa* empleando cromatografía de gases con detector FID y su corroboración mediante GC-MS.

3. Resultados y discusión

3.1 Obtención del aceite esencial y caracterización

El aceite esencial obtenido a partir del follaje de *Pinus Oocarpa* fue purificado para determinar sus propiedades fisicoquímicas. El aceite esencial presentó una densidad de 0.894 g/mL, un índice de refracción de 1.497, un punto de ebullición de 160 °C y un color amarillo claro. El aceite esencial no presentó solubilidad en agua y una solubilidad baja en etanol, etanol al 50% y etanol al 95%. Presentó alta solubilidad en cloroformo, etílico y hexano. El análisis en ultravioleta visible dio como resultado una banda, para transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ las absorbancias se encontraron dentro de una región espectral experimentalmente accesible (200 a 700 nm), transiciones que requieren la presencia de grupos funcionales no saturados que aporten electrones π (Skoog et al., 2001). El espectro ultravioleta presentó una banda de absorción a 298

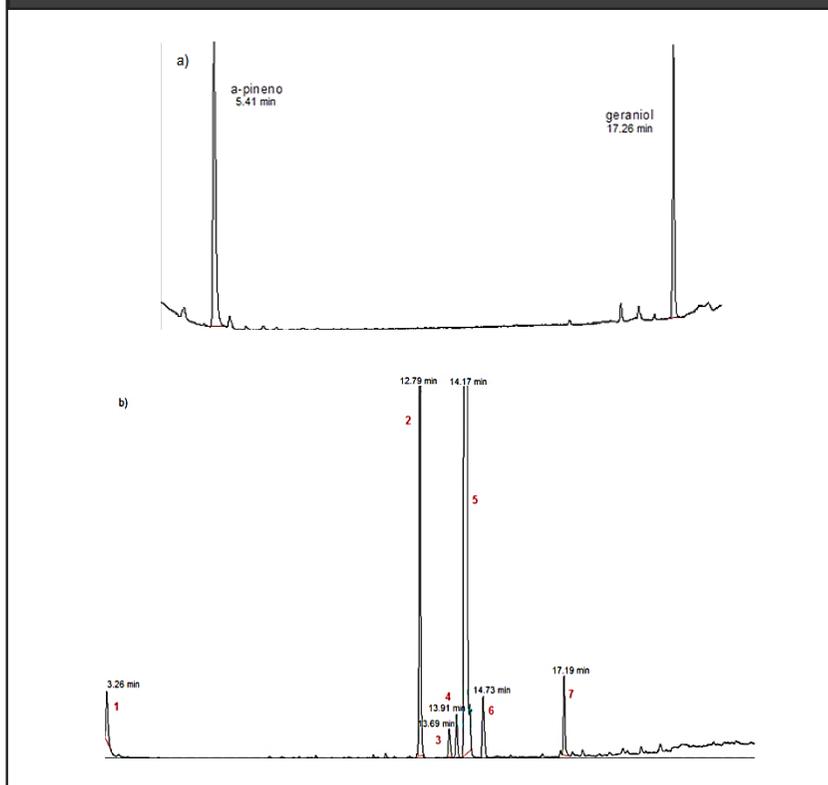
nm, que se puede atribuir a transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ debidas a la presencia de cromóforos orgánicos tales como dobles enlaces conjugados y/o carbonilos alifáticos. El espectro de absorción molecular al IR, brinda una información muy general de los principales grupos funcionales que se encuentran presentes en el aceite esencial; a continuación se relacionan las principales absorciones. Existen dos bandas de tensión de C-H, a $2944,38 \text{ cm}^{-1}$ que se atribuyen a vibración asimétrica y otra a $2870,80 \text{ cm}^{-1}$ correspondiente a tensión simétrica de metilos. Una pequeña banda a $2724,11 \text{ cm}^{-1}$ representa absorción molecular de cicloalcanos. Las bandas de $1643,48 \text{ cm}^{-1}$ y $1376,57 \text{ cm}^{-1}$ corresponden al movimiento asimétrico de flexión de metilos y flexión simétrica respectivamente. Siendo la ultima la más valiosa para confirmar grupos metilos (Calderon, 1985). La flexión simétrica en el plano de metilenos (C-H) o tijeeteo, se observa a $1455,86 \text{ cm}^{-1}$, esta señal puede a su vez corresponder a estiramiento C=C. También el balanceo C - H de metilenos o de flexión fuera del plano de =C-H, se observa con una señal a $1018,28 \text{ cm}^{-1}$. Una banda ancha a $3442,90 \text{ cm}^{-1}$ nos indica la tensión de O-H asociado, en la región de $1259,48 \text{ cm}^{-1}$ aparece otra banda de tensión de C-O de alcoholes y éteres y a $551,68 \text{ cm}^{-1}$ una vibración fuera del plano de O-H se hace evidente. Por ultimo a $1708,98$ una banda solapada con la señal de tensión de metilos, se debe al estiramiento de enlace C=O. En la figura 4 se presentan los espectros ultravioleta e infrarrojo para la muestra de aceites esenciales.



3.2 Determinación cromatográfica

La elección de la columna cromatográfica se realizó de acuerdo con la composición de la muestra a separar, puntos de ebullición, estructura, entre otros, generalmente en la separación de aceites esenciales se utilizan columnas de polietilenglicol entrecruzado (Xiao, Z et al., 2016; Xiao, Z et al., 2017). Se seleccionó la columna HP-INOWax (Polyethylene Glycol) para el análisis de aceites esenciales por su capacidad de retener y separar de manera eficiente los compuestos de interés. Se realizó la curva de Van Deemter para determinar el flujo óptimo del gas de arrastre para la columna HP-INOWax usando α -pineno en hexano como referencia, donde se pudo observar que el flujo de trabajo se encuentra entre 0.2 a 0.6 mL/min aproximadamente. La rampa de temperatura permitió una correcta separación de los componentes de la muestra. Para el análisis de aceites esenciales se usó un volumen de inyección de 10 μ L y helio como fase móvil. Bajo estas condiciones cromatográficas, se inyectó una muestra patrón de α -pineno y geraniol, cuyo cromatograma se observa en la figura 5 a). En este cromatograma se puede apreciar la buena resolución del pico y el tiempo de análisis. En la figura 2 b), se puede observar el cromatograma del análisis de aceites esenciales de la muestra vegetal tomada en el sitio de muestreo.

Figura 5. Cromatograma de α -pineno y geraniol a las condiciones óptimas de trabajo (a), Cromatograma de muestra de *Pinus oocarpa* del sitio de muestreo (b)



3.3 Validación del método

Se realizaron dos (2) curvas de calibración con rangos de concentración de 1 a 10 ppm ($y=2.0486x-0.0774$) y de 10 a 100 ppm ($y=1.4241x+0.0139$) con coeficientes de determinación r^2 de 0.9932 y 0.9941 respectivamente. Los coeficientes de deter-

minación obtenidos (valores próximos a 1), demuestran la linealidad que presenta el analito de estudio dentro del rango de las concentraciones trabajadas. La respuesta lineal se ve representada con la respuesta del instrumento en el eje vertical (y) y la concentración estándar sobre el eje horizontal (x), donde el coeficiente de correlación cercano a 1 indica la relación lineal entre concentración y la señal del equipo. Se puede observar también la disminución de los valores de pendiente para las dos curvas construidas, indicando que la sensibilidad del método se ajusta mucho mejor para valores de concentración más bajos, en este caso de 1.0 a 10 ppm. Las inyecciones en el cromatógrafo fueron hechas por triplicado, con el fin de validar el método. Para calcular el límite de detección, se utilizaron los datos de la curva de calibración que contiene los rangos de concentración más bajos; de 1.0 a 10 ppm de α -pineno, y cada punto se inyectó por triplicado. Con este rango de concentraciones se realizó el cálculo de la mínima concentración detectada de α -pineno, teniendo en cuenta la señal del blanco (Y_n) y 3 veces la desviación estándar del blanco (S_n) para límite de detección y 10 veces para el límite de cuantificación. El límite de detección para el α -pineno fue de 0.14 ppm y el mínimo valor cuantificable fue de 0.48 ppm, lo cual indica una buena sensibilidad para determinar este compuesto. Para la evaluación de la precisión se obtuvieron valores de RSD para repetitividad y reproducibilidad para las curvas de 1 a 10 ppm y de 10 a 100 ppm con valores entre (0.77 y 4.29%), (0.59 y 4.93%) y (0.37 y 2.22%), (0.68 y 2.81%) respectivamente. La desviación estándar relativa no sobrepasa el valor estipulado que es del 5%, criterio de aceptación para el análisis de α -pineno. La exactitud se determinó evaluando la recuperación de concentraciones de α -pineno en los rangos de 1.0–10 y 10–100 ppm, las cuales se inyectaron por triplicado para obtener un porcentaje de recuperación promedio R . La t de student (t_{obt}) se realizó con el fin de establecer la exactitud del método analítico. Para que la exactitud exista, es necesario que el t_{obt} sea menor que el t_{tabla} . Este último valor se tomó teniendo en cuenta un t_{tabla} de 2.306, $n-1$ grados de libertad y 95% de confianza. En el proceso de extracción, las muestras a tres (3) concentraciones diferentes de α -pineno: 4.0, 10 y 60 ppm, y luego de la extracción, cada concentración se inyectó en el cromatógrafo por triplicado. Se obtuvieron porcentajes de recuperación entre el 90 y el 100%, con un valor promedio de 95.55 ($t_{obt}=1.670 < t_{tabla}=2.306$), demostrándose así la relación del porcentaje de recuperación con la concentración que da la señal respecto al α -pineno extraído y comprobando la validez de la técnica de extracción.

3.4 Análisis cromatográfico de muestras de *Pinus oocarpa*

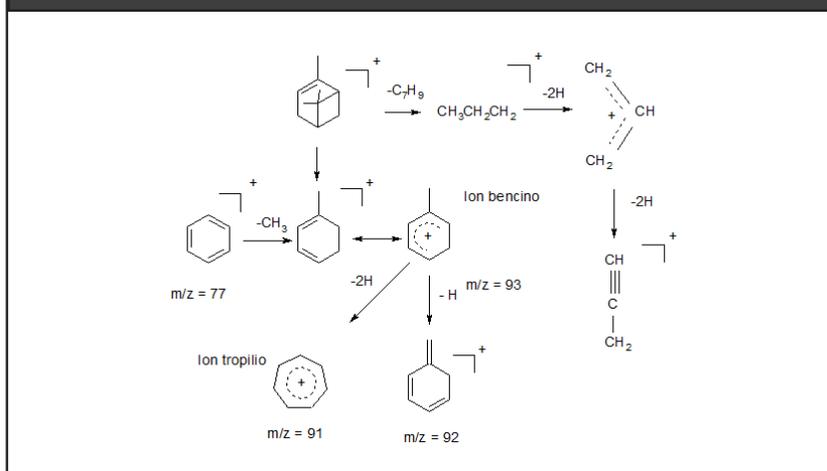
Las muestras de aceite esencial obtenidas fueron filtradas con filtros de 0.45 μ m de poro para eliminar impurezas. Con el fin de comprobar la efectividad de la técnica establecida, la muestra se inyectó por triplicado en el cromatógrafo de gases. El método cromatográfico validado permitió cuantificar el α -pineno presente en el aceite esencial del follaje de *Pinus Oocarpa*, encontrándose en una proporción del 0.252%. El empleo de la espectrometría de masas permitió la corroboración de la presencia de alfa pineno en el aceite esencial y realizar una estimación porcentual del alfa pineno y otros terpenos presentes en la muestra. En la tabla 1 se presentan los contenidos porcentuales de compuestos analizados por GC-MS.

Tabla 1. Composición porcentual del aceite esencial de *Pinus oocarpa* por GC-MS

Pico No.	Compuesto	Tiempo de retención (min)	% áreas
1	α -pineno	3.26	3.49
2	Cariofileno	12.72	12.60
3	Sesquiterpeno	13.69	2.46
4	Sesquiterpeno	13.91	1.70
5	Sesquiterpeno	14.71	74.10
6	Sesquiterpeno	14.73	4.29
7	Sesquiterpeno	17.19	1.29

En la tabla 1 se puede observar la presencia de α -pineno, cariofileno y 5 sesquiterpenos presentes en la muestra de aceite esencial en estudio.

Figura 6. Fragmentación del α -pineno.



En la figura 6 se puede observar el patrón de fragmentación del α -pineno, presentando patrones de fragmentación importantes para formar los iones bencino ($m/z=93$), tropilio ($m/z=91$) con relaciones masa/carga que permitieron corroborar su estructura molecular y presencia en el aceite esencial de *Pinus oocarpa*.

4. Conclusiones

Los resultados obtenidos demostraron que las condiciones de extracción empleadas, permitieron alcanzar un rendimiento promedio de 0.179%, reduciendo así, los gastos de agua y energía eléctrica. El análisis espectroscópico por ultravioleta-visible e infrarrojo permitió identificar la presencia de grupos funcionales característicos. El método cromatográfico estandarizado y validado permitió cuantificar el alfa pineno (0.252%) en el aceite esencial estudiado. La espectrometría de masas permitió corroborar la presencia del α -pineno en el aceite y la presencia de otros terpenos. Se encontró que el componente mayoritario del aceite esencial del follaje de *Pinus oocarpa* es el sesquiterpeno 1H-ciclopenta-1,3-ciclopropa-1,2-benceno octahidro con un 74.0 % de abundancia, seguido de cariofileno (12,7%) y el α -pineno (3.50%).

Agradecimientos

Los autores agradecen a Colciencias, al Departamento de Química y a la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad del Cauca, Popayán-Cauca-Colombia por el apoyo brindado en la realización de este trabajo.

Referencias

- Berrio, J. 1992. Los pinos y la reforestación en Colombia, Revista. Bosques y Futuro. 8-10.
- Calderón, C.E. 1985. Manual para la interpretación de espectros de infrarrojos. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá D. C.
- Dominguez, X. 1973. Métodos de Investigación Fitoquímica, 1er Ed. Limusa. México. Pág. 231.
- Gallo-Corredor, J.A; Sarria-Villa, R.A; Palta, J.C. 2012. Comparación de la Producción resinera de dos especies de pino cultivadas en el municipio de Cajibío, Departamento del Cauca, Colombia. Journal de Ciencia e Ingeniería 4 (1), 37-42. Disponible en: <https://jci.uniautonoma.edu.co/2012/2012-6.pdf>. Consultada: 05/05/2019.
- Gallo-Corredor, J.A, Sarria-Villa, R.A; Moreno, P.A. 2015. Caracterización del follaje de *Pinus patula* como materia prima para la extracción de aceites esenciales. Journal de Ciencia e Ingeniería 7 (1), 54-58. Disponible en: <https://jci.uniautonoma.edu.co/2015/2015-8.pdf>. Consultada: 05/06/2019.
- Martinez, A. 2003. Aceites Esenciales. Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia. Medellín. Disponible en: http://www.med-informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA_esencias2001b.pdf. Consultada: 08/06/2019.
- Moshonas, M.G. y Luna, E.D. 1970. The Flavor Industry, Haylen & Son. 90-94.
- Quert, A.R; Martínez, J; Galabert, F. 2000. Contenido del aceite esencial en el follaje de *Pinus Caribea Morelet* en función de la edad del árbol. Universidad de la Habana, Revista Cubana de Farmacia. 34(2). 125-128. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/far/v34n2/far07200.pdf>. Consultada: 12/01/2019.
- Skoog, D. Holler, J y Nieman, T. 2001. Principios de análisis instrumental. 5ta Ed. Mac Graw Hill, Madrid. p 777.
- Teophile, K. 1997. Bosques y empleos, Arista inexplorada, Revista Bosques y Futuro. p 12.
- Xiao, Z; Niu, Y; Wu, M; Liu, J; Ma, S. 2016. Characterization of odor-active compounds of various *Chrysanthemum* essential oils by gas chromatography-olfactometry, gas chromatography-mass spectrometry and their correlation with sensory attributes. Journal of Chromatography B. 152-162. doi: 10.1016/j.jchromb.2015.12.029.
- Xiao, Z, Chen, J, Niu, Y; Chen, F. 2017. Characterization of the key odorants of fennel essential oils of different regions using GC-MS and GC-O combined with partial least squares regression. Journal of Chromatography B. 226-234. doi: 10.1016/j.jchromb.2017.07.053.