

UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCAMELICA

(Creada por Ley N° 25265)



FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE AGROINDUSTRIAS

TESIS

"ESTUDIO DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA (*Minthostachys mollis*) POR CROMATOGRFIA DE GASES - ESPECTROMETRIA DE MASAS EN TRES NIVELES ALTITUDINALES DEL DISTRITO DE HUANDO"

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

CIENCIA Y TECNOLOGIA DE LOS PRODUCTOS AGROINDUSTRIALES

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERO AGROINDUSTRIAL

PRESENTADO POR EL BACHILLER:
HUAMANI QUINTE, William

ACOBAMBA - HUANCAMELICA
2015

ANEXO 6

ACTA DE SUSTENTACION O APROBACION DE UNA DE LAS MODALIDADES DE TITULACION

En la Ciudad Universitaria "Común Era"; auditorio de la Facultad de Ciencias Agrarias, a los 20 días del mes de Mayo del año 2015, a horas 11:30 am , se reunieron; el Jurado Calificador, conformado de la siguiente manera:

PRESIDENTE : Mg.Sc.Ing. Efraín David ESTEBAN NOLBERTO

SECRETARIO : Ing. Alfonso RUÍZ RODRÍGUEZ

VOCAL : Ing. Rafael Julián MALPARTIDA YAPIAS

ACCESITARIO : Mg.Sc.Ing. Frank Fluker VELASQUES BARRETO

Designados con resolución N° 099-2013-CF-FCA-UNH; del: proyecto de investigación. Titulado:

"ESTUDIO DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA (*Minthostachys mollis*) POR CROMATOGRAFÍA DE GASES - ESPECTROMETRÍA DE MASAS EN TRES NIVELES ALTITUDINALES DEL DISTRITO DE HUANDO"

Cuyo autor es el graduado:

BACHILLER: William, HUAMANI QUINTE.

A fin de proceder con la evaluación y calificación de la sustentación del: proyecto de investigación antes citado.

Finalizado la evaluación; se invitó al público presente y al sustentante abandonar el recinto; y, luego de una amplia deliberación por parte del jurado, se llegó al siguiente el resultado:

APROBADO



POR.....MAYORIA.....

DESAPROBADO



En conformidad a lo actuado firmamos al pie.

Mg.Sc.Ing. Efraín David ESTEBAN NOLBERTO

PRESIDENTE

ING. Alfonso RUÍZ RODRÍGUEZ

SECRETARIO

Mg.Sc.Ing. Frank Fluker VELASQUES BARRETO

VOCAL

ASESOR:

Ing. Virgilio, VALDERRAMA PACHO

COASESOR:

Ing. Joseph Obed RICALDI SARAPURA

DEDICATORIA

*A dios por haberme permitido
nacer en el seno del hogar más
hermoso, fundamentado en el
respeto, el amor y la unión de
la familia HUAMANI
QUINTE.*

AGRADECIMIENTO

- A la Universidad Nacional de Huancavelica, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela Académico Profesional de Agroindustria, por haberme cobijado en su recinto universitario durante mi formación profesional.
- A mis padres que me forjaron e inculcaron dedicación para poder llegar a ser profesional.
- A los docentes de la Facultad de Ciencias Agrarias Escuela Académico Profesional de ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Ciencias Agrarias, por sus enseñanzas y consejos que forjaron en mí, que fueron pilares fuertes en mi desarrollo profesional.
- A mis asesores de tesis: Ing. Virgilio Valderrama Pacho y Joseph Obed Ricaldi Sarapura por brindarme su apoyo en la ejecución del presente trabajo de investigación.
- A la Universidad Nacional Del Centro del Perú – Huancayo, por facilitarme en la identificación botánica de la muña.

INDICE

Portada	
Hoja de asesor	
Dedicatoria	
Agradecimiento	
Resumen	
Introducción	
CAPITULO I: PROBLEMA	16
1.1. Planteamiento del problema	16
1.2. Formulación del problema	17
1.3. Objetivo de la investigación	17
1.3.1. Objetivo general	17
1.3.2. Objetivos específicos	17
1.4. Justificación	17
CAPITULO II: MARCO TEORICO	19
2.1. Antecedentes	19
2.2. Bases teóricas	22
2.2.1. Principio activo de las plantas medicinales	22
2.2.2. Muña (<i>Minthostachys mollis</i>)	22
2.2.2.1. Taxonomía	23
2.2.2.2. Características botánicas de la muña (<i>Minthostachys mollis</i>)	24
2.2.2.3. Tipos de la muña (<i>Minthostachys mollis</i>)	25
2.2.2.4. Propiedades y usos de la muña (<i>Minthostachys mollis</i>)	25
2.2.3. Generalidades del aceite esencial	26
2.2.3.1. Definición del aceite esencial	26
2.2.3.2. Composición química de los aceites esenciales	26
2.2.3.3. Biosíntesis de terpenoides y fenilpropanoides	28
2.2.3.4. Propiedades físicas del aceite esencial	29
2.2.3.5. Aplicaciones de los aceites esenciales	29

- 2.2.3.6. Extracción de los aceites esenciales..... 30
- 2.2.3.7. Hidrodestilacion..... 30
- 2.2.3.8. Destilación con agua y vapor..... 30
- 2.2.3.9 Destilación por arrastre de vapor..... 31
- 2.2.3.10. Hidrodestilacion asistida por la radiación de microondas..... 31
- 2.2.3.11. Expresión..... 31
- 2.2.3.12. Extracción por enflorado..... 32
- 2.2.3.13. Extracción por fluidos supercríticos..... 32
- 2.2.4. Aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*)..... 33
 - 2.2.4.1. Características fisicoquímicas del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) según morales..... 33
 - 2.2.4.2. Composición química del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*)..... 33
- 2.2.5. Purificación de aceites esenciales..... 33
 - 2.2.5.1. Deshidratación..... 33
 - 2.2.5.2. Desterpenación..... 33
- 2.2.6. Análisis instrumental de aceites esenciales..... 34
- 2.2.7. Cromatografía de gases (CG)..... 34
- 2.2.8. Espectrometría de masas (MS)..... 35
- 2.2.9. Acoplamiento cromatografico de gases – espectrometría de masas..... 36
- 2.3. Hipótesis planteada..... 38
- 2.4. Definición de términos..... 38
- 2.5. Identificación de variables..... 38
 - 2.5.1. Variable independiente..... 38
 - 2.5.2. Variable dependiente..... 38
- CAPITULO III: MARCO METODOLÓGICO..... 39**
 - 3.1. Ámbito de estudio..... 39
 - 3.2. Tipo de investigación..... 40
 - 3.3. Nivel de investigación..... 40
 - 3.4. Método de investigación..... 40

3.5. Diseño de investigación.....	40
3.5.1. Descripción del proceso de extracción del aceite esencial de muña.....	42
3.5.2. Análisis instrumental por CG – SM.....	43
3.6. Población muestra y muestreo.....	44
3.6.1. Población.....	44
3.6.2. Muestra.....	44
3.6.3. Muestreo.....	44
3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	44
3.8. Procedimiento de recolección de datos.....	46
3.8.1. Identificación de puntos de colecta del material biológico.....	46
3.8.2. Análisis Geo referencial de recolecta de muestra.....	46
3.8.3. Determinación de la humedad de la muestra.....	46
3.8.4. Extracción del aceite esencial de muña (<i>Minthostachys mollis</i>), por el método de fluido de arrastre hidrotérmico.....	47
3.8.5. Determinación del rendimiento del aceite esencial.....	47
3.8.6. Determinación de características físico – químicas.....	47
3.8.7. Determinación e identificación de compuestos bioactivos del aceite esencial de muña, según el análisis instrumenta de CG-SM	48
3.9. Técnicas de procesamiento y análisis de datos.....	49
3.9.1. Análisis de ubicación de posicionamiento global (GPS).....	49
3.9.2. Análisis de los compuestos bioactivos del aceite esencial de muña mediante el análisis instrumental de CG-SM.....	49
CAPITULO IV: RESULTADOS.....	50
4.1. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS.....	50
4.1.1. Georeferencia de zona de recolección de muestra.....	50
4.1.2. Característica general del material recolectado.....	52
4.1.3. Extracción del aceite esencial de muña (<i>Minthostachys mollis</i>).....	54
4.1.4. Características físico químicas del aceite esencial de muña.....	55
4.1.5. Determinación e identificación de compuestos bioactivos del aceite esencial de muña (<i>Minthostachys mollis</i>) de los tres niveles altitudinales, según el análisis	

instrumental de CG-SM.....	58
4.2. DISCUSIÓN.....	72
4.2.1. Tratamiento de la humedad del material biológico.....	72
4.2.2. Análisis del rendimiento del aceite esencial.....	73
4.2.3. Análisis de la densidad relativa del aceite esencial.....	73
4.2.4. Análisis del índice de refracción del aceite esencial.....	74
4.2.5. Análisis del índice de acidez del aceite esencial.....	75
4.2.6. Comparación de los resultados obtenidos por el análisis de CG-SM.....	75
Conclusiones.....	81
Recomendaciones.....	82
Referencia Bibliográfica.....	83

ÍNDICE DE TABLAS

N°		Página
01	Clasificación de terpenos	27
02	Industrias usuarias de productos aromáticos naturales y aceites esenciales	29
03	Tabla de métodos, técnicas e instrumentos de datos	44
04	Tabla de procedimiento de recolección de datos	45
05	Metodología de determinación de características físico-químicas del aceite esencial	48
06	Georeferencia de zona de recolección de la muestra Nivel 1.	50
07	Georeferencia de zona de recolección de la muestra Nivel 2.	50
08	Georeferencia de zona de recolección de la muestra Nivel 3.	50
09	Característica general del material recolectado Nivel 1.	52
10	Característica general del material recolectado Nivel 2.	52
11	Característica general del material recolectado Nivel 3.	52
12	Porcentaje de humedad en tejido deshidratado	53
13	Reporte del rendimiento del aceite esencial de (<i>Minthostachys mollis</i>)	55
14	Reporte de la densidad relativa del aceite esencial de (<i>Minthostachys mollis</i>), según NTP 319.081	56
15	Reporte del índice de refracción del aceite esencial de (<i>Minthostachys mollis</i>), según NTP 319.075	56
16	Reporte del índice de acidez del aceite esencial de (<i>Minthostachys mollis</i>), según NTP 319.085	57
17	Análisis por CG-SM del Nivel 1	59
18	Compuestos bioactivos Mayoritarios en el Nivel 1	60

19	Clasificación de compuestos bioactivos en el Nivel 1	61
20	Composición bioactiva en el Nivel 1	61
21	Análisis por CG-SM del Nivel 2	62
22	Compuestos bioactivos Mayoritarios en el Nivel 2	63
23	Clasificación de compuestos bioactivos en el Nivel 2	64
24	Composición bioactiva en el Nivel 2	64
25	Análisis por CG-SM del Nivel 3	65
26	Compuestos bioactivos Mayoritarios en el Nivel 3	66
27	Clasificación de compuestos bioactivos en el Nivel 3	67
28	Composición bioactiva en el Nivel 3	67
29	Variación de compuestos fotoquímicos del (<i>Minthostachys mollis</i>) en los tres niveles altitudinales de estudio.	68
30	Comparación de compuestos bioactivos presentes en las tres muestras correspondientes a cada nivel altitudinal.	70
31	Comparación de compuestos bioactivos del aceite esencial de (<i>Minthostachys mollis</i>) en los tres niveles altitudinales de estudio	70
32	Comparación de los compuestos de mayor abundancia en los tres niveles altitudinales	76
33	Perfil CG-MS de compuestos fitoquímicos del (<i>Minthostachys mollis</i>)	77

ÍNDICE DE IMAGENES

N°		Pagina
01	Planta silvestre muña (<i>Minthostachys Mollis</i>)	23
02	Escala georreferencial del lugar donde se recolecto las muestras del (<i>Minthostachys mollis</i>).	51
03	Mapeo satelital <i>Google earth</i> de la ubicación del punto de recolecta de (<i>Minthostachys mollis</i>),	51
04	Porcentaje de Humedad del (<i>Minthostachys mollis</i>), en tejido fresco.	53
05	Porcentaje de Humedad del (<i>Minthostachys mollis</i>), tejido deshidratado.	54
06	Comparación grafica del rendimiento del aceite esencial	55
07	Comparación grafica de la densidad relativa.	56
08	Determinación del índice de acidez del aceite esencial	57
09	Determinación del índice de refracción del aceite esencial	58
10	Cromatograma correspondiente al Nivel 1	60
11	Composición bioactiva en el Nivel 1.	61
12	Cromatograma correspondiente al Nivel 2.	63
13	Composición bioactiva en el Nivel 2.	64
14	Cromatograma correspondiente al Nivel 3.	66
15	Composición bioactiva en el Nivel 3.	67
16	Comparación grafica de componentes bioactivos del aceite esencial de (<i>Minthostachys mollis</i>), en función al nivel altitudinal de crecimiento	71

ÍNDICE DE DIAGRAMAS

N°		Página
01	Diagrama preliminar del método de investigación	40
02	Diagrama de flujo para el proceso de extracción y análisis del aceite esencial de (<i>Minthostachys mollis</i>).	41

ÍNDICE DE ANEXOS

N°		Pagina
01	Diagrama de Flujo	101
	Análisis de balance de materia durante el proceso de extracción del aceite esencial para el nivel 1.	102
	Análisis de balance de materia durante el proceso de extracción del aceite esencial para el nivel 2.	104
	Análisis de balance de materia durante el proceso de extracción del aceite esencial para el nivel 3.	106
02	Mapeo Satelital puntos de colecta Georreferenciado	109
03	Certificado de la clasificación taxonómica de las muestras botánicas estudiadas.	109
04	Evidencias fotográficas durante el estudio	110
05	Ficha técnica de recepción de muestras por el laboratorio bioproductos CIBE – ESPOL.	113

RESUMEN

En proyecto de investigación se realizó el "Estudio de Compuestos Bioactivos del Aceite Esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) por Cromatografía de Gases - Espectrometría de Masas en tres Niveles Altitudinales del Distrito de Huando - Huancavelica". El proyecto se enmarcó en el tipo de investigación básica, nivel descriptivo – comparativo, donde se identifica la trazabilidad del producto analizado. Para cumplir con lo propuesto se tomaron como referencia la ubicación de puntos de recolección de las muestras siguiendo el método de sistema de posicionamiento global con el uso de un GPS marca Garmin modelo GPS map 60CSx, donde las muestras se recolectó cada 271 metros N1 (3080 m.s.n.m), N2 (3351 m.s.n.m) y N3 (3622 m.s.n.m), respectivamente, los resultados de rendimiento reportan N1 = 0,7618 %, N2 = 0,6055% y N3 = 0,7819%, respectivamente, los resultados de densidad relativa reportan N1 = 0,9401. N2 = 0,9090, N3 = 0,9043 respectivamente, los resultados del índice de acidez reportan N1 = 1,62690, N2 = 1,68300 y 1,71105 respectivamente, los resultados del índice de refracción reportan N1 = 1,4745 N2 = 1,4760 y N3 = 1,4769 respectivamente y finalmente los resultados por CG-SM reportan lo siguiente N1 = 56,18% de compuestos terpenicos, 40,53% de compuestos alifáticos de bajo peso molecular y 3,27% de compuestos no identificados, N2 = 71,71% de compuestos terpenicos, 25,86% de compuestos alifáticos de bajo peso molecular y 2,44% de compuestos no identificados y N3 = 97,39% de compuestos terpenicos, 0,94% de compuestos alifáticos de bajo peso molecular y 1,67% de compuestos no identificados.

Palabras Claves: Nivel altitudinal, *Minthostachys mollis* y compuestos bioactivos

INTRODUCCIÓN

La biodiversidad es la fuente de muchos productos con propiedades medicinales, aromáticas y condimentarias servicios utilizados por la sociedad actualmente por poseer Características funcionales que permiten garantizar su empleo ya sea en la industria farmacéutica, cosmetología, alimentaria, etc.

Los compuestos volátiles, característicos del olor de las plantas, han despertado el interés del hombre desde la antigüedad como esencias condimentarias y aromatizantes, en la actualidad los estudios orientan a fines nutraceuticos, para identificar compuestos bioactivos como fenoles, antioxidantes, vitaminas, ácidos orgánicos, compuestos antimicrobianos, que muestren cierta bioactividad para combatir el cáncer, la diabetes, la degeneración celular e infecciones que causan enfermedades. Es por ello muy importante las investigaciones de carácter básico descriptivo, que ayuden a comprender la naturaleza de los compuestos bioactivos y la concentración de los mismos en una especie vegetal para caracterizarlo como quimiotipo potencial que se valide científicamente con herramientas instrumentales orientado a su aplicación y efectos de bioactividad para su consumo y uso.

Muchas especies aromáticas modifican su composición química en función al nivel altitudinal y otros factores por ello es importante evaluar la calidad de los aceites esenciales y rendimiento de estas especies en función de estas variables. La muña (*Minthostachys mollis*), es una especie silvestre promisoría con un alto valor intrínseco por sus propiedades medicinales y cualidades aromáticas en la industria de perfumería y farmacéutica.

Por lo expuesto en el presente trabajo de investigación se realizo el estudio de compuestos bioactivos del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) por cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas en tres niveles altitudinales de crecimiento silvestre en el Distrito de Huando región Huancavelica.

CAPÍTULO I: PROBLEMA

1.1. Planteamiento del problema

Según el Instituto Nacional de Salud, el Perú es uno de los 12 países mega diversos del planeta; posee alrededor del 10 % de especies de la flora mundial de las cuales 30% son endémicas; ocupa el primer lugar en número de especies de plantas con propiedades medicinales utilizadas por la población. Por otra parte el mercado mundial de aceites esenciales va creciendo debido a la demanda de buscar nuevos productos orgánicos utilizados en diferentes aplicaciones y la oportunidad de encontrar una planta con alto contenido de algún compuesto útil ya sea para aislarlo, usarlo puro ó para sintetizar a partir de dicho producto otros compuestos empleados en la industrias de alimentos, perfumes, cosmética, bebidas, textil, farmacéutica entre otros. Motivado por hacer un mejor aprovechamiento de la biodiversidad de nuestros Recursos Naturales en la Región Huancavelica. La Agroindustria de plantas aromáticas y medicinales enfoca esta investigación en fundamentar los conocimientos de los agricultores, familias y asociaciones involucradas en la cadena productiva de plantas aromáticas y medicinales con el estudio de compuestos bioactivos del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) por cromatografía de gases y espectrometría de masas en tres niveles altitudinales del Distrito de Huando.

Es importante señalar que el gran valor biológico de la muña utilizado y comercializado por los pobladores de la zona gracias a sus atributos que ofrece en la medicina tradicional y como fumigante orgánico en la agricultura por ello es necesario determinar su valor Químio-genético, el cual determina una composición química particular que representa un perfil característico, llegando a variar estas composiciones por las diferentes condiciones altitudinales, edáficas y geobotánicas variando sus compuestos bioactivos en relación a su concentración, esta es una razón importante para considerar el estudio de sus compuestos bioactivos con tecnologías conjugadas de análisis instrumental de aceptación.

1.2. **Formulación del problema**

¿Cuál será la variación en la concentración de compuestos bioactivos del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) identificados por Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas en relación a diferentes niveles altitudinales de crecimiento silvestre en el Distrito de Huando región Huancavelica?

1.3. **Objetivo de la investigación**

1.3.1. **Objetivo general**

- Evaluar la variación en la concentración de compuestos bioactivos del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) identificados por Cromatografía de Gases - Espectrometría de Masas en relación a diferentes niveles altitudinales de crecimiento silvestre del Distrito de Huando Región Huancavelica.

1.3.2. **Objetivos específicos**

- Identificar los puntos altitudinales de crecimiento silvestre de muña en el Distrito de Huando Región Huancavelica.
- Determinar el rendimiento de extracción del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) extraídos por fluido de arrastre hidrotérmico en relación a diferentes zonas de crecimiento silvestre del Distrito de Huando Región Huancavelica.
- Determinar el perfil de compuestos bioactivos del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) por Cromatografía de Gases - Espectrometría de Masas.

1.4. **Justificación**

La muña (*Minthostachys mollis*) fuente de compuestos bioactivos en su aceite esencial, posee un alto valor promisorio en el área de la investigación y el desarrollo Agroindustrial con la tendencia global del Biocomercio sostenible y su potencial aprovechamiento. Por lo que es necesario promover y desarrollar la potencialidad de este producto con una alternativa tecnológica, sin duda

conociendo un estudio básico de la variación de sus compuestos bioactivos en relación a los niveles altitudinales donde se desarrolla.

Al término del proyecto se contará con información científica básica sobre los compuestos bioactivos del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) procedente de tres niveles altitudinales de crecimiento silvestre en el Distrito de Huando. Con los resultados finales de este proyecto de investigación, se brindará información básica para realizar diferentes actividades agroindustriales enfocados a la especie del (*Minthostachys mollis*), ya sea construcción de invernaderos, siembra, cultivo tecnificado y transformación de la muña, teniendo en cuenta el nivel altitudinal adecuado para la producción de sus compuestos bioactivos. Este concepto está referido básicamente al lugar donde se está llevando a cabo el estudio y zonas productoras de la muña, ya que en el Distrito de Huando se está promoviendo la producción y comercialización de hierbas aromáticas y medicinales, a nivel de productores individuales y asociaciones agropecuarias, con el apoyo de organizaciones sociales como ONG's, Gobiernos Locales, Municipales y Regionales. Para elevar la producción, transformación y comercialización de estos productos, pues de esta manera se estará fomentando el trabajo empresarial y a la vez incrementarán los ingresos económicos del poblador rural que labora en la producción de estas hierbas aromática. Consecuentemente la preocupación creciente en la población en estos últimos años, es la de consumir una alimentación sana y natural con conservantes orgánicos, de la misma manera de sustituir la medicina química sintético por medicinas fitosanitarias. Es la razón de llevar a la práctica este estudio ya que la muña ofrece virtudes como antiinflamatorio, carminativo, antiséptico en afecciones renales y respiratorias, con menor impacto contra el ambiente y previniendo el efecto invernadero con pesticidas químicos sintéticos.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Fuertes y Munguía (2001), reporta en su estudio de investigación titulado “Estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb de tres regiones Peruanas por Cromatografía de Gases y Espectrometría de Masas” desarrollado en el Instituto de Investigación de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Donde se realizaron un estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb “muña” de tres regiones Peruanas: (los Libertadores Wari) Pampas Huancavelica, (Andrés Avelino Cáceres) Tarma - Junín y (Chavín) Huaras – Ancash, recolectados en los meses de abril, mayo y junio en floración del año 1999. Donde se realizaron las determinaciones fisicoquímicas, espectroscópicas y cromatografías, utilizando ensayos físicos, espectro ultravioleta, espectro infrarrojo y composición química, concluyendo que el aceite esencial proveniente de Tarma contenía en su composición 1-Tetradeceno (23,14%), 2s-Transmetona (23,00%), Pulegona (13,21%) como componentes principales y un porcentaje importante de Timol, demostrando así que el aceite extraído de ese lugar tiene mejores condiciones que el aceite de los otros dos lugares, en cuanto al aceite esencial de Huaras contiene 2s-Transmetona (41,48%), pulegona (16,02%), γ -terpineno (7,55%) y el aceite esencial de Huancavelica contiene 2s-Transmentona (34,51%), pulegona (28,62%), nerolidol (5,08%). (2)

Chaquilla et al. (2011), menciona en su artículo científico titulado “Composición química y contenido de fenoles totales en aceites esenciales de muña *Minthostachys setosa* Briq Epl y anís *Pimpinella anisum* L.”; desarrollado en la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, Facultad de Ingeniería, EAP Ing. Agroindustrial, se ha determinado la composición química y fenoles totales de

los aceites esenciales extraídos de la muña y anís. Los análisis de CG-SM han reportado para el caso de la muña la presencia de 18 diferentes compuestos volátiles entre ellos isomentona 39%, pulegona 32%, isopulegona 6% y timol 5% principalmente. En el caso del anís se encontró anetol, 96% y otros componentes en menor cantidad. El contenido de fenoles totales se ha determinado por el método de Folin Ciocalteu y expresados como mg de ácido gálico/g de aceite esencial. Los resultados obtenidos reportaron valores de 253,65 mg y 73,50 mg de ácido gálico/g de aceite para muña y anís respectivamente. A partir de estos resultados el aceite esencial de muña presenta una mejor actividad antioxidante y podría ser utilizado como antioxidante natural en la elaboración de alimentos. (3)

Cano et al. (2008), reportan en su investigación titulada “Actividad antimicrobiana in vitro y metabolismo del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (Muna)” provenientes del Distrito de Huacrapuquio (2700 msnm). Junín; realizado el estudio en el Instituto de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Mayor de San Marcos Lima – Perú, reporta que el aceite esencial fue obtenido por el método de destilación por arrastre de vapor de agua, fue sometido a un análisis instrumental de sus compuestos activos por el método de cromatografía de gases, donde se encontraron los siguientes monoterpenos; pulegona, mentona, limoneno y mircenol. El aceite esencial de muña inhibió completamente el desarrollo de *T. tonsurans*, *T. mentagrophytes* y *M. canis*, demostrando que la actividad antimicrobiana del aceite esencial de muña, demuestra estos resultados, probablemente por la acción de los monoterpenos encontrados. (4)

Vargas y Bottia (2008), En el trabajo de grado titulado “Estudio de la composición química de los aceites esenciales de seis especies vegetales cultivadas en los Municipios de Bolívar y El Peñón, Santander - Colombia” como parte del macro proyecto “Producción y comercialización de hierbas aromáticas, medicinales y aceites esenciales para los municipios de Bolívar, El Peñón y Guavata” adelantado por la corporación de desarrollo y paz de Magdalena Medio,

CDPMM y enmarcando dentro de la misión de CENIVAM; en este trabajo se realizó el análisis fitoquímico de los aceites esenciales de diferentes especies aromáticas, colectadas de manera silvestre en los municipios de la sub región de Vélez. Así mismo, se aislaron y analizaron respectivamente, por destilación con agua – vapor y cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS), los metabolitos secundarios volátiles de *Rosmarinus officinalis*, *Lippia alba*, *Minthostachys mollis* entre otros.

En el aceite esencial del *Minthostachys mollis* se identificaron pulegona (49,6%), iso-mentona (33,2%), trans- β -cariofileno (3%) y iso-pulegona (2,2%) como compuestos mayoritarios, que se utilizan en la industria de alimentos para la fabricación de licores y como aromatizante en muchos productos industriales, los aceites esenciales del *Minthostachys mollis* pueden clasificarse como de tipo “monoterpenoide”, según el tipo de compuestos mayoritarios.

La información sobre la composición del aceite esencial de *Minthostachys mollis* no se encuentra disponible en la literatura científica indexada. Se tiene pocos estudios sobre esta especie. La esencia tiene un agradable olor a menta y la composición presenta altos porcentajes de isomentona y pulegona, que le confiere su olor agradable. (5)

Encarnación (2008) reporta en su investigación de tesis titulado “Determinación de propiedades físico-químicas del aceite esencial de poleo (*minthostachys mollis* (kunth) griseb) en diferentes estados fenológicos y de tres lugares de la Provincia de Loja mediante GC-MS y “GC-FID”, Donde el (*Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb) especie es un pequeño arbusto aromático que es 0,30 a 2 m de altura, que es perenne, que crece salvajemente en las fronteras de los cultivos de las tierras altas, es conocido localmente como Poleo que fue tomada teniendo en cuenta su distintas etapas fenológicas (foliación, floración y fructificación), se trata de tres lugares diferentes de la provincia de Loja (Chuquiribamba, El Tambo y el Villonaco), sus propiedades físicas se determinaron por medio de destilación sin intervalos a través de vapor arrastrando y luego fue analizaron mediante cromatografía de gases vinculados con la espectrometría de masas (CG-EM) y

con detector de ionización de llama (GC-FID). La mayor tasa de rendimiento se obtuvo en El Tambo durante la fructificación (0,38%) y los componentes de más alta tasa en el aceite esencial de Chuquiribamba fueron: cis-dihidrocarvona en fases de F (12,54%), FL (13,48%), FT (13,62%); en el aceite de El Tambo en las etapas de F (22,30%), FL (22,80), FT (33,58) y en el caso del aceite esencial de El Villonaco: pulegona en las fases de F (27,58%), mentona en las fases de FL (22,80), FT (33,58). Los valores obtenidos en las propiedades físicas y componentes químicos identificados varían según el estado fenológico y el lugar de donde proviene el aceite esencial. (6)

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Principio activo de las plantas Medicinales

El valor medicinal de las plantas curativas, se debe a la presencia de su – principio activo que produce un efecto fisiológico. Mucho de los principios activos son sumamente complejos, desconociéndose aún su naturaleza química; otros han sido purificados, sintetizados o imitados. Por lo general pertenecen a una de estas categorías: aceites esenciales, alcaloides, glúcidos, taninos, sapogeninas, fenoles, quinonas, terpenos, carotenoides, cumarinas, flavonoides y resinas. (7)

2.2.2. Muña (*Minthostachys Mollis*)

Una especie promisoría por sus aceites esenciales es *Minthostachys mollis* (Lamiaceae), planta nativa de la cordillera de los Andes desde Venezuela hasta Bolivia, con amplio rango altitudinal (1000 - 3800 msnm). Es un arbusto aromático de hasta 0,50 – 1,20 m de altura, leñoso hacia la base, con hojas ovadas y pubescentes e inflorescencias axilares en cimas. (8) Es conocida como muña en el Perú, peperina en Argentina y orégano en Colombia, y es utilizado en la medicina popular para tratar los cólicos estomacales y ciertos trastornos gripales. (9)

El uso más conocido tiene que ver con la preservación de la papa en condiciones de almacenamiento; se ha señalado que los campesinos de

117

la sierra peruana la han utilizado desde hace muchos años con este fin, igualmente ha tenido uso en condimentos y perseverante de alimentos. (10)

2.2.2.1. Taxonomía

Clasificación taxonómica de la muña (*Minthostachys Mollis*). (11)

Reino	: Vegetal.
Sub reino	: Embryophyta
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Sub clase	: Methachlamydeae
Orden	: Tubiflorae
Familia	: Lamiaceae (Labiatae)
Género	: Minthostachys
Especie	: Minthostachys mollis (Spach) Griseb
Nombre vulgar	: "Muña"
Formula genera	:K(5) C(2-3) A(2-2) G(2)

Fuente: Morales, (1973).

Imagen N° 01: Planta silvestre muña (*Minthostachys Mollis*)



Fuente: Elaboracion propia (2013)

2.2.2.2. Características botánicas de la muña (*Minthostachys mollis*)

Es una planta arbustiva, leñosa, frondosa en la parte superior, de aspecto general glauco, erécta y pubescente, su tallo es ramificado desde la base. La hoja es el elemento vegetativo simple ligeramente aserrado, carece de estípulas, cortamente pedunculares de filotaxia opuesta. Su peciolo mide entre 4 y 6 mm. De largo, pubescente acanalada en la parte superior y convexo en la parte inferior, es aquí donde se deposita la mayor cantidad de aceite, que al estrujarlos dejan sentir su aroma característico. Las flores son hermafroditas. (12)

El limbo es ovoidote 1.7 a 2.5 cm. En su mayor ancho, y de 2 a 4 cm. de largo; su base es atenuada de bordes aserrados, ápice agudo de nerviación penninervia. El limbo es pubescente tanto en el haz como en el envez, debido a lo cual la hoja presenta una coloración verde pálida; sus nervaduras secundarias son muy desarrolladas y ligeramente reticuladas. (12)

El cáliz soldado con 13 venaciones terminado en 5 lóbulos dentados casi iguales entre sí con pelos cerellosos en la base, la corola raramente es de 6 mm. De largo, dividida en 2 labios: 2 lóbulos o labio superior y 3 lóbulos o labio inferior. Los pelos de las partes aéreas, o sea de las hojas y tallos, parece que forman una especie de manto protector contra los cambios bruscos de temperatura y al mismo tiempo son los lugares en donde se deposita el aceite esencial, de aquí que al estrujarlos dejen sentir su aroma o el sabor picante que da una impresión de frío que es característico. Las flores son pequeñas, reunidas en verticilos falsos, situados en la parte superior de las ramas con pedúnculos cortos, 2 en cada axila. (12)

2.2.2.3. Tipos de la muña (*Minthostachys mollis*)

Se indica un total de 12 especies, cuya distribución abarca desde Argentina hasta Venezuela; pero en el Perú encontraron 6 especies distribuidas desde el norte (Cajamarca) hasta el sur (Cuzco), con una mayor distribución en la región central. (9)

Cuyas especies son:

- *M. glabrescens.*
- *M. salicifolia.*
- *M. cetosa.*
- *M. spicata.*
- *M. tomentosa.*
- *Minthostachys mollis* (HKB) griseb.

2.2.2.4. Propiedades y usos de la muña (*Minthostachys mollis*)

La muña es reconocida tradicionalmente por sus propiedades digestivas contra cólicos, flatulencia (carminativo), vómitos, diarreas y problemas de resfrío; antitusígenas, antiasmático, expectorante, antiespasmódicas, antiséptica, analgésico, antiinflamatorio, febrífugas, en tratamiento de tumores y mezclándola con chilca se empleaba en fracturas.

Es excelente contra la halitosis y para combatir jaquecas y soroche. Además es utilizada como condimento para preparar platos típicos. (2)

En el campo agrícola se emplea para la preservación de algunos productos como la papa, del ataque de insectos.

A manera de fumigante orgánico vegetal contra el gorgojo de los andes y como antimoho. (13)

En el campo pecuario es utilizado para controlar los ectoparásitos y endoparásitos de los animales domésticos, además para curar sarna en equinos y camélidos. En otras zonas de Latinoamérica, principalmente en Argentina, se le emplea para aromatizar y fabricar licores y bebidas. (14)

2.2.3. Generalidades del aceite esencial

2.2.3.1. Definición del aceite esencial

Los aceites esenciales poseen una química compleja, aunque generalmente consiste en una mezcla de un grupo heterogéneo de sustancias orgánicas: hidrocarburos, alcoholes, aldehidos, cetonas, ésteres, etc., de peso molecular menor a 400 Da y presión de vapor suficiente alta para volatilizarse a temperatura ambiente: son derivadas del metabolismo secundario de las plantas y asociadas o no al otro componente. (15)

Los aceites esenciales como aquellas sustancias caracterizadas por su volatilidad, formadas por agrupaciones de un gran número de compuestos químicos aromáticos. Existen en las diferentes partes de las plantas, siendo estas sustancias no miscibles en agua. (16)

2.2.3.2. Composición química de los aceites esenciales

La mayoría de los componentes, que hacen parte de los aceites esenciales, pertenecen a una familia de sustancias químicas llamadas "Terpenos" ó "terpenoides", por ejemplo; limoneno, carvona, α - humuleno, etc. Cuya característica estructural, que los distingue de otros productos naturales, es la unidad isopreno C_5 en el esqueleto hidrocarbonado, esta observación fue hecha por el químico alemán Otto Wallch en 1887 y se conoce como regla de isopreno. Wallch en 1910 recibió el premio nobel de química, por su contribución al desarrollo de la química orgánica e industrial en el campo de compuestos acíclicos según. (17)

Tabla N° 01: Clasificación de terpenos (17)

Nombre	Unidades Isoprenicas	N° átomos de carbono
Monoterpenos	2	C ₁₀
Sesquiterpenos	3	C ₁₅
Diterpenos	4	C ₂₀
Sesteterpenos	5	C ₂₅
Triterpenos	6	C ₃₀
Carotenoides	8	C ₄₀
Resinoides	n	(C ₅) _n

Fuente: Carey, (1999).

La variedad de formas de acuerdo como se pueden unir distintas unidades isoprenicas, origina una amplia diversidad de estructuras terpenicas, sin embargo, desde el punto de vista biosintetico estas sustancias proceden, principalmente de la ruta del mevalonato y xilosa fosfato, mientras que, los fenilpropanoides derivan de la ruta del acido shímico (17).

Respecto a la formación y evolución de los aceites esenciales en las plantas es necesario tener en cuenta algunos aspectos externos, que pueden afectar la composición química de las esencias de manera cualitativa y cuantitativa, entre ellos se pueden destacar los siguientes (1).

- Condiciones geobotánicas. Clima, altitud, tipo de suelo, etc.
- Labores culturales: uso de fertilizantes, abonos y pesticidas.
- Parte y estado de desarrollo fenológico de la planta.
- Época de recolección.
- Modo de almacenamiento y manejo del material vegetal: fresco, deshidratado, fermentado, tratamiento pos cosecha.
- Modo de obtención del aceite esencial: destilación o expresión.

2.2.3.3. Biosíntesis de terpenoides y fenilpropanoides

En contraste con las rutas metabólicas primarias, las cuales sintetizan, degradan e intervienen compuestos comúnmente encontrados en todos los organismos, existen partes del metabolismo concernientes a compuestos que tienen una distribución limitada a la naturaleza. Tales compuestos, llamados metabolitos secundarios, son encontrados en organismos específicos, o grupos de organismos, y son una expresión de la individualidad de las especies. (18)

En la mayoría de los casos, la función y efectos benéficos de los metabolitos secundarios no están completamente establecidos. En algunos casos, son producidos por razones fácilmente apreciables como compuestos tóxicos para la defensa contra depredadores, como atrayentes volátiles y agentes colorantes para atraer o advertir a otras especies.

Las unidades más importantes empleadas en biosíntesis de metabolitos secundarios son derivadas de los intermediarios de acetil coenzima A (acetil-CoA), ácido shiquímico, ácido mevalónico y 1-deoxi-D-xilosa-5-fosfato. Estos se utilizan, respectivamente, durante las rutas biosintéticas del acetato, shiquimato, mevalonato y xilosa fosfato.

Los compuestos terpenoides pueden ser derivados principalmente de dos rutas biosintéticas, a través de los intermediarios ácido mevalónico (MVA) o 1-deoxi-D-xilosa-5-fosfato.

Los aceites esenciales se acumulan en estructuras secretoras especializadas ubicadas en diferentes partes de la anatomía de las plantas entre hojas, flores, tallos, raíces, corteza, frutos y semillas. (18)

2.2.3.4. Propiedades físicas del aceite esencial (19)

- Líquidos a temperatura ambiente (a diferencia de los aceites “fijos”).
- Muy raramente son coloreados.
- En general, su densidad es inferior a la del agua.
- Poseen un índice de refracción elevado.
- Desvían la luz polarizada.
- Son liposolubles y solubles en los disolventes orgánicos.
- Arrastrables en vapor de agua (muy poco solubles en ella).
- Punto de ebullición es superior a los 100°C.

2.2.3.5. Aplicaciones de los aceites esenciales

El tipo de aceite esencial y su calidad, determinan en qué producto final será incorporado un aceite. Los aceites esenciales son ampliamente utilizados como materia prima en diferentes tipos de industria, cosmética, alimenticia, bebidas, textil, etc., mientras que otras industrias pueden usar productos aislados de esencias, como es el caso de la industria farmacéutica. (20)

En el Tabla N° 02 se observa el uso del aceite esencial en las diferentes aplicaciones.

Tabla N° 02: Industrias usuarias de productos aromáticos naturales y aceites esenciales. (21)

Industrias	Aplicaciones
Alimenticia	Salsas, condimentos, bebidas refrescantes, alimentos procesados y enlatados.
Licorería	Aperitivos y saborizantes
Cosmética	Perfumes, dentífricos, cremas, lociones
Farmacéutica	Veterinaria, antisépticos, analgésicos, aromaterapia y homeopatía.
Uso domestico	Desodorantes, desinfectantes del ambiente y jabones.
Agroquímica	Bioinsecticidas y aleloquímicos
Textil	Elaboración de enmascaradores de olores y tratamiento con

22

	mordientes después del teñido
Petroquímica y minería	Utiliza esencias o terpenos derivados de ellas como vehículos flotantes y lubricantes.
Pinturas	Enmascaradores de olores disolvente biodegradable.
Química fina	Precursores químicos, por ejemplo citral, safrol, trementina

Fuente: Díaz, (2007).

2.2.3.6. Extracción de aceites esenciales

La destilación es el principal método para extraer los aceite esencial de las plantas aromáticas, puede ser directo o con vapor de agua. La elección del método depende de la cantidad o características del aceite (volatilidad, punto de ebullición de los componentes, etc.), como de la planta o su parte de la cual se va a extraer el aceite esencial. (21)

2.2.3.7. Hidrodestilación

El principio del método es llevar el agua hasta su punto de ebullición, la cual está en contacto directo con el material vegetal, de tal forma que los vapores generados atraviesen los tejidos de la planta, arrastrando las sustancias de interés.

Los aceites esenciales obtenidos mediante hidrodestilación presentan olores fuertes y colores más oscuros. (21)

2.2.3.8. Destilación con agua y vapor

El material vegetal se coloca sobre un fondo perforado o criba, la cual está ubicada a cierta distancia del fondo de un tanque llamado retorta. La parte más baja contiene agua hasta una altura algo menor que el nivel de la criba. El principio de la destilación con agua/vapor es llevar el agua a su estado de ebullición, en donde el vapor generado atraviesa el material vegetal, arrastrando los metabolitos secundarios volátiles, de tal

manera, que todos los vapores generados puedan ser luego condensados y recolectados. (21)

2.2.3.9. Destilación por arrastre de vapor

Este método que requiere mayor sofisticación pues es necesario con un generador de vapor externo, en este caso, un caldero, el cual genera vapor que puede ser transportado por tuberías hacia la cámara de extracción, este vapor puede ser seco o húmedo y puede estar a presión promedio de 3 kg-f/cm². (22)

De manera general, la extracción por arrastre de vapor se describe de la siguiente manera: la materia prima vegetal es cargada en un extractor, de manera que forme un lecho fijo compactado. Su estado es entero el vapor de agua es inyectado por la parte inferior, próximo a su base y con la presión suficiente para vencer la resistencia hidráulica del lecho.. (22)

2.2.3.10. Hidrodestilación asistida por la radiación de microondas

El método consiste en sumergir el material vegetal al agua y someterlo a la acción de la radiación de microondas, el agua se calienta hasta su punto de ebullición, libera los compuestos del aceite esencial contenidos en glándulas, por efecto de la presión de vapor; los compuestos volátiles en fase gaseosa son arrastrados hasta el condensador, en donde se forman dos capas, una rica en aceite y otra es hidrosol, las cuales se separan por decantación. (21)

2.2.3.11. Expresión

La expresión es un método simple por medio del cual es posible obtener un aceite esencial de características muy cercanas al producto natural, porque no se realizan tratamientos térmicos. Sin embargo, esta técnica extractiva sólo es aplicable a

materiales vegetales que contienen la esencia, en gran contenido, en las células superficiales, como el pericarpio de los frutos cítricos. (22)

2.2.3.12. Extracción por enflorado

En el método de enflorado o enfleurage, el material vegetal (generalmente flores) es puesto en contacto con un aceite vegetal. La esencia es solubilizada en el aceite vegetal que actúa como vehículo extractor. Se obtiene inicialmente una mezcla de aceite esencial y aceite vegetal la cual es separada posteriormente por otros medios físico-químicos. Esta técnica es empleada para la obtención de esencias florales (rosa, jazmín, azahar, etc.) (24)

2.2.3.13. Extracción por fluidos supercríticos

El método de extracción con fluidos supercríticos, es de desarrollo más reciente. El material vegetal cortado en trozos pequeños, licuado o molido, se empaca en una cámara de acero inoxidable y se hace circular a través de la muestra un líquido supercrítico (por ejemplo bióxido de carbono líquido), las esencias son así solubilizadas y arrastradas y el líquido supercrítico que actúa como solvente extractor y se elimina por descompresión progresiva hasta alcanzar la presión y temperatura ambiente, y finalmente se obtiene una esencia pura. Aunque presenta varias ventajas como rendimiento alto, es ecológicamente compatible, el solvente se elimina fácilmente e inclusive se puede reciclar, y las bajas temperaturas utilizadas para la extracción no cambian químicamente los componentes de la esencia, sin embargo el equipo requerido es relativamente costoso, ya que se requieren bombas de alta presión y sistemas de extracción también resistentes a las altas presiones. (24)

2.2.4. Aceite esencial de (*Minthostachys mollis*)

2.2.4.1. Características fisicoquímicas del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*). (11)

- Aspecto : Líquida, clara, transparente
- Color : Incoloro
- Olor : Característico en menta
- Sabor : Picante
- Rendimiento : 0,7%
- Densidad relativa : 0,92
- Índice de refracción : 1,4699
- Índice de acidez : 1,683

2.2.4.2. Composición química del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*)

Con respecto a la composición química del aceite esencial de *Minthostachys mollis*, existen pocos trabajos de investigación por lo que se tiene poca información; el aceite esencial de *Minthostachys mollis*, al igual que otros aceites esenciales, presenta una estructura aldehídica, cetónica, alcohólica (mentol y mentona), ésteres, éteres y terpenos en mayor porcentaje. El aceite esencial de determina un 89,80 % para la fracción terpénica y 10,20% para la fracción no terpénica. (25)

2.2.5. Purificación de aceites esenciales

2.2.5.1. Deshidratación

El agua residual presente en el aceite esencial puede ser eliminada por congelación o mediante el uso de químicos hidrosféricos como el sulfato de sodio anhidro. (25)

2.2.5.2. Desterpenación

La desterpenación requiere un proceso especial. Se pueden aplicar dos métodos, ya sea la eliminación de terpenos,

sesquiterpenos y parafinas por destilación fraccionada a presión reducida, o la extracción de los compuestos oxigenados más solubles (principales portadores del olor), con alcohol diluido u otros disolventes. (26)

2.2.6. Análisis instrumental de aceites esenciales

Los estudios reportados en caracterización de los aceites esencial, en su gran mayoría utilizan la cromatografía de gas y espectrometría de masa durante su análisis instrumental por ser el método más adecuado en mostrar mejores resultados, frente a otros métodos de análisis.

Por otra parte, los métodos analíticos instrumentales son ampliamente utilizados para determinar la composición química de diversos materiales fragantes, entre ellos los aceites esenciales. Estos métodos comprenden técnicas de separación como cromatografía de gases (GC), cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), electroforesis capilar (EC); espectroscopías de infrarrojo (IR), de resonancia magnética nuclear, como RMN-H1 y RMN-C13; espectrometría de masas (MS) y técnicas acopladas como GC-MS, GC-GC, GC-FTIR, HPLC-MS(n) y EC-MS. (27)

2.2.7. Cromatografía de gases (CG)

En cromatografía de gases, la muestra se inyecta en la fase móvil, la cual es un gas inerte (generalmente He). En esta fase, los distintos componentes de la muestra pasan a través de la fase estacionaria que se encuentra fijada en una columna. Actualmente, las más empleadas son las columnas capilares. La columna se encuentra dentro de un horno con programación de temperatura. La velocidad de migración de cada componente (y en consecuencia su tiempo de retención en la columna) será función de su distribución entre la fase móvil y la fase estacionaria.

Cada soluto presente en la muestra tiene una diferente afinidad hacia la fase estacionaria, lo que permite su separación: los componentes fuertemente retenidos por esta fase se moverán lentamente en la fase

móvil, mientras que los débilmente retenidos lo harán rápidamente. Un factor clave en este equilibrio es la presión de vapor de los compuestos (en general, a mayor presión de vapor, menor tiempo de retención en la columna). Como consecuencia de esta diferencia de movilidad, los diversos componentes de la muestra se separan en bandas que pueden analizarse tanto cualitativa como cuantitativamente mediante el empleo de los detectores seleccionados.

Existen tres técnicas básicas de inyección de muestras (líquidas o gaseosas) en columnas capilares: split, split-less y on column. Las dos primeras consisten en inyectar y vaporizar la muestra en una cámara de vaporización. El sistema split desvía la mayor parte de la muestra fuera del sistema cromatográfico y envía sólo una pequeña fracción a la columna. El método split-less dirige toda la muestra a la columna, por lo que resulta más adecuado para el análisis de trazas o de componentes muy volátiles. La inyección on column se lleva a cabo en frío, eliminando la etapa de vaporización que podría producir la descomposición de los compuestos termolábiles.

En ocasiones, por ejemplo en el caso de muestras de tejidos, se desean analizar los componentes volátiles contenidos en muestras sólidas. En tal caso, es necesario efectuar una extracción previa con un disolvente adecuado e inyectar el extracto en la columna. (27)

2.2.8. Espectrometría de masas (MS)

La espectrometría de masas (MS) es una de las técnicas analíticas más completas que existen. Recientemente, esta técnica se utiliza no sólo en investigación, sino también en análisis de rutina de los procesos industriales, en control de calidad, etc.

Sus principales cualidades son:

- Capacidad de identificación de forma prácticamente inequívoca, ya que proporciona un espectro característico de cada molécula.
- Cuantitativa: permite medir la concentración de las sustancias.

- Gran sensibilidad: habitualmente se detectan concentraciones del orden de ppm o ppb y en casos específicos se puede llegar hasta ppt e incluso ppq.
- Universal y específica.
- Proporciona información estructural sobre la molécula analizada.
- Suministra información isotópica.
- Es una técnica rápida: se puede realizar un espectro en décimas de segundo, por lo que puede monitorizarse para obtener información en tiempo real sobre la composición de una mezcla de gases.

Dentro del espectrómetro de masas, se procede a la ionización de la muestra mediante diferentes métodos. El sistema de ionización más frecuente es el de impacto electrónico que bombardea las moléculas con electrones de una cierta energía, capaces de provocar la emisión estimulada de un electrón de las moléculas y así ionizarlas. Además de moléculas ionizadas o iones moleculares (M^+) también se forman iones fragmento debido a la descomposición de los iones moleculares con exceso de energía. El tipo y proporción relativa de cada uno de estos fragmentos es característico de las moléculas analizadas y de las condiciones del proceso de ionización. Una vez ionizadas las moléculas, se aceleran y se conducen hacia el sistema colector mediante campos eléctricos o magnéticos. La velocidad alcanzada por cada ión será dependiente de su masa. La detección consecutiva de los iones formados a partir de las moléculas de la muestra, suponiendo que se trate de una sustancia pura, produce el espectro de masas de la sustancia, que es diferente para cada compuesto químico y que constituye una identificación prácticamente inequívoca del compuesto analizado. (27)

2.2.9. Acoplamiento cromatografía de gases-espectrometría de masas.

La cromatografía de gases es una técnica separativa que tiene la cualidad de conseguir la separación de mezclas muy complejas. Pero una vez

separados, detectados, e incluso cuantificados todos los componentes individuales de una muestra problema, el único dato de que disponemos para la identificación de cada uno de ellos es el tiempo de retención de los correspondientes picos cromatográficos. Este dato no es suficiente para una identificación inequívoca, sobre todo cuando analizamos muestras con un número elevado de componentes, como es frecuente en cromatografía de gases capilar. Por otra parte, la espectrometría de masas puede identificar de manera casi inequívoca cualquier sustancia pura, pero normalmente no es capaz de identificar los componentes individuales de una mezcla sin separar previamente sus componentes, debido a la extrema complejidad del espectro obtenido por superposición de los espectros particulares de cada componente. Por lo tanto, la asociación de las dos técnicas, GC ("Gas Chromatography") y MS ("Mass Spectrometry") da lugar a una técnica combinada GC-MS que permite la separación e identificación de mezclas complejas. La utilización de la cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas requiere sistemas especiales de conexión. En principio, se trata de dos técnicas que trabajan en fase gaseosa y necesitan una muy pequeña cantidad de muestra para su análisis, por lo que son muy compatibles. El único obstáculo serio a la hora de realizar su acoplamiento es que el efluente que emerge de la columna cromatográfica sale a presión atmosférica y debe introducirse en el interior del espectrómetro de masas que trabaja a alto vacío. Actualmente, el acoplamiento directo resulta fácil cuando se utiliza la cromatografía de gases capilar, que es el caso más habitual. En resumen, una mezcla de compuestos inyectada en el cromatógrafo de gases se separa en la columna cromatográfica obteniendo la elución sucesiva de los componentes individuales aislados que pasan inmediatamente al espectrómetro de masas. Cada uno de estos componentes se registra en forma de pico cromatográfico y se identifica mediante su respectivo espectro de masas. (27)

2.3. Hipótesis planteada

Hp: Los resultados del estudio de compuestos bioactivos en el aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) presenta variación en relación a los niveles altitudinales de crecimiento silvestre en el Distrito de Huando.

2.4. Definición de términos

- **Aceite esencial:** Los aceites esenciales son mezclas de varias sustancias química biosintetizadas provenientes de las plantas, que dan ciertas características a flores, árboles, semillas y a ciertos extractos de origen animal. Químicamente están formados por monoterpenos, sesquiterpenos, y algunos compuestos aromáticos. (15)

- **Compuestos bioactivos**

Los compuestos bioactivos son sustancia química que se encuentra en pequeñas cantidades en las plantas y ciertos alimentos (como frutas, verduras, nueces, aceites y granos integrales). Los compuestos bioactivos cumplen funciones en el cuerpo que pueden promover la buena salud. Están en estudio para la prevención del cáncer, las enfermedades del corazón y otras enfermedades. Los ejemplos de compuestos bioactivos incluyen el licopeno, el resveratrol, los lignanos, los taninos y las índoles. (13)

2.5. Identificación de variables

2.5.1. Variable independiente

- Niveles altitudinales de crecimiento silvestre de la muña en el Distrito de Huando.

2.5.2. Variable dependiente

- Concentración de compuestos bioactivos del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*).
- Características físico químicas del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*).

CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO

3.1. **Ámbito de Estudio**

La colecta del material biológico se llevo a cabo en el Distrito de Huando región de Huancavelica, el proceso experimental de deshidratación y extracción del aceite esencial se realizo en el laboratorio de biotecnología de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial, Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Huancavelica, la identificación taxonómica del *Minthoatachys mollis* y los análisis físico químicos de su aceite esencial se realizaron en los laboratorios de la Universidad Nacional del Centro del Perú – Junín, finalmente el análisis instrumental de Cromatografía de Gases - Espectrometría de Masas, se realizo en la Escuela Superior Politécnica del Litoral Centro de Investigación Biotecnológicas del Ecuador.

UBICACIÓN POLITICA

- Lugar : Común Era.
- Distrito : Acobamba.
- Provincia : Acobamba.
- Región : Huancavelica.

UBICACIÓN GEOGRAFICA

- Latitud : 12° 50' 30" del Meridiano de Greenwich
- Longitud : 74° 33' 42.2" de la línea ecuatorial.
- Altitud : 3474 msnm.

FACTORES CLIMATICOS

- Precipitación pluvial : 650 mm. Promedio anual
- Temperatura Prom : 14 °C
- Humedad relativa : 55%

3.2. Tipo de investigación

En el presente trabajo de investigación busca acrecentar y aclarar los conocimientos teóricos de una ciencia determinada. (28)

La investigación es aplicada.

3.3. Nivel de Investigación

De acuerdo al tipo de investigación.

El nivel de investigación es Descriptivo - Comparativo.

3.4. Método de Investigación

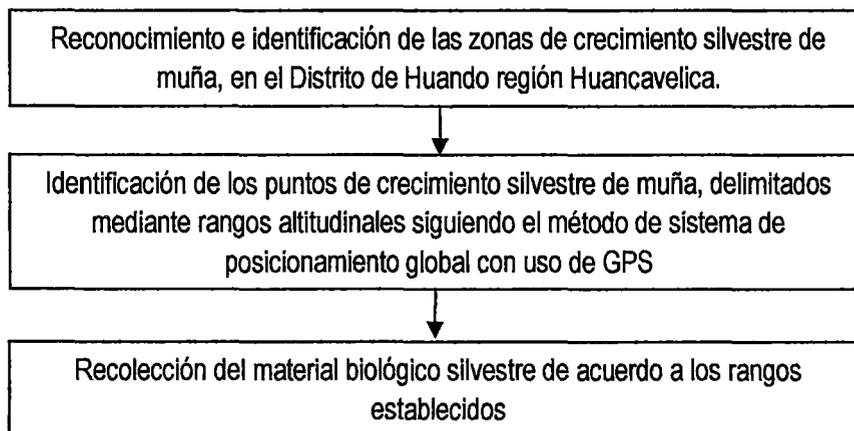
En el presente trabajo de investigación es Científico - Experimental, cuyo procedimiento permitirá identificar, recolectar, extraer y evaluar los resultados por Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas del aceite esencial de muña.

3.5. Diseño de investigación

Diseño de investigación - descriptivo

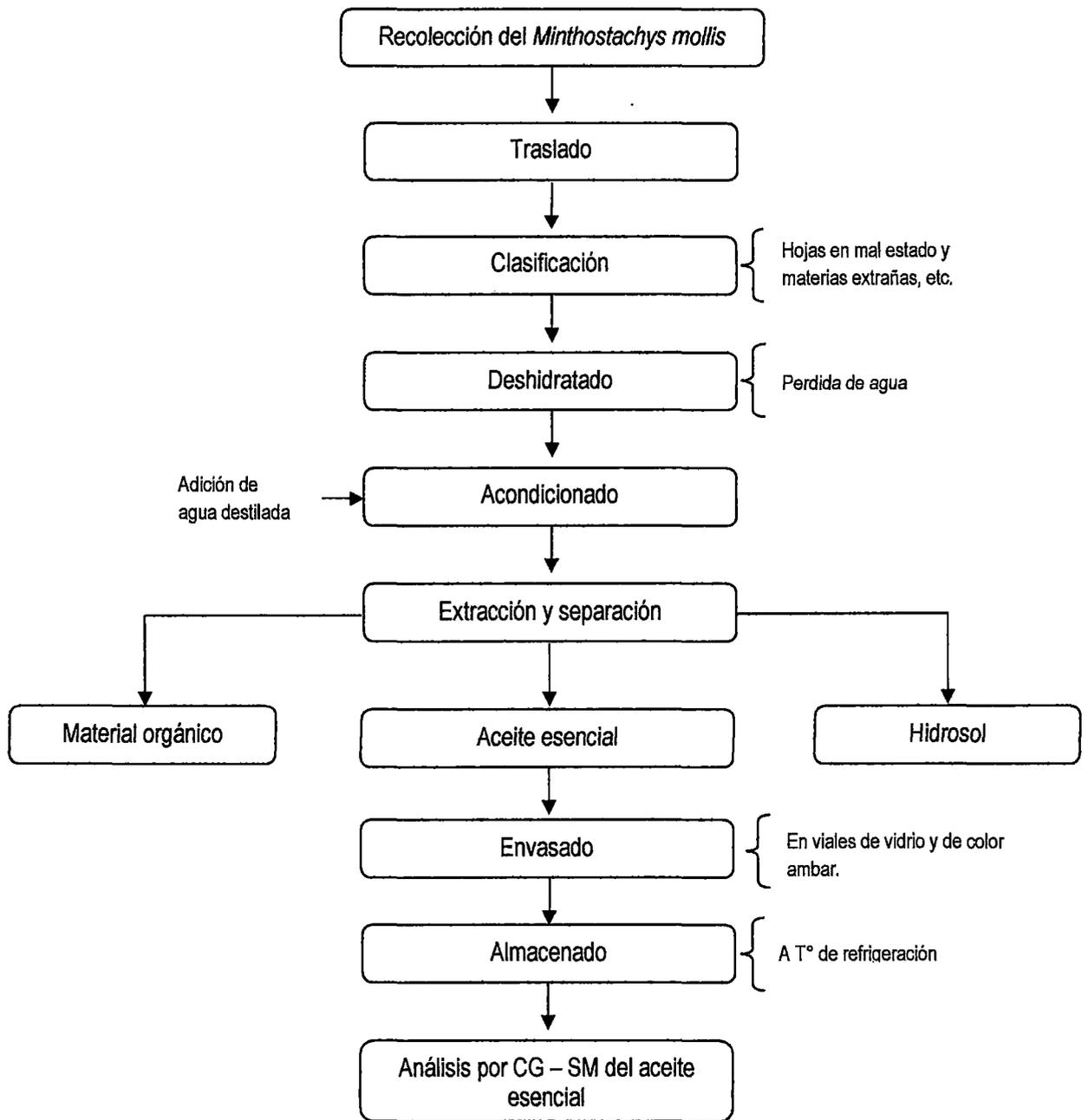
El diseño de investigación es como un plan o estrategia que se desarrolla para obtener la información que se requiere en una investigación. En el presente trabajo se empleo un diseño de diagrama de flujo para aportar evidencia respecto a los lineamientos de la investigación (28).

Diagrama N° 01: Diagrama preliminar del método de investigación.



Fuente: Elaboración propia (2013).

Diagrama N° 02: Diagrama de flujo para el proceso de extracción y análisis del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*).



Fuente: Elaboración propia (2013).

3.5.1. Descripción del proceso de extracción del aceite esencial de muña

a. Recolección de la muña

La recolección de la muña como materia prima se realizó en la época de vegetación en fluorescencia (Abril – Mayo, 2013) en los tres niveles altitudinales de mayor crecimiento silvestre, del Distrito de Huando Provincia y Región de Huancavelica.

Se recolectó un aproximado 3 Kg de material biológico de cada nivel altitudinal, entre hojas tallos y flores sumando un total de 9 Kg de muestra de los tres niveles altitudinales.

La recolección se realizó en día sin lluvia entre las 5:00 – 7:00 am.

b. Traslado

El traslado del (*Minthostachys mollis*) Se realizó en sacos enmallados y empacados con papel Kraft, cada 3 kg por nivel altitudinal. Durante la recepción se realizó una inspección visual, hojas, flores y parte del tallo tierno, que presenta condiciones de extraer el aceite esencial.

c. Clasificación

En esta operación se separaron las materias extrañas (tejidos pardeados, hojas amarillentas insectos, entre otros) adheridas a la superficie de las hojas, flores y tallos.

d. Deshidratado

Durante esta operación, se deshidrató el material vegetal con ventilación no asistida a temperatura ambiente y bajo sombra durante una semana.

e. Acondicionado

En esta operación el material vegetal (*Minthostachys mollis*) ya deshidratado entres (hojas, flores y parte del tallo tierno), se peso 550 gr para su proceso extractivo, también se adicionó 1 litro de agua destilada al equipo extractor de aceite esencial, esta operación se realizó igual para cada nivel altitudinal.

f. Extracción y separación

En esta operación los tejidos deshidratados de hojas, flores y parte del tallo tierno del (*Minthostachys mollis*) fueron sometidas a destilación de agua – vapor, en un equipo de acero inoxidable, por un tiempo de 60 minutos a partir de la primera gota condensada y recibida en una probeta graduada.

Después de concluir con el tiempo de extracción se realizó la separación del agua condensada (hidrosol) y el aceite esencial por diferencia de densidades utilizando la probeta graduada registrando su volumen y peso del aceite esencial con un rendimiento de 0,7618% para N1, 0,6055% para N2 y 0,6819% para N3 respectivamente, al igual se registro la cantidad obtenida de hidrosol y el peso del material orgánico utilizado. Proceso de extracción realizado en los ambientes de Laboratorio de Biotecnología Agroindustrial de la Universidad Nacional de Huancavelica.

g. Envasado

En esta operación el aceite esencial extraído de cada muestra se envaso en botellas de color ámbar de 20 ml de capacidad bajo condiciones asépticas y temperaturas adecuadas.

h. Almacenamiento

Los aceites esenciales envasados se almacenaron en condiciones de refrigeración a temperaturas promedios de 5 – 3 °C.

3.5.2. Analisis Instrumental por CG – SM

Para el analisis intrumental, los compuestos volatiles se identificaron mediante Cromatografia de Gases acoplado a un espectrometro de masas (CG - SM) en un equipo marca Agilent Technologies equipado en una columna capilar HP-5MS (30 m x 0,25 mm) con fenil dimetilpolisiloxano como fase estacionaria (0,25 micras de espesor de pelicula) y helio como gas de arrastre (1ml/min). Las condiciones cromatograficas fueron temperatura de inyeccion (220 °C), temperatura

de detector (140 °C), la temperatura del horno se establecio en 50 °C por 0.5 minutos, despues se incremento hasta 250 °C a 4 °C/min.

3.6. Población Muestra y Muestreo

3.6.1. Población

La población utilizada para este proyecto fueron las hojas de muña que pertenecen a la familia *lamiaceae (Labiatae)* procedente del Distrito de Huando Región Huancavelica, la ubicación de puntos de recolección se siguió con el método de sistema de posicionamiento global con el uso de un GPS GARMIN modelo GPS map 60CSx.

3.6.2. Muestra

La muestra recolectada del (*Minthotachys mollis*), fueron 3 kilogramos de de cada uno de los tres niveles atitudinales.

3.6.3. Muestreo

Se utilizo el método probabilístico; la técnica muestreo aleatorio estratificado de afijación simple; (estrato = metros sobre el nivel del mar). Se recolecto las muestras del (*Minthotachys mollis*), de cada nivel altitudinal establecida, siendo estas colectadas al azar en cada estrato.

3.7. Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos

Durante las técnicas e instrumentos de recolección de datos se procedió a evaluar mediante métodos directos e indirectos los cuales se detallan en la siguiente Tabla.

Tabla N° 03: Tabla de métodos, técnicas e instrumentos de datos

Método	Técnica	Instrumentos
Indirecto	Recolección de información	Libros, artículos de investigación, Informes de tesis y asesoramiento de expertos.
Directo	<p>Área de estudio.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Registro de los puntos de estudio. • Identificación de los niveles 	<p>Método registrado.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Uso de mapeo satelital <i>google earth</i> de la ubicación del punto de recolecta de <i>M Mollis</i>.

	altitudinales de crecimiento silvestre.	• Uso de GPS GARMIN modelo GPS map 60CSx.
Directo	<p>Análisis de laboratorio</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinación de humedad. • Extracción del aceite esencial. • Rendimiento del aceite esencial. • Determinación de densidad relativa • Índice de refracción. • Índice de acides. 	<p>Método estandarizado.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Método gravimétrico de la estufa. • Método por fluido de arrastre hidrotérmico. • Según al diagrama de flujo. • Método por picnómetro NTP 319.081 • Método instrumental refractómetro de mesa ABBE NTP 319.075 • Método de titulación con KOH 0.1N NTP 319.085
Directo	<p>Análisis de laboratorio</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cuantificación de compuestos bioactivos del aceite esencial 	<p>Método estandarizado.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Análisis instrumental por CG-SM

Fuente: Elaboración propia (2013).

3.8. Procedimiento de Recolección de Datos

De acuerdo a nuestro procedimiento y recolección de datos, se recabo información de identificación de los niveles altitudinales de crecimiento silvestre, deshidratación, extracción del aceite esencial, determinación de humedad, determinación de rendimiento, determinación de densidad, índice de refracción, índice de acides y finalmente el análisis instrumental del aceite esencial por CG-SM.

Tabla N° 04: Tabla de procedimiento de recolección de datos

Procedimiento	Recolección de datos
• Revisión de libros, artículos de investigación, informes de tesis y asesoramiento de expertos.	• Fichas de recolección de información bibliográfica, citas bibliográficas.
• Uso de mapeo satelital, GPS y materiales para la recolección del material vegetal	• Identificación de puntos de colecta del material biológico (<i>Minthostachys mollis</i>), según el sistema de posicionamiento global

<ul style="list-style-type: none"> • Aplicación gravimétrica de la estufa. • Aplicación del método fluido de arrastre hidrotérmico. • Aplicación del método picnómetro – volumétrico. • Aplicación de método instrumental refractómetro de mesa ABBE • Aplicación de método por titulación. 	<ul style="list-style-type: none"> • Determinación de humedad de la muestra. • Extracción y rendimiento del aceite esencial. • Determinación de densidad. • Determinación del índice de refracción. • Determinación del índice de acidez.
<ul style="list-style-type: none"> • Aplicación del método de Cromatografía de Gases y Espectrometría de Masas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Identificación y cuantificación de compuestos bioactivos del aceite esencial de <i>M mollis</i>.

Fuente: Elaboración Propia (2013).

3.8.1. Identificación de puntos de colecta del material biológico

Para la identificación de los puntos de colecta del material biológico, primero se realizó una previa entrevista con los productores y/o asociaciones relacionadas en la producción de hierbas aromáticas ya sean silvestres o cultivadas en el Distrito de Huando, recabando esa información se realizó una delimitación mediante mapeos satelitales, disponibles en *google earth*.

3.8.2. Análisis Geo referencial de recolecta de muestra

Se realizó con método instrumental de ubicación satelital con uso de un GPS – Garmin, el cual genera un registro de posicionamiento geográfico y el mapeo se realiza mediante el software descargable *Google earth*. La recolección de la muestra fue realizada en horas de la mañana, realizando cortes de 30 cm máximo de ramillas y brotes tiernos en estado de floración.

3.8.3. Determinación de humedad de la muestra

Se determinó la humedad con 5 g de muestra vegetal en una placa petri previamente pesada, luego se llevó a una estufa a 105 °C por 4 horas.

Finalmente se peso la placa y la muestra seca, y se logro calcular la humedad usando la siguiente formula.

$$\% \text{ de humedad} = \frac{\text{peso de muestra inicial}(gr) - \text{peso de muestra seca}(gr)}{\text{peso de muestra inicial}(gr)} \times 100$$

3.8.4. Extracción del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*), por el método de fluido de arrastre hidrotérmico

Se realizo la recolección del (*Minthostachys mollis*), en estado vegetativo en floración, realizándose un tratamiento de deshidratación natural en cámara protegida de radiación solar, la extracción del aceite esencial siguió la metodología de fluido de arrastre hidrotérmico depositándose el aceite esencial en viales de color ámbar de 1,5 ml.

3.8.5. Determinación del rendimiento del aceite esencial

Para la determinación del rendimiento se siguió los parámetros óptimos determinados en relación al volumen del equipo extractor de acero inoxidable, carga, tiempo de extracción. Utilizándose un extractor de aceite esencial de acero inoxidable, con dos sistemas de refrigeración (ablandador de vapor y condensador liebeg), con un separador de aceite esencial de flujo continuo de vidrio (29)

El rendimiento de extracción se obtuvo con el siguiente cálculo:

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{peso del aceite esencial}(gr)}{\text{peso de la muestra}(gr)} \times 100$$

3.8.6. Determinación de características fisico-químicas

Las características físico químicas del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*), fueron determinados aplicando las normas técnicas peruanas (NTP), como se observa en la siguiente Tabla.

Tabla N° 05: Metodología de determinación de características físico-químicas del aceite esencial.

Análisis	Código NTP	Método
Densidad relativa	319.081	Método gravimétrico con uso de picnómetro. Calculo: $d = \frac{p_2 - p}{p_1 - p}$ Donde: d = Densidad relativa. P = Peso del picnómetro vacío a 20 °C. P ₁ = Peso del picnómetro más agua a 20 °C. P ₂ = peso del picnómetro mas aceite esencial a 20 °C.
Índice de refracción	319.075	Método instrumental con uso de refractómetro de mesa ABBE, lectura directa del valor de índice de refracción a una temperatura de 20 °C.
Índice de acidez	319.085	Método de titulación con KOH 0.1N. Calculo: $IA = \frac{5,61(V)}{P}$ Donde: IA = Índice de acidez. V = Volumen en ml de K(OH) 0.1N. P = Peso de la muestra ensayada.

Fuente: Elaboración Propia (2013).

3.8.7. Determinación e identificación de compuestos bioactivos del aceite esencial de muña, según el análisis instrumental de CG-SM

Para el análisis instrumental, los compuestos volátiles se identificaron mediante Cromatografía de Gases acoplado a un espectrofotometría de masas (CG - EM) en un equipo marca Agilent Technologies equipado en una columna capilar HP-5MS (30 m x 0,25 mm) con fenil dimetilpolisiloxano como fase estacionaria (0,25 micras de espesor de película) y helio como gas de arrastre (1ml/min). Las condiciones cromatográficas fueron temperatura de inyección (220 °C), temperatura de detector (140 °C), la temperatura del horno se estableció en 50 °C por 0.5 minutos, después se incremento hasta 250 °C a 4 °C/min.

3.9. Técnicas de Procesamiento y Análisis de Datos

Para la técnica de procesamiento y análisis de datos se trabajó con el software Microsoft Excel 2010 (versión demo), para los resultados analíticos de: rendimiento en la extracción del aceite esencial de muña y resultados del análisis instrumental de Cromatografía de Gases – Espectrofotometría de Masas.

Para el análisis de datos de la delimitación del lugar de estudio fue mediante mapeos satelitales. Todos los análisis fueron de tipo descriptivos como la variación de sus compuestos bioactivos del (*Minthostachys mollis*), en función a los niveles altitudinales de crecimiento silvestre en el ámbito del Distrito de Huando.

3.9.1. Análisis de ubicación de posicionamiento global (GPS)

El análisis de ubicación de posicionamiento global se realizó gracias a la información recabada por los productores y/o asociaciones de hierbas aromáticas y medicinales, ya sean cultivadas o silvestres del Distrito de Huando, seguidamente se ubicó mediante Mapeos satelitales todo el lugar de producción silvestre de muña y finalmente se delimitó los niveles altitudinales de crecimiento silvestre de la muña en el Distrito de Huando – Huancavelica.

3.9.2. Análisis de los compuestos bioactivos del aceite esencial de muña mediante el análisis instrumental de CG-SM

Los resultados obtenidos de las pruebas físicas del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*), fue certificado por el Laboratorio de la Escuela Superior Politécnica del Litoral Centro de Investigación Biotecnológicas del Ecuador.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1. Presentación de resultados

4.1.1. Georeferencia de zona de recolección de muestra

Las muestras de (*Minthostachys mollis*) se recolectaron en el Distrito de Huando Región de Huancavelica, los datos reportados de ubicación georeferenciado, según GPS son:

Tabla N°06: Nivel 1

Dato	Reporte GPS (Garmin)
Altitud	3080 metros sobre el nivel del mar
Latitud	UTM (x) 0507575 ---- 12° 33' 56.42''
Longitud	UTM (y) 8611302 ---- 74° 55' 56.65''

Fuente: Elaboración Propia (2013).

Tabla N°07: Nivel 2

Dato	Reporte GPS (Garmin)
Altitud	3351 metros sobre el nivel del mar
Latitud	UTM (x) 0507173 ---- 12° 33' 52.31''
Longitud	UTM (y) 8611386 ---- 74° 56' 13.92''

Fuente: Elaboración Propia (2013).

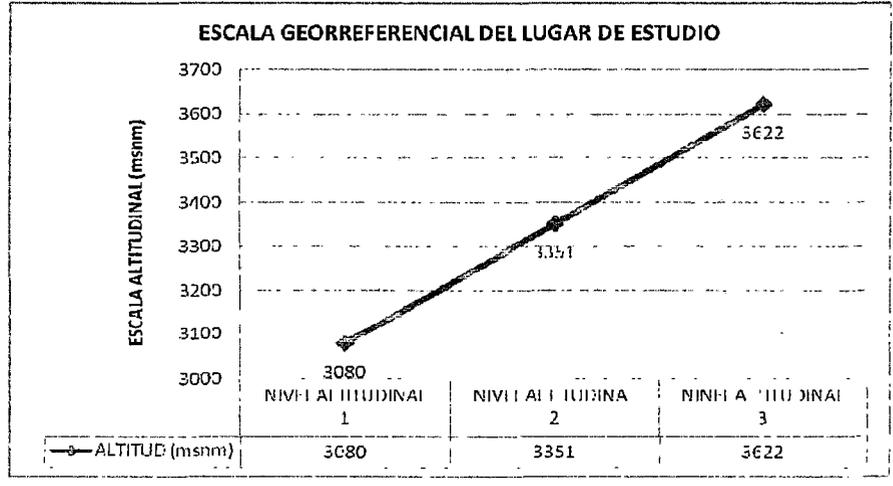
Tabla N° 08: Nivel 3

Dato	Reporte GPS (Garmin)
Altitud	3622 metros sobre el nivel del mar
Latitud	UTM (x) 0506564 ---- 12° 33' 30.30''
Longitud	UTM (y) 8611355 ---- 74° 57' 06.42''

Fuente: Elaboración Propia (2013).

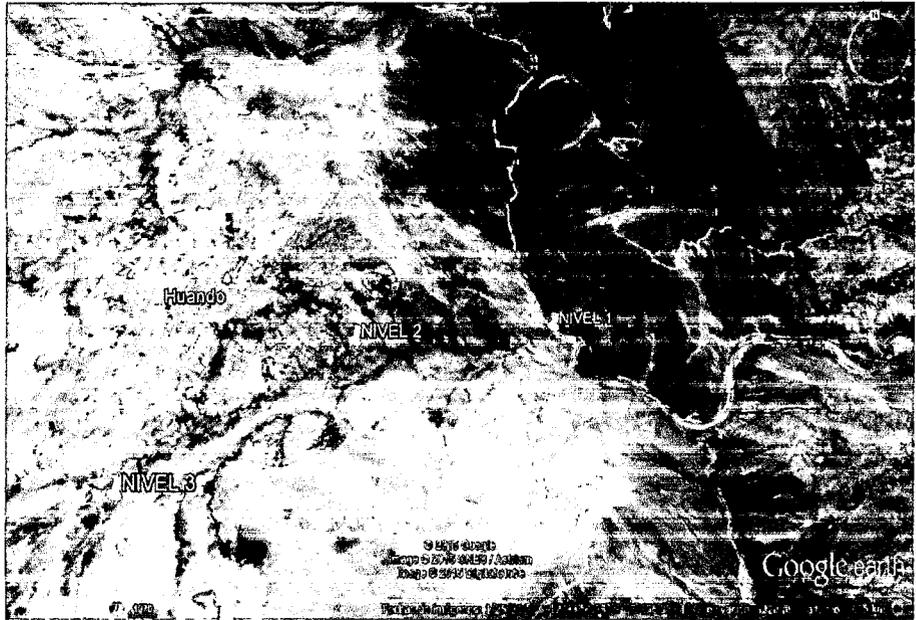
Las zonas de recolección de (*Minthostachys mollis*), corresponde a una zona quebradiza, forma parte de la cuenca hidrográfica del río Ichu de Huancavelica, está cercano a la vía férrea del tren Huancayo – Huancavelica. Es una zona donde aún existen aéreas de tupida vegetación silvestre en abundancia.

Imagen N° 02: Escala georreferencial lugar donde se recolecto las muestras



En la Imagen N° 02. Se puede apreciar tres niveles altitudinales correspondientes al lugar de estudio donde se recolecto las muestras del (*Minthostachys mollis*). Las muestras se recolecto cada 271 metros, desde los 3080, 3351 y 3622 metros sobre el nivel del mar, recorrido que abarca del Distrito de Huando por toda la quebrada abajo hasta la orilla del rio Ichu de Huancavelica. En la Imagen N° 03 se puede apreciar la procedencia de las muestras del (*Minthostachys mollis*).

Imagen N° 03: Mapeo satelital Google earth de la ubicación del punto de recolecta de (*Minthostachys mollis*)



En los meses de Diciembre a Abril hay abundante precipitación y alta humedad. Existen varios micro-cuencas, que proveen de agua todo el año. Cada zona geográfica tiene marcadas variaciones climatológicas variando en la humedad, precipitación, composición química del suelo, corrientes de aire, especies nativas y endémicas que se desarrollan por el microclima. Las condiciones propias de actividad agraria, como la agricultura, modificación de corrientes hídricas, preparación de suelos de cultivo, apertura de carreteras que ocasionan repercusiones al medio ambiente: como pérdida de nato verde de especies de plantas, arbustos y árboles, erosión de suelos, liberación de partículas y polvos finos al aire, contaminación de ríos, y afluentes de agua. Todo tipo de modificación de la naturaleza, trae consigo variaciones del medio ambiente, que puede ser favorable y perjudicial para el ecosistema, su biodiversidad, y los sistemas biológicos, que modifican también sus condiciones para su sobrevivencia (expresión de algunos genes) modificando su biosíntesis.

4.1.2. Característica general del material recolectado

Tabla N° 09: Nivel 1

Característica	Condición
Estado vegetativo	Floración
Estado de tejido	Fresco
Longitud de corte de rama	20 – 30 cm
Humedad en tejido fresco	65,8 %

Fuente: Elaboración Propia (2013).

Tabla N° 10: Nivel 2

Característica	Condición
Estado vegetativo	Floración
Estado de tejido	Fresco
Longitud de corte de rama	20 – 30 cm
Humedad en tejido fresco	64,4 %

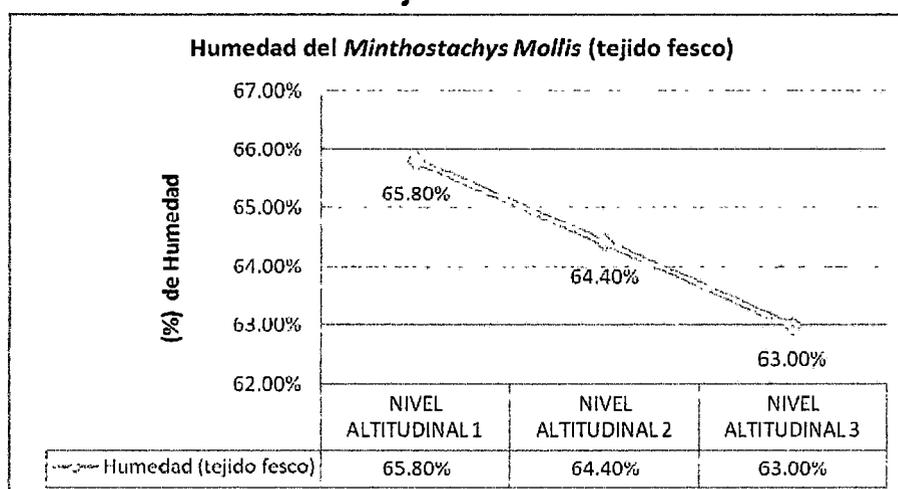
Fuente: Elaboración Propia (2013).

Tabla N° 11: Nivel 3

Característica	Condición
Estado vegetativo	Floración
Estado de tejido	Fresco
Longitud de corte de rama	20 – 30 cm
Humedad en tejido fresco	63,0 %

Fuente: Elaboración Propia (2013).

Imagen N° 04: Porcentaje de Humedad del (*Minthostachys mollis*), en tejido fresco



El material recolectado presenta una humedad inversamente proporcional al nivel altitudinal, a mayor nivel altitudinal presenta menos porcentaje de humedad del (*Minthostachys mollis*) en tejido fresco.

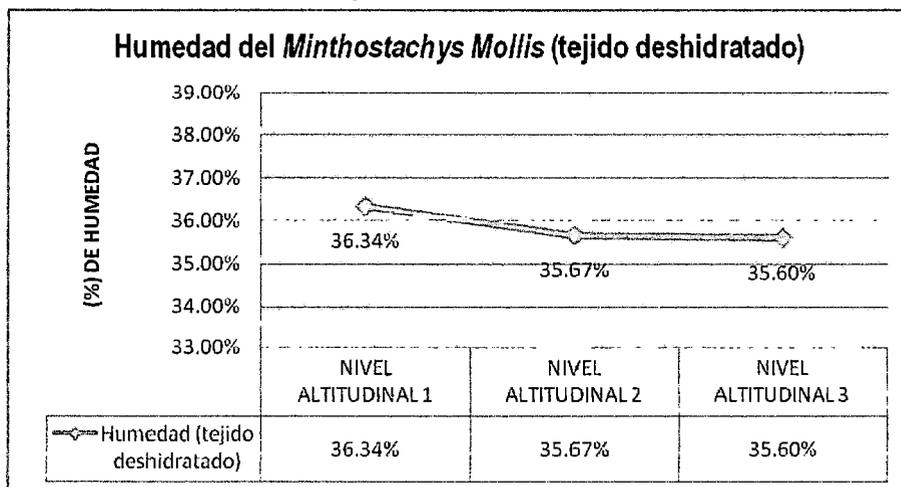
Para la siguiente operación este material biológico se sometió a deshidratación al aire libre en un ambiente seco y bajo sombra, durante una semana. A continuación se muestra los resultados del porcentaje de humedad en tejido deshidratado.

Tabla N° 12: Porcentaje de humedad en tejido deshidratado

Dato	Humedad (%)
Nivel 1	36,34
Nivel 2	35,67
Nivel 3	35,60

Fuente: Elaboración Propia (2013).

Imagen N° 05: Porcentaje de Humedad del (*Minthostachys mollis*), en tejido deshidratado



La humedad del material biológico en tejido deshidratado, aun sigue siendo inversamente proporcional al nivel altitudinal correspondiente, se puede apreciar que se ha reducido la humedad durante una semana de tejido fresco a tejido deshidratado en un 28,53% en promedio. La humedad se mantuvo constante en promedio de 35,87%, ya que si varía la humedad, el rendimiento del aceite esencial se vería afectado. El porcentaje de humedad nos indica que el (*Minthostachys mollis*) ha sido acondicionada favorablemente.

4.1.3. Extracción del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*)

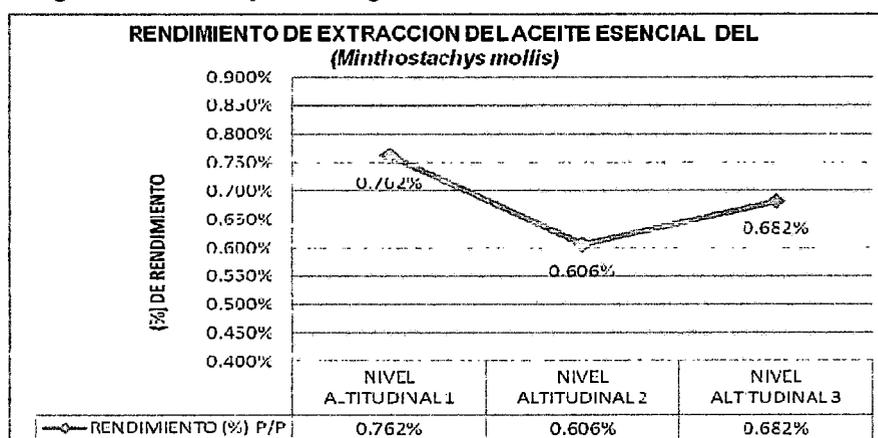
Para el proceso extractivo se siguió los parámetros del proceso de extracción por fluido de arrastre hidrotérmico y para el rendimiento de extracción del (*Minthostachys mollis*), se siguió la metodología aplicada en *Satureja incana* según Ricaldi J. (2006) (29) con 600 gr de tejido deshidratado y adición de 1 litro de agua destilada por un tiempo de 60 min. En la determinación del rendimiento de extracción del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*), mostraron los siguientes resultados.

Tabla N° 13: Reporte del rendimiento del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*)

Dato	Rendimiento (%) P/p
Nivel 1	0,7618
Nivel 2	0,6055
Nivel 3	0,6819

Fuente: Elaboración propia (2013).

Imagen N° 06: Comparación grafica del rendimiento del aceite esencial



En la Imagen N° 06 podemos observar una variación en el rendimiento expresados en porcentaje, donde en el nivel 1 se encuentra mayor contenido de aceite esencial que en el nivel 2 y 3. Es necesario mencionar que existen muchos factores para lograr este resultado, por ello es muy necesario hacer una observación en la calibración del equipo con los insumos y materiales adecuados. Por otro lado, puede ser que la selección del material biológico recolectado en el nivel 2 contenga poca cantidad de aceite esencial por los factores endémicos y naturales.

4.1.4. Características físico químicas del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*)

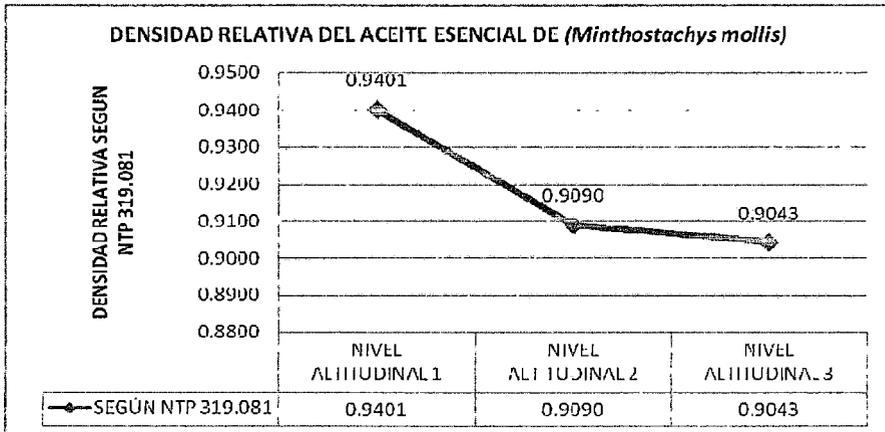
Las características físico químicos del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*) se realizo según las Normas Técnicas Peruanas para (densidad, índice de refracción, e índice de acidez), los resultados se observan en las siguientes tablas según los niveles altitudinales.

Tabla N° 14: Reporte de la densidad relativa del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*), según NTP 319.081

Dato	Densidad relativa (g/ml)
Nivel 1	0,9401
Nivel 2	0,9090
Nivel 3	0,9043

Fuente: Elaboración Propia (2013).

Imagen N° 07: Comparación grafica de la densidad relativa.



En la Imagen N° 07 podemos observar que los valores reportados son inversamente proporcional al nivel altitudinal correspondiente, esto nos indica que a mayor nivel altitudinal menor será la densidad relativa del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*).

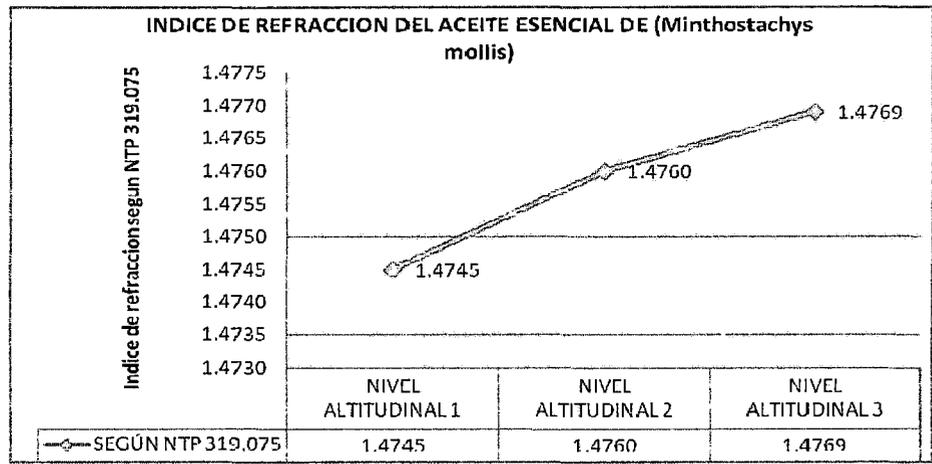
Cabe mencionar que la determinación de densidad relativa se realizo en los Laboratorios de la Universidad Nacional del Centro del Perú, con el método analítico del picnómetro, siguiendo los pasos establecidos en la NTP 319.081.

Tabla N° 15: Reporte del índice de refracción del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*), según NTP 319.075

Dato	Índice de refracción (n)
Nivel 1	1,4745
Nivel 2	1,4760
Nivel 3	1,4769

Fuente: Elaboración Propia (2013).

Imagen N° 08: Determinación del refracción del aceite esencial del (*Minthostachys mollis*)



En la Imagen N° 08 podemos observar que los valores reportados son directamente proporcionales al nivel altitudinal correspondiente esto nos indica que a mayor nivel altitudinal mayor será el índice de refracción del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*).

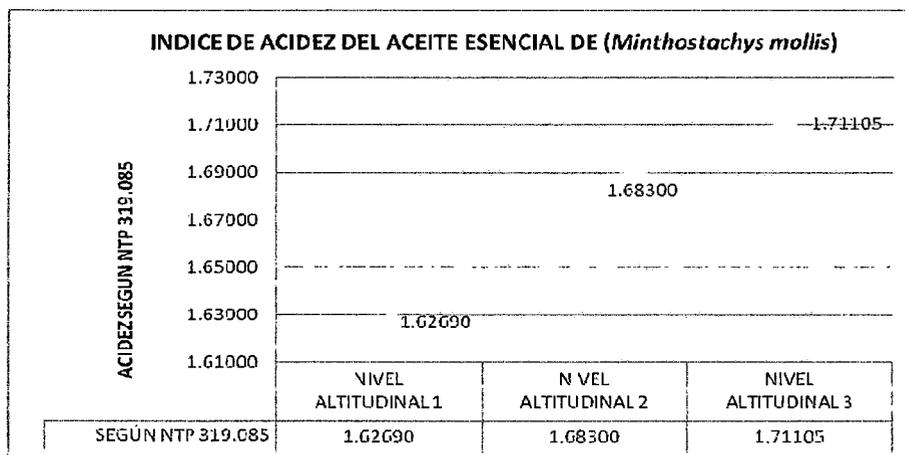
Cabe mencionar que el índice de refracción se define como $n = \frac{\text{sen } i}{\text{sen } r}$ donde (i = ángulo de incidencia y r = ángulo de refracción) el índice de refracción se realizó en los laboratorios de la Universidad del Centro del Perú, con un refractómetro de mesa AB, siguiendo los pasos establecidos en la NTP 319.085.

Tabla N° 16: Reporte del índice de acidez del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*), según NTP 319.085

Dato	Índice de acidez (mg KOH/g)
Nivel 1	1,62690
Nivel 2	1,68300
Nivel 3	1,71105

Fuente: Elaboración Propia (2013).

Imagen N° 09: Determinación del índice de acidez del aceite esencial del (*Minthostachys mollis*)



En la Imagen N° 09 podemos observar que los valores reportados son directamente proporcional al nivel altitudinal correspondiente, esto nos indica que a mayor nivel altitudinal mayor será el índice de acidez del aceite esencial del (*Minthostachys mollis*).

Cabe mencionar que el índice de acidez se expresa en miligramos de ácido butírico donde se realizaron en los laboratorios de la Universidad Nacional del Centro del Perú, con el método de técnica analítica volumétrica “ácido – base”, siguiendo los pasos establecidos en la NTP 319.075.

4.1.5. Determinación e identificación de compuestos bioactivos del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) de los tres niveles altitudinales, según el análisis instrumental de CG-SM

Los valores reportados por el laboratorio de la Escuela Superior Politécnica del Litoral “Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador” donde realizaron el análisis por Cromatografía de Gas – Espectrometría de Masa, reportan los siguientes resultados que se dan a continuación, de los tres niveles altitudinales correspondientes:

Tabla N° 17: Análisis por CG-SM del Nivel 1

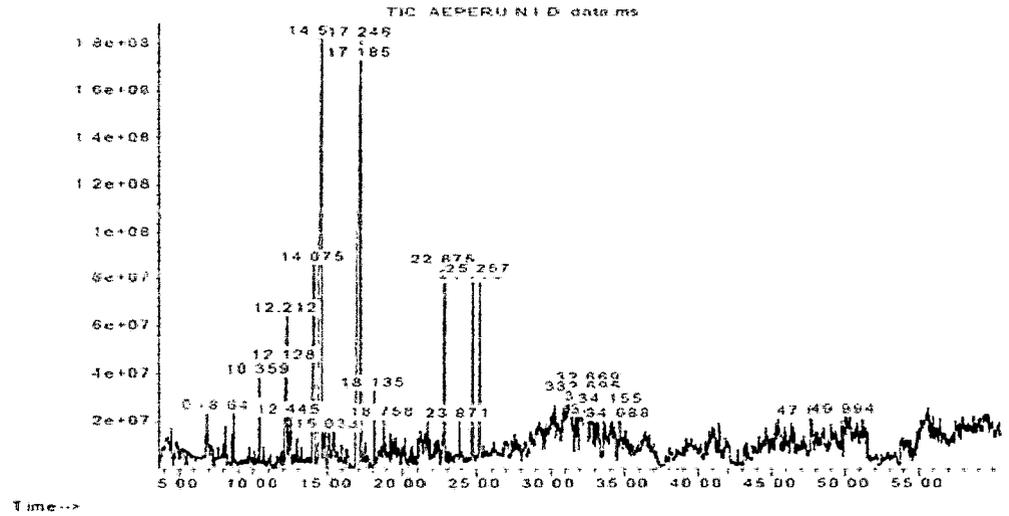
Pico	Tiempo de Retención (min)	Compuesto Químico	Porcentaje (%)	N° CAS
1	6.825	α -pinene	0,54	000080-56-8
2	8.638	3-octanol	0,9	000589-98-0
3	10.362	β -ocimeno,	1,36	003779-61-1
4	12.124	Acido butírico	2,36	000078-36-4
5	12.214	Linalol	3,77	000078-70-6
6	12.443	Desconocido	0,12	-----
7	14.078	Mentona	8,88	000089-80-5
8	14.58	Menthol	24,06	000491-01-0
9	15.032	Levo-menthol	0,14	000089-78-1
10	17.182	ciclobutilidenacetaldeido	26,62	998008-25-6
11	17.246	ciclobutilidenacetaldeido	9,42	998008-25-6
12	18.137	Carane	1,33	000554-59-6
13	18.76	3-menteno	1,04	000500-00-5
14	22.876	Cariofileno	5,29	000087-44-5
15	23.869	Humuleno	0,64	006753-98-6
16	24.778	Germacreno D	4,71	023986-74-5
17	25.256	Biciclogermacreno	4,42	067650-90-2
18	31.84	Desconocido	0,88	-----
19	31.885	Desconocido	0,27	-----
20	31.936	Desconocido	0,42	-----
21	32.667	Desconocido	0,58	-----
22	32.693	Zn-OEP Coplex	0,31	017632-18-7
23	33.24	Desconocido	0,47	-----
24	33.628	Desconocido	0,31	-----
25	34.156	Hydroxyoestriol	0,86	051497-46-2
26	34.69	Desconocido	0,03	-----
27	47.656	Halocynthiixanthin	0,06	081306-52-7
28	49.991	Desconocido	0,19	-----

Fuente: Librería de estándar NIST.98.L, NIST 02.L y NIST 5a.L. (2011).

Imagen N° 10: Cromatograma correspondiente al Nivel 1

Library Search Report

Abundance



Fuente: Análisis de laboratorio (2014).

Según los resultados obtenidos por el análisis de CG-SM correspondiente al nivel 1, reporta cada compuesto químico en relación al tiempo de retención y abundancia contenida en el aceite esencial de (*Minthostachys mollis*), a continuación se registran los compuestos mayoritarios, identificados en el Nivel 1:

Tabla N° 18: Compuestos bioactivos Mayoritarios en el Nivel 1

Pico	Tiempo de Retención (min)	Compuesto Químico	Porcentaje (%)
10	17.182	ciclobutildenacetaldeido	26,62
8	14.58	Menthol	24,06
11	17.246	ciclobutildenacetaldeido	9,42
7	14.078	Mentona	8,88
14	22.876	Cariofileno	5,29
16	24.778	Germacreno D	4,71
17	25.256	Biciclogermacreno	4,42
5	12.214	Linalol	3,77
4	12.124	Acido butirico	2,36
3	10.362	β-ocimeno,	1,36
12	18.137	Carane	1,33
13	18.76	3-menteno	1,04
2	8.638	3-octanol	0,9

Fuente: Elaboración Propia (2014).

Tabla N° 19: Clasificación de compuestos bioactivos en el Nivel 1

Compuestos Fitobioactivos	Compuestos Fitoquímicos
Monoterpenos hidrocarbonados	α -pinene, β -ocimeno, Carane, 3-menteno
Monoterpenos Oxigenados	Linalol, Mentona, Menthol, Levo-menthol
Sesquiterpenos hidrocarbonados	Cariofileno, Humuleno, Germacreno D, Bicyclgermacreno
Sesquiterpenos oxigenados	
Compuestos alifáticos de bajo peso molecular	3-octanol, Acido butírico, ciclobutildenacetaldeido, Zn-OEP Coplex, Hydroxyoestriol, Halocynthiaxanthin

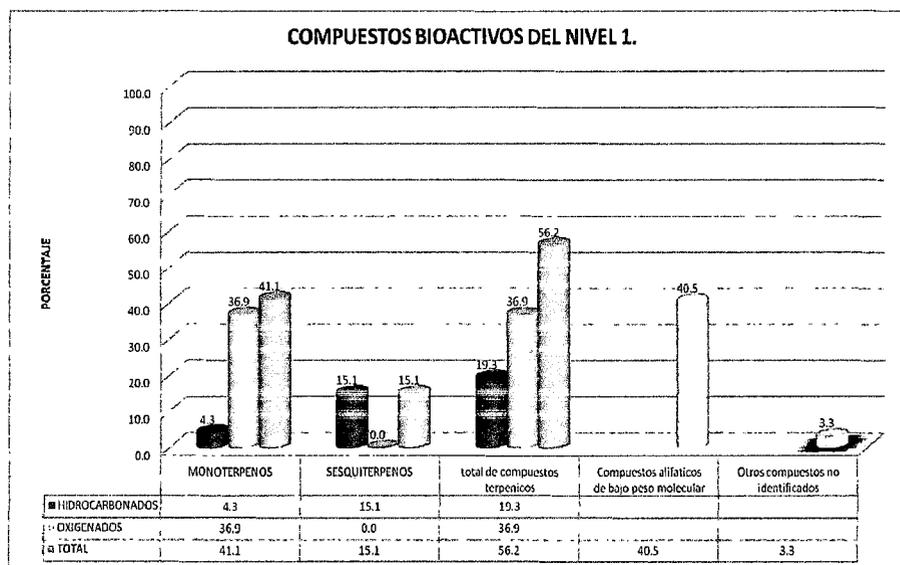
Fuente: Elaboración Propia (2014).

Tabla N° 20: Composición bioactiva en el Nivel 1

Compuestos Bioactivos	Porcentaje (%)
Monoterpenos hidrocarbonados	4,3
Monoterpenos Oxigenados	36,9
Total de monoterpenos	41,1
Sesquiterpenos hidrocarbonados	15,1
Sesquiterpenos oxigenados	0,0
Total sesquiterpenos	15,1
Terpenos hidrocarbonados	19,3
terpenos oxigenados	36,9
total de compuestos terpenicos	56,2
Compuestos alifáticos de bajo peso molecular	40,53
Otros compuestos no identificados	3,27
TOTAL DE COMPUESTOS BIOACTIVOS	100,0

Fuente: Elaboración Propia (2014).

Imagen N° 11: Composición bioactiva en el Nivel 1



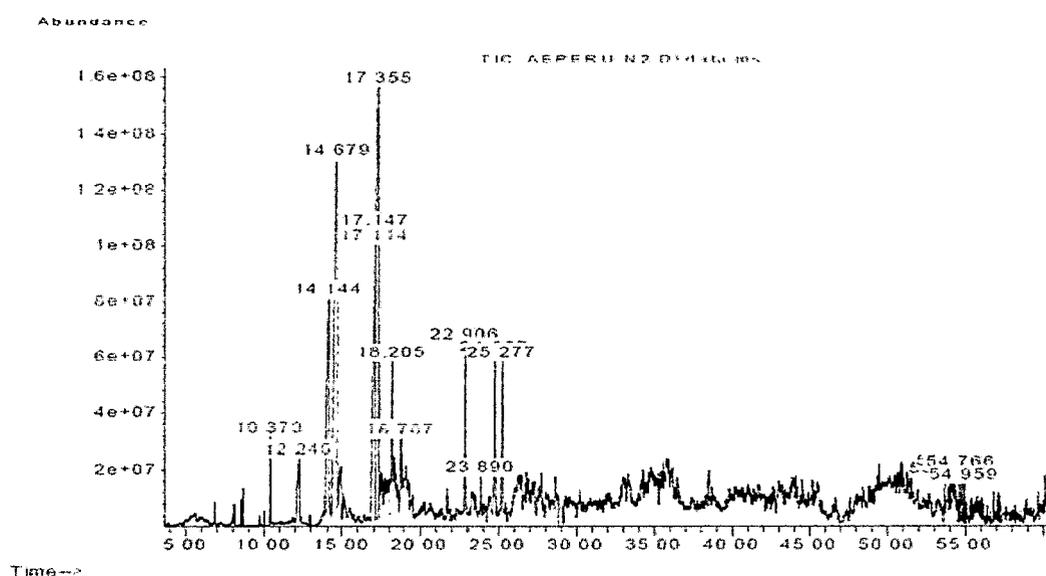
La composición bioactiva del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*) según el análisis de GC-MS, reporta que en el Nivel 1 se elucidaron 28 compuestos fitoquímicos, distribuidos en relación a compuesto terpenicos con un 56,2% entre (monoterpenos 41% y sesquiterpenos 15,1%), compuestos alifáticos de bajo peso molecular con un 40,53% y otros compuestos no identificados con 3,27%. El aceite esencial obtenido en estado de plena floración tiene un porcentaje mayor de compuestos terpenicos en ello se encuentra mayor contenidos de terpenos oxigenados con un 36,9% que los terpenos hidrocarbonados con un 19,3%.

Tabla N° 21: Análisis por CG-SM del Nivel 2

Pico	Tiempo de Retención (min)	Compuesto Químico	Porcentaje (%)	N° CAS
1	10.381	β-ocimeno	1,36	003779-61-1
2	12.246	Linalol	2,61	000078-70-6
3	14.141	Mentona	9,93	010458-14-7
4	14.593	Menthol	20,91	000491-01-0
5	14.676	Levo-menthol	3,97	000089-78-1
6	17.112	pulegona	12,34	015932-80-6
7	17.151	pulegon	2,72	000089-82-7
8	17.329	Metilhidroquinona, dimetil éter	22,19	024599-58-4
9	17.354	Metilhidroquinona, dimetil éter	3,59	024599-58-4
10	18.207	Carane	4,54	000554-59-6
11	18.786	camphane	1,07	000464-15-3
12	22.908	Cariofileno	4,17	000087-44-5
13	23.888	Humuleno	0,81	006753-98-6
14	24.81	Germacreno D	3,87	023986-74-5
15	25.275	Biciclogermacreno	3,41	067650-90-2
16	53.7	Desconocido	1,00	-----
17	54.158	Desconocido	0,61	-----
18	54.578	Desconocido	0,58	-----
19	54.769	Zn-OEP Coplex	0,08	017632-18-7
20	54.96	Desconocido	0,25	-----

Fuente: Librería de estándar NIST.98.L, NIST 02.L y NIST 5a.L. (2011).

Imagen N° 12: Cromatograma correspondiente al Nivel 2



Fuente: Análisis de laboratorio (2014).

Según los resultados obtenidos por el análisis de CG-SM correspondiente al nivel 2, reporta cada compuesto químico en relación al tiempo de retención y abundancia contenida en el aceite esencial de (*Minthostachys mollis*), a continuación se registran los compuestos mayoritarios, identificados en el Nivel 2:

Tabla N° 22: Compuestos bioactivos Mayoritarios en el Nivel 2

Pico	Tiempo de Retención (min)	Compuesto Químico	Porcentaje (%)
8	17.329	Metilhidroquinona, dimetil éter	22,19
4	14.593	Menthol	20,91
6	17.112	pulegona	12,34
3	14.141	Mentona	9,93
10	18.207	Carane	4,54
12	22.908	Cariofileno	4,17
5	14.676	Levo-menthol	3,97
14	24.81	Germacreno D	3,87
9	17.354	Metilhidroquinona, dimetil éter	3,59
15	25.275	Biciclogermacreno	3,41
7	17.151	pulegon	2,72
2	12.246	Linalol	2,61
1	10.381	β-ocimeno	1,36

Fuente: Elaboración Propia (2014).

Tabla N° 23: Clasificación de compuestos bioactivos en el Nivel 2

Compuestos Fitobioactivos	Compuestos Fitoquímicos
Monoterpenos hidrocarbonados	β-ocimeno, Carane, camphane
Monoterpenos Oxigenados	Linalol, Mentona, Menthol, Levo-menthol, pulegona, pulegon
Sesquiterpenos hidrocarbonados	Cariofileno, Humuleno, Germacreno D, Bicyclgermacreno
Sesquiterpenos oxigenados	
Compuestos alifáticos de bajo peso molecular	Metilhidroquinona dimetil éter, Octaethyl

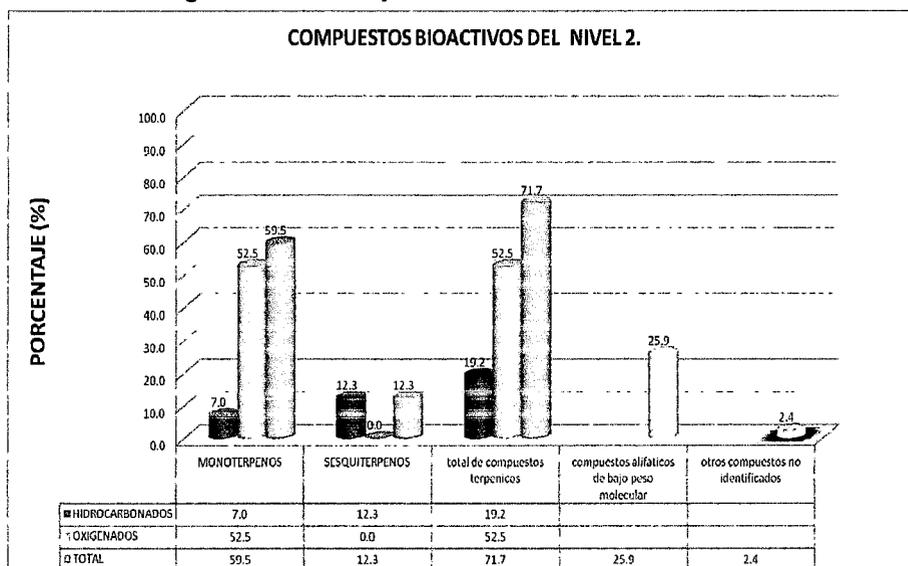
Fuente: Elaboración Propia (2014).

Tabla N° 24: Composición bioactiva en el Nivel 2

Compuestos Bioactivos	Porcentaje (%)
Monoterpenos hidrocarbonados	7,0
Monoterpenos Oxigenados	52,5
Total de monoterpenos	59,5
Sesquiterpenos hidrocarbonados	12,3
Sesquiterpenos oxigenados	0,0
Total sesquiterpenos	12,3
Terpenos hidrocarbonados	19,2
terpenos oxigenados	52,5
total de compuestos terpenicos	71,7
compuestos alifáticos de bajo peso molecular	25,86
otros compuestos no identificados	2,44
TOTAL DE COMPUESTOS BIOACTIVOS	100,0

Fuente: Elaboración Propia (2014).

Imagen N° 13: Composición bioactiva en el Nivel 2



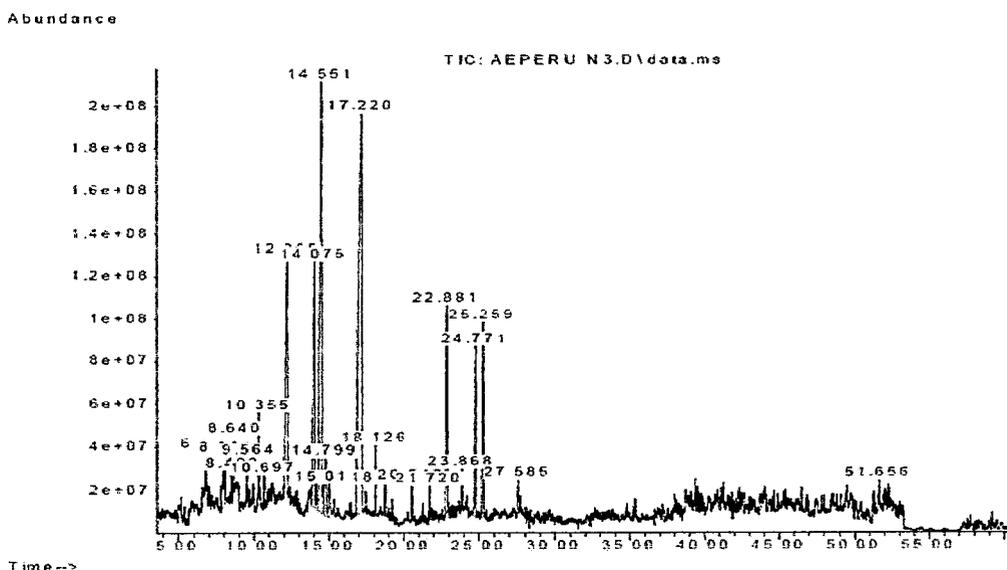
La composición bioactiva del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*) según el análisis de GC-MS reporta que en el Nivel 2 se elucidaron 20 compuestos fitoquímicos, distribuidos en relación a compuesto terpenicos con un 71,7% entre (monoterpenos 59,5% y sesquiterpenos 12,3%), compuestos alifáticos de bajo peso molecular con un 25,86% y otros compuestos no identificados con 2,44%. El aceite esencial obtenido en estado de plena floración tiene un porcentaje mayor de compuestos terpenicos en ello se encuentra mayor contenidos de terpenos oxigenados con un 52,5% que los terpenos hidrocarbonados con un 19,2%.

Tabla N° 25: Análisis por CG-SM del Nivel 3

Pico	Tiempo de Retención (min)	Compuesto Químico	Porcentaje (%)	N° CAS
1	6.819	α -pineno	0,66	000080-56-8
2	7.97	Desconocido	0,98	-----
3	8.066	β -pineno	1,07	000127-91-3
4	8.492	β -mirreno	0,44	000123-35-3
5	8.638	3-octanol	0,94	000589-98-0
6	9.567	p-Cymene	0,91	000099-87-6
7	10.356	β -ocimeno	1,52	003779-61-1
8	10.699	γ -Terpineno	0,43	000099-85-4
9	12.265	Linalol	11,57	000078-70-6
10	14.078	Mentona	9,24	000089-80-5
11	14.548	2,6-Octadiene	21,35	002792-39-4
12	14.797	isopulegona	1,97	029606-79-9
13	15.019	Menthol	0,24	000491-02-1
14	17.22	Alcanfor	30,87	000076-22-2
15	18.124	Carane	1,17	000554-59-6
16	18.747	Camphane	0,89	000464-15-3
17	20.541	Canfeno	0,63	000079-92-5
18	21.718	β -bourbenene	0,54	005208-59-3
19	22.883	cariofileno	4,75	000087-44-5
20	23.869	Humuleno	0,65	006753-98-6
21	24.772	Germacreno D	4,03	023986-74-5
22	25.256	Biciclogermacreno	4,46	067650-90-2
23	27.584	Desconocido	0,61	-----
24	51.658	Desconocido	0,08	-----

Fuente: Librería de estándar NIST.98.L, NIST 02.L y NIST 5a.L. (2011).

Imagen N° 14: Cromatograma correspondiente al Nivel 3



Fuente: Análisis de laboratorio (2014).

Según los resultados obtenidos por el análisis de CG-SM correspondiente al nivel 3, reporta cada compuesto químico en relación al tiempo de retención y abundancia contenida en el aceite esencial de (*Minthostachys mollis*), a continuación se registran los compuestos mayoritarios, identificados en el Nivel 3:

Tabla N° 26: Compuestos bioactivos Mayoritarios en el Nivel 3

Pico	Tiempo de Retención (min)	Compuesto Químico	Porcentaje (%)
14	17.22	Alcanfor	30,87
11	14.548	2,6-Octadiene	21,35
9	12.265	Linalol	11,57
10	14.078	Mentona	9,24
19	22.883	cariofileno	4,75
22	25.256	Biciclogermacreno	4,46
21	24.772	Germacreno D	4,03
12	14.797	isopulegona	1,97
7	10.356	β-ocimeno	1,52
15	18.124	Carane	1,17
3	8.066	β-pineno	1,07
2	7.97	Desconocido	0,98
5	8.638	3-octanol	0,94

Fuente: Elaboración Propia (2014).

Tabla N° 27: Clasificación de compuestos bioactivos en el Nivel 3

Compuestos Fitobioactivos	Compuestos Fitoquímicos
Monoterpenos hidrocarbonados	α-pineno, β-pineno, β-mirceno, p-Cymene, β-ocimeno, γ-Terpineno, 2,6-Octadiene, Carane, Camphane, Canfeno
Monoterpenos Oxigenados	Linalol, Mentona, isopulegona, Menthol, Alcanfor
Sesquiterpenos hidrocarbonados	β-bourbenene, cariofileno, Humuleno, Germacreno D, Bicyclgermacreno
Sesquiterpenos oxigenados	
Compuestos alifáticos de bajo peso molecular	3-octanol

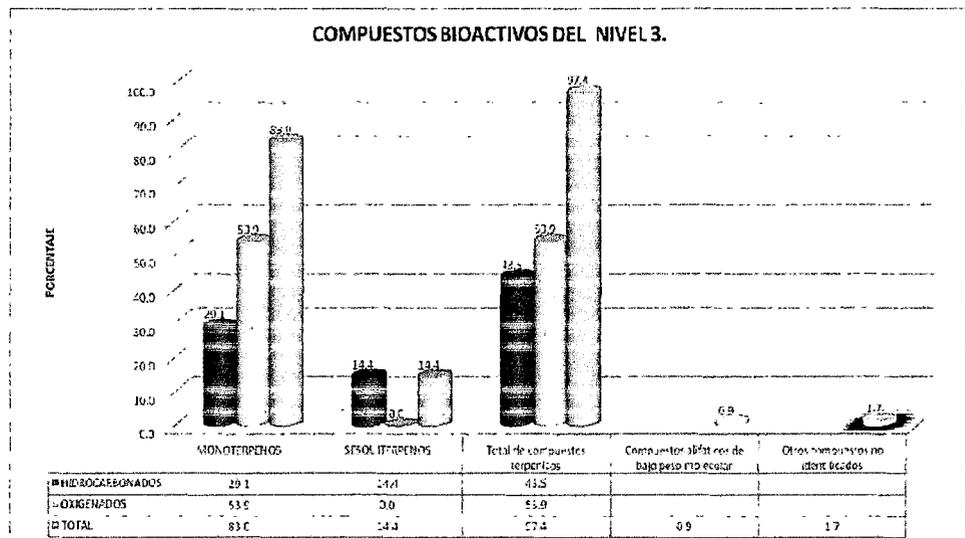
Fuente: Elaboración Propia (2014).

Tabla N° 28: Composición bioactiva en el Nivel 3

Compuestos Bioactivos	Porcentaje (%)
Monoterpenos hidrocarbonados	29.1
Monoterpenos Oxigenados	53.9
Total de monoterpenos	83.0
Sesquiterpenos hidrocarbonados	14.4
Sesquiterpenos oxigenados	0.0
Total sesquiterpenos	14.4
Terpenos hidrocarbonados	43.5
terpenos oxigenados	53.9
Total de compuestos terpenicos	97.4
Compuestos alifáticos de bajo peso molecular	0.94
Otros compuestos no identificados	1.67
TOTAL DE COMPUESTOS BIOACTIVOS	100.0

Fuente: Elaboración Propia (2014).

Imagen N° 15: Composición bioactiva en el Nivel 3



La composición bioactiva del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*) según el análisis de GC-MS reporta que en el Nivel 3 se elucidaron 24 compuestos fitoquímicos, distribuidos en relación a compuesto terpenicos con un 97,4% entre (monoterpenos 83,0% y sesquiterpenos 14,4%), compuestos alifáticos de bajo peso molecular con un 0,94% y otros compuestos no identificados con 1,67%. El aceite esencial obtenido en estado de plena floración tiene un porcentaje mayor de compuestos terpenicos en ello se encuentra mayor contenidos de terpenos oxigenados con un 53,9% que los terpenos hidrocarbonados con un 43,5%. Diferenciados notoriamente en compuestos terpenicos y compuestos alifáticos de bajo peso molecular.

Tabla N° 29: Variación de compuestos fitoquímicos del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*) en los tres niveles altitudinales de estudio

N°	COMPUESTO FITOQUIMICO	NIVEL ALTITUDINAL		
		NIVEL 1 (%)	NIVEL 2 (%)	NIVEL 3 (%)
1	Alcanfor	0	0	30,87
2	Metilhidroquinona, dimetil éter	0	22,19	0
3	ciclobutilidenacetaldeido	26,62	0	0
4	2,6-Octadiene	0	0	21,35
5	Menthol	24,06	20,91	0,24
6	pulegona	0	12,34	0
7	ciclobutilidenacetaldeido	9,42	0	0
8	Mentona	8,88	9,93	9,24
9	Cariofileno	5,29	4,17	4,75
10	Germacreno D	4,71	3,87	4,03
11	Biciclogermacreno	4,42	3,41	4,46
12	Metilhidroquinona, dimetil éter	0	3,59	0
13	Linalol	3,77	2,61	11,57
14	pulegon	0	2,72	0
15	Acido butirico	2,36	0	0
16	isopulegona	0	0	1,97
17	β-ocimeno,	1,36	1,36	1,52
18	p-Cymene	0	0	0,91
19	Carane	1,33	4,54	1,17
20	camphane	0	1,07	0,89
21	Canfeno	0	0	0,63
22	3-menteno	1,04	0	0

23	3-octanol	0,9	0	0,94
24	Hydroxyoestriol	0,86	0	0
25	Humuleno	0,64	0,81	0,65
26	β -bourbenene	0	0	0,54
27	α -pinene	0,54	0	0,66
28	β -pineno	0	0	1,07
29	β -mirceno	0	0	0,44
30	γ -Terpineno	0,43	0	0
31	Zn-OEP Coplex	0,31	0,08	0
32	Levo-menthol	0,14	3,97	0
33	Halocynthiixanthin	0,06	0	0

Fuente: Elaboración Propia (2014).

En la Tabla N° 29 se realizó un estudio comparativo de todos los compuestos bioactivos del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*). Resultados obtenidos del análisis de Cromatografía de Gases y Espectrometría de Masas, de las muestras recolectadas en los tres niveles altitudinales del Distrito de Huando.

En la comparación de los resultados obtenidos en el Nivel 1, Nivel 2 y Nivel 3, se observa la ausencia de algunos compuestos bioactivos tanto en el Nivel 1, Nivel 2 y Nivel 3. Es la razón necesaria de realizar una investigación descriptiva porque es la base de conocer los perfiles bioactivos que manifiesta la planta silvestre en cada nivel altitudinal de su desarrollo y a la vez se está conociendo el origen del aceite esencial.

Para realizar una mejor comparación de los compuestos bioactivos del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*), en la siguiente tabla observaremos la diferencia porcentual de los compuestos bioactivos presentes en las tres muestras analizadas por CG-SM, según al nivel altitudinal correspondiente.

22

Tabla N° 30: Comparación de compuestos bioactivos presentes en las tres muestras correspondientes a cada nivel altitudinal

N°	COMPUESTO FITOQUIMICO	NIVEL ALTITUDINAL		
		NIVEL 1 (%)	NIVEL 2 (%)	NIVEL 3 (%)
1	Menthol	24,06	20,91	0,24
2	Mentona	8,88	9,93	9,24
3	Cariofileno	5,29	4,17	4,75
4	Germacreno D	4,71	3,87	4,03
5	Biciclogermacreno	4,42	3,41	4,46
6	Linalol	3,77	2,61	11,57
7	β -ocimeno,	1,36	1,36	1,52
8	Carane	1,33	4,54	1,17
9	Humuleno	0,64	0,81	0,65

Fuente: Elaboración Propia (2014).

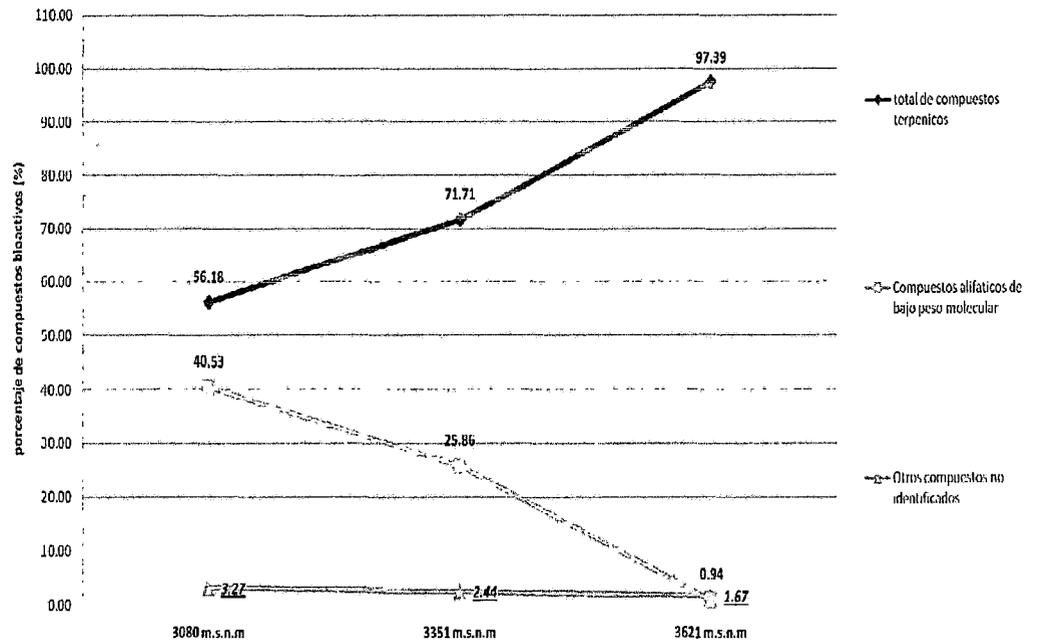
En la Tabla N° 30, podemos observar los resultados de compuestos bioactivos en el aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) presenta variación en relación a los niveles altitudinales de crecimiento silvestre en el Distrito de Huando.

Tabla N° 31: Comparación de compuestos bioactivos del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*) en los tres niveles altitudinales

Componentes Fitobiactivos	Niveles Altitudinales		
	Nivel 1 (%)	Nivel 2 (%)	Nivel 3 (%)
	3080 msnm	3351 msnm	3621 msnm
Monoterpenos hidrocarbonados	4,27	6,97	29,07
Monoterpenos Oxigenados	36,85	52,48	53,89
Total de monoterpenos	41,12	59,45	82,96
Sesquiterpenos hidrocarbonados	15,06	12,26	14,43
Sesquiterpenos oxigenados	0,00	0,00	0,00
Total sesquiterpenos	15,06	12,26	14,43
Terpenos hidrocarbonados	19,33	19,23	43,50
terpenos oxigenados	36,85	52,48	53,89
total de compuestos terpenicos	56,18	71,71	97,39
Compuestos alifáticos de bajo peso molecular	40,53	25,86	0,94
Otros compuestos no identificados	3,27	2,44	1,67
TOTAL DE COMPUESTOS BIOACTIVOS	100,0	100,0	100,0

Fuente: Elaboración Propia (2014).

Imagen N° 16: Comparación grafica de componentes bioactivos del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*), en función al nivel altitudinal de crecimiento



En la Imagen N° 16 podemos observar la variación continua de los metabolitos secundarios presentes en el aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*), según los niveles altitudinales de crecimiento silvestre.

Se observa que el contenido de los compuestos terpenicos es directamente proporcional al nivel altitudinal, esto nos indica que a mayor nivel altitudinal se encuentra mayor contenido de compuestos terpenicos. Los compuestos alifáticos de bajo peso molecular son inversamente proporcionales al nivel altitudinal de crecimiento silvestre, esto nos indica que a mayor nivel altitudinal se encuentra menor contenido de compuestos alifáticos de bajo peso molecular de la misma manera se encuentran los compuestos no identificados o desconocidos que son inversamente proporcional al nivel altitudinal, esto nos indica que a mayor nivel altitudinal se encuentra menos compuestos extraños no identificados.

Muchos factores como el tiempo de colección, condiciones de secado, modo de destilación, factores geográficos, climáticos y altitudinales juegan un rol importante en la composición fitoquímica del aceite esencial. Estas condiciones ambientales alteran respuestas de la planta y sus rutas internas de síntesis fitoquímica de la planta armoniosamente proporcionan para su supervivencia y la adaptación de una planta, especialmente en hábitats silvestres.

La composición de un aceite esencial de una planta está determinada genéticamente por (quimiotipo – genes de expresión), siendo específicamente característica para un determinado órgano en relación a su estado de crecimiento – estado vegetativo. (30) En las especies vegetales, los aceites esenciales presentan una mixtura de diferentes concentraciones siendo común la presencia de algunos compuestos fitoquímicos mayoritarios, y según varios autores las condiciones ambientales son capaces de causar variaciones significativas.

4.2. Discusión

4.2.1. Tratamiento de la humedad del material biológico

De acuerdo a los resultados mostrados en la Tabla N° 12, la humedad del material biológico en tejido deshidratado reporta 36,34% para N1, 35, 67% para N2 y 35.60% para N3 respectivamente tal como demuestra Aradel y Copley (1976) (31), menciona que; para tener un mayor rendimiento de aceite esencial en el proceso extractivo, el material vegetal deberá de tener una humedad promedio de 30 – 38%, también de acuerdo a los parámetros utilizados para el rendimiento de extracción del aceite esencial de *Satureja incana* por Ricaldi (2006) (29), también paso por un proceso de deshidratación alcanzando una humedad en tejido deshidratado de 35,72% aproximadamente. En efecto los porcentajes promedios que menciona Aradel y Copley, tienen efecto positivo en el rendimiento del aceite esencial durante el proceso extractivo.

4.2.2. Análisis del rendimiento del aceite esencial

En la Tabla N°13 podemos observar el rendimiento durante el proceso extractivo del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*) donde reportó 0.7618% para N1, 0.6055% para N2 y 0.6819% para N3, estos resultados son ligeramente diferentes a los obtenidos en el estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb, de las Tres Regiones Peruanas realizado por Fuertes y Munguia (2001) (2), donde los resultados fueron 0,27% en Tarma Junín, 0,21 en Huaraz Ancash y 0,21 en Pampas Huancavelica.

Encarnación (2009) (6), en su trabajo de investigación "Determinación de propiedades físico-químicas del aceite esencial de poleo (*Minthostachys Mollis* (kunth) griseb) en diferentes estados fenológicos y de tres lugares de la Provincia de Loja mediante GC-MS Y GC-FID" reporta los siguientes valores de rendimiento 0,073% en Chuquiribamba – Ecuador a 2725 msnm, 0,296% en el Tambo Ecuador a 875 msnm y 0,213% en Villonaco – Ecuador a 975 msnm. Cabe señalar que estos resultados también son ligeramente diferentes a los resultados obtenidos en esta investigación, pero Vargas y Bottia, (2008) (5), en su "estudio de la composición química de los aceites esenciales de seis especies vegetales cultivadas en los municipios de Bolivar y el Peñon – Santander, Colombia" reporta el siguiente valor de rendimiento de 2% a una altitud de 1983 msnm. En este sentido es muy necesario realizar un proceso selectivo de post cosecha para obtener un buen rendimiento de aceite esencial, aunque los valores reportados en nuestra investigación están en promedio de los valores citados por nuestros antecedentes.

4.2.3. Análisis de la densidad relativa del aceite esencial

En la Tabla N°14 podemos observar los resultados durante la determinación de densidad relativa del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*) de los tres niveles altitudinales 0,94019 para N1, 0,90909 para N2 y 0,90430 para N3, respectivamente: Según Guenther, (1948) (26), la

determinación de la densidad permite, algunas veces, hacer ciertas deducciones acerca de la composición de las esencias. Así, los aceites esenciales que presentan densidades menores de 0,9 g/cm³ son ricos en hidrocarburos, alcoholes, ésteres y cetonas. Por otra parte, aquellos aceites que tienen densidades mayores de 1,0 g/cm³ contienen principalmente fenoles o sus derivados y ciertos ésteres aromáticos, tomado en cuenta el estudio de Guenther; los resultados en compuestos terpenicos é hidrocarburos son: 56,18% para N1, 71,71% para N2 y 97,39% para N3, respectivamente. Concluyendo que a mayor nivel altitudinal de crecimiento silvestre de (*Minthostachys mollis*) se encuentra mayor contenido de compuestos terpenicos así mismo que a mayor nivel altitudinal el aceite esencial se muestra menos denso y presenta mayor contenido de compuestos terpenicos é hidrocarburos, en efecto los estudios realizados por Guenther, muestran ser coherentes con nuestros resultados

4.2.4. Análisis del índice de refracción del aceite esencial

En la Tabla N°15 se puede observar los resultados durante la determinación del índice de refracción del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*) de los tres niveles altitudinales: 1,4745 para N1, 1,4760 para N2 y 1,4769 para N3, respectivamente. Mostrando que a mayor nivel altitudinal mayor será el índice de refracción. Según Domínguez, (1988) (32), menciona que en la mayoría de los aceites esenciales el valor del índice de refracción es relativamente cercano y varía entre 1,43 y 1,61 a 20°C. En general, los aceites esenciales que presentan índices de refracción menores de 1,47 poseen un alto porcentaje de hidrocarburos terpénicos o compuestos alifáticos. Por el contrario, un índice de refracción mayor de 1,47, indica la posible presencia de compuestos alifáticos oxigenados en la esencia. En algunos casos, esta determinación puede revelar la presencia de impurezas. De acuerdo a los resultados mostrados en la Tabla N° 31 reporta que á mayor nivel altitudinal mayor es el contenido de compuestos terpenicos, menor contenido de compuestos alifáticos de bajo peso

molecular y menor contenido de compuestos no identificados o impurezas. Coincidiendo con los resultados de Fuertes y Munguia (2001), (2), el índice de refracción del aceite esencial procedentes de Tarma es 1,4727 indicando la presencia de compuestos oxigenados aromaticos lo cual confirma en el espectro respectivo la presencia de enlaces C-H aromatico.

4.2.5. Análisis del índice de acidez del aceite esencial

En la Tabla N°16 se puede observar los resultados durante la determinación del índice de acidez del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*) de los tres niveles altitudinales: 1,62690 para N1, 1,68300 para N2 y 1,71105 para N3 respectivamente, coincidiendo con la teoría de características físico químicas del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*) expresados por Morales, (1973) (11).

4.2.6. Comparación de los resultados obtenidos por el análisis de CG-SM

Son varios los factores que influyen sobre la composición química de un aceite esencial, entre ellos se puede indicar los siguientes condiciones geobotánicas del medio: clima, altitud, tipo de suelo, pluviosidad, método de cultivo, fertilizantes, abonos, pesticidas, época de recolección, modo de almacenamiento y manejo del material vegetal, tratamiento de post cosecha, modo de obtención del aceite esencial y finalmente el tipo de análisis realizado.

Existen variaciones en los compuestos químicos de los aceites esenciales de plantas cultivadas y silvestres en diferentes regiones del mundo, variando la concentración y presencia de ciertos compuestos químicos, a continuación se realiza una comparación en la concentración de compuestos bioactivos analizados por CG-SM.

Tabla N° 32: Comparación de los compuestos de mayor abundancia en los tres niveles altitudinales

Especie Vegetal	Lugar de Recolección	Altitud msnm	Componentes Mayoritarios	%	Análisis Instrumental
<i>Minthostachys mollis</i> (Kunth)	Huando - Huancavelica	N1 - 3080 msnm.	Ciclobutil denacetaldeido	26,62	GC - MS Agilent Tech Columna HP-5MS (30 m * 0.25 mm* 0.25 µm) T inicio 50 °C hasta 250 °C calentamiento 4 °C/min
			Menthol	24,06	
			Ciclobutil denacetaldeido	9,42	
			Mentona	8,88	
			Cariofileno	5,29	
			Germacreno D	4,71	
		N2 - 3351 msnm.	Metil hidroquinona, dimetil éter	22,19	
			Menthol	20,91	
			pulegona	12,34	
			Mentona	9,93	
			Carane	4,54	
			Cariofileno	4,17	
		N1 - 3622 msnm.	Alcanfor	30,87	
			2,6-Octadiene	21,35	
			Linalol	11,57	
			Mentona	9,24	
			Cariofileno	4,75	
			Biciclogermacreno	4,46	

Fuente: Elaboración Propia (2014).

En la tabla N° 32 muestra el estudio comparativo de compuestos bioactivos del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*), en los tres niveles altitudinales de estudio, donde los compuestos bioactivos mas abundantes son diferentes en cada nivel altitudinal; En el N1 registra (ciclobutilidenacetaldeido en 26,62%), en el N2 registra (Metilhidroquinona, dimetil éter 22,19 %) y en el N3 registra (Alcanfor 30,87%) estos resultados son diferentes a los estudios realizados que muestra la siguiente Tabla N° 33. Algunos de los compuestos que se han identificado durante este estudio son comparables con los reportados en los estudios sobre composición química del aceite esencial, sin embargo la proporción relativa difiere de acuerdo al lugar de procedencia del aceite esencial así como indica en la siguiente tabla.

**Tabla N° 33: Perfil CG-MS de compuestos fitoquímicos de
(*Minthostachys mollis*)**

Especie Vegetal	Lugar de Recolección	Altitud msnm	componentes mayoritarios	%	Análisis Instrumental	Fuente
<i>Minthostachys mollis</i> (Kunth)	Tarma - Junín	N/R	1-tetradeceno	23,14	GC - MS	Fuentes y Munguía, (2001)
			2S-trans-mentona	23		
			pulegona	13,21		
	Huaraz - Ancash	N/R	2S-trans-mentona	41,48		
			pulegona	16,02		
			l-terpineno	7,55		
	Pampas - Huancavelica	N/R	2S-trans-mentona	34,51		
			pulegona	28,62		
			nerolidol	5,08		
<i>Minthostachys setosa</i> Brig	Quisapata-Abancay Apurimac, Perú	3000	isomentona	39,81	GC - MS	Chaquilla et al, (2011)
			pulegona	32,25		
			isopulegona	6,58		
			timol	5,31		
			o-cimeno	2,05		
			á cariofileno	1,93		
			mentona	0,92		
<i>Minthostachys mollis</i>	Huacracupio - Junín.	2700	Pulegona	36,68	GC	Cano, (2008)
			Mentona	24,24		
			Limoneno	0,77		
<i>Minthostachys mollis</i>	Municipio de Guavata - Colombia	1983	pulegona	49,63	GC - MS	Vargas y Bottia, (2008)
			iso-mentona	33,22		
			trans-β-cariofileno	3,00		
			isopulegona	2,21		
			mentona	1,62		
			3-octano	1,4		
<i>Minthostachys mollis</i> (Kunth, Griseb)	Chuquiribamba - Ecuador	2725	cis-dihydrocarvone	13,48	CG-MS y detector de Ionizacion de llama CG-FID	Encarnación, (2009).
			limonene	9,3		
			β-caryophyllene	9,07		
			geranyl acetate	7,82		
			no definido	6,42		
			germacrene-d	5,2		
			iso-menthone	4,67		
			pulegone	3,56		
			cis-ocimene	3,32		
			trans-β-ocimene	3,1		
			menthone	3,05		

	El Tambo - Ecuador	875	carvacrol	27,27
			thymol acetate	10,99
			β -caryophyllene	6,76
			p-cymene	5,47
			γ -terpinene	3,77
			no-definido	3,46
			germacrene-b	3,21
			pulegone	2,8
			thymol	2,72
			piperitenone	2,21
			germacrene-d	1,64
	Villonaco - Ecuador	975	menthone	22,8
			pulegone	20,94
			β -caryophyllene	9,68
			beta-gamma-terpinene	2,89
			carvacrol	2,72
			thymol	1,93
			germacrene-d	1,69
			p-cymene	1,67
			trans- β -ocimene	1,41
no-definido	1,27			
limonene	1,2			

Fuente: Elaboración Propia (2014).

En un estudio de variabilidad en poblaciones naturales de peperina (*Minthostachys mollis*) realizado en Argentina, se encontró una considerable variabilidad en altura de planta y caracteres de las hojas, sobre todo entre diferentes localidades, una fuerte interacción genotipo-ambiente que afecta caracteres cuantitativos en general y a los componentes de aceite esencial en particular. Por esto es que se han reportado los componentes principales, del aceite esencial de la muña (*Minthostachys mollis*).

Según Vargas y Bottia, (2008) (5), menciona que para él (*Minthostachys mollis*) la información disponible acerca de los rendimientos de su aceite esencial es escasa. No obstante, un contenido de esencia del 2% en base

seca, a partir de las partes aéreas de la planta, y de un olor similar al aceite extraído de las especies del genero *mentha*, hace que la especie (*Minthostachys mollis*), sea una planta promisoría para su cultivo en la región. De las nueve plantas silvestres recolectadas en la Sub región de Velez, sería promisoría la tecnificación de cultivos de las especies de *Minthostachys mollis* H.B.K *Menta pulegium* y *Tagetes filifolia*, que poseen altos rendimientos y metabolitos secundarios volátiles de interés para la industria de saborizantes y aromatizantes.

El cariofileno, presenta actividad como agente antiasmático, anti bacteria, antiinflamatoria, antiespasmódico, es utilizado como sedante y tiene propiedades fungicidas, pesticidas e insecticidas. Es usado en odontología, repostería, perfumería y en jabones según (33).

El germacreno D, es un sesquiterpeno que se encuentra en las plantas como el girasol rojo, erva cidreira, azar de campo y centella asiática. Se utiliza como plaguicida y constituye una importante feromona que estimula la comunicación entre insectos según (26).

El linalol deriva de muchos aceites esenciales, particularmente de los de palo de rosa, madera de lináloe, aceite de bergamota y otros. Se obtiene sintéticamente a partir del geraniol. Líquido incoloro, olor parecido al aceite de bergamota, soluble en alcohol y éter, intervalo de ebullición 195 – 199 °C, se utiliza en perfumería y como aromatizantes según (33).

El beta pineno tiene propiedades como antiinflamatorio, antiséptico, antiespasmódico, herbicida, insecticida, pesticida. Es utilizado en resinas poliméricas, en la industria de perfumes y aromatizantes (26).

El limoneno es un monoterpeno abundante en especies de cítricos y algunas especies vegetales como la Aloysia, tiene una gran importancia en

la industria, se emplea en la producción de p-cimeno, como disolventes de resinas, pigmentos, tintas, en la fabricación de adhesivos y en la obtención de la carvona. Últimamente la demanda del compuesto se debe a su aplicación como disolvente biodegradable (35). Recientes estudios apuntan a que el limoneno tiene efectos anti cancerígenos, incrementa los niveles de enzimas hepáticas implicadas en la detoxificación de carcinógenos (35). Actualmente el limoneno es utilizado en la formulación de desengrasantes industriales.

El alcanfor incluyen como plastificante del nitrato de celulosa, como repelente de la polilla, como una sustancia antimicrobial, como bálsamo y en la pirotecnia. Los cristales de alcanfor son usados para prevenir el daño a las colecciones de insectos por otros insectos, también es usado en medicina el alcanfor es rápidamente absorbido por la piel reportando una sensación de enfriamiento similar al del menthol actuando como anestésico local leve y como antimicrobial. También el alcanfor sólido es utilizado como una forma de proteger de la corrosión de algunas herramientas.

CONCLUSIONES

- Se elucidaron 28 compuestos bioactivos en el Nivel 1, analizados por GC-MS, presentes en el aceite esencial de (*Minthostachys mollis*) reportando una concentración de 56,2% de compuestos terpenico, 40,53% de compuestos alifáticos de bajo peso molecular y 3,27% de compuestos no identificados. En el Nivel 2; se elucidaron 20 compuestos bioactivos de los cuales el 71,7% son compuestos terpenicos, 25,86% son compuestos alifáticos de bajo peso molecular y 2,44% son compuestos no identificados y en el Nivel 3, se elucidaron 24 compuestos bioactivos de los cuales el 97,4% son compuestos terpenicos, 0,94% son compuestos alifáticos de bajo peso molecular y 1,67% son compuestos no identificados.
- Las muestras recolectadas de (*Minthostachys mollis*) se realizo en la zona quebradiza de la cuenca hidrográfica del rio Ichu de Huancavelica, zona donde aún existen áreas de tupida vegetación silvestre en abundancia, identificándose a los 3080 msnm para el Nivel 1, 3351 msnm para el Nivel 2 y 3622 msnm para el Nivel 3.
- El aceite esencial extraído por fluido de arrastre hidrotérmico de la especie vegetal (*Minthostachys mollis*) en base deshidratada reporta un rendimiento de 0,7618% para N1, 0,6055% para N2 y 0,6819 para N3, respectivamente, concluyendo que existe variación en el rendimiento y compuestos bioactivos, por diferentes factores endémicos, climáticos y geográfico factores que influirán directamente en la calidad del perfil bioactivo.
- Llegando a una conclusión general que a mayor nivel altitudinal de crecimiento silvestre del (*Minthostachys mollis*), mayor será contenido de compuestos terpenicos, menor será contenido de compuestos alifáticos de bajo peso molecular y mayor contenido de compuestos no identificados.

RECOMENDACIONES

- Realizar investigaciones en el campo de los compuestos bioactivos ya que son muy reducidos por la falta de equipos sofisticados, personal especializados a la metodología específica de análisis entre otros.
- Formular proyectos con financiamiento de CANON, FINCYT – CONCITEC, u otra fuente para el equipamiento en la Universidad Nacional de Huancavelica Facultad de Ciencias Agrarias y por ende la Escuela Académico Profesional de Agroindustrias en detectores aplicados a la identificación de compuestos bioactivos, para proveer de una herramienta instrumental para investigaciones en la flora nativa de la región Huancavelica.
- Efectuar estudios sobre la densidad poblacional silvestre de la muña en todas sus variedades y otras especies que sean sometidas a futuras investigaciones para evitar la extinción de su hábitat.
- Efectuar estudios comparativos en el rendimiento del (*Minthostachys mollis*) con diferentes procesos extractivos y tratamientos de post cosecha ya que esta especie efectúa un buen rendimiento en base seca y por sus atributos la hacen una planta promisoría para su cultivo en la región Huancavelica.
- Efectuar estudios de análisis en identificación de compuestos bioactivos de especies aromáticas y ornamentales, ya que en la región Huancavelica hay personas, comunidades y asociaciones que trabajan con estas especies formando parte de su bolsa económica diaria, con el objetivo de formular proyectos de inversión pública financiada por entidades públicas. Como es el caso de nuestro vecino país de Colombia donde se ejecuto el proyecto “PRODUCCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE HIERVAS AROMÁTICAS, MEDICINALES Y ACEITES ESENCIALES PARA LOS MUNICIPIOS DE BOLIVAR, EL PEÑÓN Y GUAVATA” cuyo objetivo es mejorar la calidad de vida de más de 250 familias campesinas de la provincia de Veles, vinculadas a diferentes asociaciones campesinas.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Bandoni A. Los recursos vegetales aromaticos en Latinoamerica, su aprovechamiento para la produccion de aromas y sabores. Ciencia e investigacion Universidad Nacional de la Plata, Argentina, 2000.
2. Fuertes C y Munguía Y. Estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb “muña” de tres regiones peruanas por cromatografía de gases y espectrometría de masas. Ciencia e Investigación Lima Perú 2001.
3. Chaquilla G, Waldir D. Escalante E, Torres V, Ballinas M, Guadalupe M Gastélum F, Nevárez V. Composicion quimica y contenido de fenoles totales en aceites esenciales de muña *Minthostachys setosa* Briq Epl y anís *Pimpinella anísom* L. Ciencia e investigacion Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurimac. Abancay, 2011.
4. Cano C. Actividad antimicótica in vitro y elucidación estructural del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña). [Tesis de maestría para Magister en Recursos Vegetales y Terapéuticos]. Lima: UNMSM; 2007.
5. Vargas A & Bottia E. Estudio de la composición química de los aceites esenciales de seis especies vegetales cultivadas en los Municipios de Bolívar y El Peñón, Santander – Colombia. Universidad Industrial de Santander Facultad de Ciencias, Bucaramanga [Tesis] 2008.
6. Encarnacion K, Determinación de propiedades físico-químicas del aceite esencial de poleo (*minthostachys mollis* (kunth) griseb) en diferentes estados fenológicos y de tres lugares de la Provincia de Loja mediante GC-MS y GC-FID, Universidad Técnica particular de Loja – Ecuador, [Tesis], 2009.
7. Thompson W. Guia practica ilustrada de las plantas medicinales. 1º Edicion. Editorial Blume Barcelona 1981.
8. Alkire B, Tucker A, Maciarelo M, Tipos de *Minthostachys mollis* (Lamiaceae): an Ecuadorian Mint. Economic Botany 48: 60-64 1994.

9. Weberbauer M. El mundo vegetal de los Andes Peruanos. Primera Edicion. Editorial Lumen S.A. Lima 1945.
10. Beltran L y Cedillo S. Determinacion de la actividad antihistaminica del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb. In vitro, Revista de la Facultad de farmacia de Venezuela 30(13): 13-16 1994.
11. Morales A. Estudio de la Extraccion y características de los aceites esenciales de (*M. mollis*) y de (*S. Sagitata*) hierba buena. Universidad Nacional Agraria La Molina: [Tesis] de Bachiller para Químico. Lima – Perú, 1973.
12. Ugas L. Investigacion Quimica. Editorial Fondo Pontificia Universidad Catolica del Perú Lima 1988.
13. Oblitas E. Plantas medicinales en Bolivia. Editorial. Los amigos del Libro. Bolivia 1998.
14. Primo V. Determinacion de la actividad antivacterina y antiviral del aceite esencial de (*M. mollis*). Editorial Microbiol. Argentina 2001.
15. Bauer, K & Grabe, D Fragance and Flavor Material: preparation, propeties and Uses. Cuarta Edicion WILEY-CVH, Weinhein 2001.
16. Augusto W. Fraccionamiento del acite esencial de muña y su aplicacion en la inhibicion del brotamiento de papacultivar nativa. Universidad Nacional Aagraria La Molina, Lima – Perú [Tesis]1975.
17. Carey F. Química orgánica Tercera Edición, Editorial Mc Graw-Hill, Inc Madrid, 1 999.
18. Dewick P. Medicinal natural products: A biosynthetic approach. Editorial Wiley & Sons Ltda, Segunda Edicion, Londres, 2002.
19. Sung, I & Aguapito T. Fito Medicina. 1° Edicion, Editorial Isabel Lima 2003.
20. Biocomercio Sostenible. Estudio del mercado Nacional de Aceites Esenciales Instituto de Investigacion de recursos biologicos. Colombia Bogota, 2003.

- 57
21. Díaz O. Estudios comparativo de la composición Química y evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial de (*Aloysia triphylla*) cultivada en tres regiones de Colombia. [Tesis] 2007.
 22. Collao G. Aplicación de métodos para la extracción de aceites esenciales. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España 2007.
 23. Kingston H, JASSIE L. Introduction to microwave sample preparation, theory and practice. American Chemical Society. Washington 1988.
 24. Martínez N, Andrés A, Chiralt A & Fito, P. Termodinámica y cinética de sistema alimento entorno. Servicio de publicaciones. Universidad Politécnica de Valencia 2001.
 25. Gibana S. Investigaciones Químicas de la muña (*M. mollis*). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú, [Tesis]1960.
 26. Guenther E. El aceite esencial historia y origen en plantas producción y análisis. Editorial Litton Ecuatorial New York 1948.
 27. Benavides N. Procesamiento del Pijuayo deshidratado por flujo de aire caliente. Lima – Perú 1987.
 28. Hernandez R. Metodología de la investigación. Tercera edición Instituto Politécnico Nacional, Interamericana Editore S.A. Mexico 2006.
 29. Ricaldi J. Determinación de rendimiento de extracción y caracterización físico química del aceite esencial de *satureja incana* obtenida por arrastre de vapor, Universidad Nacional del Centro del Perú, Facultad de Ciencias Aplicadas, Tarma - Junin [Tesis] 2006.
 30. Teuscher E. Pharmazeutischer biologie. Braunschweig Vieweg 1990.
 31. Aradel T y Copley I. Evaluación físicoquímica de forrajes para la extracción de sustancias Editorial Universal. Colombia 1976.
 32. Domínguez A. Métodos de investigación fotoquímica. Limusa: México D.F. 1988.

- 56
33. Gessner H. Diccionario de Quimica de Productos Quimicos Ed. Omega S.A Barcelona 1985.
 34. NIST. Instituto Nacional de Estándares Certificación y Tecnología, base de datos de referencia Estandar. Estados Unidos de America 2011.
 35. Fernández C, Catrinescu C, Castillo P, Russo P, Carroti M & Breem C. Catalytic conversion of limonene over acid activated Serra de Dentro SCD Betonite. Appl Catal 2006.
 36. Minag. Ministerio Nacional de Agricultura. Lima. 2005.

Artículo Científico

**“ESTUDIO DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA
(*Minthostachys mollis*) POR CROMATOGRAFÍA DE GASES - ESPECTROMETRÍA DE
MASAS EN TRES NIVELES ALTITUDINALES DEL DISTRITO DE HUANDO”**

HUAMANI QUINTE, WILLIAM

Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial – Facultad de Ciencias
Agrarias

Universidad Nacional de Huancavelica

Ciudad Universitaria de Común Era – Acobamba

Email: whuamani14@hotmail.com

RESUMEN

En proyecto de investigación se realizo el “Estudio de Compuestos Bioactivos del Aceite Esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) por Cromatografía de Gases - Espectrometría de Masas en tres Niveles Altitudinales del Distrito de Huando - Huancavelica”. El proyecto se enmarco en el tipo de investigación básica, nivel descriptivo – comparativo, donde se identifica la trazabilidad del producto analizado. Para cumplir con lo propuesto se tomaron como referencia la ubicación de puntos de recolección de las muestras siguiendo el método de sistema de posicionamiento global con el uso de un GPS marca Garmin modelo GPS map 60CSx, donde las muestras se recolecto cada 271 metros N1 (3080 msnm), N2 (3351 msnm) y N3 (3622 msnm), respectivamente, los resultados de rendimiento reporta N1 = 0,7618 %, N2 = 0,6055% y N3 = 0,7819%, respectivamente, los resultados de densidad relativa reporto N1 = 0,9401. N2 = 0,9090, N3 = 0,9043 respectivamente, los resultados del índice de acidez reporto N1 = 1,62690, N2 = 1,68300 y N3 = 1,71105 respectivamente, los resultados del índice de refracción reporto N1 = 1,4745 N2 = 1,4760 y N3 = 1,4769 respectivamente y finalmente los resultados por CG-SM reporto lo siguiente N1 = 56,18% de compuestos terpenicos, 40,53% de compuestos alifáticos de bajo peso molecular y 3,27% de compuestos no identificados, N2 = 71,71% de compuestos terpenicos, 25,86% de compuestos alifáticos de bajo peso molecular y

2,44% de compuestos no identificados y N3 = 97,39% de compuestos terpenicos, 0,94% de compuestos alifáticos de bajo peso molecular y 1,67% de compuestos no identificados.

Palabras Claves: Nivel altitudinal, *Minthostachys mollis* y compuestos bioactivos.

ABSTRACT

In the research project "Study of Bioactive Compounds Muña Essential Oil (*Minthostachys mollis*) by Gas Chromatography - Mass Spectrometry Altitudinal three levels of Huando District - Huancavelica" was held. The project was framed in the kind of basic research, descriptive level - Comparative, where traceability of the analyte is identified. To comply with the proposal were taken as reference points the location of sample collection following the method of global positioning system using GPS brand Garmin GPS map 60CSx model, where the samples was collected every 271 meters N1 (3080 msnm), N2 (3351 msnm) and N3 (3622 msnm), respectively, reported performance results N1= 0,7618%, N2 = 0,6055% and N3 = 0,7819%, respectively, relative density results reported N1 = 0,9401, N2 = 0,9090, N3 = 0,9043 respectively, the results of the acid reported N1 = 1,62690, N2 = 1,68300 and N3 = 1,71105 respectively, the results reported refractive index N1 = 1,4760, N2 = 1,4745 and N3 = 1,4769 respectively and finally the results by CG-SM reported the following N1 = 56,18% of terpene compounds, aliphatic compounds 40,53% of low molecular weight and 3,27% of unidentified compounds, N2 = 71,71% of terpene compounds, aliphatic compounds 25,86% of low molecular weight and 2,44% of unidentified compounds and N3 = 97,39% of terpene compounds, aliphatic compounds 0,94% of low molecular weight and 1,67% of unidentified compounds.

Keywords: altitudinal level, *Minthostachys mollis* and bioactive compounds.

INTRODUCCIÓN

La biodiversidad es la fuente de muchos productos con propiedades medicinales, aromáticas y condimentarias servicios utilizados por la sociedad actualmente por poseer características funcionales que permiten garantizar su empleo ya sea en la industria farmacéutica, cosmetología, alimentaria, etc.

Los compuestos volátiles, característicos del olor de las plantas, han despertado el interés del hombre desde la antigüedad como esencias condimentarias y aromatizantes, en la actualidad los estudios orientan a fines nutraceuticos, para identificar compuestos bioactivos como fenoles, antioxidantes, vitaminas, ácidos orgánicos, compuestos antimicrobianos, que muestren cierta bioactividad para combatir el cáncer, la diabetes, la degeneración celular e infecciones que causan enfermedades. Es por ello muy importante las investigaciones de carácter básico descriptivo, que ayuden a comprender la naturaleza de los compuestos bioactivos y la concentración de los mismos en una especie vegetal para caracterizarlo como quimiotipo potencial que se valide científicamente con herramientas instrumentales orientado a su

aplicación y efectos de bioactividad para su consumo y uso.

Muchas especies aromáticas modifican su composición química en función al nivel altitudinal y otros factores por ello es importante evaluar la calidad de los aceites esenciales y rendimiento de estas especies en función de estas variables. La muña (*Minthostachys mollis*), es una especie silvestre promisoría con un alto valor intrínseco por sus propiedades medicinales y cualidades aromáticas en la industria de perfumería y farmacéutica.

Por lo expuesto en el presente trabajo de investigación se realizó el estudio de compuestos bioactivos del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) por cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas en tres niveles altitudinales de crecimiento silvestre en el Distrito de Huando región Huancavelica.

PARTE EXPERIMENTAL

La colecta del material biológico se llevo a cabo en el Distrito de Huando región de Huancavelica, el proceso experimental de deshidratación y extracción del aceite esencial se realizó en el laboratorio de biotecnología de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial,

Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Huancavelica, la identificación taxonómica del *Minthoachys mollis* y los análisis físico-químicos de su aceite esencial se realizaron en los laboratorios de la Universidad Nacional del Centro del Perú – Junín, finalmente el análisis instrumental de Cromatografía de Gases - Espectrometría de Masas, se realizó en la Escuela Superior Politécnica del Litoral Centro de Investigación Biotecnológicas del Ecuador.

RESULTADOS

Georreferencia de la zona de recolección de la muestra.

Las muestras de (*Minthostachys mollis*) se recolectaron en el Distrito de Huando región Huancavelica, los datos reportados de ubicación georeferenciado

Las muestras se recolecto cada 271 metros, desde los 3080, 3351 y 3622 metros sobre el nivel del mar, recorrido que abarca del Distrito de Huando por toda la quebrada abajo hasta la orilla del río Ichu de Huancavelica.

Característica general del material recolectado.

Tabla N° 01: Nivel 1

Característica	Condición
Estado vegetativo	Floración
Estado de tejido	Fresco
Longitud de corte de rama	20 – 30 cm
Humedad en tejido fresco	65,8 %

Tabla N° 02: Nivel 2

Característica	Condición
Estado vegetativo	Floración
Estado de tejido	Fresco
Longitud de corte de rama	20 – 30 cm
Humedad en tejido fresco	64,4 %

Tabla N° 03: Nivel 3

Característica	Condición
Estado vegetativo	Floración
Estado de tejido	Fresco
Longitud de corte de rama	20 – 30 cm
Humedad en tejido fresco	63,0 %

El material recolectado presenta una humedad inversamente proporcional al nivel altitudinal, a mayor nivel altitudinal presenta menos porcentaje de humedad del (*Minthostachys mollis*) en tejido fresco.

Tabla N° 04: Porcentaje de humedad en tejido deshidratado.

Dato	Humedad
Nivel 1	36,34 %
Nivel 2	35,67 %
Nivel 3	35,60 %

La humedad del material biológico en tejido deshidratado, aun sigue siendo inversamente proporcional al nivel altitudinal correspondiente, se puede apreciar que se ha reducido la humedad durante una semana de tejido fresco a tejido deshidratado en un 28,53% en promedio. La humedad se mantuvo constante en promedio de 35,87%, ya que si varía la humedad, el rendimiento del aceite esencial se vería afectado. El porcentaje de humedad nos indica que el (*Minthostachys mollis*) ha sido acondicionada favorablemente.

Tabla N° 05: Reporte del rendimiento.

Dato	Rendimiento (%) P/p
Nivel 1	0,7618 %
Nivel 2	0,6055 %
Nivel 3	0,6819%

Podemos observar una variación en el rendimiento expresados en porcentaje, donde en el nivel 1 se encuentra mayor contenido de aceite esencial que en el nivel 2 y 3. Es necesario mencionar que existen muchos factores para lograr este resultado, por ello es muy necesario hacer una observación en la calibración del equipo con los insumos y materiales adecuados.

Tabla N°06: reporte de la densidad relativa

Dato	Densidad relativa
Nivel 1	0,9401
Nivel 2	0,9090
Nivel 3	0,9043

Podemos observar que los valores reportados son inversamente proporcional al nivel altitudinal correspondiente, esto nos indica que a mayor nivel altitudinal menor será la densidad relativa del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*).

Tabla N°07: reporte del índice de refracción.

Dato	Índice de refracción
Nivel 1	1,4745
Nivel 2	1,4760
Nivel 3	1,4769

Podemos observar que los valores reportados son directamente proporcional al nivel altitudinal correspondiente, esto nos indica que a mayor nivel altitudinal mayor será el índice de acidez del aceite esencial del (*Minthostachys mollis*).

Tabla N°08: reporte del índice de acidez.

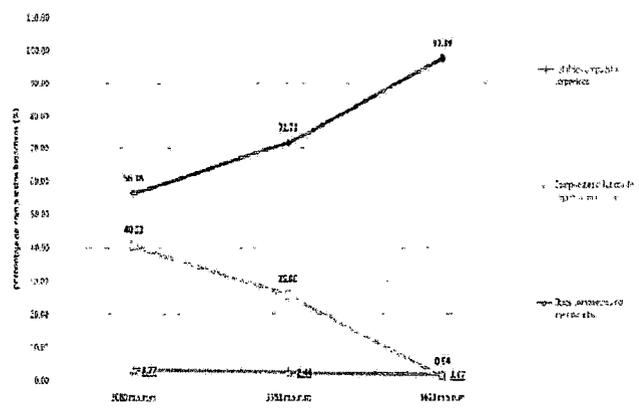
Dato	Índice de acidez
Nivel 1	1,62690
Nivel 2	1,68300
Nivel 3	1,71105

Podemos observar que los valores reportados son directamente proporcionales al nivel altitudinal correspondiente esto nos indica que a mayor nivel altitudinal mayor será el índice de refracción del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*).

Determinación e identificación de compuestos bioactivos del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) de los tres niveles altitudinales, según el análisis instrumental de CG-SM

Para el analisis intrumental, los compuestos volatiles se identificaron mediante Cromatografia de Gases acoplado a un espectrofotometría de masas (CG - EM) en un equipo marca Agilent Technologies equipado en una columna capilar HP-5MS (30 m x 0,25 mm) con fenil dimetilpolisiloxano como fase estacionaria (0,25 micras de espesor de pelicula) y helio como gas de arrastre (1ml/min). Las condiciones cromatograficas fueron temperatura de inyeccion (220 °C), temperatura de detector (140 °C), la temperatura del horno se establecio en 50 °C por 0.5 minutos, despues se incremento hasta 250 °C a 4 °C/min.

Imagen N° 01: Comparación grafica de componentes bioactivos del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*), en función al nivel altitudinal de crecimiento



En la Imagen N° 01 podemos observar la variación continua de los metabolitos secundarios presentes en el aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*), según los niveles altitudinales de crecimiento silvestre.

Se observa que el contenido de los compuestos terpenicos es directamente proporcional al nivel altitudinal, esto nos indica que a mayor nivel altitudinal se encuentra mayor contenido de compuestos terpenicos. Los compuestos alifáticos de bajo peso molecular son inversamente proporcionales al nivel altitudinal de crecimiento silvestre, esto nos indica que a mayor nivel altitudinal se encuentra menor contenido de compuestos alifáticos de bajo

48

peso molecular de la misma manera se encuentran los compuestos no identificados o desconocidos que son inversamente proporcional al nivel altitudinal, esto nos indica que a mayor nivel altitudinal se encuentra menos compuestos extraños no identificados.

Tabla N° 09: Comparación de compuestos bioactivos presentes en las tres muestras correspondientes a cada nivel altitudinal

N°	COMPUESTO FITOQUIMICO	NIVEL ALTUDINAL		
		NIVEL 1 (%)	NIVEL 2 (%)	NIVEL 3 (%)
1	Menthol	24,06	20,91	0,24
2	Mentona	8,88	9,93	9,24
3	Cariofileno	5,29	4,17	4,75
4	Germacreno D	4,71	3,87	4,03
5	Biciclogermacreno	4,42	3,41	4,46
6	Linalol	3,77	2,61	11,57
7	β-ocimeno,	1,36	1,36	1,52
8	Carane	1,33	4,54	1,17
9	Humuleno	0,64	0,81	0,65

Fuente: Elaboración Propia (2014).

Tabla N°10: Comparación de compuestos bioactivos del aceite esencial de (*Minthostachys mollis*) en los tres niveles altitudinales

Componentes Fitobiactivos	Niveles Altitudinales		
	Nivel 1 (%)	Nivel 2 (%)	Nivel 3 (%)
	3080	3351	3621
	msnm	msnm	msnm
Monoterpenos hidrocarbonados	4,27	6,97	29,07
Monoterpenos Oxigenados	36,85	52,48	53,89
Total de monoterpenos	41,12	59,45	82,96
Sesquiterpenos hidrocarbonados	15,06	12,26	14,43
Sesquiterpenos oxigenados	0,00	0,00	0,00
Total sesquiterpenos	15,06	12,26	14,43
Terpenos hidrocarbonados	19,33	19,23	43,50
terpenos oxigenados	36,85	52,48	53,89
total de compuestos terpenicos	56,18	71,71	97,39
Compuestos alifáticos de bajo peso molecular	40,53	25,86	0,94
Otros compuestos no identificados	3,27	2,44	1,67
TOTAL DE COMPUESTOS BIOACTIVOS	100,0	100,0	100,0

Fuente: Elaboración Propia (2014).

CONCLUSIONES

- Se elucidaron 28 compuestos bioactivos en el Nivel 1, analizados por GC-MS, presentes en el aceite esencial de (*Minthostachys mollis*) reportando una concentración de 56,2% de compuestos terpenico, 40,53% de compuestos alifáticos de bajo peso molecular y 3,27% de compuestos no identificados. En el Nivel 2; se elucidaron 20 compuestos bioactivos de los cuales el 71,7% son compuestos terpenicos, 25,86% son compuestos alifáticos de bajo peso molecular y 2,44% son compuestos no identificados y en el Nivel 3, se elucidaron 24 compuestos bioactivos de los cuales el 97,4% son compuestos terpenicos, 0,94% son compuestos alifáticos de bajo peso molecular y 1,67% son compuestos no identificados.
- Las muestras recolectadas de (*Minthostachys mollis*) se realizo en la zona quebradiza de la cuenca hidrográfica del rio Ichu de Huancavelica, zona donde aún existen áreas de tupida vegetación silvestre en abundancia, identificándose a los 3080 msnm para el Nivel 1, 3351 msnm para el Nivel 2 y 3622 msnm para el Nivel 3.
- El aceite esencial extraído por fluido de arrastre hidrotérmico de la especie vegetal (*Minthostachys mollis*) en base deshidratada reporta un rendimiento de 0,7618% para N1, 0,6055% para N2 y 0,6819 para N3, respectivamente, concluyendo que existe variación en el rendimiento y compuestos bioactivos, por diferentes factores endémicos, climáticos y geográfico factores que influirán directamente en la calidad del perfil bioactivo.
- Llegando a una conclusión general que a mayor nivel altitudinal de crecimiento silvestre del (*Minthostachys mollis*), mayor será contenido de compuestos terpenicos, menor será contenido de compuestos alifáticos de bajo peso molecular y mayor contenido de compuestos no identificados.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Bandoni A. Los recursos vegetales aromaticos en Latinoamerica, su aprovechamiento para la produccion de aromas y sabores. Ciencia e

- investigación Universidad Nacional de la Plata, Argentina, 2 000.
2. Fuertes y Munguía. Estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb "muña" de tres regiones peruanas por cromatografía de gases y espectrometría de masas. Ciencia e Investigación Lima Perú 2 001.
 3. Chaquilla G, Waldir D. Escalante E, Torres V, Ballinas M, Guadalupe M Gastélum F, Nevárez V. Composición química y contenido de fenoles totales en aceites esenciales de muña *Minthostachys setosa* Briq Epl y anís *Pimpinella anisum* L. Ciencia e investigación Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac. Abancay, 2011.
 4. Cano C. Actividad antimicrobiana in vitro y elucidación estructural del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña). [Tesis de maestría para Magister en Recursos Vegetales y Terapéuticos]. Lima: UNMSM; 2 007.
 5. Vargas A & Bottia E Estudio de la composición química de los aceites esenciales de seis especies vegetales cultivadas en los Municipios de Bolívar y El Peñón, Santander – Colombia. Universidad Industrial de Santander Facultad de Ciencias, Bucaramanga [Tesis] 2008.
 6. Karla Alexandra Encarnación Villalta, Determinación de propiedades físico-químicas del aceite esencial de poleo (*minthostachys mollis* (kunth) griseb) en diferentes estados fenológicos y de tres lugares de la Provincia de Loja mediante GC-MS y GC-FID, Universidad Técnica particular de Loja – Ecuador, [Tesis], 2009.
 7. Thompson W. Guía práctica ilustrada de las plantas medicinales. 1° Edición. Editorial Blume Barcelona 1981.
 8. Alkire B, Tucker A, Maciarelo M, Tipos de *Minthostachys mollis* (Lamiaceae): an Ecuadorian Mint. Economic Botany 48: 60-64 1994.
 9. Weberbauer M. El mundo vegetal de los Andes Peruanos. Primera Edición. Editorial Lumen S.A. Lima 1945.
 10. Beltrán L y Cedillo S. Determinación de la actividad antihistamínica del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb. In vitro, Revista de la Facultad

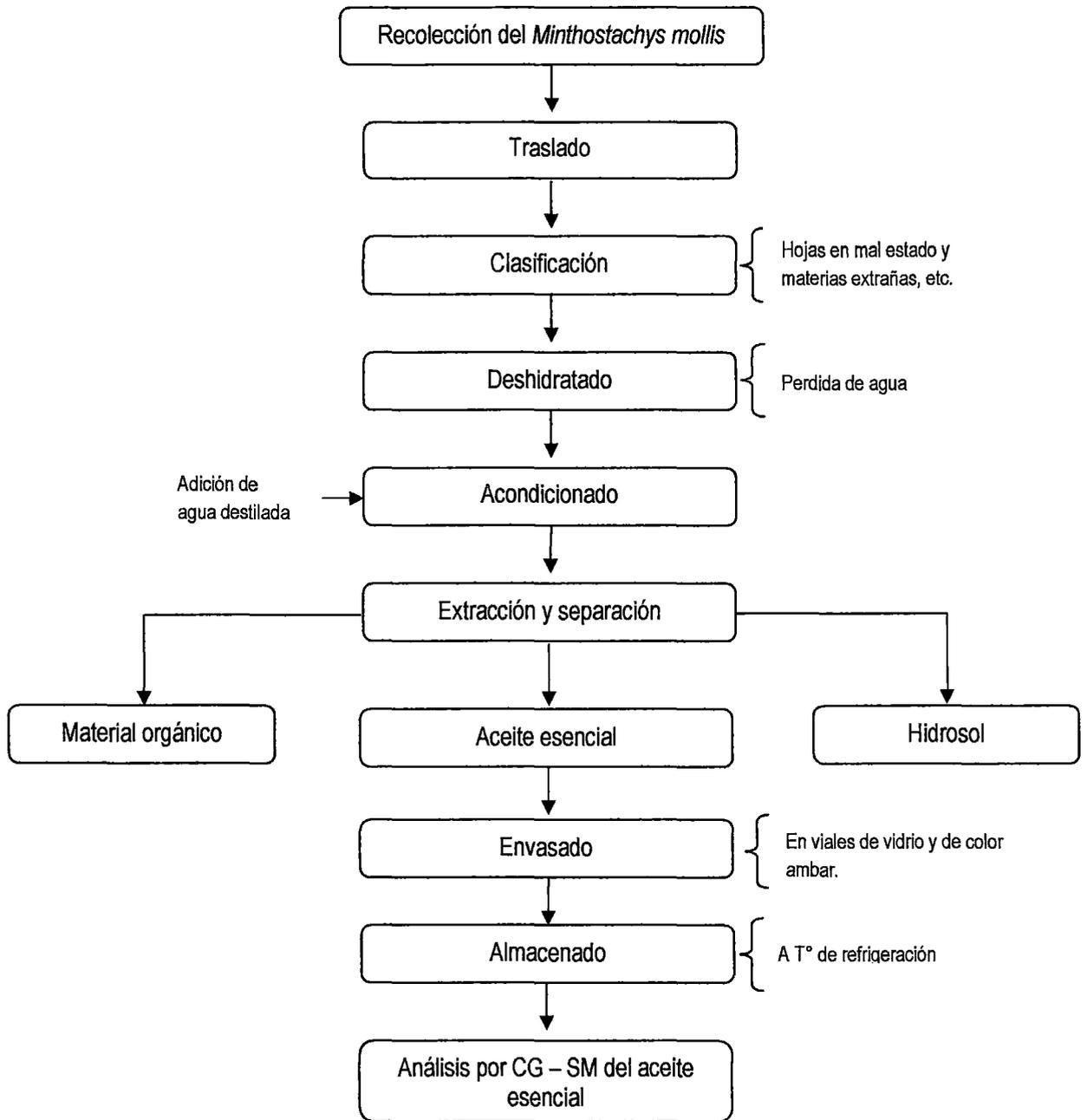
- de farmacia de Venezuela 30(13): 13-16 1994.
11. Morales A. Estudio de la Extraccion y características de los aceites esenciales de (*M. mollis*) y de (*S. Sagitata*) hierva buena. Universidad Nacional Agraria La Molina: [Tesis] de Bachiller para Quimico. Lima – Perú, 1973.
12. Ugas L. Investigacion Quimica. Editorial Fondo Pontificia Universidad Catolica del Perú Lima 1988.
13. Oblitas E. Plantas medicinales en Bolivia. Editorial. Los amigos del Libro. Bolivia 1998.
14. Primo V. Determinacion de la actividad antivacterina y antiviral del aceite esencial de (*M, mollis*). Editorial Microbiol. Argentina 2001.
15. Bauer, K & Grabe, D Fragance and Flavor Material: preparation, propeties and Uses. Cuarta Edicion WILEY-CVH, Weinhein 2001.
16. Augusto W. Fraccionamiento del acite esencial de muña y su aplicacion en la inhibicion del brotamiento de papacultivar nativa. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima – Perú [Tesis]1975.
17. Carey F. Química orgánica Tercera Edición, Editorial Mc Graw-Hill, Inc Madrid, 1999.
18. Dewick P. Medicinal natural products: A biosynthetic approach. Editorial Wiley & Sons Ltda, Segunda Edicion, Londres, 2002.
19. Sung, I & Aguapito T. Fito Medicina. 1º Edicion, Editorial Isabel Lima 2003.
20. Biocomercio Sostenible. Estudio del mercado Nacional de Aceites Esenciales Instituto de Investigacion de recursos biologicos. Colombia Bogota, 2003.
21. Diaz O. Estudios comparativo de la composicion Quimica y evaluacion de la actividad antioxidante del aceite esencial de (*Aloysia triphylla*) cultivada en tres regiones de colombia. [Tesis] 2007.
22. Collao G. Aplicacion de metodos para la extraccion de aceites esenciales. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España 2007.

23. Kingston H, JASSIE L. Introduction to microwave sample preparation, theory and practice. American Chemical Society. Washington 1988.
24. Martínez N, Andrés A, Chiralt A & Fito, P. Termodinámica y cinética de sistema alimento entorno. Servicio de publicaciones. Universidad Politécnica de Valencia 2001.
25. Gibana S. Investigaciones Químicas de la muña (*M. mollis*). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú, [Tesis]1960.
26. Guenther E. El aceite esencial historia y origen en plantas producción y análisis. Editorial Litton Ecuatorial New York 1948.
27. Benavides N. Procesamiento del Pijuayo deshidratado por flujo de aire caliente. Lima – Perú 1987.
28. Hernandez R. Metodología de la investigación. Tercera edición Instituto Politécnico Nacional, Interamericana Editore S.A. Mexico 2006.
29. Ricaldi J. Determinación de rendimiento de extracción y caracterización físico-química del aceite esencial de *satureja incana* obtenida por arrastre de vapor, Universidad Nacional del Centro del Perú, Facultad de Ciencias Aplicadas, Tarma - Junin [Tesis] 2006.
30. Teuscher E. Pharmazeutischer biologie. Braunschweig Vieweg 1990.
31. Aradel T y Copley I. Evaluación físico-química de forrajes para la extracción de sustancias Editorial Universal. Colombia 1976.
32. Domínguez A. Métodos de investigación fotoquímica. Limusa: México D.F. 1 988.
33. Gessner H. Diccionario de Química de Productos Químicos Ed. Omega S.A Barcelona 1985.
34. NIST. Instituto Nacional de Estándares Certificación y Tecnología, base de datos de referencia Estandar. Estados Unidos de America 2011.
35. Fernández C, Catrinescu C, Castillo P, Russo P, Carroti M & Breem C. Catalytic conversion of limonene over acid activated Serra de Dentro SCD Betonite. Appl Catal 2006.
36. Minag. Ministerio Nacional de Agricultura. Lima. 2005.

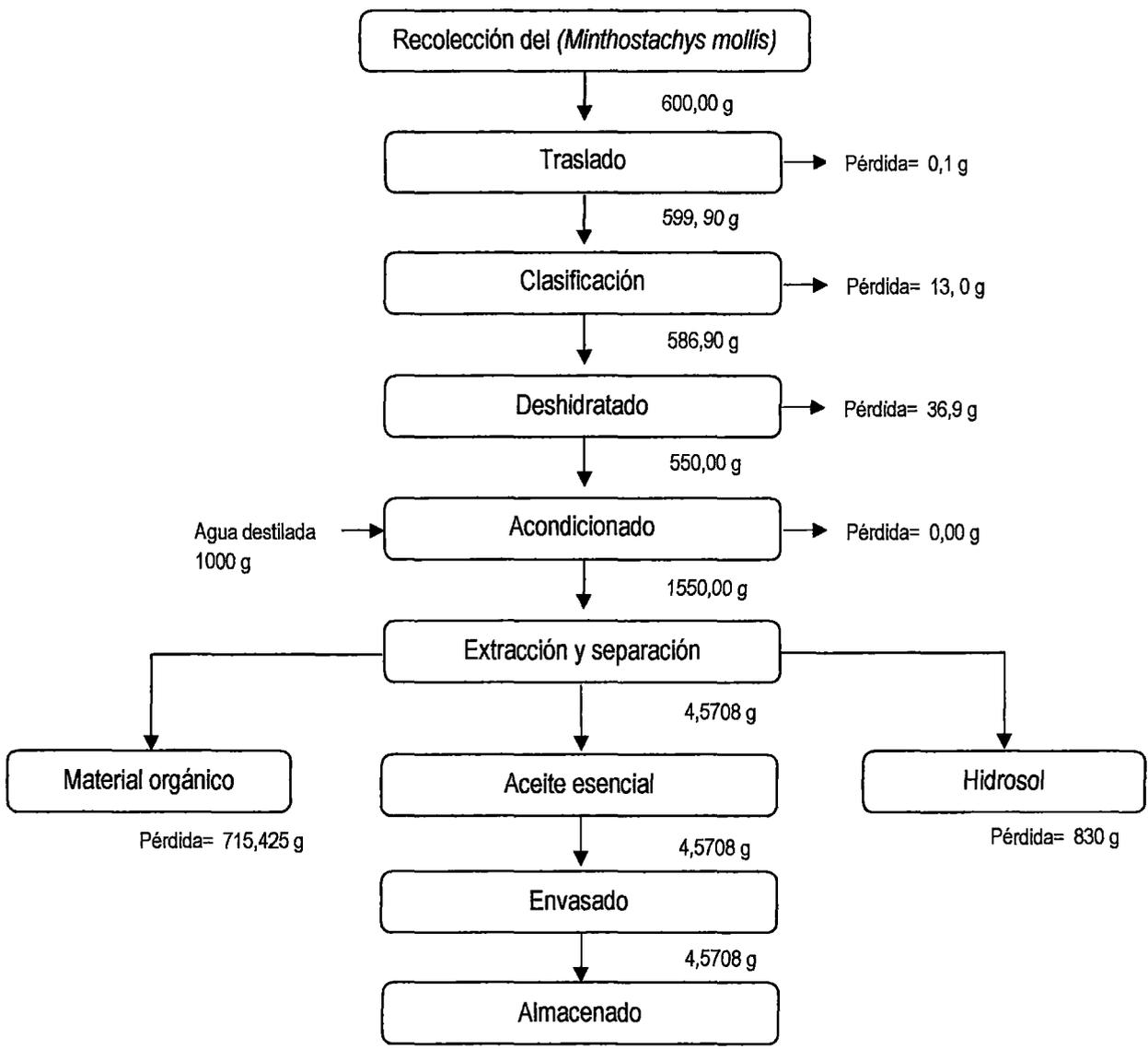
ANEXOS

ANEXO N°01: DIAGRAMA DE FLUJO.

DIAGRAMA DE FLUJO PARA EL PROCESO DE EXTRACCIÓN Y ANÁLISIS DEL ACEITE ESENCIAL DE (*Minthostachys mollis*)



ANÁLISIS DE BALANCE DE MATERIA DURANTE EL PROCESO DE EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL PARA EL NIVEL 1.



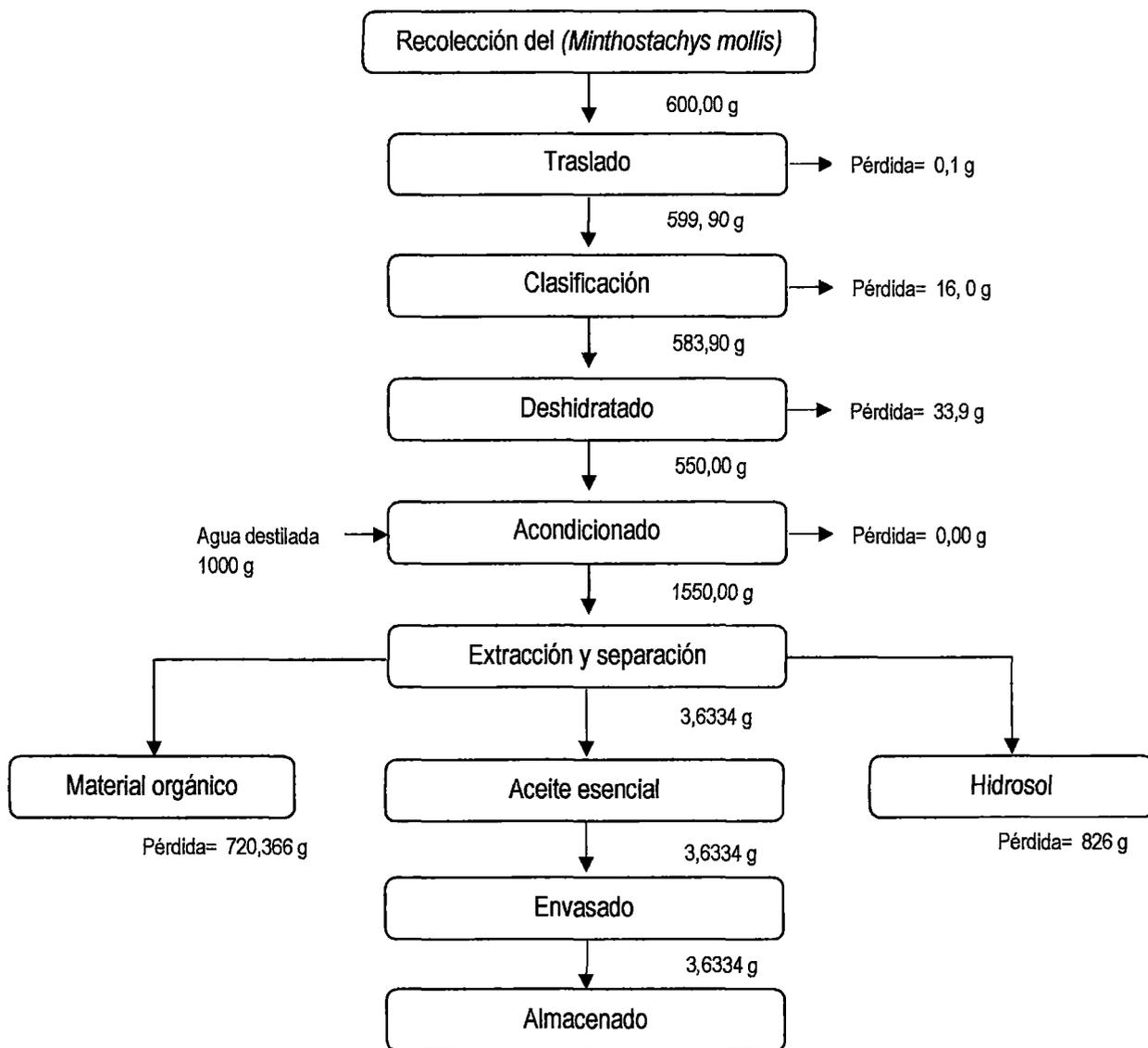
Cuadro N° Balance de materia.

Etapa	Entrada (g)	Adición de insumos (g)	Merma (g)	Salida (g)
Recolección del <i>Minthostachys mollis</i>	600,00	-	-	600,00
Traslado	600,00	-	0,100	599,90
Clasificación	599,90	-	13,00	586,90
Deshidratado	586,90	-	36,90	550,00
Acondicionado	550,00	1000,00	-	1550,00
Extracción	1550,00	-	1545,429	4,5708
Aceite esencial	4,5708	-	-	4,5708
Envasado	4,5708	-	-	4,5708
Almacenado	4,5708	-	-	4,5708

Fuente: Elaboración Propia (2014).

- ✦ Durante el proceso de extracción se pudo obtener 4,5708 g de aceite esencial.
- ✦ El rendimiento de masa según el diagrama de flujo es $\frac{4,5708 \text{ g}}{600,00 \text{ g}} \times 100\% = 0,7618 \%$.

ANÁLISIS DE BALANCE DE MATERIA DURANTE EL PROCESO DE EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL, PARA EL NIVEL 2.



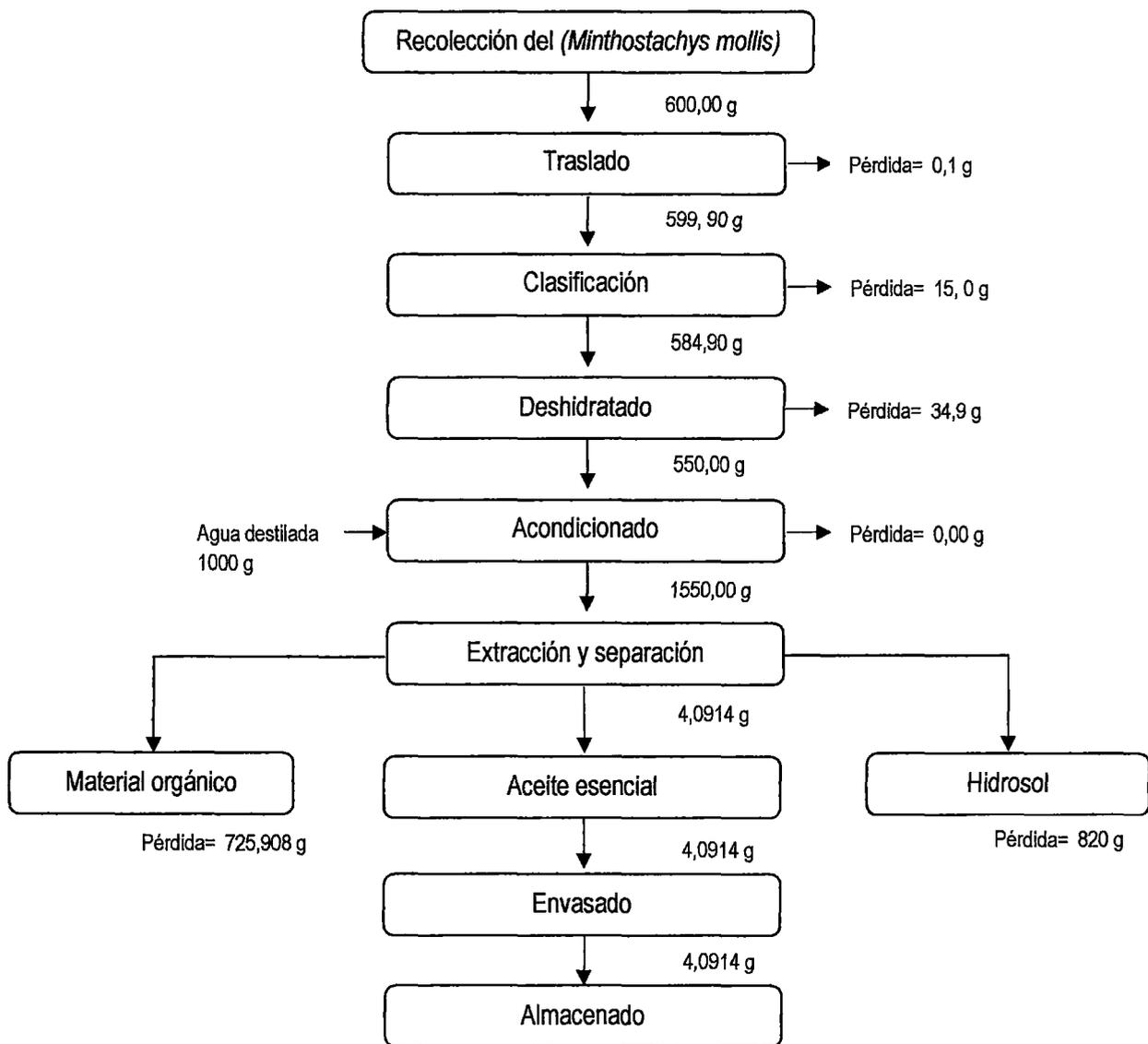
Cuadro N° Balance de materia.

Etapa	Entrada (g)	Adición de insumos (g)	Merma (g)	Salida (g)
Recolección del <i>Minthostachys mollis</i>	600,00	-	-	600,00
Traslado	600,00	-	0,100	599,90
Clasificación	599,90	-	16,00	583,90
Deshidratado	583,90	-	33,90	550,00
Acondicionado	550,00	1000,00	-	1550,00
Extracción	1550,00	-	1546,36	3,6334
Aceite esencial	3,6334	-	-	3,6334
Envasado	3,6334	-	-	3,6334
Almacenado	3,6334	-	-	3,6334

Fuente: Elaboración Propia (2014).

- ⚡ Durante el proceso de extracción se pudo obtener 3,6334 g de aceite esencial.
- ⚡ El rendimiento de masa según el diagrama de flujo es $\frac{3,6334 \text{ g}}{600,00 \text{ g}} \times 100\% = 0,6055\%$.

ANÁLISIS DE BALANCE DE MATERIA DURANTE EL PROCESO DE EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL, PARA EL NIVEL 3.



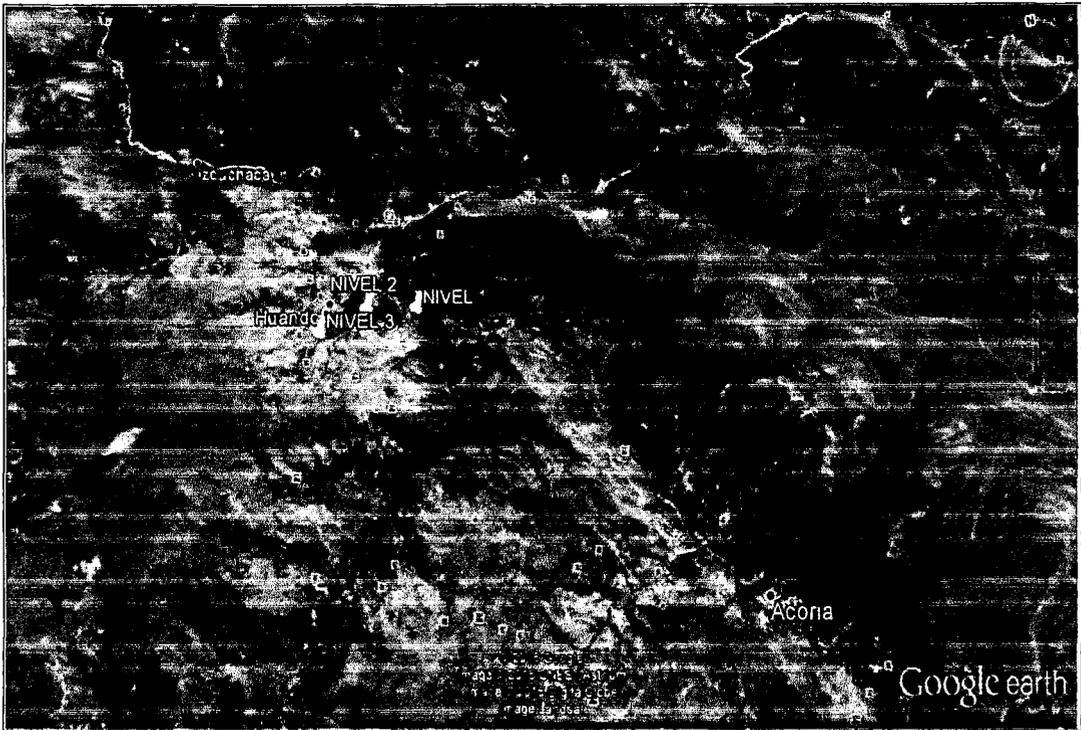
Cuadro N° Balance de materia.

Etapa	Entrada (g)	Adición de insumos (g)	Merma (g)	Salida (g)
Recolección del <i>Minthostachys mollis</i>	600,00	-	-	600,00
Traslado	600,00	-	0,100	599,90
Clasificación	599,90	-	15,00	584,90
Deshidratado	584,90	-	34,90	550,00
Acondicionado	550,00	1000,00	-	1550,00
Extracción	1550,00	-	1545,9	4,0914
Aceite esencial	4,0914	-	-	4,0914
Envasado	4,0914	-	-	4,0914
Almacenado	4,0914	-	-	4,0914

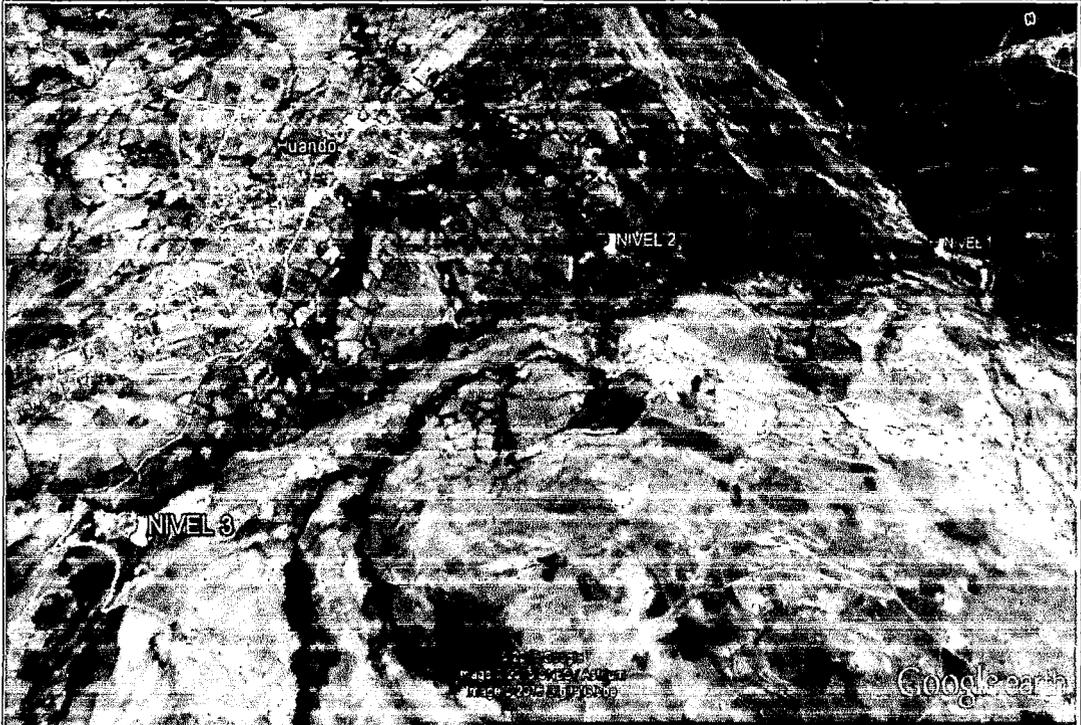
Fuente: Elaboración Propia (2014).

- ✦ Durante el proceso de extracción se pudo obtener 4,0914 g de aceite esencial.
- ✦ El rendimiento de masa según el diagrama de flujo es $\frac{4,0914 \text{ g}}{600,00 \text{ g}} \times 100\% = 0,6819\%$.

ANEXO N°02: MAPEO SATELITAL PUNTOS DE COLECTA GEORREFERENCIADO.



Mapeo satelital Google earth de la ubicación de los puntos de recolecta del (*Minthostachys mollis*).



Mapeo satelital Google earth de la ubicación de los puntos de recolecta del (*Minthostachys mollis*) – imagen más cerca.

33

**ANEXO N°03: CERTIFICADO DE LA CLASIFICACION TAXONOMICA DE LAS
MUESTRAS BOTANICAS ESTUDIADAS.**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO DEL PERÚ
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES Y DEL AMBIENTE**



**LA QUE SUSCRIBE, RESPONSABLE DEL HERBARIO DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS FORESTALES Y DEL AMBIENTE, HCEN-Forestales**

CERTIFICA

Que las tres muestras botánicas presentadas para su identificación por el Sr.:Huamaní Quinte, William; según la taxonomía de APG III- 2009, corresponde a:

Reino: PLANTAE.
Clado: PLANTAS CON SEMILLAS
Clado: Angiospermae
Clado: Eudicotiledoneas
Clado: Gunneridas
Clado: Asteridas
Clado: Lamiales
Orden: Lamiales
Familia: Lamiaceae
Especie: *Minthostachys mollis* Griseb.

Se expide el presente Documento. A solicitud del interesado para los fines que estime conveniente

Huancayo, 03 de Noviembre de 2013



J. Zúñiga López
Ing. Dominga Zúñiga López
Responsable

ANEXO N°04: EVIDENCIAS FOTOGRAFICAS DURANTE EL ESTUDIO.



Imagen 01: Identificación de los lugares de crecimiento silvestre del *M mollis* en el Distrito de Huando



Imagen 02: Registro de medidas de altura e identificación del material vegetal.

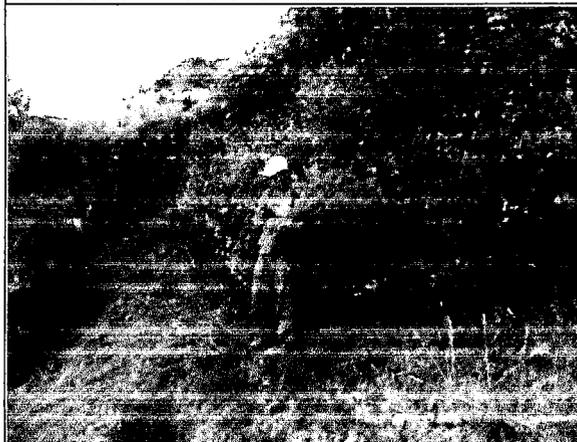


Imagen 03: Registro de las coordenadas mediante un GPS, del lugar donde se colecto las muestras.

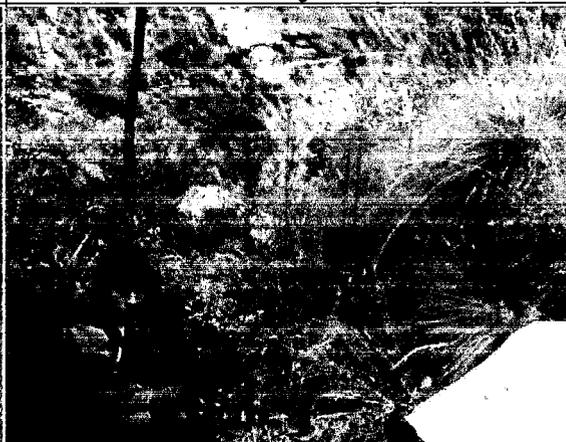


Imagen 04: Transporte del material biológico para su respectivo proceso.



Imagen 05: Microfotografía de distribución de glándulas en superficie de la hoja (has).



Imagen 06: Microfotografía óptica de la glándula secretora del aceite esencial.



Imagen N°07: Destilación de agua para el proceso de extracción del aceite esencial



Imagen N°08: Control y recepción de Agua destilada para su uso en el proceso extractivo del aceite esencial

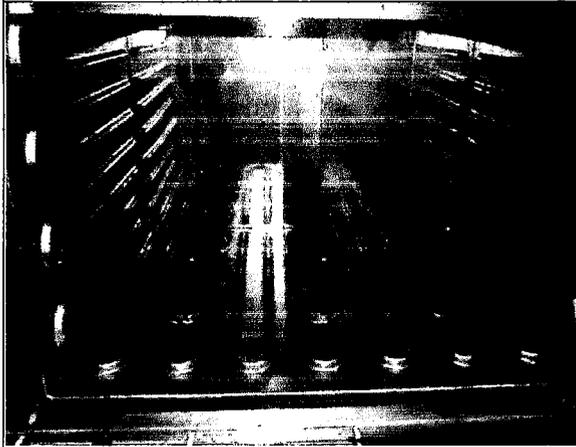


Imagen N° 09: determinación de humedad del material biológico.



Imagen N° 10: determinación de Humedad del material biológico.



Imagen N°11: Selección y clasificación del material biológico deshidratado para su proceso extractivo.



Imagen N°12: Acondicionamiento del material vegetal en el equipo extractor de acero inoxidable.

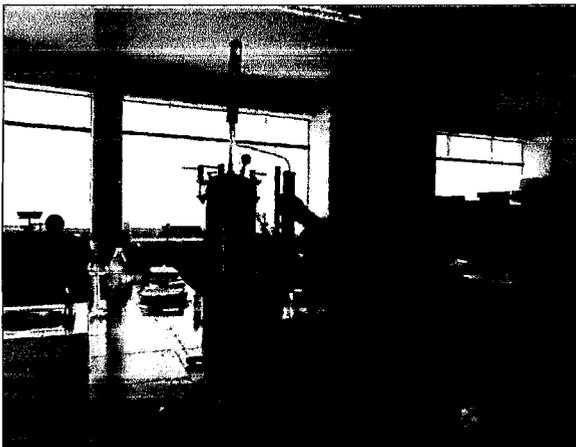


Imagen N°13: fotografía tomada durante el proceso de extracción del aceite esencial de *M mollis*.

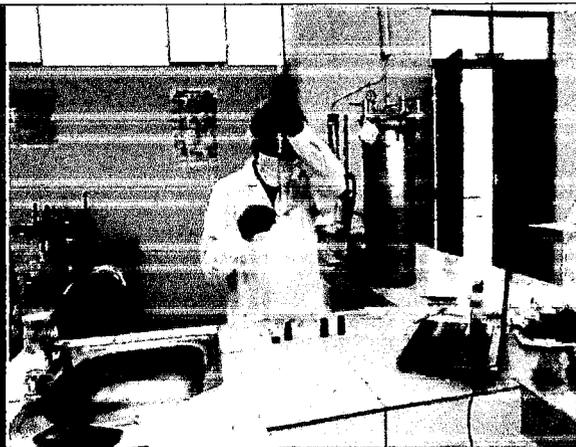


Imagen N°14: Determinación del rendimiento durante el proceso extractivo del aceite esencial



Imagen N°15: Determinación de la densidad relativa del aceite esencial por el método de picnómetro.

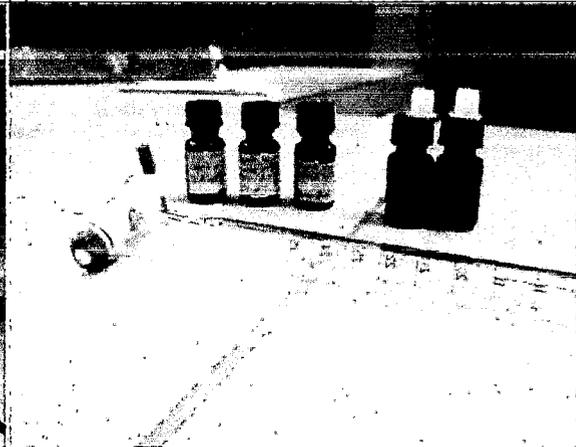


Imagen N°16: Determinación del índice de acides el aceite esencial por el método de Titulación.



Imagen N°17: Determinación del índice de refracción del aceite esencial método Instrumental refractómetro ABBE

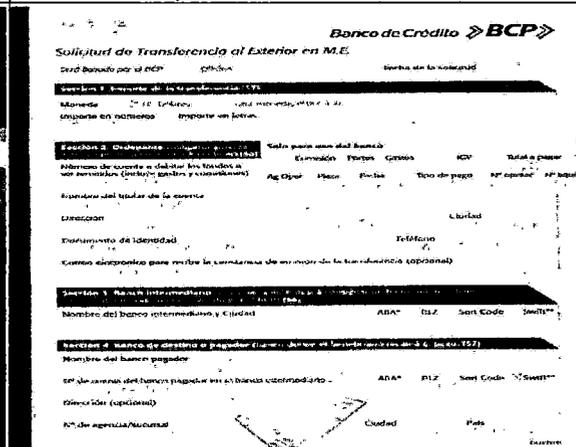
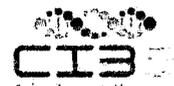


Imagen N°18: Comprobante por pago de análisis de GC-MS al laboratorio ESPOL – CIBE.

**ANEXO N°05: FICHA TECNICA DE RECEPCION DE MUESTRAS POR EL
LABORATORIO BIOPRODUCTOS CIBE – ESPOL.**



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL
CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOTECNOLÓGICAS DEL ECUADOR**

Guayaquil, 09 de julio de 2014

FICHA TECNICA DE RECEPCION DE MUESTRAS LABORATORIO BIOPRODUCTOS CIBE-ESPOL					
DATOS DEL CLIENTE Y MUESTRA					
DATOS DEL CLIENTE	Nombre:		Universidad Nacional de Huancavelica		
	Solicitado por:		Joseph Ricaldi Sarapura		
MUESTRA	Tipo:		Aceite esencial		
	Cantidad:		3 frascos de 7mL, 4.7 mL y 6.5 mL		
MUESTREO	Realizado por:		El cliente		
	Lugar:		Perú		
REQUERIMIENTO		Determinación de aceites esenciales			
LUGAR Y FECHA	Guayaquil 11/06/2014	Recepción:	11/06/2014	Hora:	14H00
		Inicio de Análisis:	01/07/2014		



[Handwritten Signature]
Dña. Patricia Manzano Santana,
Jefe de Investigación
Laboratorio de Bioproductos



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOTECNOLÓGICAS DEL ECUADOR

INFORME FINAL

Guayaquil, 09 de julio de 2014

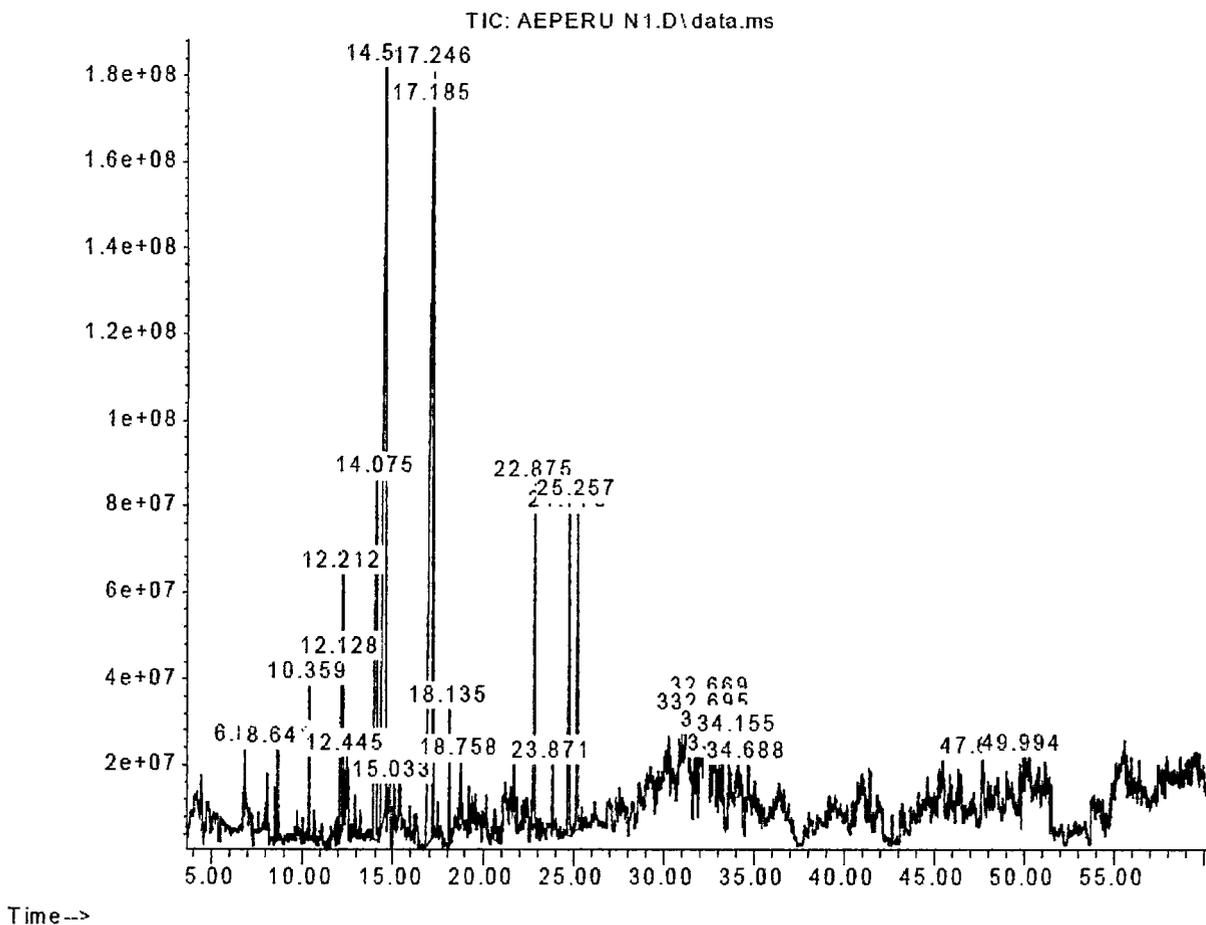
ANÁLISIS DE ACEITES ESENCIALES

Los compuestos volátiles se identificaron mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-SM) en un equipo marca Agilent Technologies equipado en una columna capilar HP-5MS (30 m x 0.25 mm) con fenil dimetilpolisiloxano como fase estacionaria (0.25 micras de espesor de película) y helio como gas de arrastre (1mL/min). Las condiciones cromatográficas fueron temperatura de inyección (220 °C), temperatura de detector (140 °C), la temperatura del horno se mantuvo en 50 °C por 0.5 minutos, después se incrementó hasta 250 °C a 4C/min.

Extracción N1

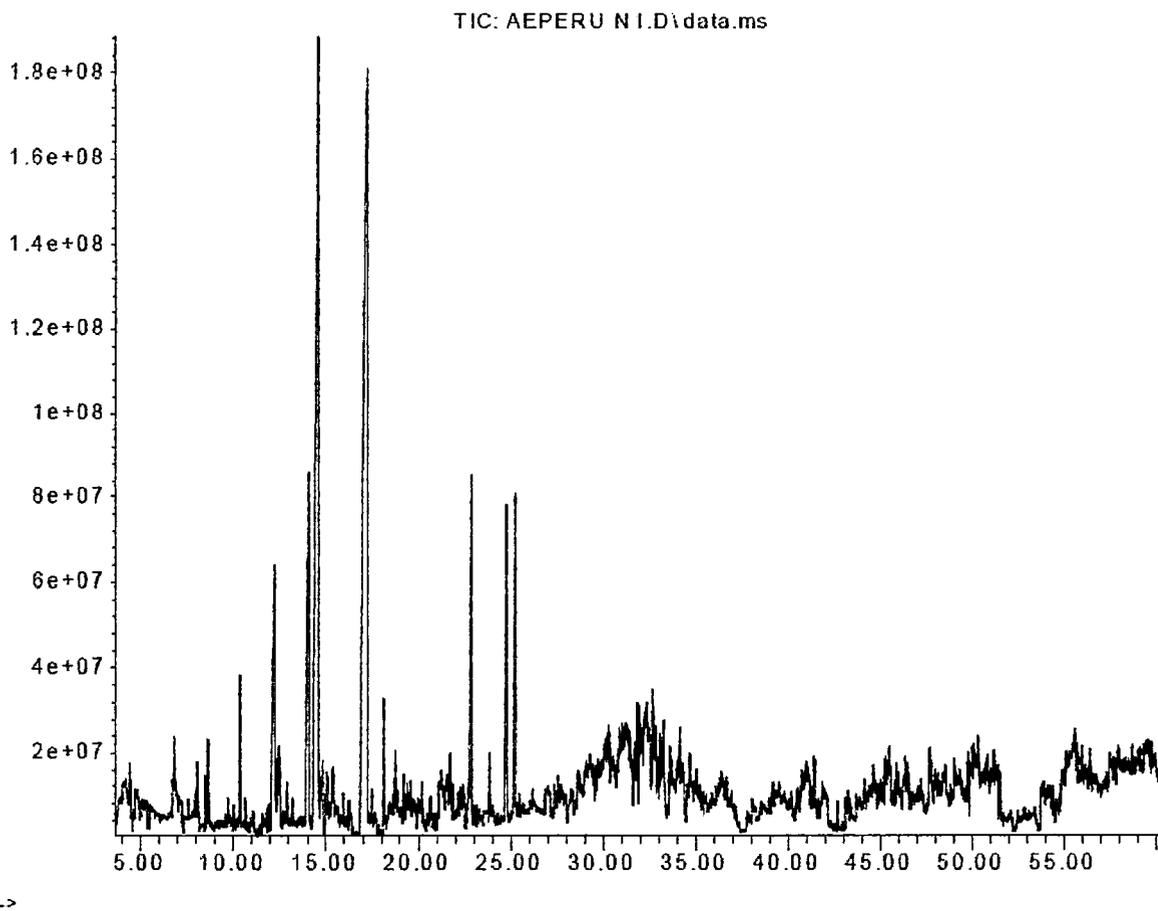
Library Search Report

Abundance





Abundance



Data Path : D:\MSD\MS DATOS\ACEITES ESENCIALES\Peru Tesis Servicio\

Data File : AEPERU N1.D

Acq On : 8 Jul 2014 11:44

Operator :

Sample : N1

Misc :

ALS Vial : 31 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex

Integration Events: ChemStation Integrator - events.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
-----	----	-------	------------	------	------	------

1	6.825	0.54	C:\Database\W9N11.L			
---	-------	------	---------------------	--	--	--



.ALPHA.-PINENE, (-)- \$\$ Bicyclo[3. 45077 000080-56-8 96

1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl- (

CAS)

(1R)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1] 45348 007785-70-8 96

hept-2-ene \$\$ 1R.-alpha.-Pinene

.ALPHA.-PINENE, (-)- \$\$ Bicyclo[3. 45078 000080-56-8 96

1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl- (

CAS)

2 8.638 0.90 C:\Database\W9N11.L

3-Octanol (CAS) \$\$ n-Octan-3-ol \$\$ 37249 000589-98-0 90

Ethylamylcarbinol \$\$ Octan-3-ol

3-Octanol (CAS) \$\$ n-Octan-3-ol \$\$ 37260 000589-98-0 90

Ethylamylcarbinol \$\$ Octan-3-ol

3-Octanol (CAS) \$\$ n-Octan-3-ol \$\$ 37258 000589-98-0 90

Ethylamylcarbinol \$\$ Octan-3-ol

3 10.362 1.36 C:\Database\W9N11.L

1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (44645 003779-61-1 98

E)- (CAS) \$\$.BETA. OCIMENE Y

1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (44637 003338-55-4 97

Z)- \$\$.beta.-cis-Ocimene

.beta.-Ocimene \$\$ 1,3,6-Octatriene 44655 013877-91-3 96

, 3,7-dimethyl- \$\$ Ocimene

4 12.124 2.36 C:\Database\W9N11.L

1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- \$ 75772 000078-70-6 96



\$.beta.-Linalool \$\$ Linalol \$\$ Li

nalool

1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- \$ 75768 000078-70-6 95

\$.beta.-Linalool \$\$ Linalol \$\$ Li

nalool

1,5-Dimethyl-1-vinyl-4-hexenyl but 250380 000078-36-4 95

yrate \$\$ Linalyl butyrate

5 12.214 3.77 C:\Database\W9N11.L

1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- \$ 75768 000078-70-6 97

\$.beta.-Linalool \$\$ Linalol \$\$ Li

nalool

LINALOOL L \$\$ 1,6-OCTADIEN-3-OL, 3 76458 000078-70-6 97

,7-DIMETHYL- \$\$ 3,7-DIMETHYLOCTA-1

,6-DIEN-3-OL

1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- \$ 75772 000078-70-6 96

\$.beta.-Linalool \$\$ Linalol \$\$ Li

nalool

6 12.443 0.12 C:\Database\W9N11.L

1',4-Diacetoxy-3-bromo-2,3'-dimeth 798894 101459-36-3 44

yl-5,5',8,8'-tetramethoxy-1,2'-bin

aphthalene

2,2''-Dimethoxy-2'-(phenylmethoxy) 798489 084379-27-1 42

-3,3'-dibromo-5,5',5''-trimethyl-1

,1':3',3''-t

2,2-Bis(3,5-dibromomesityl)ethenol 798068 998798-06-8 42



7 14.078 8.88 C:\Database\W9N11.L

I-Menthone \$\$ Cyclohexanone, 5-met 76030 014073-97-3 97

hyl-2-(1-methylethyl)-, (2S-trans)

I-MENTHONE \$\$ CYCLOHEXANONE, 5-MET 76450 000089-80-5 97

HYL-2-(1-METHYLETHYL)-, TRANS-

Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methy 76020 000491-07-6 96

lethyl)-, cis- (CAS) \$\$ Isomenthon

8 14.580 24.06 C:\Database\W9N11.L

neo-Menthol 80633 000491-01-0 64

6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, propa 215681 000141-14-0 58

noate

Cyclohexane, 1-methyl-4-(1-methyle 48160 001124-25-0 55

thenyl)-, trans- (CAS) \$\$ TRANS-8-

MENTHENE

9 15.032 0.14 C:\Database\W9N11.L

(+)-NEOISOMENTHOL 80747 998080-74-7 98

Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methyl 80637 000491-02-1 98

ethyl)-, (1.alpha.,2.alpha.,5.alph

a.)-

dl-Menthol \$\$ Menthol 80583 000089-78-1 93

10 17.182 26.62 C:\Database\W9N11.L

Cyclobutylidenacetaldehyde 8256 998008-25-6 64

2-cyclononine-1-ol \$\$ 2-Cyclonony 47723 029916-96-9 60

-1-ol (CAS)



Cyclopentanol, 1-(1-methylene-2-pr 47499 078158-11-9 53

openyl)-

11 17.246 9.42 C:\Database\W9N11.L

Cyclobutylidenacetaldehyde 8256 998008-25-6 50

Cyclopentanol, 1-(1-methylene-2-pr 47499 078158-11-9 49

openyl)-

2-Acetyl-1,4-dimethylcyclohexene 72120 998072-12-0 49

12 18.137 1.33 C:\Database\W9N11.L

Bicyclo[4.1.0]heptane, 3,7,7-trime 48221 000554-59-6 93

thyl- \$\$ Carane

Bicyclo[4.1.0]heptane, 3,7,7-trime 48222 000554-59-6 93

thyl- (CAS) \$\$ Carane (CAS)

Bicyclo[4.1.0]heptane, 3,7,7-trime 48220 000554-59-6 93

thyl- (CAS) \$\$ Carane (CAS)

13 18.760 1.04 C:\Database\W9N11.L

Cyclohexene, 4-methyl-1-(1-methyle 48148 000500-00-5 93

thyl)- \$\$ p-Menth-3-ene \$\$.delta.

3-p-Menthene

Bicyclo[4.1.0]heptane, 3,7,7-trime 48220 000554-59-6 93

thyl- (CAS) \$\$ Carane (CAS)

2-ISOPROPYL-5-METHYLCYCLOHEXYL 2-F 324463 998324-46-3 91

UROATE



14 22.876 5.29 C:\Database\W9N11.L

Caryophyllene 193345 000087-44-5 99

TRANS(.BETA.)-CARYOPHYLLENE 193987 998193-98-7 99

Caryophyllene 193347 000087-44-5 99

15 23.869 0.64 C:\Database\W9N11.L

.alpha.-Humulene (CAS) 193267 006753-98-6 99

Humulene β .alpha.-Caryophyllene 193268 006753-98-6 98

1,4,7,-Cycloundecatriene, 1,5,9,9- 194082 998194-08-2 98

tetramethyl-, Z,Z,Z-

16 24.778 4.71 C:\Database\W9N11.L

GERMACRENE-D 193880 023986-74-5 98

1,6-Cyclodecadiene, 1-methyl-5-met 193820 023986-74-5 98

ylene-8-(1-methylethyl)-, [S-(E,E

)]-

.beta.-Cubebene 193793 013744-15-5 97

17 25.256 4.42 C:\Database\W9N11.L

bicyclgermacrene 193949 067650-90-2 99

bicyclgermacrene 193949 067650-90-2 99

bicyclgermacrene 193949 067650-90-2 99

18 31.840 0.88 C:\Database\W9N11.L

4,4'-Bi(2,3,4-triphenylcyclobut-2- 797917 069745-17-1 55

en-1-on-4-yl)

2,6-bis(Dibromomethyl)-3,5-dipheny 797256 998797-25-6 50



l-4H-pyran-4-one

ent-2.alpha.,13,15.alpha.-tri(trim 798484 128735-57-9 45

ethylsiloxy)-10.beta-hydroxy-20-no

rgibberell-1

19 31.885 0.27 C:\Database\W9N11.L

[.eta(5).-1,2,3,4-Tetramethyl-1,3- 799115 998799-11-5 68

cyclopentadiene)-(3',3',3'-trifluo

ropropyl)dim

3-Acetyl-2-methyl-4-[2,2-bis(4-chl 798162 998798-16-2 50

orophenyl)ethenyl]-5,5-bis(4-chlor

ophenyl)-4,5

Boron, bis[.mu.-(3,5-diphenyl-1H-p 799324 124177-27-1 46

yrazolato-N1:N2)]diethyl-.mu.-sele

noxodi-

20 31.936 0.42 C:\Database\W9N11.L

Boron, bis[.mu.-(3,5-diphenyl-1H-p 799324 124177-27-1 84

yrazolato-N1:N2)]diethyl-.mu.-sele

noxodi-

2,4,2',4'-tetramethoxy-6,7,6',7'-t 798586 130246-12-7 55

etramethyl-8,8'-bi-phenanthrene

9,9-Bis[4-(4-nitrophenoxy)phenyl]f 798244 139265-69-3 53

luorene

21 32.667 0.58 C:\Database\W9N11.L

Ethyl (2Z,5Z)-6-[5-(4'-bromobenzoy 798474 139313-21-6 60



l)-2,3-dihydro-7-(ethoxycarbonyl)-

1H-pyrrolo[1

Ethyl (2E,5Z)-6-[5-(4'-bromobenzoy 798473 139313-22-7 60

l)-2,3-dihydro-7-(ethoxycarbonyl)-

1H-pyrrolo[1

Chondodendrine \$\$ Chondrodendrine 798593 998798-59-3 59

22 32.693 0.31 C:\Database\W9N11.L

.alpha.-chloro.-gamma.-formylactae 799015 071906-13-3 91

thylporphyrin

4,4'-Bi(2,3,4-triphenylcyclobut-2- 797917 069745-17-1 59

en-1-on-4-yl)

zinc(II)-porphyrine 799003 017632-18-7 56

23 33.240 0.47 C:\Database\W9N11.L

2,2-Bis(3,5-dibromomesityl)ethenol 798068 998798-06-8 60

2,6-Bis[5-cyano-6-(4-bromophenyl)- 798724 998798-72-4 59

1,2,4-triazin-3-yl]pyridine

Ethyl (2Z,5Z)-6-[5-(4'-bromobenzoy 798474 139313-21-6 55

l)-2,3-dihydro-7-(ethoxycarbonyl)-

1H-pyrrolo[1

24 33.628 0.31 C:\Database\W9N11.L

1,5-Dichloro-9,10-bis[4'-(2"-methy 800435 998800-43-5 43

ldioxolan-2"-yl)phenyl]-9,10-dihyd

roxyanthrace

1',4'-Diacetoxy-3-bromo-2,3'-dimeth 798894 101459-36-3 42



yl-5,5',8,8'-tetramethoxy-1,2'-binaphthalene

Ethyl (2E,5Z)-6-[5-(4'-bromobenzoyl)-2,3-dihydro-7-(ethoxycarbonyl)-

1H-pyrrolo[1

]

25 34.156 0.86 C:\Database\W9N11.L

.pi.-Pentamethylcyclopentadienyl-(799440 998799-44-0 55

N,N,N',N'-tetramethyl-ethin-1,2-di

amin)-molybdenum

2,3,16,17-Tetrakis(trimethylsilyloxy)estra-1,3,5(10)-triene, (16.a

17.bet

(S,S)-1,5-bis[o-(p,p'-tetramethyl-2,3,4,5-tetrahydro-2H-pyridin-2-ylidene)phenoxy]]-3-

oxapentane

oxapentane

oxapentane

26 34.690 0.03 C:\Database\W9N11.L

2,6-Bis[5-cyano-6-(4-bromophenyl)-1,2,4-triazin-3-yl]pyridine

2-Bromo-5-(4-bromo-5-hexyloxymethyl)terphenyl-4-ylpyridine

2-Bromo-5-(4-bromo-5-hexyloxymethyl)terphenyl-4-ylpyridine

2-Bromo-5-(4-bromo-5-hexyloxymethyl)terphenyl-4-ylpyridine

2-Bromo-5-(4-bromo-5-hexyloxymethyl)terphenyl-4-ylpyridine

3.beta.-(Trichloroacetoxy)-5.alpha.-chloro-solanidene

3.beta.-(Trichloroacetoxy)-5.alpha.-chloro-solanidene

27 47.656 0.06 C:\Database\W9N11.L

6,6"-Bis(chloromethyl)[4,4':6',4"-chloro-solanidene

terdibenzofuran]

Halocynthiaxanthin 799416 081306-52-7 41

Silane, dimethyl(dimethyl(2,3,5,6- 797623 998797-62-3 35

tetrachlorophenoxy)silyloxy)(2,3,5

,6-tetrachlo

28 49.991 0.19 C:\Database\W9N11.L

2,6-Bis[5-cyano-6-(4-bromophenyl)- 798724 998798-72-4 90

1,2,4-triazin-3-yl]pyridine

1,2,3-Trichloro-4,9,10-tris(phenyl 795826 080034-30-6 25

ethynyl)anthracene

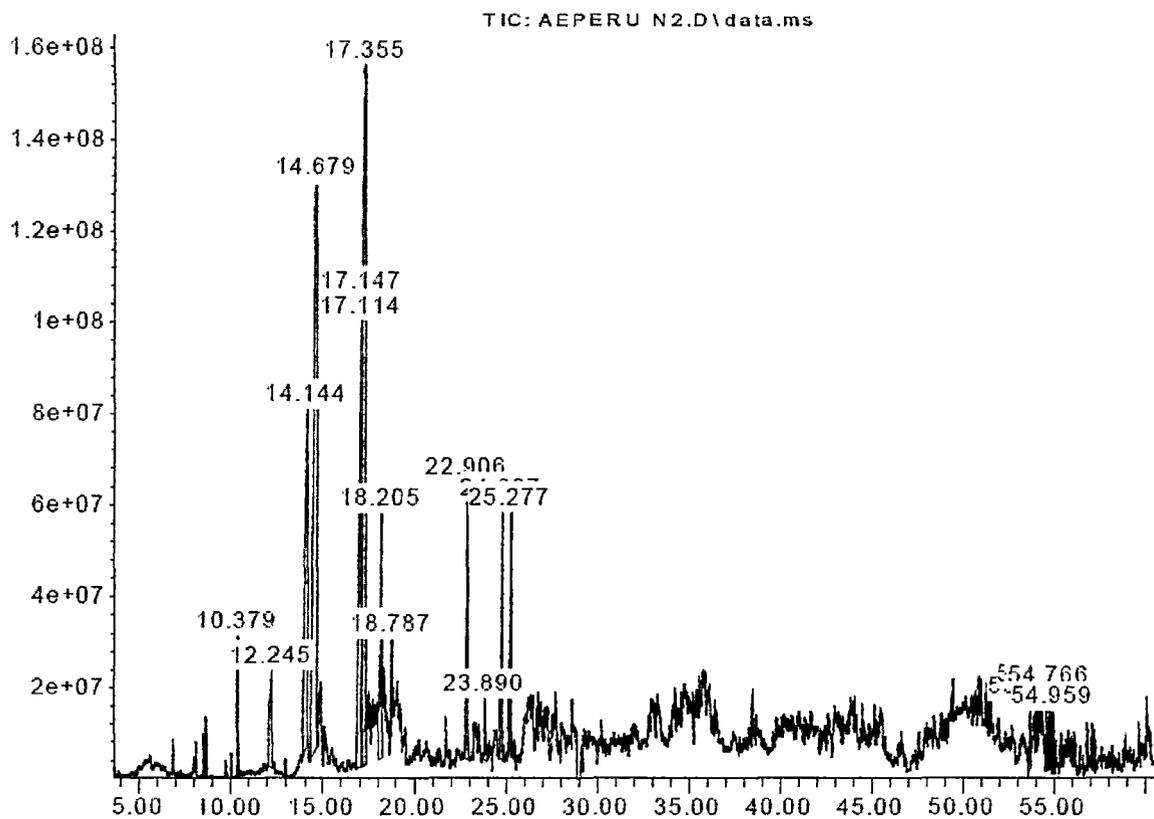
1-[4-Methoxy-3-chloro-6-[2-[3-(2'- 795719 998795-71-9 18

methoxy-3'-chloro-5'-formylphenyl)

-4-methoxyp

Extracción N2

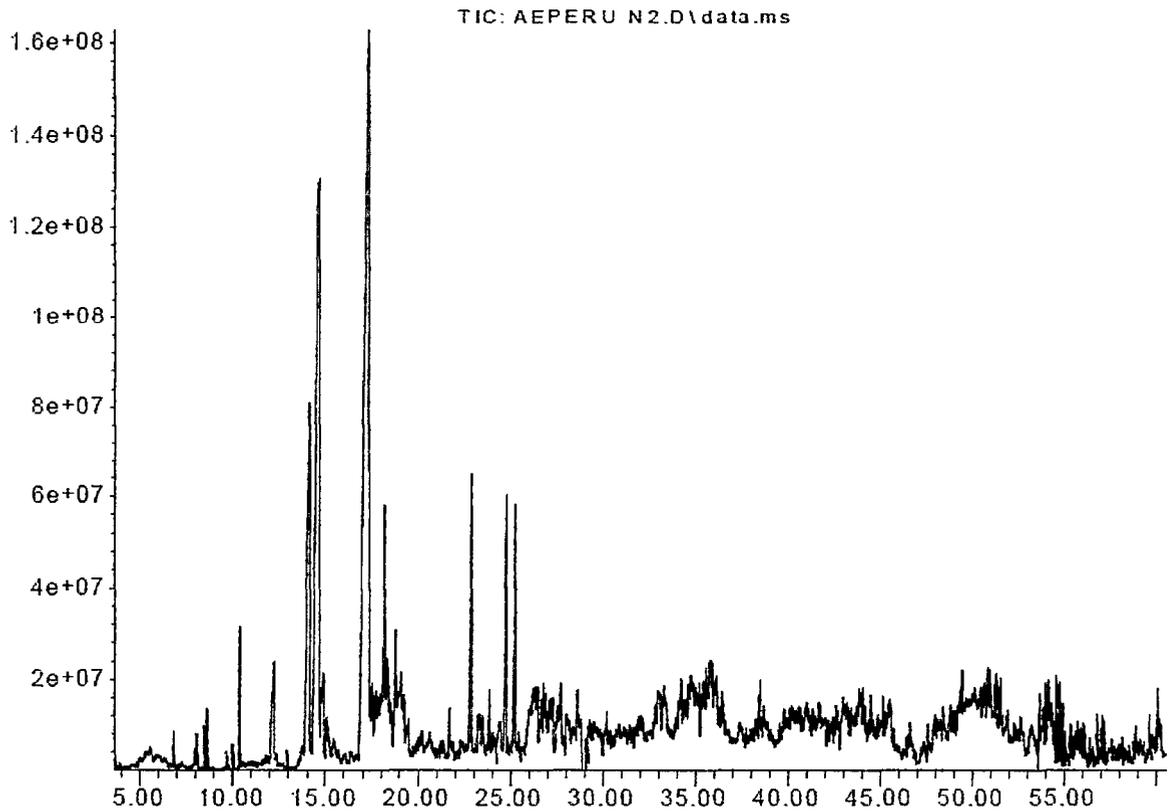
Abundance



Time-->



Abundance



Time-->

Library Search Report

Data Path : D:\MSD\MS DATOS\ACEITES ESENCIALES\Peru Tesis Servicio\

Data File : AEPERU N2.D

Acq On : 8 Jul 2014 13:02

Operator :

Sample : N2

Misc :

ALS Vial : 32 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex

Integration Events: ChemStation Integrator - events.e

Pk#	RT Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
-----	----------	------------	------	------	------

1	10.381 1.36	C:\Database\W9N11.L			
---	-------------	---------------------	--	--	--



1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (44645 003779-61-1 98

E)- (CAS) \$\$.BETA. OCIMENE Y

1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (44636 003338-55-4 96

Z)- \$\$.beta.-cis-Ocimene

.beta.-Ocimene \$\$ 1,3,6-Octatriene 44655 013877-91-3 96

, 3,7-dimethyl- \$\$ Ocimene

2 12.246 2.61 C:\Database\W9N11.L

1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- \$ 75768 000078-70-6 97

\$.beta.-Linalool \$\$ Linalol \$\$ Li

nalool

LINALOOL L \$\$ 1,6-OCTADIEN-3-OL, 3 76458 000078-70-6 97

,7-DIMETHYL- \$\$ 3,7-DIMETHYLOCTA-1

,6-DIEN-3-OL

Linalool \$\$ 1,6-Octadien-3-ol, 3,7 75770 000078-70-6 94

-dimethyl- (CAS) \$\$ Linalol \$\$.be

ta.-Linalool

3 14.141 9.93 C:\Database\W9N11.L

L-MENTHONE \$\$ CYCLOHEXANONE, 5-MET 76415 010458-14-7 98

HYL-2-(1-METHYLETHYL)-

Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methy 76020 000491-07-6 98

lethyl)-, cis- (CAS) \$\$ Isomenthon

Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methy 76044 000089-80-5 98

lethyl)-, trans- \$\$ p-Menthan-3-on

e, trans-



4 14.593 20.91 C:\Database\W9N11.L

dl-Menthol \$\$ Menthol 80583 000089-78-1 90

neo-Menthol 80633 000491-01-0 90

(+)-NEOMENTHOL 80630 000491-01-0 90

5 14.676 3.97 C:\Database\W9N11.L

dl-Menthol \$\$ Menthol 80583 000089-78-1 96

neo-Menthol 80633 000491-01-0 95

(+)-NEOMENTHOL 80630 000491-01-0 95

6 17.112 12.34 C:\Database\W9N11.L

Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methy 71242 015932-80-6 95

lethylidene)- \$\$ p-Menth-4(8)-en-3

-one

Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methy 71241 015932-80-6 93

lethylidene)- \$\$ p-Menth-4(8)-en-3

-one

Pulegone \$\$ Cyclohexanone, 5-methy 71244 000089-82-7 93

l-2-(1-methylethylidene)-, (R)-

7 17.151 2.72 C:\Database\W9N11.L

Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methy 71242 015932-80-6 94

lethylidene)- \$\$ p-Menth-4(8)-en-3

-one

Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methy 71241 015932-80-6 93

lethylidene)- \$\$ p-Menth-4(8)-en-3

-one



Pulegone \$\$ Cyclohexanone, 5-methy 71244 000089-82-7 93
l-2-(1-methylethylidene)-, (R)-

8 17.329 22.19 C:\Database\W9N11.L

2,5-Dimethoxytoluene \$\$ Benzene, 1 70337 024599-58-4 86
,4-dimethoxy-2-methyl- (CAS)
2,7-dimethyl-1-cycloheptene-1-carb 71761 116536-50-6 58
aldehyde
Cyclohexanone, 2-(2-methylpropylid 71963 043108-69-6 49
ene)-

9 17.354 3.59 C:\Database\W9N11.L

2,5-Dimethoxytoluene \$\$ Benzene, 1 70337 024599-58-4 86
,4-dimethoxy-2-methyl- (CAS)
Cyclobutylidenacetaldehyde 8256 998008-25-6 64
2,7-dimethyl-1-cycloheptene-1-carb 71761 116536-50-6 58
aldehyde

10 18.207 4.54 C:\Database\W9N11.L

Bicyclo[4.1.0]heptane, 3,7,7-trime 48221 000554-59-6 93
thyl- \$\$ Carane
Bicyclo[4.1.0]heptane, 3,7,7-trime 48220 000554-59-6 93
thyl- (CAS) \$\$ Carane (CAS)
Cyclohexene, 4-methyl-1-(1-methyle 48144 000619-52-3 93
thyl)-, (R)- (CAS) \$\$ 3-MENTHENE



11 18.786 1.07 C:\Database\W9N11.L

Cholestane, 3,5-dichloro-6-nitro-, 761065 015505-92-7 97

(3.beta.,5.alpha.,6.beta.)-

Bicyclo[4.1.0]heptane, 3,7,7-trime 48218 002778-68-9 93

thyl-, [1S-(1.alpha.,3.beta.,6.alp

ha.)]-

Camphane \$\$ Bicyclo[2.2.1]heptane, 48200 000464-15-3 93

1,7,7-trimethyl- (CAS) \$\$ Bornane

(CAS)

12 22.908 4.17 C:\Database\W9N11.L

Caryophyllene 193345 000087-44-5 99

TRANS(.BETA.)-CARYOPHYLLENE 193987 998193-98-7 99

Caryophyllene 193347 000087-44-5 99

13 23.888 0.81 C:\Database\W9N11.L

.alpha.-Humulene (CAS) 193267 006753-98-6 99

1,4,7,-Cycloundecatriene, 1,5,9,9- 194082 998194-08-2 99

tetramethyl-, Z,Z,Z-

.alpha.-Humulene (CAS) 193269 006753-98-6 98

14 24.810 3.87 C:\Database\W9N11.L

GERMACRENE-D 193880 023986-74-5 98

Germacrene D 193823 023986-74-5 98

.beta.-Cubebene 193793 013744-15-5 98



15 25.275 3.41 C:\Database\W9N11.L

bicyclogermacrene 193949 067650-90-2 99

bicyclogermacrene 193949 067650-90-2 99

bicyclogermacrene 193949 067650-90-2 99

16 53.700 1.00 C:\Database\W9N11.L

5-[2'-(Benzyloxy)-4'-chlorophenyl] 798954 998798-95-4 96

-3-(2'',4''-dichlorophenyl)-1-dodecy

lpyrazole

3-[2'-(Benzyloxy)-4'-chlorophenyl] 798955 998798-95-5 95

-5-(2'',4''-dichlorophenyl)-1-dodecy

lpyrazole

6,6''-Bis(chloromethyl)[4,4':6',4''- 799025 998799-02-5 91

terdibenzofuran]

17 54.158 0.61 C:\Database\W9N11.L

4-Methoxy-2,2',3,4',5-pentabromodi 797616 998797-61-6 45

phenyl ether \$\$ 4-MeO-BDE-90

CHLORO-CADMIUM-(1R,19R)-1,2,2,7,7, 804894 065584-41-0 32

12,12-HEPTAMETHYL-15-CYANO-19-METH

OXYCARBONYL-

Silane, dimethyl(dimethyl(2,3,5,6- 797623 998797-62-3 25

tetrachlorophenoxy)silyloxy)(2,3,5

,6-tetrachlo

18 54.578 0.58 C:\Database\W9N11.L

N-[1'-Hexylheptyl]-1,6-dinitropery 798384 998798-38-4 45



lene-3,4-dicarboxamide

.pi.-Pentamethylcyclopentadienyl-(799440 998799-44-0 35

N,N,N',N'-tetramethyl-ethin-1,2-di

amin)-molybd

2,6-bis(Dibromomethyl)-3,5-dipheny 797256 998797-25-6 27

l-4H-pyran-4-one

19 54.769 0.08 C:\Database\W9N11.L

zinc(II)-porphyrine 799003 017632-18-7 60

5-Chloro-10-formyl-2,3,7,8,12,13,1 799016 998799-01-6 47

7,18-octaethyl-21H,23H-porphine

Androsta-3,5-diene-3,17-diol, 3-(c 798859 049842-33-3 40

hlorodifluoroacetate) 17-(heptaflu

orobutanoate

20 54.960 0.25 C:\Database\W9N11.L

4-Methoxy-2,2',3,4',5-pentabromodi 797616 998797-61-6 94

phenyl ether \$\$ 4-MeO-BDE-90

2-(4',5'-Dimethyl-1',3'-diselenol- 798830 998798-83-0 55

2'-ylidene)-5-(4'',5''-bis(methylthi

o)-1'',3''-dit

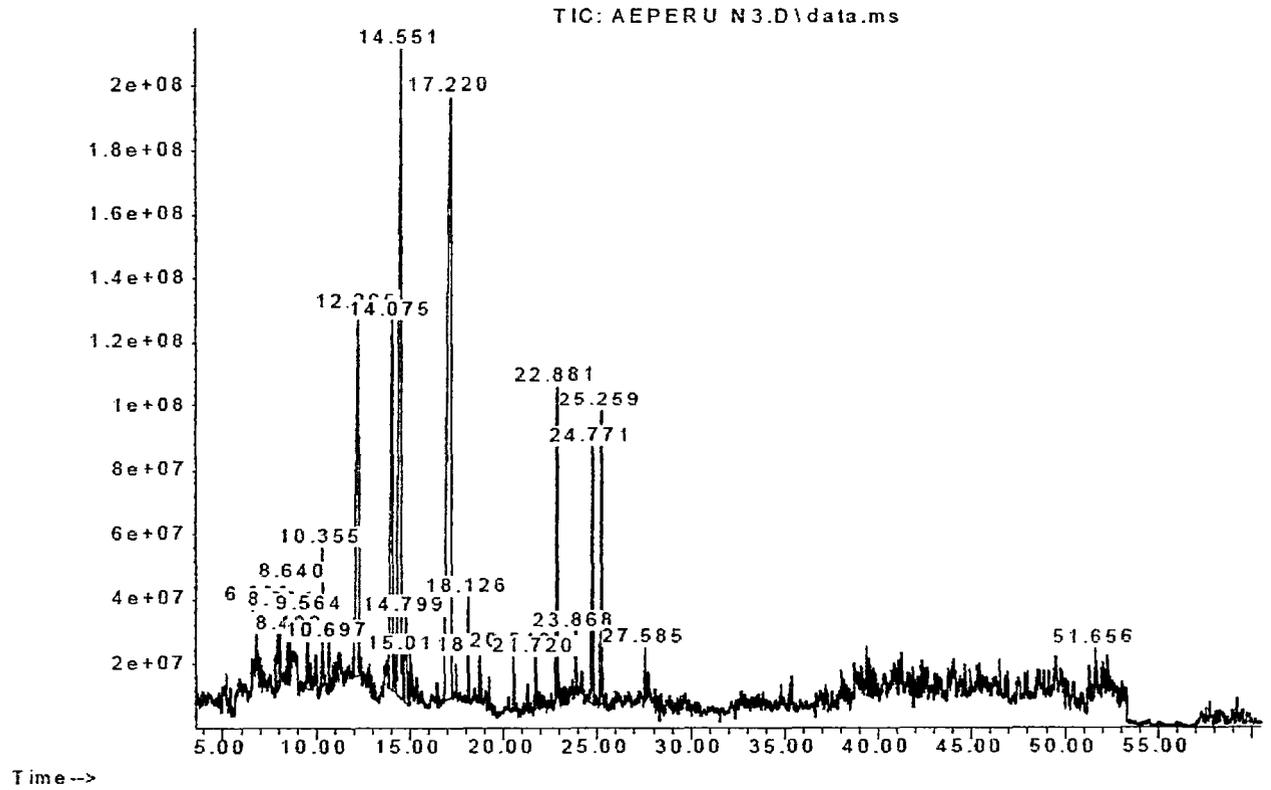
2-(2'-Bromophenoxy)-3,4,5,6-tetrab 797614 998797-61-4 50

romo-anisole

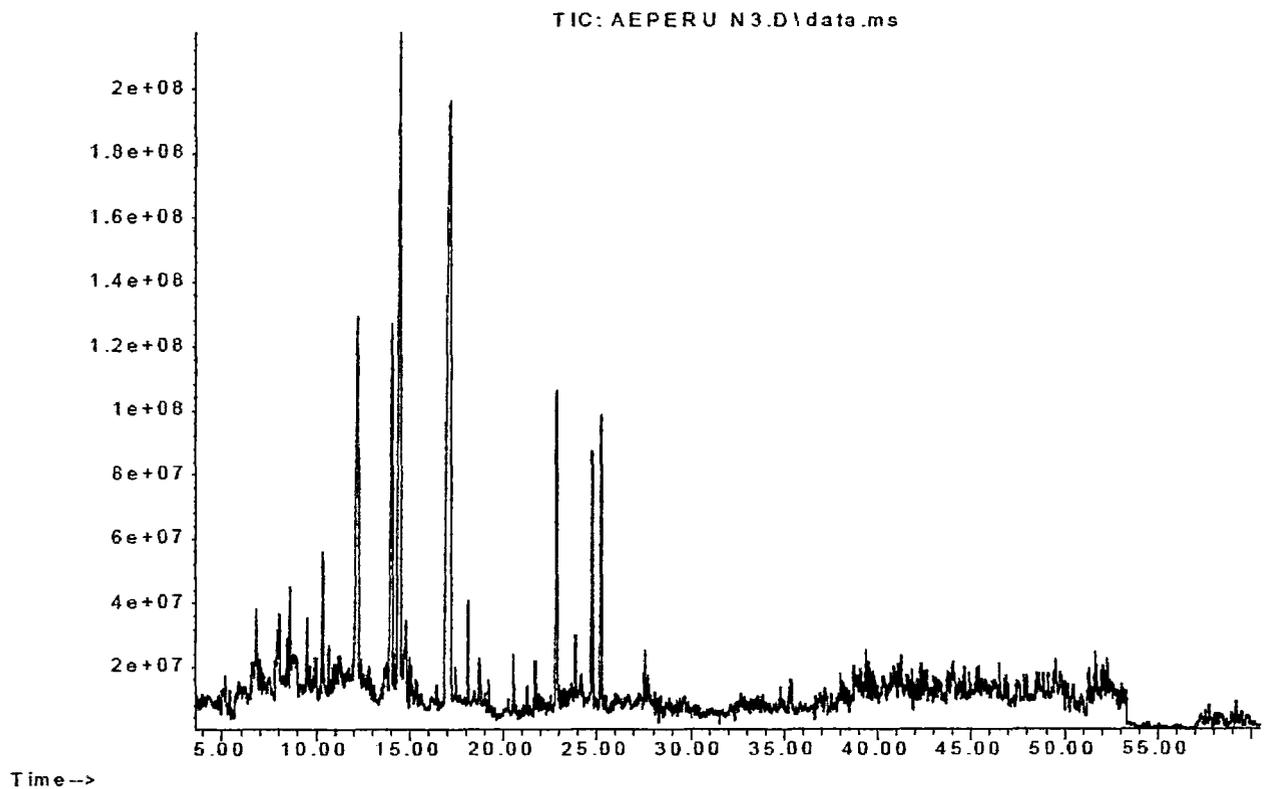


Extracción N3

Abundance



Abundance





Data Path : D:\MSD\MS DATOS\ACEITES ESENCIALES\Peru Tesis Servicio\

Data File : AEPERU N3.D

Acq On : 8 Jul 2014 14:18

Operator :

Sample : N3

Misc :

ALS Vial : 33 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex

Integration Events: ChemStation Integrator - events.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
-----	----	-------	------------	------	------	------

1 6.819 0.66 C:\Database\W9N11.L

.ALPHA.-PINENE, (-)- \$\$ Bicyclo[3. 45077 000080-56-8 96

1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl- (

CAS)

.ALPHA.-PINENE, (-)- \$\$ Bicyclo[3. 45089 000080-56-8 96

1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl- (

CAS)

.ALPHA.-PINENE, (-)- \$\$ Bicyclo[3. 45076 000080-56-8 96

1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl- (

CAS)

2 7.970 0.98 C:\Database\W9N11.L

1,3,4,5,6-Pentabromobenzo[1,2-c:3, 795571 088687-08-5 14

4-c']dithiophene

3 8.066 1.07 C:\Database\W9N11.L

2-.BETA.-PINENE \$\$ Bicyclo[3.1.1]h 45120 000127-91-3 96



eptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-

(CAS)

(-)-.beta.-Pinene \$\$ 6,6-DIMETHYL- 45102 018172-67-3 96

2-METHYLENEBICYCLO[3.1.1]-HEPTANE

2-.BETA.-PINENE \$\$ Bicyclo[3.1.1]h 45110 000127-91-3 95

eptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-

(CAS)

4 8.492 0.44 C:\Database\W9N11.L

.beta.-Myrcene \$\$ 1,6-Octadiene, 7 44703 000123-35-3 96

-methyl-3-methylene- (CAS)

.beta.-Myrcene \$\$ 1,6-Octadiene, 7 44690 000123-35-3 95

-methyl-3-methylene- (CAS)

.beta.-Myrcene \$\$ 1,6-Octadiene, 7 44710 000123-35-3 94

-methyl-3-methylene- (CAS)

5 8.638 0.94 C:\Database\W9N11.L

3-Octanol (CAS) \$\$ n-Octan-3-ol \$\$ 37260 000589-98-0 80

Ethylamylcarbinol \$\$ Octan-3-ol

3-Octanol (CAS) \$\$ n-Octan-3-ol \$\$ 37258 000589-98-0 72

Ethylamylcarbinol \$\$ Octan-3-ol

3-Octanol (CAS) \$\$ n-Octan-3-ol \$\$ 37249 000589-98-0 72

Ethylamylcarbinol \$\$ Octan-3-ol

6 9.567 0.91 C:\Database\W9N11.L

Benzene, methyl(1-methylethyl)- (C 41689 025155-15-1 95

AS) \$\$ Cymol \$\$ Cymene (CAS) \$\$ Th



ymene

Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethyl 41721 000099-87-6 95

)- (CAS) \$\$ p-Cymene (CAS)

p-Cymene \$\$ Benzene, 1-methyl-4-(1 41726 000099-87-6 95

-methylethyl)- \$\$ p-Cimene \$\$ p-Cy

mol

7 10.356 1.52 C:\Database\W9N11.L

1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (44645 003779-61-1 98

E)- (CAS) \$\$.BETA. OCIMENE Y

.beta.-Ocimene \$\$ 1,3,6-Octatriene 44655 013877-91-3 98

, 3,7-dimethyl- \$\$ Ocimene

1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (44636 003338-55-4 98

Z)- \$\$.beta.-cis-Ocimene

8 10.699 0.43 C:\Database\W9N11.L

.gamma.-Terpinene \$\$ 1,4-Cyclohexa 44825 000099-85-4 97

diene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-

.gamma.-Terpinene \$\$ 1,4-Cyclohexa 44817 000099-85-4 96

diene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-

(CAS)

.gamma.-Terpinene \$\$ 1,4-Cyclohexa 44831 000099-85-4 96

diene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-

(CAS)

9 12.265 11.57 C:\Database\W9N11.L

LINALOOL L \$\$ 1,6-OCTADIEN-3-OL, 3 76458 000078-70-6 70



,7-DIMETHYL- \$\$ 3,7-DIMETHYLOCTA-1

,6-DIEN-3-OL

Linalool \$\$ 1,6-Octadien-3-ol, 3,7 75763 000078-70-6 58

-dimethyl- (CAS) \$\$ Linalol \$\$.be

ta.-Linalool

Linalool \$\$ 1,6-Octadien-3-ol, 3,7 75769 000078-70-6 55

-dimethyl- (CAS) \$\$ Linalol \$\$.be

ta.-Linalool

10 14.078 9.24 C:\Database\W9N11.L

l-Menthone \$\$ Cyclohexanone, 5-met 77000 014073-97-3 92

hyl-2-(1-methylethyl)-, (2S-trans)

Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methy 76044 000089-80-5 92

lethyl)-, trans- \$\$ p-Menthan-3-on

e, trans-

Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methy 76017 000491-07-6 92

lethyl)-, cis- \$\$ p-Menthan-3-one,

cis-

11 14.548 21.35 C:\Database\W9N11.L

2,6-Octadiene, 2,6-dimethyl- \$\$ 2, 48339 002792-39-4 83

6-Dimethyl 2,6-octadiene

(+)-NEOISOMENTHOL 80747 998080-74-7 70

Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methyl 80637 000491-02-1 70

ethyl)-, (1.alpha.,2.alpha.,5.alph

a.)-



12 14.797 1.97 C:\Database\W9N11.L

CIS-ISOPULEGONE 71712 998071-71-2 98

Isopulegone \$\$ Cyclohexanone, 5-me 71238 029606-79-9 96

thyl-2-(1-methylethenyl)-, trans-

(CAS)

1-.alpha.-3-.alpha.-Dihydroxyallob 741704 998741-70-4 91

etulane

13 15.019 0.24 C:\Database\W9N11.L

Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methyl 80638 000491-02-1 93

ethyl)-, (1.alpha.,2.alpha.,5.alph

a.)-

dl-Menthol \$\$ Menthol 80583 000089-78-1 91

CYCLOHEXANOL, 5-METHYL-2-(1-METHYL 80629 000491-01-0 91

ETHYL)-, (1.ALPHA.,2.ALPHA.,5.BETA

.)-

14 17.220 30.87 C:\Database\W9N11.L

Naphthalene, 1,1'-(1,2-ethanediyl) 472500 054934-69-9 81

bis[decahydro-

Cyclopentanol, 1-(1-methylene-2-pr 47499 078158-11-9 49

openyl)-

Camphor (CAS) \$\$ Bicyclo[2.2.1]hep 71482 000076-22-2 49

tan-2-one, 1,7,7-trimethyl- (CAS)

15 18.124 1.17 C:\Database\W9N11.L

Bicyclo[4.1.0]heptane, 3,7,7-trime 48220 000554-59-6 93



thyl- (CAS) \$\$ Carane (CAS)

Cyclohexene, 4-methyl-1-(1-methyle 48144 000619-52-3 93

thyl)-, (R)- (CAS) \$\$ 3-MENTHENE

Cyclohexene, 4-methyl-1-(1-methyle 48143 000619-52-3 90

thyl)-, (R)- \$\$ p-Menth-3-ene, (R)

-(+)-

16 18.747 0.89 C:\Database\W9N11.L

Cholestane, 3,5-dichloro-6-nitro-, 761065 015505-92-7 98

(3.beta.,5.alpha.,6.beta.)-

Camphane \$\$ Bicyclo[2.2.1]heptane, 48200 000464-15-3 91

1,7,7-trimethyl- (CAS) \$\$ Bornane

(CAS)

2-ISOPROPYL-5-METHYLCYCLOHEXYL 2-F 324463 998324-46-3 91

UROATE

17 20.541 0.63 C:\Database\W9N11.L

(+)-2-CARENE 45273 000554-61-0 93

Camphene (CAS) \$\$ Bicyclo[2.2.1]he 45018 000079-92-5 93

ptane, 2,2-dimethyl-3-methylene- (

CAS)

.alpha.-Terpinene \$\$ 1,3-Cyclohexa 44763 000099-86-5 93

diene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-

(CAS)

18 21.718 0.54 C:\Database\W9N11.L

.BETA. BOURBONENE 193879 005208-59-3 99



(-).beta.-Bourbonene 193797 005208-59-3 96

(-).beta.-Bourbonene 193798 005208-59-3 95

19 22.883 4.75 C:\Database\W9N11.L

Caryophyllene 193345 000087-44-5 99

Caryophyllene 193347 000087-44-5 99

TRANS(.BETA.)-CARYOPHYLLENE 193987 998193-98-7 99

20 23.869 0.65 C:\Database\W9N11.L

.alpha.-Humulene (CAS) 193267 006753-98-6 99

.beta.-Selinene (CAS) 193537 017066-67-0 99

.beta.-Selinene (CAS) 193533 017066-67-0 98

21 24.772 4.03 C:\Database\W9N11.L

GERMACRENE-D 193908 023986-74-5 99

GERMACRENE-D 193880 023986-74-5 99

1,6-Cyclodecadiene, 1-methyl-5-met 193820 023986-74-5 98

ylene-8-(1-methylethyl)-, [S-(E,E

)]-

22 25.256 4.46 C:\Database\W9N11.L

bicyclogermacrene 193949 067650-90-2 99

bicyclogermacrene 193949 067650-90-2 99

bicyclogermacrene 193949 067650-90-2 99

23 27.584 0.61 C:\Database\W9N11.L

3-phenyl-8,9-bis-(2,2,2-trichloroe 787549 109853-28-3 38

thoxycarbonyl)-2-oxa-8,9-diazabicy



clo-[3.3.1]n

MOLYBDENUM, TRICARBONYLTRIS(TRIMET 789253 022261-14-9 25

HYL PHOSPHITE-P)-

(+)-Chaenorrhine 787768 040135-65-7 11

24 51.658 0.08 C:\Database\W9N11.L

14-.BETA.-HYDROXY-7,8-DIMETHOXY-15 796835 063950-25-4 53

.BETA.-(3',4',5'-TRIMETHOXYBENZOXY

LOXY)-EPIALL

15.BETA.-HYDROXY-7,8-DIMETHOXY-14. 796838 063911-65-9 46

BETA.-(3',4',5'-TRIMETHOXYBENZOYLO

XY)-EPIALLOB

6H-Dibenzo[a,g]quinolizine-12-carb 796837 063911-65-9 46

oxylic acid, 5,8,8a,9,10,11,12,12a

,13,13a-deca