

# UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

*La Universidad Católica de Loja*

## ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

“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”

**AUTORA:** Karla Alexandra Encarnación Villalta

**DIRECTOR:** Ing. Benito Eduardo Valarezo Valdez

Trabajo de fin de carrera  
previa la obtención del  
título de Ingeniero Químico.

LOJA-ECUADOR

2009

## **CESIÓN DE DERECHOS**

Yo, Karla Alexandra Encarnación Villalta, declaro conocer y aceptar la disposición del Artículo 67 del Estatuto Orgánico de La Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: “Forman parte de Patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”.

Loja, enero del 2009

f)  .

**Karla A. Encarnación.**

## CERTIFICACIÓN

Ing.

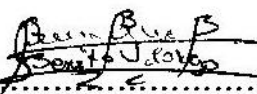
Eduardo Valarezo V.

**DIRECTOR DE TESIS DE GRADO**

CERTIFICO:

Haber dirigido la investigación y la elaboración de la tesis:  
“DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES FISICO-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 FID” la misma que ha  
sido revisada durante su ejecución, por lo tanto autorizo su presentación.

Loja, enero del 2009

f)  .....

Ing. Eduardo Valarezo V.

**DIRECTOR DE TESIS**

## **AUTORÍA**

La presentación, procedimientos y conceptos, así como, los resultados y conclusiones vertidos en el presente trabajo de tesis son de responsabilidad absoluta de la autora.

f)  f)...

**Karla A. Encarnación.**

## AGRADECIMIENTO

*A mi padre celestial, tú que lo sabes todo, sabes cuánto me ha costado sobrellevar todos mis sufrimientos y angustias, porque has sido tú mi fuerza para continuar.*

*A mi apreciada Universidad, en cuyas aulas tuve la oportunidad de formarme ética e intelectualmente. A mis maestros de escuela por brindarme su amistad y conocimientos, lo que ha contribuido para mi formación profesional.*

*Al Instituto de Química Aplicada por brindarme todos los medios para llevar a cabo esta investigación y a todo el personal, por ofrecerme su amistad y ayuda incondicional. Al Ing. Eduardo Valarezo en calidad de Director de Tesis, por compartir sus conocimientos, experiencia y guía, lo que contribuyó para la finalización del presente proyecto.*

*A mis hermanos Jonatan y Allan, a toda mi familia, en especial a mi Abuelito Aparicio y mi Tío Darwin por su apoyo incondicional en los momentos más difíciles.*

*A mis amigos y compañeros de carrera que han sabido brindarme su apoyo y con quienes he compartido muchos momentos agradables.*

*Karla Alexandra*

## DEDICATORIA

*“El verdadero papel de una madre es ser el arco, fuerte y tenso que permita al hijo, la flecha, surcar los cielos sin límites y llegar lo más lejos posible.”*

*Con amor para Mirian, madre por tu sacrificio diario, porque si no hubieras estado a mi lado dándome aliento cuando me sentía derrotada y sin ganas de luchar, no hubiese logrado, salir adelante en mi carrera y cumplir esta meta, te amo porque a pesar de todo estás junto a mí.*

*Karla Alexandra*

## CONTENIDO

	Pág.
CESIÓN DE DERECHOS.....	i
CERTIFICACIÓN.....	ii
AUTORÍA.....	iii
AGRADECIMIENTO.....	iv
DEDICATORÍA.....	v
CONTENIDO.....	vi
ARTÍCULO.....	vii

### **I PRESENTACIÓN DE FIN, PROPÓSITO Y COMPONENTES DEL PROYECTO**

1.1. FIN DEL PROYECTO .....	2
1.2. PROPÓSITO DEL PROYECTO .....	2
1.3. COMPONENTES DEL PROYECTO .....	2

### **II INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES**

2.1. INTRODUCCIÓN.....	5
2.2. ANTECEDENTES .....	10

### **III MATERIALES Y MÉTODOS**

3.1. RECOLECCIÓN Y EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL.....	14
3.1.1 Recolección de la Materia Vegetal.....	15
3.1.2 Selección de la Materia Vegetal.....	17

3.2. DESTILACIÓN DE LA MATERIA VEGETAL.....	17
3.2.1 Envasado y Almacenamiento.....	19
3.3. DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES FÍSICAS.....	20
3.3.1 Densidad.....	20
3.3.2 Índice de refracción.....	20
3.3.3 Actividad óptica.....	21
3.4. IDENTIFICACIÓN DE COMPONENTES QUÍMICOS.....	22
3.4.1 Cromatografía de Gases (GC).....	23
3.4.2 Cromatografía de Gases acoplada Espectrometría de masa (CG – MS)	23
3.4.2.1. Preparación de las muestras de aceite esencial para su	
análisis por cromatografía de gases.....	25
3.4.2.2. Corrida cromatográfica de las muestras en la columna HP-	
INNOWAX.....	26
3.4.2.3. Obtención de Cromatogramas.....	28
3.4.2.4. Determinación de los Índices de Kóvats.....	28
3.4.2.5. Análisis de los Espectros de masas.....	29
3.4.2.6. Corrida Cromatográfica en la columna DB-5.....	29
3.4.2.7. Identificación cualitativa de los componentes del aceite	
esencial con base en los índices de kóvats y los espectros	
de masas.....	31
3.4.3 Cromatografía de Gases acoplada al detector de ionización de llama	
(CG - FID).....	31
3.4.3.1. Corrida Cromatográfica en la columna HP-INNOWAX.....	33
3.4.3.2. Corrida Cromatográfica de Estándares en FID.....	35
3.4.3.3. Corrida Cromatográfica en la columna DB-5.....	35
3.4.4 Comparación de los cromatogramas obtenidos en CG-MS con los	
obtenidos en CG-FID.....	37



3.4.5 Determinación de los componentes químicos del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> .....	37
--	----

## **IV RESULTADOS Y ANÁLISIS**

4.1. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD.....	39
4.2. RENDIMIENTO DEL ACEITE ESENCIAL.....	39
4.3. PROPIEDADES FÍSICAS DEL ACEITE ESENCIAL.....	45
4.3.1 Densidad.....	45
4.3.2 Índice de refracción.....	46
4.3.3 Actividad óptica.....	46
4.4. COMPUESTOS QUÍMICOS DEL ACEITE ESENCIAL.....	48
4.4.1 Composición Química del Aceite de Poleo ( <i>Minthostachys mollis</i> ) en Chuquiribamba.....	48
4.4.2 Composición Química del Aceite de Poleo ( <i>Minthostachys mollis</i> ) en El Tambo .....	51
4.4.3 Composición Química del Aceite de Poleo ( <i>Minthostachys mollis</i> ) en El Villonaco .....	55
4.4.4 Proporción relativa de los componentes del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> .....	60
4.5. ESPECTROS DE LOS COMPUESTOS QUÍMICOS DEL ACEITE ESENCIAL DE POLEO ( <i>Minthostachys mollis</i> ).....	63
4.6. COMPARACIÓN DEL % DE PROPORCIÓN RELATIVA DE LOS COMPUESTOS MAYORITARIOS DEL ACEITE ESENCIAL.....	67

## **V CONCLUSIONES**

## **VI RECOMENDACIONES**

## LISTA DE TABLAS

	Pág.
<b>Tabla 1.</b> Rendimiento en base seca $\%$ (p/v) de aceite esencial obtenido en dos condiciones .....	18
<b>Tabla 2.</b> Características de las columnas capilares.....	44
<b>Tabla 3.</b> Humedad media de las muestras en cada estado.....	44
<b>Tabla 4.</b> Rendimiento en $\%$ (p/v) de aceite esencial de muestras de Chuquiribamba.....	46
<b>Tabla 5.</b> Rendimiento en $\%$ (p/v) de aceite esencial de muestras de El Tambo.....	40
<b>Tabla 6.</b> Rendimiento en $\%$ (p/v) de aceite esencial de muestras de El Villonaco...	41
<b>Tabla 7.</b> Rendimiento medio en $\%$ (p/v) de aceite esencial en los diferentes lugares y en tres estados fenológicos .....	41
<b>Tabla 8.</b> Resultados de experimentación en el proceso de extracción del aceite esencial.....	42
<b>Tabla 9.</b> Datos para el diseño factorial en el proceso de extracción del aceite esencial.....	43
<b>Tabla 10.</b> Análisis de varianza para el $\%$ de Aceite Esencial .....	44
<b>Tabla 11.</b> Tabla resumen de comparaciones múltiples entre tratamientos.....	45
<b>Tabla 12.</b> Densidad media del aceite esencial en los diferentes lugares y en tres estados fenológicos.....	45
<b>Tabla 13.</b> Índice de refracción medio del aceite esencial en los diferentes lugares y en tres estados fenológicos.....	46
<b>Tabla 14.</b> Actividad óptica media del aceite esencial en los diferentes lugares y en tres estados fenológicos .....	46
<b>Tabla 15.</b> Composición química del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> en Chuquiribamba.....	49
<b>Tabla 16.</b> Composición química del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> en El Tambo .....	52
<b>Tabla 17.</b> Composición química del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> en el Villonaco.....	56

<b>Tabla 18.</b> Resultados de experimentación en el proceso de extracción del aceite esencial.....	61
<b>Tabla 19.</b> Datos para el diseño factorial en el proceso de extracción del aceite esencial.....	62
<b>Tabla 20.</b> Análisis de varianza para el % de proporción relativa del aceite esencial	62
<b>Tabla 21.</b> Tabla resumen de comparaciones múltiples entre tratamientos.....	63
<b>Tabla 22.</b> Compuestos presentes en el Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> .....	67
<b>Tabla 23.</b> Pesos para la determinación de la humedad del <i>Minthostachys mollis</i> ...	87

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1.</b> Variables de estudio: % de aceite y el % de la proporción relativa de los compuestos del aceite esencial .....	3
<b>Figura 2.</b> Esquema de las Partes de la especie <i>Minthostachys mollis</i> : a) Hojas b) Tallo. c) Flores. d) Rama Fructificación.....	8
<b>Figura 3.</b> Estados fenológicos de la especie <i>Minthostachys mollis</i> : 1) Foliación. 2) Floración. 3) Fructificación.....	9
<b>Figura 4.</b> Esquema de la recolección y extracción del aceite esencial.....	14
<b>Figura 5.</b> Área de estudio de la especie <i>Minthostachys mollis</i> en la Provincia de Loja.....	16
<b>Figura 6.</b> Etapas para la identificación de la composición química del aceite esencial.....	25
<b>Figura 7.</b> Parámetros operacionales del CG-MS en la columna HP-INNOWAX ...	27
<b>Figura 8.</b> Cromatograma típico del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> .....	28
<b>Figura 9.</b> Parámetros operacionales del CG-MS en la columna DB-5.....	30
<b>Figura 10.</b> Esquema simplificado de un detector de Ionización de llama.....	32
<b>Figura 11.</b> Parámetros operacionales del CG-FID en la columna HP-INNOWAX	34
<b>Figura 12.</b> Parámetros operacionales del CG-FID en la columna DB-5.....	36
<b>Figura 13.</b> Gráfica del % de Aceite Esencial en función del tratamiento utilizado	43

<b>Figura 14.</b> Cromatogramas del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> en tres fenologías. a) Foliación, b) Floración y c) Fructificación.....	50
<b>Figura 15.</b> Cromatogramas del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> en tres fenologías. a) Foliación, b) Floración y c) Fructificación.....	54
<b>Figura 16.</b> Cromatogramas del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> en tres fenologías. a) Foliación, b) Floración y c) Fructificación. ....	57
<b>Figura 17.</b> Gráfica del % de proporción relativa del aceite esencial en función del tratamiento utilizado .....	61
<b>Figura 18.</b> Variabilidad cuantitativa entre las diferentes fenologías de Chuquiribamba .....	68
<b>Figura 19.</b> Variabilidad cuantitativa entre las diferentes fenologías de El Tambo.	68
<b>Figura 20.</b> Variabilidad cuantitativa entre las diferentes fenologías de El Villonaco .....	69

## LISTA DE FOTOGRAFÍAS

	Pág.
<b>Fotografía 1.</b> <i>Minthostachys mollis</i> (Kunth) Griseb.....	7
<b>Fotografía 2.</b> Destilador empleado en la extracción del aceite esencial.....	18
<b>Fotografía 3.</b> Proceso de Destilación .....	19
<b>Fotografía 4.</b> Picnómetro con aceite .....	20
<b>Fotografía 5.</b> Peso del picnómetro con aceite.....	20
<b>Fotografía 6.</b> Muestra en el refractómetro.....	21
<b>Fotografía 7.</b> Medida del índice de refracción .....	21
<b>Fotografía 8.</b> Polarímetro PERKIN-ELMER 241.....	22
<b>Fotografía 9.</b> Polarímetro Automatic SACCHARIMETER.....	22
<b>Fotografía 10.</b> Cromatógrafo de Gases.....	24
<b>Fotografía 11.</b> Preparación de muestras para el análisis en el Cromatógrafo de Gases CG-MS.....	26

## LISTA DE ANEXOS

	Pag.
<b>Anexo I.</b> Determinación del porcentaje de humedad.....	78
<b>Anexo II.</b> Cálculo del rendimiento en base húmeda y base seca.....	79
<b>Anexo III.</b> Determinación de la densidad relativa a 20°C.....	80
<b>Anexo IV.</b> Determinación del índice de refracción a 20 °C.....	82
<b>Anexo V.</b> Determinación de la actividad óptica.....	84
<b>Anexo VI.</b> Análisis de la varianza del porcentaje de aceite esencial.....	88
<b>Anexo VII.</b> Prueba de Duncan para la obtención de aceite esencial.....	91
<b>Anexo VIII.</b> Análisis de varianza para la proporción relativa de los componentes volátiles del aceite esencial .....	93
<b>Anexo IX.</b> Prueba de Duncan para la proporción relativa de los componentes volátiles del aceite esencial .....	96



**DETERMINATION OF PHYSICAL-CHEMICAL PROPERTIES OF THE POLEO  
ESSENTIAL OIL (*Minthostachys mollis* (KUNTH) GRISEB) IN DIFFERENT  
PHENOLOGICAL STAGES FROM THREE PLACES OF THE PROVINCE OF LOJA  
BY MEANS OF GC-MS AND GC-FID**

Karla Encarnación<sup>1</sup>, Eduardo Valarezo<sup>2</sup>, Omar Malagón<sup>2</sup>, Vladimir Morocho<sup>2</sup>

e-mail: [kaencarnacion@utpl.edu.ec](mailto:kaencarnacion@utpl.edu.ec)

<sup>1</sup> Chemical Engineering School-Universidad Técnica Particular de Loja,  
San Cayetano Alto s/n, Postal Code 11-01-608, Loja, Ecuador

<sup>2</sup> Institute of Applied Chemistry-Universidad Técnica Particular de Loja,  
San Cayetano Alto s/n, Postal Code 11-01-608, Loja, Ecuador  
e-mail: [omalagon@utpl.edu.ec](mailto:omalagon@utpl.edu.ec)

**ABSTRACT**

The (*Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb) species is an aromatic small shrub that is 0.30 to 2m high, which is perennial, it grows wildly on the borders of the crops of the highlands, it is locally known as Poleo which was taken considering its distinct phenological stages (foliation, flowering and fructification), it comes from three different places of the province of Loja (Chuquiribamba, El Tambo y el Villonaco), its physical properties were determined by means of distillation without intervals through dragging vapor and then it was analyzed using chromatography of gasses linked with spectrometry of mass (CG-MS) and with flame ionization detector (CG-FID). The greatest rate of return was obtained in El Tambo during fructification (0.38%) and the constituents in highest rate in the essential oil of Chuquiribamba were: cis-dihydrocarvone in phases of F (12.54%), FL (13.48%), FT(13.62%); in the oil of El Tambo in the stages of F(22.30%), FL(22,80), FT(33.58) and in the case of the essential oil of El Villonaco: pulegone in the phases of F (27.58%), menthone in the phases of FL (22.80), FT (33.58). The obtained values in the physical properties and identified chemical components vary according to the phenological state and place from where the essential oil comes.

**KEY WORDS:** *Minthostachys mollis*; Essentials oil, distillation by dragging vapor, Lamiaceae.

**INTRODUCTION**

The *Minthostachys* genus of the Lamiaceae family has 12 species distributed in the Andes from Venezuela until the north of Argentina. In Ecuador 2 Andean species are present: *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb and *M. tomentosa* (Benth.) Epling<sup>1</sup>. This study reports the species as promising in the south zone of Ecuador (Loja) due to its uses. The (*Minthostachys mollis*) species is an aromatic small shrub of 0.30 to 2m high, which is perennial<sup>2</sup>, locally known as Poleo, also called muña (Peru), peperina (Bolivia)<sup>3</sup>, it

grows wildly in cliffy areas and in the borders of the cropping fields of the highlands. It has stimulant, digestive, carminative and vulnerary properties due to its essential oil<sup>4</sup>. The essential oils of the species are used as fixative of fragrance in the perfume and pharmaceutical industry, such quality gives it greater commercial option in the international market<sup>5</sup>.

Many aromatic species modify its chemical composition on the basis of height of the place and it is important to evaluate the quality of the essential oils (essences) of these species in relation to this variable. The present study attains to determine the physical properties and the



identification of the components of its essential oil<sup>6</sup>. It is not known yet any background regarding a study done in Ecuador on its chemical composition and physical properties of the essential oil of this species in its three phenological stages.

## MATERIALS AND METHODS

The *Minthostachys mollis* was collected in three places of the province of Loja: Chuquiribamba, El Tambo y Villonaco in different phenological stages<sup>7</sup>: foliation (January-March), flowering (April-May) and fructification (June-July) of the year 2008 and it was classified in the Institute of Applied Chemistry of the UTPL by Vladimir Morocho BSc. Three recollections were done taking into account each phenological stage of the species which came from the different places so that obtaining a total of 27 samples to distillate. To extract the essential oil, the distillation on intervals by dragging vapor was used for 3 hours.

### Determination of Physical properties

To determine density it was used the ISO 279-1981 Norm as reference, the rate of refraction in an ABBE refractometer using the ISO 280 -1976 Norm and the optical activity in the PERKIN-ELMER 241 and SACCHARIMETER Automatic polarimeters by following the ISO 592 -1998 Norm as reference.

### Chromatographic Analysis

The essential oil was analyzed in a Chromatographer of Gases Agilent serial number 6890N which was linked with a mass spectrometer serial number 5973 inert and equipped with a FID, under the following conditions: transporting gas, Helium 0.9ml/min; partition ratio, 50:1; temperature of the injector 210°C; temperature of the detector 250°C; temperature of the oven 50°C-210 °C with a ramp of 2.5 ml/min.

## Identification and Quantification

For the identification of the chemical components the Kovats rates were determined based on the retention timings of the chromatographic peaks which were contrasted with the ones reported in the bibliographic data<sup>8,9</sup> and by means of the analysis of the mass spectra compared with what is proposed by WILEY 7n. The quantitative identification was done on the basis of the area of each chromatographic peak obtained in the (DB-5 and HP-INNOWAX) columns.

## RESULTS AND DISCUSSION

On table 1, the obtained half-average rates of return are described in the three repetitions done in the different places and phenological stages.

**Table 1.** Half-average rate of return of the essential oil.

Place	Phenological stages (%)			R (%)
	F	FL	FT	
CHUQUIRIBAMBA	0,09	0,07	0,16	R (%)
TAMBO	0,16	0,29	0,38	R (%)
VILLONACO	0,15	0,21	0,19	R (%)

F= Foliation, FL= Flowering, FT= Fructification  
R = rate of the essential oil (%)

The highest rate of return of the three places and phenological stages was obtained in El Tambo during fructification 0.38%. The rates of return when flowering in El Villonaco 0.21% and El Tambo 0.29% are around the obtained values during flowering 0.27% in Tarma and 0.21% in Huarez reported in the Science and Research Magazine<sup>10</sup>.

On table 2, the half-average values obtained from the physical properties are shown in the three phenological stages and in the different places of recollection.

**Table 2.** Physical properties of the essential oil

Places	Phenological stages			n <sup>20</sup>
	F	FL	FT	
CHUQUIRIBAMBA	0,907	0,894	0,912	d <sup>20</sup>
	1,476	1,474	1,472	n <sup>20</sup>



**UTPL**  
**UNIVERSIDAD TÉCNICA**  
**PARTICULAR DE LOJA**

**ESCUELA DE INGENIERIA QUÍMICA**

	8,629	-7,349	10,875	$[n]_D^{22}$
EL TAMBO	0,940	0,935	0,936	$d^{20}$
	1,4931	1,495	1,490	$n^{20}$
	9,384	6,305	-20,938	$[n]_D^{22}$
VILLONACO	0,916	0,917	0,904	$d^{20}$
	1,475	1,472	1,465	$n^{20}$
	1,654	-1,499	-13,375	$[n]_D^{22}$

F= Foliation, FL= Flowering, FT= Fructification  
 $d^{20}$  = density 20°C,  $n^{20}$ = rate of refraction (20°C),  
 $[n]_D^{22}$ = optical rotation 22°C

The values obtained in El Villonaco and Chuquiribamba are comparable with the ones reported in the Science and Research Magazine as the value of the rate of refraction 1.476 in Chuquiribamba that is almost like the value 1.477 that was reported in the magazine Flavors and Fragrances<sup>11</sup>.

The values of the physical properties obtained differ from one place to another and from phenological stage, similar to the values reported on the Research and Science Magazine where it is mentioned that the physical fixed variables that are shown permit to determine part of the varied chemical composition, which not only depends on the species but also on the place of recollection, the height above the sea level, the nature of the terrain, and the season of recollection.

The chemical composition of the essential oil according to the results of the chromatographic analysis linked with the two CG-MS and CG-FID detectors are shown on tables 3, 4 and 5.

**Table 3.** Chemical Composition of the Essential oil of *Minthostachys mollis* in Chuquiribamba.

PEAK Nº	a) COMPOUND	b) I <sub>K</sub>						% RELATIVE QUANTITY					
		DB5			INNOWAX			c) F		d) FL		e) FT	
		F	FL	FT	F	FL	FT	c)F	d)F	c)FL	d)FL	e)FT	d)FT
1	$\alpha$ -pinene	950	952	956	1037	1037	-	1,68	1,25	1,58	1,38	0,97	0,99
2	sabinene	971	981	984	1132	1134	1111	4,25	5,36	1,76	1,92	1,53	1,71
3	$\beta$ -pinene	985	985	987	1118	1118	1080	1,18	0,91	0,92	1,20	0,82	0,75
4	myrcene	991	995	997	1175	1175	1141	0,76	1,65	0,61	0,75	0,53	0,57
5	3-octanol	995	1003	1005	1396	1396	1349	1,06	1,27	0,74	0,82	0,58	0,64
6	limonene	1003	1029	1030	1202	1202	1162	7,46	8,07	<b>9,30</b>	8,07	3,56	3,50
7	cis-ocimene	1029	1036	1037	1230	1230	1199	2,17	1,21	3,32	4,26	1,46	1,67
8	1,8-cineole	1031	-	1032	-	-	-	1,00	0,88	-	-	1,70	1,59
9	trans- $\beta$ -ocimene	1035	1045	1046	1242	1242	1215	2,81	1,58	3,10	4,00	1,91	1,96
10	kewda ether	1075	1075	1076	-	-	-	0,27	0,29	0,24	-	0,19	0,20
11	linalool	1097	1097	1097	1540	1544	1517	2,16	1,13	0,82	0,75	1,03	0,63
12	2-octyl acetate	1115	1116	1115	-	-	-	0,46	0,47	1,16	1,20	1,13	0,91
13	citronellal	1148	1149	1147	-	-	-	0,63	0,44	1,43	0,29	2,06	2,73
14	menthone	1150	1151	1149	1464	1459	1425	1,29	0,84	3,05	2,74	1,09	1,31
15	iso menthone	1159	1160	1158	-	-	-	1,70	2,22	4,67	4,58	2,94	2,34
16	neo-menthol	1165	1166	1164	-	-	-	0,45	0,39	0,57	0,29	0,61	0,64
17	cis-dihydrocarvone	1195	1195	1193	1595	-	1565	<b>12,54</b>	<b>13,48</b>	<b>13,48</b>	15,97	<b>13,62</b>	21,38
18	trans-dihydrocarvone	1200	1198	1199	-	-	-	0,50	0,47	2,53	0,46	0,45	0,49
19	nerol	1222	1245	-	-	-	-	0,18	0,21	1,48	0,23	-	-
20	citronellol	1227	1227	1225	1770	1770	-	1,10	1,43	1,74	0,41	2,21	3,20
21	pulegone	1234	1232	1232	1625	1628	-	3,02	5,44	3,56	2,84	1,42	1,04
22	carvone	1242	1239	1239	1725	1726	1719	<b>9,59</b>	10,98	2,35	0,57	3,06	4,39
23	geraniol	1250	1250	1248	1854	1856	1823	1,59	1,72	-	-	1,01	0,61
24	geranial	1266	1266	1264	1733	1732	1728	1,46	1,52	1,63	1,19	1,95	2,69
25	neomenthyl acetate	-	1270	1267	-	-	-	-	-	1,08	1,41	0,83	0,49
26	no definido	-	1303	1302	-	1721	-	-	5,44	6,42	7,56	<b>12,97</b>	9,54
27	dihydrocarvyl acetate	1323	1323	1321	1662	-	1665	0,54	0,47	0,51	0,51	1,70	1,14
28	carvyl acetate	1331	1331	-	-	-	-	0,24	0,20	0,24	0,33	-	-
29	citronellyl acetate	1350	1350	1348	-	1668	-	0,55	0,54	0,96	1,10	1,86	2,04
30	$\alpha$ -copaene	1371	1372	1369	-	-	-	0,94	0,64	1,39	1,16	1,12	0,84
31	neryl acetat	1381	1359	-	-	-	-	<b>8,90</b>	8,82	0,33	0,22	-	-
32	geranyl acetate	1359	1381	1379	1762	1762	1768	0,27	0,19	7,82	12,34	<b>10,77</b>	13,13
33	$\beta$ -elemene	1387	1387	-	-	-	-	0,12	0,13	0,18	0,21	-	-
34	beta-caryophyllene	1416	1416	1414	1571	-	1544	8,77	7,42	<b>9,07</b>	11,39	8,66	7,83





**UTPL**  
**UNIVERSIDAD TÉCNICA**  
**PARTICULAR DE LOJA**

**ESCUELA DE INGENIERIA QUÍMICA**

35	$\alpha$ -humulene	1451	1451	1449	1647	–	1636	1,07	0,71	1,27	1,20	1,01	0,83
36	germacrene-D	1477	1478	1476	1691	1694	1695	3,19	2,82	5,20	3,38	2,92	2,68
37	germacrene-B	1492	1492	1490	–	–	–	1,46	1,58	2,38	1,44	0,97	0,86
38	$\delta$ -cadinene	1516	1516	1514	1742	1742	1743	1,26	1,47	1,82	1,32	1,27	1,00
39	spathulenol	1573	1573	–	–	–	–	0,12	0,10	0,16	0,16	–	–
40	caryophyllene oxide	1577	1577	1576	1970	–	2012	0,27	0,22	0,35	0,37	0,50	0,55
<b>TOTAL*</b>								<b>87,01</b>	<b>93,88</b>	<b>99,24</b>	<b>97,95</b>	<b>90,38</b>	<b>96,79</b>

<sup>a</sup> - Compounds ordered according to the DB-5 column.

<sup>b</sup> = Rates of kovats determined experimentally in different phonologies.

<sup>c</sup> = Average percentages calculated on the bases of the percentage of the area of the picks reported on the DB-5 in MS column.

<sup>d</sup> = Average Percentages calculated on the bases of the percentage of the area of the picks reported on the DB-5 in FID column.

\* = Total adding of the percentage, relative quantity found in the DB-5-MS and DB-5-FID columns.

**Table 4.** Chemical composition of the essential oil of *Minthostachys mollis* in El Tambo

PEAK Nº	a) COMPOUND	b) IK						% RELATIVE QUANTITY							
		DB5			INNOWAX			c) F		d) F		c) FT		d) FT	
		F	FL	FT	F	FL	FT	c)F	d)F	c)FL	d)FL	c)FT	d)FT		
1	$\alpha$ -thujene	947	947	951	1047	1083	1068	1,92	1,37	1,62	1,63	1,85	1,94		
2	$\alpha$ -pinene	952	952	956	–	–	–	0,59	0,47	0,33	0,49	0,32	0,36		
3	sabinene	981	982	984	1132	1136	1109	0,79	0,63	0,85	0,49	0,75	0,41		
4	$\beta$ -pinene	984	985	987	1118	–	–	0,48	0,41	0,19	1,67	0,24	0,28		
5	myrcene	995	995	997	1172	1177	1136	1,36	1,60	0,74	0,47	1,11	1,66		
6	3-octanol	1003	1003	1005	1383	1343	1354	0,41	0,45	0,12	0,13	0,30	0,38		
7	$\alpha$ -phellandrene	1008	1009	–	–	–	–	0,16	0,13	0,13	0,04	–	0,80		
8	$\alpha$ -terpinene	1017	1018	1019	1182	–	1141	1,01	0,75	0,96	0,88	0,86	6,41		
9	p-cymene	1025	1026	1027	1247	1259	1214	4,75	3,92	5,47	5,61	6,08	0,73		
10	limonene	1028	1029	1030	1201	1205	1159	2,72	3,29	1,20	0,48	0,91	1,49		
11	cis-ocimene	1035	1036	1037	–	–	–	1,31	1,08	0,44	0,51	0,86	1,68		
12	trans- $\beta$ -ocimene	1045	1045	1046	1239	–	–	2,81	2,85	1,32	1,90	1,46	2,63		
13	$\gamma$ -terpinene	1061	1056	1062	1229	1238	1190	2,26	2,33	3,77	3,80	2,06	–		
14	terpinolene	1080	1080	–	–	–	–	0,11	0,09	0,08	0,09	–	–		
15	linalool	1097	–	1097	1542	1488	1530	0,42	0,43	–	–	1,47	0,32		
16	2-octyl acetate	1115	–	1115	–	–	–	0,25	0,28	–	–	0,54	0,40		
17	menthone	1150	1150	1150	1944	1408	1427	2,71	3,19	0,80	1,57	2,02	1,58		
18	iso menthone	1159	1159	1158	–	–	–	1,75	1,80	0,41	0,73	6,00	6,93		
19	isopulegone	–	1170	1169	–	–	–	–	–	0,12	0,17	0,18	0,21		
20	terpinen-4-ol	1175	1175	1174	1589	1534	–	0,46	0,45	0,42	0,53	0,45	0,49		
21	pulegone	1235	1234	1232	1624	1573	1615	<b>9,49</b>	7,55	2,80	5,31	3,27	5,37		
22	carvone	–	1240	1238	–	1669	–	–	–	0,19	0,35	0,19	0,21		
23	cis-carvone oxide	1248	1249	1246	–	–	–	<b>8,24</b>	–	1,40	2,86	1,52	2,44		
24	citral	1266	1266	–	–	–	–	0,29	0,47	1,00	0,56	–	–		
25	thymol	1296	1295	1293	–	–	–	1,54	1,53	2,72	1,92	1,81	1,70		
26	carvacrol	1306	1306	1304	–	–	–	<b>17,79</b>	<b>14,87</b>	<b>27,27</b>	23,35	<b>21,36</b>	22,39		
27	piperitenone	1338	1338	1335	1900	1855	1919	2,22	1,71	2,21	2,90	0,43	0,53		
28	no definido	1361	1360	–	1729	1661	–	6,84	9,00	3,46	3,10	–	0,28		
29	thymol acetate	1356	1356	1354	–	–	–	7,58	13,24	<b>10,99</b>	15,16	<b>11,30</b>	16,28		
30	$\alpha$ -copaene	1372	1372	1370	–	–	–	0,28	0,20	0,39	0,23	0,27	0,35		
31	$\beta$ -bourbonene	–	1379	1378	–	–	–	–	–	0,07	0,09	0,15	0,11		
32	no definido	1410	1410	1409	1824	1795	1846	1,47	1,28	0,78	0,66	2,12	1,77		
33	$\beta$ -caryophyllene	1416	1415	1414	1575	1518	1572	6,76	7,37	<b>6,76</b>	7,54	<b>6,60</b>	6,48		
34	$\alpha$ -humulene	1451	1451	1450	1650	1597	1645	0,53	0,52	0,72	0,55	0,53	0,43		
35	germacrene-D	1477	1477	1476	1691	1639	1694	1,14	1,27	1,64	1,52	0,91	0,67		
36	germacrene-B	1492	1492	1490	–	–	–	3,13	3,10	3,21	2,47	2,61	2,66		
37	$\delta$ -cadinene	1516	1516	1514	1741	1691	1747	0,39	0,37	0,51	0,38	0,41	0,41		
38	spathulenol	1573	1573	1572	–	–	2156	0,14	0,18	0,19	0,16	0,31	0,35		
39	caryophyllene oxide	1577	1577	1576	1964	1923	1985	0,13	0,14	0,12	0,14	0,24	0,26		
<b>TOTAL*</b>								<b>94,20</b>	<b>88,22</b>	<b>85,42</b>	<b>90,37</b>	<b>81,48</b>	<b>91,31</b>		



**UTPL**  
**UNIVERSIDAD TÉCNICA**  
**PARTICULAR DE LOJA**

**ESCUELA DE INGENIERIA QUÍMICA**

<sup>a</sup> = Compounds ordered according to the DB-5 column.

<sup>b</sup> = Rates of kováts determined experimentally in different phonologies.

<sup>c</sup> = Average percentages calculated on the bases of the percentage of the area of the picks reported on the DB-5 en MS column.

<sup>d</sup> = Average Percentages calculated on the bases of the percentage of the area of the picks reported on the DB-5 in FID column.

\* = Total adding of the percentage, relative quantity found in the DB-5-MS and DB-5-FID columns.

**Table 5.** Chemical Composition of the essential oil of *Minthostachys mollis* in El Villonaco.

PEAK Nº	a) COMPOUND	b) IK						% RELATIVE QUANTITY					
		DB5			INNOWAX			c)F	d)F	c)FL	d)FL	c)FT	d)FT
		F	FL	FT	F	FL	FT						
1	α-thujene	947	947	951	-	-	-	0,15	0,13	0,22	0,20	0,14	0,15
2	α-pinene	952	952	956	1038	1079	-	0,48	0,46	0,41	0,37	0,40	0,44
3	sabinene	981	982	984	1134	1137	1116	0,61	0,69	0,55	0,41	0,54	0,50
4	β-pinene	984	985	987	1119	1117	-	0,47	0,47	0,40	0,32	0,43	0,56
5	myrcene	994	995	997	1175	1180	1140	0,40	0,41	0,21	0,36	0,20	0,22
6	3-octanol	1003	1003	1005	1391	1350	1337	1,01	0,89	0,38	0,26	0,45	0,66
7	α-terpinene	1017	1018	-	-	1189	-	0,18	0,15	0,34	0,21	-	-
8	p-cymene	1024	1025	1026	1248	1258	1214	-	-	1,67	1,53	0,74	0,68
9	limonene	1028	1029	1030	1202	1205	1160	2,55	2,81	1,20	1,09	0,94	1,36
10	1,8-cineole	1031	1031	1032	-	-	-	0,72	0,36	0,33	0,38	0,42	0,50
11	cis-ocimene	1035	-	1034	1227	-	1191	1,37	0,64	-	-	1,32	0,38
12	trans-β-ocimene	1048	1036	1046	1240	1262	1205	1,32	1,59	1,41	1,47	1,26	0,86
13	γ-terpinene	1055	1056	1056	-	1238	1192	0,98	1,22	2,89	2,36	0,99	0,97
14	linalool	1097	1097	-	1540	1486	1527	0,56	0,59	0,24	0,47	-	-
15	2-octyl acetate	1116	-	1115	-	-	-	0,55	0,44	-	-	1,57	1,57
16	menthone	1153	1154	1153	1454	1397	1425	<b>22,30</b>	23,18	<b>22,80</b>	27,39	<b>33,58</b>	37,43
17	iso menthone	1160	-	1159	-	-	-	4,23	4,48	-	-	2,54	2,40
18	neo-menthol	1166	1167	1165	1583	1527	1568	1,48	1,19	1,41	1,37	1,99	1,59
19	isopulegone	-	1170	1169	-	-	-	-	-	0,69	0,62	1,91	0,43
20	cis-dihydrocarvone	1193	1194	1193	-	-	1578	1,91	2,05	2,95	3,83	5,68	6,74
21	citronellol	1229	-	1225	-	-	1790	1,42	1,3	-	-	0,58	0,47
22	pulegone	1237	1237	1233	1621	1569	1621	<b>27,58</b>	30,98	<b>20,94</b>	23,33	<b>9,48</b>	9,40
23	carvone	1241	1242	1238	1721	1675	1736	2,46	2,95	4,54	5,49	1,71	2,15
24	piperitone	-	1250	1248	-	-	1728	-	-	0,22	0,18	1,99	0,40
25	geranial	1266	-	1264	1733	-	-	1,03	1,42	-	-	0,35	0,37
26	thymol	1295	1295	1292	-	-	-	0,67	0,58	1,93	1,45	0,58	0,44
27	carvacrol	1303	1303	1300	-	-	-	1,78	1,21	2,72	3,40	1,89	1,28
28	no definido	1327	-	1321	1715	-	1730	0,30	0,22	-	-	0,36	0,30
29	piperitenone	-	1336	1333	-	-	-	-	-	0,31	-	0,53	0,43
30	citronellyl acetate	1350	-	1348	1669	1629	1695	0,49	0,42	-	-	0,57	0,29
31	no definido	1332	1362	-	1744	1672	-	0,13	0,12	1,27	-	-	-
32	thymol acetate	1364	1345	1362	-	-	-	0,91	0,53	0,40	0,17	0,66	0,12
33	α-copaene	1371	1372	1369	-	-	-	0,35	0,28	0,50	0,27	0,44	0,29
34	β-bourbonene	-	1379	1377	-	1443	-	-	-	0,36	0,20	0,36	0,34
35	β-caryophyllene	1416	1416	1414	-	1516	1559	<b>9,61</b>	6,91	<b>9,68</b>	7,46	<b>8,25</b>	9,16
36	α-humulene	1451	1451	1449	1654	-	1663	0,53	0,31	0,54	0,35	0,61	0,49
37	germacrene-D	1477	1477	1476	1694	1650	-	1,15	0,74	1,69	1,81	1,21	0,90
38	δ-cadinene	1492	1516	1514	1745	-	1765	0,47	0,34	0,66	0,32	0,54	0,38
39	spathulenol	-	1573	1572	-	-	2159	-	-	0,20	0,14	0,19	0,15
40	caryophyllene oxide	1577	1576	1576	1970	1925	2010	0,17	0,22	0,20	0,15	0,37	0,23
<b>TOTAL*</b>								<b>90,31</b>	<b>90,19</b>	<b>84,25</b>	<b>87,32</b>	<b>85,78</b>	<b>84,96</b>

<sup>a</sup> = Compounds ordered according to the DB-5 column.

<sup>b</sup> = Rates of kováts determined experimentally in different phonologies.

<sup>c</sup> = Average percentages calculated on the bases of the percentage of the area of the picks reported on the DB-5 en MS column.

<sup>d</sup> = Average Percentages calculated on the bases of the percentage of the area of the picks reported on the DB-5 in FID column.

\* = Total adding of the percentage, relative quantity found in the DB-5-MS and DB-5-FID column



In the essential oil of Poleo (*Minthostachys mollis*) from Chuquiribamba in the foliation stage 38 compounds in total were determined, 23 of those compounds were identified in the two columns that represent 87.01%. In the flowering stage 39 compounds were determined in total, 20 were identified in the two columns which represent 99.24%. In the fructification stage 35 compounds in total were identified, 20 were identified in the two columns which represent 90.38% of the total of the essential oil.

The compounds with high abundance in the essential oil of Chuquiribamba during the foliation stage were: cis-dihydrocarvone(12.54%), carvone(9.59%), neryl-acetate(8.9%). During the flowering cis-dihydrocarvone(13.48%), limonene (9.3%),  $\beta$ -caryophyllene(9.07%) and during the fructification were: cis-dihydrocarvone(13.62%), geranyl acetate(10.77%).

In the essential oil that comes from El Tambo in the foliation stage 36 compounds were determined in total, 22 were identified the two columns that represent 94.20%. During the flowering 37 compounds were determined in total, 19 were identified in the two columns that represent 85.42% and during the fructification 35 compounds were determined in total, 19 were identified in the two columns which represent 81.48% of the total of the essential oil.

The compounds with high abundance in the essential oil of El Tambo during the foliation stage were: carvacrol(17.79%), pulegone(9.49%), cis-carvone oxide(8.24%). During the flowering: carvacrol(27.27%), thymol acetate(10.99%),  $\beta$ -caryophyllene(6.76%) and during the fructification were: carvacrol(21.36%), thymol acetate(11.3%),  $\beta$ -caryophyllene(6.6%).

In the essential oil of Poleo (*Minthostachys mollis*) that comes from El Villonaco during the foliation stage 35 compounds were determined in total, 22 were identified in the two columns which represent 90.31%. During the flowering 33 compounds were determined, 20 were identified in the two columns which represent 84.25% of the total of the essential oil and during the

fructification 37 compounds were identified in total, 22 were identified in the two columns which represent 85.78% of the total of the essential oil.

The compounds with high abundance in the essential oil of El Villonaco during the foliation stage were: pulegone(27.58%), menthone (22.3%),  $\beta$ -caryophyllene(9.61%). During the flowering were: menthone(22.8%), pulegone (20.94%),  $\beta$ -caryophyllene(9.68%) and during the fructification were: menthone(33.58%), pulegone(9.48%),  $\beta$ -caryophyllene(8.25%). From the above compounds pulegone is the compound that was determined as the one with higher frequency in the majority of studies where the chemical composition of the essential oil of *Minthostachys mollis* was described, however, the relative proportion differs according to the place where the essential oil comes from, it is similar as one study done on the variability of the species in Argentina where it was found a strong interaction regarding genotype-environment which affects quantitative characteristics in general and also affects to the compounds of the essential oil in particular<sup>12</sup>.

## CONCLUSIONS

It was determined that the zone and phenology of the *Minthostachys mollis* species influence in the percentage of the obtained essential oil. In the same way, they influence in the percentage of the relative proportion of its compounds which explains the variation that exists between the determined values regarding its properties and chemical composition.

The phenological stage in which the greatest rate of return is obtained is during the fructification in Chuquiribamba and El Tambo, while in El Villonaco during the flowering stage.

The density is higher in El Tambo during the foliation and flowering and lower in the Chuquiribamba's samples, while in the fructification stage density is higher in El Tambo but lower in El Villonaco.

The highest value of the rate of refraction in the three phenological stages was in the ones



**UTPL**  
**UNIVERSIDAD TÉCNICA**  
**PARTICULAR DE LOJA**

---

**ESCUELA DE INGENIERIA QUÍMICA**

---

determined in El Tambo and the lowest rate of refraction was in Chuquiribamba.

The optical activity of the essential oil in the three places is dextrogyrous (+) during the foliation, during the flowering it is levorotatory (-) in Chuquiribamba and El Tambo except in El Villonaco where it is dextrogyrous (+) and during the fructification the optical activity has a levorotatory (-) characteristic in El Tambo and El Villonaco except in Chuquiribamba where it is dextrogyrous (+).

### RECOMENDATIONS

To make manageable and sustainable exploitation of this species, natural resource, in order to preserve it and avoid its extinction.

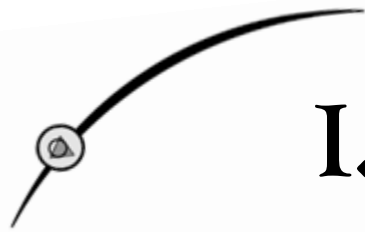
If the scientific or industrial interest is to study or develop new research on this species, I point out that in this study, in the place called (El Tambo), it is obtained the best rate of return of the essential oil but the two other places are also recommended.

### ACKNOWLEDGEMENTS

To the Institute of Applied Chemistry of the Universidad Tecnica Particular de Loja for giving me the academic support.

### REFERENCES

1. ALKIRE, H., TUCKER, A. AND MACIARELLO, J; Tipo. *Minthostachys mollis* (Lamiaceae), and Ecuadorian mint. Economic bot, 1994, 48: 60-64.
2. BUSTOS J; and BONINO E (2005); Wild harvest of peperina (*Minthostachys mollis*) in Cordoba, Argentina: socioeconomic implications. ibero-american magazine of ecological economy 2: 45-55.
3. Herbadotecnia internet site: <http://www.herbadotecnia.com.ar/aut-peperina.html>
4. DOMÍNGUEZ, A.; Medical Issues. Argentina, 1928.
5. MAMATAS KS. Preliminary report of the end of mission. Medicinal. Plants and vegetal supplies for the chemical industry. Lima: Fopex Project; 1983.
6. BANDONI, Arnaldo y cols., Vegetal Aromatic Resources in Latin america. 1<sup>st</sup> edit. 2000, Argentina: Editorial U.N.L.P. 27-29, 53.
7. FOURNIER, L. AND CHARPANTIER C., The size of the sample and the frequency of the observations on the study of the phenological characteristics of the tropical trees, in Tropical Biological Magazines. 1975. p. 25.
8. Kóvats RI data bases available on the internet: <http://www.webbook.nist.gov/chemistry>.
9. Kóvats RI data bases available on the internet: <http://www.flavornet.org/flavornet.html>.
10. FUERTES, C., and MUNGUÍA Y.; Comparative study of the essential oil (*Minthostachys mollis*) from Three Peruvian Regions. Science and Research Magazine, 2001, vol. iv 23-39.
11. MALAGON, O., et al., Composition of essential oils of four medicinal plants from ecuador. Flavors and Fragrance, 2003. 18: p. 527-531.
12. OJEDA M., COIRINI, R., COSIANI, J., ZAPATA, R. AND ZYGADLO, J. (2004). Evaluation of variability in natural populations of peperina (*Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb.), an aromatic species from Argentina. PGR Newsletter 126: 27-30.



I. *Presentación del  
Fin, Propósito y Componentes  
del Proyecto*



## I PRESENTACIÓN DE FIN, PROPÓSITO Y COMPONENTES DEL PROYECTO

### 1.1 Fin del Proyecto

Contribuir al estudio de las especies aromáticas promisorias de la zona sur del Ecuador.

### 1.2 Propósito del Proyecto

Aportar al conocimiento del aceite esencial de Poleo (*Minthostachys mollis*), mediante la caracterización físico- química en diferentes estados fenológicos.

### 1.3 Componentes del Proyecto

1. Determinar el porcentaje de humedad de la especie Poleo (*Minthostachys mollis*).
2. Determinar y comparar el rendimiento de aceite esencial en los diferentes lugares y estados fenológicos.
3. Determinar las propiedades físicas: Densidad, Índice de Refracción y Actividad Óptica del aceite esencial de Poleo (*Minthostachys mollis*) en tres estados fenológicos (foliación, floración y fructificación).
4. Identificar los componentes químicos del aceite esencial de Poleo (*Minthostachys mollis*), utilizando Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS) y al Detector de Ionización de Llama (GC-FID).
5. Determinar si el aceite esencial de los tres lugares difiere en su composición Físico- química.



## 1.4 Hipótesis del Proyecto

### 1.4.1 Porcentaje de Aceite Esencial

**H<sub>1</sub>:** Las zonas de recolección y la fenología del *Minthostachys mollis* influyen en el porcentaje de aceite esencial obtenido.

**H<sub>2</sub>:** Negación de H<sub>1</sub>.

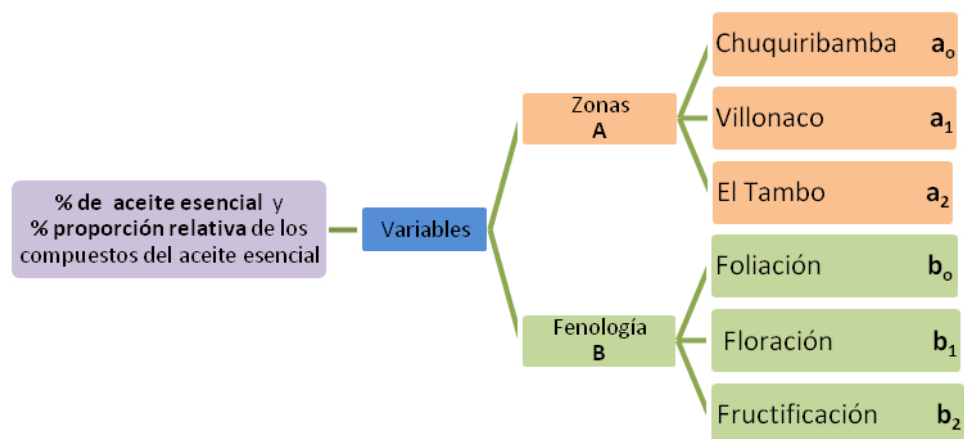
### 1.4.2 Proporción Relativa

**H<sub>3</sub>:** Las zonas de recolección y la fenología influyen en la proporción relativa de los compuestos químicos del aceite esencial de *Minthostachys mollis*

**H<sub>4</sub>:** Negación de H<sub>3</sub>.

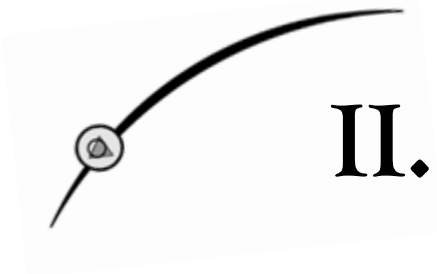
## 1.5 Diseño Experimental

El estudio del porcentaje de aceite esencial y la proporción relativa de los compuestos químicos mayoritarios del aceite esencial de *Minthostachys mollis* se realizará mediante un diseño factorial axb (2 variables con 3 niveles cada variable), con tres repeticiones cada tratamiento. Las variables y niveles a utilizar son las que se indican a continuación:



**Figura 1. Variables de estudio:** % de aceite y el % de la proporción relativa de los compuestos aceite esencial

**Elaboración:** La Autora



II.

*Introducción y  
Antecedentes*





## II INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

### 2.1 INTRODUCCIÓN

Existe un interés mundial por el uso de productos naturales y la oportunidad de encontrar una planta con un alto contenido de algún compuesto industrialmente útil. Ya sea para aislarlo y usarlo puro, o para sintetizar a partir de dicho producto otros compuestos empleados en la industria de perfumes, sabores, o en medicina, etc. Aproximadamente el 65% del mercado de esencias proviene de especies cultivadas, el 1% de especies silvestres (2% en valores monetarios) y el 33% de árboles, mayormente explotaciones forestales, lo que demuestra la imperiosa necesidad de la industria de disponer de productos en cantidad y calidad homogénea, algo muy difícil de lograr a través de una explotación de material silvestre. Sin embargo, en algunos casos los costos de producción, la fácil disponibilidad de materias primas o simplemente la ausencia de un desarrollo industrial o tecnológico adecuado hacen que la explotación de materiales silvestres sea una alternativa posible<sup>1</sup>.

“Los aceites esenciales son componentes volátiles que son parte del metabolismo de un vegetal, que contienen mezclas complejas de componentes que están asociados o no a otros componentes y que en conjunto generan el olor de dicho vegetal”<sup>1</sup>. Los aceites esenciales (esencias) abarcan una gama muy variada de constituyentes, compuestos mayoritarios, cuando están en una proporción mayor al 1 o 0.5%, y los minoritarios, que en algunos casos pueden contarse por centenares. Los aceites esenciales se usan en su gran mayoría por su olor o su sabor y los componentes responsables de estas propiedades organolépticas no siempre son los que están presentes en gran proporción y para ello es importante identificar cuál o cuáles de los constituyentes presentes son los responsables de la calidad organoléptica de un aceite esencial (esencia).

---

<sup>1</sup> BANDONI, A.; *Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica*. 1º ed. 2000, Argentina: Editorial U.N.L.P. 27-29.



Muchas especies aromáticas modifican su composición química en función de la altura del lugar y es importante evaluar la calidad de los aceites esenciales (esencias) de estas especies en función de esta variable<sup>1</sup>. Se considera que las especies aromáticas silvestres, son una fuente de materias primas útiles para la industria de sabores y fragancias<sup>1</sup>. De estas especies entre otras como el Poleo (*Minthostachys mollis*), es una especie silvestre con un alto valor intrínseco por sus propiedades medicinales y cualidades aromáticas en la industria de perfumería y farmacéutica.

La especie *Minthostachys mollis* (H.B.K.) Griseb, pertenece al **Reino:** Plantae, **División:** Magnoliophyta, **Clase:** Magnoliopsida, **Subclase:** Asteridae, **Orden:** Lamiales (Labiadas), **Familia:** Lamiaceae, **Género:** *Minthostachys*, **Especie:** *Mollis*, **Parte usada:** toda la parte aérea, **Estado:** Nativa, **Nombres comunes:** Peperina, peperita, piperina, martin muña (Bolivia), burrito (Paraguay), muña, poleo (Perú, Ecuador) **Sinónimos:** *Minthostachys verticillata* (gris.) Epling. = *Bystropogon mollis* Kunth = *Xenopoma verticillatum* Gris<sup>2</sup>.

Es una planta silvestre, que se desarrolla en forma natural en lugares escarpados y en los bordes de los campos de cultivo de las zonas alto andinas. Crece de 2,500 a 3,500 m. Se encuentra silvestre en suelos ligeros, arenoso-arcillosos y levemente alcalinos.

Especie originaria de las zonas templadas y soleadas de Sudamérica (Colombia, Venezuela, Brasil, Ecuador, Perú, Bolivia y Argentina)<sup>3</sup>. En su hábitat natural de crecimiento la especie se distribuye en parches ("demos") asociados a sitios favorables. Estos parches son agrupamientos de individuos nacidos de semillas, de tamaño variado.

---

<sup>2</sup> Herbadotecnia Internet sitio: <http://www.herbotecnia.com.ar/aut-peperina.html>

<sup>1</sup> BANDONI, A.; *Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica*. 1º ed. 2000, Argentina: Editorial U.N.L.P. 27-29.

<sup>3</sup> ALONSO, J; *Tratado de Fitofármacos y Nutraceuticos*, 1ª Edición 2004, Rosario – Argentina: CORPUS, 863 – 864



Fotografía Nº 1. *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb  
Fuente: Herbario "PPN-UTPL"

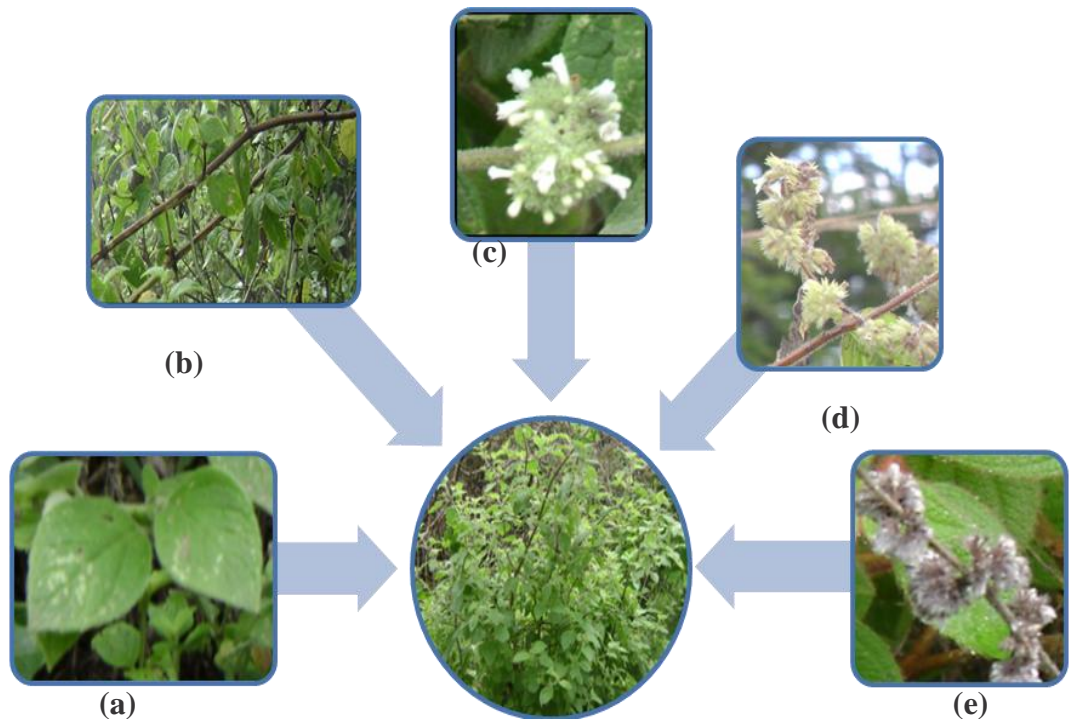
### Descripción Botánica

**Forma:** Es un semi-arbusto aromático de 0,30 a 2 m. de altura, perenne.

**Hojas:** aovadas, de base por lo general redondeada, de 2-3 cm de largo por 1-2 cm de ancho, bordes aserrados, con pecíolos de 5-10 mm<sup>4</sup>. (Ver figura 2).

---

<sup>4</sup> BUSTOS J; y BONINO E (2005); *Cosecha silvestre de peperina (Minthostachys mollis) en Córdoba, Argentina: implicancias socioeconómicas*. Revista Iberoamericana de Economía Ecológica 2: 45-55.



**Figura 2. Partes de la especie *Minthostachys mollis*:** a) Hojas b) Tallo. c) Flores. d) Rama e) Fructificada.

**Elaboración:** La Autora

**Tallo:** Cuadrangulares pubescentes muy ramificados.

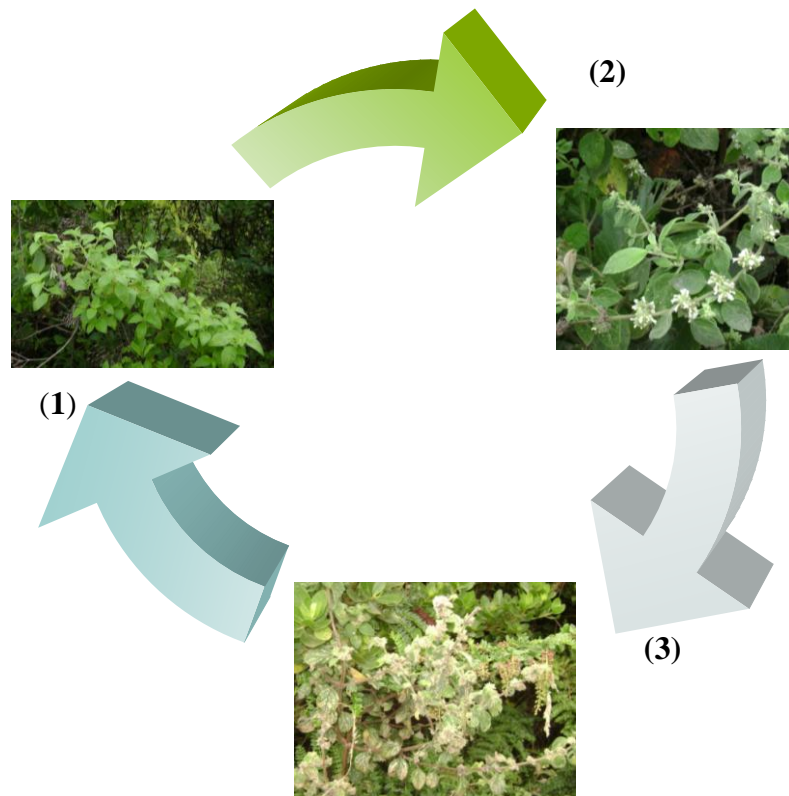
**Flores:** flores pequeñas blanquecinas ubicadas densamente en las axilas de las hojas.

**Fruto:** El fruto está compuesto por 4 núculas lisas<sup>3</sup>. Presentes en el interior de la flor, es por esto que se habla entonces de ramas fructificadas. (Ver figura 2).

### **Fenología**

La especie *Minthostachys mollis* presenta los siguientes estados fenológicos (Ver figura 3).

<sup>3</sup> ALONSO, J; *Tratado de Fitofármacos y Nutraceuticos*, 1ª Edición 2004, Rosario – Argentina: CORPUS, 863 – 864



**Figura 3. Estados Fenológicos de la especie *Minthostachys mollis*:** 1) Foliación. 2) Floración.  
3) Fructificación

**Elaboración:** La Autora

Para establecer la evaluación de las características de cada estado fenológico se tomaron los siguientes criterios<sup>5</sup>.

**Foliación:** estado en el que se desarrollan brotes en las yemas terminales de la planta para iniciar la nueva hoja. Se inicia desde diciembre a marzo.

**Floración:** desarrollo de las flores desde el instante de abrirse el capullo hasta la marchités de la flor. Muestran una flor en verano, ocurre entre los meses de abril a mayo.

**Fructificación:** se inicia con la caída de los pétalos hasta que el fruto madure o abra. En esta especie el fruto como tal está dentro de la flor que es muy pequeña, es por esto que se habla de ramas fructificadas que aparecen al final del ciclo vegetativo, ocurre entre los meses junio a septiembre.

<sup>5</sup> FOURNIER, L. y CHARPANTIER, G.; *El tamaño de la muestra y la frecuencia de las observaciones en el estudio de las características fenológicas de los árboles tropicales*. Revistas de Biología Tropical 1 (25) (Costa Rica). 1975.



A final de este estado las hojas se tornan amarillas comenzando a caer por eso se trata de un arbusto caducifolio.

El poleo (*Minthostachys mollis*) es una planta aromática silvestre que tiene propiedades estimulantes, digestivas, carminativas y vulnerarias que se deben a su aceite esencial<sup>6</sup>.

Los aceites esenciales de la muña se usan como fijador de fragancias en la industria de perfumería y farmacéutica, cualidad que le da la mejor opción en el mercado internacional<sup>7</sup>.

Es por esto que el presente estudio que se va a realizar comprende la extracción, caracterización física (densidad, actividad óptica e índice de refracción) y determinación de los componentes del aceite esencial de Poleo (*Minthostachys mollis*), en tres estados fenológicos y provenientes de tres lugares de la Provincia de Loja (Chuquiribamba, El Villonaco y El Tambo) utilizando Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas CG -MS y al Detector de Ionización de Llama GC-FID. De esta manera y de acuerdo a los resultados obtenidos aportar al conocimiento de las especies promisorias de la zona sur del Ecuador.

## 2.2 ANTECEDENTES

El género *Minthostachys* consta de 12 especies distribuidas en los Andes desde Venezuela hasta el norte de Argentina. En el Ecuador se encuentran 2 especies andinas: *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb y *M. tomentosa* (Benth.) Epling.<sup>8</sup>

En la sierra o región andina del Ecuador se menciona el tipo o Poleo (*Minthostachys mollis*) entre las especies nativas más utilizadas y comercializadas<sup>9</sup>. Es una especie medicinal, el tipo (*Minthostachys mollis*), planta nativa que crece en el callejón interandino, utilizada para combatir afecciones del aparato

<sup>6</sup> DOMÍNGUEZ, A.; *Materia Médica Argentina*, 1928.

<sup>7</sup> Mamatas KS. Informe Preliminar de fin de misión. *Plantas medicinales e insumos vegetales para la industria química*. Lima: Proyecto Fopex; 1983.

<sup>8</sup> ALKIRE, H., TUCKER, A. y MACIARELLO, J; *Tipo. Minthostachys mollis (Lamiaceae), and Ecuadorian mint. Economic Bot*, 1994, 48: 60–64.

<sup>9</sup> BUITRÓN, C.; *Ecuador: uso y comercio de plantas medicinales, situación actual y aspectos importantes para su conservación*. TRAFFIC International. Cambridge, 1999.



respiratorio, estimulante estomacal y para aliviar el dolor de cabeza<sup>10</sup>. En el Ecuador se reporta la presencia de esta especie en Loja, Azuay, Bolívar, Chimborazo, Cotopaxi, Imbabura, Pichincha de acuerdo a la base de datos del Missouri Botanical Garden<sup>11</sup>. Los lugares, elevación, coordenadas, año de recolección y los recolectores del *Minthostachys mollis* registrados en el Ecuador son:

**Azuay**, 2710 msnm, 02°46'56"S 078°41'20"W, Julio (2006), C. Aedo & C. Ulloa.

**Bolívar**, 3800 - 4000 msnm, 01°37'S 079°04'W, Junio (1991), Carlos E. Cerón.

**Chimborazo**, 2800 - 3200 msnm, 01°58'S 078°56'W, July 1995, John L. Clark, T. Harris, J. Smith & C. Watt

**Cotopaxi**, 2700 - 2800 msnm, 00°56'S 078°59'W, May (1979), B. Løjtnant & U. Molau

**Imbabura**, 3200 - 3300 msnm, 00°18'N 078°22'W, Apr 1992, Marcia Peñafiel, Marco Tamayo & Germán Toaza.

**Pichincha**, 3000 msnm, 00°01'N 078°29'W, Apr 1979, L.B. Holm-Nielsen et al.

**Loja**, 2600 msnm, 03°38'S 079°14'W, Sep (1988), L. Ellemann.

**Loja**, 2070-2215 msnm, May 1996, G.P. Lewis.

Algunos de los estudios que se han realizado sobre la composición química del aceite de Poleo (*Minthostachys mollis*), hasta el momento se indican a continuación:

El estudio realizado por profesionales de la UTPL y de la Universidad de Barcelona obtuvieron el aceite de *Minthostachys mollis* mediante hidrodestilación durante 2 horas, el cual se analizó por CG Y CG-MS, obteniendo como resultado un 60% de monoterpenos oxigenados, del 94% del aceite total se identificó,

---

<sup>10</sup> CERÓN, C.; *Plantas Medicinales de los mercados de Loja*. Escuela de Biología. Universidad Central. Quito. (Anexo 1, Ref. 20).

<sup>11</sup> Missouri Botanical Garden in: <http://mobot.mobot.org/W3T/Search/vast.html>.



menthone (16%), acetato del carvacryl (10%), pulegone (10%) y cimenol (9%) siendo estos los componentes mayoritarios<sup>12</sup>.

En otro estudio realizado y que se indican en el texto “Tratado de Fitofármacos y Nutraceuticos”, sobre la composición del aceite esencial de Poleo se ha determinado, que está compuesto principalmente por mentona (82%), pulegona (15,5%), d-isomentona, 1,8- cineol, carvona,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -pineno, 1-limoneno, piperitona, ácido piperínico. La composición del aceite esencial (esencia varía según las zonas geográficas. Por ejemplo en la provincia argentina de Córdoba el porcentaje de pulegona es del 35-64,3% (> verano) y el de mentona 21,6-52% (> otoño)<sup>4</sup>.

En un estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb, de tres regiones peruanas realizado por César Fuerte y Yolanda Munguía de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, los compuestos químicos identificados y reportados por métodos cromatográficos y espectroscópicos son los siguientes: El aceite esencial de Tarma (Junín, región A. A. Cáceres): 1-tetradeceno (23,14 %), 2s-trans-mentona (23,00%) y pulegona (13,21%); en el aceite esencial de Huaraz(Ancash. región Chavín): 2s-trans-mentona (4 1,48%), pulegona (16,02%),  $\gamma$ - terpineno (7,55%) y en el caso del aceite esencial de Pampas(Huancavelica, región Los Libertadores Wari): 2s-trans-mentona (34,51%), pulegona (28,62%), nerolidol (5,08%)<sup>13</sup>.

No se conoce hasta el momento ningún estudio realizado en el Ecuador sobre la composición química y las propiedades físicas del aceite esencial de *Minthostachys mollis* en sus tres estados fenológicos.

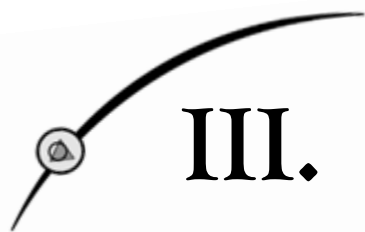
---

<sup>12</sup> MALAGÓN, O., et al., *Composition of Essential oils of four Medicinal Plants from Ecuador. flavors and fragrance*, 2003. 18:527-531.

<sup>4</sup> ALONSO, J; *Tratado de Fitofármacos y Nutraceuticos*, 1ª Edición 2004, Rosario – Argentina: CORPUS, 863 – 864

<sup>13</sup> FUERTES, C., y MUNGUÍA Y.; *Estudio Comparativo del Aceite esencial (Minthostachys mollis) de Tres Regiones Peruanas*. Revista Ciencia e Investigación, 2001, Vol. IV 23-39.





### III. *Materiales y Métodos*



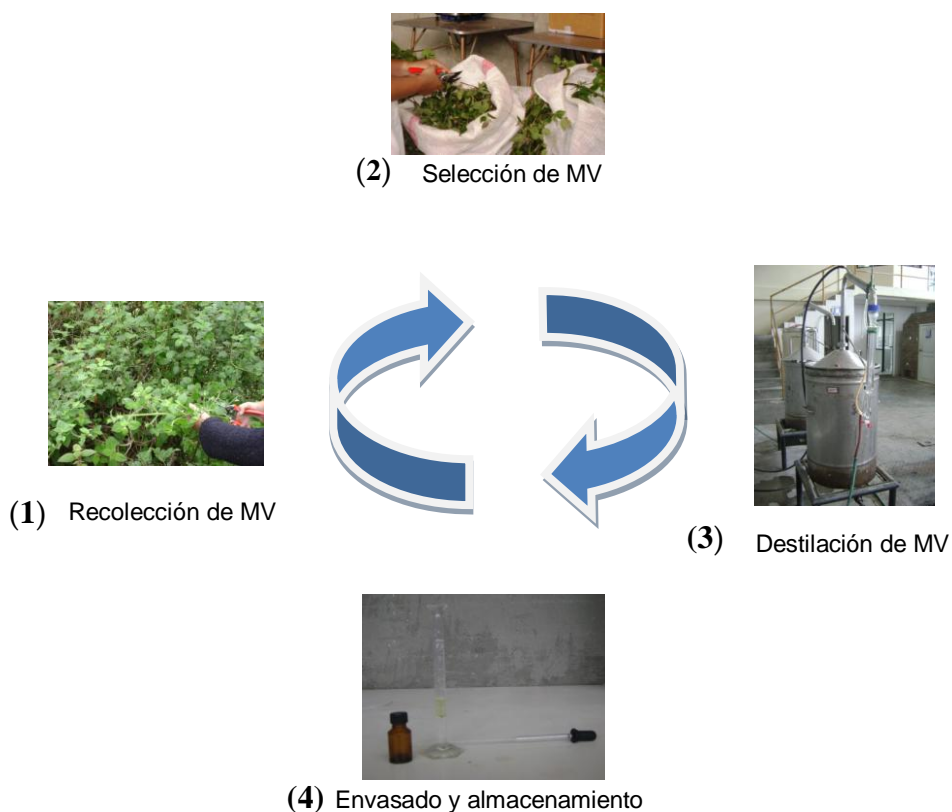
### III MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología que se ha usado para el desarrollo de esta investigación se indica a continuación:

- ➔ Recolección y selección de la materia vegetal (MV).
- ➔ Destilación de la materia vegetal.
- ➔ Determinación de propiedades físicas.
- ➔ Identificación de componentes.

#### 3.1 Recolección y extracción del aceite esencial.

El Esquema del proceso para la obtención del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (ver Figura. 4) se muestra a continuación:



**Figura 4.** Esquema de la recolección y extracción del aceite esencial

**Elaboración:** La Autora



### 3.1.1 Recolección de la Materia Vegetal.

Para el presente estudio se realizó la ubicación y recolección de la especie en los siguientes lugares:

**Chuquiribamba**, parroquia rural de la provincia de Loja. Se encuentra a una altura de 2725 msm<sup>14</sup>, la temperatura es de 12,3°C, la precipitación media es de 1000-1250 mm, el lugar de recolección se localiza en las vías que están alrededor del pueblo y en uno de sus barrios Sañe que está a una altura de 2800 msnm dentro de terrenos particulares junto a las cercas.

El **Tambo**, se encuentra en la provincia de Loja dentro del cantón Catamayo. La temperatura media del lugar es de 20 °C y su precipitación media es de 750-1000mm<sup>15</sup>. El lugar de recolección se ubica en las estribaciones del pueblo llamado la Capilla, en la que se distinguen dos zonas llamadas La Capilla Alta y La Capilla Baja; en estas dos zonas se realizó la recolección dentro de terrenos particulares.

El **Villonaco** este sitio pertenece al Cantón Catamayo, corresponde a la zona alta de la Cuenca hidrográfica Catamayo- Chira, en la región interandina del Ecuador. La temperatura promedio anual en el lugar es de 12,8 °C, la precipitación media anual es de 950-1000mm y posee clima frío<sup>16</sup>. El Lugar de recolección se ubica en las estribaciones del cerro Villonaco y a lo largo de la vía antigua (Catamayo- Loja) junto a las cercas, dentro de terrenos particulares.

De una misma población de individuos se tomaron muestras frescas (2-5 kg) de la parte aérea de la planta con el fin de preservar la especie, en el mismo estado fenológico (foliación, floración y fructificación) para poder realizar las destilaciones correspondientes.

---

<sup>14</sup> Programa de Desarrollo de la Región Sur –Subcomisión Ecuatoriana. PREDESUR.

<sup>15</sup> Centro de Información Geográfica de la Región Sur – CIGERS.

<sup>16</sup> ARMIJOS, C.; “Contribución al Conocimiento de la Composición Química, Actividad Citotóxica y Antimicrobiana del aceite Esencial de *Myrcianthes fragrans* (sw.) MC Vaught, en diferentes estados fenológicos, sector “Villonaco”, Universidad Técnica Particular de Loja, 2006.



Se realizaron tres recolecciones en los tres estados fenológicos de la especie, de los tres lugares (Chuquiribamba, Villonaco y El Tambo), teniendo en total 27 muestras recolectadas.

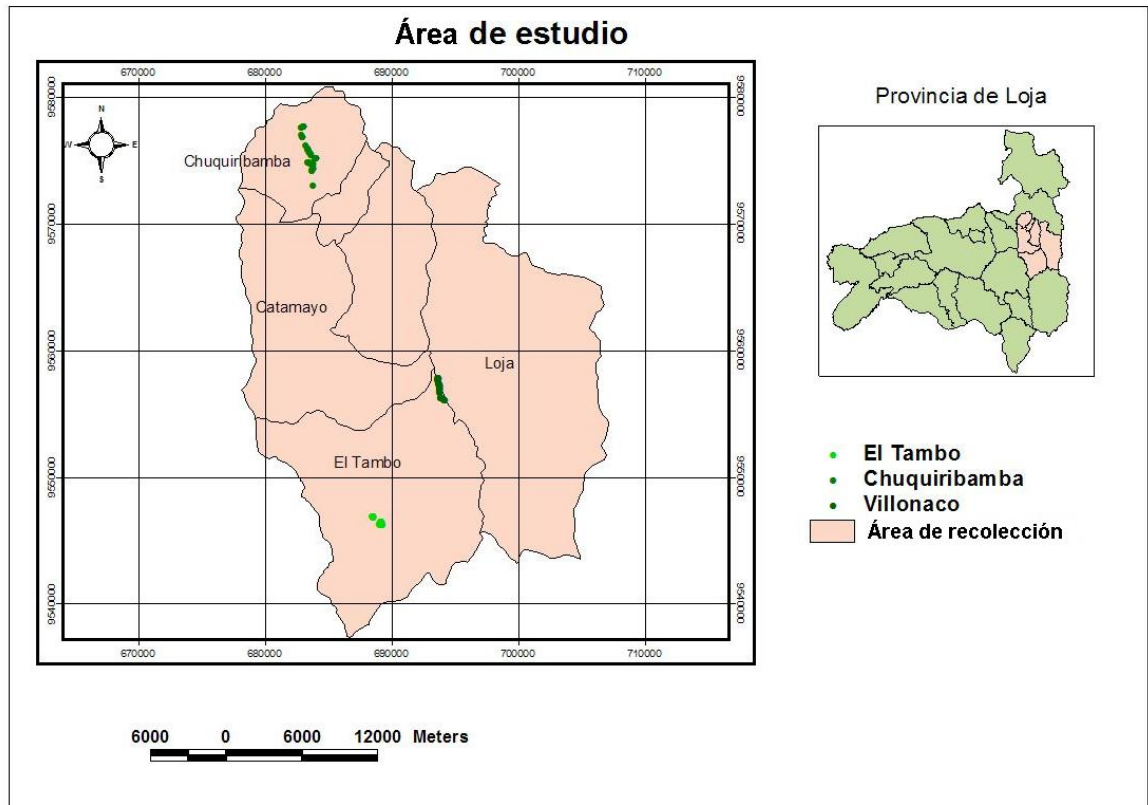


Figura 5. Área de estudio de la especie *Minthostachys mollis* en la Provincia de Loja.



### 3.1.2 Selección de la Materia Vegetal

Una vez realizada la recolección de la muestra se procede hacer una selección de materia vegetal con el objetivo de realizar una separación de las partes deterioradas y evitar la mezcla con otra especie. Se cortaron las ramas, con el fin de lograr una mejor superficie de contacto y que el aceite esencial pueda fluir al ser arrastrado por el vapor en la destilación.

### 3.2 Destilación de la Materia Vegetal.

Para la extracción del aceite esencial existen numerosas técnicas, las mas utilizadas actualmente son la extracción con solventes y la destilación por arrastre con vapor aunque la destilación por arrastre con vapor frente a la extracción con solventes es más adecuada cuando se pretende identificar un mayor número de de compuestos del aceite esencial de la especie en estudio.<sup>16</sup> Se realizó una destilación sin intervalos por arrastre con vapor del material vegetal para la extracción del aceite esencial de Poleo.

Para determinar si la materia vegetal se destilaría en fresco o seca se realizó varias experiencias comparando los resultados obtenidos de los rendimientos en base húmeda (rendimiento calculado normalmente) (Ver ANEXO I) y seca, es decir tomando únicamente el peso de la planta sin contar con el peso del agua.

En la tabla 1 se muestra los rendimientos en base seca obtenidos en diferentes experiencias realizadas partiendo de una misma muestra dividida en partes iguales de las cuales una se dejó secar al ambiente.

---

<sup>16</sup> ARMIJOS, C.; "Contribución al Conocimiento de la Composición Química, Actividad Citotóxica y Antimicrobiana del aceite Esencial de *Myrcianthes fragrans* (sw.) MC Vaught, en diferentes estados fenológicos, sector "Villonaco", Universidad Técnica Particular de Loja, 2006.



**Tabla 1.** Rendimiento en base seca % (p/v) de aceite esencial obtenido en dos condiciones

Condición	Experiencias			
	1	2	3	
Húmeda	440.94	700.47	1119.87	P (g)
	0,52	3,3	4,23	V (ml)
	0,12	0,47	0,38	R (%)
Seca	422.89	780.79	2191.93	P (g)
	0,35	2,48	3,56	V (ml)
	0,08	0,32	0,16	R (%)

**Fuente:** Investigación directa

**Elaboración:** La Autora

De la tabla anterior se deduce que el mejor rendimiento del material vegetal fresco es mayor en comparación con la materia vegetal seca.

El material vegetal fresco es destilado durante 3 horas tiempo en el que se obtuvo todo el aceite esencial.

A continuación se muestra el destilador empleado en la extracción del aceite esencial de Poleo.



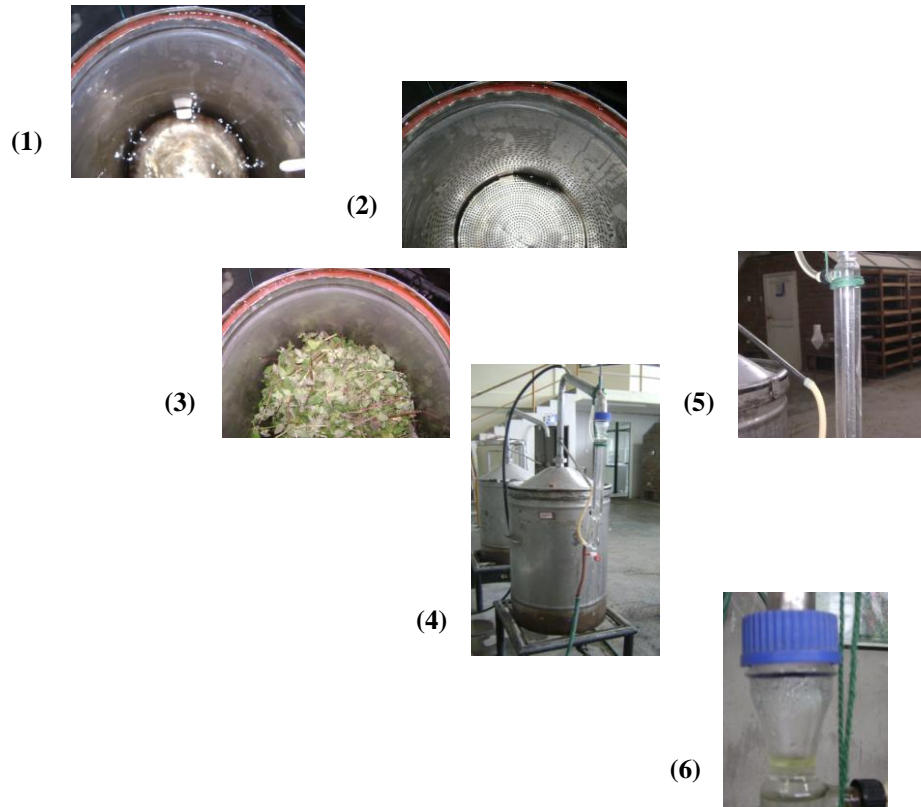
**Fotografía Nº 2.** Destilador empleado en la extracción del aceite esencial

**Elaboración:** La Autora

El vapor de agua arrastra los compuestos volátiles que se liberan al romperse las cutículas de las glándulas del aceite de la planta que luego pasa a través del



refrigerante, donde se condensan y se separan por su distinta densidad con el agua. En la fotografía N°3 se muestra detalladamente el proceso de destilación.



**Fotografía N° 3. Proceso de Destilación:** 1) Nivel de agua en la parte inferior. 2) Rejilla de separación. 3) materia vegetal fresca. 4) Destilador montado 5) Inicio de la destilación 6) Aceite extraído.

**Elaboración:** La Autora

### 3.2.1 Envasado y Almacenamiento

Después de ser extraído el aceite esencial, decantada el agua, se mide el volumen de aceite obtenido y se coloca en un envase de vidrio ámbar respectivamente etiquetado, y se somete a refrigeración a 4°C para evitar la degradación del aceite esencial por efecto de la luz.



### 3.3 Determinación de Propiedades Físicas

#### 3.3.1 Densidad

La densidad de un aceite esencial, bien sea la densidad absoluta o la densidad relativa al agua, medida a una temperatura estándar (normalmente 20 o 25 °C), se expresa en unidades de masa/volumen generalmente  $\text{g/cm}^3$ . La mayoría de los aceites esenciales tienen una densidad menor que el agua (densidad menor que  $1 \text{ g/cm}^3$ )<sup>17</sup>.

La densidad del aceite esencial en los diferentes lugares y en los tres estados se determinó según la norma AFNOR NF T 75 – 111 (Ver ANEXO II). Para este análisis se utilizó un picnómetro de 1ml, un termómetro y una balanza analítica.



Fotografía Nº 4. Picnómetro con aceite  
Elaboración: La Autora



Fotografía Nº 5. Peso del picnómetro con aceite  
Elaboración: La Autora

#### 3.3.2 Índice de refracción

Índice de refracción es la relación que existe entre el seno del ángulo de incidencia y el seno del ángulo de refracción de un rayo luminoso, de una longitud de onda determinada, que pasa del aire a la sustancia en examen.

<sup>17</sup> SÁNCHEZ, M.; *Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes*. Aiyana ediciones, 2006, 99-101





Ésta se determina a una temperatura constante. La temperatura de referencia es de 20°C, excepto para aquellas muestra que a esta temperatura no se encuentren en estado líquido<sup>18</sup>.

El índice de refracción de los aceites esenciales se determinó según la norma AFNOR NF T 75 – 112 (Ver ANEXO III), utilizando un refractómetro ABBE.



**Fotografía N° 6.** Muestra en el refractómetro  
**Elaboración:** La Autora



**Fotografía N° 7.** Medida del índice de refracción  
**Elaboración:** La Autora

### 3.3.3 Actividad óptica

La actividad óptica o poder rotatorio de una sustancia es su capacidad para desviar la luz polarizada. Se mide en grados y es una magnitud específica de cada aceite esencial<sup>17</sup>.

La actividad óptica de las muestras en foliación y floración se realizó en un polarímetro de marca PERKIN-ELMER 241 Polarimeter, ELMESCOGMIBN/UEBERLINGEN/GERMANY esto en la Universidad de Pavía – Italia.

---

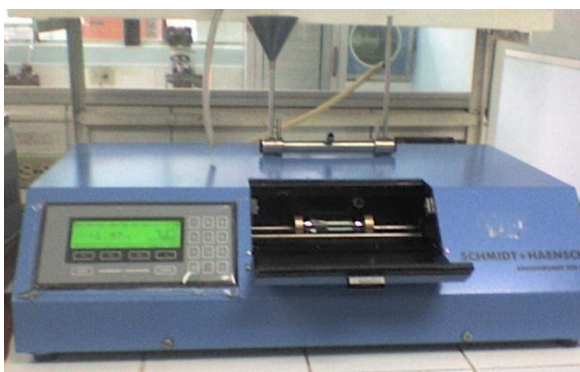
<sup>17</sup> SÁNCHEZ, M.; *Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes*, Aiyana ediciones, 2006, 99-101.

<sup>18</sup> NMX-Z-013 Norma Mexicana. *Guía de Redacción Estructuración y Presentación de las Normas Mexicanas*. Secretaría de Industria y Comercio. México 1975.



Fotografía Nº 8. Polarímetro PERKIN-ELMER 241  
Elaboración: La Autora

Y para medir la actividad óptica de las muestras del estado de fructificación, se realizó en un polarímetro de marca AUTOPOL 880 Automatic Saccharimeter, siguiendo la Norma ISO 592 -1998 (Ver ANEXO IV), esto en la empresa MALCA en Catamayo.



Fotografía Nº 9. Polarímetro Automatic SACCHARIMETER  
Elaboración: La Autora

### 3.4 Identificación de componentes químicos.

Para la identificación de los componentes químicos del aceite esencial de Poleo (*Minthostachys mollis*) se ha aplicado la técnica de Cromatografía de gases acoplada a Espectrometría de masas CG – MS y al detector de Ionización de Llama CG – FID.



### 3.4.1 Cromatografía de Gases (GC)

### 3.4.2 Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de masas (CG – MS).<sup>19</sup>

El análisis del aceite esencial de *Minthostachys mollis* por Cromatografía de gases acoplado a la Espectrometría de masas (CG–MS) consistió en la obtención de los cromatogramas en un Cromatógrafo de Gases Agilent serie 6890N, y los espectros de masas de los componentes individuales en el espectrómetro de masas Agilent serie 5973 inert, acoplado al cromatógrafo, constituido por un sistema de operación de datos MSD – Chemstation D.01.00 SP1(Ver la fotografía N° 10 ), que cuenta con un inyector automático split/splitless serie 7683, y dos columnas capilares de las características señaladas en la Tabla 2.

*Tabla 2. Características de las columnas capilares*

<b>CARACTERÍSTICAS DE LAS COLUMNAS</b>				
<b>Columna</b>	<b>Longitud (m)</b>	<b>Diámetros Interno DI (mm)</b>	<b>Película (µm)</b>	<b>Temperatura Límite (°C)</b>
DB-5	30	0.25	0.25	325
HP-INOWAX	30	0.25	0.25	260

**Fuente:** Proveedores

**Elaboración:** La Autora

<sup>19</sup> Agilent Technologies, Cromatógrafo de gases Agilent 6890N, Información para el usuario, Fecha de publicación: ABRIL de 2001 Ref. G1530-95210



Fotografía Nº 10. Cromatógrafo de Gases

Elaboración: La Autora

En la siguiente figura se representan las etapas que se desarrolló para la identificación de los componentes químicos en las muestras de aceite esencial de Poleo (*Minthostachys mollis*) usando el Cromatógrafo de Gases acoplado al CG – MS y CG – FID.

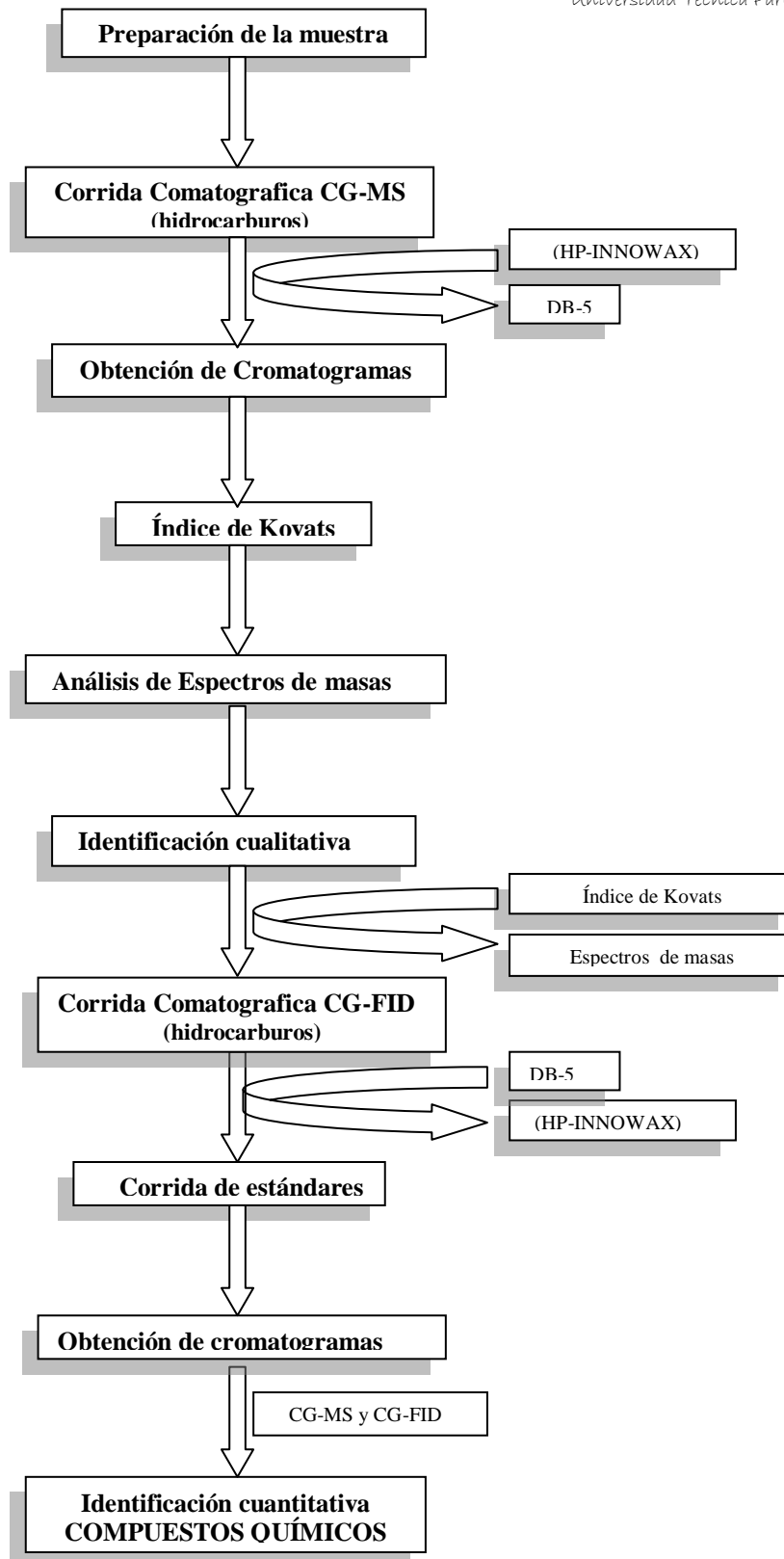


Figura 6. Proceso para la identificación de la composición química del aceite esencial.

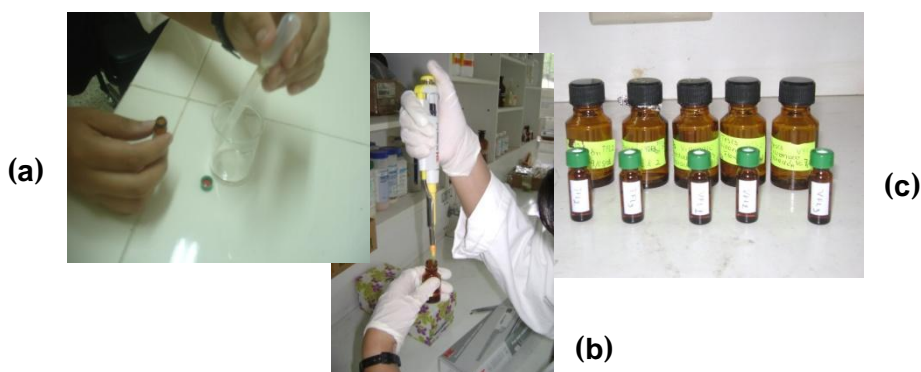
Elaboración: La Autora



### 3.4.2.1 Preparación de las muestras de aceite esencial para su análisis por cromatografía de gases.

Se debe procurar que el material (vaso de precipitación, puntas, viales) que se va utilizar esté limpio, para evitar en lo posterior contaminaciones, que interfieran en el análisis de las muestras.

En un vial de corrida cromatográfica se colocan 1 ml de diclorometano de grado HPLC y luego con la micropipeta se añaden 10uL de aceite esencial de Poleo (*Minthostachys mollis*), con lo cual se obtiene una disolución al 1% de aceite esencial.



Fotografía N° 11. **Preparación de muestras para el análisis en el cromatografo CG-MS:**  
a) Disposición del diclorometano en los viales. b) Colocación del aceite en los viales.  
c) Viales listos para inyectar

### 3.4.2.2 Corrida cromatográfica de las muestras en la columna HP-INNOWAX.

Los parámetros operacionales bajo los cuales se inyectaron las muestras de aceite esencial de *Minthostachys mollis* por cromatografía de gases acoplado a la espectrometría de masas CG-MS usando la columna polar (HP-INNOWAX) se indican en la (Ver figura 6.)

Además se realiza la corrida cromatográfica de una mezcla de hidrocarburos de C10 (decano) a C25 (pentacosano), comercialmente conocido como TPH – 6RPM de CHEM SERVICE bajo los mismos parámetros operacionales usados en las muestras de aceite esencial de Poleo (*Minthostachys mollis*), con el fin de calcular los índices de kóvats.

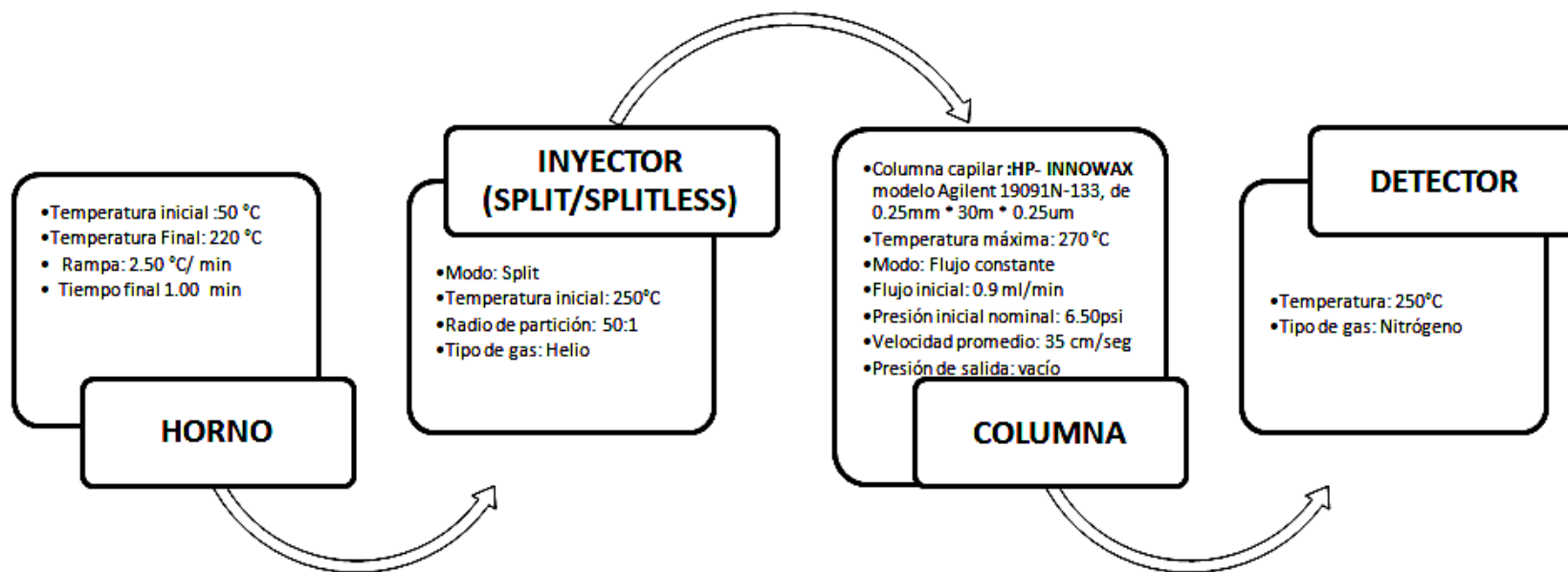


Figura 7. Parámetros operacionales del CG-MS en la columna HP-INNOWAX.

Elaboración: La Autora



### 3.4.2.3 Obtención de cromatogramas

Un cromatograma da información acerca del número de componentes de la muestra y el tiempo de retención, puede permitir la identificación de los mismos<sup>20</sup>. Para obtener los cromatogramas (cromatogramas de iones totales, TIC) se realizó un análisis del aceite esencial por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

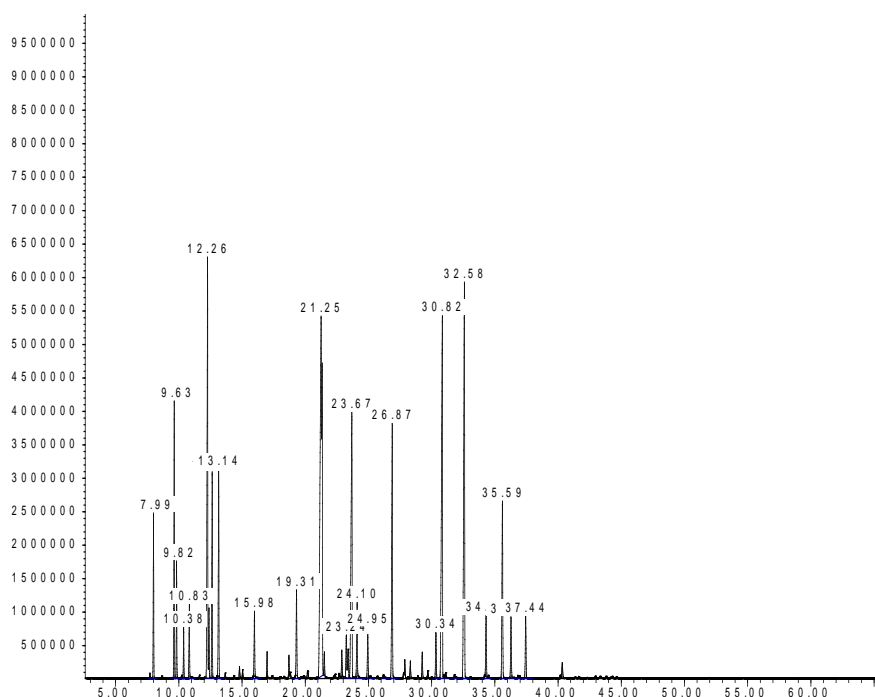


Figura 8. Cromatograma típico del aceite esencial de *Minthostachys mollis*

Elaboración: La Autora

### 3.4.2.4 Determinación de los Índices de Kóvats

Para poder determinar los índices de kóvats se comparan los tiempos de retención de los hidrocarburos obtenidos con el tiempo de retención de los constituyentes del aceite esencial de Poleo en base a la siguiente fórmula:

$$Ik = 100n + 100 * \frac{(t_{Rx} - t_{Rn})}{(t_{RN} - t_{Rn})}$$

<sup>20</sup> CLIMENT, M.; *Experimentación en química: Química Orgánica, Ingeniería Química*. Universidad Politécnica de Valencia, 2005.





**Donde:**

$I_k$  = Índice de retención de kóvats

$n$  = Número de átomos de carbono en el n-alcano

$t_{R_x}$  = Tiempo de retención del compuesto analizado, que eluye en el centro de n- alcanos.

$t_{R_n}$  = Tiempo de retención n-alcano que eluye antes del compuesto analizado.

$t_{R_N}$  = Tiempo de retención del n-alcano que eluye después del compuesto analizado.

**3.4.2.5 Análisis de los Espectros de masas**

La espectrometría de masas proporciona la masa molecular y de ahí la fórmula molecular de un compuesto. Un espectro es el resultado de la interacción de un compuesto con un tipo de energía. Cada espectro es específico de un compuesto<sup>20</sup>.

**3.4.2.6 Corrida Cromatográfica en la columna DB-5.**

Los parámetros operacionales bajo los cuales se inyectaron las muestras de aceite esencial de *Minthostachys mollis* por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas CG-MS usando la columna (DB-5) se indican a continuación. (Ver figura 8). Además con estos parámetros también fueron inyectados los hidrocarburos.

---

<sup>20</sup> CLIMENT, M.; *Experimentación en química: Química Orgánica, Ingeniería Química*. Universidad Politécnica de Valencia, 2005.

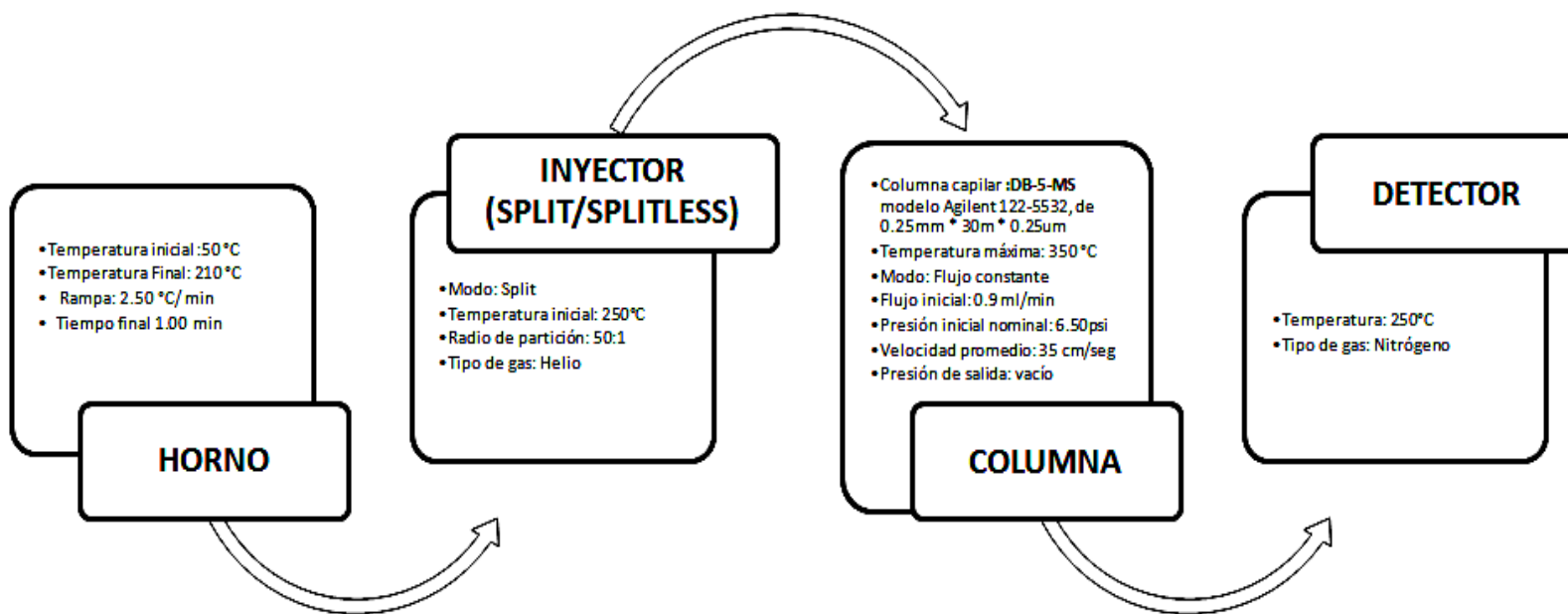


Figura 9. Parámetros operacionales del CG-MS en la columna DB-5.

Elaboración: La Autora



### 3.4.2.7 Identificación Cualitativa de los Componentes Químicos del Aceite Esencial con base en los Índices de Kóvats y los Espectros de Masas

Para la identificación de los componentes químicos del aceite esencial, se determinan los índices de kóvats de los picos detectados en las dos columnas (DB-5 y HP- INNOWAX), y mediante el análisis de los espectros de masas dados para cada uno de los picos detectados haciendo una comparación del espectro del pico con los propuestos en la librería WILEY 7n dándonos 20 posibilidades de las cuales se escogieron aquellas cuyo grado de coincidencia sea superior al 90%. Se realiza la comparación de los índices de kóvats obtenidos experimentalmente en las dos columnas con los reportados en la literatura<sup>21, 22</sup> cuya diferencia entre estos valores determinados debe ser menor o igual a 50 unidades, de esta manera se determinó la identificación de los componentes del aceite esencial de *Minthostachys mollis* en función de los índices de kóvats y el análisis de los espectros de masas.

### 3.4.3 Cromatografía de Gases acoplada al DETECTOR DE IONIZACIÓN DE LLAMA (CG - FID)

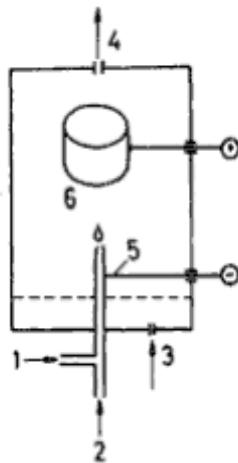
El detector de *Ionización de Llama* (FID) es un detector utilizado en cromatografía de gases. Está basado en la relación directa que existe entre la conductividad eléctrica de un gas y la concentración de partículas cargadas (iones positivos, negativos y electrones) existentes en el mismo. Se utiliza una llama de hidrógeno como fuente de Ionización de las moléculas orgánicas que fluyen a su través. En la figura 9, se muestra esquemáticamente este detector, el cual dispone de un sistema de electrodos, situado el negativo en la base de la llama y el positivo en forma de castilla o cilindro, alrededor de la llama, cargado con +300V. La corriente gaseosa que sale de la columna se mezcla con una corriente de hidrógeno (combustible) y entra en el detector donde se produce la

<sup>21</sup> Base de datos Kóvats RI disponible en Internet: <http://www.webbook.nist.gov/chemistry>

<sup>22</sup> Base de datos Kóvats RI disponible en Internet: <http://www.flavornet.html>

combustión. Para soportar la llama se introduce aire (también puede usarse oxígeno) por la base del detector. Durante la combustión producida al llegar un compuesto orgánico a la llama, se forman partículas cargadas, lo que origina un flujo de corriente y disminuye la resistencia eléctrica de la llama elevada, por lo que debe ser debidamente amplificada mediante circuitos electrónicos, y posteriormente se dirige al registrador<sup>23</sup>.

La magnitud de esta corriente es proporcional al número de especies cargadas que dependen de la naturaleza y velocidad de flujo del soluto y por lo tanto, directamente relacionada con la cantidad del mismo.



**Figura 10. Esquema simplificado de un detector de ionización de llama:** 1) Entrada del hidrógeno. 2) Entrada de la Fase móvil procedente de la columna, 3) Entrada de aire, 4) Salida a la atmósfera 5) electrodo negativo, 6) electrodo positivo en forma de castilla.

Los cromatogramas obtenidos por Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas se comparan con los obtenidos en las muestras de aceite esencial de Poleo (*Minthostachys mollis*) inyectadas por Cromatografía de Gases acoplada al Detector de Ionización de llama con el fin de determinar si el porcentaje relativo obtenido en ambos detectores presentan diferencia significativa.

<sup>23</sup> Cases, M., y Gómez, A.; *Técnicas analíticas de separación* Publicado por Reverté, 1988, ISBN 8429179844, 9788429179842, 649-652.



### **Especificación de los parámetros usados en el cromatógrafo de gases acoplado al FID.**

Las muestras se prepararon de la misma forma que las muestras analizadas por Cromatografía de gases acoplada a la Espectrometría de Masas.

#### **3.4.3.1 Corrida Cromatográfica en la columna HP-INNOWAX.**

Los parámetros operacionales bajo los cuales se inyectaron las muestras de aceite esencial de *Minthostachys mollis* por cromatografía de gases acoplado al detector de Ionización de Llama CG-FID usando la columna polar (HP-INNOWAX) se indican a continuación. (Ver figura 10.)

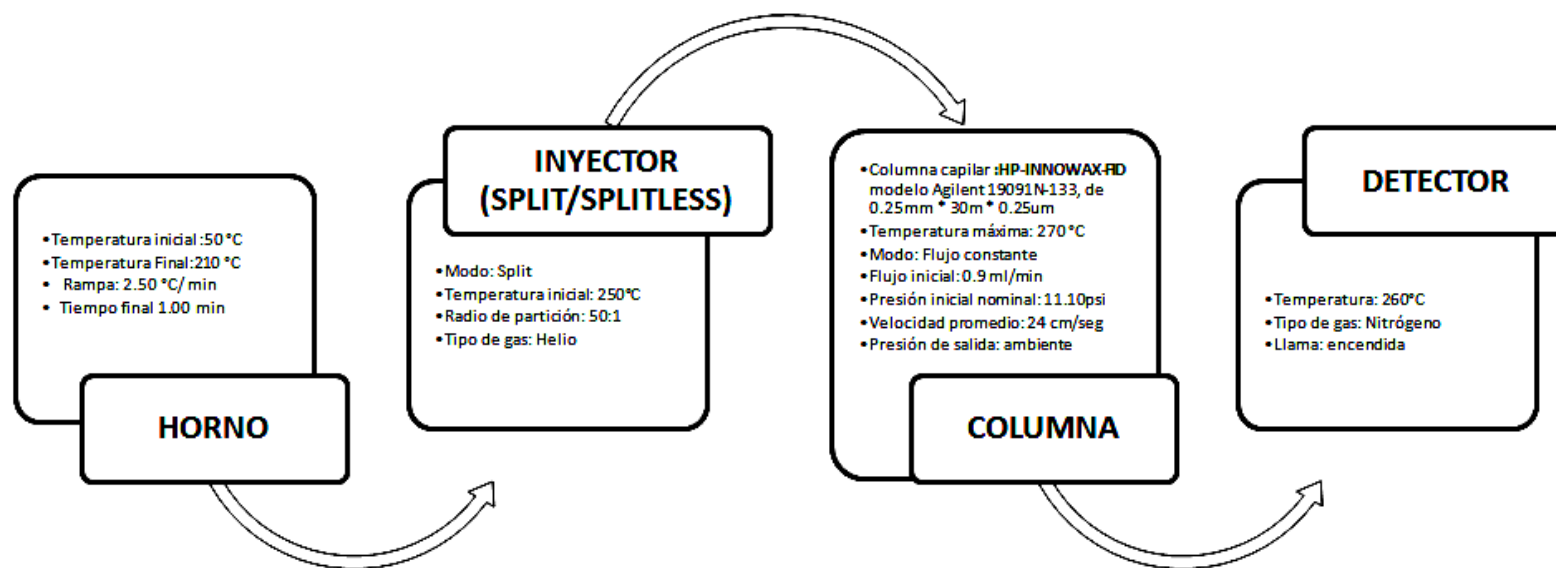


Figura 11. Parámetros operacionales del CG-FID en la columna HP-INNOWAX

Elaboración: La Autora



#### **3.4.3.2 Corrida Cromatográfica de Estándares en FID.**

Los estándares (son algunos de los compuestos mayoritarios que han sido identificados en las muestras de aceite esencial por CG-MS) se preparan de la misma forma que las muestras de aceite esencial y se inyectan bajo los mismos parámetros usados en CG-FID y luego, los tiempos de retención de los estándares se comparan con los de los picos obtenidos en CG-FID, dichos picos son correlacionados con un compuesto mediante la comparación con GC-MS.

#### **3.4.3.3 Corrida Cromatográfica en la columna DB-5.**

Los parámetros operacionales bajo los cuales se inyectaron las muestras de aceite esencial de *Minthostachys mollis* por cromatografía de gases acoplado al detector de Ionización de Llama CG-FID usando la columna DB-5. (Ver figura 11.)

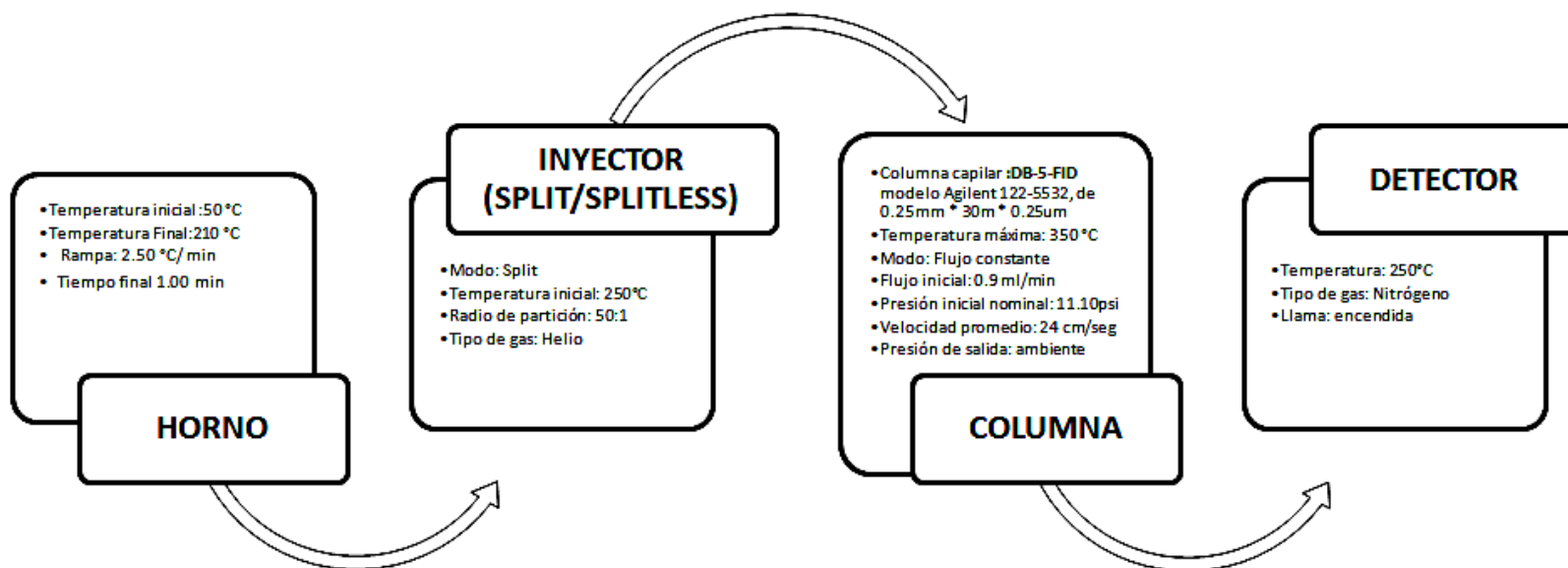


Figura 12. Parámetros operacionales del CG-FID en la columna DB-5

Elaboración: La Autora





#### **3.4.4 Comparación de los cromatogramas obtenidos en CG-MS con los obtenidos en CG-FID**

Se comparan los cromatogramas de las muestras de aceite esencial de Poleo *Minthostachys mollis* corridas en CG-MS, con las mismas muestras de aceite corridas en CG-FID con el fin de determinar si el porcentaje relativo en ambos detectores distan entre ellos y si presentan una diferencia apreciable.

#### **3.4.5 Determinación de los Componentes Químicos del aceite esencial de *Minthostachys mollis*.**

Después de ser identificados cualitativamente los componentes químicos del aceite esencial por CG-MS se realiza la determinación del porcentaje correspondiente a cada componente químico en función del área de cada pico cromatográfico tanto en GC-MS como en GC-FID.

La composición química del aceite esencial de *Minthostachys mollis* se ha reportado en este caso en base a la columna DB-5 debido a que la mayor parte de los porcentajes en la misma son los más reportados en literatura.

A decorative flourish consisting of a thin black line that starts from the bottom left, curves upwards and to the right, ending in a small circle with a dot inside.

## IV. *Resultados y Análisis*



## IV RESULTADOS Y ANÁLISIS

### 4.1 Determinación de Humedad

En la siguiente tabla se indican los porcentajes de humedad media de las tres repeticiones realizadas, obtenidas en los diferentes lugares en cada estado fenológico.

Tabla 3. Humedad media de las muestras en cada estado

Lugar	(%) Humedad		
	Foliación	Floración	Fructificación
Chuquiribamba	74,58	67,51	56,08
El Tambo	69,83	66,26	44,60
Villonaco	72,08	62,27	59,91

Fuente: Investigación directa

Elaboración: La Autora

La materia vegetal recolectada con mayor porcentaje de humedad fue durante el estado de Foliación (74,58%) en Chuquiribamba y de menor porcentaje de humedad fue durante la Fructificación (44,60%) en el Tambo.

La diferencia que se aprecia en los valores de humedad, en cuanto al lugar y estado fenológico es debido a que la materia vegetal fue recolectada en distintos periodos de tiempo, en los cuales se tiene condiciones climáticas diferentes, las humedades bajas en el caso de El Tambo son debidas a su clima templado, en los otros lugares en los que el clima es frío y con mayor precipitación<sup>15</sup> se presentó una mayor humedad.

### 4.2 Rendimiento del Aceite Esencial

Los rendimientos obtenidos de las muestras de Chuquiribamba con tres repeticiones para cada estado fenológico se detallan en la tabla 4.

<sup>15</sup> Centro de Información Geográfica de la Región Sur – CIGERS.



**Tabla 4.** Rendimiento en % (p/v) de aceite esencial de muestras de Chuquiribamba

Estado	Repeticiones			
	1	2	3	
CF	5705	5360	7390	P (g)
	4,40	4,60	7,70	V (ml)
	0,08	0,09	0,10	R (%)
CFL	4165	4145	4341	P (g)
	3,10	2,60	4,30	V (ml)
	0,07	0,06	0,09	R (%)
CFT	2754	2734	3390	P (g)
	3,70	4,70	5,70	V (ml)
	0,13	0,17	0,17	R (%)

Fuente: Investigación directa

Elaboración: La Autora

Los rendimientos obtenidos de las muestras de El Tambo con tres repeticiones para cada estado fenológico se detallan en la tabla 5.

**Tabla 5.** Rendimiento en % (p/v) de aceite esencial de muestras de El Tambo

Estado	Repeticiones			
	1	2	3	
TF	3130	4050	5239	P (g)
	7,70	5,30	5,60	V (ml)
	0,25	0,13	0,11	R (%)
TFL	2683	2865	2862	P (g)
	8,20	8,40	8,20	V (ml)
	0,31	0,29	0,29	R (%)
TFT	1674	2374	2185	P (g)
	7,10	9,80	6,80	V (ml)
	0,42	0,41	0,31	R (%)

Fuente: Investigación directa

Elaboración: La Autora

Los rendimientos obtenidos de las muestras del Villonaco con tres repeticiones para cada estado fenológico se detallan en la tabla 6.



**Tabla 6.** Rendimiento en % (p/v) de aceite esencial de muestras del Villonaco.

Estado	Repeticiones			
	1	2	3	
VF	4976	4221	5290	P (g)
	10	4,2	809	V (ml)
	0,2	0,09	0,17	R (%)
VFL	3831	2892	2896	P (g)
	6,8	6	7,1	V (ml)
	0,18	0,21	0,25	R (%)
VFT	2227	3518	4020	P (g)
	5	7,1	6,1	V (ml)
	0,22	0,2	0,15	R (%)

Fuente: Investigación directa

Elaboración: La Autora

La tabla 7, indica rendimientos medios obtenidos en las tres repeticiones realizadas, en los diferentes lugares en cada estado fenológico.

**Tabla 7.** Rendimiento medio en % (p/v) de aceite esencial en los diferentes lugares y en tres estados fenológicos

Lugar	Estados Fenológicos			
	F	FI	FT	
Chuquiribamba	0,09	0,07	0,16	R (%)
El Tambo	0,16	0,29	0,38	R (%)
Villonaco	0,15	0,21	0,19	R (%)

Fuente: Investigación directa

Elaboración: La Autora

En la tabla anterior, se indican los rendimientos medios obtenidos en las tres repeticiones realizadas en los diferentes lugares y estados fenológicos. Como se puede apreciar en la tabla 7, el mayor rendimiento obtenido fue en El Tambo durante la fructificación (0,38%) y el menor rendimiento en Chuquiribamba durante el estado de floración (0,07%).

El mayor rendimiento en los tres estados fenológicos, corresponde a las muestras de El Tambo y el menor rendimiento corresponde a las muestras obtenidas en Chuquiribamba. Los valores de los rendimientos obtenidos durante la foliación y floración en El Tambo y Villonaco están alrededor del rendimiento obtenido



durante la foliación (0,22%), reportado en la Revista de Sabores y Fragancias<sup>12</sup>, los rendimientos obtenidos en El Tambo y Villonaco se asemejan a los rendimientos obtenidos durante la floración (0,27%) en Tarma y (0,21%) en Huarez y Pampas publicados en la Revista de Ciencia e Investigación<sup>13</sup>.

Para el análisis estadístico del porcentaje de aceite esencial se utilizará el diseño factorial  $a \times b$  (2 variables con 3 niveles cada variable) (ver figura 1), con tres repeticiones cada tratamiento, obteniendo como variable respuesta el % de aceite esencial.

Los resultados de rendimiento de aceite esencial se muestran en la siguiente tabla.

**Tabla 8.** Resultados experimentación en el proceso de extracción del aceite esencial

Tratamientos	% de Aceite Esencial				
	Repeticiones			Sumatoria	Promedio
1	2	3			
$a_0b_0$	0,08	0,09	0,10	0,27	0,09
$a_0b_1$	0,07	0,06	0,09	0,22	0,07
$a_0b_2$	0,13	0,17	0,17	0,47	0,16
$a_1b_0$	0,20	0,09	0,17	0,46	0,15
$a_1b_1$	0,18	0,21	0,25	0,64	0,21
$a_1b_2$	0,22	0,20	0,15	0,57	0,19
$a_2b_0$	0,25	0,13	0,11	0,49	0,16
$a_2b_1$	0,31	0,29	0,29	0,89	0,29
$a_2b_2$	0,42	0,41	0,31	1,14	0,38
<b>total</b>	<b>1,86</b>	<b>1,65</b>	<b>1,64</b>	<b>5,15</b>	<b>1,72</b>

Fuente: Investigación directa

Elaboración: La Autora

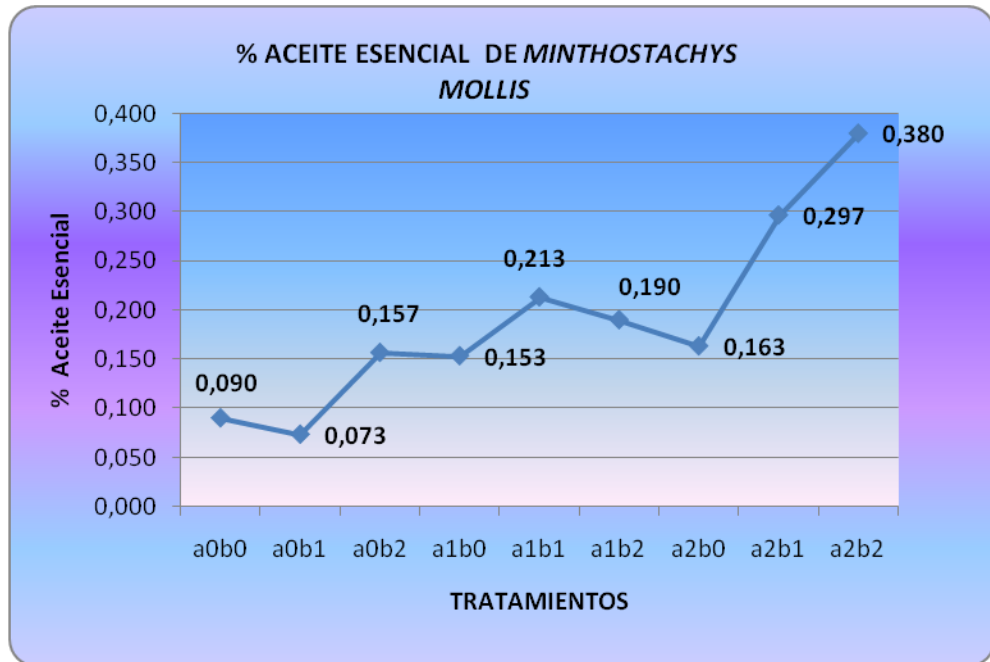
En la figura se observa la representación esquemática del porcentaje de aceite esencial en relación a las variables estudiadas.

<sup>12</sup> MALAGÓN, O., et al., *Composition of Essential oils of four Medicinal Plants from Ecuador. flavors and fragrance*, 2003. 18:527-531.

<sup>13</sup> FUERTES, C., y MUNGUÍA Y.; *Estudio Comparativo del Aceite esencial (Menthastachys mollis) de Tres Regiones Peruanas*. Revista Ciencia e Investigación, 2001, Vol. IV 23-39



Figura 13. Gráfica del % de Aceite Esencial en función del tratamiento utilizado



Elaboración: La Autora

### Análisis de Varianza

Posteriormente se detalla los valores numéricos de las variables que intervienen en el proceso de extracción del aceite esencial.

Tabla 9. Datos para el diseño factorial en el proceso de extracción del aceite esencial

VARIABLE A	VARIABLE B			TOTAL
	b <sub>0</sub>	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	
a <sub>0</sub>	0,27	0,22	0,47	0,96
a <sub>1</sub>	0,46	0,64	0,57	1,67
a <sub>2</sub>	0,49	0,89	1,14	2,52
<b>TOTAL</b>	<b>1,22</b>	<b>1,75</b>	<b>2,18</b>	<b>5,15</b>

Fuente: Investigación directa

Elaboración: La Autora

En la tabla 9, se presentan los datos obtenidos en el análisis de varianza del proceso de extracción del aceite esencial de *Minthostachys mollis*. El resumen del análisis estadístico aplicado para estos datos experimentales, se detallan en el ANEXO V.



Tabla 10. Análisis de varianza para el % de aceite esencial

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA CUADRÁTICA	Fc	F(0,05)
VARIABLE A	0,136	2	0,068	37,66	* 3,55
VARIABLE B	0,0514	2	0,026	14,27	* 3,55
INTERACCIÓN AB	0,0374	4	0,009	5,20	<sup>DS</sup> 2,93
ERROR	0,03	18	0,002		
TOTAL	0,257	26	0,105		

\* = Diferencia significativa de las medias entre tratamientos y los valores calculados FC

DS = Diferencia significativa

Fuente: Investigación directa

Elaboración: La Autora

Para la variable A, zonas de recolección (Ver Tabla 10), el valor calculado de Fc (37,66) es mayor que el valor  $F_{0,05, 2, 18}$  (3,55), la diferencia es significativa por lo que la zona de recolección si influye en el porcentaje de aceite esencial obtenido.

Para la variable B, fenología (Ver Tabla 10.), el valor calculado de Fc (14,27) es mayor que el valor leído  $F_{0,05, 2, 18}$  (3,55), por lo tanto el estado fenológico de la especie influye en el porcentaje de aceite esencial obtenido.

Una vez realizado el análisis de varianza la prueba F, se ha determinado que el  $F_c > F_{(0,05)}$ , tanto para el caso de la variable A, para la variable B y para la interacción entre los dos, por lo tanto se acepta la hipótesis H1 y se rechaza la hipótesis H2, en consecuencia la zona de recolección y la fenología de la especie influye en el porcentaje de aceite esencial obtenido.

### Prueba de comparación múltiple

Se utiliza la prueba de comparación múltiple para determinar los parámetros óptimos en la obtención de aceite esencial, mediante una comparación entre los distintos tratamientos. En el ANEXO VI, se encontrará los pasos respectivos para la prueba de comparación múltiple.





Tabla 11. Tabla resumen de comparaciones múltiples entre tratamientos

TRATAMIENTOS	T9	T8	T5	T6	T7	T3	T4	T1	T2	D <sub>18,0,05</sub>	
T9(a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> )	0,380	0,083	0,083	0,023	0,027	0,007	0,003	0,063	0,017	-	0,073
T8(a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> )	0,297	0,167	0,107	0,050	0,033	0,010	0,067	0,080			0,076
T5(a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> )	0,213	0,190	0,133	0,057	0,037	0,073	0,083				0,079
T6(a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> )	0,190	0,217	0,140	0,060	0,100	0,090					0,080
T7(a <sub>2</sub> b <sub>0</sub> )	0,163	0,223	0,143	0,123	0,117						0,081
T3(a <sub>0</sub> b <sub>2</sub> )	0,157	0,227	0,207	0,140							0,082
T4(a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> )	0,153	0,290	0,223								0,083
T1(a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> )	0,090	0,307									0,083
T2(a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> )	0,073										

\* = Diferencia significativa de las medias entre tratamientos y los valores calculados de las amplitudes mínimas  $D_{0,05}$

Fuente: Investigación directa

Elaboración: La Autora

En base a este análisis estadístico se determina que el T9 es el mejor tratamiento para obtener el mayor porcentaje de aceite esencial, el mismo que corresponde al estado de fructificación en la zona de El Tambo.

La diferencia entre las medias es mayor que la calculada  $D_{18,0,05}$  entonces las medias son significativas, por tanto existe una diferencia significativa en mayoría de los tratamientos.

### 4.3 Propiedades Físicas del Aceite Esencial

El aceite esencial de *Minthostachys mollis* es un líquido viscoso, presenta una coloración subjetiva amarillo pálido, translúcido, en cuanto a su olor difiere de acuerdo a la zona de procedencia en Chuquiribamba de olor dulce, fresco, cítrico, en El Tambo de olor a especia y en el Villonaco de olor fuerte, mentolado.

#### 4.3.1 Densidad

Tabla 12. Densidad media del aceite esencial en los diferentes lugares y en tres estados fenológicos (gr/cm<sup>3</sup>)

Lugares	Estados Fenológicos		
	F	FL	FT
Chuquiribamba	0,907	0,894	0,912
El Tambo	0,940	0,935	0,936
Villonaco	0,916	0,917	0,904

Fuente: Investigación directa

Elaboración: La Autora



Los resultados de la densidad del aceite esencial de Poleo (*Minthostachys mollis*) obtenidos siguiendo las normas citadas en el apartado de la sección 3.3.1 se muestran en la tabla 12 que corresponden a los valores medios de las tres repeticiones hechas en los diferentes lugares y en cada estado fenológico.

De los resultados que se muestran en la tabla 12 se deduce fácilmente que la densidad es mayor durante la foliación (0,940) en El Tambo y menor durante la floración (0,894) en Chuquiribamba.

### 4.3.2 Índice de Refracción

**Tabla 13.** Índice de refracción medio del aceite esencial en los diferentes lugares y en tres estados fenológicos ( $n^{20}$ )

Lugares	Estados Fenológicos		
	F	FL	FT
Chuquiribamba	1,476	1,474	1,472
El Tambo	1,493	1,495	1,490
Villonaco	1,475	1,472	1,465

**Fuente:** Investigación directa  
**Elaboración:** La Autora

Los índices de Refracción se muestran en la tabla 13 que corresponden a los valores medios de las tres repeticiones hechas en los diferentes lugares y en cada estado fenológico.

En el índice de refracción se puede apreciar que el valor más alto es el de las muestras obtenidas durante la floración en El Tambo y el índice de refracción más bajo es el de las muestras obtenidas durante la fructificación en el Villonaco.

### 4.3.3 Actividad Óptica.

**Tabla 14.** Actividad óptica media del aceite esencial en los diferentes lugares y en tres estados fenológicos [ $n$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup>

Lugares	Estados Fenológicos		
	F	FL	FT
Chuquiribamba	8,629	-7,349	10,875
El Tambo	9,384	6,305	-20,938
Villonaco	1,654	-1,499	-13,375

**Fuente:** Investigación directa  
**Elaboración:** La Autora

La tabla 14 indica los valores medios de la actividad óptica de las tres repeticiones hechas en los diferentes lugares y en cada estado fenológico. La actividad óptica es más levógira (-) en las muestras de aceite esencial obtenidas



durante la fructificación en el Tambo y más dextrógira (+) en las muestras de aceite esencial obtenidas durante la fructificación en Chuquiribamba. Los valores difieren dependiendo del lugar y estado fenológico, se debe principalmente a la composición química de las muestras de aceite esencial.

Los valores de las propiedades físicas reportados en la Revista de Fragancias y Sabores determinadas fueron densidad de 0,896; índice de refracción de 1,477 y rotación óptica de (-) 2,47, el valor del índice de refracción es el que más se asemeja al valor obtenido en la muestras de Chuquiribamba durante la foliación. Según otros datos obtenidos en un estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb de tres regiones peruanas, las constantes físicas determinadas en el aceite esencial procedente de Tarma: densidad de 0,9189; índice de refracción de 1,4727; rotación óptica de 3,45, el procedente de Huaraz: densidad de 0,9176; índice de refracción de 1,4746, rotación óptica de -4,15 y el procedente de Pampas: densidad de 0,9159, índice de refracción de 1,4725, rotación óptica de -3,30 descritas en la Revista de Ciencia e Investigación<sup>12</sup>, son comparables con los determinados en las muestras del Villonaco y Chuquiribamba ya que los valores obtenidos en El Tambo son mayores pero están alrededor de estos valores.

Según se reporta en esta Revista de Ciencia e Investigación<sup>13</sup> “Las constantes físicas que se muestran permiten determinar parte de la variada composición química en la muña que depende no sólo de la especie sino también del lugar de recolección, la altura sobre el nivel del mar, la naturaleza del terreno, la época de recolección o pequeños cambios genéticos y la diferencia entre hojas y tallos.” Con ello explicaría porque las propiedades físicas reportadas en el presente estudio para el aceite de Poleo (*Minthostachys mollis*) difieren de un lugar a otro y estado fenológico.

---

<sup>12</sup> MALAGÓN, O., et al., *Composition of Essential oils of four Medicinal Plants from Ecuador. flavors and fragrance*, 2003. 18:527-531.

<sup>13</sup> FUERTES, C., y MUNGUÍA Y.; *Estudio Comparativo del Aceite esencial (Minthostachys mollis) de Tres Regiones Peruanas* .Revista Ciencia e Investigación, 2001, Vol. IV 23-39



#### 4.4 Compuestos Químicos del Aceite Esencial.

##### 4.4.1 Composición Química del Aceite de Poleo (*Minthostachys mollis*) en Chuquiribamba

En el aceite esencial de Poleo (*Minthostachys mollis*) proveniente de Chuquiribamba en estado de foliación se determinaron 38 compuestos en total, 23 de los cuales se identificaron en las dos columnas mediante los índices de Kováts y los espectros de masas, que representan 87,01% del total del aceite esencial.

En el estado de foliación, los componentes mayoritarios fueron: cis-dihydrocarvone(12,54%), carvone(9,59%), neryl-acetate(8,9%),  $\beta$ -caryophyllene(8,77%), limonene(7,46%), sabinene(4,25%), germacrene-D(3,19%), pulegone(3,02%), trans- $\beta$ -ocimene(2,81%), cis-ocimene(2,17%), linalool(2,16%), iso-menthone(1,7%),  $\alpha$ -pinene(1,68%), geraniol(1,59%), germacrene-B(1,46%), geranial(1,46%), menthone(1,29%),  $\delta$ -cadinene(1,26%),  $\beta$ -pinene(1,18%), citronellol(1,1%),  $\alpha$ -humulene(1,07%), 1,8-cineole(1,00%).

En el estado de floración se determinaron 39 compuestos en total, 20 fueron identificados en las dos columnas, representando el 99,24% del total del aceite esencial.

En el estado de floración los componentes mayoritarios son los siguientes: cis-dihydrocarvone(13,48%), limonene(9,3%),  $\beta$ -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- $\beta$ -ocimene(3,1%), menthone (3,05%), trans-dihydrocarvone(2,53%), germacrene-b(2,38%), carvone(2,35%),  $\delta$ -cadinene(1,82%), sabinene(1,76%), citronellol(1,74%).

En el estado de fructificación se determinaron 35 compuestos en total, 20 se identificaron en las dos columnas, representando el 90,38% del total del aceite esencial.

En la fructificación los componentes mayoritarios son: cis-dihydrocarvone (13,62%), no-definido(12,97%), geranyl acetate(10,77%),  $\beta$ -caryophyllene(8,66%),



limonene(3,56%), carvone(3,06%), iso-menthone(2,94%), germacrene-d(2,92%), citronellol(2,21%), citronellal(2,06%), geranial(1,95%), trans- $\beta$ -ocimene(1,91%), citronellyl acetate(1,86%), 1,8-cineole(1,7%), dihydrocarvyl acetate(1,7%), sabinene(1,53%), cis-ocimene(1,46%), pulegone(1,42%),  $\delta$ -cadinene (1,27%), 2-octylacetate(1,13%),  $\alpha$ -copaene(1,12%), linalool(1,03%).

Tabla 15 . Composición química del aceite esencial de *Minthostachys mollis* en Chuquiribamba

PICO Nº	a) COMPUESTO	b) IK						% CANTIDAD RELATIVA					
		DB5			INNOWAX			e) F		e) FL		e) FT	
		F	FL	FT	F	FL	FT	F	FL	FL	FL	FT	FT
1	$\alpha$ -pinene	950	952	956	1037	1037	-	<b>1,68</b>	1,25	1,58	1,38	0,97	0,99
2	sabinene	971	981	984	1132	1134	1111	<b>4,25</b>	5,36	1,76	1,92	1,53	1,71
3	$\beta$ -pinene	985	985	987	1118	1118	1080	<b>1,18</b>	0,91	0,92	1,20	0,82	0,75
4	myrcene	991	995	997	1175	1175	1141	<b>0,76</b>	1,65	0,61	0,75	0,53	0,57
5	3-octanol	995	1003	1005	1396	1396	1349	1,06	1,27	0,74	0,82	0,58	0,64
6	limonene	1003	1029	1030	1202	1202	1162	<b>7,46</b>	8,07	<b>9,30</b>	8,07	3,56	3,50
7	cis-ocimene	1029	1036	1037	1230	1230	1199	<b>2,17</b>	1,21	3,32	4,26	1,46	1,67
8	1,8-cineole	1031	-	1032	-	-	-	<b>1,00</b>	0,88	-	-	1,70	1,59
9	trans- $\beta$ -ocimene	1035	1045	1046	1242	1242	1215	<b>2,81</b>	1,58	3,10	4,00	1,91	1,96
10	kewda ether	1075	1075	1076	-	-	-	0,27	0,29	0,24	-	0,19	0,20
11	linalool	1097	1097	1097	1540	1544	1517	<b>2,16</b>	1,13	0,82	0,75	1,03	0,63
12	2-octyl acetate	1115	1116	1115	-	-	-	0,46	0,47	1,16	1,20	1,13	0,91
13	citronellal	1148	1149	1147	-	-	-	0,63	0,44	1,43	0,29	2,06	2,73
14	menthone	1150	1151	1149	1464	1459	1425	<b>1,29</b>	0,84	3,05	2,74	1,09	1,31
15	iso menthone	1159	1160	1158	-	-	-	<b>1,70</b>	2,22	4,67	4,58	2,94	2,34
16	neo-menthol	1165	1166	1164	-	-	-	0,45	0,39	0,57	0,29	0,61	0,64
17	cis-dihydrocarvone	1195	1195	1193	1595	-	1565	<b>12,54</b>	13,48	<b>13,48</b>	15,97	<b>13,62</b>	21,38
18	trans-dihydrocarvone	1200	1198	1199	-	-	-	0,50	0,47	2,53	0,46	0,45	0,49
19	nerol	1222	1245	-	-	-	-	0,18	0,21	1,48	0,23	-	-
20	citronellol	1227	1227	1225	1770	1770	-	<b>1,10</b>	1,43	1,74	0,41	2,21	3,20
21	pulegone	1234	1232	1232	1625	1628	-	<b>3,02</b>	5,44	3,56	2,84	1,42	1,04
22	carvone	1242	1239	1239	1725	1726	1719	<b>9,59</b>	10,98	2,35	0,57	3,06	4,39
23	geraniol	1250	1250	1248	1854	1856	1823	<b>1,59</b>	1,72	-	-	1,01	0,61
24	geranial	1266	1266	1264	1733	1732	1728	<b>1,46</b>	1,52	1,63	1,19	1,95	2,69
25	neomenthyl acetate	-	1270	1267	-	-	-	-	-	1,08	1,41	0,83	0,49
26	no definido	-	1303	1302	-	1721	-	-	5,44	6,42	7,56	12,97	9,54
27	dihydrocarvyl acetate	1323	1323	1321	1662	-	1665	0,54	0,47	0,51	0,51	1,70	1,14
28	carvyl acetate	1331	1331	-	-	-	-	0,24	0,20	0,24	0,33	-	-
29	citronellyl acetate	1350	1350	1348	-	1668	-	0,55	0,54	0,96	1,10	1,86	2,04
30	$\alpha$ -copaene	1371	1372	1369	-	-	-	0,94	0,64	1,39	1,16	1,12	0,84
31	neryl acetat	1381	1359	-	-	-	-	<b>8,90</b>	8,82	0,33	0,22	-	-



32	geranyl acetate	1359	1381	1379	1762	1762	1768	0,27	0,19	7,82	12,34	<b>10,77</b>	13,13	
33	$\beta$ -elemene	1387	1387	–	–	–	–	0,12	0,13	0,18	0,21	–	–	
34	beta-caryophyllene	1416	1416	1414	1571	–	1544	<b>8,77</b>	7,42	9,07	11,39	8,66	7,83	
35	$\alpha$ -humulene	1451	1451	1449	1647	–	1636	<b>1,07</b>	0,71	1,27	1,20	1,01	0,83	
36	germacrene-D	1477	1478	1476	1691	1694	1695	<b>3,19</b>	2,82	5,20	3,38	2,92	2,68	
37	germacrene-B	1492	1492	1490	–	–	–	<b>1,46</b>	1,58	2,38	1,44	0,97	0,86	
38	$\delta$ -cadinene	1516	1516	1514	1742	1742	1743	<b>1,26</b>	1,47	1,82	1,32	1,27	1,00	
39	spathulenol	1573	1573	–	–	–	–	0,12	0,10	0,16	0,16	–	–	
40	caryophyllene oxide	1577	1577	1576	1970	–	2012	0,27	0,22	0,35	0,37	0,50	0,55	
								<b>TOTAL*</b>	<b>87,01</b>	<b>93,88</b>	<b>99,24</b>	<b>97,95</b>	<b>90,38</b>	<b>96,79</b>

<sup>a</sup> = Compuestos ordenados en base a la columna DB-5.

<sup>b</sup> = Índices de Kováts determinados experimentalmente en las diferentes fenologías.

<sup>c</sup> = Porcentajes promedio calculados en base al % área de los picos reportados en la columna DB-5 en MS

<sup>d</sup> = Porcentajes promedio calculados en base al % área de los picos reportados en la columna DB-5 en FID

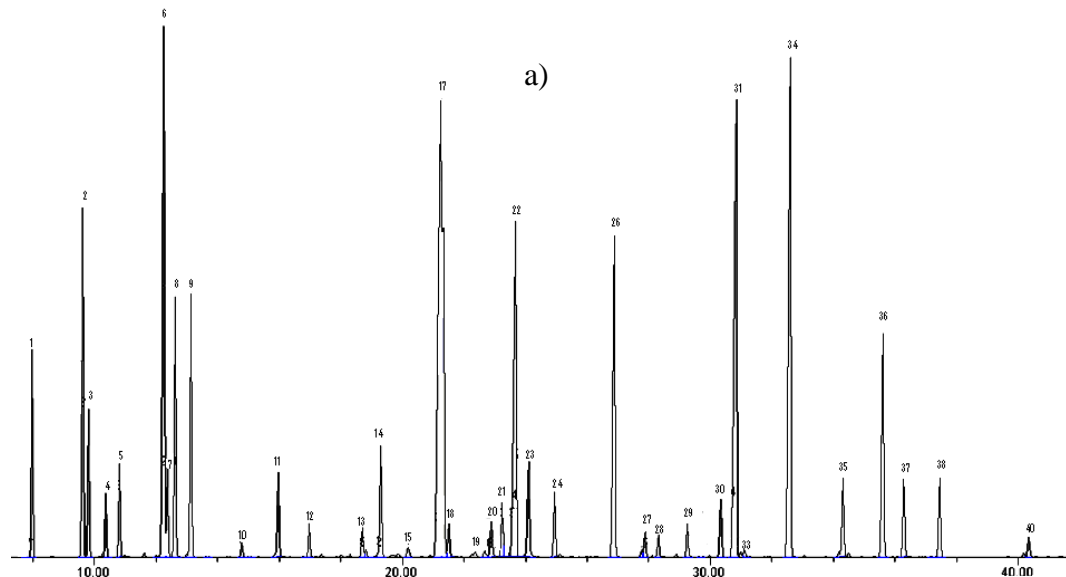
\*= Sumatoria del % cantidad relativa encontrada en la columna DB-5-MS y DB-5-FID

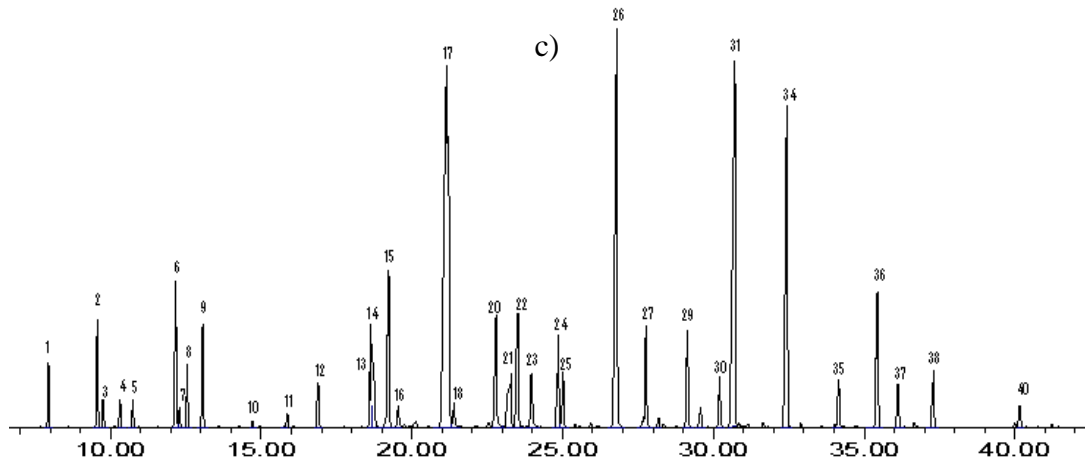
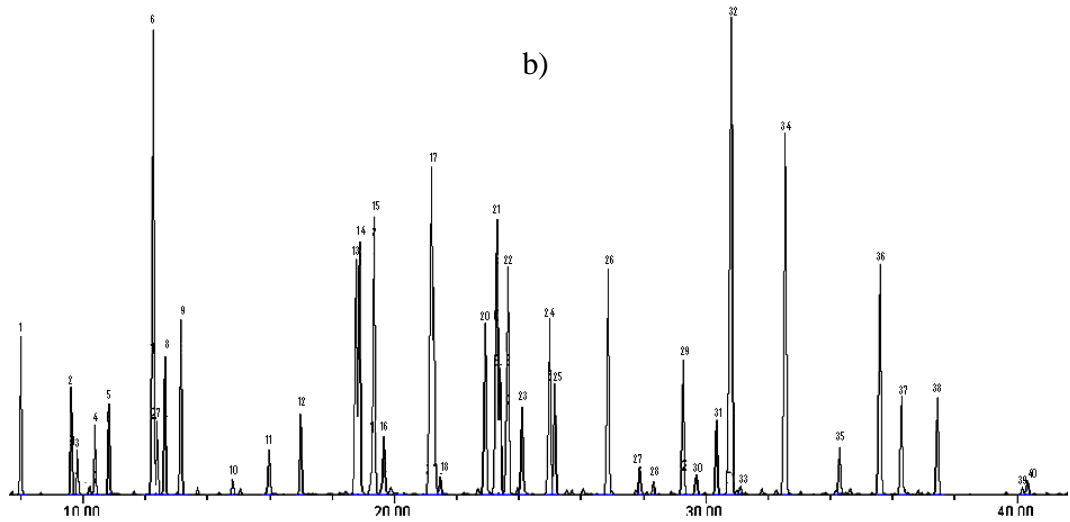
**Fuente:** Investigación Experimental

**Elaboración:** La Autora

En la siguiente figura se muestran los diferentes cromatogramas obtenidos del aceite esencial de *Minthostachys mollis* en la columna DB-5, en los diferentes estados fenológicos estudiados.

**Figura 14.** Cromatogramas del aceite esencial de *Minthostachys mollis* en tres fenologías. a) Foliación, b) Floración y c) Fructificación.





#### 4.4.2 Composición Química del Aceite de Poleo (*Minthostachys mollis*) en El Tambo.

En el aceite esencial de Poleo (*Minthostachys mollis*) proveniente de El Tambo en estado de foliación se determinaron 36 compuestos en total, 22 se identificaron en las dos columnas mediante los índices de Kováts y los espectros de masas, el que representan 94,20% del total del aceite esencial.

En el estado de foliación, los componentes mayoritarios fueron: carvacrol (17,79%), pulegone(9,49%), cis-carvone oxide(8,24%), thymol acetate(7,58%), no-definido(6,84%),  $\beta$ -caryophyllene(6,76%), p-cymene(4,75%), germacrene-



b(3,13%), trans- $\beta$ -ocimene(2,81%), limonene(2,72%), menthone(2,71%), gamma-terpinene (2,26%), piperitenone(2,22%),  $\alpha$ -thujene(1,92%), iso menthone(1,75%).

En el estado de floración se determinaron 37 compuestos en total, 19 fueron identificados en las dos columnas, representando el 85,42% del total del aceite esencial.

En el estado de floración los componentes mayoritarios son los siguientes: carvacrol(27,27%), thymol acetate(10,99%),  $\beta$ -caryophyllene(6,76%), p-cymene(5,47%),  $\gamma$ -terpinene(3,77%), no-definido(3,46%), germacrene-b(3,21%), pulegone(2,8%), thymol(2,72%), piperitenone(2,21%), germacrene-d(1,64%),  $\alpha$ -thujene(1,62%), cis-carvone oxide(1,4%), trans- $\beta$ -ocimene(1,32%), limonene(1,2%), citral(1,0%),  $\alpha$ -terpinene(0,96%), sabinene(0,85%), menthone(0,8%), myrcene(0,74%).

En el estado de fructificación se determinaron 35 compuestos en total, 19 se identificaron en las dos columnas, representando el 81,48% del total del aceite esencial.

En la fructificación los componentes mayoritarios son: carvacrol(21,36%), thymol acetate(11,3%),  $\beta$ -caryophyllene(6,6%), p-cymene(6,08%), pulegone(3,27%), germacrene-b(2,61%), no definido(2,12%)  $\gamma$ -terpinene(2,06%), menthone(2,02%),  $\alpha$ -thujene(1,85%), thymol(1,81%), linalool(1,47%), trans- $\beta$ -ocimene(1,46%), myrcene(1,11%).

**Tabla 16 .** Composición química del aceite esencial de *Minthostachys mollis* en El Tambo

PICO Nº	a) COMPUESTO	b) IK						% CANTIDAD RELATIVA					
		DB5			INNOWAX			c) F		d) FL		e) FT	
		F	FL	FT	F	FL	FT	°F	°F	°FL	°FL	°FT	°FT
1	$\alpha$ -thujene	947	947	951	1047	1083	1068	1,92	1,37	1,62	1,63	1,85	1,94
2	$\alpha$ -pinene	952	952	956	-	-	-	0,59	0,47	0,33	0,49	0,32	0,36
3	sabinene	981	982	984	1132	1136	1109	0,79	0,63	0,85	0,49	0,75	0,41
4	$\beta$ -pinene	984	985	987	1118	-	-	0,48	0,41	0,19	1,67	0,24	0,28
5	myrcene	995	995	997	1172	1177	1136	1,36	1,60	0,74	0,47	1,11	1,66
6	3-octanol	1003	1003	1005	1383	1343	1354	0,41	0,45	0,12	0,13	0,30	0,38
7	$\alpha$ -phellandrene	1008	1009	-	-	-	-	0,16	0,13	0,13	0,04	-	0,80
8	$\alpha$ -terpinene	1017	1018	1019	1182	-	1141	1,01	0,75	0,96	0,88	0,86	6,41
9	p-cymene	1025	1026	1027	1247	1259	1214	4,75	3,92	5,47	5,61	6,08	0,73





10	limonene	1028	1029	1030	1201	1205	1159	2,72	3,29	1,20	0,48	0,91	1,49	
11	cis-ocimene	1035	1036	1037	-	-	-	1,31	1,08	0,44	0,51	0,86	1,68	
12	trans- $\beta$ -ocimene	1045	1045	1046	1239	-	-	2,81	2,85	1,32	1,90	1,46	2,63	
13	$\gamma$ -terpinene	1061	1056	1062	1229	1238	1190	2,26	2,33	3,77	3,80	2,06	-	
14	terpinolene	1080	1080	-	-	-	-	0,11	0,09	0,08	0,09	-	-	
15	linalool	1097	-	1097	1542	1488	1530	0,42	0,43	-	-	1,47	0,32	
16	2-octyl acetate	1115	-	1115	-	-	-	0,25	0,28	-	-	0,54	0,40	
17	menthone	1150	1150	1150	1944	1408	1427	2,71	3,19	0,80	1,57	2,02	1,58	
18	iso menthone	1159	1159	1158	-	-	-	1,75	1,80	0,41	0,73	6,00	6,93	
19	isopulegone	-	1170	1169	-	-	-	-	-	0,12	0,17	0,18	0,21	
20	terpinen-4-ol	1175	1175	1174	1589	1534	-	0,46	0,45	0,42	0,53	0,45	0,49	
21	pulegone	1235	1234	1232	1624	1573	1615	<b>9,49</b>	7,55	2,80	5,31	3,27	5,37	
22	carvone	-	1240	1238	-	1669	-	-	-	0,19	0,35	0,19	0,21	
23	cis-carvone oxide	1248	1249	1246	-	-	-	<b>8,24</b>	-	1,40	2,86	1,52	2,44	
24	citral	1266	1266	-	-	-	-	0,29	0,47	1,00	0,56	-	-	
25	thymol	1296	1295	1293	-	-	-	1,54	1,53	2,72	1,92	1,81	1,70	
26	carvacrol	1306	1306	1304	-	-	-	<b>17,79</b>	14,87	<b>27,27</b>	23,35	<b>21,36</b>	22,39	
27	piperitenone	1338	1338	1335	1900	1855	1919	2,22	1,71	2,21	2,90	0,43	0,53	
28	no definido	1361	1360	-	1729	1661	-	6,84	9,00	3,46	3,10	-	0,28	
29	thymol acetate	1356	1356	1354	-	-	-	7,58	13,24	<b>10,99</b>	15,16	<b>11,30</b>	16,28	
30	$\alpha$ -copaene	1372	1372	1370	-	-	-	0,28	0,20	0,39	0,23	0,27	0,35	
31	$\beta$ -bourbonene	-	1379	1378	-	-	-	-	-	0,07	0,09	0,15	0,11	
32	no definido	1410	1410	1409	1824	1795	1846	1,47	1,28	0,78	0,66	2,12	1,77	
33	$\beta$ -caryophyllene	1416	1415	1414	1575	1518	1572	6,76	7,37	<b>6,76</b>	7,54	<b>6,60</b>	6,48	
34	$\alpha$ -humulene	1451	1451	1450	1650	1597	1645	0,53	0,52	0,72	0,55	0,53	0,43	
35	germacrene-D	1477	1477	1476	1691	1639	1694	1,14	1,27	1,64	1,52	0,91	0,67	
36	Germacrene- B	1492	1492	1490	-	-	-	3,13	3,10	3,21	2,47	2,61	2,66	
37	$\delta$ -cadinene	1516	1516	1514	1741	1691	1747	0,39	0,37	0,51	0,38	0,41	0,41	
38	spathulenol	1573	1573	1572	-	-	2156	0,14	0,18	0,19	0,16	0,31	0,35	
39	caryophyllene oxide	1577	1577	1576	1964	1923	1985	0,13	0,14	0,12	0,14	0,24	0,26	
								<b>TOTAL*</b>	<b>94,20</b>	<b>88,22</b>	<b>85,42</b>	<b>90,37</b>	<b>81,48</b>	<b>91,31</b>

<sup>a</sup> = Compuestos ordenados en base a la columna DB-5.

<sup>b</sup> = Índices de Kováts determinados experimentalmente en las diferentes fenologías.

<sup>c</sup> = Porcentajes promedio calculados en base al % área de los picos reportados en la columna DB-5 en MS

<sup>d</sup> = Porcentajes promedio calculados en base al % área de los picos reportados en la columna DB-5 en FID

\*= Sumatoria del % cantidad relativa encontrada en la columna DB-5-MS y DB-5-FID

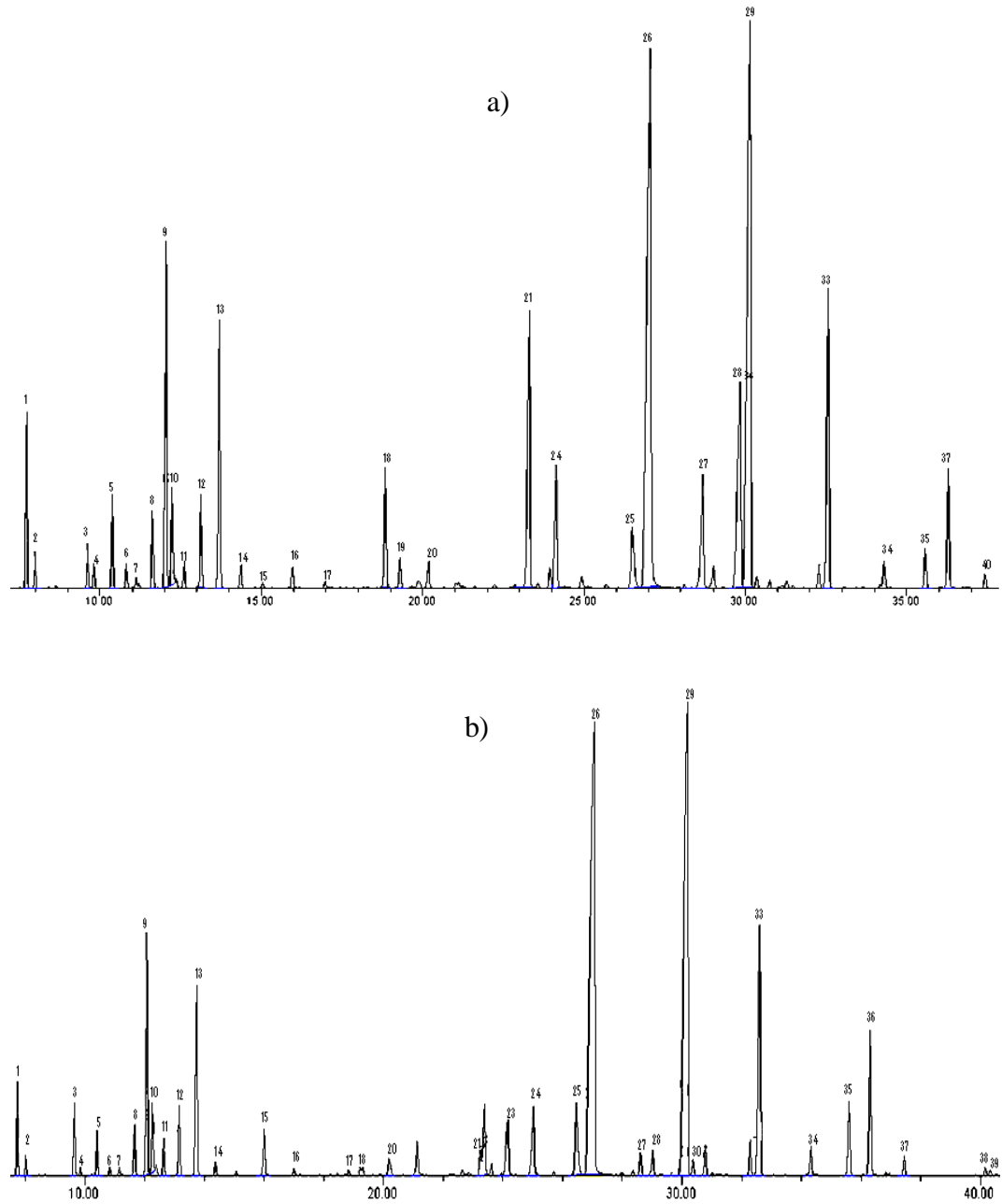
**Fuente:** Investigación Experimental

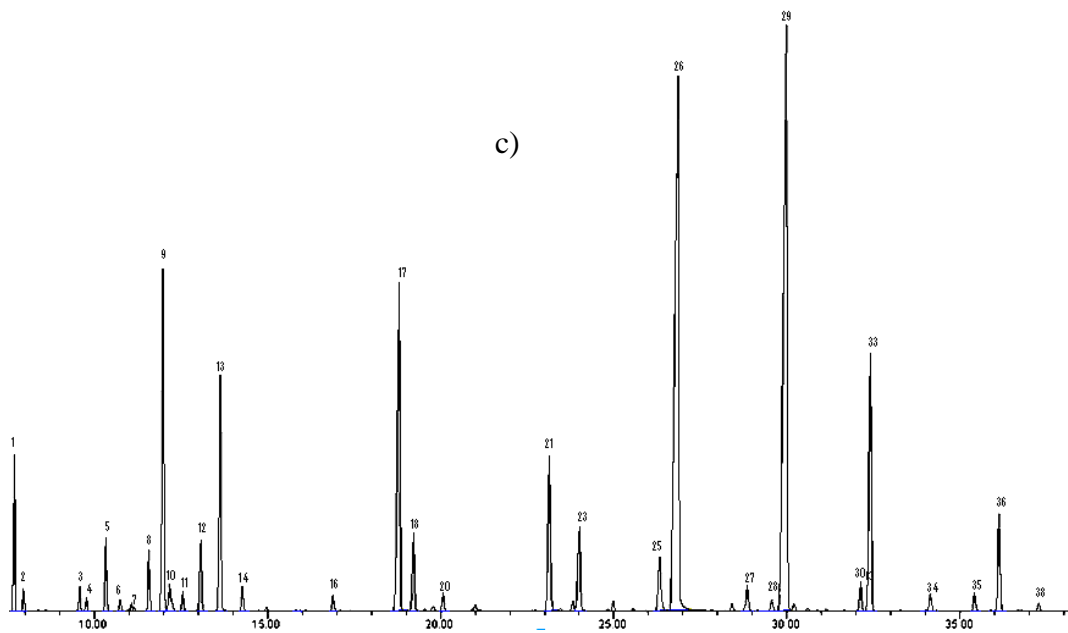
**Elaboración:** La Autora

En la siguiente figura se muestran los diferentes cromatogramas obtenidos del aceite esencial de *Minthostachys mollis* en la columna DB-5, en los diferentes estados fenológicos estudiados.



**Figura 15.** Cromatogramas del aceite esencial de *Minthostachys mollis* en tres fenologías. a) Foliación, b) Floración y c) Fructificación.





#### 4.4.3 Composición Química del Aceite de Poleo (*Minthostachys mollis*) en El Villonaco

En el aceite esencial de Poleo (*Minthostachys mollis*) proveniente de El Villonaco en estado de foliación se determinaron 35 compuestos en total, 22 se identificaron en las dos columnas mediante los índices de Kováts y los espectros de masas, que representan 90,31% del total del aceite esencial.

En el estado de foliación, los componentes mayoritarios fueron: pulegone (27,58%), menthone(22,3%),  $\beta$ -caryophyllene(9,61%), iso-menthone(4,23%), limonene(2,55%), carvone(2,46%), cis-dihydrocarvone(1,91%), carvacrol(1,78%), neo-menthol(1,48%), citronellol(1,42%), cis-ocimene(1,37%), trans- $\beta$ -ocimene(1,32%), germacrene-d(1,15%), geranial(1,03%).

En el estado de floración se determinaron 33 compuestos en total, 20 fueron identificados en las dos columnas, representando el 84,25% del total del aceite esencial.

En el estado de floración los componentes mayoritarios son los siguientes: menthone(22,8%), pulegone(20,94%),  $\beta$ -caryophyllene(9,68%), beta-gamma-terpinene(2,89%), carvacrol(2,72%), thymol(1,93%), germacrene-d(1,69%), p-cymene(1,67%), trans- $\beta$ -ocimene(1,41%), no-definido(1,27%), limonene(1,2%).



En el estado de fructificación se determinaron 37 compuestos en total, 22 fueron identificados en las dos columnas, representando el 85,78% del total del aceite esencial.

En la fructificación los componentes mayoritarios son: menthone(33,58%), pulegone(9,48%),  $\beta$ -caryophyllene(8,25%), cis-dihydro carvone(5,68%), iso-menthone(2,54%), piperitone(1,99%), neo-menthol(1,99%), isopulegone(1,91%), carvacrol(1,89%), carvone(1,71%), 2-octyl acetate(1,57%), cis-ocimene(1,32%), trans- $\beta$ -ocimene(1,26%), germacrene-D(1,21%).

Tabla 17. Composición química del aceite esencial de *Minthostachys mollis* en el Villonaco.

PICO Nº	a) COMPUESTO	b) IK						% CANTIDAD RELATIVA					
		DB5			INNOWAX			°F		°FL		°FT	
		F	FL	FT	F	FL	FT	°F	°FL	°FL	°FT	°FT	
1	$\alpha$ -thujene	947	947	951	-	-	-	0,15	0,13	0,22	0,20	0,14	0,15
2	$\alpha$ -pinene	952	952	956	1038	1079	-	0,48	0,46	0,41	0,37	0,40	0,44
3	sabinene	981	982	984	1134	1137	1116	0,61	0,69	0,55	0,41	0,54	0,50
4	$\beta$ -pinene	984	985	987	1119	1117	-	0,47	0,47	0,40	0,32	0,43	0,56
5	myrcene	994	995	997	1175	1180	1140	0,40	0,41	0,21	0,36	0,20	0,22
6	3-octanol	1003	1003	1005	1391	1350	1337	1,01	0,89	0,38	0,26	0,45	0,66
7	$\alpha$ -terpinene	1017	1018	-	-	1189	-	0,18	0,15	0,34	0,21	-	-
8	p-cymene	1024	1025	1026	1248	1258	1214	-	-	1,67	1,53	0,74	0,68
9	limonene	1028	1029	1030	1202	1205	1160	2,55	2,81	1,20	1,09	0,94	1,36
10	1,8-cineole	1031	1031	1032	-	-	-	0,72	0,36	0,33	0,38	0,42	0,50
11	cis-ocimene	1035	-	1034	1227	-	1191	1,37	0,64	-	-	1,32	0,38
12	trans- $\beta$ -ocimene	1048	1036	1046	1240	1262	1205	1,32	1,59	1,41	1,47	1,26	0,86
13	$\gamma$ -terpinene	1055	1056	1056	-	1238	1192	0,98	1,22	2,89	2,36	0,99	0,97
14	linalool	1097	1097	-	1540	1486	1527	0,56	0,59	0,24	0,47	-	-
15	2-octyl acetate	1116	-	1115	-	-	-	0,55	0,44	-	-	1,57	1,57
16	menthone	1153	1154	1153	1454	1397	1425	<b>22,30</b>	23,18	<b>22,80</b>	27,39	<b>33,58</b>	37,43
17	iso menthone	1160	-	1159	-	-	-	4,23	4,48	-	-	2,54	2,40
18	neo-menthol	1166	1167	1165	1583	1527	1568	1,48	1,19	1,41	1,37	1,99	1,59
19	isopulegone	-	1170	1169	-	-	-	-	-	0,69	0,62	1,91	0,43
20	cis-dihydrocarvone	1193	1194	1193	-	-	1578	1,91	2,05	2,95	3,83	5,68	6,74
21	citronellol	1229	-	1225	-	-	1790	1,42	1,3	-	-	0,58	0,47
22	pulegone	1237	1237	1233	1621	1569	1621	<b>27,58</b>	30,98	<b>20,94</b>	23,33	<b>9,48</b>	9,40
23	carvone	1241	1242	1238	1721	1675	1736	2,46	2,95	4,54	5,49	1,71	2,15
24	piperitone	-	1250	1248	-	-	1728	-	-	0,22	0,18	1,99	0,40
25	geranial	1266	-	1264	1733	-	-	1,03	1,42	-	-	0,35	0,37
26	thymol	1295	1295	1292	-	-	-	0,67	0,58	1,93	1,45	0,58	0,44
27	carvacrol	1303	1303	1300	-	-	-	1,78	1,21	2,72	3,40	1,89	1,28



28	no definido	1327	-	1321	1715	-	1730	0,30	0,22	-	-	0,36	0,30
29	piperitenone	-	1336	1333	-	-	-	-	-	0,31	-	0,53	0,43
30	citronellyl acetate	1350	-	1348	1669	1629	1695	0,49	0,42	-	-	0,57	0,29
31	no definido	1332	1362	-	1744	1672	-	0,13	0,12	1,27	-	-	-
32	thymol acetate	1364	1345	1362	-	-	-	0,91	0,53	0,40	0,17	0,66	0,12
33	$\alpha$ -copaene	1371	1372	1369	-	-	-	0,35	0,28	0,50	0,27	0,44	0,29
34	$\beta$ -bourbonene	-	1379	1377	-	1443	-	-	-	0,36	0,20	0,36	0,34
35	$\beta$ -caryophyllene	1416	1416	1414	-	1516	1559	<b>9,61</b>	6,91	<b>9,68</b>	7,46	<b>8,25</b>	9,16
36	$\alpha$ -humulene	1451	1451	1449	1654	-	1663	0,53	0,31	0,54	0,35	0,61	0,49
37	germacrene-D	1477	1477	1476	1694	1650	-	1,15	0,74	1,69	1,81	1,21	0,90
38	$\delta$ -cadinene	1492	1516	1514	1745	-	1765	0,47	0,34	0,66	0,32	0,54	0,38
39	spathulenol	-	1573	1572	-	-	2159	-	-	0,20	0,14	0,19	0,15
40	caryophyllene oxide	1577	1576	1576	1970	1925	2010	0,17	0,22	0,20	0,15	0,37	0,23
<b>TOTAL*</b>								<b>90,31</b>	<b>90,19</b>	<b>84,25</b>	<b>87,32</b>	<b>85,78</b>	<b>84,96</b>

<sup>a</sup> = Compuestos ordenados en base a la columna DB-5.

<sup>b</sup> = Índices de Kováts determinados experimentalmente en las diferentes fenologías.

<sup>c</sup> = Porcentajes promedio calculados en base al % área de los picos reportados en la columna DB-5 en MS

<sup>d</sup> = <sup>d</sup> = Porcentajes promedio calculados en base al % área de los picos reportados en la columna DB-5 en FID

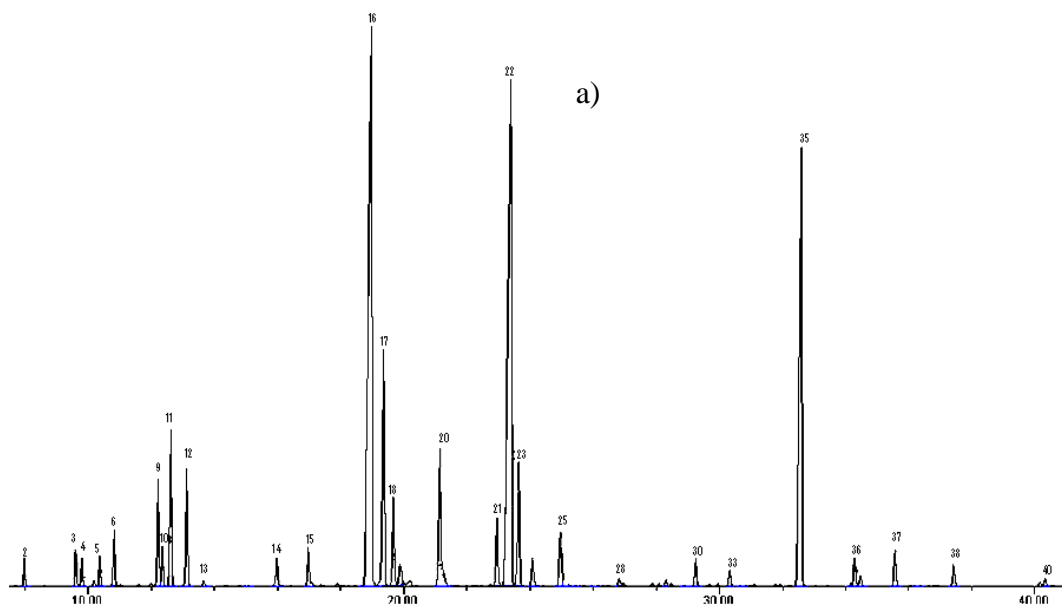
\*= Sumatoria del % cantidad relativa encontrada el columna DB-5-MS y DB-5-FID

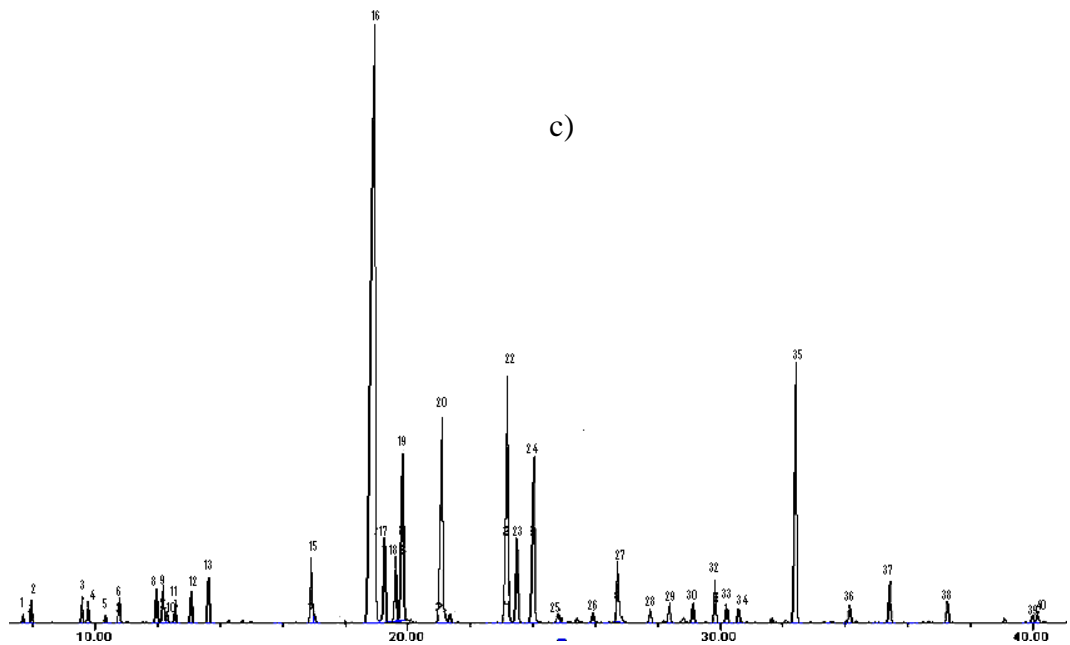
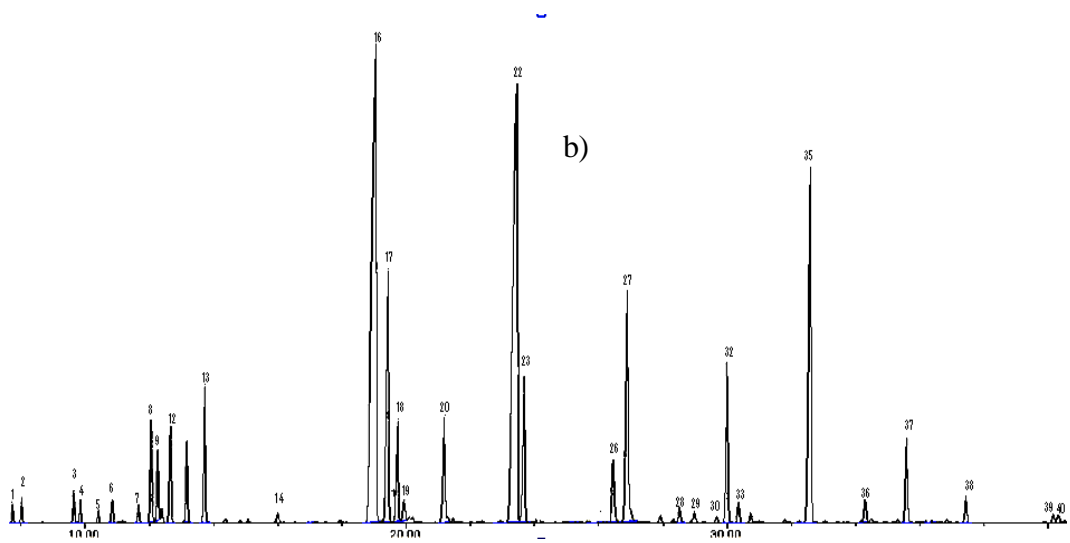
**Fuente:** Investigación Experimental

**Elaboración:** La Autora

En la siguiente figura se muestran los diferentes cromatogramas obtenidos del aceite esencial de *Minthostachys mollis* en la columna DB-5, en los diferentes estados fenológicos estudiados.

**Figura 16.** Cromatogramas del aceite esencial de *Minthostachys mollis* en tres fenologías. a) Foliación, b) Floración y c) Fructificación.





En este estudio se determinó que el compuesto con mayor abundancia fue el cis-dihydrocarvone en Chuquiribamba en los estados de F (12,54%), FL (13,48%), FT(13,62%), la menthone en El Tambo en los estados de F(22,30%), FL(22,80), FT(33,58) y en el Villonaco en los estados de F (22,30%), FL (22,80), FT (33,58), estos resultados son diferentes a los obtenidos en el estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb, realizado en las tres regiones Peruanas, los componentes principales que se determinaron



de acuerdo al lugar de procedencia fueron : En el aceite esencial de Tarma (Junín, región A. A. Cárceles): 1- tetradeceno(23,14 %), 2s-trans. mentona(23,00%) y pulegona(13,21%); en el aceite esencial de Huarez(Ancash. región Chavín): 2s-trans-mentona(4 1,48%), pulegona(16,02%),  $\gamma$ - terpineno(7,55%) y en el caso del aceite esencial de Pampas(Huancavelica, región Los Libertadores Wari): 2s-trans-mentona(34,51%), pulegona(28,62%), nerolidol(5,08%)<sup>13</sup>. De estos compuestos la pulegona es el compuesto que se ha determinado con mayor frecuencia presente en la mayoría de estudios pero con diferente porcentaje.

En las muestras de aceite esencial procedentes del Villonaco en sus tres estados fenológicos se obtuvo la pulegone y menthone como compuestos mayoritarios lo que se asemejan a los obtenidos en otro estudio realizado por profesionales de la UTPL y de la Universidad de Barcelona que obtuvieron la menthone (16%), acetato del carvacryl(10%), pulegone(10%) y cimenol(9%) como los componentes mayoritarios<sup>12</sup>.

En el "Tratado de Fitofármacos y Nutraceuticos", sobre la composición del aceite esencial de Poleo se ha determinado, que está compuesto principalmente por mentona(82%), pulegona(15,5%), d-isomentona, 1,8- cineol, carvona,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ - pineno, 1-limoneno, piperitona, ácido piperínico.

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.

En un estudio de variabilidad en poblaciones naturales de peperina 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

---

<sup>12</sup> MALAGÓN, O., et al., *Composition of Essential oils of four Medicinal Plants from Ecuador. flavors and fragrance*, 2003. 18:527-531.

<sup>13</sup> FUERTES, C., y MUNGUÍA Y.; *Estudio Comparativo del Aceite esencial (Menthosachys mollis) de Tres Regiones Peruanas* .Revista Ciencia e Investigación, 2001, Vol. IV 23-39



los componentes de aceite esencial en particular”<sup>24</sup>. Por esto es que se han reportado los componentes principales, del aceite esencial de Poleo (*Minthostachys mollis*) de acuerdo al lugar de su procedencia.

#### 4.4 Proporción relativa de los componentes del aceite esencial

Para el estudio de la proporción relativa del aceite esencial se utilizará el diseño factorial axb (2 variables con 3 niveles cada variable) (ver figura 1), con tres repeticiones cada tratamiento, obteniendo como variable respuesta el % de proporción relativa de los compuestos.

Los compuestos que se tomaron en cuenta para este análisis y que están presentes en todas las muestras de aceite esencial, aunque no todos sean los más representativos son los siguientes:  $\alpha$ -pinene, sabinene, limonene, trans- $\beta$ -ocimene, menthone, pulegone,  $\beta$ -caryophyllene, germacrene-D,  $\delta$ -cadinene.

Seguidamente en la Tabla 18, se exponen en detalle los resultados de la proporción relativa de los compuestos encontrados en todas las muestras del aceite esencial de Poleo (*Minthostachys mollis*) que corresponden a los compuestos identificados por GC-MS.

---

<sup>24</sup> OJEDA M., Coirini, R., COSIANSI, J., ZAPATA, R. y ZYGADLO, J. (2004). *Evaluation of variability in natural populations of peperina (Minthostachys mollis (Kunth) Griseb.), an aromatic species from Argentina*. PGR Newsletter 126: 27–30.





Tabla 18. Resultados experimentación en el proceso de extracción del AE

Tratamientos	% Proporción Relativa				
	Repeticiones			Sumatoria	Promedio
1	2	3			
a <sub>0</sub> b <sub>0</sub>	34,69	34,97	29,87	99,53	33,18
a <sub>0</sub> b <sub>1</sub>	34,52	46,96	37,70	119,18	39,73
a <sub>0</sub> b <sub>2</sub>	23,61	21,58	23,66	68,84	22,95
a <sub>1</sub> b <sub>0</sub>	66,86	63,02	68,38	198,26	66,09
a <sub>1</sub> b <sub>1</sub>	69,49	55,81	60,82	186,11	62,04
a <sub>1</sub> b <sub>2</sub>	53,81	56,65	69,34	179,80	59,93
a <sub>2</sub> b <sub>0</sub>	20,71	23,88	37,13	81,71	27,24
a <sub>2</sub> b <sub>1</sub>	14,91	16,85	16,52	48,27	16,09
a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>	22,99	27,08	14,76	64,83	21,61
<b>total</b>	<b>341,58</b>	<b>346,78</b>	<b>358,17</b>	<b>1046,54</b>	<b>348,85</b>

Fuente: Investigación directa

Elaboración: La Autora

En la figura 17, se presenta la representación esquemática del porcentaje de aceite esencial en relación a las variables estudiadas.

Figura 17. Gráfica del % de proporción relativa del aceite esencial en función del tratamiento utilizado



Fuente: Investigación Experimental

Elaboración: La autora



### Análisis de Varianza

En el ANEXO VII se especifica el tratamiento estadístico aplicado para estos datos experimentales.

**Tabla 19.** Datos para el diseño factorial en el proceso de extracción del AE

VARIABLE A	VARIABLE B			TOTAL
	b <sub>0</sub>	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	
a <sub>0</sub>	99,53	119,18	68,84	287,56
a <sub>1</sub>	198,26	186,11	179,80	564,17
a <sub>2</sub>	81,71	48,27	64,83	194,81
<b>TOTAL</b>	<b>379,50</b>	<b>353,56</b>	<b>313,47</b>	<b>1046,54</b>

Fuente: Investigación Experimental

Elaboración: La autora

En la tabla 20 se presenta los datos obtenidos en el análisis de varianza del proceso de extracción del aceite esencial de Poleo (*Minthostachys mollis*).

**Tabla 20.** Análisis de varianza para el % de proporción relativa del aceite esencial

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA CUADRÁTICA	Fc	F(0,05)
VARIABLE A	8205,08	2	4102,54	126,622	*3,55
VARIABLE B	245,98	2	122,99	3,796	*3,55
INTERACCIÓN AB	428,22	4	107,06	3,304	DS 2,93
ERROR	583,20	18	32,40		
<b>TOTAL</b>	<b>9462,47</b>	<b>26</b>	<b>4364,98</b>		

\* = Diferencia significativa de las medias entre tratamientos y los valores calculados Fc

Fuente: Investigación Experimental

Elaboración: La Autora

Para la variable A, zonas de recolección (Ver Tabla 20), el valor calculado de Fc (126,622) es mayor que el valor  $F_{0,05, 2, 18}$  (3,55), la diferencia es significativa y la zona de recolección si influye en el porcentaje de proporción relativa de los compuestos químicos del aceite esencial de Poleo (*Minthostachys mollis*).

Para la variable B, fenología (Ver Tabla 20), el valor calculado de Fc (3,796) es mayor que el valor leído  $F_{0,05, 2, 18}$  (3,55), por lo tanto el estado fenológico de la especie si influye en el porcentaje de proporción relativa de los compuestos químicos del aceite esencial de Poleo (*Minthostachys mollis*).

Después de realizado el análisis de varianza la prueba F, se ha determinado que el  $F_c > F_{(0,05)}$ , tanto para el caso de la variable A, para la variable B y para la



interacción entre los dos, por lo tanto se acepta la hipótesis H3 y se rechaza la hipótesis H4, en consecuencia la zona de recolección y la fenología de la especie influye en el porcentaje de proporción relativa de los compuestos químicos del aceite esencial de Poleo (*Minthostachys mollis*).

### PRUEBAS DE COMPARACIÓN MÚLTIPLES

Se realiza la prueba de comparación múltiple con el fin de determinar los parámetros óptimos en la obtención de aceite esencial, mediante una comparación entre los distintos tratamientos. Determinando que T4 es el mejor tratamiento, es decir el estado de foliación en El Villonaco son los parámetros óptimos para obtener mayor porcentaje de proporción relativa de componentes químicos. En el ANEXO VIII, se encontrará los pasos respectivos para la prueba de comparación múltiples.

Tabla 21. Tabla resumen de comparaciones múltiples entre tratamientos

TRATAMIENTOS	T4	T5	T6	T2	T1	T7	T3	T9	T8	D <sub>18,0,05</sub>	
T4(a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> )	66,09	4,05	2,10	*20,21	6,55	5,94	4,29	1,34	21,61	-	9,760
T5(a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> )	62,04	6,15	*22,31	*26,76	*12,49	10,23	5,63	6,86			10,253
T6(a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> )	59,93	*26,36	*28,86	*32,69	*16,78	*11,57	*11,15				10,549
T2(a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> )	39,73	*32,91	*34,80	*36,98	*18,12	*17,09					10,746
T1(a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> )	33,18	*38,85	*39,09	*38,32	*23,64						10,911
T7(a <sub>2</sub> b <sub>0</sub> )	27,24	*43,14	*40,43	*43,84							11,009
T3(a <sub>0</sub> b <sub>2</sub> )	22,95	*44,48	*45,95								11,075
T9(a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> )	21,61	*50,00									11,141
T8(a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> )	16,09										

\* = Diferencia significativa de las medias entre tratamientos y los valores calculados de las amplitudes mínimas  $D_{0,05}$

Fuente: Investigación Experimental

Elaboración: La autora

Como la diferencia entre las medias es mayor que el valor calculado  $D_{18,0,05}$  entonces las medias son significativas y se presentan en la mayoría de los tratamientos.

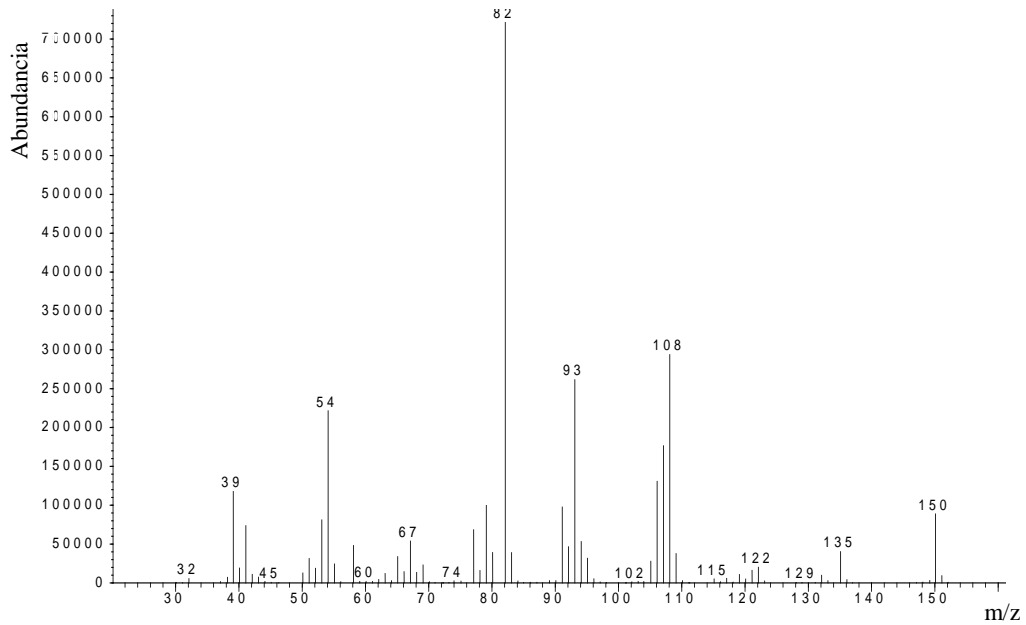
### 4.5 Espectros de los compuestos representativos del aceite esencial de Poleo (*Minthostachys mollis*)

Los espectros que se muestran a continuación corresponden a los compuestos mas representativos, presentes en el aceite esencial de Poleo (*Minthostachys mollis*)



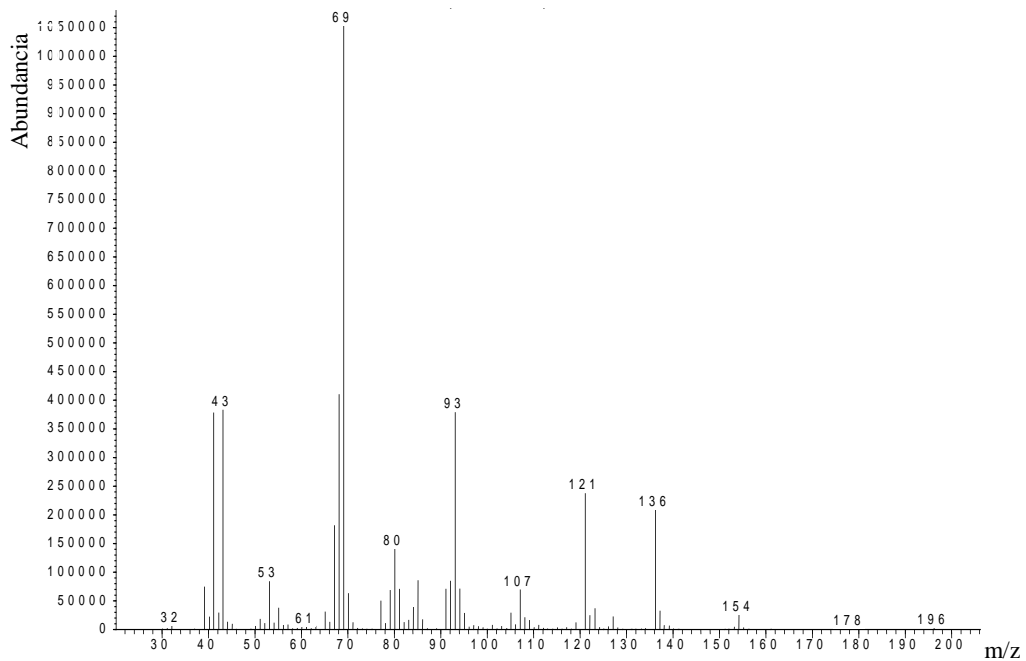
### Carvone

150(11.94), 135(5.40), 122(2.69), 108(39.55), 93(35.19), 82(100), 67(7.23), 54(29.81), 39(15.83).



### Neryl Acetate

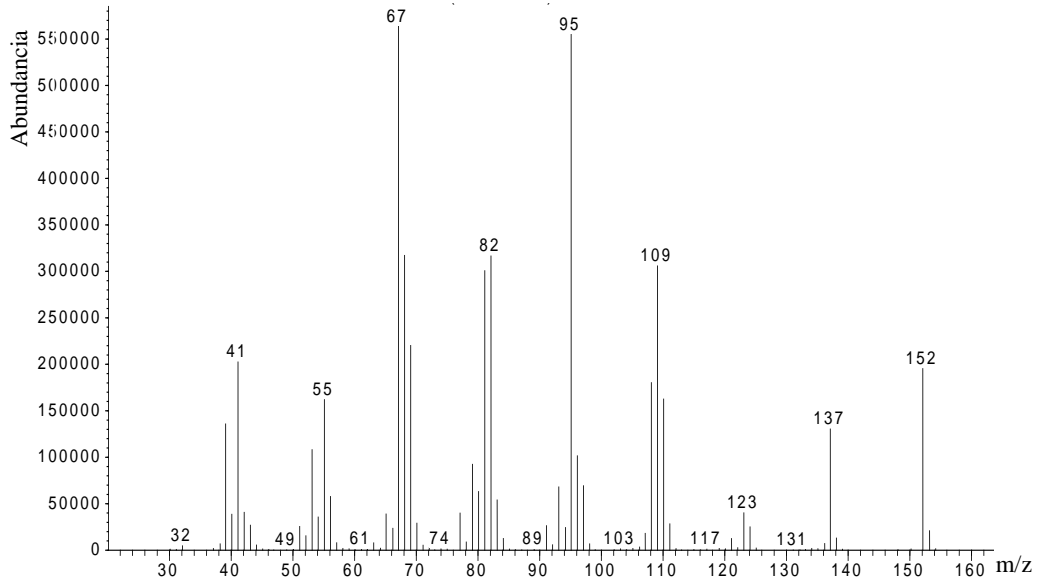
154(2.26), 136(19.22), 121(21.93), 107(6.37), 93(35.02), 80(12.93), 69(100), 53(7.71), 43(35.41).





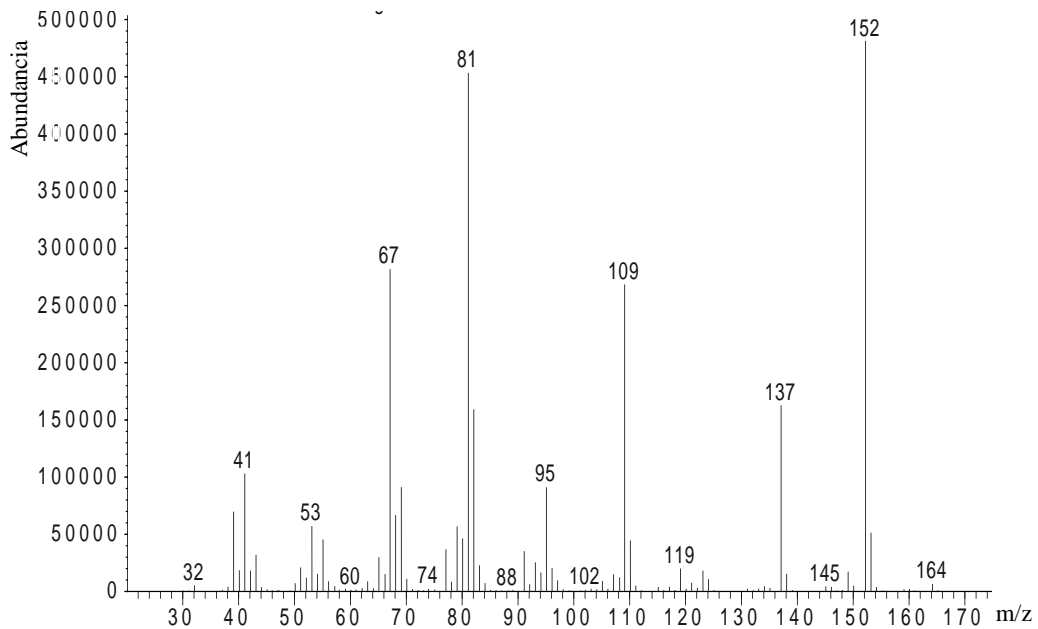
### cis-dihydrocarvone

152(33.37), 137(22.27), 123(6.85), 109(52.26), 95(94.81), 82(54.08), 67(100) 55(27.66), 41(34.59).



### Pulegone

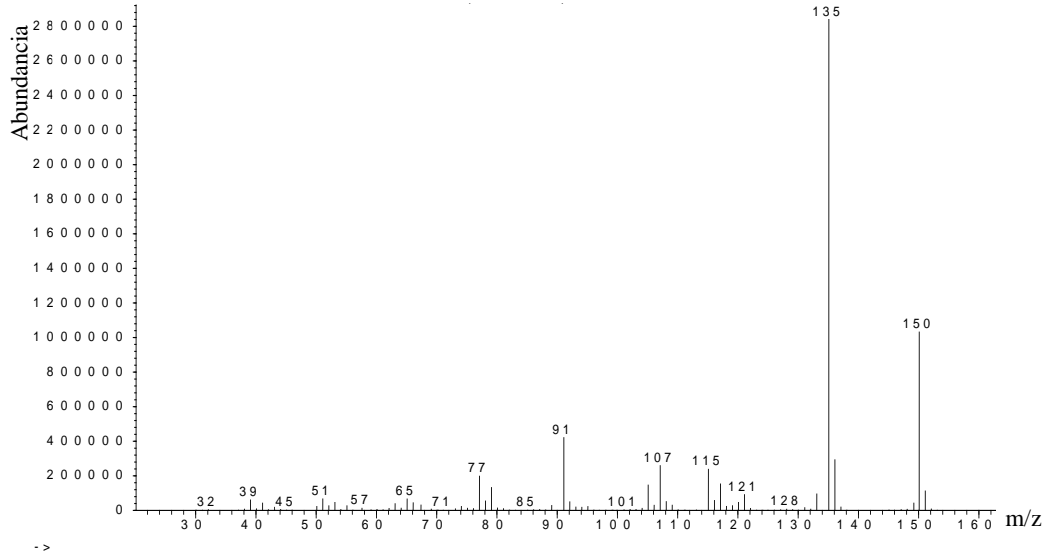
152(100), 137(32,21), 119(3,88), 109(53,23), 95(18,00), 81(89,97), 67(55,89), 53(11,26), 41(20,40).





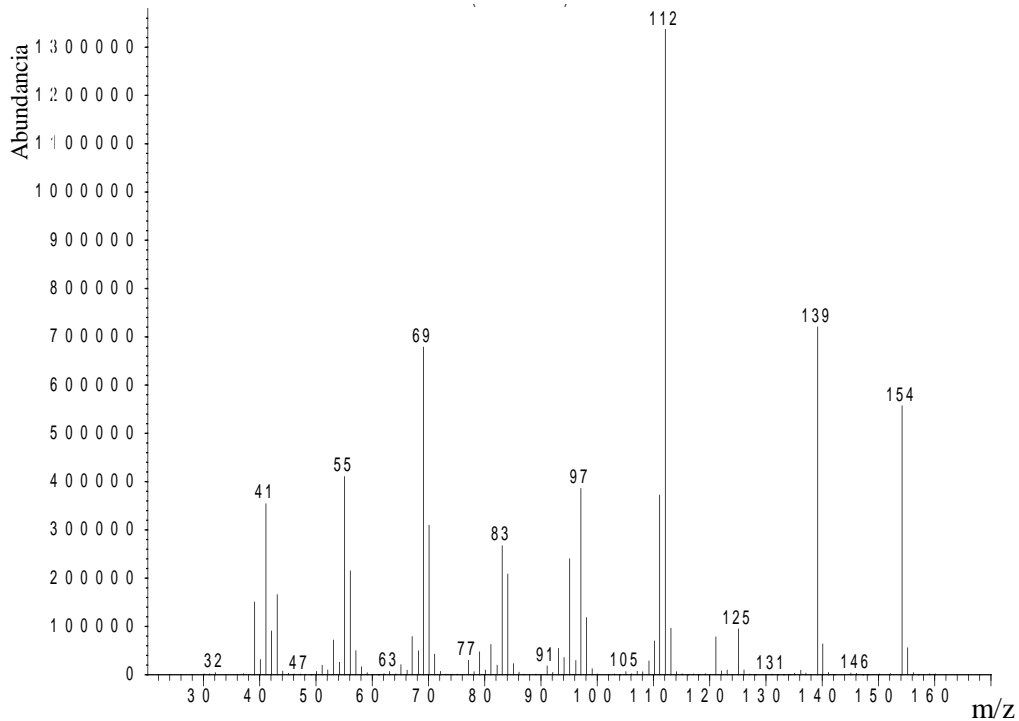
### Carvacrol

150(35,27), 135(100), 121(3,09), 115(8,11), 107(8,84), 91(14,38), 77(6,76), 65(2,25), 51(2,25), 39(2,04).



### Menthone

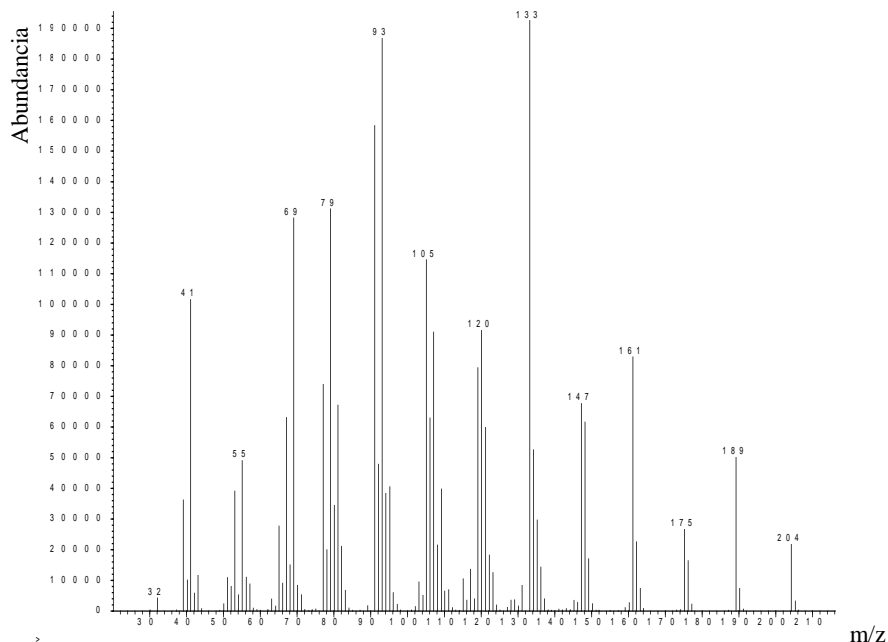
154(40,34), 139(52,18), 125(6,84), 112(100), 97(27,93), 91(1,27), 83(19,32), 77(2,10), 69(49,14), 55(29,69), 41(25,62).





### $\beta$ -caryophyllene

204(11,06), 189(25,57), 175(13,54), 161(42,25), 147(34,50), 133(100), 120(46,64), 105(58,41), 93(95,23), 79(66,86), 69(65,36), 55(24,99), 41(51,78), 32(2,14).



#### 4.6 COMPARACIÓN DEL % DE PROPORCIÓN RELATIVA DE LOS COMPUESTOS MAYORITARIOS DEL ACEITE ESENCIAL.

En la tabla a continuación se muestran los compuestos mayoritarios del aceite esencial de *Minthostachys mollis*, presentes en todas las muestras de aceite esencial.

**Tabla 22.** Compuestos presentes en el Aceite esencial de *Minthostachys mollis*

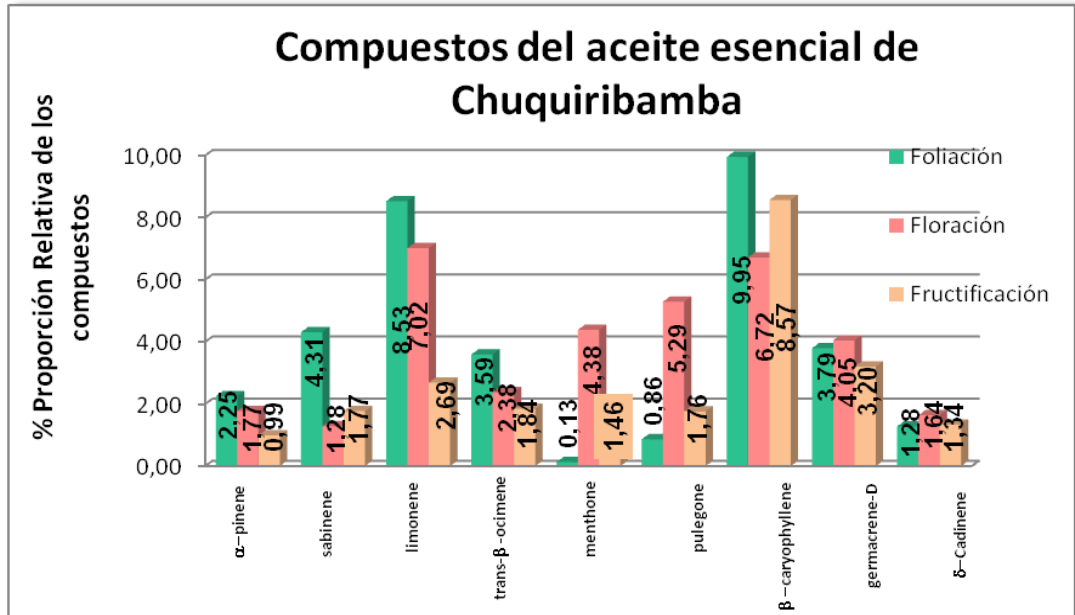
Compuesto	% Proporción relativa de los compuestos en el aceite esencial								
	CHUQUIRIBAMBA			EI TAMBO			VILLONACO		
	F	FL	FT	F	FL	FT	F	FL	FT
$\alpha$ -pinene	2,25	1,77	0,99	0,46	0,32	0,35	0,45	0,53	0,38
sabinene	4,31	1,28	1,77	0,61	1,22	0,40	0,29	0,85	0,52
limonene	8,53	7,02	2,69	1,72	1,53	0,73	2,27	1,29	0,87
trans- $\beta$ -ocimene	3,59	2,38	1,84	1,47	1,38	1,34	1,08	1,32	2,37
menthone	0,13	4,38	1,46	2,25	0,12	8,98	21,69	23,32	29,80
pulegone	0,86	5,29	1,76	6,59	0,60	4,03	31,14	22,91	8,01
$\beta$ -caryophyllene	9,95	6,72	8,57	6,59	7,45	6,55	7,89	9,30	10,50
germacrene-D	3,79	4,05	3,20	0,75	1,81	0,42	1,53	1,27	0,95
$\delta$ -cadinene	1,28	1,64	1,34	0,28	0,46	0,18	0,52	0,68	0,42

Fuente: Investigación Experimental  
Elaboración: La autora



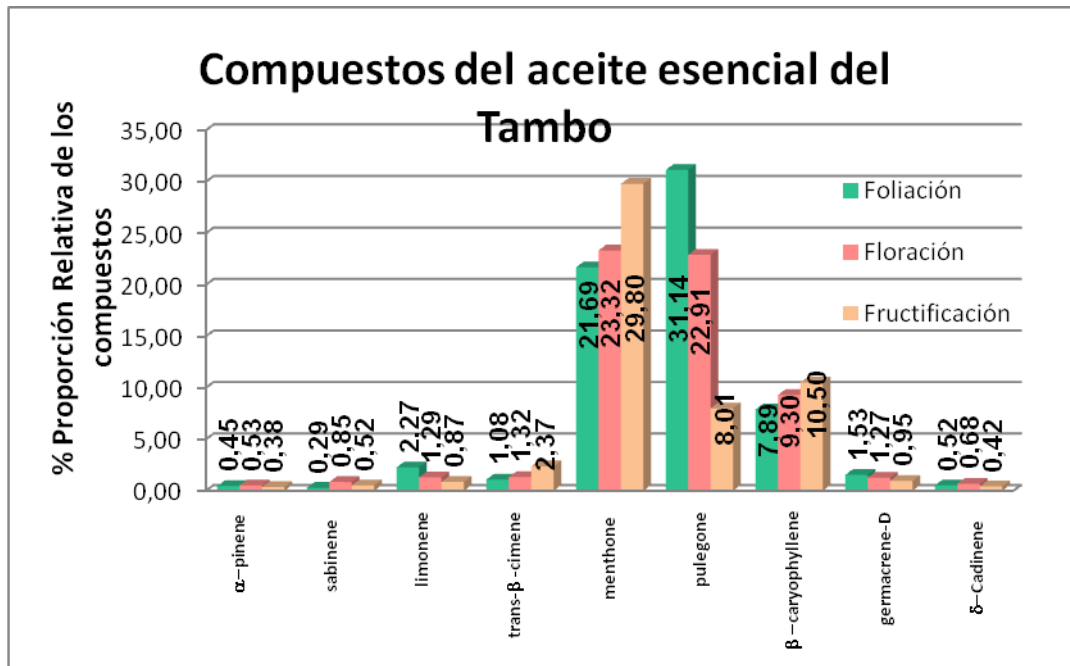
En la figura 18, 19 y 20 se muestran los compuestos presentes en el aceite esencial, obtenido en Chuquiribamba, El Tambo y el Villonaco se compara la variabilidad cuantitativa que existe entre cada fenología.

Figura 18. Variabilidad cuantitativa entre las diferentes fenologías de Chuquiribamba



Fuente: Investigación Experimental  
Elaboración: La Autora

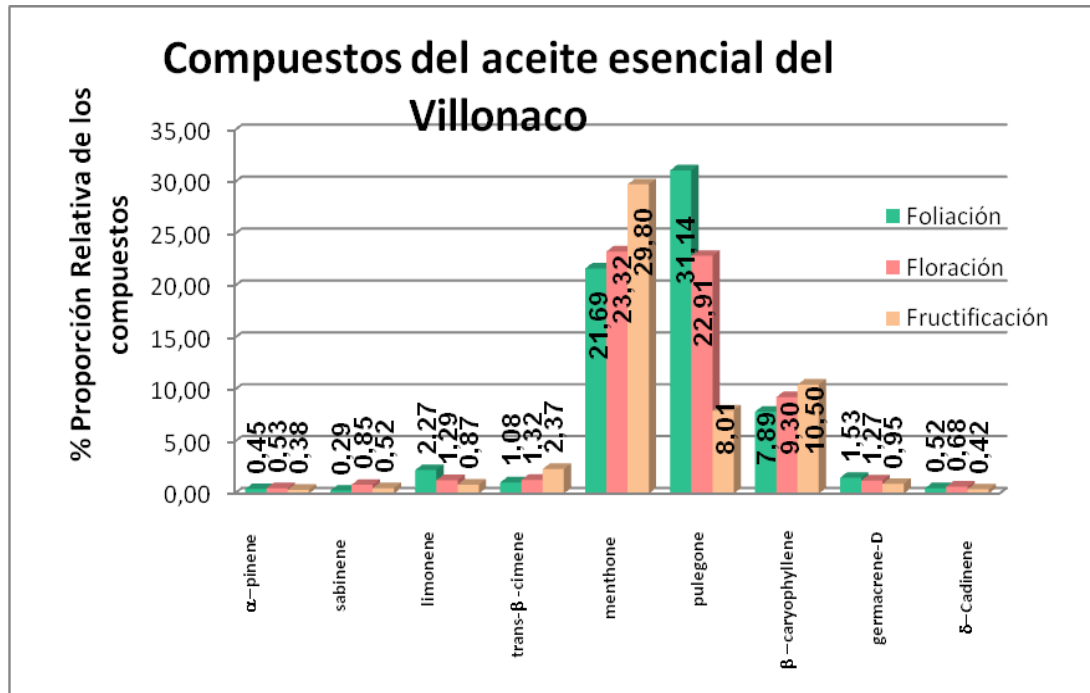
Figura 19. Variabilidad cuantitativa entre las diferentes fenologías de El Tambo.



Fuente: Investigación Experimental  
Elaboración: La Autora

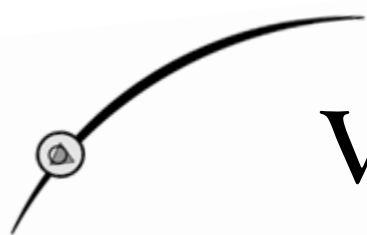


Figura 20. Variabilidad cuantitativa entre las diferentes fenologías del Villonaco



Fuente: Investigación Experimental  
Elaboración: La autora

Con la representación gráfica mostrada anteriormente del % de cantidad relativa de los componentes más comunes presentes en todas las muestras de aceite esencial de *Minthostachys mollis*, se puede apreciar que se presenta una variación entre los componentes presentes en las muestras de aceites extraídas en las diferentes fenologías.



## V. *Conclusiones*



## V CONCLUSIONES

- El mayor rendimiento obtenido fue en El Tambo durante la fructificación (0,38%) y el menor rendimiento en Chuquiribamba durante el estado de floración (0,07%).
- El estado fenológico en el que se obtiene mejor rendimiento es durante la fructificación en Chuquiribamba y El Tambo, mientras que en el Villonaco durante la Floración.
- Se ha determinado que la zona y la fenología de la especie *Minthostachys mollis* influyen en el % de aceite esencial obtenido.
- La densidad es mayor en El Tambo durante la foliación y floración y menor en las muestras de Chuquiribamba, mientras que en la fructificación la densidad es mayor en el Tambo pero menor en el Villonaco.
- El valor más alto del índice de refracción en los tres estados fenológicos fueron los determinados en El Tambo y el más bajo índice de refracción en Chuquiribamba.
- La actividad óptica del aceite esencial en los tres lugares es de carácter dextrógira (+) durante la foliación, en la floración es levógira (-) en Chuquiribamba y El Tambo, excepto en Villonaco que es dextrógira (+) y durante la fructificación la actividad óptica es de carácter levógira (-) en El Tambo y Villonaco, excepto en Chuquiribamba que es de carácter dextrógira (+).
- Los valores de las propiedades físicas difieren dependiendo del lugar y estado fenológico.



- Del análisis estadístico se ha determinado que la zona y la fenología influyen en el % de proporción relativa de los compuestos químicos del aceite esencial de *Minthostachys mollis*.
- En el aceite esencial de Poleo (*Minthostachys mollis*) proveniente de Chuquiribamba en estado de foliación se determinaron 37 compuestos en total, 21 de los cuales se identificaron en las dos columnas que representan 87,01%. En el estado de floración se determinaron 38 compuestos en total, 18 fueron identificados en las dos columnas, representando el 99,24%. En el estado de fructificación se determinaron 35 compuestos en total, 15 se identificaron en las dos columnas, representando el 90,38% del total del aceite esencial.
- Los compuestos mayoritarios en el aceite esencial de Chuquiribamba durante la foliación fueron: cis-dihydrocarvone(12,54%), carvone(9,59%), neryl-acetate(8,9%),  $\beta$ -caryophyllene(8,77%), limonene(7,46%), sabinene(4,25%), germacrene-d(3,19%), pulegone(3,02%), trans- $\beta$ -ocimene(2,81%), cis-ocimene(2,17%), linalool(2,16%), iso-menthone(1,7%), alpha-pinene(1,68%), geraniol(1,59%), germacrene-b(1,46%), geranial(1,46%), menthone(1,29%),  $\delta$ -cadinene(1,26%),  $\beta$ -pinene(1,18%), citronellol(1,1%),  $\alpha$ -humulene(1,07%), 1,8-cineole(1,00%).
- En el estado de floración en Chuquiribamba los compuestos mayoritarios fueron: cis-dihydrocarvone(13,48%), limonene(9,3%),  $\beta$ -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- $\beta$ -ocimene(3,1%), menthone(3,05%), trans-dihydrocarvone(2,53%), germacrene-B(2,38%), carvone(2,35%),  $\delta$ -cadinene(1,82%), sabinene(1,76%), citronellol(1,74%).
- En la fructificación en Chuquiribamba los compuestos mayoritarios fueron: cis-dihydrocarvone(13,62%), no-definido(12,97%), geranyl



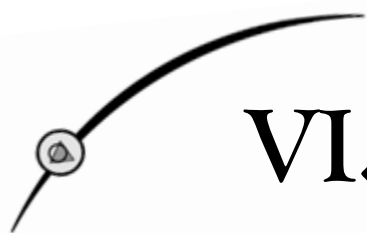
acetate(10,77%),  $\beta$ -caryophyllene(8,66%), limonene(3,56%), carvone(3,06%), iso-menthone(2,94%), germacrene-D(2,92%), citronellol (2,21%), citronellal(2,06%), geranial(1,95%), trans $\beta$ -ocimene(1,91%), citronellyl acetate(1,86%), 1,8-cineole(1,7%), dihydrocarvyl acetate(1,7%), sabinene(1,53%), cis-ocimene(1,46%), pulegone(1,42%),  $\delta$ -cadinene (1,27%), 2-octylacetate(1,13%),  $\alpha$ -copaene(1,12%), linalool (1,03%).

- En el aceite esencial proveniente de El Tambo en estado de foliación se determinaron 37 compuestos en total, 17 se identificaron en las dos columnas que representan 94,20%. En el estado de floración se determinaron 38 compuestos en total, 19 fueron identificados en las dos columnas, representando el 85,42% del total del aceite esencial y en fructificación se determinaron 36 compuestos en total, 16 se identificaron en las dos columnas, representando el 81,48% del total del aceite esencial.
- En el estado de foliación en El Tambo, los compuestos mayoritarios fueron: carvacrol(17,79%), pulegone(9,49%), cis-carvone oxide (8,24%), thymol acetate(7,58%), no-definido(6,84%),  $\beta$ -caryophyllene(6,76%), p-cymene(4,75%), germacrene-B(3,13%), trans- $\beta$ -ocimene(2,81%), limonene(2,72%), menthone(2,71%),  $\gamma$ -terpinene(2,26%), piperitenone(2,22%),  $\alpha$ -thujene(1,92%), iso-menthone(1,75%).
- En la floración en El Tambo los compuestos mayoritarios fueron: carvacrol(27,27%), thymol acetate(10,99%),  $\beta$ -caryophyllene(6,76%), p-cymene(5,47%),  $\gamma$ -terpinene(3,77%), no-definido(3,46%), germacrene-B(3,21%), pulegone(2,8%), thymol(2,72%), piperitenone(2,21%), germacrene-D(1,64%),  $\alpha$ -thujene(1,62%), cis-carvone oxide(1,4%), trans- $\beta$ -ocimene(1,32%), limonene(1,2%), citral(1,0%),  $\alpha$ -terpinene(0,96%), sabinene(0,85%), menthone(0,8%), myrcene(0,74%).
- En la fructificación los compuestos mayoritarios fueron: carvacrol(21,36%), thymol acetate(11,3%),  $\beta$ -caryophyllene(6,6%), p-cymene(6,08%), pulegone(3,27%), germacrene-B(2,61%), no



definido(2,12%)  $\gamma$ -terpinene(2,06%), menthone(2,02%),  $\alpha$ -thujene(1,85%), thymol(1,81%), linalool(1,47%), trans- $\beta$ -ocimene(1,46%), myrcene(1,11%).

- En el aceite esencial de Poleo (*Minthostachys mollis*) proveniente de el Villonaco en estado de foliación se determinaron 34 compuestos en total, 16 se identificaron en las dos columnas que representan 90,31%. En floración se determinaron 33 compuestos en total, 14 fueron identificados en las dos columnas, representando el 84,25% del total del aceite esencial y en fructificación se determinaron 37 compuestos en total, 20 fueron identificados en las dos columnas, representando el 85,78% del total del aceite esencial.
- En el estado de foliación en el Villonaco, los compuestos mayoritarios fueron: pulegone(27,58%), menthone(22,3%),  $\beta$ -caryophyllene(9,61%), iso-menthone(4,23%), limonene(2,55%), carvone(2,46%), cis-dihydrocarvone(1,91%), carvacrol(1,78%), neo-menthol(1,48%), citronellol(1,42%), cis-ocimene(1,37%), trans- $\beta$ -ocimene(1,32%), germacrene-D(1,15%), geranial(1,03%).
- En la floración en el Villonaco los compuestos mayoritarios son los siguientes: menthone(22,8%), pulegone(20,94%),  $\beta$ -caryophyllene(9,68%),  $\beta$ - $\gamma$ -terpinene(2,89%), carvacrol(2,72%), thymol(1,93%), germacrene-D(1,69%), p-cymene(1,67%), trans- $\beta$ -ocimene(1,41%), no-definido(1,27%), limonene(1,2%).
- En la fructificación en el Villonaco los componentes mayoritarios son: menthone(33,58%), pulegone(9,48%),  $\beta$ -caryophyllene(8,25%), cis-dihydrocarvone(5,68%), iso-menthone(2,54%), piperitone(1,99%), neo-menthol(1,99%), isopulegone(1,91%), carvacrol(1,89%), carvone(1,71%), 2-octyl acetate(1,57%), cis-ocimene(1,32%), trans- $\beta$ -ocimene(1,26%), germacrene-D(1,21%).



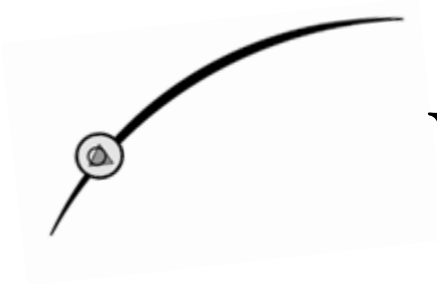
## VI. *Recomendaciones*



## VI RECOMENDACIONES

- ✿ Realizar un manejo y explotación sustentable de esta especie, recurso natural con el fin de preservarla y evitar su extinción.
- ✿ Efectuar estudios sobre la densidad poblacional silvestre de otras especies que sean sometidas a futuras investigaciones para evitar la declinación en su hábitat.
- ✿ Procurar en lo posible hacer una recolección y selección adecuada de la materia vegetal silvestre de lo contrario podría afectar en lo posterior la obtención de resultados.
- ✿ Desarrollar otros estudios sobre la caracterización de nuevas especies silvestres que aún no han sido evaluadas y conocer sus potencialidades para el aprovechamiento por parte de la humanidad.
- ✿ Generar en base a la caracterización físico-química del Poleo (*Minthostachys mollis*) realizada en el presente estudio, investigaciones posteriores con el fin de aislar sus compuestos mayoritarios para la elaboración de fitofármacos en el tratamiento de enfermedades.
- ✿ Si el interés científico o industrial es estudiar o desarrollar nuevas investigaciones sobre esta especie, señaló que del presente estudio, en el lugar mencionado (El Tambo) se obtiene el mejor rendimiento del aceite esencial pero también son recomendables los otros dos lugares.





## VII. *Anexos*



<b>DETERMINACIÓN DE HUMEDAD</b>	<b>ANEXO I</b>
---------------------------------	----------------

### **Principio:**

La pérdida de peso de la muestra, debido a que es sometida a altas temperaturas en una estufa durante un tiempo determinado.

### **Material**

- Estufa
- Pinza
- Balanza
- Crisol
- Desecador

### **Procedimiento**

- Pesar en una cápsula o luna de reloj de 2 a 10 gramos de la muestra; seguidamente colocarla durante dos horas en una estufa a 105°C (+/- 5°C).
- Enfriar la cápsula en el desecador por 10 min. aproximadamente, hasta que la temperatura de la cápsula se iguale a la temperatura ambiente. Luego pesar y anotar el peso.
- Colocar la cápsula nuevamente en la estufa durante una hora, enfriar en el desecador y pesar.
- Repetir el procedimiento hasta que el peso de la cápsula sea constante. Dicho peso se toma como m2.

### **Cálculo**

$$Hm = (m1 - m2 / m1 - m) * 100$$

### **Donde:**

Hm = % de humedad

m = peso de la cápsula vacía (gr).

m1 = peso de la cápsula + muestra a analizar (gr).

m2 = peso de la cápsula + muestra seca (gr).



<b>CALCULO DEL RENDIMIENTO EN BASE HÚMEDA Y BASE SECA</b>
---

ANEXO II
----------

- a) Se tomó el peso de la materia vegetal fresca y se determinó su humedad.

$$P = 1055 \text{ gr.}$$

$$H_m = 58,20 \%$$

Se partió de una misma muestra recolectada, dividida en partes iguales de las cuales una se dejó secar al ambiente.

- b) Obtener el peso de la planta en base húmeda

$$P_{bh} = 1055 - \left( \frac{1055 * 58,20}{100} \right) = 440,94\%$$

Aplicando la relación anterior descrita se obtiene el peso de la materia vegetal en base húmeda es decir sin contar la cantidad de agua existente.

- c) Obtener el rendimiento en base húmeda.

$$V = 0,52 \text{ ml}$$

$$P_{bh} = 440,94$$

$$R = \frac{0,52}{440,94 * 100} = 0,12\%$$

Con el peso de la materia vegetal como tal se calcula el rendimiento en base húmeda.

- d) Se realiza el mismo procedimiento con la materia vegetal seca.

$$H_m = 58,20\%$$

$$P = 605 \text{ gr.}$$

$$P_{bs} = 422,89\%$$

$$V = 0,35 \text{ ml}$$

$$R = 0,08 \%$$

- e) Se realizó algunas experiencias y se comprobó que el rendimiento del aceite esencial es menor en la materia vegetal seca en comparación con el rendimiento en húmedo, de tal manera que la materia vegetal se destiló en fresco.



<b>DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA A 20 °C</b>	<b>ANEXO III</b>
--	------------------

### **Principio:**

La densidad relativa a 20°C de un aceite esencial se define como la masa de un determinado volumen de aceite esencial a 20°C sobre la masa de un volumen igual de agua destilada a 20°C.

### **Nota:**

- Si es necesario operar a una temperatura diferente debido a la naturaleza del aceite para indicar la norma referente al aceite esencial. La corrección para 20°C es de 0.0007 a 0.0008 por grado centígrado.
- La masa volumétrica a 20°C de un aceite esencial se reporta como la masa de un cierto volumen del aceite esencial a 20°C.

### **Aparatos:**

- Picnómetro de vidrio.
- Baño termostático, mantenido a una temperatura de 20°C ± 0.2°C.
- Termómetro de precisión graduado de 10 a 30°C, con una variación de 0.2°C a 0.1°C.
- Balanza analítica.

### **Procedimiento:**

- **Preparación del picnómetro:** Limpiar rigurosamente y luego enjuagar el picnómetro, lavar con etanol y luego con acetona, pasarlo por una corriente de aire seco. Si es necesario secar el exterior del picnómetro con un trapo seco o con papel filtro. Cuando se equilibre la temperatura en el



cuarto de la balanza, pesar el picnómetro, con el tapón en su sitio con 1mg de precisión.

- **Peso del agua destilada:** Llenar el picnómetro con agua recién destilada, que esté a una temperatura de 20°C. Coloque el picnómetro en el baño termostático. Durante 30 minutos ajustar el nivel del agua hasta la marca, poner el tapón del picnómetro en su sitio, secar el exterior del picnómetro con un trapo seco o papel filtro. Cuando se equilibre la temperatura con el cuarto de balanzas pesar el picnómetro lleno con el tapón en su sitio con un mg de precisión lleno igual que en el caso anterior.
- **Peso del aceite esencial:** Vaciar el picnómetro, luego enjuagar y secar como en el inicio. Efectuar las mismas operaciones solo que esta vez será con aceite esencial en lugar de agua.

#### **Expresión de resultados:**

La densidad relativa se la expresa con la siguiente fórmula:

$$d_{20}^{20} = \frac{m2 - m0}{m1 - m0}$$

#### **Donde:**

$d_{20}^{20}$  = densidad relativa a 20°C, referido al agua a 20°C.

$m0$  = masa en gramos del picnómetro vacío.

$m1$  = masa en gramos del picnómetro con agua.

$m2$  = masa en gramos del picnómetro con aceite esencial.

Se expresará los resultados con tres decimales.



## DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN

ANEXO IV

### Principio:

Según el tipo de aparato que utilice, la medida directa del ángulo de refracción o la observación del límite de refracción total. El aceite se mantendrá dentro de las condiciones de iso-tropismo y de transparencia.

### Definición:

El Índice de Refracción de un aceite esencial es el producto entre el seno del ángulo de incidencia y el seno del ángulo de refracción de un rayo luminoso de longitud de onda determinada, que pasa desde el aire a través del Aceite Esencial, manteniendo la temperatura constante.

La longitud de onda específica es  $(589.3 \pm 0.3)\text{nm}$ , correspondiente a la radiación D1 y D2 del espectro de sodio.

La temperatura de referencia es de  $20^\circ\text{C}$ , salvo para los aceites esenciales que no son líquidos a esa temperatura. En este caso se deben adoptar las temperaturas de  $25$  y  $30^\circ\text{C}$  según el punto de fusión del aceite considerado.

### Aparatos:

**Refractómetro:** Utilicé un refractómetro clásico que permita la lectura de los índices de refracción entre:  $1.300$  y  $1.700$  o con una precisión de  $\pm 0.0002$ .

Ajusté el aparato de manera que a una temperatura de  $20^\circ\text{C}$ , se tengan los siguientes índices de refracción según:

$1.3330$  para agua destilada.



1.4906 para el p-cimeno.

1.5685 para el benzoato de bencilo.

1.6585 para el 1-bromo naftaleno.

Los productos patrón deben ser puros, de calidad para refractometría, deben también ajustarse con una lámina de índice de refracción conocida, según las indicaciones de fabricación del equipo.

### **Modo de operación:**

**Determinación** Pasar una corriente de agua en el refractómetro, a fin de mantener el aparato a la temperatura de referencia de 20°C salvo para los aceites esenciales que nos son líquidos a esa temperatura. En este caso deben adoptarse las temperaturas de 20°C y 30°C, según el punto de fusión del aceite esencial considerado. Esta temperatura no debe diferir de la temperatura de referencia más de  $\pm 0.2^\circ\text{C}$  y debe mantenerse a  $\pm 0.2^\circ\text{C}$ .

Antes de poner la muestra en el instrumento, llevarla a una temperatura igual a la que se realizará la medida.

Para efectuar la lectura esperar que la temperatura sea estable.

### **Resultados:**

**Cálculos.** El índice de refracción a la temperatura de referencia está dado por la fórmula.

$$n_D^t = n_D^{20} + 0.0004 (t - 20)$$

### **Donde:**

$n_D^t$  = valor de la lectura, obtenida a la temperatura t, o aquella a la que se ha efectuado la determinación.

F = factor de corrección (0.0004)

$t$  = temperatura a la que se efectuó la lectura

20 = temperatura a 20°C

### **Nota:**

- Expresar los resultados con cuatro cifras decimales.
- La precisión de la determinación es de  $\pm 0.0002$ .



## DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ÓPTICA

ANEXO V

### Principio:

Siempre que se trabaje con aceites sólidos o parcialmente sólidos, aceites de alta viscosidad en un rango de temperatura, o aceites de colores fuertes, la determinación transcurre en una solución del aceite.

### Definiciones:

#### Rotación óptica de un aceite esencial: $\alpha_D$

Ángulo expresado en mili radianes y/o grados del ángulo descrito por la polarización plana de una radiación luminosa cuya longitud de onda es  $589.3\text{nm} \pm 0.3\text{nm}$ , correspondiente a las D líneas de sodio, cuando el trayecto de luz atraviesa  $100\text{nm}$  del espesor de un aceite esencial, a ciertas temperaturas.

Nota: Cuando la determinación ocurre con diferentes espesores el valor de la rotación óptica deberá ser computado en relación al espesor de  $100\text{nm}$ . También la medida acordada por el Faraday magneto – óptico en principio es posible. El espesor de la muestra en este caso es de  $10\text{nm}$ .

#### Rotación de un aceite esencial en solución (rotación específica $\alpha$ ).

La rotación óptica de una solución de aceite esencial dividida para la masa de aceite esencial por unidad de volumen.

### Reactivos

Los reactivos deben ser de grado analítico. Use agua destilada o de equivalente pureza.

### Solvente

(Solo para aceites esenciales que necesiten ensayarse en solución). Se utilizará preferiblemente etanol al 95% en volumen, es necesario considerar la rotación óptica del mismo.

### Aparatos:

**Polarímetro:** Con una precisión no menor de  $\pm 0.5\text{mrad}$  ( $\pm 0.03^\circ$ ) y ajustado de  $0^\circ$  a  $180^\circ$  con agua.





El polarímetro constará de un plato de cuarzo de rotación óptica conocida, si esto es inaccesible, con una solución acuosa con un contenido de 26g de sacarosa anhidra pura por 100ml de solución. La rotación óptica de esta solución es de +604 mrad en 200mm de pasta a una temperatura de 20°C. El instrumento deberá ser usado en la oscuridad.

**La fuente de luz:** Comprende un dispositivo a una longitud de onda de 589.3nm  $\pm$  0.5nm con una lámpara de vapor de sodio.

**Tubos polarimétricos:** Usualmente de 100mm  $\pm$  0.5mm de longitud. Para muestras ligeramente coloreadas o de baja rotación óptica se deben usar tubos de más o menos 200mm  $\pm$  0.5mm, tubos de 50mm  $\pm$  0.05mm o 10mm  $\pm$  0.05mm o menos si es necesario para muestras fuertemente coloreadas. En la determinación se debe trabajar a 20°C o anotar la temperatura específica, utilice un tubo de ensayo de pared gruesa, equipado con un termómetro, asegurar la circulación del agua a la temperatura requerida. Para la determinación de la temperatura ambiente ver el tipo de tubo de ensayo que se debe utilizar, si bien es aconsejable utilizar los descritos en la parte anterior.

**Termómetro:** Graduado en 0.2°C o 0.1°C permitiendo la determinación de temperaturas entre 10°C y 30°C.

**Procedimiento:**

**Determinación:** Es necesario mantener la temperatura de la muestra a 20°C  $\pm$  0.2°C o especificar la temperatura, para la muestra que va en el tubo polarimétrico apropiado. Mantener el agua que está circulando con un control termostático, mantener la temperatura especificada durante la determinación.

Llenar el tubo con la muestra y asegurarse de la ausencia de burbujas. Coloque el tubo en el polarímetro y lea la dextro rotación (+) o la levo rotación (-) del aceite que en la escala muestra el instrumento.

Nota: Como una regla la determinación será efectuada a 20°C, a excepción de los aceites que especifiquen el rango a trabajar.



### **Número de determinaciones**

Realizar al menos tres repeticiones por muestra. Tome como resultado el valor obtenido de las tres mediciones, de manera que entre ellos no haya una diferencia de más de 1.4mrad (0.08°)

### **Resultados:**

#### **Cálculos y fórmulas**

La rotación óptica expresada en miliradianes o en grados del ángulo está dada por la ecuación:

$$\alpha'D = A/l * 100$$

**A** = es el valor del ángulo de rotación en mrad o grados del ángulo.

**l** = es la longitud del tubo usado en mm. Marque como (+) la rotación hacia la derecha en el sentido de las manecillas del reloj y como (-), en el sentido contrario a las manecillas del reloj.

Cuando por los tubos de pared gruesa la circulación de agua no es correcta, es necesario aplicar factores de corrección apropiados o de acuerdo al aceite ensayado (para aceites esenciales de cítricos y para otros se conocen factores de corrección específicos).

Nota: Los factores de corrección deberán ser dados en las especificaciones para cada aceite.

#### **Rotación óptica de un aceite en solución, “Rotación específica”**

La rotación específica expresada en mili radianes o grados del ángulo está dada por la ecuación:

$$[\alpha] = \alpha'D/C$$

#### **Donde:**

$\alpha'D B$  = es la rotación óptica del aceite en solución.

**C** = concentración de la solución del aceite, en gramos de aceite por ml de solución.

#### **Precisión:**

La precisión del método ensayado es de  $\pm 3$  mrda ( $\pm 0.17^\circ$ ).



- a) Se determina la concentración, para esto se utilizaron 2ml de aceite esencial de *Minthostachys mollis* aforados en balones de 25ml con acetato de etilo solvente orgánico neutro.

$$c = \left( \frac{2}{25} \right) = 0,08 \text{ g / ml}$$

- b) Obtención de la actividad óptica leída en el equipo

**Tabla 24.** Actividad óptica leída y calculada de la especie *Minthostachys mollis*

	<b>Muestra</b>	
	<b>1</b>	<b>2</b>
$\alpha l$	1,12	0,62
$\alpha$	14,00	7,75
<b>Promedio</b>		<b>10,88</b>

**Fuente:** Investigación Experimental

**Elaboración:** La autora

- c) Con el valor de la actividad óptica leída en el equipo se aplica la fórmula que se muestra a continuación para obtener la actividad óptica calculada.

$$\alpha = \left( \frac{\alpha l}{l * c} \right) - \alpha s$$

Donde:

$\alpha$  = Actividad óptica calculada

$\alpha l$  = Actividad óptica leída

$l$  = Dimensión del tubo (dm)=1

$\alpha s$  = Actividad óptica del solvente=0,00 °Z

$c$  = Concentración muestra (gr/ml)=0,08

$$\alpha = \left( \frac{-1,48}{1 * 0,08} \right) - 0,00 = -18,5$$

- d) Se realiza finalmente un promedio entre los valores obtenidos de la actividad óptica calculada

**Tabla 14.** Actividad óptica media del aceite esencial en los diferentes lugares y en tres estados fenológicos

<b>Lugares</b>	<b>Estados Fenológicos</b>			
	<b>F</b>	<b>FL</b>	<b>FT</b>	
Chuquiribamba	8,629	-7,349	10,875	Z <sup>o</sup>
Tambo	9,384	6,305	-20,938	Z <sup>o</sup>
Villonaco	1,654	-1,499	-13,375	Z <sup>o</sup>

**Fuente:** Investigación Experimental

**Elaboración:** La Autora



<b>ANÁLISIS DE VARIANZA DEL % DE ACEITE ESENCIAL DE <i>Minthostachys mollis</i></b>	<b>ANEXO VI</b>
---	-----------------

**Tabla 8.** Resultados experimentación en el proceso de extracción del aceite esencial

Tratamientos	% de Aceite Esencial			Sumatoria	Promedio
	1	2	3		
a <sub>0</sub> b <sub>0</sub>	0,08	0,09	0,10	0,27	0,09
a <sub>0</sub> b <sub>1</sub>	0,07	0,06	0,09	0,22	0,07
a <sub>0</sub> b <sub>2</sub>	0,13	0,17	0,17	0,47	0,16
a <sub>1</sub> b <sub>0</sub>	0,2	0,09	0,17	0,46	0,15
a <sub>1</sub> b <sub>1</sub>	0,18	0,21	0,25	0,64	0,21
a <sub>1</sub> b <sub>2</sub>	0,22	0,2	0,15	0,57	0,19
a <sub>2</sub> b <sub>0</sub>	0,25	0,13	0,11	0,49	0,16
a <sub>2</sub> b <sub>1</sub>	0,31	0,29	0,29	0,89	0,29
a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>	0,42	0,41	0,31	1,14	0,38
<b>total</b>	<b>1,86</b>	<b>1,65</b>	<b>1,64</b>	<b>5,15</b>	<b>1,72</b>

Fuente: Investigación Experimental  
Elaboración: La autora

**Tabla 9.** Datos para el diseño factorial en el proceso de extracción del aceite esencial.

FACTOR A	FACTOR B			TOTAL
	b <sub>0</sub>	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	
a <sub>0</sub>	0,27	0,22	0,47	0,96
a <sub>1</sub>	0,46	0,64	0,57	1,67
a <sub>2</sub>	0,49	0,89	1,14	2,52
<b>TOTAL</b>	<b>1,22</b>	<b>1,75</b>	<b>2,18</b>	<b>5,15</b>

Fuente: Investigación Experimental  
Elaboración: La Autora



<b>Factor de corrección</b>	$FC = \frac{(Y_{ij})^2}{axb \times n} = \frac{6.15^2}{3 \times 3 \times 3} = 0.9823$
<b>Suma de cuadrados totales</b>	$SCT = \sum (Y_{ij})^2 - FC = \sum (0.08^2 + \dots + 0.31^2) - 0.9823 = 0.2567$
<b>Suma de cuadrados de A</b>	$SCA = \frac{\sum (Y_{ij})^2}{b \times n} - FC = \frac{\sum (0.96^2 + 1.67^2 + 2.52^2)}{9} - 0.9823 = 0.1356$
<b>Suma de cuadrados de B</b>	$SCB = \frac{\sum (Y_{ij})^2}{a \times n} - FC = \frac{\sum (1.22^2 + 1.75^2 + 2.18^2)}{9} - 0.9823 = 0.0514$
<b>Suma de cuadrados subtotales</b>	$SCS = \frac{\sum (Y_{..})^2}{n} - FC = \frac{\sum (0.27^2 + \dots + 1.14^2)}{3} - 1.035 = 0.22$
<b>Suma de cuadrados de la interacción AB</b>	$SCAB = SCS - SCA - SCB = 0.22 - 0.1355 - 0.0513 = 0.0374$
<b>Suma de cuadrados del error</b>	$SCE = SCT - SCS = 0.2567 - 0.22 = 0.03$



<b>Cálculo de la media cuadrática</b>	$MSA = \frac{SCA}{a-1} = \frac{0.1355}{3-1} = 0.0677$ $MSB = \frac{SCB}{b-1} = \frac{0.0513}{3-1} = 0.0256$ $MSAB = \frac{SCAB}{(a-1)(b-1)} = \frac{0.0374}{(3-1)(3-1)} = 0.0093$ $MSE = \frac{SCE}{axb(n-1)} = \frac{0.03}{3 \times 3(3-1)} = 0.0018$
<b>Cálculo de FO</b>	$FOA = \frac{MSA}{MSE} = \frac{0.0677}{0.0018} = 37.6564$ $FOB = \frac{MSB}{MSE} = \frac{0.0513}{0.0018} = 14.2737 \quad FOAB = \frac{MSAB}{MSE} = \frac{0.0093}{0.0018} = 5.1996$

**Tabla 10.** Análisis de varianza para el % de aceite esencial

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA CUADRÁTICA	Fc	F(0,05)
VARIABLE A	0,14	2	0,068	37,66	* 3,55
VARIABLE B	0,05	2	0,026	14,27	* 3,55
INTERACCIÓN AB	0,04	4	0,009	5,19	DS 2,93
ERROR	0,03	18	0,002		
TOTAL	0,26	26	0,105		

Fuente: Investigación Experimental  
Elaboración: La Autora



<b>PRUEBA DE DUNCAN PARA LA OBTENCION DEL ACEITE ESENCIAL</b>	<b>ANEXO VII</b>
---	------------------

a) Arreglar la media de los tratamientos en forma descendente

<b>y9</b>	0,380
<b>y8</b>	0,297
<b>y5</b>	0,213
<b>y6</b>	0,190
<b>y7</b>	0,163
<b>y3</b>	0,157
<b>y4</b>	0,153
<b>y1</b>	0,090
<b>y2</b>	0,073

b) Determinar el error estándar

$$S_x = \sqrt{\frac{CME}{n}} = \sqrt{\frac{0.0018}{3}} = 0.02$$

c) Obtener el valor de los intervalos significativos

Con los grados de libertad se leen en las tablas de Duncan los valores AES para t-1 tratamientos que nos dan el número de comparaciones posibles, y con un  $\alpha$  de confianza de 0.05.

$r_{0.05(2, 12)}$	2,97
$r_{0.05(3, 12)}$	3,12
$r_{0.05(4, 12)}$	3,21
$r_{0.05(5, 12)}$	3,27
$r_{0.05(6, 12)}$	3,32
$r_{0.05(7, 12)}$	3,35
$r_{0.05(8, 12)}$	3,37
$r_{0.05(9, 12)}$	3,39



d) Convertir los intervalos de significancia en intervalos menores

r0.05(2,18)*Syt	0,073
r0.05(3,18)*Syt	0,076
r0.05(4,18)*Syt	0,079
r0.05(5,18)*Syt	0,080
r0.05(6,18)*Syt	0,081
r0.05(7,18)*Syt	0,082
r0.05(8,18)*Syt	0,083
r0.05(9,18)*Syt	0,083

e) Probar los intervalos entre las medias empezando desde el más grande contra el más pequeño y luego se lo compara con el intervalo menos significativo.

*Tabla 11. Tabla resumen de comparaciones múltiples entre tratamientos*

TRATAMIENTOS	T9	T8	T5	T6	T7	T3	T4	T1	T2	D <sub>18,0,05</sub>	
<b>T9(a2b2)</b>	0,380	0,083	0,083	0,023	0,027	0,007	0,003	0,063	0,017	-	0,073
<b>T8(a2b1)</b>	0,297	0,167	0,107	0,050	0,033	0,010	0,067	0,080			0,076
<b>T5(a1b1)</b>	0,213	0,190	0,133	0,057	0,037	0,073	0,083				0,079
<b>T6(a1b2)</b>	0,190	0,217	0,140	0,060	0,100	0,090					0,080
<b>T7(a2b0)</b>	0,163	0,223	0,143	0,123	0,117						0,081
<b>T3(a0b2)</b>	0,157	0,227	0,207	0,140							0,082
<b>T4(a1b0)</b>	0,153	0,290	0,223								0,083
<b>T1(a0b0)</b>	0,090	0,307									0,083
<b>T2(a0b1)</b>	0,073										

\* = Diferencia significativa de las medias entre tratamientos y los valores calculados de las amplitudes mínimas  $D_{0,05}$

**Fuente:** Investigación Experimental  
**Elaboración:** La Autora





<b>ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA PROPORCIÓN RELATIVA DE LOS COMPONENTES DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Minthostachys mollis</i></b>	<b>ANEXO VIII</b>
---	-------------------

**Tabla 18.** Resultados experimentación en el proceso de extracción del aceite esencial

Tratamientos	% Proporción Relativa			Sumatoria	Promedio
	1	2	3		
a <sub>0</sub> b <sub>0</sub>	34,69	34,97	29,87	99,53	33,18
a <sub>0</sub> b <sub>1</sub>	34,52	46,96	37,70	119,18	39,73
a <sub>0</sub> b <sub>2</sub>	23,61	21,58	23,66	68,84	22,95
a <sub>1</sub> b <sub>0</sub>	66,86	63,02	68,38	198,26	66,09
a <sub>1</sub> b <sub>1</sub>	69,49	55,81	60,82	186,11	62,04
a <sub>1</sub> b <sub>2</sub>	53,81	56,65	69,34	179,80	59,93
a <sub>2</sub> b <sub>0</sub>	20,71	23,88	37,13	81,71	27,24
a <sub>2</sub> b <sub>1</sub>	14,91	16,85	16,52	48,27	16,09
a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>	22,99	27,08	14,76	64,83	21,61
<b>total</b>	<b>341,58</b>	<b>346,78</b>	<b>358,17</b>	<b>1046,54</b>	<b>348,85</b>

Fuente: Investigación Experimental  
Elaboración: La autora

**Tabla 19.** Datos para el diseño factorial en el proceso de extracción del aceite esencial

FACTOR B				
FACTOR A	b <sub>0</sub>	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	TOTAL
a <sub>0</sub>	99,53	119,18	68,84	287,56
a <sub>1</sub>	198,26	186,11	179,80	564,17
a <sub>2</sub>	81,71	48,27	64,83	194,81
<b>TOTAL</b>	<b>379,50</b>	<b>353,56</b>	<b>313,47</b>	<b>1046,54</b>

Fuente: Investigación Experimental  
Elaboración: La Autora



<b>Factor de corrección</b>	$FC = \frac{(Y_{ij})^2}{axb \times n} = \frac{(046.54)^2}{3 \times 3 \times 3} = 40564.4718$
<b>Suma de cuadrados totales</b>	$SCT = \sum (Y_{ij})^2 - FC = \sum (34.69^2 + \dots + 14.76^2) - 40564.4718 = 9462.4724$
<b>Suma de cuadrados de A</b>	$SCA = \frac{\sum (Y_{ij})^2}{b \times n} - FC = \frac{\sum (287.56^2 + 564.17^2 + 194.81^2)}{9} - 40564.4718 = 8205.0765$
<b>Suma de cuadrados de B</b>	$SCB = \frac{\sum (Y_{ij})^2}{a \times n} - FC = \frac{\sum (379.50^2 + 353.56^2 + 313.47^2)}{9} - 40564.4718 = 245.9777$
<b>Suma de cuadrados subtotales</b>	$SCS = \frac{\sum (Y_{..})^2}{n} - FC = \frac{\sum (99.53^2 + \dots + 64.83^2)}{3} - 40564.4718 = 8879.28$
<b>Suma de cuadrados de la interacción AB</b>	$SCAB = SCS - SCA - SCB = 8879.28 - 8205.0765 - 245.9777 = 428.22$
<b>Suma de cuadrados del error</b>	$SCE = SCT - SCS = 9462.4724 - 8879.28 = 583.20$



<b>Cálculo de la media cuadrática</b>	$MSA = \frac{SCA}{a-1} = \frac{8205.0765}{3-1} = 4102.5383$ $MSB = \frac{SCB}{b-1} = \frac{245.9777}{3-1} = 122.9889$ $MSAB = \frac{SCAB}{(a-1)(b-1)} = \frac{0.0561}{(3-1)(3-1)} = 107.0555$ $MSE = \frac{SCE}{axb(n-1)} = \frac{583.20}{3 \times 3(3-1)} = 32.3998$
<b>Cálculo de FO</b>	$FOA = \frac{MSA}{MSE} = \frac{4102.5383}{32.3998} = 126,6224$ $FOB = \frac{MSB}{MSE} = \frac{245.9777}{32.3998} = 3,7959$ $FOAB = \frac{MSAB}{MSE} = \frac{107.0555}{32.3998} = 3.3042$

**Tabla 20.** Análisis de varianza para el % de Aceite Esencial

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA CUADRÁTICA	Fc	F(0,05)
VARIABLE A	8205,08	2	4102,54	126,62	*3,55
VARIABLE B	245,98	2	122,99	3,79	*3,55
INTERACCIÓN AB	428,22	4	107,06	3,30	DS 2,93
ERROR	583,20	18	32,40		
TOTAL	9462,47	26	4364,98		

Fuente: Investigación Experimental

Elaboración: La Autora



**PRUEBA DE DUNCAN PARA LA PROPORCIÓN RELATIVA  
DE LOS COMPONENTES DEL ACEITE ESENCIAL**

ANEXO IX

a) Arreglar la media de los tratamientos en forma descendente

<u>y4</u>	66,09
<u>y5</u>	62,04
<u>y6</u>	59,93
<u>y2</u>	39,73
<u>y1</u>	33,18
<u>y7</u>	27,24
<u>y3</u>	22,95
<u>y9</u>	21,61
<u>y8</u>	16,09

b) Determinar el error estándar

$$S_x = \sqrt{\frac{CME}{n}} = \sqrt{\frac{32.40}{3}} = 3.29$$

c) Obtener el valor de los intervalos significativos

Con los grados de libertad se leen en las tablas de Duncan los valores AES para t-1 tratamientos que nos dan el número de comparaciones posibles, y con un  $\alpha$  de confianza de 0.05.

$r_{0.05(2, 12)}$	2,97
$R_{0.05(3, 12)}$	3,12
$r_{0.05(4, 12)}$	3,21
$r_{0.05(5, 12)}$	3,27
$r_{0.05(6, 12)}$	3,32
$r_{0.05(7, 12)}$	3,35
$r_{0.05(8, 12)}$	3,37
$r_{0.05(9, 12)}$	3,39



d) Convertir los intervalos de significancia en intervalos menores

r0.05(2,18)*Syt	9,760
r0.05(3,18)*Syt	10,253
r0.05(4,18)*Syt	10,549
r0.05(5,18)*Syt	10,746
r0.05(6,18)*Syt	10,911
r0.05(7,18)*Syt	11,009
r0.05(8,18)*Syt	11,075
r0.05(9,18)*Syt	11,141

e) Probar los intervalos entre las medias empezando desde el más grande contra el más pequeño y luego se lo compara con el intervalo menos significativo.

**Tabla 21.** Tabla resumen de comparaciones múltiples entre tratamientos

TRATAMIENTOS	T4	T5	T6	T2	T1	T7	T3	T9	T8	D <sub>18,0,05</sub>	
<b>T4(a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>)</b>	66,09	4,05	2,10	20,21	6,55	5,94	4,29	1,34	21,61	-	9,76
<b>T5(a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>)</b>	62,04	6,15	22,31	26,76	12,49	10,23	5,63	6,86			10,25
<b>T6(a<sub>1</sub>b<sub>2</sub>)</b>	59,93	26,36	28,86	32,69	16,78	11,57	11,15				10,55
<b>T2(a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>)</b>	39,73	32,91	34,80	36,98	18,12	17,09					10,75
<b>T1(a<sub>0</sub>b<sub>0</sub>)</b>	33,18	38,85	39,09	38,32	23,64						10,91
<b>T7(a<sub>2</sub>b<sub>0</sub>)</b>	27,24	43,14	40,43	43,84							11,01
<b>T3(a<sub>0</sub>b<sub>2</sub>)</b>	22,95	44,48	45,95								11,08
<b>T9(a<sub>2</sub>b<sub>2</sub>)</b>	21,61	50,00									11,14
<b>T8(a<sub>2</sub>b<sub>1</sub>)</b>	16,09										

\* = Diferencia significativa de las medias entre tratamientos y los valores calculados de las amplitudes mínimas  $D_{0,05}$

Fuente: Investigación Experimental  
Elaboración: La Autora

## ABREVIATURAS

<b>CG</b>	Cromatografía de Gases aceite esencial.
<b>CG-MS</b>	Cromatografía de Gases acoplada a la Espectrometría de Masas.
<b>CG-FID</b>	Cromatografía de Gases acoplada al Detector de Ionización de llama
<b>F</b>	Estado Fenológico de la especie: Foliación.
<b>FL</b>	Estado Fenológico de la especie: Floración
<b>FT</b>	Estado Fenológico de la especie: Fructificación
<b>IK</b>	Índice de kóvats
<b>P<sub>bh</sub></b>	Peso de la materia vegetal en base húmeda volátiles del aceite esencial
<b>P<sub>bs</sub></b>	Peso de la materia vegetal en base seca