

UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLOGICA Y BIOMÉDICA

TÍTULO DE MAGÍSTER EN ALIMENTOS

Determinación de compuestos volátiles en las bebidas tradicionales Horchata y Guabiduca

TRABAJO DE TITULACIÓN

AUTOR: Barzallo Cordero, Miguel Andrés

DIRECTOR: Valarezo Valdez, Benito Eduardo, Ph.D.

LOJA – ECUADOR 2020



Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NY-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es

APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Doctor

Benito Eduardo Valarezo Valdez DOCENTE DE LA TITULACIÓN
De mi consideración:
El presente trabajo de titulación, denominado: "Determinación de compuestos volátiles en las bebidas tradicionales Horchata y Guabiduca" realizado por Miguel Andrés Barzallo Cordero, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo.
Loja, Mayo 2020 f)

DECLARACION DE AUTORIA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, Miguel Andrés Barzallo Cordero declaro ser autor del presente trabajo de titulación:

"Determinación de compuestos volátiles en las bebidas tradicionales Horchata y Guabiduca",

de la Titulación Maestría en Alimentos, siendo Benito Eduardo Valarezo Valdez director del

presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus

representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además certifico que las

ideas, concepto, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son

de mi exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 88 del Estatuto Orgánico de

la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice:

"Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones,

trabajos científicos o técnicos y tesis de grado o trabajos de titulación que se realicen con el

apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad"

f)

Miguel Andrés Barzallo Cordero

Cédula. 0105000863

iii

DEDICATORIA

Este trabajo que lo he realizado y que es el fruto de mi esfuerzo y sacrificio se lo dedico a:

Dios, por estar siempre conmigo, bendecirme y darme fortaleza para continuar.

A mi mamá Patricia y mi abuelita Rosario por todo su cariño, esfuerzo, tiempo y apoyo incondicional a fin de cumplir mis metas.

A mis hermanos Gabriela y Juan, por ser mis mejores amigos, mi motivación, estar siempre ahí y no dejar que me rindiera.

A mi papá Miguel que aunque está lejos, nunca me falto su apoyo.

Andrés Barzallo

AGRADECIMIENTO

Gracias a Dios por permitirme tener y disfrutar a mi familia, por apoyarme en cada decisión y proyecto, ya sea de manera directa o indirecta.

Gracias a mi familia, Patricia, Rosario, Gabriela y Juan, por el apoyo y la paciencia en todo este tiempo. Me enorgullece formar parte de esta familia.

A mi director de tesis el Ph.D Eduardo Valarezo por transmitirme sus conocimientos, orientarme y motivarme a lo largo de la realización de este proyecto; un gran maestro.

A mis compañeros de la primera cohorte de la Maestría en Alimentos, más que compañeros se transformaron en familia, son los mejores profesionales que he conocido. Les deseo éxito en su vida profesional.

A todos mis compañeros tesistas del Laboratorio de Operaciones Unitarias, por haberme apoyado y enseñado durante todo este tiempo.

A mis maestros de la titulación y técnicos de los laboratorios por haberme guiado para el desarrollo del presente trabajo.

Para todos ellos mi admiración y respeto.

INDICE DE CONTENIDOS

PORTADA	i
APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	ii
DECLARACIÓN DE AUTORIA Y CESIÓN DE DERECHOS	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	V
ÍNDICE DE CONTENIDOS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICES DE TABLAS	X
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
CAPITULO I	
MARCO TEORICO	
1.1. Aceite esencial	6
1.1.1 Métodos de extracción de Aceites Esenciales	6
1.1.2 Clasificación de los Aceites Esenciales	7
1.1.3 Caracterización de Aceites Esenciales	7
1.1.3.1 Cromatografía de gases	8
1.1.3.2 Cromatografía de gases acoplado a la espectrometría de masas (GC/MS)	8
1.1.4 Propiedades de los Aceites Esenciales	8
1.1.5 Usos y aplicaciones de los Aceites Esenciales	9
1.2. Actividad Biológica	9
1.3. Compuestos volátiles	10
1.4 Hierbas Aromáticas	10
1.4.1 Tipos	11
1.4.2. Horchata	12
1.4.3. Guabiduca (<i>Piper Carpunya</i> Ruiz y Pav.)	25
CAPITULO II	
METODOLOGIA	
2.1. Preparación de las bebidas	28
2.1.1. Bebida de Horchata	28
2.1.2 Bebida de Guabiduca	30

2.2. Extracción de los compuestos volátiles de las bebidas	
2.2.1. Extracción de los compuestos volátiles de la bebida de Horchata	
2.2.2. Extracción de los compuestos volátiles de la bebida de Guabiduca	
2.3. Extracción del aceite esencial de Guabiduca (Piper Carpunya Ruiz &Pav)	
2.3.1. Preparación de las muestras del aceite esencial de Guabiduca	
2.4 Determinación de la composición química de los compuestos volátiles	
2.4.1. Cromatografía de gases (GC) y espectrometría de masas (MS)	
2.4.2. Identificación cualitativa y cuantitativa de los compuestos volátiles	
CAPITULO III	
RESULTADOS	
3.1. Rendimiento del aceite esencial de Guabiduca (Piper Carpunya Ruiz & Pav)	
3.1.1. Análisis cuantitativo y cualitativo del Aceite esencial de Guabiduca (<i>Piper Carpunya</i> Ruiz & Pav)	
3.1.2. Compuestos mayoritarios en el aceite esencial de Guabiduca (Piper Carpunya	
Ruiz & Pav)	
3.1.2.1. 1.4-Cineole	
3.1.2.2 (Z)-beta-Ocimene	
3.1.2.3. (E)-Cinnamaldehyde	
3.1.2.4. Alpha-Terpinene	
3.2 Análisis cuantitativo y cualitativo de la bebida de Guabiduca	
3.2.1. Compuestos mayoritarios en la bebida de Guabiduca	
3.2.1.1. Methyl 2-methylpentanoate	
3.2.1.2. 2-Methylbutyl acetate	
3.2.1.3. Alpha-Terpinyl acetate	
3.3. Análisis cuantitativo y cualitativo de la bebida de Horchata	
3.3.1. Compuestos mayoritarios en la bebida de Horchata	
3.3.1.1. Dehydro-Linalool	
3.3.1.2. <i>Geraniol</i>	
3.3.1.3. Trans-Carveol	
3.3.1.4. Alpha-Pinene oxide	
CONCLUSIONES	
RECOMENDACIONES	
BIBLIOGRAFIA	
ANEXOS	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Albahaca
Figura 2 . Anís
Figura 3. Ataco
Figura 4. Borraja
Figura 5 . Cedrón
Figura 6. Clavel
Figura 7. Cola de caballo1
Figura 8. Duraznillo
Figura 9. Escancel
Figura 10. Flor de Cristo
Figura 11. Gañal
Figura 12. Hierba Luisa
Figura 13. Hoja de Canela
Figura 14. Linaza1
Figura 15. Llantén
Figura 16. Malva
Figura 17. Manzanilla
Figura 18. Menta
Figura 19. Moradilla
Figura 20. Mortiño
Figura 21. Orégano
Figura 22. Pimpinela
Figura 23. Té
Figura 24. Toronjil
Figura 25. Violeta
Figura 26. Hojas de Guabiduca
Figura 27. Mezcla de Horchata seca
Figura 28. Agua hirviendo (horchata)
Figura 29. Mezcla de hierbas secas y agua (horchata)
Figura 30. Olla tapada (horchata)
Figura 31. Tamizar infusión (horchata)
Figura 32. División de las infusiones (horchata)
Figura 33. Mapa de recolección de la Guabiduca
Figura 34. Hojas secas de Guabiduca
Figura 35. Olla tapada con guabiduca
Figura 36. Pesaje y división de las infusiones de guabiduca
Figura 37. Infusiones den el embudo de decantación (horchata)
Figura 38. Colocación de diclorometano (horchata)
Figura 39. Mezcla de horchata y diclorometano
Figura 40. Recoleccion de la extracción con el diclorometano (horchata)
Figura 41. Colocacion del sulfato de sodio anhidro (horchata)
Figura 42. Viales listos con la muestra de Horchata para ser inyectados en el
cromatógrafo

Figura	43.	Vial listo con el hidrocarburo para ser inyectado en el cromatógrafo (horchata)	35
Figura	44	Infusión de guabiduca en el embudo de decantación	36
_		Colocacion de diclorometano en la infusión de guabiduca	36
_		Mezcla de guabiduca y diclorometano	36
•		Recoleccion de la infusión y colocación del sulfato de sodio anhidro	
		(guabiduca)	37
Figura	48.	Viales listos con la muestra de guabiduca para ser inyectados en el	
Ū		cromatógrafo	37
Figura	49.	Vial listo con el hidrocarburo para ser inyectado en el cromatógrafo	
_		(guabiduca)	37
Figura	50.	Clevenger	38
Figura	51.	Frascos con aceite esencial de guabiduca	38
Figura	52 .	Cromatógrafo de Gases Agilent serie 6890N, acoplada a un Espectrómetro	
		de masas Agilent serie 5973 Inert	40
Figura	53.	Perfil cromatográfico del aceite esencial de Guabiduca (Piper Carpunya Ruiz	
		&Pav)	44
Figura	54.	Compuestos mayoritarios del aceite esencial de Guabiduca en la columna	
		DB5-MS	46
_		Molecula de 1,4-Cineole	47
Figura	56.	Molécula de (Z)-beta-Ocimene	47
_		Molécula de (E)-Cinnamaldehyde	48
_		Molécula de Alpha-Terpinene	48
_		Molécula de δ-2-Carene	48
_		Molécula de 3-p-Menthene	49
_		Molécula de 2-(1E)-propenyl-Phenol	49
_		Molécula de Beta-Phellandrene	50
•		Perfil cromatográfico de la bebida de Guabiduca	51
Figura	64.	Compuestos mayoritarios de la bebida de Guabiduca en la columna DB5-	
		MS	53
_		Molécula de Methyl 2-methylpentanoate	54
_		Molécula de 2-Methylbutyl acetate	54
_		Molécula de Alpha-Terpinyl acetate	55
_		Perfil cromatográfico de la bebida de Horchata	56
_		Compuestos mayoritarios de la bebida de Horchata en la columna DB5-MS	58
•		Molécula de Dehydro-Linalool	59
•		Molécula de Geraniol	59
_		Molécula de <i>Trans</i> -Carveol	60
		Molécula de Alpha-Pinene oxide	60
_		Molécula de Molécula de Methyl linoleate	60
riyura	ıσ.	Molécula de 2-Phenylethyl propanoate	61

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Rendimiento del aceite esencial de Guabiduca	43
Tabla 2. Composicion quimica del aceite esencial de Guabiduca (Piper	45
Carpunya Ruiz &Pav.)	
Tabla 3. Composicion quimica de la bebida de Guabiduca	52
Tabla 4. Composicion quimica de la bebida de Horchata	57

RESUMEN

La Horchata, bebida a base de mezcla de hierbas aromáticas y la Guabiduca infusión de hojas frescas o secas; son bebidas de consumo tradicional en Loja y Zamora Chinchipe, por sus beneficios sobre la salud; el presente estudio utilizó estas bebidas como materias primas para determinar cuantitativamente los compuestos volátiles, por medio de un cromatógrafo de gases acoplado a la espectrometría de masas (GC/MS); con lo que se analizó la composición química de ambas bebidas; identificándose en la Horchata 53 compuestos, siendo los abundantes el Linalool <dehydro-> (18,69%), Geraniol (16,02%), Carveol <trans-> (15,69%), Pinene oxide < α -> (6,32%), Methyl linoleate (5,22%) y Phenyl ethyl propanoate <2-> (5.09%). En cuanto a la Guabiduca se identificaron 52 compuestos. los más abundantes fueron: Cineole <1,8-> (50,34%), Methyl pentanoate <2-methyl-> (12,25%), Terpinyl acetate $<\alpha>$ (7,25%), Methyl butyl acetate <2> (6,87%), Pinocarvyl acetate <trans-> (3,86%), y Dihydro carveol (3,18%). De acuerdo con los compuestos identificados en su mayoría, la bedida de Horchata gracias al Linalool, Geraniol y Carveol es considerada principalmente neuroprotector, anticancerígeno y analgésico; y la Guabiduca bebida con propiedades antidiarreicas, antiinflamatorias, antiparasitario y antiúlcerativas.

PALABRAS CLAVES: Bebida, Horchata, Guabiduca, cromatografía de gases, espectrometría de masas.

ABSTRACT

Horchata, a drink based on a mixture of aromatic herbs and Guabiduca infusion of fresh or dried leaves; are drinks traditionally consumed in Loja and Zamora Chinchipe, because of their health benefits; the present study used these drinks as raw materials to quantitatively determine the volatile compounds, by means of a gas chromatograph coupled to mass spectrometry (GC/MS); The chemical composition of both beverages was analyzed; 53 compounds were identified in Horchata, being the abundant ones Linalool <dehydro-> (18.69%), Geraniol (16.02%), Carveol <trans-> (15.69%), Pinene oxide < α -> (6.32%), Methyl linoleate (5.22%) and Phenyl ethyl propanoate <2-> (5.09%). As for Guabiduca, 52 compounds were identified, the most abundant being: Cineole <1.8-> (50.34%), Methyl pentanoate <2-methyl-> (12.25%), Terpinyl acetate < α -> (7.25%), Methyl butyl acetate <2-> (6.87%), Pinocarvyl acetate <trans-> (3.86%), and Dihydro carveol (3.18%). According to the identified compounds in their majority, the Horchata bedida thanks to the Linalool, Geraniol and Carveol is considered mainly neuroprotective, anticarcinogenic and analgesic; and the Guabiduca drink with antidiarrheal, anti-inflammatory, antiparasitic and antiulcer properties.

KEY WORDS: Beverage, Horchata, Guabiduca, gas chromatography, mass spectrometry

INTRODUCCIÓN

El presente estudio consiste en la determinación de la composición guímica de las bebidas tradicionales horchata y guabiduca, de las provincias de Loja y Zamora Chinchipe respectivamente. Se desarrolló en 3 capítulos, el primer capítulo titulado Marco Teórico trata sobre el estado del arte de este tema, en el segundo capítulo se da a conocer las técnicas y los materiales utilizados para llevar a cabo la investigación y en el capítulo 3 se expone y analiza los resultados. Dadas las condiciones que anteceden, ambas bebidas gozan de una popularidad tradicional por sus aceites esenciales con propiedades medicinales, tales como, neuroprotectores, antiinflamatorios, antimicrobianos, antioxidante, antidiarreicos entre otros. Debido a esta razón es necesario corroborar esos datos populares con conocimiento científico y fundamentado, que explore las bondades medicinales de ambas bebidas, para ser aprovechadas al máximo. Con este estudio se aumenta el conocimiento sobre la existencia de los aceites esenciales, sus propiedades y usos para aplicaciones en las diferentes industrias tales como: Farmacéutica, Cosmética y Alimenticia. Una vez conocida la composición química de las bebidas antes mencionadas, tradicionales de las provincias del Sur del Ecuador, las mismas pueden ser usadas como materia prima para las diferentes industrias o para la formulación de subproductos.

El objetivo general del estudio fue la determinación de los compuestos volátiles y la concentración de los mismos en las bebidas tradicionales de Loja y Zamora; y los objetivos específicos, también considerados como componentes del proyecto fueron la extracción liquido/liquido de los compuestos volátiles; determinación cualitativa y cuantitativa de los compuestos volátiles mediante cromatografía de gases y espectrometría de masas; y análisis bibliográfico de las propiedades bilógicas de los compuestos mayoritarios.

Para este estudio se inició con la recolección del material vegetal; la Horchata fue recolectada en la provincia de Loja mientras que la Guabiduca fue recolectada en la provincia de Zamora Chinchipe; a las cuales luego de darles el tratamiento respectivo se extrajo los compuestos volátiles obteniendo las muestras que fueron llevadas a la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas CG/MS para determinar la composición química de las mismas.

Así mismo se aprovechó el material vegetal de Guabiduca y luego de un tratamiento post cosecha se extrajo el aceite esencial mediante arrastre con vapor, el aceite obtenido también fue llevado a la CG/MS para determinar la composición química.

Finalmente los compuestos volátiles mayoritarios fueron comparados con la bibliografía existente para poder constatar dichas propiedades benéficas para la salud de quienes las consumen con frecuencia.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEORICO

1.1. Aceite esencial

Los aceites esenciales son una mezcla de sustancias químicas, semilíquidas y muy volátiles, que se pueden obtener mediante la destilación por arrastre con vapor de agua; estas contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas o partes de ellas; son producidas para interactuar con su entorno; al ser la fracción aromática son utilizadas en la industria cosmética, farmacéutica y de alimentos (Martínez, A. 2003).

Peredo - Luna, H.A; *et al.* (2009) menciona que "los aceites esenciales son sustancias aromáticas de base lipídica encontradas en casi todas las plantas, son muy numerosos y están distribuidos en las diferentes partes de la misma como raíces, tallos, hojas, flores y frutos".

Así mismo a través de la historia los aceites esenciales y las sustancias activas presentes en las hierbas aromáticas, han sido utilizados por el hombre como fuente para eliminar determinadas dolencias (Siaura, S; *et al.* 2001).

1.1.1. Métodos de extracción de Aceites Esenciales.

Para la extracción del aceite esencial existen diferentes métodos que dependen de la parte de la planta que se va a extraer. El método más frecuente es la destilación o arrastre por vapor de agua (Coronel, E. 2017). El cual consiste en cargar el destilador con agua y material fresco formando un lecho fijo compactado; se debe tener cuidado de que el material no entre en contacto directo con el agua ni que este se moje durante el proceso, se tapa muy bien y la materia es sometida a un flujo constante de vapor de agua saturado o sobrecalentado (Rodríguez Álvarez et al., 2012). Con este método se rompe el tejido vegetal debido a la temperatura aportada por el vapor liberando el aceite esencial (Coronel, E. 2017). El aceite atrapado por el vapor de agua es recolectado en un intercambiador de calor; el cual es un condensador en donde se obtiene una emulsión liquida inestable que se recolectada en un florentino o decantador dinámico. Este método dura hasta cuando el volumen de aceite recolectado en el florentino no varía después de un tiempo. (Rodríguez Álvarez et al., 2012).

Otros métodos que se utilizan en la extracción de aceites esenciales es "expresión" (prensado en frio de cítricos) (Martínez, A. 2003), el "enflorado" con grasas a temperatura ambiente (aromas florales delicados) (Farrel, 1985), por "fluidos supercríticos" (extracción más rápida y extractos libres de disolvente) (Del Valle y Aguilera, 1999), "extracción por

microondas" (Kimbaris, A; et al., 2006), y la "extracción mediante disolventes orgánicos a temperatura ambiente" (Martínez, A. 2003).

1.1.2. Clasificación de los Aceites Esenciales.

Martínez A. (2003) clasifica a los aceites esenciales de acuerdo a:

Su consistencia, en donde se puede encontrar:

- Esencias fluidas: aceites líquidos y volátiles a temperatura ambiente.
- Bálsamos: aceites más espesos, poco volátiles pero tendente a sufrir reacciones de polimerización.
- Oleorresinas: aceites muy viscosos, casi sólidos, de aroma concentrado.

Su origen, se encuentra:

- Naturales: provienen de la planta, sin modificaciones y muy costosas por su bajo rendimiento.
- Artificiales: es el enriquecimiento del aceite natural con algunos de sus mismos componentes.
- Sintéticos: combinación de componentes químicos producidos mayormente por síntesis química; volviéndolos baratos y muy utilizados.

El tipo de sustancia de donde proceden sus componentes mayoritarios:

- Aceites esenciales Monoterpenoides
- Aceites esenciales Sesquiterpenoides
- Aceites esenciales Fenilpropanoides

1.1.3. Caracterización de Aceites Esenciales.

Esta corresponde a los diferentes procedimientos que se usan para identificar cada especie de una forma cualitativa y cuantitativa. En cuanto a los aceites esenciales el método más utilizado es la cromatografía de gases junto a la espectrometría de masas por ser muy confiables en la diferenciación de componentes (Morales, González, Ladio, & Castro, 2009).

1.1.3.1. Cromatografía de gases.

Esta técnica permite la separación de los diferentes componentes de una mezcla muy compleja, debido a dos efectos (Gutiérrez Bouzán & Droguet, 2002). Retención.- El efecto que se produce sobre los componentes por medio de una fase estacionaria (columnas capilares). Y el desplazamiento.- El efecto que se produce sobre los componentes por medio de una fase móvil liquida o gaseosa (generalmente helio) (Stashenko, E., Martínez, J. 2010). Una vez que los componentes han sido aislados se dispone únicamente de los picos cromatográficos que son los tiempos de retención de los mismos para su identificación. (Gutiérrez Bouzán & Droguet, 2002).

1.1.3.2. Cromatografía de gases acoplado a la espectrometría de masas (GC/MS).

Debido a que la cromatografía de gases (GC) solo separa componentes, se ha vuelto útil recurrir al acoplamiento con la espectrometría de masas (MS) para la identificación de los compuestos que se encuentran en los aceites esenciales; ya que estos compuestos son volátiles y de bajo peso molecular, la GC/MS solo necesita una pequeña muestra y que esta se encuentre en fase gaseosa para su análisis (Stashenko, E., Martínez, J. 2010).

1.1.4. Propiedades de los Aceites Esenciales.

Los aceites esenciales tienen muchas propiedades medicinales, por ejemplo, antifúngica, antiséptico, antimicrobiana, anticancerígena, sedantes, en otros. (Coronel, E. 2017). Estas propiedades son particulares de cada aceite y especie vegetal, ya que estas presentan variaciones cualitativas y cuantitativas en sus compuestos. Además se recomienda tener cuidado ya que los aceites esenciales son muy susceptibles a modificaciones por reacciones fisicoquímicas y ambientales (luz, temperatura, enzimas, etc) (Montoya, G. 2010).

Coronel, E. (2017) menciona algunas propiedades de los aceites esenciales como:

- Expectorante: Ciertos aceites esenciales reducen la viscosidad de secreciones y estimulan el reflejo de la tos.
- Antioxidante y antiinflamatoria: los aceites que presentan capacidad antioxidante también tiene actividad antiinflamatoria. Estas propiedades están presentes en la mayoría de los aceites esenciales de origen vegetal (Montoya, G. 2010).

1.1.5. Usos y aplicaciones de los Aceites Esenciales

Los aceites esenciales son muy versátiles por lo tanto son usados en industrias como: farmacéutica, dental, alimentaria, licorera, cosmética, veterinaria, fitosanitaria, entre otras; para la elaboración de una variedad de alimentos, licores, jabones, artículos de limpieza, etc., (Montoya, G. 2010). Además, también son usados en la industria de pulimentos, limpiadores, pinturas, barnices, cuero, materiales de tapicería, etc., (Muñoz, F. 2002)

1.2. Actividad Biológica

Diferentes estudios demuestran la capacidad antimicrobiana de los aceites esenciales frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas (Coronel, E. 2017). Según Lutomski *et al.*, (1974) mencionada que dicha capacidad se conoce desde 1974 encontrada por primera vez en la curcumina. Luego Takaisi-Kikuni, N. (2000) dice que el aceite esencial de Cymbopogon densiflorus también es ideal contra bacterias Gram positivas y Gram negativas. Mientras que aceites esenciales como limoneno y derivados hidroxilados ha demostrado ser eficientes en la quimioterapia del cáncer mamario (Gould, M. 1995). Compuestos como \(\mathbb{G}\)-cariofileno y otros terpenos son sugeridos como potencial tratamiento contra el cáncer (Kubo, I. 1996).

Así mismo, muchos aceites esenciales presentan actividades antioxidantes, los cuales son sustancias que se encuentran en ciertos productos de origen vegetal y que tienen la capacidad de prevenir o evitar los efectos adversos que producen las especies reactivas (radicales libres) sobre el organismo humano y ciertos alimentos (Coronado, M; *et al.*, 2015). Son sustancias que pueden impedir, retrasar o inhibir las oxidaciones catalíticas y los procesos que inducen a la formación de radicales libres (León, G; *et al.*, 2015). La presencia y exceso de radicales libres en el organismo está relacionado con la promulgación de diferentes enfermedades como la ateroesclerosis, cáncer, artritis y otras enfermedades inflamatorias (Doroteo, V; *et al.*, 2013).

En la actualidad se ha visto la necesidad de buscar antioxidantes de origen natural provenientes de aceites esenciales de plantas medicinales, aromáticas y alimenticias; ya que estos son ricos en compuestos fenólicos que son potentes secuestradores e inhibidores de radicales libres (Doroteo, V; *et al.*, 2013).

Algunos antioxidantes que se pueden encontrar en los aceites esenciales son polifenoles, flavonoides, antocianos, pigmentos flavonólicos (Kuskoski, E.M; *et al.*, 2004).

1.3. Compuestos volátiles

A pesar de que no todas las plantas producen compuestos volátiles y su finalidad aún no está definida, Peñuelas y Llusià, (2004) proponen "que los organismos producen estos compuestos sin una finalidad dada, pero la evolución los utiliza para convertirlos en útiles o no sin un papel adaptativo en particular"

Los compuestos volátiles (CV) conocidos también como aceites esenciales, aceites volátiles o esencias, por lo general son sustancias altamente lipofílicas de bajo peso molecular, cuya volatilidad se debe a que se evaporan al ser expuestos al aire o a temperatura ambiente, por lo que sus presiones de vapor son altas (Dudareva, N. 2005). Estos compuestos encontrados en plantas son producidos principalmente por sus flores, pero también en los frutos, tallos, hojas y raíz (Chen *et al.*, 2004). Los CV contienen la mayoría de compuestos químicos responsables de los efectos positivos o negativos sobre la salud, los cuales permanecerán intactos a menos que la hierba sea sometida a algún tratamiento como el secado, troceado o molienda.

Los que se encuentran presentes en las hierbas aromáticas ejercen numerosas interacciones en las funciones fisiológicas, ecologías y atmosféricas. (Peñuelas y Llusià, 2004). Dichos compuestos están conformados por terpenos, derivados de ácidos grasos (hidrocarbonos saturados e insaturados), bencenoides, fenilpropanoides, algo de sustancias azufradas y nitrogenadas, y compuestos aromáticos (Dudareva *et al.*, 2004). Su importancia radica en que pueden actuar como señales para otros organismos, y para la misma planta, además, pueden ser exportados y modificar el entorno de las especies que los producen, sus vecinos y enemigos (Knudsen *et al.*, 1993). Adicionalmente, los CV son los que le dan, en la mayoría de los casos, el aroma característico a cada hierba; y este a su vez, depende de la región en la que ha sido cultivada y el tratamiento al que haya sido sometida dicha hierba (Varela, F. 2003).

1.4. Hierbas Aromáticas

El uso de hierbas aromáticas como medicina natural ha formado parte de las costumbres de la sociedad desde tiempos antiguos, tanto así, que hasta la fecha siguen siendo la única fuente terapéutica utilizada en numerosas zonas del mundo; ya que por las cualidades

especiales que algunas presentan han sido usadas para combatir todo tipo de enfermedades (Masarovičová y Král'ová, 2007). Como lo menciona Craker (2007) el uso de materiales vegetales diversos comenzó con la experimentación y de acuerdo a sus características únicas se los clasificaba según si ofrecían aromas agradables, sabor a los alimentos, alivio de dolores y cura de enfermedades.

La Norma INEN 2392:2007 (Hierbas aromáticas. Requisitos), define a las "hierbas aromáticas como ciertas plantas o partes de ellas (raíces, rizomas, bulbos, hojas, cortezas, flores, frutos y semillas) que contienen sustancias aromáticas (aceites esenciales), y que, por sus aromas y sabores característicos, se destinan a la preparación de infusiones".

En igual forma, Muñoz (2002) las define como: "aquellas plantas medicinales cuyos principios activos están constituidos, total o parcialmente, por esencias". Estas hierbas son utilizadas por que brindan a los alimentos y bebidas aromas, colores y sabores que los hacen apetitosos (Juárez-Rosete C, 2013).

De manera semejante Bandoni, A. (1995) los describe como "Aquellas plantas que pueden generar por algún proceso físico-químico productos aromáticos".

Cabe agregar que las hierbas aromáticas estimulan los sentidos y permiten disfrutar de diversos aromas (Palacio, N.L. 2000). Los medicamentos modernos tienen su origen en las hierbas aromáticas, pero estas últimas se han ido perdiendo debido a su desconocimiento, por lo tanto, es importante realzar sus aplicaciones y beneficios para dejar a un lado los medicamentos químicos y optar por hierbas naturales (Varela, F. 2003).

1.4.1. Tipos.

En el mercado se encuentran frescas o secas, dependiendo del uso que las vayamos a dar o del tiempo que las almacenemos. Ambas no es recomendable guardarlas por mucho tiempo ya que sus compuestos se pierden rápidamente (Green, A. 2006). La diferencia está en que las hierbas secas son el resultado de la deshidratación de las hierbas frescas, también cada una tiene su uso propio.

1.4.1.1. Hierba fresca.

Raramente pueden ser conservadas más que algunos días; no reaccionan bien a tiempos largos de exposición al calor (volviéndose amargas o astringentes); (Iglesias, M. 2012); pero

muchas de ellas ofrecen sus mejores cualidades organolépticas cuando se consumen frescas (Mendiola, Ma Ángeles; *et al.* 2009).

1.4.1.2. Hierba seca.

Una gran opción para hierbas que no se pueden producir durante todo el año (Green, A. 2006). Se obtienen mediante procesos tales como deshidratado, trituración o molienda, selección y envasado (Muñoz, F. 2002). Al poseer bajo nivel de humedad, su vida útil es más prolongada que en el caso de las hierbas frescas. Su uso es en menor cantidad, ya que la concentración de aceites esenciales es más alta que en las hierbas frescas (Cecchini, T; *et al.* 2016). Necesitan más tiempo de contacto con el calor para liberar sus propiedades (Iglesias, M. 2012). Hay que tener especial cuidado con este tipo ya que algunas industrias utilizan conservantes y otros productos químicos para alargar la vida útil de las mismas (Green, A. 2006).

1.4.2. Horchata.

La "Horchata" en Ecuador proviene de los vocablos indígenas (quichua) "hampik yaku" que significa "agua que cura o agua de remedio" (Espinoza, J. 2012) o "agua de frescos" (Naranjo, P; et al. 1995), es una bebida infusionada que mezcla 25 tipos de plantas y hierbas aromáticas y medicinales (Santos, 2015) típica del sur del Ecuador; en donde nuestros antepasados la conocían como "agua de remedio" por la creencia en sus beneficios (Condoy, R. 2015). El color rojizo de esta bebida es debido al uso de hierbas como Amaranthus hybridus (ataco) y Aerva sanguinolenta (escancel) (Argüello, 1991). También se le atribuyen propiedades medicinales como antiinflamatorio hepático, promotor de la digestión, mejora la memoria y diurético (Villamagua, R. 2014), hidratante, anti-estrés, energizante (Revista VARITEK. 2010).

Esta bebida refrescante y con aroma a bosque silvestre (Loyaga, M. 2019) se la puede consumir fría o caliente, endulzada con azúcar, panela o miel y complementada con unas gotitas de zumo de limón (Guamán, B. 2015). Según Loyaga (2019) las hierbas y plantas con las cuales se elabora esta bebida se describen a continuación:

Albahaca

- Nombre científico: Ocimum Basilicum (Figura 1)

Otros nombres: Albahaca de comer

 Usos: La infusión de las hojas y flores, frescas o secas se emplean para tratar el reumatismo, desordenes nerviosos, el dolor de estómago y la diarrea. Las hojas y flores, en infusión, se usan para tratar la fiebre, resfríos, insomnio, ansiedad, fatiga física y dolores de cabeza (Loyaga, Michael. 2019).



Figura 1: Albahaca Fuente: Tropicos.org Elaborado por: El autor

Anís

- Nombre científico: Tagetes filifolia (Figura 2)
- Otros nombres: Anís de campo
- Usos: La infusión de la planta contrarresta los efectos de resfrío, cólicos y dolor de estómago (Loyaga, Michael. 2019).



Figura 2: Anís Fuente: Tropicos.org Elaborado por: El autor

Ataco

- Nombre científico: Amaranthus hybridus (Figura 3)
- Otros nombres: Amaranto negro, sangorache
- Usos: La infusión de la planta se usa para limpiar la sangre, tratamiento de enfermedades cardiacas, controlar los nervios, regulador de la menstruación, prevención del cáncer, cuidado bucal, irritación de la garganta, problemas digestivos, prevención de la caída de cabello, dolor de espalda y pecho (De la Torre. Lucia. et al., 2008).



Figura 3: Ataco Fuente: Tropicos.org Elaborado por: El autor

Borraja

- Nombre científico: Borago officinalis (Figura 4)

Otros nombres: Borraja azul

- Usos: La infusión de la plata sirve para tratar afecciones a los nervios, recobrar vitalidad, tratar la fiebre, tos, resfríos, gripe y bronquitis, estimulante de las funciones cutáneas y el sarampión (De la Torre. Lucia. *et al.*, 2008).



Figura 4: Borraja Fuente: Tropicos.org Elaborado por: El autor

Cedrón

- Nombre científico: *Aloysia Triphylla* (Figura 5)

- Otros nombres: Cedrón

 Usos: La infusión de las hojas y flores sirve para tratar los sustos y falta de ánimo, problemas del corazón, presión dolores estomacales y desmayos (Loyaga, Michael. 2019).



Figura 5: Cedrón Fuente: Tropicos.org Elaborado por: El autor

Clavel

- Nombre científico: Dianthus caryophyllus (Figura 6)

- Otros nombres: Clavel

- Usos: La infusión de las hojas y flores sirven para tratar afecciones del corazón, depresión anímica, antialérgica, antiespasmódica, alivia el estrés, fatiga, insomnio, y desequilibrios hormonales femeninos (Santos, Wilman; 2015).



Figura 6: Clavel Fuente: Tropicos.org Elaborado por: El autor

Cola de caballo

- Nombre científico: *Equisetum giganteum* (Figura7)

- Otros nombres: Chupa caballo

- Usos: La infusión de los tallos y hojas se utiliza para limpiar la sangre, tratar afecciones del hígado, riñones y sistema urinario, antiinflamatoria, antioxidante, tratamiento de enfermedades renales, para lavar heridas e inflamaciones en la boca y encías (De la Torre. Lucia. et al., 2008).



Figura 7: Cola de caballo Fuente: Tropicos.org Elaborado por: El autor

Duraznillo

- Nombre científico: Oenothera rosea (Figura 8)

Otros nombres: Shullo

- Usos: La infusión de las hojas y flores sirven para tratar dolores de cabeza, cólicos menstruales, diabetes, inflamaciones y afecciones renales y como purgante (Santos, Wilman; 2015).



Figura 8: Duraznillo Fuente: Tropicos.org Elaborado por: El autor

Escancel

- Nombre científico: Aerva sanguinolenta (Figura 9)

- Otros nombres: Escancel

Usos: La infusión de las hojas solas se usa como purgante, anticancerígeno, lavar y limpiar infecciones en la piel, y en el tratamiento de inflamaciones. La infusión mezclada con miel ayuda en el tratamiento de dolores de cabeza, tos, desordenes pulmonares, circulatorios y respiratorios (De la Torre. Lucia. *et al.*, 2008).



Figura 9: Escancel Fuente: Bailón N. (2018). Elaborado por: El autor

Flor de Cristo

- Nombre científico: Passiflora caerulea (Figura 10)
- Otros nombres: Flor de Cristo
- Usos: La infusión de la raíz se usa para tratamiento de afecciones del riñón e hígado. La infusión de las hojas sirve para tratar inflamaciones de los riñones.
 La infusión de la flor sirve para tratar problemas del corazón y los nervios (Loyaga, Michael. 2019).



Figura 10: Flor de Cristo Fuente: Tropicos.org Elaborado por: El autor

Gañal

- Nombre científico: Oreocallis grandiflora (Figura 11)
- Otros nombres: Gañil
- Usos: La infusión de la flor sirve para tratar afecciones hepáticas, malestares de la gripe, disminuir la fiebre, aliviar dolores en los riñones, afecciones en el tracto intestinal, ulcera gástrica, la diabetes y el colesterol (De la Torre. Lucia. et al., 2008).



Figura 11: Gañal Fuente: Tropicos.org Elaborado por: El autor

Hierba luisa

- Nombre científico: Cymbopogon citratus (Figura 12)
- Otros nombres: Hierba buena, citronela, lemon grass
- Usos: La infusión de las hojas se usa como estimulante del sistema nervioso, ayuda a la digestión, anticancerígeno, ayuda contra el insomnio, para tratar dolores de cabeza, estomago, gastritis y reumatismo (Loyaga, Michael. 2019).



Figura 12: Hierba Luisa Fuente: Tropicos.org Elaborado por: El autor

Hoja de canela

- Nombre científico: Ocotea quixos (Figura 13)
- Otros nombres: Canela
- Usos: La infusión de las hojas se utiliza para curar la diarrea, artritis y calambres (De la Torre. Lucia. *et al.*, 2008).



Figura 13: Hoja de Canela Fuente: Ballabeni, V. (2010) Elaborado por: El autor

Linaza

- Nombre científico: *Linum Usitatissimum* (Figura 14)
- Otros nombres: Lino
- Usos: La infusión de las semillas se utiliza para tratar el dolor de muelas, riñones e intestinos (Loyaga, Michael. 2019).



Figura 14: Linaza Fuente: Tropicos.org Elaborado por: El autor

Llantén

- Nombre científico: Plantago lanceolata (Figura 15)
- Otros nombres: Llantén de páramo
- Usos: La infusión de las hojas y flores se usan para purificar la sangre, reconformar el malestar causado por las hemorroides, para tratar la inflamación de los ovarios, es diurético (De la Torre. Lucia. et al., 2008).



Figura 15: Llantén

Fuente: Mondragón, J. (2009).

Elaborado por: El autor

Malva

- Nombre científico: Lavatera cretica (Figura 16)

- Otros nombres: Malva, malva olorosa, albheza

- Usos: La infusión de la flor sirve para tratar afecciones renales, infecciones, hinchazones, inflamaciones de la piel y el útero, pujos con sangre y los resfríos, también como purgante (Santos, Wilman; 2015).



Figura 16: Malva Fuente: Valverde. Elaborado por: El autor

Manzanilla

- Nombre científico: *Matricaria recutita* (Figura 17)

Otros nombres: Manzanilla

- Usos: La infusión de las hojas sirve para combatir la depresión, enfermedades gástricas, afecciones de los riñones y la piel. La infusión de la flor sirve para tratar el dolor de cabeza, y gastritis (Loyaga, Michael. 2019).



Figura 17: Manzanilla Fuente: Tropicos.org Elaborado por: El autor

Menta

- Nombre científico: *Mentha spicata* (Figura 18)
- Otros nombres: Menta de castilla
- Usos: La infusión de las plantas y hojas sirve para aliviar dolores de estómago, cólicos, calambres, antiinflamatorio, tranquilizante del sistema nervioso, y en el tratamiento de la próstata (De la Torre. Lucia. *et al.*, 2008).



Figura 18: Menta Fuente: Tropicos.org Elaborado por: El autor

Moradilla

- Nombre científico: Verbena litoralis (Figura 19)
- Otros nombres: Verbena
- Usos: La infusión de las hojas sirve para tratar vómitos, dolores estomacales, fiebre, resfríos, afecciones renales, dolor de riñones, colerín, y lavados intestinales (Loyaga, Michael. 2019).



Figura 19: Moradilla Fuente: Tropicos.org Elaborado por: El autor

Mortiño

- Nombre científico: Solanum nigrescens (Figura 20)

- Otros nombres: Mortiño

 Usos: La infusión de las hojas y frutos sirve para aliviar la gripe, resfríos e infecciones de la piel. La infusión de las flores se usa para tratar dolores en los riñones y curar el chuchaqui (De la Torre. Lucia. et al., 2008).

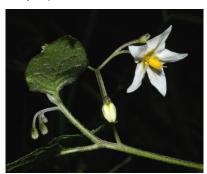


Figura 20: Mortiño Fuente: Tropicos.org Elaborado por: El autor

Orégano

- Nombre científico: *Thymus vulgaris* (Figura 21)

- Otros nombres: Orégano

- Usos: La infusión de la planta y hojas se usa como antiespasmódica y estimulante, también para tratar afecciones del sistema digestivo, dolor de estómago, infecciones y úlceras (De la Torre. Lucia. *et al.*, 2008).



Figura 21: Orégano Fuente: Tropicos.org Elaborado por: El autor

Pimpinela

- Nombre científico: Sanguisorba minor (Figura 22)
- Otros nombres: Pimpinela
- Usos: La infusión de la planta se usa para purificar la sangre, y en combinación con el perejil y el toronjil sirve para tratar el dolor del corazón y nervios (Loyaga, Michael. 2019).



Figura 22: Pimpinela Fuente: Tropicos.org Elaborado por: El autor

Τé

- Nombre científico: Chenopodium ambrosioides (Figura 23)
- Otros nombres: Té de castilla
- Usos: La infusión de la raíz y planta sirve como tónico cerebral, mejora la memoria, combate la anemia y la tos (De la Torre. Lucia. *et al.*, 2008).



Figura 23: Té Fuente: Tropicos.org Elaborado por: El autor

Toronjil

- Nombre científico: *Melissa officinalis* (Figura 24)

Otros nombres: Toronjil

- Usos: La infusión de las hojas es utilizado como antiespasmódico, digestivo, calmante (Loyaga, Michael. 2019).



Figura 24: Toronjil Fuente: Tropicos.org Elaborado por: El autor

Violeta

- Nombre científico: *Anoda cristata* (Figura 25)

- Otros nombres: Violeta de campo

- Usos: La infusión de la flor sirve para tratar afecciones en los nervios, sarampión, evitar el insomnio, afecciones postparto, y tos (Loyaga, Michael. 2019).



Figura 25: Violeta Fuente: Tropicos.org Elaborado por: El autor

La mezcla de las plantas y hierbas antes mencionadas en cantidades ya establecidas por experiencia, junto con agua, endulzantes, cítricos (opcional) y una fuente de calor; conforman la tradicional "Horchata"; bebida originara de la provincia de Loja y que, según Marcillo & Naranjo (2012) además de proveer diferentes propiedades medicinales las familias ecuatorianas lo han convertido en sustituto del té y café, por ser libre de taninos y cafeína (Loyaga, M. 2019); debido a que la mayoría de su materia prima puede ser cultivado en los hogares o conseguirlos de manera orgánica en mercados locales.

Como lo menciona Loyaga, M (2019) "la horchata es una bebida saludable que puede ser consumida por cualquier tipo de persona" sin importar su edad, condición física, sexo, etc; ya que cuenta con excelentes propiedades medicinales como; refrescante, antiestrés, diurético, energizante y tónico cerebral (Revista VARITEK, 2010). Por lo tanto el consumo habitual de la bebida con el pasar del tiempo otorga a quien lo bebe beneficios sobre la salud del mismo.

1.4.3. Guabiduca (*Piper Carpunya* Ruiz &Pav.)

Es una planta ancestral proveniente de las regiones de América del Sur (Prieto, C. 2005). En la comunidad Shuar, sus hojas son consideradas como medicinales por sus beneficios para el tratamiento de enfermedades gástricas, curación de heridas, y antiparasitario (Ballesteros, J; et al. 2019). Otras propiedades que se le atribuyen a su infusión son: contrarresta enfermedades dérmicas (Cárdenas, C. 2016), anti-inflamatorio, antiúlcera, antidiarreico e irritaciones de la piel (Quintana, K. 2012). Así también Ruiz, H. (2007), menciona "los naturales de gusto delicado acostumbran tomar una o dos tazas de la infusión de sus hojas para ayudar a la digestión". A continuación se hará una breve descripción de la quabiduca:

- Nombre Científico: *Piper Carpunya* Ruiz & Pav. (Figura26).
- Otros nombres: Guabiduca (Ecuador); Carpundia (Perú); Cordoncillo aromático u oloroso (Colombia).
- Descripción: Arbusto de 2 a 6 metros de altura. "De hojas simples, alternas y dísticas, de color verde oscuro en el haz y verde más pálido en el envés" (Castillo, E. 2014). Habita en Los Andes y la Amazonía; las hojas desecadas contienen mayor fragancia y son ampliamente utilizadas en la medicina ancestral en los países tropicales y subtropicales de América del Sur (Quintana, K. 2012).



Figura 26: Hojas de Guabiduca

Fuente: Laboratorio de Operaciones Unitarias. UTPL

Elaborado por: El autor

Es una planta muy usada por las comunidades indígenas debido a sus múltiples beneficios transmitidos de generación en generación en Ecuador, Colombia y Perú; en donde el zumo y la infusión de sus hojas secas son usadas en desinfecciones por las propiedades antisépticas, antifúngicas estimulantes y relajantes que posee (Flores, E. 2006; Yánez, P. 2006).

1.4.3.1. Usos.

- Antiinflamatorio, antiúlcera, antidiarreico, antiparasitario; por los habitantes de la provincia de Zamora Chinchipe- Ecuador (Alvarado, J. 2017).
- Gastroprotector: "Estudios realizados por el Departamento de Farmacología de la Universidad de Sevilla, España, determinaron el efecto gastroprotector de la planta" (Quintana, K. 2012). El aceite esencial extraído de las hojas secas ayuda a reducir las ulceras (Alvarado, J. 2017).
- Saborizante: En la ciudad de Zamora Ecuador sus habitantes lo usan para condimentar carnes y sopas (Alvarado, J. 2017).

1.4.3.2. Contraindicaciones.

Evitar el consumo de la infusión de guabiduca cuando se está tomando "aspirinas o con drogas antidepresivas ya que puede provocar reacciones perjudiciales en el organismo"; importante consultar a su médico de confianza antes de tomar guabiduca ya que su interacción con otros medicamentos puede ser fatal (Alvarado, J. 2017).

CAPITULO II

2. METODOLOGIA

2.1. Preparación de las bebidas

2.1.1. Bebida de Horchata

Para la preparación de la horchata se escogio la marca Tisanita del mercado lojano; el mecanismo de preparación se describe a continuación:

1) Pesar mezcla de hierbas secas y agua por separado (Figura 27).



Figura 27: Mezcla de Horchata seca. Fuente: Laboratorio de Alimentos. UTPL. Elaborado por: El autor

2) Hervir agua (Figura28)



Figura 28: Agua hirviendo (horchata). Fuente: Laboratorio de Alimentos. UTPL. Elaborado por: El autor

- 3) Colocar hierbas secas en el agua hirviendo
- 4) Apagar el fuego (Figura 29)



Figura 29: Mezcla de hierbas secas y agua (horchata).

Fuente: Laboratorio de Alimentos. UTPL.

Elaborado por: El autor

- 5) Tapar. Debe tapar bien para evitar que los compuestos volátiles se escapen
- 6) Dejar reposar por 1 hora aproximadamente hasta que se enfríe, removiendo de vez en cuando, sin destapar (Figura 30).



Figura 30: Olla tapada (horchata).

Fuente: Laboratorio de Alimentos. UTPL.

Elaborado por: El autor

7) Tamizar. Estrujando las hierbas secas para extraer la mayor parte de compuestos que pudieran quedar (Figura 31).



Figura 31: Tamizar infusión (horchata). Fuente: Laboratorio de Alimentos. UTPL.

Elaborado por: El autor

- 8) Dividir en tres partes iguales (Figura 32).
- Nota: Es recomendable que se coloque de inmediato en los embudos de decantación y enseguida el diclorometano (cloruro de metileno agente extractante de compuestos orgánicos) (E. Lopez; et al. 2003). Para empezar el proceso de extracción liquido/liquido, pero si no se puede, se debe colocar la infusión fría en botellas con cuello en tubo lo más cerradas posibles ya que si usamos recipientes con cuello escalonado (los compuestos volátiles se retendrían en la parte escalonada de la botella) o con cuellos muy abiertos (los compuestos volátiles se escaparían con facilidad). Tapar muy bien, etiquetar y refrigerar (2°C a 3°C) hasta máximo 8 horas después de haber realizado la infusión.



Figura 32: División de las infusiones (horchata). Fuente: Laboratorio de Alimentos. UTPL.

Elaborado por: El autor

2.1.2. Bebida de Guabiduca

Como para la anterior, se siguieron los mismos pasos; solo se cambió el ingrediente principal que en este caso es hojas de guabiduca secas.

 Recolección del material vegetal: 32 g de hojas de guabiduca seca (las hojas frescas fueron recolectadas en el mes de noviembre del 2019 en la Comunidad de Kiim (territorio Shuar), Parroquia La Paz, Cantón Yacuambi, Provincia de Zamora y luego secadas para su posterior extracción) (Figura33).



Figura 33: Mapa de recolección de la Guabiduca

Fuente: Google maps Elaborado por: El autor

Ya que el procedimiento fue el mismo a lo hecho para la horchata, este punto solo se ilustrará con figuras de lo realizado:

1) Hojas secas de guabiduca (Figura 34)



Figura 34: Hojas secas de guabiduca. Fuente: Laboratorio de Operaciones Unitarias. UTPL. Elaborado por: El autor

2) Infunsión de guabiduca (Figura 35).



Figura 35: Olla tapada con guabiduca. Fuente: Laboratorio de Alimentos. UTPL.

Elaborado por: El autor

3) Pesaje y división de las muestras (Figura 36).



Figura 36: Pesaje y división de las infusiones de guabiduca.

Fuente: Laboratorio de Alimentos. UTPL.

Elaborado por: El autor

2.2. Extracción de los compuestos volátiles de las bebidas

2.2.1. Extracción de los compuestos volátiles de la bebida de Horchata

1) Colocar en los embudos de decantación (Figura37).



Figura 37: Infusiones en el embudo de decantación (horchata). Fuente: Laboratorio de Operaciones Unitarias. UTPL. Elaborado por: El autor

9) Colocar diclorometano; 5 mL en cada muestra (Figura 38)





Figura 38: Colocación de diclorometano (horchata). Fuente: Laboratorio de Operaciones Unitarias. UTPL.

Elaborado por: El autor

10) Dejar reposar por 1 hora aprox. Removiendo de vez en cuando para que ambos líquidos estén en contacto y haya una mejor extracción (Figura 39).



Figura 39: Mezcla de horchata y diclorometano. Fuente: Laboratorio de Operaciones Unitarias. UTPL. Elaborado por: El autor

11) Recoger el diclorometano en viales (Figura40), (los viales deben estar encerados para evitar contaminaciones). Evitar que se pase algo de la infusión al vial.



Figura 40: Recolección de la extracción con el diclorometano (horchata).

Fuente: Laboratorio de Operaciones Unitarias. UTPL.

Elaborado por: El autor

12) Colocar en el vial Sulfato de sodio anhidro como agente desecante (Figura 41), para absorber agua que se pudo haber arrastrado al diclorometano ya que el mismo podría dañar la columna del cromatografo.



Figura 41: Colocación del sulfato de sodio anhidro (horchata). Fuente: Laboratorio de Operaciones Unitarias. UTPL. Elaborado por: El autor

- 13) Con una pipeta de 1 mL recoger el dicloromenato sin hundir demasiado la pipeta ya que se podrá arrastrar sulfato de sodio anhidro.
- 14) Colocar lo recogido por la pipeta en un vial de 1mL, para su posterior lectura cromatográfica
- 15) Tapar muy bien y refrigerar (2°C a 3°C) hasta llevar al cromatógrafo (Figura 42).



Figura 42: Viales listos con la muestra de Horchata para ser inyectados en el cromatógrafo.

Fuente: Laboratorio de Operaciones Unitarias. UTPL.

Elaborado por: El autor

Además se cargó un vial con 1 mL del hidrocarburo (TPH-RPM) (Figura 43) para la determinación de los índices de retención de Kovatz aritmético; estos índices se basan en la medición de los tiempos de retención de los diferentes compuestos, ayudando a identificarlos (Stashenko, E; et al. 2010) y con esto se diferenció los compuestos volátiles presentes en la bebida de horchata.



Figura 43: Vial listo con el hidrocarburo para ser inyectado en el cromatógrafo (horchata).

Fuente: Laboratorio de Operaciones Unitarias. UTPL.

Elaborado por: El autor

2.2.2. Extracción de los compuestos volátiles de la bebida de Guabiduca

 Colocación de las muestras en los embudos de decantación (Figura 44).



Figura 44: Infusiones de guabiduca en el embudo de decantación. Fuente: Laboratorio de Operaciones Unitarias. UTPL. Elaborado por: El autor

2) Colocar diclorometano; 5 mL en cada muestra (Figura 45).



Figura 45: Colocación de dicloromentano en la infusión de guabiduca. Fuente: Laboratorio de Operaciones Unitarias. UTPL. Elaborado por: El autor

3) Dejar reposar por 1 hora aprox. Removiendo de vez en cuando para que ambos líquidos estén en contacto y haya una mejor extracción (Figura 46).



Figura 46: Mezcla de guabiduca y diclorometano. Fuente: Laboratorio de Operaciones Unitarias. UTPL. Elaborado por: El autor

4) Recoger el dicloromentao en viales (Figura 47).



Figura 47: Recolección de la infusión y colocación del sulfato de sodio anhidro (guabiduca).

Fuente: Laboratorio de Operaciones Unitarias. UTPL.

Elaborado por: El autor

5) Muestras listas para ser puestos en el cromatógrafo (Figura 48).



Figura 48: Viales listos con la muestra de guabiduca para ser inyectados en el cromatógrafo.

Fuente: Laboratorio de Operaciones Unitarias. UTPL.

Elaborado por: El autor

6) Hidrocarburo (TPH-RPM) (Figura 49).



Figura 49: Vial listo con el hidrocarburo para ser inyectado en el cromatógrafo (guabiduca). Fuente: Laboratorio de Operaciones Unitarias. UTPL.

Elaborado por: El autor

2.3. Extracción del aceite esencial de Guabiduca (Piper Carpunya Ruiz &Pav.).

Para este procedimiento se utilizó un equipo de destilación de tipo Clevenger (Figura 50), en donde se colocó el material vegetal sobre una placa perforada y bajo esta agua; una vez que el agua llega a ebullición el vapor formado arrastra el aceite esencial y agua, los cuales son recogidos en un florentino y luego son separados por diferencia de densidades (Coronel, E. 2017).

Luego lo recogido en el florentino paso a una probeta para medir su volumen, esto fue traspasado a un frasco oscuro para posteriormente ser congelado y que el agua se separa del aceite esencial por congelación. Una vez realizado este paso se procedió a etiquetar los frascos (Figura 51).



Figura 50: Clevenger. Fuente: Laboratorio de Operaciones Unitarias. UTPL.

Elaborado por: El autor



Figura 51: Frascos con aceite esencial de guabiduca. Fuente: Laboratorio de Operaciones Unitarias. UTPL. Elaborado por: El autor

2.3.1. Preparación de las muestras del aceite esencial de Guabiduca.

Para cada extracción se preparó un vial en el cual se colocó 10 µL del aceite extraído más

990 µL de diclorometano, obteniendo así una disolución al 1% de aceite esencial de

guabiduca y luego fueron llevados al cromatógrafo.

2.4. Determinación de la composición química de los compuestos volátiles.

2.4.1. Cromatografía de gases (GC) y espectrometría de masas (MS).

Para la identificación de los compuestos volátiles se utilizó el método de la cromatografía

de gases acoplado a la espectrometría de masas (GC-MS) y un detector de ionización de

llama. Este es un método analítico que ayuda a identificar todas las moléculas aromáticas;

lo cual nos permitirá realizar un análisis cualitativo y cuantitativo de las mismas.

El cromatografo que se uso es un Agilent serie 6890N acoplado a un espectrómetro de

masas (GC/MS) Agilent serie 5973 Inert (Figura 52). Este equipo cromatográfico dispone

de un inyector automático Split/ Splitless serie, además esta acoplado a un detector de

ionización de llama (FID) dotado de un generador de hidrogeno Gas 9150 Packard y posee

un sistema de datos MSD-ChemStation D.01.SP1

En cuanto a las columnas capilares para la identificación de los compuestos volátiles se

utilizó:

- Columna no polar (DB-5MS) recubierta internamente por fenilo al 5% y dimetil

arileno siloxano al 95% la cual tiene una temperatura límite de 325°C.

Parámetros para la inyección:

Inyector:

Modo: Split

Radio de partición: 50:1

Temperatura inicial: 250°C

Tipo de gas: helio

Horno:

Temperatura inicial: 50°C

Tiempo inicial: 3 minutos

Rampa: 3°C/min

Temperatura final: 230°C

Columna:

DB5-MS

39

Temperatura máxima: 325°C Modo: Flujo constante. Flujo inicial: 0,9mL/seq.

Presión inicial nominal: 6.50psi Velocidad promedio: 35 cm/seg.

Presión de salida: Vacío

Detector:

Temperatura: 250°C Tipo de gas: helio.



Figura 52: Cromatógrafo de Gases Agilent serie 6890N, acoplada a un Espectrómetro de Masas Agilent serie 5973 Inert.

Fuente: Laboratorio de Química. UTPL.

Elaborado por: El autor

2.4.2. Identificación cualitativa y cuantitativa de los compuestos volátiles.

Luego de la obtención del cromatograma que es una "representación gráfica de la señal producida por el detector en función del tiempo o del volumen de elución" (Coronel, E. 2017); el cromatograma muestra picos que son el tiempo de retención y concentración de los compuestos para luego poder ser identificados. Para que los componentes sean más fáciles de identificar se realizó una integración de los picos median el mismo software del equipo.

Con los cromatogramas se realizó el cálculo de los índices de retención de Kovats aritmético aplicando la siguiente ecuación:

$$IR = 100n + 100 * \frac{t_{RX} - t_{Rn}}{t_{RN} - t_{Rn}}$$

Donde:

- IR: Índice de retención de Kovats aritmético
- n: Número de átomos de carbono en el n-alcano
- trx: Tiempo de retención del compuesto analizado, que eluye en el centro de nalcanos
- t_{Rn}: Tiempo de retención n-alcano que eluye antes del compuesto analizado
- trans. Tiempo de retención del n-alcano que eluye después del compuesto analizado.

Para la identificación se utilizó los IR que se obtuvieron en las corridas cromatográficas que se compararon con el leído en el libro de Adams (2017); la diferencia entre ambas lecturas debe ser menor a 20 unidades. También se tomó en cuenta el número de CAS de cada compuesto, de modo que facilite la identificación de los IK (Coronel, E. 2017).

CAPITULO III

3. RESULTADOS

3.1. Rendimiento del aceite esencial de Guabiduca (Piper Carpunya Ruiz &Pav.).

Para determinar el rendimiento del material vegetal de la Guabiduca se hicieron 3 destilaciones, como se explica en la tabla 1:

Tabla 1: Rendimiento del aceite esencial de Guabiduca

Destilación	Material vegetal (g)	Tiempo de destilación	Rendimiento (mL)
1	1500	2h30	8
2	700	2h30	0,5
3	700	2h30	4,5
Media	700		4,5

Fuente: Laboratorio de Operaciones Unitarias. UTPL.

Elaborado por: El autor

Para calcular el porcentaje de rendimiento del aceite se utilizó la media de lo extraído y luego se aplicó la siguiente la fórmula:

$$\%R = \frac{Volumen\ (mL)}{Peso\ (gr.)} * 100$$

Donde:

%R = Porcentaje de rendimiento.

Volumen (mL) = Volumen del aceite esencial extraído en mL.

Peso (gr) = Peso de la materia vegetal empleada en la extracción. (Coronel, E. 2017).

Aplicando la formula anterior se obtuvo 0,643% del aceite esencial de Guabiduca. Según Zekaria (2006), el rendimiento de los aceites esenciales es bajo y varia ente 0,01% y 2,00%. Este rendimiento depende del clima, cosecha, especie, origen del material vegetal, etc. como lo menciona López, R; *et al.* (2015).

3.1.1. Análisis cuantitativo y cualitativo del Aceite esencial de Guabiduca (*Piper Carpunya* Ruiz &Pav.).

El perfil cromatográfico del aceite esencial de Guabiduca se encuentra en la figura 53.

Abundance

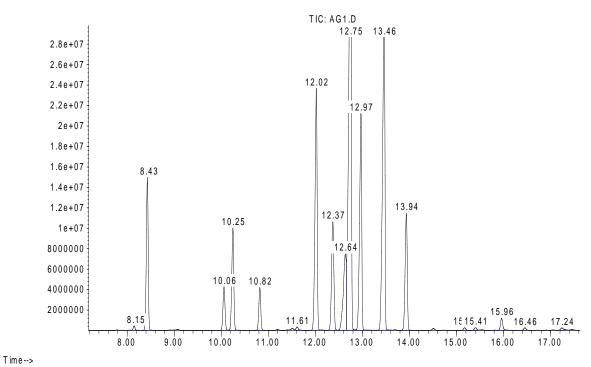


Figura 53: Perfil cromatográfico del aceite esencial de Guabiduca (*Piper Carpunya* Ruiz &Pav.). Fuente: Laboratorio de Química. UTPL.

Elaborado por: El autor

La composición química obtenida en la columna no polar DB5-MS del aceite esencial de Guabiduca (*Piper Carpunya* Ruiz &Pav.) se detalla en la tabla 2. Los compuestos se encuentran según el orden en que fueron detectados por el equipo y se resaltó los que mayor área presentaron.

Tabla 2: Composición química del aceite esencial de Guabiduca (Piper Carpunya Ruiz &Pav.).

	Ţ,	sencial de Guabiduca (<i>Piper Carpunya</i> Ruiz &Pav.). DB5-MS								
Nº pico	Compuesto			% CANT	IDAD RE	_				
•		IRcai	IRref	AG1	AG2	AG3	X	σ		
1	Hexenol <(2Z)->	863	859	-	1,24	-	1,24	-		
2	Hexanol <n-></n->	865	863	-	0,58	-	0,58	-		
3	Methyl tiglate	868	863	-	0,17	-	0,17	-		
4	Isopropyl 2-methylbutyrate	873	880	1 - 1	0,10	-	0,10	-		
5	Heptenal <(4Z)->	902	893	1 - 1	0,47	-	0,47	-		
6	Santolina triene	906	906	0,14	0,22	0,13	0,16	0,05		
7	Nonane <n-></n->	908	900	-	0,22	-	0,22	-		
8	Tricyclene	916	921	5,03	4,20	4,89	4,71	0,44		
9	Methyl hexanoate	926	921	- 1	0,52	-	0,52	-		
10	Hepten-2-one <(3E)->	927	927	- 1	0,19	-	0,19	-		
11	Camphene	951	946	1,57	3,62	1,57	2,25	1,18		
12	Fenchene <α->	954	945	3,63	1,50	3,65	2,93	1,24		
13	Pinene <β->	967	974	1,49	-	0,14	0,81	0,96		
14	Sabinene	967	969	 -	1,81	1,57	1,69	0,17		
15	Carene <δ-2->	992	1001	9,17	10,09	3,96	7,74	3,30		
16	Menthene <3-ρ->	992	984	-	5,19	7,54	6,37	1,66		
17	Mesitylene	1000	994	4,44	-	4,54	4,49	0,07		
18	Carene <δ-3->	1005	1008	3,91	6,01	_	4,96	1,48		
19	Cineole <1,4->	1008	1012	22,67	6,68	23,00	17,45	9,33		
20	Terpinene <α->	1013	1014	8,17	11,43	8,74	9,45	1,74		
21	Ocimene <(Z)-β->	1023	1032	13,71	18,39	14,38	15,50	2,53		
22	Phellandrene <β->	1033	1025	4,47	6,64	4,42	5,18	1,27		
23	Isobutyl acetoacetate	1059	1060		0,09	-	0,09	-		
24	Tolualdehyde <meta-></meta->	1064	1064	 - 	0,20	0,11	0,15	0,06		
25	Mentha-3,8-diene <ρ->	1076	1068	0,48	-	0,40	0,44	0,05		
26	Cymenene <meta-></meta->	1086	1082	-	-	0,12	0,12	-		
27	Thujanol <neo-3-></neo-3->	1145	1149	0,17	-	-	0,17	-		
28	Eucarvone	1148	1146	0,39	-	0,18	0,29	0,15		
29	Thujanol <3->	1170	1164	2,01	0,63	1,46	1,36	0,70		
30	Cymene <p-></p->	1214	1220	1,04	-	2,59	1,82	1,10		
31	Coahuilensol, methyl ether	1216	1219	0,22	-	0,13	0,18	0,06		
32	Fenchyl acetate <endo-></endo->	1218	1218	0,39	_	-	0,39	-		
33	Anethole <(Z)->	1258	1249	-	0,15	-	0,15	-		
34	Perilla aldehyde	1260	1269	0,51	-	0,48	0,50	0,02		
35	Cinnamaldehyde <(E)->	1265	1267	12,24	_	12,14	12,19	0,07		
36	Phenol <2-(1E)-propenyl->	1268	1264	0,51	15,17	0,43	5,37	8,49		
37	Anisyl alcohol <meta-></meta->	1275	1280	0,29	-	0,23	0,26	0,04		
38	Furfuryl pentanoate	1278	1269	0,42	0,17	0,83	0,48	0,34		
39	Linalool isobutanoate	1378	1373	0,23	0,41	0,20	0,28	0,12		
40	Sativene	1395	1390	0,62	0,55	0,55	0,57	0,04		
41	Bergamotene <α-trans->	1438	1432		0,15	-	0,15	-		
42	Aromadendrene	1439	1439	0,16	_	_	0,16	_		
43	Muurola-3,5-diene <trans-></trans->	1451	1451	0,10	1,18	0,74	0,10	0,23		
44	Macrocarpene <α->	1466	1470	0,66	1,10	0,74	0,85	0,23		
45	Occidentalol	1547	1550	0,00	0,72	0,31	0,48	0,22		
45	Occidentator	1371	1550	0,41	0,72	0,51	0,40	0,22		

^{*=} promedio calculado en base al % del área de los picos reportados en la columna DB5-MS, AG1: aceite de la primera dilucion, AG2: aceite de la segunda dilucion, AG3: aceite de la tercera dilucion; X =Promedio, σ= desviación estándar , IR^{ca}=Indice de Retención calculado, IR^{ref}=Indice de Retención reportado en la literatura: aref. 1; bref. 2; cref. 3; dref. 4; eref. 5; fref. 6; gref. 7;Href. 8; ref. 9, Jref. 10 (Ver Anexo I).

Fuente: Laboratorio de Química. UTPL.

Elaborado por: el autor.

3.1.2. Compuestos mayoritarios en el aceite esencial de Guabiduca (*Piper Carpunya* Ruiz &Pav).

En el aceite esencial de Guabiduca se identificó 99,81% donde los compuestos mayoritarios fueron: *Cineole* <1,4-> (17,45%), *Ocimene* <(Z)- β -> (15,50%), *Cinnamaldehyde* <(E)-> (12,19%), *Terpinene* < α -> (9,45%), *Carene* < δ -2-> (7,74%), *Menthene* <3- ρ -> (6,37%), *Phenol* <2-(1E)-propenyl-> (5,37%), *Phellandrene* < β -> (5,18%); tal como se puede ver en la figura 54.

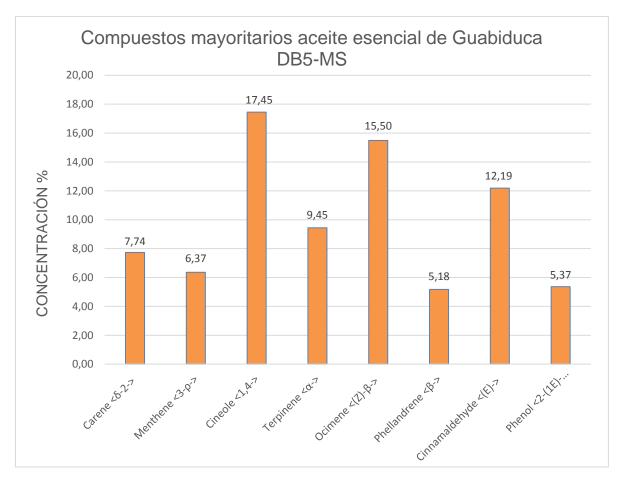


Figura 54: Compuestos mayoritarios del aceite esencial de Guabiduca en la columna DB5-MS. Fuente: Laboratorio de Operaciones Unitarias. UTPL. Elaborado por: El autor

3.1.2.1. 1,4-Cineole.

Formula química: C₁₀H₁₈O. Peso molecular: 154.25 g/mol. Molécula: figura 55. Es un monoterpeno, con aroma ligeramente a lima y menta. En la industria alimentaria es usado como saborizante. Regulador del sistema nervioso central, repelente de insectos, antiinflamatorio y expectorante (National Center for Biotechnology Information [ncbi], 2020).



Figura 55: Molécula de 1,4-Cineole.

Fuente: Adams 2017. Elaborado por: El autor

3.1.2.2. (Z)-beta-Ocimene.

Formula química: C₁₀H₁₆. Peso molecular: 136,23 g/mol. Molécula: figura 56. Monoterpeno saborizante. Con propiedades antifungicas, antioxidante, antimicrobiana (National Center for Biotechnology Information [ncbi], 2020).

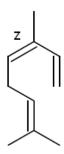


Figura 56: Molécula de (Z)-beta-Ocimene.

Fuente: Adams 2017. Elaborado por: El autor

3.1.2.3. (E)-Cinnamaldehyde.

Formula química: C₉H₈O. Peso molecular: 132,216 g/mol. Molécula: figura 57. Aldehído responsable del sabor y aroma que se produce en la corteza y hojas de algunos árboles. Antifúngico, antimicrobiano, neuroprotector, e irritante para la piel (National Center for Biotechnology Information [ncbi], 2020).

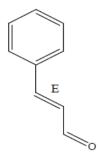


Figura 57: Molécula de (E)-Cinnamaldehyde.

Fuente: Adams 2017. Elaborado por: El autor

3.1.2.4. Alpha-Terpinene.

Formula química: C₁₀H₁₆. Peso molecular: 136,23 g/mol. Molécula: figura 58. Monoterpeno isomérico. Utilizado como aromatizante y saborizante. Con propiedades antimicrobiano, antifungico, y antioxidante (National Center for Biotechnology Information [ncbi], 2020).

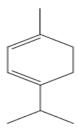


Figura 58: Molécula de Alpha-Terpinene.

Fuente: Adams 2017. Elaborado por: El autor

3.1.2.5. δ-2-Carene.

Formula química: C₁₀H₁₆. Peso molecular: 136,23 g/mol. Molécula: figura 59. Monoterpeno aromatizante; antioxidante y antimicrobiano (National Center for Biotechnology Information [ncbi], 2020).

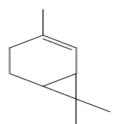


Figura 59: Molécula de δ -2-Carene.

Fuente: Adams 2017. Elaborado por: El autor

3.1.2.6. 3-ρ-Menthene.

Formula química: C₁₀H₁₈. Peso molecular: 138,25 g/mol. Molécula: figura 60. Monoterpeno aromático. Con propiedades antifúngico, antimicrobiano y antioxidante. (National Center for Biotechnology Information [ncbi], 2020).

Figura 60: Molécula de 3-ρ-Menthene.

Fuente: Adams 2017. Elaborado por: El autor

3.1.2.7. 2-(1E)-propenyl-Phenol.

Formula química: C₉H₁₀O. Peso molecular: 134,17 g/mol. Molécula: figura 61. Compuesto aromático, antiparasitario, antimicrobiano y antifúngico. Puede causar irritación ocular y a la piel (National Center for Biotechnology Information [ncbi], 2020).

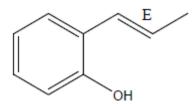


Figura 61: Molécula de 2-(1E)-propenyl-Phenol.

Fuente: Adams 2017. Elaborado por: El autor

3.1.2.8. Beta-Phellandrene.

Formula química: C₁₀H₁₆. Peso molecular: 136,23 g/mol. Molécula: figura 62. Componente monoterpeno aromatico mentolado, ligeramente cítrico. Con propiedades antimicrobiano, antifúngico, y antioxidante (National Center for Biotechnology Information [ncbi], 2020).

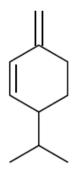


Figura 62: Molécula de Beta-Phellandrene.

Fuente: Adams 2017. Elaborado por: El autor

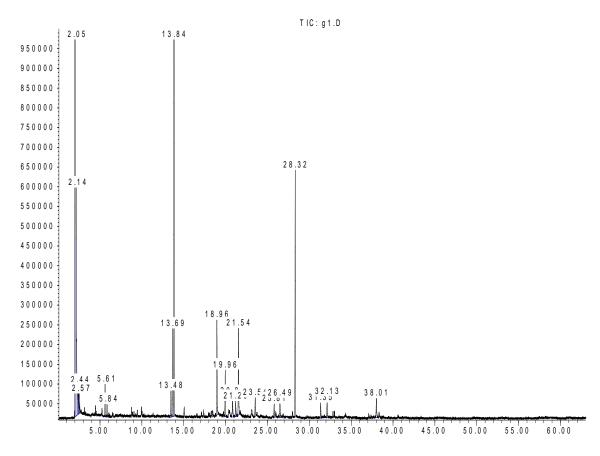
Coronel, E; (2017) en su estudio determinó que los componentes mayoritarios del aceite esencial de *Piper carpunya* fueron: *1,8-Cineole* (26,1%); *Safrole* (23,6%); *Germacrene-D* (6,67%); *α-Terpinene* (6,2%); (*Z)-β-Ocimene* (6,0%). Otro estudio de la composición química de la *Piper Carpunya* Ruiz y Pav., recolectada en la cuenca de la amazonia peruana determino que *α-Terpineno* (12,1%); *P-Cimeno* (10,9%); *1,8-Cineole* (13,0%); *Safrole* (14,9%); y *Spatulenol* (9,8%); fueron los componentes mayoritarios (Vargas, *et al.* 2004). La diferencia que existe entre los compuestos identificados en el presente estudio y los reportados en la bibliografía puede deberse a condiciones climáticas, tiempo de cosecha, métodos de obtención del aceite esencial, entre otros (Coronel, E; 2017).

3.2. Análisis cuantitativo y cualitativo de la bebida de Guabiduca.

Para determinar la composición química de la bebida de Guabiduca se utilizó un cromatógrafo de gases acoplado a la espectrometría de masas (CG-MS) en la columna no polar DB5-MS tal como se describe en los parámetros operacionales que se encuentran en la metodología.

Luego del análisis se obtuvo el perfil cromatográfico de la bebida de Guabiduca que aparece en la figura 63.

Abundance



T im a -->

Figura 63: Perfil cromatográfico de la bebida de Guabiduca.

Fuente: Laboratorio de Química. UTPL.

Elaborado por: El autor

Los picos que se pueden distinguir, son los compuestos por área proporcional a su concentración; para poderlos identificar con más precisión se procedió a realizar una integración de cada uno de ellos. Luego se comparó los Índices de retención de Kovats aritméticos (IR) obtenidos en el análisis con los reportados en la literatura por Adams (2017).

La composición química obtenida en la columna no polar DB5-MS de la bebida de Guabiduca se detalla en la tabla 3. Los compuestos se encuentran según el orden en que fueron detectados por el equipo y se resaltó los que mayor área presentaron.

Tabla 3: Composición química de la bebida de Guabiduca.

Tabla 5. Co	bla 3: Composición química de la bebida de Guabiduca. DB5-MS										
Nº pico	Compuesto	IRcai		% CANT							
			IRref	G1	G2	G3	X	σ			
1	Hexenol <(2Z)->	867	859	-	0,37	-	0,37	_			
2	Isopentyl acetate	868	869	0,12	2,32	3,51	1,98	1,72			
3	Hexanol <n-></n->	873	863	0,63	0,58	1,22	0,81	0,36			
4	Methyl pentanoate <2-methyl->	873	871	-	-	12,25	12,25	-			
5	Methyl butyl acetate <2->	873	875	-	7,90	5,85	6,87	1,45			
6	Isopropyl 2-methylbutyrate	876	880	0,26	3,47	2,34	2,02	1,63			
7	Ethyl pent-4-enoate	879	884	-	1,19	1,11	1,15	0,05			
8	Hexenol <(4Z)->	880	871	-	0,77	2,06	1,41	0,92			
9	Heptenal <(4Z)->	884	893	-	1,27	0,63	0,95	0,45			
10	Nonane <n-></n->	895	900	-	0,79	-	0,79	-			
11	Hexadienol <(2E,4E)->	907	912	-	0,82	0,62	0,72	0,14			
12	Heptanone <2-methyl-4->	923	918	0,26	3,16	-	1,71	2,05			
13	Methyl-(3E)-hexenoate	925	927	-	0,28	-	0,28	-,			
14	Isocitronellene	925	918	-	1,31	4,86	3,08	2,51			
15	Hepten-2-one <(3E)->	929	927	-	1,39	2,38	1,89	0,70			
16	Pinene <α->	937	932	0,21	-	1,77	0,99	1,10			
17	Heptenal <(2E)->	948	947	0,18	3,00	2,14	1,77	1,45			
18	Ethyl 3-methyl pentanoate	948	949	-	-	2,60	2,60	-			
19	Methyl pent-2-enolide <4-> (impure)	950	945		1,84	2,43	2,13	0,41			
20	Heptanol <n-></n->	954	959	_	0,51	1,81	1,16	0,92			
21	Isopropyl tiglate	969	970	_	-	0,28	0,28	-			
22	Carene <δ-2->	992	1001	6,39	_	5,90	6,15	0,35			
23	Menthene <3-p->	993	984	3,43	3,58	-	3,51	0,33			
24	Cineole <1,4->	1014	1012	73,96	46,75	30,30	50,34	22,05			
25	Terpinene <α->	1014	1012	6,31	5,16	7,06	6,18	0,96			
26	Ocimene <(Z)-β->	1024	1032	9,22	9,93	8,88	9,34	0,54			
27	Phellandrene <β->	1024	1032	2,22	2,65	1,96	2,28	0,35			
28	Pinocarveol <trans-></trans->	1129	1135	0,09	-	-	0,09	-			
29	Sabinol <trans-> (trans for OH vs. IPI</trans->		1137	3,00			3,00				
30	Nonanol <n-></n->	1161	1165	1,44	-	-	1,44	-			
31	Santolinyl acetate	1170	1171	0,12	0,65	0,84	0,54				
32	Terpinen-4-ol	1180	1174	0,12	-	-	0,69	0,37			
33	•	1187	1174				· ·				
34	Acetophenone <ρ-methyl-> Terpineol <α->	1194		0,43	-	-	0,43	-			
35	Dihydro carveol	1194	1186 1192	2,82	- 2.60	- 2 77	2,82				
36	Carveol <cis-></cis->	1229	1226	0.16	2,60 -	3,77	3,18	0,83			
	Chrysanthenyl acetate <trans-></trans->	1238	1235	0,16			0,16				
37	, ,			0,62	4,08	3,32 8,89	2,67	1,82			
38	Cinnamaldehyde <(E)->	1266	1267	8,49	8,11		8,49	0,39			
39	Anisyl alcohol <meta-> Cyclopent-2-en-1-one <2-pentyl-></meta->	1288	1280	-	2,05	2,75	2,40 1,02	0,49			
40		1292	1288	- 0.00		1,02		- 20			
41	Pinocarvyl acetate <trans-></trans->	1304	1298	0,69	5,89	4,99	3,86	2,78			
42	Patchenol <(E)->	1338	1328	0,21	- 5.40	-	0,21	4.04			
43	Terpinyl acetate <α->	1346	1346	7,25	5,49	-	6,37	1,24			
44	Caryophyllene <(E)->	1417	1417	0,49	-	-	0,49	-			
45	Aromadendrene	1436	1439	0,73	-	-	0,73	-			
46	Humulene <α->	1453	1452	0,21	-	-	0,21	-			
47	Croweacin	1457	1457	0,23	-	-	0,23	-			
48	Viridiflorol	1583	1592	0,72	-	-	0,72	-			
49	Coumarin <4-hydroxy->	1804	1795	-	-	0,18	0,18	-			
50	Linoleic acid	2132	2132		0,10	-	0,10	-			
*promodio colculado en base al 9/ del área de los piece reportados en la columna DR5 MS. C1: primer extracto											

^{*=} promedio calculado en base al % del área de los picos reportados en la columna DB5-MS, G1: primer extracto, G2: segundo extracto, G3: tercer extracto; **X** =Promedio, **σ**= desviación estándar, lR^{ca}=Indice de Retención calculado; lR^{re}=Indice de Retención reportado en la literatura: aref. 1; bref. 2; cref. 3; dref. 4; eref. 5; fref. 6; gref. 7; href. 8; fref. 9, jref. 10 (Ver Anexo I).

Fuente: Laboratorio de Química. UTPL.

Elaborado por: el autor

3.2.1. Compuestos mayoritarios en la bebida de Guabiduca

En la bebida de Guabiduca se identificó 99,81% donde los compuestos mayoritarios fueron: Cineole <1,4-> (50,34%), Methyl pentanoate <2-methyl-> (12,25%), Ocimene <(Z)- β -> (9,34%), Cinnamaldehyde <(E)-> (8,49%), Methyl butyl acetate <2-> (6,87%), Terpinyl acetate < α -> (6,37%), Terpinene < α -> (6,18%), Carene < δ -2-> (6,15%), Menthene <3- ρ -> (3,15%), Phellandrene < β -> (2,28%); tal como se puede ver en la figura 64.

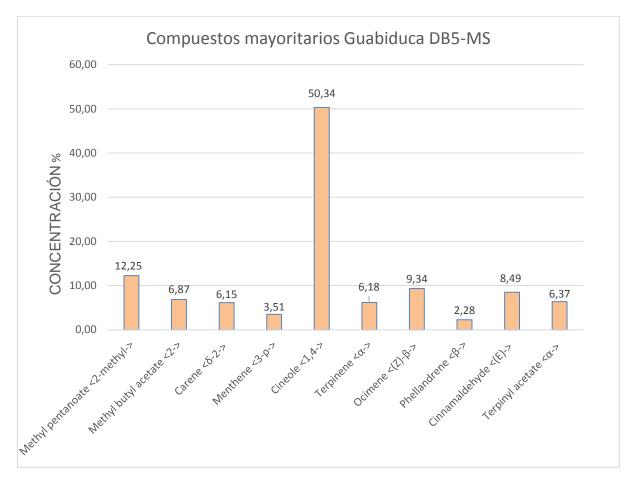


Figura 64: Compuestos mayoritarios de la bebida de Guabiduca en la columna DB5-MS. Fuente: Laboratorio de Operaciones Unitarias. UTPL. Elaborado por: El autor

Los compuestos 1,4-Cineole, (Z)-beta-Ocimene, (E)-Cinnamaldehyde, Alpha-Terpinene, δ -2-Carene, 3-p-Menthene, Beta-Phellandrene; coinciden con los compuestos identificados en el aceite esencial de Guabiduca, algunos se encuentran en mayor proporción y otros casi ya no entrarían como compuestos mayoritarios ya que su concentración en la bebida fue baja comparado con otros compuestos; esto se puede deber a: la cantidad de materia

prima utilizada para la elaboración de la bebida, el tiempo de contacto del material vegetal y el agua, la temperatura del agua, etc (Coronel, E; 2017).

Además se identificaron 3 compuestos que no se encontró en el aceite esencial de Guabiduca:

3.2.1.1. Methyl 2-methylpentanoate.

Formula química: C₇H₁₄O₂. Peso molecular: 130,18 g/mol (National Center for Biotechnology Information [ncbi], 2020). Molécula (figura 65) odorante con propiedades antiinflamatoria, antimicrobiana y antioxidante (Roger, S; *et al.*, 1988).

Figura 65: Molécula de Methyl 2-methylpentanoate.

Fuente: Adams 2017. Elaborado por: El autor.

3.2.1.2. 2-Methylbutyl acetate.

Formula química: C7H14O2. Peso molecular: 130,18 g/mol (National Center for Biotechnology Information [ncbi], 2020). Molécula: figura 66. Éster metílico, aromático y con propiedades gastroprotector, antiparasitario y antidiarreica (Cameleyre, M. 2017).

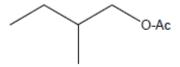


Figura 66: Molécula de 2-Methylbutyl acetate.

Fuente: Adams 2017. Elaborado por: El autor.

3.2.1.3. Alpha-Terpinyl acetate.

Formula química: C₁₂H₂₀O₂. Peso molecular: 196,29 g/mol (National Center for Biotechnology Information [ncbi], 2020). Molécula: figura 67. Éster de terpineol; con propiedades antiparasitario y antiúlcera (Graeme J. Gainsford, 2000).

Figura 67: Molécula de Alpha-Terpinyl acetate.

Fuente: Adams 2017. Elaborado por: El autor.

Gracias a dichos compuestos a esta bebida se le atribuye diferentes propiedades medicinales como antidiarreicas, antiinflamatorias, antiparasitario y antiúlcera (Castillo, E. 2014). Riofrío, (2012) menciona que esta bebida se usa como antiinflamatorio, protector gastrointestinal, y combatir constipaciones intestinales; principalmente consumido en las provincias de Zamora Chinchipe y Loja.

3.3. Análisis cuantitativo y cualitativo de la bebida de Horchata

Al igual que en la bebida de Guabiduca, para determinar la composición química de la bebida de Horchata se utilizó un cromatógrafo de gases acoplado a la espectrometría de masas (CG-MS) en la columna no polar DB5-MS tal como se describe en los parámetros operacionales que se encuentran en la metodología.

Luego del análisis se obtuvo el perfil cromatográfico de la bebida de Horchata que aparece en la figura 68.

Abundance

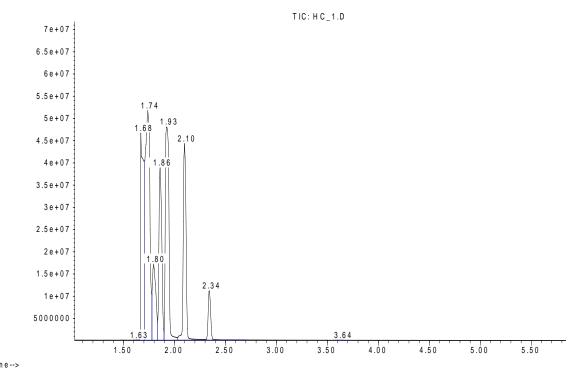


Figura 68: Perfil cromatográfico de la bebida de Horchata.

Fuente: Laboratorio de Química. UTPL.

Elaborado por: El autor

Al igual que en la bebida de Guabiduca, para poder identificar los picos se realizó una integración de los mismos; asi también se comparó los Índices de retención de Kovats aritméticos (IR) obtenidos en el análisis con los reportados en la literatura por Adams (2017).

La composición química obtenida en la columna no polar DB5-MS de la bebida de Horchata se detalla en la tabla 4. Los compuestos se encuentran según el orden en que fueron detectados por el equipo y se resaltó los que mayor área presentaron.

Tabla 4: Composición química de la bebida de Horchata

N10 1			DB5-MS						
Nº pico	Compuesto	IRcai	IRref	-		ELATIVA	X	σ	
				H1	H2	Н3			
1	Hexanol <n-></n->	866	863	0,77	2,43	-	1,60	1,18	
2	Methyl pentanoate <2-methyl->	871	871	-	1,77	-	1,77	-	
3	Isopentyl acetate	872	869	-	2,05	-	2,05	-	
4	Ethyl pent-4-enoate	880	884	-	1,76	-	1,76	-	
5	Cyclopentene <3,5-dimethylene-1,4,4-				_			_	
3	trimethyl->	940	931	2,87	-	-	2,87	_	
6	Camphene	950	945	3,03	-	-	3,03	-	
7	Heptan-2-ol <6-methyl->	964	958	4,56	4,79	4,33	4,56	0,23	
8	Cineole <1,4->	1009	1012	9,21	1,70	1,45	4,12	4,41	
9	Allyl hexanoate	1078	1079	-	_	3,69		-	
10	Cyclohexanedione <3-methyl-1,2->	1079	1085	-	3,67	2,61	3,14	0,75	
11	Hexenal <diethyl acetal-(3e-)-=""></diethyl>	1080	1087	0,93	-	-	0,93	-	
12	Linalool <dehydro-></dehydro->	1093	1088	18,69	_	_	18,69	-	
13	Hexenal <diethyl acetal-(3z)-=""></diethyl>	1094	1090	1,97	_	_	1,97	-	
14	Pinene oxide <a-></a->	1096	1099	6,32	_	_	6,32	_	
15	Carveol <trans-></trans->	1216	1215	-	12,04	19,35	15,69	5,17	
16	Piperitol <trans-></trans->	1217	1207	-	-	2,88	2,88	-	
	-	1220							
17 18	Nonadienol <(2E,4E)-> Cyclocitral <β->	1220	1217 1217	3,76	3,62 3,02	5,17	4,40 3,39	1,10 0,53	
		1221	1			-			
19	Prenyl cyclopentanone <2-> Geraniol		1224	- 40.05	1,29	- 1101	1,29	-	
20		1245	1249	19,35	13,77	14,94	16,02	2,94	
21	Mentha-1,4-dien-7-ol <ρ->	1328	1325	2,80			2,80	-	
22	Benzenemethanol <3-hydroxy->	1338	1339	2,12	-	-	2,12	-	
23	Eugenol	1352	1356	3,20	-	-	3,20	-	
24	Phenyl ethyl propanoate <2->	1353	1351	5,09	-	-	5,09	-	
25	Isoamyl 3-(2-furan)propionate	1422	1430	-	0,69		0,69	-	
26	Prenyl benzoate	1494	1485	-	-	1,57	1,57	-	
27	Dracunculifoliol <10-epi-cis->	1542	1540	1,40	-	-	1,40	-	
28	Muurol-5-en-4-β-ol <cis-></cis->	1547	1550	0,63	-	-	0,63	-	
29	Phenyl ethyl tiglate <2->	1594	1584		-	1,18	1,18	-	
30	Ambroxide	1756	1756	-	-	2,38	2,38	-	
31	Atlantone <(E)-α->	1773	1777		-	4,34	4,34	-	
32	Costol <β->	1774	1765	-	-	3,10		-	
33	Pentadecanol <n-></n->	1775	1773	0,88	-	2,57	1,72	1,19	
34	Cyclopentadecanolide	1834	1832	-	-	1,77	1,77	-	
35	Dihydroangelicin <2',3',3'-timethyl-2',3'->	1897	1893	-	1,12	-	1,12	-	
36	Cembrene A <(3E)->	1952	1947	-	-	0,81	0,81	-	
37	Manool oxide	1996	1987	1,24	4,53	-	2,89	2,32	
38	Hexadecyl acetate	1999	2003	1,66	2,97	-	2,32	0,92	
39	Coumarin <7-hydroxy-4,8-dimethyl->	2012	2013	-	-	1,33	1,33	-	
40	Catalponol	2023	2023	-	2,59	2,16		0,30	
41	Bergaptene <iso-></iso->	2029	2033	-	2,35	-	2,35	-	
42	Pseudo phytol <(6Z,10E)->	2031	2030	-	2,51	-	2,51	-	
43	Falcarinol <(Z)->	2038	2035	-	-	2,96	2,96	-	
44	Canellal	2039	2045	-	3,13	1,76		0,97	
45	Stilbene <4-hydroxy->	2042	2042	-	1,45	-	1,45	-	
46	Kaurene	2051	2042	1,83	-	-	1,83	-	
47	Bergaptene	2053	2056	-	1,24	3,65	2,44	1,70	
48	Abietatriene	2058	2055	2,64	-	2,07	2,35	0,40	
49	Sclareolide	2066	2065	1,07	-	-	1,07	-	
	Manool <13-epi->	2067	2059	1,81	-	-	1,81	-	
50			0007		4.07	4,02	4.40	0,67	
50 51	Abietadiene	2088	2087	-	4,97	4,02	4,49	0,07	
	Abietadiene Heneicosane <n-></n->	2088	2100	-	6,12	3,47		1,88	
51			1				4,79		

^{*=} promedio calculado en base al % del área de los picos reportados en la columna DB5-MS, H1: primer extracto, H2: segundo extracto, H3: tercer extracto; **X** = Promedio, **σ**= desviación estándar, IR^{ca} = Indice de Retención calculado, IR^{re} = Indice de Retención reportado en la literatura: aref. 1; bref. 2; cref. 3; dref. 4; eref. 5; fref. 6; gref. 7; href. 8; ref.9, iref.10 (Ver Anexo I).

Fuente: Laboratorio de Química. UTPL.

Elaborado por: el autor.

3.3.1. Compuestos mayoritarios en la bebida de Horchata

En la bebida de Horchata se identificó 99,80% donde los compuestos mayoritarios fueron: Linalool <dehydro-> (18,69%), Geraniol (16,02%), Carveol <trans-> (15,69%), Pinene oxide < α -> (6,32%), Methyl linoleate (5,22%), y Phenyl ethyl propanoate <2-> (5,09%); tal como se puede ver en la figura 69.

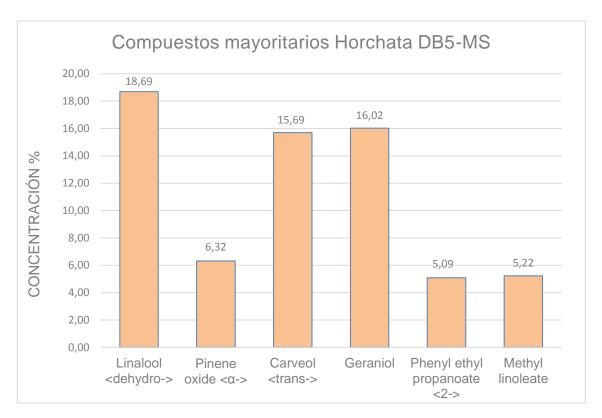


Figura 69: Compuestos mayoritarios de la bebida de Horchata en la columna DB5-MS. Fuente: Laboratorio de Operaciones Unitarias. UTPL. Elaborado por: El autor

3.3.1.1. Dehydro-Linalool.

Formula química: C₁₀H₁₆O. Peso molecular: 152,23 g/mol (National Center for Biotechnology Information [ncbi], 2020). Molécula: figura 70. Terpeno responsable del aroma de algunas plantas y flores (Raguso, RA; et al., 1999), con propiedades antimicrobianas, antidepresivo, refuerza el sistema inmunológico, anti-epiléptico, antiinflamatorio, y analgésico (Casabianca, H; et al., 1997).

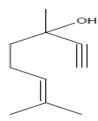


Figura 70: Molécula de Dehydro-Linalool.

Fuente: Adams 2017. Elaborado por: El autor.

3.3.1.2. Geraniol.

Formula química: C₁₀H₁₈O. Peso molecular: 154,25 g/mol (National Center for Biotechnology Information [ncbi], 2020). Molécula: figura 71. Monoterpeno presente en los aceites esenciales de algunas plantas y frutas. Responsable del aroma y sabor de algunas. Se le atribuyen propiedades antifúngicas, antibacterianas, antiinflamatorias, antioxidante, anticancerígena, y neuroprotector (Rojas, J; *et al.*, 2009; Chen, W; 2010).

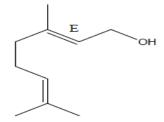


Figura 71: Molécula de Geraniol.

Fuente: Adams 2017. Elaborado por: El autor.

3.3.1.3. Trans-Carveol.

Formula química: C₁₀H₁₆O. Peso molecular: 152,23 g/mol (National Center for Biotechnology Information [ncbi], 2020). Molécula: figura 72. Es un monoterpeno saborizante que se encuentra en los aceites esenciales de flores y plantas. Con propiedades antibacterial y antifúngica (Barrera, R; *et al.*, 2008).

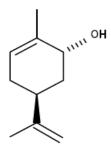


Figura 72: Molécula de Trans-Carveol.

Fuente: Adams 2017. Elaborado por: El autor.

3.3.1.4. Alpha-Pinene oxide.

Formula química: C10H16O. Peso molecular: 152,23 g/mol (National Center for Biotechnology Information [ncbi], 2020). Molécula: figura 73. Terpeno aromático con propiedades antiinflamatorias, broncodilatador, neuroprotector, y antioxidante (Griffiths, E. T; *et al.*, 1987).

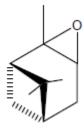


Figura 73: Molécula de Alpha-Pinene oxide.

Fuente: Adams 2017. Elaborado por: El autor.

3.3.1.5. Methyl linoleate.

Formula química: C₁₉H₃₄O₂. Peso molecular: 294,5 g/mol (National Center for Biotechnology Information [ncbi], 2020). Molécula: figura 74. Éster metílico de ácido graso; usado como ingrediente aromático y con propiedades antimicrobianas, antioxidantes, anticancerígeno y antifúngica (Shimada, Y; *et al.*, 1991).

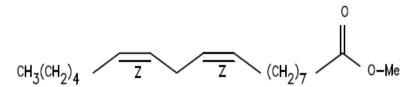


Figura 74: Molécula de Methyl linoleate.

Fuente: Adams 2017. Elaborado por: El autor.

3.3.1.6. 2-Phenylethyl propanoate.

Formula química: C₁₁H₃₄O₂. Peso molecular: 178,23 g/mol (National Center for Biotechnology Information [ncbi], 2020). Molécula: figura 75. Éster del alcohol fenetílico y el ácido propiónico. Presenta actividad antifúngica, antimicrobiana y antioxidante (Roger, S; *et al.*, 1988).

Figura 75: Molécula de 2-Phenylethyl propanoate.

Fuente: Adams 2017. Elaborado por: El autor.

Bailón-Moscoso, N. (2017) menciona que el 66% de las plantas medicinales y aromáticas del Ecuador son antiinflamatorias y el 51% son analgésicos. La bebida de horchata es considerada entre los indígenas como poderoso tónico cerebral, previene o retrasa el desarrollo del cáncer, antioxidante y utilizada en muchos rituales culturales. Mientras que entre las personas de las zonas urbanas se la considera como una bebida para tratar enfermedades del aparato digestivo, circulatorio, respiratorio y nervioso. Dato que se comprueba con el análisis realizado ya que los compuestos volátiles identificados presentan estos beneficios.

CONCLUSIONES

- Como resultado de la determinación cualitativa y cuantitativa de los compuestos volátiles mediante cromatografía de gases acoplado a la espectrometría de masas en la bebida de Horchata se identificó un 99,80% de compuesto volátiles, donde los mayoritarios fueron: Linalool <dehydro-> (18,69%), Geraniol (16,02%), Carveol <trans-> (15,69%), Pinene oxide <α-> (6,32%), Methyl linoleate (5,22%), y Phenyl ethyl propanoate <2-> (5,09%), mientras que, en la bebida de Guabiduca se identificó 99,81% donde los compuestos mayoritarios fueron: Cineole <1,8-> (50,34%), Methyl pentanoate <2-methyl-> (12,25%), Terpinyl acetate <α-> (7,25%), Methyl butyl acetate <2-> (6,87%), Pinocarvyl acetate <trans-> (3,86%), y Dihydro carveol (3,18%).
- La bebida de horchata es considerada neuroprotector propiedad que se le atribuye gracias al Geraniol y el Pinene oxide, también el Geraniol actúa como anticancerígeno, además esta bebida es considerada antidepresivo por la presencia de Linalool, por otra parte su propiedad antioxidante se debe a la presencia del Geraniol, el Methyl linoleate y el Phenyl ethyl propanoate, en igual forma cuenta con actividad antimicrobianas gracias a Linalool, Geraniol, Carveol, Methyl linoleate y Phenyl ethyl propanoate.
- De manera semejante la bebida de Guabiduca debe sus beneficios a los compuestos como el Cineole <1,8-> y Methyl pentanoate <2-methyl-> con propiedades antiinflamatorias; Terpinyl acetate <α-> y Methyl butyl acetate <2-> consideradas gastroprotectoras; y el Dihydro carveol con propiedades anticancerígenas.

RECOMENDACIONES.

- Realizar más estudios sobre los beneficios que otorgan las bebidas de horchata y guabiduca, y conocer la cantidad exacta de compuestos que llegan al organismo.
- Realizar una concentración mayor de las bebidas puesto que los picos cromatográficos fueron muy bajos por tratarse de compuestos volátiles.
- Realizar una recolección de las muestras en diferentes épocas del año para conocer la variacion de la concentración de los diferentes compuestos.
- Guardar el aceite esencial así como los extractos en frascos ámbar y a una temperatura de 2 a 4°C para conservar sus propiedades

BIBLIOGRAFIA.

- Adams, Robert P. (2017). Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Ed, 41.
- Alvarado, Jeniffer. (2017). Estudio de factibilidad para la creación de una microempresa (con madres solteras) producción y comercialización de aliños a base de Guaviduca para las familias de la ciudad de Zamora. Universidad Internacional del Ecuador. Facultad de Ciencias Administrativas y Económicas. Tesis pregrado. Loja Ecuador.
- Argüello, Silvia. (1991). Creencia tradicionales y uso de plantas medicinales. En las plantas y el hombre, Monserrat Ríos y Henrik Borgtoff (Comps): 199 209. Quito: ABYAYALA.
- Bailon-Moscoso, N., Tinitana, F., Martínez-Espinosa, R., Jaramillo-Velez, A., Palacio-Arpi, A., Aguilar-Hernandez, J., & Romero-Benavides, J. C. (2017). Cytotoxic, antioxidative, genotoxic and antigenotoxic effects of Horchata, beverage of South Ecuador. BMC Complementary and Alternative Medicine, 17(1). doi:10.1186/s12906-017-2048-x
- Bailón N. (2018). Propiedades saludables de la horchata. Cultura científica UTPL. Recuperado de https://culturacientifica.utpl.edu.ec/2018/04/2344/
- Ballabeni, V., Tognolini, M., Giorgio, C., Bertoni, S., Bruni, R., & Barocelli, E. (2010). Ocotea quixos Lam. essential oil: In vitro and in vivo investigation on its anti-inflammatory properties. Fitoterapia, 81(4), 289–295. doi:10.1016/j.fitote.2009.10.002
- Ballesteros, J. L., Tacchini, M., Spagnoletti, A., Grandini, A., Paganetto, G., Neri, L. M., Sacchetti, G. (2019). Rediscovering Medicinal Amazonian Aromatic Plants: Piper carpunya (Piperaceae) Essential Oil as Paradigmatic Study. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2019, 1–10. doi:10.1155/2019/6194640.
- Bandoni, Arnold; STASHENKO, Elena. (1995). Curso teórico práctico sobre extracción de Aceites Esenciales. Universidad Industrial de Santander, mayo de 1 994 y Segundo curso sobre Aceites Esenciales, 1 995.
- Barrera, Ronaldo de J. Alarcón, Edwin. Gonzáles, Lina. Villa, Aída. Montes de Correa, Consuelo. (2008). Síntesis de carveol, carvona, verbenol y verbenona. Ingienieria y Comtetividad. Vol. 10, num. 1 pp. 43-63. Universidad del Valle. Cali-Colombia
- Cameleyre, M., Lytra, G., Tempere, S., & Barbe, J.-C. (2017). 2-Methylbutyl acetate in wines: Enantiomeric distribution and sensory impact on red wine fruity aroma. Food Chemistry, 237, 364–371. doi:10.1016/j.foodchem.2017.05.093

- Cárdenas, C. Pozo, W. Roque, A. (2016). Fotoquímica de extractos de Ocotea quixos (canela amazónica) y Piper carpunya (guaviduca, pinku), potenciales fungocontroladores. Qualitas. Vol 11 pg 56-83.
- Casabianca, H. Graff, JB. Faugier, V. Fleig, F. Grenier, C. (1997). Enantiomeric distribution studies of linalool and linalyl acetate. A powerful tool for authenticity control of essential oils. HRC J High Res Chrom 21:107-112
- Castillo, Erika. (2014). Estudio pre-clínico de la guaviduca (piper carpunya) de propiedades y efecto anti-ulceroso en ratas wistar. Universidad Técnica de Machala. Tesis. El Oro Ecuador.
- Cecchini, Tina. Ticli, Bernardo. (2016). El libro de las hierbas medicinales. Editorial De Vecchi. Madrid España.
- Craker LE. (2007). Medicinal and aromatic plants: future opportunities. In: Issues in new crops and new uses. J. Janick y A. Whipkey (eds.). American Society for Horticultural Science Press 2007. Alexandria VA. 248-257.
- Chen, F. D, K, Ro. J, Petri. J, Gershenzon. J, Bohlmann. E, Pichersky. D, Tholl. (2004). Characterisation of root-specific Arabidopsis terpene synthase responsible for the formation of the volatile monoterpene. 1,8-cineole. Plant Physiol. 135:1956-1966.
- Chen, W. Viljoen, A.M. (2010). Geraniol-A review of a commercially important fragrance material. ScienceDirect. South Journal of Botany 76 (2010) 643-651.
- Condoy, R., & de los Ángeles, R. (2015). Proyecto de factibilidad para la implementación de una empresa dedicada a la elaboración y venta de bebida de horchata en forma artesanal en el parque Jipiro de la ciudad de Loja (Bachelor's thesis, Loja, 19 de Abril).
- Coronado, Marta. Vega, Salvador. Gutiérrez, Rey. Vázquez, Marcel. Radilla, Claudia. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. Rev Chil Nutr. Vol 42, N°2.
- Coronel, E; (2017). Determinación de la composición química, propiedades físicas y evaluación de la actividad biológica del aceite esencial de Piper carpunya (Ruiz & Pav.) de la provincia de Zamora Chinchipe. Universidad Técnica Particular de Loja. Loja Ecuador.
- De la Torre, Lucia; Muriel, Priscilla; Navarrete, Hugo; Macía, Manuel; (2008). Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Ecuador.

- Del Valle, J. M. y Aguilera, J. M. (1999). Review: high pressure CO2 extraction. Fundamentals and applications in the food industry. Food Science and Technology. 5(1):1-24.
- Doroteo, Victos. Díaz, Camilo. Terry, Cecilia. Rojas, Rosario. (2013). Compuestos fenólicos y actividad antioxidante in vitro de 6 plantas peruanas. Revista de la Sociedad Química del Perú. V79. N°1.
- Dudareva, N. E, Pichersky. J, Gershenzon. (2004). Biochemistry of plant volatiles. Plant Physiol. 135:1893-1902.
- Dudareva, N. F, Negre. (2005). Practical applications of research into the regulation of plant volatile emission. Curr. Op. Plant Biol. 8:113-118.
- Espinoza, Javier. (2012). Plan de marketing estratégico para la horchata "La Laureñita" en la ciudad de Loja. Tesis Ingeniería, Universidad Nacional de Loja. Loja- Ecuador.
- E. López, S. Ordóñez, H. Sastre, F. Díez. (2003). Kinetic study of the gas-phase hydrogenation of aromatic and aliphatic organochlorinated compounds using a Pd/Al2O3 catalyst", J. Hazard. Mater. Vol. 97. 2003. pp. 281-294.
- Farrel, K. T. (1985). Spices, Condiments and Seasonings. Avi. Connecticut. EE.UU. 414p.
- Flores, E. (2006). Metabolitos secundarios bioactivos de especies del género Piper de la flora boliviana. Santa Cruz de la Sierra Bolivia: Universidad de la Laguna. 367pp.
- Gould, MN. (1995). Journal of Cellular Biochemistry: Suppl. 22, 139-144
- Graeme J. Gainsford. Camila F. Hosie. Roderick J.Weton. (2000). Conversation of α-pinene to terpinyl acetate over H-Beta zeolites. Elsevier. 209 (2001) 269-277.
- Green, Aliza. (2006). El libro de las especias, hierbas aromáticas y especias. Ediciones Robinbook. Barcelona España.
- Griffiths, E. T., Harries, P. C., Jeffcoat, R., & Trudgill, P. W. (1987). Purification and properties of alpha-pinene oxide lyase from Nocardia sp. strain P18.3. Journal of Bacteriology, 169(11), 4980–4983. doi:10.1128/jb.169.11.4980-4983.
- Guamán, Berny (2015). La horchata, bebida tradicional del sur del Ecuador. Vivir Ecuador, agosto 14, Sección Comida Típica Ecuador en http://vivirecuador.com/blog/543/la-horchata-bebida-tradicional-del-sur-delecuador.
- Gutiérrez Bouzán, M. & Droguet, M. (2002). La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor. Boletín Intexter, núm. 122,p.35-41.
- Iglesias, Mara. (2012). Especias y hierbas aromáticas, como utilizarlas para aprovechar todas sus virtudes. Ediciones Lea. Buenos Aires- Argentina.

- Juárez-Rosete C, Aguilar-Castillo J, Juárez-Rosete M. (2013) Hierbas aromáticas y medicinales en México: tradición e innovación. Revista de Bio Ciencias. 2(3):119-129.
- Kimbaris, A. C, Siatis, N. G. Daferera, D. J, Tarantilis, P. A, Pappas, C. S, y Polissiou, M. G. (2006). Comparison of distillation an ultrasound- assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (Allium sativum). Ultrasonics Sonochemistry. 13:54-60.
- Knudsen, J. T. L, Tollsten. L, G, Bergstrom. (1993). Floral scents a checklist of volatile compounds isolated by head-space techniques. Phytochemistry 33:253-280.
- Kubo, I. y col., (1996). PLANTA MED. 62 (5) 427.
- Kuskoski, E. M. Asuero, Agustín. García, M.C. Troncoso, Ana. Fett, Roseane. (2004). Food Science and Technology. Vol 24. N° 4. Campinas.
- León, Glicerio; Osorio, María del Rosario; Torrenegra, Miladys; Gil, Jesús. (2015). Extracción, caracterización y actividad antioxidante del aceite esencial de plectrauthus amboinicus L. Revista Cubana de Farmacia. 49(4):708-718.
- López, R., Caso, N. (2015). Rendimiento y composición de aceites esenciales de Eucalyptus archeri y schinus molle Valle del Mantaro. Tesis previa a la obtención del título de Ingeniero forestal y ambiental. Universidad Nacional del centro del Perú. Huancay-Perú.
- Loyaga, Michel. (2019). Elaboración de una bebida espumante de horchata por medio de un destilado y carbonatación. Tesis. Universidad Técnica Particular de Loja. Loja-Ecuador.
- Lutomski, J., Kedzia, B., & Debska, W. (1974). Wirkung des Äthaolextranktes und aktiver substanzen Auscurcuma Longaauf Bakterien und Pilze. Planta Medica, 26(05), 9–19. doi:10.1055/s-0028-1097963.
- Marcillo Andrade, E. M., & Naranjo Mendoza, D. (2015). Diseño de la línea de producción de una bebida de hierbas denominada horchata.
- Martínez, Alejandro. (2003). Aceites esenciales. Universidad de Antioquia. Facultad Química Farmacéutica. Medellín Colombia.
- Masarovičová E; Kráľová K. (2007). Medicinal plants: Past, Nowadays, Future. Acta Horticulturae. 49: 19-27.
- Mendiola, Ma Ángeles. Martin, José. (2009). Plantas aromáticas gastronómicas. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid España.
- Mondragón, Juana. Vibrans, Heike. Tenorio, Pedro. (2009). Plantaginaceae, plantago lanceolata L. Llantén de hoja angosta. Melazas de México.

- http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/plantaginaceae/plantago-lanceolata/fichas/ficha.htm. Ultimo acceso 26/feb/2020
- Montoya, Gildardo. (2010). Aceites esenciales, una alternativa de diversificación para el eje cafetero. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias exactas y Naturales. Manizales Colombia.
- Muñoz, Fernando. (2002). Plantas medicinales y aromáticas; Estudio cultivo y procesado. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid España.
- Morales, S., González, S., Ladio, A., & Castro, M. A. (2009). Etnobotánica, anatomía y caracterización físico-química del aceite esencial Baccharis obovata Hook. Et Arn.(Asteraceae: Astereae). Acta Bot Bras, 23(2),578-589.
- Naranjo P. & Escaleras R. (1995). La medicina tradicional en el Ecuador. Universidad Andina Simón Bolívar. Quito- Ecuador
- NORMA INEN 2392:2007. Hierbas Aromáticas.
- National Center for Biotechnology Information [ncbi] (2020). Recuperado de https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/
- Palacio, N.L. (2000). Las plantas medicinales y aromáticas. Una alternativa de futuro para el desarrollo rural. Boletín Económico de ICE No. 2652.
- Peñuelas, J. J, Llusià. (2004). Plant VOC emissions: making use of the unavoidable. Trends Ecol. Evol. 9:402-404.
- Peredo Luna, H.A. Palou- García, E. López Malo, A. (2009). Aceites esenciales: métodos de extracción. Temas selectos de Ingeniería de Alimentos 3 1: 24-32.
- Prieto, C. (2005). Estudio y recopilación de datos sobre las plantas aromáticas y medicinales de la zona de tierra de campos y montes de Torozos. Diputación de Valladolid.
- Quintana, K. (2012). Evaluación de la actividad gastroprotectora de los extractos de achillea (Achillea millefolium L.) y guaviduca (Piper carpunya Ruíz & Pav.) en ratas (Rattus norvegicus) con lesiones gástricas inducidas. Escuela Superior Politécnica del Chimborazo. p. 29-30.
- Raguso, RA. Pichersky, E. (1999). A day in the life of a linalool molecule: chemical communication in a plant-pollinator system. Part 1: linalool biosynthesis in flowering plants. Plant Species Biol 14:95-120.
- Revista VARITEK, Sección Salud. (2010). Beneficios de la Horchata. Segunda Edición, Ecuaprints, Loja- Ecuador.

- Riofrío Quezada Jimmy Ángel. (2012), Aislamiento, caracterización y actividad antifúngica de metabolitos secundarios a partir de Piper carpunya Ruiz & Pav. Memoria para optar al Título de Bioquímico Farmacéutico. Universidad Técnica Particular de Loja. Loja Ecuador.

 Disponible en: cepra.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/4261/1/JIMMY_RI.PDF.
- Rodríguez-Álvarez, M., Alcaraz-Menléndez, L., &Real-Cosío, S. (2012). Procedimientos para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, SC La Paz, Baja California Sur, México, 24-29.
- Roger, S., Degas, C., & Gripon, J. (1988). Production of phenyl ethyl alcohol and its esters during ripening of traditional camembert. Food Chemistry, 28(2), 129–140. doi:10.1016/0308-8146(88)90142-2
- Rojas, Jennifer. Perea, Janeth. Ortiz, Claudia. (2009). Evaluación de la biotransformación de Geraniol y (R)-(+)-aPINENO empleando células de Rhodococcus opacus DSM 44313. Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Vol 7. N°2. Colombia.
- Ruiz, H., (2007). Relación del Viaje hecho a los Reinos del Perú y Chile., s.ed., Madrid España., Catarta., p: 280
- Santos, Wilman. (2015). Estudio de factibilidad para la creación de una empresa dedicada a la producción y comercialización de infusiones y bebidas de horchata agroecológica a establecerse en el cantón Nabón. Tesis. Universidad Politécnica Salesiana. Cuenca- Ecuador.
- Shimada, Y., Roos, Y., & Karel, M. (1991). Oxidation of methyl linoleate encapsulated in amorphous lactose-based food model. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 39(4), 637–641. doi:10.1021/jf00004a001
- Siura, Saray. Ugás, Roberto. (2001). Cultivo de Hierbas aromáticas y medicinales. Instituto Nacional de Investigación Agraria. Folleto R.I.N°10. Segunda Reimpresión. Lima Perú.
- Stashenko, Elena; Martínez, Jairo. (2010). Algunos aspectos prácticos para la identificación de analitos por cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas. Scientia Chromatographica. Vol.2, N°1, 29-47. ISSN 1984-4433.
- Takaisi-Kikuni, N. B., y col., (2000). FITOTERAPIA 71, 69-71.
- Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. 26 /Feb/2020http://www.tropicos.org

- Valverde, Del Camino.
 - https://www.valverdedelcamino.es/repositorio/valverdeverde/flora/24Malvaceae.pdf. Recuperado 26/feb/2020
- Varela, F. (2003). La huerta saludable. Hierbas aromáticas. Tercera entrega. Pg 22. Cordoba Argentina.
- Vargas, Liliana; Velasco-Negueruela, Arturo; Pérez-Alonso, María José; Palá-Paúl, Jesús; & García Vallejo, María Concepción. (2004). Composición Aceite Esencial de Las Hojas y espigas de Piper carpunya ~ 99 ~ Ruíz et Pavón (Piperaceae) de Perú. Revista de Investigación Esencial Aceite. 16 (2), pp: 122-123.
- Villamagua Vergara R. (2014). La horchata: la bebida de color "escancel" Rev Patrim Cult Inmater. 13:28–31.
- Yánez, P. (2006). Plan de Uso/Manejo de la "guaviduca" Piper carpunya en la comunidad Subtropical de Chiriboga y áreas adyacentes, Provincia de Pichincha, Ecuador. Quito Ecuador. Fundación EcoCiencia. 116pp.
- Zekaria, D. (2006). Los aceites esenciales: una alternativa a los antimicrobianos. Disponible en: http://www.calier. es/pdf/Microsoft_Word_-_Aceites_esen_como_promo tores.pdf.

ANEXOS.

Anexo 1: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS - ÍNDICES DE RETENCIÓN

- a). Adams, R. (2009). Identification of esencial oil components by Chromatography/MS Spectrometry.Vol.4
- b). Merle, H., Verdeguer, M., Blázquez, M. A., Boira, H., Mediterráneo, I. A., Valencia, U. P. De, Al, H. M. E. T. (2007). Chemical composition of the essential oils from Eriocephalus africanus L. var. africanus populations growing in Spain, (October), 461–464. https://doi.org/10.1002/ffj
- c). Falco, M. E. (2013). Chemical Composition and Biological Activity of Essential Oils of Origanum vulgare L. subsp. vulgare L. under Different Growth Conditions. Italy: Department of Pharmacy, University of Salerno.
- d). M. C. García Vallejo, L. M. (2006). Chemical composition and biological activities of the essential oils of Salvia canariensis. Madrid, Spain: Flavour Fragr. J. 2006; 21: 72– 76.
- e). Cheng Hao Zheng, T. H. (2004). Characterization of potent aroma compounds in Chrysanthemum coronarium L. (Garland) using aroma extract dilution analysis. FLAVOUR AND FRAGRANCE JOURNAL; 19: 401–405.
- **f).** Barkatullah, M. I. (2015). Chemical Composition and Biological Activities of the Essential Oil of Skimmia laureola Leaves. Pakistan: Molecules: 20, 4735-4745;.
- g). Jazia Sriti, W. A. (2011). Chemical Composition and Antioxidant Activities of Tunisian and Canadian Coriander (Coriandrum sativum L.) Fruit. Journal of Essential Oil Research.
- h). Havlik, L. K. (2006). Chemical composition of essential oil from the seeds of Nigella arvensis L. and assessment of its actimicrobial activity. FLAVOUR AND FRAGRANCE JOURNAL, págs. 713–717.
- i). K.Hüsnü Can Baser, B. D. (2001). Composition of the essential oils of Tanacetum armenum (DC.) Schultz Bip., T. balsamita L., T. chiliophyllum (Fisch. & Mey.) Schultz Bip. var. chiliophyllum and T. haradjani (Rech. fil.) Grierson and the enantiomeric distribution of camphor and carvone. FLAVOUR AND FRAGRANCE JOURNAL, págs. 195–200.

j). Mine Kürkçüoglu, K. H. (2006). Composition and anticandidal activity of the essential oil of Chaerophyllum byzantinum Boiss. FLAVOUR AND FRAGRANCE JOURNAL, 21: 115–117.