



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**Caracterización física, composición química y
enantiomérica del aceite esencial extraído de las hojas de
*Minthostachys verticillata***

BIOQUÍMICA Y FARMACIA

Autora: Germán Chinchuña, Estefany Leticia

Director: Valarezo Valdez, Benito Eduardo

LOJA

2023



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>

2023

Aprobación del director del Trabajo de Titulación

Loja, 27 de julio del 2023

Magister

Claudia Teresa Cruz Erazo

Director de la carrera de Bioquímica y Farmacia

Ciudad. - Loja

De mi consideración:

Me permito comunicar que, en calidad de director del presente Trabajo de Titulación denominado: Caracterización física, composición química y enantiomérica del aceite esencial extraído de las hojas de *Minthostachys verticillata* realizado por Estefany Leticia German Chinchuña ha sido orientado y revisado durante su ejecución, así mismo ha sido verificado a través de la herramienta de similitud académica institucional, y cuenta con un porcentaje de coincidencia aceptable. En virtud de ello, y por considerar que el mismo cumple con todos los parámetros establecidos por la Universidad, doy mi aprobación a fin de continuar con el proceso académico correspondiente.

Particular que comunico para los fines pertinentes.

Atentamente,

Director:

Dr. Benito Eduardo Valarezo Valdez

C.I.: 1103906473

Correo electrónico: bevalarezo@utpl.edu.ec

Declaración de autoría y cesión de derechos

Yo, Estefany Leticia German Chinchuña, declaro y acepto en forma expresa lo siguiente:

Ser autora del Trabajo de Titulación denominado: Caracterización física, composición química y enantiomérica del aceite esencial extraído de las hojas de *Minthostachys verticillata*, de la carrera de Bioquímica y Farmacia, específicamente de los contenidos comprendidos en: capítulo uno marco teórico, capítulo dos materiales y métodos y capítulo tres resultados y discusión, siendo el Dr. Benito Eduardo Valarezo Valdez, director del presente trabajo; también declaro que la presente investigación no vulnera derechos de terceros ni utiliza fraudulentamente obras preexistentes. Además, ratifico que las ideas, criterios, opiniones, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad. Eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones judiciales o administrativas, en relación con la propiedad intelectual de este trabajo.

Que la presente obra, producto de mis actividades académicas y de investigación, forma parte del patrimonio de la Universidad Técnica Particular de Loja, de conformidad con el artículo 20, literal j), de la Ley Orgánica de Educación Superior; y, artículo 91 del Estatuto Orgánico de la UTPL, que establece: "Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad", en tal virtud, cedo a favor de la Universidad Técnica Particular de Loja la titularidad de los derechos patrimoniales que me corresponden en calidad de autor/a, de forma incondicional, completa, exclusiva y por todo el tiempo de su vigencia.

La Universidad Técnica Particular de Loja queda facultada para ingresar el presente trabajo al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública, en cumplimiento del artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

.....

Autor: Estefany Leticia German Chinchuña

C.I.: 1150060661

Correo electrónico: elgerman1@utpl.edu.ec

Dedicatoria

Agradezco a Dios, por ser mi guía en este proceso, para cumplir el inicio de muchos sueños más. A mis padres, Marcia Adela Chinchuña Iza y Segundo Nelson Germán Puco, por ser mis motores, por su entrega, amor y sacrificio que me brindan siempre, y su compañía que me permitió llegar hasta aquí.

A mis hermanos: Paola German, Adrián German, por ser mi ayuda en los momentos más difícil y acompañarme en este proceso. Gracias por sus consejos, ejemplo, generosidad y enseñarme a ser una mejor persona.

A mi mascota Puppy, por ser mi angelito aquí en la tierra, y ser incondicional en esta etapa llamada Universidad.

Estefany Leticia German Ch.

Agradecimiento

Agradezco a Dios por brindarme siempre oportunidades para cumplir mis metas. A mis padres Marcia Chinchuña y Nelson German que siempre están conmigo de forma permanente, por sus enseñanzas, dedicación, ejemplo que cada día me impulsan a superarme y formarme como una persona de bien y poner mis conocimientos al servicio de la sociedad. A mis hermanos Paola y Adrián, por ayudarme en los momentos malos y siempre darme un hombro para poder llorar. Gracias a la Universidad Técnica, a todos mis docentes que siempre me impartieron sus conocimientos que los llevaré en mi vida personal y profesional. Por formarme de la mejor manera. A mi tutor PhD. Eduardo Valarezo por sus enseñanzas, indicaciones y estar pendiente de mi trabajo. Gracias a mis amigas por todos sus consejos, por estar siempre ahí en todas las circunstancias y compartir momentos especiales que los llevaré conmigo. A mis compañeros por su apoyo y motivación para salir adelante.

Indicé de contenido

Caratula.....	I
Aprobación del director del Trabajo de Titulación.....	II
Declaración de autoría y cesión de derechos.....	III
Dedicatoria.....	V
Agradecimiento.....	VI
Indice de contenido.....	VII
Resumen.....	1
Abstract.....	2
Introducción.....	3
Capítulo uno.....	5
Marco teórico.....	5
1.1 Biodiversidad del ecuador.....	5
1.2 Plantas aromáticas y medicinales.....	6
1.3 Familia Lamiaceae.....	7
1.3.1 Genero <i>Minthostachys</i>	8
1.3.2 Especie <i>Minthostachys verticillata</i>	9
1.3.3 Taxonomía.....	9
1.3.4 Aceites esenciales.....	10
1.3.5 Clasificación de los aceites esenciales.....	11
1.3.6 Por su consistencia.....	11
1.3.7 Por su origen.....	11
1.3.8 Desde el punto de vista químico.....	11
1.4 Extracción de los aceites esenciales.....	12

1.4.1 Método de extracción con solventes volátiles	12
1.4.2 Método de extracción con fluidos supercrítico	12
1.4.3 Destilación por arrastre con vapor de agua o hidrodestilación, hidrofusión y hidroextracción.....	13
1.5 Propiedades de los aceites esenciales.....	14
1.5.1 Diferentes aplicaciones de los aceites esenciales.....	14
1.5.2 Aceites esenciales en la farmacología.....	15
1.5.3 Caracterización importante de los aceites esenciales	15
1.5.4 Cromatografía de gases (CG).....	16
1.5.5 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-MS).....	17
1.5.6 Detector de ionización de llama (CG-FID)	18
1.5.7 Análisis Enantiomérico.....	19
Capítulo dos	¡Error! Marcador no definido.
Metodología.....	20
2.1 Parte experimental.....	20
2.1.2 Materia Vegetal	20
2.1.2 Determinación de la humedad	22
2.2 Extracción del aceite esencial	23
2.3 Determinación del rendimiento.....	25
2.4 Determinación de las propiedades físicas	25
2.4.1 Densidad Relativa.....	25
2.4.2 Índice de refracción.....	27
2.4.3 Actividad Óptica	27
2.5 Determinación de la composición química del aceite esencial.....	28
2.5.1 Descripción de las características del equipo cromatográfico y método de análisis en el aceite esencial por cromatografía de gases.....	28

2.5.2 Preparación de muestra para inyectar en el equipo	29
2.5.3 Corrida cromatográfica en la columna no polar DB5-ms acoplada espectrometría de masas.....	30
2.5.4 Corrida cromatográfica en la columna DB5-ms acoplada al detector de ionización la llama.	31
2.5.5 Corrida cromatográfica en columna polar HP-INNOWax acoplada a espectrometría de masas.....	32
2.5.6 Identificación de compuestos de la columna DB5-ms y HP-INNOWax en CG-FID.....	33
2.5.7 Obtención de cromatogramas	33
2.5.8 Identificación de composición química de <i>Minthostachys verticillata</i>.....	34
2.5.9 Determinación de la composición enantiomérica de la especie <i>Minthostachys verticillata</i>.....	34
Capítulo tres	36
Resultados.....	36
3.1 Porcentaje de humedad de las hojas de <i>Minthostachys verticillata</i>.....	36
3.2 Obtención del aceite esencial	36
3.3 Determinación del rendimiento del aceite esencial de <i>Minthostachys verticillata</i> .	37
3.4 Propiedades físicas	38
3.4.1 Densidad relativa	38
3.4.2 Índice de Refracción	38
3.4.3 Actividad Óptica	39
3.5 Composición química	40
3.5.1 Análisis cualitativo y cuantitativo	40
3.6 Propiedades de los compuestos principales.....	47
3.6.1 Piperitone	47

3.6.2 Carvacrol acetate.....	48
3.6.3 Menthone.....	48
3.7 Compuestos no identificados	48
3.8 Determinación de la composición enantiomérica	53
Conclusiones	54
Recomendaciones	55
Referencias.....	56
Apendices	¡Error! Marcador no definido.
Apéndice	62
Apéndice A. Determinación del rendimiento.	62
Apéndice B. Determinación de la densidad relativa a 20°C.....	63
Apéndice C. Determinación del índice de refracción.....	65
Apéndice D. Determinación de la actividad óptica.....	67
Apéndice E. Determinación del índice de retención con la ecuación de Van den Dool and Kratss.....	70
Apéndice F. Determinación del exceso enantiomérico.	71

Índice de tabla

Tabla 1 Taxonomía de <i>Minthostachys verticillata</i>	9
Tabla 2 Porcentaje de Humedad <i>Minthostachys verticillata</i>	36
Tabla 3 Obtención del aceite esencial.....	37
Tabla 4 Rendimiento del aceite esencia de <i>Minthostachys verticillata</i>	37
Tabla 5 Densidad relativo de <i>Minthostachys verticillata</i>	38
Tabla 6 Índice de refracción del Aceite esencial en estudio	39
Tabla 7 Actividad óptica del aceite esencial de <i>Minthostachys verticillata</i>	39
Tabla 8 Composición química del Aceite esencial de <i>Minthostachys verticillata</i>	41
Tabla 9 Compuestos mayoritarios obtenidos del CG-FID con columna DB5-ms.....	46
Tabla 10 Compuestos no identificados de la columna DB5-MS	48
Tabla 11 Compuestos identificar en la columna HP-INNOWax	49
Tabla 12 Compuestos mayoritarios obtenidos GC-MS y GC-MSFID en la columna polar HP-INNOWax	52
Tabla 13 Pares enantiomérico del aceite esencial en estudio	53

Índice de figuras

Figura 1 Especie <i>Minthostachys verticillata</i>	9
Figura 2 Esquema de la metodología para investigación	20
Figura 3 Ubicación de donde se recolecto la especie <i>Minthostachys verticillata</i>	21
Figura 4 Lugar donde se realizó la recolección.....	22
Figura 5 Equipo para determinar la humedad de la materia vegetal.....	23
Figura 6 Equipo de destilación del Departamento Químico.....	24
Figura 7 Muestras de aceite esencial en frascos ambar.....	25
Figura 8 Balanza para la medición de la densidad.....	26
Figura 9 Picnómetro dentro de la balanza para la medición.....	26
Figura 10 Refractómetro ABBE 27.....	27
Figura 11 Polarímetro digital.....	28
Figura 12 Cromatógrafo de Gases Thermo Scientific trace 1310V.....	29
Figura 13 Viales con las tres muestras de aceites esenciales.....	30
Figura 14 Parámetros de operación del CG-MS en la columna DB5-ms.....	31
Figura 15 Parámetros de operación del CG-MS en GC-FID.....	32
Figura 16 Parámetros de operación de HP-INNOWax en CG-MS.....	33
Figura 17 Cromatograma de la primera muestra.....	34
Figura 18 Parámetros de operación de la corrida cromatográfica con columna Quiral	35
Figura 19 Cromatograma del aceite esencial <i>M. verticillata</i> en la columna DB-5ms ...	41
Figura 20 Compuestos Mayoritarios en Columna DB5-ms.....	46

Resumen

En el presente trabajo se estudia el aceite esencial obtenido de las hojas de la especie *Minthostachys verticillata*, la especie fue recolectada en la provincia de Latacunga. El porcentaje humedad de las hojas fue de 73.64% y se determinó utilizando una termobalanza. El aceite esencial de *Minthostachys verticillata* fue obtenido mediante destilación por arrastre de vapor, dando un rendimiento de 1.0%. Las propiedades físicas del aceite determinadas con las normas AFNOR fueron; una densidad de 0.9486 g/cm³ con desviación estándar de ± 0.0023 , un índice de refracción de 1.479 con desviación estándar de ± 0.001 y una actividad óptica de -27.75 con desviación estándar de ± 9.560 . La composición química del aceite esencial se determinó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría y al detector de ionización de gases y la quiralidad de los compuestos se identificó utilizando una columna enantiomérico. La identificación de los compuestos se basó en el índice de retención, en total se identificó 100 compuestos que corresponde al 99,32% de la composición total del aceite esencial. Los compuestos mayoritarios fueron: Piperitone (25.65%), Carvacrol acetate (14.53%), Menthone (8.42%), Carvacrol (6.47%), Menthone <iso> (4.89%), Piperitone exoxid <cis> (3.66%), Limonene (3.41%), Pulgone (2.85%), Cymene (2.65%), Linalool (2.57%). Se identificó 3 pares enantiómeros; (+) Pinene < α ->, Pinene < β ->, Carvacrol acetate

Palabras claves: *Minthostachys verticillata*, aceite esencial, composición química, enantiómeros.

Abstract

In the present work the essential oil obtained from the leaves of the species *Minthostachys verticillata* is studied, the species was collected in the province of Latacunga. The leaf moisture percentage was 73.64% and was determined using a thermobalance. The essential oil of *Minthostachys verticillata* was obtained by steam distillation, giving a yield of 1.0%. The physical properties of the oil determined with the AFNOR standards were a density of 0.9486 g/cm³ with a standard deviation of ± 0.0023 , a refractive index of 1.479 with a standard deviation of ± 0.001 and an optical activity of -27.75 with a standard deviation of ± 9.560 . The chemical composition of the essential oil was determined by gas chromatography coupled to spectrometry and the gas ionization detector, and the chirality of the compounds was identified using an enantiomeric column. The identification of the compounds was based on the retention index, a total of 100 compounds were identified, corresponding to 99.32% of the total composition of the essential oil. The main compounds were: Piperitone (25.65%), Carvacrol acetate (14.53%), Menthone (8.42%), Carvacrol (6.47%), Menthone <iso> (4.89%), Piperitone exoxid <cis> (3.66%), Limonene (3.41%), Pulgone (2.85%), Cymene (2.65%), Linalool (2.57%). 3 enantiomeric pairs were identified; (+) Pinene < α ->, Pinene < β ->, Carvacrol acetate.

Keywords: *Minthostachys verticillata*, essential oil, chemical composition, enantiomers.

Introducción

El presente trabajo de investigación consiste en la determinación de la composición química y propiedades físicas del aceite esencial de *Minthostachys verticillata*, especie vegetal nativa de las tierras altas de los andes, desde Venezuela hasta Argentina, comprende 12 especies de plantas aromáticas y arbustos, utilizada en la gastronomía de los países de Sudamérica como condimentos, agentes saborizantes. Este estudio se divide en tres capítulos, el primer capítulo relatamos la parte teórica de esta investigación y revisiones bibliográficas, por lo tanto, esta sección se la denomina Marco Teórico, en el segundo capítulo se expone la metodología y materiales utilizados para llevar a cabo este proyecto, finalmente en el tercer y último capítulo se analiza y discute los resultados obtenidos de las diferentes pruebas que fueron presentadas en la metodología.

Esta investigación contribuye al estudio de la flora aromática y medicinal en el Ecuador, desarrollado en el Departamento de Química de la Universidad Técnica Particular de Loja. Además, con este estudio se desea dar a conocer los diferentes usos que pueden ser de gran aporte para la industria farmacéutica, cosmética, alimenticia, entre otras.

El objetivo general determinar las propiedades físicas y la composición química del aceite esencial de *Minthostachys verticillata*, comenzando con el análisis de la composición química, donde usamos la técnica de cromatografía de gases, que permite determinar los compuestos mayoritarios presentes en el aceite esencial de nuestra especie vegetal. Para las propiedades físicas, se realiza la determinación de la densidad relativa del aceite esencial siguiendo la norma internacional AFNOR NF T75-111 (ISO 279:1998), la actividad óptica mediante un polarímetro digital MrcAutomatic Polarimeter P810 en base a la norma ISO 592:1998, la determinación del índice de refracción mediante la norma AFNOR T75-112 (ISO 280:1998).

Para examinar la composición química, se utilizó una técnica analítica donde se empleó un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas (CG-MS) y un detector de ionización de llama (CG-FID). Para el análisis cualitativo y cuantitativo, se empleó una columna no polar DB5-ms y polar HP-INNOWax, permitiendo así determinar los

compuestos mayoritarios y minoritarios del aceite esencial de *Minthostachys verticillata*. Además, se logró la identificación de compuestos quirales a través de una columna enantiomérica, con el cálculo del exceso enantiomérico y la distribución enantiomérica.

El análisis cualitativo se ejecutó utilizando una curva de alcanos inyectada junto al aceite esencial. Se calcularon los índices de retención para cada compuesto y posteriormente se cotejaron con bases de datos y literatura existente. Con respecto al análisis cuantitativo, se contrastaron las áreas de los picos obtenidos en el CG-MS con el cromatograma global de FID. De este modo, se determinó el porcentaje de cada compuesto identificado. [OBJ]

Capítulo uno

Marco teórico

1.1 Biodiversidad del Ecuador

Ecuador se encuentra en el extremo occidental de América del Sur, limitado por Colombia al norte, por el Océano Pacífico al oeste y por Perú al sur y este. Topográficamente el país se caracteriza por la diversidad de zonas climáticas, la prolífera población de flora y fauna, los distintos tipos de suelos y pisos altitudinales que se deben a la presencia de la Cordillera de los Andes, que atraviesa el país de norte a sur, además, la actividad volcánica favorece a la generación de los microambientes (Martínez, 2001).

Desde una ciudad interandina podemos llegar a desiertos, nieves eternas, páramos, lagos, bosques húmedos altos y bajos, manglares y océanos en pocas horas en un vehículo. La cantidad de ecosistemas, especies y variedades de estas especies en nuestro país es impresionante y en algunos casos somos los "campeones del mundo" a pesar de nuestro tamaño relativamente muy pequeño (formamos parte de los que se conocen como países "megadiversos"). Las razones para que esto sea así son varias, pero las más importantes son la posición tropical (que genera un clima adecuado más o menos similar lo largo del año), la presencia de los Andes y otras montañas (que generan una escalera en cuyos peldaños se encuentran muchas más formas de vida y ecosistemas que si todo fuera plano), y las corrientes marinas (que generan un clima más bien seco en la parte sur del litoral del país y las Galápagos, y muy húmedo en la parte norte, con las consiguientes diferencias en biodiversidad) (Vásquez, 2021).

Ecuador goza de una biodiversidad excepcional, gracias a su ubicación geográfica privilegiada. Desde las ciudades de la región interandina, se puede acceder en pocas horas a una amplia gama de paisajes, que incluyen desiertos, regiones con nieves perpetuas, páramos, lagos, selvas tropicales altas y bajas, manglares y océanos. A pesar de ser un país relativamente pequeño, Ecuador se destaca a nivel mundial como uno de los países

"megadiversos" debido a la asombrosa cantidad de ecosistemas, especies y variedades de estas especies que alberga (Vásconez, 2021)

La riqueza botánica de Ecuador es enormemente variada. Se estima que en este país existen alrededor de 25,000 especies de plantas con vasos conductores. Hasta la fecha actual, se han registrado 16,087 de estas especies en el Catálogo de Plantas Vasculares de Ecuador, compilado por Jørgensen y León Yáñez en 1999. De estas especies, 4,173 son endémicas, lo que significa que no se encuentran de forma natural en ningún otro lugar fuera de las fronteras ecuatorianas (Mena, 2002)

En los bosques y selvas de la Subregión Andina, aún se encuentran numerosas especies silvestres y variedades de planta cultivadas que tienen el potencial de servir como alimentos para las poblaciones andinas y a nivel mundial. Ejemplos de esto incluyen varias variedades de papayuelas, como el chihualcán y el babaco, así como el tomate de árbol y otras plantas aromáticas y medicinales que podrían ser comercializadas por su valor ornamental, como los platanillos o heliconias, los anturios, las orquídeas y muchas otras que aún no han sido identificadas o cuyo uso todavía es desconocido (Mena, 2002)

Ecuador destaca por su diversidad de plantas útiles, arraigadas en su cultura, conocimiento y creencias. Los expertos en botánica más adeptos son los pueblos autóctonos e indígenas, para quienes las plantas representan alimento, medicina y una conexión con lo espiritual. Es innegable que cada grupo étnico tiene su propia cosmovisión y enfoque en el uso de los recursos y las plantas (Chango, 2017).

1.2 Plantas aromáticas y medicinales

Desde épocas ancestrales hasta el presente, se ha hecho extenso el uso de las plantas aromáticas, tanto en contextos ceremoniales y religiosos como en la confección de fragancias atractivas para hombres y mujeres. Estas especies vegetales generan compuestos que pueden tener impactos positivos o negativos en el organismo (Soliz et al., 2014).

A lo largo del tiempo, la utilización de las plantas ha evolucionado. Se emplean en infusiones, así como en prácticas comunes que continúan difundiéndose globalmente. Sin embargo, un inconveniente radica en la desinformación sobre los principios químicos activos

que respaldan los distintos beneficios atribuidos a ellas. En los últimos años, varios investigadores han identificado compuestos con actividad biológica para ampliar el conocimiento en este campo. Esto ha llevado a investigar la composición química de diversas especies, aunque esta labor no es en ningún caso complementaria (Horacio et al., 2017)

Según el estudio de Asensio, (2013) desde tiempos antiguos, las plantas aromáticas y medicinales se usaban en diversas enfermedades, además de enriquecer los sabores culinarios. Algunas especias servían como conservantes y antioxidantes naturales en la elaboración de embutidos y productos cárnicos. En la actualidad, la tendencia es reducir el uso de la sal en las comidas, lo que impulsa a reemplazarla por especias y mezclas de hierbas (Asensio, 2013). Las plantas medicinales y aromáticas integran un papel importante debido a que contiene principios activos como alcaloides, esencias, glucósidos, resinas, taninos y minerales (Requejo, 2020).

Las aplicaciones de las plantas aromáticas varían desde la condimentación de alimentos hasta infusiones. En el ámbito cosmético y de limpieza, se utilizan por sus fragancias ya que contienen algunas sustancias aromáticas y esto se da por la mezcla de aceites esenciales y propiedades naturales beneficiosas para la piel, el cabello y la desinfección. Aunque en la medicina han perdido terreno ante las grandes empresas farmacéuticas, que dominan el mercado y la distribución global de medicamentos (Gimena, n.d.). Están también cuentan con algunas clasificaciones; por su origen, habitad, y si son autóctonas, basándose en eso dependerá de la parte botánica de cada especie.

1.3 Familia Lamiaceae

Lamiácea es el término utilizado para referirse a una familia de plantas con flores (angiospermas) que se encuentra dentro del orden Lámbiales, y forma parte de la clase Magnoliopsida. Esta familia solía ser conocida como Labiatae o labiadas, pero su denominación ha experimentado cambios recientes debido a las actualizaciones en las reglas de nomenclatura (Capecka et al., 2005; Raja, 2012)

Según el sistema APG, esta familia comprende aproximadamente 260 géneros y alrededor de 7200 especies distintas. Es conocida comúnmente como la familia de las

mentas, debido a que una de sus especies más destacadas es la hierbabuena (*Mentha*). Otros ejemplos de miembros de esta familia incluyen la salvia y el romero (P. H. da Silva et al., 2017).

Dentro de la familia Lamiaceae, se pueden encontrar individuos con diversas formas, como hierbas, arbustos de pequeño tamaño o incluso árboles en algunas especies, aunque es poco común que haya especies trepadoras. Estos individuos pueden ser anuales, bianuales o perennes, y tienen un tallo de forma cuadrangular, aunque no todos los miembros de la familia presentan esta característica. Sus hojas son generalmente simples (a veces compuestas) y de bordes lisos, distribuidas en forma opuesta en el tallo. Estas hojas están cubiertas por pequeños pelos que son responsables de la secreción de aceites aromáticos y volátiles. El distintivo y poderoso olor liberado por la mayoría de las especies de la familia Lamiaceae se produce cuando se aplastan o frotan las hojas (Moscoso et al., 2017).

Las flores de la familia Lamiaceae se agrupan en racimos, que pueden ser axiales, y estas flores pueden variar en tamaño, siendo algunas pequeñas y otras más grandes, dependiendo de la especie, y por lo general son hermafroditas. El cáliz, compuesto por 5 sépalos, tiene una forma tubular, lo que puede ayudar en la identificación de la especie. La corola también es tubular, formada por 5 pétalos, siendo comúnmente dos pétalos arriba y tres abajo (Silva et al., 2017).

El ovario de la familia Lamiaceae es súpero, bicarpelar y bilocular, con dos óvulos por lóculo. La polinización de las flores de esta familia ocurre con la ayuda de polinizadores como abejas o mariposas, por ejemplo. El fruto es un esquizocarpo (aquenio), el cual puede ser consumido por algunas especies de aves y mamíferos, lo que facilita la dispersión de sus semillas. Las semillas tienen poco endosperma o, en algunos casos, pueden carecer completamente de endosperma (Moscoso et al., 2017).

1.3.1 Genero *Minthostachys*

Minthostachys es un género que incluye diecisiete especies de plantas con flores, perteneciente a la familia Lamiaceae. Es originario del sur de América tropical, y su nombre

genérico proviene de las palabras griegas: "minthe" (menta) y "stachys" (espiga). Las especies de este género se asemejan a las del género *Mentha* en la apariencia de sus flores y la presencia de aceites esenciales, aunque los dos géneros no están relacionados entre sí (Alkire et al., 1994).

El distintivo aroma de la peperina se debe a su aceite esencial, que contiene principalmente mentona y pulegona. Según el estudio de Boucher & Pereyra (2020), este aceite esencial presenta propiedades antimicrobianas y antivirales. Además, en la medicina popular, las infusiones de peperina se utilizan como tratamientos estomacales, antiespasmódicos y para aliviar la diarrea (Alkire et al., 1994).

1.3.2 Especie *Minthostachys verticillata*

La peperina (*Minthostachys verticillata* (Griseb.) es una especie aromática nativa de las sierras de Córdoba, San Luis, Catamarca y La Rioja (Figura1) (Juliani et al., 2021)

En Ecuador se encuentra la especie vegetal silvestres y cultivadas que utilizan las comunidades rurales de Latacunga provincia Cotopaxi. Su hábitat es en los páramos arbustivos y pajonales secos, de acuerdo con su estatus, esta especie se encuentra en estado vulnerable (Escobar et al., 2015; Juliani et al., 2021).

Figura 1

Especie *Minthostachys verticillata*



1.3.3 Taxonomía

La taxonomía de la especie *Minthostachys verticillata* es la siguiente:

Tabla 1

Taxonomía de *Minthostachys verticillata*

División:	Magnoliophyta
------------------	----------------------

Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Nepetoideae
Orden:	Limiales
Familia:	Limiaceae
Género:	Minthostachys
Especie:	<i>Minthostachys verticillata</i>
Nombre común:	Tifo

1.3.4 Aceites esenciales

Según Usano-Alemaný et al. (2014), los aceites esenciales son metabolitos secundarios sintetizados por plantas que se producen cuando se activan mecanismos de defensa en respuesta a factores ambientales y ecológicos, como efectos de defensa, atracción a polinizadores, etc. Son inflamables y no tóxicos, pero pueden causar alergias en personas sensibles a ciertos terpenoides (Meléndez et al., 2012).

Los aceites esenciales sufren degradación química en presencia de la luz solar, del aire, del calor, de ácidos y álcalis fuertes, generando oligómeros de naturaleza indeterminada, también son solubles en los disolventes orgánicos comunes y casi inmiscibles en disolventes polares asociados (agua, amoníaco), poseen propiedades de solvencia para los polímeros con anillos aromáticos presentes en su cadena (Meléndez et al., 2012)

Los componentes líquidos volátiles conocidos como aceites esenciales, generalmente obtenidos mediante destilación por vapor de agua, contienen las sustancias responsables de los aromas de las plantas. Estos elementos tienen una relevancia notable en diversas áreas industriales, como la cosmética (perfumes y fragancias), la alimentaria (condimentos y sabores) y la farmacéutica (sabores) (Martínez, 2001).

De acuerdo con Usano-Alemaný et al. (2014), los aceites esenciales son compuestos secundarios producidos por plantas como respuesta a factores ambientales y ecológicos, como mecanismos defensivos o atracción de polinizadores. Aunque son inflamables y no tóxicos, pueden desencadenar alergias en individuos sensibles a ciertos terpenoides (Meléndez et al., 2012).

Los aceites esenciales pueden degradarse químicamente en presencia de luz solar, aire, calor, ácidos y bases fuertes, lo que resulta en la formación de oligómeros de naturaleza incierta. También, son solubles en disolventes orgánicos comunes y presentan una baja miscibilidad con disolventes polares como agua y amoníaco. Además, poseen la capacidad de disolver polímeros que contienen anillos aromáticos en su estructura (Meléndez et al., 2012).

1.3.5 Clasificación de los aceites esenciales

De acuerdo con su clasificación teniendo en cuenta su estabilidad (consistencia), su procedencia, la naturaleza química de los componentes que se encuentran en mayor cantidad

1.3.6 Por su consistencia

De acuerdo con su consistencia los aceites esenciales se clasifican en esencias fluidas que son líquidos volátiles a temperatura ambiente, bálsamos estos son de consistencia más espesa, son poco volátiles y propensos a sufrir reacciones de polimerización, son ejemplos el bálsamo de copaiba, el bálsamo del Perú, Benjuí, bálsamo de Tolú, Estoraque, etc. y oleorresinas tienen el aroma de las plantas en forma concentrada y son típicamente líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas (caucho, gutapercha, chicle, balata, oleorresina de paprika, de pimienta negra, de clavel, etc.) (Martínez, 2001).

1.3.7 Por su origen

Estos son obtenidos de plantas y no sufren modificaciones fisicoquímicas, por su rendimiento son muy costosos, a estos se los denomina aceites naturales.

Se tiene los aceites artificiales que se obtienen a través de procesos de enriquecimiento de la misma esencia con uno o varios de sus componentes, por ejemplo, la mezcla de esencias de rosa, geranio y jazmín enriquecida con linalol y sintéticos como su nombre lo indica son los producidos por procesos de síntesis química, estos son más económicos y por lo tanto son mucho más utilizados como aromatizantes y saborizantes

1.3.8 Desde el punto de vista químico

Desde el punto de vista químico y a pesar de su composición compleja con diferentes tipos de sustancias, los aceites esenciales se pueden clasificar de acuerdo con el tipo se

sustancias que son los componentes mayoritarios. Según esto los aceites esenciales ricos en monoterpenos se denominan aceites esenciales monoterpenoides (p.ej. hierbabuena, albahaca, salvia, etc.). Los ricos en sesquiterpenos son los aceites esenciales sesquiterpenoides (p.ej. copaiba, pino, junípero, etc.). Los ricos en fenilpropanos son los aceites esenciales fenilpropanoides (p.ej. clavo, canela, anís, etc.). Aunque esta clasificación es muy general nos resultará útil para propósitos de estudiar algunos aspectos fitoquímicos de los monoterpenos, los sesquiterpenos y los fenilpropanos, sin embargo, existen clasificaciones más complejas que tienen en cuenta otros aspectos químicos (Martínez, 2001)

1.4 Extracción de los aceites esenciales

Se pueden extraer mediante diferentes métodos como: prensado, destilación con vapor de agua, extracción con solventes volátiles, enfleurage y con fluidos supercríticos (Alvarez et al., 2012; Cedeño et al., 2019)

1.4.1 Método de extracción con solventes volátiles

El material vegetal (generalmente flores) se pone en contacto con una grasa, para así solubilizar la esencia ya que actúa como vehículo extractor. Se obtiene inicialmente una mezcla (el concreto) de aceite esencial y grasa la cual es separada posteriormente por otros medios fisicoquímicos. En general se recurre al agregado de alcohol caliente a la mezcla y su posterior enfriamiento para separar la grasa (insoluble) y el extracto aromático (absoluto). Esta técnica es empleada para la obtención de esencias florales (rosa, jazmín, azahar, etc.), pero su bajo rendimiento y la difícil separación del aceite extractor la hacen costosa (Meléndez et al., 2012; Ortuño, 2006).

1.4.2 Método de extracción con fluidos supercrítico

Es el desarrollo más reciente, esto consiste en que la material vegetal cortado en trozos pequeños, licuado o molido, se empaca en una cámara de acero inoxidable y se hace circular a través de la muestra un fluido en estado supercrítico (por ejemplo, CO₂). Las esencias son así solubilizadas y arrastradas mientras que el fluido supercrítico, que actúa como solvente extractor, se elimina por descompresión (Meléndez et al., 2012; Ortuño, 2006)

1.4.3 Destilación por arrastre con vapor de agua o hidrodestilación, hidrofusión y hidroextracción.

Generalmente es llamado destilación por arrastre de vapor, sin embargo, no existe un nombre claro y conciso para definirlo, debido a que se desconoce exactamente lo que sucede en el interior del equipo principal y porque se usan diferentes condiciones del vapor de agua para el proceso. Es así como, cuando se usa vapor saturado o sobrecalentado, fuera del equipo principal, es llamado “destilación por arrastre de vapor”, cuando se usa vapor saturado, pero la materia prima está en contacto íntimo con el agua generadora del vapor, se le llama “hidrodestilación”. Además, cuando se usa vapor saturado, pero la materia no está en contacto con el agua generadora, sino con un reflujo del condensado formado en el interior del destilador y se asumía que el agua era un agente extractor, se le denominó “hidroextracción (ALVAR et al., 2012; Cedeño et al., 2019; Meléndez et al., 2012; Ortuño, 2006)

La destilación con agua y vapor se caracteriza porque es un método de separación ya que la materia vegetal no está directamente en contacto con el agua, se utiliza para obtener componentes volátiles de una sustancia, la cual se emplea un vapor húmedo ejercido por el agua en ebullición ubicada en el fondo debajo de la rejilla donde reposa la especie vegetal. El vapor de agua producido se llena y atraviesa la materia que debe estar homogéneamente para facilitar el paso del vapor que se va desde un punto externo sobre la parrilla y así poder arrastrar la esencia extraída (Meléndez et al., 2012).

La hidrodestilación es un proceso en el cual la materia vegetal se coloca en agua y se calienta hasta que alcanza el punto de ebullición, para esto se utiliza un generador de vapor externo para suministrar un flujo constante de vapor. Cuando el vapor entra en contacto con la materia prima, esta se calienta y libera su aceite esencial, el cual es altamente volátil y se evapora. Al ser soluble en el vapor, el aceite esencial es arrastrado hacia arriba y se mezcla con el vapor, luego esta mezcla se enfría y se separa en un decantador a través de un condensador, a pesar de ser un método efectivo, la temperatura utilizada en la hidrodestilación puede ocasionar la degradación y pérdida de algunos compuestos presentes

en las plantas, ya que tiende a provocar la formación de apelmazamientos (García Iturrioz, 2008).

1.5 Propiedades de los aceites esenciales

Desde hace muchos años, los seres humanos han utilizado los aceites esenciales en medicina, cosmética y aromaterapia debido a sus propiedades beneficiosas. Algunos de estos aceites se destacan por sus propiedades antisépticas y bactericidas, aunque solo unos pocos tienen un efecto antifúngico, como es el caso de *Corymbiacitriodora*. La eficacia antiséptica de estos aceites depende de los compuestos activos presentes, como los fenoles timol y carvacrol, que están en ciertas plantas de tomillo, y de las esencias con alcoholes y cetonas. Estos componentes juegan un papel crucial en la capacidad de los aceites esenciales para combatir gérmenes y bacterias y sus usos se ha extendido ampliamente en diversas áreas de salud y bienestar (Cabanillas Olivares, 2019; Meléndez et al., 2012; Ortuño, 2006; Usano-Aleman et al., 2014)

Actualmente, la aromaterapia ha evolucionado para incluir procedimientos de conservación de alimentos usando mezclas de aceites esenciales conocidos por sus propiedades antisépticas. Es notable, como término “aromaterapia” ha permeado de gran medida en tiendas de alimentos solubles supermercados y comercios minoristas, artículos como velas aromáticas; ambientadores, sales de baño y productos de cuidado personal también han adoptado esta tendencia. Esta creciente de popularidad ha llevado a una mayor conciencia pública sobre la aromaterapia, aunque las etiquetas y su enfoque en la moda de ventas pueden generar controversia. Para un aroma terapeuta profesional, esta situación puede representar un desafío, ya que deben lidiar con un mundo que sigue comercializando el concepto, mientras ellos ven la aromaterapia como un enfoque alternativo válido y dinámico (Páez, 2013).

1.5.1 Diferentes aplicaciones de los aceites esenciales

Los aceites esenciales aromáticos también encuentran aplicación en la industria de perfumes y fragancias, lo que podría representar una valiosa alternativa de marketing si se adaptan adecuadamente. Actualmente, muchos agricultores se enfocan en la producción de

estos productos para satisfacer la demanda de un nicho de mercado que busca variedad y cantidad en este campo. Estos ejemplos ilustran los beneficios de la diversificación en el mercado de fragancias, ofreciendo oportunidades tanto para los agricultores como para los consumidores que buscan opciones distintivas en el ámbito de los aromas (Requejo, 2020).

1.5.2 Aceites esenciales en la farmacología

Un aceite esencial con una dosis específica puede ser tan efectivo como un medicamento, alcaloide, antibiótico o enzima. Desde tiempos ancestrales, las plantas se han utilizado con fines medicinales y como sahumerios religiosos para purificar los ambientes, dando origen a la perfumería moderna. Actualmente, especias como la canela y la manzanilla se emplean tanto en medicamentos como en la cocina para aromatizar y dar sabor a los alimentos. A lo largo de la historia, los perfumes y aceites esenciales han sido estudiados en el ámbito farmacéutico, y muchos de ellos poseen propiedades farmacológicas beneficiosas. Sin embargo, es importante destacar que algunas esencias pueden ser peligrosas si no se utilizan adecuadamente y con la dosis recomendada. Por lo tanto, es fundamental tener precaución y usarlos de manera responsable para evitar cualquier efecto adverso (Páez, 2013)

1.5.3 Caracterización importante de los aceites esenciales

Los aceites esenciales son líquidos orgánicos que se producen en pequeñas estructuras de diversas partes de las plantas, como semillas, hojas, frutas, flores, resinas y maderas. Cada aceite esencial recibe su nombre del nombre botánico de la planta de origen, y es recomendable adquirirlos utilizando esta denominación para asegurarse de obtener el que se necesita. El término "esencial" se atribuye a estos aceites porque se cree que capturan la esencia de la planta, proporcionando su distintivo aroma, que no siempre es agradable. Son altamente volátiles y concentrados, por lo que no se debe esperar que el aroma perdure mucho tiempo, incluso al agregarlos a velas. Con excepción de las resinas, que son menos volátiles, todos los aceites esenciales tienen una alta volatilidad. La potencia de los aceites esenciales radica en su elevada concentración de activos naturales de la planta. Los

porcentajes de estos activos en el aceite esencial son los que determinan sus cualidades terapéuticas y beneficios para el bienestar (Lottush, 2020)

Los aceites esenciales tienen una densidad más baja que la del agua y presentan un alto índice de refracción. La producción de estas esencias es relativamente baja, ya que se requiere una gran cantidad de material vegetal para obtener solo unos pocos mililitros de aceite esencial. El rendimiento varía entre el 0,01% y el 2% al destilar la planta, pero estos valores dependen de la especie específica y del método de extracción empleado (Ochoa Pumaylle et al., 2012; Ortuño, 2006)

1.5.4 Cromatografía de gases (CG)

En la reunión de la Sociedad Bioquímica celebrada en Londres en 1950, se presentó la cromatografía de reparto líquido-gas, unos meses antes de que se publicaran tres artículos fundamentales en el *Biochemical Journal*. Este trabajo sentó las bases para el desarrollo de la cromatografía de gases. De hecho, el concepto de la cromatografía de gases fue imaginado casi diez años antes por Martin mientras colaboraba con R. L. M. Synge en el campo de la cromatografía de partición. Martin y Synge, quienes recibieron el premio Nobel de Química en 1941, sugirieron que la separación de compuestos volátiles podría lograrse utilizando un vapor como fase móvil en lugar de un líquido. (Pavan & Barron R., 2022; Savage, 2004)

La cromatografía de gases fue rápidamente aceptada debido a su introducción en un momento en el que se necesitaban mejores controles analíticos en las industrias petroquímicas y se requerían nuevas técnicas para superar las limitaciones de los métodos de laboratorio antiguos. En la actualidad, la cromatografía de gases es una técnica madura y ampliamente utilizada en todo el mundo para el análisis de prácticamente todos los tipos de compuestos orgánicos, incluso aquellos que no son volátiles en su estado original pero que pueden convertirse en derivados volátiles (Pavan & Barron R., 2022)

Dentro de las técnicas cromatográficas utilizadas con fines analíticos, la cromatografía de gases es ampliamente empleada y es probablemente la más extendida. Ninguna otra técnica analítica puede igualar su capacidad de separación o su sensibilidad para analizar compuestos volátiles. Sin embargo, su uso se encuentra limitado por el hecho de que las

mezclas deben ser separadas en fase gaseosa, lo que establece ciertos límites para su aplicación, principalmente relacionados con la estabilidad térmica de los compuestos a separar. En general, la cromatografía de gases se utiliza para separar compuestos con un peso molecular menor a 1000, y opera dentro de una temperatura máxima de aproximadamente 400 °C. Dentro de estos límites, como se mencionó previamente, la única restricción que existe es la estabilidad térmica de la muestra (Cromatografía de gases, n.d.)

Para llevar a cabo una separación mediante cromatografía de gases, se introduce una pequeña cantidad de la muestra a separar en un flujo de gas inerte a alta temperatura. Este flujo de gas atraviesa una columna cromatográfica que separa los componentes de la mezcla mediante un mecanismo de partición (cromatografía gas-líquido), de adsorción (cromatografía gas-sólido) o, en muchos casos, una combinación de ambos. Los componentes separados emergen de la columna en intervalos discretos y son dirigidos hacia un sistema de detección adecuado o recogidos en un dispositivo de muestreo. Para identificar los componentes de un aceite esencial mediante cromatografía de gases, se compara el índice de retención de cada componente con los patrones inyectados, generalmente alcanos. Sin embargo, los índices de retención pueden presentar ciertas similitudes entre los componentes, lo que requiere el uso de otra técnica, como la espectrometría de masas, que se acopla a la cromatografía de gases, para obtener una identificación más precisa y confiable (Parrales et al., 2012).

1.5.5 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-MS)

La cromatografía de gases es una técnica separativa que posee la capacidad de separar mezclas muy complejas. Sin embargo, una vez que todos los componentes individuales de una muestra problemática son separados, detectados e incluso cuantificados, la única información disponible para su identificación es el tiempo de retención de los picos cromatográficos correspondientes. Este dato resulta insuficiente para una identificación inequívoca, especialmente cuando se analizan muestras con un alto número de componentes, como ocurre frecuentemente en la cromatografía de gases capilar (Gutiérrez et al., 2002).

Por otra parte, la espectrometría de masas tiene la capacidad de identificar casi inequívocamente cualquier sustancia pura, pero generalmente no puede identificar los componentes individuales de una mezcla sin separarlos previamente. Esto se debe a la complejidad extrema del espectro obtenido, que resulta de la superposición de los espectros individuales de cada componente. Por lo tanto, la combinación de ambas técnicas, cromatografía de gases (GC) y espectrometría de masas (MS), da lugar a una técnica conjunta conocida como GC-MS, que permite tanto la separación como la identificación de mezclas complejas (Lafferty, 1969).

El uso de cromatografía de gases junto a un espectrómetro de masas requiere sistemas de conexión especiales. Ambas técnicas operan en fase gaseosa y requieren una cantidad mínima de muestra para el análisis, lo que las hace altamente compatibles (Lafferty, 1969).

El único desafío significativo al realizar el acoplamiento entre ambas técnicas es que el efluente que sale de la columna cromatográfica lo hace a presión atmosférica, mientras que el espectrómetro de masas trabaja a alto vacío. Sin embargo, en la actualidad, este acoplamiento se facilita al utilizar cromatografía de gases capilar, que es el caso más común y permite una conexión directa (Gutiérrez et al., 2002)

1.5.6 *Detector de ionización de llama (CG-FID)*

Dentro de la cromatografía de gases, el detector de ionización de llama (FID) es ampliamente utilizado en el análisis de compuestos orgánicos debido a su alta sensibilidad, amplio rango lineal de respuesta y bajo nivel de ruido (Lafferty, 1969).

El detector de ionización de llama muestra una respuesta uniforme por unidad de masa de analito, sin verse afectado por la estructura química cuando contiene carbono. Este detector consta de un quemador donde las muestras se queman mediante la combustión de una mezcla de hidrógeno y aire, lo que genera una llama a altas temperaturas. Durante este proceso, los compuestos orgánicos se pirolizan, formando iones y electrones que se agrupan en una corriente. Al aumentar el voltaje y amplificar la corriente, se logra el registro en el detector (Lafferty, 1969).

1.5.7 Análisis Enantiomérico

. El análisis enantiomérico es una técnica analítica utilizada para caracterizar mezclas complejas, como los aceites esenciales. Es un método ampliamente empleado que contribuye a la evaluación de la calidad de los aceites esenciales. Esta técnica es de gran importancia en áreas como la farmacéutica, ya que los enantiómeros de una molécula pueden tener propiedades diferentes. La separación enantiomérica implica la detección de ambas formas enantiomérica en el mismo compuesto, lo que permite identificar cuál de ellas es química y/o biológicamente activa. Esto es especialmente relevante en la separación de compuestos donde la presencia de enantiómeros puede tener un impacto significativo en su actividad o efecto terapéutico (Roberts & Caserio, 2022).

Capítulo dos

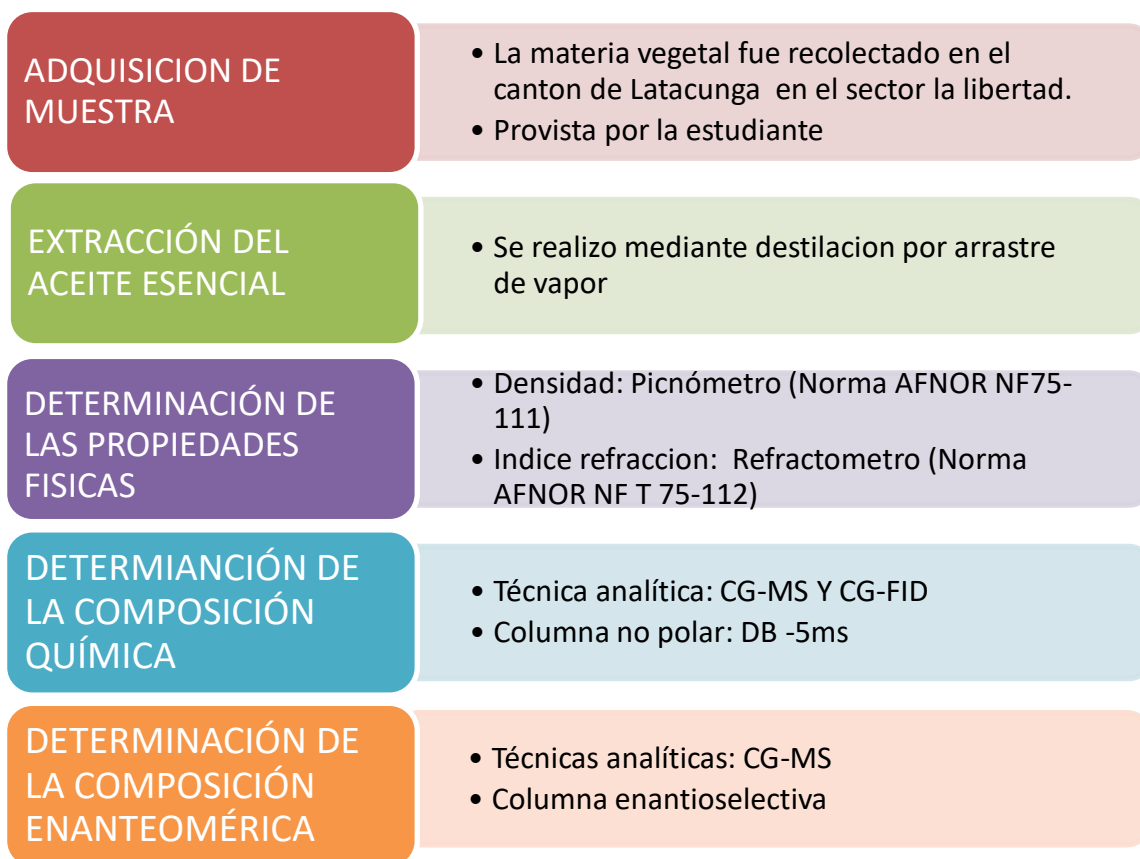
Metodología

2.1 Parte experimental

La metodología de este trabajo de fin de titulación se desarrolló en el Departamento de química y ciencias exactas de la Universidad Técnica Particular de Loja y se describe en la figura 2.

Figura 2

Esquema de la metodología para investigación



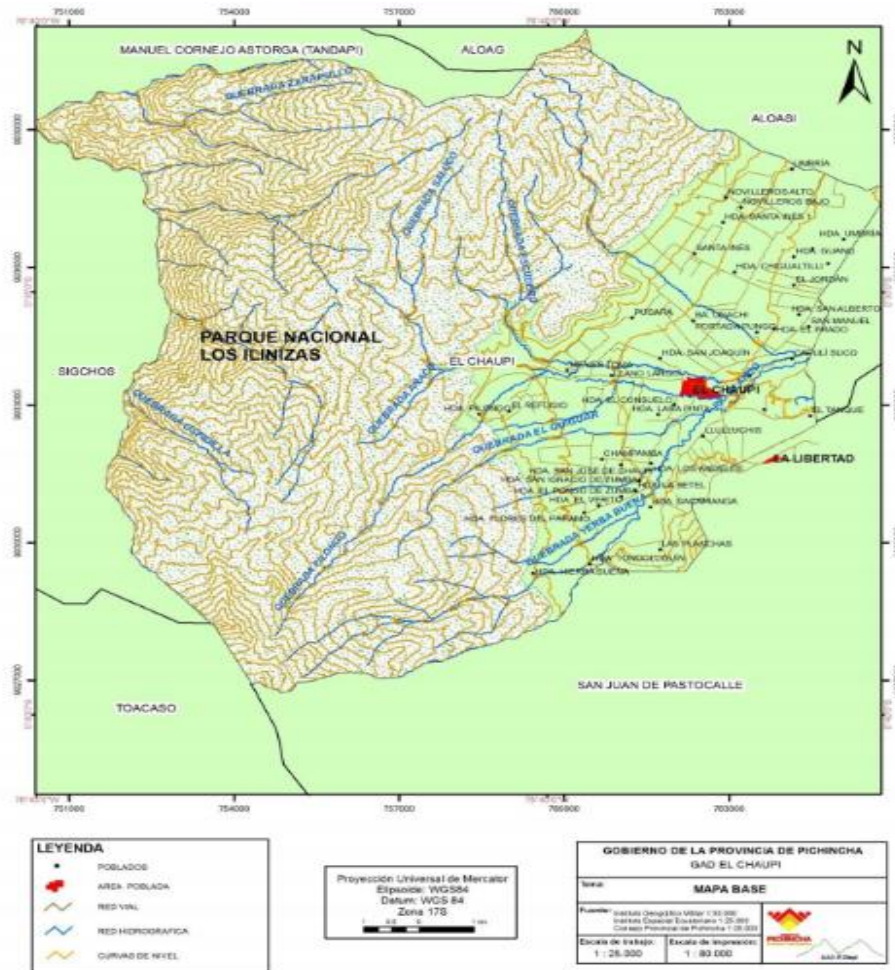
2.1.2 *Materia Vegetal*

Las hojas de la especie *Minthostachys verticillata* fueron recolectadas en el sector de la Libertad provincia de Cotopaxi, cantón de Latacunga, parroquia San Juan de Pastocalle

Figura 3 se observa la ubicación geográfica de dicha especie con las siguientes coordenadas: 0°37'03.0" S 78°37'47.2" O y una altura 2.860 m s.n.m.

Figura 3

Ubicación de donde se recolectó la especie *Minthostachys verticillata*



El material fue recolectado en un solo día en el mes de diciembre a horas de la mañana y tarde entre las 7: 00 am a 18:00 pm. En la recolección se pudo observar que la especie estaba en estado en proceso de maduración Figura 4.

Figura 4

Lugar donde se realizó la recolección



Ya culminada la recolección fue transportada hasta los laboratorios del Departamento de Química y Ciencias Exactas de la UTPL donde se realizó su respectivo tratamiento postcosecha con la finalidad de seleccionar el material vegetal, eliminando así las partes deterioradas, secas o en putrefacción de las hojas, puesto que el objetivo de todo esto es evitar posibles contaminaciones que puedan generar algún resultado alterado o erróneo. También tomamos en cuenta que el deterioro de la materia fresca es acelerado, por consecuente verificamos que el tiempo entre la recolección y la destilación no sea superior a 12 horas para impedir la contaminación por descomposición del componente vegetal en la extracción del aceite.

2.1.2 Determinación de la humedad

Para la determinación del porcentaje de humedad, se tomaron muestras de las hojas de *Minthostachys verticillata*, se procedió a cortar pequeños pedazos (aproximadamente 1 gramo) para tener nuestra respectiva homogeneidad. La muestra ya previamente tratada, se la coloco en una capsula de aluminio, para así ser ingresada en una analizador BMA 150 Figura 9 permitiendo un análisis a través de un radiador IR y una temperatura de 160°C, eliminado toda la humedad en la materia vegetal.

Figura 5

Equipo para determinar la humedad del material vegetal



Resaltamos que para la determinación de la humedad se realizó por triplicado en cada una de las recolecciones, y finalmente se obtiene el porcentaje de humedad de la muestra.

2.2 Extracción del aceite esencial

Se realizó la obtención del aceite a partir de las partes aéreas de la planta, en específico de las hojas. Para su extracción fue realizada en el equipo de destilación por arrastre de vapor proporcionado por el Departamento de Química (ver figura 6), este método empleado consiste en un tanque cilíndrico de acero inoxidable expuesto a la llama que tiene en su parte interna una placa perforada en donde se colocó la materia vegetal troceada, por debajo de esta placa se coloca agua que una vez que llegue al punto de ebullición el vapor circula por el material vegetal y va arrastrando los diferentes componentes volátiles que forman parte del aceite esencial, como subsiguiente al tapar se coloca agua en los bordes del tanque, el vapor formado pasa por un condensador, de una salida conectada a un tubo enroscado en un florentino, se hace la ubicación de las mangueras tanto para la entrada y salida de agua del refrigerante así también para el agua en forma de vapor que se recircula

al tanque. Se estima que el tiempo de espera es de 3-4 horas, tomando en cuenta la cantidad colocada.

Figura 6

Equipo de destilación del Departamento de Química



Al terminar la destilación se procedió a recoger el aceite esencial en una probeta para así poder medir su volumen, caracterización visual como el color, y también eliminar residuos de agua que pudieron quedar de la destilación. Después se envasó en viales color ámbar herméticamente cerrados y debidamente etiquetados con el nombre de la especie, número y fecha de recolección Figura 7. Finalmente se recomienda almacenarlo en refrigeración a -4°C , para así evitar la degradación del aceite esencial.

Figura 7

Muestras de aceite esencial en frasco ambar

**2.3 Determinación del rendimiento**

Para el rendimiento del aceite esencial se determinó de cada una de las destilaciones haciendo una relación entre el volumen del aceite obtenido con la cantidad de materia vegetal en peso utilizada, el procedimiento de los cálculos del rendimiento se hizo de acuerdo con las especificaciones del Departamento de química y ciencias exactas de la universidad. Cabe recalcar que los resultados dependerán de las condiciones de la especie, y los cálculos se realizarán de acuerdo con las especificaciones del Apéndice A

2.4 Determinación de las propiedades físicas

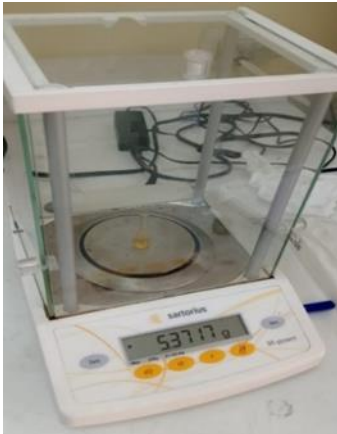
Se determino las siguientes propiedades físicas: densidad según la norma AFNOR NFT75-111, el índice de refracción apoyado en la norma AFNOR NF 75-112 25 y la actividad óptica en base a la norma ISO 592-1998 del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys verticillata*.

2.4.1 Densidad Relativa

Consiste en una técnica que relaciona la cantidad de materia existente con el volumen que ocupa, a una determinada temperatura tomando en cuenta los pasos descritos por la norma AFNOR NF T 75-111 la misma que, se puede visualizar en el Apéndice B

Figura 8

Balanza para la medición de la densidad



Se homogenizó las muestras obtenidas de cada destilación del aceite esencial de *Minthostachys verticillata*, y los materiales empleados fueron una balanza analítica y un picnómetro de 1mL, detallando el siguiente procedimiento.

1. En una balanza se procedió a pesar el picnómetro de 1ml vacío
2. Se pesa el picnómetro con agua calculando que llegue hasta la línea indicada
3. Pesamos el picnómetro con el aceite por tres ocasiones
4. Calculamos la media y la desviación estándar

Figura 9

Picnómetro dentro de la balanza para la medición



2.4.2 Índice de refracción

El índice de refracción para la muestra del aceite esencial se la obtuvo tomando en cuenta la norma AFNOR NF 75- 112 25, se ocupó el refractómetro ABBE (Figura10), el que permite medir la velocidad a la que se propaga la luz del aceite esencial a una temperatura de 20 °C.

Figura 10

Refractómetro ABBE



Para este análisis se calibra el equipo, y luego se procede a colocar una gota del aceite esencial de *Minthostachys verticillata* en el prisma, con ayuda de la perilla de dispersión se acerca la luz para medir la velocidad con lo que se propaga. En el Apéndice C se puede observar las fórmulas utilizadas para la determinación del índice de refracción.

2.4.3 Actividad Óptica

Para la determinación de la actividad óptica nos basamos en la norma ISO 592-1998, la misma que se puede visualizar en el Apéndice D. Aquí se llega a definir esta propiedad física como la capacidad de los AE para desviar la luz que ha sido polarizada. Para esta técnica se utilizó un polarímetro Digital modelo Mrc- Automatic Polarimeter P810 (Figura11) y con ayuda de una celda de 10 cm de longitud se realizó el procedimiento en cada una de las muestras obtenidas de cada destilación, consiguiendo un valor promedio como resultado.

Figura 11

Polarímetro digital



2.5 Determinación de la composición química del aceite esencial

Para determinar los compuestos químicos existentes en el aceite esencial de *Minthostachys verticillata*, se utilizó la técnica de cromatografía de gases. Donde se realizó un análisis de carácter cualitativo y cuantitativo.

2.5.1 Descripción de las características del equipo cromatográfico y método de análisis en el aceite esencial por cromatografía de gases

Para la identificación de los diferentes compuestos se empleó un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas (CG-MS) y al detector de ionización de llama (CG.FID) (Figura 13), permitiendo así la identificación cualitativa como cuantitativa respectivamente, cabe mencionar que se empleó una columna de 30 metros, realizando las corridas en una columna no polar DB-5ms, dicho esto es importante mencionar que se utilizó Fenilmetilpolisiloxano al 5%. También una columna polar HP- INNOWAX Agilent 122-5532 (polietilenglicol) para la identificación cualitativa de los compuestos químicos.

Figura 12

Cromatógrafo de Gases Thermo Scientific trace 1310V



2.5.2 Preparación de muestra para inyectar en el equipo

Se verifico que la muestra de aceite no contenga residuos de agua tras la extracción mediante destilación, este paso se lo realizo para evitar futuros daños en el equipo o alguna alteración al momento de analizar las muestras.

Para las inyecciones en el cromatograma se preparó en viales de color ámbar correctamente etiquetados en una disolución al 1%(v/v) respecto del aceite esencial. Es decir, se toma 10 uL de aceite y 990 uL de diclorometano, homogenizamos las muestras para que los resultados tengan un menor porcentaje de error, para así proceder con las inyecciones planteadas. Este proceso se realizó por triplicado en cada muestra de aceite esencial de *Minthostachys verticillata*.

Figura 13

Viales con las tres muestras de aceite esenciales

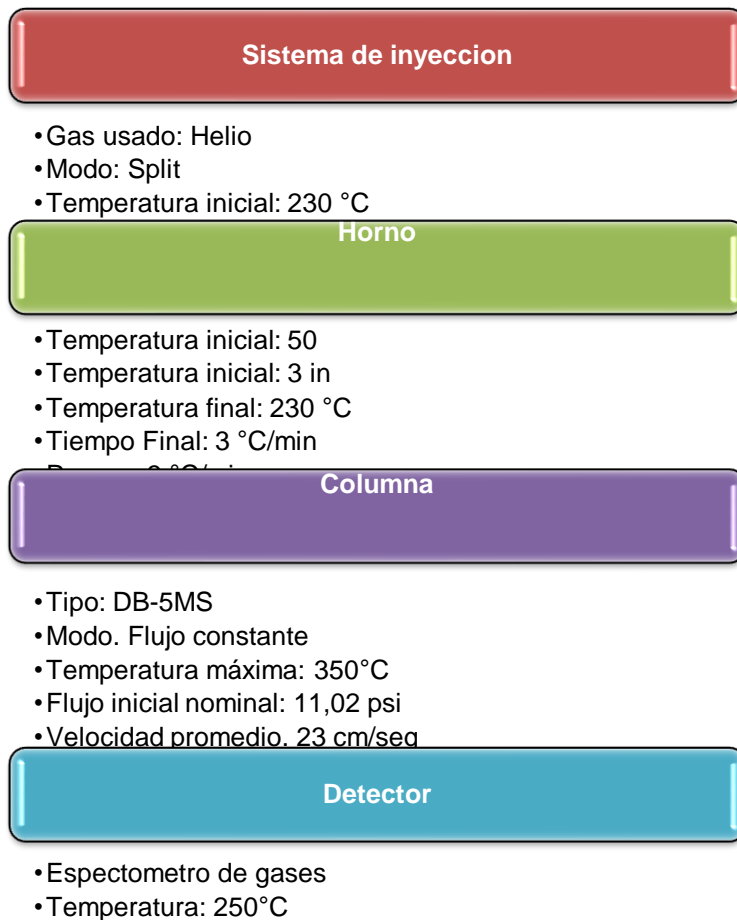


2.5.3 Corrida cromatográfica en la columna no polar DB5-ms acoplada espectrometría de masas.

Se procedió a realizar la corrida cromatográfica en el equipo Thermo Scientific trace 1310 de la columna DB-5MS (figura 13) de la muestra de *Minthostachys verticillata*, alrededor de 1 hora, integramos y analizamos en el cromatograma de forma manual, para obtener los índices de retención o también conocidos como índices de Kovats, se inyectaron los hidrocarburos que van desde el (C10) hasta el pentacosa (C25), siguiendo las mismas normas y condiciones empleadas en los viales que contienen la muestra. Comparamos los picos del equipo, el IRC a través de una curva de alcanos y con el libro de Adams (Adams, 2007.citaa) para así identificar los compuestos con su respectiva asignación de nombres. En la figura 15 se describen las condiciones.

Figura 14

Parámetros de operación del CG-MS en la columna DB-5masas

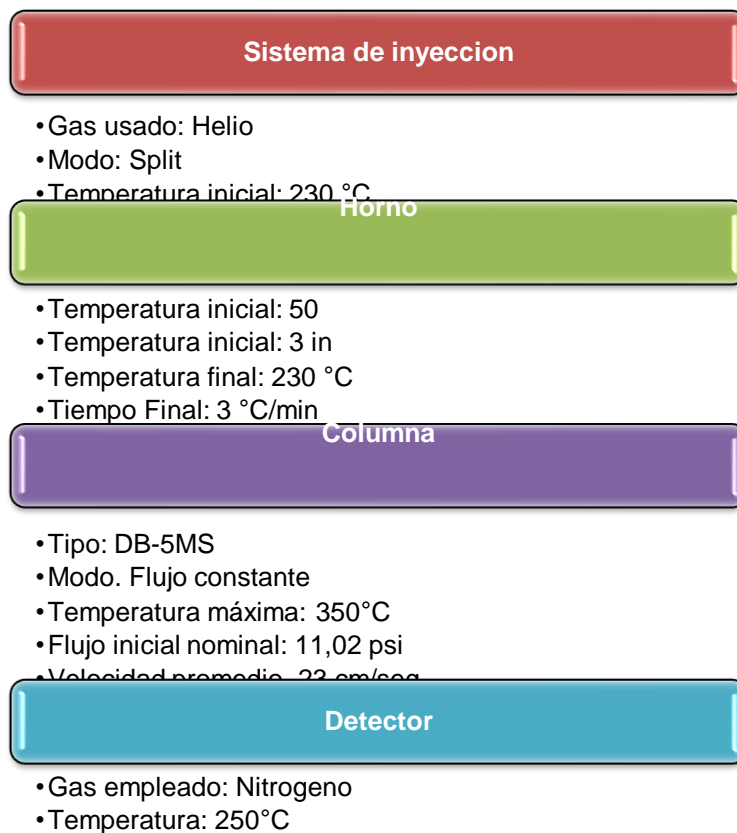


2.5.4 Corrida cromatográfica en la columna DB5-ms acoplada al detector de ionización la llama.

Se hizo uso de la columna DB-5MS donde el cromatógrafo opero a las condiciones que se muestra en la Figura 16. Las muestras de los aceites fueron preparadas en el detector de ionización de llama (FID), se empleó el mismo procedimiento que se ha mencionado anteriormente incluyendo la inyección de los estándares de hidrocarburos TPH-6RPM de CHEM SERVICE para esta corrida.

Figura 15

Parámetros de operación del CG-MS en GC-FID

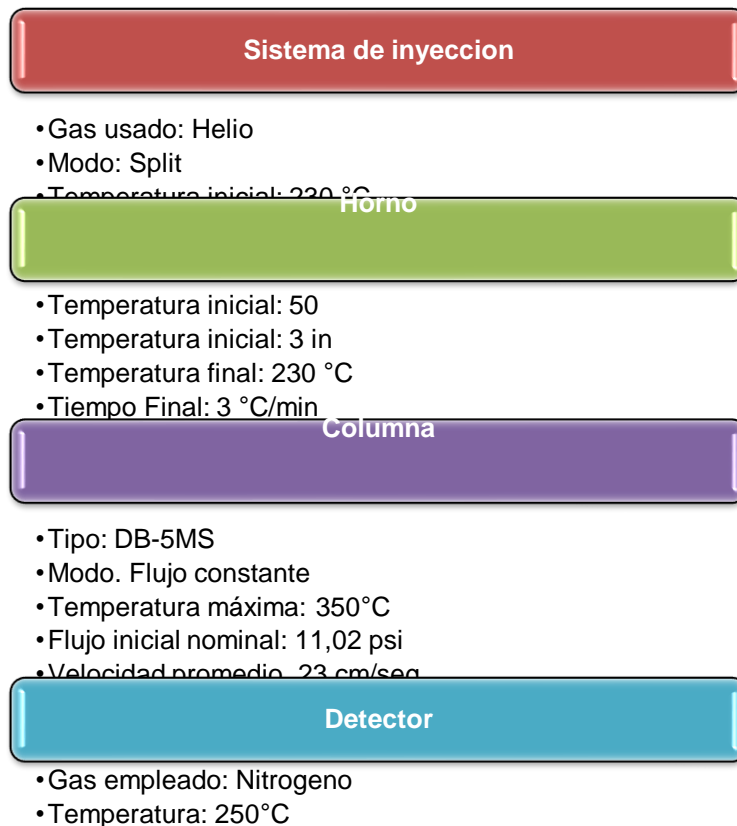


2.5.5 Corrida cromatográfica en columna polar HP-INNOWax acoplada a espectrometría de masas

Las muestras se inyectaron de manera automática con las siguientes condiciones en el equipo cromatográfico tal como muestra la Figura 16.

Figura 16

Parámetros de operación de HP-INNOWAX en CG-MS



2.5.6 Identificación de compuestos de la columna DB5-ms y HP-INNOWax en CG-FID.

Para esta identificación se obtuvo los diferentes tiempos de retención y sus respectivas áreas de los picos detectados por el detector de ionización de llama (FID). Se nos proporciona del equipo los datos de Excel y de acuerdo al área relativa y tamaño de los picos se fue haciendo la comparación con los compuestos identificados en las diferentes *columnas*.

2.5.7 Obtención de cromatogramas

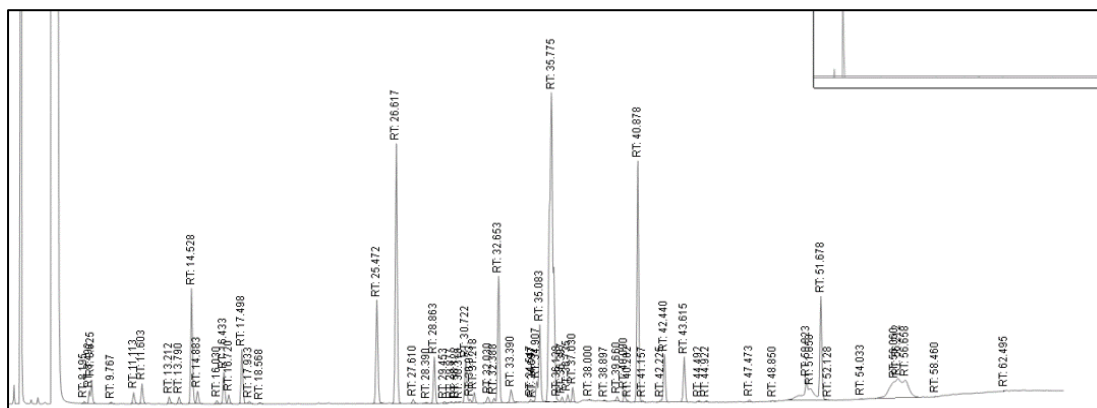
Se obtuvo el cromatógrafo con el uso de la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de gases, dado que esto es la respuesta del detector que nos ayuda aportando información mediante una serie de picos del número de componentes de la muestra inyectada. Esto es una respuesta del detector donde aporta información mediante una serie de picos del número de componentes de nuestra muestra inyectada. Esto se representa con cada uno de las moléculas y su respectivo tiempo de retención de cada uno de los compuestos. En la

figura 17 se representa cada uno de los picos identificados por el equipo con ayuda de la columna DB-5MS, perteneciente a la primera inyección realizada.

para la identificación de estos

Figura 17

Cromatograma de la primera Muestra



2.5.8 Identificación de composición química de *Minthostachys verticillata*

Para esta sección las corridas cromatográficas en la columna DB-5MS, el cromatógrafo de gases nos dio resultados mediante gráficas, las cuales nos representan cada uno de los compuestos identificados de las muestras inyectadas. Para poder realizar la identificación de la composición química de la especie vegetal en estudio se necesitó realizar la integración de los picos de los componentes encontrados por GC. Esto se lo hizo en el equipo.

Luego procedemos hacer la comparación de los diferentes tiempos de retención, así mismo, con los alcanos puesto que esto nos ayudara efectuar el índice de retención, después se hace la lectura y la identificación de los compuestos con ayuda del libro de Adams (2007).

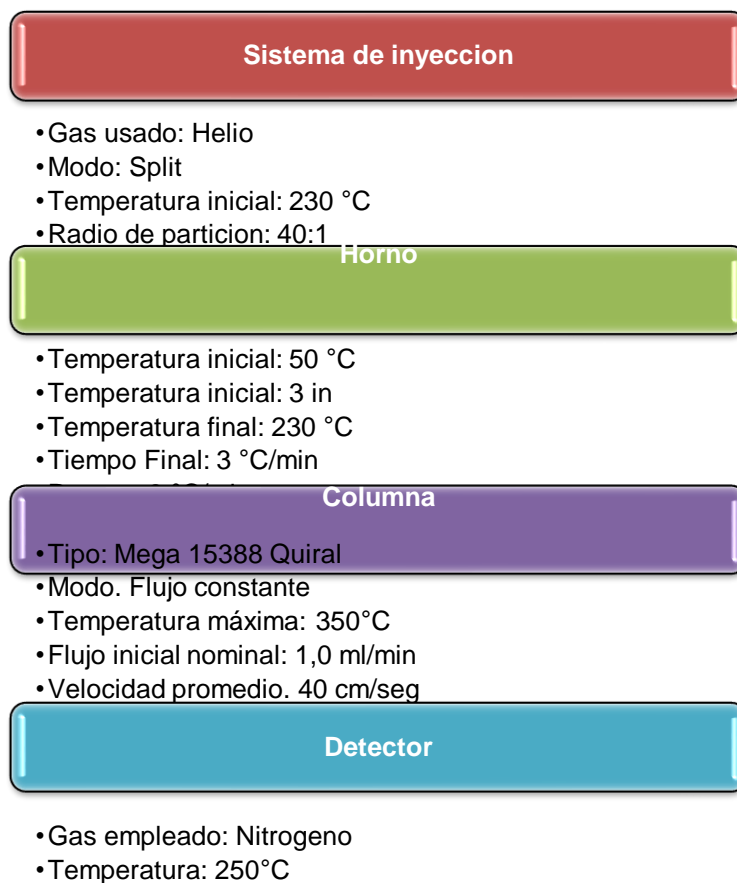
2.5.9 Determinación de la composición enantiomérica de la especie *Minthostachys verticillata*

Para el análisis enantioselectivo, se lo realizo por CG/MS utilizando una columna enantioselectiva (2,3-diethyl-6-tert-butylidimethylsilyl- β -cyclodextrin), con unas dimensiones de 30 m x 0,25m x 0,25 μ m la misma que tuvo función de fase estacionaria con las condiciones que se menciona en a figura 16. Es así como se llevó cabo la inyección en el equipó de forma

manual de la muestra que corresponde a nuestra especie vegetal ya mencionada, después con los resultados que nos arrojó la corrida cromatográfica, se procedió con la comparación entre los tiempos de retención de los enantiómeros para calcular su exceso y su distribución.

Figura 18

Parámetros de operación de la corrida cromatográfica con columna Quiral



Capítulo tres

Resultados

3.1 Porcentaje de humedad de las hojas de *Minthostachys verticillata*

A continuación, se detalla el porcentaje de humedad del material vegetal recolectado y se muestra en la tabla 1, también se presenta el valor de la media aritmética y desviación estándar de las distintas recolecciones.

Tabla 2

Porcentaje de humedad de *Minthostachys verticillata*

Recolección	Humedad %	Media	SD
MV1	74.43		
MV2	73.85	73.64	0.92
MV3	72.63		

MV: *Minthostachys verticillata*: **1** Primera recolección; **2** Segunda recolección; **3** Tercera recolección. **Media aritmética;** correspondiente a las diferentes repeticiones **SD:** Desviación estándar

La materia vegetal recolectada contiene una cantidad importante de agua, la cual es reflejada en la humedad promedio de 73.64%, sin embargo, se puede apreciar que existe una variación mínima en las humedades de las recolecciones de materia vegetal, según lo reportado por (R. Silva et al., 2022) la misma especie en estudio tuvo un porcentaje de humedad de 68.08% valor que está cercano al obtenido en el presente trabajo, sin embargo, podemos decir que la variación de estos valores puede ser debido a las condiciones climáticas en el día, horario y sector en el que la especie fue recolectada.

3.2 Obtención del aceite esencial

En la Tabla 3 podemos observar la cantidad de aceite esencial obtenido en cada recolección, lo cual fueron 34.26 kg de materia vegetal, pues así hemos representado su valor en ml de cada uno.

Tabla 3

Obtención del aceite

Lote	Peso (kg)	Volumen (ml)
MV1	9.67	7
MV2	10.58	8
MV3	14.01	10
Total	34.26	25

MV: *Minthostachys verticillata*: **1** Primera destilación; **2** Segunda destilación; **3** Tercera destilación

3.3**Determinación del rendimiento del aceite esencial de *Minthostachys verticillata***

En la Tabla 4 podemos observar la cantidad de aceite esencial obtenido en cada recolección, lo cual fueron 34,26 kg de materia vegetal, pues así hemos representado su valor en mL de cada uno.

Tabla 4Rendimiento del aceite esencial de *Minthostachys verticillata*

MUESTRAS	Peso (Kg)	Volumen (mL)	RENDIMIENTO	MEDIA	SD
MV1	9.67	7	0.7	1.0	0
MV2	10.58	8	0.8		
MV3	14.01	10	1.4		
Total	34.26	25ml			

MV: *Minthostachys verticillata*: **1** Primera destilación; **2** Segunda destilación; **3** Tercera destilación.

En cuanto a los resultados obtenidos del rendimiento del aceite esencial se puede observar que existe una ínfima variación en los rendimientos en las distintas destilaciones del material vegetal, siendo el valor promedio de 1.0%; valor que se menor del que se describe en el siguiente estudio de (Zygodlo et al., 1996) esto se da porque la condición de la especie fueron diferentes y también en el artículo nos menciona que el valor que obtuvieron es alto. Comúnmente las plantas aromáticas tienen rendimientos que van desde 0.01% a 10%, siendo

que nuestro resultado se acerca al valor mínimo (Ruiz et al., 2015). Es importante acotar que visualmente el aceite esencial extraído tenía un color amarillo claro, este se lo determinó visualmente y es una característica subjetiva.

3.4 Propiedades físicas

3.4.1 Densidad relativa

En la determinación de la densidad relativa del aceite esencial de nuestra especie vegetal se realizó por triplicado, donde también se hizo los cálculos de su media y desviación estándar, se observa en la Tabla 5.

Tabla 5

Densidad relativa de *Minthostachys verticillata*

Recolecciones	Densidad	Media	SD
MV1	0.9473		
MV2	0.9472	0.9486	0.0023
MV3	0.9512		

MV: *Minthostachys verticillata*: **1** primera recolección; **2** Segunda recolección; **3** Tercera recolección. **Media aritmética;** correspondiente a las diferentes repeticiones. **SD:** Desviación estándar

La densidad de los aceites es la relación masa volumen, esto nos ayuda a ver la calidad y cuan puro es el aceite. *Minthostachys verticillata* fue de 0.9486 ± 0.0023 siendo así el aceite menor a la densidad del agua. Por consiguiente, se encuentra dentro de los rangos descritos por (Montironi et al., 2016) que es un estudio realizado a una planta del mismo género *Minthostachys* tiene un valor de densidad relativa de $0,930 \pm 0,015$, la variación puede ser por la diferencia de especie y también por el método de extracción y cuanta temperatura fue expuesta la especie vegetal.

3.4.2 Índice de Refracción

La Tabla 6 muestra el resultado obtenido del índice de refracción de cada una de las muestras del aceite esencial destilado, la media de estos valores y su desviación estándar

Tabla 6

Índice de refracción del Aceite esencial en estudio

Índice de Refracción					
Recolección	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	MEDIA	SD
MV1	1.4782	1.4784	1.4795	1.479	0.001
MV2	1.4781	1.4782	1.4792		
MV3	1.4782	1.4782	1.4792		

MV: *Minthostachys verticillata*: **1** primera recolección; **2** Segunda recolección; **3** Tercera recolección. **Media aritmética**; correspondiente a las diferentes repeticiones. **SD:** Desviación estándar

El índice de refracción promedio es de 1.479 ± 0.001 generalmente los aceites de manera general están en un valor de 1,4 y 1,6 (Mettler, 2018). En base a los reportes en bibliografía sobre el valor de esta propiedad física nos dice que el índice de refracción es de 1,474 (Feo et al., 2011). Esta propiedad nos ayuda para saber si en nuestro aceite esencial posee compuesto oxigenados.

3.4.3 Actividad Óptica

A continuación, en la Tabla 7 se describen y detallan los valores obtenidos en las tres mediciones de la actividad óptica, de nuestro aceite esencial.

Tabla 7

Actividad óptica del aceite esencial de *Minthostachys verticillata*

Actividad óptica					
Recolección	Muestra 1	Muestra 2	Muestra3	Media	SD
MV1	-34.26	-16.78	-31.1	-27.75	9.560
MV2	-34.32	-16.8	-34.24		
MV3	-34.3	-16.76	-31.2		

MV: *Minthostachys verticillata*: **1** primera recolección; **2** Segunda recolección; **3** Tercera recolección. **Media aritmética**; correspondiente a las diferentes repeticiones. **SD:** Desviación estándar

La actividad óptica es una característica física que permite evaluar la capacidad de desviar la luz polarizada en una dirección específica. Esta propiedad se clasifica como dextrógiro (+) cuando la luz se desvía en el sentido de las manecillas del reloj, y levógiro (-) cuando se desvía en sentido contrario a las manecillas del reloj (Medicinales Aromáticas, 2007). Con respecto al aceite analizado, los datos presentados muestran una rotación promedio dextrógira de -27.75 ± 9.560 .

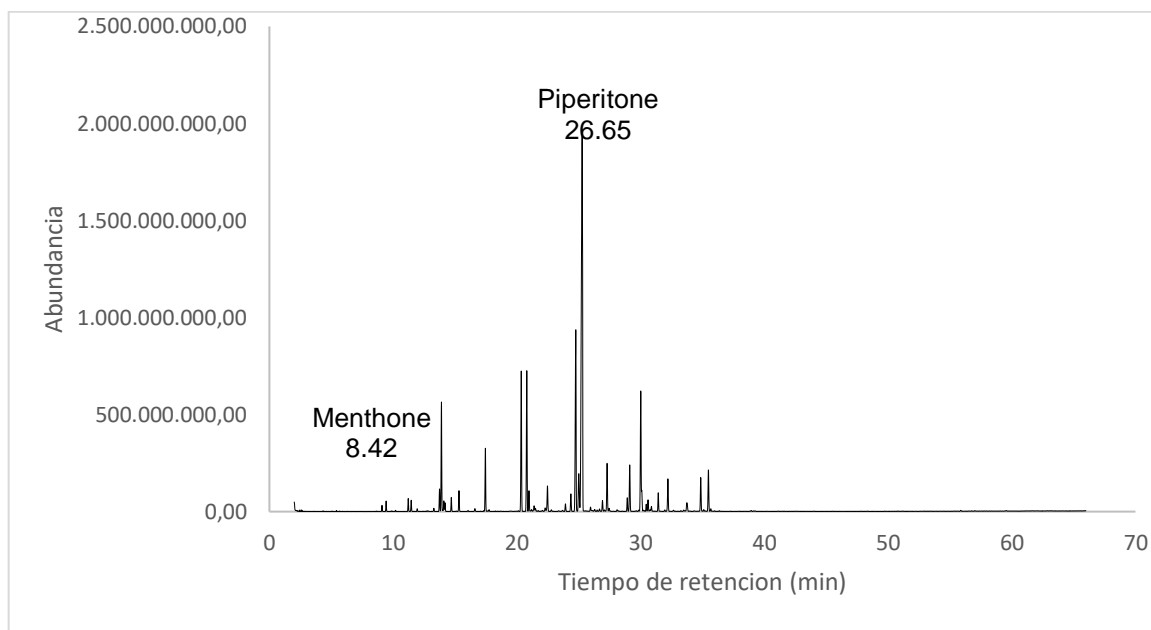
3.5 Composición química

3.5.1 Análisis cualitativo y cuantitativo

Para la determinación de la composición química de *Minthostachys verticillata* se realizó mediante la técnica de cromatografía de gases con las corridas cromatográficas en la columna DB-5ms (no polar) y HP-INNOWAX acoplados a la espectrometría de masas y al detector de ionización de la llama (CG-FID); el cromatograma que se presenta en la figura 19. Donde se visualiza cada uno de los picos encontrados, teniendo en cuenta que los compuestos mayoritarios tienen mayor altura. Se representados en eje vertical los diferentes compuestos, mientras que en el eje horizontal pertenece a el índice de retención.

Figura 19

Cromatograma del aceite esencial *M. verticillata* en la columna DB-5ms



Para la identificación del análisis cuantitativo, se lo hizo con la columna DB-5MS, sin embargo, es de gran importancia utilizar los índices de retención calculados para la comparación que se realiza en la experimentación, ya que el equipo consta con un programa automatizado MSD-Chemstation D.01.00.SP1" lo cual hace la comparación de su propia bibliografía.

En la Tabla 8 se detalla y especifica los compuestos químicos existentes en la muestra destacando aquellos que tiene una mayor área (compuestos mayoritarios), la cantidad representada en porcentajes, la media relativa y la desviación estándar de las tres muestras inyectable en el cromatógrafo de gases.

Tabla 8

Composición química del Aceite esencial de *Minthostachys verticillata*

DB-5ms								
No.	Compuesto	IK Cal	IK ^{Ref.}	%Cantidad Relativa +			MEDIA	O
				MV1	MV2	MV3		
1	Isopentyl formate	799	788	0,02			0,02	
2	Thujene α->	924	924	0,85	0,70	0,55	0,70	0,15
3	Pinene α->	932	932	0,45	0,39	0,29	0,37	0,08
4	Thuja-2,4(10)-diene	943	953	0,04			0,04	

5	Camphene	949	946	0,04	0,06	0,03	0,04	0,02
6	Sabinene	972	969	0,49	0,70	0,40	0,53	0,16
7	Pinene < β ->	972	974	0,51	0,42	0,33	0,42	0,09
8	Myrcene	989	988	0,11	0,17	0,11	0,13	0,04
9	Carene < δ -2->	999	1001	0,04	0,02	0,02	0,03	0,01
10	Octanol <3->	1002	988	0,02			0,02	
11	Mentha-1(7),8-diene < ρ ->	1005	1003	0,02			0,02	
12	Carene < δ -3->	1008	1008	0,16	0,08	0,08	0,10	0,05
13	Terpinene < α ->	1018	1014	0,37	0,28	0,27	0,31	0,06
14	Cymene < ρ ->	1027	1020	3,35	2,26	2,35	2,65	0,61
15	Limonene	1030	1024	3,04	4,59	2,59	3,41	1,05
16	Phellandrene < β ->	1032	1025	0,11	0,09	0,08	0,09	0,02
17	Cineole <1,8->	1034	1026	0,41	0,57	0,45	0,48	0,09
19	Ocimene <(Z)- β ->	1036	1032	0,09	0,13	0,07	0,10	0,03
20	Ocimene <(E)- β ->	1047	1044	0,16	0,32	0,13	0,20	0,10
21	Tolualdehyde <o->	1055	1062	0,03	0,02	0,02	0,02	0,00
22	Terpinene< γ ->	1060	1054	1,57	1,37	1,35	1,43	0,12
23	Sabinene hydrate <cis-> (IPP vs. OH)	1075	1065	0,10	0,15	0,12	0,12	0,03
24	Benzyl formate	1086	1071	0,14	0,13	0,12	0,13	0,01
25	Isopentyl 2-methyl butanoate	1101	1102	0,04	0,03	0,02	0,03	0,01
26	Linalool	1104	1095	3,28	1,89	2,54	2,57	0,70
27	Isopentyl isovalerate	1107	1102	0,05			0,05	
28	Sabinene hydrate <trans-> (IPP vs. OH)	1109	1098		0,06	0,05	0,06	0,01
29	Methyl butyl isovalerate <2->	1110	1103	0,13	0,10	0,09	0,11	0,02
30	Octanol acetate <3->	1120	1120	0,05	0,02	0,03	0,03	0,01
31	Mentha-2,8-dien-1-ol <trans- ρ ->	1128	1119	0,02			0,02	
32	Menth-2-en-1-ol <cis- ρ ->	1130	1118	0,02			0,02	
33	Viridene	1159	1163	0,03	0,03	0,03	0,03	0,00
34	Menthone	1164	1148	11,75	4,65	8,88	8,42	3,57
35	Menthone <iso->	1172	1158	1,20	11,60	1,86	4,89	5,83
36	Menthol <iso->	1176	1179	2,42	1,32	1,59	1,77	0,57
37	Cyclocitral < β ->	1179	1217	0,11		0,09	0,10	0,01
38	Borneol	1183	1165		0,10		0,10	
39	Caranone <trans-4->	1185	1196	1,12	0,44	0,71	0,76	0,34

40	Terpinen-4-ol	1187	1174	0,30	0,23	0,20	0,24	0,05
41	Prenyl angelate	1192	1189	0,05		0,05	0,05	0,00
42	Isoamyl tiglate	1198	1191	0,07	0,09	0,06	0,08	0,02
43	Terpineol α->	1203	1186	0,28	0,20	0,27	0,25	0,04
44	Dihydro carvone cis->	1207	1191	0,05	0,57	0,10	0,24	0,28
45	Dihydro carvone trans->	1215	1200		0,02		0,02	
46	Coahuilensol, methyl ether	1226	1219	0,03			0,03	
47	Thujanol acetate neoiso-3->	1232	1281	0,12	0,06	0,08	0,08	0,03
48	Nojigiku acetate	1238	1238	1,02			1,02	
40	Perilla ketone	1239	1245		0,19	0,61	0,40	0,29
50	Pulegone	1247	1233	0,88	5,52	2,13	2,85	2,40
51	Carvone	1255	1239	0,26	5,22	0,86	2,11	2,71
52	Piperitone epoxid cis-> (epoxide vs. IPP)	1263	1250		4,07	3,25	3,66	0,58
53	Piperitone	1266	1249	26,53	20,57	29,84	25,65	4,70
54	Ethyl chrysanthemumate trans->	1272	1277	0,08		0,06	0,07	0,01
55	Hexenyl angelate $(3Z)$->	1281	1275	0,18	0,23	0,16	0,19	0,04
56	Piperitone epoxide trans-> (epoxide vs. IPP)	1285	1252	0,09		0,06	0,08	0,02
57	Isobornyl acetate	1288	1283	0,10	0,13	0,10	0,11	0,02
58	Menthyl acetate	1293	1294	0,05	0,08	0,08	0,07	0,02
59	Verbenyl acetate trans->	1297	1291	0,03	0,04	0,03	0,03	0,01
60	Thymol acetate	1302	1349	1,84	0,63	1,42	1,30	0,61
61	Carvacrol	1311	1298	7,78	4,78	7,16	6,57	1,58
62	Carvotanacetone 6-hydroxy->	1314	1309	0,38	0,17	0,30	0,28	0,11
63	Myrtenyl acetate	1329	1324	0,04	0,06	0,04	0,05	0,01
64	Verbanol acetate neo->	1331	1319	0,03			0,03	
65	Dihydro carveol acetate neoiso->	1347	1356	0,93	0,62	0,84	0,79	0,16
66	Piperitenone	1352	1340	2,06	2,93	2,11	2,36	0,49
67	Neryl acetate	1362	1359	0,05	0,15	0,07	0,09	0,05
68	Carvacrol acetate	1371	1370	15,51	12,33	15,75	14,53	1,91
69	Piperitenone oxide	1374	1366	0,08	1,75		0,91	1,18
70	Copaene α->	1376	1374	0,04	0,07	0,06	0,06	0,01
71	Geranyl acetate	1381	1379	0,34	0,42	0,50	0,42	0,08
72	Bourbonene β->	1385	1387	0,13	0,25	0,21	0,20	0,06

73	Cubebene < β ->	1388	1387	0,05		0,08	0,07	0,02
74	Italicene	1390	1405	0,04	0,08	0,05	0,06	0,02
75	Cedrene < α ->	1403	1410	0,16	0,06	0,21	0,14	0,07
76	Caryophyllane <4,8- α -epoxy->	1416	1415	0,03			0,03	
78	Caryophyllene <(E)->	1422	1417	1,59	1,44	1,50	1,51	0,07
79	Aromadendrene	1435	1439		0,03	0,04	0,04	0,00
80	Nezukone	1447	1435	0,02		0,02	0,02	0,00
81	Farnesene <(E)- β ->	1452	1454	0,06	0,39	0,39	0,28	0,19
82	Humulene < α ->	1459	1452	0,51	0,51	0,53	0,52	0,01
83	Ageratochromene <6-demethoxy->	1473	1461	0,25	0,13	0,12	0,17	0,07
84	Muurola-4(14),5-diene <trans->	1485	1493	0,80			0,80	
85	Cadina-1(6),4-diene <cis->D93	1487	1461		1,12	1,54	1,33	0,30
86	Zingiberene < α ->	1490	1493	0,09	0,07	0,10	0,09	0,02
87	Phenyl ethyl 3-methyl butanoate	1493	1490	0,03		0,03	0,03	0,00
88	Bicyclogermacrene	1499	1500	2,84	1,56	2,83	2,41	0,74
89	Farnesene <(E,E)- α ->	1504	1505	0,10	0,22	0,24	0,19	0,07
90	Bisabolene < β ->	1512	1505	0,02	0,02	0,03	0,02	0,01
91	Cadinene< α ->	1521	1537	0,04	0,02	0,04	0,04	0,01
92	Indipone	1525	1496	0,02			0,02	
93	Liguloxide	1543	1534	0,02			0,02	
94	Spathulenol	1585	1577	0,08		0,06	0,07	0,01
95	Bisabolol oxide B < α ->	1664	1656		0,02	0,03	0,02	0,00
96	Bisabolol < α ->	1695	1685		0,03	0,03	0,03	0,00
98	Nonadecane <n->	1881	1900	0,04			0,04	
99	Spiroether <(E)->	1904	1890		0,07	0,06	0,07	0,01
100	Eicosane<n->	1988	2000	0,12			0,12	
*TOTAL IDENTIFICADOS =							99,32	

Nota. En esta tabla se detallan todos los compuestos obtenidos por medio de la columna no polar DB-5MS donde;

*=Sumatoria del porcentaje relativo de los compuestos identificados en la columna DB5-ms; += Porcentaje promedio con relación al % área de los picos reportados en la columna DB-5ms; SD= Desviación estándar; IK^{cal}= Índice de Kovats calculado; IK^{Ref}= Índice de Kovats descrito en bibliografía

Podemos observar que en el análisis del aceite de *Minthostachys verticillata* realizado gracias a la corrida cromatografía de la columna DB5MS, se logró definir un total de 100 compuestos dando como porcentaje de identificación del 99,32%.

Por otro parte, los compuestos mayoritarios se encuentran en la Figura 20, donde se puede apreciar lo siguiente: Piperitone (25.65%), Carvacrol acetate (14.53%), Carvacrol (6.47%), Menthone <iso> (4.89%), Piperitone exoxid <cis> (3.66%), Limonene (3.41%), Pulgone (2.85%), Cymene (2.65%), Linalool (2.57%). En el estudio llevado a cabo por (Feo et al., 2011) sobre el género de *Minthostachys verticillata*, se mencionan ciertos componentes principales presentes en el aceite, como el Pulgone (37.8%), Menthone (29.2%) y Limonene (7.8%). El autor identificó un total de 45 compuestos. Además, se realizó una comparación de la composición de aceites esenciales de diferentes géneros de *Minthostachys*, específicamente *Andina* y *Mollis*. Es relevante destacar que las especies analizadas fueron sometidas a distintos tratamientos y se encontraban ubicadas en Argentina.

Varios estudios sugieren diversas razones que pueden explicar las diferencias en la composición de aceites esenciales de la misma especie. Entre las principales se encuentran la ubicación geográfica, las condiciones climáticas de la zona, el periodo de recolección y el método de destilación empleado (De & Montoya Cadavid V S V R", 2010)

Figura 20

Compuestos Mayoritarios en Columna DB-5ms



Nota. El eje "y" representa la cantidad de compuestos en porcentaje presente en el aceite esencial de *Minthostachys verticillata*

Con relación al análisis cuantitativo, se lo realizó con la técnica de cromatografía de gases acoplado al detector de ionización en la columna no polar DB-5ms tomando como referencia el valor máximo del área de sus picos para determinar el compuesto

En la siguiente tabla 8, se refleja los compuestos mayoritarios encontrados a través de la cantidad relativa de su área en cada muestra analizada.

Tabla 9

Compuestos mayoritarios obtenidos del CG-FID con columna DB-5ms

COMPUESTO	DB-5ms									
	MV1		MV2		MV3		MS		FID	
	M1	FID	M2	FID	M3	FID	MEDIA	D	MEDIA	D
Piperitone	26,53	28,05	20,57	21,71	29,84	24,72	25,65	4,70	24,82	4,70
Carvacrol acetate	15,51	13,66	12,33	10,25	15,75	15,64	14,53	1,91	13,18	1,91
Menthone	11,75	13,81	4,65	4,65	8,88	2,45	8,42	3,57	6,97	3,57
Carvacrol	7,78	7,46	4,78	4,28	7,16	8,00	6,57	1,58	6,58	1,58
Menthone <iso->	1,20	3,07	11,60	12,43	1,86	2,89	4,89	5,83	6,13	5,83

Piperitone	7,46	4,07	4,28	3,25	2,39	3,66	0,58	4,71	0,58	
epoxid <cis->										
(epoxide vs. IPP)										
Limonene	3,04	3,20	4,59	5,30	2,59	3,46	3,41	1,05	3,99	1,05
Pulegone	0,88	2,90	5,52	5,46	2,13	2,45	2,85	2,40	3,60	2,40
Cymene <p->	3,35	3,54	2,26	2,42	2,35	2,84	2,65	0,61	2,93	0,61
Linalool	3,28	3,07	1,89	1,41	2,54	2,89	2,57	0,70	2,45	0,70

Nota. MV1= Primera muestra de aceite; MV2= Segunda muestra del aceite; MV3= Tercera muestra

Con respecto a los compuestos mayoritarios determinados por CG-FID se identificaron 10 compuestos con el mayor porcentaje y refrenté de los demás, podemos observar que si se logró identificar todos los compuestos. Se realizó una comparación con los compuestos identificados de espectrometría de masas, determinando los siguientes compuestos: Piperitone (24,82%), Carvacrol acetate (13,18%), Menthone (6,97%), Carvacrol (6,58%), Menthone <iso> (6,13%), Piperitone epoxid <cis> (4,71%), Limonene (3,99%), Pulgone (3,60%), Cymene (2,93%), Linalool (2,45%).

3.6 Propiedades de los compuestos principales

3.6.1 Piperitone

En el aceite que estamos estudiando, se encuentra un compuesto orgánico mayoritario con la siguiente nomenclatura: 6-isopropil-3-metil-1-ciclohex-2-2nona, y su fórmula molecular es C₁₀H₁₆O. Este compuesto es una cetona monoterpénica natural, según (Scalvenzi et al., 2016). Se describe en el libro (Tisserand & Young, 2014) que esta sustancia es isómera de la pulegona, pero menos tóxica y en cuanto a su farmacocinética; el metabolismo de la piperitone ha despertado cierto interés, es por ello que se llevó a cabo un ensayo en ovejas a las que se administraron 9.3g de piperitone por vía oral, y como resultado, se encontró presencia de timol y diosfenol, además de piperitone sin cambios en la orina. En relación con las reacciones cutáneas adversas, al diluir la piperitone se concluyó que es moderadamente irritante para la piel de conejos. Por otro lado, en cuanto a su neurotoxicidad, se menciona que, en dosis elevadas por vía de administración cutánea, se redujo la duración del sueño en ratones (Scheline, 1991)

3.6.2 Carvacrol acetate

Es un componente dominante en menor proporción, es un isómero con timol, al ser sustituido llega a ser un ácido débil puede ser abrasivo para los tejidos, según estudios de los aceites *Minthostachys mollis*. El carvacrol también se encuentra en varias hierbas conocidos como el orégano *Origanium vulgare*, la ajedrea de jardín *Satureja hortensis* o tomillo del monte serpolio *Thymus serpyllum*. (Sánchez-Tito et al., 2021)

Farmacocinética: Carvacrol se excreta rápidamente en la orina, principalmente como un derivado de alcohol terciario formado por oxidación del grupo isopropilo (Scheline, 1991) Se realizaron estudios con carvacrol sin diluir en la piel de conejos y tuvieron como resultado irritación en la piel, pero así mismo se lo aplicaron a voluntarios con un 4% y no hubo reacción alguna. Probado al 0,1 % y el 1% resultó irritante para un paciente con dermatitis; pacientes alérgicos al aceite de tomillo también reaccionó al carvacrol (Opdyke, 1973).

3.6.3 Menthone

(Sánchez-Tito et al., 2021) Basándonos en el siguiente estudio, tenemos un componente de gran importante, representa entre el 75 % de la composición del aceite entero, también conocido de la menta *Mentha piperita*. Tiene un aroma muy agradable sabor a menta y se usa en perfumería, pero también tiene propiedades digestivas. En cuanto a su farmacocinética tenemos que la mentona se excreta en conejos como un conjugado de glucurónico, 10-15% se metaboliza a neomentol (Scheline, 1991). Por otro lado, la actividad antioxidante/prooxidante ha demostrado una eficacia significativa de eliminación de radicales contra DPPH y OH radical (Mimica-Dukic et al., 2010)

3.6 Compuestos no identificados

A continuación, se detalla algunos compuestos que no se logró identificar de a columna DB-5ms se presentan en la tabla 10 a continuación:

Tabla 10

Compuesto no identificados de la columna DB-5ms

PK	Compuesto	TR	IRC	%Relativo
1	ND	4,345	815	0,02
2	ND	10,032	945	0,03

3	ND	19,490	1145	0,06
4	ND	27,095	1305	0,18
5	ND	29,990	1370	0,02
6	ND	30,330	1378	0,03
7	ND	31,608	1407	0,05
8	ND	34,761	1482	0,02
9	ND	39,166	1590	0,02
10	ND	39,302	1594	0,03
11	ND	42,403	1675	0,02
12	ND	45,536	1761	0,02
13	ND	55,916	2072	0,02
14	ND	56,504	2091	0,25
15	ND	56,759	2099	0,08
16	ND	57,035	2108	0,02
17	ND	59,531	2191	0,43
18	ND	62,402	2287	0,03

Nota. **ND**= No Definido; % **Relativo**= Abundancia relativa del componente en el MV

En el proceso de la identificación de compuestos del aceite de *Minthostachys verticillata* existieron algunos que no pudieron ser determinados mediante literatura, es por eso por lo que se describe aquellos compuestos no identificados con un porcentaje relativo igual o superior al 0,3% respectivamente.

A continuación, en la tabla 11 se visualiza el análisis cuantitativo y cualitativo del aceite esencial de nuestra especie vegetal en estudio, con la corrida en la columna polar HP-INNOWax.

Tabla 11

Compuestos identificados en la columna HP-INNOWAX

No.	Compuesto	IK ^{Cal}	IK ^{Ref.}	HP-INNOWAX			MEDIA	SD
				%Cantidad Relativa +				
				MV1	MV2	MV3		
1	Pinene < α ->	5	1028	0,37	0,26	0,42	0,35	0,08
2	Thujene < α ->	6	1025	0,96	0,77	1,10	0,95	0,16
3	Camphene	7	1075	0,07	0,02	0,03	0,04	0,02
4	Pinene < β ->	7	1118	0,44	0,33	0,49	0,42	0,08
5	Sabinene	8	1130	0,80	0,44	0,54	0,60	0,19
6	Carene < δ -2->	8	1146.	0,04	0,04	0,06	0,05	0,01
7	Carene < δ -3->	9	1149	0,02	0,02	0,03	0,02	0,01
8	Myrcene	9	1173	0,30	0,17	0,18	0,22	0,07
9	Terpinene < α ->	10	1183	0,33	0,28	0,37	0,32	0,04
10	Limonene	11	1210	5,04	2,66	2,93	3,54	1,30
11	Cineole <1,8->	11	1195	0,46	0,36	0,32	0,38	0,08
12	Ocimene <(Z)- β ->	11	1237	0,11	0,06	0,07	0,08	0,03

13	Terpinene< γ ->	12	1254	1,45	1,29	1,48	1,41	0,10
14	Ocimene <(E)- β ->	12	1260	0,36	0,14	0,15	0,22	0,12
15	Cymene < ρ ->	13	1270	2,46	2,37	3,52	2,78	0,64
16	Isopentyl 2-methyl butanoate	15	1100	0,19	0,14	0,22	0,18	0,04
17	Methyl butyl isovalerate <2->	16	1299	0,08	0,06	0,10	0,08	0,02
18	Octanol acetate <3->	20	1345	0,03	0,04	0,06	0,04	0,01
19	Viridene	20	1416	0,04	0,03	0,03	0,03	0,00
20	Menthone	21	1438	4,88	8,73	12,44	8,68	3,78
21	Sabinene hydrate <cis-> (IPP vs. OH)	22	1465	0,26	0,21	0,16	0,21	0,05
22	Menthone <iso->	22	1475	11,44	1,79	1,20	4,81	5,75
23	Cyclocitral < β ->	23	1610	0,02	0,03	0,05	0,03	0,01
24	Bourbonene < β ->	23	1526	0,20	0,16	0,11	0,16	0,05
25	Isopentyl isovalerate	24	1285	0,04	0,02	0,02	0,03	0,01
26	Linalool	24	1556	2,00	2,50	3,19	2,56	0,60
27	Sesquisabinene hydrate (IPP vs. OH)	25	2092	0,10	0,00	0,00	0,03	0,06
28	Isobornyl acetate	25	1582	0,11	0,07	0,11	0,10	0,02
29	Caranone <trans-4->	25		0,10	0,04	1,31	0,49	0,72
30	Caryophyllene <(E)->	25	1604	1,26	1,20		1,23	0,04
31	Citronellyl butanoate	26	1786	1,37	1,54	2,66	1,86	0,70
32	Dihydro carvone <cis->	26		0,70	0,29	0,03	0,34	0,34
33	Perilla ketone	27	1811	0,30	0,62	0,95	0,62	0,33
34	Pulegone	28	1665	5,83	2,32	0,72	2,96	2,61
35	Humulene < α ->	29	1674	0,21	0,21	0,22	0,21	0,01
36	Farnesene <(E)- β ->	29	1673	0,50	0,37	0,01	0,29	0,25
37	Myrtenyl acetate	29	1698	0,02	0,05	0,04	0,04	0,02
38	Aromadendrene	30	1625	1,20	1,35	0,79	1,11	0,29
39	Piperitone epoxid <cis-> (epoxide vs. IPP)	30	1733	3,99	3,34	3,24	3,52	0,41
40	Carvacrol	30		8,20	0,00	0,00	2,73	4,73
41	Piperitone	31	1743	15,21	36,24	18,49	23,31	11,31
42	Carvone	31	1749	4,21	0,00	0,00	1,40	2,43
43	Caryophyllane <4,8- α -epoxy->	32	1617	0,21	0,31	0,33	0,28	0,07
44	Farnesene <(E,E)- α ->	32	1723	0,29	0,30	0,18	0,26	0,06
45	Geranyl acetate	33	1765	0,40	0,43	0,31	0,38	0,06

46	Dihydro carveol acetate <neoiso->	33	1685	0,68	0,79	0,88	0,78	0,10
47	Myrtenol	34		0,05	0,06	0,05	0,05	0,00
48	Phenyl ethyl hexanoate	34	2160	0,05	0,06	0,09	0,07	0,02
49	Verbenyl acetate	35	1707	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
50	Hexenyl angelate <(3Z)->	35		0,27	0,17	0,22	0,22	0,05
51	Cedrene < α ->	36		0,06	0,19	0,12	0,12	0,07
52	Carvacrol acetate	37	1868	10,90	13,52	14,37	12,93	1,81
53	Lanceol <(Z)->	37	2449	0,04	0,04	0,00	0,03	0,02
54	Carvotanacetone <6-hydroxy->	38		0,12	0,21	0,33	0,22	0,11
55	Car-3-en-2-one	38	1881	2,20	1,11	0,89	1,40	0,70
56	Bicyclogermacrene	40	1755	2,21	1,85	1,72	1,92	0,25
57	Spathulenol	46	2172	0,03	0,06	0,06	0,05	0,02
58	Thymol	52	2172		1,26	1,55	1,40	0,21
Total, identificados							99,18	

Se lograron identificar 58 compuestos, los mismo que se representa en la tabla 8 de la columna DB-5ms, que se identificaron 100 compuestos con un porcentaje de 99,32% y en la columna HP-INOWAX el porcentaje fue de 99,18%. Entre los mayoritarios se pueden visualizar están siguientes compuestos: limonene (3.54%), cymene <p-> (2.78%), menthone (8.68%), menthone <iso-> (12.44%), linalool (3.19), pulegone (2.96%), carvacrol (4.73), piperitone epoxid <cis-> (epoxide vs. IPP) (3.24%), carvacrol acetate (14.37%).

Minthostachys verticillata es una especie que no hay reportes actuales de los estudios referentes de haber utilizado la columna de HP-INNOWAX, por lo que no es posible su comparación con alguna referencia. Sin embargo, tras algunas revisiones bibliográficas hemos podido encontrar estudios acerca de la composición química de algunos aceites esenciales del género *Minthostachys*, y entre sus compuestos identificados encontramos; Menthone, Pulegone, Caryophyllene, Carvacrol, Thymol, Germacrene, Cymenetrans, Ocimene Limonene (Encarnación V, 2009) Similares a los que hemos identificado en las mismas columnas inyectadas.

Tabla 12

Compuestos mayoritarios obtenidos GC-MS Y GC-MSFID en la columna polar HP-INNOWax

HP-INNOWAX MASAS POLAR													
N ^o	COMPUESTO	IK ^C _{al}	IK ^R _{ef.}	MV1		MV2		MV3		MASAS		FID	
				M1	FID	M2	FID	M3	FID	MEDIA	SD	MEDIA	SD
1	Limonene	123 7	121 0	5,0 4	5,3 1	2,6 6	3,2 4	2,9 3	3,1 8	3,54	1,3 0	3,91	1,2 2
2	Cymene <p->	135 3	127 0	2,4 6	2,5 4	2,3 7	2,8 8	3,5 2	1,4 6	2,78	0,6 4	2,29	0,7 4
3	Menthone	114 9	143 8	4,8 8	5,0 6	8,7 3	11, 26	12, 44	13, 81	8,68	3,7 8	10,0 4	4,5 0
4	Menthone <iso->	117 8	147 5	11, 44	12, 46	1,7 9	2,0 5	1,2 0	1,1 4	4,81	5,7 5	5,22	6,2 9
5	Linalool	139 8	155 6	2,0 0	1,9 8	2,5 0	2,8 7	3,1 9	3,0 4	2,56	0,6 0	2,63	0,5 6
6	Pulegone	140 5	166 5	5,8 3	5,9 5	2,3 2	2,4 6	0,7 2	1,0 4	2,96	2,6 1	3,15	2,5 3
7	Carvacrol	135 3	222 5	8,2 0	3,8 2	0,0 0	3,6 3	0,0 0	2,9 7	2,73	4,7 3	3,47	0,4 5
8	Piperitone epoxid <cis-> (epoxide vs. IPP)	138 0	173 3	3,9 9	15, 77	3,3 4	1,3 1	3,2 4	0,5 4	3,52	0,4 1	5,88	8,5 8
9	Piperitone	119 5	174 3	15, 21	0,6 0	36, 24	27, 85	18, 49	30, 02	23,31	11, 31	19,4 9	16, 40
10	Carvacrol acetate	135 3	186 8	10, 90	10, 38	13, 52	15, 00	14, 37	13, 72	12,93	1,8 1	13,0 3	2,3 8

En la tabla 11 se muestra compuestos mayoritarios obtenidos en GC- MS y GC-FID con la columna polar HP-INNOWax, estos son los mismos que en la columna polar DB5-MS. Por otro lado, en la tabla 6 representa mediante un gráfico los compuestos mayoritarios en la columna HP-INNOWax dando como resultado a los siguientes compuestos: limonene (3.91%), cymene <p-> (2.29%), menthone (10.04%), menthone <iso-> (5.22%), linalool (2.63),

pulegone (3.15%), carvacrol (3.47), piperitone epoxid <cis-> (epoxide vs. IPP) (5.88%), piperitone (19.49%), carvacrol acetate (13.03%)

3.7 Determinación de la composición enantiomérica

Para el aceite esencial de esta especie se pudo identificar 3 pares de enantiómeros con su respectiva distribución y exceso enantiomérica. Donde dos de ellos son monoterpenos y el ultimo pertenece al grupo de sesquiterpenos. Los compuestos que presentan un mayor exceso enantiomérico son (-) (+) limonene como se observa en la tabla 13. Entre los que tenemos; (+) Pinene < α ->,) Pinene < β ->, Carvacrol acetate

Tabla 13

Enantiómeros del aceite esencial de *Minthostachys verticillata*

RT	COMPUESTO	IK	ÁREA	DISTRIBUCION ENANTIOMÉRIC A (%)	EXCESO ENANTIOMÉRIC O (%)
3,796	(+) Pinene < α ->	940	1265163.6918	50,58	91,71
3,936	(-) Pinene < α ->	945	1236074.1974	49,42	
5,245	(+) Pinene < β ->	100 0	1631646.4427	87,36	89,73
5,514	(-) Pinene < β ->	100 7	236084.3869	12,64	
30,51 2	(+) Carvacrol acetate	145 6	14522977,1	63,70	65,63
31,71 9	(-) Carvacrol acetate	147 8	8274987,608	36,30	

Conclusiones

De acuerdo con los resultados obtenidos del estudio de la especie *Minthostachys verticillata*, se registró una humedad de 0.9486 en las hojas, mientras que el rendimiento de destilación promedió un 73.64%.

La densidad medida fue de 0.9485, confirmando que se trata de un aceite esencial, ya que su densidad es inferior a la del agua. Además, el índice de refracción del aceite esencial se determinó como 1.479, y se observó una rotación dextrógira promedio de +44.6 en esta especie.

El análisis del aceite de *Minthostachys verticillata* permitió identificar 100 compuestos, logrando una identificación del 99.32% en la columna DB-5ms. Entre los compuestos mayoritarios identificados se encuentran: Piperitone (25.65%), Carvacrol acetate (14.53%), Menthone (8.42%), Carvacrol (6.47%), Menthone <iso> (4.89%), Piperitone expoxid <cis> (3.66%), Limonene (3.41%), Pulgone (2.85%), Cymene (2.65%) y Linalool (2.57%).

Asimismo, en el análisis de distribución enantiomérica se identificaron cuatro pares de enantiómeros: Pinene < α -> (91.71%), Pinene < β -> (89.73%) y Carvacrol acetate (65.63%).

Recomendaciones

Se requiere llevar a cabo investigaciones adicionales para evaluar la actividad biológica del aceite esencial obtenido de las hojas de *Minthostachys verticillata*.

Es fundamental emplear la columna polar HP-INNOWAX y descargar el programa AMDIS para identificar los compuestos presentes tanto en DB5-MS como en HP-INNOWAX, con el propósito de determinar su composición.

Además, se sugiere analizar la identificación de compuestos de la especie *Minthostachys verticillata* mediante otros métodos, para facilitar futuras comparaciones entre las especies.

Referencias

- Alexandra Encarnación Villalta, K., & Benito Eduardo Valarezo Valdez, I. (2009). Loja mediante gc-ms y gc-fid" director.
- Alkire, B. H., Tucker, A. O., & Maciarelo, M. J. (1994). Tipo, *Minthostachys mollis* (Lamiaceae): an ecuadorian mint. *Economic Botany*, *48*(1), 60–64. <https://doi.org/10.1007/BF02901380>
- Álvarez, M. R., Meléndez, L. A., & Cosío, S. M. R. (2012). procedimientos para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas. <http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/1402>
- Asensio, C. M. (2013). Utilización de aceites esenciales de variedades de orégano como conservante antimicrobiano, antioxidante y de las propiedades sensoriales de alimentos: quesos cottage, ricota y aceite de oliva.
- Cabanillas Olivares, J. P. (2019). Efecto sinérgico del aceite esencial de *Corymbia citriodora* “eucalipto limón” y Fluconazol contra *Candida albicans*.
- Capecka, E., Mareczek, A., & Leja, M. (2005). Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae species. *Food Chemistry*, *93*(2), 223–226. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2004.09.020>
- Cedeño, A., Moreira, C., Muñoz, J., Muñoz, A., Pillasaguay, S., & Riera, M. A. (2019). Comparación de métodos de destilación para la obtención de aceite esencial de eucalipto. *Revista Colón Ciencias, Tecnología y Negocios*, *6*(1), 1–13. <https://doi.org/10.48204/NH>
- Chango, S. (2017). Proyecto de investigación. Cromatografía de Gases. (n.d.).
- De, G., & Montoya Cadavid V S V R”, J. (2010). aceites esenciales una alternativa de diversificación para el Eje Cafetero universidad nacional de Colombia manizal es] a l’l itad pl: cilinc las l’xac fas y nat1 ’ralls.
- Escobar, F. M., Sabini, M. C., Cariddi, L. N., Sabini, L. I., Mañas, F., Cristofolini, A., Bagnis, G., Gallucci, M. N., & Cavaglieri, L. R. (2015). Safety assessment of essential oil from

- Minthostachys verticillata* (Griseb.) Epling (peperina): 90-Days oral subchronic toxicity study in rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 71(1), 1–7.
<https://doi.org/10.1016/J.YRTPH.2014.11.001>
- Feo, V. De, Ricciardi, A. I., Biscardi, D., & Senatore, F. (2011). Chemical Composition and Antimicrobial Screening of the Essential Oil of *Minthostachys verticillata* (Griseb.) Epl. (Lamiaceae). [Http://Dx.Doi.Org/10.1080/10412905.1998.9700839](http://Dx.Doi.Org/10.1080/10412905.1998.9700839), 10(1), 61–65.
<https://doi.org/10.1080/10412905.1998.9700839>
- García Iturrioz, M. (2008). Guía de Aromaterapia La salud a través de los aceites esenciales.
www.elmundodelbienestar.es
- Gimena, C. (n.d.). Historia de las hierbas aromáticas, especiales y aceites esenciales.
- Gutiérrez, M. C., Droguet, M., Carmen, M., Bouzán, G., & En Química, D. (2002). LA cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor. n°, 122, 35.
- Horacio, S., Maldonado, G., Díaz Huacuz, R. S., & González Chavira, M. M. (2017). *Plantas medicinales la realidad de una tradición ancestral*.
- Juliani, H. R., Brunetti, P., & Koroch, A. R. (2021). *Minthostachys verticillata* (Griseb.) Epling. 367–378. https://doi.org/10.1007/978-3-030-62818-5_28
- Lafferty, F. (1969, January 1). interpretación de los espectros de masas | fred w. mac lafferty | Casa del Libro. <https://www.casadellibro.com/libro-interpretacion-de-los-espectros-de-masas/9788429173703/16377>
- Lottush. (2020, September 8). Características Importantes de los Aceites Esenciales.
<https://www.mylottush.com/blogs/news/caracteristicas-importantes-de-los-aceites-esenciales>
- Martínez, A. (2001). Aceites esenciales. 1.
- Medicinales Aromáticas, P. (2007). Boletín Latinoamericano y del Caribe de. 6(5), 270–271.
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85617508069>
- Meléndez, L. A., Manuel, S., & Cosío, R. (2012). Procedimientos para extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas. <http://www.cibnor.mx>

- Mena, P. (2002). Biodiversidad y estándares de plantas.
- Mettler, T. (2018). Medición del índice de refracción de grasas y aceites | AOAC 921.08.
<https://www.mt.com/es/es/home/library/applications/lab-analytical-instruments/refractive-index-of-oils-and-fats-aoac-92108.html>
- Mimica-Dukic, N., Bugarin, D., Grbovic, S., Mitic-Culafic, D., Vukovic-Gacic, B., Orcic, D., Jovin, E., & Couladis, M. (2010). Essential Oil of *Myrtus communis* L. as a Potential Antioxidant and Antimutagenic Agents. *Molecules* 2010, Vol. 15, Pages 2759-2770, 15(4), 2759–2770. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES15042759>
- Montironi, I. D., Cariddi, L. N., & Reinoso, E. B. (2016). Evaluation of the antimicrobial efficacy of *Minthostachys verticillata* essential oil and limonene against *Streptococcus uberis* strains isolated from bovine mastitis. *Revista Argentina de Microbiología*, 48(3), 210–216. <https://doi.org/10.1016/J.RAM.2016.04.005>
- Moscoso, A., Montúfar, R., & Tye, A. (2017). Libro Rojo de las plantas endémicas del Ecuador. Publicaciones Del Herbario QCA, Pontificia Universidad Católica Del Ecuador.
<https://bioweb.bio/floraweb/librorojo/ListaEspeciesPorFamilia/500244>
- Ochoa Pumaylle, K., Paredes Quiroz, L. R., Bejarano Luján, D. L., & Silva Paz, R. J. (2012). Extracción, caracterización y evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Senecio graveolens* Wedd (Wiskataya). *Scientia Agropecuaria*, ISSN-e 2077-9917, Vol. 3, N°. 4, 2012, Págs. 291-302, 3(4), 291–302.
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4104068&info=resumen&idioma=ENG>
- Opdyke, D. L. J. (1973). Monographs on Fragrance Raw Materials. *Food and Cosmetics Toxicology*, 11(4), 855–876. [https://doi.org/10.1016/S0015-6264\(73\)80370-0](https://doi.org/10.1016/S0015-6264(73)80370-0)
- Ortuño, M. (2006). Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes.
https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=cW5TsDKqx9wC&oi=fnd&pg=PA5&dq=pressado+aceite+esencial&ots=LoYVLTdAog&sig=HQuEI_39FMKHYhI0BZ5Os6VvuVw#v=onepage&q=pressado%20aceite%20esencial&f=false

- Páez, Á. (2013, March). Generalidades de los aceites esenciales. https://www.academia.edu/29012998/Unidad_1_Generalidades_de_los_aceites_esenciales_SENA
- Parrales, A., Reyes, M., & William, V. (2012). Cromatografía del Gas Natural.
- Pavan, M., & Barron R. (2022, October 29). 3.1: Principios de Cromatografía de Gases - LibreTexts Español. [https://espanol.libretexts.org/Quimica/Qu%C3%ADmica_Anal%C3%ADtica/M%C3%A9todos_F%C3%ADsicos_en_Qu%C3%ADmica_y_Nano_Ciencia_\(Barron\)/03%3A_Principios_de_Cromatograf%C3%ADa_de_Gases/3.01%3A_Principios_de_Cromatograf%C3%ADa_de_Gases](https://espanol.libretexts.org/Quimica/Qu%C3%ADmica_Anal%C3%ADtica/M%C3%A9todos_F%C3%ADsicos_en_Qu%C3%ADmica_y_Nano_Ciencia_(Barron)/03%3A_Principios_de_Cromatograf%C3%ADa_de_Gases/3.01%3A_Principios_de_Cromatograf%C3%ADa_de_Gases)
- Raja, R. R. (2012). Medicinally Potential Plants of Labiatae (Lamiaceae) Family: An Overview. *Research Journal of Medicinal Plant*, 6(3), 203–213. <https://doi.org/10.3923/RJMP.2012.203.213>
- Requejo, A. (2020). Aceites esenciales en sinergia. https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=k1ApEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT5&dq=principios+activos+aceite+esencial++historia&ots=jHE2d2oydM&sig=E_xTgvjB5bR-PCI2oyxvG-IFDrw#v=onepage&q=principios%20activos%20aceite%20esencial%20%20historia&f=false
- Roberts, J., & Caserio, C. (2022, October 29). 19.4: Pureza enantiomérica. [https://espanol.libretexts.org/Quimica/Qu%C3%ADmica_Org%C3%A1nica/Libro%3A_Principios_B%C3%A1sicos_de_Qu%C3%ADmica_Org%C3%A1nica_\(Roberts_y_Caserio\)/19%3A_M%C3%A1s_sobre_Estereoqu%C3%ADmica/19.04%3A_Pureza_enantiom%C3%A9rica](https://espanol.libretexts.org/Quimica/Qu%C3%ADmica_Org%C3%A1nica/Libro%3A_Principios_B%C3%A1sicos_de_Qu%C3%ADmica_Org%C3%A1nica_(Roberts_y_Caserio)/19%3A_M%C3%A1s_sobre_Estereoqu%C3%ADmica/19.04%3A_Pureza_enantiom%C3%A9rica)
- Ruiz, C., Díaz, C., & Rojas, R. (2015). Composición química de aceites esenciales de 10 plantas aromáticas peruanas. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 81(2), 81–94. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2015000200002&lng=es&nrm=iso&tlng=es

- Sánchez-Tito, M. A., Cartagena-Cutipa, R., & Collantes-Díaz, I. (2021). Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Griseb) L. frente a *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*. *Rev. Cuba. Invest. Bioméd.*
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002021000400004&lng=en&nrm=iso&tlng=en
- Savage, A. (2004). Análisis y caracterización de polímeros por degradación térmica empleando la técnica de cromatografía de gases.
<https://ciqa.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1025/349>
- Scalvenzi, L., Yaguache-Camacho, B., Cabrera-Martínez, P., & Guerrini, A. (2016). actividad Antifúngica in vitro de aceites esenciales de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. Y *Piper aduncum* L. *Bioagro*, 28(1), 39–46.
- Silva, P. H. da, Oliveira, Y. R., & Abreu, M. C. de. (2017). Uma abordagem etnobotânica acerca das plantas úteis cultivadas em quintais em uma comunidade rural do semiárido piauiense, Nordeste do Brasil. *Journal of Environmental Analysis and Progress*, 2(2), 144–159. <https://doi.org/10.24221/JEAP.2.2.2017.1175.144-159>
- Silva, R., Mendoza, M., Eccoña, A., & Della, P. (2022). Secado de hojas de muña (*Minthostachys mollis*): modelado, cinética y propiedades termodinámicas (Dried muña leaves (*Minthostachys mollis*): Modeling, kinetics and thermodynamic properties). 4, 60–74. <https://doi.org/10.29019/enfoqueute.827>
- Soliz, G., Fernández, Á., Padilla, C., Soliz, G., Fernández, A., & Padilla, C. (2014). Elaboración de perfumes.
- Tisserand, R., & Young, R. (2014). Introduction. *Essential Oil Safety*, 1–3. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-06241-4.00001-1>
- Usano-Aleman, J., Paúl, J. P., & Díaz, S. (2014). Aceites esenciales: conceptos básicos y actividad antibacteriana. *Reduca (Biología)*, 7(2), 60–70.
<http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/1553>
- Vásconez, P. (2021). La biodiversidad del Ecuador. *La Biodiversidad Del Ecuador*, 1.

Zygodlo, J. A., Maestri, D. M., Lamarque, A. L., Guzmán, C. A., Velasco-Negueruela, A., Pérez-Alonso, M. J., García-Vallejos, M. C., & Grosso, N. R. (1996). Essential oil variability of *Minthostachys verticillata*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 24(4), 319–323. [https://doi.org/10.1016/0305-1978\(96\)00030-0](https://doi.org/10.1016/0305-1978(96)00030-0)

Apéndice

Apéndice A. Determinación del rendimiento.

Para obtener el porcentaje del rendimiento %R del aceite esencial de horchata se relaciona el volumen de aceite esencial obtenido en cada destilación, con el peso del material vegetal a destilar, utilizando la siguiente ecuación:

$$\%R = \frac{V(mL)}{P(gr)} \times 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

% R: es el porcentaje de rendimiento.

V: volumen del aceite esencia extraído en mL.

P: peso de la materia vegetal utilizada en la destilación expresada en gr.

Apéndice B. Determinación de la densidad relativa a 20°C.

Según la norma AFNOR NF T 75-111 1982

Propuesta:

La presente norma esta basada en la norma ISO 279-1981 por la Organización Internacional de Normalización.

Objetivo de la aplicación:

La presente norma especifica el método referido a la determinación de la densidad relativa a 20°C de los aceites esenciales.

Referencias:

NF T 75-003 Aceites esenciales- Reglas generales para su preparación.

NF T 75-110 Aceites esenciales- Preparación de la muestra previo a su análisis.

Principio:

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

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

Aparatos:

Picnómetro vacío.

Baño termostático, manteniendo a una temperatura de 20°C +/- 0.2°C.

Termómetro de precisión graduado de 10 a 30°C, con una variación de 0.2°C a 0.1°C.

Balanza analítica.

Procedimiento:

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

sitio con 1mg de precisión.

Peso del agua destilada: Llenar el picnómetro con agua recién destilada, que este a una temperatura de 20°C. Coloque el picnómetro en baño termostático. Durante 30 minutos ajustar el nivel del agua hasta la marca, poner el tapón del picnómetro en su sitio, secar el exterior del picnómetro con un trapo seco o papel filtro. Cuando se equilibre la temperatura con el cuarto de balanza, pesar el picnómetro lleno con el tapón en su sitio con un mg de precisión lleno igual que en el caso anterior.

Peso del aceite esencial: Vaciar el picnómetro, luego enjuagar y secar como en ele inicio. Efectuar las mismas operaciones solo que en esta vez será con aceite esencial en lugar de agua.

Expresión de resultados:

$$d \frac{20}{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \quad (\text{Ecuación 2})$$

Donde:

$d \frac{20}{20}$ = Densidad relativa a 20°C, referido al agua a 20°C.

m_0 : masa en gramos del picnómetro vacío.

m_1 : masa en gramos del picnómetro con agua.

m_2 : masa en gramos del picnómetro con aceite esencial.

Se expresan los resultados con cuatro decimales.

Apéndice C. Determinación del índice de refracción.

Según la AFNOR NF T 75-112/1988

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

Definición:

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

La longitud de onda específica es (589.3 ± 0.3) , correspondiente a la radiación D1 y D2 del espectro de sodio.

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

Aparatos:

Refractómetro: utilice un refractómetro clásico que permita la lectura de los índices de refracción entre 1.300 y 1.700 o con una precisión de ± 0.0002 .

Ajuste el aparato de manera que, a una temperatura de 20°C , se tengan los siguientes índices de refracción según:

- 1.3330 para agua destilada.
- 1.4906 para el p-cimeno.
- 1.5685 para el benzoato de bencilo.
- 1.6585 para el 1-bromo naftaleno.

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

Modo de operación:

Determinación:

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

Antes de poner la muestra en el instrumento, llevarla a una temperatura igual a la que se realizara la medida. Para efectuar la lectura esperar que la temperatura sea estable.

Resultados:

Cálculos. El índice de refracción a la temperatura de referencia esta dado por la ecuación.

$$n^t D - n^t D + 0.004 (t' - t) \quad (\text{Ecuación 3})$$

Donde:

n^tD: valor de la lectura, obtenida a la temperatura t, o aquella a la que se ha efectuado la determinación.

F: factor de corrección (0.0004).

t': temperatura a la que se efectuó la lectura.

t: temperatura a 20°C.

Nota:

Expresar los resultado con cuatro cifras decimales. La precisión de la determinación es de ± 0.0002 .

Apéndice D. Determinación de la actividad óptica.

Según la norma ISO 592-1998

Principio:

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

Definiciones:

Rotación óptica de un aceite esencial: $\alpha^{\circ}D$

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

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

Rotación de un aceite esencial en solución (rotación específica α).

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

Reactivos:

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

Solvente:

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

Aparatos:

Polarímetro: con una precisión no menor de $\pm 0.5 \text{ mrad}$ ($\pm 0.03^{\circ}$) y ajustado de 0° a 180° con agua. El polarímetro constara de un plato de cuarzo de rotación óptica conocida, si esto es inaccesible, con una solución acuosa con un contenido de 36g de sacarosa anhidrida

pura por 100mL de solución. La rotación óptica de una solución es de ± 604 mrad en 200mm de pasta a una temperatura de 20°C. El instrumento deberá ser usado en la oscuridad.

La fuente de luz: comprende un dispositivo a una longitud de onda de $589.3\text{nm} \pm 0.5\text{nm}$ con una lámpara de vapor de sodio.

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

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

Procedimiento:

Es necesario mantener la temperatura de la muestra a $20^\circ\text{C} \pm 0.2^\circ\text{C}$ o especificar la temperatura para la muestra que va en el tubo polarímetro apropiado. Mantener el agua que esta circulando con un control termostático, mantener la temperatura específica durante la determinación. Llenar el tubo con la muestra y asegurarse de la ausencia de burbujas. Coloque el tubo en el polarímetro y lea la dextro rotación (+) o la levo rotación (-) del aceite que en la escala muestra el instrumento.

Resultados:

Cálculos y formulas.

La rotación óptica expresada en mili radianes o en grados del ángulo esta dada por la siguiente ecuación:

$$\alpha'D = \frac{A}{l} \times 100 \quad (\text{Ecuación 4})$$

Donde:

A: es el valor del ángulo de rotación en mrad o grados del ángulo

l: es la longitud del tubo usado en mm.

Marque como (+) la rotación hacia la derecha en el sentido de las manecillas del reloj

Marque como (+) la rotación hacia la derecha en el sentido de las manecillas del reloj y como (-), en el sentido contrario a las manecillas del reloj. Cuando por los tubos de la pared gruesa la circulación de agua no es correcta, es necesario aplicar factores de corrección apropiadas o de acuerdo con el aceite ensayado (para aceites esenciales de cítricos y para otros se conocen factores de corrección específicos).

Nota: los factores de corrección deberían ser dados en las especificaciones para cada aceite.

Rotación óptica de un aceite en solución "Rotación específica".

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

$$[\alpha] = \alpha' \frac{D}{C} \quad (\text{Ecuación 5}).$$

Donde:

$\alpha'D$: es la rotación óptica del aceite en solución "Rotación específica".

C: concentración de la solución del aceite, en gramos de aceite por mL de solución.

Con el valor de la actividad óptica leída en el equipo se obtiene la actividad óptica calculada aplicando la siguiente formula:

$$\alpha = \left(\frac{\alpha l}{l * c} \right) - \alpha s \quad (\text{Ecuación 6}).$$

Donde:

α : actividad óptica calculada

αl : actividad óptica leída

l : dimensión del tubo (dm)=1

αs : actividad óptica del solvente = 0.00 0 Z

c: concentración muestra (g/mL).

Apéndice E. Determinación del índice de retención con la ecuación de Van den Dool and Kratss

Para calcular los índices de retención se hizo la comparación de los tiempos de retención, de los hidrocarburos tomados como referencia, con el tiempo de retención de los picos que eluyeron en el análisis del aceite esencial, utilizando la siguiente fórmula.

$$AI = 100n + 100x \frac{t_{RX} - t_{Rn}}{t_{RN} - t_{Rn}} \quad (\text{Ecuación 7}).$$

Donde:

AI: índice de retención obtenido con la ecuación de Van den Dool and Kratz.

n: número de átomos de carbono en n-alcano.

t_{RX}: tiempo de retención del compuesto analizado, que eluye en el centro de n-alcanos.

t_{Rn}: tiempo de retención n-alcano que eluye antes del compuesto analizado.

t_{RN}: tiempo de retención de n-alcano que eluye después del compuesto analizado.

Apéndice F. Determinación del exceso enantiomérico.

Para la determinación del exceso enantiomérico es necesario relacionar la distribución enantiomérica, resultado de la fórmula que se muestra a continuación.

$$ee(\%) = \frac{[R] - [S]}{[R] + [S]} * 100 \quad \text{Ecuación 8.}$$

ee (%): Exceso enantiomérico

R: Enantiómero (+)

S: Enantiómero (-)