

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS, FISICAS Y MATEMATICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE QUÍMICA



TESIS

**COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL
ACEITE ESENCIAL DE *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A.
Granda**

PRESENTADO POR:

Br. IVONNE PUMA HUAMAN

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUIMICO**

ASESOR:

Mg. CIRO TOMAYLLA CRUZ

CUSCO – PERÚ

2026



Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

INFORME DE SIMILITUD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-321-2025-UNSAAC)

El que suscribe, el **Asesor CIRO TOMAYLLA CRUZ** quien aplica el software de detección de similitud al trabajo de investigación/tesis titulada: **COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda** Presentado por: **IVONNE PUMA HUAMAN** DNI N° **72559144**.

Para optar el título Profesional/Grado Académico de **QUIMICO**. Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por **3** veces, mediante el Software de Similitud, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso del Sistema Detección de Similitud en la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de **9 %**.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No sobrepasa el porcentaje aceptado de similitud.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las subsanaciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, conforme al reglamento, quien a su vez eleva el informe al Vicerrectorado de Investigación para que tome las acciones correspondientes; Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de Asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y **adjunto** las primeras páginas del reporte del Sistema de Detección de Similitud.

Cusco, 14 de agosto de 2026


Firma

Ciro Tomaylla Cruz

Nro. de DNI 40809688

ORCID del Asesor 0000-0001-6921-1250

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema de Detección de Similitud: **oid: 27259:613696599**

IVONNE PUMA HUAMAN

COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley ...

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::27259:613696599

Fecha de entrega

11 ago 2026, 7:57 a.m. GMT-5

Fecha de descarga

11 ago 2026, 8:14 a.m. GMT-5

Nombre del archivo

tesis ivonne puma 14 d (1).pdf

Tamaño del archivo

4.5 MB

133 páginas

23.730 palabras

149.556 caracteres

9% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Exclusiones

- N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- 6%  Fuentes de Internet
- 2%  Publicaciones
- 7%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alerta de integridad para revisión

-  **Texto oculto**
34 caracteres sospechosos en N.º de páginas
El texto es alterado para mezclarse con el fondo blanco del documento.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

DEDICATORIA

*Para las jóvenes que eligen la ciencia como camino. Que este trabajo sea una pequeña
inspiración para seguir adelante y alcanzar sus sueños.*

AGRADECIMIENTOS

Agradezco, en primer lugar, a Dios, por haberme brindado la fortaleza, sabiduría y perseverancia necesarias para culminar esta etapa de mi formación profesional.

A mis padres, por su amor incondicional, sus sacrificios, enseñanzas y apoyo constante. Gracias por confiar siempre en mí, por alentarme a seguir adelante en los momentos difíciles y por acompañarme durante todo este camino. A mi hermana, por su cariño, comprensión y apoyo. A ustedes, mi familia, les debo gran parte de este logro.

A mi asesor, por su invaluable guía, paciencia y confianza en mi trabajo. Su experiencia y dedicación fueron claves en la realización de esta tesis, y su apoyo en momentos de duda me ayudó a seguir adelante.

Asimismo, a mis docentes de la carrera de Química, quienes con su enseñanza, amabilidad y compromiso despertaron en mí la pasión por la ciencia. Cada uno dejó una huella significativa en mi formación profesional y personal, inspirándome a seguir creciendo con disciplina y curiosidad.

A la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, por permitirme el acceso a sus instalaciones y por brindar los recursos necesarios para llevar a cabo esta investigación.

Finalmente, agradezco a mis amigos, por su compañía, ánimo y palabras de motivación durante este proceso.

Índice General

DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
ÍNDICE GENERAL.....	IV
LISTA DE TABLAS.....	VII
LISTA DE FIGURAS	VIII
LISTA DE ANEXOS	X
LISTA DE ABREVIATURAS	XI
RESUMEN	XII
ABSTRACT.....	XIII
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I.....	2
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
1.1. SITUACIÓN PROBLEMÁTICA	2
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	4
1.2.1. Problema General	4
1.2.2. Problemas Específicos.....	4
1.3. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	4
1.4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	6
1.4.1. Objetivo General	6
1.4.2. Objetivos Específicos	6
1.5. HIPÓTESIS.....	7
1.5.1. Hipótesis General	7
1.5.2. Hipótesis Específicas.....	7
CAPÍTULO II	8
MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL.....	8
2.1. ANTECEDENTES	8

2.2. BASES TEÓRICAS	15
2.2.1. <i>Clinopodium Brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda	15
2.2.2. Aceite esencial.....	18
2.2.3. Métodos de extracción de los aceites esenciales	26
2.2.4. Densidad.....	30
2.2.5. Solubilidad.....	31
2.2.6. Índice de refracción	33
2.2.7. Índice de acidez	34
2.2.8. Rotación óptica.....	36
2.2.9. Cromatografía de gases acoplado a Espectrometría de masas (GC-MS)	37
2.2.10. Capacidad Antioxidante con el método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)	39
2.3. IDENTIFICACIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	45
CAPÍTULO III	46
METODOLOGÍA	46
3.1. ÁMBITO DE ESTUDIO	46
3.2. TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN.....	47
3.3. UNIDAD DE ANÁLISIS Y POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	47
3.4. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS.....	47
3.4.1. Selección de la materia prima vegetal del <i>Clinopodium brevicalyx</i>	49
3.4.2. Extracción por Hidrodestilación con trampa de Clevenger.....	51
3.4.3. Caracterización fisicoquímica del AE de <i>Clinopodium brevicalyx</i>	52
3.4.4. Análisis de Composición Química por Cromatografía de Gases Acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS)	61
3.4.5. Evaluación de la capacidad antioxidante.....	63
CAPÍTULO IV	65
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	65
4.1. PORCENTAJE DE EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL	65
4.2. PRUEBAS DE SOLUBILIDAD DEL ACEITE ESENCIAL <i>CLINOPODIUM BREVICALLYX</i>	69
4.3. CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DEL AE DE <i>CLINOPODIUM BREVICALLYX</i>	72
4.4. PERFIL CROMATOGRÁFICO DEL AE DE <i>CLINOPODIUM BREVICALLYX</i>	74
4.5. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL AE DE <i>CLINOPODIUM BREVICALLYX</i>	75
4.6. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	84

CONCLUSIONES.....	93
SUGERENCIAS	94
BIBLIOGRAFIA.....	95
ANEXOS	105
ANEXO 1. MATRIZ DE CONSISTENCIA	105
ANEXO 2. OPERALIZACIÓN DE VARIABLES.....	107
ANEXO 3. CERTIFICADO DE DETERMINACIÓN TAXONÓMICA	108
ANEXO 4. OTROS ANEXOS RELEVANTES (FOTOS DE LA MUESTRA).....	109

Lista de Tablas

Tabla 1.	Rangos de Capacidad Antioxidante por el método TEAC- DPPH.....	43
Tabla 2.	Rendimiento de extracción del aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i> según volumen de AE obtenido por balón.....	65
Tabla 3.	Solubilidad del AE de <i>Clinopodium brevicalyx</i>	69
Tabla 4.	Características físicas y fisicoquímicas del AE de <i>Clinopodium brevicalyx</i>	72
Tabla 5.	Composición y concentración (%) del AE de <i>Clinopodium brevicalyx</i>	75
Tabla 6.	Variación de la absorbancia y porcentaje de inhibición del radical DPPH en presencia del AE	86
Tabla 7.	Variación de la absorbancia y porcentaje de inhibición del radical DPPH en presencia de Trolox	89

Lista de Figuras

Figura 1.	Planta <i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda	17
Figura 2.	Las esencias de las plantas.....	19
Figura 3.	Geraniol a partir de dos isoprenos.....	20
Figura 4.	Estructuras moleculares de monoterpenos	21
Figura 5.	Estructuras de sesquiterpenos	22
Figura 6.	Equipo de hidrodestilación con Clevenger para la extracción del aceite esencial....	29
Figura 7.	Estructura química de radical libre más estable DPPH	40
Figura 8.	DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante	41
Figura 9.	Estructura química del Trolox	44
Figura 10.	Localización Geográfica del <i>Clinopodium Brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda	46
Figura 11.	Diagrama de flujo de selección de la materia prima vegetal del <i>Clinopodium brevicalyx</i>	50
Figura 12.	Diagrama de flujo de la extracción del aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i> mediante hidrodestilación por arrastre de vapor utilizando un sistema tipo Clevenger.	52
Figura 13.	Diagrama de flujo de la prueba de solubilidad del aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i>	54
Figura 14.	Diagrama de flujo para la determinación de la densidad del aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i>	56
Figura 15.	Diagrama de flujo para la determinación del índice de refracción del aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i>	57
Figura 16.	Diagrama de flujo para la determinación del índice de acidez del aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i>	59

Figura 17.	Diagrama de flujo para la determinación de la rotación óptica del aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i>	60
Figura 18.	Diagrama de flujo del procedimiento para la determinación de la composición química por Cromatografía de Gases Acoplada a Espectrometría de Masas	62
Figura 19.	Diagrama de flujo del procedimiento para la determinación de la evaluación de la capacidad antioxidante	64
Figura 20.	Determinación de la densidad.....	112
Figura 21.	Solventes para determinar la solubilidad.....	113
Figura 22.	Prueba de solubilidad del AE.....	113
Figura 23.	Refractómetro la determinación del índice de refracción	114
Figura 24.	Lectura de refracción del AE	114
Figura 25.	Preparación de la muestra para la determinación del índice de saponificación.....	115
Figura 26.	Saponificación del AE	115
Figura 27.	Titulación del AE	116
Figura 28.	Preparación y titulación de la muestra para la determinación del índice de acidez	116
Figura 29.	Calibración del polarímetro y muestra en la celda polarimétrica.....	117
Figura 30.	Lectura de rotación óptica del AE.....	117
Figura 31.	Equipo de Cromatografía de Gases/Masas.....	118
Figura 32.	Aceite esencial en vial con heptano	118
Figura 33.	Estándar de Trolox y preparación de solución de DPPH.....	119
Figura 34.	Solución de DPPH.....	119
Figura 35.	Preparación y lectura de Absorbancias de Trolox y AE	120

Lista de Anexos

Anexo 1.	Matriz de consistencia	105
Anexo 2.	Operalización de Variables.....	107
Anexo 3.	Certificado de determinación taxonómica.....	108
Anexo 4.	Otros anexos relevantes (fotos de la muestra).....	109

Lista de Abreviaturas

Abreviatura	Significado
AE	Aceite Esencial
GC-MS	Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
TEAC	Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox
IC50	Concentración Inhibitoria Media
UV-Vis	Espectrofotometría Ultravioleta-Visible
RT	Tiempo de Retención
m/z	Relación masa-carga
NI	No Identificado
NIST 11	National Institute of Standards and Technology, versión 11 de la base de datos de espectros de masas.
TE	Transferencia de Electrón
TAH	Transferencia de Átomo de Hidrógeno
TEAC	Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox
ORAC	Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno

Resumen

El presente estudio caracterizó las propiedades fisicoquímicas, la composición química y la capacidad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda, recolectado en la región de Cusco, Perú. La extracción se realizó mediante hidrodestilación con trampa de Clevenger, empleando masas variables de material vegetal fresco, obteniéndose volúmenes de aceite esencial entre 0,100 y 0,250 mL por balón. El rendimiento promedio fue de $0,055 \pm 0,026$ %, evidenciando variabilidad en el proceso de extracción.

El aceite esencial presentó una densidad de 0,9324 g/mL, índice de refracción de 1,715, índice de acidez de 1,4817 mg KOH/g y rotación óptica de $-0,143^\circ$. El análisis mediante Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS) reveló una composición dominada por trans-cariofileno (18,69%), γ -elemeno (16,41%), germacreno-D (14,80%) y carvacrol (11,71%), compuestos característicos de especies de la familia Lamiaceae.

La capacidad antioxidante, evaluada mediante el método DPPH, presentó un IC_{50} de 0,3734 mg/mL y un TEAC de 1,3835 μ mol Trolox/g AE, evidenciando actividad antioxidante moderada frente al estándar Trolox. Estos resultados indican que *Clinopodium brevicalyx* constituye una fuente potencial de compuestos bioactivos con aplicaciones cosméticas, alimentarias y farmacéuticas.

Palabras clave: *Clinopodium brevicalyx*, Aceite esencial, Capacidad antioxidante, TEAC, Composición química.

Abstract

The present study characterized the physicochemical properties, chemical composition, and antioxidant capacity of the essential oil from *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda, collected in the Cusco region, Peru. The extraction was performed by hydrodistillation using a Clevenger-type apparatus, with variable amounts of fresh plant material, yielding essential oil volumes ranging from 0,100 to 0,250 mL per flask. The average yield was $0,055 \pm 0,026\%$, indicating variability in the extraction process.

The essential oil exhibited a density of 0,9324 g/mL, a refractive index of 1.715, an acid value of 1,4817 mg KOH/g, and an optical rotation of $-0,143^\circ$. Gas Chromatography coupled with Mass Spectrometry (GC-MS) analysis revealed a composition dominated by trans-caryophyllene (18,69%), γ -elemene (16,41%), germacrene-D (14,80%), and carvacrol (11,71%), compounds characteristic of species belonging to the Lamiaceae family.

The antioxidant capacity, evaluated using the DPPH method, showed an IC_{50} of 0,3734 mg/mL and a TEAC value of 1,3835 μ mol Trolox/g EO, indicating moderate antioxidant activity compared with the Trolox standard. These results indicate that *Clinopodium brevicalyx* is a potential source of bioactive compounds with applications in the cosmetic, food, and pharmaceutical industries.

Keywords: *Clinopodium brevicalyx*, Essential oil, Antioxidant capacity, TEAC, Chemical composition.

Introducción

Desde tiempos ancestrales, las plantas medicinales han sido empleadas por diversas culturas como recursos fundamentales para la prevención y tratamiento de enfermedades, constituyendo un pilar esencial de la medicina tradicional. En el Perú, reconocido como uno de los países con mayor biodiversidad a nivel mundial, este conocimiento ha sido transmitido de generación en generación, preservando saberes valiosos sobre el uso terapéutico de especies vegetales nativas. Entre ellas destaca *Clinopodium brevicalyx*, conocida localmente como “urqu muña”, una planta endémica de los Andes del sur, particularmente de la región Cusco, que pertenece a la familia Lamiaceae y se desarrolla en altitudes comprendidas entre los 3 800 y 5 100 m s.n.m.

A pesar de su tamaño reducido, *Clinopodium brevicalyx* presenta importantes propiedades medicinales. En la medicina tradicional andina, su uso más frecuente es en forma de infusión para el tratamiento de afecciones respiratorias, digestivas y hepáticas, así como en el control del peso corporal. No obstante, la evidencia científica que respalde estos usos aún es limitada, lo que pone de manifiesto la necesidad de profundizar en el estudio de sus compuestos bioactivos y sus posibles efectos farmacológicos. Investigaciones preliminares sugieren la presencia de metabolitos secundarios con actividad antioxidante, antiinflamatoria y hepatoprotectora; sin embargo, es necesario avanzar en su caracterización y en la evaluación de su potencial aplicación.

En este contexto, la presente investigación tuvo como objetivo determinar las características fisicoquímicas y la capacidad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx*. Este estudio busca no solo aportar evidencia científica que respalde su uso tradicional, sino también explorar su potencial aplicación en las industrias farmacéutica y nutracéutica, contribuyendo así al aprovechamiento sostenible de la biodiversidad y al bienestar de las comunidades.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Situación problemática

En el campo de la química de productos naturales, los aceites esenciales constituyen sistemas multicomponentes complejos formados principalmente por monoterpenos, sesquiterpenos y compuestos oxigenados, cuya composición cualitativa y cuantitativa determina sus propiedades fisicoquímicas y funcionales. La variabilidad composicional de estos aceites está influenciada por factores como la especie vegetal, el origen geográfico, las condiciones ambientales, el estado fenológico y el método de extracción, lo que hace indispensable su caracterización química específica.

Dentro de este contexto, *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda, conocida comúnmente como salja muña, es una especie perteneciente a la familia Lamiaceae y nativa de la región andina del Perú, utilizada tradicionalmente con fines medicinales. Si bien existen estudios previos sobre esta especie y especies afines del género *Clinopodium*, estos han sido realizados en diferentes zonas geográficas y bajo condiciones de recolección distintas, por lo que la composición química de su aceite esencial puede presentar variaciones importantes. En ese sentido, resulta necesario ampliar la información química disponible sobre el aceite esencial de salja procedente de la zona de estudio, especialmente en relación con la identificación y cuantificación de sus compuestos volátiles mediante técnicas instrumentales avanzadas.

La información limitada sobre la composición química del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* recolectado en determinadas zonas altoandinas dificulta la comprensión de sus propiedades fisicoquímicas y la comparación de su perfil químico con reportes previos. Asimismo, limita la posibilidad de establecer relaciones entre sus compuestos mayoritarios y su actividad funcional. En especial, la capacidad antioxidante, entendida desde el punto de vista químico como la capacidad de ciertas moléculas para donar electrones o átomos de hidrógeno y

estabilizar radicales libres, depende directamente de la estructura molecular y de la presencia de grupos funcionales específicos, como grupos fenólicos, dobles enlaces conjugados y otros sistemas insaturados presentes en diversos metabolitos volátiles.

Asimismo, se ha reportado que aceites esenciales con perfiles químicos similares dentro del género *Clinopodium* pueden presentar variaciones significativas en su capacidad antioxidante, lo cual evidencia la necesidad de estudios específicos que permitan establecer relaciones entre la composición química y la actividad antioxidante. No obstante, para *Clinopodium brevicalyx* aún son limitados los estudios que correlacionan de manera sistemática el perfil cromatográfico del aceite esencial con su capacidad antioxidante evaluada mediante métodos estandarizados, como el método DPPH, especialmente considerando muestras procedentes de zonas específicas de la región andina del Perú.

En consecuencia, se plantea como problema científico la necesidad de ampliar y precisar la información química sobre la composición del aceite esencial de salja (*Clinopodium brevicalyx*) y su relación con la capacidad antioxidante. Esto sustenta la realización de una investigación orientada a su caracterización química mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), así como a la evaluación cuantitativa de su capacidad antioxidante, contribuyendo de este modo al conocimiento químico de esta especie vegetal y a la comparación de su perfil con estudios realizados en otras zonas geográficas.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema General

¿Cuál es la composición química y la capacidad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda?

1.2.2. Problemas Específicos

¿Cuál es el porcentaje de rendimiento del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda obtenido mediante hidrodestilación?

¿Cuáles son las propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda?

¿Qué compuestos predominan en el aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda?

¿Cuál es la capacidad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda según el método DPPH?

1.3. Justificación de la investigación

El presente estudio se justifica desde el punto de vista químico por la necesidad de generar información científica confiable sobre la composición química y el comportamiento antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda, una especie vegetal nativa de la región andina del Perú cuyo aceite esencial ha sido escasamente caracterizado.

Desde la química de productos naturales, los aceites esenciales constituyen mezclas complejas de metabolitos secundarios, principalmente monoterpenos, sesquiterpenos y compuestos oxigenados, cuya naturaleza química, estructura molecular y proporción relativa

determinan sus propiedades fisicoquímicas y su actividad biológica. Sin embargo, la variabilidad en la composición química de los aceites esenciales depende de múltiples factores, como la especie vegetal, el origen geográfico, las condiciones ambientales y el método de extracción, lo que hace indispensable su caracterización específica mediante técnicas analíticas adecuadas.

La identificación cualitativa y cuantitativa de los componentes del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* mediante Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS) permitirá establecer su perfil químico característico y comparar su composición con la de otras especies del género *Clinopodium* y de la familia Lamiaceae. Este análisis es fundamental para comprender la presencia de compuestos funcionales y su contribución a las propiedades del aceite esencial.

Asimismo, la evaluación de la capacidad antioxidante del aceite esencial mediante el método DPPH proporciona información cuantitativa sobre su capacidad para donar electrones o átomos de hidrógeno y neutralizar radicales libres, un proceso directamente relacionado con la estructura química de los compuestos presentes, especialmente aquellos con grupos funcionales fenólicos y dobles enlaces conjugados. La correlación entre la composición química y la capacidad antioxidante constituye un aspecto clave desde el enfoque químico, ya que permite relacionar estructura y función.

En este sentido, la investigación contribuye al conocimiento químico de los aceites esenciales de especies nativas poco estudiadas, fortaleciendo el campo de la química de productos naturales y proporcionando bases científicas para futuras aplicaciones tecnológicas. Además, los resultados obtenidos podrán servir como referencia para estudios posteriores orientados a la estandarización, control de calidad y evaluación funcional del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx*.

1.4. Objetivos de la investigación

1.4.1. Objetivo General

Evaluar la composición química y la capacidad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) y el método DPPH.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Determinar el porcentaje de rendimiento del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda.
- Analizar las propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda.
- Caracterizar la composición química del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda por Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas (GC-MS).
- Evaluar capacidad antioxidante por el método de DPPH del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda.

1.5. Hipótesis

1.5.1. Hipótesis General

- El aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda presenta una composición química variada con capacidad antioxidante significativa.

1.5.2. Hipótesis Específicas

- El aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda presenta un porcentaje de rendimiento moderado, característico de especies aromáticas altoandinas de la familia Lamiaceae.
- El aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda presenta propiedades fisicoquímicas características de aceites esenciales ricos en compuestos terpénicos.
- La composición química del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda, determinada por Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas (GC-MS) es abundante en sesquiterpenos y compuestos fenólicos.
- La capacidad antioxidante por el método de DPPH del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda, es muy significativa.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL

2.1. Antecedentes

Serrano et al. (2020) evaluaron algunos componentes fitoquímicos y la actividad antioxidante en trece especies peruanas de la tribu *Mentheae*, familia *Lamiaceae*, entre ellas *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda. El objetivo del estudio fue determinar el contenido de fenoles totales, flavonoides totales, ácidos hidroxicinnámicos totales, capacidad antioxidante total y los porcentajes de ácido oleanólico, ácido ursólico y ácido rosmarínico en especies peruanas de *Mentheae*. La metodología empleó métodos espectrofotométricos para la cuantificación de metabolitos fenólicos y capacidad antioxidante, además de cromatografía UHPLC para la determinación de ácidos triterpénicos y ácido rosmarínico. Los principales resultados para *Clinopodium brevicalyx* mostraron $30,14 \pm 0,40$ $\mu\text{g AG}/100$ μg de extracto etanólico en fenoles totales, $12,07 \pm 0,13$ $\mu\text{g Qu}/100$ μg de extracto etanólico en flavonoides totales, $14,35 \pm 0,88$ $\mu\text{g AR}/100$ μg de extracto etanólico en ácidos hidroxicinnámicos totales y una actividad antioxidante de $13,69 \pm 0,67$ $\mu\text{g vitamina C}/100$ μg de extracto etanólico. Asimismo, reportaron 0,38% de ácido oleanólico, 0,77% de ácido ursólico y $1,12 \pm 0,02\%$ de ácido rosmarínico. Se concluyó que *Clinopodium brevicalyx* destaca principalmente por su contenido de flavonoides, metabolitos asociados con propiedades antioxidantes. Este antecedente resulta relevante porque evidencia el potencial fitoquímico y antioxidante de la especie; sin embargo, al haberse trabajado con extractos etanólicos, la presente investigación complementa dicha información al evaluar específicamente el aceite esencial, su composición química mediante GC-MS y su capacidad antioxidante por el método DPPH.

Nieve (2018) realizó el estudio titulado “Evaluación de las propiedades fisicoquímicas y sensoriales durante el proceso de extracción del aceite esencial del Runtuwayra (*Clinopodium weberbaueri*)”. El objetivo fue evaluar el efecto del tiempo de extracción sobre las características fisicoquímicas, sensoriales y la composición química del aceite esencial. La metodología consistió en obtener el aceite esencial mediante destilación por arrastre de vapor de agua, empleando material vegetal recolectado entre los 2800 y 3000 m s. n. m.; las extracciones se realizaron a diferentes tiempos de 5, 10, 15, 20 y 25 minutos. Además, se determinaron parámetros fisicoquímicos como densidad, índice de refracción, índice de acidez e índice de saponificación, y la composición química fue analizada por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Los principales resultados reportaron una densidad de 0,886 g/mL, índice de refracción de 1,537 y la identificación de pulegona, mentol y mentona como compuestos mayoritarios. Se concluyó que el mayor rendimiento y aceptación sensorial se obtuvo en los primeros minutos de extracción, mientras que el incremento del tiempo puede afectar negativamente la calidad del aceite esencial. Este antecedente es importante porque permite comparar propiedades fisicoquímicas y composición química entre especies del género *Clinopodium*.

Céspedes (2016) evaluó la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de hojas de *Clinopodium breviflorum* (Benth.) Govaerts, recolectadas en la región de Tarma, Perú. El objetivo fue determinar la presencia de metabolitos secundarios y evaluar la capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de la especie. La metodología incluyó la identificación taxonómica en el Herbario San Marcos de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el análisis fitoquímico preliminar y la evaluación de la actividad antioxidante mediante el método DPPH. Los principales resultados evidenciaron la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides y taninos; además, el extracto hidroalcohólico presentó un rendimiento de 14,5% y un contenido de sustancias solubles de 28,84%. En la prueba DPPH, a una concentración de 100 µg/mL, el extracto mostró una captación de radicales libres de 96,6%, con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Se concluyó que *Clinopodium breviflorum* posee compuestos bioactivos

con alta capacidad antioxidante, especialmente asociados a la presencia de metabolitos fenólicos. Este antecedente resulta útil porque demuestra la actividad antioxidante en otra especie del género *Clinopodium*.

Caguana (2017) estudió el potencial agroindustrial de *Clinopodium nubigenum* “sunfo” y *Anethum graveolens* “eneldo”. El objetivo fue promover la industrialización de estas especies a partir del análisis de sus componentes fisicoquímicos, usos tradicionales y potencial funcional. La metodología incluyó la recolección de información mediante encuestas en la comunidad de Planchaloma, Ecuador, así como análisis fisicoquímicos realizados en laboratorio. Los principales resultados mostraron que *Clinopodium nubigenum* presentó 6,97% de cenizas, 4,12% de proteínas, 64,7% de humedad, 7,06% de fibra cruda, 16,7% de carbohidratos y un contenido energético de 365 kJ/100 g. Además, se identificó su uso tradicional en infusiones y aplicaciones medicinales. Se concluyó que *Clinopodium nubigenum* posee potencial agroindustrial, especialmente para la elaboración de productos derivados como infusiones y aceites esenciales. Este antecedente es relevante porque evidencia el valor funcional y tecnológico de especies del género *Clinopodium*.

Enríquez-Estrella et al. (2020) evaluaron la actividad antioxidante y la composición de compuestos bioactivos en *Clinopodium tomentosum*, considerando material vegetal fresco y seco. El objetivo fue determinar la influencia del estado del material vegetal sobre la extracción de compuestos bioactivos y su capacidad antioxidante. La metodología empleó extracción asistida por ultrasonido para obtener los compuestos activos, seguida de la cuantificación mediante ensayos de capacidad antioxidante, como FRAP, y la determinación de polifenoles mediante el método de Folin-Ciocalteu. Los principales resultados evidenciaron que el material vegetal seco presentó mayor rendimiento, con concentraciones de 1,49 mg L⁻¹ de polifenoles y 1,27 mg L⁻¹ de antioxidantes; mientras que el material fresco mostró 1,39 mg L⁻¹ de polifenoles y 1,04 mg L⁻¹ de antioxidantes. Se concluyó que el estado del material vegetal influye significativamente en la

eficiencia de extracción y en la concentración de compuestos bioactivos. Este antecedente permite sustentar la importancia de las condiciones de procesamiento de la muestra vegetal en estudios fitoquímicos.

Huanqui (2019) evaluó la actividad antioxidante y antibacteriana del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kuntze, conocida comúnmente como “Cjuñuca”. El objetivo fue determinar la composición química del aceite esencial y evaluar su actividad biológica frente al radical DPPH y frente a la cepa *Cutibacterium acnes* ATCC 6919. La metodología consistió en la extracción del aceite esencial mediante hidrodestilación, seguida de la caracterización química por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). La actividad antioxidante fue evaluada mediante el método DPPH. Los principales resultados permitieron identificar 38 compuestos, entre los cuales destacaron pulegona (38,69%), isopulegona (11,94%), eucaliptol (10,63%) e isomentona (6,65%). Además, el aceite esencial presentó una captación del radical DPPH superior al 90% en comparación con el estándar utilizado. Se concluyó que el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* posee una elevada actividad antioxidante, atribuida a su composición rica en monoterpenos oxigenados. Este antecedente es importante porque trabaja con aceite esencial de una especie del mismo género y emplea GC-MS y DPPH, métodos relacionados con la presente investigación.

Boom et al. (2018) evaluaron la capacidad antioxidante de aceites esenciales obtenidos a partir de hojas de eucalipto cultivadas en el departamento del Cesar, Colombia. El objetivo fue determinar la composición química y la actividad antioxidante de aceites esenciales de *Eucalyptus tereticornis* y *Eucalyptus camaldulensis*. La metodología consistió en la extracción de los aceites esenciales, la determinación de sus rendimientos y el análisis químico mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Asimismo, la actividad antioxidante fue evaluada mediante diferentes ensayos, como fenoles totales, FRAP, DPPH y ORAC. Los principales resultados mostraron rendimientos de extracción entre 0,59% y 1,24%.

Los compuestos predominantes fueron eucaliptol (41–50%), α -pineno (7–13%), α -terpineol (3–7%) y β -pineno (2–4%). Además, se obtuvieron valores elevados en los ensayos antioxidantes. Se concluyó que el aceite esencial de *Eucalyptus camaldulensis* proveniente de Chiriguaná presentó la mayor actividad antioxidante, seguido por el aceite de La Jagua de Ibirico. Este antecedente demuestra que la composición química y las condiciones geográficas pueden influir significativamente en la capacidad antioxidante de los aceites esenciales.

Tapia-Manrique et al. (2017) evaluaron la actividad antioxidante del aceite esencial obtenido de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts “panizara”. El objetivo fue determinar la capacidad del aceite esencial para neutralizar radicales libres mediante ensayos químicos in vitro. La metodología consistió en evaluar la actividad antioxidante mediante los métodos DPPH y ABTS, basados en la disminución de absorbancia de los radicales libres mediante espectrofotometría. Los principales resultados mostraron que el aceite esencial presentó una concentración inhibitoria media (IC_{50}) de 2288,31 $\mu\text{g/mL}$ frente al radical DPPH, mientras que el Trolox presentó un IC_{50} de 3,8 $\mu\text{g/mL}$. En el ensayo ABTS, el aceite esencial obtuvo un IC_{50} de 30,87 $\mu\text{g/mL}$, en comparación con 17,04 $\mu\text{g/mL}$ para el Trolox. Se concluyó que el aceite esencial de *Clinopodium pulchellum* presenta actividad antioxidante, aunque menor que la del estándar Trolox, lo cual podría estar relacionado con la naturaleza química de sus componentes y su capacidad limitada para donar electrones o átomos de hidrógeno. Este antecedente resulta relevante porque analiza la actividad antioxidante de un aceite esencial perteneciente al género *Clinopodium*.

Guerra (2017) evaluó la capacidad antioxidante de aceites esenciales obtenidos de especies andinas, específicamente *Clinopodium nubigenum* (Kunth) Kuntze y *Baccharis latifolia* (Ruiz & Pav.) Pers. El objetivo fue determinar la actividad antioxidante y caracterizar químicamente los aceites esenciales de ambas especies. La metodología consistió en la extracción de los aceites esenciales mediante hidrodestilación, seguida de la evaluación antioxidante

mediante el método del β -caroteno y los ensayos de captación de radicales libres DPPH y ABTS. La caracterización química se realizó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Además, se aplicó bioautografía TLC-DPPH para localizar fracciones con actividad antioxidante. Los principales resultados permitieron identificar 55 compuestos en el aceite esencial de *Clinopodium nubigenum*. Asimismo, se evidenció actividad antioxidante significativa en los aceites evaluados, asociada a la presencia de compuestos con capacidad redox. Se concluyó que la actividad antioxidante de los aceites esenciales está directamente relacionada con su composición química y con la presencia de metabolitos capaces de neutralizar radicales libres. Este antecedente es importante porque relaciona composición química, GC-MS y actividad antioxidante en una especie andina del género *Clinopodium*.

Moncayo-Miño (2020) estudió los metabolitos secundarios presentes en hojas de *Clinopodium tomentosum* (Kunth) Govaerts, especie perteneciente a la familia Lamiaceae. El objetivo fue caracterizar compuestos presentes en extractos de la especie y contribuir al conocimiento fitoquímico del género *Clinopodium*. La metodología incluyó el análisis estructural mediante técnicas espectroscópicas avanzadas, como resonancia magnética nuclear unidimensional y bidimensional (RMN 1D y 2D), así como espectrometría de masas de alta resolución con ionización por electrospray (HR-ESI-MS). Los principales resultados permitieron identificar un nuevo compuesto, caracterizado como ácido 2-O-benzoil-3-O-cinamoil tartárico. Se concluyó que *Clinopodium tomentosum* contiene metabolitos secundarios de interés químico, lo que evidencia la riqueza fitoquímica del género. Este antecedente resulta relevante porque aporta información sobre la diversidad de compuestos bioactivos presentes en especies de *Clinopodium*.

Arango-Bedoya (2012) analizó la composición química y la actividad antioxidante del aceite esencial de *Lippia origanoides* H.B.K., especie conocida como orégano y recolectada de forma silvestre en la región del Alto Patía, Colombia. El objetivo fue determinar la composición química del aceite esencial y evaluar su capacidad antioxidante. La metodología consistió en la obtención del aceite esencial mediante arrastre por vapor a partir de hojas frescas. La caracterización química se realizó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), identificando los compuestos a partir de sus patrones de fragmentación y sus índices de retención de Kovats. La actividad antioxidante fue evaluada mediante los métodos espectrofotométricos DPPH y ABTS. Los principales resultados identificaron como componentes mayoritarios al timol, cimeno, mirceno y γ -terpineno, compuestos característicos de aceites esenciales con actividad biológica. Asimismo, se evidenció una actividad antioxidante significativa. Se concluyó que la elevada proporción de timol contribuye de manera importante a la actividad antioxidante del aceite esencial, destacando su potencial como fuente natural de compuestos antioxidantes. Este antecedente sirve como referencia comparativa debido a que trabaja con aceites esenciales ricos en compuestos fenólicos, como el timol, relacionados estructuralmente con el carvacrol presente en el aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx*.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Clinopodium Brevicalyx (Epling) Harley & A. Granda

Se identificó en el Herbario Vargas (CUZ) de la facultad de Ciencias Biológicas de la UNSAAC.

Reino	: Plantae
División	: Tracheophyta
Clase	: Magnoliopsida
Orden	: Lamiales
Familia	: Lamiaceae
Género	: Clinopodium L.
Especie	: <i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda

2.2.1.1. Nombres Comunes

Clinopodium brevicalyx (Epling) Harley & A. Granda es conocida por diversos nombres comunes, los cuales varían según la región geográfica, el idioma local y el uso tradicional de la planta. Entre los nombres más reportados se encuentran “salja muña”, “urqu muña”, “sacha muña”, “cjuñuca” y “orégano de los incas”.

El nombre “urqu muña”, de origen quechua, hace referencia a su crecimiento en zonas altoandinas, ya que urqu significa “cerro” o “montaña”, mientras que muña alude a plantas aromáticas de olor intenso. “Sacha muña” se emplea comúnmente para diferenciarla de otras especies del género *Clinopodium* o de la muña comercial (*Minthostachys mollis*), indicando su condición silvestre (sacha = silvestre).

El término “cjuñuca” es utilizado principalmente en algunas comunidades rurales del sur del Perú y se asocia a sus usos tradicionales con fines medicinales, especialmente para afecciones digestivas y musculares. Por su parte, el nombre “orégano de los incas” se debe a su aroma intenso y a su similitud organoléptica con el orégano (*Origanum vulgare*), aunque botánicamente corresponde a una especie distinta.

Es importante señalar que la diversidad de nombres comunes puede generar confusiones taxonómicas con otras especies aromáticas de la familia Lamiaceae, por lo que resulta indispensable el uso del nombre científico *Clinopodium brevicalyx* para asegurar una correcta identificación en estudios químicos y fitoquímicos.

2.2.1.2. Sinonimia

Satureja brevicalyx Epling.

2.2.1.3. Descripción botánica

Arbustiva de hoja perenne, rígido de 1,0 a 1,5 m de altura, fragante, pubescente. Las hojas son pequeñas, lanceoladas, sésiles, retorcidas, opuestas y enteras. Flores blancas, solitarias, axilares, de cuatro lóbulos, de dos labios; taza combinada; los pétalos están unidos; estambres con estambres dos veces fuertes; pistilo con ovario súpero, ápice de estilo y un estigma. Florece en primavera y verano (Arteta-Beltrán, 2007).

Figura 1

Planta Clinopodium brevicalyx (Epling) Harley & A. Granda



Fuente. Ubicado en Cerro Arahuay, Cusco, Perú.

2.2.1.4. Etnobotánicas y etnofarmacológicas

Diversos estudios etnobotánicos y etnofarmacológicos reportan que *Clinopodium brevicalyx* es empleada en la medicina tradicional andina para el tratamiento de trastornos menstruales y afecciones gastrointestinales. Se le atribuyen propiedades digestivas, carminativas, antigastríticas y antiespasmódicas, asociadas a su contenido de metabolitos secundarios bioactivos. Asimismo, se ha documentado su uso tópico como analgésico tradicional, especialmente mediante el tostado previo de las hojas, aplicadas para aliviar dolores musculares y tortícolis (Arteta-Beltrán, 2007). Estos antecedentes etnobotánicos respaldan la relevancia de su estudio desde el enfoque fitoquímico y farmacológico.

2.2.2. Aceite esencial

Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos químicos volátiles y aromáticos presentes en diversas especies vegetales. Se obtienen a partir de distintas partes de la planta, tales como flores, hojas, tallos, raíces, cortezas y frutos, mediante técnicas de extracción apropiadas. Estos extractos contienen metabolitos secundarios responsables del aroma característico de cada especie y, en muchos casos, de sus propiedades biológicas, entre ellas actividad antimicrobiana, antioxidante y antiinflamatoria (Bakkali et al., 2008).

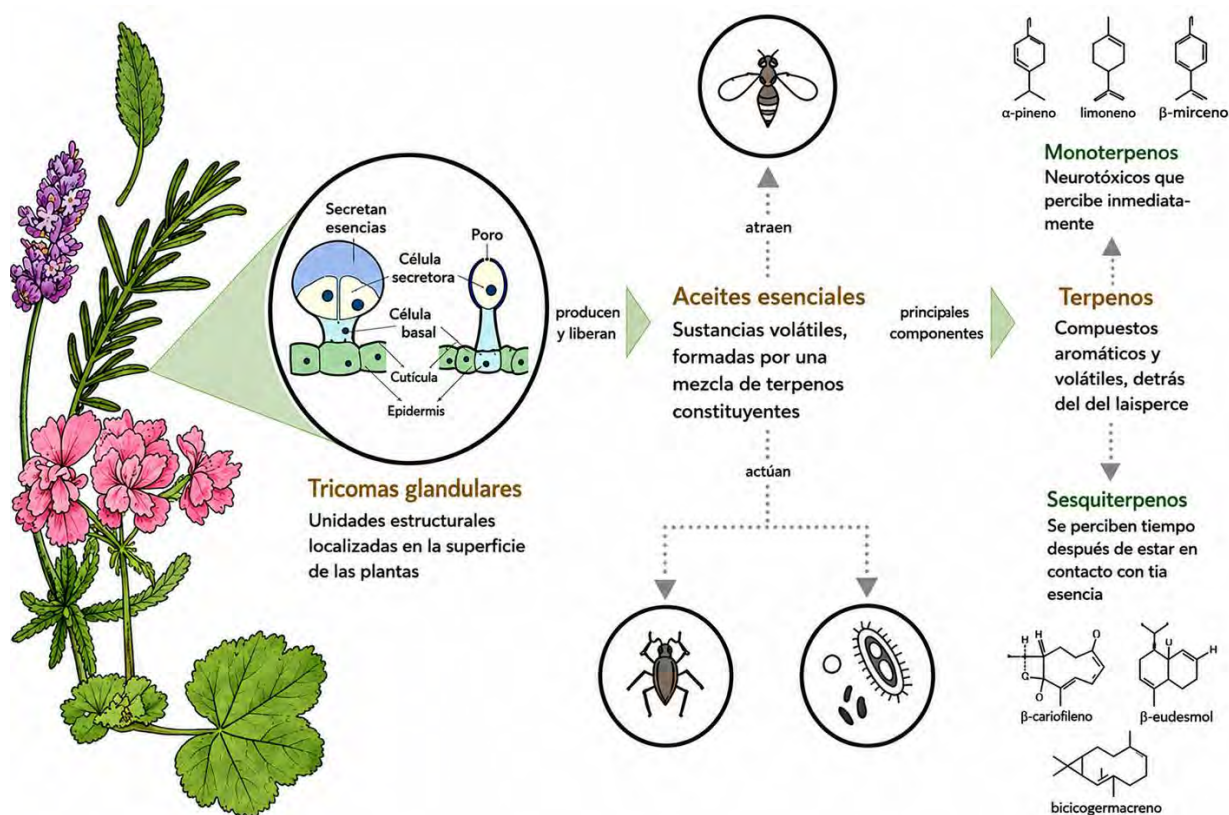
Debido a su alta concentración de compuestos bioactivos, los aceites esenciales deben ser manipulados y utilizados bajo condiciones controladas, considerando factores como pureza, método de obtención y almacenamiento, ya que estos influyen directamente en su estabilidad química y en la conservación de sus propiedades funcionales.

2.2.2.1. Donde encontrar el aceite esencial

La biosíntesis y acumulación de aceites esenciales en plantas ocurre principalmente en estructuras especializadas conocidas como tricomas glandulares, las cuales actúan como sitios de producción y almacenamiento de estos compuestos. Se encuentran en la superficie de la planta y suelen reventar, por ejemplo, cuando frotamos las hojas de la planta de lavanda o porque tienen cutículas porosas (la capa protectora exterior de la planta), que es cuando se libera la esencia. (Hazzoumi et al., 2022)

Figura 2

Las esencias de las plantas



Fuente. Tomé (2021).

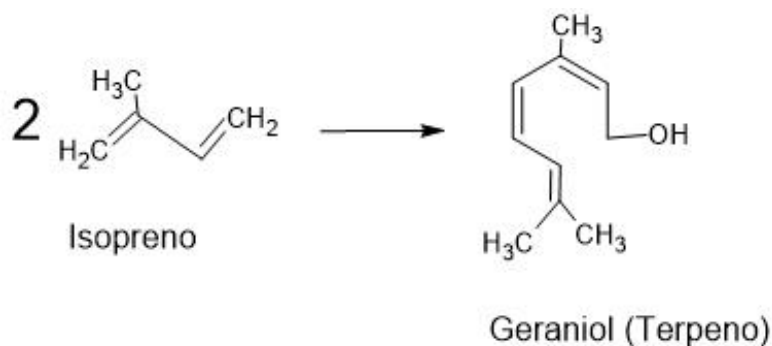
2.2.2.2. Composición química de los aceites esenciales

Los principales componentes químicos son los monoterpenos, algunos sesquiterpenos y compuestos aromáticos.

Terpenos. Son compuestos orgánicos con aroma que se derivan del isopreno. Estos están presentes en diversos tipos de plantas y desempeñan un papel crucial en varias interacciones biológicas. (Goodwin, 1971)

Figura 3

Geraniol a partir de dos isoprenos



Fuente. Goodwin (1971).

Desempeñando roles esenciales como resguardarse contra distintos elementos como el calor intenso, los insectos o los depredadores herbívoros, identificándolos y siendo una parte integral de la clorofila y ciertos pigmentos carotenoides (GOODWIN, 1965).

Dependiendo del número de isoprenos que se condensan (2, 3, 8, etc), se pueden sintetizar monoterpenos (C₁₀), sesquiterpenos (C₁₅), diterpenos (C₂₀), triterpenos (C₃₀) y tetraterpenos (C₄₀).

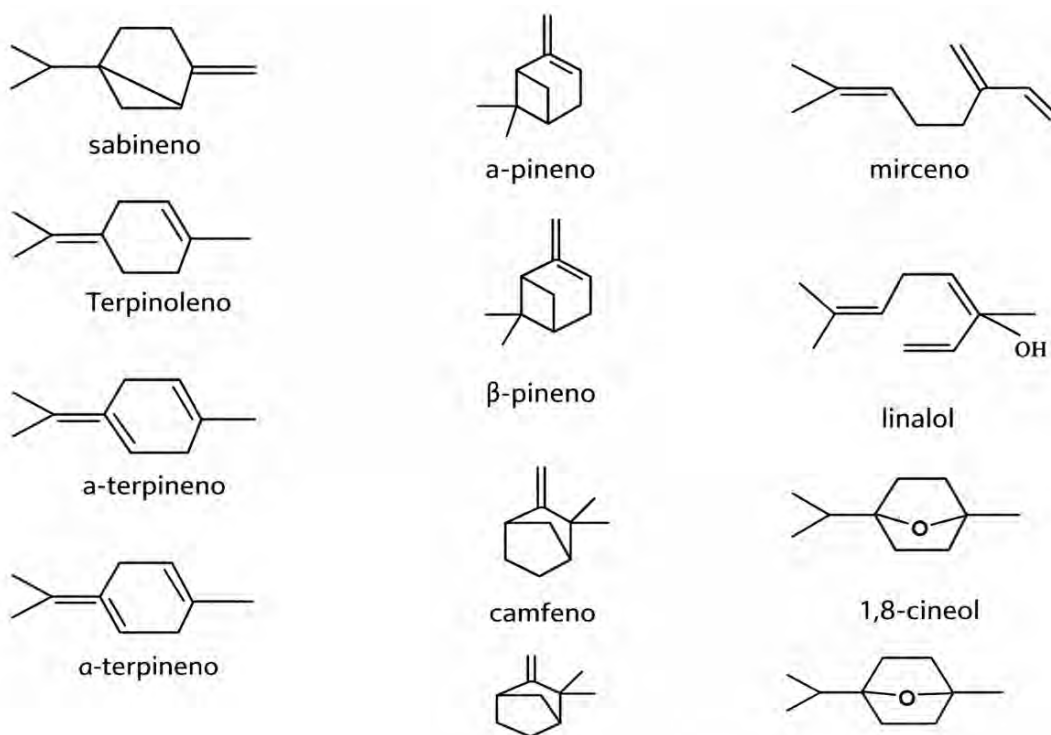
Monoterpenos. Los monoterpenos son compuestos pertenecientes a la familia de los terpenos, formados por la unión de dos unidades de isopreno, lo que les confiere una fórmula molecular general C₁₀H₁₆. Estos compuestos pueden presentar diversas modificaciones estructurales, dando lugar a derivados conocidos como terpenoides, los cuales incorporan grupos funcionales oxigenados o presentan alteraciones en su estructura básica, como la pérdida de grupos metilo.

Los terpenoides con dos unidades de isopreno (10 átomos de carbono) forman monoterpenos. Recibieron su nombre porque el primer terpeno, descubierto en 1850, se considera el componente fundamental en el que se basa el resto de la nomenclatura. Los monoterpenos se

asocian más comúnmente con aromas florales volátiles, representando el 5% de la planta en peso seco (Galle, M., 2013).

Figura 4

Estructuras moleculares de monoterpenos

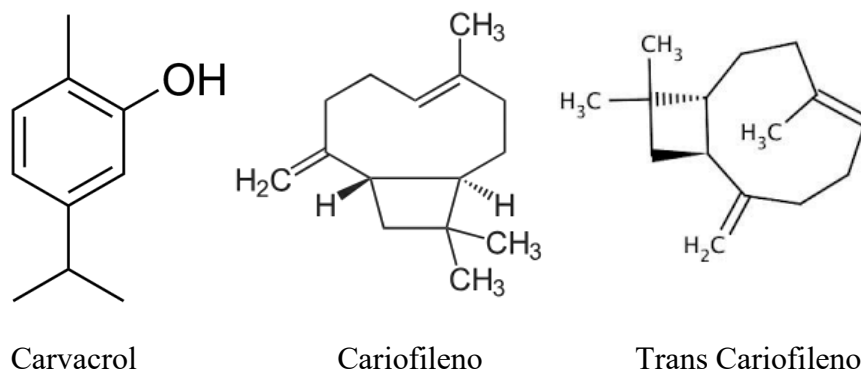


Fuente. Sabillón Rodríguez (2002)

Sesquiterpenos. Los sesquiterpenos son compuestos terpénicos constituidos por 15 átomos de carbono, derivados de la unión de tres unidades de isopreno. Muchos de sus derivados, conocidos como sesquiterpenoides, desempeñan funciones biológicas como fitoalexinas, actuando como compuestos de defensa que las plantas sintetizan en respuesta a la presencia de microorganismos. También funcionan como inhibidores de la alimentación en herbívoros oportunistas. (Lock De Ugaz, 1994)

Figura 5

Estructuras de sesquiterpenos



Fuente. Lock De Ugaz (1994)

2.2.2.3. Características generales de los aceites esenciales

Los aceites esenciales suelen representar entre el 0,1% y el 1% del peso seco de la planta. Se caracterizan por ser líquidos con alta solubilidad en alcohol y otros disolventes orgánicos, pero con baja solubilidad en agua. Generalmente son incoloros cuando se encuentran frescos; sin embargo, al exponerse al aire pueden sufrir procesos de oxidación que provocan un cambio hacia tonalidades amarillentas oscuras. Para evitar este deterioro, se recomienda su almacenamiento en recipientes de vidrio ámbar, herméticamente cerrados y completamente llenos.

Mientras que algunos aceites son ricos en sólo una o dos moléculas, otros son casi Mono moleculares y contienen casi un componente. Sin embargo, la mayoría es multi moleculares y contienen unas pocas moléculas pequeñas, unas cuantas moléculas más grandes y, en ocasiones, cientos de moléculas diferentes, todas en cantidades relativamente pequeñas. (Luegon, 2004)

a) Propiedades terapéuticas. La diversidad en la composición química de los aceites esenciales conlleva una amplia variabilidad en sus propiedades farmacológicas. La aromaterapia se sustenta en la presencia de ciertos compuestos bioactivos que les confieren valor terapéutico.

Asimismo, debido a la acción de algunos de sus componentes sobre la piel, estos aceites son ampliamente utilizados en el ámbito cosmético. Adicionalmente, ciertos aceites esenciales, como el de enebro, presentan efectos fisiológicos específicos, tales como actividad diurética y capacidad para promover la vasodilatación a nivel renal. Por otro lado, para aliviar o prevenir calambres gástricos se recomiendan aceites esenciales ricos en anetol, compuesto presente en diversas plantas de la familia Apiaceae, así como en la menta o en la milenrama (Luegon, 2004).

b) Propiedades irritantes. Algunas sustancias, como la trementina, pueden incrementar la microcirculación cuando se aplican de forma tópica, generando efectos como enrojecimiento, sensación de calor y, en ciertos casos, una leve acción anestésica local. Debido a la estimulación de las células mucosas y al aumento del movimiento interno de los cilios bronquiales, los aceites esenciales de pino, fresno y eucalipto irritan a las personas en diversos grados. (Luegon, 2004)

c) Forma de administración. Existen diversos métodos de aplicación de aceites esenciales que pueden emplearse durante tratamientos con una duración aproximada de 1 a 3 semanas.

Vía cutánea

El aceite de masaje corporal se obtiene mediante la incorporación de una concentración determinada de aceite esencial (generalmente entre 1% y 10%) en un aceite vegetal portador. El masaje facilita la absorción de los compuestos aromáticos a través de la piel, lo que permite una acción terapéutica rápida. No se recomienda la aplicación directa de aceites esenciales sin diluir, ya que pueden generar irritación cutánea severa. Este tipo de preparación se emplea comúnmente en el tratamiento de quemaduras, picaduras de insectos y dolor localizado mediante aplicación tópica.

El baño de aromaterapia presenta como principal dificultad la necesidad de emplear un agente dispersante, ya que los aceites esenciales no son miscibles en agua (Lis-Balchin, 1997).

Vía olfativa

Difusión atmosférica. - La inhalación constituye uno de los métodos más efectivos para aprovechar las propiedades terapéuticas de los aceites esenciales. Esta técnica es sencilla y práctica, y generalmente se realiza mediante el uso de difusores eléctricos, los cuales emplean vibraciones para dispersar las moléculas aromáticas en el ambiente. No obstante, ciertos compuestos, como los aceites ricos en fenoles —por ejemplo, tomillo y clavo— no son recomendables, ya que pueden generar irritación en el sistema respiratorio.

Vahos. - Se recomienda añadir entre 20 y 25 gotas de uno o más aceites esenciales con efecto calmante sobre el tracto respiratorio al vapor de agua caliente, para luego inhalarlo durante algunos minutos. Este método, aunque tradicional, resulta altamente eficaz en el tratamiento de afecciones como el resfriado común o infecciones sinusales, pudiendo repetirse varias veces al día (Luegon, 2004).

Vía oral

Es posible ingerir aceites esenciales por vía oral, aunque no se recomienda. El sabor de los aceites esenciales suele ser poco agradable, por lo que su ingestión debe evitarse en ausencia de indicaciones precisas sobre la dosificación, la cual generalmente no excede de 1 a 2 gotas por toma. Asimismo, su uso inadecuado puede ocasionar efectos irritantes en el sistema digestivo. Por ello, se aconseja mezclarlos con un poco de miel y disolver la mezcla en un vaso de agua tibia o infusión de hierbas. (Luegon, 2004)

2.2.2.4. Aplicaciones

a) Farmacológicas

Por el contrario, algunos aceites esenciales se emplean en medicina para extraer diferentes Los aceites esenciales y sus componentes activos (por ejemplo, el eugenol) se emplean tanto por sus propiedades funcionales como por su capacidad aromatizante en diversas formulaciones farmacéuticas, tales como jarabes, suspensiones, elixires y otros preparados medicinales.

Asimismo, son ampliamente utilizados en las industrias alimentaria, de bebidas y confitería, donde actúan como agentes saborizantes y aromatizantes.

Tienen especial uso en la industria farmacéutica, donde ahora es necesario ofrecer medicamentos sustitutivos, más eficientes y menos costosos, pueden reemplazar medicamentos sintéticos actualmente usados en el sector y con mayores potencias químicas. (Wandscher, 2012)

b) Cosméticas

El uso de aceites esenciales en cosmética y fragancias está muy extendido. Debido a sus propiedades aromáticas, los aceites esenciales desempeñan un papel fundamental en la industria de la perfumería. Esto significa que se incluyen en una amplia variedad de composiciones, como colonias, perfumes y limpiadores domésticos. (Luegon, 2004)

c) Aroma terapéuticas

Los aceites esenciales tienen una estrecha conexión con la llamada aromaterapia, un campo de la medicina alternativa que emplea principalmente aceites esenciales como forma de tratamiento. El término “aromaterapia” fue introducido por el químico francés René Maurice Gattefossé, quien se especializó en el uso de fragancias con fines cosméticos.

En este contexto, es notable mencionar la tecnología de espectroscopia de aromas (Hyldgaard et al., 2012). Este enfoque permite validar experimentalmente las propiedades antibacterianas y bactericidas de los aceites esenciales. El procedimiento es similar al utilizado en la evaluación del espectro antimicrobiano, empleado para determinar la eficacia de los antibióticos; sin embargo, en este caso se utilizan aceites esenciales en lugar de estos fármacos. Esto podría asociarse con una menor incidencia de efectos secundarios y una reducida probabilidad de generar resistencia microbiana.

Es fundamental considerar el uso de técnicas de espectroscopia aromática, las cuales permiten confirmar experimentalmente las propiedades antibacterianas y bactericidas de los

aceites esenciales. Este procedimiento es comparable al espectro antimicrobiano (un método para evaluar la eficacia de los antibióticos), pero se utilizan aceites esenciales reemplazando antibióticos. (Luegon, 2004)

2.2.3. Métodos de extracción de los aceites esenciales

Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos orgánicos volátiles sintetizados por diversas especies vegetales, principalmente pertenecientes a familias como Lamiaceae, Rutaceae, Myrtaceae y Asteraceae. Para su obtención se utilizan diferentes métodos de extracción, los cuales se seleccionan en función de la naturaleza del material vegetal, la estabilidad térmica de los compuestos y la eficiencia del proceso de extracción (Bakkali et al., 2008).

Entre los métodos más utilizados para la obtención de aceites esenciales se encuentran la destilación por arrastre de vapor, hidrodestilación, prensado en frío, extracción con solventes orgánicos, extracción con fluidos supercríticos y técnicas modernas como la extracción asistida por microondas o ultrasonido. Cada una de estas técnicas presenta ventajas y limitaciones relacionadas con el rendimiento, la pureza del aceite obtenido y la posible degradación de los compuestos volátiles (Stashenko et al., 2014).

2.2.3.1 Hidrodestilación

La hidrodestilación es uno de los métodos más antiguos y ampliamente utilizados para la obtención de aceites esenciales a partir de material vegetal. En este proceso, el material vegetal se coloca en contacto directo con agua y se somete a calentamiento. Durante la ebullición, el vapor de agua arrastra los compuestos volátiles presentes en la planta, los cuales posteriormente se condensan en un sistema de refrigeración y se separan del agua debido a la diferencia de densidad entre ambas fases (Guenther, 1948).

Este método es especialmente utilizado para la extracción de aceites esenciales de hojas, flores y tallos de plantas aromáticas, ya que permite recuperar compuestos volátiles sin requerir

solventes orgánicos. Sin embargo, la exposición prolongada a altas temperaturas puede provocar la degradación de algunos compuestos termolábiles.

2.2.3.2 Destilación por arrastre de vapor

La destilación por arrastre de vapor es una técnica similar a la hidrodestilación, pero en este caso el vapor de agua se genera en un recipiente separado y posteriormente se hace pasar a través del material vegetal. El vapor arrastra los compuestos volátiles presentes en la planta, los cuales son condensados y posteriormente separados en un sistema de decantación (Stashenko et al., 2014).

Este método presenta la ventaja de reducir el contacto directo del material vegetal con el agua en ebullición, lo que puede disminuir la degradación de ciertos compuestos sensibles al calor.

2.2.3.3 Prensado en frío

El prensado en frío es un método mecánico utilizado principalmente para la obtención de aceites esenciales presentes en las cáscaras de frutos cítricos, como naranja, limón o bergamota. En este proceso, las glándulas que contienen el aceite esencial se rompen mediante presión mecánica, liberando el aceite que posteriormente se separa del jugo y otros componentes de la fruta (Burt, 2004).

Este método permite obtener aceites esenciales sin la aplicación de calor, lo que ayuda a conservar la integridad de los compuestos aromáticos.

2.2.3.4 Extracción con solventes orgánicos

La extracción con solventes consiste en el uso de disolventes orgánicos volátiles como hexano, éter de petróleo o etanol para extraer los compuestos aromáticos presentes en el material vegetal. Posteriormente, el solvente se elimina mediante evaporación, obteniendo un extracto

concentrado que puede contener aceites esenciales, ceras y otros compuestos lipofílicos (Stashenko et al., 2014).

Este método es particularmente útil para la extracción de compuestos aromáticos de flores delicadas que pueden deteriorarse durante procesos de destilación.

2.2.3.5 Extracción con fluidos supercríticos

La extracción con fluidos supercríticos, especialmente utilizando dióxido de carbono supercrítico (CO₂), es una técnica moderna que permite obtener aceites esenciales con alta pureza y sin residuos de solventes. En condiciones supercríticas, el CO₂ presenta propiedades intermedias entre un líquido y un gas, lo que le permite penetrar fácilmente en el material vegetal y disolver compuestos aromáticos (Herrero et al., 2010).

Este método presenta ventajas como una mayor selectividad de extracción, menor degradación térmica de los compuestos y ausencia de solventes tóxicos. Sin embargo, requiere equipos especializados y costos de operación más elevados.

2.2.3.6 Extracción del aceite esencial mediante aparato de Clevenger

El aparato de Clevenger (Figura 6) es un dispositivo ampliamente utilizado en procesos de hidrodestilación para la extracción de aceites esenciales en laboratorio. Este sistema se caracteriza por operar en un circuito cerrado que permite la condensación del vapor generado y la separación del aceite esencial del agua destilada.

Durante el proceso, el vapor de agua arrastra los compuestos volátiles presentes en el material vegetal. Posteriormente, el vapor se condensa en un refrigerante y el condensado se acumula en una trampa graduada donde el aceite esencial se separa del agua debido a la diferencia de densidad entre ambas fases. El agua condensada retorna nuevamente al sistema, permitiendo la recirculación continua durante el proceso de extracción (Lawrence, 1995).

Este método resulta particularmente eficiente cuando los aceites esenciales presentan baja solubilidad en agua o cuando se desconoce su comportamiento de solubilidad, permitiendo recuperar los compuestos volátiles mediante un proceso repetitivo de condensación y separación.

Figura 6

Equipo de hidrodestilación con Clevenger para la extracción del aceite esencial



Fuente. Laboratorio de Fitoquímica, UNSAAC, Cusco, Perú.

Caracterización fisicoquímica del AE

2.2.4. Densidad

La densidad es una propiedad fisicoquímica que expresa la relación entre la masa de una sustancia y el volumen que esta ocupa. Este parámetro permite conocer cuánta masa se encuentra contenida en un volumen determinado de materia, por lo que constituye una medida importante para la caracterización de sustancias líquidas, sólidas o gaseosas (Shackelford et al., 2005).

Desde el punto de vista químico, está relacionada con la naturaleza molecular, la masa molecular de los compuestos presentes y la forma en que las moléculas se organizan en el espacio. Sustancias formadas por moléculas de mayor peso molecular o con estructuras más compactas tienden a presentar valores de densidad más elevados debido a una mayor masa contenida en un volumen determinado (Chang & Goldsby, 2016).

En el caso de los aceites esenciales, depende directamente de la composición química del aceite, particularmente de la proporción de monoterpenos, sesquiterpenos y compuestos oxigenados presentes en la mezcla. Los monoterpenos hidrocarbonados, como el limoneno o el α -pineno, suelen presentar densidades relativamente bajas debido a su estructura molecular ligera y menor grado de funcionalización química. En contraste, los compuestos oxigenados como alcoholes, cetonas, aldehídos o fenoles aromáticos pueden incrementar la densidad del aceite esencial debido a la presencia de átomos de oxígeno que aumentan la masa molecular y modifican las interacciones intermoleculares (Bakkali et al., 2008).

Además, la densidad de los aceites esenciales está influenciada por factores como:

Temperatura: al aumentar la temperatura, las moléculas se separan ligeramente debido al incremento de la energía cinética, lo que provoca un aumento del volumen y una disminución de la densidad.

Composición química: variaciones en la proporción de metabolitos secundarios pueden modificar significativamente este parámetro.

Método de extracción: procesos como hidrodestilación, destilación por arrastre de vapor o extracción con solventes pueden alterar la composición relativa de los compuestos volátiles (Stashenko & Martínez, 2010).

En el análisis de aceites esenciales, la densidad se determina generalmente a 20 °C, ya que este valor estandarizado permite comparar resultados entre diferentes estudios y establecer criterios de calidad para estos productos naturales (Guenther, 1948).

La determinación de la densidad constituye un parámetro importante para la caracterización fisicoquímica de aceites esenciales, ya que proporciona información indirecta sobre su pureza, composición y posibles adulteraciones. En muchos casos, valores de densidad fuera del rango esperado pueden indicar la presencia de solventes, compuestos no volátiles o modificaciones en el perfil químico del aceite esencial (Burt, 2004).

Por lo tanto, el estudio de la densidad en aceites esenciales no solo permite describir una propiedad física del sistema, sino también comprender aspectos relacionados con la estructura molecular y la composición química de los metabolitos secundarios presentes en el aceite.

2.2.5. Solubilidad

La solubilidad es una propiedad fisicoquímica que describe la capacidad de una sustancia para disolverse en otra, formando una mezcla homogénea a nivel molecular. Este proceso depende principalmente de la naturaleza química de las sustancias involucradas, particularmente de su polaridad, estructura molecular e interacciones intermoleculares (Atkins & de Paula, 2014).

Debido a su estructura química y a la polaridad de sus componentes, los aceites esenciales tienen la capacidad de formar fácilmente mezclas homogéneas a temperatura ambiente con diversos disolventes orgánicos químicamente puros y con soluciones de etanol de concentración conocida (Rodas, 2012). Esto se debe a que los aceites esenciales están constituidos principalmente por metabolitos secundarios de naturaleza lipofílica, como monoterpenos, sesquiterpenos y compuestos aromáticos oxigenados, los cuales presentan baja polaridad y una

alta afinidad por disolventes orgánicos.

Desde el punto de vista químico, el comportamiento de solubilidad de los aceites esenciales se explica mediante el principio de “lo semejante disuelve a lo semejante”, el cual establece que compuestos con polaridades similares tienden a disolverse entre sí. En este sentido, los aceites esenciales son generalmente insolubles o poco solubles en agua, debido a la naturaleza altamente polar de esta molécula y a la predominancia de compuestos no polares en los aceites. Sin embargo, pueden disolverse fácilmente en disolventes orgánicos como etanol, metanol, hexano, éter etílico y cloroformo, los cuales poseen polaridades compatibles con los compuestos terpénicos presentes en estos sistemas (Bakkali et al., 2008).

La solubilidad también depende de la presencia de grupos funcionales en las moléculas de los componentes del aceite esencial. Por ejemplo, compuestos hidrocarbonados como los monoterpenos presentan menor afinidad por disolventes polares, mientras que los compuestos oxigenados, como alcoholes, aldehídos, cetonas o fenoles aromáticos, pueden mostrar una mayor interacción con solventes moderadamente polares debido a la presencia de átomos de oxígeno capaces de participar en interacciones dipolo-dipolo o enlaces de hidrógeno débiles (Burt, 2004).

En aceites esenciales pertenecientes a la familia Lamiaceae, como los del género *Clinopodium*, la solubilidad está relacionada con la presencia de compuestos terpénicos como carvacrol, germacreno-D y β -cariofileno, los cuales presentan estructuras hidrocarbonadas voluminosas con baja polaridad. Estas características favorecen su solubilidad en disolventes orgánicos y en soluciones hidroalcohólicas, pero limitan su miscibilidad con agua (Hyldgaard et al., 2012).

Por lo tanto, la determinación de la solubilidad constituye un parámetro importante en la caracterización fisicoquímica de los aceites esenciales, ya que permite evaluar su comportamiento frente a distintos solventes, facilitar su manipulación en análisis químicos y contribuir a la comprensión de su composición molecular y propiedades funcionales.

2.2.6. Índice de refracción

El índice de refracción es una propiedad óptica de las sustancias que describe la relación entre la velocidad de propagación de la luz en el vacío y su velocidad al atravesar un medio determinado. Este parámetro permite evaluar cómo cambia la dirección de la luz cuando pasa de un medio a otro, fenómeno conocido como refracción (Atkins & de Paula, 2014).

Cuando un rayo de luz de una determinada longitud de onda pasa desde el aire hacia un aceite esencial y se mantiene a temperatura constante, la luz experimenta un cambio en su velocidad y dirección. Este fenómeno se describe mediante la ley de Snell, según la cual el índice de refracción se relaciona con el seno del ángulo de incidencia y el seno del ángulo de refracción (Kesterson et al., 1971).

Desde el punto de vista fisicoquímico, el índice de refracción depende de la estructura molecular, la polarizabilidad electrónica y la densidad molecular del sistema. Cuando la luz atraviesa una sustancia, el campo eléctrico de la radiación electromagnética interactúa con los electrones de las moléculas, provocando una ligera deformación de su nube electrónica. Cuanto mayor es la polarizabilidad de las moléculas presentes, mayor será la desviación de la luz y, por tanto, mayor el índice de refracción (Chang & Goldsby, 2016).

En los aceites esenciales, el índice de refracción está estrechamente relacionado con su composición química, particularmente con la presencia de compuestos terpénicos y compuestos aromáticos oxigenados. Moléculas con estructuras más complejas, mayor masa molecular o con sistemas insaturados pueden aumentar la polarizabilidad electrónica del sistema y, en consecuencia, elevar el índice de refracción del aceite esencial (Bakkali et al., 2008).

Asimismo, factores como la temperatura, la longitud de onda de la luz utilizada y la composición química del aceite esencial influyen significativamente en el valor del índice de refracción. Generalmente, a medida que aumenta la temperatura, el índice de refracción disminuye ligeramente debido a la expansión térmica del líquido y a la reducción de la densidad

molecular del sistema (Atkins & de Paula, 2014).

En el análisis de aceites esenciales, la determinación del índice de refracción constituye un parámetro fisicoquímico fundamental para la caracterización, identificación y control de calidad. Este valor permite comparar aceites obtenidos de diferentes especies vegetales o procedencias geográficas, así como detectar posibles adulteraciones o variaciones en la composición química del producto (Guenther, 1948).

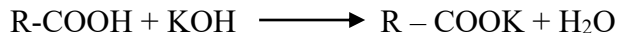
En especies aromáticas de la familia Lamiaceae, como el género *Clinopodium*, el índice de refracción puede verse influenciado por la presencia de sesquiterpenos y compuestos fenólicos como carvacrol, así como por hidrocarburos terpénicos como el trans-cariofileno y el germacreno-D. La proporción relativa de estos compuestos modifica la polarizabilidad del sistema y, por lo tanto, el valor del índice de refracción observado.

Por lo tanto, el índice de refracción no solo representa una propiedad óptica del aceite esencial, sino también un indicador indirecto de su composición molecular, pureza y comportamiento fisicoquímico, lo que lo convierte en un parámetro ampliamente utilizado en estudios de caracterización de productos naturales.

2.2.7. Índice de acidez

El índice de acidez es un parámetro fisicoquímico que permite determinar la cantidad de ácidos carboxílicos libres presentes en aceites y sustancias lipídicas. Este índice se expresa como la cantidad de miligramos de hidróxido de potasio (KOH) necesarios para neutralizar los ácidos libres contenidos en un gramo de muestra (Vargas et al., 2010).

La determinación del índice de acidez se basa en una reacción de neutralización ácido-base entre los ácidos carboxílicos presentes en el aceite y una solución de hidróxido de potasio en medio alcohólico, utilizando un indicador ácido-base que permite identificar el punto final de la titulación. La reacción química que ocurre durante el proceso se puede representar de la siguiente manera:



donde R-COOH representa un ácido carboxílico libre presente en el aceite esencial y

R-COOK corresponde a la sal potásica formada como producto de la reacción de neutralización.

Desde el punto de vista químico, el índice de acidez proporciona información importante sobre el grado de degradación o alteración química de los aceites esenciales. La presencia de ácidos libres puede originarse por procesos de oxidación, hidrólisis o descomposición de compuestos presentes en el aceite, los cuales pueden generar compuestos ácidos como ácidos orgánicos de bajo peso molecular (Gunstone, Harwood & Dijkstra, 2007).

En aceites esenciales, los valores de índice de acidez suelen ser relativamente bajos, debido a que estos productos están constituidos principalmente por compuestos terpénicos volátiles que no presentan grupos carboxílicos en su estructura. Sin embargo, pequeñas cantidades de ácidos pueden formarse durante el almacenamiento o procesamiento del aceite esencial como consecuencia de reacciones de oxidación de compuestos terpénicos o degradación de metabolitos secundarios (Bakkali et al., 2008).

Además, factores como la exposición al oxígeno, la luz, la temperatura y el tiempo de almacenamiento pueden favorecer la formación de compuestos ácidos en los aceites esenciales, lo que provoca un aumento del índice de acidez. Por esta razón, este parámetro se utiliza comúnmente como un indicador de calidad y estabilidad química del aceite esencial (Guenther, 1948).

En el análisis de aceites esenciales, un valor bajo del índice de acidez generalmente indica que el aceite presenta buena estabilidad química y escasa degradación de sus componentes, mientras que valores elevados pueden sugerir procesos de deterioro, contaminación o condiciones inadecuadas de almacenamiento.

Por lo tanto, la determinación del índice de acidez constituye una herramienta importante en la caracterización fisicoquímica y control de calidad de aceites esenciales, ya que permite

evaluar el estado químico del producto y su grado de pureza.

2.2.8. Rotación óptica

La rotación óptica es una propiedad característica de las sustancias ópticamente activas, es decir, aquellas que tienen la capacidad de rotar el plano de polarización de un haz de luz polarizada cuando atraviesa el medio. El ángulo formado entre el plano de polarización de la luz incidente y el plano de la luz emergente se denomina ángulo de rotación óptica (α) (Serway, 2008).

Este fenómeno, conocido como actividad óptica, se debe a la presencia de moléculas quirales en la sustancia. Una molécula quiral es aquella que no es superponible con su imagen especular, lo que generalmente ocurre cuando presenta al menos un centro quiral o carbono asimétrico unido a cuatro sustituyentes diferentes. Estas moléculas pueden existir en dos formas denominadas enantiómeros, los cuales tienen propiedades físicas y químicas muy similares, pero difieren en la dirección en la que rotan el plano de la luz polarizada (Solomons, Fryhle & Snyder, 2016).

Dependiendo del sentido de la rotación, las sustancias ópticamente activas pueden clasificarse como:

- Dextrógiras (+): cuando rotan el plano de la luz polarizada hacia la derecha.
- Levógiras (-): cuando rotan el plano de la luz polarizada hacia la izquierda.

El valor de la rotación óptica observada depende de varios factores, entre ellos la concentración de la sustancia, la longitud del tubo polarimétrico, la temperatura y la longitud de onda de la luz utilizada. Para estandarizar esta medición, se utiliza el concepto de rotación específica, la cual permite comparar valores entre diferentes sustancias y condiciones experimentales (Atkins & de Paula, 2014).

En el caso de los aceites esenciales, la rotación óptica está estrechamente relacionada con la presencia de compuestos terpénicos quirales, tales como monoterpenos y sesquiterpenos.

Muchos de estos compuestos contienen centros quirales en su estructura molecular, lo que les confiere actividad óptica. La magnitud y dirección de la rotación óptica pueden variar dependiendo de la proporción relativa de los diferentes enantiómeros presentes en el aceite esencial (Bakkali et al., 2008).

Por esta razón, la determinación de la rotación óptica se utiliza ampliamente en la caracterización fisicoquímica y control de calidad de aceites esenciales, ya que permite obtener información sobre la composición estereoquímica de los compuestos presentes y detectar posibles adulteraciones o variaciones en el perfil químico del aceite (Guenther, 1948; Solomons et al., 2016).

En aceites esenciales pertenecientes a la familia Lamiaceae, la actividad óptica suele estar asociada a la presencia de compuestos terpénicos quirales como algunos monoterpenos y sesquiterpenos. Estos compuestos contribuyen al valor de rotación óptica observado y reflejan la complejidad estructural de los metabolitos secundarios presentes en estas especies vegetales (Bakkali et al., 2008; Solomons et al., 2016).

2.2.9. Cromatografía de gases acoplado a Espectrometría de masas (GC-MS)

La cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) es una técnica analítica ampliamente utilizada para la separación, identificación y caracterización de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles presentes en mezclas complejas, como los aceites esenciales. Esta técnica combina la alta capacidad de separación de la cromatografía de gases con el poder de identificación estructural de la espectrometría de masas (Stashenko et al., 2014).

La cromatografía de gases (GC) es una técnica de separación en la que una muestra volátil es introducida en un sistema cromatográfico mediante un inyector calentado, donde se vaporiza y es transportada por un gas portador, generalmente helio o nitrógeno, a través de una columna capilar recubierta con una fase estacionaria. A medida que los componentes de la muestra se

desplazan por la columna, se separan en función de su volatilidad y de su interacción con la fase estacionaria, lo que genera diferentes tiempos de retención para cada compuesto (Gutiérrez-Bouzán & Droguet, 2002).

El tiempo de retención es un parámetro característico que depende de factores como la polaridad del compuesto, su masa molecular, la temperatura del sistema y la naturaleza de la fase estacionaria. Este parámetro permite realizar una identificación preliminar de los compuestos presentes en la muestra, especialmente cuando se compara con estándares o bases de datos cromatográficas.

Una vez separados en la columna cromatográfica, los compuestos ingresan al espectrómetro de masas (MS), donde son sometidos a un proceso de ionización, generalmente mediante impacto electrónico (EI). En este proceso, las moléculas son bombardeadas con electrones de alta energía, lo que provoca la formación de iones moleculares y fragmentos iónicos característicos de cada compuesto (Harrison, 1992).

Posteriormente, estos iones son acelerados y separados en función de su relación masa/carga (m/z) mediante un analizador de masas, el cual permite registrar el patrón de fragmentación de cada compuesto. El resultado de este proceso es un espectro de masas, que actúa como una especie de “huella digital molecular”, permitiendo identificar los compuestos mediante comparación con bibliotecas espectrales como NIST o Wiley (Stashenko et al., 2014).

La identificación de los compuestos presentes en aceites esenciales se realiza mediante la combinación de dos parámetros principales:

- Tiempo de retención cromatográfico
- Patrón de fragmentación en el espectro de masas

La coincidencia de estos datos con bibliotecas espectrales permite una identificación confiable de los compuestos presentes en la muestra.

Además de la identificación cualitativa, la cromatografía de gases permite estimar la composición relativa de los componentes del aceite esencial mediante el análisis de los picos

presentes en el cromatograma. Para ello se utilizan parámetros como el porcentaje de área (%Área) y el porcentaje de altura (%Altura) de los picos cromatográficos. El porcentaje de área representa la proporción relativa de cada componente respecto al área total del cromatograma y es considerado el método más confiable para estimar la abundancia relativa de los compuestos en mezclas complejas (Stashenko et al., 2014).

Debido a su alta sensibilidad, precisión y capacidad de identificación estructural, la GC-MS se ha convertido en una de las técnicas más utilizadas en el análisis de aceites esenciales y metabolitos secundarios de plantas, permitiendo determinar el perfil químico de especies vegetales aromáticas y evaluar la presencia de compuestos terpénicos, fenoles y otros compuestos volátiles responsables de sus propiedades biológicas.

2.2.10. Capacidad Antioxidante con el método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

La capacidad antioxidante es la habilidad que tiene un compuesto o mezcla para neutralizar radicales libres o especies reactivas de oxígeno (ROS), previniendo así el daño oxidativo en biomoléculas como lípidos, proteínas y ADN (Prior et al., 2005). Los antioxidantes actúan principalmente mediante la transferencia de electrones o átomos de hidrógeno, lo que permite estabilizar los radicales libres y detener la propagación de las reacciones en cadena de tipo oxidativo.

En el caso de los aceites esenciales, la actividad antioxidante se relaciona con la presencia de metabolitos secundarios volátiles, principalmente monoterpenos, sesquiterpenos y compuestos fenólicos, los cuales poseen estructuras químicas capaces de donar hidrógeno o electrones a los radicales libres. Esta propiedad les permite actuar como captadores de radicales, contribuyendo a reducir los procesos de oxidación en sistemas biológicos y alimentarios (Bakkali et al., 2008).

Diversas especies del género *Clinopodium*, perteneciente a la familia Lamiaceae, han sido reportadas por presentar aceites esenciales con actividad antioxidante, atribuida principalmente a

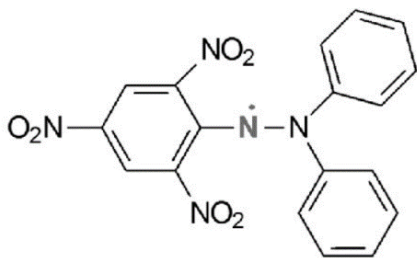
la presencia de compuestos terpenoides y fenólicos. En particular, compuestos como carvacrol, timol, cariofileno y germacreno, presentes en diferentes especies de este género, han demostrado capacidad para neutralizar radicales libres debido a su estructura química y a la presencia de grupos funcionales capaces de donar hidrógeno (Hylgaard et al., 2012).

Una de las metodologías más empleadas para determinar la capacidad antioxidante en extractos vegetales y aceites esenciales es el ensayo basado en el radical libre DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo). Este método, propuesto por Brand-Williams et al. (1995), se ha consolidado ampliamente debido a su simplicidad, rapidez y alta reproducibilidad. El radical DPPH es un compuesto nitrogenado estable que presenta una coloración violeta intensa debido a la deslocalización del electrón desapareado en su estructura molecular.

La estructura química del radical DPPH se muestra en la Figura 7, donde se observa la presencia de grupos nitro y anillos aromáticos que contribuyen a la estabilidad del radical libre.

Figura 7

Estructura química de radical libre más estable DPPH



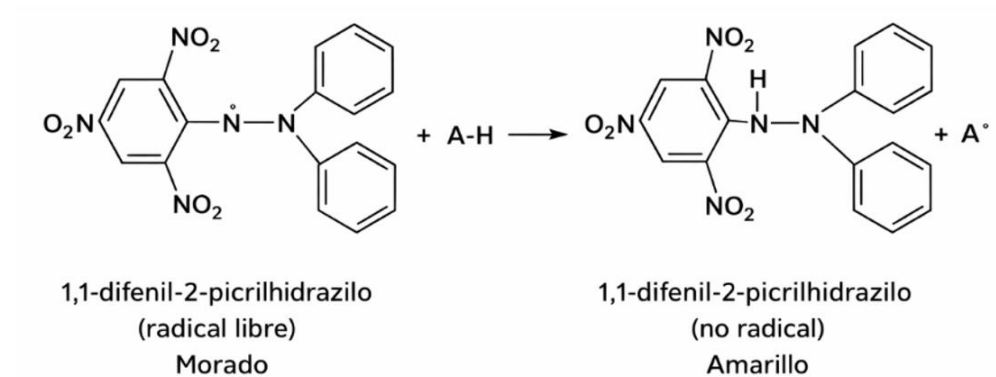
Fuente. Adaptado de Brand-Williams et al. (1995) y Philip Molyneux (2004)

El radical DPPH• es una molécula estable, de color púrpura intenso, que presenta una absorbancia máxima a 517 nm. Al reaccionar con una sustancia antioxidante, el radical acepta un electrón o un átomo de hidrógeno, lo que reduce su estado y provoca un cambio de color de púrpura a amarillo pálido (Blois, 1958). Este cambio se cuantifica mediante espectrofotometría

UV-Vis, midiendo la disminución de absorbancia y relacionándola con la concentración del antioxidante.

Figura 8

DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante



Fuente. Alam et al. (2012)

La eficiencia de un antioxidante puede expresarse mediante diferentes parámetros, los cuales permiten evaluar su capacidad para neutralizar radicales libres. Entre las formas más comunes se encuentran:

- Porcentaje de inhibición (% de inhibición): Este parámetro mide la disminución de la absorbancia del radical DPPH• tras la incorporación de un antioxidante, en comparación con un control sin tratamiento. De esta manera, refleja la capacidad del compuesto para donar electrones o átomos de hidrógeno, favoreciendo la estabilización del radical libre (Brand-Williams et al., 1995).
- IC₅₀ (Concentración Inhibitoria Media): El IC₅₀ corresponde a la concentración de antioxidante requerida para inhibir el 50% de la actividad del radical libre DPPH•. Este parámetro es inversamente proporcional a la capacidad antioxidante, de modo que valores más bajos de IC₅₀ indican una mayor actividad antioxidante (Prior et al., 2005).

- TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity): Este parámetro expresa la capacidad antioxidante de la muestra en equivalentes de Trolox, un análogo hidrosoluble de la vitamina E utilizado como estándar antioxidante. El método TEAC se basa en la comparación de la eficacia de los compuestos evaluados con la capacidad del Trolox para neutralizar radicales libres (Miller et al., 1993).

El método DPPH ha demostrado ser especialmente útil en el análisis de aceites esenciales, donde la actividad antioxidante suele estar relacionada con la presencia de compuestos fenólicos (como el carvacrol o el timol) y monoterpenos oxigenados (Gülçin, 2023; Miguel, 2010). Además, se ha utilizado ampliamente en estudios de plantas de la familia Lamiaceae, debido a su alto contenido en metabolitos secundarios bioactivos (Aebisher et al., 2021).

Cabe resaltar que la efectividad del método DPPH puede verse afectada por factores como la solubilidad del extracto en el medio de reacción, el tiempo de incubación, y la naturaleza química de los compuestos presentes, por lo cual se recomienda realizar el ensayo bajo condiciones estandarizadas (Prior et al., 2005).

Diversos estudios han demostrado que los aceites esenciales de origen vegetal presentan una destacada capacidad antioxidante, particularmente aquellos con alto contenido de compuestos fenólicos y terpenoides. Por ejemplo, Charalampos et al. (2013) evaluaron aceites esenciales de diversas plantas mediante ensayos basados en radicales libres como DPPH y ABTS, observando una alta efectividad en la neutralización de especies reactivas de oxígeno (ROS). Estos hallazgos respaldan el potencial de los aceites esenciales como fuentes naturales de antioxidantes, con posibles aplicaciones en las industrias alimentaria, cosmética y farmacéutica.

La familia Lamiaceae destaca por su alta riqueza en metabolitos secundarios con reconocida actividad antioxidante, lo que la convierte en un grupo de especial interés en estudios fitoquímicos. Aebisher et al. (2021) identificaron que múltiples aceites esenciales de esta familia presentan una fuerte capacidad de captura de radicales libres, lo que se traduce en mezclas con propiedades antioxidantes destacables. Esta propiedad se asocia principalmente a la presencia de

compuestos como carvacrol, timol, trans-cariofileno y otros sesquiterpenos oxigenados, los cuales son característicos de géneros como *Origanum*, *Thymus*, *Mentha* y *Clinopodium*.

Estos resultados evidencian que la evaluación de la capacidad antioxidante mediante métodos como DPPH no solo permite determinar la actividad bioquímica de los aceites esenciales, sino que también sustenta su potencial aplicación como conservantes naturales y agentes funcionales en diversas industrias.

La capacidad antioxidante mediante el método DPPH se determina por espectrofotometría, evaluando la disminución de la absorbancia a 517 nm. Se considera que la reacción de estabilización del radical está mediada principalmente por un mecanismo de transferencia de electrones (TE), con una menor contribución del mecanismo de transferencia de átomos de hidrógeno (TAH).

Estas variaciones cromáticas del DPPH• se monitorean mediante espectrofotometría, permitiendo evaluar la capacidad antioxidante de las diferentes sustancias.

Los resultados pueden expresarse en términos de coeficiente de inhibición (CI50), porcentaje de absorción y miligramos por equivalente de Trolox o vitamina C, en comparación con los estándares (Lawrence, 1995).

Tabla 1

Rangos de Capacidad Antioxidante por el método TEAC- DPPH

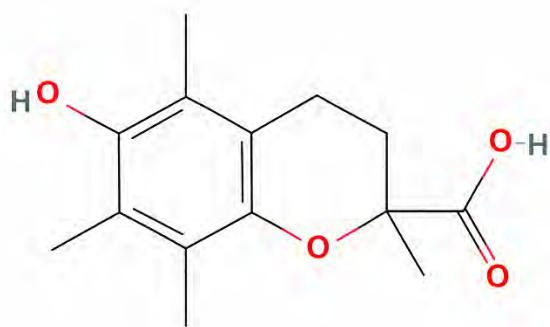
Capacidad Antioxidante	% de Inhibición	Equivalente de Trolox (TE)
Alta	> 70%	> 2 mM
Moderada	Entre 40% y 70%	0,5 - 2 mM
Baja	< 40%	< 0,5 mM

Fuente. (Re y otros, 1999)

El Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico; $C_{14}H_{18}O_4$) es un análogo hidrosoluble de la vitamina E ampliamente utilizado como patrón de referencia en la determinación de la capacidad antioxidante de extractos naturales y compuestos bioactivos. Su uso se debe a que presenta una estructura química similar al α -tocoferol, pero con la ventaja de ser soluble en medios acuosos, lo que facilita su aplicación en ensayos espectrofotométricos. Además, su alta estabilidad y reactividad reproducible frente a radicales libres permiten expresar los resultados de capacidad antioxidante en unidades equivalentes de Trolox (TEAC), proporcionando un estándar comparativo confiable entre diferentes muestras. Por ello, el Trolox se emplea comúnmente en métodos como DPPH, ABTS/TEAC y ORAC, donde actúa como antioxidante de referencia para cuantificar la eficacia de eliminación de radicales libres de la muestra analizada (Re et al., 1999; Prior et al., 2005; Floegel et al., 2011).

Figura 9

Estructura química del Trolox



Fuente. NCBI (2025)

2.3. Identificación y operacionalización de variables

Variable independiente

Aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda.

Indicadores:

- Porcentaje de rendimiento del aceite esencial.
- Propiedades fisicoquímicas: densidad, índice de refracción, índice de acidez, rotación óptica y solubilidad.
- Composición química determinada por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).

Variable dependiente

Capacidad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda.

Indicadores:

- Porcentaje de inhibición del radical DPPH.
- IC₅₀.
- TEAC.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1. Ámbito de estudio

Localización Geográfica

Localización : Cerro Arahua, Santiago, Cusco

Altitud : 3529 msnm

Latitud : -13.54028°

Longitud : -71.97478°

Figura 10

Localización Geográfica del Clinopodium Brevicalyx (Epling) Harley & A. Granda



Fuente. Google (s.f.).

3.2. Tipo y nivel de investigación

Tipo de investigación

El tipo de investigación fue Básica.

Nivel de investigación

El nivel de investigación fue **descriptivo**.

3.3. Unidad de análisis y Población de estudio

Unidad de análisis: Hojas de *Clinopodium brevicalyx*.

Población de estudio: Planta de *Clinopodium brevicalyx*.

3.4. Materiales, Reactivos y Equipos

Materiales

- Hojas frescas de *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda
- Bolsas de papel para recolección
- Viales de vidrio color ámbar (10 mL)
- Matraz Erlenmeyer (100 mL)
- Matraz aforado (50 y 100 mL)
- Balón de destilación (5 L)
- Pipetas graduadas y automáticas
- Jeringa de 2 mL
- Tubo óptico de polarímetro (1 dm, 10 mL)
- Papel aluminio (protección contra luz)

- Guantes de protección
- Etiquetas adhesivas para identificación

Equipos

- Tijeras de poda o cuchillo afilado
- Cámara fotográfica o cámara de celular
- GPS portátil
- Manta de calentamiento
- Equipo de destilación por arrastre de vapor acoplado a Clevenger
- Balanza analítica (precisión 0.0001 g)
- Picnómetro de 5 mL
- Refractómetro Abbe
- Polarímetro
- Cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas (GC-MS)
- Espectrofotómetro UV-Visible

Reactivos

- Agua destilada
- Etanol 40%, 70% y absoluto
- Metanol
- Acetona
- Acetato de etilo
- Cloroformo

- Hexano
- Heptano (para GC-MS)
- Hidróxido de potasio (KOH) 0.112 N
- Indicador fenolftaleína al 0.1%
- DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)
- Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico, C₁₄H₁₈O₄)
- Reactivos de calibración del refractómetro y polarímetro
- Etanol neutralizado (para titulación)

3.4.1. Selección de la materia prima vegetal del *Clinopodium brevicalyx*

Procedimiento

La especie *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda fue recolectada en enero de 2023, en la ciudad de Cusco, específicamente en el cerro Araguay, ubicado en el distrito de Santiago. La colecta se realizó en horas de la mañana, en el rango aproximado de 7:00 a. m. a 11:00 a. m., seleccionándose material foliar correspondiente a plantas adultas, con hojas enteras, verdes y aparentemente sanas.

La cantidad total de muestra vegetal recolectada fue de 11,169 kg, la cual fue acondicionada y trasladada al laboratorio para su posterior procesamiento y extracción del aceite esencial. Asimismo, se obtuvo un ejemplar botánico de referencia, el cual fue depositado en el Herbario Vargas CUZ de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco para su identificación taxonómica.

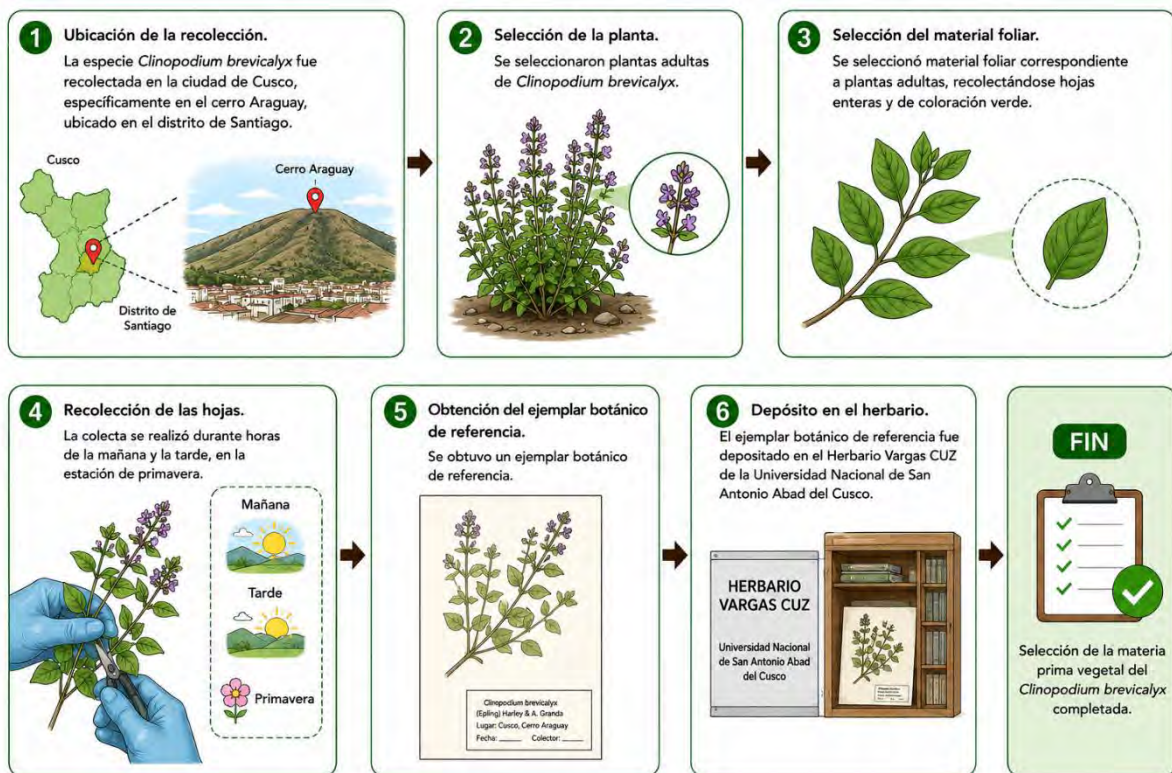
Herramientas de Recolección:

- Tijeras de poda o cuchillo afilado

- Guantes
- Bolsas de papel: Para almacenar las hojas recolectadas sin causar daño ni alterar su composición química.

Figura 11

Diagrama de flujo de selección de la materia prima vegetal del Clinopodium brevicalyx



Fuente. Propia

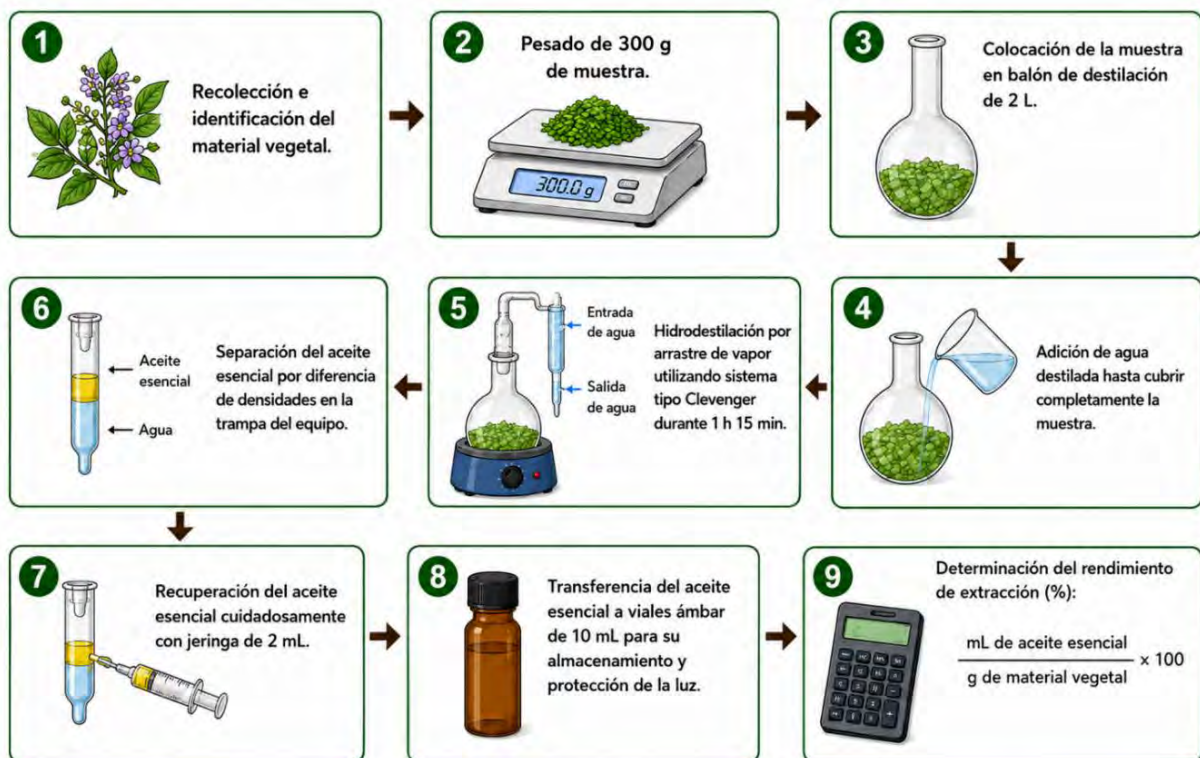
3.4.2. Extracción por Hidrodestilación con trampa de Clevenger

La extracción del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* se realizó mediante hidrodestilación por arrastre de vapor utilizando un sistema tipo Clevenger, considerado un método estándar para la determinación de aceites esenciales a escala de laboratorio. Para ello, se empleó un balón de destilación de 2 L acondicionado con manta de calentamiento, en el cual se introdujeron 300 g de material vegetal previamente identificado, seleccionado y pesado, adicionándose posteriormente agua destilada hasta cubrir completamente la muestra. El proceso de destilación se llevó a cabo durante un tiempo aproximado de una hora y quince minutos, permitiendo la separación del aceite esencial por diferencia de densidades en la trampa del equipo. Se realizaron varias destilaciones sucesivas hasta lograr el volumen deseado, el cual permitió posteriormente llevar a cabo los análisis fisicoquímicos, cromatográficos y de capacidad antioxidante. Finalizada la extracción, el aceite esencial fue recuperado cuidadosamente mediante una jeringa de 2 mL y transferido a viales de vidrio color ámbar de 10 mL para su almacenamiento y protección frente a la luz, siguiendo las recomendaciones descritas por Stashenko et al. (2010). El rendimiento de extracción se determinó en función del volumen de aceite esencial obtenido respecto al peso del material vegetal empleado, expresándose como porcentaje mediante la relación entre los mililitros de aceite esencial y los gramos de muestra vegetal, multiplicado por cien.

$$\% \text{ Extracción} = \frac{\text{mL de aceite esencial}}{\text{Peso en gramos del material vegetal}} \times 100$$

Figura 12

Diagrama de flujo de la extracción del aceite esencial de Clinopodium brevicalyx mediante hidrodestilación por arrastre de vapor utilizando un sistema tipo Clevenger.



Fuente. Propia

3.4.3. Caracterización fisicoquímica del AE de *Clinopodium brevicalyx*

3.4.3.1. Caracterización organoléptica

La caracterización organoléptica del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* se realizó mediante un análisis sensorial descriptivo basado en evaluación directa, considerando las propiedades perceptibles a través de los sentidos, tales como color, olor, sabor y aspecto general, las cuales constituyen parámetros fundamentales en la evaluación de calidad de aceites esenciales

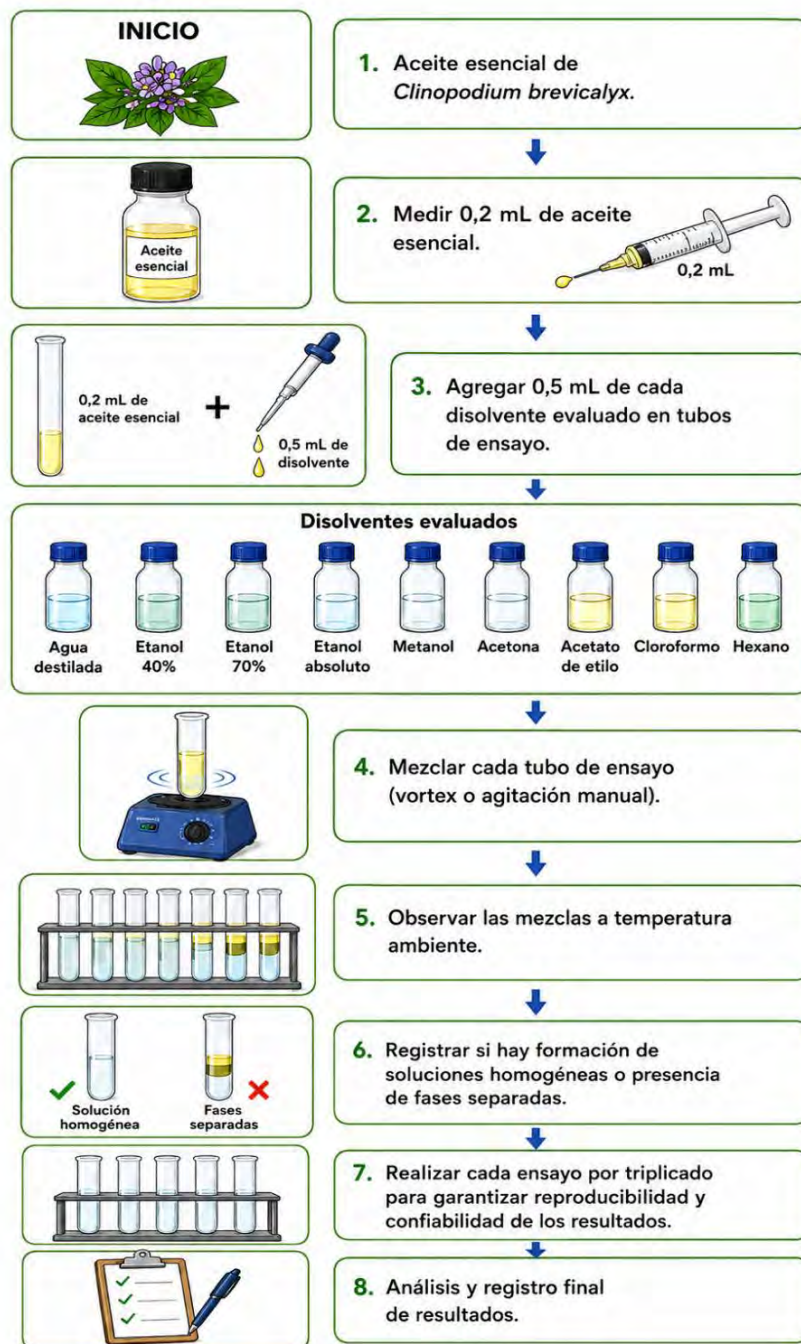
(Meilgaard et al., 2007). La evaluación se llevó a cabo en un ambiente libre de olores interferentes, lo que permitió una observación visual detallada del color, grado de transparencia y características físicas del aceite. Posteriormente, se efectuó la valoración olfativa mediante tiras impregnadas con la muestra, registrándose las notas aromáticas predominantes, así como su intensidad y persistencia. De manera complementaria, se realizó una evaluación gustativa controlada únicamente cuando las condiciones de seguridad lo permitieron, con el fin de identificar características sensoriales adicionales. Todas las observaciones fueron consignadas en una bitácora sensorial para su análisis comparativo con otros aceites esenciales reportados en la literatura. Finalmente, las muestras fueron conservadas en viales de vidrio color ámbar bajo condiciones adecuadas de almacenamiento para prevenir su degradación, siguiendo metodologías descritas por Stashenko et al. (2014), Miguel (2010) y Hazzoumi et al. (2022).

3.4.3.2. Prueba de solubilidad

La prueba de solubilidad del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* se realizó con el propósito de evaluar su comportamiento frente a diferentes disolventes, considerando que la solubilidad está directamente relacionada con la composición química y la polaridad de los terpenos presentes en el aceite esencial, los cuales influyen en la formación de mezclas homogéneas (Rodas, 2012). El ensayo se efectuó siguiendo los lineamientos establecidos en la Norma INDECOPI 319.084, empleando el método de solubilidad en distintos disolventes. Para ello, se mezclaron 0,2 mL de aceite esencial con 0.5 mL de cada disolvente evaluado, incluyendo agua destilada, etanol al 40%, etanol al 70%, etanol absoluto, metanol, acetona, acetato de etilo, cloroformo y hexano. Las mezclas fueron observadas a temperatura ambiente, registrándose la formación de soluciones homogéneas o la presencia de fases separadas. Todos los ensayos se realizaron por triplicado con el fin de garantizar la reproducibilidad y confiabilidad de los resultados.

Figura 13

Diagrama de flujo de la prueba de solubilidad del aceite esencial de Clinopodium brevicalyx



Fuente. Propia

3.4.3.3. Determinación de la densidad

La determinación de la densidad relativa del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* se realizó conforme a la Norma Técnica Peruana NTP-ISO 279 (INDECOPI), empleando el método picnométrico. Para ello, se utilizó un picnómetro seco de 5 mL previamente calibrado, el cual fue pesado vacío en una balanza analítica con precisión de 0,0001 g. Posteriormente, el picnómetro fue llenado cuidadosamente con el aceite esencial, evitando la formación de burbujas de aire, y se registró la masa del sistema. Del mismo modo, se determinó la masa del picnómetro lleno con agua destilada, manteniendo las mismas condiciones de temperatura. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado con la finalidad de asegurar la precisión y reproducibilidad de los resultados.

Finalmente, la densidad relativa se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Densidad Relativa} = \frac{\rho_{\text{sustancia}}}{\rho_{\text{agua}}}$$

Donde:

$\rho_{\text{sustancia}}$: densidad del aceite esencial

ρ_{agua} : densidad del agua a la misma temperatura

La densidad relativa es una magnitud adimensional, ya que corresponde al cociente entre dos densidades.

Figura 14

Diagrama de flujo para la determinación de la densidad del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx*



Fuente. Propia

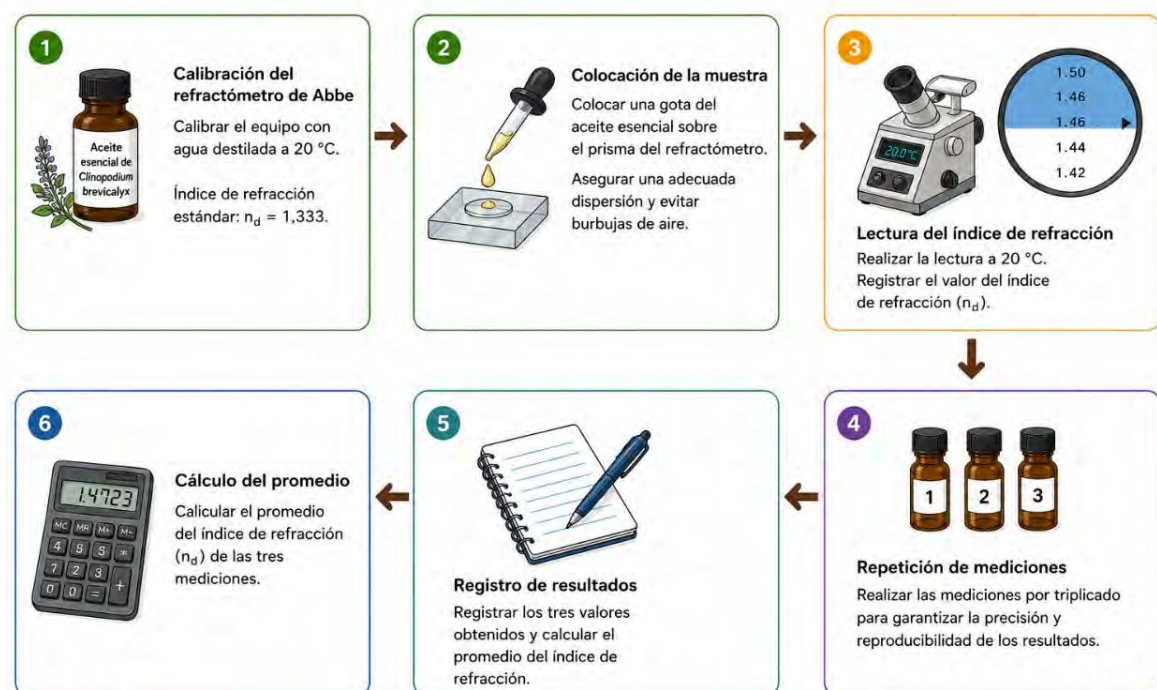
3.4.3.4. Determinación de índice de refracción

La determinación del índice de refracción del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* se realizó conforme a la Norma Técnica Peruana NTP-ISO 280 (INDECOPI), utilizando el método del refractómetro de Abbe. El equipo fue previamente calibrado con agua destilada a 20 °C, considerando un índice de refracción estándar de $n_D = 1,333$. Posteriormente, se colocó una gota del aceite esencial sobre el prisma del instrumento, asegurando una adecuada dispersión de la muestra y evitando la presencia de burbujas de aire. La lectura del índice de refracción se efectuó a 20 °C, registrándose el valor correspondiente para cada determinación. Las mediciones

se realizaron por triplicado con el fin de garantizar la precisión y reproducibilidad de los resultados, siguiendo los criterios metodológicos descritos por Kesterson et al. (1971).

Figura 15

*Diagrama de flujo para la determinación del índice de refracción del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx**



Fuente. Propia

3.4.3.5. Determinación del Índice de Acidez

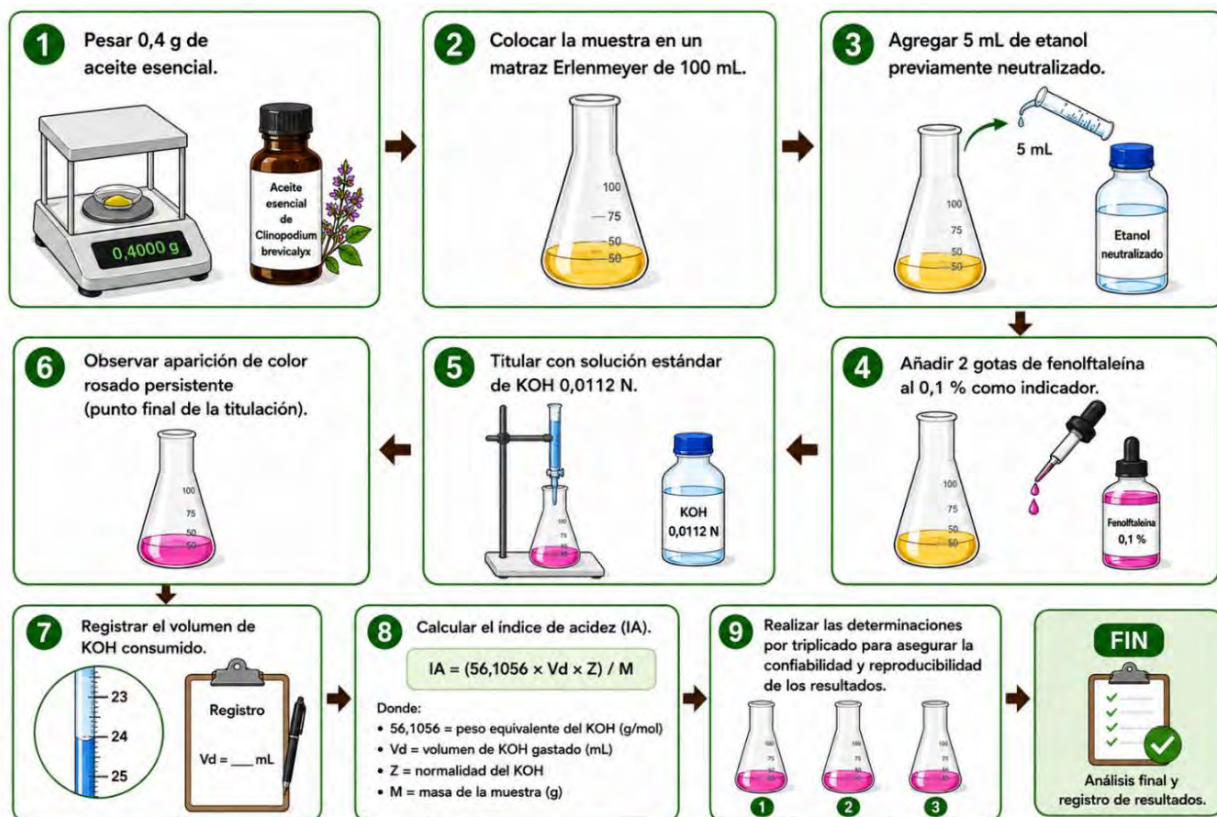
La determinación del índice de acidez del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* se realizó conforme a la Norma INDECOPI 319.085, mediante el método volumétrico de titulación ácido–base. Para ello, se pesaron 0,4 g de muestra en un matraz Erlenmeyer de 100 mL, a los cuales se adicionaron 5 mL de etanol previamente neutralizado. Posteriormente, se incorporaron dos gotas de fenolftaleína al 0,1% como indicador y la mezcla fue titulada con una solución estándar de hidróxido de potasio (KOH) 0,0112 N hasta observar la aparición de una coloración rosada persistente, indicativa del punto final de la reacción. El índice de acidez (IA) se calculó empleando la relación entre el volumen de KOH consumido, su concentración normal y la masa de la muestra analizada, de acuerdo con la expresión:

$$IA = \frac{\text{Meq de KOH} \times V_g \times Z}{M}$$

donde 56,1056 corresponde al peso equivalente del KOH (g/mol), V_g es el volumen de KOH gastado en la titulación (mL), Z es la normalidad de la solución de KOH y M es la masa de la muestra expresada en gramos. Las determinaciones se realizaron por triplicado con el fin de asegurar la confiabilidad y reproducibilidad de los resultados.

Figura 16

Diagrama de flujo para la determinación del índice de acidez del aceite esencial de Clinopodium brevicalyx



Fuente. Propia

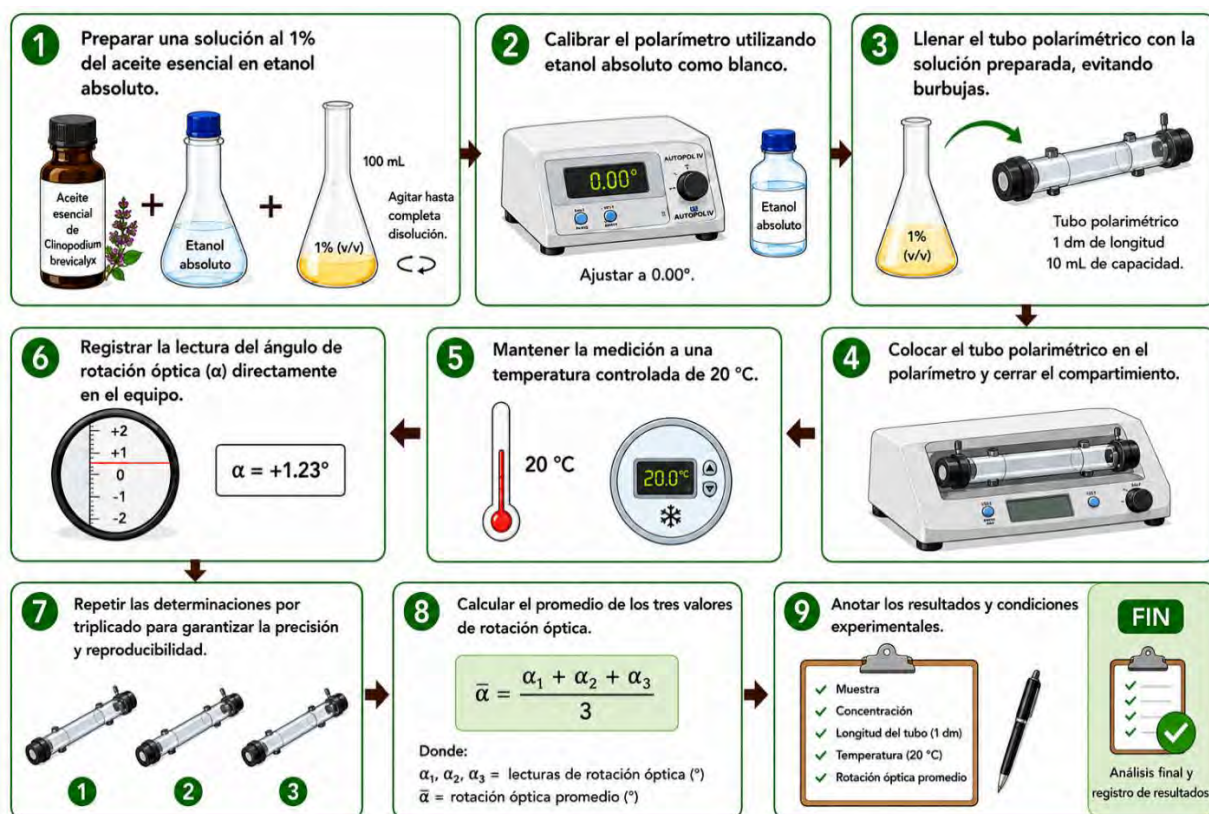
3.4.3.6. Determinación de la rotación óptica

La determinación de la rotación óptica del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* se realizó mediante el método de polarimetría. Para ello, se preparó una solución al 1% del aceite esencial en etanol absoluto, asegurando su completa disolución. El polarímetro fue previamente calibrado utilizando etanol absoluto como blanco. Posteriormente, la solución fue introducida en un tubo polarimétrico de 1 dm de longitud y 10 mL de capacidad, manteniéndose la medición a una temperatura controlada de 20 °C. La lectura del ángulo de rotación óptica (α) se registró

directamente en el equipo. Las determinaciones se efectuaron por triplicado para garantizar la precisión y reproducibilidad de los resultados, conforme a los fundamentos descritos por Serway (2008).

Figura 17

Diagrama de flujo para la determinación de la rotación óptica del aceite esencial de Clinopodium brevicalyx



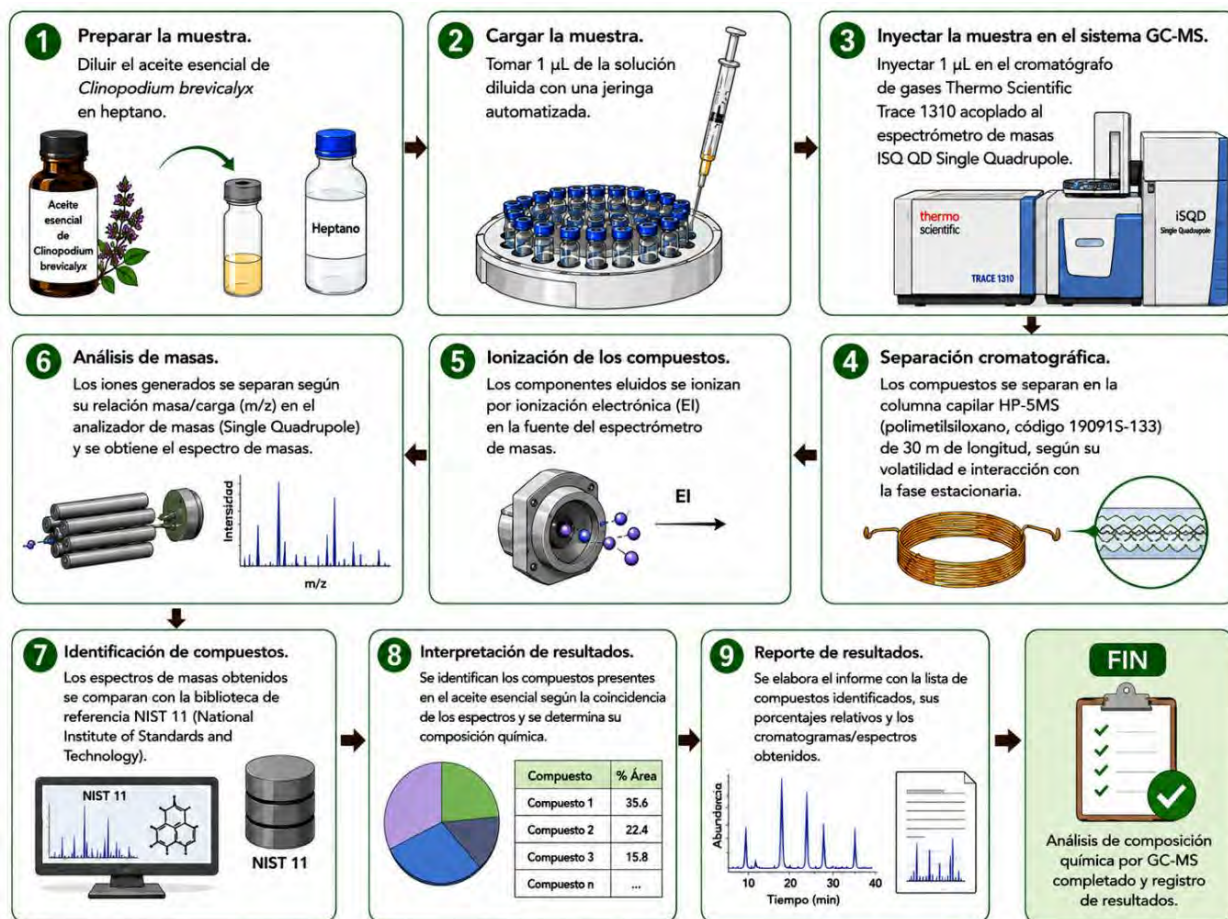
Fuente. Propia

3.4.4. Análisis de Composición Química por Cromatografía de Gases Acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS)

El análisis de la composición química del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* se realizó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Las determinaciones se llevaron a cabo en el Laboratorio de Fitoquímica de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, utilizando un cromatógrafo de gases Thermo Scientific Trace 1310 acoplado a un espectrómetro de masas ISQ QD Single Quadrupole. Se empleó una columna capilar HP-5MS (polimetilsiloxano, código 19091S-133) de 30 m de longitud, adecuada para la separación de compuestos orgánicos volátiles. Para el análisis, el aceite esencial fue previamente diluido en heptano y se inyectó un volumen de 1 μL en el sistema cromatográfico. La separación de los componentes se efectuó en función de su volatilidad e interacción con la fase estacionaria de la columna, mientras que la identificación se realizó mediante el análisis de los espectros de masas obtenidos, evaluando la relación masa/carga (m/z) de los fragmentos generados por ionización electrónica. Los compuestos fueron identificados mediante comparación de sus espectros con la biblioteca de referencia NIST 11 (National Institute of Standards and Technology). El procedimiento se fundamentó en los principios descritos por Harrison (1992) y Gutiérrez-Bouzáin y Droguet (2002), quienes destacan la eficacia del acoplamiento GC-MS en la caracterización de mezclas complejas de compuestos volátiles.

Figura 18

Diagrama de flujo del procedimiento para la determinación de la composición química por Cromatografía de Gases Acoplada a Espectrometría de Masas



Fuente. Propia

3.4.5. Evaluación de la capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* fue evaluada mediante el método del radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), siguiendo la metodología descrita por Brand-Williams et al. (1995), con adaptaciones específicas para el presente estudio. Se preparó una solución de DPPH a una concentración de 0,06 mM, disolviendo 2,3 mg del reactivo en 100 mL de metanol. La solución, caracterizada por su color púrpura intenso, fue protegida de la luz mediante envoltura con papel aluminio y utilizada dentro de las 12 horas posteriores a su preparación para garantizar su estabilidad. El aceite esencial fue disuelto en metanol y se prepararon cuatro diluciones en proporciones 1:9, 1:4, 1:2 y 1:1, obteniéndose diferentes concentraciones de la muestra. Cada dilución fue mezclada con 2,5 mL de la solución de DPPH y la reacción se mantuvo durante 60 minutos en condiciones de oscuridad para evitar la fotodegradación del radical.

De manera paralela, se preparó el antioxidante patrón Trolox a partir de una solución madre de 2 mM en metanol, a partir de la cual se obtuvieron diluciones de 0,05; 0,10; 0,50 y 1,00 mM. Las soluciones estándar fueron tratadas bajo las mismas condiciones experimentales que las muestras, mezclándose con la solución de DPPH y manteniéndose en oscuridad durante 60 minutos. Transcurrido el tiempo de reacción, se registró la absorbancia de las muestras y de los estándares a 517 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Visible. Asimismo, se determinó la absorbancia inicial de la solución de DPPH sin muestra, empleada como control.

El porcentaje de inhibición del radical DPPH se calculó mediante la expresión:

$$\% \text{ de Inhibición} = \frac{A_0 - A_f}{A_0} \times 100$$

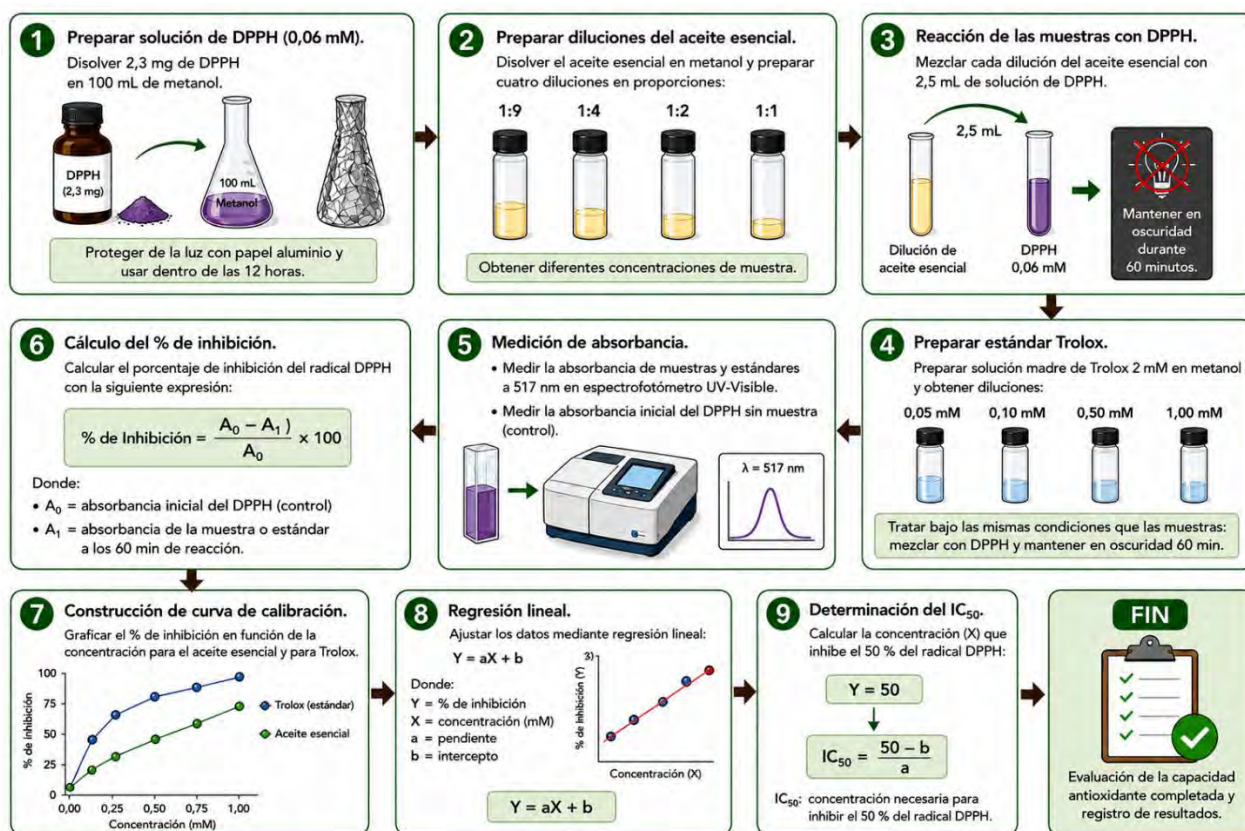
donde A_0 corresponde a la absorbancia inicial del DPPH (control) y A_f a la absorbancia registrada a los 60 minutos de reacción en presencia de la muestra.

Para la determinación del IC_{50} , se construyó una curva de calibración graficando el porcentaje de inhibición en función de la concentración del aceite esencial y del Trolox. Los

datos experimentales fueron ajustados mediante regresión lineal de la forma $Y=aX+b$, donde X representa la concentración necesaria para inhibir el 50 % del radical DPPH. El valor de IC_{50} se determinó a partir de la ecuación obtenida, permitiendo cuantificar la eficacia antioxidante de la muestra como la concentración requerida para reducir en un 50 % la absorbancia del radical libre.

Figura 19

Diagrama de flujo del procedimiento para la determinación de la evaluación de la capacidad antioxidante



Fuente. Propia

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Porcentaje de Extracción del aceite esencial

En la Tabla 2, se muestra el porcentaje de extracción del aceite esencial.

Tabla 2

Rendimiento de extracción del aceite esencial de Clinopodium brevicalyx según volumen de AE obtenido por balón

Extracto	Peso muestra (g)	Volumen extraído de AE (mL)	% de Extracción
1	303,638	0,163	0,054
2	243,141	0,163	0,067
3	301,370	0,163	0,054
4	284,037	0,163	0,057
5	279,289	0,163	0,058
6	282,002	0,163	0,058
7	282,843	0,163	0,057
8	291,216	0,163	0,056

9	279,477	0,167	0,060
10	293,633	0,167	0,057
11	275,579	0,167	0,060
12	288,952	0,167	0,058
13	254,322	0,167	0,066
14	300,634	0,167	0,055
15	305,079	0,167	0,055
16	244,858	0,167	0,068
17	345,934	0,167	0,048
18	298,205	0,250	0,084
19	302,817	0,250	0,083
20	347,738	0,250	0,072
21	350,882	0,250	0,071
22	304,279	0,100	0,033
23	304,497	0,100	0,033
24	311,902	0,100	0,032
25	306,307	0,100	0,033

26	315,527	0,100	0,032
27	317,849	0,100	0,031
28	334,377	0,100	0,030
29	309,951	0,100	0,032
30	315,186	0,100	0,032
31	316,198	0,100	0,032
32	301,018	0,217	0,072
33	318,839	0,217	0,068
34	320,670	0,217	0,068
35	306,614	0,217	0,071
36	302,571	0,217	0,072
37	328,348	0,217	0,066
Totales y promedio	11,169 (kg)	6,101	0.055±0.026

Fuente. Propia

En el presente estudio, el porcentaje de extracción promedio de aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* fue de 0.055±0.026 %, lo que evidencia una variabilidad moderada entre las extracciones realizadas. Este valor se encuentra dentro del rango reportado para otras especies del género *Clinopodium* y, en general, de la familia Lamiaceae, caracterizadas por presentar bajos contenidos de aceites esenciales.

Por ejemplo, *Clinopodium bolivianum* ha mostrado rendimientos entre 0,04% y 0,09% (Obispo-Huamani et al., 2025), mientras que *Clinopodium nubigenum* presenta valores similares, lo que confirma que el bajo porcentaje de extracción es una característica común en este grupo de plantas altoandinas.

En contraste, especies con una mayor densidad de tricomas glandulares, como *Origanum vulgare* (orégano) y *Thymus vulgaris* (tomillo), presentan rendimientos considerablemente más altos, que oscilan entre 0,3% y 1,5% (Burt, 2004; Guimarães et al., 2013). En este contexto, el rendimiento obtenido para *C. brevicalyx* puede considerarse bajo en comparación con estas especies ampliamente utilizadas en el ámbito culinario y medicinal. No obstante, este comportamiento resulta esperable en plantas altoandinas, donde factores ambientales como la altitud, la radiación solar y el contenido de humedad influyen de manera directa en la biosíntesis de metabolitos secundarios.

Respecto al método de extracción, se empleó la hidrodestilación mediante aparato de Clevenger, considerada un método estándar y ampliamente recomendado para la determinación de aceites esenciales en laboratorio (Lawrence, 1995). Este método destaca por su reproducibilidad, bajo costo y validación en múltiples estudios. No obstante, presenta ciertas limitaciones, ya que las altas temperaturas y los tiempos prolongados de destilación pueden provocar la degradación de compuestos termolábiles, afectando la composición final del aceite (Stashenko, 2009).

Alternativamente, técnicas como la extracción con fluidos supercríticos (CO₂) o la extracción asistida por microondas permiten obtener mayores rendimientos y una mejor preservación de compuestos sensibles (Bajpai et al., 2012; Hyldgaard et al., 2012), aunque requieren equipamiento especializado y de mayor costo. En este contexto, la hidrodestilación sigue siendo una técnica adecuada para estudios exploratorios y comparativos en especies nativas.

En conclusión, el rendimiento de extracción obtenido ($0,061 \pm 0,019$ %) es bajo, pero consistente con lo reportado para especies del género *Clinopodium* y la familia Lamiaceae.

Asimismo, el método de hidrodestilación empleado resulta apropiado para este tipo de estudio, aunque futuras investigaciones podrían explorar técnicas alternativas que optimicen la recuperación de compuestos volátiles y mejoren la calidad del aceite esencial.

4.2. Pruebas de solubilidad del Aceite Esencial *Clinopodium brevicalyx*

En la tabla 3 se puede observar la solubilidad que presenta el aceite esencial con diferentes solventes.

Tabla 3

*Solubilidad del AE de *Clinopodium brevicalyx**

Solvente	Solubilidad
H ₂ O (Agua destilada)	- - -
Etanol 50%	- - -
Etanol 70%	+ - -
Etanol 96%	+ + +
Etanol absoluto	+ + -
Metanol	+ + -
Acetona	+ + +
Cloroformo	+ + +
Hexano	+ + +

Fuente. Propia donde la solubilidad fue expresada mediante una escala cualitativa de cruces,

adaptada de Mendoza-León et al. (2022): (- - -) no soluble, (+ - -) ligeramente soluble, (+ + -) soluble y (+ + +) muy soluble.

La prueba de solubilidad del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* evidenció un comportamiento característico de aceites esenciales ricos en compuestos de naturaleza lipofílica. Como se observa en la Tabla 3, el aceite esencial fue insoluble en agua destilada y en etanol al 50%, ligeramente soluble en etanol al 70%, soluble en etanol absoluto y metanol, y muy soluble en etanol al 96%, acetona, cloroformo y hexano.

La diferencia de solubilidad observada se relaciona directamente con la polaridad de los solventes y con la composición química del aceite esencial. El agua, al ser un solvente altamente polar, no favorece la disolución de compuestos mayoritariamente apolares o de baja polaridad, como los hidrocarburos terpénicos presentes en el aceite esencial. Por ello, la muestra no presentó solubilidad en agua destilada. De manera similar, el etanol al 50%, al contener una elevada proporción de agua, mantiene un carácter polar considerable, lo que limita la interacción con los componentes lipofílicos del aceite esencial.

En cambio, al aumentar la concentración de etanol, disminuye la proporción de agua en el sistema y aumenta la afinidad del solvente por compuestos orgánicos de baja y mediana polaridad. Por esta razón, el aceite esencial mostró ligera solubilidad en etanol al 70%, mayor solubilidad en etanol absoluto y muy buena solubilidad en etanol al 96%. Este comportamiento confirma el principio químico de “lo semejante disuelve a lo semejante”, ya que los compuestos terpénicos del aceite esencial presentan mayor afinidad por solventes orgánicos que por solventes acuosos.

El uso de agua destilada, etanol al 50% y etanol al 70% como primeros solventes permitió evaluar el comportamiento del aceite esencial frente a medios de polaridad alta e hidroalcohólica, los cuales son importantes para conocer su posible dispersión o incorporación en sistemas acuosos, extractos hidroalcohólicos o formulaciones de uso farmacéutico, cosmético y alimentario. Estos solventes iniciales también permitieron observar cómo la disminución progresiva de la polaridad del medio favorece la solubilización del aceite esencial.

La alta solubilidad observada en solventes orgánicos como acetona, cloroformo y hexano confirma la naturaleza hidrofóbica del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx*. Este comportamiento puede atribuirse a la presencia predominante de hidrocarburos sesquiterpénicos como trans-cariofileno, γ -elemeno y germacreno-D, así como al monoterpeno fenólico carvacrol. Aunque el carvacrol posee un grupo hidroxilo fenólico, su estructura aromática y su cadena hidrocarbonada le confieren un carácter mayormente lipofílico, contribuyendo a la baja solubilidad del aceite en agua y a su mayor afinidad por solventes orgánicos.

Estos resultados son consistentes con lo reportado para otros aceites esenciales de la familia Lamiaceae, como *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris* y *Mentha piperita*, los cuales presentan baja solubilidad en agua y alta solubilidad en solventes orgánicos debido a su composición rica en monoterpenos, sesquiterpenos y compuestos oxigenados de naturaleza lipofílica (Burt, 2004; Guimarães et al., 2013; Miguel, 2010).

4.3. Caracterización fisicoquímica del AE de *Clinopodium brevicalyx*

Tabla 4

Características físicas y fisicoquímicas del AE de Clinopodium brevicalyx

Propiedad	Unidades	Promedio
Color	- - -	Líquido translucido ligeramente amarillento.
Olor	- - -	Líquido con olor característico.
Sabor	- - -	Líquido Astringente.
Aspecto	- - -	Líquido aceitoso y oleoso.
Densidad	g /mL	$0,932 \pm 0,00005$
Índice de refracción	Grados	$1,715 \pm 0,00000$
Índice de acidez	mg KOH / g	$1,4817 \pm 0,00005$
Rotación óptica	Grados	$-0,143 \pm 0,00205$

Fuente. Propia

Las propiedades fisicoquímicas del AE de *Clinopodium brevicalyx* (tabla 4), son consistentes con las de otros aceites esenciales de la familia Lamiaceae. La densidad obtenida (0,932 g/mL) se encuentra dentro del rango típico reportado para aceites de *Origanum vulgare* y *Mentha piperita* (Guimarães et al., 2013; Burt, 2004). El índice de refracción (1,715) destaca como superior al promedio observado en aceites esenciales, lo que refleja la elevada presencia de sesquiterpenos y compuestos con dobles enlaces, como trans-caryophyllene y γ -elemene (Adams, 2007; Sánchez et al., 2019). La rotación óptica levemente negativa ($-0,143^\circ$) sugiere una composición

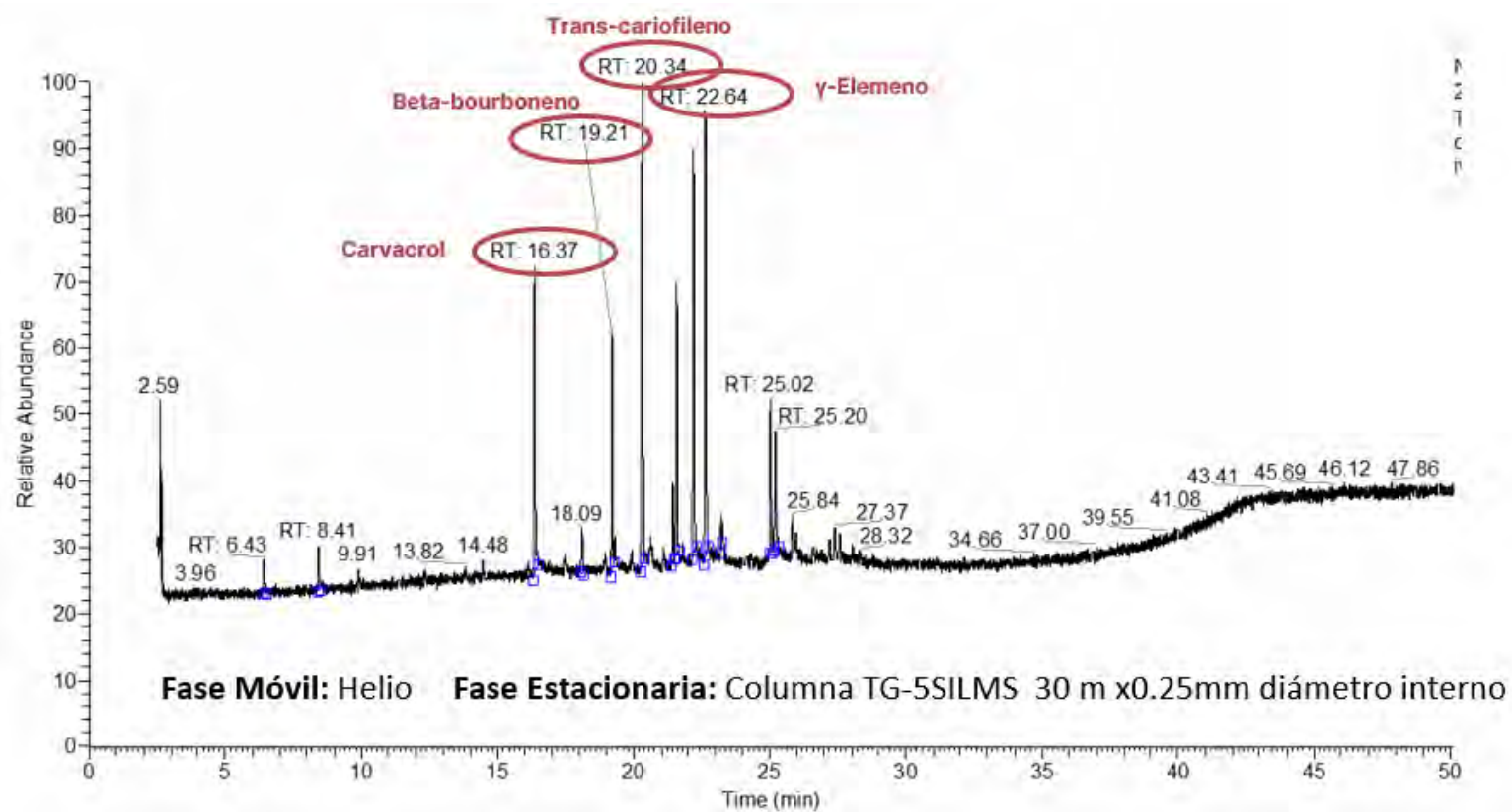
equilibrada de enantiómeros, situación que también se observa en aceites de *Thymus vulgaris* y otras especies de la familia (Dob et al., 2005; Adams, 2007). Estos resultados evidencian que el aceite esencial presenta características típicas de la familia Lamiaceae; sin embargo, también muestra particularidades que podrían estar relacionadas con su perfil fitoquímico específico.

En comparación con el estudio realizado por Nieve (2018) en *Clinopodium weberbaueri*, donde se reportó una densidad de 0,886 g/mL, un índice de refracción de 1,537 y un índice de acidez de 2,204 mg KOH/g, el aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* obtenido en la presente investigación presentó valores de densidad ligeramente mayor (0,932 g/mL), índice de refracción más elevado (1,715) y menor índice de acidez (1,4817 mg KOH/g). Estas diferencias pueden atribuirse a variaciones en la especie vegetal, las condiciones ambientales y el método de extracción. No obstante, ambos estudios evidencian características fisicoquímicas típicas de aceites esenciales pertenecientes a la familia Lamiaceae, confirmando la naturaleza volátil, estabilidad química y el potencial bioactivo de los aceites esenciales del género *Clinopodium*.

4.4. Perfil cromatográfico del AE de *Clinopodium brevicalyx*

Figura 20

Cromatograma de los componentes detectados por GC-MS del AE de Clinopodium brevicalyx



Fuente. Reporte instrumental GC-MS

El análisis cromatográfico por GC-MS (Figura 20) del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* reveló una mezcla compleja de compuestos mayoritariamente presentes entre los tiempos de retención RT 16,37 a 25,20 minutos, con picos prominentes en RT 20,34 y 22,64. Estos datos sugieren una alta concentración de monoterpenos oxigenados como pulegona, menthofurano e isopulegona, además de sesquiterpenos como (E)- β -cariofileno y germacreno D, que han sido identificados como principales constituyentes en especies como *Clinopodium taxifolium* y *C. nubigenum* (Espinosa et al., 2020).

4.5. Composición Química del AE de *Clinopodium brevicalyx*

De acuerdo con el perfil cromatográfico de los componentes detectados por GC-MS (Figura 21), se relacionan los 15 componentes del AE de *Clinopodium brevicalyx* (Tabla 5). Se destaca el Trans-caryophyllene (18,69%), γ -Elemene (16,41%), Germacrene-D (14,8%), Carvacrol (11,71%), Aromadendrene (9,44%), Beta-bourbonene (8,43%), 12,15-Octadecadiynoic acid, methyl ester (5,74%) y E, E- α -farnesene (2,98%).

Tabla 5

Composición y concentración (%) del AE de Clinopodium brevicalyx

Nº	Compuestos	RT	%
1	NI	25,20	5,68
2	Ester metílico del ácido 12,15 octadecadiinoico	25,02	5,74
3	NI	23,23	0,75
4	γ -Elemeno	22,64	16,41

5	Germacreno-D	22,520	14,80
6	Aromadendreno	21,57	9,44
7	E, E- α -farneseno	21,42	2,98
8	NI	20,64	0,53
9	Trans-cariofileno	20,34	18,69
10	Beta-bourboneno	19,21	8,43
11	NI	18,10	1,71
12	NI	17,50	0,15
13	Carvacrol	16,37	11,71
14	NI	8,41	1,78
15	NI	6,43	1,20

Nota. NI: No Identificado, RT: Tiempo de retención, %: Porcentaje de abundancia.

Fuente. Propia

El análisis cromatográfico revela que el AE de *Clinopodium brevicalyx* está compuesto mayoritariamente por hidrocarburos sesquiterpénicos, destacando los siguientes compuestos:

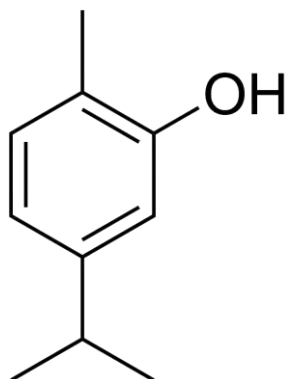
- Trans-cariofileno (18,69%)
- γ -Elemeno (16,41%)
- Germacreno -D (14,80%)
- Carvacrol (11,71%)
- Aromadendreno (9,44%)
- Beta-bourboneno (8,43%)

Estos seis compuestos representan aproximadamente 79,48% del aceite esencial total.

El análisis cromatográfico del aceite esencial mostró la presencia de compuestos mayoritarios como trans-cariofileno con 18,69% (figura 21), γ -elemeno con 16,41% y germacreno -D con 14,8%, característicos de hidrocarburos sesquiterpénicos. Estos compuestos presentan baja reactividad frente a radicales libres, debido a la ausencia de grupos funcionales hidroxilos fenólicos (Miguel, 2010; Guimarães et al., 2023).

Figura 21

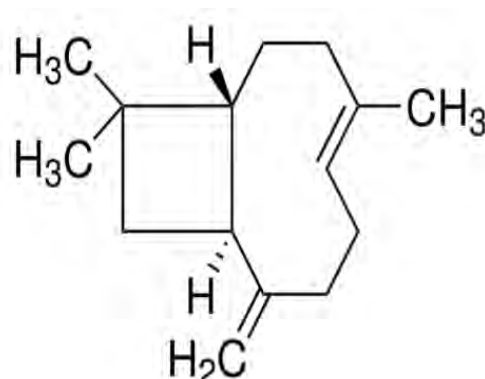
Estructura química del carvacrol



Fuente. (Merck, 2025)

Figura 22

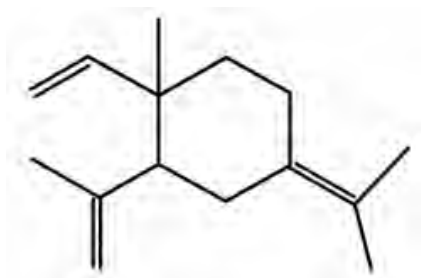
Estructura química del (-)-trans-cariofileno



Fuente. (NIST, 2025)

Figura 23

Estructura química del γ -Elemeno



Fuente. (García-García & Palou-García, 2008)

La presencia de sesquiterpenos como β -cariofileno, germacreno-D y otros hidrocarburos oxigenados en el aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* coincide con lo reportado para especies aromáticas de la familia Lamiaceae, tales como *Ocimum gratissimum* y *Pogostemon cablin*, en las que se han descrito perfiles ricos en estos compuestos y se les ha atribuido actividad biológica relevante (Joshi, 2013; Sundaresan et al., 2009; Swamy et al., 2015). De forma similar, aceites de gramíneas aromáticas como *Cymbopogon giganteus* han mostrado mezclas de monoterpenos y sesquiterpenos con actividad antimicrobiana (Bassolé et al., 2011; Menut et al., 2000). En comparación, aceites con alto contenido de carvacrol y timol, como los de *Origanum vulgare* y *Thymus vulgaris*, destacan especialmente por su elevada capacidad antioxidante y antimicrobiana (Burt, 2004; Marchese et al., 2016).

Cromatograma y espectro GC-MS del compuesto trans-Cariofileno presente en el AE de *Clinopodium brevicalyx*

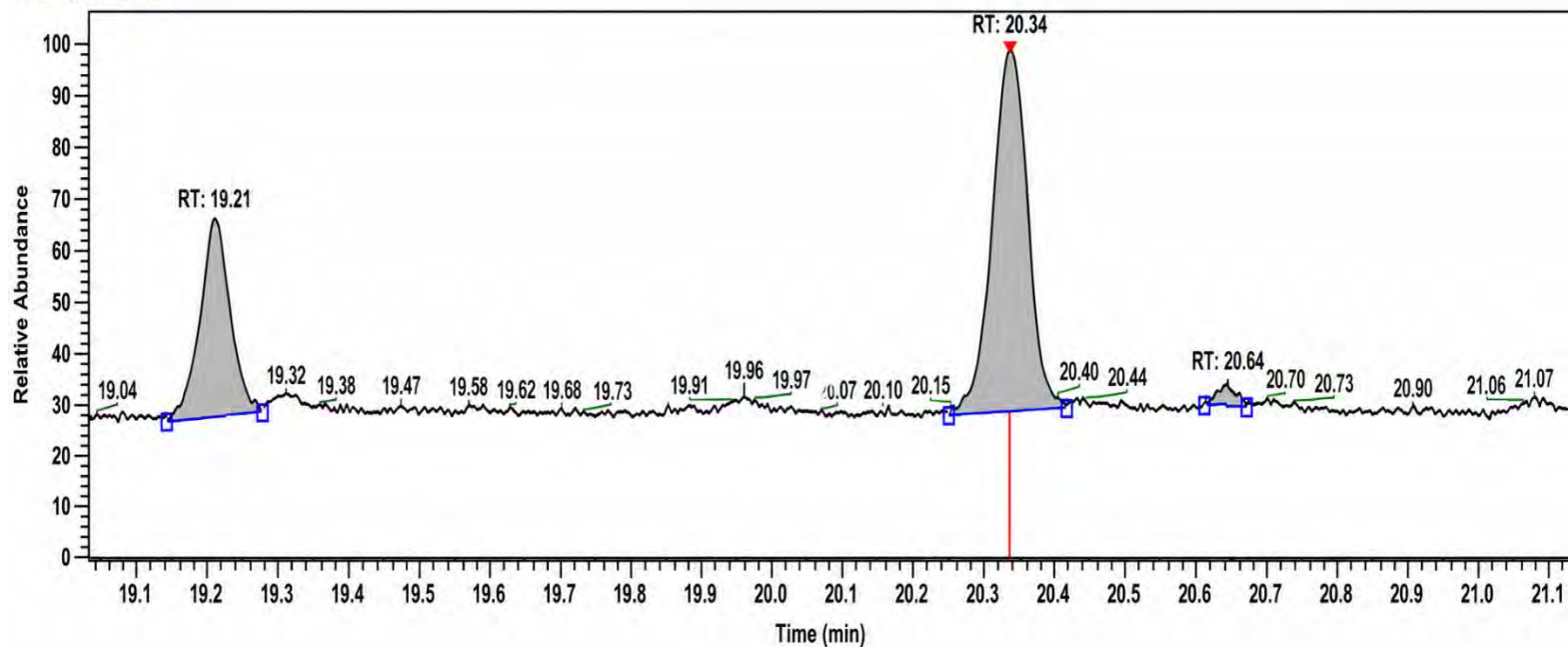
En la Figura 24 se presenta el resultado del análisis mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx*, específicamente correspondiente al compuesto trans-Cariofileno. Esta técnica permite identificar y cuantificar compuestos volátiles a partir de su tiempo de retención y su patrón de fragmentación molecular (Harrison, 1992; Gutiérrez-Bouzán & Droguet, 2002).

En el cromatograma (parte superior), el eje X corresponde al tiempo de retención (RT) expresado en minutos, mientras que el eje Y representa la abundancia relativa de los compuestos. El trans-cariofileno se identifica como el pico predominante a un RT de 20,34 min, precedido por un pico de menor intensidad a 19,21 min, lo que podría indicar la presencia de isómeros estructurales o un fenómeno de coelución. La mayor área bajo el pico a 20,34 min sugiere una mayor concentración relativa de este compuesto en la muestra analizada.

Figura 24

Cromatograma GC del trans-Cariofileno presente en la muestra de AE de Clinopodium brevicalyx

RT: 19.03 - 21.12



Nota. El eje X representa el tiempo de retención (RT, min) y el eje Y la abundancia relativa normalizada. El pico base a RT = 20,34 min corresponde al trans-cariofileno, confirmado mediante su tiempo de retención y comparación espectral (NIST). *Fuente.* Reporte instrumental GC-MS

Espectro de masas del trans-Cariofileno presente en el AE de Clinopodium brevicalyx

La Figura 25 presenta el espectro de masas del trans-cariofileno identificado en el aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx*. Durante el análisis por GC-MS, el compuesto es primero volatilizado debido al incremento de temperatura en el cromatógrafo de gases, lo que permite su paso a fase gaseosa y su posterior separación. Luego, al ingresar al espectrómetro de masas, la molécula es sometida a ionización electrónica, adquiriendo suficiente energía para formar el ion molecular y fragmentarse en iones de menor masa.

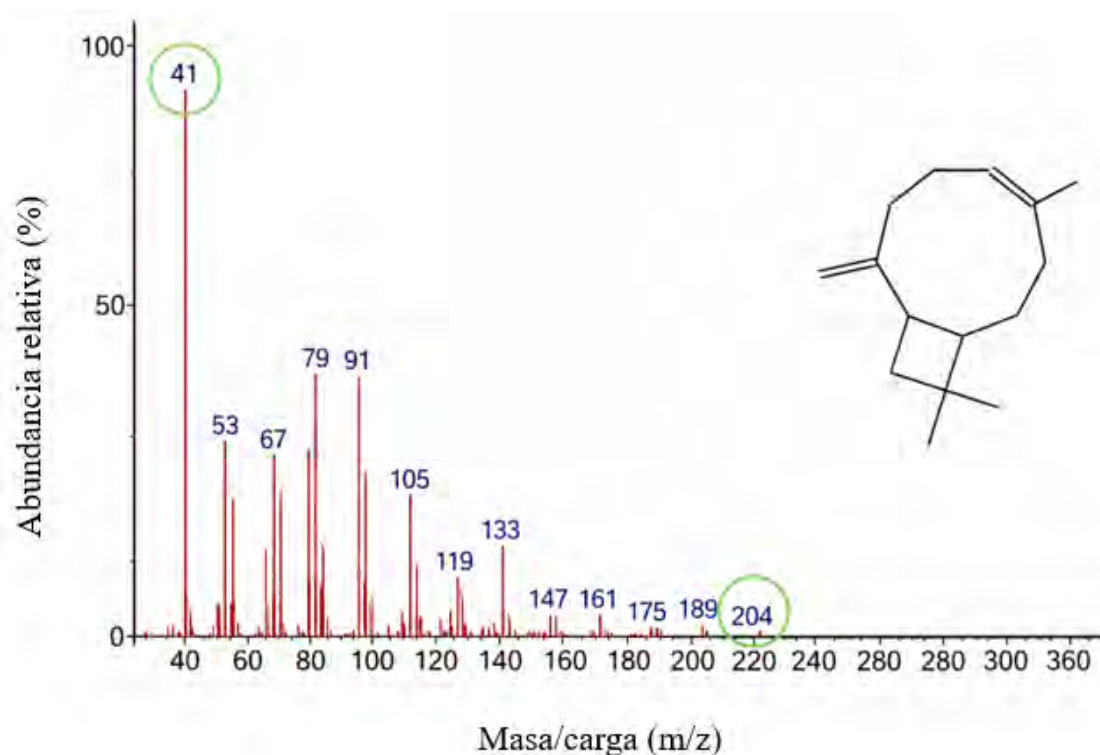
En el espectro se observa un ion molecular en m/z 204, correspondiente al peso molecular del trans-cariofileno ($C_{15}H_{24}$), lo que respalda su identificación. Asimismo, el pico base aparece en m/z 41, asociado a un fragmento iónico estable típico en compuestos terpénicos. También se identifican señales en m/z 53, 67, 79, 91, 105 y 133, que se originan a partir de la ruptura de enlaces carbono-carbono dentro de la estructura del sesquiterpeno.

En conjunto, estos fragmentos reflejan el comportamiento del trans-cariofileno bajo condiciones de ionización, donde la formación de especies más estables determina la intensidad de los picos observados. Este patrón es característico de compuestos terpénicos y permite confirmar la identidad del analito dentro del aceite esencial (Adams, 2007). Las estructuras formadas durante la fragmentación corresponden a iones estables, los cuales se alinean con los espectros de referencia del trans-Cariofileno reportados en la base de datos NIST 11.

Este patrón de fragmentación concuerda con lo reportado en otras especies aromáticas de la familia Lamiaceae, donde el trans-Cariofileno aparece como un compuesto clave con actividades biológicas destacadas, incluyendo propiedades antiinflamatorias y antioxidantes (Bajalan, 2017; Miguel, 2010).

Figura 25

Espectro de masas del trans-Cariofileno presente en la muestra de AE de Clinopodium brevicalyx



Nota. El eje X representa la relación masa/carga (m/z) de los fragmentos iónicos generados por ionización electrónica, mientras que el eje Y indica la abundancia relativa (%) de dichos fragmentos en el espectro de masas. **Fuente.** NIST

En el espectro de masas del trans-cariofileno (Figura 25) se observan varios fragmentos iónicos característicos de un sesquiterpeno hidrocarbonado. Cada señal corresponde a fragmentos generados por la ruptura del esqueleto carbonado durante la ionización electrónica.

m/z 41

Corresponde al pico base del espectro, es decir, el ion de mayor abundancia relativa. Este fragmento puede asociarse a un ion hidrocarbonado pequeño, como $C_3H_5^+$, formado por la ruptura de enlaces C–C del esqueleto terpénico. Su alta intensidad indica que es un fragmento muy estable.

m/z 53

Este ion representa un fragmento hidrocarbonado pequeño derivado de la fragmentación secundaria del compuesto. Puede relacionarse con especies insaturadas de bajo peso molecular, formadas por pérdida progresiva de grupos alquílicos.

m/z 67

Se asocia a un fragmento tipo $C_5H_7^+$ o similar, característico de estructuras terpénicas con dobles enlaces. Este ion indica la presencia de fragmentos insaturados generados a partir del sistema cíclico del trans-cariofileno.

m/z 79

Este fragmento puede corresponder a un ion hidrocarbonado insaturado más estable, originado por la ruptura de una porción del anillo. Su presencia es común en compuestos terpénicos debido a reordenamientos durante la ionización.

m/z 91

Es un ion importante porque suele asociarse a fragmentos relativamente estables por resonancia. En espectros de compuestos terpénicos, este pico puede formarse por

reordenamientos del esqueleto carbonado después de la ruptura del sistema cíclico.

m/z 105

Corresponde a un fragmento de mayor masa, posiblemente generado por la pérdida de grupos metilo o cadenas laterales pequeñas. Este ion conserva una parte significativa del esqueleto carbonado del trans-cariofileno.

m/z 119

Este fragmento indica la presencia de una porción carbonada más grande del sesquiterpeno. Se forma por rupturas parciales del anillo y de sustituyentes alquílicos, manteniendo una estructura relativamente estable.

m/z 133

Representa un ion de alta masa derivado del esqueleto terpénico. Su presencia sugiere que una parte importante de la estructura cíclica del trans-cariofileno permanece después de la fragmentación inicial.

m/z 147

Este ion corresponde a un fragmento pesado del compuesto, generado por la pérdida de grupos pequeños desde el ion molecular. Indica la conservación parcial del sistema bicíclico del trans-cariofileno.

m/z 161

Se relaciona con un fragmento de mayor tamaño producido por la pérdida de una porción

hidrocarbonada pequeña desde el ion molecular. Su presencia confirma la fragmentación gradual del sesquiterpeno.

m/z 175

Este fragmento puede originarse por la pérdida de grupos ligeros desde el ion molecular, manteniendo gran parte del esqueleto de carbono original. Es característico de fragmentaciones de compuestos terpénicos de masa molecular alta.

m/z 189

Corresponde a un fragmento cercano al ion molecular, formado probablemente por la pérdida de un grupo metilo $[M - 15]^+$. Esto indica que el compuesto presenta sustituyentes metilo en su estructura.

m/z 204

Corresponde al ion molecular $[M]^+$ del trans-cariofileno. Este ion confirma la masa molecular del compuesto, compatible con la fórmula molecular $C_{15}H_{24}$. Aunque su abundancia es baja, es muy importante porque respalda la identificación del trans-cariofileno como un sesquiterpeno hidrocarbonado.

4.6. Evaluación de la capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* fue evaluada mediante el método DPPH-TEAC, el cual permite determinar la habilidad de los compuestos presentes en la muestra para neutralizar el radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), un radical estable de color violeta que presenta una absorbancia característica a 517 nm. Cuando un

antioxidante dona un electrón o un átomo de hidrógeno al radical DPPH, este se reduce, produciendo un cambio de color de violeta a amarillo, lo cual se refleja en una disminución de la absorbancia.

El porcentaje de inhibición del radical DPPH fue calculado a partir de las absorbancias registradas, observándose que la actividad antioxidante del aceite esencial aumentó conforme se incrementó su concentración como se puede ver la la Tabla 6. Este comportamiento es característico de compuestos antioxidantes naturales, ya que, a mayor cantidad de moléculas bioactivas disponibles, mayor es la capacidad de neutralizar radicales libres presentes en el medio de reacción.

Asimismo, los valores obtenidos fueron comparados con el antioxidante estándar Trolox (tabla 7), lo cual permitió expresar la actividad antioxidante en términos de equivalentes de Trolox (TEAC). Este parámetro es ampliamente utilizado para comparar la eficiencia antioxidante de diferentes muestras, permitiendo establecer la capacidad relativa del aceite esencial frente a un antioxidante de referencia.

Tabla 6

Variación de la absorbancia y porcentaje de inhibición del radical DPPH en presencia del AE

	Concentración AE	Absorbancias a 517 nm					% de Inhibición
	mg/mL	0 min	15 min	30 min	45min	60 min	
DPPH (control)	0,00	0,8702± 0,0008	0,8690± 0,0004	0,8685± 0,0004	0,8683± 0,0005	0,8681± 0,0006	---
Dilución 1	0,0932	0,8690± 0,0004	0,8610± 0,0005	0,7921± 0,0005	0,7400± 0,0006	0,7250± 0,0006	16,8578
Dilución 2	0,1865	0,8590± 0,0005	0,8320± 0,0005	0,7420± 0,0008	0,6520± 0,0005	0,6180± 0,0006	29,1284
Dilución 3	0,3108	0,8260± 0,0010	0,8136± 0,0004	0,72041± 0,0008	0,5982± 0,0005	0,4860± 0,0009	44,2661
Dilución 4	0,4660	0,7961± 0,0004	0,7771± 0,0005	0,6938± 0,0005	0,4580± 0,0002	0,3519± 0,0005	59,6445

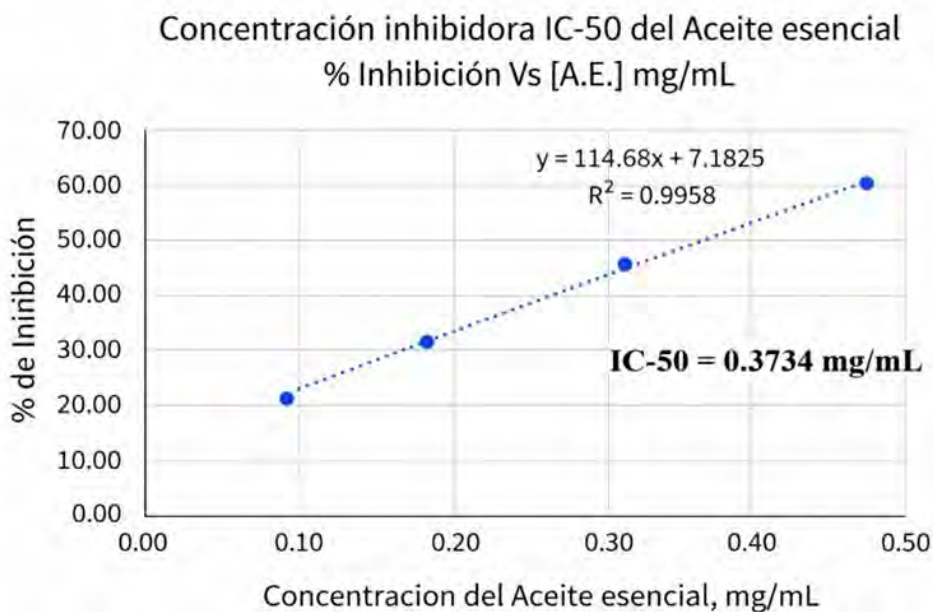
Nota. Las absorbancias fueron registradas a 517 nm y expresadas como promedio $\pm$ desviación estándar de tres determinaciones independientes ($n = 3$). El control corresponde a la solución de DPPH sin adición de aceite esencial. El porcentaje de inhibición se calculó a los 60 minutos de reacción mediante la relación entre la absorbancia del control y la absorbancia de cada dilución del aceite esencial. La disminución progresiva de la absorbancia evidencia la reducción del radical DPPH por acción de los compuestos antioxidantes presentes en el aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx*. Asimismo, el incremento del porcentaje de inhibición conforme aumenta la concentración del aceite esencial indica un comportamiento antioxidante dependiente de la concentración.

Fuente. Propia.

En la Tabla 6 se observa que la absorbancia del radical DPPH disminuyó progresivamente en presencia del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx*, especialmente conforme aumentó la concentración de la muestra. El control mantuvo valores de absorbancia casi constantes durante los 60 minutos, lo que indica la estabilidad del radical DPPH en ausencia de antioxidante. En cambio, las diluciones del aceite esencial mostraron una reducción gradual de la absorbancia, siendo más evidente en la dilución 4, que alcanzó el mayor porcentaje de inhibición con 59,6445 %. Este resultado demuestra que los compuestos presentes en el aceite esencial fueron capaces de neutralizar el radical DPPH mediante la donación de electrones o átomos de hidrógeno. Por tanto, la actividad antioxidante del aceite esencial presentó una tendencia dependiente de la concentración, ya que a mayor concentración del aceite esencial se obtuvo mayor porcentaje de inhibición del radical libre.

Figura 26

Curva para la determinación de concentración inhibidora del AE



Fuente. Propia.

El objetivo de la curva (Figura 26) es determinar la concentración inhibitoria media (IC_{50}) del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx*, es decir, la concentración necesaria para inhibir el 50 % de los radicales libres DPPH presentes en el aceite. Esta curva permite cuantificar la capacidad antioxidante del aceite esencial mediante la relación entre la concentración del extracto (mg/mL) y el porcentaje de inhibición del radical DPPH, expresando gráficamente cómo varía la actividad antioxidante en función de la cantidad de muestra utilizada.

A partir de la ecuación de la recta de regresión lineal ($y = 114.68x + 7.1825$; $R^2 = 0.9958$), se calcula el valor de $IC_{50} = 0.3734$ mg/mL, que representa la eficacia antioxidante del aceite esencial. Cuanto menor es el valor de IC_{50} , mayor es la capacidad antioxidante de la muestra.

Tabla 7

Variación de la absorbancia y porcentaje de inhibición del radical DPPH en presencia de Trolox

	Concentración Trolox		Absorbancias a 517 nm					% de Inhibición
	mM	mg/mL	0 min	15 min	30 min	45min	60 min	
DPPH (control)	0,00	0	0,8720± 0,0008	0,8690± 0,0004	0,8685± 0,0004	0,8683± 0,0005	0,8681± 0,0006	---
Standar 1	0,05	0,0125	0,7980± 0,0004	0,7971± 0,0005	0,7960± 0,0005	0,7954± 0,0006	0,7940± 0,0006	8,9449
Standar 2	0,10	0,0250	0,7910± 0,0005	0,7905± 0,0005	0,7860± 0,0008	0,7840± 0,0005	0,7640± 0,0006	12,3853
Standar 3	0,50	0,1252	0,4450± 0,0010	0,4420± 0,0004	0,4381± 0,0008	0,4342± 0,0005	0,4330± 0,0009	50,3440
Standar 4	1,00	0,2503	0,0883± 0,0004	0,0800± 0,0005	0,0780± 0,0005	0,0762± 0,0002	0,0720± 0,0005	91,7431

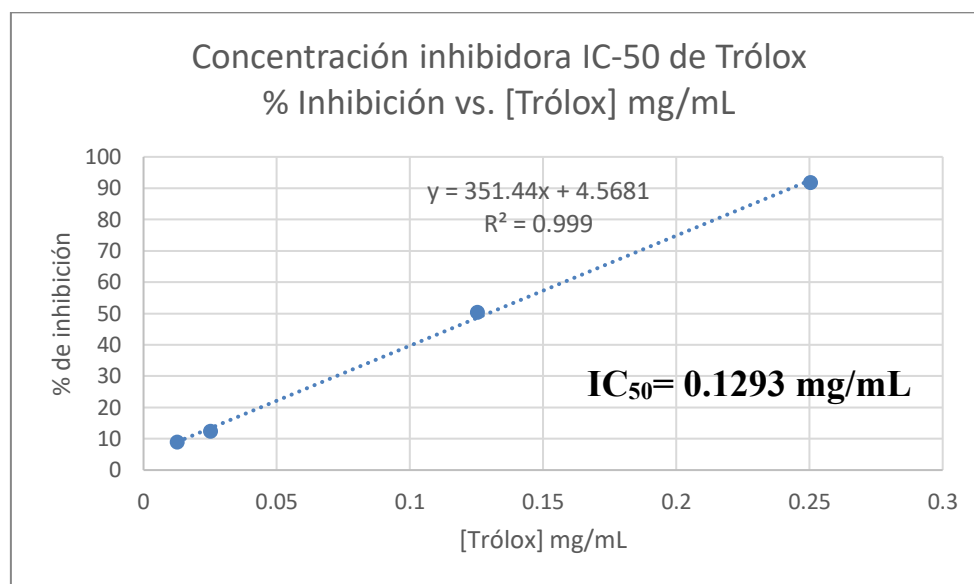
Nota. Las absorbancias fueron registradas a 517 nm y expresadas como promedio ± desviación estándar de tres determinaciones independientes (n = 3). El control corresponde a la solución de DPPH sin antioxidante. El porcentaje de inhibición se calculó a los 60 minutos de reacción comparando la absorbancia del control con la absorbancia de cada concentración de Trolox, mediante la disminución de la absorbancia del radical DPPH. La reducción progresiva de la absorbancia evidencia la capacidad del Trolox para neutralizar el radical libre DPPH mediante la donación de electrones o átomos de hidrógeno.

Fuente. Propia.

En la Tabla 7 se observa que el control de DPPH mantuvo valores de absorbancia prácticamente constantes durante los 60 minutos de reacción, lo que confirma la estabilidad del radical libre en ausencia de un antioxidante. En cambio, las soluciones de Trolox mostraron una disminución progresiva de la absorbancia conforme aumentó la concentración del estándar. Esta reducción fue más evidente en el Estándar 4, correspondiente a 1,00 mM de Trolox, donde se alcanzó el mayor porcentaje de inhibición del radical DPPH con 91,7431 %. Asimismo, el Estándar 3, con una concentración de 0,50 mM, presentó una inhibición cercana al 50 %, lo que permite estimar la concentración inhibitoria media del Trolox. Estos resultados confirman que el Trolox actuó de manera dependiente de la concentración y sirve como patrón de referencia para comparar la capacidad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* mediante el cálculo del TEAC.

Figura 27

Curva para la determinación de concentración inhibidora del Trolox



Fuente. Propia

El TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) se calculó a partir de los valores de

IC₅₀ obtenidos tanto para el antioxidante estándar Trolox (Figura 27) como para el aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* frente al radical libre DPPH.

Primero, se elaboraron dos curvas:

- Curva del aceite esencial (% de inhibición vs concentración), de la cual se determinó un IC₅₀ = 0,3734 mg/mL, tal como se muestra en la Figura 26.
- Curva del Trolox (% de inhibición vs concentración), de la cual se obtuvo un IC₅₀ = 0,1293 mg/mL, presentada en la Figura 27.

Luego, el valor del TEAC se calculó aplicando la relación entre ambas concentraciones inhibitorias medias, siguiendo la metodología descrita por Granados et al. (2012):

$$\text{TEAC} = \frac{\text{IC}_{50} \text{ Trolox } (\mu\text{mol/mL})}{\text{IC}_{50} \text{ AE (g/mL)}}$$

Para convertir el valor de IC₅₀ del Trolox de mg/mL a $\mu\text{mol/mL}$, se empleó su masa molar (250,29 g/mol):

$$\text{IC}_{50} \text{ del Trolox } (\mu\text{mol/mL}) = 0,1293 \text{ mg/mL} \times \left(\frac{1 \text{ mol}}{250,29 \text{ g}} \right) \times 10^6 \mu\text{mol}$$

$$\text{IC}_{50} \text{ del Trolox } (\mu\text{mol/mL}) = 516,4 \mu\text{mol/mL}$$

Sustituyendo en la ecuación:

$$\text{TEAC} = \frac{516,4 \mu\text{mol/mL}}{0,3734 \text{ g/mL}}$$

$$\text{TEAC} = 1,3835 (\mu\text{mol/mL}) / \text{g A.E.}$$

Por tanto, el valor de TEAC = 1,3835 ($\mu\text{mol/mL}$) /g de aceite esencial, lo cual indica que un gramo del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* presenta una capacidad antioxidante equivalente a 1,3835 micromoles de Trolox.

Por lo tanto, el valor obtenido de TEAC = 1,3835 ($\mu\text{mol Trolox/mL}$) /g de A.E. demuestra que el aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* presenta una capacidad antioxidante

significativa, al poseer una actividad equivalente a 1,3835 μmol de Trolox por gramo de aceite esencial. Este resultado indica que el aceite esencial posee una moderada eficacia como donador de electrones y agente reductor, lo que le permite neutralizar radicales libres de manera efectiva (Re et al., 1999; Prior et al., 2005).

El elevado valor de TEAC sugiere que la actividad antioxidante del aceite esencial está estrechamente relacionada con la presencia del carvacrol, un monoterpeno fenólico conocido por su alta reactividad frente a radicales libres, y al aporte sinérgico de compuestos como trans-cariofileno, γ -elemeno, y germacreno D, cuyos mecanismos redox complementarios fortalecen la acción antioxidante global (Re et al., 1999; Prior et al., 2005; Miguel, 2010; Bakkali et al., 2008).

De acuerdo con estudios previos, valores de TEAC en este rango son comparables con los reportados para aceites esenciales de especies como *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris*, considerados de actividad antioxidante moderada a alta (Burt, 2004; Miguel, 2010). Por lo tanto, se puede inferir que el aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* posee un potencial uso como agente antioxidante natural, capaz de contribuir a la prevención de procesos oxidativos en alimentos, cosméticos o productos farmacéuticos.

CONCLUSIONES

1. Se determinó el rendimiento del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda obtenido mediante hidrodestilación con trampa de Clevenger, alcanzándose un rendimiento promedio de $0,055 \pm 0,026$ %. Este resultado evidencia un bajo porcentaje de extracción, comportamiento característico de especies aromáticas altoandinas del género *Clinopodium*; sin embargo, el método empleado permitió obtener aceite esencial de manera reproducible bajo las condiciones experimentales establecidas.
2. Se analizaron las propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx*, registrándose una densidad de $0,932 \pm 0,00005$ g/mL, índice de refracción de $1,715 \pm 0,00000$, índice de acidez de $1,4817 \pm 0,00005$ mg KOH/g y rotación óptica de $-0,143 \pm 0,00205^\circ$. Asimismo, el aceite presentó baja solubilidad en agua y mayor solubilidad en solventes orgánicos, lo que confirma su naturaleza lipofílica. Estos resultados permiten caracterizar al aceite esencial como una mezcla volátil, de baja acidez, con presencia de compuestos quirales y características propias de aceites esenciales de la familia Lamiaceae.
3. Se caracterizó la composición química del aceite esencial mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), identificándose como compuestos mayoritarios al trans-cariofileno (18,69 %), γ -elemeno (16,41 %), germacreno-D (14,80 %) y carvacrol (11,71 %), los cuales representan en conjunto el 61,61 % de la composición total del aceite esencial. Este perfil químico evidencia el predominio de sesquiterpenos y la presencia de un monoterpeno fenólico, compuestos asociados a propiedades bioactivas en aceites esenciales de especies aromáticas.
4. Se evaluó la capacidad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* mediante el método DPPH, obteniéndose un valor de IC_{50} de 0,3734 mg/mL A.E. y un TEAC de 1,3835 (μ mol Trolox/mL)/g AE. Estos resultados indican que el aceite esencial presenta capacidad antioxidante moderada, atribuida a la presencia de compuestos bioactivos capaces de neutralizar radicales libres, especialmente el carvacrol y los sesquiterpenos identificados en el perfil químico.

SUGERENCIAS

1. A las autoridades universitarias, se sugiere promover y fortalecer investigaciones orientadas al estudio químico y biológico de especies vegetales nativas de la región andina, como *Clinopodium brevicalyx*, debido a su potencial como fuente natural de compuestos bioactivos.
2. A las autoridades de la Facultad de Ciencias Químicas, Físicas y Matemáticas, se recomienda implementar y mejorar el acceso a equipos e insumos especializados para el análisis de aceites esenciales, tales como sistemas de extracción, cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas y equipos para evaluación antioxidante, con el fin de fortalecer la investigación en productos naturales.
3. A los docentes e investigadores, se sugiere continuar con estudios relacionados con el aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx*, evaluando métodos de extracción alternativos, estabilidad del aceite, toxicidad y otras actividades biológicas, como la actividad antimicrobiana y antiinflamatoria.
4. A los docentes asesores, se recomienda incentivar el desarrollo de investigaciones interdisciplinarias que relacionen la química de productos naturales con posibles aplicaciones en las áreas alimentaria, cosmética y farmacéutica.
5. A los estudiantes de la Escuela Profesional de Química, se sugiere profundizar en el estudio de especies vegetales nativas poco investigadas, ya que representan una oportunidad para generar conocimiento científico y contribuir a la valoración de los recursos naturales del Perú.
6. A los futuros tesisistas, se recomienda ampliar la investigación sobre *Clinopodium brevicalyx* mediante ensayos in vitro e in vivo, así como realizar comparaciones con otras especies del género *Clinopodium*, con el propósito de establecer relaciones entre composición química y actividad biológica.

BIBLIOGRAFIA

- Adams, R. P. (2007). Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (4th ed.). Allured Publishing Corporation.
- Aebisher, D., Cichonski, J., Cichonski, E., Masjonis, S., & Chrzanowski, G. (2021). Aceites esenciales de siete plantas lamiáceas y su capacidad antioxidante. *Moléculas*, 26 (13), 3793. <https://doi.org/10.3390/molecules26133793>
- Aebisher, D., Cichonski, J., Szpyrka, E., Masjonis, S., & Chrzanowski, G. (2021). Essential Oils of Seven Lamiaceae Plants and Their Antioxidant Capacity. *Molecules*, 26(13), 3793. <https://doi.org/10.3390/molecules26133793>
- Akoh, C. C., & Min, D. B. (2002). *Lípidos en la Comida: Química, Nutrición, Biotecnología*. Marcel Dekker, Inc. <https://doi.org/10.1201/9780203908815>
- Alam, M. N., Bristi, N. J., Rafiquzzaman, M. (2012). Review on in vivo and in vitro methods for evaluating antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 19(2), 143-152. DOI: 10.1016/j.jsps.2012.05.002
- Arango B. O., Pantoja D.D, Santacruz Ch. L., Andrés M. Hurtado B. (2012). Actividad Antioxidante del Aceite Esencial de Orégano (*Lippia Origanoide* H.B.K) del Alto Patía.
- Artera, M. (2007). *Etnobotánica de Plantas Vasculares en el Centro Poblado Llachón, Distrito Capachica, Departamento Puno*. Tesis UNSA, 188.
- Bajalan, I. (2017). Actividades antioxidantes y antibacterianas de los aceites esenciales de *Thymus daenensis* y *Thymus kotschyanus*. *Medicina complementaria y alternativa basada en evidencia*. <https://doi.org/10.1155/2017/1206398>.
- Bajpai, V. K., Baek, K.-H., & Kang, S. C. (2012). **Control of Salmonella in foods by using essential oils: a review**. (Review article summarizing usos y limitaciones de aceites esenciales en alimentos; incluye discusión sobre métodos de obtención y factores que afectan la actividad). *Food Control / revista relacionada* (artículo indexado en 2012).

- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., (2008) Biological effects of essential oils - A Review. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>__(Tesis Pregrado: Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito)
- Bassolé, I. H. N., Guelbeogo, W. M., Nébié, R., Costantini, C., Sagnon, N., Kabore, Z. I., & Traoré, S. A. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon giganteus* essential oil from Burkina Faso. *Journal of Applied Sciences*, 11(16), 3054–3059. <https://doi.org/10.3923/jas.2011.3054.3059>
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200. <https://doi.org/10.1038/1811199a0>
- Boom, E. (2018). Evaluación de la Actividad Antioxidante de Aceites Esenciales de Eucaliptos Cultivados en Colombia. *scielo.cl*, 57-66.
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Simin, N., & Anackov, G. (2006). Caracterización de la composición volátil de los aceites esenciales de algunas especias lamiáceas y de las actividades antimicrobianas y antioxidantes de los aceites en su totalidad. *Ha. Química Agrícola y Alimentaria*, 54(5), 1822–1828. <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/jf051922u>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Berset, C. (1995). Uso de un método de radicales libres para evaluar la actividad antioxidante. *Ciencia y tecnología de los alimentos*, 28(1), 20-30. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Burt S.A., Reinders RD. (2003). Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. DOI: 10.1046/j.1472-765x.2003.01285.x
- Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods—A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
- Butnariu, M. (2018). openaccesspub. Retrieved 2023, from openaccesspub: <https://openaccesspub.org/jbbs/article/940>
- Caguana Laguna, M. A., & Quinaluisa Chamorro, V. E. (2017). Diagnóstico del potencial agroindustrial de sunfo (*Clinopodium nubigenum*) y eneldo (*Anethum graveolens*).

Universidad Técnica de Cotopaxi.

- Céspedes Mamani, R. (2017). Actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Clinopodium breviflorum* (Benth) Govaerts “chiuchi-chiuchi” [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos].
- Charalampos, P., Sinanoglou, V. J., Lytoudi, K., Mavromelanidou, O. K., Zoumpoulakis, P., & Charalampos, P. (2013). Capacidad antioxidante de extractos vegetales seleccionados y sus aceites esenciales. *Antioxidants*, 2, 11-22. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/antiox2010011>
- Collura, A. (1985). Variaciones del rendimiento y composición química de las especies aromáticas y medicinales. *Bol. Soc. Arg. Invest. Prod. Arom*, 6-15.
- Dob P.T., Dahmane D., Tayeb, B, Chelghoum C . (2005). Chemical composition of the essential oil of *Lavandula dentata* L. from Algeria. <https://doi.org/10.24841/fa.v19i1-2.340>
- Enríquez-Estrella, M. A., Serrano-Torres, G. J., Torres-Rodríguez, S. H., & Cuadrado-Ayala, D. G. (2020). Actividad antioxidante y composición del *Clinopodium tomentosum* en extracción húmeda y seca. *Revista (SciELO)*. <https://doi.org/10.29312/remexca.v16i3.3630>
- Espinosa, S., Bec, N., Larroque, C., Ramírez, J., Sgorbini, B., Bicchi, C., Cumbicus, N., Gilardoni, G. (2021). A Novel Chemical Profile of a Selective In Vitro Cholinergic Essential Oil from *Clinopodium taxifolium* (Kunth) Govaerts (Lamiaceae), a Native Andean Species of Ecuador. *Molecules*, 26(1), 45. <https://doi.org/10.3390/molecules26010045>
- Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. J., Koo, S. I., & Chun, O. K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7), 1043–1048. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.01.008>
- García-García, R., & Palou-García, E. (2008). Mecanismos de acción antimicrobiana de timol y carvacrol sobre microorganismos de interés alimenticio. *Temas selectos de ingeniería en*

- alimentos, 2 (2), 41-51.
- Goodwin, T. W. (1965). Terpenes. En Goodwin, Chemistry and biochemistry plant pigments (págs. 100-102). Academic Press.
- Goodwin, T.W. (1971). Aspects of terpenoid chemistry and biochemistry. Academic Press, Londres.
- Granados, C. C., Yáñez X., Acevedo, D .(2014). Evaluaciòn de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar, de *Myrcianthes leucoxyla* de Norte de Santander. Colombia.
- Granados, C. C., Yáñez, R. X. y Santafé P. G. G. (2012). Evaluaciòn de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar de *Calycolpus moritzianus* y *Minthostachys mollis*, de Norte de Santander. Colombia. Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas: 10(1), 12-23
- Guerra, P. (2017). Repositorio Institucional de la Universidad Politécnica Salesiana. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/12183>
- Guimarães, B. de A., Silva, R. C., Andrade, E. H. de A., Setzer, W. N., da Silva, J. K., Figueiredo, P. L. B. (2023). Seasonality, Composition, and Antioxidant Capacity of Limonene/ δ -3-Carene/(E)-Caryophyllene *Schinus terebinthifolia* Essential Oil Chemotype from the Brazilian Amazon: A Chemometric Approach. *Plants*, 12(13), 2497. <https://doi.org/10.3390/plants12132497>
- Gulcin, I. (2020). Antioxidantes y métodos antioxidantes: una visión general actualizada. *Archivos de Toxicología* , 94 , 651-715. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>
- Gutiérrez-Bouzán M.C., Droguet, M. (2002). Gas Chromatography and Mass Spectrometry: Identification of Off-odours Compounds. *Boletín Intexter (U.P.C.)* 2002. N° 122. Barcelona , España.
- Gutiérrez-Bouzán, C.; López G. V. (2005). Detección por GC-MS de trimetilamina como causa del mal olor
- Harrison, A. G. (1992). Chemical Ionization Mass Spectrometry (2nd ed.). CRC Press. ISBN 0-8493-4254-6.

- Hazzoumi, Z. M. (2020). Essential Oil and Glandular Hairs: Diversity and Roles. Intechopen: <https://www.intechopen.com/chapters/67466#B3>
- Hernández, R., & Juliá, J. (2020). Repositorio de la Universidad de La Laguna. <http://riull.ull.es/xmlui/handle/915/20477>
- Huanqui F. A. S. (2019). Determinación de la actividad antioxidante y antibacteriana del aceite esencial de *Clinopodium Bolivianum* (Benth.) Kuntze “Cjuñuca” frente a la cepa de *Cutibacterium acnes* ATCC 6919 [Tesis: Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco]. <http://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/4628>
- Hyldgaard, M., Mygind, T., Meyer, R. L. (2012). Aceites esenciales en la conservación de alimentos: modo de acción, sinergias e interacciones con los componentes de la matriz alimentaria. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00012>
- Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos. (s.f.). Retrieved 14 de abril de 2023, from Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/antioxidante>
- Joshi, R. K. (2013). Chemical composition, in vitro antioxidant and antibacterial activity of the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. from Western Ghats, India. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16(2), 216–221. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2013.793974>
- Kame, H. (1993). Suppressive effect of flavonoid extracts from flower petals on cultered human malignant cells. *J Clin Exp Med* 164 , 829.
- Kesterson et al. (1971). Métodos analíticos utilizados en la caracterización del aceite esencial de limón producido en España. Tesis: Universidad De Murcia Facultad De Veterinaria.
- Lawrence, B. M. (1995). The Isolation of Aromatic Materials from Natural Plant Products. En T. d. Silva, *A Manual on the Essential Oil Indsutry* (pág. 57). Vienna: United Nations Industrial Development Organization (UNIDO).
- León-Yáñez, S. (2019). Rojo de Plantas Endémicas del Ecuador. Ecuador: Publicaciones del Herbario QCA.

- Li, Y.Q., Kong, D.X., Wu, H., 2013: Analysis and evaluation of essential oil components of cinnamon barks using GC-MS and FTIR spectroscopy. *Ind. Crop. Prod.* 41, 269-278. DOI: 10.1016/j.indcrop.2012.04.05
- Lis-Balchin M. (1997). Essential oils and 'aromatherapy': their modern role in healing. *Journal of the Royal Society of Health*, 117(5), 324–329. <https://doi.org/10.1177/146642409711700511>
- Lock De Ugaz, O. (1994). *Investigacion fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales*. Lima: Fondo Editorial Pontificia Universidad Catolica del Perú.
- Lock, O. (1994). Terpenoides y esteroides. En O. Lock, *Investigacion fitoquímica* (págs. 23-42). Lima: Pontifice Universidad Catolica del Perú Fondo Editorial 1994.
- López García, D. Ríos Armas, R.C. (2013). *Obtencion e Identificacion de la Composicion Quimica del Aceite Esencial de Aniba rosaeodora Ducke (Palo de rosa), Por Métodos Fisicoquímicos y Cromatográficos*. (Tesis: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana Facultad de Farmacia Y Bioquímica)
- Luegon, M. T. (2004). *Los aceites esenciales*. Offarm, 9-156.
- M.C. Gutiérrez, M. D. (2002). upc.edu. <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099/2733/5CROMGASES.pdf>
- Marchese, A., Orhan, I. E., Daglia, M., ... & Nabavi, S. M. (2016). Antimicrobial and antioxidant activities of essential oils: Current and future trends. *Current Medicinal Chemistry*, 23(27), 3712–3723. <https://doi.org/10.2174/0929867323666160623111051>
- Maria Lis-Balchin. (1997). *Aromatherapy Science: A Guide for Healthcare Professionals*. London, UK. (LIBRO)
- Meilgaard, M., Civille, G. V., & Carr, B. T. (2007). *Sensory evaluation techniques* (4th ed.). CRC Press.
- Mendoza-León, J. C., Fuertes Ruitón, C. M., & Jahuiria-Arias, M. H. (2022). Preliminary phytochemical analysis and in vitro antifungal activity of the ethanolic extract of the

- leaves of *Solanum hispidum* Pers. collected in the locality in Obraje - Peru. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 39(3), 321–327.
<https://doi.org/10.17843/rpmesp.2022.393.11381>
- Menut, C., et al. (2000). Aromatic plants of tropical Central Africa. Part XLII. Chemical composition of essential oils of *Cymbopogon giganteus* Chiov. from Burkina Faso. *Journal of Essential Oil Research*, 12(5), 571–574.
- Merck. (12 de Julio de 2025). Sigma-Aldrich.
<https://www.sigmaaldrich.com/PE/en/product/supelco/phl80717?srsId=AfmBOopZ-zGR6gTtdVKn7OfnbyIt00VceBwoaqsQYpzYWjCJBIjs9vjj>
- Miguel M.G. (2010). Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review. <https://doi.org/10.3390/molecules15129252>
- Miller , N. J., Rice-Evans , C., Davies , M. J., Gopinathan , V., & Milner , A. (1993). Un nuevo método para medir la capacidad antioxidante y su aplicación al seguimiento del estado antioxidante en neonatos prematuros. *Clinic Science (Londres)*, 84(4), 407- 412.
<https://doi.org/10.1042/cs0840407>
- Miniati, E. (1993). Anthocyanins not only for colour for foods . Papers presented at the 1st International Symposium on natural colorants for foods Nutraceuticals, Beverages and Confectionary The Herald Organization.
- Moncayo Miño, A. E. (2020). Caracterización De Metabolitos Secundarios De Naturaleza Esteroidea Presentes En El Aceite Esencial Y Extractos Etanólico Y Clorofórmico De La Especie *Clinopodium tomentosum* (Kunth) Govaerts (Lamiaceae)
- Moreno, S. C. (2006). Composición química y actividad tóxica del aceite esencial de *Simsia pubescens* Triana. *Ciencia y Tecnol. Amer*, 145-147.
- Moreno, Y. S. (2003). Salinas, Y.; Martínez, F.; Soto, M. Efectos de la mixtamalización sobre las antocianinas del grano de maíces pigmentados *Agrociencia*. *Agrociencia - Colegio de Postgraduados*, pp. 617-628.
- NCBI (2025). PubChem Compound Summary for CID 40634, Trolox. Retrieved November 2,

2025 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Trolox>

- Nieve, A. (2018). Evaluación de las propiedades fisicoquímicas y sensoriales durante el proceso de extracción del aceite esencial del Runtuwayra (*Clinopodium weberbaueri*) [Tesis de pregrado, Universidad Nacional José María Arguedas].
- National Institute of Standards and Technology. (2011). *NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library (NIST 11)* [Base de datos de espectros de masas]. U.S. Department of Commerce. (26 de Julio de 2025). webbook. <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C29873992>
- Obispo-Huamani, R. C., Calva, J., Félix-Veliz, L. M., Chávez, H., Pari-Olarte, J. e., Chavez-Espinoza, J. H., . . . Herrera-Calderon, O. (2025). Evaluation of the Antioxidant Activity of Three Formulations of Hair Cosmetic Products Containing the Essential Oil of *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kuntze “inca muña”. *Cosmetics*, 3(8), 12. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/cosmetics12030088>
- Philip Molyneux. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 26(2), DOAJ. License CCBYNC
- Prior, R. L., & Xi'an Li, W. (2005). Métodos estandarizados para la determinación de la capacidad antioxidante y de los fenólicos en alimentos y suplementos dietéticos. *Diario de la química agrícola y alimentaria*, 53(100), 4290–4302. <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/jf0502698>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Actividad antioxidante aplicando un ensayo mejorado de decoloración de cationes radicales ABTS. *Free Radic Biol Med*, 26(7), 9-10. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3)
- Rodas, C. M. (2012). Análisis de parámetros microbiológicos y fisicoquímicos de un aceite esencial de romero obtenido por medio de la destilación por arrastre de vapor. (Tesis: Universidad Rafael Landívar Guatemala, mayo) <http://biblio3.url.edu.gt/Tesis/2012/02/13/Rodas-Melisa.pdf>

- Roginsky, V. (2003). Substituted p-hydroquinones as inhibitors of lipid. Chemistry and physics of lipids, 49-58.
- Roginsky, V. a. (2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. Food Chemistry, 235-254.
- Sabillón Rodríguez, D. (2002). Determinación de los factores de emisión de monoterpenos en tres especies típicas de la vegetación terrestre mediterránea: *Pinus pinea*, *Pinus halepensis* y *Quercus ilex*. Universitat Politècnica de Catalunya. <https://doi.org/https://dx.doi.org/10.5821/dissertation-2117-93733>
- Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., & Bruni, R. (2005). Evaluación comparativa de 11 aceites esenciales de diferente origen como antioxidantes, antirradicales y antimicrobianos funcionales en alimentos. Química de Alimentos, 91(4), 621-632. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.06.031>
- Sánchez-Moreno, C., Larrauri, J. A., & Calixto, F. S. (1999). Un procedimiento para medir la eficiencia antirradical de los polifenoles. Diario de la Ciencia de la comida y agricultura, 76(2), 270-276. [https://doi.org/https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199802\)](https://doi.org/https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199802)76(2), 270-276)
- Serrano, C. A., Villena, G. K., & Rodríguez, E. F. (2020). *Algunos componentes fitoquímicos y actividad antioxidante en representantes de la tribu Mentheae (Lamiaceae) del Perú*. Arnaldoa, 27(1), 169–180. <https://doi.org/10.22497/arnaldoa.271.27109>
- Serway R. A., Jewett, J. J.W. (2008). Física para ciencias e ingeniería. Volumen 1, Séptima edición. México.
- Shackelford, J. F. (2005). Introducción a la ciencia de materiales para ingenieros (6.^a ed.). Pearson Educación, S.A. Madrid. ISBN: 84-205-4451-5
- Stashenko E.E., Martínez J.R., Durán D.C., Caballero D. (2014). Estudio comparativo de la composición química y la actividad antioxidante de los aceites esenciales de algunas plantas del género *Lippia* (Verbenaceae) cultivadas en Colombia. <https://doi.org/10.18257/raccefyfyn.156>
- Stashenko, E. E. (2009). Aceites esenciales. UIS-CENIVAM. Bucaramanga, Colombia , 180.

- Stashenko, E., Martínez, J. R., Durán, D. C., Córdoba, Y., & Caballero, D. (2014). Estudio comparativo de la composición química y la actividad antioxidante de los aceites esenciales de algunas plantas del género *Lippia* (Verbenaceae) cultivadas en Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales*, 38(Supl), 89-105. <https://doi.org/10.18257/raccefyn.156>
- Stashenko, E.E.; Martínez, J.R.; Macku, C.; Shibamoto, T. 1993. HRGC and GC-MS analysis of essential oil from Colombian ylang-ylang (*Cananga odorata* hook fil. et Thomson, forma genuina). *Journal of High Resolution Chromatography*, 16 (7): 441-444.
- Sundaresan, V., Shasany, A. K., Darokar, M. P., Kalra, A., & Naqvi, A. A. (2009). Composition and comparison of essential oils of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. (patchouli) and *Pogostemon travancoricus* Bedd. var. *travancoricus*. *Journal of Essential Oil Research*, 21(3), 220-222. <https://doi.org/10.1080/10412905.2009.9700154>
- Swamy, M. K., Sinniah, U. R., & Ghasemzadeh, A. (2015). *Pogostemon cablin* (patchouli): An aromatic medicinal plant of industrial importance. *Molecules*, 20(5), 8521-8547. <https://doi.org/10.3390/molecules20058521>
- Urrunaga-Ormachea M, Carpio-Jiménez C., Gutierrez-Chaveza J.C. , Tomaylla-Cruz, C.. (2022). Propiedades Fisicoquímicas, Composición Química Y Actividad Antioxidante Del Aceite Esencial De Citrus Jambhiri (Limón Rugoso. DOI 10.37761/rsqp.v88i3.403
- Vargas-Arana G., Rengifo-Salgado E. L., Fernández-Vilchez C.M. (2010). Búsqueda y Evaluación de Aceites Esenciales en Especies Amazónicas.
- Wandscher, C. B. (2012). Larvicidal action of ethanolic extracts from fruit endocarp of *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* against the dengue mosquito *Aedes aegypti*. *Toxicon*, 829-835.
- Zakaria Hazzoumi Z., Moustakime Y, Khalid, A. (2019). Essential Oil and Glandular Hairs: Diversity and Roles. DOI: 10.5772/intechopen.86571

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia

COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE *Clinopodium brevicalyx* (Epling) Harley & A. Granda

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA	POBLACIÓN
Problema General ¿Cuál es la composición química y la capacidad antioxidante del aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda? Problemas Específicos 1. ¿Cuál es el porcentaje de rendimiento del aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda obtenido mediante	Objetivo general Evaluar la composición química y la capacidad antioxidante del aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) y el método DPPH. Objetos específicos 1. Determinar el porcentaje de rendimiento del aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda.	Hipótesis General El aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda presenta una composición química variada con capacidad antioxidante significativa. Hipótesis Específicas 1. El aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda presenta un porcentaje de rendimiento moderado, característico de especies aromáticas altoandinas de la	Variable independiente Aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda. <i>Indicadores:</i> • Porcentaje de rendimiento del aceite esencial. • Propiedades fisicoquímicas: densidad, índice de refracción, índice de acidez, rotación óptica y solubilidad. • Composición química determinada por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de	Tipo de investigación El tipo de investigación fue Básica. Nivel de investigación El nivel de investigación fue descriptivo. Técnicas de recolección de datos 1. Extracción del aceite esencial: Por hidrodestilación con trampa Clevenger. 2. Determinación de características fisicoquímicas del aceite esencial: Se determinará por métodos y técnicas estandarizadas. 3. Determinación de la composición química del aceite esencial: Se determinará por	Población: Planta de de <i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda. Muestra: Hojas Muestreo: 1. Se seleccionará las hojas verdes, posteriormente se procederá a trocear en fragmentos pequeños con la finalidad de extraer el aceite esencial. 2. La muestra Retamilla (flor amarilla) fue recolectada en el Cerro Araguay,

hidrodestilación?	2. Analizar las propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda.	familia Lamiaceae.	masas (GC-MS).	Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas (CG/EM).	Santiago, Cusco.
2. ¿Cuáles son las propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda?	3. Caracterizar la composición química del aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda por Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas (GC-MS).	2. El aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda presenta propiedades fisicoquímicas características de aceites esenciales ricos en compuestos terpénicos.	Variable dependiente Capacidad antioxidante del aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda.	4. Evaluación de la Capacidad antioxidante: Se evaluará por el método DPPH con el equipo de Espectrofotómetro UV-Visible.	Altitud: 3529 msnm
3. ¿Qué compuestos predominan en el aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda?	4. Evaluar capacidad antioxidante por el método de DPPH del aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda.	3. La composición química del aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda, determinada por Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas (GC-MS) es abundante en sesquiterpenos y compuestos fenólicos.	Indicadores: • Porcentaje de inhibición del radical DPPH. • IC ₅₀ . • TEAC.		Latitud: -13.54028°
4. ¿Cuál es la capacidad antioxidante del aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda según el método DPPH?		4. La capacidad antioxidante por el método de DPPH del aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda, es muy significativa.			Longitud: -71. 97478°
					Mes de colección de muestra: Marzo del 2023

Anexo 2. Operalización de Variables

Variables	Operación	Método	Unidad de medida	Respuesta
Independientes				
Aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda	Extraer	Destilación por Clevenger	Porcentaje de rendimiento	Mayor o menor porcentaje de rendimiento de extracción del aceite esencial
Parámetros fisicoquímicos del aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda	Determinar	Métodos fisicoquímicos estandarizados (AOAC, ISO, ASTM)	Características organolépticas (aspecto, color, aroma y sabor) Solubilidad Densidad relativa (g/mL) Índice de refracción (n_D) Índice de acidez (mg KOH/g) Índice de saponificación (mg KOH/g) Rotación óptica ($^\circ$)	Mayor o menor valor de los parámetros fisicoquímicos del aceite esencial, indicativos de su calidad, pureza y grado de conservación.
Composición química del aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda	Caracterizar (identificar y cuantificar) los componentes volátiles.	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).	% de Componentes (Tiempo de Retención)	Perfil químico del aceite esencial, expresado como porcentaje relativo de los compuestos identificados mediante GC-MS.
Dependientes				
Capacidad Antioxidante del aceite esencial de <i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda	Evaluar	Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)	IC ₅₀ (µg/mL), % de inhibición del radical DPPH y TEAC.	Mayor o menor capacidad antioxidante del aceite esencial.

Anexo 3. Certificado de determinación taxonómica



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

• **APARTADO POSTAL**
N° 921 - Cusco - Perú

• **FAX:** 238156 - 238173 - 222512

• **RECTORADO**
Calle Tigre N° 127
Teléfonos: 222271 - 224891 - 224181 - 254398

• **CIUDAD UNIVERSITARIA**
Av. De la Cultura N° 733 - Teléfonos: 228661 - 222512 - 232370 - 232375 - 232226

• **CENTRAL TELEFÓNICA:** 232398 - 252210 - 243835 - 243836 - 243837 - 243838

• **LOCAL CENTRAL**
Plaza de Armas s/n
Teléfonos: 227571 - 225721 - 224015

• **MUSEO INKA**
Cuesta del Almirante N° 103 - Teléfono: 237380

• **CENTRO AGRONÓMICO K'AYRA**
San Jerónimo s/n Cusco - Teléfonos: 277145 - 277246

• **COLEGIO "FORTUNATO L. HERRERA"**
Av. De la Cultura N° 721
"Estudio Universitario" - Teléfono: 227192

HERBARIO VARGAS CUZ

CERTIFICADO DE DETERMINACIÓN TAXONÓMICA N° 16-2023-HVC-FCB- UNSAAC

La Directora del Herbario Vargas CUZ, Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), deja constancia que: **Ivonne Puma Huamán**, Bachiller de la Carrera Profesional de Química de la UNSAAC; ha presentado a la Dirección del Herbario Vargas CUZ, dos (02) muestras botánicas para su determinación taxonómica (**expediente N° 519254**), para realizar la elaboración del proyecto de tesis intitulada, **"COMPOSICION Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS ACEITES ESENCIALES DE WAYRA Q'ORA Y RETAMILLA"**, las que al ser diagnosticadas por el Mgt. Abel Monteagudo Mendoza, utilizando claves dicotómicas, consulta con bibliografía especializada, y comparación con muestras del herbario, concuerdan con las siguientes especies; de acuerdo a la clasificación del Grupo del Sistema Filogenético de las Angiospermas (Angiosperm Phylogeny Group-APG IV, 2016).

N°	FAMILIA	ESPECIE
1	Lamiaceae	<i>Clinopodium brevicalyx</i> (Epling) Harley & A. Granda
2	Scrophulariaceae	<i>Alonsoa acutifolia</i> Ruiz & Pav.

Se le expide la presente certificación a petición formal de las interesadas para los fines que vieran por conveniente.

Cusco, 15 de marzo de 2023

Blga. María Luisa Ochoa Cámara
Directora del Herbario Vargas CUZ



Anexo 4. Otros anexos relevantes (fotos de la muestra)

Figura 28

Recolección de materia prima



Figura 29

Selección de la materia prima



Figura 30

Extracción del del AE



Figura 31

Aceite Esencial obtenido

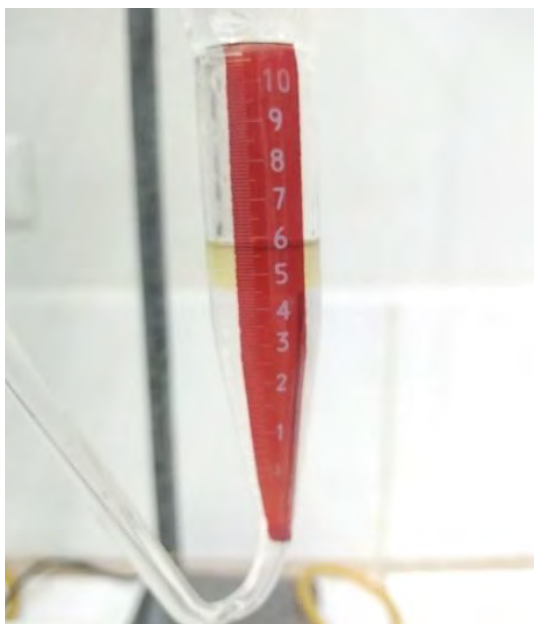


Figura 32

Centrifugación del aceite esencial obtenido



Figura 33

Recolección del aceite esencial de las fases separadas



Figura 34

Adición del desecante a la muestra de aceite esencial

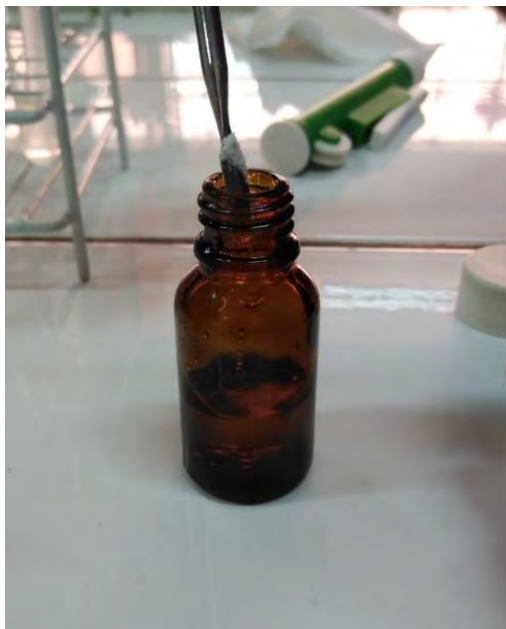


Figura 20

Determinación de la densidad



Figura 21

Solventes para determinar la solubilidad



Figura 22

Prueba de solubilidad del AE



Figura 23

Refractómetro la determinación del índice de refracción



Figura 24

Lectura de refracción del AE

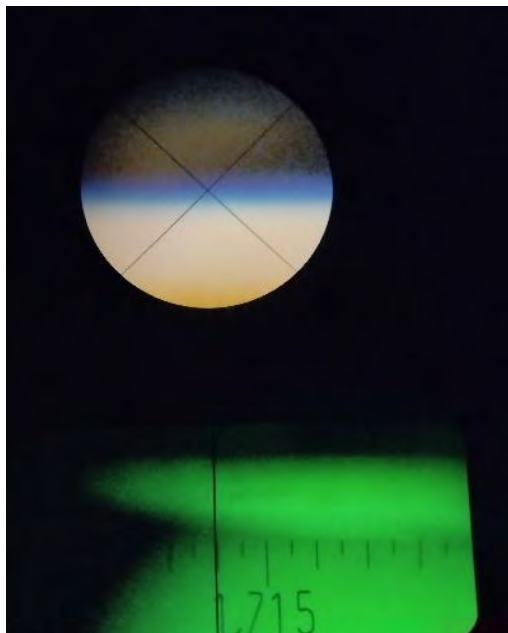


Figura 25

Preparación de la muestra para la determinación del índice de saponificación



Figura 26

Saponificación del AE



Figura 27

Titulación del AE



Figura 28

Preparación y titulación de la muestra para la determinación del índice de acidez

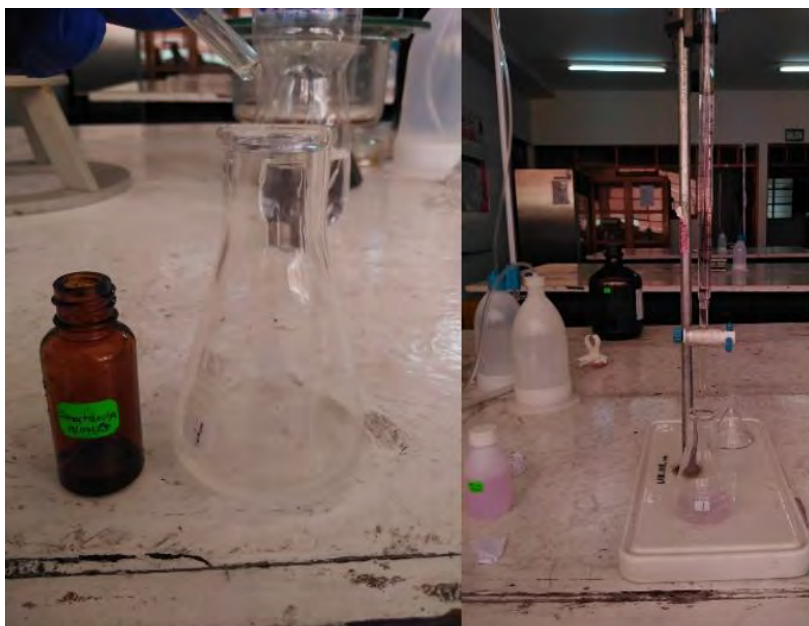


Figura 29

Calibración del polarímetro y muestra en la celda polarimétrica



Figura 30

Lectura de rotación óptica del AE

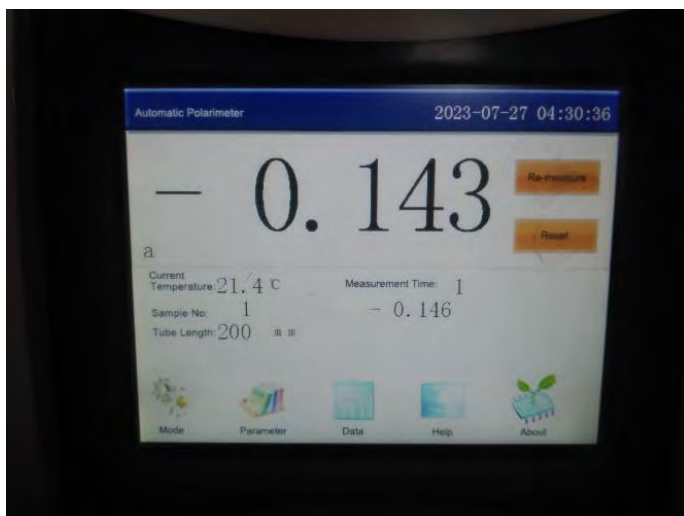


Figura 31

Equipo de Cromatografía de Gases/Masas



Figura 32

Aceite esencial en vial con heptano



Figura 33.

Estándar de Trolox y preparación de solución de DPPH



Figura 34

Solución de DPPH



Figura 35

Preparación y lectura de Absorbancias de Trolox y AE

