

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**  
**SEDE QUITO**

**CARRERA:**

**INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:**

**INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES**

**TEMA:**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE BIOAUTOGRÁFICA  
DE CINCO VARIEDADES DE ACEITES ESENCIALES ANDINOS**  
*(Aristeguietia glutinosa; Myrcianthes rhopaloides; Ambrosia arborescens;  
Lantana camara; Minthostachys mollis)*

**AUTORAS:**

**PRISCILA PAMELA GUERRERO TOAPANTA**

**KARLA NATALIA POZO MORALES**

**TUTOR:**

**PACO FERNANDO NORIEGA RIVERA**

**Quito, febrero del 2016**

## Cesión de derechos de autor

Nosotras, Priscila Pamela Guerrero Toapanta y Karla Natalia Pozo Morales, con documento de identificación N° 1723961536 y 1720331717, manifestamos nuestra voluntad y cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autoras del trabajo de titulación intitulado: “Evaluación de la actividad antioxidante bioautográfica de cinco variedades de aceites esenciales andinos (*Aristeguietia glutinosa*; *Myrcianthes rhopaloides*; *Ambrosia arborescens*; *Lantana camara*; *Minthostachys mollis*)”, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniera en Biotecnología de los Recursos Naturales, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en nuestra condición de autoras nos reservamos los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribimos este documento en el momento que hacemos entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

---

Priscila Pamela Guerrero Toapanta  
C.I. 1723961536

---

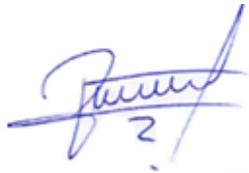
Karla Natalia Pozo Morales  
C.I. 1720331717

Quito, febrero del 2016

### **Declaratoria de coautoría del docente tutor**

Yo declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el trabajo de titulación, Evaluación de la actividad antioxidante bioautográfica de cinco variedades de aceites esenciales andinos (*Aristeguietia glutinosa*; *Myrcianthes rhopaloides*; *Ambrosia arborescens*; *Lantana camara*; *Minthostachys mollis*) realizado por Priscila Pamela Guerrero Toapanta y Karla Natalia Pozo Morales, obteniendo un producto que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana, para ser considerados como trabajo final de titulación.

Quito, febrero del 2016



---

Paco Fernando Noriega Rivera

C.I.0602421323

## **Dedicatoria**

A Dios por siempre sostener mi mano, guiándome para cumplir metas y sueños, y por permitirme culminar esta etapa.

A mis padres, Gloria y José que son quienes siempre han estado a mi lado, por su infinito amor, comprensión y esfuerzo, por enseñarme a luchar hasta el final.

A mis hermanos, Tania, David y Bryan, por su cariño y constante amor.

A mi abuelita que fue el pilar fundamental en mi vida quien siempre creyó en mí y en lo que puedo hacer.

A toda mi familia y a las personas que han estado a mi lado brindándome su compañía y apoyo incondicional.

*Priscila Pamela Guerrero Toapanta*

A Dios por todas las bendiciones que me ha dado, por permitirme culminar esta etapa de mi vida.

A mi madre, Mónica por ser la luz en mi vida, por su infinito amor, que con su trabajo, esfuerzo y sacrificio ha luchado cada día para darme el apoyo que he necesitado en los instantes más importantes de mi vida.

A mi padre, Patricio por su apoyo, amor, y por creer siempre en mí.

A mis abuelitos, Esther, Luis y Rafael, por su cariño y orientación durante mi vida.

*Karla Natalia Pozo Morales*

## **Agradecimiento**

A la Universidad Politécnica Salesiana por permitirnos culminar el presente trabajo de investigación.

A nuestro tutor, Paco Noriega, por su apoyo, por brindarnos sus conocimientos, por darnos la oportunidad para poder realizar la presente investigación, por sus consejos y por su tiempo dedicado.

Al Centro de Investigación y Valoración de la Biodiversidad (CIVABI), por prestarnos sus laboratorios para el desarrollo experimental del nuestro trabajo de titulación.

A los docentes, Rosita Espinoza, por haber sido una persona importante para poder concluir la etapa universitaria, Wilson Tapia, por sus conocimientos impartidos, por su amistad y por haber aportado en el desarrollo de la carrera universitaria, Christian Larenas, por su disposición y paciencia para instruirnos en esta investigación. Y en general a todos los docentes que a lo largo de la carrera han sabido guiarnos y apoyarnos.

A los auxiliares de los laboratorios CIVABI, por su colaboración en el transcurso de la fase experimental de nuestro trabajo experimental.

A todos, gracias.

## Índice

Introducción .....	1
Capítulo 1 .....	3
Marco conceptual .....	3
1.1. Especies en estudio.....	3
1.1.1. <i>Minthostachys mollis</i> (Tipo).....	3
1.1.1.1. Características botánicas .....	3
1.1.1.2. Morfología de <i>Minthostachys mollis</i> .....	4
1.1.1.3. Usos etnobotánicos.....	4
1.1.1.4. Química y estudios farmacológicos .....	4
1.1.2. <i>Aristeguietia glutinosa</i> (Matico).....	5
1.1.2.1. Características botánicas .....	5
1.1.2.2. Morfología de <i>Aristeguietia glutinosa</i> .....	6
1.1.2.3. Usos etnobotánicos.....	6
1.1.2.4. Química y estudios farmacológicos .....	6
1.1.3. <i>Ambrosia arborescens</i> (Marco) .....	6
1.1.3.1. Características botánicas .....	7
1.1.3.2. Morfología de <i>Ambrosia arborescens</i> .....	7
1.1.3.3. Uso etnobotánicos .....	8
1.1.3.4. Química y estudios farmacológicos .....	8
1.1.4. <i>Myrcianthes rhopaloides</i> (Arrayán) .....	8

1.1.4.1. Características botánicas .....	9
1.1.4.2. Morfología de <i>Myrcianthes rhopaloides</i> .....	9
1.1.4.3. Usos etnobotánicos.....	10
1.1.4.4. Química y estudios farmacológicos .....	10
1.1.5. <i>Lantana camara</i> (Supirosa) .....	10
1.1.5.1. Características botánicas .....	10
1.1.5.2. Morfología de <i>Lantana camara</i> .....	11
1.1.5.3. Usos etnobotánicos.....	12
1.1.5.4. Química y estudios farmacológicos .....	12
1.2. Aceites esenciales.....	12
1.2.1. Métodos de obtención de aceites esenciales .....	13
1.2.1.1. Destilación por arrastre de vapor .....	13
1.2.2. Química de un aceite esencial.....	14
1.2.3. Usos de los aceites esenciales.....	14
1.2.4. Importancia económica de los aceites esenciales .....	14
1.2.5. Composición química y actividad biológica de los 5 aceites en estudio ..	15
1.3. Actividad antioxidante.....	18
1.3.1. Actividad antioxidante de los aceites esenciales .....	18
1.3.2. Mecanismo de defensa antioxidante .....	19
1.3.3. Métodos de actividad antioxidante .....	19
1.3.3.1. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres DPPH.....	20
1.3.3.2. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres ABTS.....	20

1.3.3.3. Evaluación de la capacidad antioxidante $\beta$ -caroteno Test .....	21
1.3.4. Métodos bioautográficos de identificación antioxidante .....	21
1.3.4.1. Cromatografía de capa fina (CCF o TLC) .....	22
1.3.4.2. Cromatografía de gases acoplado a masas .....	22
Capítulo 2.....	23
Materiales y métodos .....	23
2.1. Localización y material vegetal.....	23
2.2. Extracción del aceite esencial mediante destilación por arrastre de vapor .....	23
2.3. Determinación de la composición química mediante Cromatografía de gases acoplada a masas .....	23
2.4. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres DPPH (2,2-difenil-1- picrilhidrazil) .....	25
2.5. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres ABTS (2,2-azinobis 3 etilbensotiazolina-6-acidosulfónico).....	26
2.6. Metodología Bioautográfica antioxidante .....	27
2.7. Evaluación de la actividad antioxidante mediante $\beta$ - caroteno test.....	29
2.8. Análisis estadístico .....	30
Capítulo 3.....	32
Resultados .....	32
3.1. Extracción del aceite esencial mediante destilación por arrastre de vapor .....	32
3.2. Determinación de la composición química mediante cromatografía de gases acoplada a masa.....	32

3.3. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres DPPH .....	37
3.4. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres ABTS .....	39
3.5. Evaluación comparativa de la capacidad captadora de radicales libres DPPH y ABTS.....	42
3.6. Análisis estadístico .....	43
3.7. Metodología bioautográfica.....	46
3.8. Evaluación de la actividad antioxidante mediante $\beta$ -caroteno test.....	48
Discusión.....	52
Conclusiones .....	54
Recomendaciones.....	56
Referencias.....	57

## Índice de tablas

Tabla 1. Taxonomía de <i>Minthostachys mollis</i> .....	3
Tabla 2. Taxonomía de <i>Aristeguietia glutinosa</i> .....	5
Tabla 3. Taxonomía de <i>Ambrosia arborescens</i> .....	7
Tabla 4. Taxonomía de <i>Myrcianthes rhopaloides</i> .....	9
Tabla 5. Taxonomía de <i>Lantana camara</i> .....	10
Tabla 6. Rendimiento de los aceites esenciales en estudio .....	32
Tabla 7. Evaluación comparativa de la composición química de 5 aceites esenciales de origen Andino .....	34
Tabla 8. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres DPPH de <i>Thymus vulgaris</i> .....	37
Tabla 9. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres DPPH de <i>Minthostachys mollis</i> . .....	37
Tabla 10. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres DPPH de <i>Aristeguietia glutinosa</i> .....	38
Tabla 11. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres DPPH de <i>Ambrosia arborescens</i> .....	38
Tabla 12. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres DPPH de <i>Myrcianthes rhopaloides</i> .....	38
Tabla 13. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres DPPH de <i>Lantana camara</i> .....	39
Tabla 14. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres DPPH de BHA .	39
Tabla 15. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres ABTS de <i>Thymus vulgaris</i> .....	40

Tabla 16. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres ABTS de <i>Minthostachys mollis</i> .....	40
Tabla 17. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres ABTS de <i>Aristeguietia glutinosa</i> .....	40
Tabla 18. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres ABTS de <i>Ambrosia arborescens</i> .....	41
Tabla 19. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres ABTS de <i>Myrcianthes rhopaloides</i> .....	41
Tabla 20. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres ABTS de <i>Lantana camara</i> .....	41
Tabla 21. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres ABTS de BHA	42
Tabla 22. Evaluación comparativa de la capacidad captadora de radicales libres mediante el cálculo del IC50 entre DPPH y ABTS .....	42
Tabla 23. Análisis bioautográfico de los compuestos con capacidad captadora de radicales libre de los aceites esenciales en estudio. ....	47
Tabla 24. Evaluación de la actividad antioxidante mediante $\beta$ -caroteno test de <i>Thymus vulgaris</i> .....	48
Tabla 25. Evaluación de la actividad antioxidante mediante $\beta$ -caroteno test de <i>Minthostachys mollis</i> .....	48
Tabla 26. Evaluación de la actividad antioxidante mediante $\beta$ -caroteno test de <i>Aristeguietia glutinosa</i> .....	49
Tabla 27. Evaluación de la actividad antioxidante mediante $\beta$ -caroteno test de <i>Ambrosia arborescens</i> .....	49
Tabla 28. Evaluación de la actividad antioxidante mediante $\beta$ -caroteno test de <i>Myrcianthes rhopaloides</i> .....	49

Tabla 29. Evaluación de la actividad antioxidante mediante  $\beta$ -caroteno test de *Lantana camara* ..... 50

Tabla 30. Evaluación de la actividad antioxidante mediante  $\beta$ -caroteno test de BHA ..... 50

## Índice de figuras

Figura 1: Radical libre y forma reducida de 2,2difetil-1-picrilhidrazil (DPPH) .....	20
Figura 2: Reacción del radical ABTS .....	21
Figura 3: Evaluación comparativa de la capacidad captadora de radicales libres mediante el cálculo del IC 50 entre DPPH y ABTS .....	43
Figura 4: Prueba de Kruskall-Wallis, realizado mediante la comparación de las medias de los IC 50 calculados de los aceites esenciales y referente natural de la metodología DPPH. ....	44
Figura 5: Prueba de Kruskall-Wallis, realizado mediante la comparación de las medias de los IC 50 calculados de los aceites esenciales y referente natural de la metodología ABTS .....	45
Figura 6: Factor de retardo de los 5 aceites esenciales en estudio. ....	46
Figura 7: Evaluación comparativa de la actividad antioxidante de los 5 aceites esenciales, el referente natural y el control positivo. ....	51

## Índice de anexos

Anexo 1. Curvas del Porcentaje de inhibición DPPH vs. concentración del referente natural <i>Thymus vulgaris</i> , los cinco aceites esenciales, y el control positivo BHA .....	67
Anexo 2. Curvas del Porcentaje de Inhibición ABTS vs. Concentración del referente natural <i>Thymus vulgaris</i> , los cinco aceites esenciales, y el control positivo BHA .....	69
Anexo 3. Curvas de la Actividad Antioxidante calculado vs. Concentración del referente natural <i>Thymus vulgaris</i> , los cinco aceites esenciales, y el control positivo BHA .....	73

## Resumen

El presente trabajo experimental tuvo como objetivo evaluar la capacidad antioxidante de cinco aceites esenciales: *Minthostachys mollis*, *Aristeguietia glutinosa*, *Ambrosia arborescens*, *Myrcianthes rhopaloides*, *Lantana camara*, provenientes de los andes ecuatorianos; se utilizaron los métodos DPPH y ABTS para evaluar la capacidad captadora de radicales libres, y mediante  $\beta$ -caroteno Test se determinó la actividad antioxidante de cada aceite esencial. Como referente natural se usó el aceite esencial de *Thymus vulgaris*, y como control positivo el BHA.

De acuerdo a los resultados obtenidos en las metodologías de DPPH, ABTS y  $\beta$ -caroteno Test se observó que los aceites esenciales que presentan mejor capacidad captadora de radicales libres y actividad antioxidantes fueron *Minthostachys mollis* (IC<sub>50</sub> DPPH 2,830 $\mu$ L/mL; IC<sub>50</sub> ABTS 0,205 $\mu$ L/mL; y IC<sub>50</sub> AA 0,119 $\mu$ L/mL) y *Aristeguietia glutinosa* (IC<sub>50</sub> DPPH 12,972 $\mu$ L/mL; IC<sub>50</sub> ABTS 0,321 $\mu$ L/mL; y IC<sub>50</sub> AA 0,062 $\mu$ L/mL), mientras que en los demás aceites esenciales la actividad antioxidante es baja. Además utilizando la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para DPPH y ABTS, se determinó que no existe similitud alguna entre las medias de los IC<sub>50</sub> de los aceites esenciales y el referente natural, sin embargo los valores más cercanos al referente natural fueron los de *Minthostachys mollis* y *Aristeguietia glutinosa*. Para determinar las moléculas responsables de la actividad antioxidante se usó el método DPPH bioautográfico, cuya identidad química fue revelada en análisis de cromatografía de gases acoplada a masas, en el aceite de *Minthostachys mollis* las moléculas responsables de la actividad fueron timol acetato, carvacrol acetato y en *Aristeguietia glutinosa* fue el muuroleno.

**Palabras clave:** aceite esencial, actividad antioxidante, DPPH, ABTS,  $\beta$ -caroteno Test.

## Abstract

This experimental work had the goal of assessing the antioxidant capabilities of five essential oils: *Minthostachys mollis*, *Aristeguietia glutinosa*, *Ambrosia arborescens*, *Myrcianthes rhopaloides* and *Lantana camara*; all of which were obtained from the Ecuadorian Andes. This work used the DPPH and ABTS methods to assess free-radical-capturing capacity, and it used the  $\beta$ -carotene Test to determine the antioxidant activity of each essential oil. The natural referent used herein was *Thymus vulgaris* essential oil, and the positive control was BHA.

According to the results obtained using the DPPH, ABTS and  $\beta$ -carotene methods, it was found that the best essential oils in terms of free-radical-capturing and antioxidant activity were *Minthostachys mollis* (IC<sub>50</sub> DPPH 2,830 $\mu$ L/mL; IC<sub>50</sub> ABTS 0,205 $\mu$ L/mL; and IC<sub>50</sub> AA 0,119 $\mu$ L/mL) and *Aristeguietia glutinosa* (IC<sub>50</sub> DPPH 12,972 $\mu$ L/mL; IC<sub>50</sub> ABTS 0,321 $\mu$ L/mL; and IC<sub>50</sub> AA 0,062 $\mu$ L/mL); whereas the rest of the essential oils showed low antioxidant activity. Further, using the Kruskal-Wallis non-parametric test for DPPH and ABTS determined that there is no similarity between the essential oils' and the natural reference's IC<sub>50</sub>s; however, the values most approximate to the natural reference were those of *Minthostachys mollis* and *Aristeguietia glutinosa*. In order to determine the molecules responsible for antioxidant activity, this work used the DPPH bioautographic method, and chemical identities were revealed through a Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS) analysis. The molecules responsible for *Minthostachys mollis* antioxidant activity were thymol acetate and carvacrol acetate, whereas the molecule responsible for *Aristeguietia glutinosa* activity was muurolene.

**Keywords:** essential oil, antioxidant activity, DPPH, ABTS,  $\beta$ -carotene Test.

## Introducción

Los radicales libres son sustancias químicas, que se generan tanto en los procesos del metabolismo celular o pueden ser generados por fuentes exógenas como la producida por la contaminación ambiental, cuando estos incrementan su concentración pueden provocar daños en el organismo (Coba, Mayacu, & Vidari, Importance of antioxidant activity and evaluation in ethanol extracts of *Oryctanthus* type, 2010). Se ha evidenciado que los radicales libres juegan un papel importante en el equilibrio homeostático, puesto que se los asocia a la patogénesis de muchas enfermedades humanas entre ellas el envejecimiento prematuro, cáncer, enfermedades neurodegenerativas, y otras. (Kuskoski E. A.-P., 2004). El cuerpo humano necesita de antioxidantes para reducir los radicales libres y así el daño que éstos pueden causar, pues estas sustancias tienen la capacidad de minimizar las reacciones en cadena que originan dichos radicales (Challem & Block, 2008). Los antioxidantes están presentes en diversas matrices vegetales, dentro de las cuales se destacan las diversas moléculas presentes en los aceites esenciales. En Ecuador gran parte de la población utiliza a las plantas medicinales como un recurso para tratar diversas dolencias y enfermedades, se estima que un 80% de la población aun hace uso de estos recursos (Buitrón & Hidalgo, 1999). Varios estudios en aceites esenciales de especies vegetales provenientes del Ecuador han demostrado tener una elevada capacidad antioxidante (Sacchetti, 2005), por lo que en la presente investigación se propuso estudiar varias especies vegetales provenientes de los andes ecuatorianos y de esta manera incrementar la información científica a otras plantas medicinales como: *Aristeguietia glutinosa*, *Myrcianthes rhopaloides*, *Ambrosia arborescens*, *Lantana cámara* y *Minthostachys mollis*.

Las especies vegetales en estudio son nativas de los andes ecuatorianos y todas son usadas regularmente, como parte del conocimiento popular en el tratamiento de un

sin número de enfermedades y dolencias entre estas se puede destacar su acción: antiespasmódica, emenagoga, antidiarreica, contra cólicos, antiemética entre otros. En la literatura científica existen varias investigaciones realizadas en los aceites esenciales de este estudio, donde se destacan sus propiedades: antimicrobiana y antifúngica. En algunos aceites esenciales podemos encontrar de forma detallada evaluaciones de su composición química.

Consecuente a lo mencionado, el presente trabajo experimental se planteó como objetivo general: Evaluar la actividad antioxidante de 5 aceites esenciales provenientes de los andes ecuatorianos (*Aristeguietia glutinos*; *Myrcianthes rhopaloides*; *Ambrosia arborescens*; *Lantana cámara*; *Minthostachys mollis*), y como objetivos específicos: Evaluar la actividad antioxidante por diversos métodos espectrofotométricos DPPH, ABTS y  $\beta$ -caroteno test, Identificar la composición química de los aceites esenciales y evaluar la actividad antioxidante de los compuestos individuales por la metodología HPTLC-DPPH.

En la investigación se tomó como referente natural el aceite esencial de *Thymus vulgaris* por la capacidad antioxidante que posee, para poder comparar con los aceites esenciales en estudio. En base a lo anteriormente mencionado se propuso como hipótesis nula: Los IC<sub>50</sub> de los aceites esenciales en estudio y el referente natural tienen medias estadísticamente similares y como hipótesis alternativa: el valor de la media de los IC<sub>50</sub> de los aceites esenciales y el referente natural no poseen similitud. Con esta investigación se busca a más de la evaluación de la actividad antioxidante, valorar a estas matrices químicas, como posibles materias primas en la elaboración de medicamentos, cosméticos y alimentos, aprovechando las cualidades que una sustancia/as antioxidantes pueden ofrecer en diversas actividades productivas.

## Capítulo 1

### Marco conceptual

#### 1.1. Especies en estudio

##### 1.1.1. *Minthostachys mollis* (Tipo)

Es una planta originaria de Argentina, Bolivia, Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela; crecen desde 500 a 3.500 metros sobre el nivel del mar (Elechosa M. , 2009).

##### 1.1.1.1. Características botánicas

Tabla 1.

Taxonomía de *Minthostachys mollis*

<b>Reino</b>	<i>Plantae</i>
<b>División</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Clase</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Subclase</b>	<i>Asteridae</i>
<b>Orden</b>	<i>Lamiales</i>
<b>Familia</b>	<i>Lamiaceae</i>
<b>Genero</b>	<i>Minthosachys</i>
<b>Especie</b>	<i>Mollis</i>

Nota: tomado de (Tropicos de (Grisebach, 1874))

Nombres comunes de *Minthostachys mollis*: Muña, Tipo, Peperina, poleo, martín muña.

Las especies de la familia *Lamiaceae* son hierbas perennes, algunos subarbustos y muy raramente árboles o trepadoras, comprende unos 210 géneros y más o menos 3.500 especies. La familia *Lamiaceae* es una especie vegetal que contiene aceite esencial en todas las partes de la planta (Stashenko, 2009).

En el género *Minthosachys* encontramos 12 especies distribuidas en los Andes desde Venezuela hasta el norte de Argentina. Dos de estas especies se encuentran en los Andes Ecuatorianos (Ulloa Ulloa & Moller Jorgensen, 1995).

### ***1.1.1.2. Morfología de *Minthostachys mollis****

Planta arbustiva leñosa que alcanza de 0.80 a 1.20 m de altura. Su tallo es ramificado desde la base y posee hojas pequeñas aserradas, presenta ramosos, con pubescencia retrorsa, más densa en la parte de arriba. Hojas con pecíolos hasta de 10 mm longitud; hojas ovadas, agudas, cuneadas en la base, de margen entero o irregularmente aserrado en la mitad superior, ambas caras pubescentes, envés más claro y con pubescencia acentuada. Inflorescencia con cimas pedunculadas axilares, agrupadas en racimos discontinuos. Flores pediceladas. (Elechosa M. , 2009)

### ***1.1.1.3. Usos etnobotánicos***

Es utilizado como una planta digestiva, antiespasmódica, antidiarreica, contra la cólera y vómitos. Además se lo puede utilizar en problemas de indigestión, gastritis, cólicos, flatulencias, es carminativa, también se emplea para regularizar periodos menstruales, y en el caso de temblores nerviosos y palpitaciones del corazón (Gupta, 1995). En un estudio realizado por Cerón sobre plantas medicinales de los Andes ecuatorianos se confirma los usos tradicionales de *Minthostachys mollis* para la tos, gripe, aromática, dolor molar, dolor estomacal, diarrea, limpiados (Cerón Martínez, 2006).

### ***1.1.1.4. Química y estudios farmacológicos***

Un estudio realizado en Perú, mediante métodos cromatográficos y espectroscópicos muestra que entre los principales compuestos del aceite esencial esta 1-tetradeceno, 2s-trans-mentona, pulegona,  $\gamma$ -terpineno y nerolidol (Fuentes Ruitón & Munguía Chipana, 2014). *Minthostachys mollis* en su composición química presenta: (-)  $-\beta$  pineno, (-)-limoneno, (-) mentona, pulegona, (+) – isomentona, ácido piperínico,  $\gamma$ -pineno, 1-8-ci-neol y carvona (Gupta, 1995). Un estudio realizado en el aceite esencial de *Minthostachys mollis* se logró demostrar la actividad antimicótica del aceite

esencial, los monoterpenos encontrados son los que posiblemente le dan esta propiedad (Cano, Bonilla, Roque, & Ruiz, 2008).

### 1.1.2. *Aristeguietia glutinosa* (Matico)

Es una planta nativa de la Sierra Ecuatoriana crece en una altura entre 3.000 y 3.700m sobre el nivel del mar (Varela Ubillos, 2011).

#### 1.1.2.1. Características botánicas

Tabla 2.

Taxonomía de *Aristeguietia glutinosa*

<b>Reino</b>	<i>Plantae</i>
<b>División</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Clase</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Orden</b>	<i>Asterales</i>
<b>Familia</b>	<i>Asteraceae</i>
<b>Genero</b>	<i>Aristeguietia</i>
<b>Especie</b>	<i>Glutinosa</i>

Nota: tomado de (Tropicos de (King & Robinson, 1975))

Nombres comunes de *Aristeguietia glutinosa*: Matico, hierba de soldado, chusa lunku, migla.

*Aristeguietia glutinosa* pertenece a la familia *Asteraceae* y presenta más de 23.000 especies que son la familia de las angiospermas que presenta mayor riqueza y diversidad biológica, se encuentra distribuida desde los polos hasta las zonas tropicales además en muchas regiones del mundo esta familia llega a integrar hasta el 10 % de la flora vernácula (Stashenko, 2009).

El género *Aristeguietia* consta de 21 especies que se encuentran distribuidas en los Andes desde Colombia hasta el Sur de Perú. Podemos encontrar 9 especies distribuidas en los Andes ecuatorianos (Ulloa Ulloa & Moller Jorgensen, 1995).

#### ***1.1.2.2. Morfología de Aristeguietia glutinosa***

Arbustos perennes de una altura de 1-3 m. En sus ramas grises presenta hojas aromáticas, opuestas de 7 a 10 cm de longitud y 2.5-3.5 cm de ancho de color verde brillante, tiene un ápice agudo, de margen dentado, haz verrucosa glabra y brillante con un envés tomentoso albescente. Además posee panículas de capítulos de 10 a 15 cm por 12cm de ancho, brácteas de color café oscuras, *Aristeguietia glutinosa* posee flores tubulares de color fucsia oscuro. (Gupta, 1995).

#### ***1.1.2.3. Usos etnobotánicos***

En un estudio realizado sobre las plantas medicinales de Los Andes ecuatorianos dentro de las plantas estudiadas tenemos *Aristeguietia glutinosa* que trata afecciones como: inflamación, resfrío, baño vaginal, baño posparto, cicatrizante, rascabonito, baño caliente, úlceras, cáncer (Cerón Martínez, 2006).

#### ***1.1.2.4. Química y estudios farmacológicos***

De las hojas se han aislado varias moléculas como la friedelina, la  $\delta$ -amirenona, acetato dammaradienilo y también algunos diterpénicos. Además en la parte volátil se han encontrado parafinas de 18 a 29 carbonos, esterres metílicos de ácidos grasos, algunos sesquiterpenos, también se han aislado algunos flavonoides en especial medicinales. En ensayos in vitro se ha evidenciado que existe en la planta actividad antibacteriana contra varios gérmenes gram-positivos (Gupta, 1995).

#### ***1.1.3. Ambrosia arborescens (Marco)***

Es una planta nativa de la Cordillera de América del Sur, las condiciones en las que ésta crece es entre los 2.500 y 3.000 metros sobre el nivel del mar. Crece en toda la región interandina del Ecuador (Naranjo , 2010).

### 1.1.3.1. Características botánicas

Tabla 3.

Taxonomía de *Ambrosia arborescens*

<b>Reino</b>	<i>Plantae</i>
<b>División</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Clase</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Orden</b>	<i>Asterales</i>
<b>Familia</b>	<i>Asteraceae</i>
<b>Genero</b>	<i>Ambrosia</i>
<b>Especie</b>	<i>Arborescens</i>

Nota: tomado de (Tropicos de (Miller P. , 1768))

Nombres comunes de *Ambrosia arborescens*: Marco, Marku, Altamisa, Mano de Marco, Marku Yura, Artemisia.

Las especies de la familia *Asteraceas*, tienen más de 23.000 especies por lo que son la familia de las angiospermas que tienen mayor riqueza y diversidad biológica están distribuidas desde los polos hasta las regiones tropicales (Stashenko, 2009).

*Ambrosia* como género presenta 42 especies que se encuentran ampliamente distribuidas, en especial en el oeste de América del Norte (Ulloa Ulloa & Moller Jorgensen, 1995).

### 1.1.3.2. Morfología de *Ambrosia arborescens*

Plantas herbáceas de 0.5 a 3m de alto, anual. Toda la planta posee glándulas aromáticas. Presenta un tallo cilíndrico erguido, ramoso, de color verde blanquecino, tiene hojas alternadas, pecioladas, pinnatidisectas de 10 a 20 cm de longitud con un peciolo de 2-3cm de largo. Además presenta inflorescencias paniculadas, racimosas distalmente, con un longitud de 15-30cm; *Ambrosia arborescens* presenta capítulos masculinos pequeños y dispuestos en los ápices de los ramos y los femeninos están en las axilas de las hojas superiores. Posee flores femeninas reducidas, perianto ausente, androceo ausente; flores masculinas modificadas, cáliz ausente, corola

hialina, campanulada. Los frutos son aquenios, pequeños, elipsoidales, de color pardo (Gupta, 1995).

#### ***1.1.3.3. Uso etnobotánicos***

*Ambrosia arborescens* se lo utiliza para aliviar dolores de cabeza, migrañas, reumatismo, fiebre, diabetes, cólicos, dolores de parto, además se lo usa como repelente y para curar la sarna, también se lo utiliza como antisépticos y antiparasitarios. En los cultivos agrícolas sirve para controlar plagas y se lo puede utilizar como cerca viva (Jussieu, 2013). Un estudio de plantas medicinales de los Andes de Bolivia se utiliza *Ambrosia arborescens* para inducir al aborto, retraso de la menstruación (de la Riva, 2006).

#### ***1.1.3.4. Química y estudios farmacológicos***

En las hojas se han identificado cuatro lactonas sesquiterpénicas: la damsina, la coronofilina, la psilostaquina y la psilostaquina C. También se ha encontrado en las semillas damsina y corofilina. Se ha evidenciado que la coronofilina tiene actividad antibacteriana contra el *Bacillus subtilis* y *Micrococcus oxford*. Así como contra algunos insectos dípteros. Por otra parte la damsina tiene actividad moluscicida (Gupta, 1995). Un estudio realizado sobre la toxicidad *Ambrosia arborescens* indica la presencia de alcaloides lo que la convierte en una planta muy fuerte para el consumo humano generando síntomas indeseados (Machaca, 2014).

#### **1.1.4. *Myrcianthes rhopaloides* (Arrayán)**

Esta especie se ubica entre los 2.000 y 3.000 metros sobre el nivel del mar, es una planta nativa del Ecuador (Rodríguez Zunino, 2006).

#### 1.1.4.1. Características botánicas

Tabla 4.

Taxonomía de *Myrcianthes rhopaloides*

<b>Reino</b>	<i>Plantae</i>
<b>División</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Clase</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Subclase</b>	<i>Manollidae</i>
<b>Orden</b>	<i>Myrtales</i>
<b>Familia</b>	<i>Myrtaceae</i>
<b>Genero</b>	<i>Myrcianthes</i>
<b>Especie</b>	<i>Rhopaloides</i>

Nota: tomado de (Tropicos de (McVaugh, 1958))

Nombres comunes de *Myrcianthes rhopaloides*: Arrayán, palo colorado, temu temo, kollimamal, collimamul.

Las especies de la familia *Myrtaceae* son árboles o arbustos perennifolios generalmente son ricos en aceite esencial. Presenta alrededor de 130 géneros y 2.900 especies que se encuentran en las regiones tropicales y subtropicales, algunas se localizan en Europa (Stashenko, 2009).

El género *Myrcianthes* consta con alrededor de 40 especies que se encuentran distribuidas en América desde Florida hasta el Uruguay y el norte de Argentina. En Ecuador encontramos más o menos 15 especies; 4 se han registrado en los bosques andinos y altoandinos (Ulloa Ulloa & Moller Jorgensen, 1995).

#### 1.1.4.2. Morfología de *Myrcianthes rhopaloides*

Árbol mediano de 15 metros de altura. Presenta hojas simples opuestas o a veces verticilado, sus hojas son de pequeño tamaño de 5-7 cm, coriáceas, lustrosas; estas son visiblemente dorsiventrales, presentan un haz verde oscuro lustroso rojizo, y el envés tiene una coloración verde claro. Nervios secundarios poco conspicuos, un poco más en el envés, casi perpendiculares al central, densos, rectos y paralelos entre si formando un nervio colector marginal. La fruta es una baya que presenta una sola semilla, los

frutos del arrayán son pequeños los mismos que cuando maduran presentan una coloración roja y luego negro (Rodríguez Zunino, 2006).

#### **1.1.4.3. Usos etnobotánicos**

Se lo utiliza como tónico estomacal, antidiarreico y anticatarral, además se lo utiliza para tratar úlceras y heridas infectadas (Gupta, 1995).

#### **1.1.4.4. Química y estudios farmacológicos**

Un estudio realizado sobre la composición del aceite esencial de *Myrcianthes rhopaloides* determinaron la presencia mayoritaria de compuestos como linalol, eucaliptol, D-limoneno,  $\alpha$ -terpineol, además se evaluó la actividad antimicrobiana del aceite esencial mostrando una fuerte acción sobre *Streptococcus mutans* y *Streptococcus pyogenes* (Maldonado & Dacarro, 2007).

#### **1.1.5. Lantana camara (Supirosa)**

Se presentan en América tropical. Se la puede encontrar distribuido entre los paralelos 45°N Y 45°S del continente americano (Romeu, González, & Martín, 2001).

#### **1.1.5.1. Características botánicas**

Tabla 5.

Taxonomía de *Lantana camara*

<b>Reino</b>	<i>Plantae</i>
<b>División</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Clase</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Orden</b>	<i>Lamiales</i>
<b>Familia</b>	<i>Verbenaceae</i>
<b>Genero</b>	<i>Lantana</i>
<b>Especie</b>	<i>Camara</i>

Nota: tomado de (Tropicos de (Linnaeus, 1753))

Nombres comunes de *Lantana camara*.: Supirosa, flor de duende, bandera española, yerba de cristo, cariaquito, siete colores, lantana, cinco negritos.

Las especies de la familia *Verbenaceae* están formadas por árboles, arbustos y hierbas que son una amplia familia de plantas tropicales, presenta alrededor de 90 géneros y

2.000 especies que se localizan en el trópico y subtrópico, y en algunas zonas templadas. Se las utiliza generalmente para obtención de maderas, aceites y frutos comestibles, algunos presentan propiedades medicinales y también se los utiliza ornamentalmente (Stashenko, 2009).

Lantana como género consta con 245 especies distribuidas en América tropical, África tropical y Sudáfrica. En Ecuador se encuentra representado con 17 especies, dentro de la zona andina se han registrado 4 especies (Ulloa Ulloa & Moller Jorgensen, 1995).

#### ***1.1.5.2. Morfología de Lantana camara***

Es un arbusto perenne que presenta más o menos 2 metros de altura, es una planta rustica que se encuentra a menudo en estado salvaje, las hojas tienen un aroma característico (Galvis R., 2014). Presenta tallos velludos de sección transversal cuadrada, usualmente con espinas encorvadas, puede estar como enredaderas, trepadoras de hasta 8 m de altura. Las hojas son apareadas, de peciolo corto, ovales, con puntas obtusas, márgenes dentados (Sacchetti, 2005). Sus hojas de 5 -10 cm de largo, pubescentes en ambas caras, rugosas, discoloras, con haz verde oscuro y áspero, es más claro en el envés y cuando se aplasta presentan un olor característico. Sus pequeñas flores son blancas, rosadas, amarillas, anaranjadas o rojas, con centros amarillos y se presentan en densos racimos entre las hojas. Las flores están agrupados en cimas capituliformes densas y axilares, con un diámetro de 2-3cm y pedúnculo de 2-14cm de largo (Ojeda Land, 2015). Las frutas verdes y globulares en drupa que contienen una sola semilla leñosa y al madurar toman coloración negro-purpúrea (Swarbrick, 1996).

### ***1.1.5.3. Usos etnobotánicos***

Ésta especie vegetal se usa como antipirético, para facilitar el parto, como tratamiento de enfermedades de la piel, en desordenes digestivos, además se lo emplea como emenagogo y tónico. Se le atribuyen poder estimulante en los centros sensoriales e imaginativos, propiedades curativas de heridas, úlceras, se lo utiliza para tratar dolor de muelas (Gupta, 1995). Además es una planta toxica para el ganado y las ovejas; los frutos pueden ser tóxicos para los niños (Sharma, Makkar, & Dawra, 1988). *Lantana camara* se la utiliza para contrarrestar enfermedades gastrointestinales (Lira, 2005).

### ***1.1.5.4. Química y estudios farmacológicos***

*Lantana camara* presenta mayor efectividad de toxicidad contra dos especies de gorgojo que ataca el maíz (Iannacone O., 2003). Según un estudio sobre actividad antimicrobiana de *Lantana camara* se logró definir que es un inhibidor eficaz para cepas gram-positivas aunque también tuvo acción sobre las cepas gram-negativas de *P. aeruginosa* (Basu, Ghosh, & Hazra, 2005). Además *Lantana camara* presenta actividad insecticida contra *Callosobruchus chinensis* (Saxena, Dixit, & Harshan, 1992).

## **1.2. Aceites esenciales**

Un aceite esencial es la combinación aromática de varias sustancias orgánicas, que son insolubles en agua y presentan características volátiles, es decir que se evaporan a temperatura ambiente, algunas de las sustancias que contienen los aceites esenciales son: alcoholes, cetonas, ésteres, éteres, aldehídos, terpenos, fenoles, camarinas entre otros. Los aceites esenciales se pueden localizar en cualquier tejido de la planta y por lo general se forman en la célula u órganos secretores. La concentración del aceite esencial varía con cada especie presentándose en algunas más y en otras menos (Verde López, Rivera Núñez, Fajardo Rodríguez, & Obón de Castro, 2005).

Los aceites esenciales son producto del metabolismo secundario de las plantas que son moléculas de bajo y mediano peso molecular generado por las plantas a través de diferentes rutas biosintéticas (Stashenko, 2009). Se llaman aceites por su apariencia física y la consistencia que presentan que es muy parecida a la de los aceites grasos con la diferencia de que cuando se coloca una gota de aceite esencial sobre papel este se volatiliza sin dejar huella, pero si una leve fragancia sensorial agradable (Gil Pavas & Sáez Vega, 2012), y se las nombra como esencias porque son mezclas un poco más complejas que puede tener de 50 hasta más de 300 sustancias químicas y está compuesta por una porción de hidrocarburos de la serie polimetilénica del grupo de los terpenos (Stashenko, 2009).

### **1.2.1. Métodos de obtención de aceites esenciales**

Los aceites esenciales se pueden obtener por diferentes métodos como: Destilación que se da por diferentes mecanismos; extracción con solventes volátiles; extracción con CO<sub>2</sub>; supercrítico. A continuación se describe el método de destilación por arrastre de vapor utilizado en la investigación.

#### ***1.2.1.1. Destilación por arrastre de vapor***

Este método se lo utiliza para separar sustancias no volátiles de sustancias que son ligeramente volátiles e insolubles en agua (Dominguez, 1973). Con la destilación por arrastre de vapor se logra la máxima difusión de vapor a través del material vegetal y ocasionan menos daños a los componentes de las esencias a diferencia de otros métodos (Lamarque, y otros, 2008). Con este método se coloca la planta en una placa perforada que se encuentra en la parte inferior del destilador, se pone agua por debajo de la placa, luego se calienta el agua ocasionando que el vapor húmedo atraviese el material de manera que la planta nunca se pone en contacto con el agua. El agua condensa se separa del aceite regresando al recipiente el agua (Sharapin, 2000).

### **1.2.2. Química de un aceite esencial**

La composición química de un aceite esencial va a variar según el tipo de especie vegetal, la variedad, quimiotipo, las condiciones en las que se cultiva, suelo, clima, edad de la planta, tratamientos, condiciones geográficas (Stashenko, 2009).

Los aceites esenciales presentan diversas mezclas complejas de compuestos orgánicos por lo cual Noriega en el 2009 los clasifica en cuatro grupos que son: hidrocarburos alifáticos y sus derivados oxigenados, los derivados del benceno, los terpénicos y compuestos misceláneos (Noriega, 2009).

### **1.2.3. Usos de los aceites esenciales**

Los aceites esenciales presentan numerosos usos en la industria como la elaboración de productos de aseo e higiene personal; aplicaciones en la industria tabacalera, textil y de pinturas; se lo usa como saborizantes en algunos productos alimenticios, confitería, bebidas alcohólicas, etc. En la industria farmacéutica los aceites esenciales tienen aplicación para enmascarar olores, principios activos y la elaboración de aromatizantes. Aceites esenciales de cítricos, pino, y bálsamos se los utiliza como disolventes biodegradables, aditivos. En la agricultura se lo utiliza como un aleloquímico (Stashenko, 2009).

### **1.2.4. Importancia económica de los aceites esenciales**

La industria de aceites esenciales tiene gran importancia económica, debido a que está relacionado con el sector productivo, tecnológico y agrícola (Stashenko, 2009). En un estudio realizado por la FAO en el 2011 determina que se conocen 3.000 tipos de aceites esenciales, de los que solo 300 tiene importancia comercial, de estos 18 son los que representan el 50% del valor total. América es el continente que presenta mayor movimiento en cuanto a exportaciones de aceites esenciales con 150.743 toneladas en

el año 2009 seguido de Asia y Europa, con lo que respecta a valores monetarios de exportaciones, Europa se encuentra en el primer lugar con US\$ 858 millones, seguido por América con US\$ 810 millones, y luego Asia (TECNOVA, 2013). Por otro lado un estudio realizado por el Prof. Philip M. Parker, INSEAD, en el 2005 entre los exportadores más importantes en Latinoamérica tenemos a Brasil con un 33,00 % que representa un valor de US\$  $60.250 \times 10^3$ , en dicha tabla Ecuador se localiza en el onceavo puesto con 0,19 % que representa US\$  $373 \times 10^3$  (Stashenko, 2009). Los aceites esenciales son de gran importancia económica ya que involucra varias industrias incluso en las zonas más pobres se trata de incentivar el cultivo de plantas aromáticas para la sustentabilidad económica de los mismos.

#### **1.2.5. Composición química y actividad biológica de los 5 aceites en estudio**

En un estudio sobre *Minthostachys mollis* realizado en Perú utilizando cromatografía de gases se encontró que el aceite esencial contiene pulegona, mentona, limoneno; el mismo estudio propone que presenta actividad antimicótica frente a cepas de *Candida albicans* y frente a los dematofitos (Cano, Bonilla, Roque, & Ruiz, 2008). Un estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* de tres diferentes regiones realizado en Perú, mediante métodos cromatográficos y espectroscópicos muestra que entre los principales compuestos del aceite esencial esta 1-tetradeceno, 2s-trans-mentona, pulegona,  $\gamma$ -terpineno y nerolidol, los porcentajes y los componentes varían de planta a planta según la región (Fuentes Ruitón & Munguía Chipana, 2014). Una investigación realizada en Argentina donde se recolectó *Minthostachys mollis* de 21 poblaciones se analizó el aceite esencial mediante GC/FID/MS obteniendo como compuestos limoneno,  $\gamma$ -terpineno, linalol, mentona, isomentona, dihcervona, pulegona, carvona, ac. mentilo, carvacrol, piperitenoa, acetato carvacrilo, los

porcentajes y los componentes varían de planta a planta según la región (Elechosa, y otros, 2007). Por otra parte en Colombia un estudio comparativo de la actividad antioxidante de *Minthostachys mollis* y *Calycolpus moritzianus* los autores determinaron que *Minthostachys mollis* presentó la mayor actividad antioxidante frente al método ABTS y DPPH, con respecto al aceite esencial de *Minthostachys mollis* los compuestos mayoritarios encontrados fueron: Acetato de  $\alpha$ -Eudesmol, Acetato de (-)-Isolongifolol, Germacreno-D, Eucaliptol y Pulegona (Granados Conde, 2012). Una investigación sobre la actividad antimicrobiana de *Minthostachys mollis* con un método de excavación placa cultivo, reporta que Timol, Acetato De Timol y Metileugenol posiblemente son los responsables de la actividad antimicrobiana (Carhuapoma Y., 2014). Un estudio realizado en Perú sobre la composición química y el contenido de fenoles totales de *Minthostachys mollis* usando el método de GC-MS en el que obtuvo que presenta 18 diferentes compuestos volátiles entre ellos Isomentona, Pulegona, Timol, Isopulegona (Chaquilla Quilca, Estela Escalate, & Torres Muñoz, 2011).

En cuanto al aceite esencial de *Aristeguietia glutinosa* una investigación realizada en Ecuador, muestra que presenta actividad antifúngica sobre *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubru*, *Microsporum canis* y *Candida albicans* (Ayala & Vásquez, 2014). Además en un estudio realizado por Seedi y Hesharn, se muestra que el aceite esencial presenta actividad antimicrobiana frente a bacterias gram positiva y negativa, y se confirma su actividad antifúngica sobre tres hongos (Seedi & Hesharn, 2006).

En un estudio realizado en Colombia, el aceite esencial de *Ambrosia arborescens* proveniente de las hojas recolectadas del Valle del Cauca, determinó mediante cromatografía de gases acoplado a masas, que los compuestos químicos más

significativos fueron  $\beta$ - himachaleno y trans-  $\beta$ - guaieno (Saldarriaga, Sánchez, Bonilla, Sánchez, & Torres, 2010).

El aceite esencial de *Myrcianthes rhopaloides* es rico en monoterpenos y sesquiterpenos oxigenados y algunos hidrocarburos sesquiterpénicos. Dentro de los compuestos más abundantes están el isoborneol, el  $\delta$ -curcumeno, la  $\delta$ -cadineno, el corotol y el  $\delta$ -farneseno (Gupta, 1995). Un estudio realizado en Ecuador sobre el análisis de la composición del aceite esencial con el método de CG/MS determinaron la presencia mayoritaria de compuestos como linalol, eucaliptol, D-limoneno,  $\alpha$ -terpineol, además en el mismo estudio se evaluó la actividad antimicrobiana del aceite esencial mostrando una fuerte acción sobre *Streptococcus mutans* y *Streptococcus pyogenes* (Maldonado & Dacarro, 2007).

El aceite esencial *Lantana cámara L.* en una investigación elaborada en India, se muestra actividad adulticida frente a mosquitos, en dicha investigación se realiza la identificación de la composición química del aceite esencial mediante GC-MS, presentando como componentes mayoritarios: cariofileno, eucalyptol,  $\alpha$ -humulene y germancrene (Dua, Pandey, & Dash, 2010), estos componentes se comprueban en un estudio realizado de igual manera en India en el aceite esencial de las flores de *Lantana camara* (Khan, Srivastava, Syamasundar, Singh, & Naqvi, 2002). También se encontró que los componentes mayoritarios que presenta el aceite son: limoneno,  $\alpha$ -felandreno, y sabineno, germacreno D,  $\beta$ -cariofileno, curcumenos y zingibereno (Stashenko, Jaramillo, & Martínez, 2003). Por otra parte en un estudio realizado en Cuba, se determinó la composición química mediante GC-MS, en el cual indica que los componentes mayoritarios son: (E)-nerolidol,  $\gamma$ -cadineno,  $\alpha$ -humuleno y  $\beta$ -cariofileno (Romeu, Pino, & Martí, 2004).

### **1.3. Actividad antioxidante**

La palabra antioxidante según Halliwell (1997) se define como: cualquier sustancia que, cuando se encuentra presente en concentraciones pequeñas en relación con las de un sustrato oxidable, demora significativamente o previene la oxidación de dicho sustrato (Restrepo, 2006). Por lo tanto se puede decir que los antioxidantes son sustancias que ayudan a retardar el efecto de radicales libres especialmente de oxígeno o nitrógeno. Se define como radical libre las especies químicas que en su estructura atómica, presenta un electrón desapareado (Soto, 2002), los radicales libres del oxígeno: radical hidroxilo (-OH) y el radical superóxido ( $O_2^-$ ) son relevantes por su importancia médica. Estos radicales, pueden atacar y dañar casi cualquier molécula presente en el cuerpo, pues son tan activos que se pueden unir con otro electrón en una fracción de segundo, pueden ceder su electrón o capturar un electrón de otra molécula, en cualquier caso la molécula atacada es, a su vez, convertida en radical. Por lo cual se inicia una reacción en cadena que puede cruzar destructivamente a través de un tejido (Youngson, 1994). El cuerpo humano necesita de antioxidantes para reducir los radicales libres y así el daño que éstos pueden causar. Existen dos tipos de antioxidantes los endógenos, que son generados por el cuerpo y los exógenos que son los que se obtiene del exterior, es decir de alimentos u otros productos (Challem & Block, 2008).

#### **1.3.1. Actividad antioxidante de los aceites esenciales**

Un estudio realizado por Ruberto y Barata (1999) en 98 compuestos puros de aceites esenciales utilizando dos métodos lipídicos diferentes (TBARS/Ac. Linoléico) propone que los principales componentes que presentan actividad antioxidante son los hidrocarburos monoterpénicos, terpinoleno,  $\alpha$  y  $\gamma$  terpineno, mientras que los compuestos oxigenados presentan una actividad apreciable (Ruberto & Baratta, 2000).

Por otra parte, un estudio realizado por Fotti (2003), demuestra que el  $\gamma$ -terpineno permite retardar la peroxidación del ácido linoleico, evidenciado de esta manera su actividad antioxidante. Adicionalmente, autores como Puertas, Choi y Williams (2002) propusieron que los fitoconstituyentes de algunos aceites esenciales presentan la capacidad de atrapamiento del catión-radical 2,2'-azinobis- (3-etilbenzotiazolina-ácido sulfónico) ABTS<sup>+</sup> y del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo DPPH igual o superior a la de antioxidantes sintéticos como la vitamina E, el trolox y el ácido ascórbico (Tafurt, Martínez, & Stashuenko, 2005).

### **1.3.2. Mecanismo de defensa antioxidante**

Dentro de los procesos metabólicos celulares se generan reacciones de oxidación las mismas que producen radicales libres mediante la transferencia de electrones, no existe un mecanismo en la célula que neutralice los radicales libres, es allí donde cumple un papel fundamental los antioxidantes que son sustancias que interaccionan con un radical libre con una afinidad mayor que cualquier otra molécula. Cuando un antioxidante colisiona con un radical libre, este le cede un electrón oxidándose y transformándolo en un radical libre débil que deja de ser toxico. Además existen otro tipo de antioxidantes que actúan como enzimas que catalizan o aceleran reacciones químicas que usan sustratos que reaccionan con los radicales libres (Rodríguez Carrasco, Alonso Cordero, & Boyero Fernández, 2003).

### **1.3.3. Métodos de actividad antioxidante**

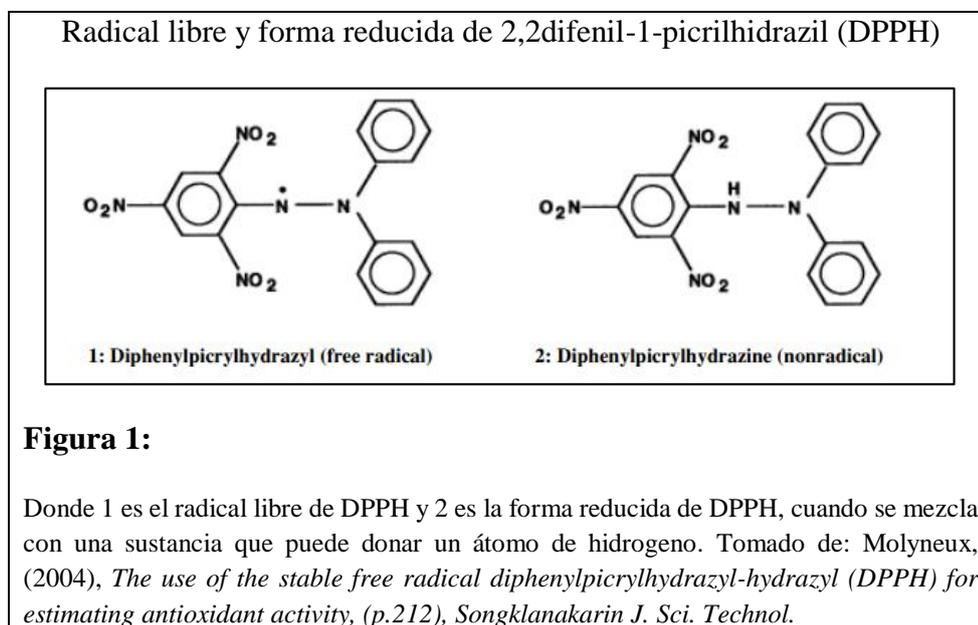
Para la determinación de la actividad antioxidante, se utilizan métodos que se fundamenta en verificar la manera en que un daño oxidativo es inhibido o reducido por un antioxidante. La actividad antioxidante del compuesto o la muestra es proporcional a la inhibición presentada. (Coba, Macayu, & Vidari, Importancia de la

actividad antioxidante y evaluación de extractos en etanol del género *Oryctanthus*, 2010)

### 1.3.3.1. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres

#### DPPH

El método DPPH fue desarrollado por Brand-Willams (1995), este método evalúa la capacidad que tiene un posible antioxidante para neutralizar 2,2difeníl-1-picrilhidrazil (DPPH) (ver figura 1), el cual es un radical estable que presenta una intensa coloración violeta, que absorbe radiación a 517 nm. La decoloración que sufre el radical se traduce en la disminución de la absorción debida a la cesión de electrones del antioxidante (Rivero Rosales & Betancort Rodriguez, 2006).

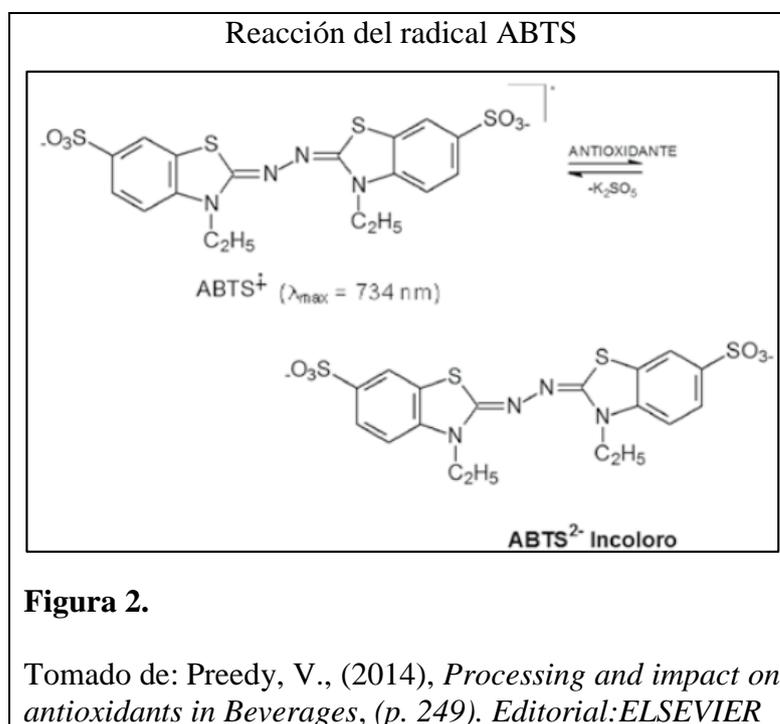


### 1.3.3.2. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres

#### ABTS

Este método fue propuesto por Kuskoski (2004), en el cual se evalúa la capacidad de un posible antioxidante mediante la neutralización del radical ABTS formado mediante la reacción con persulfato potásico (ver figura 2). Mediante esta técnica se puede medir la capacidad antioxidante de un material biológico, compuestos puros o

extractos de plantas de naturaleza hidrofílica o lipofílica, teniendo como ventaja que su espectro presenta máximos de absorbancia de 414 a 815 nm en medio alcohólico (Kuskoski, Asuero, García, Troncoso, & Fett, 2004).



### 1.3.3.3. Evaluación de la capacidad antioxidante $\beta$ -caroteno Test

Este método fue propuesto por Miller (1971) se basa en la valoración de la actividad antioxidante de extractos vegetales, mediante la medición de la decoloración del  $\beta$ -caroteno, debido a su oxidación, la cual se da por la degradación del ácido linoleico a una temperatura determinada. La inhibición de la degradación del  $\beta$ - caroteno por presencia de un antioxidante se manifiesta manteniendo su coloración anaranjada (Pérez, Vargas, Martínez, García, & Hernández, 2003).

### 1.3.4. Métodos bioautográficos de identificación antioxidante

Como un método de separación e identificación de aceites esenciales se utiliza la cromatografía que es la separación de una mezcla en dos o más compuestos, que se van a distribuir en dos fases una estacionaria y otra móvil, existen diferentes tipos de

cromatografías dependiendo de la naturaleza de las fases (Abbott, 1970). El fundamento teórico de todas las técnicas de cromatografía consiste en la distribución de los componentes de la mezcla entre las dos fases, la móvil y la estacionaria (Avila Zárraga, 2001). A continuación se describe los métodos utilizados en la investigación.

#### ***1.3.4.1. Cromatografía de capa fina (CCF o TLC)***

Esta es una técnica complementaria al HPLC, pero cada una presenta especificidades y funcionamiento diferente, sin embargo el principio de la separación y la naturaleza de las fases es el mismo. Es un método muy utilizado en el análisis cuantitativo debido a que no tiene un costo elevado, es un método sensible y tiene la posibilidad de automatizarse y presenta una gran capacidad para el tratamiento de muestras. La separación de los constituyentes de la muestra se realiza sobre la fase estacionaria que generalmente es una capa delgada compuesta de gel de sílice sobre una placa de vidrio, plástico o aluminio (Rousessac, 2000).

#### ***1.3.4.2. Cromatografía de gases acoplado a masas***

La cromatografía de gases es una técnica que logra conseguir la separación de mezclas complejas. En cromatografía se puede separar, detectar y cuantificar los componentes individuales de una muestra a partir del tiempo de retención de los correspondientes picos cromatográficos. Mediante espectrometría de masas se puede identificar de forma casi exacta cualquier sustancia pura, para lo cual es necesario separar los componentes de la sustancia. Por esto al usar la asociación de estas técnicas tenemos una técnica combinada GC-MS que permite la separación e identificación de mezclas complejas (Gutierrez & Droguet, 2002).

## Capítulo 2

### Materiales y métodos

#### 2.1. Localización y material vegetal

La recolección del material vegetal de *Lantana cámara* se realizó en distintas zonas del Distrito Metropolitano de Quito, en cuanto al material vegetal de *Aristeguietia glutinosa*, *Myrcianthes rhopaloides*, *Ambrosia arborescens*, *Minthostachys mollis*, fue proporcionado por la Fundación Jambi Kiwa, las mismas que se recolectaron en diversos puntos de la Provincia de Chimborazo, para la posterior obtención del aceite esencial.

La presente investigación se llevó a cabo en los Laboratorios CIVABI, pertenecientes a la Universidad Politécnica Salesiana, Sede Quito.

#### 2.2. Extracción del aceite esencial mediante destilación por arrastre de vapor

La destilación se realizó colocando 4 kg de hojas frescas de las especies vegetales en estudio en un destilador de 40 litros, durante 4 horas. Se obtuvo el destilado y se colocó en el embudo de separación para poder proceder a la decantación del aceite. El aceite obtenido se colocó en un vaso de precipitación con 1g de sulfato de sodio anhidro para poder retirar el exceso de agua. El rendimiento del aceite se calculó [% (w/w)] utilizando el peso de las hojas del material vegetal.

#### 2.3. Determinación de la composición química mediante Cromatografía de gases acoplada a masas

La composición química de los aceites esenciales fueron analizados en el equipo GC- MS, el cual cuenta con: un cromatógrafo de gases Varian 3900, con una columna Factor Cuatro VF- 5ms 5 % -fenil - 95 % -dimetilpolisiloxano (diámetro interior de 30 m x 0,25 mm, 0,25 micras de espesor de película), el cual se encuentra interconectado

a un espectrofotómetro de masas. Las condiciones de espectrofotómetro de masas Saturno 2100 fueron: voltaje de ionización, 70 eV; corriente de emisión, 10  $\mu$ Amp; velocidad de barrido, 1scan/min; rango de masas ,35 a 400 Da; temperatura trampa, 220 ° C; temperatura de la línea de transferencia, 260 ° C. El helio (1mL/min) fue el gas transportador en proporción 1:50. La temperatura inicial del horno fue de 45°C con una velocidad de 1°C/ min, luego fue elevada a 250°C con una velocidad de 5°C/min, ésta temperatura se mantuvo durante 15 minutos. (Noriega , y otros, 2015)

El análisis se llevó a cabo preparando una dilución de 10 uL de cada aceite con 1 mL de diclorometano, y se inyectó en el GC-MS. La identificación de los compuestos se realizó comparando el Índice de Kovats experimental con el teórico; para calcular el IK experimental se tomó en cuenta los índices de retención de una serie de alcanos (C8- C30) utilizando la siguiente fórmula:

$$IK = 100 \frac{Tra - Trb}{Trc - Trb} \times (100 \times Z) + (100 \times n)$$

#### Índice de Kovats

Tomado de: Adaptado de Noriega, P. (2009). *Extracción, química, actividad biológica, control de calidad y potencial económico de los aceites esenciales.* (p.11). La Granja.

Donde, Tra, es el tiempo de retención promedio de cada compuesto presente en los aceites esenciales; Trb, es el tiempo de retención del alcano menor; Trc: es el tiempo de retención del alcano mayor; Z: Es la resta del número de carbonos del alcano mayor con el carbono menor; n: es el número de carbonos del alcano menor.

Se comparó con los IK (Índice de Kovats) teóricos propuestos en el libro *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry* (Adams , 2007), reafirmando la identificación con EI- MS librería comercial (NIST 2001).

#### **2.4. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres DPPH (2,2difetil-1-picrilhidrazil)**

Se utilizó el método propuesto por Brand-Williams (1995) y modificado para aceites esenciales por (Noriega , y otros, 2015). Se realizó una solución de DPPH ( $1 \times 10^{-4}$  en etanol) un día antes del análisis. Como referente natural de comparación se tomó el aceite esencial de *Thymus vulgaris* y BHA (butilhidroxianisol) como control positivo de captación de radicales. Se preparó diluciones en diferentes concentraciones de cada aceite y BHA: 0uL, 2 uL, 5 uL, 10 uL, 20 uL, 50 uL, 80 uL, 100 uL en frascos ámbar y se completó con DMSO (dimetilsulfóxido) obteniendo un volumen final de 100 uL. Al aceite esencial de *Thymus vulgaris* se realizó una dilución anterior de 1:10 con DMSO, y luego las concentraciones mencionadas. A las diluciones realizadas se añadió 2,9 mL de la solución preparada de DPPH, las cuales fueron colocadas en el agitador mecánico durante 30 minutos. Las muestras se colocaron en celdas de vidrio y se leyeron tres veces en el espectrofotómetro (Shimadzu UV mini 1240), a una longitud de onda de 517 nm. Previamente el espectrofotómetro fue encerado con alcohol 96%.

Para valorar la actividad captadora de radicales libres se realizó el cálculo del porcentaje de inhibición utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = 1 - \frac{AM}{AB} \times 100$$

##### **Porcentaje de Inhibición**

Tomado de: Adaptado de Noriega , y otros. (2015) *Chemical Composition and in-vitro biological activities of the essential oil from leaves of Peperomia inaequalifolia Ruiz & Pav.* (p. 30). *American Journal of Essential Oils and Natural Products*

Donde: AM, es la absorbancia de la muestra, es decir de cada dilución realizada; AB, es la absorbancia del blanco, es decir la absorbancia de la dilución sin el aceite esencial, sólo con DMSO y DPPH. La actividad antiradical de los aceites fue considerada como la concentración a la cual el porcentaje de inhibición del DPPH es 50% (IC 50), se construyó curvas entre el Porcentaje de Inhibición vs. Concentración de cada aceite esencial, y se realizó regresiones lineales y logarítmicas logrando de esta manera encontrar el IC 50 de cada muestra (ver anexo 1). Para comparar la actividad captadora de radicales libres de los aceites estudiados frente al referente natural *Thymus vulgaris* y el control positivo BHA, se realizó un gráfico de barras en el software R-project.

### **2.5. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres ABTS (2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazol-6-il)ácido sulfónico)**

Se utilizó el método propuesto por (Kuskoski, Asuero, García, Troncoso, & Fett, 2004). Se preparó una solución de ABTS 2 mM, para lo cual se pesó 0,0275g de ABTS y se diluyó en 25mL de agua bidestilada, para obtener la solución de 70mM de  $K_2S_2O_8$ , se pesó 0,1882g de  $K_2S_2O_8$  y se disolvió en 10 mL de agua bidestilada. A continuación para radicalizar a la solución de ABTS, se le añadió 250 uL de la solución preparada de  $K_2S_2O_8$ , la preparación se la realizó un día antes del análisis y se conservó en oscuridad toda la noche. Como referente natural de comparación se tomó el aceite esencial de *Thymus vulgaris* y BHA como control positivo de captación de radicales.

Se realizó diluciones de los aceites en DMSO de 1:10 y en el aceite de *Thymus vulgaris* se preparó una dilución de 1:50. Se obtuvo diluciones de cada aceite y BHA (concentración de 1000ppm) en diferentes concentraciones: 0uL, 2uL, 5 uL, 10 uL, 20 uL, 50 uL, 80 uL, 100 uL, en frascos ámbar completando con DMSO hasta obtener volumen total de 100 uL. A la solución de ABTS se diluyó con alcohol al 96%, hasta obtener una absorbancia en el espectrofotómetro (Shimadzu UV mini 1240), de 0,70

±0,02. Se añadió a las diluciones 900 uL de ABTS diluido y se leyeron al instante en celdas de vidrio por triplicado en el espectrofotómetro, a una longitud de onda de 754 nm. Previamente el espectrofotómetro fue encerado con alcohol 96 %.

Para valorar la actividad captadora de radicales libres se realizó el cálculo del porcentaje de inhibición utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = 1 - \frac{AM}{AB} \times 100$$

#### Porcentaje de Inhibición

Tomado de: Adaptado de Noriega , y otros. (2015) *Chemical Composition and in-vitro biological activities of the essential oil from leaves of Peperomia inaequalifolia Ruiz & Pav.* (p. 30). *American Journal of Essential Oils and Natural Products*

Donde: AM, es la absorbancia de la muestra, es decir de cada dilución realizada; AB, es la absorbancia del blanco, es decir la absorbancia de la dilución sin el aceite esencial, sólo con DMSO y ABTS. La actividad antiradical de los aceites fue considerada como la concentración a la cual el porcentaje de inhibición del ABTS es 50% (IC 50), se construyó curvas entre Porcentaje de Inhibición vs. Concentración de cada aceite esencial, y se realizó regresiones lineales y logarítmicas logrando así calcular el IC 50 de cada muestra (ver anexo 2). Para comparar la actividad captadora de radicales libres de los aceites estudiados frente al referente natural *Thymus vulgaris* y el control positivo BHA, se realizó un gráfico de barras en el programa R-project.

#### **2.6. Metodología Bioautográfica antioxidante**

Para la metodología bioautográfica se utilizó en primer lugar TLC (thin layer chromatography), para lo cual se preparó una solución de cada aceite con diclorometano (30:1), se tomó de cada solución 15 uL y se colocó en el equipo Linomat 5 (CAMAG) interconectado a un computador con software winCATS,

establecido para sembrar 15 uL de cada muestra en las placas TLC de sílica gel (10 x 10 cm). Además se tomó como referente natural el aceite de *Thymus vulgaris*.

La placa se colocó en la fase móvil, y ésta fue preparada con 93mL de tolueno, 7mL de acetato de etilo y 20 mL de éter de petróleo. Después se añadió la fase móvil a la cámara TLC, la placa se dejó en reposo hasta que se sature, es decir hasta que la fase móvil corra un centímetro antes del borde de la placa. Una vez retirada la placa se dejó secar a temperatura ambiente.

A continuación se reveló la placa en una lámpara de luz UV (254 y 350 nm) y se señaló las manchas. Se calculó el factor de retardo correspondiente de cada mancha señalada utilizando la siguiente fórmula:

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por la fase móvil}}{\text{Distancia recorrida por la muestra}}$$

Factor de retardo

Tomado de: Adaptado de Sierra, Pérez, Gómez, & Morante, (2010), *Análisis Instrumental*, (p,162).

Posteriormente la placa de TLC fue totalmente roseada con una solución de DPPH con concentración 0,5 %, volviéndose de color violeta, y se obtuvo algunas fracciones que se volvieron de un color amarillento. Las fracciones identificadas que se decoloraron, fueron extraídas de la placa y se colocó en un tubo eppendorf, añadiendo 1mL de diclorometano. Se procedió a centrifugar el tubo eppendorf en una microcentrifuga por 10 minutos a 4000 rpm.

Luego con la microjeringa se realizó tres lavados y se tomó 3 mL del sobrenadante, para ser inyectado en el GC/MS, para poder realizar la identificación de los compuestos con potencial antioxidante.

## 2.7. Evaluación de la actividad antioxidante mediante $\beta$ - caroteno test

Se utilizó la metodología propuesta por Miller (1971). Se preparó una solución de  $\beta$ -caroteno y cloroformo (10mg/mL) y en un balón se mezcló 4mL de ésta solución con 400 uL de ácido linoléico y 8mL de tween 20. Se evaporó el cloroformo de la solución a 40°C por 15 minutos en el rotavapor, posteriormente al residuo que queda se añadió 1000 mL de agua destilada, y se obtuvo una emulsión homogénea, la misma que se colocó en un frasco ámbar.

Se tomó como referente natural de comparación el aceite esencial de *Thymus vulgaris* y BHA como control positivo de captación de radicales. Se preparó una solución madre de cada aceite y BHA (1:2), en el cual se colocó 0,5 mL de aceite y 1mL de tween 20, en el caso del aceite esencial del *Thymus vulgaris* y *Aristeguietia glutinosa* se realizó una solución madre de (1:5), 50 uL de aceite en 1 mL de tween. Se preparó diluciones de la solución madre de cada aceite y BHA en diferentes concentraciones: 0uL, 2uL, 5 uL, 10 uL, 20 uL, 50 uL, 80 uL, 100 uL, completando con alcohol al 96% hasta obtener un volumen total de 100 uL. Previamente se preparó una solución de Tris HCl 0,1 M con pH 7,4, y a cada dilución se agregó 900 uL de la solución de Tris.

De cada solución formada se tomó 200 uL y se añadió 5mL de la emulsión preparada de  $\beta$ - caroteno. Para encerrar el espectrofotómetro se preparó el blanco de igual manera que la emulsión, pero sin  $\beta$ - caroteno. Se tomó la lectura de las absorbancias en celdas de vidrio, por triplicado en el espectrofotómetro (Shimadzu UV mini 1240) a 470 nm. Las soluciones fueron colocadas en la estufa a 50°C por una hora y se volvió a tomar las lecturas de las absorbancias en la misma longitud de onda.

Se tomó como control negativo la solución de cada muestra de concentración 0uL de aceite. El porcentaje de inhibición de la oxidación del  $\beta$ - caroteno fue expresado como la actividad antioxidante utilizando la siguiente fórmula:

$$AA = 100 \frac{DRc - DRs}{DRC}$$

#### Actividad Antioxidante

Tomado de: Guerini, y otros, (2008), *Ecuadorian stingless bee (Meliponinae) honey: A chemical and functional profile of an ancient health product*, (p.1415), *Food Chemistry*.

Donde: DRc=  $\ln(a/b)/60$ , y a es la absorbancia medida al inicio y b es la absorbancia medida después de 60 minutos del control negativo; DRs =  $\ln(a/b)/60$ , y a es la absorbancia medida al inicio y b es la absorbancia medida después de 60 minutos de cada muestra. Se construyó el gráfico de AA calculado vs. Concentración del aceite esencial y se calculó el IC 50 mediante las regresiones lineales o logarítmicas correspondientes (ver anexo 3). Para comparar la actividad captadora de radicales libres de los aceites estudiados frente al referente natural *Thymus vulgaris* y el control positivo BHA, se realizó un gráfico de barras en el programa R-project.

#### 2.8. Análisis estadístico

Para realizar el análisis estadístico comparativo de la capacidad captadora de radicales libres, se tomó los valores calculados del IC50 mediante las tres repeticiones que fueron leídas en el espectrofotómetro de cada aceite esencial en las metodologías DPPH y ABTS.

Debido a que no se tiene una gran cantidad de repeticiones de los ensayos se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, en la que se trata de averiguar la similitud que pueden tener las medias de cada IC50 de los aceites esenciales en estudio frente el referente natural *Thymus vulgaris*.

En la realización de la prueba se toma en cuenta las siguientes hipótesis:

Hipótesis nula: Los IC50 de los aceites esenciales en estudio y el referente natural contrastados tienen medias estadísticamente similares.

Hipótesis alternativa: el valor de la media de los IC 50 de los aceites esenciales y el referente natural no poseen similitud.

El nivel de significancia de la prueba fue de 0,05, entonces cuando el valor de p es mayor 0,05 se acepta la hipótesis nula y si p es menor a 0,05 se acepta la hipótesis alternativa.

La prueba de Kruskal-Wallis se ejecutó en el software R-project.

## Capítulo 3

### Resultados

#### 3.1. Extracción del aceite esencial mediante destilación por arrastre de vapor

Tabla 6.

Rendimiento de los aceites esenciales en estudio

<b>Aceite esencial</b>	<b>Rendimiento (%)</b>
<i>Minthostachys mollis</i> .	0,44
<i>Aristeguietia glutinosa</i>	0,97
<i>Ambrosia arborescens</i>	3,94
<i>Myrcianthes rhopaloides</i>	2,00
<i>Lantana cámara</i>	0,04

Nota: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)

#### 3.2. Determinación de la composición química mediante cromatografía de gases acoplada a masa

En *Minthostachys mollis* se detectaron 28 compuestos y se identificaron 24, que equivale 85,71% del total de compuestos, de los cuales entre los más importantes tenemos: carvacrol acetato 24,52%, trans-piperitona epoxide 18,57%, timol acetato 7,73%,  $\gamma$ -terpineno 6,41%, mentona 6,36%, cis-cariofileno 6,29%. En *Aristeguietia glutinosa* se detectaron 21 compuestos y se identificaron 20, que equivale 95,24% del total de compuestos, de los cuales entre los más importantes tenemos: dill apiol 59,59%,  $\beta$ -trans ocimeno 11,65%,  $\beta$ -cis ocimeno 4,02%. En *Ambrosia arborescens* se detectaron 16 compuestos y se identificaron 13 que equivale 81,25% del total de compuestos, de los cuales entre los más importantes tenemos:  $\gamma$ -gurjuneno 77,53%, longifoleno 3,84%, curcumeno ar 2,87%,  $\beta$ -pineno 2,15%. En *Myrcianthes rhopaloides* se detectaron 14 compuestos y se identificaron 12, que equivale 85,71% del total de compuestos, de los cuales entre los más importantes tenemos: limoneno 59,77%,  $\alpha$ -pineno 10,66%, 1-8 cineol 8,11%,  $\beta$ -pineno 7,25%, mirceno 5,04%. En *Lantana camara* se detectaron 20 compuestos y se identificaron 19 que equivale 95%

del total de compuestos, de los cuales entre los más importantes tenemos:  $\gamma$ -muroleno 22,23%, trans-carofileno 17,07%,  $\alpha$ -humuleno 12,61%,  $\gamma$ -elemeno 9,93%, biciclogermacreno 6,22%. La información completa se puede apreciar en la tabla 7

Tabla 7.

Evaluación comparativa de la composición química de 5 aceites esenciales de origen Andino

Compuesto	IK <sup>a</sup>	<i>Minthostachys mollis</i>	<i>Aristeguietia glutinosa</i>	<i>Ambrosia arborescens</i>	<i>Myrcianthes rhopaloides</i>	<i>Lantana camara</i>
santolina trieno	908			1,20±0,20		
α-tujeno	930	0,58±0,25				
α-pineno	939	0,16±0,09	1,61± 0,51		10,66±2,47	
sabineno	975	0,50±0,12				
β-pineno	979	0,25±0,20	1,02± 0,3	2,15±0,51	7,25±1,55	
Mirceno	990				5,04±0,18	
α-felandreno	1002		0,80± 0,11			
α-terpineno	1017		1,00± 0,32			
p-cimeno	1024	3,09±0,74				
limoneno	1029		1,68± 0,50		59,77±2,71	
β- felandreno	1029		1,32± 0,56			
1-8 cineol	1031				8,11±0,14	
β-cis ocimeno	1037		4,02± 1,28			
β-trans ocimeno	1050	0,51±0,08	11,65± 3,89			
γ -terpineno	1059	6,41±2,03	3,30± 1,09			0,79±0,05
linalool	1096				2,27±0,30	
mentona	1152	6,36±1,00				
mentol neo	1165	1,07±0,37				
carvona	1243	3,39±0,35				
piperitona	1252		2,29± 0,35			1,79±0,12
cis-piperitona epoxido	1254	1,63±0,41				
trans-piperitona epóxido	1256	18,57±0,65				

timol	1290	2,08±1,21			
carvacrol	1299	5,05±1,87			
τ-elemene					3,19±0,06
δ-elemene	1338	1,75±0,47			3,83±0,02
timol acetato	1352	7,73±0,32			
piperitona oxido	1368	0,52±0,10			
carvacrol acetato	1372	24,52±0,26			
α-copaeno	1376		0,53± 0,16		1,97±0,02
β-bourboneno	1388				0,30±0,00
β-cubebeno	1388				1,48±0,04
β-elemene	1390	0,55±0,20		1,81±0,14	5,79±2,84
Ciperona	1398		0,36± 0,11		
longifoleno	1407			3,84±0,30	
cis-cariofileno	1408	6,29±0,34	3,63± 1,10		1,45±0,34
trasm- cariofileno	1419		0,43± 0,10		17,07±3,97
β-cedreno	1420			1,46±0,12	
β-copaeno	1432				4,63±0,12
γ-elemene	1436				9,93±0,21
α-guaieno	1439				0,37±0,00
aromadendreno	1441				0,45±0,01
α-humuleno	1454	1,35±0,01	1,46± 0,41		12,61±0,23
β-trans farneseno	1456			0,43±0,10	
γ-gurjuneno	1477			77,53±4,03	
γ-muroloeno	1479	2,44±0,07	2,68± 1,16		22,23±0,05
curcumeno ar	1480			2,87±0,12	
β-selineno	1490				0,67±0,05

valenceno	1496		0,41± 0,12			
α-selineno	1498				0,79±0,09	
biciclogermacreno	1500	2,76±0,37	0,81± 0,27	0,59±0,20		6,22±0,14
α-muurolene	1500					2,02±0,26
α-trans,trans farneseno	1505			1,22±0,51		
δ-cadineno	1523	0,29±0,03	0,91± 0,29	1,66±0,14	0,92±0,22	2,11±0,21
β-germacreno	1561					2,76±0,13
espanulenol	1578				0,73±0,11	
cariofileno exido	1583				1,26±0,42	
guaiol	1600			0,98±0,15		
dill apiol	1620		59,59± 15,04			
andro enecalinalol	1676			0,84±0,08		

Nota: <sup>a</sup> Índice de Kovats teórico según Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, (Adams , Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, 2007), la comparación de índice de kovats teórico y experimental de las 5 variedades *Minthostachys mollis*, *Aristeguietia glutinosa*, *Ambrosia arborescens*, *Myrcianthes rhopaloides*, *Lantana camara*. (Ver anexo 4) Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)

### 3.3. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres DPPH

Se valoró la capacidad captadora de radicales libres DPPH de los 5 aceites esenciales en estudio junto al referente natural *Thymus vulgaris* y el control positivo BHA. Se observa los resultados del porcentaje de inhibición en función de la concentración de las sustancias en estudio (ver tablas 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14)

Tabla 8.

Valoración de la capacidad captadora de radicales libres DPPH de *Thymus vulgaris*

Concentración del aceite esencial $\mu\text{L}/\text{mL}$	Porcentaje de inhibición % I 1	Porcentaje de inhibición % I 2	Porcentaje de inhibición % I 3
0,07	13,978	14,222	14,222
0,17	25,896	25,760	25,760
0,33	42,832	43,023	43,023
1,67	78,853	78,444	78,444
2,67	81,004	81,038	81,038
<b>IC50</b>	0,4724	0,4771	0,4771

Nota: El cálculo del IC 50 se realizó en relación a la concentración del aceite y el porcentaje de inhibición mediante una regresión logarítmica. Tomado de: Guerrero, P. & Pozo, K. (2015)

Tabla 9.

Valoración de la capacidad captadora de radicales libres DPPH de *Minthostachys mollis*.

Concentración del aceite esencial $\mu\text{L}/\text{mL}$	Porcentaje de inhibición % I 1	Porcentaje de inhibición % I 2	Porcentaje de inhibición % I 3
0,67	23,185	23,185	23,185
1,67	37,620	37,795	37,795
6,67	73,403	72,966	72,966
16,67	82,677	82,765	82,765
26,67	88,801	88,801	88,801
33,33	89,326	89,326	89,326
<b>IC50</b>	2,8278	2,8308	2,8308

Nota: El cálculo del IC 50 se realizó en relación a la concentración del aceite y el porcentaje de inhibición mediante una regresión logarítmica. Tomado de: Guerrero, P. & Pozo, K. (2015)

Tabla 10.

Valoración de la capacidad captadora de radicales libres DPPH de *Aristeguietia glutinosa*

<b>Concentración del aceite esencial</b> <b>μL/mL</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 1</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 2</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 3</b>
0,00	0,000	0,000	0,000
0,67	9,770	9,674	9,856
1,67	11,782	11,686	11,770
3,33	15,900	15,805	15,885
16,67	62,644	62,835	62,775
<b>IC50</b>	12,958	12,964	12,993

Nota: El cálculo del IC 50 se realizó en relación a la concentración del aceite y el porcentaje de inhibición mediante una regresión lineal. Tomado de: Guerrero, P. & Pozo, K. (2015)

Tabla 11.

Valoración de la capacidad captadora de radicales libres DPPH de *Ambrosia arborescens*

<b>Concentración del aceite esencial</b> <b>μL/mL</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 1</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 2</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 3</b>
0,00	0,000	0,000	0,000
16,67	14,901	14,987	15,073
26,67	23,084	23,084	23,170
33,33	29,371	29,543	29,630
<b>IC50</b>	57,0470	56,8230	56,6390

Nota: El cálculo del IC 50 se realizó en relación a la concentración del aceite y el porcentaje de inhibición mediante una regresión lineal. Tomado de: Guerrero, P. & Pozo, K. (2015)

Tabla 12.

Valoración de la capacidad captadora de radicales libres DPPH de *Myrcianthes rhopaloides*

<b>Concentración del aceite esencial</b> <b>μL/mL</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 1</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 2</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 3</b>
0,67	8,072	8,167	7,985
1,67	16,524	16,524	16,350
3,33	26,401	26,306	26,331
16,67	37,037	37,132	36,977
26,67	42,070	42,165	42,015
<b>IC50</b>	62,830	62,287	62,866

Nota: El cálculo del IC 50 se realizó en relación a la concentración del aceite y el porcentaje de inhibición mediante una regresión logarítmica. Tomado de: Guerrero, P. & Pozo, K. (2015)

Tabla 13.

Valoración de la capacidad captadora de radicales libres DPPH de *Lantana camara*

<b>Concentración del aceite esencial</b> <b>µL/mL</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 1</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 2</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 3</b>
0,67	2,187	1,659	2,284
1,67	10,338	9,954	10,526
6,67	26,839	26,344	25,521
16,67	32,803	32,441	32,870
26,67	35,984	35,639	36,048
33,33	38,867	38,637	38,928
<b>IC50</b>	<b>105,382</b>	<b>108,209</b>	<b>107,774</b>

Nota: El cálculo del IC 50 se realizó en relación a la concentración del aceite y el porcentaje de inhibición mediante una regresión logarítmica. Tomado de: Guerrero, P. & Pozo, K. (2015)

Tabla 14.

Valoración de la capacidad captadora de radicales libres DPPH de BHA

<b>Concentración del aceite esencial</b> <b>µL/mL</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 1</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 2</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 3</b>
0,001	9,623	9,811	9,623
0,002	20,755	21,132	20,755
0,003	33,208	33,019	33,019
0,007	48,868	49,057	48,868
0,017	81,887	81,698	81,509
0,027	88,491	88,679	88,679
0,033	90,000	90,189	90,000
<b>IC50</b>	<b>0,00540</b>	<b>0,00537</b>	<b>0,00541</b>

Nota: El cálculo del IC 50 se realizó en relación a la concentración del BHA y el porcentaje de inhibición mediante una regresión logarítmica. Tomado de: Guerrero, P. & Pozo, K. (2015)

### 3.4. Valoración de la capacidad captadora de radicales libres ABTS

Se valoró la capacidad captadora de radicales libres ABTS de los 5 aceites esenciales en estudio junto al referente natural *Thymus vulgaris* y el control positivo BHA. Se observa los resultados del porcentaje de inhibición en función de la concentración de las sustancias en estudio (ver tablas 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21)

Tabla 15.

Valoración de la capacidad captadora de radicales libres ABTS de *Thymus vulgaris*

<b>Concentración del aceite esencial</b> <b>μL/mL</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 1</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 2</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 3</b>
0,04	11,59	11,44	11,28
0,10	28,20	28,25	28,30
0,20	40,48	40,38	40,45
0,40	56,23	56,33	56,08
1,00	77,85	77,64	77,60
1,60	90,83	90,99	90,97
2,00	93,25	93,41	93,23
<b>IC50</b>	<b>0,271</b>	<b>0,271</b>	<b>0,272</b>

Nota: El cálculo del IC 50 se realizó en relación a la concentración del aceite y el porcentaje de inhibición mediante una regresión logarítmica. Tomado de: Guerrero, P. & Pozo, K. (2015)

Tabla 16.

Valoración de la capacidad captadora de radicales libres ABTS de *Minthostachys mollis*.

<b>Concentración del aceite esencial</b> <b>μL/MI</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 1</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 2</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 3</b>
0,04	17,50	17,68	17,68
0,10	33,75	33,57	33,75
0,20	53,57	53,39	53,21
1,00	79,46	79,46	79,64
2,00	94,82	95,00	95,18
<b>IC50</b>	<b>0,205</b>	<b>0,205</b>	<b>0,205</b>

Nota: El cálculo del IC 50 se realizó en relación a la concentración del aceite y el porcentaje de inhibición mediante una regresión logarítmica. Tomado de: Guerrero, P. & Pozo, K. (2015)

Tabla 17.

Valoración de la capacidad captadora de radicales libres ABTS de *Aristeguietia glutinosa*

<b>Concentración del aceite esencial</b> <b>μL/mL</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 1</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 2</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 3</b>
0,04	24,23	24,09	24,23
0,10	27,87	27,55	27,69
0,40	47,91	47,81	47,72
1,00	65,21	64,96	65,39
1,60	76,87	77,01	76,87
2,00	81,42	81,57	81,79
<b>IC50</b>	<b>0,321</b>	<b>0,323</b>	<b>0,321</b>

Nota: El cálculo del IC 50 se realizó en relación a la concentración del aceite y el porcentaje de inhibición mediante una regresión logarítmica. Tomado de: Guerrero, P. & Pozo, K. (2015)

Tabla 18.

Valoración de la capacidad captadora de radicales libres ABTS de *Ambrosia arborescens*

<b>Concentración del aceite esencial</b> <b>μL/mL</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 1</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 2</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 3</b>
0,04	7,40	7,03	7,59
0,10	14,99	14,83	15,37
0,40	40,42	40,49	40,23
1,60	55,98	56,08	56,17
2,00	59,39	59,13	59,20
<b>IC50</b>	<b>0,990</b>	<b>0,994</b>	<b>0,990</b>

El cálculo del IC 50 se realizó en relación a la concentración del aceite y el porcentaje de inhibición mediante una regresión logarítmica. Tomado de: Guerrero, P. & Pozo, K. (2015)

Tabla 19.

Valoración de la capacidad captadora de radicales libres ABTS de *Myrcianthes rhopaloides*

<b>Concentración del aceite esencial</b> <b>μL/mL</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 1</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 2</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 3</b>
0,04	11,99	11,84	12,16
0,10	17,81	17,50	17,81
0,40	36,13	36,02	36,30
1,00	50,00	50,09	50,34
1,60	63,01	63,29	63,18
<b>IC50</b>	<b>0,862</b>	<b>0,857</b>	<b>0,849</b>

Nota: El cálculo del IC 50 se realizó en relación a la concentración del aceite y el porcentaje de inhibición mediante una regresión logarítmica. Tomado de: Guerrero, P. & Pozo, K. (2015)

Tabla 20.

Valoración de la capacidad captadora de radicales libres ABTS de *Lantana camara*

<b>Concentración del aceite esencial</b> <b>μL/mL</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 1</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 2</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b> <b>% I 3</b>
0,04	26,071	26,02	26,07
0,10	30,893	30,30	30,36
0,20	41,607	41,71	41,79
0,40	48,393	48,66	48,57
1,60	62,321	62,21	62,14
2,00	65,000	65,06	65,00
<b>IC50</b>	<b>0,481</b>	<b>0,482</b>	<b>0,483</b>

Nota: El cálculo del IC 50 se realizó en relación a la concentración del aceite y el porcentaje de inhibición mediante una regresión logarítmica. Tomado de: Guerrero, P. & Pozo, K. (2015)

Tabla 21.

Valoración de la capacidad captadora de radicales libres ABTS de BHA

Concentración del aceite esencial $\mu\text{L}/\text{mL}$	Porcentaje de inhibición % I 1	Porcentaje de inhibición % I 2	Porcentaje de inhibición % I 3
0,00	0,00	0,00	0,00
0,002	26,730	26,457	26,730
0,005	51,572	51,339	51,258
0,010	99,214	99,370	99,214
<b>IC50</b>	0,005	0,005	0,005

Nota: El cálculo del IC 50 se realizó en relación a la concentración del BHA y el porcentaje de inhibición mediante una regresión lineal. Tomado de: Guerrero, P. & Pozo, K. (2015)

### 3.5. Evaluación comparativa de la capacidad captadora de radicales libres

#### DPPH y ABTS

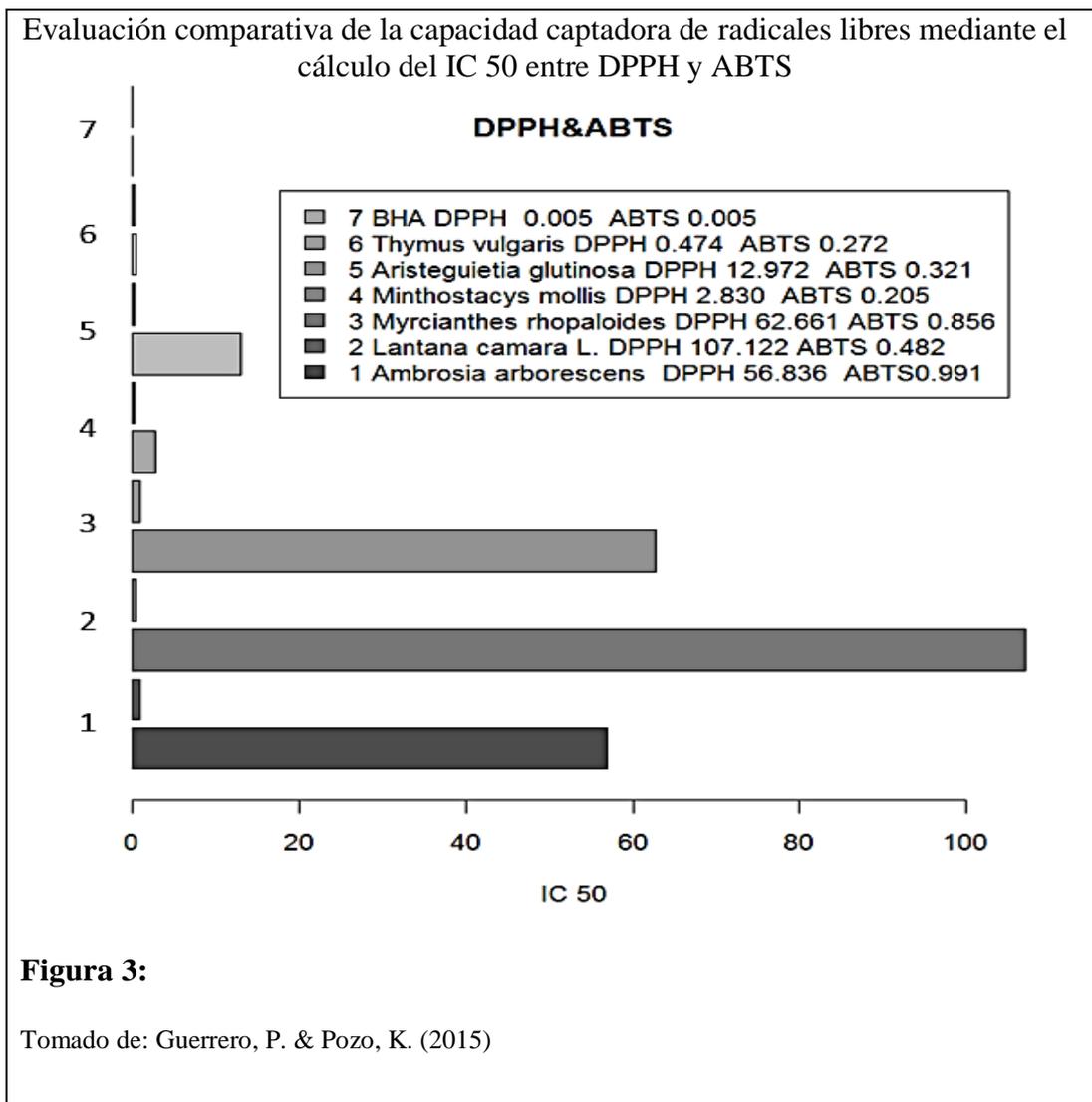
Se comparó la capacidad captadora de radicales libres de DPPH y ABTS de los 5 aceites esenciales en estudio junto al referente natural *Thymus vulgaris* y el control positivo BHA. Se observa los resultados de la comparación del IC50 de DPPH y ABTS (ver tabla 22) (ver figura 3)

Tabla 22.

Evaluación comparativa de la capacidad captadora de radicales libres mediante el cálculo del IC50 entre DPPH y ABTS

Aceite esencial	IC 50 <sup>a</sup>	IC50 <sup>b</sup>
<i>Minthostachys mollis</i> .	2,830 $\pm$ 0,002	0,205 $\pm$ 0,0003
<i>Aristeguietia glutinosa</i>	12,972 $\pm$ 0,018	0,321 $\pm$ 0,0013
<i>Ambrosia arborescens</i>	56,836 $\pm$ 0,204	0,990 $\pm$ 0,0023
<i>Myrcianthes rhopaloides</i>	62,661 $\pm$ 0,325	0,849 $\pm$ 0,0068
<i>Lantana camara</i>	107,12 $\pm$ 1,52	0,483 $\pm$ 0,0012
<i>Thymus vulgaris</i>	0,474 $\pm$ 0,0027	0,272 $\pm$ 0,0006
<b>BHA</b>	0,005 $\pm$ 1,9E-05	0,0050 $\pm$ 4,621E-06

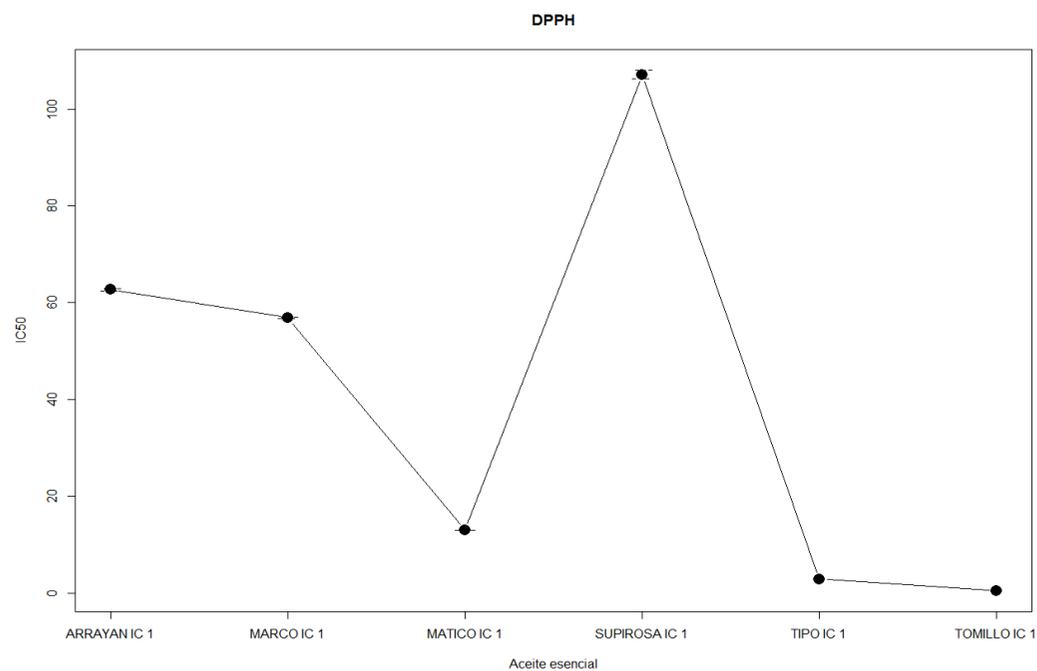
Nota: <sup>a</sup> IC 50 mediante el método DPPH, <sup>b</sup> IC 50 mediante el método ABTS. Tomado de: Guerrero, P. & Pozo, K. (2015)



### 3.6. Análisis estadístico

La prueba de Kruskal-Wallis mostró un  $p < 0,05$ , tanto para las metodologías DPPH y ABTS, por lo cual se aceptó la hipótesis alternativa, donde indica que los valores de la media de los IC 50 de los aceites esenciales y el referente natural no tienen similitud, pero se puede observar (ver figura 4 y 5) que los valores del aceite *Minthostachys mollis* (tipo) y *Aristeguietia glutinosa* (matico), son los que más se acercan al valor del referente natural *Thymus vulgaris* (tomillo).

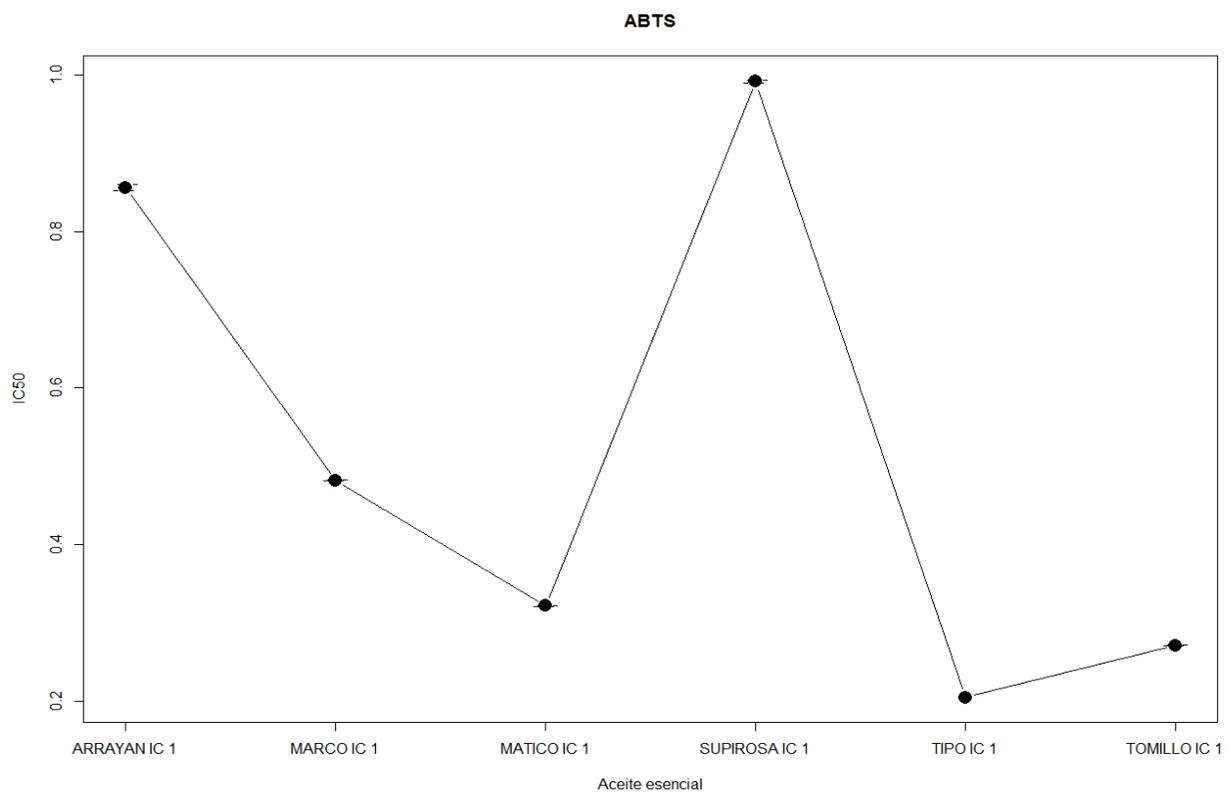
Prueba de Kruskal-Wallis, realizado mediante la comparación de las medias de los IC 50 calculados de los aceites esenciales y referente natural de la metodología DPPH.



**Figura 4:**

Tomado de: Guerrero, P. & Pozo, K. (2015)

Prueba de Kruskal-Wallis, realizado mediante la comparación de las medias de los IC 50 calculados de los aceites esenciales y referente natural de la metodología ABTS

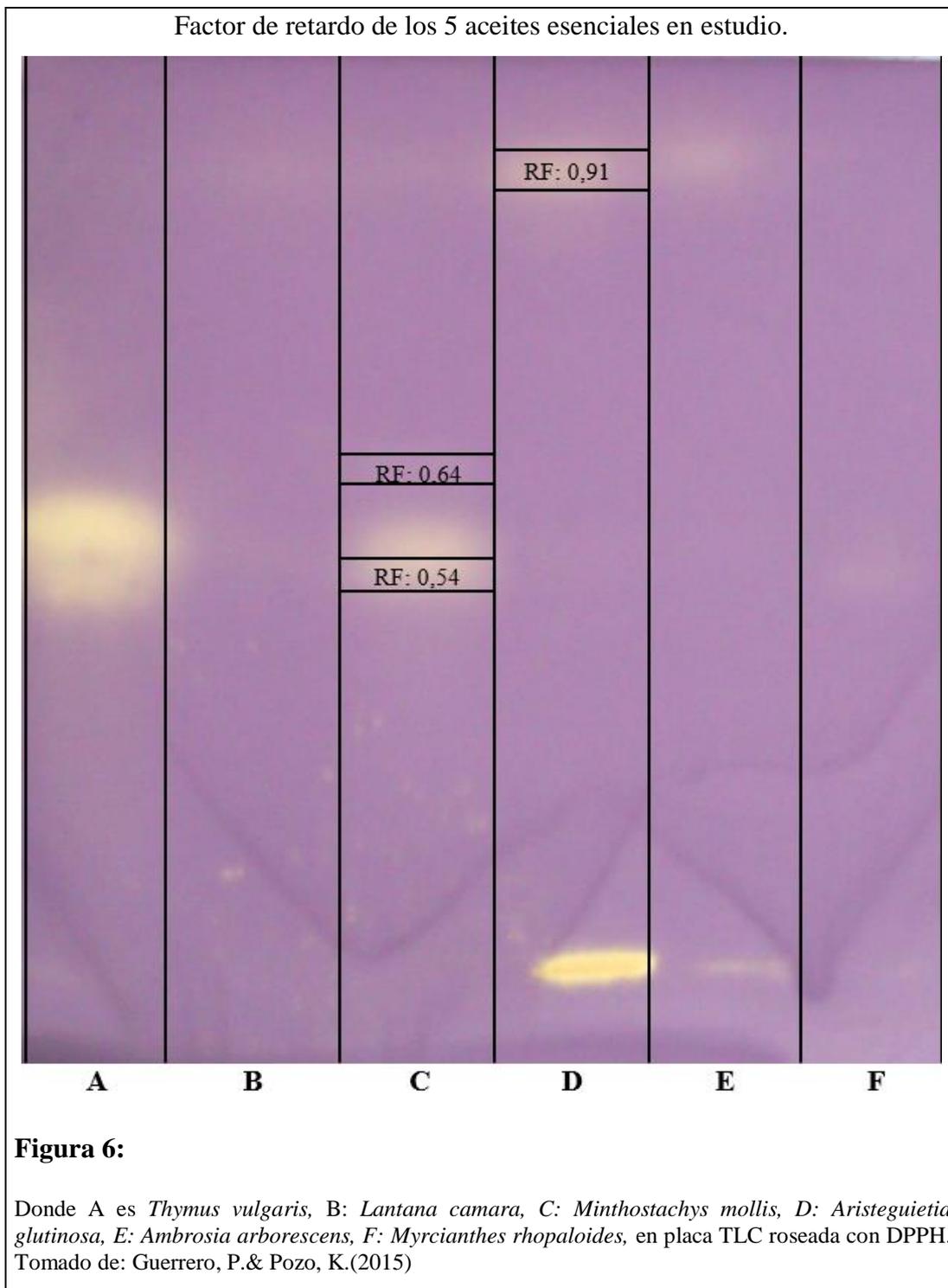


**Figura 5:**

Tomado de: Guerrero, P. & Pozo, K. (2015)

### 3.7. Metodología bioautográfica

El estudio bioautográfica muestra fracciones con coloración amarilla (Actividad Antioxidante) en los aceites de: *Minthostachys mollis* (RF: 0,54; RF: 0,64), *Aristeguietia glutinosa* (RF: 0,91). (ver figura 6)



La evaluación por GC/MS de las fracciones estudiadas dan como resultados la identificación de las siguientes moléculas como responsables de la actividad: *Minthostachys mollis* (timol acetato, carvacrol acetato), *Aristeguietia glutinosa* (muuroleno)

Tabla 23.

Análisis bioautográfico de los compuestos con capacidad captadora de radicales libre de los aceites esenciales en estudio.

<b>RF</b>	<b><i>Minthostachys mollis</i></b>	<b><i>Aristeguietia glutinosa</i></b>	<b><i>Ambrosia arborescens</i></b>	<b><i>Myrcianthes rhopaloides</i></b>	<b><i>Lantana camara</i></b>
0,91	-	muuroleno	-	-	-
0,88	-	-	-	-	-
0,77	-	-	-	-	-
0,64	timol acetato	-	-	-	-
0,58	-	-	-	-	-
0,54	carvacrol acetato	-	-	-	-
0,5	-	-	-	-	-
0,42	-	-	-	-	-
0,37	-	-	-	-	-
0,33	-	-	-	-	-
0,2	-	-	-	-	-
0,19	-	-	-	-	-

Nota: Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)

### 3.8. Evaluación de la actividad antioxidante mediante $\beta$ -caroteno test

Se valoró la actividad antioxidantes  $\beta$ -caroteno test de los 5 aceites esenciales en estudio junto al referente natural *Thymus vulgaris* y el control positivo BHA. Se observa los resultados de la actividad antioxidante en función de la concentración de las sustancias en estudio y la actividad antioxidante que presentaron (ver tablas 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30) (ver figura 7).

Tabla 24.

Evaluación de la actividad antioxidante mediante  $\beta$ -caroteno test de *Thymus vulgaris*

Concentración del aceite esencial $\mu\text{L}/\text{mL}$	Actividad Antioxidante 1	Actividad Antioxidante 2	Actividad Antioxidante 3
0,004	24,193	24,665	25,477
0,009	38,127	39,013	40,648
0,018	44,389	45,930	46,270
0,037	55,571	56,450	56,920
0,092	70,594	70,915	71,228
0,183	81,878	82,069	82,599
<b>IC50</b>	0,023	0,022	0,021

Nota: El cálculo del IC 50 se realizó en relación a la concentración del aceite y la actividad antioxidante mediante una regresión logarítmica. Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)

Tabla 25.

Evaluación de la actividad antioxidante mediante  $\beta$ -caroteno test de *Minthostachys mollis*.

Concentración del aceite esencial $\mu\text{L}/\text{mL}$	Actividad Antioxidante 1	Actividad Antioxidante 2	Actividad Antioxidante 3
0,026	13,563	14,801	14,801
0,256	74,110	74,481	74,100
0,641	86,291	86,487	86,766
1,026	91,500	91,593	91,766
1,282	97,693	97,930	97,726
<b>IC50</b>	0,122	0,118	0,118

Nota: El cálculo del IC 50 se realizó en relación a la concentración del aceite y la actividad antioxidante mediante una regresión logarítmica. Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)

Tabla 26.

Evaluación de la actividad antioxidante mediante  $\beta$ -caroteno test de *Aristeguietia glutinosa*

<b>Concentración del aceite esencial <math>\mu\text{L}/\text{mL}</math></b>	<b>Actividad Antioxidante 1</b>	<b>Actividad Antioxidante 2</b>	<b>Actividad Antioxidante 3</b>
0,004	8,763	11,123	6,231
0,009	19,473	17,864	17,238
0,018	36,661	35,961	32,778
0,037	45,228	44,474	42,854
0,092	58,425	58,355	57,140
0,147	59,265	59,759	58,585
<b>IC50</b>	<b>0,059</b>	<b>0,060</b>	<b>0,066</b>

Nota: El cálculo del IC 50 se realizó en relación a la concentración del aceite y la actividad antioxidante mediante una regresión logarítmica. Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)

Tabla 27.

Evaluación de la actividad antioxidante mediante  $\beta$ -caroteno test de *Ambrosia arborescens*

<b>Concentración del aceite esencial <math>\mu\text{L}/\text{mL}</math></b>	<b>Actividad Antioxidante 1</b>	<b>Actividad Antioxidante 2</b>	<b>Actividad Antioxidante 3</b>
0,00	0,00	0,00	0,00
0,026	10,270	10,224	8,608
0,641	53,469	53,914	52,995
1,026	68,086	68,390	67,761
1,282	84,657	84,422	84,258
<b>IC50</b>	<b>0,701</b>	<b>0,700</b>	<b>0,710</b>

Nota: El cálculo del IC 50 se realizó en relación a la concentración del aceite y la actividad antioxidante mediante una regresión lineal. Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)

Tabla 28.

Evaluación de la actividad antioxidante mediante  $\beta$ -caroteno test de *Myrcianthes rhopaloides*

<b>Concentración del aceite esencial <math>\mu\text{L}/\text{mL}</math></b>	<b>Actividad Antioxidante 1</b>	<b>Actividad Antioxidante 2</b>	<b>Actividad Antioxidante 3</b>
0,026	17,858	17,919	17,919
0,064	26,687	25,000	25,000
0,128	34,703	34,532	34,532
0,641	70,259	70,181	70,181
1,283	77,414	77,560	77,560
<b>IC50</b>	<b>0,234</b>	<b>0,239</b>	<b>0,239</b>

Nota: El cálculo del IC 50 se realizó en relación a la concentración del aceite y la actividad antioxidante mediante una regresión logarítmica. Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)

Tabla 29.

Evaluación de la actividad antioxidante mediante  $\beta$ -caroteno test de *Lantana camara*

<b>Concentración del aceite esencial <math>\mu\text{L}/\text{mL}</math></b>	<b>Actividad Antioxidante 1</b>	<b>Actividad Antioxidante 2</b>	<b>Actividad Antioxidante 3</b>
0,026	4,758	2,075	3,654
0,064	17,890	18,870	19,418
0,128	30,795	30,346	31,331
0,641	65,610	65,491	65,463
1,026	71,140	71,140	71,687
<b>IC50</b>	0,31933	0,322	0,3134

Nota: El cálculo del IC 50 se realizó en relación a la concentración del aceite y la actividad antioxidante mediante una regresión logarítmica. Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)

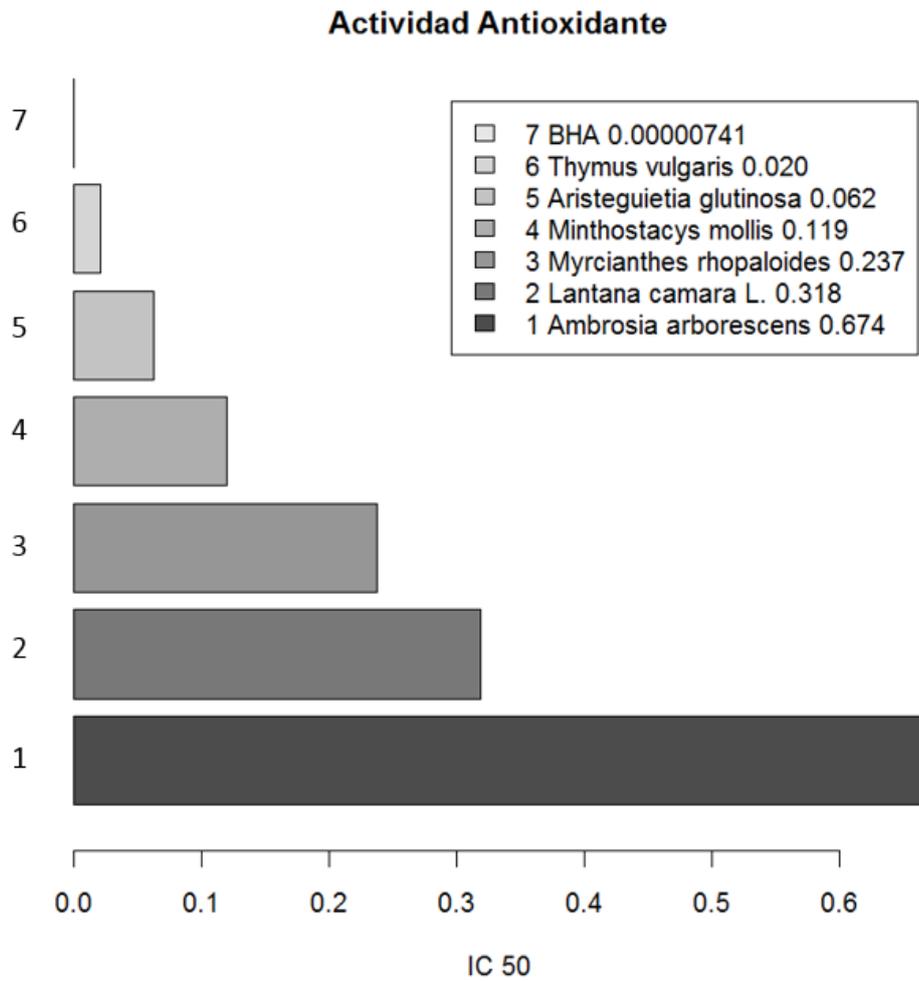
Tabla 30.

Evaluación de la actividad antioxidante mediante  $\beta$ -caroteno test de BHA

<b>Concentración del aceite esencial <math>\mu\text{L}/\text{mL}</math></b>	<b>Actividad Antioxidante 1</b>	<b>Actividad Antioxidante 2</b>	<b>Actividad Antioxidante 3</b>
0,00003	55,486	62,643	64,365
0,00026	86,384	88,259	88,275
0,00064	93,606	94,445	94,279
0,00103	95,972	96,527	96,373
0,00128	97,259	97,358	97,492
<b>IC50</b>	1,30E-05	5,324E-06	4,109E-06

Nota: El cálculo del IC 50 se realizó en relación a la concentración del aceite y la actividad antioxidante mediante una regresión logarítmica. Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)

Evaluación comparativa de la actividad antioxidante de los 5 aceites esenciales, el referente natural y el control positivo.



**Figura 7:**

Fuente: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)

## Discusión

En la composición química que presentó el aceite esencial de *Minthostachys mollis*, se comprueba la presencia de timol acetato con la investigación realizada por (Carhuapoma Y., 2014), y mentona con la publicación hecha en Argentina por (Elechosa, y otros, 2007), en cuanto al aceite esencial de *Aristeguietia glutinosa* no existen otras investigaciones, donde se determine la composición química del mismo, los componentes de los aceites esenciales de *Ambrosia arborescens* el estudio en el que se compra no coincide y *Myrcianthes rhopaloides* que presentó en el presente trabajo no coinciden con el estudio realizado en Colombia por (Saldarriaga, Sánchez, Bonilla, Sánchez, & Torres, 2010), y con el estudio hecho en Ecuador por (Maldonado & Dacarro, 2007), en el aceite esencial el compuesto  $\alpha$ -humuleno está presente en las investigaciones realizadas por (Dua, Pandey, & Dash, 2010), así mismo en se confirma éste compuesto en un trabajo realizado en Cuba por Rome y otros en 2004. Como se puede apreciar en la mayoría de componentes entre ésta y otras investigaciones tienen diferentes resultados debido a que las condiciones geobotánicas como clima, tipo de suelo, así como edad de la planta, método de obtención del aceite, época de recolección de la especie vegetal, son factores que influyen de manera importante sobre la composición química del aceite.

Los estudios de evaluación de la capacidad captadora de radicales libres por los métodos de DPPH y ABTS, revelan que los aceites, que poseen la mayor actividad son *Minthostachys mollis* y *Aristeguietia glutinosa*. Para los aceites *Ambrosia arborescens*, *Myrcianthes rhopaloides*, *Lantana camara* la actividad determinada es baja. Analizando la investigación hecha en *Minthostachys mollis* (Granados Conde, 2012) sobre la actividad antioxidante se confirma el buen comportamiento de este aceite esencial. Para *Aristeguietia glutinosa* no existen investigaciones al respecto, la

nuestra sería la primera descripción de este tipo de estudio en la planta con resultados positivos.

En ninguno de los aceites se han efectuado evaluaciones de actividad antioxidante por lo que la presente investigación es la primera en este sentido.

Esta investigación revela que timol acetato y carvacrol acetato encontradas en *Minthostachys mollis* son las moléculas responsables de los buenos resultados en este aceite, para el caso de *Aristeguietia glutinosa* las moléculas responsable es el muuroleno.

## Conclusiones

De los cinco aceites esenciales en estudio, dos de ellos (*Minthostachys mollis* y *Aristeguietia glutinosa*) son los que presentan en todos los análisis realizados el mejor desempeño tanto para la evaluación captadora de electrones como en la evaluación de la actividad antioxidante, con valores cercanos a los del referente natural el aceite esencial de *T. vulgaris*.

Solo en el caso de *Minthostachys mollis* se pudo apreciar similitud de la composición química de su aceite con otras investigaciones realizadas en la región andina. Para las demás especies dicha similitud de composición química no fue detectada, lo que nos lleva a suponer que las especies ecuatorianas tienen una composición diferente, debido a su sistema de desarrollo.

La presente investigación nos lleva a la valoración de tres moléculas presentes en los aceites que demuestran ser potencialmente antioxidante, no existe en la literatura científica, evaluaciones de actividad antioxidante individuales de estas moléculas lo que da un valor muy significativo a la presente investigación.

En el caso de *Minthostachys mollis*, las dos moléculas con actividad se corresponden con las sustancias mayoritarias del aceite esencial (timol acetato, carvacrol acetato), en el caso de *Aristeguietia glutinosa* la actividad se evidenció en una molécula minoritaria (muuroleno). En el caso del timol acetato y carvacrol acetato, dado que ambas moléculas son derivadas de compuestos fenólicos conocidos por su actividad antioxidante, esto nos llevaría a pensar que este tipo de compuestos presentes en aceites esenciales contribuyen positivamente a mejorar las cualidades antioxidantes de los mismos.

En los aceites esenciales que no evidencian una buena actividad antioxidante, se puede apreciar que ninguna de las fracciones separadas por la técnica TLC y relevadas con una solución de DPPH, presenta indicios de actividad antioxidante, lo que comprueba que los tres aceites tienen una actividad muy discreta.

## **Recomendaciones**

Se sugiere para las dos especies que poseen resultados positivos en la evaluación de la actividad antioxidante continuar con estudios en productos terminados como por ejemplo formulaciones cosméticas y alimentos de larga conservación para aprovechar estas cualidades y dejar de utilizar antioxidantes sintéticos.

Se sabe que muchas moléculas que demuestran tener actividad antioxidante potencialmente pueden contribuir a la protección de las células y ser útiles en patologías como el envejecimiento prematuro y el cáncer, dados los buenos resultados de estos dos aceites esenciales, se recomiendan continuar los estudios de actividades como la antimutagénica y mutágeno protectora.

## Referencias

- Abbott, D. (1970). *Introducción a la cromatografía*. PEARSON EDUCACION.
- Adams , R. (2007). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*. Illinois, USA: Allured.
- Adams , R. (2007). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*. USA, Illinois: Allured.
- Anaya, A., Espinosa-García, F., & Cruz-Ortega, R. (2001). *Relaciones químicas entre organismos: aspectos básicos y perspectivas de su aplicación*. México: Plaza y Valdés, S.A.
- Avila Zárraga, J. (2001). *Química orgánica: experimentos con un enfoque ecológico*. México: universidad nacional autonoma de México.
- Ayala, S., & Vásquez, T. (2014). Evaluación de la actividad antifúngica in vitro del marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y matico (*Aristeguietia glutinosa* Lam.) sobre hongos patógenos causantes de la dermatomicosis. Quito.
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los alimentos*. México: Pearson educación.
- Basu, S., Ghosh, A., & Hazra, B. (2005). Evaluation of the antibacterial activity of *Ventilago madraspatana* Gaertn., *Rubia cordifolia* Linn. and *Lantana camara* Linn.: isolation of emodin and physcion as active antibacterial agents. *Phytotherapy research*, 888-894.
- Buitrón, X., & Hidalgo, R. (1999). *Ecuador: usos y comercio de plantas medicinales, situación actual y aspectos importantes para su conservación*. Quito: traffic international.

- Cano, C., Bonilla, P., Roque, M., & Ruiz, J. (2008). Actividad antimicótica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña). *Revista peruana de medicina experimental y salud pública*.
- Carhuapoma Y., M. L. (2014). Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb “ruyaq muña”. *Ciencia e investigación*, 83-89.
- Castañeda, C., Ramos, L., & Ibañez, V. (2008). Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Revista horizonte médico*, 61.
- Cerón Martínez, C. E. (2006). Plantas medicinales de los andes ecuatorianos. *Botánica económica de los andes centrales*, 285-293.
- Challem, J., & Block, M. (2008). *Antioxidantes naturales*. Madrid: ediciones nowtilus, S.L. Recuperado el 28 de Mayo de 2015
- Chaquilla Quilca, G., Estela Escalate, W., & Torres Muñoz, V. (2011). Chemical composition and total phenols of essential oils from muña *Minthostachys setosa* Briq EPL and anise *Pimpinella anisum* L. *ECIPerú*, 107-111.
- Coba, P., Macayu, L., & Vidari, G. (2010). Importancia de la actividad antioxidante y evaluación de extractos en etanol del género *Oryctanthus*. *La granja*, 24.
- Coba, P., Mayacu, L., & Vidari, G. (2010). Importance of antioxidant activity and evaluation in ethanol extracts of *Oryctanthus* type. *La granja*, 23.
- de la Riva, P. (2006). Plantas medicinales en los andes de Bolivia. M. Moraes R. et al. *Botánica económica de los andes centrales*, 268-284.
- Dominguez. (1973). *Metodos de investigación fitoquímica*. México: limusa.

- Dua, V., Pandey, A., & Dash, A. (2010). Adulticidal activity of essential oil of Lantana camara leaves against mosquitoes. *Indian journal of medical research.*, 434-439.
- Elechosa, M. (12 de Noviembre de 2009). Manual de recolección sustentable de plantas aromaticas nativas de la Región Central y Noroeste de la Argentina. Obtenido de Desarrollo de tecnologías innovativas para la explotacion, conservación, evaluación y utilización de plantas nativas.
- Elechosa, M. A., Molina, A. M., Juárez, M. A., Baren, C. M., Di Leo Lira, P., Bandoni, & Arnaldo, L. (2007). Estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kuth.) Griseb. "peperina" obtenido de colectas en 21 poblaciones de la provincias de Tucuman, Córdoba, San Luis y Catamarca. *Boletín latinoamericano y del caribe de plantas medicinales y aromáticas*, 244-245.
- Fuentes Ruitón, C., & Munguía Chipana, Y. (2014). Estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb "muña" de tres regiones peruanas por cromatografía de gases y espectrometría de masas. *Ciencia e investigación*, 23-39.
- Galvis R., H. (2014). *Colores para el jardín tropical (guía de plantas ornamentales)*. Bogota: pengun random house.
- Gil Pavas, E., & Sáez Vega, A. (2012). Obtención de aceite esencial de cardamomo. *Revista universidad EAFIT*, 15-21.
- Granados Conde, C. Y. (2012). Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar de *Calycolpus moritzianus* y *Minthostachys mollis* de norte de SantanderBistua. *Revista de la facultad de ciencias básicas*, 12-23.

- Grisebach, A. H. (1874). *Tropicos*. Obtenido de *Minthostachys mollis*.
- Guerini, A., Bruni, R., Maietti, S., Poli, F., Rossi, D., Paganetto, G., . . . Sacchetti, G. (2008). Ecuadorian stingless bee (Meliponinae) honey: A chemical and functional profile of an ancient health product. *Food chemistry*, 1413-1420.
- Gupta, M. (1995). *270 Plantas medicinales iberoamericanas*. Santafé de Bogotá: Ediciones del común.
- Gutierrez, M., & Droguet, M. (2002). La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor. *Boletín intexter (U.P.C.)*.
- Iannacone O., J. &. (2003). Efectos toxicológicos de extractos de molle (*Schinus molle*) y lantana (*Lantana camara*) sobre *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae), *Tricho-gramma pinto*i (Hymenoptera: Trichogra-mmatidae) y *Copidosoma koehler*i (Hyme-noptera: Encyrtidae), en el Perú. *Agricultura técnica*, 347-360.
- Jussieu, J. D. (2013). Plantas nativas de la hoya de Quito. *Biocomercio andino*. Obtenido de *Ambrosia arborescens*.
- Khan, M., Srivastava, S., Syamasundar, K., Singh, M., & Naqvi, A. (2002). Chemical composition of leaf and flower essential oil of *Lantana camara* from India. *Flavour and fragrance journal*, 75-77.
- King, R. M., & Robinson, H. E. (1975). *Tropicos*. Obtenido de *Aristeguietia glutinosa*.
- Kuskoski, E. A.-P. (2004). Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. *Bras. Cienc. Tecnol. Alim*, , 691-693.

- Kuskoski, M., Asuero, A., García, M., Troncoso, A., & Fett, R. (2004). Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* Recuperado el 12 de Agosto de 2015, de Scielo.
- Lamarque, A., Zygadlo, J., Labuckas, D., López, L., Torres, M., & Maestri, D. (2008). *Fundamento teórico práctico de química orgánica*. Córdoba, Argentina: encuentro.
- Linnaeus, C. v. (1753). *Tropicos*. Obtenido de Lantana camara L.
- Lira, R. H. (2005). Análisis cuantitativo del conocimiento tradicional sobre plantas utilizadas para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales en Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México. *Interciencia: revista de ciencia y tecnología de América*, 529-535.
- Machaca, F. (2014). Efecto toxicológico del jincho jincho (*Heracium neoherrerae*), altamisa (*Ambrosia arborescens*), diente de león (*Taraxacum officinale*), huira huira (*Pseudognaphalium spicatum*) y mishico (*Bidens andicola*) en ratas (Wistar). *Revista investigaciones altoandinas-journal of high andean research*, 16(01).
- Maldonado, M. E., & Dacarro, C. (2007). Análisis de la composición del aceite esencial de *Myrcianthes rhopaloides* (Kunth in H.B.K.) McVaugh, Myrtaceae, y evaluación de su actividad biológica. *La granja*, 17-24.
- Martinez, A. (febrero de 2003). *Universidad de Antioquia, Medellin*. Obtenido de Aceites esenciales.
- McVaugh, R. (1958). *Tropicos*. Obtenido de *Myrcianthes rhopaloides*.

- Miller, H. (1971). A simplified method for the evaluation of antioxidant. *J am oil chem soc.*
- Miller, P. (1768). *Tropicos*. Obtenido de *Ambrosia arborescens*.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 211-219.
- Naranjo , P. (2010). *La Etnomedicina en el Ecuador, Etnomedicina y etnobotánica: avances en la investigación*. Quito, Ecuador: Abya-Yala.
- Noriega , P., Mosquera , T., Baldisserotto, A., Abad, J., Cabezas, D., Aillon , C., . . . Manfredini, S. (2015). Chemical composition and in-vitro biological activities of the essential oil from leaves of *Peperomia inaequalifolia* Ruiz & Pav. *American journal of essential oils and natural products*.
- Noriega, P. (2009). Extracción, química, actividad biológica, control de calidad y potencial económico de los aceites esenciales. *La granja* 3, 4-14.
- Noriega, P., Almeida, A., & Suárez, S. (2014). *Estudio de la actividad antimicrobiana y antioxidante del aceite esencial del rizoma Renealmia thyrsoides subsp.thyrsoides (Zingiberaceae)*. Quito.
- Ojeda Land, E. (28 de julio de 2015). *Gesplan*. Obtenido de *Lantana camara* L.
- Pérez, R., Vargas, R., Martínez, F., Garcia , E., & Hernández, B. (2003). Actividad antioxidante de los alcaloides de *Bocconia arborea*. Estudio sobre seis métodos de análisis. *Ars pharmaceutica*, 8.

- Pérez, Vargas, R., Martínez, F., García, E., & Hernández, B. (2003). Antioxidant activity of alkaloids from *Bocconia arborea*. A study on six testing methods. *Ars pharmaceutica*, 5-21.
- Preedy, V. (2014). *Processing and impact on antioxidants in beverages*. New York: elsevier.
- Restrepo, J. P. (2006). *Metabolismo, nutrición, y shock* (cuarta ed.). Bogotá D.C., Colombia: Editorial medica internacional Ltda. Recuperado el 27 de mayo de 2015
- Rivero Rosales, A., & Betancort Rodríguez, J. (2006). Evaluation of antioxidant activity of polyphenolic compounds from marine algae. *Facultad de ciencias del mar. Universidad de las palmas de gran canaria*.
- Rodríguez Carrasco, B., Alonso Cordero, M., & Boyero Fernández, E. (2003). Estres oxidativo y sistema de defensa antioxidante. *Revista de ciencias médicas La Habana*.
- Rodríguez Peron, J., Menendez Lopez, J., & Trujillo Lopez, Y. (2001). Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Revista cubana de medicina militar*.
- Rodríguez Zunino, L. (2006). *Universidad nacional agraria La Molina*. Obtenido de contribución a la propagación de *Myrcianthes rhopaloides* (H.B.K.) Mc Vaugh "Lanche" en el caserío de carpinteros chalaco-morropón. piura.
- Romeu, C., González, T., & Martín, A. (Septiembre de 2001). *Fitosanidad*. Obtenido de *Lantana camara* L. Algunas características y propiedades.

- Romeu, C., Pino, J., & Martí, M. (2004). Algunas consideraciones acerca de la composición química del aceite esencial de *Lantana camara* L. presente en Cuba. *Fitosanidad*.
- Rousessac, F. (2000). *Métodos y Técnicas instrumentales modernas. Teoría y ejercicios resueltos. Analisis químico*. Madrid, España: Mcgrawhill.
- Ruberto, G., & Baratta, M. (2000). Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food chemistry*, 167-174.
- Sacchetti, G. M. (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in food. *Food chemistry*, 621-623.
- Saldarriaga, L., Sánchez, G., Bonilla, C., Sánchez, M., & Torres, H. (2010). Agroindustrial evaluation of essential oils of *Artemisia dracunculoides* L, *Franseria artemisioides* Willd, *Salvia officinalis* L, *Lippia dulcis* Frev, and *Occimum americanum* L in conditions of the Cauca Valle. *Acta agronómica*, 293-302.
- Saxena, R., Dixit, O., & Harshan, V. (1992). Insecticidal action of *Lantana camara* against *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of stored products research*, 279-281.
- Seedi, E., & Hesharn, R. (2006). Antimicrobial activity and chemical composition of essential oil of *Eupatorium glutinosum* (Lam.). *Natural products communications*, 655-659.
- Sharapin, N. (2000). *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos*. Santafé de Bogota, D.C.: SECAB.

- Sharma, O., Makkar, H., & Dawra, R. (1988). A review of the noxious plant *Lantana camara*. *Toxicon*, 975-987.
- Sierra, I., Pérez, D., Gómez, S., & Morante, S. (2010). *Análisis instrumental*. La Coruña: NETBIBLIO.
- Soto, D. L. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista cubana de medicina militar*, 2. Recuperado el 30 de 05 de 2015
- Stashenko, E. (2009). *Aceites esenciales*. Bucaramanga: Universidad industrial de Santander.
- Stashenko, E., Jaramillo, B., & Martínez, J. (Diciembre de 2003). Comparación de la composición química y de la actividad antioxidante in vitro de los metabolitos secundarios volátiles de plantas de la familia Verbenaceae. *Rev. Acad. Colomb.*
- Swarbrick, J. (1996). *Depósito de documentos de la FAO*. Obtenido de Producción y protección vegetal, manejo de malezas para países en desarrollo.
- Tafurt, G., Martínez, J., & Stashenko, E. (2005). Evaluación de la actividad antioxidante de aceites esenciales en emulsiones degradadas por radiación ultravioleta. *Revista colombiana de química*.
- TECNOVA. (2013). *Estudio sobre el uso de las plantas aromáticas y sus aceites esenciales en la industria agroalimentaria*. Obtenido de Cooperación transfronteriza entre centros tecnológicos para la dinamización empresarial de Andalucía y Marruecos.
- Ulloa Ulloa, C., & Moller Jorgensen, P. (1995). *Arboles y arbustos de los andes del Ecuador*. Quito- Michigan (EEUU): Abya-Yala.

Valcárcel, M., & Gómez, A. (1988). *Técnicas analíticas de separación*. México: Editorial reverté, S.A.

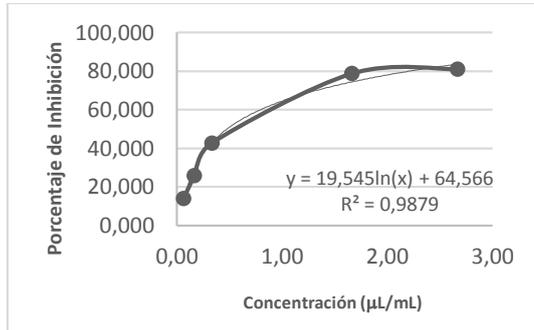
Varela Ubillos, J. (julio de 2011). *Universidad de la Republica Uruguay*. Obtenido de Fraccionamiento bioguiado del extracto hidr-etanólico de *Aristeguetia glutinosa* Lam. y elucidación estructural de los principios activos anti-trypanosoma cruzi.

Verde López, A., Rivera Núñez, D., Fajardo Rodríguez, J., & Obón de Castro, C. (2005). *Plantas medicinales, una introducción a su estudio en Castilla- La Mancha*. Castilla-España: Altabán ediciones.

Youngson, D. R. (1994). *Antioxidantes y radicales libres*. Madrid: EDAF S.A.

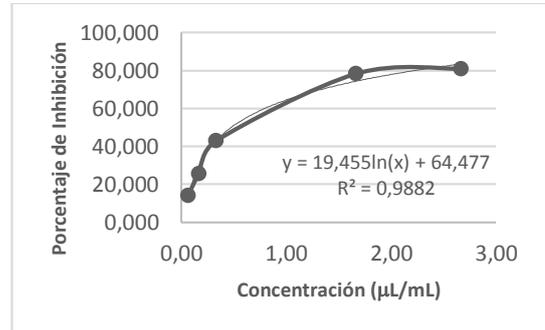
## Anexos

### Anexo 1. Curvas del Porcentaje de inhibición DPPH vs. concentración del referente natural *Thymus vulgaris*, los cinco aceites esenciales, y el control positivo BHA



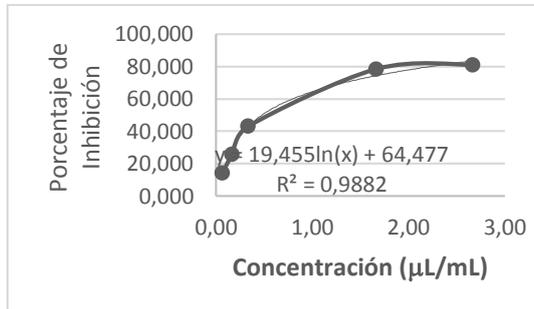
Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) del aceite esencial de *Thymus vulgaris* vs. porcentaje de inhibición 1, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



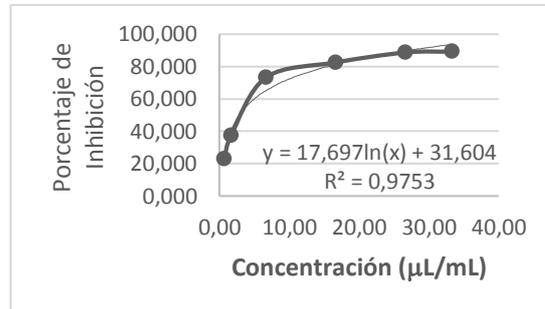
Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) del aceite esencial de *Thymus vulgaris* vs. porcentaje de inhibición 2, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



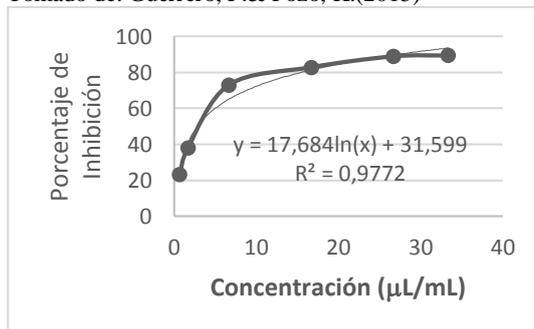
Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) del aceite esencial de *Thymus vulgaris* vs. porcentaje de inhibición 3, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



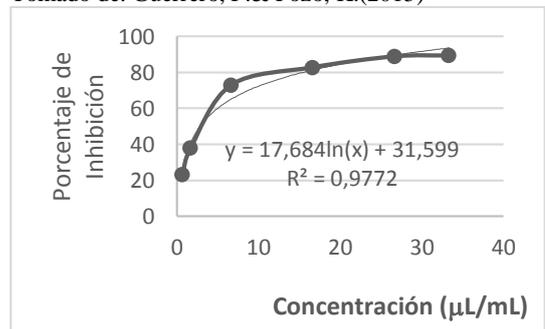
Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) del aceite esencial de *Minthostachys mollis* vs. porcentaje de inhibición 1, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



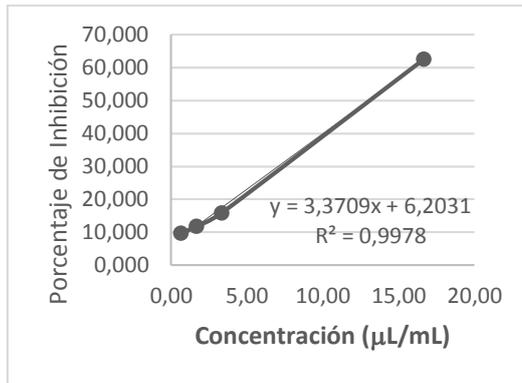
Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) del aceite esencial de *Minthostachys mollis* vs. porcentaje de inhibición 2, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)

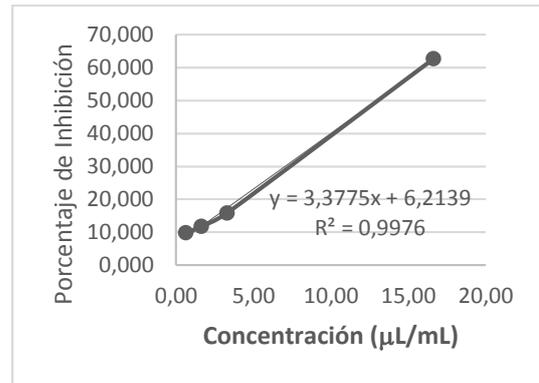


Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) del aceite esencial de *Minthostachys mollis* vs. porcentaje de inhibición 3, construido en curva

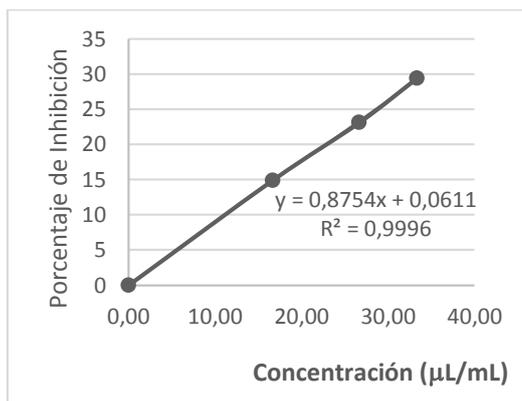
Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



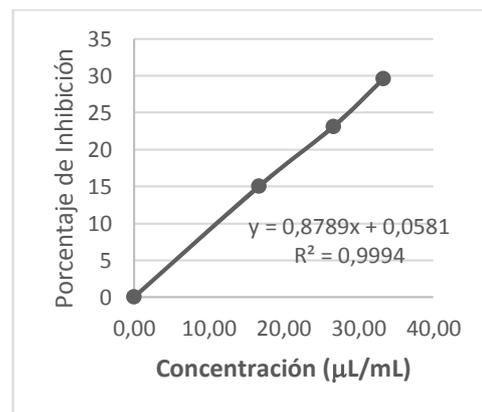
Concentración (µL/mL) del aceite esencial de *Aristeguietia glutinosa* vs. porcentaje de inhibición 1, construido en curva  
Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



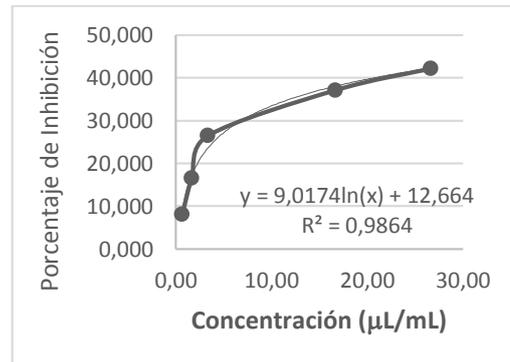
Concentración (µL/mL) del aceite esencial de *Aristeguietia glutinosa* vs. porcentaje de inhibición 3, construido en curva  
Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



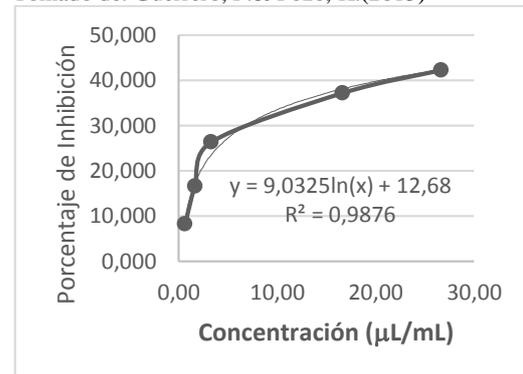
Concentración (µL/mL) del aceite esencial de *Ambrosia arborescens* vs. porcentaje de inhibición 1, construido en curva  
Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



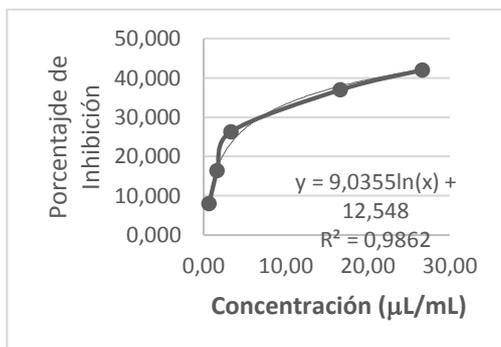
Concentración (µL/mL) del aceite esencial de *Ambrosia arborescens* vs. Porcentaje de inhibición 2, construido en curva  
Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



Concentración (µL/mL) del aceite esencial de *Myrcianthes rhopaloides* vs. porcentaje de inhibición 1, construido en curva  
Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)

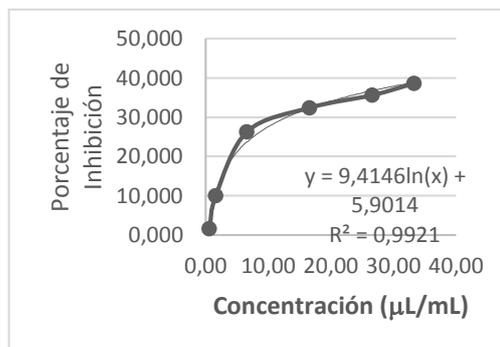


Concentración (µL/mL) del aceite esencial de *Myrcianthes rhopaloides* vs. porcentaje de inhibición 2, construido en curva  
Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



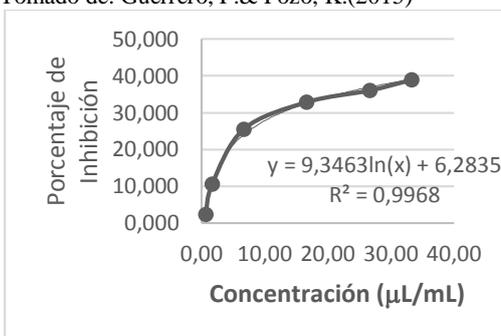
Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) del aceite esencial de *Myrcianthes rhopaloides* vs. porcentaje de inhibición 3, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



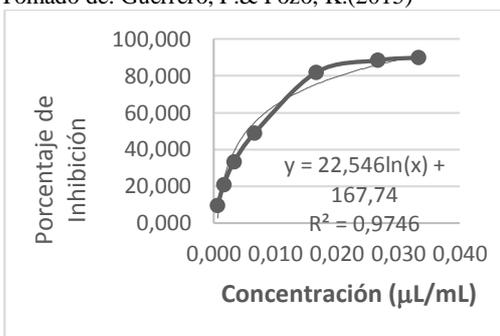
Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) del aceite esencial de *Lantana camara* vs. Porcentaje de inhibición 2, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



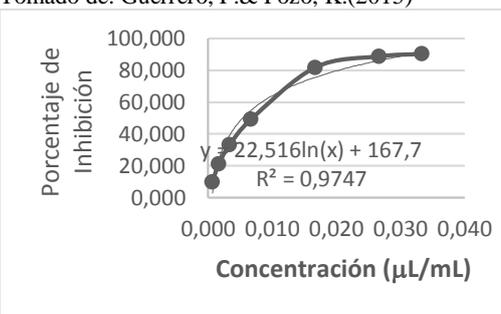
Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) del aceite esencial de *Lantana camara* vs. Porcentaje de inhibición 3, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



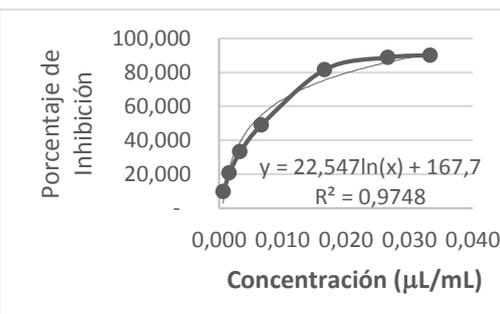
Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) BHA vs. Porcentaje de inhibición 1, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) BHA vs. Porcentaje de inhibición 2 construido en curva

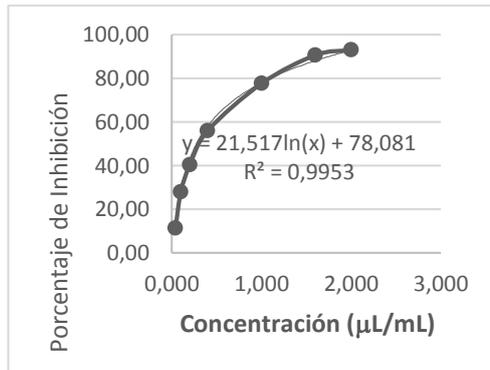
Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) BHA vs. Porcentaje de inhibición 3, construido en curva

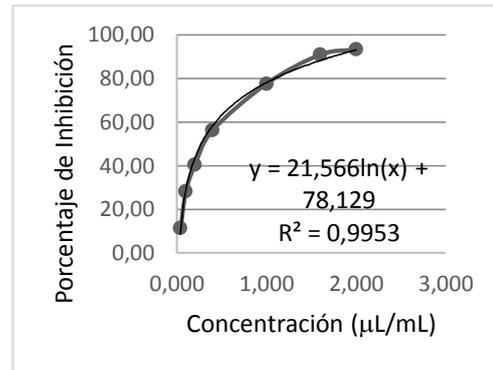
Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)

Anexo 2. Curvas del Porcentaje de Inhibición ABTS vs. Concentración del referente natural *Thymus vulgaris*, los cinco aceites esenciales, y el control positivo BHA



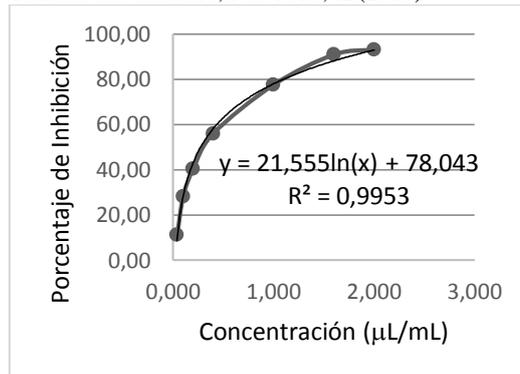
Concentración (μL/mL) del aceite esencial de *Thymus vulgaris* vs. porcentaje de inhibición 1, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



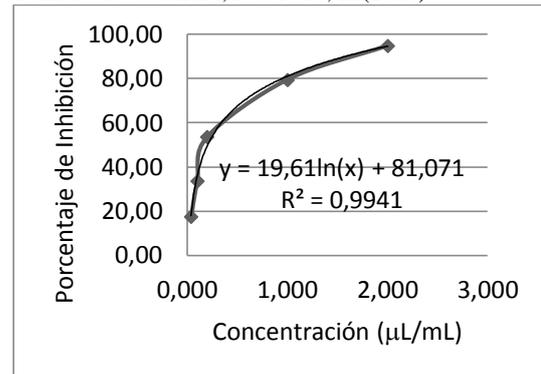
Concentración (μL/mL) del aceite esencial de *Thymus vulgaris* vs. porcentaje de inhibición 2, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



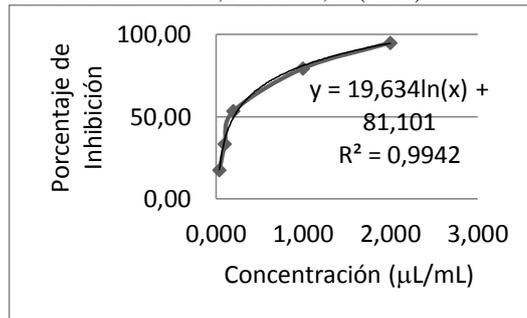
Concentración (μL/mL) del aceite esencial de *Thymus vulgaris* vs. Porcentaje de inhibición 3, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



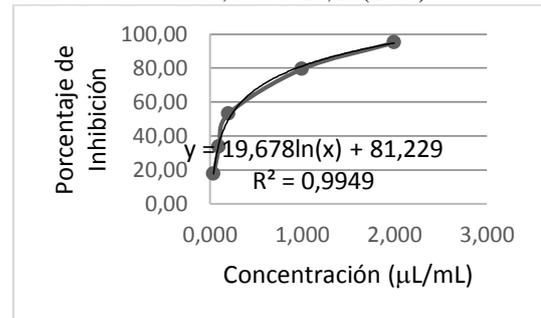
Concentración (μL/mL) del aceite esencial de *Minthostachys mollis* vs. porcentaje de inhibición 1, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



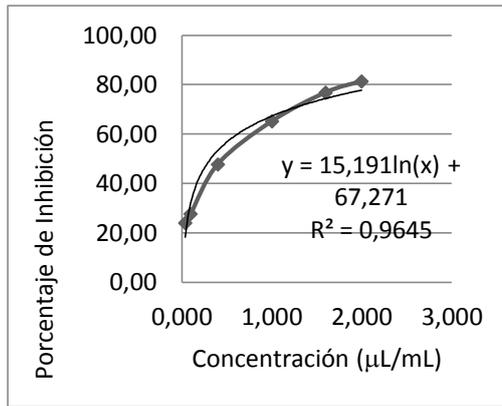
Concentración (μL/mL) del aceite esencial de *Minthostachys mollis* vs. porcentaje de inhibición 2, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)

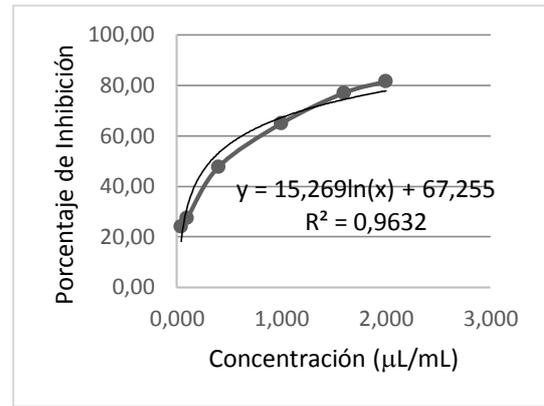


Concentración (μL/mL) del aceite esencial de *Minthostachys mollis* vs. porcentaje de inhibición 3, construido en curva

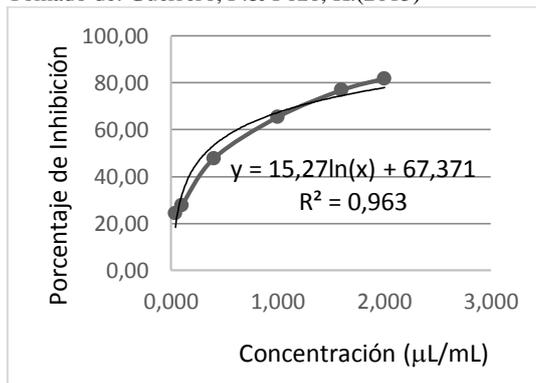
Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



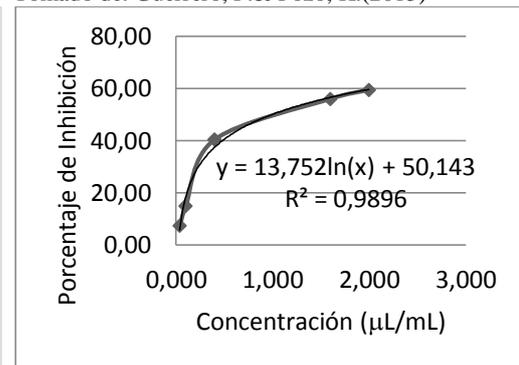
Concentración (µL/mL) del aceite esencial de *Aristeguietia glutinosa* vs. porcentaje de inhibición 1, construido en curva  
Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



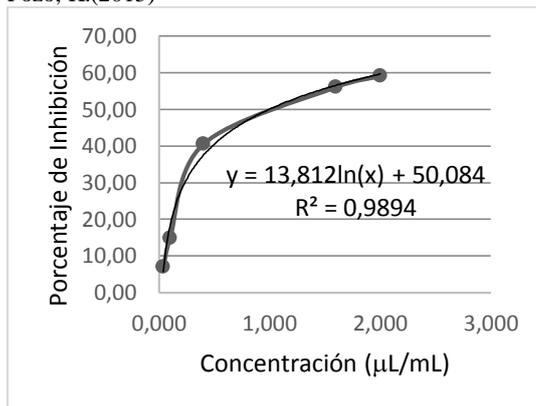
Concentración (µL/mL) del aceite esencial de *Aristeguietia glutinosa* vs. Porcentaje de inhibición 2 construido en curva  
Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



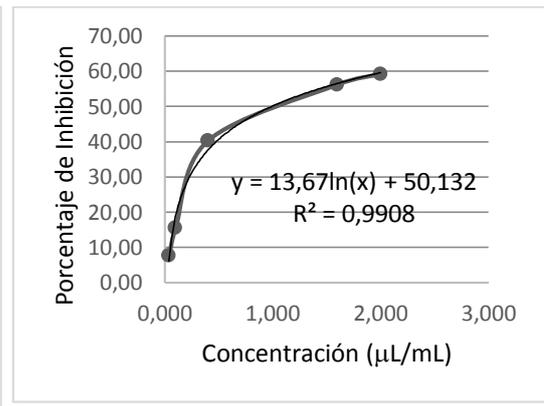
Concentración (µL/mL) del aceite esencial de *Aristeguietia glutinosa* vs. porcentaje de inhibición 3 construido en curva  
Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



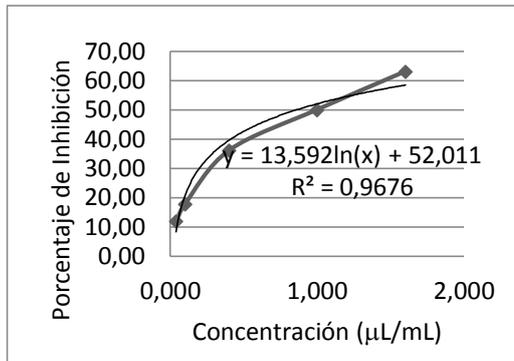
Concentración (µL/mL) del aceite esencial de *Ambrosia arborescens* vs. porcentaje de inhibición 1 construido en curva  
Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



Concentración (µL/mL) del aceite esencial de *Ambrosia arborescens* vs. porcentaje de inhibición 2, construido en curva  
Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)

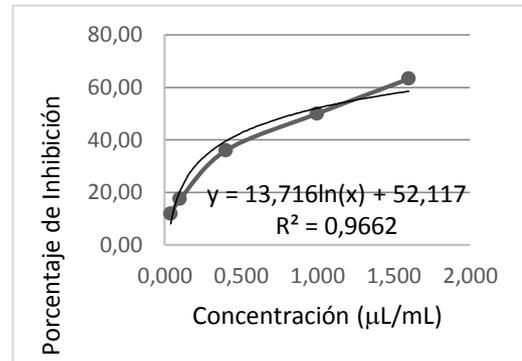


Concentración (µL/mL) del aceite esencial de *Ambrosia arborescens* vs. porcentaje de inhibición 3, construido en curva  
Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



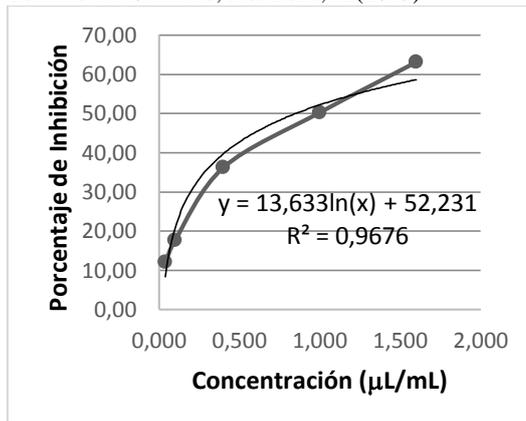
Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) del aceite esencial de *Myrcianthes rhopaloides* vs. porcentaje de inhibición 1, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



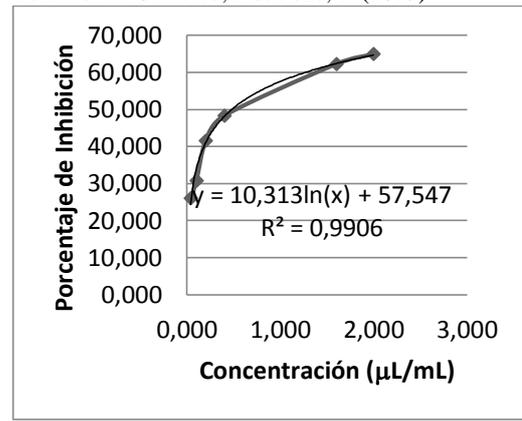
Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) del aceite esencial de *Myrcianthes rhopaloides* vs. porcentaje de inhibición 2, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



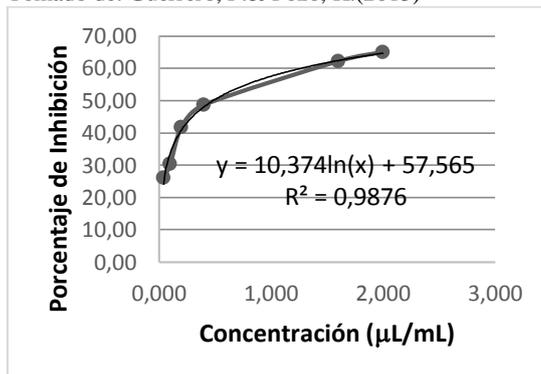
Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) del aceite esencial de *Myrcianthes rhopaloides* vs. porcentaje de inhibición 3, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



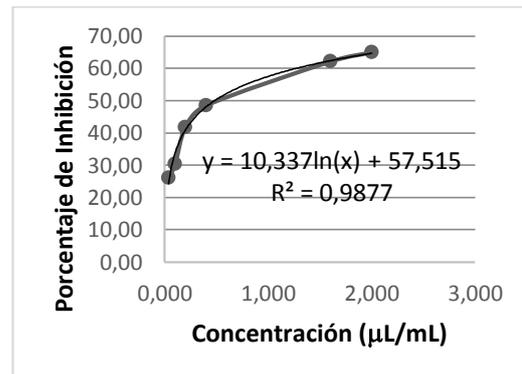
Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) del aceite esencial de *Lantana camara* vs. porcentaje de inhibición 1, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



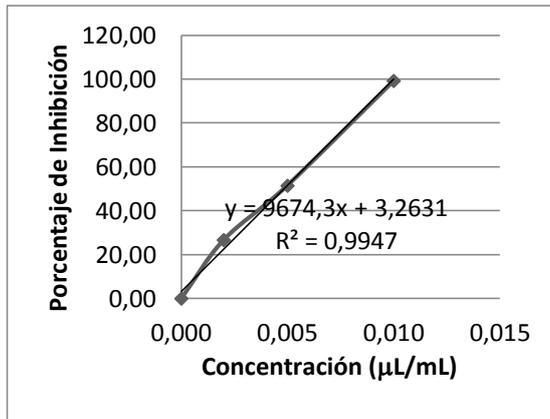
Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) del aceite esencial de *Lantana camara* vs. porcentaje de inhibición 2 construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)

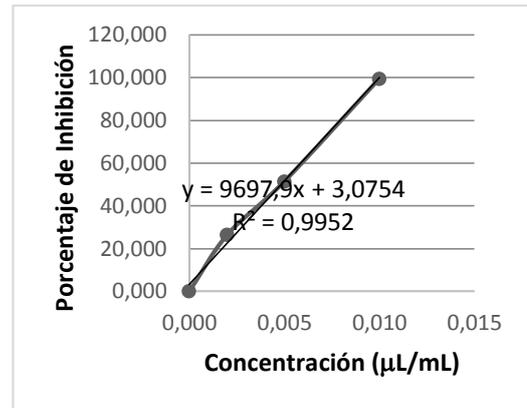


Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) del aceite esencial de *Lantana camara* vs. porcentaje de inhibición 3 construido en curva

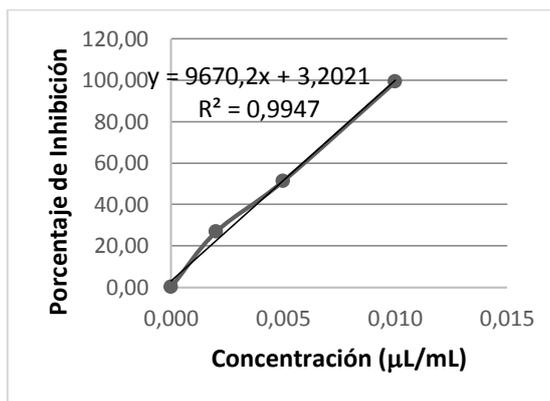
Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



Concentración (µL/mL) de BHA vs. Porcentaje de inhibición 1, construido en curva Tomado de: Guerrero, P. & Pozo, K. (2015)

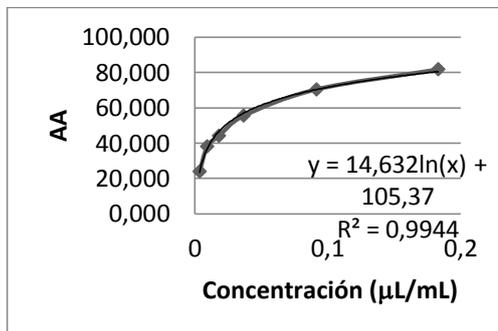


Concentración (µL/mL) de BHA vs. Porcentaje de inhibición 2, construido en curva Tomado de: Guerrero, P. & Pozo, K. (2015)

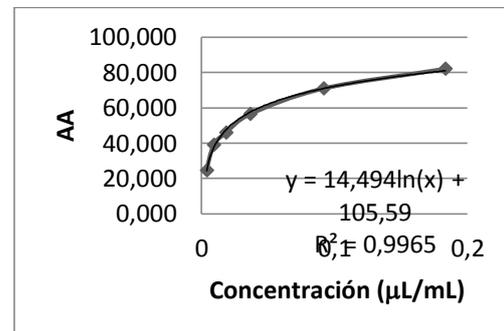


Concentración (µL/mL) de BHA vs. Porcentaje de inhibición 3, construido en curva Tomado de: Guerrero, P. & Pozo, K. (2015)

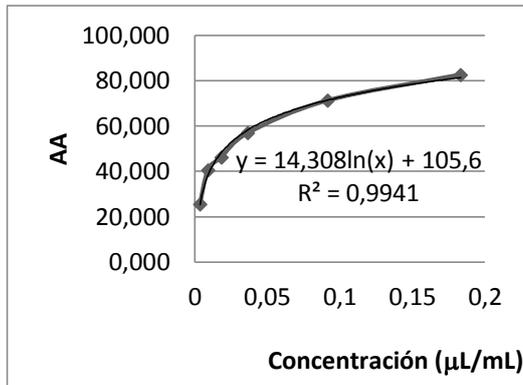
Anexo 3. Curvas de la Actividad Antioxidante calculado vs. Concentración del referente natural *Thymus vulgaris*, los cinco aceites esenciales, y el control positivo BHA



Concentración (µL/mL) del aceite esencial de *Thymus vulgaris* vs. actividad antioxidante 1, construido en curva Tomado de: Guerrero, P. & Pozo, K. (2015)

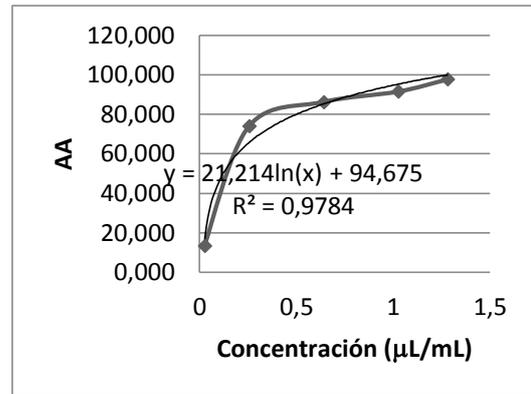


Concentración (µL/mL) del aceite esencial de *Thymus vulgaris* vs. actividad antioxidante 2, construido en curva Tomado de: Guerrero, P. & Pozo, K. (2015)



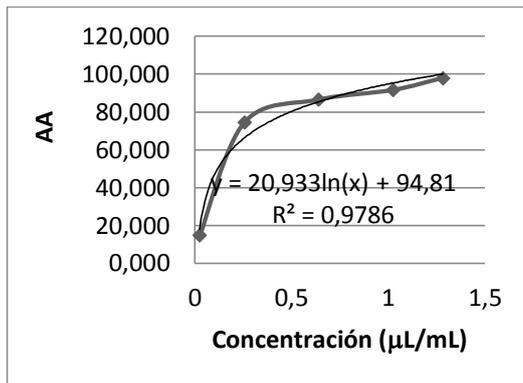
Concentración (µL/mL) del aceite esencial de *Thymus vulgaris* vs. actividad antioxidante 3, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



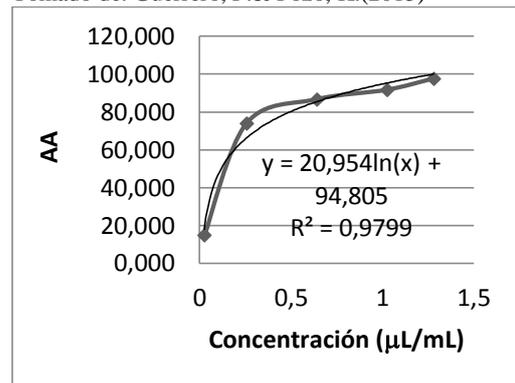
Concentración (µL/mL) del aceite esencial de *Minthostachys mollis* vs. actividad antioxidante 1, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



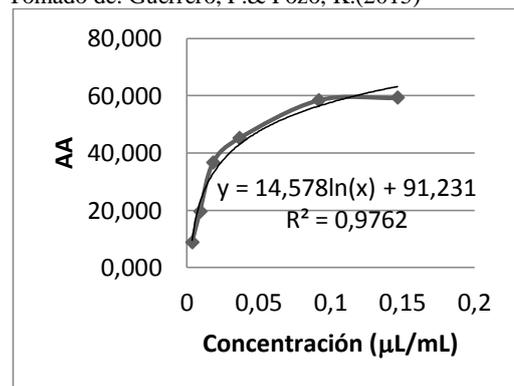
Concentración (µL/mL) del aceite esencial de *Minthostachys mollis* vs. actividad antioxidante 2, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



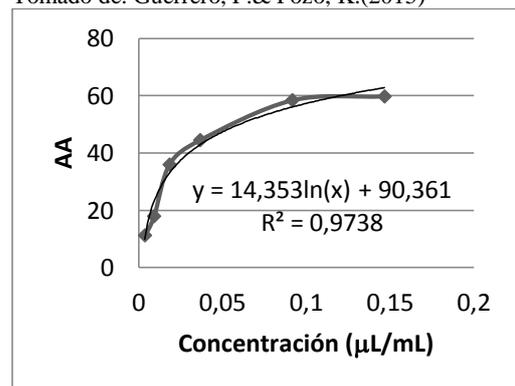
Concentración (µL/mL) del aceite esencial de *Minthostachys mollis* vs. actividad antioxidante 3, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



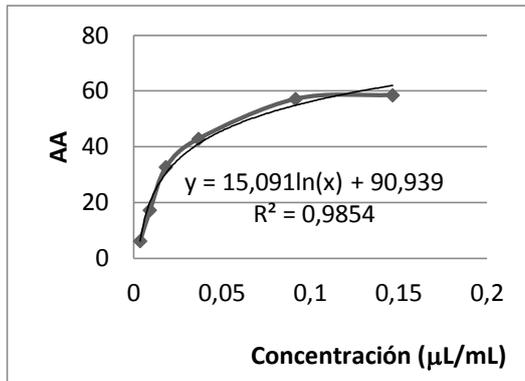
Concentración (µL/mL) del aceite esencial de *Aristeguietia glutinosa* vs. actividad antioxidante 1, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



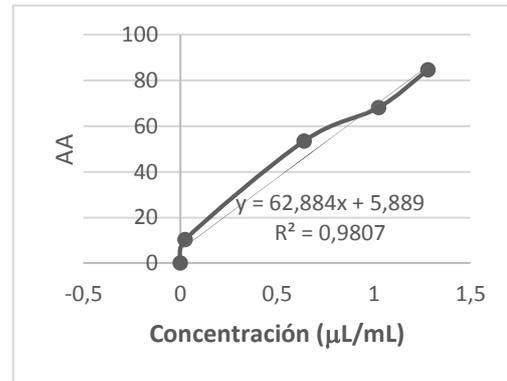
Concentración (µL/mL) del aceite esencial de *Aristeguietia glutinosa* vs. actividad antioxidante 2, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



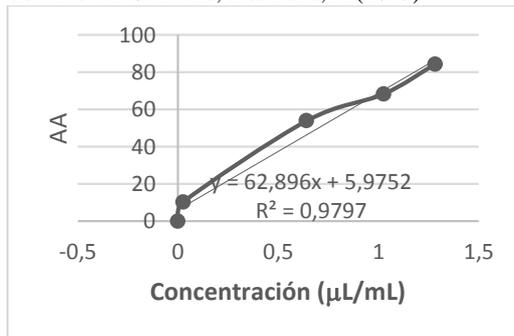
Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) del aceite esencial de *Aristeguietia glutinosa* vs. actividad antioxidante 3, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



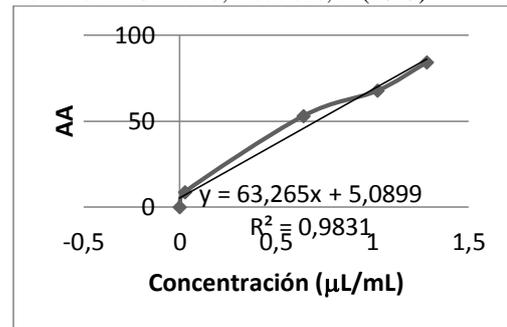
Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) del aceite esencial de *Ambrosia arborescens* vs. actividad antioxidante 1, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



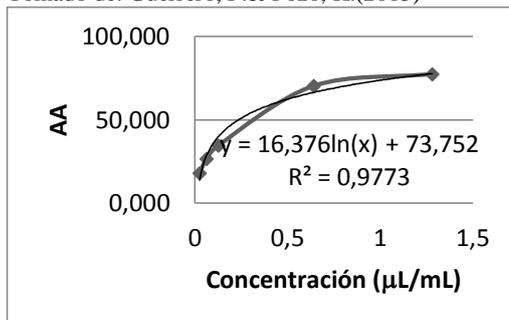
Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) del aceite esencial de *Ambrosia arborescens* vs. actividad antioxidante 2, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



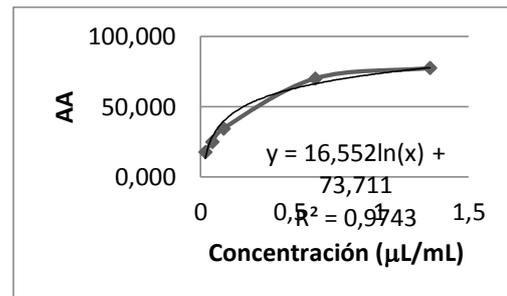
Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) del aceite esencial de *Ambrosia arborescens* vs. actividad antioxidante 3, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



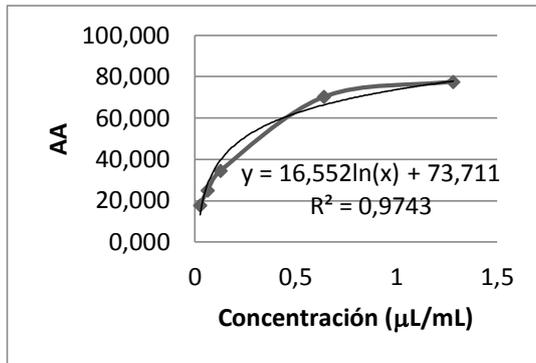
Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) del aceite esencial de *Myrcianthes rhopaloides* vs. actividad antioxidante 1, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



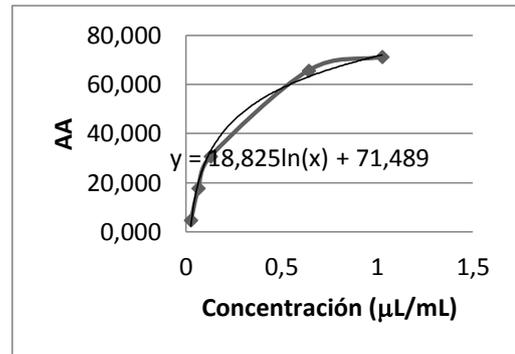
Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) del aceite esencial de *Myrcianthes rhopaloides* vs. actividad antioxidante 2, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



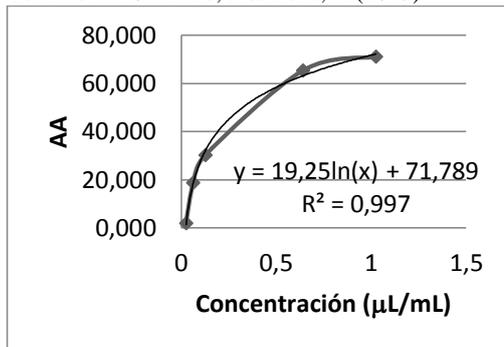
Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) del aceite esencial de *Myrcianthes rhopaloides* vs. actividad antioxidante 3, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



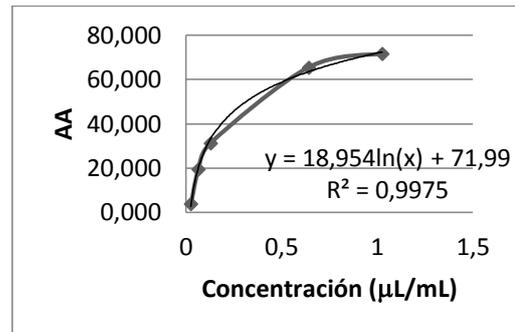
Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) del aceite esencial de *Lantana camara* vs. actividad antioxidante 1, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



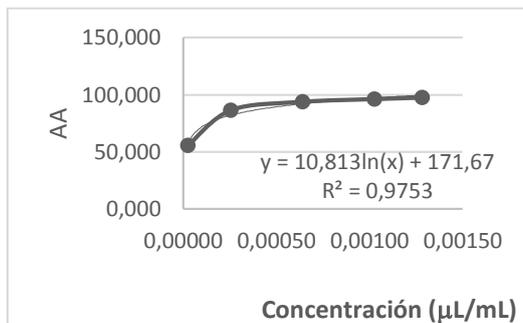
Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) del aceite esencial de *Lantana camara* vs. actividad antioxidante 2, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



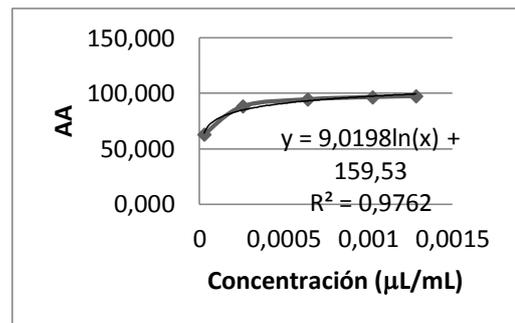
Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) del aceite esencial de *Lantana camara* vs. actividad antioxidante 3, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



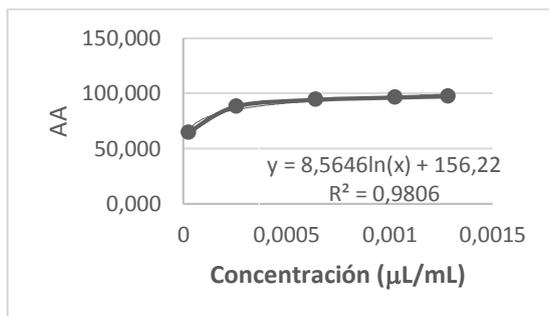
Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) de BHA vs. Actividad antioxidante 1, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) de BHA vs. Actividad antioxidante 2, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)



Concentración ( $\mu\text{L/mL}$ ) de BHA vs. Actividad antioxidante 3, construido en curva

Tomado de: Guerrero, P.& Pozo, K.(2015)