



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

TESIS:

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL
ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Minthostachys*
mollis MUÑA”**

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

BACHILLER: AQUIJE HUAROTO, LUZ MARINA

ASESOR: Q.F. ÁLVAREZ FLORES, HÉCTOR RUBÉN

LIMA-PERÚ

2015

*A Dios por permitirme llegar con bien a este momento,
a mis padres por su sacrificio y comprensión y a toda
mi familia por su apoyo.*

Agradezco principalmente a mi asesor, por su contribución para el desarrollo de esta tesis y a la Universidad Alas Peruanas por sus enseñanzas y por su aporte en mi formación.

RESUMEN

Los radicales libres son los causantes de diversas enfermedades crónicas y sobre todo del envejecimiento. *Minthostachys mollis* es una especie nativa de nuestra zona andina que presenta propiedades antiespasmódicas, antimicrobianas y antimicóticas. El objetivo de la presente investigación es demostrar el efecto antioxidante del aceite esencial de *Minthostachys mollis*. El aceite esencial presenta un rendimiento de 0.18% v/p. La capacidad antioxidante se determinó utilizando el método del DPPH en el cual el aceite esencial de Muña a concentraciones de 100, 150, 200, 250 y 300 µg/mL presenta porcentajes de inhibición de 32.11, 52.71, 55.82, 69.10 y 69.78% respectivamente, frente a la vitamina C que inhibió en 63.14, 65.71, 70.46, 82.11, 94.17%. La Vitamina C presentó una concentración efectiva 50% (CE50) de 54.8 µg/mL y el aceite esencial de Muña, una CE50 de 184.4 µg/mL. Los resultados obtenidos sugieren que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* posee significativa actividad antioxidante debido a la estructura química de sus componentes.

Palabras clave: *Minthostachys mollis*; aceite esencial; actividad antioxidante; radicales libres.

ABSTRACT

The free radicals originate various chronic diseases and above all are the main source of the aging of the skin. *Minthostachys mollis* is a kind of native species of our Andean region that presents antispasmodic, antimicrobial and antifungal properties.

The objective of this investigation is to demonstrate the antioxidant effect of the essential oil of *Minthostachys mollis*. The essential effect features a performance of 0.18% v/p. The antioxidant capacity was determined using the method of DPPH in which the Muña essential oil in 100, 150, 200, 250 y 300 µg/mL concentrations presents percentage of inhibition of 32.11, 52.71, 55.82, 69.10 y 69.78%. Vitamin C presented an effective concentration 50% 54.8 µg/mL and the Muña essential oil 184.4 µg/mL. The results obtained suggest that the *Minthostachys mollis* oil essential has a significant antioxidant effect due to the chemical structure of its components.

Key words: *Minthostachys mollis*, essential oil, antioxidant activity, free radicals.

ÍNDICE

CARÁTULA	I
DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTO	III
RESUMEN	IV
ABSTRACT	V
ÍNDICE DE TABLAS	X
ÍNDICE DE GRÁFICOS	XI
ÍNDICE DE FIGURAS	XII
INTRODUCCIÓN	XII
CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
1.1 Descripción de la realidad problemática	15
1.2 Delimitación de la Investigación.....	17
1.2.1 Delimitación Espacial.....	17
1.2.2 Delimitación Temporal	17
1.2.3 Delimitación Social.....	17
1.2.4 Delimitación Conceptual	17
A) Destilación por arrastre de vapor	17
B) Capacidad antioxidante	18
1.3 Formulación del Problema	18
1.3.1. Problema General.....	18
1.3.2. Problemas Específicos	18
1.4 Objetivos de la Investigación.....	18
1.4.1. Objetivo General	18
1.4.2. Objetivos Específicos.....	18
1.5 Hipótesis de la Investigación.....	19
1.5.1. Hipótesis General	19
1.5.2. Hipótesis Específicas.....	19

1.6 Justificación e importancia de la Investigación.....	19
1.6.1 Justificación.....	19
1.6.2 Importancia.....	20
CAPITULO II: MARCO TEÓRICO	21
2.1 Antecedentes de la investigación.....	21
2.1.1 Nacionales	21
2.1.2 Internacionales.....	23
2.2 Bases teóricas.....	25
2.2.1 Plantas medicinales	25
2.2.2 “Muña” <i>Minthostachys mollis</i>	26
A) Aspecto botánico	27
B) Clasificación taxonómica.....	28
C) Usos y aplicaciones de la planta de <i>Minthostachys mollis</i>	28
2.2.3 Aceites esenciales.....	29
A) Funciones Biológicas de los aceites esenciales en las plantas	30
B) Capacidad antioxidante de los aceites esenciales	30
C) Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i>	31
D) Composición química del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i>	32
2.2.4 Radicales libres	33
2.2.5 Antioxidantes	34
2.3 Definición de términos básicos.....	35
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	37
3.1 Diseño de la Investigación	37
3.1.1 Tipo	37
3.1.2 Método	37

ANEXOS	57
Matriz de Consistencia	58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características fisicoquímicas del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> Muña.....	31
Tabla 2. Componentes químicos principales del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> Muña de Huaraz	32

ÍNDICE DE GRÁFICOS

- Gráfico 1.** Valores de los porcentajes de inhibición del radical DPPH de cinco concentraciones distintas del aceite esencial obtenido de *Minthostachys mollis* Muña44
- Gráfico 2.** Comparación de la actividad antioxidante por concentraciones del aceite esencial de *Minthostachys mollis* y la Vitamina C.....45
- Gráfico 3.** Concentración Efectiva 50 (CE 50) de la Vitamina C frente al DPPH46
- Gráfico 4.** Concentración Efectiva 50 (CE 50) del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente al DPPH47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Algunos de los componentes de <i>Minthostachys mollis</i> con su estructura química.....	33
Figura 2. Reacción química del DPPH en presencia de un antioxidante.....	40

INTRODUCCIÓN

Una consecuencia del metabolismo de nuestro organismo es la formación de sustancias oxidantes llamadas Radicales Libres, esta producción inevitable, durante toda la vida de un organismo, trae como consecuencia un daño en los componentes celulares que a la larga ocasiona lesiones en las células y tejidos los cuales desencadenan los procesos de envejecimiento

Cuando los radicales libres no son neutralizados por los sistemas antioxidantes naturales del organismo se produce un estado llamado Estrés Oxidativo, el cual puede provocar graves daños a las células y biomoléculas como los ácidos nucleicos, proteínas, carbohidratos y lípidos, esta situación trae como consecuencias procesos inflamatorios que desencadenan diversas enfermedades.

Según las investigaciones, las principales enfermedades que provocan la muerte de las personas o que deterioran su calidad de vida están provocadas en gran parte por radicales libres.

En el ser humano, el estrés oxidativo está involucrado en diversas enfermedades como la aterosclerosis, la enfermedad de Parkinson, encefalopatía, la enfermedad de Alzheimer, cáncer, daños en el sistema nervioso central, cardiopatías, cataratas, aceleración del envejecimiento, etc. por la acción de los radicales libres.

Hace varios años, el estudio de antioxidantes naturales ha tomado bastante fuerza y un papel importante por contribuir con la disminución del riesgo a sufrir enfermedades coronarias, cáncer, entre otras.

Los antioxidantes son sustancias que tienen la propiedad de inhibir la acción de los radicales libres y así evitar las alteraciones a las moléculas. Entre los principales compuestos antioxidantes naturales se encuentran los de tipo fenólico, el ácido ascórbico, tocoferol, carotenoides, entre otros; siendo encontrados mayormente en las plantas y principalmente en las semillas frutos y aceites esenciales.

En muchos estudios se ha demostrado la actividad antioxidante de los aceites esenciales de ciertas plantas. En las últimas investigaciones los autores indican que

el efecto antioxidante de ciertas plantas está relacionada o es proporcional a su contenido en compuestos fenólicos.

Químicamente, los compuestos fenólicos se caracterizan por tener en su estructura un anillo aromático con sustituyentes hidroxilos y presentan propiedades dentro las cuales destaca la estabilización de los radicales libres.

Las plantas han sido utilizadas por nuestros antepasados desde la antigüedad debido a sus propiedades terapéuticas, por ello es que en los últimos años su investigación ha aumentado y existen investigaciones donde se estudian ampliamente sus principios activos.

Actualmente, los países ricos en biodiversidad están buscando utilizar las plantas para su aprovecharlas en beneficio de su población

La población andina ha utilizado y sigue utilizando la Muña ya que se le atribuyen muchos efectos terapéuticos en enfermedades respiratorias, digestivas, antimicrobiano hasta insecticida.

El presente trabajo se realiza para comprobar que la planta de *Minthostachys mollis*, conocida como Muña, puede ser una alternativa efectiva y de origen natural para prevenir los diversos problemas de salud ocasionado por los radicales libres.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la Realidad Problemática

El oxígeno es el principal causante de la formación de radicales libres, pero a la vez es una molécula vital primordial para la vida, razón por la cual es inevitable la formación de estas moléculas en cantidades bajas para poder neutralizarlas.

Los radicales libres tienen como principal característica el ser inestables y ello les proporciona una enorme capacidad para combinarse con moléculas integrantes de la estructura celular como los carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos provocando daños severos-

En condiciones fisiológicas, los radicales libres se forman en proporciones controlables por los mecanismos defensivos propios de la célula. En una situación patológica, su producción se incrementa, dando lugar al estado de Estrés Oxidativo que puede llevar a una variedad de cambios fisiológicos y bioquímicos.

Hay muchas evidencias y estudios que relacionan el estrés oxidativo y numerosas enfermedades; entre ellas, Diabetes, ciertas patologías cardiovasculares, cáncer, neuropatías, cataratas, la degeneración muscular asociada a la edad, ciertos problemas articulares, etc.

Los radicales libres provocan alteraciones en las principales moléculas que conforman las células. En el caso del ácido desoxirribonucleico (ADN), que contiene la información genética de la célula, al ser atacado puede generar mutaciones, alteraciones en la duplicación y transcripción, estas alteraciones podrían producir en última instancia, la pérdida del control de la división celular asociándose con la carcinogénesis y el envejecimiento debido al daño producido en la molécula. ^(1,2)

En el caso de la Diabetes Mellitus ciertos estudios muestran que el equilibrio entre oxidantes y antioxidantes se ve alterado en las personas diabéticas, ya que presentan una disminución en la actividad de los antioxidantes dando como consecuencia el aumento de radicales libres los cuales, en los diabéticos, se asocian con la hiperglucemia crónica, debido a que el aumento de la concentración de glucosa en la sangre, que puede ocasionar que esta glucosa sufra una oxidación o que se produzca la glicosilación de proteínas para dar lugar a una serie de estructuras altamente reactivas, las cuales desempeñan un papel importante en el desencadenamiento de la enfermedad y en el desarrollo de los diversos estados fisiopatológicos que la acompañan. ⁽¹⁾

Con los lípidos el daño tiene lugar fundamentalmente sobre los ácidos grasos poliinsaturados lo que provoca su peroxidación que deriva en consecuencias como: pérdida de la flexibilidad y de las funciones secretoras, ruptura de los gradientes iónicos transmembrana. ⁽¹⁾

La acción de los radicales libres de oxígeno sobre las proteínas se ejerce sobre los enlaces insaturados, los anillos aromáticos y los grupos tiol. De esta forma, proteínas ricas en determinados aminoácidos como triptófano, tirosina, fenilalanina, histidina, metionina y cisteína pueden sufrir modificaciones estructurales y funcionales. ⁽¹⁾

En los últimos años el interés por los antioxidantes naturales ha crecido, una de las razones es por la poca seguridad que ofrecen los antioxidantes sintéticos y por ello los antioxidantes naturales son comercialmente más aceptados, además por la idea de que estos pueden evitar enfermedades crónicas y también el proceso de envejecimiento.

Una terapia antioxidante natural brinda una alternativa económica para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo ya que se ha demostrado el efecto antioxidante de productos naturales provenientes de las plantas en diversas investigaciones.

1.2 Delimitación de la Investigación

1.2.1 Delimitación Espacial:

Los procedimientos del trabajo de investigación se desarrollaron en el laboratorio de química orgánica de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos

1.2.2 Delimitación Temporal:

El período de desarrollo de la investigación comprende los meses de Marzo a Setiembre del 2015

1.2.3 Delimitación Social:

Comprende a las personas involucradas en el presente trabajo de investigación en el cual participa el asesor principal de la investigación que es docente de la Universidad Alas Peruanas y me incluyo como responsable de la investigación

1.2.4 Delimitación Conceptual:

A) Destilación por arrastre de vapor

Es una técnica usada para separar sustancias orgánicas insolubles en agua y ligeramente volátiles, de otras no volátiles que se encuentran en la mezcla. Se utiliza vapor saturado o sobrecalentado generado fuera del equipo de destilación. El aceite esencial que se obtiene viene arrastrado por el vapor de agua, que al condensarse forma una mezcla de aceite esencial más agua. Para eliminar el agua se coloca esta mezcla en una pera de separación, donde debido a la diferencia de densidades, es posible separar la mayor parte del agua

B) Capacidad antioxidante:

Es la propiedad que tienen algunas moléculas para prevenir o retardar la oxidación o pérdida de electrones de moléculas inestables, como son los radicales libres, sin perder su estabilidad.

1.3 Formulación del Problema

1.3.1 Problema General

¿El aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* Muña tiene efecto antioxidante?

1.3.2 Problemas Específicos

¿Cuál de las concentraciones estudiadas de aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* Muña presenta mayor actividad antioxidante?

¿La CE 50 (Concentración Efectiva 50%) del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* Muña es menor que la CE 50 de la Vitamina C?

1.4 Objetivos de la Investigación

1.4.1 Objetivo General

Comprobar el efecto antioxidante del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* Muña

1.4.2 Objetivos Específicos

Determinar cuál de las concentraciones estudiadas de aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* Muña presenta mayor actividad antioxidante.

Comprobar si la CE 50 (Concentración Efectiva 50%) del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* Muña es menor a la CE 50 de la Vitamina C.

1.5 Hipótesis de la Investigación

1.5.1 Hipótesis General

El aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* Muña posee actividad antioxidante

1.5.2 Hipótesis Específicas

La solución más concentrada de aceite esencial de hojas de *Minthostachys mollis* Muña presenta mayor efecto antioxidante

La CE50 (Concentración Efectiva 50%) del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* Muña sería menor que la CE50 de la Vitamina C

1.6 Justificación e Importancia de la Investigación

1.6.1 Justificación

Las consecuencias ocasionadas por el estrés oxidativo tales como las enfermedades crónico-degenerativas, cuentan con tratamientos farmacológicos costosos y a la vez presentan diversos efectos secundarios; el cáncer, hasta el momento no tiene cura pero con el consumo de una fuente de sustancias antioxidantes se podría prevenir la aparición de estos problemas de salud.

Las plantas siempre han sido de vital importancia para el hombre debido a que son utilizadas para cubrir necesidades básicas como alimento y medicina.

La Muña es una planta que ha sido estudiada por sus efectos farmacológicos, pero poco se sabe de su efecto antioxidante, ese recurso natural muy difundido en nuestro territorio y de diversos usos se muestra como una gran alternativa natural y efectiva que merece un estudio sobre su capacidad antioxidante para reemplazar a los antioxidantes sintéticos que producen efectos nocivos.

1.6.2 Importancia

En el aspecto social la muña presenta grandes beneficios a la población, al ser una planta que se utiliza para diversos problemas de salud, comprobando su efecto antioxidante se incentiva su consumo para beneficio de de la población a la vez que se incentiva su cultivo generando fuentes de trabajo. En el aspecto económico con este estudio se contribuye al aumento de su comercialización por ser un producto natural que brinda beneficios. Su cultivo genera una fuente de ingreso para la población que cultiva este recurso. En el aspecto científico obtenemos una evidencia que comprueba el efecto antioxidante del aceite esencial de Muña para que sea utilizada como una fuente natural de sustancias antioxidantes

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la Investigación

2.1.1 Nacionales:

Se han realizado diversos estudios acerca de las propiedades de la muña sobre todo de su efecto antimicrobiano. En el 2001 Inga y Guerra ⁽¹²⁾, con su tesis titulada: Efecto del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) contra algunas bacterias y hongos de interés en la salud, estudiaron las propiedades bactericidas y bacteriostáticas este aceite esencial frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *B. cereus* MC, *Salmonella typhi*, *S. sonnei* MC, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *K. pneumoniae* ATCC 10031. Además de la acción fungistática y fungicida para *Fusarium moniliforme* y *Aspergillus niger*.

En el mismo año Fuertes y Munguía ⁽¹³⁾ realizaron el Estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* de tres regiones peruanas por Cromatografía de Gases y Espectrometría de Masas, para conocer el contenido de sustancias terpénicas obteniendo los siguientes resultados: Tarma (Junín): 1-tetradeceno (23,14%), 2S-trans-mentona (23%), pulegona (13,21%); en Huaraz (Ancash): 2S-Trans-mentona (41,48%) , pulegona (16,02%), γ -terpineno (7,55%); Pampas (Huancavelica): 2S trans-mentona (34,51%), pulegona (28,62%), nerolidol (5,08%)

En el 2005 Díaz ⁽¹⁴⁾ realizó la investigación titulada: Determinación de la Actividad Antibacteriana in vitro de *Minthostachys mollis* (Muña) frente e bacterias orales de importancia estomatológica, concluyendo que tiene tal efecto sobre 5 especies bacterianas. También Carhuapoma ⁽¹⁵⁾ en el 2009, con su estudio titulado: Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “Ruyaq Muña” demuestra su actividad antibacteriana, específicamente sobre *S. dysenteriae*, *Helicobacter pylori*, *S. typhi* y *P. aeruginosa*; confirmó la presencia de fenoles lo que valida la actividad antimicrobiana. Azaña ⁽¹⁶⁾ en el 2010 realiza la tesis que lleva por título:

Efectividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) sobre bacterias prevalentes en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico, dando como resultado el efecto antibacteriano sobre las cepas de *Fusibacterium nucleatum*, *Prevotella melaninogénica* y *Enterococcus faecalis*.

Malpartida ⁽¹⁷⁾ en el 2010, realiza la tesis: Efecto Inhibidor del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) en comparación al Paramonoclorofenol Alcanforado y Gluconato de Clorhexidina al 2% frente a cepas de *Enterococcus faecalis*. Estudio in vitro Lima 2009, donde concluye que el efecto inhibidor del aceite esencial de *Minthostachys mollis* es menor que paramonoclorofenol alcanforado y gluconato de clorhexidina al 2% en el cultivo bacteriano de *Enterococcus faecalis*.

Paredes ⁽¹⁸⁾ en el 2013 realiza el estudio del efecto antimicrobiano sobre la flora bacteriana salival usando una infusión de *Minthostachys mollis* (muña) con *Camelia sinensis* (té verde) concluyendo que sí existe el efecto antibacteriano de dicha infusión, pero el efecto es menor comparado con la clorhexidina.

Cano ⁽¹⁹⁾ en el 2007 realizó la investigación: Actividad antimicótica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (Muña), la cual realizó mediante el método de agar en difusión evaluando la inhibición del crecimiento de *Candida albicans*, *Trichophytun tonsurans*, *Trichophytun mentagrophytes*, *Microsporun canis*, probablemente tenga este efecto por la acción de los monoterpenos. En el 2012 Alcalá ⁽²⁰⁾ con su artículo: Actividad antimicótica del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (Muña) comparado con el Fluconazol en cultivo de *Candida Albicans*, demuestra que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100% tuvo mayor efecto antimicótico, contra *Candida albicans*, que el fluconazol; además el efecto antimicótico del Fluconazol fue mayor que la *Minthostachys mollis* al 25% y fue el mismo que la *Minthostachys* al 50%.

Casas ⁽²¹⁾ (2011) realizó la tesis titulada: Eficacia en la cicatrización del apósito con aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) versus el

apósito quirúrgico convencional en gingivectomias en *Oryctolagus cuniculus* (conejos) con este estudio demuestra la mayor eficacia del aceite esencial de muña.

También existen estudios realizados con aceites esenciales de algunas especies de plantas para demostrar su efecto antioxidante como la de Carhuapoma ⁽²²⁾ (2005) que en su investigación: Estudio de la composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de Luma chequen “arrayán”, utiliza el método del DPPH, concluyendo que el aceite esencial tiene menor efecto antioxidante comparado con la vitamina C. También concluye que la actividad antioxidante que presente se debe a la estructura de sus componentes químicos. El mismo autor en el 2007 ⁽²³⁾ realiza el estudio: Composición química, actividad anti *Helicobacter pylori* y antioxidante del aceite esencial de *Satureja brevicalyx*, concluyendo que a las concentraciones de 10, 50 y 100 µg/mL el aceite inhibió al radical DPPH en 67.76, 75.33 y 86.84% respectivamente, frente al trolox. García ⁽²⁴⁾ (2007) publica su artículo: Determinación de la composición química y actividad antioxidante in vitro del aceite esencial de *Piper auritum* difundida en la costa colombiana. En este artículo compara la planta con la Vitamina E y obtiene como resultado una baja actividad antioxidante debido a que el análisis cromatográfico revela que no hay compuestos fenólicos en su aceite esencial. Arango ⁽²⁵⁾ (2012) con el artículo: Actividad antioxidante del aceite esencial de orégano (*Lippia origanoides*) del Alto Patía, demuestra que el aceite esencial del orégano presenta una capacidad de estabilización de radicales libres superior a la de los aceites esenciales de otras plantas de la misma especie y es comparable a la de los antioxidantes sintéticos BHA y BHT, esta propiedad la atribuye principalmente a su alto contenido de timol.

2.1.2 Internacionales

En el año 2007 en la ciudad de Córdoba-Argentina, Raquel Gleiser, et. al ⁽²⁶⁾ con la publicación: Bioactividad de aceites esenciales de *Minthostachys mollis* contra mosquitos, demostró la actividad insecticida de este aceite esencial. Extrajeron por arrastre con vapor aceite esencial de

Minthostachys mollis y evaluaron su actividad insecticida contra larvas, pupas y adultos de mosquitos, según protocolos estándar de la Organización Mundial de la Salud. Usaron concentraciones entre 10 y 160 ppm del aceite esencial y se registró la mortalidad a las 1, 2, 3 y 24 h de exposición. La dosis de 160 ppm mostró una clara actividad insecticida en larvas y adultos, pero no en pupas.

En el 2007, M. Elechosa ⁽²⁷⁾ realiza su investigación: Estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “Peperina” obtenido de colectas en 21 poblaciones de las provincias de Tucumán, Córdoba, San Luis y Catamarca, con el fin de demostrar las variaciones de la composición química del aceite esencial de *Minthostachys mollis* de diferentes provincias de Argentina donde obtuvo diferentes quimiotipos en las muestras. En el mismo año Guiza y Rincón ⁽²⁸⁾ en su tesis titulada Estudio del efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* combinado con activación térmica, sobre cepas de *Listeria monocytogenes*, y *Bacillus cereus*, se observó que el aceite esencial de Muña no presentó inhibición sobre las cepas de *L. monocytogenes* y de alimentos, no se presentó diferencia entre las temperaturas usadas para inactivar a *B. cereus* en salsa

En el 2014 Torrenegra ⁽²⁹⁾ con su tesis: Evaluación de la actividad antioxidante del aceite foliar extraído de especies de orégano (*Origanum vulgare*), orégano “Borde Blanco” (*Origanum vulgare ssp*) y Oreganito (*Lippia alba mil*) cultivado en la zona norte del departamento de Bolívar (Colombia), el aceite esencial obtenido de las especies *Origanum vulgare* y *Origanum vulgare ssp*, presentaron una capacidad antioxidante similar a la del estándar de ácido ascórbico. La mayor capacidad antioxidante se observó con el aceite esencial proveniente de *origanum vulgare ssp* (orégano borde blanco) obtenido por el método de HDM.

El año 2012, Granados et al. ⁽¹¹⁾ con su artículo: Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar de *Calycolpus moritzianus* y *Minthostachys mollis* del norte de Santander, utilizaron el método del DPPH a las concentraciones de 100, 150, 200, 250 y 300 ppm, para

Minthostachys mollis obtuvo valores por debajo de los esperados obteniendo como mayor porcentaje de inhibición un 11,02%.

2.2 Bases Teóricas

2.2.1 Plantas medicinales

El hombre ha utilizado las plantas para el tratamiento de enfermedades desde épocas remotas, basándose en creencias populares transmitidas de generación en generación. En la actualidad, se sigue practicando la medicina natural en diversas partes y se utilizan alrededor de 35000 ⁽³⁰⁾ especies de plantas medicinales en el mundo, en los países en desarrollo muchas personas utilizan estas plantas para aliviar sus males, esto se debe a que sus poblaciones están convencidas de la efectividad de los remedios de origen vegetal y también porque en muchos casos los medicamentos fabricados por las empresas farmacéuticas tienen un costo elevado.

Los campesinos de las zonas andinas tienen en las plantas medicinales una fuente de ingresos, ya que la mayoría de estas plantas pueden ser cultivadas en zonas cercanas a sus viviendas o al ser silvestres crecen en zonas altas o en las laderas, pero sobre todo son usadas para resolver sus problemas de salud.

Según algunos autores una gran parte de las plantas medicinales en el Perú crecen en los valles interandinos, en zonas bastante altas donde debido a la temperatura y la radiación solar estas plantas han desarrollado mecanismos que le facilitan la adaptación a su hábitat.

Las plantas tienen valor medicinal debido a la presencia de principios activos que producen un efecto fisiológico. Estos principios activos, en muchos casos, son bastante complejos; otros han sido purificados y sintetizados. Generalmente, pertenecen a una de las siguientes categorías: alcaloides, taninos, saponinas, flavonoides, terpenos, cumarinas, resinas, etc. ⁽¹⁶⁾

Muchas propiedades terapéuticas de diversas plantas han sido demostradas científicamente en base a la extracción de sus principios activos con diversas actividades biológicas.

2.2.2 *Minthostachys mollis* (Muña)

La muña es una planta arbustiva leñosa perteneciente a la familia Lamiaceae. Su origen geográfico se extiende desde el norte de Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia hasta el noroeste, Chile y centro de Argentina. ^(31,32)

Su cultivo es muy difundido en los diversos países y también en Perú, principalmente, en las regiones andinas como Apurímac, Ayacucho, Cuzco, Huancavelica y Puno ⁽¹⁷⁾ La Muña es conocida con diferentes nombres: en quechua como “muña” y en Aymara como “Coa” y “Huaycha ⁽¹⁹⁾. Otros nombres usados son Muña negra”, “Polco silvestre”, “Coz”, “Muña-Muña”, “Arash muña”, “Kon”, “Orcco-muña” ⁽¹⁷⁾. Esta planta es muy utilizada en las comunidades nativas y por campesinos de Sudamérica. También es conocida como “Peperina” en Argentina y como “Orégano” en Colombia. Habita en los diferentes pisos ecológicos de nuestra serranía y crece entre 2500 y 3500 msnm. ⁽⁵⁾ Es cultivada y además crece de manera silvestre y abundante en los valles de la sierra, cerca a acequias y laderas de los cerros. ⁽¹⁴⁾

Además de la zona andina también podríamos encontrar Muña en la costa desde los 500 msnm ⁽¹³⁾

El clima es un factor muy importante para propiciar su crecimiento, la Muña crece con abundantes lluvias y elevada luminosidad. Los fertilizantes apropiados son los ricos en potasio y fosfato ⁽¹⁹⁾

Según Inga ⁽¹²⁾ “es una planta hemicriptófila que durante la época más fría de invierno desaparecen sus hojas para brotar nuevamente con las primeras lluvias en la primavera”

“La muña puede propagarse por estacas obtenidas de plantas bien conformadas con un prendimiento del 40% de plantas en camas de

almacigo, un estudio determinó que la mejor forma de obtener plántulas para una explotación comercial son las semillas y el tiempo que demora la planta hasta la floración es de 240 días” refiere Maquera et al. ⁽³³⁾

La descripción inicial de *Minthostachys* fue primero como una sección de *Bystropon* L'Herit. por Bentham (1832) y luego fue elevada al rango de género por Spach (1840). Epling en 1936 realizó el último estudio taxonómico del género en su totalidad, reconociendo 12 especies y puso énfasis en la dificultad de delimitarlos satisfactoriamente. ⁽³¹⁾

De este género existen 12 especies pero 6 han sido reconocidas en el Perú: *M. glabrescens*, *M. setosa*, *M. spicata*, *M. tomentosa*, *M. salicifolia* y *Minthostachys mollis* siendo ésta una de las más importantes. ⁽¹²⁾

A) Aspecto botánico

La Muña es una planta arbustiva, leñosa, frondoso en la parte superior, erecto y pubescente, sus tallos son propensos a lignificación, son ramificados desde la base, puede medir desde 0,9 a 1,5 m ⁽³⁴⁾. Las hojas son opuestas, con pecíolos de 0,5-1cm de largo, son aovadas, agudas, con bordes enteros o ligeramente aserrados, el ancho del limbo puede medir de 1.7 a 2.5 y el largo de 2 a 4 cm, su base es atenuada, el ápice agudo tiene inervación penninervia. El limbo es pubescente tanto en el haz como el envés, sus nervaduras secundarias son muy desarrolladas y ligeramente reticuladas. ⁽¹⁶⁾ Presenta pelos en los peciolos y en la cara inferior de la hojas donde se deposita la mayor cantidad de esencia ^(14,19)

Las flores son pequeñas y blancas, se encuentran en la parte superior reunidas en verticilos axilares formados por cuatro pequeñas cimas, brevemente pedunculadas, dos en cada axila y situadas en la parte superior de las ramas ⁽³⁰⁾. Son actinomorfas con cáliz es pentámero constituido por 5 pétalos de los cuales 3 forman el labio inferior y 2 el labio superior, la corola pentámera, androceo y 4 estambres, gineceo formado por 4 lóbulos y un estilo bifido ⁽¹⁴⁾

El androceo está constituido por 2 estambres concrecentes por sus filamentos al labio inferior en su parte central e interna. En cada estambre sus conectivos se han desarrollado llevando hacia la parte superior de la corola una teca fértil de cada uno y hacia la parte interna las otras 2 tecas infértiles y concrecentes formando el sistemas de palanca que facilita la polinización entomógama ⁽¹⁴⁾

El gineceo es completo de ovario súpero, sentado sobre un rodete nectarífero que tiene una glándula nectárea desarrollada a un extremo, tetracarpelar, tetralocular, tetraovular ⁽¹⁴⁾

El estilo ginobásico, desarrollado, pubescente y azulado en la parte superior, divide al ovario en 4 mericarpos o folículos cada uno de los cuales alberga un óvulo anátropo de la placentación basal. Estigma bifido y azulado. El fruto es folículo constituido por 4 mericarpos ⁽¹⁴⁾

Sus semillas miden de 0,5 a 1cm de largo y presentan color marrón ⁽¹²⁾
Su fragancia es muy similar y cercano al olor de la menta.

B) Clasificación taxonómica ⁽¹⁶⁾

División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Asteridae
Orden: Tubiflorae
Familia: Lamiaceae
Género: *Minthostachys*
Especie: *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb

C) Usos y aplicaciones de la planta *Minthostachys mollis*

En las zonas andinas, los campesinos han utilizado *Minthostachys mollis* Muña según la tradición. Es una especie de múltiples aplicaciones, pero su uso principal es como alimento y condimento en

chupes y guisos en los platos peruanos y como mates caseros para mejorar la digestión de los alimentos. Comúnmente es empleada para el alivio de los malestares estomacales, flatulencias y afecciones diarreicas, también es usada para tratar luxaciones y en frotaciones antirreumáticas, en afecciones del tracto respiratorio como broncodilatador y expectorante. En el Cusco se utiliza la rama de muña como infusión para diarreas por frío, en Arequipa se usa principalmente como carminativa. ^(34,35)

2.2.3 Aceites esenciales

Son mezclas de sustancias volátiles odoríficas de composición química compleja que son encontrados en las plantas, se originan en los tejidos secretores almacenándose en pelos glandulares, cavidades esquizógenas o lisígenas. ⁽²²⁾

Según Bruneton ⁽³⁶⁾ son productos de composición muy compleja los cuales contienen principios volátiles que se encuentran en los vegetales, son líquidos a temperatura ambiente volátiles y raramente coloreados, su densidad es inferior a la del agua, su índice de refracción es elevado y la mayoría debía la luz polarizada, son liposolubles y solubles en disolventes orgánicos como éter alcohol cloroformo entre otros. Olga Look refiere que también se les llama esencias o constituyentes odoríferos ⁽³⁷⁾

Son el producto final del metabolismo secundario de muchas células vegetales, por lo que no se integran al metabolismo de la planta. ⁽¹⁶⁾

Pueden estar ubicados en diferentes partes de la planta como los pétalos, hojas, tallos, semillas, en la yema, en los frutos, en los pelos glandulares, hojas o en toda la planta. ^(24,38) Según Schery (1962) citado por Fontanela ⁽³⁹⁾, los aceites son secretados en glándulas especiales (el aceite que se forma comúnmente en las células, forra la glándula o cavidad y pasa por ésta a través de sus paredes celulares), o entre la pared celular y la cutícula de los pelos epidérmicos donde la menor rotura de la cutícula permite la volatilización y saca fuera la fragancia característica de los

aceites esenciales. Menciona además que estas glándulas aparecen frecuentemente como puntos translúcidos en hojas o tejidos cuando son vistas a trasluz.

Químicamente son una mezcla compleja de compuestos como hidrocarburos alifáticos y aromáticos también podemos encontrar sus derivados oxigenados como alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, etc, sustancias azufradas y nitrogenadas; los compuestos frecuentes en los aceites esenciales son los terpenos que pueden ser monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos o politerpenos. ^(40,41)

A) Funciones Biológicas de los aceites esenciales en las plantas

No se sabe exactamente cuál es la función de estos aceites esenciales en las plantas, pero se piensa que ayudan en el proceso de transpiración por alterar la presión osmótica, también se cree que protegen los órganos dañados de la planta. Otras afirmaciones mencionan que cumplen un papel importante en la relación planta-animal como para atraer polinizadores o proteger contra depredadores ⁽³⁶⁾

Los aceites esenciales son ampliamente utilizados, por ejemplo en perfumería, en cosméticos, jabones, detergentes, en la industria farmacéutica para la fabricación de ciertos medicamentos, como saborizantes para ciertas comidas, bebidas, carnes y para la fabricación de insecticidas. Un uso recientemente difundido es el de tratamientos terapéuticos mediante inhalación mejor conocido como Aromaterapia ^(37,39)

B) Capacidad antioxidante de los aceites esenciales

Diversos estudios relacionan directamente la capacidad antioxidante y antibacteriana de un aceite esencial con su contenido de compuestos fenólicos como el timol y carvacrol, además del γ -terpineno, p-cimeno, pulegona

Los fenoles son compuestos con propiedades reconocidas entre las que se encuentran la estabilización de radicales libres, inhibición de enzimas hidrolíticas y oxidativas y acción antiinflamatoria. ⁽²³⁾ Estos compuestos fenólicos pueden reducir los efectos perjudiciales de las ERO (especies reactivas de oxígeno) de una serie de procesos biológicos y patológicos; la inactivación de las ERO por los compuestos fenólicos de las plantas puede ser la base del supuesto beneficio en la salud ⁽³¹⁾ Todas las clases de compuestos fenólicos tienen la capacidad de recolectar radicales libres por su estructura y tienen potencial como antioxidantes en alimentos ⁽⁴²⁾

C) Aceite esencial de *Minthostachys mollis*

Según un estudio realizado en la provincia de Tarma por Cano et al. ⁽¹⁹⁾ (2007), el aceite esencial de *Minthostachys mollis* luego de la destilación por arrastre de vapor empleando material fresco, mostró las siguientes características:

Tabla 1. Características Fisicoquímicas del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis*

Densidad (g/ml)	Índice de Refracción	Rotación Óptica	Solubilidad en Etanol
0,9189	1,4727	3°45'	95%

Fuente: Cano, C., Bonilla, P., Roque, M., Ruiz, J. Actividad antimicótica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña). Rev. Perú Med. Exp. Salud Pública. 2008; 25(3): 298-301

D) Composición Química del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis*

Diferentes estudios de la composición química del aceite esencial de muña reportan compuestos en cantidades relativas que varían según los autores.

Según Gleiser,⁽²⁶⁾ los principales componentes del aceite esencial de *M. mollis* fueron los monoterpenos oxigenados pulegona (51.2%) y mentona (30.7%), seguidos de monoterpenos hidrocarbonatos (limoneno 10.1%, β -pineno 1.5%, α pineno y canfeno 1%), y un sesquiterpeno oxigenado (espatulenol 1.1%). Otros componentes minoritarios (<1%) detectados en el aceite esencial incluyeron sabineno, mirceno, piperitenona, terpinen-4-ol, α -tuyeno y β -gurjuneno.

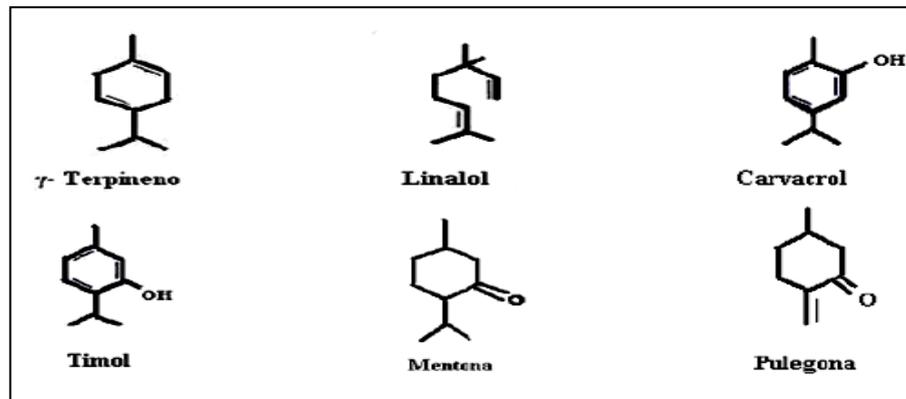
Según Fuertes y Munguía⁽¹³⁾, el aceite esencial de *Minthostachys mollis* recolectado en Huaraz contiene principalmente los siguientes componentes:

Tabla 2. Componentes químicos principales del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Muña de Huaraz

COMPUESTOS	PORCENTAJES %
2S-trans-mentona	41.48%
Pulegona	16.02%
γ-terpineno	7.55%
Timol	2.14%
Linalol	1.89%

Fuente: Fuertes, C., Munguía, Y. 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 2001; 5(1): 23-39

Figura 1. Algunos de los componentes de *Minthostachys mollis* con su estructura química



Fuente: Guiza, D., Rincón, L. Estudio de efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* combinado con inactivación térmica, sobre cepas de *Listeria monocytogenes* y *Bacillus cereus*. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá; 2007.

2.2.4 Radicales libres

Químicamente son moléculas inestables y muy reactivas debido a que tienen un electrón desapareado y con el fin de alcanzar la estabilidad tienden a ceder o tomar un electrón de una estructura molecular adyacente no radicalaria.⁽⁴³⁾ La molécula que perdió un electrón se convierte en un radical libre y de esta manera se inicia una reacción en cadena que dañará muchas células y puede ser indefinida si los antioxidantes no intervienen.^(44,45)

Pueden formarse por procesos endógenos del organismo como la respiración, metabolismo de alimentos o el ejercicio. También a los factores exógenos o ambientales a los que estamos expuestos como la radiación solar, pesticidas, falta de oxígeno, incluso por la luz del sol, además de procesos patológicos, venenos, drogas, alcohol, tabaco y medicamentos.⁽⁴⁶⁾ Debido a que estas especies reactivas no poseen

receptores específicos, tienen una capacidad de agresión indiscriminada sobre células y tejidos vivos.⁽⁴⁷⁾

La mitocondria es el principal productor de los radicales libres, ya que la respiración celular se realiza en ese lugar. Como se sabe el 90% del total del oxígeno inhalado se consume en la mitocondria y alrededor del 2 % del oxígeno reducido se transforma en el radical superóxido ($O_2\cdot$). Los polimorfonucleares, monocitos, macrófagos y eosinófilos también producen el superóxido como mecanismo protector para lesionar y destruir agentes u organismos extraños. Por otros mecanismos el superóxido se transforma en el radical hidroxilo ($OH\cdot$), que es aun más reactivo que el anterior.^(48,49)

El Oxígeno puede dar origen a Especies Reactivas de Oxígeno (ERO), las ERO son radicales libres o precursores de radicales⁽⁵⁰⁾ que engloban compuestos radicales como el anión superóxido (O_2^-), el anión peróxido (O_2^{-2}), el radical perhidroxilo (HO_2) y el radical hidroxilo ($\cdot OH$) y compuestos no radicales, tales como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el oxígeno singlete (1O_2) y el ozono (O_3)^(47,51)

El exceso de radicales libres crea un estrés oxidativo que provoca daños en el núcleo y membranas de las células provocando enfermedades como diabetes, infartos, cáncer, envejecimiento y otras patologías.

El consumo de aceites vegetales hidrogenados tales como la margarina y el consumo de ácidos grasos trans como los de las grasas de la carne y de la leche también contribuye al aumento de los radicales libres.⁽⁴⁹⁾

2.2.5 Antioxidantes

En los últimos años se han realizado muchos estudios sobre antioxidantes ya que son importantes por su capacidad de proteger a las biomoléculas del daño oxidativo.

Un antioxidante es una sustancia capaz de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres.⁽⁵²⁾ En antioxidante al chocar con el radical libre cede un electrón, se oxida y se transforma en un radical libre débil, no tóxico, estable e incapaz de propagar la reacción.^(44,49)

Según García⁽⁵²⁾ (2001), un antioxidante al colisionar con el radical libre le cede un electrón, se debilita su acción y en algunos casos como la vitamina E puede regenerarse a su forma primitiva, pero también asegura que no todos los antioxidantes actúan de la misma manera, los antioxidantes enzimáticos aceleran las reacciones que a su vez utilizan sustratos que reaccionan con los radicales libres.⁽⁵⁴⁾

Estos antioxidantes pueden ser endógenos que son mecanismos enzimáticos propios del organismo tales como la Catalasa, Superóxido dismutasa (SOD), Glutación, Glucosa fosfato deshidrogenasa (genera NADPH), Coenzima Q y los exógenos que se obtiene en la dieta como las Vitaminas C, E, carotenos, flavonoides, licopenos, etc.^(44,49)

Los antioxidantes sintéticos como el BHA y BHT (Butil – hidroxianisol y Butil - hidroxitolueno) han sido utilizados como antioxidantes desde principios del siglo pasado. Sin embargo, se han impuesto medidas de precaución y se ha restringido su uso debido a la presencia de efectos secundarios en humanos como el aumento del colesterol, hepatomegalia, inducción del cáncer, entre otras.⁽²⁵⁾

2.3 Definición de los términos básicos:

- **Aceite Esencial:** Mezcla de sustancias químicas sintetizadas por las plantas que dan olor característico de las flores, hojas o semillas de las plantas. Químicamente están formados por monoterpenos, sesquiterpenos y compuestos aromáticos.

- **Antioxidante:** Son sustancias que tienen la capacidad de inhibir, retardar o prevenir la oxidación causada por los radicales libres, actuando algunos a nivel intracelular y otros en la membrana de las células

- **Método del DPPH:** (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) Método basado en la capacidad del radical libre DPPH para reaccionar con una sustancia antioxidante el cual es de color morado inicialmente y luego de la reacción genera un producto de color amarillo que evidencia la reacción química.

- **Compuesto fenólicos:** Son compuestos que poseen anillos aromáticos que en su mayoría son antioxidantes por su estructura química, ya que se comportan como donadores de electrones y son necesarios para el funcionamiento de las células vegetales.

CAPITULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Diseño de la Investigación

3.1.1 Tipo

Debido a que se realizó un análisis de las variables que intervienen, describe características del objeto de estudio y porque se realizó en un segmento de tiempo menor a un año esta investigación es experimental, descriptiva y transversal.

3.1.2 Método

El método utilizado en esta investigación es el inductivo debido a que se analizan casos particulares para llegar a conclusiones generales.

3.2 Población y Muestreo de la Investigación

3.2.1 Población

Se obtuvo 19 mL de aceite esencial de obtenidos a partir de 12 Kg de *Minthostachys mollis* Muña

3.2.2 Muestra

Se tomaron 5 mL de aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* para el análisis

3.3 Variables e Indicadores

3.3.1 Variable Independiente (X)

La actividad antioxidante del aceite esencial de *Minthostachys mollis*

3.3.2 Variable Dependiente (Y)

La absorbancia de la muestra del aceite esencial de *Minthostachys mollis*

3.3.3 Indicadores

El cambio de coloración, de morado a amarillo, del reactivo de DPPH

3.4 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos

3.4.1 Técnicas

A) Recolección de la muestra

La planta de *Minthostachys mollis* “muña” se recolectó tomando en cuenta solo las plantas en estado de prefloración en la provincia de Huanta, departamento de Ayacucho ubicado aproximadamente a 3000 msnm, durante el mes de marzo del 2015.

B) Obtención del Aceite Esencial

Se recolectó 12 kg de planta fresca de *Minthostachys mollis*, seleccionando las que estaban en buen estado para luego deshojarla, luego se procedió con la estabilización y secado para luego envasar y rotular la muestra hasta el momento de someterla al proceso de destilación por el método de arrastre por vapor de agua en un equipo de destilación, en el cual el vapor pasa a través del material vegetal liberando así los aceites contenidos en él; el vapor generado pasa luego por un sistema refrigerante o condensador el cual permite que el vapor sea transformado en líquido nuevamente. El líquido obtenido se separó por diferencia de densidades entre el agua y el aceite utilizando una pera de separación de vidrio. El aceite obtenido se guardó en un envase de vidrio de color en refrigeración de 4 a 5°C hasta ser utilizado.

C) Determinación del rendimiento del aceite esencial ^(3,4)

La determinación del Porcentaje de Rendimiento (R%) del aceite esencial se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$\%Rendimiento = \frac{\text{Volumen del aceite esencial (mL)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100$$

Obteniendo como resultado: 0.16% v/p

D) Método de la neutralización del radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracil) ⁽⁵⁾

Fue propuesto por Blois (1958) en el cual se demostró por primera vez la capacidad del radical libre DPPH para aceptar un átomo de hidrógeno proveniente de una molécula de cisteína. Según el autor el método DPPH es el más rápido, es simple debido a que no incluye muchos pasos a diferencia de otros métodos y de menor costo.

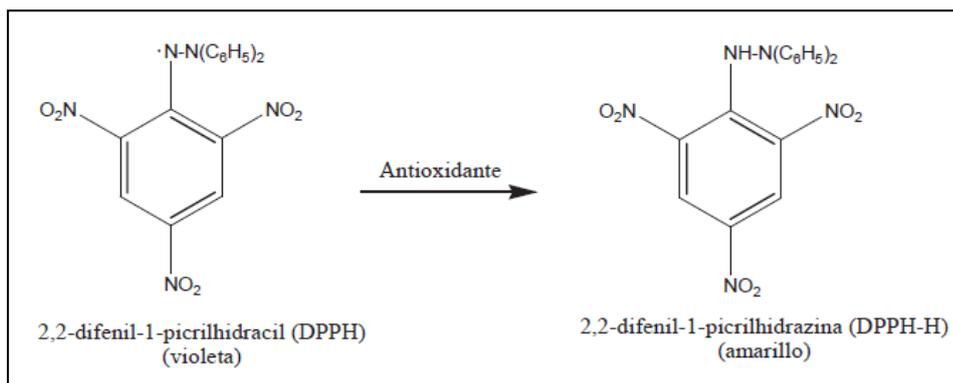
E) Fundamento

En este ensayo se evalúa la capacidad que tiene un posible antioxidante para neutralizar un radical. El radical DPPH es estable, presenta un pico máximo de absorción a 517 nm y tras la adición de la sustancia antioxidante se produce una disminución de absorbancia proporcional a la concentración y actividad de dicho antioxidante. ⁽⁶⁾ El DPPH presenta una coloración violeta cuyo máximo de absorbancia es de 517 nm, de modo que la concentración puede medirse por métodos espectrofotométricos. ^(7,8)

En el ensayo se determinó la concentración inicial de DPPH y la concentración resultante una vez que se ha añadido el posible antioxidante

La reacción química se produce cuando el radical DPPH quita un átomo de hidrógeno de una sustancia donadora. La solución de DPPH tiene una coloración original violeta que sufre un cambio al color amarillo como consecuencia de la disminución de la concentración de DPPH y al aumento de DPPH-H. ^(8,9)

Figura 2: Reacción química del DPPH en presencia de un antioxidante



Fuente: Muedas G, La Rosa Toro A, Robles J. Evaluación electroquímica de la actividad antioxidante del extracto alcohólico de la *Bauhinia guianensis* var. Kuntiana Aubl. Rev Soc Quím Perú.2008; 74 (4):233-243

F) Procedimiento

Según Castañeda, ⁽¹⁰⁾ el procedimiento es el siguiente: Se prepararon las siguientes soluciones:

- Solución metanólica de DPPH de 20 mg/L;
- Blanco con metanol: agua (2:1) para ajustar el espectrofotómetro a cero;
- Patrón de referencia (estándar) con 1,5 mL de DPPH y 0,75 mL de agua destilada.
- Blanco de muestra con 0,75 mL de muestra (Sol. A) y 1,5 mL de metanol
- Solución Metanólica de aceite esencial de 300 µg/mL (Sol. A)

Luego se diluyó la solución A con metanol para obtener las concentraciones de 100, 150, 200, 250 y 300 µg/ml que fueron las trabajadas en el estudio de Granados ⁽¹¹⁾ que tomamos como referencia. A estas muestras se agregó 1,5mL de DPPH dejando a temperatura ambiente por 5 minutos y fueron leídas a 517 nm en un espectrofotómetro. La Vitamina C fue usada como patrón de comparación.

Para calcular la capacidad de secuestro o porcentaje de captación de radicales DPPH se empleó la siguiente ecuación:

$$\% \text{Capacidad antioxidante} = [1 - (A2 - A3) / A1] \times 100$$

Donde:

A1: Absorbancia del patrón de referencia

A2: Absorbancia de la muestra a analizar

A3: Absorbancia del blanco de la muestra

La actividad secuestradora de radicales libres se expresa como una concentración efectiva 50% (CE: concentración de sustancia de prueba necesaria para reducir la absorbancia de la solución de DPPH en 50%)⁽⁶⁾

Para hallar esta concentración se utilizó el método de regresión lineal generando una ecuación.

3.4.2 Instrumentos

A) Materia Prima:

- Hojas de *Minthostachys mollis* (muña) obtenidas en el departamento de Ayacucho

B) Materiales:

- Frasco color ámbar
- Matraz
- Pera de decantación
- Micropipetas
- Pipetas de 10 mL
- Beakers
- Probetas
- Guantes
- Gorros

- Mascarillas

C) Equipos

- Espectrofotómetro
- Equipo de destilación
- Computadora

D) Reactivos

- Metanol
- 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH)
- Ácido Ascórbico
- Agua destilada

CAPÍTULO IV

PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 Análisis e Interpretación de Resultados

En el proceso de destilación se obtuvo 19 mL de aceite esencial de *Minthostachys mollis* a partir de 12 kg de planta, mediante la técnica de arrastre de vapor, lo cual representa el 0.16% v/p

El aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* Muña presentó las siguientes características organolépticas:

Características Organolépticas	
Color	Amarillento con tendencia al incoloro
Olor	Cercano a la menta
Sabor	Ligeramente picante
Aspecto	Translúcido, líquido

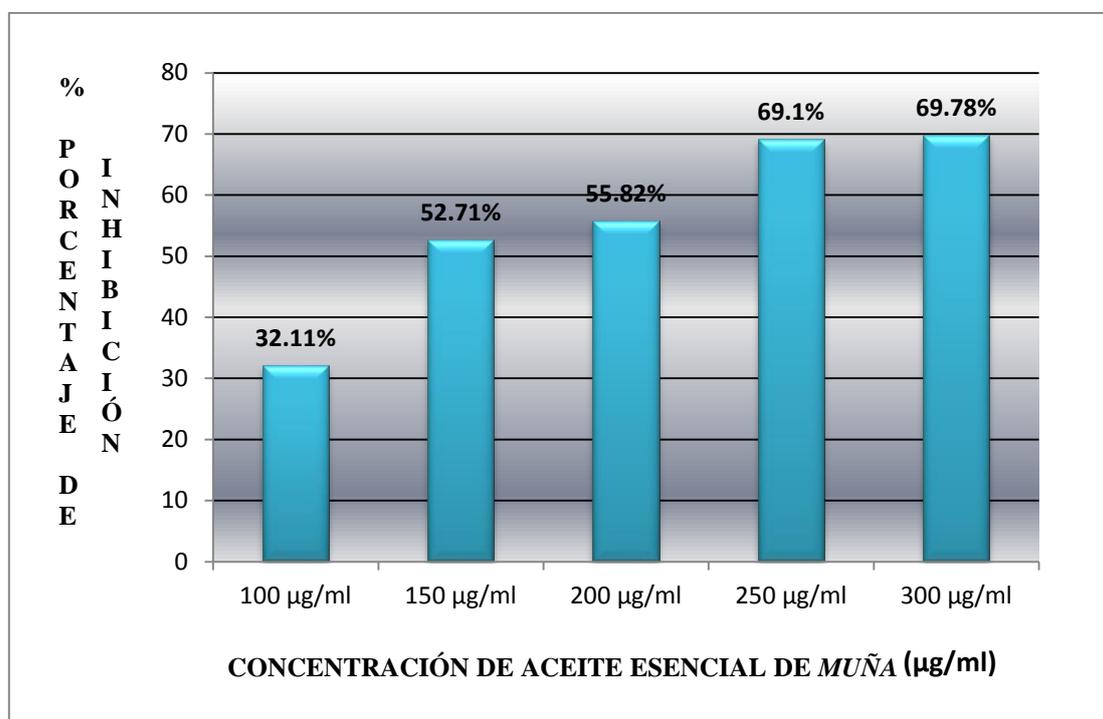


Gráfico 1. Valores de los porcentajes de inhibición del radical DPPH de cinco concentraciones distintas del aceite esencial obtenido de *Minthostachys mollis* Muña

En el gráfico 1, según el método del radical DPPH (1,1-diphenyl -2-picryl hydrazyl), el aceite esencial de *Minthostachys mollis* presenta actividad antioxidante al compararlo con la Vitamina C.

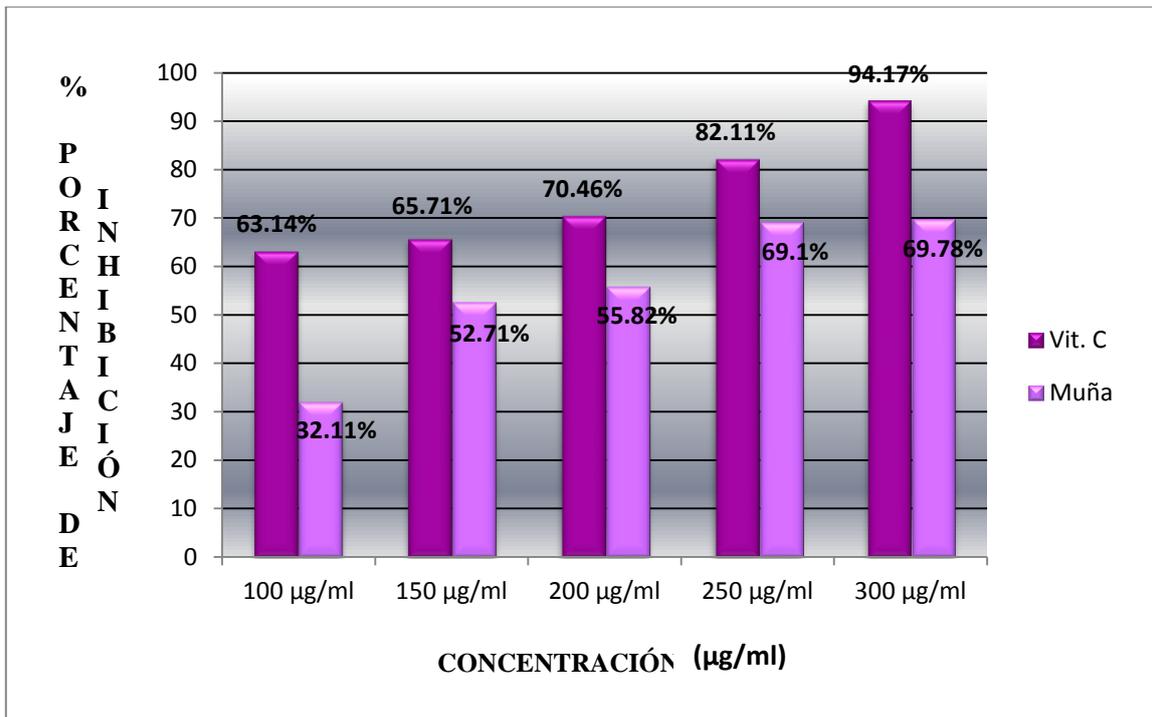


Gráfico 2. Comparación de la actividad antioxidante por concentraciones del aceite esencial de *Minthostachys mollis* y la Vitamina C

En el gráfico 2, se realiza una comparación entre los porcentajes obtenidos por el aceite esencial de *Minthostachys mollis* y la Vitamina C frente al radical DPPH a las concentraciones de 100, 150, 200, 250 y 300 µg/mL, evidenciando que la Vitamina C presenta mayor capacidad antioxidante frente al aceite esencial de Muña

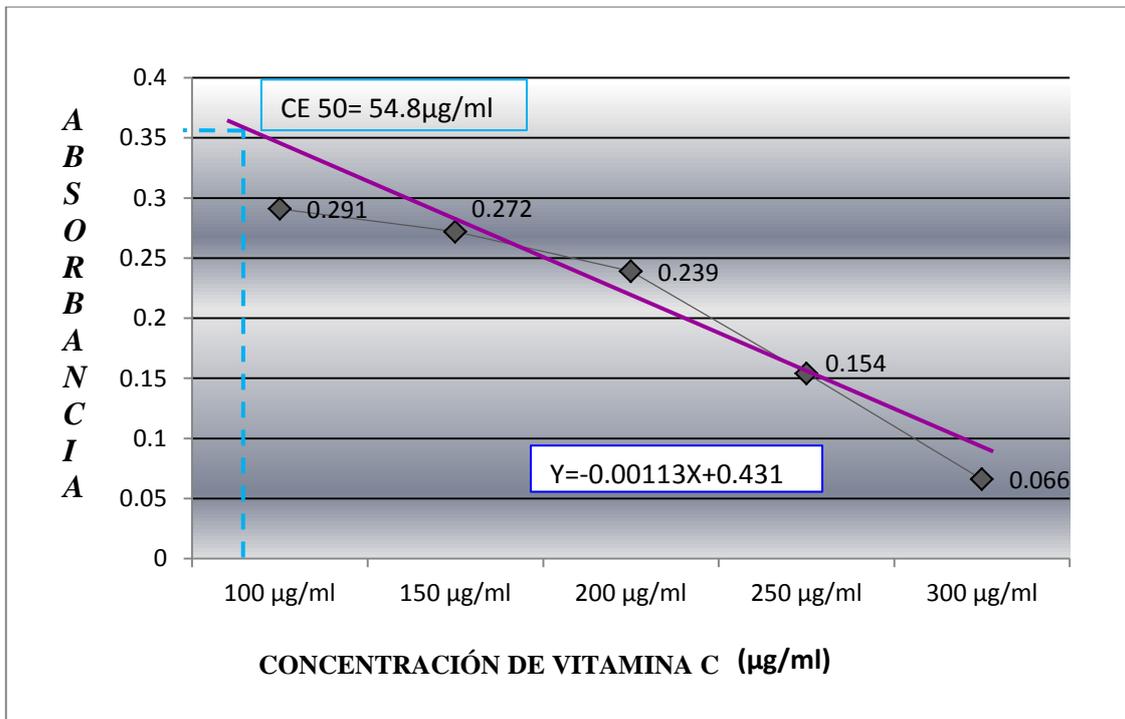


Gráfico 3. Concentración Efectiva 50 (CE 50) de la Vitamina C frente al DPPH

En los gráficos 3 y 4, se realiza un análisis por regresión lineal para obtener los valores de CE 50 (concentración efectiva 50%).

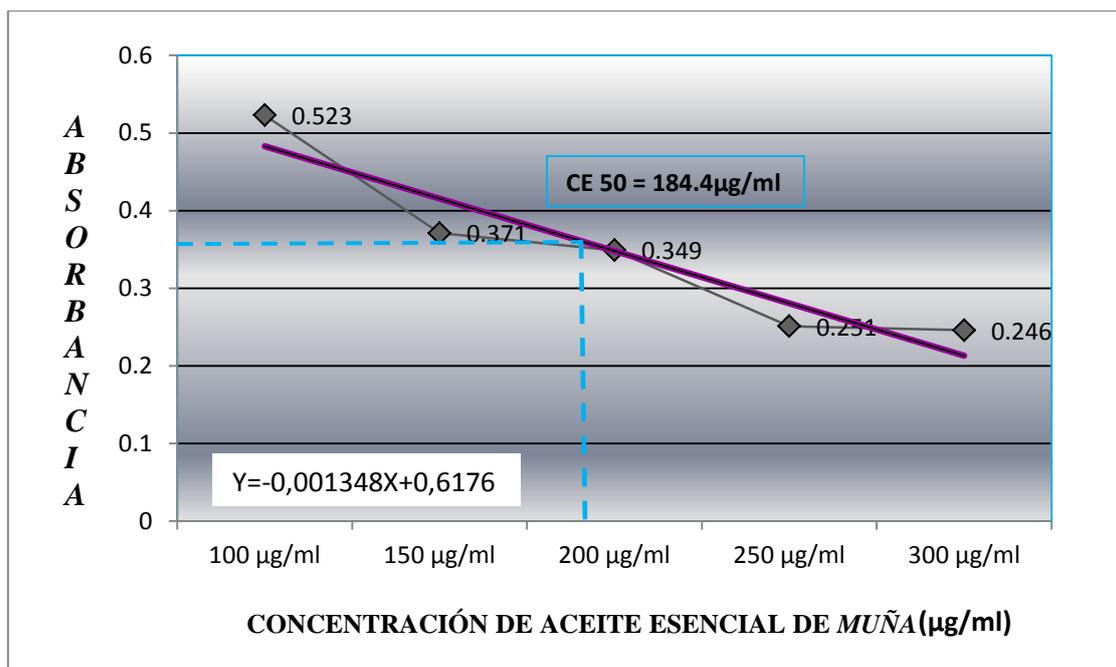


Gráfico 4. Concentración Efectiva 50 (CE 50) del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente al DPPH

En este gráfico, se observa que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* presenta una CE 50 de 184.4 µg/mL evidenciando así su efecto antioxidante.

DISCUSIÓN

Los valores de inhibición obtenidos demuestran el efecto antioxidante del aceite esencial de *Minthostachys mollis*, ya que se encuentran por encima del 30% que es el valor esperado que refiere Granados (2014)⁽³⁾ en su investigación. Además se evidencia que existe una relación entre la concentración y el efecto antioxidante, es decir que a mayor concentración, mayor es el porcentaje de inhibición del radical DPPH.

Al comparar las gráficas realizadas por regresión lineal, donde se obtienen los valores de la CE 50 de la Vitamina C y del aceite esencial de *Minthostachys mollis*: 54.8 µg/mL y 184.4 µg/mL respectivamente, se evidencia que la Vitamina C es un antioxidante con mayor potencia, debido a que los valores bajos de CE 50 indican un elevado efecto antioxidante.

Villanueva (2010)⁽⁵⁵⁾ hace referencia a un estudio sobre la actividad antioxidante de hierba luisa donde obtienen un valor CE 50 de 1345.79 µg/mL, este valor le atribuye a esta planta un efecto antioxidante considerable, por lo tanto el efecto antioxidante de *Minthostachys mollis* es más potente al tener una CE 50 de 184.4 µg/mL.

Carhuapoma (2007)⁽²³⁾ refiere que la actividad antioxidante del aceite esencial de *Satureja brevicalyx* posee actividad antioxidante por su contenido principalmente de timol, carvacrol y γ -terpineno, además refiere que todos sus componentes como pulegona, mentona, linalol e isopulegona, entre otros, actúan en sinergismo para potenciar su efecto antioxidante.

Fuertes y Munguía (2001)⁽¹³⁾ señalan que los componentes mayoritarios del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Muña obtenida en Huaraz son: pulegona (16.02%), 2S-trans-mentona (41.48%), γ -terpineno (7.55%) además de timol (2.14%). Estos serían responsables de su efecto antioxidante. Además obtuvieron los porcentajes de rendimiento de muestras obtenidas en las regiones de Tarma el cual fue de 0.27% v/p, Huaraz que presentó 0,21% v/p y Pampas cuyo porcentaje fue de 0,21% v/p, dichos resultados son valores cercanos a los obtenidos en nuestra investigación la cual presentó un porcentaje de 0,16% v/p.

Carhuapoma (2009) indica que el timol presente en el aceite esencial de *Minthostachys mollis* sería uno de los posibles responsables del efecto antimicrobiano por ser de tipo fenólico. Este estudio corrobora que el timol al tener esta característica sería también el responsable del efecto antioxidante ya que actúa como donador de electrones.

Granados en el año 2012⁽¹¹⁾ obtiene con el aceite esencial de *Minthostachys mollis* porcentajes de inhibición de 8.12, 9.14, 10.16, 10.42 y 11.02% por el método del DPPH a las concentraciones de 100, 150, 200, 250 y 300 µg/mL respectivamente. Estos resultados que están por debajo de los obtenidos en la presente investigación. Según describe el autor la recolección de la muestra la realizó en el mes de Junio y según lo investigado y lo que referido por las personas naturales del lugar, la mejor época de recolección se da entre los meses de Marzo y Abril, lo cual hace una diferencia notoria en los resultados obtenidos y demuestra la importancia que tiene la época de recolección de la muestra.

CONCLUSIONES

- 1) Se determinó que el aceite esencial obtenido de las hojas de *Minthostachys mollis* Muña presenta efecto antioxidante, el cual se debería a su contenido de timol, pulegona, 2S-trans-mentona y γ -terpineno.
- 2) Se ha demostrado que la muestra cuya concentración presenta mayor efecto antioxidante es la de 300 $\mu\text{g/mL}$ que presentó un 69.78% de inhibición del radical DPPH, seguido de las concentraciones de 250, 200, 150 y 100 $\mu\text{g/mL}$ que presentaron porcentajes de inhibición de 69.1, 55.82, 52.71 y 32.11% respectivamente; evidenciando que la concentración es proporcional al efecto antioxidante
- 3) Se determinó que la CE 50 o concentración efectiva al 50% del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Muña fue 184.4 $\mu\text{g/mL}$ cuyo valor es mayor al presentado por la Vitamina C que fue de 54.8 $\mu\text{g/mL}$, lo cual indica que la Vitamina C tiene mayor efecto antioxidante.

RECOMENDACIONES

- 1) Propiciar el consumo de infusión de Muña después de los alimentos, ya que nos beneficia por sus propiedades digestivas y además por su efecto antioxidante.
- 2) Debido a la gran importancia que presentan las sustancias antioxidantes, se sugiere continuar con estudios similares con el fin de proponer más sustancias antioxidantes naturales en beneficio de la salud.
- 3) Realizar trabajos de investigación sobre la toxicidad del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Muña para determinar posibles efectos secundarios.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Zorrilla, A. El envejecimiento y estrés oxidativo. Rev. Cubana Invest. Biomed. 2006;21(3):178-85
- 2) Desmarchelier, C., Cicci, G. Antioxidantes de Origen Vegetal. Rev. De Divulgación Científica y Tecnológica de la asociación Ciencia Hoy. [Internet] 2005, Feb. (Citado el 15 de Abr. 2015); 8(44) Disponible en: <http://www.cienciahoy.org.ar/ch/hoy44/antiox1.htm>
- 3) Granados, C., Yañez, X., Acevedo, D. Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial de *Myrcianthes leucoxyloides* de Norte de Santander (Colombia). Información Tecnológica. 2014; 25(3): 11-16
- 4) Navarrete, C., Gil, J., Durango, D., García, C. Extracción y caracterización del aceite esencial de mandarina obtenido de residuos agroindustriales. Dyna. 2010; 77(162): 86-87
- 5) Tovar, J. Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la Eco-región cafetera. Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira; 2013
- 6) Brand Williams, M., Cuvelier, E., Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebens. Wiss. U. Technol, 1995; 28:25-30
- 7) Lopez, V., Akerreta, S., Cavero, R., Calvo, I. Actividad antioxidante de plantas en la medicina tradicional de Navarra. Rev. Fitoterapia, 2007; 7(1): 43-47
- 8) Muedas, G., La Rosa Toro, A., Robles, J. Evaluación electroquímica de la actividad antioxidante del extracto alcohólico de la *Bauhinia guianensis* var. Kuntiana Aubl. Rev Soc Quím Perú.2008; 74 (4):233-243
- 9) Rivero, A., Betancort, J. Evaluación de la actividad antioxidante de polifenoles de algas marinas. Laboratorios de Medicinal Chemistry. España; 2006
- 10) Castañeda, C., et al. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas peruanas. Rev. Acad. Perú Salud. 2008; 15(1):42-6
- 11) Granados, C., Yañez, X., Patiño, G. Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar de *Calycolpus moritzianus* y *Minthostachys mollis* del Norte de Santander. Rev. Fac. Cs. Bas. 2012; 10(1):12-23
- 12) Inga, A., Guerra, B. Efecto del aceite esencial de *Minthostachys mollis* contra algunas bacterias y hongos de interés en la salud. UNMSM, Lima; 2001

- 13) Fuertes, C., Munguía, Y. 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* 2001; 5(1): 23-39
- 14) Díaz, K. Determinación de la actividad antibacteriana “in vitro” de *Minthostachys mollis* Griseb (muña) frente a bacterias orales de importancia estomatológica. UNMSM, Lima; 2005
- 15) Carhuapoma, M., López, S., Roque, M., Velapatiño, M. Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb “Ruyaq muña”. *Ciencia e Investigación*, 2009; 12(2): 83-89
- 16) Azaña, I. Efectividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb (muña) sobre bacterias prevalentes en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico. UNMSM, Lima; 2010.
- 17) Malpartida, F. Efecto inhibidor del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en comparación al paramonoclorofenol alcanforado y gluconato de clorhexidina al 2% frente a cepas de *Enterococcus faecalis*. Estudio in vitro. Universidad Alas Peruanas, Lima; 2010
- 18) Paredes, F., Roca, J. Influencia de los radicales libres en el envejecimiento celular. *OFFARM*, 2005; 21(7): 96-100
- 19) Cano, C., Bonilla, P., Roque, M., Ruiz, J. Actividad antimicótica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña). *Rev. Perú Med. Exp. Salud Pública*. 2008; 25(3): 298-301
- 20) Alcalá, K., Alvarado, A., Alejandro, L., Huayané, E. Actividad antimicótica del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña) comparado con el fluconazol en cultivo de *Candida albicans*. *Cimel*, 2011; 16(2):83-86
- 21) Casas, S. Eficacia en la cicatrización del apósito con aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) versus el apósito quirúrgico convencional en gingivectomías en *Oryctolagus cuniculus* (conejos). UNFV, Lima; 2011
- 22) Carhuapoma, M., Bonilla, P., Suarez, S., Vila, R., López, S. Estudio de la composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de *Luma chequen* (Molina) A. Gray “arrayán”. *Ciencia e Investigación*. UNMSM, Ayacucho; 2005; 8(2):73-9

- 23) Carhuapoma, M. Composición química, actividad anti-*Helicobacter pylori* y antioxidante del aceite esencial de *Satureja brevicalyx* Epling “urqu muña”. UNMSM, Lima; 2007.
- 24) García, A., Antonio, M., Martínez, J., Stashenko, E. Determinación de la composición química y actividad antioxidante in vitro del aceite esencial de *Piper auritum* Kunth (Piperaceae) difundida en la costa colombiana. *Scientia et Technica*. 2007; 8(33):439-42
- 25) Arango, O., Pantoja, D., Santacruz, L., Hurtado, A. Actividad antioxidante del aceite esencial de orégano (*Lippia organoides*) del Alto Patía. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*. 2012; 10(2):79-86
- 26) Gleiser, R., Bonino, M., Zygadlo, A. Bioactividad de aceite esencial de *Minthostachys mollis* contra mosquitos. *Bol. Latinoam. Caribe Plant. Med. Aromáticas*. 2007; 6(6):350-51
- 27) Elechosa, M., Molina, A., Juárez, M., Van Baren, M., Di Leo, P. Estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb “Peperina” obtenido de colectas en 21 poblaciones de las provincias de Tucumán, Córdoba, San Luis y Catamarca. *Bol. Latinoam. Caribe Plant. Med. Aromáticas*. 2007 6(5):244-45
- 28) Guiza, D., Rincón, L. Estudio de efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* combinado con inactivación térmica, sobre cepas de *Listeria monocytogenes* y *Bacillus cereus*. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá; 2007.
- 29) Torrenegra, M. Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar extraído de especies de Orégano (*Origanum vulgare*), Orégano “Borde blanco” (*Origanum vulgare ssp*) y Oreganito (*Lippia alba mill*) cultivado en la zona norte del departamento de Bolívar (Colombia). Universidad Nacional de Colombia. Medellín; 2014.
- 30) Muñoz, M., Gutiérrez, M. Determinación de la actividad antioxidante de diversas partes del árbol *Nicotiana glauca*. Universidad Autónoma de Querétaro; 2008
- 31) Yapuchura, R. Estudio de los componentes antioxidantes de de las hojas de Muña *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb. Inca Muña *Clinopodium bolivianum* (Benth) Kuntze. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima; 2010.

- 32) Alonso-Amelot, A., Usubillaga, A., Ávila, J., Oliveros, A., Avendaño, M. Effects of *Minthostachys mollis* essential oil and volátiles on seedlings of lettuce, tomato, cucumber and *Bidens pilosa*. Universidad de Los Andes. Venezuela 2006.
- 33) Maquera, D., Romero, S., Cotacallapa, D., Tello, M. Influencia del distanciamiento de siembra y abonamiento nitrogenado y el rendimiento del aceite esencial de la muña (*Minthostachys mollis Grisebach*). Investig. Valdizana, 2008; 2(2) :74-8
- 34) Rivarola, M. Menta de los Andes. Generacion.com; 2014; pp. 37:40
- 35) RPP Noticias [Internet] Perú, Lima (Citado el 26 de Mar. 2015). Disponible en: http://www.rpp.com.pe/2011-05-23-el-excesivo-consumo-de-muna-puede-resultar-toxico-noticia_368182.html
- 36) Bruneton, J. Farmacognosia, Fitoquímica. Plantas medicinales. 2da Edición. Zaragoza-España: Acribia S.A; 2006.
- 37) Lock, O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. 2da Edición. PUCP Fondo Editorial, 1998; pp. 23-34
- 38) Martínez, A., Aceites Esenciales. Facultad Química Farmacéutica. Medellín 2003
- 39) Fontanela, G. Caracterización del aceite esencial de “Lanche” *Myrcianthes rhopaloides* (H.B.K.) Mc Vaughn proveniente del distrito de Chalaco, provincia de Morropón-Piura, obtenido por dos métodos de destilación. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima; 2006
- 40) Beyer, W. Manual de Química Orgánica [Internet] Barcelona. Editorial Reverté, (Citado el 7 de Jun. 2015) Disponible en: <http://books.google.com.pe/books?id=Pm7INZzKlaoC&pg=PA718&lpg=PA718&dq=que+tipo+de+terpeno+es+el+timol?>
- 41) Coello, D. Aceites Esenciales. [Internet] Slideshare.net. (Citado el 15 de abril 2015) Disponible en: <http://es.slideshare.net/dicoello/aceites-esenciales>
- 42) Cardona, L., Mejía, L., Evaluación del efecto antioxidante de aceites esenciales y extractos de *Eugenia caryophyllata*, *Origanum vulgare* y *Thymus vulgaris*. Biosalud. 2009; 8: 58-70
- 43) Korc, I., Bidegain, M., Martell, M. Radicales libres: Bioquímica y sistemas antioxidantes. Implicancia en patología neonatal. Rev. Med. Uruguay, 199; 11: 121-35

- 44) Samaniego, C. Estudio y Evaluación de la capacidad antioxidante de aceites de oliva virgen extra. Implicancia en la salud. Universidad de Granada, Granada; 2006.
- 45) Dorado, C., Rugerio, C., Rivas, S. Estrés oxidativo y Neurodegeneración. Rev Fac. Med. UNAM, 2006; 46(6): 229-35.
- 46) Youngson, R. Antioxidantes y Radicales Libres. [Internet] Madrid. (Citado el 1 de Abr. 2015) Disponible en:
<http://books.google.es/books?id=SNthxQBeHkUC&pg=PA27&dq=radicales+libres&hl=es&sa=X&ei=e5YUVIj6MdHCsASnrIG4DQ#v=onepage&q=radicales%20libres&f=false>
- 47) Maldonado, O., et al. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico degenerativas. Rev. Med. UV, 2010; 32-39
- 48) Lima, L. Estrés Oxidativo y Antioxidantes: Actualidades sobre los antioxidantes en los alimentos. Centro Nacional de Medicina Natural y Tradicional; 2005
- 49) Avello, M., Suwalsky, M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. Atenea 494. II Sem. 2006; 161-72
- 50) Trejo, A. Evaluación de la capacidad antioxidante y determinación de fenoles totales para frutos. Taller Multidisciplinario de procesos tecnológicos de frutos y hortalizas. Universidad Nacional Autónoma de México. México, 2010.
- 51) Fina, B. Estrés Oxidativo. Laboratorio de Biología Ósea y metabolismo mineral Facultad Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Rosario. Argentina; 2009.
- 52) García, L., et. al. Plantas con propiedades antioxidantes. Rev. Cubana Invest. Biomed, 2005; 20(3):231-5
- 53) Sotero, V., Silva, L., García, D., Imán, S. Evaluación de la actividad antioxidante de la pulpa cáscara y semilla del fruto del camu camu (*Myrciaria dubia* H.B.K.). Rev. Soc. Quim Perú 2009; 75(3): 293-99
- 54) Mayor, R. Estrés Oxidativo y Sistema de Defensa Antioxidante. Rev. Instituto de Medicina Tropical. 2010; 5(2): 23-29
- 55) Villanueva, J., Condezo, L., Asquiere, E. Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante, en la cáscara de camu camu (*Myrciaria dubia*). Cienc. Tecnol. Aliment, Campinas. 2010; 30(1): 151-60

ANEXOS

MATRIZ DE CONSISTENCIA

Título del Proyecto de Tesis: “EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Minthostachys mollis* Muña”

Presentado por: Luz Marina Aquije Huaroto

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	DISEÑO DE INVESTIGACION	VARIABLES	POBLACION Y MUESTRA
<p>¿El aceite esencial de las hojas de <i>Minthostachys mollis</i> tiene efecto antioxidante?</p> <p>Problemas Específicos</p> <p>P.E.1: ¿Cuál de las concentraciones estudiadas de aceite esencial presenta mayor actividad antioxidante?</p> <p>P.E.2: ¿La CE50 (Concentración efectiva 50%) del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> es menor que la CE50 de la Vitamina C?</p>	<p>Comprobar el efecto antioxidante del aceite esencial de las hojas de <i>Minthostachys mollis</i></p> <p>Objetivos Específicos</p> <p>O.E.1: Determinar cuál de las concentraciones estudiadas de aceite esencial de hojas de <i>Minthostachys mollis</i> presenta mayor actividad antioxidante</p> <p>O.E.2: Comprobar que la CE50 del aceite esencial de las hojas de <i>Minthostachys mollis</i> es menor a la de la Vitamina C</p>	<p>El aceite esencial de las hojas de <i>Minthostachys mollis</i> tiene efecto antioxidante</p> <p>Hipótesis Especificas</p> <p>H.E.1: La solución más concentrada de aceite esencial de las hojas de <i>Minthostachys mollis</i> presenta mayor efecto antioxidante</p> <p>H.E.2: La CE 50 del aceite esencial de las hojas de <i>Minthostachys mollis</i> es menor que la CE 50 de la Vitamina C</p>	<p>Tipo de Investigación:</p> <p>Experimental, Descriptiva y Transversal.</p> <p>Método de Investigación:</p> <p>Inductivo</p>	<p>Variable Independiente (X)</p> <p>La Actividad Antioxidante</p> <p>Variable Dependiente (Y)</p> <p>La Absorbancia de la muestra del Aceite Esencial de las hojas de <i>Minthostachys mollis</i></p> <p>Indicadores:</p> <p>El cambio de coloración, de morado a amarillo, del reactivo de DPPH</p>	<p>Población:</p> <p>19 ml de aceite esencial de las hojas de <i>Minthostachys mollis</i></p> <p>Muestra:</p> <p>5ml del aceite esencial de las hojas <i>Minthostachys mollis</i></p>

