

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN INTERNOS SIN FINANCIAMIENTO O AUTOGESTIONADOS

ANEXO 2 – DETALLES DE LA PROPUESTA

Investigación Básica <input type="checkbox"/>	Investigación Aplicada <input checked="" type="checkbox"/>
DEPARTAMENTO(S) Y/O INSTITUTO(S): Departamento de Ciencias Nucleares (DCN)	
LINEA(S) DE INVESTIGACIÓN: Aplicaciones de radioisótopos y aceleradores de electrones	

DISCIPLINA CIENTÍFICA (Marque X, solamente una opción)	
Ciencias Naturales y Exactas;	
Ingeniería y Tecnologías;	X
Ciencias Médicas;	
Ciencias Agrícolas;	
Ciencias Sociales;	
Humanidades	

OBJETIVO SOCIOECONÓMICO (Marque X, solamente una opción)	
Exploración y explotación del medio terrestre;	
Ambiente;	
Exploración y Explotación del espacio;	
Transporte, telecomunicaciones y otras infraestructuras;	
Energía;	
Producción y tecnología industrial;	X
Salud;	
Agricultura;	
Educación;	
Cultura, ocio, religión y medios de comunicación;	
Sistemas políticos y sociales, estructuras y procesos;	
Defensa;	
Avance general del conocimiento: I+D financiada con los Fondos Generales de Universidades (FGU);	
Avance general del conocimiento: I+D financiados con otras fuentes.	

1	Proyecto de Investigación
	Título: Estudio del efecto de la radiación gamma sobre el rendimiento, la composición, las características físico-químicas y la actividad biológica de aceites esenciales obtenidos de plantas aromáticas cultivadas en Ecuador.



Resumen del proyecto (máximo 200 palabras)

En el Ecuador existen especies vegetales que no son aprovechadas a nivel industrial, entre ellas varias plantas aromáticas con propiedades medicinales. El presente proyecto plantea estudiar si la radiación gamma modifica el rendimiento, las propiedades físico-químicas y la actividad biológica de aceites esenciales obtenidos a partir de cuatro especies no tradicionales cultivadas en Ecuador. Se comenzará con la recolección, selección, lavado y secado de la materia prima. Luego, una parte de la materia prima será irradiada con dosis de 10, 15 y 20 kGy y se obtendrá aceite esencial por hidrodestilación. Con el mismo método, se obtendrá aceite esencial del material vegetal sin irradiar, pero se tratará con radiación gamma a los aceites, con las mismas dosis de radiación. También se obtendrá, como referencia, aceite esencial sin tratamiento de irradiación en la materia prima ni en el propio aceite. A continuación, se comparará el rendimiento, las características físicas (color, densidad, índice de refracción y rotación óptica), la composición y la capacidad antioxidante de los tres tipos de aceite esencial obtenidos de cada materia prima. Finalmente, se evaluará la actividad biológica de los aceites esenciales sobre las bacterias de referencia *Serratia marcescens* y *Pseudomona aeruginosa* y se probará la efectividad del aceite con mayor actividad antimicrobiana para el control de un hongo patógeno de importancia agrícola.

Palabras clave (4-6): radiación ionizante, aceites esenciales, capacidad antioxidante, actividad antimicrobiana.

2 Objetivos, relevancia, productos y resultados esperados de esta propuesta de investigación

2.1 Objetivos

2.1.1 Objetivo General

- Estudiar el efecto de la radiación gamma sobre el rendimiento, la composición, las características físico-químicas y la actividad biológica de aceites esenciales obtenidos de plantas aromáticas cultivadas en Ecuador.

2.1.2 Objetivos Específicos

- a. Comparar el rendimiento de la extracción, por hidrodestilación, de aceites esenciales de cuatro plantas aromáticas cultivadas en Ecuador, tratadas con radiación gamma con dosis entre 0 (control) y 20 kGy.
- b. Analizar el efecto de la aplicación de rayos gamma, en las materias primas y en los aceites esenciales, sobre la composición y las características físico-químicas de los aceites.
- c. Evaluar la actividad biológica de los aceites esenciales sobre las bacterias *Serratia marcescens* y *Pseudomona aeruginosa*.
- d. Determinar la efectividad de un aceite esencial seleccionado para el control de un hongo patógeno de importancia agrícola.

2.2 Detalle de los resultados esperados (con relación a los objetivos)

- a. Rendimientos de los aceites esenciales obtenidos a partir de cuatro plantas aromáticas tratadas con radiación gamma con dosis entre 0 (control) y 20 kGy.
- b. Curvas de color, densidad, índice de refracción, rotación óptica y capacidad antioxidante de los aceites esenciales en función de la dosis de radiación gamma aplicada.
- c. Composición porcentual (terpenos) de los diferentes aceites esenciales obtenidos.
- d. Diámetro de inhibición del crecimiento de las bacterias *Serratia marcescens* y *Pseudomona aeruginosa* obtenido con cada aceite esencial, a una dosis determinada.
- e. Curva de porcentaje de inhibición del crecimiento de un hongo de importancia agrícola en función de la concentración de un aceite esencial seleccionado.



3	Relevancia de la propuesta de investigación y su relación con la(s) líneas de investigación
----------	--

El uso de especies vegetales con fines medicinales ha sido común entre los habitantes de las zonas rurales de Ecuador, gracias a los denominados “conocimientos ancestrales”, pero esta práctica también ha tenido un auge en las ciudades, debido al bajo costo de adquisición y dificultades en el acceso a sistemas de medicina alopática. En el Ecuador existen alrededor de 3 118 especies de plantas que pertenecen a 206 familias, de las cuales el 60 % tienen usos medicinales. En esta diversidad se incluyen plantas aromáticas que son usadas para la preparación de infusiones a las que se atribuyen propiedades curativas. El estudio de la composición de dichas plantas puede permitir la identificación de principios activos de interés, los cuales podrían poseer actividad antimicrobiana, antioxidante, antiséptica, inmunestimulante, antiinflamatoria, antivírica o de mejoramiento circulatorio [1].

Los aceites esenciales se encuentran entre los componentes que tienen propiedades beneficiosas para la salud y un amplio campo de aplicaciones [2; 3]. La demanda nacional e internacional de estos aceites ha crecido y se espera que mantenga un crecimiento sostenido por 5 años, con una tasa promedio anual del 3,3 %. Entre los años 2008-2012, el promedio mundial de la demanda fue de USD 849 771 millones, de los cuales la región Asia-Pacífico tuvo un aporte de USD 238 709, la Unión Europea de USD 222 340 y Norteamérica de USD 212 197 [2].

Los aceites esenciales son líquidos aromáticos y volátiles provenientes de partes de plantas como raíces, flores, hojas, semillas, cáscaras, frutas y madera. El rendimiento de extracción depende de factores como clima, altitud, métodos de cultivo, tipo de suelo, luminosidad, temperatura, pluviosidad y edad de la planta. La mayoría de aceites esenciales tienen baja densidad, baja solubilidad en agua pero buena en solventes orgánicos, alto índice de refracción y poder rotatorio, lo que los vuelve fácilmente identificables; poseen capacidad antioxidante, actividad antifúngica y antibacteriana [3-6]. Están constituidos por metabolitos secundarios lipofílicos, mono y sesquiterpenos, hidrocarburos, compuestos aromáticos como timol, carvacrol, mentol, entre otros, y sustancias como grasas, cumarinas, antraquinonas y alcaloides, que son destilables [7].

La hidrodestilación es un método ampliamente difundido para obtener aceites esenciales, en la cual se emplea vapor saturado a presión atmosférica [8]. Consiste en la sumersión de material vegetal en agua, la cual es calentada hasta su punto de ebullición; se utiliza principalmente para materiales vegetales que tienden al apelmazamiento. En el proceso se presentan hidrólisis y oxidaciones; los vapores heterogéneos obtenidos se condensan y los aceites esenciales son separados por densidades [8].

El uso de radiaciones ionizantes representa una alternativa para aumentar el rendimiento, efectividad y potencial químico de productos naturales como los aceites esenciales, debido a la formación de compuestos de distintos pesos moleculares, con diferentes propiedades biológicas y químicas [9].

Los materiales orgánicos que se han expuesto a radiación gamma sufren cambios como fragmentación, agregación, oxidación y entrecruzamiento de moléculas, que conllevan a modificaciones en características físicas y químicas [10; 11]. Los productos que se forman son semejantes a los que se producirían por otras vías; principalmente, se producen hidroxilaciones aromáticas de fenoles y ácidos fenólicos, ruptura de cadenas de ADN y formación de productos volátiles por degradación de ácidos grasos [12; 13].

Un estudio del efecto de la radiación gamma sobre aceites esenciales de tomillo (*Thymus vulgaris*) y menta (*Mentha pulegium*) con dosis de 10, 20 y 30 kGy, determinaron que hubieron cambios en el porcentaje de los principales componentes. El carvacrol fue el compuesto mayoritario en el aceite esencial de tomillo, con 78,33 a 81,49 %, acompañado por componentes menores como el α -terpineno, p-cimeno, δ -terpineno y β -humuleno. En cuanto a la menta, el mayor componente fue la pulegona, con el 80,0 %, y pequeños porcentajes de limoneno, mentona y periperitona. En ambos casos, la radiación gamma incrementó el porcentaje de los componentes minoritarios. Por otro lado, el aceite esencial de tomillo sin irradiar presentó un halo de inhibición de 36,7 mm frente a *L. monocytogenes* y de 30,7 mm frente a *E. coli*; el aceite esencial de menta mostró una actividad antimicrobiana menor, con 12,7 mm de inhibición frente a *E. coli* y 9,0 mm frente a *Salmonella*. Sin embargo, al trabajar con los aceites irradiados se obtuvieron diámetros de inhibición mayores, con valores entre 36,3 y 40,3 mm. Es decir, la irradiación incrementó significativamente la actividad antimicrobiana contra las bacterias gram negativas, pero no así contra las gram positivas en cuestión [9].



Una de las especies aromáticas de la cual se extraerá el aceite esencial, en el presente proyecto, es la muña (*Minthostachys mollis*), un arbusto leñoso, originario de países de América Latina como Argentina, Bolivia, Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela, que es utilizado para tratamientos estomacales y de vías respiratorias. En el aceite esencial de esta especie se han identificado terpenoides como pulegona con un 36,68 %, mentona 24,24 %, carvacrol con 21,24 %, timol con 13,11 %, eucaliptol con 10,04 %, y pequeñas cantidades de limoneno y mirceno. El aceite esencial ha presentado efectos antimicóticos frente a *Candida albicans* y los dermatofitos *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton tonsurans* [13; 14]. Con respecto al rendimiento del proceso de extracción de aceite esencial de muña por hidrodestilación, se ha reportado un valor de 0,09 % [15].

Otra especie que será estudiada es la chilca (*Baccharis latifolia*), un arbusto que se encuentra ampliamente distribuido en las provincias de Pichincha, Imbabura, Cañar, Cotopaxi, Chimborazo, Bolívar, Azuay, Loja, Napo, Sucumbíos y Zamora Chinchipe. Se emplean infusiones de sus hojas y ramas para combatir dolores estomacales, hepáticos o renales; también se atribuye a la chilca la propiedad de prevenir el reumatismo, diarreas, asma y diabetes [16]. Se ha reportado un rendimiento del aceite esencial de un 0,13 % (p/p) y los siguientes compuestos mayoritarios: α -felandreno (18,11 %), limoneno (17,04 %), norhalkendin (9,50 %) y androencecalinol (5,41 %). Las moléculas antioxidantes del aceite esencial que se han identificado son aristolocheno, cariofileno Z y cadin-4-en-7-ol presentando una actividad antioxidante moderada [16].

La tercera especie a ser estudiada es la guaviduca (*Ottonia carpunya*), un arbusto que llega a medir 2 o 3 m de alto, originario de los Andes y la Amazonía, que se ha encontrado a altitudes de 1 000 a 2 000 msnm. En el Ecuador se encuentra en gran cantidad en Loja y Zamora Chinchipe, en dónde es utilizada para combatir constipados intestinales e inflamación, o como protector gastrointestinal [17]. El análisis del aceite esencial de guaviduca muestra que está compuesto principalmente por α -terpineno (12,1 %), p-cimeno (10,9 %), 1,8-cineol (13,0 %), safrol (14,9 %) y espatulenol (9,8 %), principalmente [17; 18].

Por último, se estudiará el aceite esencial de molle (*Schinus molle*), un árbol perennifolio que alcanza una altura de 8 hasta 15 m, con un diámetro de 25 a 35 cm. Esta especie es originaria de la región andina, principalmente Perú, y se extiende de Ecuador a Chile y Bolivia, en terrenos con una altitud de hasta 3 650 msnm. A las infusiones de molle se le atribuyen propiedades antirreumáticas, cicatrizantes, expectorantes y antiparasitarias [19]. El análisis del aceite esencial menciona que está compuesto principalmente por β -mirceno (30,1 %), α -felandreno (26,4 %), β -pineno (13,5 %), α -pineno (11,9 %), limoneno (9,9 %) y β -felandreno (5,7 %) [19; 20].

4	Productos esperados (marcar con una “X” al menos uno de los productos no señalados)
----------	--

Tipo de Producto:	Marcar con una “X”
a. Disertación a la Comunidad Politécnica (obligatorio);	X
b. Presentación de un artículo en formato de la Revista Politécnica (obligatorio)	X
c. Proyecto de Titulación;	X
d. Aplicación tecnológica construida o implementada;	
e. Patente presentada;	
f. Perfil de proyecto de mayor impacto científico, técnico, pedagógico o de innovación.	
g. Publicaciones científicas indexada en SCIMAGO-SCOPUS/WoS/SCIELO/Latindex Catálogo o un artículo en congreso indexado en SCOPUS.	

5	Descripción y metodología y diseño del proyecto
----------	--

5.1. Comparar el rendimiento de la extracción de aceites esenciales de cuatro plantas aromáticas cultivadas en Ecuador, tratadas con radiación gamma con dosis entre 0 y 20 kGy

Las plantas aromáticas que se emplearán en el presente estudio son: muña (*Minthostachys mollis*), chilca (*Baccharis latifolia*), guaviduca (*Piper carpunya*) y molle (*Schinus molle*).



Se obtendrá la materia prima de mercados locales de las provincias de Chimborazo y Bolívar. Se seleccionarán plantas que presenten coloración y apariencia adecuadas, es decir, que estén libres de manchas y síntomas de enfermedades, luego se lavarán y secarán a temperatura ambiente las partes vegetales que serán utilizadas para la extracción.

Para el proceso de irradiación de las materias primas, las muestras serán empacadas al vacío en bolsas de polietileno de 1 kg, con un espesor no mayor a 10 cm. Se empleará el irradiador panorámico ubicado en el Laboratorio de Tecnología de Radiaciones. Las bolsas serán colocadas a una distancia de 30 cm de la fuente de Cobalto 60, por el tiempo requerido para obtener dosis de 10, 15 y 20 kGy.

Para la extracción del aceite esencial por el método de hidrodestilación, se utilizarán 500 g de material vegetal seco, los cuales se cargarán en la cámara de extracción de un matraz de fondo redondo de 5 L y se adicionarán 3 L de agua destilada, de tal forma que la materia prima quede sumergida. Se sellará la cámara para evitar la salida de vapor con aceite esencial arrastrado. Luego, se ensamblarán las conexiones del condensador y del recolector de aceite, se calentará la mezcla y se contabilizará el tiempo de extracción desde la formación de las primeras gotas de condensación, luego mediante diferencia de densidades se separará el aceite esencial obtenido del agua de arrastre con un embudo [22].

El rendimiento será expresado como el volumen de aceite obtenido en mililitros, frente a la cantidad de materia prima seca empleada, en hilogramos.

5.2. Analizar el efecto de la aplicación de rayos gamma, en las materias primas y en los aceites esenciales, sobre la composición y las características físico-químicas de los aceites

Las propiedades físico-químicas y la composición serán determinadas en aceites esenciales obtenidos de materias primas irradiadas, en aceites irradiados obtenidos de materias primas sin irradiar y en aceites sin ningún tratamiento de irradiación.

Para la irradiación de los aceites esenciales, las muestras serán colocadas en viales de 5 mL y se procederá de la misma manera indicada para la irradiación de las materias primas, puesto que se emplearán las mismas dosis.

Las características físicas de los aceites esenciales que se van a analizar son la densidad relativa a 20 °C, con un picnómetro de 2 mL; el índice de refracción, con ayuda de un refractómetro [24]; la rotación óptica en un polarímetro a 20 °C y línea D del sodio, con una disolución al 10 % (p/v) del aceite esencial en etanol al 96 % [25].

También se realizará un análisis de los componentes mayoritarios por cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas, para lo cual se tomarán 50 µL del aceite esencial y se aforará a 450 µL con diclorometano, la mezcla se transferirá a un vial de 50 µL para la inyección en un cromatógrafo de gases marca PerkinElmer modelo Clarus 500 (relación 1:50). Para la identificación de los componentes, se compararán los espectros experimentales con los espectros estándares de la base de datos del equipo [26].

La actividad antioxidante de los aceites obtenidos se determinará por el método del radical DPPH y el método ABTS. En el primer caso, se adicionarán 75 µL de aceite esencial a 150 µL de una solución de 100 ppm de DPPH en metanol y se incubará por 30 min a temperatura ambiente. Por espectrofotometría se determinará la desaparición del radical DPPH a 550 nm. Para el control positivo de captación de radicales DPPH se utilizará una solución de 25 µg mL⁻¹ de ácido ascórbico [7]. El segundo método está asociado con la reacción entre una solución 3,5 mM de ABTS con una solución 1,25 mM de persulfato potásico. Las muestras se incubarán en oscuridad durante 16 a 24 h, a temperaturas comprendidas entre 2 y 8 °C. El radical ABTS formado se diluirá con etanol, con el fin de obtener una absorbancia de 0,70 ± 0,05 a 734 nm. Se adicionarán 10 µL de muestra de aceite esencial a un volumen de 190 µL de la dilución del radical ABTS y se mantendrá, a temperatura ambiente, por 5 min. Luego, se determinará espectrofotométricamente la desaparición del radical ABTS a 734 nm. Como muestra de control positivo de captación de radicales se utilizará ácido ascórbico en concentración 4 µg mL⁻¹ [7].

Por último, se elaborarán gráficos de dispersión de cada parámetro analizado, en función de la dosis de irradiación. De esta manera, se buscará identificar si la radiación gamma incrementa, disminuye o no altera el valor obtenidos en las muestras que no fueron tratadas con esta tecnología.



5.3. Evaluar la actividad biológica de los aceites esenciales sobre las bacterias *Serratia marcescens* y *Pseudomona aeruginosa*

Para evaluar la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales se utilizará el método de difusión de disco, para ello, se añadirán 20 mL de medio de agar Mueller-Hilton en placas de Petri estériles y 15 mL de medio, previamente inoculado con una suspensión bacteriana. Los discos de papel filtro estériles serán embebidos en una dilución de aceite esencial y se pondrán en contacto con el medio. Se utilizarán como control positivo discos de papel cargados con 5 a 10 mg mL⁻¹ de gentamicina. Las placas se mantendrán en la nevera a 5 °C por 2 h para permitir la difusión de los extractos, luego se incubará a 35 °C durante 24 h. Se medirán el diámetro de inhibición como un indicador para análisis de la actividad antibacteriana [27].

La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales será determinada en función del diámetro de inhibición: será nula para distancias menores a 8 mm, límite para diámetros de 8,1 a 14 mm, media para diámetros entre 14,1 y 20 mm, mientras que para diámetros superiores a 20 mm la actividad será catalogada como sumamente sensible [28].

Para los tres objetivos anteriormente descritos, los resultados serán analizados en el programa Statgraphics Centurion XVI, a través de un análisis de varianza (ANOVA), con un nivel de confianza del 95 %, seguido por una prueba de rangos múltiples por el método de Tukey (HSD).

5.4. Determinar la efectividad de un aceite esencial seleccionado para el control de un hongo patógeno de importancia agrícola

Con el fin de determinar la actividad antifúngica de los aceites esenciales, en primer lugar se aislará y purificará un hongo de importancia agrícola, de hojas de plantas infestadas [29], de un cultivo por definir que se ubique en la Provincia de Pichincha.

Luego, se realizarán ensayos *in vitro* con el fin de determinar el porcentaje de inhibición del fitopatógeno en función de la concentración del aceite esencial que muestre la mayor actividad biológica, seleccionado en el objetivo anterior. Se probarán concentraciones de aceite esencial de 100, 200, 250, 500 y 1 000 ppm, en aceite mineral.

Para ello, se preparará medio Papa Dextrosa Agar (PDA), se añadirá el aceite esencial diluido, se mezclará, se autoclavará y se colocará en cajas Petri. Luego de 24 h, se sembrará el hongo, se incubará a 25 °C y se observará el crecimiento por 6 días [28; 29]. Paralelamente, se prepararán cajas Petri de la misma manera, pero sin la adición de aceite esencial (control). El porcentaje de inhibición corresponderá a la diferencia observada en el crecimiento del hongo en los tratamientos, frente al control. Se realizarán 3 repeticiones para cada dosis.

Con los valores promedio, se construirá una curva de porcentaje de inhibición versus concentración del aceite esencial, con el objetivo de establecer una dosis recomendada para el control del hongo en campo.

Bibliografía:

- [1] De la Torre, L., Alarcón, D., Kvist, L. y Salazar, J. (2008) Usos medicinales de las plantas. *Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador*, pp. 105-114.
- [2] Hernández, I. y Jibaja, M. (2017) Plan de negocios para producción y exportación de aceites esenciales extraídos de plantas aromáticas de ciclo corto. *Observatorio de la Economía Latinoamericana*.
- [3] Aguilar, A. y López, A. (2013) Extractos y aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y su potencial aplicación como agentes antimicrobianos en alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, vol. 7, n° 2, pp. 35-41.
- [4] Ricaldi, J. y Martínez, A. (2014) Cromatografía de gases-espectrometría de masas de compuestos fitobioactivos del aceite esencial de *Satureja incana*. *Apunt. cienc. soc.* vol. 04, n° 02.
- [5] Méndez, G., Osorio, M., Torrenegra, M. y González, J. (2015) Extracción, caracterización y actividad antioxidante del aceite esencial de *Plectranthus amboinicus* L. *Revista Cubana de Farmacia*, vol. 49, n° 4, pp. 708-71.



- [5] Acevedo, D., Navarro, M. y Montero, P. (2013) Composición química del aceite esencial de las hojas de toronjil (*Melissa officinalis* L.). *Información Tecnológica La Serena*, vol. 24, n° 4, pp. 49-54.
- [6] Granados, C., Yáñez X. y Acevedo, D. (2014) Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar de *Myrcianthes leucoxyla* del Norte de Santander (Colombia). *Información tecnológica La Serena*, vol. 25, n° 3, pp. 11-16.
- [7] Stashenko, E. (2009) Aceites Esenciales. Recuperado de: <http://cenivam.uis.edu.co/cenivam/documentos/libros/1.pdf>. (Septiembre, 2018).
- [8] Cerpa, M. (2007) Hidrodestilación de aceites esenciales: Modelado y Caracterización. Tesis para la obtención del título de Doctor en Ciencias. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/235356074_Hidrodestilacion_de_aceites_esenciales_Modelado_y_Caracterizacion. (Febrero, 2019).
- [9] Zantar, S., Haouzi, R., Mouhib, M., Boujnah, M., Bakkali, M. y Hassani, M. (2015) Effect of gamma irradiation on chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Thymus vulgaris* and *Mentha pulegium* essential oils. *Radiation Physics and Chemistry*, vol. 115, pp. 6-11.
- [10] Sendra, E, Capella, M, Guamis, B, Felipe, X, Mor-Mur, M, y Pla, R. (2014) Review: Food irradiation- General aspects» *Food Science and Technology International*, vol. 2, n° 1.
- [11] Martínez, G., Pérez, C., Ortiz, J. y Avilés, L. (2015) Gomas y Aceites Naturales Utilizados en la Microencapsulación: Efecto de la Radiación Gamma, Primera ed., México: Natabilis Scientia.
- [12] Díaz, D. (2016) Efectos de la irradiación gamma en la calidad del aceite y de la proteína de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.). Recuperado de: <http://bdigital.unal.edu.co/54870/7/DiegoLeonardoD%C3%ADazV.2016.pdf>. (Septiembre, 2018)
- [13] Torrenegra, M., Granados, C., Durán, M., Yáñez, X., Martínez, C. y Pájaro, N. (2016) Composición Química y Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis*. *ORINOQUIA*, vol. 20, n° 1, pp. 69-74.
- [14] Cano, C., Bonilla, P., Roque, M. y Ruiz, J. (2008) Actividad Antimicótica In Vitro y Metabolitos del Aceite Esencial de las Hojas de *Minthostachys mollis* (Muña). *Peru Med Exp Salud Pública*, vol. 25, n° 3, pp. 298-301.
- [15] Torrenegra, M., Granados, C., Osorio, M. y León, G. (2015) Comparación de la Hidrodestilación Asistida por Radiación Microondas con Hidrodestilación Convencional en la Extracción de Aceite Esencial de *Minthostachys mollis*, *Información Tecnológica*, vol. 26, n° 1, pp. 117-122.
- [16] Guerra, P. (2016) Evaluación de la Actividad Antioxidante Bioautográfica de Dos Variedades de Aceites Esenciales Andinos *Clinopodium nubigenum* (Kunt) Kuntze y *Baccharis latifolia* (Ruiz & Pav.) Pers. Recuperado de: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/12183/1/UPS-QT09569.pdf>. (Enero, 2019)
- [17] Castillo, E. (2014) Estudio pre-clínico de la guaviduca (*Piper carpubunya*) de propiedades y efecto antiulceroso en ratas wistar. Recuperado de: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/1332/7/CD00244-TESIS.pdf> (Febrero, 2019).
- [18] Riofrío, J. (2012) Aislamiento, caracterización y actividad antifúngica de metabolitos secundarios a partir de *Piper carpubunya* Ruiz & Pav. Recuperado de: http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/4261/1/JIMMY_RI.PDF (Febrero, 2019).
- [19] López, R. (2015) Rendimiento y Composición Química de Aceites Esenciales de *Eucalyptus archeri* y *Schinus molle* - Valle del Mantaro. Recuperado de: <http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/3508/Lopez%20De%20La%20Cruz%20-%20Caso%20Orihuela.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (Febrero, 2019).
- [20] Robles, T. (2014) Efecto biocida de *Schinus molle* L. "molle" (*Anacardiaceae*) para el control de *Erosina hyberniata* Guenée 1858 (*Lepidoptera: Geometridae*) en estado larval, plaga del *Tecoma stans* (L.) C.
- [21] Juss. Ex Kunth. (*Bignoniaceae*) en el Distrito de Miraflores, Lima-Perú. Recuperado de: http://repositorio.urp.edu.pe/bitstream/handle/urp/1001/Robles_te.pdf?sequence=1&isAllowed=y (Febrero, 2019).
- [22] Acevedo, D. y Palomarez, B. (2015) Extracción y evaluación de rendimientos de los aceites esenciales del árbol *Aniba perutilis* Hemsley (comino) mediante el método de arrastre de vapor. Recuperado de: <https://repository.unad.edu.co/handle/10596/3456>. (Septiembre, 2018).
- [23] Stratakos, A. y Koidis, A. (2016) Methods for Extracting Essential Oils. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, London, pp. 31-38.
- [24] Ruiz, J. (2012) Estudio Comparativo de Dos Métodos de Extracción para el Aceite Esencial Presente en la Cáscara de Pomelo. Recuperado de: http://190.242.62.234:8080/jspui/bitstream/11227/108/1/Proyecto%20final%20de%20grado%20_14-11-2012_.pdf. (Enero, 2019)



- [25] Tabio, D., Yosvany, D., Rondón, M., Fernández, E. y Piloto, R. (2017) Extracción de aceites de origen vegetal. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/317007345_Extraccion_de_aceites_de_origen_vegetal. (Septiembre, 2018)
- [26] Venegas, P. (2016) «Evaluación de las Condiciones Experimentales para la Extracción de Aceite Esencial de Romero para su uso como Antioxidante en Aceites Comerciales.» Recuperado de: <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/4008/1/40654.pdf>. (Septiembre, 2018)
- [27] Sánchez, E., Loruhamá, S., Hernández C. y García, P. (2016) Actividad Antimicrobiana. Recuperado de: <https://www.omniascience.com/monographs/index.php/monograficos/article/viewFile/334/247>. (Noviembre, 2018)
- [28] Azaña, I. (2010) Efectividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis griseb* (muña) sobre bacterias prevalentes en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico. Recuperado de: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/2183/Azana_ei.pdf?sequence=1&isAllowed=y. (Enero, 2019)
- [29] López, D. y Ramírez, Y. (2016) Aislamiento e Identificación de Hongos Fitopatógenos de Cultivos de Aguacate (*Persea americana* Mill). Tlamati Sabiduría. vol. 7, n° 1.
- [30] Gómez, I., Pérez, E., & Escamilla, E. (2018). *Selection in vitro of mycoparasites with potential for biological control on Coffee Leaf Rust (Hemileia vastatrix)*. Recuperado el Marzo de 2019, de <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v36n1/2007-8080-rmfi-36-01-172.pdf>
- [31] G., Valdés, M., Hernández, M., Gutiérrez, M., & Valladares, M. (2016). *Aceites Esenciales para controlar Acanthoscelides obtectus (Say) y Sitophilus zeamais (Motschulsky) plagas de granos almacenados*. Recuperado el Marzo de 2019, de <https://docplayer.es/54270268-Aceites-esenciales-para-controlar-acanthoscelides-obtectus-say-y-sitophilus-zeamais-motschulsky-plagas-de-granos-almacenados-1.html>

6	Infraestructura, equipos y fondos adicionales.
----------	---

6.1 Infraestructura y equipos

Infraestructura	Equipos	
Laboratorio	Nombre del Equipo	Ubicación del Equipo
Laboratorio de Química Orgánica	Rotavapor marca HEIDOLPH pHmetro marca HANNA Instruments pH/ORP Meter Equipo Soxhlet marca IVA Modelo K-1/6 Centrifuga marca LABEC Modelo M-SCEN-206 Plancha de Calentamiento marca MTOPS Modelo HS334-04	Laboratorio de Química Orgánica, Departamento de Ciencias Nucleares
Laboratorio de Química Orgánica	Estufa Marca MEMMERT Modelo Edlelsteel Rostfrei Plancha de agitación con calentamiento Marca NEUATION Modelo i Stir HP 15M Incubadora MMM Group Marca Incucell Bomba de vacío Marca Boeco R-300 Modelo R-300 Vaccum Pump	Laboratorio de Química Orgánica, Departamento de Ciencias Nucleares
Laboratorio de Cromatografía Líquida	HPLC marca AGILLENT Cromatógrafo de gases marca Perkin Elmer Clarus 500 acoplado al espectrómetro de masas.	Laboratorio de Cromatografía Líquida, Departamento de Ciencias Nucleares
Laboratorio de Tecnología de Radiaciones	Irradiador panorámico, Fuente de cobalto 60	Laboratorio de Tecnología de Radiaciones, Departamento de Ciencias Nucleares



6.2 Breve justificación del equipo requerido

- *No se solicitan equipos nuevos.*

6.3 Fondos Adicionales

- *No se solicitan fondos adicionales.*