



FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES
CARRERA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROFORESTAL

**“OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN HIDROALCOHÓLICA Y
CARACTERIZACIÓN PRELIMINAR DE UN EXTRACTO DE VALERIANA
(*Valeriana pilosa* R&P)”**

Tesis para optar al Título Profesional de:
INGENIERO AGROFORESTAL

Presentado por:
BACH. JUAN CARLOS FERNANDEZ GUZMAN

Asesor:
Q.F. Gladys Esther Buitrón Delgado

Lima – Perú

2019

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Lima, 12 de febrero de 2019.

Los integrantes del Jurado de Tesis:

Presidente: Dra. María de los Angeles La Torre Cuadros
Miembro: Mg. Javier Jack Calderón Gómez
Miembro: Ing. Oscar Reátegui Arévalo

Se reúnen para evaluar la tesis titulada:
“OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN HIDROALCOHÓLICA Y CARACTERIZACIÓN PRELIMINAR DE UN EXTRACTO DE VALERIANA (*Valeriana pilosa* R&P).”

Presentada por el bachiller:

- **JUAN CARLOS FERNANDEZ GUZMAN**

Para optar al Título Profesional de **Ingeniero Agroforestal**


Asesorada por:

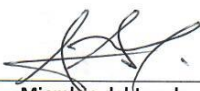
- **Q.F. GLADYS ESTHER BUITRON DELGADO**

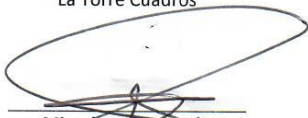
Luego de haber evaluado el informe final de tesis y evaluado el desempeño del tesista en la sustentación, concluyen de manera unánime (X) por mayoría simple () calificar a:

JUAN CARLOS FERNANDEZ GUZMAN			Nota (escrito): 15
Aprobado (X)	Aprobado - Muy buena ()	Aprobado - Sobresaliente ()	Desaprobado ()

Los miembros del jurado firman en señal de conformidad.


Presidente del Jurado
 Dra. María de los Angeles
 La Torre Cuadros


Miembro del Jurado
 Mg. Javier Jack Calderón
 Gómez


Miembro del Jurado
 Ing. Oscar Reátegui
 Arévalo


Asesor
 Q.F. Gladys Esther Buitron
 Delgado

T // (51) 610 6400
 opción 2
www.cientifica.edu.pe

Campus
 Panamericana Sur
 km 19 - Lima 42

Gracias totales.

Índice General

Índice de figuras.....	4
Índice de tablas.....	5
Índice de anexos.....	6
Resumen.....	7
Abstract.....	8
Planteamiento del problema.....	9
Marco teórico.....	11
2.1. Valeriana (<i>Valeriana pilosa</i> R&P).....	11
Objetivos e hipótesis.....	17
3.1. Objetivo general.....	17
3.2. Objetivos específicos.....	17
3.3. Hipótesis de investigación.....	17
Metodología.....	18
4.1. Materiales y métodos.....	18
4.2. Procedimiento.....	20
Resultados.....	34
5.1. Obtención de muestra de <i>Valeriana pilosa</i> R&P.....	34
5.2. Porcentaje de sólidos totales (% ST).....	35
5.3. Caracterización preliminar de los extractos obtenidos.....	38
Discusión.....	41
7.1. Sistemas agroforestales con <i>Valeriana pilosa</i> R&P.....	41
7.2. Extracción hidro-alcohólica.....	42
7.3. Caracterización fitoquímica y cromatográfica.....	44
Conclusiones.....	47
Recomendaciones.....	49
Referencia bibliográfica.....	50
Abreviaturas.....	54
Anexos.....	56

Índice de Figuras

Figura 1. Planta de <i>Valeriana pilosa</i> R&P en estado silvestre durante la temporada de lluvias.....	13
Figura 2. Diagrama de flujo para la obtención del % sólidos totales de <i>Valeriana pilosa</i> R&P.....	22
Figura 3. Raíz seca de <i>Valeriana pilosa</i> R&P.....	24
Figura 4. Triturado manual (a) y Pulverización de la raíz seca triturada de <i>Valeriana pilosa</i> R&P (b).....	25
Figura 5. <i>Valeriana pilosa</i> R&P pulverizada.....	25
Figura 6. <i>Valeriana pilosa</i> R&P pulverizada y almacenada en frasco ámbar.....	25
Figura 7. Diagrama de flujo de extracción simple.....	26
Figura 8. Extracción simple.....	27
Figura 9. Extracción simple a 60°C (a) y extracción a 80°C (b).....	27
Figura 10. Sistema de filtración Büchner.....	28
Figura 11. Completa filtración del extracto de <i>Valeriana pilosa</i> R&P.....	28
Figura 12. Extractos de <i>Valeriana pilosa</i> R&P totalmente filtrados colocados en fioles de 10 mL.....	29
Figura 13. Extractos de <i>Valeriana pilosa</i> R&P secados en horno.....	29
Figura 14. Marcha fitoquímica de la <i>Valeriana pilosa</i> R&P.....	32
Figura 15. Constancia de identificación botánica.....	34
Figura 16. Efecto individual de las variables que influyen en el %ST.....	36
Figura 17. Combinación de variables que influyen en el contenido del %ST.....	37

Índice de Tablas

Tabla 1. Clasificación taxonómica.....	11
Tabla 2. Datos georreferenciados de la toma de muestra.....	20
Tabla 3. Esquema experimental.....	21
Tabla 4. Cálculo del porcentaje de sólidos totales.....	35
Tabla 5. Comparación de medianas del porcentaje de sólidos totales.....	36
Tabla 6. Comparaciones múltiples post-hoc del porcentaje de sólidos totales.....	37
Tabla 7. Resultados promedio marcha fitoquímica. Desarrollado por triplicado.....	38
Tabla 8. Resultados de análisis HPLC del standard de ácido valerénico.....	40
Tabla 9. Resultados de análisis HPLC de la muestra de <i>Valeriana pilosa</i> R&P.....	40

Índice de Anexos

Anexo I. Resumen del análisis HPLC, muestra (MP) vs standard (STD)...	56
Anexo II. Certificado de análisis HPLC.....	57
Anexo III. Análisis standard. ST1.1 (a) y ST1.2 (b).....	58
Anexo IV. Análisis standard. ST1.3 (a) y ST2.1 (b).....	59
Anexo V. Análisis standard. ST2.2 (a) y derecha ST2.3 (b).....	60
Anexo VI. Análisis de la raíz de <i>Valeriana pilosa</i> R&P. MP1.1_1 (a) y MP1.1_2 (b).....	61
Anexo VII. Análisis de la raíz de <i>Valeriana pilosa</i> R&P. MP1.2_1 (a) y MP1.2_2 (b).....	62
Anexo VIII. Cromografía en placa fina de <i>Valeriana pilosa</i> R&P (detección del ácido valerénico en UV) y <i>Valeriana decussata</i> R&P (detección leve del metabolito) Utilizando la técnica de The American Herbal Pharmacopoeia and Therapeutic Compendium. (1999). Análisis cualitativo.....	63
Anexo IX. Ficha técnica y de seguridad del standard del ácido valerénico.....	64

Resumen

La industria peruana de productos naturales utiliza la raíz de la *Valeriana pilosa* R&P para elaborar diferentes presentaciones que inducen al sueño, siendo esta especie la más abundante en las Jalcas de Cajamarca y al mismo tiempo la más depredada en territorio nacional. El presente estudio determinó tres variables importantes que interactúan en la extracción hidroalcohólica: el tiempo, la temperatura y el tipo de solvente a utilizar del cual por medio del análisis estadístico chi-cuadrado y post-hoc se logró determinar el tratamiento óptimo para obtener el mayor porcentaje de sólidos totales (% ST). Además, se logró caracterizar fisicoquímicamente la *Valeriana pilosa* R&P determinando la presencia del ácido valerénico. La combinación de una solución hidroalcohólica al 70 % calentado a 60°C por 30 minutos (H70:60°C:30') resultó en 1.336 % ST siendo el tratamiento que retuvo más sólidos. Los análisis de caracterización de principios activos de la *Valeriana pilosa* R&P comprobó la presencia de aceites esenciales y terpenos por análisis fitoquímico. Finalmente, se cuantificó por HPLC el ácido valerénico (sesquiterpeno) conteniendo 0.4972 mg/g con la técnica de la European Pharmacopoeia 5.0 y comparado con un standard de ácido valerénico de la marca SIGMA-ALDRICH. Se concluye que la optimización del proceso de extracción incrementa el valor agregado generando mayor ingreso económico entre los actores involucrados y esto abre camino a nuevos mercados en la industria de productos naturales.

Palabras clave: Valeriana, extracción, %ST, ácido valerénico, HPLC.

Abstract

The Peruvian industry of natural products uses the root of *Valeriana pilosa* R&P to elaborate different presentations that induce sleep, being this species the most abundant in the Jalcas of Cajamarca and at the same time the most depredated in the national territory. The present study determined three important variables that interact in the hydroalcoholic extraction: the time, the temperature and the type of solvent to be used, by means of the chi-square and post-hoc statistical analysis it was possible to determine the optimal treatment to obtain the highest percentage of total solids (% ST). In addition, *Valeriana pilosa* R&P was characterized physicochemically determining the presence of valeric acid. The combination of a 70 % hydroalcoholic solution heated at 60°C for 30 minutes (H70: 60°C:30') resulted in 1.336 % ST being the treatment that retained the most solids. The analysis of active ingredient characterization of the *Valeriana pilosa* R&P proved the presence of essential oils and terpenes by phytochemical analysis. Finally, valeric acid (sesquiterpene) containing 0.4972 mg/g was quantified by HPLC with the technique of the European Pharmacopoeia 5.0 and compared to a standard of valerenic acid of SIGMA-ALDRICH brand. It's concluded that the optimization of the extraction process increases the added value generating higher economic income among the actors involved and this opens the way to new markets in the natural products industry.

Key words: Valerian, extraction,% ST, valerenic acid, HPLC.

I. Planteamiento del problema

Para observar el problema de los productos que inducen el sueño con relación a la valeriana *Valeriana* sp. a nivel mundial, se tiene que analizar y comparar el ácido valerénico de fuente química y natural. Bos, Hendriks, Scheffer, Woerdenbag (1998) y Lieberman, Lachman, Schwartz (1990) señalan que a nivel industrial, uno de los principales problemas es que el ácido valerénico (principio activo) de fuente química posee una baja estabilidad y podría resultar en la ausencia de este compuesto en las diferentes formas de dosificación farmacéuticas, ya que se descompone durante el proceso de fabricación.

Ramírez, Terán, Sánchez, Seminario (2006) mencionan que en el Perú la valeriana más utilizada es la especie *Valeriana pilosa* R&P, la cual se usa tradicionalmente en infusiones para inducir el sueño y es adquirida en mercados y tiendas afines en forma de micropulverizado o raíz deshidratada. Díaz (2012) señala que los procesos de micropulverizado se utilizan para reducir el tamaño de partícula de los alimentos y poder utilizarlos en diferentes presentaciones. El polvo micropulverizado es utilizado por empresas manufactureras de distintos alimentos y/o farmacéuticos procesados para público final. Sin embargo, según Pajares e Iberico (2007) menciona que pulverizar la valeriana silvestre es una práctica de poco valor agregado, muy depredatoria y es la principal causa de la disminución de la regeneración natural año a año. Entonces la pregunta es si se puede optimizar un proceso para obtener ácido valerénico de fuente natural que no involucre prácticas depredatorias y que beneficie a los agricultores y empresas de la *Valeriana pilosa* R&P. Asimismo, si el ácido valerénico de fuente natural podría ser una

innovadora oportunidad para desarrollar nuevos fármacos (Allemandi, Bucala, Gallo, Palma, Piña, Ramirez-Rigo, 2012).

A la fecha, no se ha estudiado la combinación de parámetros de operación que optimicen la extracción del ácido valerénico en *Valeriana pilosa* R&P. The European Pharmacopoeia (2004), menciona que se conoce la cantidad de sesquiterpenos y aceites volátiles de la *Valeriana officinalis* L. y sus propiedades químicas, más no menciona la *Valeriana pilosa* R&P. Adicionalmente, no se conoce el porcentaje del ácido valerénico de la *Valeriana pilosa* R&P y si se puede optimizar el proceso de extracción del ácido valerénico en la *Valeriana pilosa* R&P.

Pajares e Iberico (2007) mencionan que el manejo del hábitat es importante para la correcta regeneración natural de la *Valeriana pilosa* R&P y de otras especies de plantas medicinales silvestres de la zona; lamentablemente las heladas, las malas prácticas de pastoreo y la malas prácticas de recolección de la raíz en estado juvenil hacen que los volúmenes de cosecha sean menores año a año. Durante la visita en junio de 2017, se observó la integración de sistemas agroforestales en los puntos de *Valeriana pilosa* R&P. Sin embargo, se observó la presencia de ganado, cercos de alambres rotos por lo que podría ser un problema socio-cultural. En tal sentido es importante optimizar el uso de la *Valeriana pilosa* R&P a nivel industrial dado que la falta de esta planta silvestre generará un encarecimiento insostenible en el futuro.

II. Marco teórico

Cabieses (1993) menciona que el arsenal completo del herbolario precolombino debe haber incluido un gran número de plantas y otras sustancias naturales que hasta el momento no han sido identificadas. Adicionalmente Gorji y Ghadiri (2001) señalan que, en gran medida, este grupo de plantas curativas ha desaparecido recientemente por haber sido desplazado de la medicina moderna debido a la aparición de drogas sintéticas. Rao, Palada y Becker (2004) mencionan que las plantas medicinales y aromáticas juegan un importante rol en el cuidado de la salud de las personas alrededor del mundo.

2. Valeriana (*Valeriana pilosa* R&P)

2.1 Ubicación taxonômica

Tabla 1. Clasificación taxonômica

Categoría	Taxón
Reino	<u>Plantae</u>
División	<u>Magnoliophyta</u>
Clase	<u>Asteridae</u>
Orden	<u>Dipsacales</u>
Familia	<u>Valerianaceae</u>
Genero	Valeriana
Autores	Hipólito Ruiz y José A. Pavón
Especie	<i>Valeriana pilosa</i> R&P

2.2 Descripción botánica

La *Valeriana pilosa* R&P es una planta herbácea perenne, de crecimiento arrosetado, debido a las hojas basales. El tamaño de la planta varía de 10 hasta 60 cm de altura, hojas lanceoladas, enteras, con vello al borde de los peciolo y en las nervaduras principales; las tonalidades de las hojas varían de verde claro, hasta verde oscuro, incluso con pigmentación púrpura en la base y en el envés de estas (Ramírez et al., 2006) (Tabla 1) (Figura 1) (Figura 18).

Las hojas tienen entre 5 a 30 cm de largo y un ancho promedio de 1.5 a 3.5 cm. El tallo simple o ramificado, de la cual nacen las hojas y con una gran cantidad de yemas vegetativas que originan gran cantidad de hijuelos (Sánchez, 2014). La inflorescencia varía de un color blanco a verde liliáceo, nace casi desde el nivel del suelo y puede alcanzar hasta 0.60 metros de altura. Contiene flores blancas, gibosas de 2 a 3 mm de longitud, corola con cinco lóbulos, tres estambres, pistilo alargado casi a la misma altura de los estambre, con el cáliz verdoso a liliáceo (Ramírez et al., 2006).

Asimismo, Pajares e ibérico (2007) mencionan que la valeriana es una especie altoandina, tiene como hábitat dos tipos de climas: clima húmedo y frío y clima muy húmedo y frío, suelos derivados de diversos materiales geológicos y ecológicamente las encuentra en las zonas de vida bosque-húmedo-montano-tropical y bosque-muy-húmedo-montano-tropical que se ubican en las cotas 3,300 a 4,000 m.s.n.m.

Pajares e Iberico (2007) afirman que la especie de valeriana más solicitada por los laboratorios y agroindustrias es la *Valeriana pilosa*

R&P presente en las jalcas de la región Cajamarca, por lo que constituye una planta muy importante para muchas comunidades de la sierra norte del Perú, debido a que las raíces forman parte de sus ingresos económicos (Ramírez et al., 2006).



Figura 1. Planta de *Valeriana pilosa* R&P en estado silvestre durante la temporada de lluvias.

León (2006) identificó las siguientes especies del género Valerianaceae en territorio peruano: *Valeriana cephalantha* Schltr., *Valeriana comosa* Eriksen, *Valeriana connata* R&P, *Valeriana cumbemayensis* B. Eriksen, *Valeriana globularis* A. Gray, *Valeriana dipsacoides* Graebn., *Valeriana grisiana* Wedd., *Valeriana globiflora* R&P, *Valeriana hadros* Graebn., *Valeriana globularioides* Graebn., *Valeriana herrerae* Killip, *Valeriana isoetifolia* Killip, *Valeriana malvaceae* Graebn, *Valeriana johannae* Weberl., *Valeriana merxmulleri* Seitz, *Valeriana ledoides* Graebn., *Valeriana paniculata* R&P, *Valeriana lyrata* Vahl, *Valeriana pardoana* Graebn., *Valeriana parvula* Killip, *Valeriana plectritoides* var. *pallida*

Graebn., *Valeriana pennellii* Killip, *Valeriana renifolia* Killip, *Valeriana pinnatifida* R&P, *Valeriana rufescens* Killip, *Valeriana plectrioides* Graebn. var. *plectritoides*, *Valeriana serrata* R&P, *Valeriana sphaerocephala* Graebn., *Valeriana tessendorffiana* Graebn., *Valeriana trichomanes* Graebn., *Valeriana verrucosa* Schmale, *Valeriana virgata* R&P, *Valeriana weberbaueri* Graebn.

2.3 Parte utilizada

Raíz

a. Morfología de la raíz

Pajares e Iberico (2007) mencionan que la raíz de la *Valeriana pilosa* R&P “es pivotante simple o furcada, de color amarillento o morado, su sabor es amargo al estado fresco, poco olorosa, pero al estado seco casi insípida pero con un fuerte olor nauseabundo característico”.

La longitud de la raíz puede pasar los 30 cm, con grosores variables de 1 a 3 cm; se desarrolla a partir del cáliz una corona de pelos. Su floración inicia con la época de lluvias de febrero a mayo.

2.4 Hábitat y distribución geográfica

Brako y Zarucchi (1993) no menciona a esta especie en Cajamarca pero manifiestan que se encuentra de 2,500 a 3,500 m.s.n.m. en los Andes de Amazonas, San Martín y Junín.

Sin embargo, Ramírez et al. (2006) mencionan que la valeriana se encuentra en estado silvestre en las Jalcas de Cajamarca, entre los 3,300 y 4,200 m.s.n.m., sin embargo se ha encontrado en menor proporción a 3,200 m.s.n.m. hacia arriba, esta especie se encuentra en

áreas secas en tamaño pequeño y áreas húmedas con buen drenaje se encuentra grandes y suculentas. Machuca (2014) menciona que la *Valeriana pilosa* R&P habita en suelos con abundante materia orgánica, turbosos y musgosos, típica de la zona de Jalca, sin embargo también se encuentra en suelos poco profundos e incluso entre rocas. Esta especie se puede encontrar en las Jalcas de Cajamarca con otras plantas medicinales como la pasuchaca (*Geranium dielsianum* Knuth), muña (*Minthostachys mollis*), Wila wila (*Solanum sisymbriofolium* Lam).

2.5 Descripción Química

La valeriana es una planta muy conocida utilizada en la medicina tradicional por sus propiedades sedantes y ansiolíticas (Houghton, 1999). Numerosos estudios evalúan el uso de extractos de raíz de valeriana para inducir y mejorar la calidad del sueño (Stevinson y Ernst 2000; Hadley y Petry, 2003; Bent, Padula, Moore, Patterson, Mehling, 2006). Debido a que valeriana es una de las pocas plantas que ha sido sometida a pruebas bastante intensivas, a partir de los resultados obtenidos de una evaluación racional de su acondicionamiento como un sedante (Houghton, 1988) (Eadie, 2004) (Edwards, 2010).

European Pharmacopoeia (2004), menciona que “los componentes principales de la valeriana se han identificado como sesquiterpenos de aceites volátiles e iridoides (epoxi-triésteres), El contenido total de aceite volátil varía ampliamente dentro de una única especie y entre diferentes especies”. La *Valeriana officinalis* L de Europa generalmente contiene 0,1% a 2,8% de aceite volátil. El aceite está compuesto de mezclas de derivados de monoterpenos y sesquiterpenos donde el más

importante es el ácido valerénico. También presenta iridoides donde la cantidad de valepotriatos presente varía ampliamente entre las especies y los géneros, incluso dentro de una especie, que generalmente va de 0,5% a 1,2%. Los valepotriatos son particularmente inestables; se descomponen con facilidad bajo los efectos de la humedad, las temperaturas superiores a los 40°C (104°F), o la acidez (pH 5 a 3).

Además, European Pharmacopoeia (2004) menciona que la valeriana “también contiene pequeñas cantidades de ácidos alifáticos, alcaloides, aminoácidos, ácidos fenólicos, flavonoides, ácidos grasos libres, azúcares y sales. Los componentes de la valeriana que posiblemente tengan efectos sedantes incluyen el ácido valerénico, ácido acetoxivalerénico, 1-acevaltrato, baldrinal, didrovaltrato, ácido hidroxivalérico, derivados de kessanos, valeranona, valerenal y valtrato”.

III. Objetivos e Hipótesis

3. Objetivos e Hipótesis

3.1 Objetivo general

Determinar la combinación de parámetros de operación (temperatura, tiempo y solvente) que optimiza el proceso de extracción hidroalcohólica de la *Valeriana pilosa* R&P.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar el porcentaje de sólidos totales de cada uno de los extractos hidroalcohólicos de valeriana (*Valeriana pilosa* R&P).
- Identificar las características fisicoquímicas del extracto de valeriana (*Valeriana pilosa* R&P).
- Identificar las características fisicoquímicas de la raíz de valeriana (*Valeriana pilosa* R&P).

3.3 Hipótesis de investigación

Existe una combinación de parámetros de operación (temperatura, tiempo y solvente) que optimiza el proceso de extracción hidroalcohólica de la *Valeriana pilosa* R&P.

IV. Metodología

4. Materiales y procedimientos

4.1 Ubicación del experimento

El trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Ingeniería Agroforestal y en el Laboratorio de Investigación de Cultivo Celular de la Universidad Científica del Sur.

a. Reactivos

Marcha fitoquímica: Cloroformo, Alcohol etílico, Alcohol amílico, Barrita de magnesio, Hidróxido de sodio 5%, Cloruro de sodio, Cloruro férrico, Reactivo de Dragendorf, Reactivo de Mayer, Reactivo de Wagner, Reactivo de Baljet, Reactivo de Sudan, Reactivo de Fehling, Reactivo de Kedde, Reactivo de Legal.

Cromatografía líquida de alta performance: Estándar de ácido valerénico (SIGMA-ALDRICH), Metanol 0,5 % HPLC, H₂O HPLC, Ácido fosfórico (80:20).

b. Materiales de laboratorio

- 1 Frasco ámbar para almacenar muestra tapa rosca de 1,000 mL
- Embudo Büchner
- 150 placas petri
- 3 Pipetas graduadas 1/10 de 10 mL
- 2 Probetas graduadas de 100 mL
- 12 gradillas de polietileno para 60 tubos.
- 6 fiolas 10 mL
- Papel filtro Whatman N°2.
- 24 Beaker borosilicato de 25 mL

- 2 Beaker borosilicato de 2000 mL
- 6 Beaker borosilicato de 1000 mL
- 50 Tubos de ensayo Pyrex de 13 x 100 mm

c. Equipos

- Sonicador modelo 120 (Fisher Scientific)
- Balanza analítica digital Sartorius modelo ED224S.
- Centrífuga Hettich Zentrifugen, Modelo Mikro 22R.
- Rotavapor, Marca Selecta, modelo RS 3000V.
- HPLC marca HITACHI
- Columna HPLC: C-18, 5 μ m, 4.6 x 250 mm (Alltech Hypersil).
- Planchas de calentamiento CORNING

d. Insumos

Detergente no-iónico, hipoclorito de sodio 5%, alcohol 96%.

4.2 Procedimiento

a. Fase de campo

La raíz de *Valeriana pilosa* R&P se colectó en estado silvestre en las cercanías del centro poblado de Huanico en el distrito de Namora en el Departamento de Cajamarca durante el mes de junio de 2017. Para la extracción de la muestra se consideró que la parte aérea (tallo, hoja y flores) tenga 1 m de altura.

Se tomaron datos georreferenciados y altura utilizando un GPS marca GARMIN modelo GPSMAP 64s. Asimismo, para la recolecta de la raíz de *Valeriana pilosa* R&P se utilizaron palas, patas de cabra y machetes.

Tabla 2. Datos georreferenciados de la toma de muestra.

Medida	Data
Latitud	7°7'0"
Longitud	78° 00'00"
Altitud	3620 m.s.n.m.

b. Proceso de extracción hidroalcohólico

- Selección de la temperatura, tiempo y solventes

Para este punto se utilizaron dos temperaturas: 60°C y 80°C.

Asimismo, se utilizarán dos tiempos: 30 y 20 minutos.

Según Bos (1997), la *Valeriana officinalis* L es soluble en agua y alcohol, dada esa evidencia se decidió utilizar los dos solventes en diferentes concentraciones: Agua, Solución hidroalcohólica de 30 %, 50 %, 70 % y Alcohol 96 %. Para este estudio se utilizaron 2 g de muestra por 25 mL de solvente (Tabla 3).

Tabla 3. Esquema experimental.

Solvente	Temperatura	Tiempo
Agua	60	30
Agua	60	20
Agua	80	30
Agua	80	20
Hidroalcohólico 30 %	60	30
Hidroalcohólico 30 %	60	20
Hidroalcohólico 30 %	80	30
Hidroalcohólico 30 %	80	20
Hidroalcohólico 50 %	60	30
Hidroalcohólico 50 %	60	20
Hidroalcohólico 50 %	80	30
Hidroalcohólico 50 %	80	20
Hidroalcohólico 70 %	60	30
Hidroalcohólico 70 %	60	20
Hidroalcohólico 70 %	80	30
Hidroalcohólico 70 %	80	20
Alcohol 96 %	60	30
Alcohol 96 %	60	20
Alcohol 96 %	80	30
Alcohol 96 %	80	20

- Obtención de los extractos

Se mezclaron el soluto y el solvente en relación 2:25 colocándolos en las planchas de calentamiento por el tiempo y temperatura determinado. Luego pasaron por un sistema de filtración a vacío y posteriormente a una fiola de 25 mL donde se enrazo con el solvente utilizado en la extracción. La fiola fue agitada para que se mezcle el extracto con el solvente adicional obteniendo 10 mL con una pipeta graduada y finalmente se colocó la solución en placas Petri previamente pesadas. Las placas con la solución se colocaron en un horno a 70°C por 60 minutos hasta que la solución se evaporo completamente. Este proceso se repitió seis veces (Tabla 3) (Figura 2).

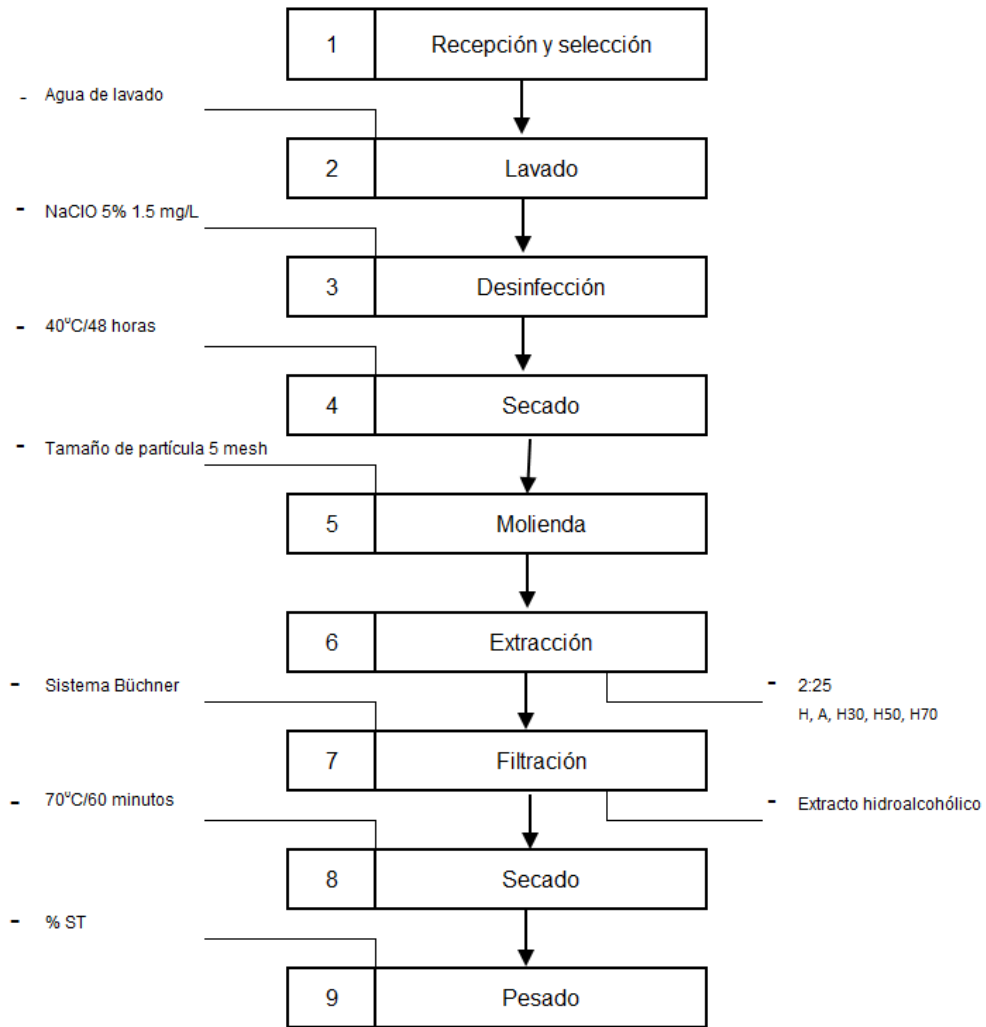


Figura 2. Diagrama de flujo para la obtención del porcentaje de sólidos totales de *Valeriana pilosa* R&P.

- Recepción y selección de la raíz de valeriana

La muestra de raíz de *Valeriana pilosa* R&P llegó pre-seleccionada y compactada en sacos de rafia recogidos directamente del campo. La selección de la muestra se realizó mediante una tamizadora de acero inoxidable para desechar objetos extraños y tierra proveniente de la zona de recolección. Asimismo, solo se aceptó raíces de *Valeriana pilosa* R&P en buenas condiciones (no podridas) (Figura 3).

- Lavado

El lavado de la muestra se realizó en una tina perforada de acero inoxidable con agua potable.

- Desinfección

La desinfección de la muestra se realizó en la tina de acero inoxidable. Para la desinfección se utilizaró hipoclorito de sodio al 5 % en una disolución con agua potable de 1.5 mg/L.

- Secado

El secado de la muestra se realizó en un horno de laboratorio a 40°C por 48 horas (Figura 3).



Figura 3. Raíz seca de *Valeriana pilosa* R&P.

- Molienda

Inicialmente la muestra seca fue triturada manualmente y luego pulverizada por una licuadora especial para luego ser nuevamente tamizado a una granulometría MESH 5 (Figura 4, 5 y 6).



Figura 4. Triturado manual (a) y Pulverización de la raíz seca triturada de *Valeriana pilosa* R&P (b).

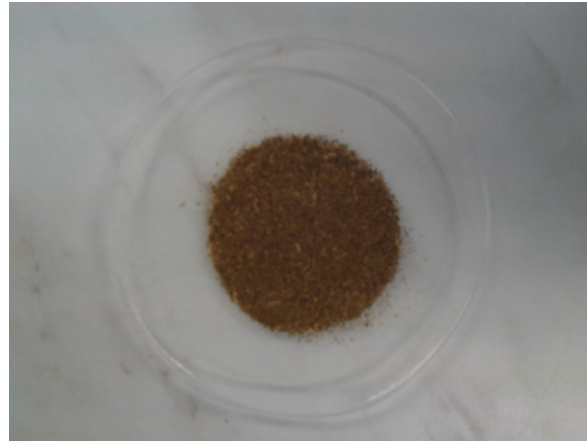


Figura 5. *Valeriana pilosa* R&P pulverizada.



Figura 6. *Valeriana pilosa* R&P pulverizada y almacenada en frasco ámbar.

- Extracción simple

Para obtener el extracto se utilizó el método de extracción simple utilizado por Bos (1997) y mencionado en la European Farmacopoeia (2004); basado en extraer lo máximo de un soluto, en este caso la *Valeriana pilosa* R&P. (Figura 7, 8 y 9).

Los extractos acuosos, hidroalcohólicos y alcohólicos fueron obtenidos por triplicado para reducir el error de muestra. Cada corrida de extracción mantuvo los parámetros establecidos en la Tabla 3.

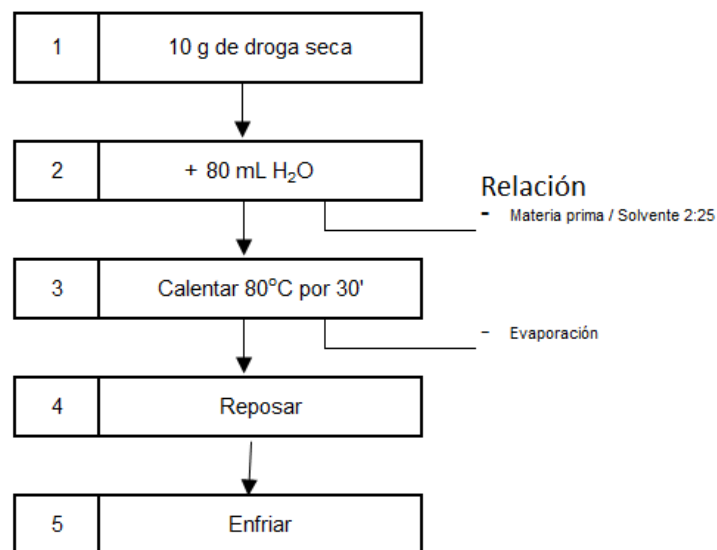


Figura 7. Diagrama de flujo de extracción simple.



Figura 8. Extracción simple.

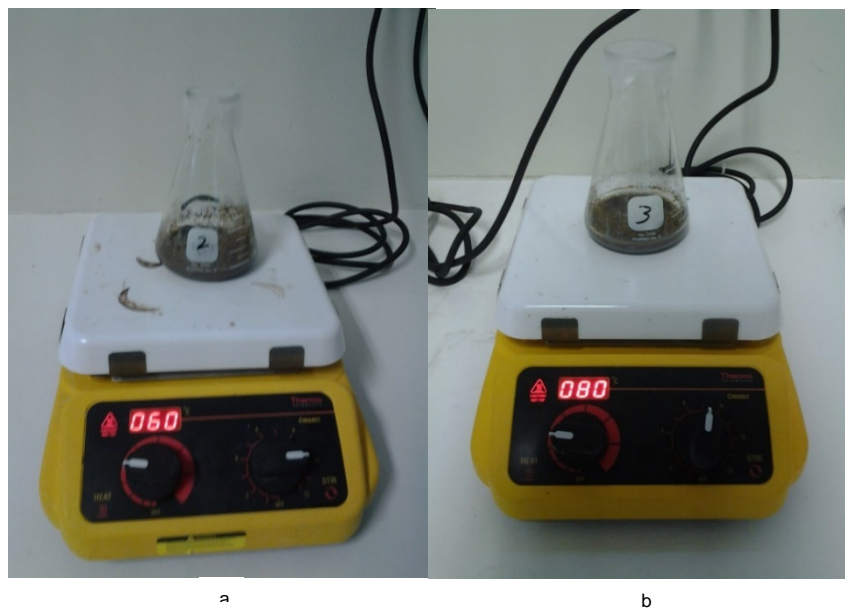


Figura 9. Extracción simple a 60°C (a) y extracción a 80°C (b).

- Filtración

El extracto fue centrifugado en el laboratorio. Luego se separó el extracto líquido de los sedimentos y finalmente fue filtrado a través de una bomba de vacío con el sistema Büchner utilizando un filtro cualitativo grado 1 marca WHATMAN (Figura 10, 11 y 12).

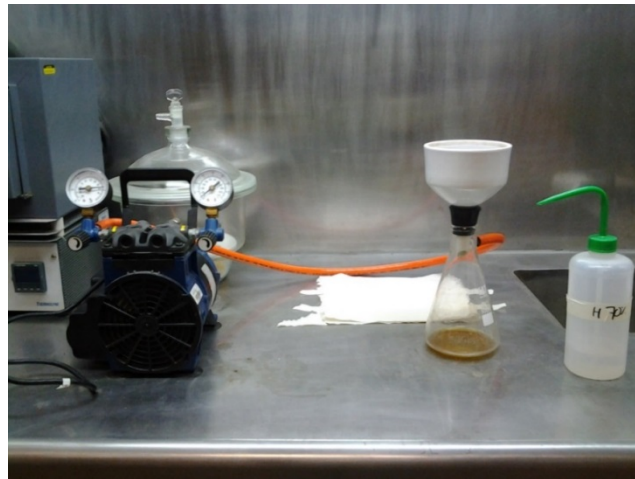


Figura 10. Sistema de filtración Büchner.

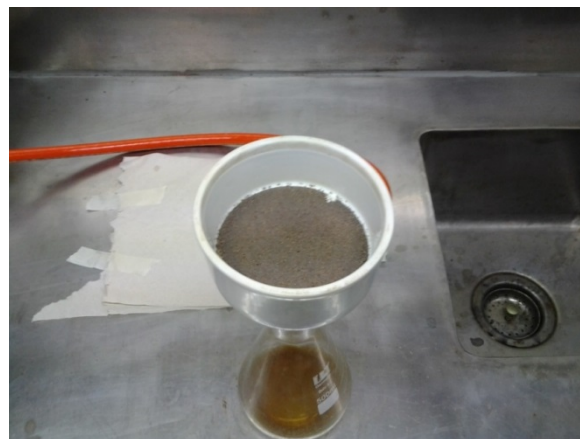


Figura 11. Completa filtración del extracto de *Valeriana pilosa* R&P.

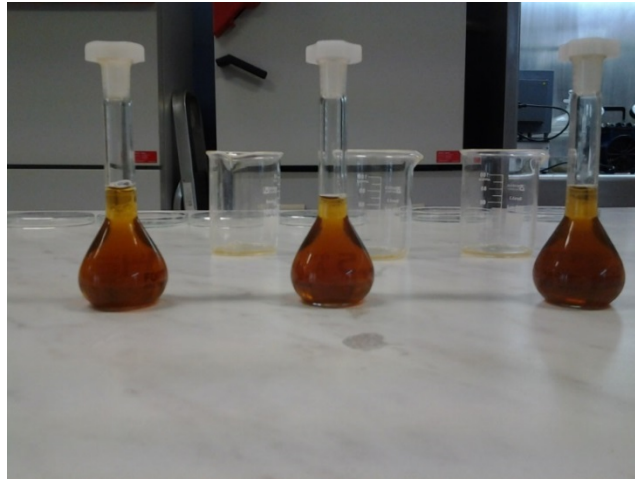


Figura 12. Extractos de *Valeriana pilosa* R&P totalmente filtrados colocados en fioles de 10 mL.

- Secado

Se colocaron 10 mL de extracto en placas Petri previamente pesadas para luego ser llevadas a un horno de laboratorio a 70°C por 60' (Figura 13).



Figura 13. Extractos de *Valeriana pilosa* R&P secados en horno.

- Pesaje

Se pesaron las placas con el extracto totalmente seco, previamente se dejó enfriar en una olla de humedad por 10 minutos. El pesaje final de las placas permitió obtener el cálculo del porcentaje de sólidos totales.

c. Determinación de los sólidos totales

La determinación de los sólidos totales se desarrolló pesando las placas Petri vacías en una balanza analítica. Luego, obtuvieron los extractos de *Valeriana pilosa* R&P, se colocaron en las placas Petri y se llevaron al horno hasta su completo evaporación. Se dejaron enfriar las placas Petri con el extracto evaporado y finalmente se pesaron. La data obtenida fue calculada bajo la siguiente fórmula:

$$ST = \frac{P_{seco} - P_{vacío}}{P_{inicial}} \times 100$$

d. Diseño Estadístico

Los resultados fueron analizados con el programa R versión 3.5.1, el análisis factorial implementado a nivel de laboratorio para la obtención de los extractos comprende los factores: temperatura de extracción (60 y 80 °C; dos niveles), tiempo de extracción (20 y 30 min; dos niveles) y solución hidroalcohólico (0 %, 30 %, 50 %, 70 % y alcohol 96 %: cincuenta niveles). Los resultados fueron sometidos a pruebas no paramétricas equivalentes al análisis de

varianza. Esta prueba se conoce como Kruskal Wallis utilizada para la comparación de medianas.

Para la evaluación de los efectos individuales de la temperatura, el tiempo de extracción y la solución hidroalcohólica sobre la extracción de sólidos totales en los diferentes tratamientos se realizaron pruebas de comparaciones múltiples post-hoc.

e. Pruebas de caracterización físico-química

- Marcha fitoquímica

La marcha fitoquímica se llevó a cabo de acuerdo a la técnica desarrollada por Espinoza, Leonardo y Arévalo (2014) en donde se obtuvo el conjunto de metabolitos secundarios de las muestras mediante la exposición a solventes hidroalcohólicos. La reacción química colorimétrica se catalogó cualitativamente en “+++” (alto), “++” (medio), “+” (bajo), “-“ (nulo) del metabolito estudiado. La prueba se repitió tres veces (Figura 14).

Se reconstituyó la muestra seca en un vaso de precipitado utilizando como solvente etanol de 96 % en la misma proporción antes de ser evaporado. Posteriormente se llevó al agitador por un media hora, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se filtró, luego se procedió a realizar las pruebas para cada uno de los metabolitos. De la misma manera y en la misma proporción se elaboró el extracto acuoso para las pruebas que no necesitan alcohol.

Las pruebas que se realizaron fueron para determinar: Alcaloides (Prueba de Dragendorff, Mayer y Wagner); Quinonas (Prueba de Borntrager); Cumarinas (Prueba de Baljet), Fenoles/taninos (Prueba de FeCl_3); Aminas (Prueba de ninhidrina), Aceites esenciales (Prueba de sudan); Azúcares reductores (Prueba de Fehling), Saponinas (Prueba de la espuma); Triterpenos (Prueba de Lieberman-Burchad); Flavonoides (Prueba de Shinoda); Glicosidos (Prueba de Kedde), Carotenos (Prueba de Legal).

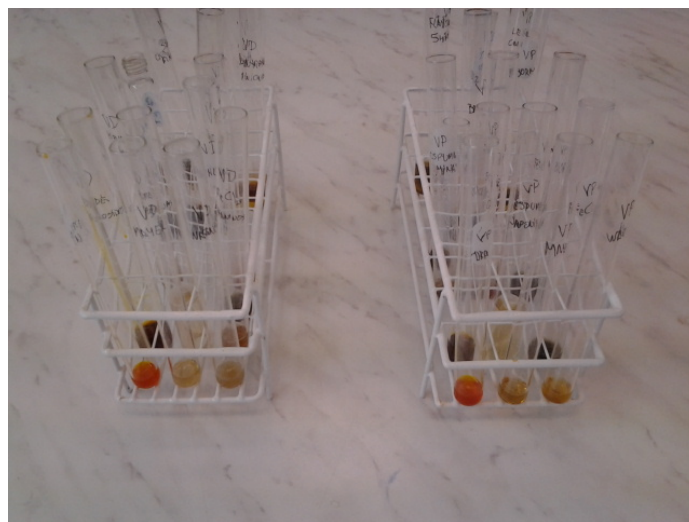


Figura 14. Marcha fitoquímica de la *Valeriana pilosa* R&P.

- Cromatografía líquida de alta performance (HPLC)

Para el análisis de cuantificación del ácido valerénico se utilizó la metodología mencionada en European Pharmacopoeia (2004) para dicho análisis de la raíz de valeriana se pesó 2 g de polvo fino de raíz seca y transfirió a un matraz erlenmeyer de 100 mL. Luego se diluyo el volumen con metanol y agua en relación 80:20 y

finalmente se llevó a un sonicador por 30 minutos. Se filtró la porción a través de un filtro de 0.45 μm en un vial de HPLC.

- Preparación del estándar

Se utilizó la técnica que menciona European Pharmacopoeia (2004). Se pesó con precisión 5 mg de estándar de ácido valerénico (SIGMA ALDRICH) en un matraz de 100 mL, luego se diluyó a volumen con metanol:agua (80:20) y finalmente se llevó a un sonicador por 15 minutos. Todo el procedimiento se realizó teniendo en cuenta la ficha de seguridad del estándar (Anexo VIII).

- Estabilidad y almacenamiento de preparaciones

Se utilizó la técnica que menciona European Pharmacopoeia (2004).

- Análisis HPLC (materiales)

- Columna: C-18, 5 μm , 4,6 x 250 mm (Alltech Hypersil).
- Fase móvil: Metanol: ácido fosfórico al 0,5 % (80:20).
- Flujo: 1,5 ml / minuto.
- Detección: 225 nm.
- Inyección: 20 μL .
- Tiempo de corrida: 15 minutos.

Orden de elución: Ácido hidroxivalerénico, ácido acetoxivalerénico, ácido valerénico, valeranal.

V. Resultados

5. Valeriana pilosa R&P

5.1. Muestra de Valeriana pilosa R&P



Figura 15. Constancia de identificación botánica.

5.2. Porcentaje de sólidos totales

a. Cálculo de sólidos totales

En la tabla 4, se muestran los resultados del porcentaje de sólidos totales (% ST), los cuales fueron calculados utilizando la data correspondiente a los 240 pesajes de las placas petri vacías con las placas Petri con extracto totalmente evaporado. Los resultados de porcentaje de sólidos totales (% ST) que se obtuvieron fueron de 120 tratamientos, que seguidamente fueron analizados por el análisis estadístico correspondiente.

Tabla 4. Cálculo del porcentaje de sólidos totales.

Tratamiento	R1	R2	R3	R4	R5	R6
(H:60°C:30')	1.065	1.085	1.102	1.097	1.150	1.140
(H:60°C:20')	1.303	1.171	1.143	1.332	1.118	1.200
(H:80°C:30')	1.214	1.212	1.025	1.115	1.050	1.121
(H:80°C:20')	1.157	1.168	1.150	1.122	1.163	1.155
(H30:60°C:30')	1.109	1.116	1.151	1.157	1.124	1.115
(H30:60°C:20')	1.084	1.104	1.136	1.143	1.097	1.108
(H30:80°C:30')	1.121	1.131	1.115	1.123	1.073	1.084
(H30:80°C:20')	1.057	1.050	1.106	1.096	1.054	1.046
(H50:60°C:30')	1.143	1.151	1.183	1.185	1.148	1.172
(H50:60°C:20')	1.191	1.298	1.355	1.315	1.303	1.120
(H50:80°C:30')	1.269	1.243	1.232	1.210	1.233	1.156
(H50:80°C:20')	1.096	0.977	1.167	1.172	1.178	1.173
(H70:60°C:30')	1.057	1.647	1.251	1.396	1.195	1.470
(H70:60°C:20')	1.262	1.435	1.343	1.283	1.311	1.275
(H70:80°C:30')	1.124	1.201	1.141	1.395	1.165	1.269
(H70:80°C:20')	1.201	1.207	1.273	1.280	1.279	1.293
(A:60°C:30')	1.173	1.171	1.720	1.191	1.179	1.190
(A:60°C:20')	1.226	1.165	1.206	1.181	1.161	1.244
(A:80°C:30')	1.153	1.216	1.217	1.279	1.357	1.198
(A:80°C:20')	1.220	1.295	1.223	1.274	1.203	1.218

Tabla 5. Comparación de medianas del % ST.

Método	Data
Chi-cuadrado	77.998
df	19
p-value	4.105e-09

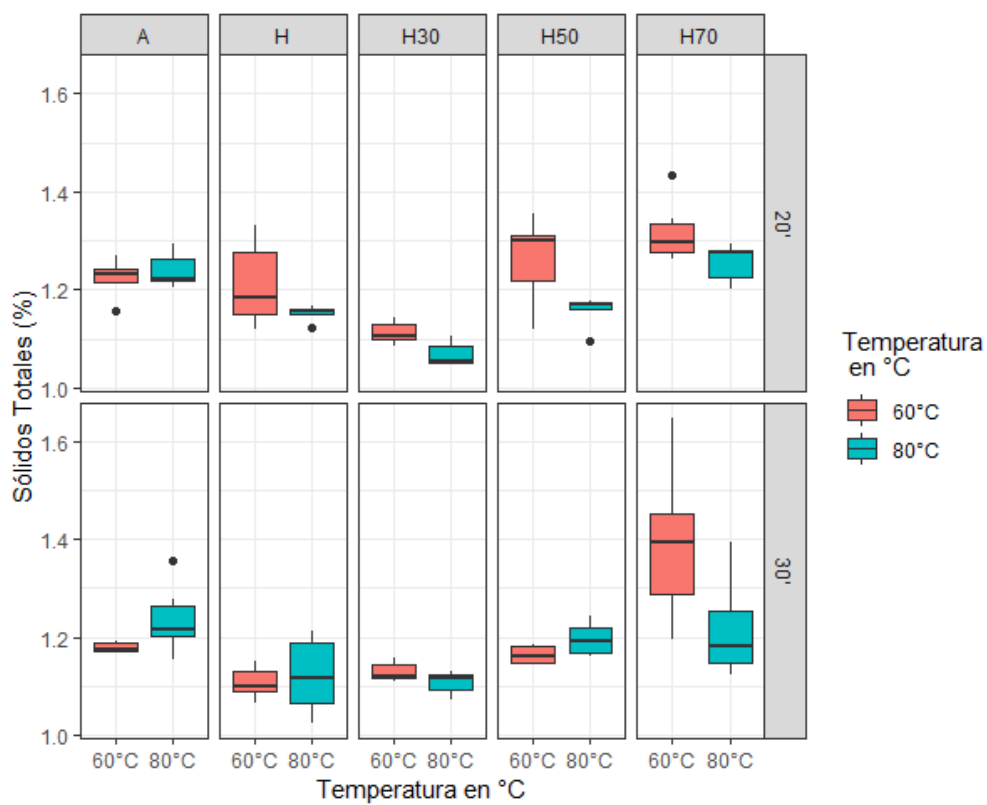


Figura 16. Efecto individual de las variables que influyen en el % ST.

Tabla 6. Comparaciones múltiples post-hoc del % ST.

Tratamiento	Data
A:60°C:20'	abc
A:60°C:30'	ad
A:80°C:20'	be
A:80°C:30'	abcef
H:60°C:20'	abcdefgh
H:60°C:30'	ij
H:80°C:20'	fgh
H:80°C:30'	acdfghij
H30:60°C:20'	ij
H30:60°C:30'	gi
H30:80°C:20'	j
H30:80°C:30'	ij
H50:60°C:20'	abcdefh
H50:60°C:30'	dgh
H50:80°C:20'	adfg hij
H50:80°C:30'	abcd
H70:60°C:20'	e
H70:60°C:30'	abcdefghi
H70:80°C:20'	bce
H70:80°C:30'	abcdefgh

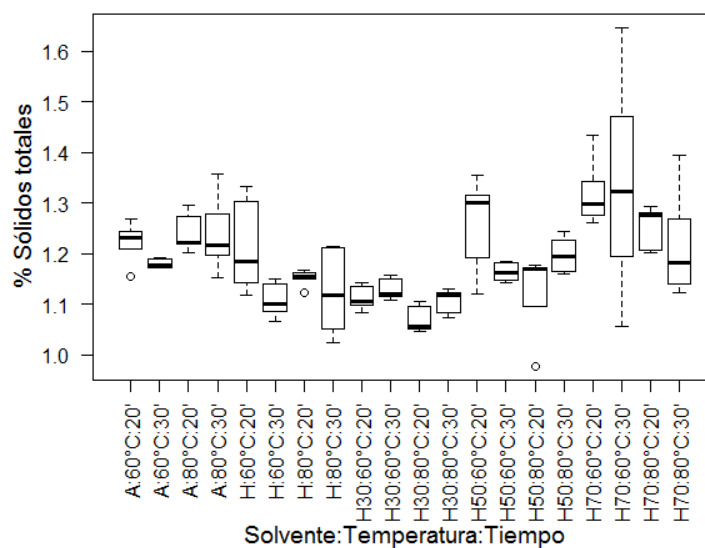


Figura 17. Combinación de variables que influyen en el contenido del % ST.

5.3 Caracterización preliminar de los extractos obtenidos

a. Marcha fitoquímica

La prueba para la *Valeriana pilosa* R&P determinó la nula presencia (-) de carotenos, quinonas, fenoles/taninos, azúcares reductores, glicósidos y cumarinas; la baja presencia (+) de alcaloides, aminos, flavonoides y saponinas y la mediana presencia (++) de aceites esenciales y terpenos.

Tabla 7. Resultados promedio marcha fitoquímica. Desarrollado por triplicado.

REACCIÓN DE	METABOLITO SECUNDARIO	EXTRACTO ALCOHOLICO	EXTRACTO ACUOSO
NINHIDRINA	AMINAS	+	
LEGAL	CAROTENOS	-	
KEDDE	GLICOSIDOS	-	
SHINODA	FLAVONOIDES	+	
MAYER	ALCALOIDES		+
WAGNER	ALCALOIDES		+
DRAGENDORF	ALCALOIDES		+
SUDAN	ACEITES ESENCIALES		++
FEHLING	AZUCARES REDUCTORES		-
ESPUMA	SAPONINAS		+
GELATINA	TANINOS		-
BORNRANGER	QUINONAS		-
BALJET	CUMARINAS		-
LEIBERMAN-BURCHAD	TERPENOS		++

- Presencia nula (-)

Se sabe que la parte funcional de la valeriana es la raíz la cual no está expuesta a los rayos solares y no hace fotosíntesis por tanto la raíz no tiene carotenos tal como lo muestra el ensayo fitoquímico por triplicado, sin embargo, existía la posibilidad de contener quinonas, fenoles/taninos, azúcares reductores, glicósidos y/o

cumarinas. Se corroboró que los metabolitos mencionados no están presentes en la *Valeriana pilosa* R&P según la prueba realizada para dicho estudio.

- Presencia baja (+)

No se observó un cambio de coloración considerable para concluir la presencia sustancial de los metabolitos.

- Presencia media (++)

Se observó un cambio de coloración medio para concluir que la *Valeriana pilosa* R&P contiene aceites esenciales y terpenoides (sesquiterpenos).

- Presencia alta (+++)

No se observó un cambio de coloración considerable para concluir la presencia sustancial de los metabolitos.

b. Cromatografía líquida de alto performance (HPLC)

En la tabla 8 y 9, se presentan los valores obtenidos de la cuantificación del ácido valerénico total de la materia prima pulverizada de *Valeriana pilosa* R&P. Se realizó el análisis de la valeriana basándonos en la generalidad de los parámetros descritos en la literatura (Anexos I, II, III, IV, V, VI y VII).

Tabla 8. Resultados de análisis HPLC de la muestra de *Valeriana pilosa* R&P.

Tratamiento	Data	Tratamiento	Data
Mp1.1_1	496.63544	Mp1.2_1	491.64886
Mp1.1_2	498.36160	Mp1.2_2	499.33377
Promedio	497.49852	Promedio	495.49132
%RSD	0.25	%RSD	1.10

Tabla 9. Resultados de análisis HPLC del standard de ácido valerénico.

Tratamiento	Data	Tratamiento	Data
St1.1	1306.86218	St2.1	1305.21936
St1.2	1301.38525	St2.2	1305.96765
St1.3	1301.04651	St2.3	1306.07458
Promedio	1304.42592	%RSD	0.19

VI. Discusión

6.1. Sistemas Agroforestales con *Valeriana pilosa* R&P.

Pajares e Ibérico (2007) mencionan que el manejo del hábitat es importante para la correcta regeneración natural de la *Valeriana pilosa* R&P y de otras especies de plantas medicinales. Recomiendan mantener el estado natural de la jalca zonificando y encerrando las áreas de recolección de la zona, separándolas del pastoreo y la agricultura de pan llevar, sin duda es un ambiente muy hostil. El ecosistema de jalca ha sido afectado por la actividad minera durante años. Sin embargo, las concesiones de extracción de mineral están comenzando a cerrar y a desarrollar planes de cierre de mina; las condiciones actuales de la jalca promueven el desarrollo de sistemas agroforestales con cultivos andinos integrando especies de *Pinus* sp. con afloración de hongos *Suillus luteus* los cuales son comestibles. Asimismo, los locales mencionan que las plantaciones han sido diseñadas en forma de barrera para proteger de las heladas al ganado y a las plantas medicinales silvestres.

Pajares e Iberico (2007) también mencionan que la *Valeriana pilosa* R&P no puede tener sombra porque necesita radiación solar directa ya que eso es de suma importancia para el crecimiento de las raíces, a la fecha, algunas zonas de la jalca del distrito de Huanico cercan con palos y alambres las zonas de recolección de *Valeriana pilosa* R&P silvestre.

6.2. Porcentaje de sólidos totales

Tal como se ha descrito la presente investigación muestra los resultados del % ST en base a las variables dependientes, los procesos de extracción hidroalcohólica y el pesaje de 240 placas (peso inicial y final) durante el ejercicio de la tesis.

La prueba no paramétrica chi-cuadrado indica que existen diferencias significativas entre al menos dos medianas ($p\text{-valor} = 4.105 \times 10^{-09}$) lo que demuestra que los tratamientos tienen una importancia significativa para hallar el tratamiento que optimiza la obtención del % ST (Tabla 5).

Trabajar con un mayor número de tratamientos y repeticiones nos permite hacer una descripción más real del mayor contenido % ST que ocurren durante el proceso de extracción (Tabla 6). El presente estudio considera importante identificar las variables solvente, temperatura y tiempo en la determinación del % ST de la *Valeriana pilosa* R&P. Sin embargo, Bos (1997) y European Pharmacopoeia (2004) solo consideran la temperatura y el tipo de solvente para desarrollar extractos a partir de *Valeriana officinalis* L. Un trabajo realizado por Rivero, Rodríguez, Menéndez, Fernández, Del Barrio y Gonzáles (2002) considera que las variables solvente y tiempo, son importantes pero no diferentes temperaturas en la obtención de antracenderivados en *Aloe vera* L para tratar la herpes simple, siendo el objetivo principal determinar el proceso que obtenga mayor contenido de antracenderivados.

Como se puede apreciar en la figura 17, los procesos de extracción tuvieron una variabilidad significativa. Es importante definir un protocolo

de extracción a fin obtener un mayor contenido de % ST. Según dicha gráfica los tratamientos que tuvieron 20 minutos de extracción obtuvieron mayor contenido de % ST. Sin embargo, el tratamiento que obtuvo mayor contenido de % ST fue el que se utilizó una solución hidroalcohólica al 70 % a 60°C por 30 minutos (H70:60°C:30'). El efecto de la temperatura, tiempo y tipo de solvente en el % ST tuvo un efecto significativo muy disperso en la optimización para obtener mayores sólidos de *Valeriana pilosa* R&P.

Es importante señalar que los tratamientos con solución hidroalcohólica al 70 % obtuvieron mayor contenido del % ST que otras solventes utilizados en el experimento (Tabla 16) y esto se puede ser relacionado en las metodologías de preparación de la *Valeriana officinalis* L realizado por Bos (1997) y citado por The American Herbal Pharmacopoeia (1999) el cual señala que para una tintura, extracto fluido o extracto deshidratado se debe utilizar una solución hidroalcohólica al 70 %. Asimismo, European Pharmacopoeia (2004) recomienda utilizar solventes hidroalcohólicos entre 40-70 %, no especifica exactamente el ideal.

6.3. Caracterización fitoquímica y cromatográfica

a. Marcha fitoquímica

De Souza, Bassani, González Ortega, Dalla Costa, Petrovick (2001) y Souza (1993) menciona que el estudio fitoquímico es fundamental para la investigación científica de plantas medicinales. Sin embargo también es importante investigar sobre los diferentes usos a nivel del folclor en la medicina tradicional local. Hattesoehl, Feistel, Sievers, Lehnfeld, Hegger, Winterhoff (2008).

Según Bos (1997) y Villar y Carretero (2001), la *Valeriana officinalis* L contiene pequeñas trazas de alcaloides, flavonoides y aminos. Esto fue corroborado por el presente estudio. Sin embargo, no menciona acerca de trazas de saponinas, las cuales contiene en pequeñas cantidad en la *Valeriana pilosa* R&P según el presente estudio y detectadas en otro estudio realizado por Pajares e Iberico (2007).

Hadley y Petry (2003), Bos (1997), European Pharmacopoeia (2004) y The American Herbal Pharmacopoeia (1999) mencionan que *Valeriana officinalis* L al igual que en otras especies de valeriana poseen en mediana y/o alta presencia de aceites esenciales y los terpenoides. Lo cual fue corroborado en el presente estudio que dichos compuestos también están presentes en la *Valeriana pilosa* R&P.

b. Cromatografía líquida de alto performance (HPLC)

Durante el estudio se realizó una cromatografía en capa fina para detectar la presencia del ácido valerénico con la técnica de The American Herbal Pharmacopoeia (1999) (Anexo VIII). Con ese primer indicio más la detección de aceites esenciales y terpenoides por análisis fitoquímico se decidió realizar la cuantificación por cromatografía líquida de alta performance o también llamado HPLC.

El análisis HPLC del standard de ácido valerénico presenta una estabilidad poco volátil lo que dio a su correcta cuantificación variando los resultados % RSD: 0.19 del total lo cual no se considera significativo según la literatura.

Como se puede observar, el análisis para cuantificar la *Valeriana pilosa* R&P de MP1.1_1 y MP1.1_2 tuvo muy poca variación % RSD: 0.25 %. Sin embargo, la segunda corrida del análisis MP1.2_1 y MP1.2_2 tuvo un incremento de variación durante el análisis, probablemente se debió a un mayor tiempo de dilución de la muestra con el solvente en MP1.2_2 LAT: 499.33377 mientras que MP1.2_1 mostró un LAT de 491.64886 arrojando un %RSD de 1.10 % el cual es un porcentaje elevado de variación.

Por otro lado, si bien las dos corridas pertenecientes al ítem MP se han calculado por separado todos los LAT promediados resulta 496.49492 dando un RSD de 0.68842 % lo cual indica que sigue siendo una variación no significativa según American Herbal Pharmacopoeia (1999) y European Pharmacopoeia (2004).

El cálculo automático del equipo cromatográfico muestra que la de raíz de *Valeriana pilosa* R&P presenta un contenido promedio (MP1.1 y MP1.2) de concentración de ácido valerénico de 0.4972 mg/g con un % RSD de 0.29 % según la metodología utilizada, European Pharmacopoeia (2004). En el mundo las empresas vendedoras de nutracéuticos e ingredientes farmacéuticos ofrecen a la industria extractos de *valeriana officinalis* L con ácido valerénico en diferentes presentaciones 0.15 %, 0.3 %, 0.45 %, 0.6 % y 0.8 % cuantificados por HPLC utilizando otras metodologías de cuantificación dependiendo del país.

VII. Conclusiones

Esta investigación se ha desarrollado considerando un mecanismo de 120 ensayos en 20 tratamientos en los cuales se tomó en cuenta variables importantes para una óptima extracción hidroalcohólica. Estas han permitido determinar un protocolo de extracción óptimo (H70:60°C:30') de % ST para la *Valeriana pilosa* R&P, este resultado final a nivel laboratorio ayuda a tener una primera concepción de una línea de producción de un ansiolítico de *Valeriana pilosa* R&P obtenida de las jalcas de Cajamarca, obteniendo buenos rendimientos de extracción, por tanto, se generarán mayores rendimientos e ingresos económicos reduciendo la merma de producción.

Asimismo, la extracción hidroalcohólica se considera un proceso tecnológico de mayor valor agregado que otros procesos que transforma la valeriana en productos terminados, dada la naturaleza del extracto y del % ST la *Valeriana pilosa* R&P podrá ser utilizada como ingrediente en formulaciones de productos nutracéuticos y farmacéuticos.

La información obtenida de los modelos estadísticos es de suma importancia puesto que ayuda a determinar el mejor protocolo de extracción para *Valeriana pilosa* R&P. Indudablemente existen otras especies de valeriana que no obtendrán la misma cantidad de % ST por lo que esta investigación se enfoca en las principales variables como la temperatura, tiempo y tipo de solvente en el estudio de la valeriana así como en otras referencias bibliográficas consultadas.

Con el %ST definido se puede optar por seguir desarrollando mayores niveles de transformación como es el caso de la extracción múltiple a contracorriente hidroalcohólica, la concentración del extracto hidroalcohólico y la liofilización

del producto seco terminado para uso como ingredientes en formulaciones de productos nutracéuticos y farmacéuticos, el subsiguiente estudio serían las pruebas en animales y humanos a fin de obtener un certificado de medicamento herbario ante la entidad competente, la Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas (DIGEMID).

Los diferentes metabolitos presentes en la valeriana fueron identificados aunque por revisión bibliográfica se tenía un indicio del principal principio activo de uso recurrente por las industrias. Las diferentes farmacopeas mencionan que la valeriana posee aceites esenciales y terpenoides entre ellos el más importante el ácido valerénico el cual fue identificado y cuantificado por el análisis físico-químico de cromatografía de alta performance (HPLC).

En la industria de medicamentos herbarios es de suma importancia identificar y cuantificar los principios activos de las plantas en este caso específico se encontró una fuerte relación entre el principio activo y el rendimiento de la materia prima reflejado en el resultado obtenido de la investigación del % ST en la *Valeriana pilosa* R&P.

VIII. Recomendaciones.

El presente estudio determinó aspectos importantes de la *Valeriana pilosa* R&P. Sin embargo, es importante evaluar otros parámetros y tratamientos que puedan influir en la mayor obtención de sólidos totales, optimizando aún más el proceso de extracción. Asimismo, se debe investigar el mismo proceso con otras especies del género Valerianaceae. La optimización del extracto hidroalcohólico se genera para desarrollar un sistema de extracción a nivel industrial, con esta premisa se podrá obtener mayores lotes de producto a granel, por tanto, los costos de producción serán menores si solo si la planta cumple en una economía de escala considerable. Asimismo, se recomienda dar un mayor valor agregado pudiéndose liofilizar los extractos ampliando la gama de presentaciones con un solo producto, como también ofrecer el extracto en diferentes concentraciones. Consultando a especialistas en el tema, el Ing. Juan Seminario Cunya de la Universidad Nacional de Cajamarca, el Ing. Cesar Villar Velásquez del Instituto Cuencas Andinas de Cajamarca y el Ing. José Eduardo Ángeles Millones del INIA Estación Baños del Inca – Cajamarca mencionan que los planes de manejo de la valeriana y otras plantas medicinales solo son para identificar el porcentaje de regeneración natural más no del cultivo en sí, se recomienda al Ministerio de Agricultura y Riego del Perú proteger a las plantas medicinales silvestre del ecosistema de jalca estableciendo un sistema integrado de aprovechamiento agrosilvopastoril dando opciones al poblador de elegir por mejores opciones de ingresos económicos.

IX. Referencias bibliográficas

1. Allemandi, D., Bucala, V., Gallo, L., Palma, S., Piña, J., y Ramirez-Rigo, MV. (2012). *Valeriana officinalis* L Dry Plant Extract For Direct Compression: Preparation And Characterization. *Sci Pharm.* 80, 1013 – 1026.
2. Bent, S., Padula, A., Moore, D., Patterson, M., y Mehling, W. (2006). Valerian for sleep: a systematic review and meta-analysis. *American Journal of Medicine* 119,1005–1012.
3. Bos, R. (1997). Analytical and phytochemical studies on valerian and valerian based preparations. *Rijksuniversiteit Groningen.* 21 – 24.
4. Bos, R., Hendriks, H., Scheffer, JC., y Woerdenbag, H. (1998). Cytotoxic potential of valerian constituents and valerian tinctures. *Phytomedicine.* 5, 219 – 225.
5. Bounthanh, C., Bergmann, C., Beck, J., Haag-Berrurier, M., y Anton, R. (1981). Valepotriates, a new class of cytotoxic and antitumor agents. *Planta Medica.* 41, 21–28.
6. Brako, L., y Zarucchi, J. (1993). *Catálogo de las Angiospermas y Gimnospermas del Perú. Monografías en Botánica Sistemática.* Missouri Botanical Garden. Misuri – Estados Unidos. Vol. 45.
7. Braun, R., Dittmar, W., Machut, M., y Weickmann, S. (1982). Valepotriates with epoxy structure - beatfiche alkylating agents. *German Pharmacists Zeifung.* 122, 1109 – 1113.
8. Cabieses, F. (1993). *Apuntes de medicina tradicional, la racionalización de lo irracional.* Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Lima – Perú. Tomo 2, 18 - 20 P.

9. De Souza, T., Bassani, V., González Ortega, G., Dalla Costa, T. y Petrovick, R. (2011). Influence of adjuvants on the dissolution profile of tablets containing high dose of spray-dried extract of *Maytenus ilicifolia*. *Pharmazie*. 56, 730 – 733.
10. Díaz, M. “Ingeniería de bioprocesos”. Capítulo 14. Manejo de sólidos. Ediciones Paraninfo, 2012 pág. 251-253.
11. Eadie, M. (2004). Could Valerian have been the first anticonvulsant?. *Epilepsia*. 45, 1338 – 1343.
12. Edwards, B. (2010). Aging and sleep: Physiology and pathophysiology. *Semin Respir Crit Care Med*; 31(5), 618 – 633.
13. Espinoza P., Leonardo, J., y Arévalo, F. (2014). Marcha fitoquímica de *Aristiguetia gayana* “Asmachilca”. Departamento de Química. Universidad Agraria La Molina. Lima, Perú
14. European Pharmacopoeia. (2004). European Pharmacopoeia 5th Edition. Council of Europe (COE) – European Directorate for the Quality of Medicines, Vol I.
15. Gorji, A. y Ghadiri, M. (2001). History of epilepsy in Medieval Iranian medicine. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 25: 455–461.
16. Hadley, S. y Petry, JJ. (2003). Valerian. *Am Fam Physician*. 67(8): 1755-1758.
17. Hattesoehl, M.; Feistel, B.; Sievers, H.; Lehnfeld, R.; Hegger, M. y Winterhoff, H. (2008). Extracts of *Valeriana officinalis* L s.l. show anxiolytic and antidepressant effects but neither sedative nor myorelaxant properties. *Journal of Phytomedicine*. 15: 2–15.

18. Houghton, P. (1988). The biological activity of valerian and related plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 22: 121–142.
19. Houghton, P. (1999). The scientific basis for the reputed activity of valerian. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 51(5): 505–512.
20. León, B. (2006). Valerianaceae endémicas del Perú. *Revista Peruana de Biología*. Número especial 13(2): 663s – 668s.
21. Lieberman, H.; Lachman, L.; Schwartz, J. (1990). *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets*. 2nd ed., New York: Marcel Dekker.
22. Machuca, C. (2012) Comparativo de cuatro dosis de compost y dos tipos de hijuelo en la propagación de valeriana (*Valeriana pilosa* R&P), en áreas de cierre de mina – Yanacocha – Cajamarca. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cajamarca. Cajamarca.
23. Pajares, U. e Iberico, G. (2007). Plan de Manejo de la *Valeriana pilosa* R&P “Valeriana” y *Geranium sessiliflorum* Cav. “Pasuchaca” en la provincia de Cajamarca. Instituto para la Conservación y Desarrollo Integral Sostenible de Cuencas Andinas y Cooperación Alemana GTZ. Cajamarca – Perú.
24. Ramirez, J.; Terán, R.; Sánchez, I.; Seminario, J. (2006). Etnobotánica de la valeriana (*Valeriana* spp.) en la Jalca de Cajamarca, Perú. *Revista Arnaldoa* 13(2): 370-381
25. Rao, M.; Palada, M.; Becker, B (2004). Medicinal and aromatic plants in agroforestry systems. *Agroforestry Systems* 61: 107-122
26. Rivero, R.; Rodríguez, E.; Menéndez, R.; Fernández, J.; Del Barrio, G. y Gonzáles, M. (2002) Obtención y caracterización preliminar de un

- extracto de *Aloe vera* L. con actividad antiviral. *Rev. Cubana Plant Med* 2002; 7(1):32-8
27. Sánchez, I. (2014). Plantas medicinales en los páramos de Cajamarca. En: Cuesta, F.; Sevink, J.; Llambí, LD.; De Bièvre, B.; Posner, J.; Editores. Avances en investigación para la conservación de los páramos andinos, CONDESAN.
28. Souza, A. (1993). Forty years of Brazilian medicinal plant center. *Journal of Ethnopharmacology*. 39 – 53 p.
29. Stevinson, C. y Ernst, E. (2000). Valerian for insomnia: a systematic review of randomized clinical trials. *Sleep Med*. 1(2): 91-94.
30. The American Herbal Pharmacopoeia and Therapeutic Compendium. (1999). Valerian root, *Valeriana officinalis* L, analytical, quality control and therapeutic monograph, 6 – 7 p.
31. Villar, A. y Carretero, E. (2001). *Valeriana officinalis* L: Fitoquímica, farmacología y terapéutica. Departamento de farmacología. Facultad de Farmacia. UCM.


X. Abreviaturas

- LAT: Lectura de área total
- % RSD: Relative standard deviation percent
- % ST: Porcentaje de sólidos totales
- HPLC: High performance liquid chromatography
- m.s.n.m.: Metros sobre el nivel del mar
- Mp1.1_1: Tratamiento materia prima 1.1_1
- St1.1: Tratamiento Standard 1.1
- Pseco: Peso seco
- Pvacío: Peso vacío
- Pinicial: Peso inicial
- H:60°C:20': Extracción de *Valeriana pilosa* R&P con agua a 60 grados centígrados por 20 minutos.
- H:60°C:30': Extracción de *Valeriana pilosa* R&P con agua a 60 grados centígrados por 30 minutos.
- H:80°C:20': Extracción de *Valeriana pilosa* R&P con agua a 80 grados centígrados por 20 minutos.
- H:80°C:30': Extracción de *Valeriana pilosa* R&P con agua a 80 grados centígrados por 30 minutos.
- H30:60°C:20': Extracción de *Valeriana pilosa* R&P con solución hidroalcohólica al 30 % a 60 grados centígrados por 20 minutos.
- H30:60°C:30': Extracción de *Valeriana pilosa* R&P con solución hidroalcohólica al 30 % a 60 grados centígrados por 30 minutos.
- H30:80°C:20': Extracción de *Valeriana pilosa* R&P con solución hidroalcohólica al 30 % a 80 grados centígrados por 20 minutos.

- H30:80°C:30': Extracción de *Valeriana pilosa* R&P con solución hidroalcohólica al 30 % a 80 grados centígrados por 30 minutos.
- H50:60°C:20': Extracción de *Valeriana pilosa* R&P con solución hidroalcohólica al 50 % a 60 grados centígrados por 20 minutos.
- H50:60°C:30': Extracción de *Valeriana pilosa* R&P con solución hidroalcohólica al 50 % a 60 grados centígrados por 30 minutos.
- H50:80°C:20': Extracción de *Valeriana pilosa* R&P con solución hidroalcohólica al 50 % a 80 grados centígrados por 20 minutos.
- H50:80°C:30': Extracción de *Valeriana pilosa* R&P con solución hidroalcohólica al 50 % a 80 grados centígrados por 30 minutos.
- H70:60°C:20': Extracción de *Valeriana pilosa* R&P con solución hidroalcohólica al 70 % a 60 grados centígrados por 20 minutos.
- H70:60°C:30': Extracción de *Valeriana pilosa* R&P con solución hidroalcohólica al 70 % a 60 grados centígrados por 30 minutos.
- H70:80°C:20': Extracción de *Valeriana pilosa* R&P con solución hidroalcohólica al 70 % a 80 grados centígrados por 20 minutos.
- H70:80°C:30': Extracción de *Valeriana pilosa* R&P con solución hidroalcohólica al 70 % a 80 grados centígrados por 30 minutos.
- A:60°C:20': Extracción con Alcohol 96 % a 60 grados centígrados por 20 minutos.
- A:60°C:30': Extracción con Alcohol 96 % a 60 grados centígrados por 30 minutos.
- A:80°C:20': Extracción con Alcohol 96 % a 80 grados centígrados por 20 minutos.

XI. Anexos


Anexo I. Resumen del análisis HPLC, muestra (MP) vs standard (STD)



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

CENPROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO

ANÁLISIS POR HPLC



ORDEN DE ANÁLISIS 4483-2017

PRODUCTO : POLVO DE RAIZ (M1) FECHA DE ANÁLISIS : 20/07/17
 PRESENTACIÓN : 01 FRASCO LOTE : ---
 DETERMINACIÓN : ÁCIDO VALERÉNICO
 MÉTODO : EUROPEAN PHARMACOPOEIA 5.0

ESTÁNDAR			
Nombre : ÁCIDO VALERÉNICO	Gravedad Específica : ---		
N° Lote : BCBP3440V	% de Humedad : ---		
%Potencia B.S.: ---	Peso (Wst1) : 1.0 mg		
%Potencia (T.C.): 0.9800	Peso (Wst2) : 1.0 mg		
	Dilución (FDst) : 0.04		

MUESTRA			
Peso (Wm) o Vol. Tomado (Vm):		Densidad (d) : ---	
M1 : 1.5004 g		Dilución (FDmp) : 0.02	
M2 : 1.5004 g			

LECTURAS: Áreas			
MUESTRA		ESTÁNDAR	
MP1.1_1 : 496.63544	MP1.2_1 : 491.64886	St1.1 : 1306.86218	St2.1 : 1305.21936
MP1.1_2 : 498.36160	MP1.2_2 : 499.33377	St1.2 : 1301.38525	St2.2 : 1305.96765
Promedio : 497.49852	Promedio : 495.49132	St1.3 : 1301.04651	St2.3 : 1306.07458
%RSD : 0.25	%RSD : 1.10	Promedio : 1304.42592	%RSD : 0.19

CÁLCULOS

Fórmula (mg/g) :
$$\frac{\text{Amp} \cdot \text{Wst} \cdot \text{Pot} \cdot \text{FDst}}{\text{Ast} \cdot \text{FDmp} \cdot \text{Wmp}}$$

RESULTADOS: Contenido de principio activo

Promedio M1.1 : 0.4982 mg/g	Promedio : 0.4972 mg/g
Promedio M1.2 : 0.4962 mg/g	%RSD : 0.29 %

ANALIZADO POR:	REVISADO POR: <i>C. Medina</i>	FECHA: 20/07/17	OBSERVACIONES:
----------------	--------------------------------	-----------------	----------------

F/CCA-062 R1



Anexo II. Certificado de análisis HPLC.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00228-CPF-2017

ORDEN DE ANÁLISIS	: 004483/2017
SOLICITADO POR	: GLADYS ESTHER BUITRÓN DELGADO : JUAN CARLOS FERNÁNDEZ GUZMÁN
MUESTRA	: VALERIANA
NÚMERO DE LOTE	: ----
CANTIDAD	: 2 frascos x 100 mg.
FECHA DE RECEPCIÓN	: 12 de Julio del 2017
FECHA DE FABRICACIÓN	: ----
FECHA DE VENCIMIENTO	: ----

PRUEBAS	ESPECIFICACIONES	MÉTODOS	RESULTADOS
IDENTIFICACIÓN			
(ÁCIDO VALERÉNICO) M1 (VALERIANA PILOSA)	----	HPLC	El tiempo de retención de la muestra corresponde al tiempo de retención del estándar
M2 (VALERIANA DECUSSATA)	----	HPLC	El tiempo de retención de la muestra corresponde al tiempo de retención del estándar
CUANTIFICACIÓN:			
(ÁCIDO VALERÉNICO) M1 (VALERIANA PILOSA)	----	HPLC	0.4972mg/g
M2 (VALERIANA DECUSSATA)	----	HPLC	0.0485mg/g

Lima, 20 de Julio del 2017

por: 

Q.F. Nelson Bautista Cruz
Director del Centro de Control Analítico

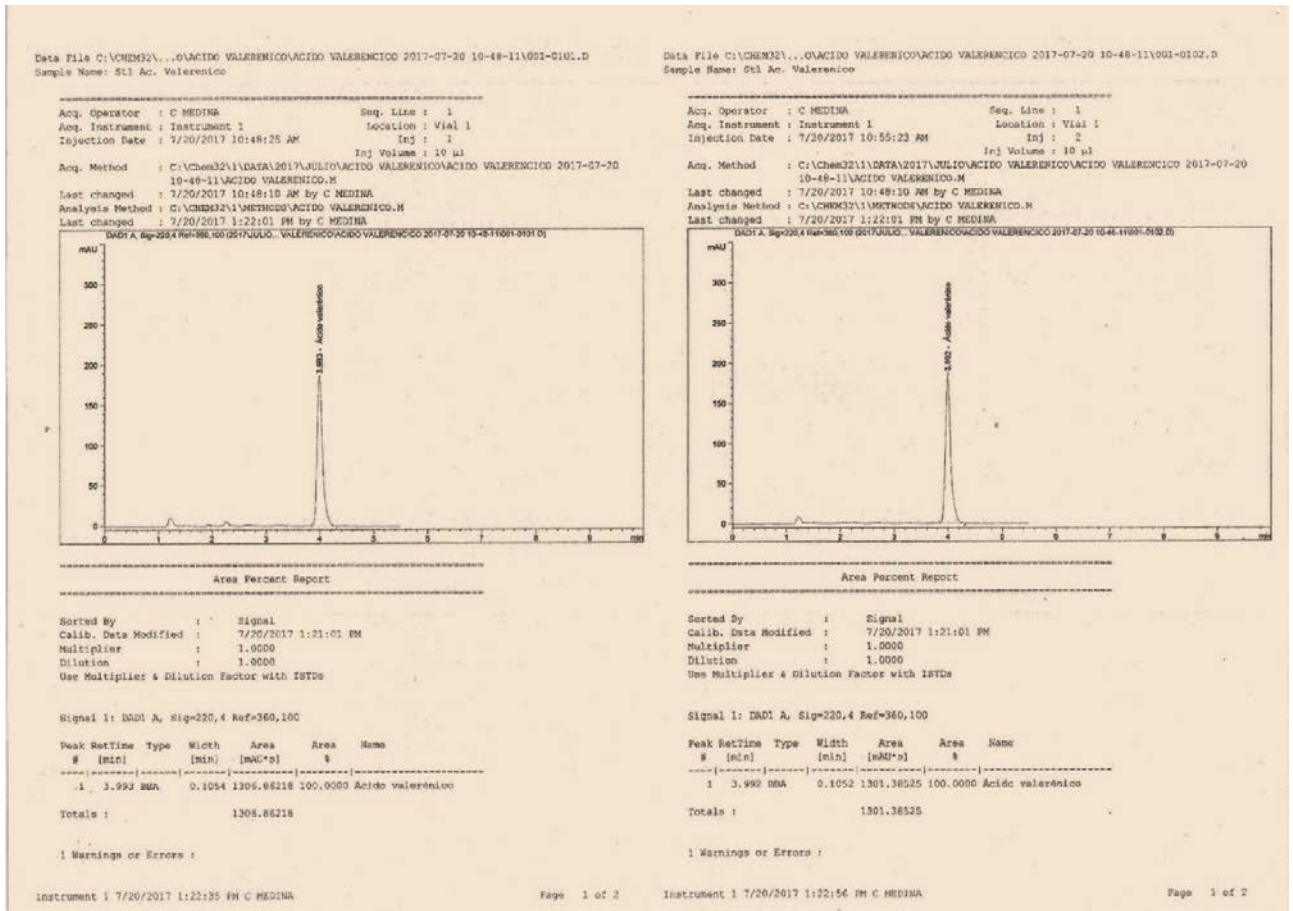


"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
 ☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1
 E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>



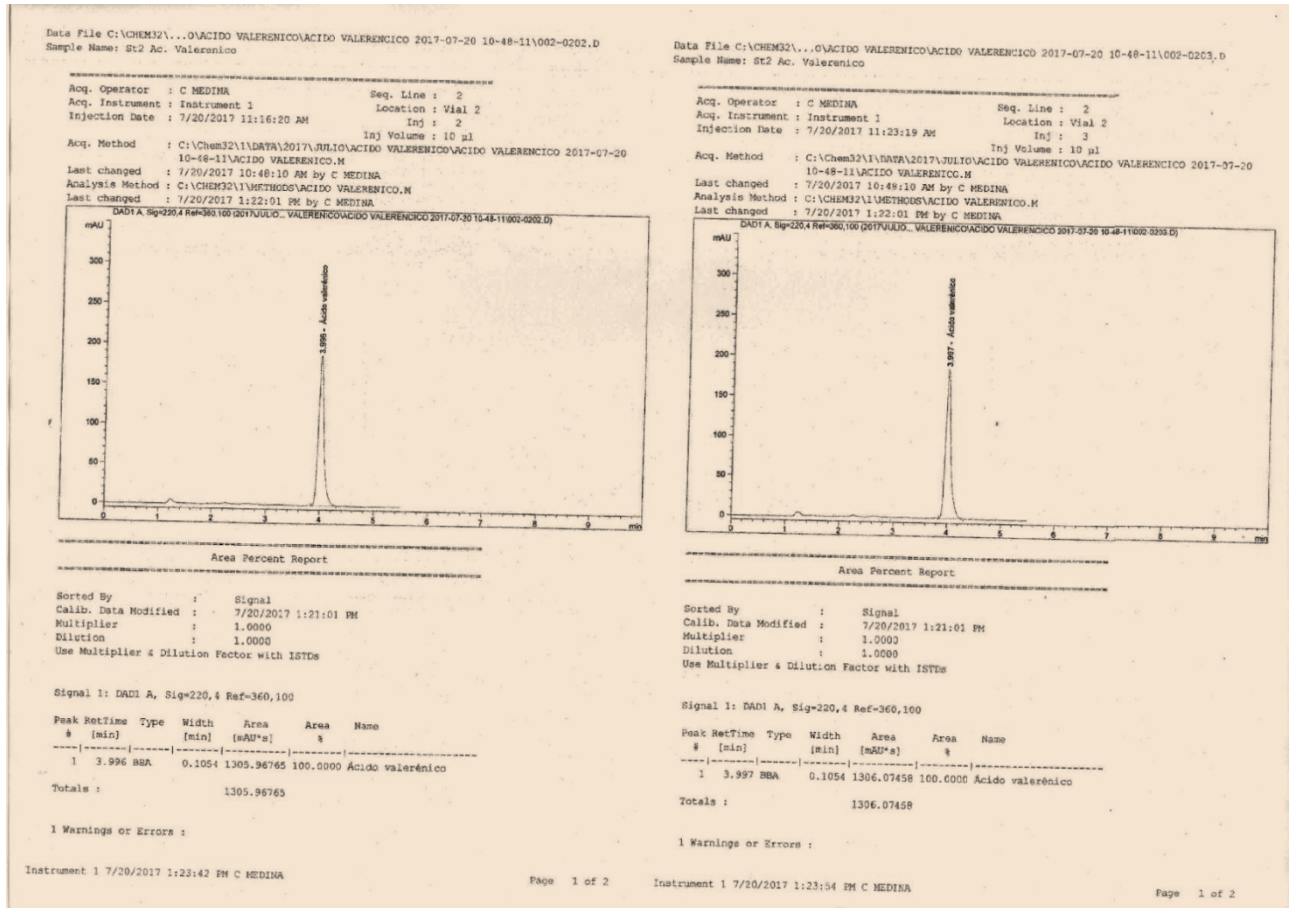
Anexo III. Análisis standard. ST1.1 (a) y ST1.2 (b).



a

b

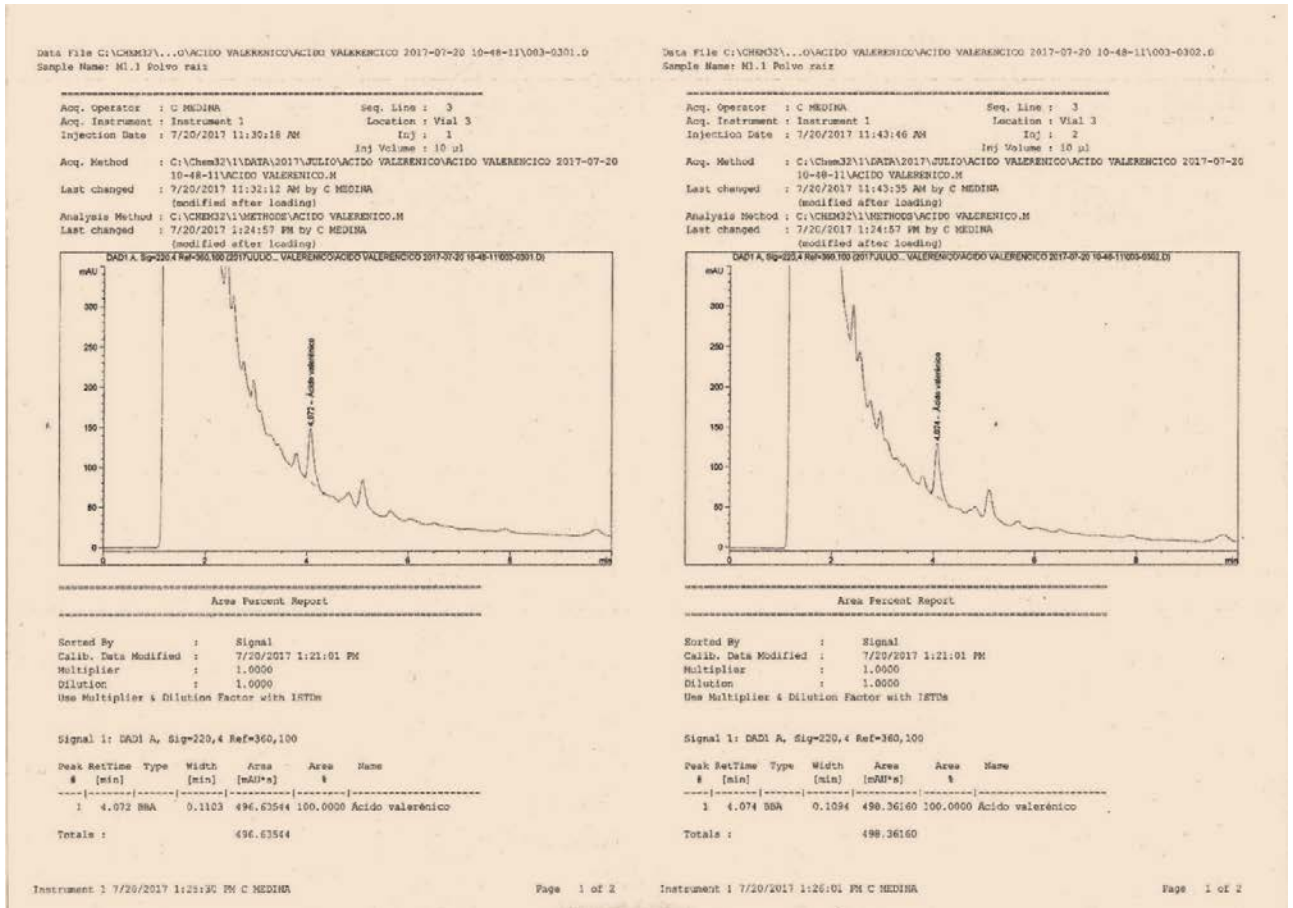
Anexo V. Análisis standard. ST2.2 (a) y derecha ST2.3 (b).



a

b

Anexo VI. Análisis de la raíz de *Valeriana pilosa* R&P. MP1.1_1 (a) y MP1.1_2 (b).



a

b

Anexo VIII. Cromografía en placa fina de *Valeriana pilosa* R&P (detección del ácido valerénico en UV líneas verdes) y *Valeriana decussata* R&P (detección leve del metabolito) Utilizando la técnica de The American Herbal Pharmacopoeia and Therapeutic Compendium. (1999). Análisis cualitativo.



Anexo IX. Ficha técnica y de seguridad del standard del ácido valerénico.

SIGMA-ALDRICH		<small>sigma-aldrich.com</small>
		SAFETY DATA SHEET
		according to Regulation (EC) No. 1907/2006 Version 5.0 Revision Date 24.05.2012 Print Date 20.08.2018
GENERIC EU MSDS - NO COUNTRY SPECIFIC DATA - NO OEL DATA		
1. IDENTIFICATION OF THE SUBSTANCE/MIXTURE AND OF THE COMPANY/UNDERTAKING		
1.1 Product identifiers		
Product name	:	Valerenic acid
Product Number	:	51964
Brand	:	Sigma-Aldrich
CAS-No.	:	3569-10-6
1.2 Relevant identified uses of the substance or mixture and uses advised against		
Identified uses	:	Laboratory chemicals, Manufacture of substances
1.3 Details of the supplier of the safety data sheet		
Company	:	Merck Peruana S.A. Av. Los Frutales 220 LIMA 03 PERU
Telephone	:	+51 -1-618 7500
Fax	:	+51 -1-437 5922
1.4 Emergency telephone number		
Emergency Phone #	:	Acúdase al Centro de Salud más cercano.
2. HAZARDS IDENTIFICATION		
2.1 Classification of the substance or mixture		
Not a hazardous substance or mixture according to Regulation (EC) No. 1272/2008. This substance is not classified as dangerous according to Directive 67/548/EEC.		
2.2 Label elements		
Caution - substance not yet tested completely.		
2.3 Other hazards - none		
3. COMPOSITION/INFORMATION ON INGREDIENTS		
3.1 Substances		
Formula	:	C ₁₅ H ₂₂ O ₂
Molecular Weight	:	234,33 g/mol
4. FIRST AID MEASURES		
4.1 Description of first aid measures		
If inhaled		
If breathed in, move person into fresh air. If not breathing, give artificial respiration.		
In case of skin contact		
Wash off with soap and plenty of water.		
In case of eye contact		
Flush eyes with water as a precaution.		
If swallowed		
Never give anything by mouth to an unconscious person. Rinse mouth with water.		
Sigma-Aldrich - 51964		Page 1 of 5

- 4.2 Most important symptoms and effects, both acute and delayed**
- 4.3 Indication of any immediate medical attention and special treatment needed**
no data available

5. FIREFIGHTING MEASURES

- 5.1 Extinguishing media**
Suitable extinguishing media
Use water spray, alcohol-resistant foam, dry chemical or carbon dioxide.
- 5.2 Special hazards arising from the substance or mixture**
Carbon oxides
- 5.3 Advice for firefighters**
Wear self contained breathing apparatus for fire fighting if necessary.
- 5.4 Further information**
no data available

6. ACCIDENTAL RELEASE MEASURES

- 6.1 Personal precautions, protective equipment and emergency procedures**
Avoid dust formation. Avoid breathing vapors, mist or gas.
- 6.2 Environmental precautions**
Do not let product enter drains.
- 6.3 Methods and materials for containment and cleaning up**
Sweep up and shovel. Keep in suitable, closed containers for disposal.
- 6.4 Reference to other sections**
For disposal see section 13.

7. HANDLING AND STORAGE

- 7.1 Precautions for safe handling**
Provide appropriate exhaust ventilation at places where dust is formed. Normal measures for preventive fire protection.
- 7.2 Conditions for safe storage, including any incompatibilities**
Store in cool place. Keep container tightly closed in a dry and well-ventilated place.

Recommended storage temperature: -20 °C

Light sensitive. Store under inert gas.
- 7.3 Specific end uses**
no data available

8. EXPOSURE CONTROLS/PERSONAL PROTECTION

- 8.1 Control parameters**
Components with workplace control parameters
- 8.2 Exposure controls**
Appropriate engineering controls
General industrial hygiene practice.
- Personal protective equipment**
- Eye/face protection**
Use equipment for eye protection tested and approved under appropriate government standards such as NIOSH (US) or EN 166(EU).
- Skin protection**
Handle with gloves. Gloves must be inspected prior to use. Use proper glove removal technique (without touching glove's outer surface) to avoid skin contact with this product. Dispose of

contaminated gloves after use in accordance with applicable laws and good laboratory practices. Wash and dry hands.

The selected protective gloves have to satisfy the specifications of EU Directive 89/686/EEC and the standard EN 374 derived from it.

Body Protection

Choose body protection in relation to its type, to the concentration and amount of dangerous substances, and to the specific work-place., The type of protective equipment must be selected according to the concentration and amount of the dangerous substance at the specific workplace.

Respiratory protection

Respiratory protection is not required. Where protection from nuisance levels of dusts are desired, use type N95 (US) or type P1 (EN 143) dust masks. Use respirators and components tested and approved under appropriate government standards such as NIOSH (US) or CEN (EU).

9. PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES

9.1 Information on basic physical and chemical properties

- | | |
|---|-------------------|
| a) Appearance | Form: solid |
| b) Odour | no data available |
| c) Odour Threshold | no data available |
| d) pH | no data available |
| e) Melting point/freezing point | no data available |
| f) Initial boiling point and boiling range | no data available |
| g) Flash point | no data available |
| h) Evaporation rate | no data available |
| i) Flammability (solid, gas) | no data available |
| j) Upper/lower flammability or explosive limits | no data available |
| k) Vapour pressure | no data available |
| l) Vapour density | no data available |
| m) Relative density | no data available |
| n) Water solubility | no data available |
| o) Partition coefficient: n-octanol/water | no data available |
| p) Autoignition temperature | no data available |
| q) Decomposition temperature | no data available |
| r) Viscosity | no data available |
| s) Explosive properties | no data available |
| t) Oxidizing properties | no data available |

9.2 Other safety information
no data available

10. STABILITY AND REACTIVITY

10.1 Reactivity
no data available

Sigma-Aldrich - 51964

Page 3 of 5

- 10.2 Chemical stability**
no data available
- 10.3 Possibility of hazardous reactions**
no data available
- 10.4 Conditions to avoid**
no data available
- 10.5 Incompatible materials**
Strong oxidizing agents
- 10.6 Hazardous decomposition products**
Other decomposition products - no data available

11. TOXICOLOGICAL INFORMATION

11.1 Information on toxicological effects

Acute toxicity
no data available

Skin corrosion/irritation
no data available

Serious eye damage/eye irritation
no data available

Respiratory or skin sensitization
no data available

Germ cell mutagenicity
no data available

Carcinogenicity

IARC: No component of this product present at levels greater than or equal to 0.1% is identified as probable, possible or confirmed human carcinogen by IARC.

Reproductive toxicity
no data available

Specific target organ toxicity - single exposure
no data available

Specific target organ toxicity - repeated exposure
no data available

Aspiration hazard
no data available

Potential health effects

Inhalation	May be harmful if inhaled. May cause respiratory tract irritation.
Ingestion	May be harmful if swallowed.
Skin	May be harmful if absorbed through skin. May cause skin irritation.
Eyes	May cause eye irritation.

Additional Information
RTECS: Not available

12. ECOLOGICAL INFORMATION

- 12.1 Toxicity**
no data available
- 12.2 Persistence and degradability**
no data available
- 12.3 Bioaccumulative potential**
no data available

Sigma-Aldrich - 51964

Page 4 of 5

