



# UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA ARGUEDAS

## RESOLUCIÓN N° 116-2022-CFI-UNAJMA

### RESOLUCIÓN DE COORDINACIÓN DE FACULTAD DE INGENIERÍA

Andahuaylas, 27 de mayo de 2022

**VISTO:** La Carta N°013-2022-DUI-JJOC-FI-UNAJMA de fecha 25 de mayo del 2022, el Mtro. Juan José Oré Cerrón Director de la Unidad de Investigación de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional José María Arguedas, solicita la aprobación de la **designación del Jurado Evaluador** del Proyecto e Informe Final de Tesis del Bachiller en Ingeniería Agroindustrial **SILVIA QUISPE HUASCO**, y;

#### CONSIDERANDO:

Que, por Ley N° 28372 del 29 de octubre del 2004, se crea la Universidad Nacional José María Arguedas, con sede en la provincia de Andahuaylas, Región Apurímac; y que por Resolución N° 035-2017-SUNEDU/CD de 02 de octubre del 2017, el Consejo Directivo de la Superintendencia Nacional de Educación Superior Universitaria, otorga la Licencia Institucional a la Universidad Nacional José María Arguedas para ofrecer el Servicio Educativo Superior Universitario;

Que, la Ley Universitaria 30220 en su Artículo Octavo respecto a la autonomía universitaria, establece que: "El estado reconoce la autonomía universitaria". La autonomía inherente a las universidades se ejerce de conformidad a la Constitución, las leyes y demás normativa aplicable, esta Normativa se manifiesta en los siguientes regímenes: Normativo, De gobierno, Académico, Administrativo y Económico;

Que, mediante Carta Múltiple N° 020-2014-SG-UNAJMA, de fecha 30 de julio del 2014; la Secretaría General de la UNAJMA comunica que mediante Acuerdo N° 03 de Sesión Ordinaria de la Comisión de Gobierno se **AUTORIZA** la emisión de **RESOLUCIONES DE COORDINACIÓN DE LA FACULTAD** estrictamente para asuntos académicos y deberán remitirse un original a la Secretaría General;

Que, mediante carta N° 236-2016-SG-UNAJMA de fecha 05 de agosto de 2016 el Secretario General de la UNAJMA, comunica que el Presidente de la Comisión Organizadora de la UNAJMA ha dispuesto que las resoluciones emitidas por la Facultad se deriven a la Vicepresidencia Académica;

Que, el **art. 39 incisos a y d del TÍTULO II, CAPÍTULO II del Reglamento General de la UNAJMA**, aprobado mediante Resolución N° 0130-2016-CO-UNAJMA, establece que "Son funciones de las Facultades: a) dirigir el desarrollo académico y administrativo de las Escuelas Profesionales y Departamentos Académicos adscritos a esta, dentro de la normatividad legal, d) administrar el sistema de matrícula en coordinación y apoyo con la oficina respectiva";

Que, el **art. 65° del CAPÍTULO IV (DEL JURADO EVALUADOR) del Reglamento General de Grados y Títulos en la UNAJMA**, aprobado con Resolución N°0255-2021-CO-UNAJMA, de fecha 10 de setiembre de 2021, establece "La unidad de investigación de la facultad previa revisión del cumplimiento del expediente correspondiente, convocará a sesión para la designación del jurado Evaluador del proyecto de tesis, que estará conformado por tres (03) docentes ordinarios y/o contratados, adscritos al Departamento Académico correspondiente; [...]";

Que, mediante **Resolución N°006-2022-CFI-UNAJMA** de fecha 06 de enero de 2022 se designa al director de la Unidad de Investigación de la Facultad de Ingeniería;

Que, mediante **Resolución N°082-2022-CFI-UNAJMA** de fecha 18 de abril de 2022 se designa a los docentes para conformación de la Comisión de la Unidad de Investigación de la Facultad de Ingeniería;

Que, con resolución N° 2465-2020-CFI-UNAJMA de fecha 14 de diciembre del 2020, se aprueba la designación de la Mag. Rosa Huaraca Aparco como asesor y la Dra. María del Carmen Delgado Laime como Co-asesora del Proyecto e Informe Final de Tesis con fines de titulación de la Bachiller en Ingeniería Agroindustrial **SILVIA QUISPE HUASCO**,

Que, con Solicitud sin Numero de fecha 20 de mayo del 2022, el bachiller en Ingeniería Agroindustrial **SILVIA QUISPE HUASCO** presenta su proyecto de tesis virtual y solicita la designación de Jurados Evaluadores del proyecto e Informe Final de Tesis;

Que, con Acta N°013-2022-C-UIFI-UNAJMA, de Designación de asesor, de fecha 25 de mayo del 2022, la Comisión de la Unidad de Investigación de la Facultad de Ingeniería presidida Mtro. Juan José Oré Cerrón aprueba designa al Jurado Evaluador del Proyecto e Informe Final de Tesis de acuerdo al siguiente detalle:



**UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA ARGUEDAS**  
**RESOLUCIÓN N° 116-2022-CFI-UNAJMA**  
**RESOLUCIÓN DE COORDINACIÓN DE FACULTAD DE INGENIERÍA**

Proyecto de Tesis titulado	"COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EL ACEITE ESENCIAL E HIDROLATOS EXTRAÍDOS DE LA ESPECIE VEGETATIVA CHIKCHIMPAY (TAGETES MULTIFLORA KUNTH)"	
Tesista	Bachiller en Ingeniería Agroindustrial	
Asesor	Mag. Rosa Huaraca Aparco <b>SILVIA QUISPE HUASCO</b>	
Co-Asesor	Dra. María del Carmen Delgado Laime	
Jurado Evaluador	Presidente:	Dr. Carlos Alberto Ligarda Samanez
	Primer Miembro:	MSc. David Choque Quispe
	Segundo Miembro:	Mg. Betsy Suri Ramos Pacheco

Que, con Carta N° 013-2022-DUI-JJOC-FI-UNAJMA de fecha 25 de mayo del 2022, el Mtro. Juan José Oré Cerrón Director de la Unidad de Investigación de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional José María Arguedas, solicita la aprobación de la **designación del Jurado Evaluador** del Proyecto e Informe Final de Tesis del Bachiller en Ingeniería Agroindustrial **SILVIA QUISPE HUASCO**;

Que, en atención a la Carta N° 013 -2022-DUI-JJOC-FI-UNAJMA la Dra. Norma Lorena Catacora Flores, Coordinador de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional José María Arguedas, dispone a la Secretaría Académica de la Facultad de Ingeniería proyectar la Resolución correspondiente, la que se aprueba con cargo a dar cuenta a la Vicepresidencia Académica;

Por estos considerandos y en uso de las atribuciones conferidas como Coordinador de la Facultad de Ingeniería, designado mediante Resolución N° 0127-2022-CO-UNAJMA, de fecha 25 de marzo del 2022;

**SE RESUELVE:**

**ARTÍCULO PRIMERO: APROBAR** la designación de los miembros del Jurado Evaluador del Proyecto e Informe Final de Tesis del Bachiller en Ingeniería Agroindustrial **SILVIA QUISPE HUASCO**, de acuerdo al siguiente detalle:

Proyecto de Tesis titulado	"COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EL ACEITE ESENCIAL E HIDROLATOS EXTRAÍDOS DE LA ESPECIE VEGETATIVA CHIKCHIMPAY (TAGETES MULTIFLORA KUNTH)"	
Tesista	Bachiller en Ingeniería Agroindustrial	
Asesor	Mag. Rosa Huaraca Aparco <b>SILVIA QUISPE HUASCO</b>	
Co-Asesor	Dra. María del Carmen Delgado Laime	
Jurado Evaluador	Presidente:	Dr. Carlos Alberto Ligarda Samanez
	Primer Miembro:	MSc. David Choque Quispe
	Segundo Miembro:	Mg. Betsy Suri Ramos Pacheco

**ARTÍCULO SEGUNDO: ENCARGAR** a la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional José María Arguedas, adopte las acciones correspondientes para el cabal cumplimiento de la presente resolución.

**ARTÍCULO TERCERO: REMITIR** la presente Resolución a la Vicepresidencia Académica, Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, Docente Asesor, Miembros de Jurado Evaluador y al interesado para su conocimiento y fines pertinentes.

**REGÍSTRESE, COMUNÍQUESE Y ARCHÍVESE.**

UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA ARGUEDAS  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
Dra. Norma L. Catacora Flores  
COORDINADORA

UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA ARGUEDAS  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
Mg. Enrique E. Condor Tinoco  
SECRETARIO ACADÉMICO



## Unidad de Investigación de la Facultad Ingeniería

“Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”

Andahuaylas, 25 de mayo del 2022

### CARTA N° 013-2022-DUI-JJOC-FI-UNAJMA

Señora:

**Dra. Norma L. Catacora Flores**

**Coordinadora de la Facultad de Ingeniería**

Universidad Nacional José María Arguedas

Ciudad.-

**ASUNTO: SOLICITO APROBACIÓN MEDIANTE ACTO RESOLUTIVO DE DESIGNACIÓN DE JURADO  
EVALUADOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

**REFERENCIA: ACTA N° 13-2022-C-UIFI-UNAJMA - RESOLUCIÓN N° 082-2022- CFI- UNAJMA, y  
CARTA MÚLTIPLE N° 111-2022-UNAJMA-VP/ACAD-FI**

Tengo a bien dirigirme a usted para expresarle un saludo cordial, y en aplicación a los artículos 65°, 66° y 67° del CAPÍTULO IV “Del Jurado Evaluador” del TÍTULO III “De los títulos profesionales” del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional José María Arguedas, aprobado con Resolución N° 0135-2021-CO-UNAJMA, de fecha 6 de mayo 2021. Solicito la aprobación mediante acto resolutorio de la designación de JURADO EVALUADOR del proyecto de investigación denominado “COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EL ACEITE ESENCIAL E HIDROLATOS EXTRAÍDOS DE LA ESPECIE VEGETATIVA CHIKCHIMPAY (TAGETES MULTIFLORA KUNTH)”, de acuerdo al siguiente detalle:

#### **JURADO EVALUADOR:**

Presidente : Dr. Ligarda Samanez, Carlos  
Primer Miembro : Mg. Choque Quispe, David  
Segundo Miembro : Mg. Ramos Pacheco Betsy Suri

**ASESOR** : Mg. Huaraca Aparco, Rosa

**TESISTA** : Bachiller en Ingeniería Agroindustrial, Silvia Quispe Huasco.

**TÍTULO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:** “COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EL ACEITE ESENCIAL E HIDROLATOS EXTRAÍDOS DE LA ESPECIE VEGETATIVA CHIKCHIMPAY (TAGETES MULTIFLORA KUNTH)”

Se adjunta el ACTA N° 013-2022-C-UIFI-UNAJMA - RESOLUCIÓN N° 082-2022- CFI- UNAJMA, de

Fecha 18 de abril del 2022.

Sin otro particular, me suscribo de Ud.

Atentamente,

Ing. Juan José Oré Cerrón  
Presidente de la Unidad de  
Investigación de la Facultad de  
Ingeniería



## Unidad de Investigación de la Facultad Ingeniería

ACTA N° 013-2022-C-UIFI-UNAJMA - RESOLUCIÓN N° 082-2022- CFI- UNAJMA

### DESIGNACIÓN DE JURADO EVALUADOR

Siendo las 11:50 horas del día 25 de mayo del 2022, en amparo a la **RESOLUCIÓN N° 082-2022- CFI-UNAJMA**, de fecha 18 de abril de 2022; que designa a la comisión de la unidad de investigación de la facultad de ingeniería como presidente al Ing. Juan José Oré Cerrón, MSc. David Choque Quispe y Dra. Maria del Carmen Delgado Laime como miembros; con el propósito de atender la CARTA MÚLTIPLE N° 111-2022-UNAJMA-VP/ACAD-FI, de la Coordinación de la Facultad de Ingeniería, en donde la bachiller, Silvia Quispe Huasco solicita designación cambio de Jurado Evaluador del proyecto de investigación denominado **“COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EL ACEITE ESENCIAL E HIDROLATOS EXTRAÍDOS DE LA ESPECIE VEGETATIVA CHIKCHIMPAY (TAGETES MULTIFLORA KUNTH)”**. La unidad de investigación procedió a revisar el expediente de la Bachiller Silvia Quispe Huasco, con el fin de verificar los requisitos (Solicitud del bachiller, resolución de designación de asesor, declaración jurada de autenticidad y proyecto de investigación), según los artículos 65°, 66° y 67° del CAPÍTULO IV “Del Jurado Evaluador” del TÍTULO III “De los títulos profesionales” del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional José María Arguedas, aprobado con Resolución N° 0135-2021-CO-UNAJMA, de fecha 6 de mayo 2021. Después de evaluar el caso, la Unidad de Investigación de la Facultad de Ingeniería declara **procedente la solicitud**, en tal sentido queda conformada de la siguiente manera:

#### JURADO EVALUADOR:

Presidente : Dr. Ligarda Samanez, Carlos  
Primer Miembro : Mg. Choque Quispe, David  
Segundo Miembro : Mg. Ramos Pacheco Betsy Suri

#### ASESOR

: Mg. Huaraca Aparco, Rosa

#### TESISTA

: Bachiller en Ingeniería Agroindustrial, Silvia Quispe Huasco.

Siendo las 12:00 horas del mismo día y año, se da por finalizada la reunión y en señal de conformidad de los puntos acordados, se procede a firmar la presente acta.

Atentamente,

Ing. Juan José Oré Cerrón Presidente de la Unidad de Investigación de la Facultad de Ingeniería

MSc. David Choque Quispe  
Miembro de la  
Unidad de Investigación de la Facultad de Ingeniería

Dra. María del Carmen Delgado Laime  
Miembro de la  
Unidad de Investigación de la Facultad de Ingeniería



Andahuaylas, 23 de mayo de 2022

## CARTA MÚLTIPLE N° 111-2021-UNAJMA-VP/ACAD-FI

### **Señor:**

Mtro. Juan José Ore Cerrón

MSc. David Choque Quispe

Dra. María del Carmen Delgado Laime

### **COMISIÓN DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA**

### **Presente.**

**ASUNTO:** Remito solicitud de Designación de Jurado Evaluador

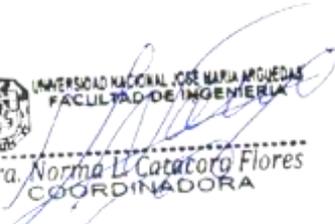
**REFERENCIA:** Solicitud S/N

De mi mayor consideración:

Tengo el agrado de dirigirme a usted, para expresarle un cordial saludo, y a la vez remitirle la solicitud de designación de JURADO EVALUADOR del Proyecto e Informe Final de Tesis denominado "COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EL ACEITE ESENCIAL E HIDROLATOS EXTRAÍDOS DE LA ESPECIE VEGETATIVA CHIKCHIMPAY (TAGETES MULTIFLORA KUNTH)" del Bachiller en Ingeniería Agroindustrial SILVIA QUISPE HUASCO.

Se adjunta la aprobación del asesor y la declaración jurada de autenticidad (Anexo 33), para que su comisión pueda realizar el cambio correspondiente y remitir a esta facultad para proceder con la emisión de la resolución.

Atentamente,

  
UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA ARGUEDAS  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
Dra. Norma L. Catacoro Flores  
COORDINADORA

**SOLICITO:** Designación de jurados

**SEÑOR:**

**COORDINADOR DE LA FACULTAD DE INGENIERIA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA ARGUEDAS**

*YO, Silvia Quispe Huasco, Bachiller de la Carrera Profesional de Ingeniería agroindustrial identificado con DNI: 44951102. Domiciliado en la Av. Sesquicentenario s/n Ante Ud. Con el debido respeto me presento y expongo:*

*Que,*

Siendo Bachiller de la Escuela Profesional de Ingeniería agroindustrial ya habiendo culminado mi proyecto de investigación de Tesis y con la aprobación de mi asesor solicito a usted que me otorgue la Designación de mis jurados, donde el proyecto lleva por título **“COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EL ACEITE ESENCIAL E HIDROLATOS EXTRAÍDOS DE LA ESPECIE VEGETATIVA CHIKCHIMPAY (TAGETES MULTIFLORA KUNTH)”** para lo cual adjunto a la presente la documentación respectiva.

*Solicito:* A usted acceder a mi solicitud de otorgarme Designación de jurados.

*Adjunto:*

- 1) Aprobación del asesor
- 2) Declaración jurada de autenticidad
- 3) Proyecto de investigación de tesis

Andahuaylas, 20 de mayo de 2022



-----  
*Firma del solicitante*



## ANEXO 22

### APROBACIÓN DEL ASESOR

Quién suscribe:

Mg. HUARACA APARCO ROSA por la presente:

#### **CERTIFICA,**

Que, el Bachiller en Ingeniería de agroindustria, SILVIA QUISPE HUASCO ha culminado satisfactoriamente el Proyecto de Tesis intitulado: “COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EL ACEITE ESENCIAL E HIDRATOS EXTRAÍDOS DE LA ESPECIE VEGETATIVA CHIKCHIMPAY (*tagetes multiflora kunth*)” para optar el título profesional de ingeniería agroindustrial.

Andahuaylas, 19 de mayo del 2022.

---

Mg. Huaraca Aparco Rosa  
**Asesor**

---

Br. Silvia Quispe Huasco  
**Tesista**



## ANEXO 33



### DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD

**SILVIA QUISPE HUASCO**

Yo.....,

**Identificado (a) con DNI N° 44951102 de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial**

**Declaro bajo juramento que el Proyecto Titulado:** Trabajo de Investigación. “COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EL ACEITE ESENCIAL E HIDRATOS EXTRAÍDOS DE LA ESPECIE VEGETATIVA CHIKCHIMPAY (*tagetes multiflora kunth*)” Es auténtico y no vulnera los derechos de autor. Además, su contenido es de entera responsabilidad del autor (es) del proyecto, quedando la UNAJMA exenta de toda responsabilidad en caso de atentar contra la Ley de propiedad intelectual y derechos de autor.

**Andahuaylas, 19 de mayo del 2022**

.....  
Firma

N° DNI: 44951102

E-mail: [silviaquispehuasco35@gmail.com](mailto:silviaquispehuasco35@gmail.com)

N° Celular: 910176092

# ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



## PROYECTO DE TESIS:

**Compuestos bioactivos y actividad  
antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos  
extraídos de la especie vegetativa chikchimpay  
(*tagetes multiflora kunth*)**

**AUTOR : Br. QUISPE HUASCO, Silvia**

**ASESOR : Mg. HUARACA APARCO, Rosa**

**CO – ASESOR : Dra. DELGADO LAIME, María Del Carmen**

**ANDAHUAYLAS – PERÚ**

**2022**

# Índice general

<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	iv
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	v
<b>ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS</b> .....	vi
<b>1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	1
1.1. Situación problemática .....	1
1.2. Formulación del problema.....	2
1.2.1. Problema general.....	2
1.2.2. Problema específico.....	2
<b>2. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....	3
<b>3. MARCO TEÓRICO</b> .....	4
3.1. Antecedentes de la investigación Internacional .....	4
3.2. Base teórica.....	8
3.2.1. Clasificación taxonómica del Chikchimpay .....	8
3.2.2. Descripción botánica Chikchimpay .....	8
3.2.3. Usos tradicionales Chikchimpay .....	9
3.2.4. Aceites esenciales .....	9
3.2.5. Hidrolato y usos .....	12
3.2.6. Antioxidante del origen vegetal .....	13
3.2.7. Mecanismo de acción de los antioxidantes .....	14
3.2.8. radical libre.....	15
3.2.9. Método de extracción de aceites esenciales .....	17
3.2.10. Cromatografía .....	19
3.2.11. Método para determinar la actividad antioxidante .....	22
3.3. Marco conceptual .....	24
3.3.1. Aceites esenciales .....	24
3.3.2. Los Hidrolatos .....	25
3.3.3. Los antioxidantes .....	25
3.3.4. Métodos de extracción de los aceites esenciales .....	25
3.3.5. El estrés oxidativo .....	25
3.3.6. Los radicales libres .....	25
3.3.7. Átomo .....	26
<b>4. OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....	26
4.1. Objetivo general.....	26

4.2. Objetivo específico .....	26
<b>5. FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS .....</b>	<b>26</b>
5.1. Hipótesis general.....	26
5.2. Hipótesis específico .....	26
5.3. Identificación de variables.....	27
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>27</b>
6.1. Lugar de ejecución.....	27
6.2. Materiales, instrumentos y equipos .....	27
6.3. Población y muestra.....	29
6.4. Tipo de investigación .....	30
6.4.1. De acuerdo a fin que persigue .....	30
6.4.2. De acuerdo a la técnica de contrastación.....	30
6.5. Método de análisis .....	30
6.5.1. Determinación de compuestos bioactivos y actividad antioxidante.....	30
6.6. Metodología experimental.....	32
6.6.1. Descripción de la obtención del aceite esencial de la especie vegetativa .....	32
6.6.2. Descripción del proceso de análisis instrumental por GC – SM.....	35
6.6.3. Descripción de la actividad antioxidante.....	37
6.7. Diseño experimental .....	38
6.7.1. ANOVA para el diseño completamente al azar (DCA).....	38
6.7.2. Análisis estadístico.....	39
6.7.3. Método de tukey.....	42
6.8. Matriz de consistencia .....	42
<b>7.RECURSOS Y CRONOGRAMA DE ACTIVIDAD .....</b>	<b>44</b>
7.1. Recursos humanos .....	44
7.2. Presupuestos y fuente de financiamiento.....	44
7.3. Cronograma de actividad .....	45
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>46</b>

## Índice de tablas

<b>Tabla 1</b> Clasificación de los métodos cromatográfico.....	20
<b>Tabla 2</b> Materiales .....	27
<b>Tabla 3</b> Equipo .....	28
<b>Tabla 4</b> Materia prima .....	29
<b>Tabla 5</b> Reactivos químicos .....	29
<b>Tabla 6</b> Diseño experimental – DCA .....	38
<b>Tabla 7</b> Esquema del ANOVA .....	40
<b>Tabla 8</b> Esquema de un DCA para igual número de muestras por tratamiento .....	41
<b>Tabla 9</b> Matriz de consistencia .....	43
<b>Tabla 10</b> Presupuestos y fuente de financiamiento para el desarrollo de la investigación.....	44
<b>Tabla 11</b> Cronograma de actividad para el desarrollo de actividades de investigación.....	45

## Índice de figuras

<b>figura 1</b> Chikchimpay (tagetes multiflora kunth) .....	8
<b>figura 2</b> Ejemplos de monoterpenos .....	10
<b>figura 3</b> Ejemplos de sesquiterpenos .....	11
<b>figura 4</b> Ejemplos de fenilpropanos .....	12
<b>figura 5</b> Señalización redox y su relación con el estrés oxidativo .....	15
<b>figura 6</b> Radical DPPH (como radical libre) y su forma estable .....	23
<b>figura 7</b> Reacción de ABTS (forma estable) y agente oxidante generando ABTS <sup>•+</sup> (como radical libre).....	24
<b>figura 8</b> Radical ABTS <sup>•+</sup> (como radical libre) y su forma estable .....	24
<b>figura 9</b> Diagrama de bloque para la obtención del aceite esencial de la especie vegetativa chikchimpay (tagetes multiflora kunth).....	34
<b>figura 10</b> Diagrama de bloque para el proceso de análisis instrumental por cromatografía de gases – espectrometría de masas del aceite esencial de la especie vegetativa chikchimpay (tagetes multiflora kunth).....	37

## **Abreviaturas y símbolos**

<b>R</b>	: Rendimiento
<b>O<sub>2</sub></b>	: Superóxido
<b>IR</b>	: Índice de refracción
<b>AE</b>	: Aceite esencial
<b>HY</b>	: Hidrolatos
<b>NO</b>	: Óxido Nítrico
<b>OH</b>	: Hidroxilo
<b>EM</b>	: Espectrómetro de Masa
<b>GE</b>	: Gravedad específica
<b>CG</b>	: Cromatografía de gases
<b>CO<sub>2</sub></b>	: Dióxido de carbono
<b>ERO</b>	: Especies reactivas de oxígeno
<b>ERN</b>	: Especies Reactivas del Nitrógeno
<b>DPPH</b>	: Radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
<b>ABTS</b>	: Radical catiónico del ácido 2,2 -Azinobis 3- etil -benzotiazolina)-6-ácido Sulfónico
<b>HPLC</b>	: Cromatografía Líquida de Alta Resolución
<b>TEAC</b>	: Capacidad Antioxidante Equivalente al Trolox
<b>ORAC</b>	: Capacidad de Absorción de Radical Oxígeno
<b>FRAP</b>	: Capacidad de Resolución Férrica al Plasma.
<b>%RAE</b>	: Porcentaje de rendimiento del aceite esencial

# **Compuestos bioactivos y actividad antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos extraídos de la especie vegetativa chikchimpay (*tagetes multiflora kunth*)**

## **1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

### **1.1. Situación problemática**

Los aceites esenciales y sus hidrolatos de las especies vegetativas son compuestos del metabolismo vegetal; la mayoría de ellos son volátiles y son responsables del aroma de las plantas. Dependiendo de la especie, se calcula que un aceite esencial puede contener entre 50 a 300 compuestos químicos, los cuales pertenecen a los grupos de hidrocarburos terpénicos, alcoholes, aldehídos, cetonas, éteres, ésteres, compuestos fenólicos, fenilpropanoides, entre otros (Stashenko, 2009). Los aceites esenciales se definen como mezclas de componentes volátiles, productos del metabolismo secundario de las plantas. Se encuentran muy difundidos en el reino vegetal, de las 295 familias de plantas, de 60 a 80 producen aceites esenciales (Marelby, 2012). Las características químicas específicas de los aceites esenciales varían en función de la zona de cultivo y condiciones ambientales (Collura, 1985). Tienen importancia comercial en la industria de alimentos, farmacéutica, de sabores/fragancias, cosmética y de productos de aseo. Asimismo, el empleo de aceites esenciales es una opción importante para el control de insectos, hongos y nemátodos, como una alternativa al uso de plaguicidas sintéticos (Montoya, 2010). El chikchimpay es una especie vegetativa que se desarrolla de forma silvestre ya sea entre los cultivos agrícolas y no agrícolas en la provincia de Andahuaylas se utiliza como especias y condimentos de preparaciones de alimentos, sin embargo, existe la necesidad de realizar una caracterización de sus componentes químicos tanto en el aceite esencial y sus hidrolatos.

El presente proyecto se plantea con el propósito de caracterizar los componentes químicos en el aceite esencial e hidrolatos del chikchimpay.

## **1.2. Formulación del problema**

### **1.2.1. Problema general**

- ✓ ¿Cuáles son los componentes bioactivos y la actividad antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chikchimpanay (*tagetes multiflora kunth*)?

### **1.2.2. Problema específico**

- ✓ ¿Cuál es el porcentaje del rendimiento de extracción de aceite esencial e hidrolatos del chikchimpanay (*tagetes multiflora kunth*)?
- ✓ ¿Cuáles son los compuestos bioactivos en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chikchimpanay (*tagetes multiflora kunth*)?
- ✓ ¿Cuál es la actividad antioxidante del aceite esencial e hidrolato extraídos del chikchimpanay (*tagetes multiflora kunth*)?

## 2. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Perú posee una rica variedad en especies vegetales, debido a las condiciones geográficas favorables de la Cordillera de los Andes, la existencia de tres regiones geográficas y la diversidad de pisos ecológicos (Pulgar, 1981).

Ingrid et al. (2010). Afirma que los aceites esenciales son una compleja mezcla natural de metabolitos secundarios volátiles, aislados de plantas mediante métodos como destilación, extracción con solventes, etc. Los principales constituyentes de los aceites esenciales son monos y sesquiterpenos, incluyendo carbohidratos, éteres, aldehídos y cetonas, los que son responsables de la fragancia y propiedades biológicas de las plantas medicinales.

Los aceites esenciales (AE) son producidos por el metabolismo secundario de la planta y obtenidos principalmente por el proceso de destilación al vapor. En el proceso de aislamiento de aceites esenciales, también se obtienen hidrolatos, los hidrolatos como productos de la destilación al vapor, y una pequeña cantidad de componentes de los aceites esenciales se disuelven en los hidrolatos. Los compuestos oxigenados preciosos, que proporcionan propiedades organolépticas y sabor específicos, así como actividad biológica, los hacen útiles para las industrias alimentaria y cosmética (Ovidio, 2021). Los aceites esenciales cubren un amplio espectro de actividades farmacológicas, demostrando propiedades antiinflamatorias, antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes y anticancerígenas. Durante mucho tiempo se han utilizado en el campo de la cosmética, en la elaboración de perfumes, la conservación de alimentos y aromaterapia Ingrid et al.(2010).

En los últimos años ha crecido el interés por los productos naturales obtenidos de la destilación de plantas aromáticas: aceites esenciales (AE) e hidrolatos (Hys). Como tal, hay muchos artículos científicos sobre la efectividad de los AE en varios contextos: antimicrobianos, inmunomoduladores, antioxidantes, antiinflamatorios, analgésicos, sin embargo, hay poca evidencia algunas especies nativas andinas.

Chikchimpay (*tagetes multiflora kunth*) es empleada, por su agradable aroma, para condimentar distintas preparaciones, como reemplazo del cilantro en potajes

locales como pachamancas y algunos aderezos, y también como paliativo en el síndrome menstrual. Gran parte de su utilidad proviene de su contenido en aceites esenciales, los cuales le brindan el aroma característico. El presente proyecto de investigación tiene como propósito determinar los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante del aceite esencial e hidrolatos de chikchimpay (*Tagetes multiflora kunth*), el estudio posibilitará brindar información para futuros estudios y aplicaciones sobre todo en la industria alimentaria de la mencionada especie con el fin de aprovechar nuestros recursos naturales como alternativa de conservantes alimentarias frente a los conservantes químicos convencionales y a los antioxidantes artificiales, cuyos efectos secundarios provocan en el futuro diferentes problemas de salud.

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1. Antecedentes de la investigación Internacional

Sainz et al., (2019). **Composición química y actividades biológicas de *Artemisia pedemontana* subsp. Aceites Esenciales e Hidrolato de *assoana*.** En el estudio se analizó la composición química de los AEs y su protección fitosanitaria (insectos: *Spodoptera littoralis*, *Rhopalosiphum padi* y *Myzus persicae*; plantas: *Lactuca sativa* y *Lolium perenne*; hongos: *Aspergillus niger*; y nematodos: *Meloidogyne javanica*) y antiparasitaria (*Trypanosoma cruzi*, *Phytomonas davidi*, y antiplasmodiales por la prueba de inhibición de la biocrystalización de ferriprotoporfirina), además del subproducto hidrolato. Los AE mostraron un perfil de 1,8-cineol y alcanfor, con diferencias químicas cuantitativas y cualitativas entre los métodos de cultivo. Estos aceites tenían efectos moderados contra insectos, antifúngicos y fitotóxicos; eran tripanocidas; y exhibió efectos fitomonocidas moderados, mientras que el hidrolato mostró una fuerte actividad nematocida. Ambos AE fueron igualmente antialimentarios; el AE de las plantas de invernadero (etapa de floración) fue más biocida (antifúngico, nematocida y fitotóxico) que el AE de las plantas aeropónicas (etapa de crecimiento), que fue más antiparasitario. Los principales componentes de los aceites (1,8-cineol y alcanfor), o su combinación 1:1, no explicaron ninguno de estos efectos.

**Granados (2020). Evaluación de la Actividad Antioxidante del Aceite Esencial Foliar de (*Myrcianthes leucoxylla*) de Norte de Santander (Colombia).** En la investigación valió la composición química y la actividad antioxidante del aceite esencial, la extracción del aceite obtuvo por arrastre con vapor de agua y la identificación de los componentes evaluó por Cromatografía de Gases de Alta Resolución. Para determinar la actividad antioxidante de los aceites usó dos métodos: capacidad de atrapamiento del catión radical ABTS<sup>+</sup> y capacidad de atrapamiento del radical DPPH. En la cual tuvo como resultado 10 componentes químicas mayoritarios del AE de arrayán de clima frío (*M. leucoxylla*). Concluyó que la inhibición con la metodología del radical DPPH no superó el 15%, mientras que con el radical ABTS<sup>+</sup> el porcentaje de inhibición fue alto. Esto sugiere que en el aceite esencial estudiado se encuentre presentes compuestos donadores de hidrógeno o electrones que pueden estabilizar al radical catiónico ABTS<sup>+</sup>. En cuanto la actividad antioxidante encontrada en el AE de *M. leucoxylla* posibilita la realización de posteriores estudios, en la búsqueda de su aplicación en la industria de alimentos como posible sustituto de los antioxidantes sintéticos, dada la potencial capacidad para atrapar radicales libres.

**Ovidio et al., (2021). Aceites esenciales e hidrolatos de *Laurus nobilis*, *Salvia sclarea* y *Salvia officinalis*: evaluación de la composición química y actividades biológicas en fase líquida y vapor.** En el estudio de los aceites esenciales (AE) y los hidrolatos (HY) de *Laurus nobilis*, *Salvia officinalis* y *Salvia sclarea* para definir sus composiciones químicas y propiedades biológicas. Se utilizaron técnicas de cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC/MS) y Headspace-GC/MS (HS-GC/MS) para caracterizar la composición química en fase líquida y vapor de EO y HY. El 1,8-cineol (42,2 %, 33,5 %) y el  $\alpha$ -pineno (16,7 %, 39,0 %) fueron los principales compuestos del AE de *L. nobilis*; el 1,8-cineol (30,3 %, 48,4 %) y el alcanfor (17,1 %, 8,7 %) fueron para AE de *S. officinalis*; acetato de linalilo (62,6 %, 30,1 %) y linalool (11,1 %, 28,9 %) fueron para *S. sclarea*EO para la fase líquida y vapor, respectivamente. El perfil químico de los HY se caracterizó por el 1,8-cineol (65,1 %, 61,4 %) como componente principal de los HY de *L. nobilis* y *S. officinalis*, mientras que el linalol (89,5 %) fue el componente principal

de *S. sclarea* HY. La actividad antioxidante de EO y HY se llevó a cabo mediante ensayos DPPH y ABTS y las propiedades antimicrobianas también se investigaron mediante microdilución y el método de difusión en disco para fase líquida y vapor contra cinco cepas bacterianas diferentes, como *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525 y *Acinetobacter baumannii* DSM 102855 entre Gram-negativos y *Bacillus cereus* ATCC 10876 y *Kocuria marina* DSM 16420 entre Gram-positivos. Los AE de *L. nobilis* y *S. officinalis* demostraron una actividad antibacteriana considerable, mientras que el AE de *S. sclarea* demostró ser menos eficaz. El método de difusión en agar y la prueba en fase de vapor mostraron la actividad de los AE con los mayores diámetros de inhibición del halo contra *A. baumannii* y *B. cereus*. Se determinó una actividad antioxidante notablemente alta para *L. nobilis* que muestra valores bajos de EC<sub>50</sub> y también para *S. sclarea*; se obtuvieron buenos resultados de EO en ambos ensayos utilizados. *S. officinalis* CE los 50 valores fueron ligeramente superiores a lo que corresponde a una menor actividad antioxidante. Con respecto a los HY, los valores de CE 50 para *L. nobilis*, *S. officinalis* y *S. sclarea* fueron notablemente altos correspondientes a una actividad antioxidante extremadamente baja.

### **Nacionales**

#### **Elías y Sichez (2019). Composición química, características fisicoquímicas y capacidad antioxidante de aceites esenciales de cinco hierbas aromáticas”.**

Tuvo como objetivo determinar la estructura química, peculiaridad fisicoquímica y posibilidad antioxidante de los aceites esenciales de orégano originario (*Lippia graveolens*), chincho (*Tagetes elliptica* Smith), hierbabuena (*Mentha spicata*), huacatay (*Tagetes minuta* L), pampa salvia (*Salvia officinalis* L), se utilizó para la obtención del aceite esencial la destilación de vapor por arrastre, cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para analizar los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante analizó por el Test DPPH. Los resultados fueron los siguientes identificó 22 compuestos químicos que comprenden el 100% de las sustancias que componen el total del aceite esencial de igual forma los compuestos más representativos identificados son Trans -Tagetona (51.37%),  $\beta$ -

trans-Ocimeno (25.03%) y el compuesto C<sub>9</sub>H<sub>18</sub> (6.08%), la acción antioxidante fue de (1.75mg/mL) en aceite esencial de Huacatay. Por otra parte, en aceite esencial de chincho identificó 43 compuestos que comprenden el 100% de la constitución total del aceite esencial, los compuestos más significativos son: C<sub>9</sub>H<sub>18</sub> con (27.45%), cis-Tagetona (16.27%) y β-trans-Ocimeno (11.45%), la capacidad antioxidante fue de (2.43 mg/mL). Concluyó que las sustancias actúan como sistema de defensa y protegen a las plantas de infecciones dándoles color, aroma y propiedades particulares ya que se sabe que las plantas contienen compuestos bioactivos que son beneficiosos para nuestra salud en cuanto a la capacidad antioxidante los resultados expresaron como actividad antiradical o IC<sub>50</sub>, la cual está definida como la concentración del antioxidante que disminuye la absorción del radical a un 50% de la cantidad inicial.

**Marín (2019). Composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de ambrosia arborescens miller (marku).** En la investigación se analizó la identificación de los componentes bioactivos que posee la planta para ello utilizó las hojas tiernas frescas de Ambrosia arborescens Miller, el aceite esencial fue extraído por el método de hidrodestilación con trampa de clewenger. Su composición fue determinada por cromatografía de gases - espectrometría de masas y para la determinación de la actividad antioxidante se aplicó el método del DPPH• (1,1- difenil-2- picrilhidrazil). Los resultados obtenidos de la investigación fueron los siguiente; se identificó 94 componentes siendo los más abundantes el βhimachaleno (14,2%), 2,6-dimetil-3,5-heptadien-2-ol (10,6%), germacreno D (7,41 %), α-Bisabolol (6,25%) y 6-isopropenil-4-8a-dimetil-1,2,3,5,6,7,8, 8a-octahidronaftaleno-2-ol (6%) de Ambrosia arborescens Miller. Concluyó que el aceite esencial presentó actividad antioxidante por tener en su composición compuestos polifenolicos con propiedades antioxidantes.

### 3.2. Base teórica

#### 3.2.1. Clasificación taxonómica del Chikchimpay



**figura 1** Chikchimpay (*Tagetes multiflora* Kunth)

Chikchimpay es una planta nativa de zonas andinas Asociada a Perú en la provincia de Cuzco y Ayacucho (Jara, 2018), también en la provincia de Andahuaylas es utilizada como especie alimenticia y medicinal en zonas altas de la provincia.

**División:** Antophyta

**Clase:** Dicotyledonae

**Super – Orden:** Asterales

**Orden:** Asterales

**Familia:** Asteraceae

**Sub – Familia:** Asteroideae

**Tribu:** Helenieae

**Género:** *Tagetes*

**Especie:** *Mandonii* Sch. Bip. Ex Klatt

#### 3.2.2. Descripción botánica Chikchimpay

El chikchimpay es una especie vegetativa ramificado que mide aproximadamente 30 cm de altura. Posee hojas compuestas pinnadas, lanceoladas con unión sésil; las más bajas son pequeñas, con aproximadamente 1 – 1 ½ cm de largo. Son serradas con muchas puntas hasta el raquis. La inflorescencia tiene forma de corimbo con un largo de 1 1/3 cm y las flores no son sésiles. El involucre tiene

aproximadamente 1 cm de largo y 4-5 mm de ancho, es ranurado, punteado, corto con 5 dientes agudos. Flores amarillas de 8 mm de largo descubiertas, lígula de 4 mm de largo y papus de 2 – 2 ½ mm de largo, puntiagudo y pálido (Jara, 2018).

### **3.2.3. Usos tradicionales Chikchimpay**

Cordero et al., (2021) menciona las hojas de Chikchimpay (*tagetes multiflora kunth*) se utilizan para condimentar distintas preparaciones, y como reemplazo del cilantro en el pebre. También se bebe como bebida caliente. Medicinal en infusión se bebe para aliviar el dolor estomacal y para la distensión abdominal.

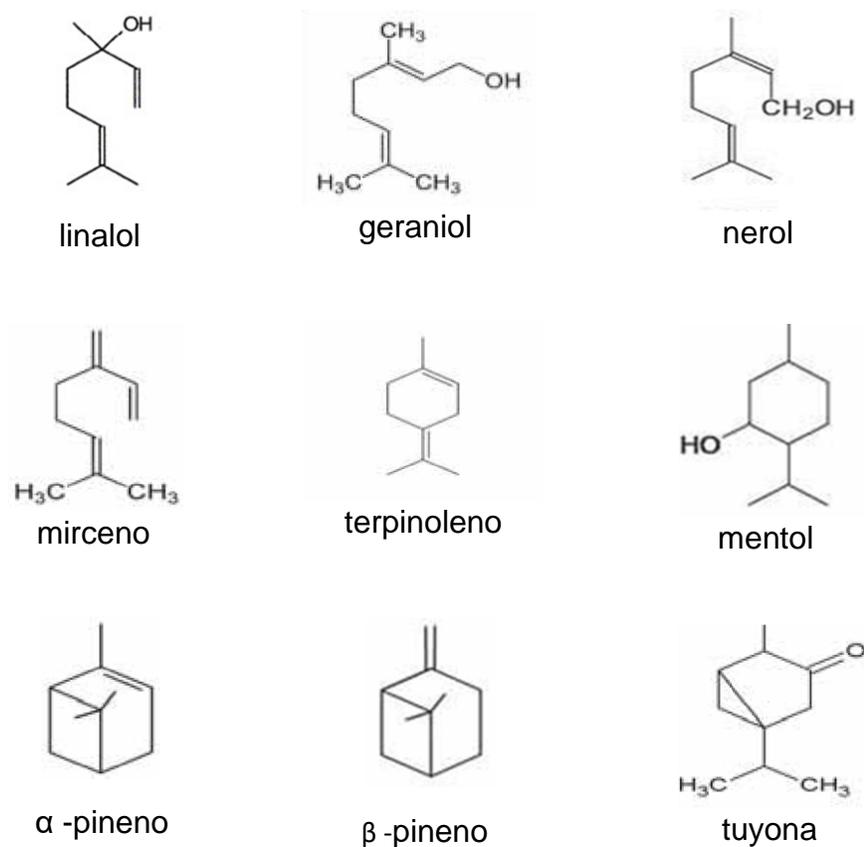
### **3.2.4. Aceites esenciales**

Los aceites esenciales son fracciones líquidas volátiles pueden encontrarse hidrocarburos como: terpenos, alcoholes, compuestos carbonílicos, aldehídos aromáticos y fenoles se encuentran en hojas, cáscaras o semillas de algunas plantas. Generalmente destilables por arrastre con vapor de agua. La pureza y el rendimiento del aceite esencial dependerán de la técnica que se utilice para el aislamiento (Tuyo, 2015)

Molecularmente los aceites esenciales son mezclas complejas de hasta más de 200 componentes, constituidas mayoritariamente por monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanos (Look de Ugaz. O, 1999)

#### **a) Monoterpenos**

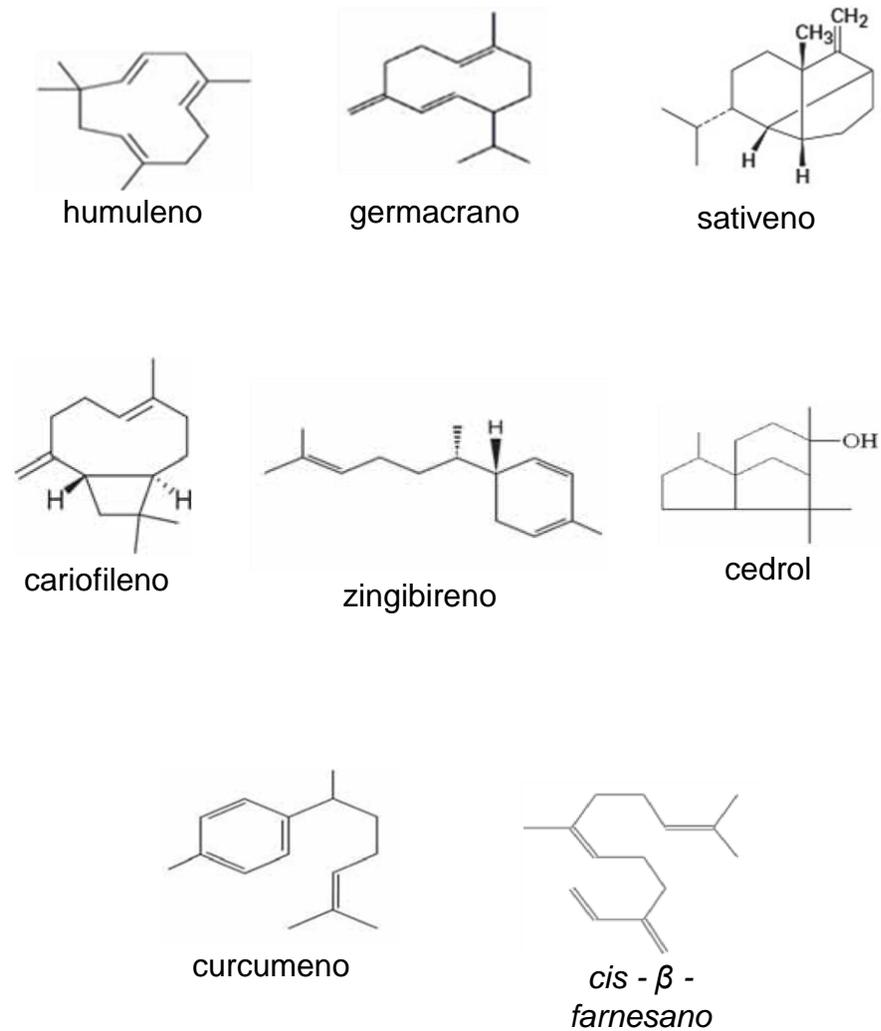
Los monoterpenos junto al isopreno son los compuestos orgánicos volátiles que dominan las emisiones a escala global y son miembros importantes de la familia de los isoprenoides (o terpenoides). Estos compuestos normalmente se pueden almacenar en órganos especializados de las hojas y tallos, lo que contribuye a que parte del carbono que se ha producido en los tejidos vegetales mediante diversos procesos fisiológicos retorne hacia la atmósfera. Esta emisión es producida principalmente por la difusión, debido a un gradiente de presión de vapor desde los compartimentos celulares con concentraciones relativamente altas hacia el aire circundante a las hojas. (Marín, 2019)



**figura 2** Ejemplos de monoterpenos (Solis, 2018)

### b) Sesquiterpenos

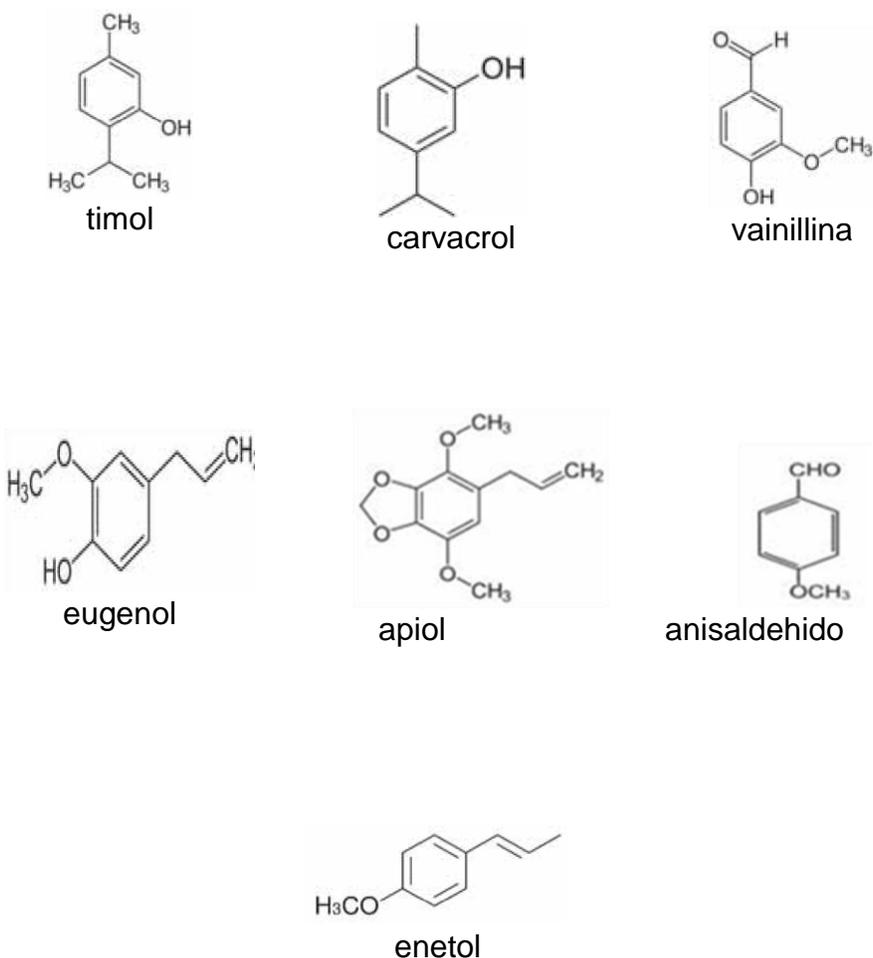
Los sesquiterpenos son compuestos que contienen al menos un grupo carbonilo conjugado, los cuales funcionan como agentes alquilantes. Se cree que la actividad citotóxica de ellos radica en su capacidad de formar enlaces covalentes entre los grupos  $O=C-C=CH_2$  de los sesquiterpenos y a los grupos sulfhidrilos de algunas enzimas como la DNA polimerasa, timidilasa, fosfofructoquinasa y glicógeno sintetasa ocasionando la inhibición de la síntesis de DNA en las células cancerígenas. El estrés oxidativo, es uno de los tantos factores que pueden desencadenar el desarrollo del cáncer. Los lípidos constituyen un factor de riesgo para la formación de radicales libres en el organismo y estudios recientes han mostrado que las especies vegetales son buenos agentes antioxidantes. (Marín, 2019)



**figura 3** Ejemplos de sesquiterpenos (Solis, 2018)

### c) Fenilpropanos

Son compuestos de naturaleza química aromática (o sea que contienen un anillo de benceno). Alguno de estos compuestos, como el *p*-cimeno, son terpenos cíclicos aromatizados, pero la mayoría de ellos no son terpénicos. Muchos compuestos aromáticos son fenilpropanoides, es decir que están formados por el esqueleto del fenilpropano. Los fenilpropanoides están relacionados estructuralmente con los aminoácidos fenilalanina y tirosina, para muchos de ellos se derivan de la ruta bioquímica del ácido shikímico. (Marín, 2019)



**figura 4** Ejemplos de fenilpropanos (Solis, 2018)

### 3.2.5. Hidrolato y usos

El hidrolato también denominado hidrosol es el agua residual que se forma por condensación del vapor que ha atravesado la materia vegetal durante el proceso de la obtención de un aceite esencial por un método de extracción, es un producto acuoso de la destilación. La mayor parte de los componentes de los aceites esenciales son volátiles y relativamente inmiscibles en el agua. En esta etapa del proceso se obtiene el aceite esencial como producto principal y un hidrolato al que se le considera un subproducto (Antezana, 2017). El agua, después de la destilación (el llamado hidrolato), puede servir para riegos o, a través del sistema

de cohobación, puede ser reutilizada en el mismo sistema de destilación. Algunos hidrolatos, como sub-productos de la destilación de aceites, se pueden emplear en baños, como agua para aromatización y para la limpieza (Antezana, 2017).

En la industria fitosanitaria los hidrolatos obtenidos durante el proceso de extracción se utilizan para repeler y controlar plagas, con ellos se preparan herbicidas, insecticidas, fungicidas, nematocidas, acaricidas, desodorizantes, desinfectantes (Antezana, 2017).

### **3.2.6. Antioxidante del origen vegetal**

Son sustancias que inhiben o retardan el proceso oxidativo, cuya actividad podría deberse a sus componentes poli fenólicos. (Oliveira, 2014). Los polifenoles constituyen uno de los principales compuestos con actividad antioxidante, presentes en las plantas. (Echavarria, 2016). Los flavonoides, son un tipo de polifenoles que se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas y son sustancias que manifiestan una potente actividad antioxidante. (Oliveira, 2014). La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se atribuye a su facilidad para ceder átomos de hidrógeno de un grupo hidroxilo aromático a un radical libre y a la posibilidad de deslocalización de cargas en el sistema de dobles enlaces del anillo aromático. (Gallego, 2016). Un antioxidante es una sustancia que forma parte de los alimentos de consumo cotidiano y que puede prevenir los efectos adversos de especies reactivas sobre las funciones fisiológicas normales de los humanos. Las propiedades antioxidantes no sólo deben estudiarse por sus interacciones químico-biológicas, sino por su función en el deterioro oxidativo que afecta a los alimentos. Se utilizan en la industria alimentaria adicionados a las grasas u otros productos para retrasar los procesos de oxidación, en tanto previenen el comienzo de la rancidez oxidativa. (Coronado, 2015).

La actividad antioxidante es la capacidad que tiene una sustancia para inhibir la degradación oxidativa (pérdida de uno o más electrones) de tal manera que actúan, gracias a su capacidad para reaccionar con radicales libres. (Londoño, 2012). Los antioxidantes son sustancias que son parte de los alimentos de consumo diario, por ende, se ingieren a través de la alimentación. Cabe mencionar que son los más importantes de todos ya que pueden prevenir los efectos adversos de especies

reactivas sobre las funciones fisiológicas normales de los humanos Coronado et al.(2015).

### **3.2.7. Mecanismo de acción de los antioxidantes**

#### **Interacción directa con especies reactivas**

Se refiere a la capacidad que tienen muchos antioxidantes para actuar como “estabilizadores o apagadores de diversas especies reactivas”. En el caso de los radicales libres, tal acción implica su estabilización a través de la cesión de un electrón a dichas especies reactivas. Tal mecanismo, definido como “SET” (single electrón transfer), permite que el Radical Libre pierda su condición por “pareamiento” de su electrón desapareado (Alvarado y condori, 2017).

#### **Prevención de la formación enzimática de especies reactivas**

Algunos antioxidantes pueden actuar previniendo la formación de Reactive Oxygen Species (ROS) y Reactive Nitrogen Species (RNS). Lo hacen inhibiendo, ya sea la expresión, la síntesis o la actividad de enzimas pro-oxidantes involucradas en la generación de especies reactivas, como la NADPH-oxidasa (NOX), la xantina-oxidasa (XO), la mieloperoxidasa (MPO) y el óxido nítrico sintasa (NOS) (Alvarado y condori, 2017).

#### **Prevención de la formación de especies reactivas dependiente de metales**

Implica la inhibición de la formación de especies reactivas se relaciona con contraponer la capacidad que tienen ciertos metales de transición, como hierro y cobre (ambos en su estado reducido), para catalizar (actividad redox) la formación de radicales superóxido a partir de la reducción de oxígeno y de radicales hidroxilos, a partir de peróxido de hidrógeno (Reacción de Fenton) (Alvarado y condori, 2017).

#### **Activación o inducción de la actividad de enzimas antioxidantes**

Como parte de la defensa antioxidante, el organismo humano biosintetiza ciertas enzimas cuya función es remover especies reactivas, principalmente ROS. La acción antioxidante de todas estas enzimas se traduce en una disminución del estado redox celular (Alvarado y condori, 2017).

### 3.2.8. radical libre

Los componentes de un organismo vivo en su metabolismo aeróbico normal están sujetos a una exposición constante de especies redox u oxidantes. Las fuentes pueden dividirse en sitios endógenos y exógenos. Los factores de estilo de vida pueden incidir en ambos tipos de fuentes. Una idea importante, desde el principio, fue la percepción de que las reacciones de oxidación-reducción (redox) en las células vivas se utilizan en procesos fundamentales de regulación redox, denominados colectivamente “Señalización redox” (figura 9) y “control redox” (Damián, 2020).

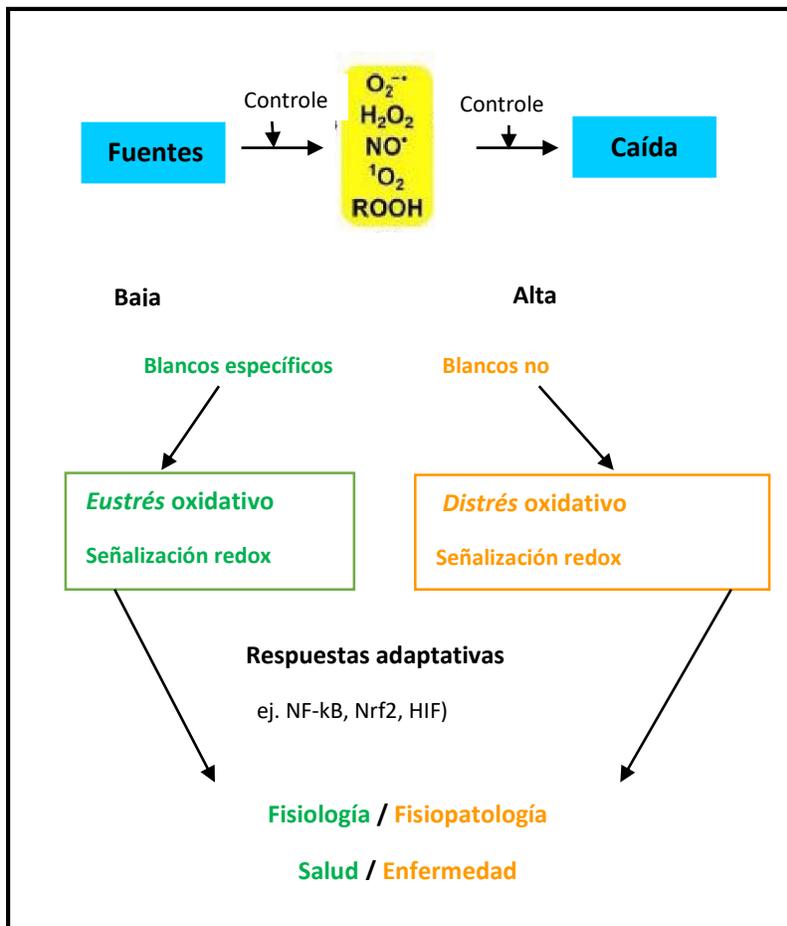


figura 5 Señalización redox y su relación con el estrés oxidativo

Se lleva a cabo un gran desequilibrio molecular por sustancias químicas conocidas como radicales libres (RL), en el cual sus electrones realizan su recorrido orbital de

forma impar; un compuesto se transforma en RL cuando gana un electrón (reducción), cuando pierde un electrón (oxidación molecular) o en la división simétrica de los compuestos covalentes, donde cada fracción retiene al electrón impar, como sucede típicamente en la lipoperoxidación. Los RL buscan obtener una distribución electrónica estable, por lo tanto, por medio de las reacciones redox (reacciones de óxido reducción) interactúan con otras moléculas, generándose una reacción en cadena y logrando la estabilidad cuando dos radicales libres reaccionen entre sí o se sustrae el electrón de sus proximidades llegando así a la paridad electrónica (Damián, 2020).

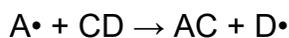
Los radicales libres son moléculas altamente inestables y reactivas ya que son de carácter paramagnético, presentan una vida media corta y tienen capacidad para combinarse inespecíficamente con diferentes moléculas y capacidad para atacar a cualquier tipo de biomoléculas (Damián, 2020).

Las reacciones bioquímicas dadas se clasifican en 3 grupos.

**-Reacciones de iniciación:** A partir de no radicales se forma un radical libre.



**-Reacciones de propagación:** Reacción de molécula estable con radical libre generando la formación de radical libre.



**-Reacciones de terminación:** Reacción entre dos radicales libres, generando un producto estable.



Las especies reactivas contiene dos tipos de moléculas: los radicales libres y los no radicales, originado en procesos fisiológicos normales como en procesos patológicos. Los RL se pueden clasificar por el grupo funcional que presente en su molécula, tales como, nitrógeno, oxígeno, bromo, tiol, fósforo, etc. Las RNS y ROS son dos grupos grandes que están implicados en la biología redox (reacciones de óxido reducción), aunque los radicales libres de oxígeno son de gran importancia y

los más comunes ya que forman parte de los diversos procesos aeróbicos (Damián, 2020).

### **3.2.9. Método de extracción de aceites esenciales**

#### **Extracción por arrastre de vapor**

Los aceites esenciales que derivan de las plantas aromáticas se obtienen típicamente por arrastre de vapor, siendo un proceso simple, clásico y relativamente barato en el cual los aceites esenciales sean extraídos de la planta por una corriente del vapor de agua y entonces ambas fases se separan fácilmente por la diferencia de densidades. Este método es uno de los más utilizados y más antiguo. Su uso se radica en el bajo consumo energético y no ocasiona transformación química en los componentes del aceite. Su fundamento es que por efecto de la temperatura del vapor (100°C) en un cierto tiempo, el tejido vegetal se rompe liberando el aceite esencial. Los aceites esenciales obtenidos de esta forma deberán ser insolubles en agua, de no serlo los componentes solubles en agua se quedarán en la fase acuosa aun después de pasar por el condensador y el separador que permite aislar la fase de aceite esencial de la de agua (Look de Ugaz. O, 1999).

#### **Método de la destilación por arrastre con vapor de agua**

La muestra vegetal, generalmente seca y cortada en trozos pequeños, es encerrada en una cámara inerte y sometida a una corriente de vapor de agua sobrecalentado, la esencia así arrastrada es posteriormente condensada, recolectada y separada de la fracción acuosa. Esta técnica es muy utilizada especialmente para esencias fluídas, especialmente las utilizadas para perfumería. Se utiliza a nivel industrial debido a su alto rendimiento, la pureza del aceite obtenido y porque no requiere tecnología sofisticada (Marín, 2019).

#### **Método de la extracción con solventes volátiles**

La muestra seca y molida se pone en contacto con solventes tales como alcohol, cloroformo, etc. Estos solventes solubilizan la esencia, pero también solubilizan y extraen otras sustancias tales como grasas y ceras, obteniéndose al final una esencia impura. Se utiliza a 26 escala de laboratorio pues a nivel industrial resulta costoso por el valor comercial de los solventes, porque se obtienen esencias

impurificadas con otras sustancias, y además por el riesgo de explosión e incendio característicos de muchos solventes orgánicos volátiles (Marín, 2019).

### **Método de enflorado o enfleurage**

El material vegetal (generalmente flores) es puesto en contacto con un aceite vegetal. La esencia es solubilizada en el aceite vegetal que actúa como vehículo extractor. Se obtiene inicialmente una mezcla de aceite esencial y aceite vegetal la cual es separada posteriormente por otro medio físico-químicos. Esta técnica es empleada para la obtención de esencias florales (rosa, jazmín, azahar, etc.), pero su bajo rendimiento y la difícil separación del aceite extractor la hacen costosa (Marín, 2019).

### **Método de extracción con fluidos supercríticos**

Es de desarrollo más reciente. El material vegetal cortado en trozos pequeños, licuado o molido, se empaca en una cámara de acero inoxidable y se hace circular a través de la muestra un líquido supercrítico (por ejemplo, dióxido de carbono líquido), las esencias son así solubilizadas y arrastradas y el líquido supercrítico que actúa como solvente extractor y se elimina por descompresión progresiva hasta alcanzar la presión y temperatura ambiente, y finalmente, se obtiene una esencia pura. Aunque presenta varias ventajas como rendimiento alto, es ecológicamente compatible, el solvente se elimina fácilmente e inclusive se puede reciclar, y las bajas temperaturas utilizadas para la extracción no cambian químicamente los componentes de la esencia, sin embargo, el equipo requerido es relativamente costoso, ya que se requieren bombas de alta presión y sistemas de extracción también resistentes a las altas presiones (Marín, 2019).

### **Extracción por microondas**

El uso de microondas es otra alternativa para la extracción de aceites esenciales. Esta técnica puede utilizarse asistiendo un método convencional como la hidrodestilación o adaptando un equipo para establecerlo como un método independiente, como la extracción por microondas sin disolvente. No se necesita agregar ningún disolvente o agua si se emplea material fresco. En caso de que el material este seco, éste se rehidrata remojándolo en agua y drenando el exceso antes de la extracción (Peredo, 2009).

### **3.2.10. Cromatografía**

Es un método que permite la separación, identificación y determinación de los componentes químicos en mezclas complejas. Es difícil describir rigurosamente al término 18 cromatografía, ya que se ha aplicado ese nombre a varios sistemas y técnicas. Sin embargo, todos los métodos tienen en común el uso de la fase estacionaria y una fase móvil. Los componentes de una mezcla son transportados a través de una fase estacionaria por el flujo de una fase móvil, y las separaciones se basan en las diferencias de velocidad de migración entre los distintos componentes de las mezclas (Barajas, 2011).

La característica que distingue a la cromatografía de la mayoría de los métodos físicos y químicos de separación, es que se ponen en contacto dos fases mutuamente inmiscibles. Una fase es estacionaria y la otra móvil. Una muestra que se introduce en la fase móvil es transportada a lo largo de la columna que contiene una fase estacionaria distribuida. Las especies de la muestra experimentan interacciones repetidas (repartos) entre la fase móvil y la fase estacionaria. Cuando ambas fases se han escogido en forma apropiada los componentes de la muestra se separan gradualmente en bandas en la fase móvil. Al final del proceso los componentes separados emergen en orden creciente de interacción con la fase estacionaria. El componente menos retardado emerge primero, el retenido más fuertemente eluye al último. El reparto entre las fases aprovecha las diferencias entre las propiedades físicas y/o químicas de los componentes de la muestra (Barajas, 2011).

#### **Técnicas Cromatografías**

##### **Cromatografía en columna**

En este tipo de cromatografía se utiliza un tubo cilíndrico, en el interior se coloca la fase estacionaria y a través de ella se hace pasar la fase móvil. El flujo de la fase móvil (líquido o gas) a través de la fase estacionaria se puede conseguir por presión, capilaridad o por gravedad (Barajas, 2011).

## Cromatografía plana

La fase estacionaria se coloca en una superficie plana y se distinguen dos tipos de cromatografía plana.

Cromatografía en papel, en la que el papel actúa como soporte de la fase estacionaria (cromatografía de partición) (Barajas, 2011).

Cromatografía en capa fina, un sólido actúa como fase estacionaria, o como soporte de la fase estacionaria se extiende en una capa delgada sobre una placa, generalmente de vidrio, en la cromatografía plana está excluido el uso de un gas como fase móvil, por lo que ésta siempre es líquida (Barajas, 2011).

**Tabla 1** Clasificación de los métodos cromatográfico

<b>Clasificación general</b>	<b>Método específico</b>	<b>Fase estacionaria</b>	<b>Tipo de equilibrio</b>
<b>Cromatografía de gases</b>	Gas-líquido (GLC)	Líquido adsorbido	Reparto entre gas y líquido
<b>Cromatografía líquida</b>	Gas-sólido	sólido	Adsorción
	Líquido-líquido	Líquido adsorbido	Adsorción
	Líquido-sólido	sólido	
	Intercambio	Resina de intercambio iónico	Intercambio iónico
	Exclusión por Afinidad	Líquido en los intersticios  Líquido con un grupo específico	Reparto/tamizado  Reparto entre líquido

## Cromatografía de gases

En cromatografía de gases (GC), la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de un gas inerte (generalmente helio o nitrógeno) que no interacciona con las moléculas 20 de analito, su única función es la de transportarlo a través de la columna. El analito se distribuye entre la fase móvil gaseosa y una fase líquida inmovilizada sobre la superficie de un sólido inerte dentro de la columna cromatográfica, de manera que en función de interacción con ambas va a presentar distinto tiempo de retención, por lo que se puede analizar cada analito por separado (Robles, 2014).

La cromatografía de gases se utiliza para el análisis de compuestos que presentan una volatilidad importante a temperaturas inferiores a 350-400 °C, además deben ser termoestables a las temperaturas de trabajo y no han de degradarse ni perderse parte de los mismos a través de reacciones secundarios. La naturaleza de los analitos y su peso molecular se puedan utilizar para predecir su volatilidad, así cuanto mayor sea la polaridad y/o el peso molecular menor será ésta. De manera que, mientras que los hidrocarburos más pesados de 500 uma puedan ser analizados por medio GC, los de peso molecular superior 1400 uma necesitarían condiciones especiales (Robles, 2014).

Cada soluto presente en la muestra tiene diferente afinidad hacia la fase estacionaria, lo que permite su separación: los componentes fuertemente retenidos por esta fase se moverán lentamente en la fase móvil, mientras que los débilmente retenidos lo harán rápidamente. Un factor clave en este equilibrio es la presión de vapor de los compuestos (en general, a mayor presión de vapor, menor tiempo de retención en la columna). Como consecuencia de esta diferencia de movilidad, los diversos componentes de la muestra se separan en bandas que pueden analizarse tanto cualitativa como cuantitativamente mediante el empleo de los detectores seleccionados (Gutiérrez, 2002).

### **Cromatografía de gases- espectrometría de masas (gc-ms)**

Es una técnica combinada (GC-MS) que permite la separación e identificación de mezclas complejas, es comúnmente usado para el análisis de aceites esenciales, manejando un sistema con alta sensibilidad, adquisición de datos y proceso confiable y bajo costo en relación con el gasto de reactivos (Ricaldi, 2014).

La utilización de la cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas requiere sistemas especiales de conexión. En principio, se trata de dos técnicas que trabajan en fase gaseosa y necesitan una pequeña cantidad de muestra para su análisis, por lo que son muy compatibles. El único obstáculo serio a la hora de realizar su 25 acoplamiento es que el efluente que emerge de la columna cromatografía sale a presión atmosférica y debe introducirse en el interior del espectrómetro de masas que trabaja a alto vacío. Actualmente, el acoplamiento directo resulta fácil cuando se utiliza la cromatografía de gases capilar, que es el caso más habitual (Gutiérrez, 2002).

En resumen, una mezcla de compuestos inyectada en el cromatógrafo de gases se separa en la columna cromatografía obteniendo la elución sucesiva de los componentes individuales aislados que pasan inmediatamente al espectrómetro de masas. Cada uno de estos componentes se registra en forma de pico cromatográfico y se identifica mediante su respectivo espectro de masas. En este proceso, el espectrómetro de masas, además de proporcionar los espectros, actúa como detector cromatográfico al registrar la corriente iónica total generada en la fuente iónica, cuya representación gráfica constituye el cromatograma (Gutiérrez, 2002).

#### **3.2.11. Método para determinar la actividad antioxidante**

Para evaluar actividad antioxidante se recurre a diferentes métodos

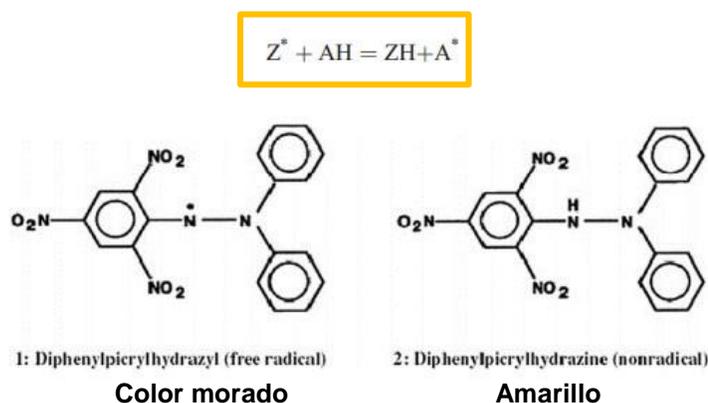
##### **Método de DPPH**

El DPPH o 2,2- difenil-1-picrilhidazil es un radical estable cromóforo de color morado oscuro. La reacción con otros radicales, electrones o átomos de hidrógeno conducen a la pérdida de color del DPPH medido por espectro UV-VIS a 517 nm con la pérdida de la señal de radicales libres, y sirve como un indicador de la capacidad antioxidante, esta reacción se basa en la donación electrónica de

antioxidantes para neutralizar el radical DPPH. Por lo tanto, este método se basa principalmente en la suposición de que la actividad antioxidante es igual a su capacidad de donación del electrón o el llamado poder reductor (Damián, 2020).

La reacción primaria se muestra en la Figura 14, representando al radical DPPH por Z• y la molécula donante por AH, donde ZH es la forma reducida y A• es radical libre producido en el primer paso. La molécula DPPH (Z•) está destinada a representar los radicales libres formados en el sistema cuya actividad debe ser suprimida por la sustancia AH (Damián, 2020).

La reacción primaria es:

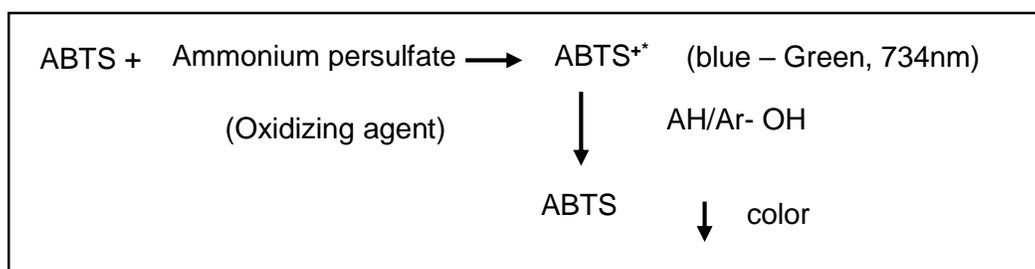


**figura 6** Radical DPPH (como radical libre) y su forma estable

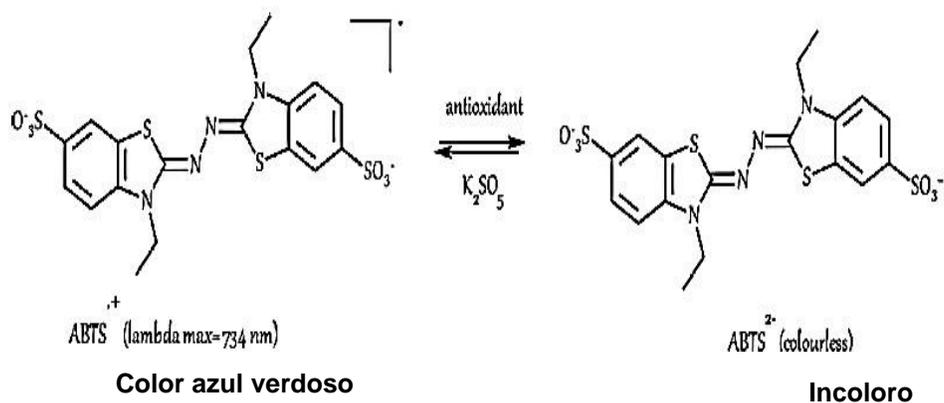
### Método de ABTS •+

El ensayo de la captación del radical ABTS •+ mide la capacidad de los antioxidantes o muestras con dicha capacidad antioxidante para eliminar el catión estable ABTS •+ (2,2'-azinobis (3- ácido etilbenzotiazolina-6-sulfónico)), que presenta inicialmente un azul verdoso cromóforo con absorción máxima a 734 nm y que disminuye en su intensidad en presencia de antioxidantes. ABTS •+ puede ser generado directamente utilizando persulfato de potasio como el agente oxidante, los antioxidantes luego reaccionan solo con ABTS •+ (Figura 15) Entonces se explica que el ABTS inicialmente se somete a una reacción de oxidación con permanganato de potasio, persulfato de potasio o 2,2'-azo-bis (2amidinopropano), produciendo el catión radical del ABTS (ABTS •+) con un color azul verdoso. El ABTS •+ es estable por

varios minutos, el  $ABTS^{+\cdot}$  se somete a la muestra antioxidante, causando la reducción de  $ABTS^{+\cdot}$  y, en consecuencia, la decoloración de la reacción mezcla (Figura 16). Por lo tanto, el grado de decoloración se puede expresar como el porcentaje de inhibición de  $ABTS^{+\cdot}$ , que se determina en función del antioxidante concentración y tiempo (Damián, 2020).



**figura 7** Reacción de ABTS (forma estable) y agente oxidante generando  $ABTS^{+\cdot}$  (como radical libre)



**figura 8** Radical  $ABTS^{+\cdot}$  (como radical libre) y su forma estable

### 3.3. Marco conceptual

#### 3.3.1. Aceites esenciales

Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica (Martínez, 2003).

### **3.3.2. Los Hidrolatos**

son el subproducto de la obtención de aceites esenciales por destilación por arrastre al vapor de flores y plantas aromáticas. El destilado resultante está compuesto básicamente de agua y una capa fina de aceite esencial, que normalmente se separa y se vende aparte. Es decir, con una destilación, se obtienen dos productos el aceite esencial por un lado y el hidrolato que contiene micro-partículas de aceite esencial en suspensión (Sweetillo, 2016).

### **3.3.3. Los antioxidantes**

Un antioxidante se define, en el sentido más amplio de la palabra, como cualquier molécula capaz de prevenir o retardar la oxidación (pérdida de uno o más electrones) de otras moléculas, generalmente sustratos biológicos como lípidos, proteínas o ácidos nucleicos (Menckeberg, 2021).

### **3.3.4. Métodos de extracción de los aceites esenciales**

Los aceites esenciales se pueden extraer de las muestras vegetales mediante varios métodos como: destilación con agua o hidrodestilación con trampa de clewenger, destilación por arrastre de vapor, expresión, extracción con disolventes, extracción por el método enflorado o enfleurage, extracción por fluidos supercríticos y extracción por microondas (Martínez, 2003).

### **3.3.5. El estrés oxidativo**

Es un desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes a favor de los oxidantes. Puede entenderse como un desequilibrio entre la generación de radicales libres y la eliminación de los mismos y está ampliamente involucrado en la aparición y desarrollo de muchas enfermedades (Helmut, 2018).

### **3.3.6. Los radicales libres**

son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado o libre por lo que son muy reactivos ya que tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. un radical libre es cualquier especie (átomo, molécula o ión) que contenga a lo menos un electrón desapareado en su orbital más externo, y que sea a su vez capaz de existir en forma independiente (de ahí el término libre). (Menckeberg, 2021)

### **3.3.7. Átomo**

Es la partícula más pequeña de materia que puede existir libre conservando las propiedades físico-químicas características de ese elemento y que es capaz de intervenir en reacciones químicas. En la estructura del átomo encontramos una región central muy densa formada por dos tipos de partículas los protones y los neutrones. Ambos le otorgan masa al núcleo, los protones son partículas con carga positiva y los neutrones no están cargados (Zaragoza, 1992)

## **4. OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN**

### **4.1. Objetivo general**

- ✓ Comparación de los componentes químicos en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chikchipay (tagetes multiflora kunth).

### **4.2. Objetivo específico**

- ✓ Determinar el porcentaje del rendimiento de la extracción de aceite esencial e hidrolatos del chikchipay (tagetes multiflora kunth).
- ✓ Determinar los compuestos bioactivos en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chikchipay (tagetes multiflora kunth).
- ✓ Evaluar la actividad antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chikchipay (tagetes multiflora kunth)

## **5. FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS**

### **5.1. Hipótesis general**

- ✓ El aceite esencial muestra una variación de componentes bioactivos frente a los hidrolatos extraídos del chikchipay (tagetes multiflora kunth).

### **5.2. Hipótesis específico**

- ✓ El aceite esencial presenta menor rendimiento frente al rendimiento del hidrolato extraído del chikchipay (tagetes multiflora kunth).
- ✓ El aceite esencial presenta mayores compuestos bioactivos frente al hidrolato extraído del chikchipay (tagetes multiflora kunth).
- ✓ La actividad antioxidante presenta una variación en el aceite esencial e hidrolato extraído del chikchipay (tagetes multiflora kunth).

### 5.3. Identificación de variables

Variable independiente

- ✓ Aceite esencial
- ✓ Hidrolato

Variable dependiente

- ✓ Porcentaje de rendimiento
- ✓ Compuestos bioactivos
- ✓ Actividad antioxidante

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. Lugar de ejecución

Localidad, Santa Rosa Distrito de Talavera, Provincia de Andahuaylas, Departamento de Apurímac.

Institución, laboratorio de química de la escuela profesional de ingeniería agroindustrial (EPIA) de la universidad José María Arguedas (UNAJMA).

### 6.2. Materiales, instrumentos y equipos

**Tabla 2** Materiales

CANTIDAD	DESCRIPCIÓN
03	Vasos de precipitado de 50, 100 y 250 ml
01	Separador florentino de 100 ml
03	Probeta de 50 y 100 ml
01	Burea de 50 ml
01	Pera de decantación ml
02	Gradillas para tubos de ensayo
03	Pipeta de 1 a 100 $\mu$ L.
03	Pipeta de 5 ml.
03	Envase de vidrio color ámbar de 15 ml
03	Propipetas

03	Matras Erlenmeyer de 50 ml
01	Gotero
12	Tubos de ensayo
03	Matraces aforados
01	Espátula

### Equipo

En esta Tabla (3) se muestran todo los equipos e instrumento con los cuales se ejecutará el trabajo de investigación.

**Tabla 3** Equipo

CANTIDAD	EQUIPO E INSTRUMENTO
01	Equipo de extracción por arrastre de vapor
01	Cromatógrafo de gases – Agilent Technologies 7890 <sup>a</sup>
01	Espectrofotómetro Agilent Technologies 5975C.
01	Balanza analítica de 0.1 mg – 120 g.
01	Detector selecto de masa Agilent Technologies 5975 C
01	Balanza analítica de 1/100 g. de 50 kg de capacidad
03	Picnómetro de 5 ml
01	Centrifuga
01	Termómetro de 0 a 200 °C

### Materia prima

En la Tabla (4) se muestra la materia prima con la que se va trabajar

**Tabla 4** Materia prima

Cantidad	Materia prima	Descripción
05 kg	Chikchimpay	Recolectada a 2860 msnm. Andahuaylas.

**Reactivos químicos**

En la Tabla (5) se muestran los reactivos a utilizarse en el trabajo de investigación.

**Tabla 5** Reactivos químicos

CANTIDAD	REACTIVOS
60 mg	Radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)
50 ml	Etanol
1 L.	Metanol
10 ml	Fenolftaleína
10 ml	Diclorometano
	Dimetilsulfoxido (DMSO)
50 g	Hidróxido de sodio (NaOH) 1N
3 L	Agua destilada

**6.3. Población y muestra****Población**

Aceites esenciales e hidrolatos extraídos del chikchimpay (tagetes multiflora kunth) procedente de la provincia de Andahuaylas departamento – Apurímac.

**Muestra**

La muestra será referida a 5 ml de aceite esencial y 5 ml de hidrolatos por muestra el análisis que se realizan por triplicado.

## **6.4. Tipo de investigación**

### **6.4.1. De acuerdo a fin que persigue**

#### **Aplicada**

Con esta investigación se logrará conocer la composición de bioactivos de chikchimpay (*Tagetes multiflora* Kunth) y también la actividad antioxidante que permitirá en futuro su aplicación como posibles conservantes alimentarios desde especies vegetativas andinas de nuestra provincia de Andahuaylas.

### **6.4.2. De acuerdo a la técnica de contrastación**

#### **Experimental**

Los datos serán obtenidos de fenómenos acondicionados por el investigador.

## **6.5. Método de análisis**

### **6.5.1. Determinación de compuestos bioactivos y actividad antioxidante**

Se realizarán los siguientes análisis.

#### **a. Determinación de rendimiento del aceite esencial**

Para determinar el rendimiento del aceite esencial, se tomará como referencia el peso (g) de aceite esencial extraído sobre la cantidad de materia vegetal (g), haciendo uso de una balanza analítica (Paredes, 2010).

$$\text{Rendimiento \%} = \frac{w_2}{w_1 * 100}$$

Donde:

W1 = Peso en gramos del material vegetal sometido a extracción.

W2 = Peso en gramos del aceite esencial extraído.

#### **b. Determinación de compuestos bioactivos**

Cromatografía de gases – Espectrometría de masas (CG-MS) La identificación del componente del aceite esencial se realizará por Cromatografía de gases – Espectrometría de masas (CG-MS), en el cromatógrafo Modelo Trace 1310 Termo scientific acoplado a un espectrómetro de masas Modelo ISQ QD Termo scientific, en el laboratorio de Fitoquímica de la Universidad peruana Cayetano Heredia con una columna capilar TG – 5SILMS de diámetro interno 0.25 mm y de 30 metros. Los análisis se llevarán a cabo bajo las siguientes condiciones: programa de temperatura de horno, temperatura inicial 60°C, gradiente 5 °C/min., temperatura final 240 °C (5 min.); gas portador helio con un flujo de 1mL/min.; temperatura del

inyector y detector de 250 °C, volumen de inyección de 1µL y una dilución Split de 1/100. En el cromatógrafo se obtendrá los cromatogramas y el contenido porcentual de cada componente, se calculará a partir del área bajo el pico y los componentes se comparará con el total del pico de áreas de todos los componentes; mientras que la identificación de los componentes de cada cromatograma se realizará mediante la obtención del espectro 41 de masas. Los diferentes componentes del aceite esencial, se identificará utilizando los tiempos de retención de la cromatografía de gases y los espectrómetros de masa de cada componente. Los espectros de masas se compararán con los datos estándar de referencia correspondiente a los espectros de masas de la base de datos librería Mainlib. Lo que permitirá valorar la composición mayoritaria de cada aceite esencial y así determinar la identificación y cuantificación de los aceites esenciales (Marín, 2019).

### **c. Determinación de la actividad antioxidante**

Método (DPPH•) (1,1-Difenil-2-Picrilhidrazil)

El radical libre y estable 1,1-Difenil-2-Picrilhidrazil (DPPH•), Es un indicador para medir la capacidad de secuestro de cualquier compuesto con actividad antioxidante. Su mecanismo de reacción consiste en la sustracción de un átomo de hidrogeno proveniente de un donador. La reacción de ensayo, desarrolla un cambio de color violeta a amarillo a medida que disminuye la absorbancia a 515 nm (Carhuapoma, 2007).

Los resultados se expresan como actividad antiradical o IC50 (Concentración Inhibitoria al 50), la cual está definida como la concentración del antioxidante que disminuye la absorción del radical a un 50% de la cantidad inicial (Torrenegra, 2014).

Los compuestos polifenólicos frente al radical DPPH°, en general la absorbancia desciende rápidamente en los primeros minutos, debido a la transferencia al radical de los átomos de hidrogeno con más facilidad de donación. Seguidamente una etapa de caída más lenta, hasta el equilibrio, debido a la actividad remanente de los productos de oxidación y degradación (Oliveira, 2014).

Se procederá calcular con la siguiente formula:

% de Inhibición para cada concentración con la siguiente formula:

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

Donde:

$A_0$  = Absorbancia a tiempo cero

$A_f$  = Absorbancia final % de Inhibición

## **6.6. Metodología experimental**

### **6.6.1. Descripción de la obtención del aceite esencial de la especie vegetativa chikchimpay (tagetes multiflora kunth)**

#### **a. Materia prima**

Se utilizará la especie vegetativa chikchimpay procedente de la provincia de Andahuaylas.

#### **b. Recolección**

Se llevará a cabo una recolección manual. El recojo se realizará primeras horas de la mañana para evitar una exudación excesiva de planta.

#### **c. Recepción**

Será realizado mediante una inspección en el estado de floración con el corte de 25 – 30cm.

#### **d. Transporte**

El apasionamiento y/o la sobrecarga generan estrés y por lo tanto hay un incremento de temperatura y deterioro de la planta. Es por ello que se efectuará el transporte en sacos con malla que permitirá una aireación.

#### **e. Selección y limpieza**

Se procederá la selección de la materia prima y la eliminación de partículas extrañas (polvo, arena y otros) adheridas a la superficie del chikchimpay y se dará aire sobre una superficie lisa con adecuada ventilación.

#### **f. Acondicionamiento**

Se acondicionará en un contenedor (cesto de acero inoxidable) el material vegetal será hojas frescas una cantidad. El material vegetal contenido en el cesto será depositado en el extractor con agua destilada para la generación de vapor.

**g. Extracción**

Esta operación se realizará a partir de tres muestras de 10kg de materia prima, sometidas al método arrastre con vapor, en un equipo de acero inoxidable y se iniciará el proceso de extracción.

**h. Descarga**

Una vez terminado la extracción se realizará la descarga tanto del separador de aceites esenciales como del material vegetal depositado en el extractor y en el contenedor, obteniéndose así aceite esencial.

**i. Almacenamiento**

El aceite esencial, será envasado en frascos ámbar de 10ml, se almacenará en ambientes de refrigeración a temperaturas promedios de 5-3°C. (Valverde, 2011)

Diagrama de bloque para la obtención del aceite esencial de la especie vegetativa chikchipay (*tagetes multiflora kunth*)

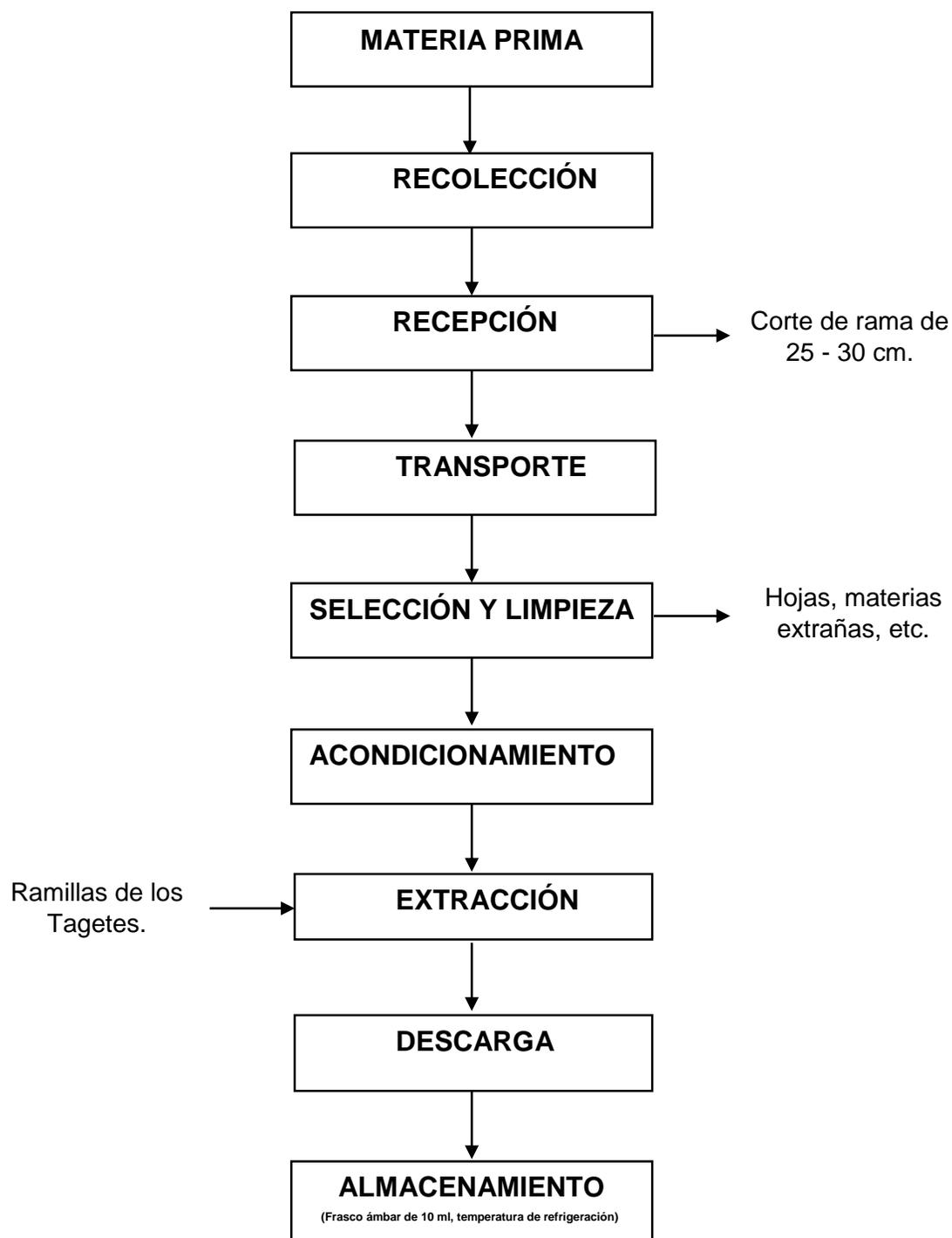


figura 9 Diagrama de bloque para la obtención del aceite esencial de la especie vegetativa chikchipay (*tagetes multiflora kunth*)

## **6.6.2. Descripción del proceso de análisis instrumental por GC – SM**

### **a. Portador “gas helio”**

Se utilizará el equipo de cromatografía para la separación de los compuestos volátiles.

### **b. Muestra de aceite esencial**

Se realizará esta etapa para la separación de compuestos activos por cromatografía de gas.

### **c. Horno**

Se encargará de producir calor para alimentar al gas helio (T°60 °C- T°210 °C).

### **d. Columna**

En este proceso la corriente de gas atraviesa una columna cromatografía que separará los compuestos activos.

### **e. Detector**

En esta fase los componentes activos son detectados por medio de una mezcla que pasará por un análisis cualitativo.

### **f. Cámara de ionización**

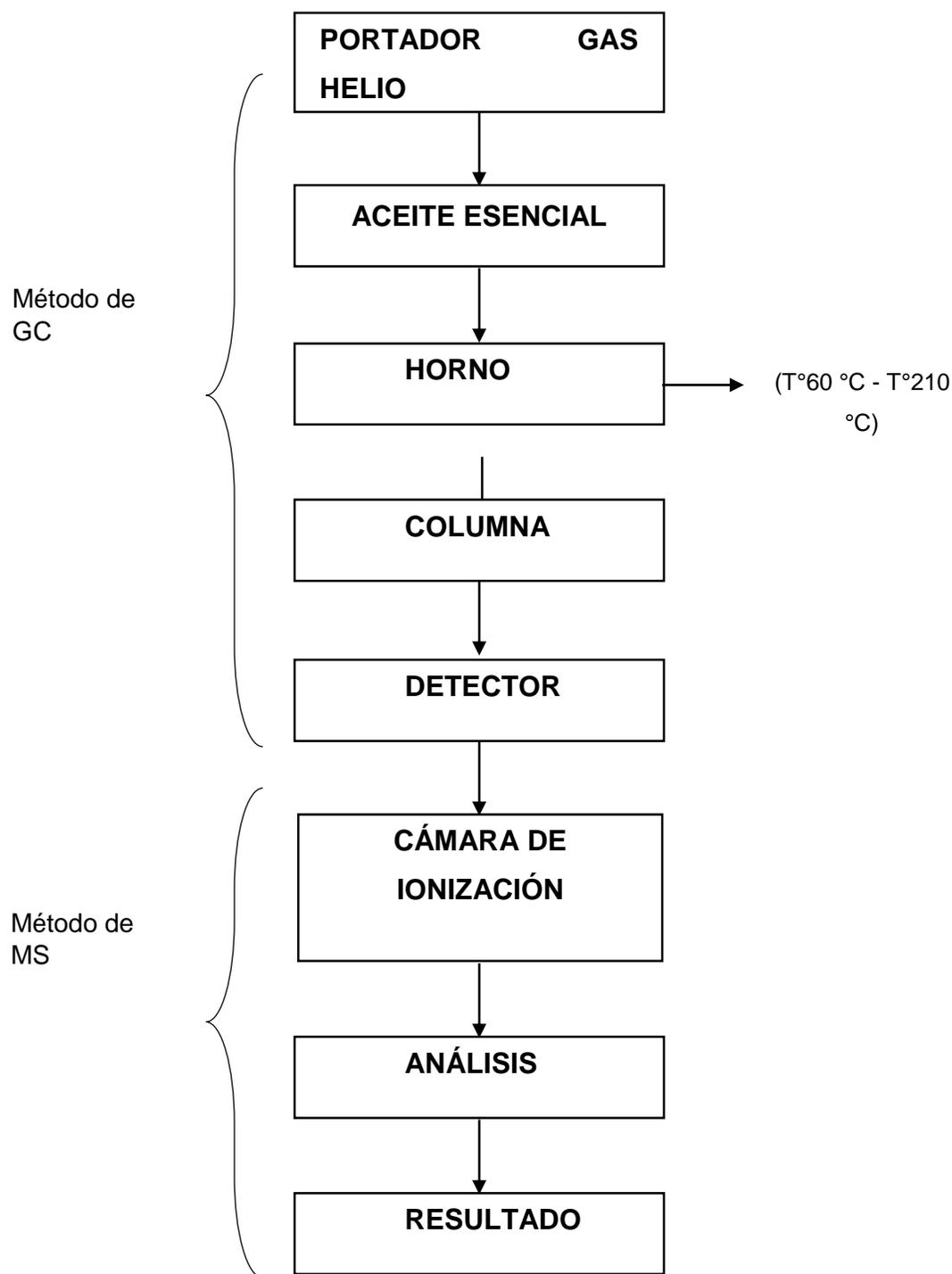
Después del análisis ingresará a una cámara de ionización.

### **g. Análisis**

Consta la comparación de compuestos obtenidos con la librería de patrón.

(Marquez, 2014)

Diagrama de bloque para el proceso de análisis instrumental por cromatografía de gases – espectrometría de masas del aceite esencial de la especie vegetativa chikchimpay (tagetes multiflora kunth)



**figura 10** Diagrama de bloque para el proceso de análisis instrumental por cromatografía de gases – espectrometría de masas del aceite esencial de la especie vegetativa chikchipay (*tagetes multiflora kunth*)

(Marquez, 2014)

### **6.6.3. Descripción de la actividad antioxidante preparación de los reactivos**

- ✓ Radical DPPH• (0.06 mM), se pesará 2.3 mg de DPPH• y se disuelven en 100 mL de metanol (Brand-William et al., 1995). El radical preparado es estable durante 12 h a temperatura ambiente y protegida de la luz.
- ✓ Preparación del estándar de referencia TROLOX: se emplea el Trolox en metanol, se preparará una disolución madre de 2 mM y posteriormente se preparará diluciones de 0.05, 0,1, 0,5 y 1 mM en metanol, para preparar la curva estándar referida al % inhibición con respecto a las diferentes concentraciones de Trolox.
- ✓ Se medirá la absorbancia con cubetas de cuarzo estándar de 1cm, a 515 nm de 2.9 mL del DPPH• (0.06mM), obteniendo así el valor de la absorbancia a tiempo cero, posteriormente se adicionará 100 µL de las diferentes concentraciones del Trolox, y se mide la absorbancia cada quince minutos, durante una hora (hasta alcanzar el equilibrio), se obtendrá así el valor de la absorbancia final, pudiendo calcular el % de inhibición (Samaniego, 2006).

### **Medida de la actividad antioxidante de las muestras**

- ✓ Se extraerá la fracción polar del aceite, se mezclará el aceite en metanol en proporción 1:1 v/v y se centrifugará a 2500-3000 rpm durante diez minutos a 15°C, a continuación, se extraerá la fase metanólica, donde se encuentran los componentes solubles en metanol del aceite (compuestos polifenólicos), responsables en su mayoría del efecto antioxidante de los mismos.
- ✓ Se medirá la absorbancia en diferentes diluciones metanólicas del extracto (1:2, 1:5 y 1:10).
- ✓ Se tomará 2.9 mL del radical DPPH•, se le medirá la absorbancia a 515nm, y se añadirá 100µL del extracto metanólico del aceite a ensayar. Se agita y

se mide su absorbancia cada 15 minutos durante una hora (Samaniego, 2006).

### 6.7. Diseño experimental

El diseño experimental para el trabajo de investigación será tipo diseño completamente al azar (DCA), debido a que se manipulará dos variables de entrada con tres repeticiones y con variable de salida rendimiento del aceite esencial, componente bioactivo y actividad antioxidante se hará una comparación de las dos variables independientes, arreglo experimental se muestra en la tabla (6)

**Tabla 6** Diseño experimental – DCA

Numero de repeticiones (j)	Variable independiente	Variable dependiente		
		Rendimiento	Compuesto bioactivo	Actividad antioxidante
3	Chikchimpay			

#### 6.7.1. ANOVA para el diseño completamente al azar (DCA)

El análisis de varianza (ANOVA) es la técnica central en el análisis de datos experimentales.

La idea general de esta técnica es separar la variación total en las partes con las que contribuye cada fuente de variación en el experimento. En el caso del DCA se separan la variabilidad debida a los tratamientos y debida al error. Cuando la primera predomina “claramente” sobre la segunda, es cuando se concluye que los tratamientos tienen efecto, o dicho de otra manera, las medias son diferentes.

Cuando los tratamientos no dominan contribuyen igual o menos que el error, por lo que se concluye que las medias son iguales.

El objetivo del Análisis de varianza en DCA es probar la hipótesis de igualdad de los tratamientos con respecto a la media de la correspondiente variable de respuesta.

Es importante resaltar que el ANOVA supone que la variable de respuesta se distribuye normal, con varianza constante (los tratamientos tienen varianza similar) y que las mediciones son independientes entre sí. Estos supuestos deben verificarse con las

hipótesis para estar más seguros de las conclusiones obtenidas, de la siguiente manera (Gutierrez, 2008).

***H<sub>0</sub>:  $\mu A = \mu B = \mu C = \mu D = \mu$***

***H<sub>A</sub>:  $\mu i \neq \mu j$  para algún  $i \neq j$***

A continuación, se presentan las siguientes hipótesis:

Tiene efecto significativo el rendimiento, los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante del aceite esencial e hidrolato extraídos de la especie vegetativa chikchimpay.

### **Hipótesis**

**Hipótesis nula H<sub>0</sub>:** No hay efecto significativo el rendimiento, los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante del e hidrolato extraídos de la especie vegetativa chikchimpay.

$$X_i = X_j$$

**Hipótesis alterna H<sub>A</sub>:** Hay efecto significativo el rendimiento, los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante del aceite esencial e hidrolato extraídos de la especie vegetativa chikchimpay.

$$X_i \neq X_j \text{ para algún } i \text{ y } j$$

### **Nivel de significancia ( $\alpha$ )**

Para el caso de comparaciones de tratamiento habitualmente se emplea para  $\alpha = 0.05$

(Gutierrez, 2008)

### **6.7.2. Análisis estadístico Análisis De Varianza**

El análisis de varianza (ANOVA), se refiere en general a un conjunto de situaciones experimentales y procedimientos estadísticos para el análisis de respuestas cuantitativas de unidades experimentales. El problema más sencillo de ANOVA se conoce como el análisis de varianza de un solo factor o diseño completamente al azar, éste se utiliza para comparar dos o más tratamientos, dado que sólo consideran dos fuentes de variabilidad, los tratamientos y el error aleatorio. En todas las corridas experimentales se deben de

realizar en un orden aleatorio. De esta manera, si durante el estudio se hacen  $N$  pruebas, éstas se corren al azar, de manera que los posibles efectos ambientales y temporales se vayan repartiendo equitativamente entre los tratamientos (Romaina, 2012).

El análisis de varianza es una técnica mediante la cual se prueban las medias de los tratamientos y se observan las fuentes de variabilidad de la variable de respuesta. En el caso del diseño completamente al azar, el esquema del ANOVA, se presenta en la tabla (7) siguiente:

**Tabla 7** Esquema del ANOVA

Fuente de variabilidad	$C.L$	$S:C.$	$C.M$	$F_C$	$F_t$
Tratamiento	$t - 1$	$\frac{\sum y_i^2}{r} - TC$	$\frac{SCT}{t - 1}$	$\frac{CMt}{CME}$	* **
Error	$t(r - 1)$	$SCT - SCt$	$\frac{SCE}{t(r - 1)}$		
Total	$rt - 1$	$\sum y_{ij}^2 - TC$			

\* Diferencia estadística significativa

\*\* Diferencia estadística altamente significativa

Donde:  $t = N^\circ$  de tratamientos

$r = N^\circ$  de repeticiones

$SCt$ : Suma de cuadrado de tratamientos

$SCT$ : Suma de cuadrado de totales

$SCE$ : Suma de cuadrado del error

$CMt$ : Cuadrado medio de tratamiento

$SCE$ : Cuadrado medio del error

**Modelo estadístico del DCA**

El modelo aditivo lineal de este diseño es:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij} \quad i = 1, 2, \dots, t$$

$$j = 1, 2, \dots, r$$

$\mu$ ; media de la población

$\tau_i$  = efecto aditivo del  $i$  – ésimo tratamiento

$\epsilon_{ij}$ : Error aleatoria al que está sujeto una observación.

Se distribuyen normalmente  $\sim N(0 \sigma^2)$

En la tabla 8 puede observarse la forma como se debe realizar la distribución de los datos que se recogen del experimento, se elabora una tabla de doble entrada en la que se disponen los niveles de tratamientos y repeticiones del experimento, tener presente que, en la práctica, no siempre se encuentra con experimentos en la cual el número de repeticiones son iguales, como es el presente modelo (Romaina, 2012).

**Tabla 8** Esquema de un DCA para igual número de muestras por tratamiento

Repeticiones	Tratamientos			Gran total
	1	2 ... t		
1	$Y_{11}$	$Y_{21} \dots Y_{t1}$		
2	$Y_{12}$	$Y_{22} \dots Y_{t2}$		
.		.		
.		.		
r	$Y_{1r}$	$Y_{2r} \dots Y_{tr}$		
Total tratamiento	$Y_{1.}$	$Y_{2.} \dots Y_{t.}$		$Y_{..}$
Media	$\bar{Y}_{1.}$	$\bar{Y}_{2.} \dots \bar{Y}_{t.}$		$\bar{Y}_{..}$
Tamaño de muestra	$n$	$n \dots n$		$N$

### **6.7.3. Método de tukey**

El método de Tukey se utiliza en ANOVA para crear intervalos de confianza para todas las diferencias en parejas entre las medias de los niveles de los factores mientras controla la tasa de error por familia en un nivel especificado.

Es importante considerar la tasa de error por familia cuando se hacen comparaciones múltiples, porque la probabilidad de cometer un error de tipo I para una serie de comparaciones es mayor que la tasa de error para cualquier comparación individual. Para contrarrestar esta tasa de error más elevada, el método de Tukey ajusta el nivel de confianza de cada intervalo individual para que el nivel de confianza simultáneo resultante sea igual al valor que especifique. Con este método se prueba el juego de hipótesis (Condo, 2015).

$$H_0: \mu_i = \mu_{i'}$$

$$H_a: \mu_i \neq \mu_{i'} \text{ con } i \neq i'$$

### **6.8. Matriz de consistencia**

**Tabla 9** Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPOTESIS	DEFINICIÓN DE OPERACIONES			RECOLECCIÓN DE DATOS	
			VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DISEÑO O MÉTODO	INDICADORES	INSTRUMENTO
¿Cuáles son los componentes bioactivos y la actividad antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chicchimpay (tagetes multiflora kunth)?	Comparación de los componentes químicos en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chicchimpay (tagetes multiflora kunth).	El aceite esencial muestra una variación de componentes bioactivos frente a los hidrolatos extraídos del chicchimpay (tagetes multiflora kunth).	Variable Independiente Aceite esencial Hidrolato	Compuestos bioactivos y actividad antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos extraídos de la especie vegetativa chicchimpay (tagetes multiflora kunth).	Experimental	componentes bioactivos y la actividad antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chicchimpay (tagetes multiflora kunth)	Cromatografía de gases acoplado a espectrómetro de masas (CG - MS) Método (DPPH)
			Variable dependiente Porcentaje de rendimiento Compuestos bioactivos actividad antioxidante	Se identificará los componentes bioactivos y también se determinará la actividad antioxidante.			
¿Cuál es el porcentaje del rendimiento de extracción de aceite esencial e hidrolatos del chicchimpay (tagetes multiflora kunth)?	Determinar el porcentaje del rendimiento de la extracción de aceite esencial e hidrolatos del chicchimpay (tagetes multiflora kunth).	El aceite esencial presenta menor rendimiento frente al hidrolato extraído del chicchimpay (tagetes multiflora kunth).	Rendimiento	Se determinará el rendimiento del aceite esencial e hidrolatos extraídos de la especie vegetativa chicchimpay (tagetes multiflora kunth).	Experimental	Rendimiento	Balanza analítica
¿Cuáles son los compuestos bioactivos en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chicchimpay (tagetes multiflora kunth)?	Determinar los compuestos bioactivos en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chicchimpay (tagetes multiflora kunth).	El aceite esencial presenta mayores compuestos bioactivos frente al hidrolato extraído del chicchimpay (tagetes multiflora kunth).	Compuesto inactivo	Se determinará los compuestos bioactivos en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chicchimpay (tagetes multiflora kunth).	Experimental	Compuestos bioactivos	Cromatografía de gases acoplado a espectrómetro de masas (CG - MS)
¿Cuál es la actividad antioxidante del aceite esencial e hidrolato extraídos del chicchimpay (tagetes multiflora kunth)?	Evaluar la actividad antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chicchimpay (tagetes multiflora kunth)	La actividad antioxidante presenta una variación en el aceite esencial e hidrolato extraído del chicchimpay (tagetes multiflora kunth).	Actividad antioxidante	Se evaluará la actividad antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chicchimpay (tagetes multiflora kunth)	Experimental	Actividad antioxidante	Método (DPPH)

## 7.RECURSOS Y CRONOGRAMA DE ACTIVIDAD

### 7.1. Recursos humanos

Autor de trabajo de investigación Bach. QUISPE HUASCO, Silvia

Asesor Mg. HUARACA APARCO, Rosa

Co Asesora Dra. DELGADO LAIME, María Del Carmen

### 7.2. Presupuestos y fuente de financiamiento

**Tabla 10** Presupuestos y fuente de financiamiento para el desarrollo de la investigación

ITEM	DESCRIPCION	CANTIDAD	UNID. MEDIDA	PRECIO	PRECIO PARCIAL
				Unid.	
	<b>BIENES</b>				
	<b>Materiales de escritorio</b>				
01	Laptop Lenovo	1	Unid	S/. 2,300.00	S/. 1,900.00
02	USB Hp 2gb	1	Unid	S/. 20.00	S/. 20.00
03	Materiales Consumibles				S/. 954.00
04	Papel bond A-4 de 80 gr	2	Millar	S/. 25.00	S/. 50.00
05	Lapiceros PILOT	3	Unid	S/. 2.00	S/. 6.00
06	Resaltadores color amarillo Faber Castell	2	Unid	S/. 3.00	S/. 6.00
07	Correctores	1	Unid	S/. 5.00	S/. 5.00
08	Cuadernos espiralados Stanford	1	Unid	S/. 7.00	S/. 7.00
09	Cartuchos de tóner para impresora Multifuncional	4	Unid	S/. 220.00	S/. 880.00
	<b>Infraestructura</b>				
	<b>servicio</b>				
10	Servicio Internet	4	Mes	S/.60.00	S/. 240.00
11	Servicio telefonía móvil (Comunicaciones)	1000	Minutos	S/. 0.50	S/. 500.00
12	Servicio de Impresiones	2500	Unid	S/. 0.10	S/. 250.00
13	Servicio de empastados	20	Unid	S/.4.00	S/. 80.00
	<b>Gastos de experimentación</b>				
14	agua mineral	3	Unid	S/.1.00	S/. 3.00
15	Imprevistos	1	Unid	S/.100.00	S/. 100.00
16	Guardapolvo	1	Unid	S/.50.00	S/. 50.00
17	Guantes desechable	1	Caja	S/.15.00	S/. 15.00
18	Gorra desechable	1	Caja	S/.15.00	S/. 15.00
19	Mascarilla desechable	1	Caja	S/.15.00	S/. 15.00
20	Balde Premium	1	Unid	S/.25.00	S/. 25.00

21	Gas propano	1	Balón	S/.38.00	S/. 38.00
22	Vasos	25	Unid	S/.0.10	S/. 2.50
24	Análisis-AE	3	Unid	S/. 500.00	S/.1,500.00
	Gastos total				S/. 6,532.00
	<b>Imprevistos</b>				
25	Imprevistos 10% del costo total	1	Unid	S/. 612.50	S/.612.50
<b>COSTO TOTAL DE LA TESIS</b>					<b>S/.6,700.00</b>

### 7.3. Cronograma de actividad

**Tabla 11** Cronograma de actividad para el desarrollo de actividades de investigación

ACTIVIDADES	MESES					
	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto
Elaboración del proyecto	X	X	X			
Aprobación del proyecto						
Extracción del aceite esencial				X		
Análisis de los resultados					X	
Elaboración del informe final					X	X
Presentación del informe final						

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

### Bibliografía

- Alvarado, M. C. (2017). "Efecto Antioxidante Del Cochayuyo (*Durvillaea Antarctica*) Sobre El Estrés Oxidativo Presente En Ratas Con Diabetes Mellitus Tipo 2 Inducida Experimentalmente". *"Efecto Antioxidante Del Cochayuyo (*Durvillaea Antarctica*) Sobre El Estrés Oxidativo Presente En Ratas Con Diabetes Mellitus Tipo 2 Inducida Experimentalmente"*. Universidad Nacional De San Agustín De Arequipa, Arequipa, Perú.
- Antezana, B. (2017). "Otención de aceite esencial e hidrolato de hierbabuena (*menta spicata*) mediante el proceso de destilación por arrastre con vapor". *Tesis*. Universidad Mayor De San Andrés, La Paz, Bolivia.
- Bandoni, A. (2002). *Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores*. Argentina : Universidad de la Plata.
- Barajas, C. (2011). *Propuesta de mejora utilizando diseño de experimentos en el desarrollo de técnicas analíticas en un laboratorio farmacéutico*. México.
- Carhuapoma, .. M. (2007). *Composición química, actividad anti-*Helicobacter pylori* y antioxidante del aceite esencial de *Satureja brevicalyx* Epling "urqu muña"*. Lima: Tesis .
- Collura, A. ( 1985). Variaciones del rendimiento y composición química de las especies aromáticas y medicinales. *Herbociencia* , 6-15.
- Condo, .. P. (2015). *Diseño experimental en el desarrollo del conocimiento científico de las ciencias agropecuarias*. Ecuador : ESPOCH.
- Cordero, A. (2021). Una nueva base de datos integral sobre usos tradicionales de las plantas nativas. *Una nueva base de datos integral sobre usos tradicionales de las plantas nativas*. Rizoma- CEAB, Santiago, Chile.
- Coronado, H. M. (2015). *Antioxidante: perspectiva actual para la salud humana*. Revista Chilena de nutrición, Chilena.
- Coronado, H. M. (2015). *Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana*. Revista chilena de nutrición, Chile.
- Damián, .. R. (2020). *Composición química, actividad antioxidante, antimicrobiana sobre *E. coli* y *S. aureus* y efecto fungistático sobre *Candida albicans* del aceite esencial de hojas de *Persea caerulea* (Ruiz & Pav) Mez (junjulí)*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.
- Echavarría, A. D. (2016). Evaluación de la capacidad antioxidante y metabolitos secundarios de extracto de dieciséis plantas medicinales. *Revista*. Ciencia Unemi.

- Elías, J., & Sichez, J. (2019). Composición Química, Características Físicoquímicas Y Capacidad Antioxidante De Aceites Esenciales De Cinco Hierbas Aromáticas. *Composición Química, Características Físicoquímicas Y Capacidad Antioxidante De Aceites Esenciales De Cinco Hierbas Aromáticas*. Universidad Privada De Pucallpa, Perú.
- Gallego, M. (2016). Estudio de la actividad antioxidante de diversas plantas aromáticas y/o comestibles. *tesis*. Universitat politécnica, Catalunya, Barcelona.
- García, J., & Gilardoni, G. (2020). Análisis químico del aceite esencial de Siparuna echinata (Kunth) A. DC. (Siparunaceae) de Ecuador y aislamiento del raro terpenoide Sipaucin A. *Artículo Análisis químico del aceite esencial de Siparuna echinata (Kunth) A. DC. (Siparunaceae) de Ecuador y aislamiento del raro terpenoide Sipaucin A*. Instituto Multidisciplinario de Publicaciones Digitales (MDPI), Ecuador .
- Granados, C. (2020). Evaluación De La Actividad Antioxidante Del Aceite Esencial Foliar De Myrcianthes Leucoxylla De Norte De Santander. *Evaluación De La Actividad Antioxidante Del Aceite Esencial Foliar De Myrcianthes Leucoxylla De Norte De Santander*. Universidad De Colombia, Colombia.
- Günther, E. (1948). *the essential oils, history and origin in plants production analysis* . New York: Krieger.
- Gutierrez, H. D. (2008). *Analisis y diseño de experimento*. México: McGrawHill.
- Gutiérrez, M. D. (2002). *Identificación de compuestos volátiles por CG-MS. La cromatografía de gase y la espectrometría de masas. Identificación de compuestos causantes de mal olor*. BOLETIN INTEXTER (U.P.C) N°122.
- Helmut, S. (2018). Sobre la historia del estrés oxidativo. *ELSEVIER*, 122-126.
- Ingrid K., S. B. (2010). Composición química del aceite esencial de tagetes elliptica smith "chincho" y actividades antioxidante, antibacteriana y antifúngica. *Ciencia e Investigación*, 81-86.
- Jara, B. (2018). Optimización De Los Parámetros De Extracción De Flavonoides De La Chijchipa (Tagetes Mandonii), Utilizando El Método De Superficie Respuesta. *tesis*. Universidad San Ignacio De Loyola, Perú.
- Lauriano, A., & Lizaraso, Y. (2017). Caracterización y Obtención de Preservantes Microencapsulados a partir de Extractos Acuáticos de Orégano (Origanum vulgare), Chincho (Tagetes elliptica) y Acedera (Rumex crispus). *tesis*. Universidad San Ignacio De Loyola, Perú.
- Londoño, J. (2012). *Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad*. Colombia: Corporación Universitaria Lasallista.
- Look de Ugaz, O. (1999). *Investigación fotoquímica, métodos en el estudio de productos naturales*. Perú: Fondo.
- López, V. (2020). Caracterización Fitoquímica, Actividad Antioxidante Y Antibacteriana Del Aceite Esencial Y Extractos De Tagetes Patula Sobre Staphylococcus Aureus. *Caracterización Fitoquímica, Actividad Antioxidante Y Antibacteriana Del Aceite*

*Esencial Y Extractos De Tagetes Patula Sobre Staphylococcus Aureus*. Universidad Del Zulia, Ecuador .

- Manuelo, M. (2020). Efecto Antimicótico "In Vivo" Del Ungüento A La Base Del Aceite Esencial De Tagetes Minuta L.Huacatay Frente A Candida Albicans Atcc 6538 En Ratas Albinas. *Tesis*. Universidad Nacional Jorge Basadre Gromann, Tacna, Perú.
- Marelby, L. T. (2012). Introducción a la Industria de los Aceites Esenciales Extraídos de Plantas Medicinales Y Aromáticas. *Introducción a la Industria de los Aceites Esenciales Extraídos de Plantas Medicinales Y Aromáticas*. SENA, Bogotá, Colombia .
- Marín, J. (2019). Composición Química Y Actividad Antioxidante Del Aceite Esencial De Ambrosia Arborescens Miller (Marku). *Tesis Composición Química Y Actividad Antioxidante Del Aceite Esencial De Ambrosia Arborescens Miller (Marku)*. Universidad Nacional De San Antonio Abad Del Cusco, Perú.
- Marquez, .. J. (2014). "*Caracterización De Los Compuestos Activos Del Aceite Esencial De Salvia (Salvia rhodostephana Epling) POR GC -SM*". Huancavelica: Tesis.
- Martínez, .. A. (2003). *Aceites Esenciales*. Medellín.
- Menckeberg, F. (2021). Antioxidantes. *Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA)*. Universidad De Chile, Santiago, Chile.
- Montoya, G. D. (2010). Aceites Esenciales. *Aceites Esenciales*. Universidad De Colombia, Manizales, Colombia.
- Oliveira, G. (2014). "Capacidad antioxdiante de Averrhoa L (Carambola) frente a sistemas generadores de radicales libres. *Tesis*. Universidad Nacional Mayor De San Marcos, Lima, Peru.
- Ovidio, E. (2021). Aceites esenciales e hidrolatos de Laurus nobilis , Salvia sclarea y Salvia officinalis : evaluación de la composición química y actividades biológicas en fase líquida y vapor. *Plantas*, 1-17.
- Paredes, .. D. (2010). *Desarrollo De Un Sistema De Extracción De Aceites*. Riobamba: tesis.
- Peredo, H. (2009). Aceites Esenciales: Método De Extracción. *Temas selectos de ingenieria de alimentos*. Universidad De Las Américas Puebla, México.
- Pulgar, J. (1981). *Geografía Del Perú - Las Ocho Regiones Naturales Del Perú*. Lima, Perú: Editorial Universo.
- Ricaldi, .. S. (2014). *Cromatografía de gases–espectrometría de masas de compuestos fitobioactivos del aceite esencial de Satureja incana*. Apunt. Cienc.Soc.
- Robles, .. J. (2014). Desarrollo de metodología analítica mediante cromatografía/ espectrometría de masas para el cntrol de contaminantes orgánicas prioritarias y emergentes en aguas residuales y superficiales. *Tesis doctoral*. Universidad de Jaén, Jaén.

- Romana, .. J. (2012). *Estadística Experimental Herramientas para Investigación*. Perú: UPT-PERÚ.
- Safar, A., Glafoor, A., & Dastan, D. (2020). Composición química, actividades antibacterianas y antioxidantes del aceite esencial de *Tagetes patula* L. *Composición química, actividades antibacterianas y antioxidantes del aceite esencial de Tagetes patula* L. Universidad de Ciencias Médicas de Hamadan, Irán.
- Sainz, P. M.-D.-R. (2019). "composición y actividades biológicas de los aceites esenciales e hidrato de Artemisia". *Biomoléculas*, 1-12.
- Samaniego, .. C. (2006). *Estudio y evaluación de la capacidad antioxidante de aceites de oliva virgen extra Implicación en la salud*. Tesis.
- Smit, A. (1999). *Control automática de procesos* . España: Limusa.
- Solis, e. a. (2018). *Plantas y Aceites esenciales como insecticidas*. Cusco: 1Ed.
- Stashenko, E. E. (2009). Aceites esenciales. *Aceites esenciales*. UIS-CENIVAM, Bucaramanga, Colombia.
- Sweetillo. (2016). *Los Hidrolatos en Cosmética Natural*.
- Torrenegra, .. M. (2014). *Evaluación De La Actividad Antioxidante Del Aceite Esencial Foliar Extraído De Especies De Oregano (Origanum Vulgare), Oregano "Borde Blanco" (Origanum Vulgare Ssp) Y Oreganito (Lippia Alba Mill) Cultivado En La Zona Norte Del Departamento De Bolívar*. Bolívar: Tesis.
- Tuyo, L. (2015). "Efecto de la actividad antimicótica "in vitro" del aceite esencial de *tagetes minuta* L. "huacatay" frente a *Candida albicans*". Tesis. Universidad Nacional Jorge Basadre De Grohmann, Tacna, Perú.
- Valverde, .. Y. (2011). *Extracción Y Caracterización Del Aceite Esencial Del Romero (Rosmarinus Officinalis) Por El Método De Arrastre De Vapor Obtenida En Estado Fresco Y Secado Convencional*. Tarma .
- Zaragoza, J. (1992). *Composicion Quimica De Los Seres Vivos*. Barcelona: 2ª ed.



## Unidad de Investigación de la Facultad Ingeniería

“Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”

Andahuaylas, 25 de mayo del 2022

### CARTA N° 013-2022-DUI-JJOC-FI-UNAJMA

Señora:

**Dra. Norma L. Catacora Flores**

**Coordinadora de la Facultad de Ingeniería**

Universidad Nacional José María Arguedas

Ciudad.-

**ASUNTO: SOLICITO APROBACIÓN MEDIANTE ACTO RESOLUTIVO DE DESIGNACIÓN DE JURADO  
EVALUADOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

**REFERENCIA: ACTA N° 13-2022-C-UIFI-UNAJMA - RESOLUCIÓN N° 082-2022- CFI- UNAJMA, y  
CARTA MÚLTIPLE N° 111-2022-UNAJMA-VP/ACAD-FI**

Tengo a bien dirigirme a usted para expresarle un saludo cordial, y en aplicación a los artículos 65°, 66° y 67° del CAPÍTULO IV “Del Jurado Evaluador” del TÍTULO III “De los títulos profesionales” del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional José María Arguedas, aprobado con Resolución N° 0135-2021-CO-UNAJMA, de fecha 6 de mayo 2021. Solicito la aprobación mediante acto resolutorio de la designación de JURADO EVALUADOR del proyecto de investigación denominado “COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EL ACEITE ESENCIAL E HIDROLATOS EXTRAÍDOS DE LA ESPECIE VEGETATIVA CHIKCHIMPAY (TAGETES MULTIFLORA KUNTH)”, de acuerdo al siguiente detalle:

#### **JURADO EVALUADOR:**

Presidente : Dr. Ligarda Samanez, Carlos  
Primer Miembro : Mg. Choque Quispe, David  
Segundo Miembro : Mg. Ramos Pacheco Betsy Suri

**ASESOR** : Mg. Huaraca Aparco, Rosa

**TESISTA** : Bachiller en Ingeniería Agroindustrial, Silvia Quispe Huasco.

**TÍTULO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:** “COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EL ACEITE ESENCIAL E HIDROLATOS EXTRAÍDOS DE LA ESPECIE VEGETATIVA CHIKCHIMPAY (TAGETES MULTIFLORA KUNTH)”

Se adjunta el ACTA N° 013-2022-C-UIFI-UNAJMA - RESOLUCIÓN N° 082-2022- CFI- UNAJMA, de

Fecha 18 de abril del 2022.

Sin otro particular, me suscribo de Ud.

Atentamente,

Ing. Juan José Oré Cerrón  
Presidente de la Unidad de  
Investigación de la Facultad de  
Ingeniería



## Unidad de Investigación de la Facultad Ingeniería

ACTA N° 013-2022-C-UIFI-UNAJMA - RESOLUCIÓN N° 082-2022- CFI- UNAJMA

### DESIGNACIÓN DE JURADO EVALUADOR

Siendo las 11:50 horas del día 25 de mayo del 2022, en amparo a la **RESOLUCIÓN N° 082-2022- CFI-UNAJMA**, de fecha 18 de abril de 2022; que designa a la comisión de la unidad de investigación de la facultad de ingeniería como presidente al Ing. Juan José Oré Cerrón, MSc. David Choque Quispe y Dra. Maria del Carmen Delgado Laime como miembros; con el propósito de atender la CARTA MÚLTIPLE N° 111-2022-UNAJMA-VP/ACAD-FI, de la Coordinación de la Facultad de Ingeniería, en donde la bachiller, Silvia Quispe Huasco solicita designación cambio de Jurado Evaluador del proyecto de investigación denominado **“COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EL ACEITE ESENCIAL E HIDROLATOS EXTRAÍDOS DE LA ESPECIE VEGETATIVA CHIKCHIMPAY (TAGETES MULTIFLORA KUNTH)”**. La unidad de investigación procedió a revisar el expediente de la Bachiller Silvia Quispe Huasco, con el fin de verificar los requisitos (Solicitud del bachiller, resolución de designación de asesor, declaración jurada de autenticidad y proyecto de investigación), según los artículos 65°, 66° y 67° del CAPÍTULO IV “Del Jurado Evaluador” del TÍTULO III “De los títulos profesionales” del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional José María Arguedas, aprobado con Resolución N° 0135-2021-CO-UNAJMA, de fecha 6 de mayo 2021. Después de evaluar el caso, la Unidad de Investigación de la Facultad de Ingeniería declara **procedente la solicitud**, en tal sentido queda conformada de la siguiente manera:

#### JURADO EVALUADOR:

Presidente : Dr. Ligarda Samanez, Carlos  
Primer Miembro : Mg. Choque Quispe, David  
Segundo Miembro : Mg. Ramos Pacheco Betsy Suri

#### ASESOR

: Mg. Huaraca Aparco, Rosa

#### TESISTA

: Bachiller en Ingeniería Agroindustrial, Silvia Quispe Huasco.

Siendo las 12:00 horas del mismo día y año, se da por finalizada la reunión y en señal de conformidad de los puntos acordados, se procede a firmar la presente acta.

Atentamente,

Ing. Juan José Oré Cerrón Presidente de la Unidad de Investigación de la Facultad de Ingeniería

MSc. David Choque Quispe  
Miembro de la  
Unidad de Investigación de la Facultad de Ingeniería

Dra. María del Carmen Delgado Laime  
Miembro de la  
Unidad de Investigación de la Facultad de Ingeniería

C.c.  
Archivo.



Andahuaylas, 23 de mayo de 2022

## CARTA MÚLTIPLE N° 111-2021-UNAJMA-VP/ACAD-FI

### **Señor:**

Mtro. Juan José Ore Cerrón

MSc. David Choque Quispe

Dra. María del Carmen Delgado Laime

### **COMISIÓN DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA**

### **Presente.**

**ASUNTO:** Remito solicitud de Designación de Jurado Evaluador

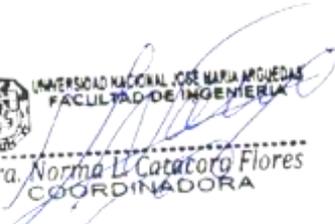
**REFERENCIA:** Solicitud S/N

De mi mayor consideración:

Tengo el agrado de dirigirme a usted, para expresarle un cordial saludo, y a la vez remitirle la solicitud de designación de JURADO EVALUADOR del Proyecto e Informe Final de Tesis denominado "COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EL ACEITE ESENCIAL E HIDROLATOS EXTRAÍDOS DE LA ESPECIE VEGETATIVA CHIKCHIMPAY (TAGETES MULTIFLORA KUNTH)" del Bachiller en Ingeniería Agroindustrial SILVIA QUISPE HUASCO.

Se adjunta la aprobación del asesor y la declaración jurada de autenticidad (Anexo 33), para que su comisión pueda realizar el cambio correspondiente y remitir a esta facultad para proceder con la emisión de la resolución.

Atentamente,

  
UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA ARGUEDAS  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
Dra. Norma L. Catacoro Flores  
COORDINADORA

**SOLICITO:** Designación de jurados

**SEÑOR:**

**COORDINADOR DE LA FACULTAD DE INGENIERIA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA ARGUEDAS**

*YO, Silvia Quispe Huasco, Bachiller de la Carrera Profesional de Ingeniería agroindustrial identificado con DNI: 44951102. Domiciliado en la Av. Sesquicentenario s/n Ante Ud. Con el debido respeto me presento y expongo:*

*Que,*

Siendo Bachiller de la Escuela Profesional de Ingeniería agroindustrial ya habiendo culminado mi proyecto de investigación de Tesis y con la aprobación de mi asesor solicito a usted que me otorgue la Designación de mis jurados, donde el proyecto lleva por título **“COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EL ACEITE ESENCIAL E HIDROLATOS EXTRAÍDOS DE LA ESPECIE VEGETATIVA CHIKCHIMPAY (TAGETES MULTIFLORA KUNTH)”** para lo cual adjunto a la presente la documentación respectiva.

*Solicito:* A usted acceder a mi solicitud de otorgarme Designación de jurados.

*Adjunto:*

- 1) Aprobación del asesor
- 2) Declaración jurada de autenticidad
- 3) Proyecto de investigación de tesis

Andahuaylas, 20 de mayo de 2022



-----  
*Firma del solicitante*



## ANEXO 22

### APROBACIÓN DEL ASESOR

Quién suscribe:

Mg. HUARACA APARCO ROSA por la presente:

#### **CERTIFICA,**

Que, el Bachiller en Ingeniería de agroindustria, SILVIA QUISPE HUASCO ha culminado satisfactoriamente el Proyecto de Tesis intitulado: “COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EL ACEITE ESENCIAL E HIDRATOS EXTRAÍDOS DE LA ESPECIE VEGETATIVA CHIKCHIMPAY (*tagetes multiflora kunth*)” para optar el título profesional de ingeniería agroindustrial.

Andahuaylas, 19 de mayo del 2022.

---

Mg. Huaraca Aparco Rosa  
**Asesor**

---

Br. Silvia Quispe Huasco  
**Tesista**



## ANEXO 33



### DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD

**SILVIA QUISPE HUASCO**

Yo.....,

**Identificado (a) con DNI N° 44951102 de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial**

**Declaro bajo juramento que el Proyecto Titulado:** Trabajo de Investigación. "COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EL ACEITE ESENCIAL E HIDRATOS EXTRAÍDOS DE LA ESPECIE VEGETATIVA CHIKCHIMPAY (*tagetes multiflora kunth*)" Es auténtico y no vulnera los derechos de autor. Además, su contenido es de entera responsabilidad del autor (es) del proyecto, quedando la UNAJMA exenta de toda responsabilidad en caso de atentar contra la Ley de propiedad intelectual y derechos de autor.

**Andahuaylas, 19 de mayo del 2022**

.....  
Firma

N° DNI: 44951102

E-mail: [silviaquispehuasco35@gmail.com](mailto:silviaquispehuasco35@gmail.com)

N° Celular: 910176092

# ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



## PROYECTO DE TESIS:

**Compuestos bioactivos y actividad  
antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos  
extraídos de la especie vegetativa chikchimpay  
(*tagetes multiflora kunth*)**

**AUTOR : Br. QUISPE HUASCO, Silvia**

**ASESOR : Mg. HUARACA APARCO, Rosa**

**CO – ASESOR : Dra. DELGADO LAIME, María Del Carmen**

**ANDAHUAYLAS – PERÚ**

**2022**

# Índice general

<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	iv
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	v
<b>ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS</b> .....	vi
<b>1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	1
1.1. Situación problemática .....	1
1.2. Formulación del problema.....	2
1.2.1. Problema general.....	2
1.2.2. Problema específico.....	2
<b>2. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....	3
<b>3. MARCO TEÓRICO</b> .....	4
3.1. Antecedentes de la investigación Internacional .....	4
3.2. Base teórica.....	8
3.2.1. Clasificación taxonómica del Chikchimpay .....	8
3.2.2. Descripción botánica Chikchimpay .....	8
3.2.3. Usos tradicionales Chikchimpay .....	9
3.2.4. Aceites esenciales .....	9
3.2.5. Hidrolato y usos .....	12
3.2.6. Antioxidante del origen vegetal .....	13
3.2.7. Mecanismo de acción de los antioxidantes .....	14
3.2.8. radical libre.....	15
3.2.9. Método de extracción de aceites esenciales .....	17
3.2.10. Cromatografía .....	19
3.2.11. Método para determinar la actividad antioxidante .....	22
3.3. Marco conceptual .....	24
3.3.1. Aceites esenciales .....	24
3.3.2. Los Hidrolatos .....	25
3.3.3. Los antioxidantes .....	25
3.3.4. Métodos de extracción de los aceites esenciales .....	25
3.3.5. El estrés oxidativo .....	25
3.3.6. Los radicales libres .....	25
3.3.7. Átomo .....	26
<b>4. OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....	26
4.1. Objetivo general.....	26

4.2. Objetivo específico .....	26
<b>5. FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS .....</b>	<b>26</b>
5.1. Hipótesis general.....	26
5.2. Hipótesis específico .....	26
5.3. Identificación de variables.....	27
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>27</b>
6.1. Lugar de ejecución.....	27
6.2. Materiales, instrumentos y equipos .....	27
6.3. Población y muestra.....	29
6.4. Tipo de investigación .....	30
6.4.1. De acuerdo a fin que persigue .....	30
6.4.2. De acuerdo a la técnica de contrastación.....	30
6.5. Método de análisis .....	30
6.5.1. Determinación de compuestos bioactivos y actividad antioxidante.....	30
6.6. Metodología experimental.....	32
6.6.1. Descripción de la obtención del aceite esencial de la especie vegetativa .....	32
6.6.2. Descripción del proceso de análisis instrumental por GC – SM.....	35
6.6.3. Descripción de la actividad antioxidante.....	37
6.7. Diseño experimental .....	38
6.7.1. ANOVA para el diseño completamente al azar (DCA).....	38
6.7.2. Análisis estadístico.....	39
6.7.3. Método de tukey.....	42
6.8. Matriz de consistencia .....	42
<b>7.RECURSOS Y CRONOGRAMA DE ACTIVIDAD .....</b>	<b>44</b>
7.1. Recursos humanos .....	44
7.2. Presupuestos y fuente de financiamiento.....	44
7.3. Cronograma de actividad .....	45
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>46</b>

## Índice de tablas

<b>Tabla 1</b> Clasificación de los métodos cromatográfico.....	20
<b>Tabla 2</b> Materiales .....	27
<b>Tabla 3</b> Equipo .....	28
<b>Tabla 4</b> Materia prima .....	29
<b>Tabla 5</b> Reactivos químicos .....	29
<b>Tabla 6</b> Diseño experimental – DCA .....	38
<b>Tabla 7</b> Esquema del ANOVA .....	40
<b>Tabla 8</b> Esquema de un DCA para igual número de muestras por tratamiento .....	41
<b>Tabla 9</b> Matriz de consistencia .....	43
<b>Tabla 10</b> Presupuestos y fuente de financiamiento para el desarrollo de la investigación.....	44
<b>Tabla 11</b> Cronograma de actividad para el desarrollo de actividades de investigación.....	45

## Índice de figuras

<b>figura 1</b> Chikchimpay (tagetes multiflora kunth) .....	8
<b>figura 2</b> Ejemplos de monoterpenos .....	10
<b>figura 3</b> Ejemplos de sesquiterpenos .....	11
<b>figura 4</b> Ejemplos de fenilpropanos .....	12
<b>figura 5</b> Señalización redox y su relación con el estrés oxidativo .....	15
<b>figura 6</b> Radical DPPH (como radical libre) y su forma estable .....	23
<b>figura 7</b> Reacción de ABTS (forma estable) y agente oxidante generando ABTS <sup>•+</sup> (como radical libre).....	24
<b>figura 8</b> Radical ABTS <sup>•+</sup> (como radical libre) y su forma estable .....	24
<b>figura 9</b> Diagrama de bloque para la obtención del aceite esencial de la especie vegetativa chikchimpay (tagetes multiflora kunth).....	34
<b>figura 10</b> Diagrama de bloque para el proceso de análisis instrumental por cromatografía de gases – espectrometría de masas del aceite esencial de la especie vegetativa chikchimpay (tagetes multiflora kunth).....	37

## Abreviaturas y símbolos

<b>R</b>	: Rendimiento
<b>O<sub>2</sub></b>	: Superóxido
<b>IR</b>	: Índice de refracción
<b>AE</b>	: Aceite esencial
<b>HY</b>	: Hidrolatos
<b>NO</b>	: Óxido Nítrico
<b>OH</b>	: Hidroxilo
<b>EM</b>	: Espectrómetro de Masa
<b>GE</b>	: Gravedad específica
<b>CG</b>	: Cromatografía de gases
<b>CO<sub>2</sub></b>	: Dióxido de carbono
<b>ERO</b>	: Especies reactivas de oxígeno
<b>ERN</b>	: Especies Reactivas del Nitrógeno
<b>DPPH</b>	: Radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
<b>ABTS</b>	: Radical catiónico del ácido 2,2 -Azinobis 3- etil -benzotiazolina)-6-ácido Sulfónico
<b>HPLC</b>	: Cromatografía Líquida de Alta Resolución
<b>TEAC</b>	: Capacidad Antioxidante Equivalente al Trolox
<b>ORAC</b>	: Capacidad de Absorción de Radical Oxígeno
<b>FRAP</b>	: Capacidad de Resolución Férrica al Plasma.
<b>%RAE</b>	: Porcentaje de rendimiento del aceite esencial

# **Compuestos bioactivos y actividad antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos extraídos de la especie vegetativa chikchimpay (*tagetes multiflora kunth*)**

## **1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

### **1.1. Situación problemática**

Los aceites esenciales y sus hidrolatos de las especies vegetativas son compuestos del metabolismo vegetal; la mayoría de ellos son volátiles y son responsables del aroma de las plantas. Dependiendo de la especie, se calcula que un aceite esencial puede contener entre 50 a 300 compuestos químicos, los cuales pertenecen a los grupos de hidrocarburos terpénicos, alcoholes, aldehídos, cetonas, éteres, ésteres, compuestos fenólicos, fenilpropanoides, entre otros (Stashenko, 2009). Los aceites esenciales se definen como mezclas de componentes volátiles, productos del metabolismo secundario de las plantas. Se encuentran muy difundidos en el reino vegetal, de las 295 familias de plantas, de 60 a 80 producen aceites esenciales (Marelby, 2012). Las características químicas específicas de los aceites esenciales varían en función de la zona de cultivo y condiciones ambientales (Collura, 1985). Tienen importancia comercial en la industria de alimentos, farmacéutica, de sabores/fragancias, cosmética y de productos de aseo. Asimismo, el empleo de aceites esenciales es una opción importante para el control de insectos, hongos y nemátodos, como una alternativa al uso de plaguicidas sintéticos (Montoya, 2010). El chikchimpay es una especie vegetativa que se desarrolla de forma silvestre ya sea entre los cultivos agrícolas y no agrícolas en la provincia de Andahuaylas se utiliza como especias y condimentos de preparaciones de alimentos, sin embargo, existe la necesidad de realizar una caracterización de sus componentes químicos tanto en el aceite esencial y sus hidrolatos.

El presente proyecto se plantea con el propósito de caracterizar los componentes químicos en el aceite esencial e hidrolatos del chikchimpay.

## **1.2. Formulación del problema**

### **1.2.1. Problema general**

- ✓ ¿Cuáles son los componentes bioactivos y la actividad antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chikchimpay (*tagetes multiflora kunth*)?

### **1.2.2. Problema específico**

- ✓ ¿Cuál es el porcentaje del rendimiento de extracción de aceite esencial e hidrolatos del chikchimpay (*tagetes multiflora kunth*)?
- ✓ ¿Cuáles son los compuestos bioactivos en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chikchimpay (*tagetes multiflora kunth*)?
- ✓ ¿Cuál es la actividad antioxidante del aceite esencial e hidrolato extraídos del chikchimpay (*tagetes multiflora kunth*)?

## 2. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Perú posee una rica variedad en especies vegetales, debido a las condiciones geográficas favorables de la Cordillera de los Andes, la existencia de tres regiones geográficas y la diversidad de pisos ecológicos (Pulgar, 1981).

Ingrid et al. (2010). Afirma que los aceites esenciales son una compleja mezcla natural de metabolitos secundarios volátiles, aislados de plantas mediante métodos como destilación, extracción con solventes, etc. Los principales constituyentes de los aceites esenciales son monos y sesquiterpenos, incluyendo carbohidratos, éteres, aldehídos y cetonas, los que son responsables de la fragancia y propiedades biológicas de las plantas medicinales.

Los aceites esenciales (AE) son producidos por el metabolismo secundario de la planta y obtenidos principalmente por el proceso de destilación al vapor. En el proceso de aislamiento de aceites esenciales, también se obtienen hidrolatos, los hidrolatos como productos de la destilación al vapor, y una pequeña cantidad de componentes de los aceites esenciales se disuelven en los hidrolatos. Los compuestos oxigenados preciosos, que proporcionan propiedades organolépticas y sabor específicos, así como actividad biológica, los hacen útiles para las industrias alimentaria y cosmética (Ovidio, 2021). Los aceites esenciales cubren un amplio espectro de actividades farmacológicas, demostrando propiedades antiinflamatorias, antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes y anticancerígenas. Durante mucho tiempo se han utilizado en el campo de la cosmética, en la elaboración de perfumes, la conservación de alimentos y aromaterapia Ingrid et al.(2010).

En los últimos años ha crecido el interés por los productos naturales obtenidos de la destilación de plantas aromáticas: aceites esenciales (AE) e hidrolatos (Hys). Como tal, hay muchos artículos científicos sobre la efectividad de los AE en varios contextos: antimicrobianos, inmunomoduladores, antioxidantes, antiinflamatorios, analgésicos, sin embargo, hay poca evidencia algunas especies nativas andinas.

Chikchimpay (*tagetes multiflora kunth*) es empleada, por su agradable aroma, para condimentar distintas preparaciones, como reemplazo del cilantro en potajes

locales como pachamancas y algunos aderezos, y también como paliativo en el síndrome menstrual. Gran parte de su utilidad proviene de su contenido en aceites esenciales, los cuales le brindan el aroma característico. El presente proyecto de investigación tiene como propósito determinar los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante del aceite esencial e hidrolatos de chikchimpay (*Tagetes multiflora kunth*), el estudio posibilitará brindar información para futuros estudios y aplicaciones sobre todo en la industria alimentaria de la mencionada especie con el fin de aprovechar nuestros recursos naturales como alternativa de conservantes alimentarias frente a los conservantes químicos convencionales y a los antioxidantes artificiales, cuyos efectos secundarios provocan en el futuro diferentes problemas de salud.

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1. Antecedentes de la investigación Internacional

Sainz et al., (2019). **Composición química y actividades biológicas de *Artemisia pedemontana* subsp. Aceites Esenciales e Hidrolato de *assoana*.** En el estudio se analizó la composición química de los AEs y su protección fitosanitaria (insectos: *Spodoptera littoralis*, *Rhopalosiphum padi* y *Myzus persicae*; plantas: *Lactuca sativa* y *Lolium perenne*; hongos: *Aspergillus niger*; y nematodos: *Meloidogyne javanica*) y antiparasitaria (*Trypanosoma cruzi*, *Phytomonas davidi*, y antiplasmodiales por la prueba de inhibición de la biocristalización de ferriprotoporfirina), además del subproducto hidrolato. Los AE mostraron un perfil de 1,8-cineol y alcanfor, con diferencias químicas cuantitativas y cualitativas entre los métodos de cultivo. Estos aceites tenían efectos moderados contra insectos, antifúngicos y fitotóxicos; eran tripanocidas; y exhibió efectos fitomonocidas moderados, mientras que el hidrolato mostró una fuerte actividad nematocida. Ambos AE fueron igualmente antialimentarios; el AE de las plantas de invernadero (etapa de floración) fue más biocida (antifúngico, nematocida y fitotóxico) que el AE de las plantas aeropónicas (etapa de crecimiento), que fue más antiparasitario. Los principales componentes de los aceites (1,8-cineol y alcanfor), o su combinación 1:1, no explicaron ninguno de estos efectos.

**Granados (2020). Evaluación de la Actividad Antioxidante del Aceite Esencial Foliar de (*Myrcianthes leucoxylla*) de Norte de Santander (Colombia).** En la investigación valió la composición química y la actividad antioxidante del aceite esencial, la extracción del aceite obtuvo por arrastre con vapor de agua y la identificación de los componentes evaluó por Cromatografía de Gases de Alta Resolución. Para determinar la actividad antioxidante de los aceites usó dos métodos: capacidad de atrapamiento del catión radical ABTS<sup>+</sup> y capacidad de atrapamiento del radical DPPH. En la cual tuvo como resultado 10 componentes químicas mayoritarios del AE de arrayán de clima frío (*M. leucoxylla*). Concluyó que la inhibición con la metodología del radical DPPH no superó el 15%, mientras que con el radical ABTS<sup>+</sup> el porcentaje de inhibición fue alto. Esto sugiere que en el aceite esencial estudiado se encuentre presentes compuestos donadores de hidrógeno o electrones que pueden estabilizar al radical catiónico ABTS<sup>+</sup>. En cuanto la actividad antioxidante encontrada en el AE de *M. leucoxylla* posibilita la realización de posteriores estudios, en la búsqueda de su aplicación en la industria de alimentos como posible sustituto de los antioxidantes sintéticos, dada la potencial capacidad para atrapar radicales libres.

**Ovidio et al., (2021). Aceites esenciales e hidrolatos de *Laurus nobilis*, *Salvia sclarea* y *Salvia officinalis*: evaluación de la composición química y actividades biológicas en fase líquida y vapor.** En el estudio de los aceites esenciales (AE) y los hidrolatos (HY) de *Laurus nobilis*, *Salvia officinalis* y *Salvia sclarea* para definir sus composiciones químicas y propiedades biológicas. Se utilizaron técnicas de cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC/MS) y Headspace-GC/MS (HS-GC/MS) para caracterizar la composición química en fase líquida y vapor de EO y HY. El 1,8-cineol (42,2 %, 33,5 %) y el  $\alpha$ -pineno (16,7 %, 39,0 %) fueron los principales compuestos del AE de *L. nobilis*; el 1,8-cineol (30,3 %, 48,4 %) y el alcanfor (17,1 %, 8,7 %) fueron para AE de *S. officinalis*; acetato de linalilo (62,6 %, 30,1 %) y linalool (11,1 %, 28,9 %) fueron para *S. sclarea*EO para la fase líquida y vapor, respectivamente. El perfil químico de los HY se caracterizó por el 1,8-cineol (65,1 %, 61,4 %) como componente principal de los HY de *L. nobilis* y *S. officinalis*, mientras que el linalol (89,5 %) fue el componente principal

de *S. sclarea* HY. La actividad antioxidante de EO y HY se llevó a cabo mediante ensayos DPPH y ABTS y las propiedades antimicrobianas también se investigaron mediante microdilución y el método de difusión en disco para fase líquida y vapor contra cinco cepas bacterianas diferentes, como *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525 y *Acinetobacter bohemius* DSM 102855 entre Gram-negativos y *Bacillus cereus* ATCC 10876 y *Kocuria marina* DSM 16420 entre Gram-positivos. Los AE de *L. nobilis* y *S. officinalis* demostraron una actividad antibacteriana considerable, mientras que el AE de *S. sclarea* demostró ser menos eficaz. El método de difusión en agar y la prueba en fase de vapor mostraron la actividad de los AE con los mayores diámetros de inhibición del halo contra *A. bohemius* y *B. cereus*. Se determinó una actividad antioxidante notablemente alta para *L. nobilis* que muestra valores bajos de EC50 y también para *S. sclarea*; se obtuvieron buenos resultados de EO en ambos ensayos utilizados. *S. officinalis* CE los 50 valores fueron ligeramente superiores a lo que corresponde a una menor actividad antioxidante. Con respecto a los HY, los valores de CE 50 para *L. nobilis*, *S. officinalis* y *S. sclarea* fueron notablemente altos correspondientes a una actividad antioxidante extremadamente baja.

### **Nacionales**

#### **Elías y Sichez (2019). Composición química, características fisicoquímicas y capacidad antioxidante de aceites esenciales de cinco hierbas aromáticas”.**

Tuvo como objetivo determinar la estructura química, peculiaridad fisicoquímica y posibilidad antioxidante de los aceites esenciales de orégano originario (*Lippia graveolens*), chincho (*Tagetes elliptica* Smith), hierbabuena (*Mentha spicata*), huacatay (*Tagetes minuta* L), pampa salvia (*Salvia officinalis* L), se utilizó para la obtención del aceite esencial la destilación de vapor por arrastre, cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para analizar los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante analizó por el Test DPPH. Los resultados fueron los siguientes identificó 22 compuestos químicos que comprenden el 100% de las sustancias que componen el total del aceite esencial de igual forma los compuestos más representativos identificados son Trans -Tagetona (51.37%),  $\beta$ -

trans-Ocimeno (25.03%) y el compuesto C<sub>9</sub>H<sub>18</sub> (6.08%), la acción antioxidante fue de (1.75mg/mL) en aceite esencial de Huacatay. Por otra parte, en aceite esencial de chincho identificó 43 compuestos que comprenden el 100% de la constitución total del aceite esencial, los compuestos más significativos son: C<sub>9</sub>H<sub>18</sub> con (27.45%), cis-Tagetona (16.27%) y β-trans-Ocimeno (11.45%), la capacidad antioxidante fue de (2.43 mg/mL). Concluyó que las sustancias actúan como sistema de defensa y protegen a las plantas de infecciones dándoles color, aroma y propiedades particulares ya que se sabe que las plantas contienen compuestos bioactivos que son beneficiosos para nuestra salud en cuanto a la capacidad antioxidante los resultados expresaron como actividad antiradical o IC<sub>50</sub>, la cual está definida como la concentración del antioxidante que disminuye la absorción del radical a un 50% de la cantidad inicial.

**Marín (2019). Composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de ambrosia arborescens miller (marku).** En la investigación se analizó la identificación de los componentes bioactivos que posee la planta para ello utilizó las hojas tiernas frescas de *Ambrosia arborescens* Miller, el aceite esencial fue extraído por el método de hidrodestilación con trampa de clewenger. Su composición fue determinada por cromatografía de gases - espectrometría de masas y para la determinación de la actividad antioxidante se aplicó el método del DPPH• (1,1- difenil-2- picrilhidrazil). Los resultados obtenidos de la investigación fueron los siguiente; se identificó 94 componentes siendo los más abundantes el βhimachaleno (14,2%), 2,6-dimetil-3,5-heptadien-2-ol (10,6%), germacreno D (7,41 %), α-Bisabolol (6,25%) y 6-isopropenil-4-8a-dimetil-1,2,3,5,6,7,8, 8a-octahidronaftaleno-2-ol (6%) de *Ambrosia arborescens* Miller. Concluyó que el aceite esencial presentó actividad antioxidante por tener en su composición compuestos polifenolicos con propiedades antioxidantes.

## 3.2. Base teórica

### 3.2.1. Clasificación taxonómica del Chikchimpay



**figura 1** Chikchimpay (*Tagetes multiflora* Kunth)

Chikchimpay es una planta nativa de zonas andinas Asociada a Perú en la provincia de Cuzco y Ayacucho (Jara, 2018), también en la provincia de Andahuaylas es utilizada como especie alimenticia y medicinal en zonas altas de la provincia.

**División:** Antophyta

**Clase:** Dicotyledonae

**Super – Orden:** Asterales

**Orden:** Asterales

**Familia:** Asteraceae

**Sub – Familia:** Asteroideae

**Tribu:** Helenieae

**Género:** *Tagetes*

**Especie:** *Mandonii* Sch. Bip. Ex Klatt

### 3.2.2. Descripción botánica Chikchimpay

El chikchimpay es una especie vegetativa ramificado que mide aproximadamente 30 cm de altura. Posee hojas compuestas pinnadas, lanceoladas con unión sésil; las más bajas son pequeñas, con aproximadamente 1 – 1 ½ cm de largo. Son serradas con muchas puntas hasta el raquis. La inflorescencia tiene forma de corimbo con un largo de 1 1/3 cm y las flores no son sésiles. El involucre tiene

aproximadamente 1 cm de largo y 4-5 mm de ancho, es ranurado, punteado, corto con 5 dientes agudos. Flores amarillas de 8 mm de largo descubiertas, lígula de 4 mm de largo y papus de 2 – 2 ½ mm de largo, puntiagudo y pálido (Jara, 2018).

### **3.2.3. Usos tradicionales Chikchimpay**

Cordero et al., (2021) menciona las hojas de Chikchimpay (*tagetes multiflora kunth*) se utilizan para condimentar distintas preparaciones, y como reemplazo del cilantro en el pebre. También se bebe como bebida caliente. Medicinal en infusión se bebe para aliviar el dolor estomacal y para la distensión abdominal.

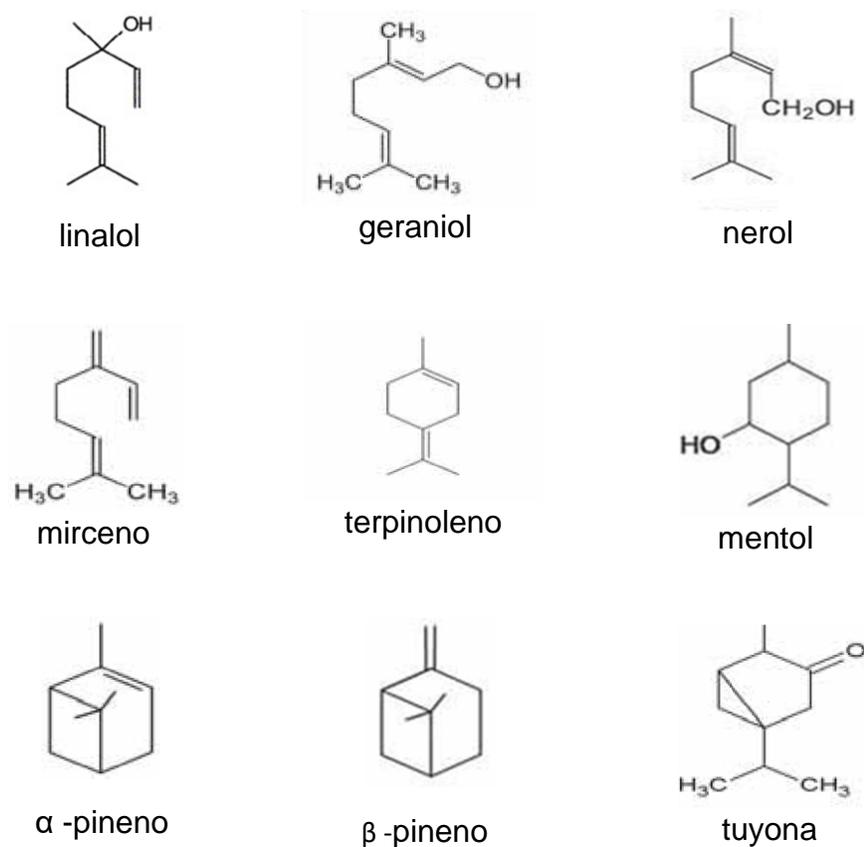
### **3.2.4. Aceites esenciales**

Los aceites esenciales son fracciones líquidas volátiles pueden encontrarse hidrocarburos como: terpenos, alcoholes, compuestos carbonílicos, aldehídos aromáticos y fenoles se encuentran en hojas, cáscaras o semillas de algunas plantas. Generalmente destilables por arrastre con vapor de agua. La pureza y el rendimiento del aceite esencial dependerán de la técnica que se utilice para el aislamiento (Tuyo, 2015)

Molecularmente los aceites esenciales son mezclas complejas de hasta más de 200 componentes, constituidas mayoritariamente por monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanos (Look de Ugaz. O, 1999)

#### **a) Monoterpenos**

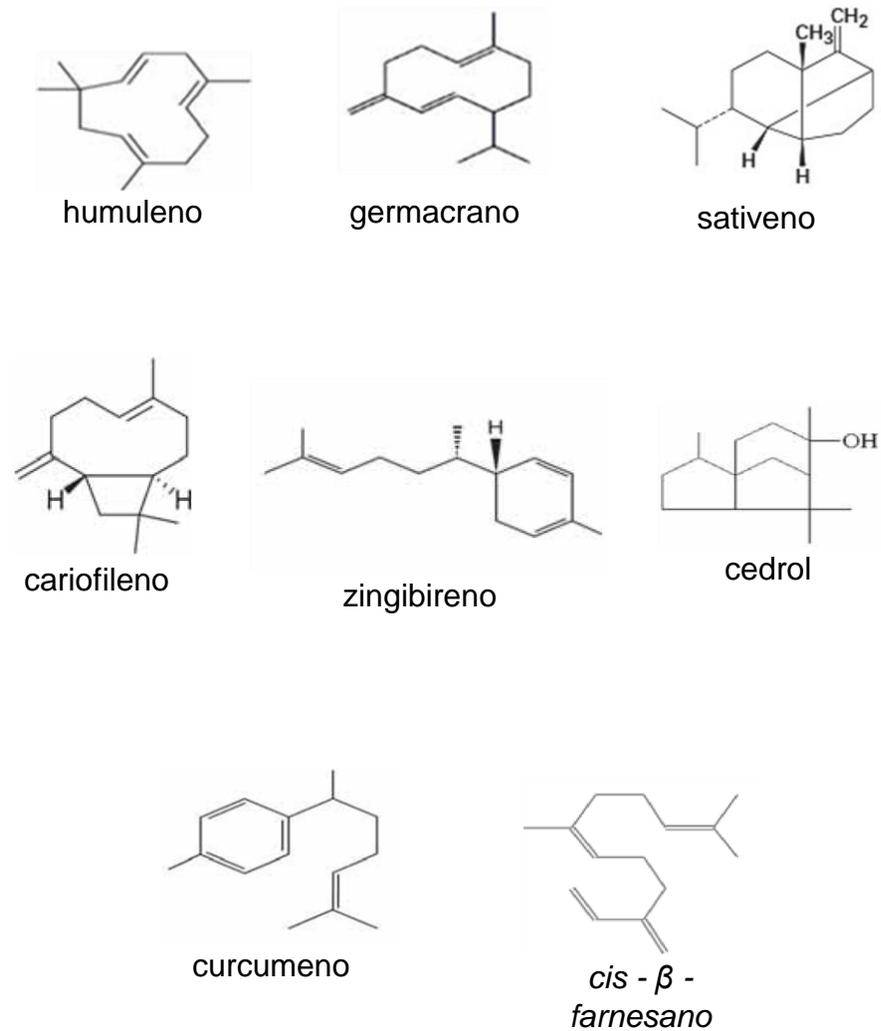
Los monoterpenos junto al isopreno son los compuestos orgánicos volátiles que dominan las emisiones a escala global y son miembros importantes de la familia de los isoprenoides (o terpenoides). Estos compuestos normalmente se pueden almacenar en órganos especializados de las hojas y tallos, lo que contribuye a que parte del carbono que se ha producido en los tejidos vegetales mediante diversos procesos fisiológicos retorne hacia la atmósfera. Esta emisión es producida principalmente por la difusión, debido a un gradiente de presión de vapor desde los compartimentos celulares con concentraciones relativamente altas hacia el aire circundante a las hojas. (Marín, 2019)



**figura 2** Ejemplos de monoterpenos (Solis, 2018)

### b) Sesquiterpenos

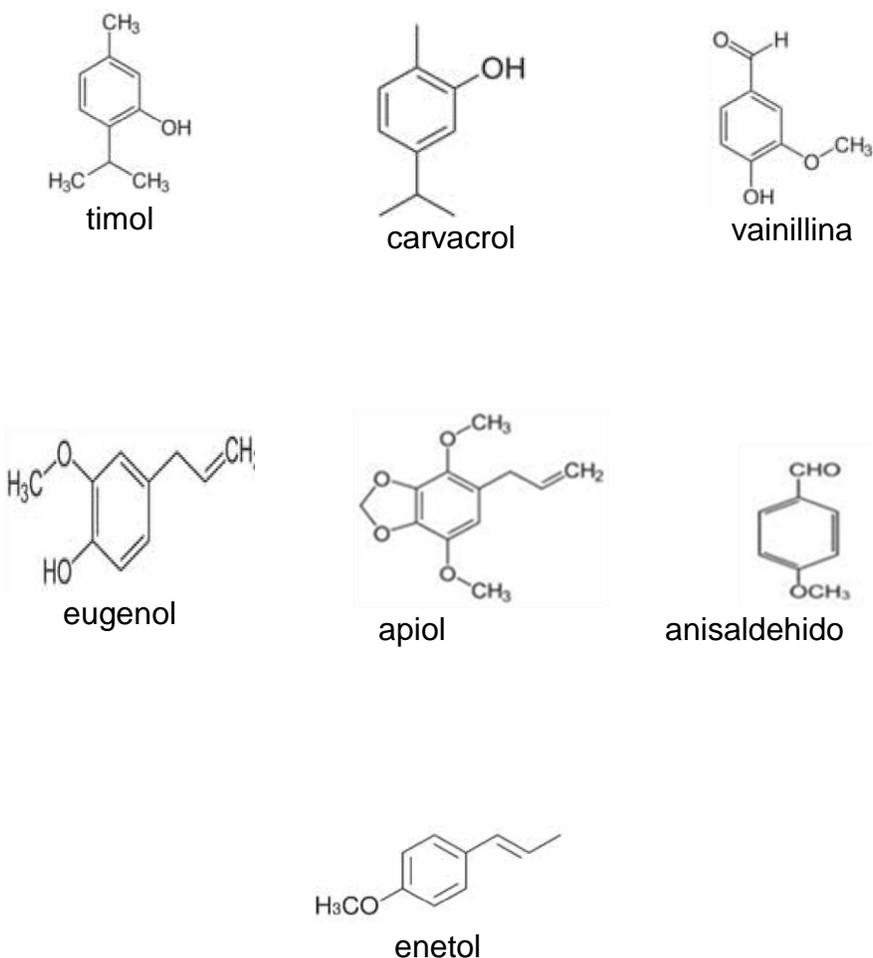
Los sesquiterpenos son compuestos que contienen al menos un grupo carbonilo conjugado, los cuales funcionan como agentes alquilantes. Se cree que la actividad citotóxica de ellos radica en su capacidad de formar enlaces covalentes entre los grupos  $O=C-C=CH_2$  de los sesquiterpenos y a los grupos sulfhidrilos de algunas enzimas como la DNA polimerasa, timidilasa, fosfofructoquinasa y glicógeno sintetasa ocasionando la inhibición de la síntesis de DNA en las células cancerígenas. El estrés oxidativo, es uno de los tantos factores que pueden desencadenar el desarrollo del cáncer. Los lípidos constituyen un factor de riesgo para la formación de radicales libres en el organismo y estudios recientes han mostrado que las especies vegetales son buenos agentes antioxidantes. (Marín, 2019)



**figura 3** Ejemplos de sesquiterpenos (Solis, 2018)

### c) Fenilpropanos

Son compuestos de naturaleza química aromática (o sea que contienen un anillo de benceno). Alguno de estos compuestos, como el *p*-cimeno, son terpenos cíclicos aromatizados, pero la mayoría de ellos no son terpénicos. Muchos compuestos aromáticos son fenilpropanoides, es decir que están formados por el esqueleto del fenilpropano. Los fenilpropanoides están relacionados estructuralmente con los aminoácidos fenilalanina y tirosina, para muchos de ellos se derivan de la ruta bioquímica del ácido shikímico. (Marín, 2019)



**figura 4** Ejemplos de fenilpropanos (Solis, 2018)

### 3.2.5. Hidrolato y usos

El hidrolato también denominado hidrosol es el agua residual que se forma por condensación del vapor que ha atravesado la materia vegetal durante el proceso de la obtención de un aceite esencial por un método de extracción, es un producto acuoso de la destilación. La mayor parte de los componentes de los aceites esenciales son volátiles y relativamente inmiscibles en el agua. En esta etapa del proceso se obtiene el aceite esencial como producto principal y un hidrolato al que se le considera un subproducto (Antezana, 2017). El agua, después de la destilación (el llamado hidrolato), puede servir para riegos o, a través del sistema

de cohobación, puede ser reutilizada en el mismo sistema de destilación. Algunos hidrolatos, como sub-productos de la destilación de aceites, se pueden emplear en baños, como agua para aromatización y para la limpieza (Antezana, 2017).

En la industria fitosanitaria los hidrolatos obtenidos durante el proceso de extracción se utilizan para repeler y controlar plagas, con ellos se preparan herbicidas, insecticidas, fungicidas, nematocidas, acaricidas, desodorizantes, desinfectantes (Antezana, 2017).

### **3.2.6. Antioxidante del origen vegetal**

Son sustancias que inhiben o retardan el proceso oxidativo, cuya actividad podría deberse a sus componentes poli fenólicos. (Oliveira, 2014). Los polifenoles constituyen uno de los principales compuestos con actividad antioxidante, presentes en las plantas. (Echavarria, 2016). Los flavonoides, son un tipo de polifenoles que se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas y son sustancias que manifiestan una potente actividad antioxidante. (Oliveira, 2014). La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se atribuye a su facilidad para ceder átomos de hidrógeno de un grupo hidroxilo aromático a un radical libre y a la posibilidad de deslocalización de cargas en el sistema de dobles enlaces del anillo aromático. (Gallego, 2016). Un antioxidante es una sustancia que forma parte de los alimentos de consumo cotidiano y que puede prevenir los efectos adversos de especies reactivas sobre las funciones fisiológicas normales de los humanos. Las propiedades antioxidantes no sólo deben estudiarse por sus interacciones químico-biológicas, sino por su función en el deterioro oxidativo que afecta a los alimentos. Se utilizan en la industria alimentaria adicionados a las grasas u otros productos para retrasar los procesos de oxidación, en tanto previenen el comienzo de la rancidez oxidativa. (Coronado, 2015).

La actividad antioxidante es la capacidad que tiene una sustancia para inhibir la degradación oxidativa (pérdida de uno o más electrones) de tal manera que actúan, gracias a su capacidad para reaccionar con radicales libres. (Londoño, 2012). Los antioxidantes son sustancias que son parte de los alimentos de consumo diario, por ende, se ingieren a través de la alimentación. Cabe mencionar que son los más importantes de todos ya que pueden prevenir los efectos adversos de especies

reactivas sobre las funciones fisiológicas normales de los humanos Coronado et al.(2015).

### **3.2.7. Mecanismo de acción de los antioxidantes**

#### **Interacción directa con especies reactivas**

Se refiere a la capacidad que tienen muchos antioxidantes para actuar como “estabilizadores o apagadores de diversas especies reactivas”. En el caso de los radicales libres, tal acción implica su estabilización a través de la cesión de un electrón a dichas especies reactivas. Tal mecanismo, definido como “SET” (single electrón transfer), permite que el Radical Libre pierda su condición por “pareamiento” de su electrón desapareado (Alvarado y condori, 2017).

#### **Prevención de la formación enzimática de especies reactivas**

Algunos antioxidantes pueden actuar previniendo la formación de Reactive Oxygen Species (ROS) y Reactive Nitrogen Species (RNS). Lo hacen inhibiendo, ya sea la expresión, la síntesis o la actividad de enzimas pro-oxidantes involucradas en la generación de especies reactivas, como la NADPH-oxidasa (NOX), la xantina-oxidasa (XO), la mieloperoxidasa (MPO) y el óxido nítrico sintasa (NOS) (Alvarado y condori, 2017).

#### **Prevención de la formación de especies reactivas dependiente de metales**

Implica la inhibición de la formación de especies reactivas se relaciona con contraponer la capacidad que tienen ciertos metales de transición, como hierro y cobre (ambos en su estado reducido), para catalizar (actividad redox) la formación de radicales superóxido a partir de la reducción de oxígeno y de radicales hidroxilos, a partir de peróxido de hidrógeno (Reacción de Fenton) (Alvarado y condori, 2017).

#### **Activación o inducción de la actividad de enzimas antioxidantes**

Como parte de la defensa antioxidante, el organismo humano biosintetiza ciertas enzimas cuya función es remover especies reactivas, principalmente ROS. La acción antioxidante de todas estas enzimas se traduce en una disminución del estado redox celular (Alvarado y condori, 2017).

### 3.2.8. radical libre

Los componentes de un organismo vivo en su metabolismo aeróbico normal están sujetos a una exposición constante de especies redox u oxidantes. Las fuentes pueden dividirse en sitios endógenos y exógenos. Los factores de estilo de vida pueden incidir en ambos tipos de fuentes. Una idea importante, desde el principio, fue la percepción de que las reacciones de oxidación-reducción (redox) en las células vivas se utilizan en procesos fundamentales de regulación redox, denominados colectivamente “Señalización redox” (figura 9) y “control redox” (Damián, 2020).

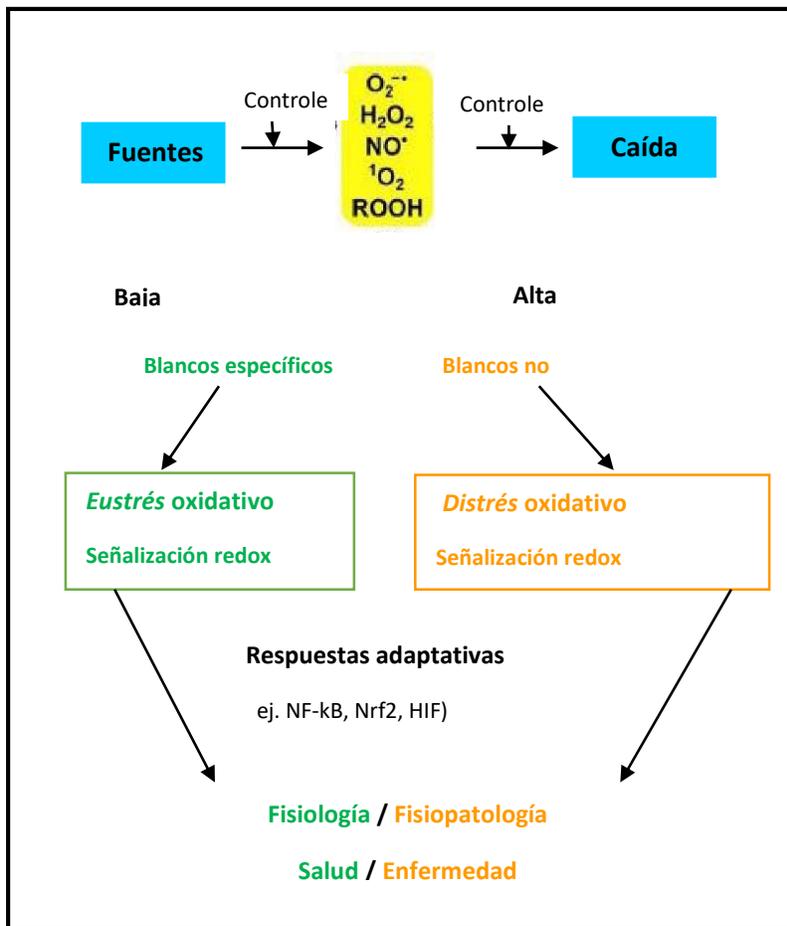


figura 5 Señalización redox y su relación con el estrés oxidativo

Se lleva a cabo un gran desequilibrio molecular por sustancias químicas conocidas como radicales libres (RL), en el cual sus electrones realizan su recorrido orbital de

forma impar; un compuesto se transforma en RL cuando gana un electrón (reducción), cuando pierde un electrón (oxidación molecular) o en la división simétrica de los compuestos covalentes, donde cada fracción retiene al electrón impar, como sucede típicamente en la lipoperoxidación. Los RL buscan obtener una distribución electrónica estable, por lo tanto, por medio de las reacciones redox (reacciones de óxido reducción) interactúan con otras moléculas, generándose una reacción en cadena y logrando la estabilidad cuando dos radicales libres reaccionen entre sí o se sustrae el electrón de sus proximidades llegando así a la paridad electrónica (Damián, 2020).

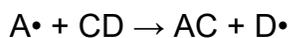
Los radicales libres son moléculas altamente inestables y reactivas ya que son de carácter paramagnético, presentan una vida media corta y tienen capacidad para combinarse inespecíficamente con diferentes moléculas y capacidad para atacar a cualquier tipo de biomoléculas (Damián, 2020).

Las reacciones bioquímicas dadas se clasifican en 3 grupos.

**-Reacciones de iniciación:** A partir de no radicales se forma un radical libre.



**-Reacciones de propagación:** Reacción de molécula estable con radical libre generando la formación de radical libre.



**-Reacciones de terminación:** Reacción entre dos radicales libres, generando un producto estable.



Las especies reactivas contiene dos tipos de moléculas: los radicales libres y los no radicales, originado en procesos fisiológicos normales como en procesos patológicos. Los RL se pueden clasificar por el grupo funcional que presente en su molécula, tales como, nitrógeno, oxígeno, bromo, tiol, fósforo, etc. Las RNS y ROS son dos grupos grandes que están implicados en la biología redox (reacciones de óxido reducción), aunque los radicales libres de oxígeno son de gran importancia y

los más comunes ya que forman parte de los diversos procesos aeróbicos (Damián, 2020).

### **3.2.9. Método de extracción de aceites esenciales**

#### **Extracción por arrastre de vapor**

Los aceites esenciales que derivan de las plantas aromáticas se obtienen típicamente por arrastre de vapor, siendo un proceso simple, clásico y relativamente barato en el cual los aceites esenciales sean extraídos de la planta por una corriente del vapor de agua y entonces ambas fases se separan fácilmente por la diferencia de densidades. Este método es uno de los más utilizados y más antiguo. Su uso se radica en el bajo consumo energético y no ocasiona transformación química en los componentes del aceite. Su fundamento es que por efecto de la temperatura del vapor (100°C) en un cierto tiempo, el tejido vegetal se rompe liberando el aceite esencial. Los aceites esenciales obtenidos de esta forma deberán ser insolubles en agua, de no serlo los componentes solubles en agua se quedarán en la fase acuosa aun después de pasar por el condensador y el separador que permite aislar la fase de aceite esencial de la de agua (Look de Ugaz. O, 1999).

#### **Método de la destilación por arrastre con vapor de agua**

La muestra vegetal, generalmente seca y cortada en trozos pequeños, es encerrada en una cámara inerte y sometida a una corriente de vapor de agua sobrecalentado, la esencia así arrastrada es posteriormente condensada, recolectada y separada de la fracción acuosa. Esta técnica es muy utilizada especialmente para esencias fluídas, especialmente las utilizadas para perfumería. Se utiliza a nivel industrial debido a su alto rendimiento, la pureza del aceite obtenido y porque no requiere tecnología sofisticada (Marín, 2019).

#### **Método de la extracción con solventes volátiles**

La muestra seca y molida se pone en contacto con solventes tales como alcohol, cloroformo, etc. Estos solventes solubilizan la esencia, pero también solubilizan y extraen otras sustancias tales como grasas y ceras, obteniéndose al final una esencia impura. Se utiliza a 26 escala de laboratorio pues a nivel industrial resulta costoso por el valor comercial de los solventes, porque se obtienen esencias

impurificadas con otras sustancias, y además por el riesgo de explosión e incendio característicos de muchos solventes orgánicos volátiles (Marín, 2019).

### **Método de enflorado o enfleurage**

El material vegetal (generalmente flores) es puesto en contacto con un aceite vegetal. La esencia es solubilizada en el aceite vegetal que actúa como vehículo extractor. Se obtiene inicialmente una mezcla de aceite esencial y aceite vegetal la cual es separada posteriormente por otro medio físico-químicos. Esta técnica es empleada para la obtención de esencias florales (rosa, jazmín, azahar, etc.), pero su bajo rendimiento y la difícil separación del aceite extractor la hacen costosa (Marín, 2019).

### **Método de extracción con fluidos supercríticos**

Es de desarrollo más reciente. El material vegetal cortado en trozos pequeños, licuado o molido, se empaca en una cámara de acero inoxidable y se hace circular a través de la muestra un líquido supercrítico (por ejemplo, dióxido de carbono líquido), las esencias son así solubilizadas y arrastradas y el líquido supercrítico que actúa como solvente extractor y se elimina por descompresión progresiva hasta alcanzar la presión y temperatura ambiente, y finalmente, se obtiene una esencia pura. Aunque presenta varias ventajas como rendimiento alto, es ecológicamente compatible, el solvente se elimina fácilmente e inclusive se puede reciclar, y las bajas temperaturas utilizadas para la extracción no cambian químicamente los componentes de la esencia, sin embargo, el equipo requerido es relativamente costoso, ya que se requieren bombas de alta presión y sistemas de extracción también resistentes a las altas presiones (Marín, 2019).

### **Extracción por microondas**

El uso de microondas es otra alternativa para la extracción de aceites esenciales. Esta técnica puede utilizarse asistiendo un método convencional como la hidrodestilación o adaptando un equipo para establecerlo como un método independiente, como la extracción por microondas sin disolvente. No se necesita agregar ningún disolvente o agua si se emplea material fresco. En caso de que el material este seco, éste se rehidrata remojándolo en agua y drenando el exceso antes de la extracción (Peredo, 2009).

### **3.2.10. Cromatografía**

Es un método que permite la separación, identificación y determinación de los componentes químicos en mezclas complejas. Es difícil describir rigurosamente al término 18 cromatografía, ya que se ha aplicado ese nombre a varios sistemas y técnicas. Sin embargo, todos los métodos tienen en común el uso de la fase estacionaria y una fase móvil. Los componentes de una mezcla son transportados a través de una fase estacionaria por el flujo de una fase móvil, y las separaciones se basan en las diferencias de velocidad de migración entre los distintos componentes de las mezclas (Barajas, 2011).

La característica que distingue a la cromatografía de la mayoría de los métodos físicos y químicos de separación, es que se ponen en contacto dos fases mutuamente inmiscibles. Una fase es estacionaria y la otra móvil. Una muestra que se introduce en la fase móvil es transportada a lo largo de la columna que contiene una fase estacionaria distribuida. Las especies de la muestra experimentan interacciones repetidas (repartos) entre la fase móvil y la fase estacionaria. Cuando ambas fases se han escogido en forma apropiada los componentes de la muestra se separan gradualmente en bandas en la fase móvil. Al final del proceso los componentes separados emergen en orden creciente de interacción con la fase estacionaria. El componente menos retardado emerge primero, el retenido más fuertemente eluye al último. El reparto entre las fases aprovecha las diferencias entre las propiedades físicas y/o químicas de los componentes de la muestra (Barajas, 2011).

#### **Técnicas Cromatografías**

##### **Cromatografía en columna**

En este tipo de cromatografía se utiliza un tubo cilíndrico, en el interior se coloca la fase estacionaria y a través de ella se hace pasar la fase móvil. El flujo de la fase móvil (líquido o gas) a través de la fase estacionaria se puede conseguir por presión, capilaridad o por gravedad (Barajas, 2011).

## Cromatografía plana

La fase estacionaria se coloca en una superficie plana y se distinguen dos tipos de cromatografía plana.

Cromatografía en papel, en la que el papel actúa como soporte de la fase estacionaria (cromatografía de partición) (Barajas, 2011).

Cromatografía en capa fina, un sólido actúa como fase estacionaria, o como soporte de la fase estacionaria se extiende en una capa delgada sobre una placa, generalmente de vidrio, en la cromatografía plana está excluido el uso de un gas como fase móvil, por lo que ésta siempre es líquida (Barajas, 2011).

**Tabla 1** Clasificación de los métodos cromatográfico

<b>Clasificación general</b>	<b>Método específico</b>	<b>Fase estacionaria</b>	<b>Tipo de equilibrio</b>
<b>Cromatografía de gases</b>	Gas-líquido (GLC)	Líquido adsorbido	Reparto entre gas y líquido
<b>Cromatografía líquida</b>	Gas-sólido	sólido	Adsorción
	Líquido-líquido	Líquido adsorbido	Adsorción
	Líquido-sólido	sólido	
	Intercambio	Resina de intercambio iónico	Intercambio iónico
	Exclusión por Afinidad	Líquido en los intersticios  Líquido con un grupo específico	Reparto/tamizado  Reparto entre líquido

## Cromatografía de gases

En cromatografía de gases (GC), la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de un gas inerte (generalmente helio o nitrógeno) que no interacciona con las moléculas 20 de analito, su única función es la de transportarlo a través de la columna. El analito se distribuye entre la fase móvil gaseosa y una fase líquida inmovilizada sobre la superficie de un sólido inerte dentro de la columna cromatográfica, de manera que en función de interacción con ambas va a presentar distinto tiempo de retención, por lo que se puede analizar cada analito por separado (Robles, 2014).

La cromatografía de gases se utiliza para el análisis de compuestos que presentan una volatilidad importante a temperaturas inferiores a 350-400 °C, además deben ser termoestables a las temperaturas de trabajo y no han de degradarse ni perderse parte de los mismos a través de reacciones secundarios. La naturaleza de los analitos y su peso molecular se puedan utilizar para predecir su volatilidad, así cuanto mayor sea la polaridad y/o el peso molecular menor será ésta. De manera que, mientras que los hidrocarburos más pesados de 500 uma puedan ser analizados por medio GC, los de peso molecular superior 1400 uma necesitarían condiciones especiales (Robles, 2014).

Cada soluto presente en la muestra tiene diferente afinidad hacia la fase estacionaria, lo que permite su separación: los componentes fuertemente retenidos por esta fase se moverán lentamente en la fase móvil, mientras que los débilmente retenidos lo harán rápidamente. Un factor clave en este equilibrio es la presión de vapor de los compuestos (en general, a mayor presión de vapor, menor tiempo de retención en la columna). Como consecuencia de esta diferencia de movilidad, los diversos componentes de la muestra se separan en bandas que pueden analizarse tanto cualitativa como cuantitativamente mediante el empleo de los detectores seleccionados (Gutiérrez, 2002).

### **Cromatografía de gases- espectrometría de masas (gc-ms)**

Es una técnica combinada (GC-MS) que permite la separación e identificación de mezclas complejas, es comúnmente usado para el análisis de aceites esenciales, manejando un sistema con alta sensibilidad, adquisición de datos y proceso confiable y bajo costo en relación con el gasto de reactivos (Ricaldi, 2014).

La utilización de la cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas requiere sistemas especiales de conexión. En principio, se trata de dos técnicas que trabajan en fase gaseosa y necesitan una pequeña cantidad de muestra para su análisis, por lo que son muy compatibles. El único obstáculo serio a la hora de realizar su 25 acoplamiento es que el efluente que emerge de la columna cromatografía sale a presión atmosférica y debe introducirse en el interior del espectrómetro de masas que trabaja a alto vacío. Actualmente, el acoplamiento directo resulta fácil cuando se utiliza la cromatografía de gases capilar, que es el caso más habitual (Gutiérrez, 2002).

En resumen, una mezcla de compuestos inyectada en el cromatógrafo de gases se separa en la columna cromatografía obteniendo la elución sucesiva de los componentes individuales aislados que pasan inmediatamente al espectrómetro de masas. Cada uno de estos componentes se registra en forma de pico cromatográfico y se identifica mediante su respectivo espectro de masas. En este proceso, el espectrómetro de masas, además de proporcionar los espectros, actúa como detector cromatográfico al registrar la corriente iónica total generada en la fuente iónica, cuya representación gráfica constituye el cromatograma (Gutiérrez, 2002).

#### **3.2.11. Método para determinar la actividad antioxidante**

Para evaluar actividad antioxidante se recurre a diferentes métodos

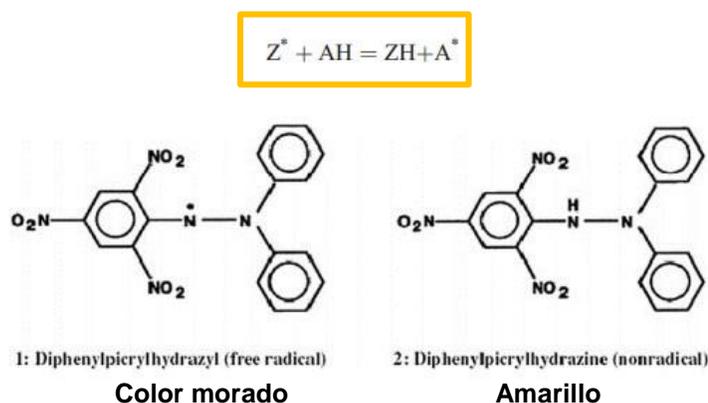
##### **Método de DPPH**

El DPPH o 2,2- difenil-1-picrilhidazil es un radical estable cromóforo de color morado oscuro. La reacción con otros radicales, electrones o átomos de hidrógeno conducen a la pérdida de color del DPPH medido por espectro UV-VIS a 517 nm con la pérdida de la señal de radicales libres, y sirve como un indicador de la capacidad antioxidante, esta reacción se basa en la donación electrónica de

antioxidantes para neutralizar el radical DPPH. Por lo tanto, este método se basa principalmente en la suposición de que la actividad antioxidante es igual a su capacidad de donación del electrón o el llamado poder reductor (Damián, 2020).

La reacción primaria se muestra en la Figura 14, representando al radical DPPH por Z• y la molécula donante por AH, donde ZH es la forma reducida y A• es radical libre producido en el primer paso. La molécula DPPH (Z•) está destinada a representar los radicales libres formados en el sistema cuya actividad debe ser suprimida por la sustancia AH (Damián, 2020).

La reacción primaria es:

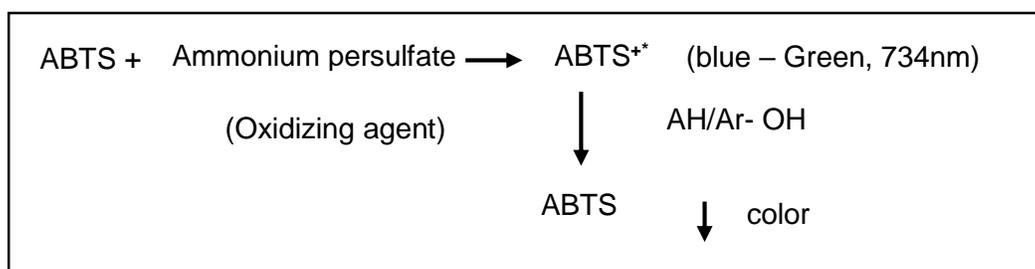


**figura 6** Radical DPPH (como radical libre) y su forma estable

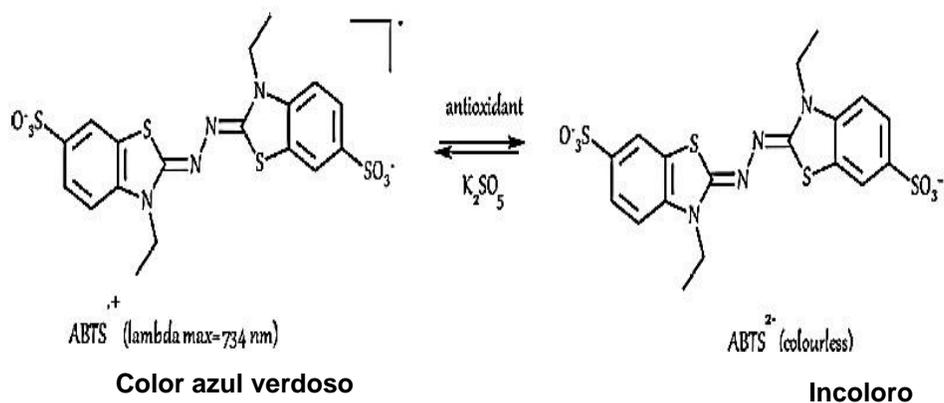
### Método de ABTS •+

El ensayo de la captación del radical ABTS •+ mide la capacidad de los antioxidantes o muestras con dicha capacidad antioxidante para eliminar el catión estable ABTS •+ (2,2'-azinobis (3- ácido etilbenzotiazolina-6-sulfónico)), que presenta inicialmente un azul verdoso cromóforo con absorción máxima a 734 nm y que disminuye en su intensidad en presencia de antioxidantes. ABTS •+ puede ser generado directamente utilizando persulfato de potasio como el agente oxidante, los antioxidantes luego reaccionan solo con ABTS •+ (Figura 15) Entonces se explica que el ABTS inicialmente se somete a una reacción de oxidación con permanganato de potasio, persulfato de potasio o 2,2'-azo-bis (2amidinopropano), produciendo el catión radical del ABTS (ABTS •+) con un color azul verdoso. El ABTS •+ es estable por

varios minutos, el  $ABTS^{+\cdot}$  se somete a la muestra antioxidante, causando la reducción de  $ABTS^{+\cdot}$  y, en consecuencia, la decoloración de la reacción mezcla (Figura 16). Por lo tanto, el grado de decoloración se puede expresar como el porcentaje de inhibición de  $ABTS^{+\cdot}$ , que se determina en función del antioxidante concentración y tiempo (Damián, 2020).



**figura 7** Reacción de ABTS (forma estable) y agente oxidante generando  $ABTS^{+\cdot}$  (como radical libre)



**figura 8** Radical  $ABTS^{+\cdot}$  (como radical libre) y su forma estable

### 3.3. Marco conceptual

#### 3.3.1. Aceites esenciales

Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica (Martínez, 2003).

### **3.3.2. Los Hidrolatos**

son el subproducto de la obtención de aceites esenciales por destilación por arrastre al vapor de flores y plantas aromáticas. El destilado resultante está compuesto básicamente de agua y una capa fina de aceite esencial, que normalmente se separa y se vende aparte. Es decir, con una destilación, se obtienen dos productos el aceite esencial por un lado y el hidrolato que contiene micro-partículas de aceite esencial en suspensión (Sweetillo, 2016).

### **3.3.3. Los antioxidantes**

Un antioxidante se define, en el sentido más amplio de la palabra, como cualquier molécula capaz de prevenir o retardar la oxidación (pérdida de uno o más electrones) de otras moléculas, generalmente sustratos biológicos como lípidos, proteínas o ácidos nucleicos (Menckeberg, 2021).

### **3.3.4. Métodos de extracción de los aceites esenciales**

Los aceites esenciales se pueden extraer de las muestras vegetales mediante varios métodos como: destilación con agua o hidrodestilación con trampa de clewenger, destilación por arrastre de vapor, expresión, extracción con disolventes, extracción por el método enflorado o enfleurage, extracción por fluidos supercríticos y extracción por microondas (Martínez, 2003).

### **3.3.5. El estrés oxidativo**

Es un desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes a favor de los oxidantes. Puede entenderse como un desequilibrio entre la generación de radicales libres y la eliminación de los mismos y está ampliamente involucrado en la aparición y desarrollo de muchas enfermedades (Helmut, 2018).

### **3.3.6. Los radicales libres**

son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado o libre por lo que son muy reactivos ya que tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. un radical libre es cualquier especie (átomo, molécula o ión) que contenga a lo menos un electrón desapareado en su orbital más externo, y que sea a su vez capaz de existir en forma independiente (de ahí el término libre). (Menckeberg, 2021)

### **3.3.7. Átomo**

Es la partícula más pequeña de materia que puede existir libre conservando las propiedades físico-químicas características de ese elemento y que es capaz de intervenir en reacciones químicas. En la estructura del átomo encontramos una región central muy densa formada por dos tipos de partículas los protones y los neutrones. Ambos le otorgan masa al núcleo, los protones son partículas con carga positiva y los neutrones no están cargados (Zaragoza, 1992)

## **4. OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN**

### **4.1. Objetivo general**

- ✓ Comparación de los componentes químicos en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chikchipay (tagetes multiflora kunth).

### **4.2. Objetivo específico**

- ✓ Determinar el porcentaje del rendimiento de la extracción de aceite esencial e hidrolatos del chikchipay (tagetes multiflora kunth).
- ✓ Determinar los compuestos bioactivos en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chikchipay (tagetes multiflora kunth).
- ✓ Evaluar la actividad antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chikchipay (tagetes multiflora kunth)

## **5. FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS**

### **5.1. Hipótesis general**

- ✓ El aceite esencial muestra una variación de componentes bioactivos frente a los hidrolatos extraídos del chikchipay (tagetes multiflora kunth).

### **5.2. Hipótesis específico**

- ✓ El aceite esencial presenta menor rendimiento frente al rendimiento del hidrolato extraído del chikchipay (tagetes multiflora kunth).
- ✓ El aceite esencial presenta mayores compuestos bioactivos frente al hidrolato extraído del chikchipay (tagetes multiflora kunth).
- ✓ La actividad antioxidante presenta una variación en el aceite esencial e hidrolato extraído del chikchipay (tagetes multiflora kunth).

### 5.3. Identificación de variables

Variable independiente

- ✓ Aceite esencial
- ✓ Hidrolato

Variable dependiente

- ✓ Porcentaje de rendimiento
- ✓ Compuestos bioactivos
- ✓ Actividad antioxidante

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. Lugar de ejecución

Localidad, Santa Rosa Distrito de Talavera, Provincia de Andahuaylas, Departamento de Apurímac.

Institución, laboratorio de química de la escuela profesional de ingeniería agroindustrial (EPIA) de la universidad José María Arguedas (UNAJMA).

### 6.2. Materiales, instrumentos y equipos

**Tabla 2** Materiales

CANTIDAD	DESCRIPCIÓN
03	Vasos de precipitado de 50, 100 y 250 ml
01	Separador florentino de 100 ml
03	Probeta de 50 y 100 ml
01	Burea de 50 ml
01	Pera de decantación ml
02	Gradillas para tubos de ensayo
03	Pipeta de 1 a 100 $\mu$ L.
03	Pipeta de 5 ml.
03	Envase de vidrio color ámbar de 15 ml
03	Propipetas

03	Matras Erlenmeyer de 50 ml
01	Gotero
12	Tubos de ensayo
03	Matraces aforados
01	Espátula

### Equipo

En esta Tabla (3) se muestran todo los equipos e instrumento con los cuales se ejecutará el trabajo de investigación.

**Tabla 3** Equipo

CANTIDAD	EQUIPO E INSTRUMENTO
01	Equipo de extracción por arrastre de vapor
01	Cromatógrafo de gases – Agilent Technologies 7890 <sup>a</sup>
01	Espectrofotómetro Agilent Technologies 5975C.
01	Balanza analítica de 0.1 mg – 120 g.
01	Detector selecto de masa Agilent Technologies 5975 C
01	Balanza analítica de 1/100 g. de 50 kg de capacidad
03	Picnómetro de 5 ml
01	Centrifuga
01	Termómetro de 0 a 200 °C

### Materia prima

En la Tabla (4) se muestra la materia prima con la que se va trabajar

**Tabla 4** Materia prima

Cantidad	Materia prima	Descripción
05 kg	Chikchimpay	Recolectada a 2860 msnm. Andahuaylas.

**Reactivos químicos**

En la Tabla (5) se muestran los reactivos a utilizarse en el trabajo de investigación.

**Tabla 5** Reactivos químicos

CANTIDAD	REACTIVOS
60 mg	Radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)
50 ml	Etanol
1 L.	Metanol
10 ml	Fenolftaleína
10 ml	Diclorometano
	Dimetilsulfoxido (DMSO)
50 g	Hidróxido de sodio (NaOH) 1N
3 L	Agua destilada

**6.3. Población y muestra****Población**

Aceites esenciales e hidrolatos extraídos del chikchimpay (tagetes multiflora kunth) procedente de la provincia de Andahuaylas departamento – Apurímac.

**Muestra**

La muestra será referida a 5 ml de aceite esencial y 5 ml de hidrolatos por muestra el análisis que se realizan por triplicado.

## **6.4. Tipo de investigación**

### **6.4.1. De acuerdo a fin que persigue**

#### **Aplicada**

Con esta investigación se logrará conocer la composición de bioactivos de chikchimpay (*Tagetes multiflora* Kunth) y también la actividad antioxidante que permitirá en futuro su aplicación como posibles conservantes alimentarios desde especies vegetativas andinas de nuestra provincia de Andahuaylas.

### **6.4.2. De acuerdo a la técnica de contrastación**

#### **Experimental**

Los datos serán obtenidos de fenómenos acondicionados por el investigador.

## **6.5. Método de análisis**

### **6.5.1. Determinación de compuestos bioactivos y actividad antioxidante**

Se realizarán los siguientes análisis.

#### **a. Determinación de rendimiento del aceite esencial**

Para determinar el rendimiento del aceite esencial, se tomará como referencia el peso (g) de aceite esencial extraído sobre la cantidad de materia vegetal (g), haciendo uso de una balanza analítica (Paredes, 2010).

$$\text{Rendimiento \%} = \frac{w_2}{w_1 * 100}$$

Donde:

W1 = Peso en gramos del material vegetal sometido a extracción.

W2 = Peso en gramos del aceite esencial extraído.

#### **b. Determinación de compuestos bioactivos**

Cromatografía de gases – Espectrometría de masas (CG-MS) La identificación del componente del aceite esencial se realizará por Cromatografía de gases – Espectrometría de masas (CG-MS), en el cromatógrafo Modelo Trace 1310 Termo scientific acoplado a un espectrómetro de masas Modelo ISQ QD Termo scientific, en el laboratorio de Fitoquímica de la Universidad peruana Cayetano Heredia con una columna capilar TG – 5SILMS de diámetro interno 0.25 mm y de 30 metros. Los análisis se llevarán a cabo bajo las siguientes condiciones: programa de temperatura de horno, temperatura inicial 60°C, gradiente 5 °C/min., temperatura final 240 °C (5 min.); gas portador helio con un flujo de 1mL/min.; temperatura del

inyector y detector de 250 °C, volumen de inyección de 1µL y una dilución Split de 1/100. En el cromatógrafo se obtendrá los cromatogramas y el contenido porcentual de cada componente, se calculará a partir del área bajo el pico y los componentes se comparará con el total del pico de áreas de todos los componentes; mientras que la identificación de los componentes de cada cromatograma se realizará mediante la obtención del espectro 41 de masas. Los diferentes componentes del aceite esencial, se identificará utilizando los tiempos de retención de la cromatografía de gases y los espectrómetros de masa de cada componente. Los espectros de masas se compararán con los datos estándar de referencia correspondiente a los espectros de masas de la base de datos librería Mainlib. Lo que permitirá valorar la composición mayoritaria de cada aceite esencial y así determinar la identificación y cuantificación de los aceites esenciales (Marín, 2019).

### **c. Determinación de la actividad antioxidante**

Método (DPPH•) (1,1-Difenil-2-Picrilhidrazil)

El radical libre y estable 1,1-Difenil-2-Picrilhidrazil (DPPH•), Es un indicador para medir la capacidad de secuestro de cualquier compuesto con actividad antioxidante. Su mecanismo de reacción consiste en la sustracción de un átomo de hidrogeno proveniente de un donador. La reacción de ensayo, desarrolla un cambio de color violeta a amarillo a medida que disminuye la absorbancia a 515 nm (Carhuapoma, 2007).

Los resultados se expresan como actividad antiradical o IC50 (Concentración Inhibitoria al 50), la cual está definida como la concentración del antioxidante que disminuye la absorción del radical a un 50% de la cantidad inicial (Torrenegra, 2014).

Los compuestos polifenólicos frente al radical DPPH°, en general la absorbancia desciende rápidamente en los primeros minutos, debido a la transferencia al radical de los átomos de hidrogeno con más facilidad de donación. Seguidamente una etapa de caída más lenta, hasta el equilibrio, debido a la actividad remanente de los productos de oxidación y degradación (Oliveira, 2014).

Se procederá calcular con la siguiente formula:

% de Inhibición para cada concentración con la siguiente formula:

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

Donde:

$A_0$  = Absorbancia a tiempo cero

$A_f$  = Absorbancia final % de Inhibición

## **6.6. Metodología experimental**

### **6.6.1. Descripción de la obtención del aceite esencial de la especie vegetativa chikchimpay (tagetes multiflora kunth)**

#### **a. Materia prima**

Se utilizará la especie vegetativa chikchimpay procedente de la provincia de Andahuaylas.

#### **b. Recolección**

Se llevará a cabo una recolección manual. El recojo se realizará primeras horas de la mañana para evitar una exudación excesiva de planta.

#### **c. Recepción**

Será realizado mediante una inspección en el estado de floración con el corte de 25 – 30cm.

#### **d. Transporte**

El apasionamiento y/o la sobrecarga generan estrés y por lo tanto hay un incremento de temperatura y deterioro de la planta. Es por ello que se efectuará el transporte en sacos con malla que permitirá una aireación.

#### **e. Selección y limpieza**

Se procederá la selección de la materia prima y la eliminación de partículas extrañas (polvo, arena y otros) adheridas a la superficie del chikchimpay y se dará aire sobre una superficie lisa con adecuada ventilación.

#### **f. Acondicionamiento**

Se acondicionará en un contenedor (cesto de acero inoxidable) el material vegetal será hojas frescas una cantidad. El material vegetal contenido en el cesto será depositado en el extractor con agua destilada para la generación de vapor.

**g. Extracción**

Esta operación se realizará a partir de tres muestras de 10kg de materia prima, sometidas al método arrastre con vapor, en un equipo de acero inoxidable y se iniciará el proceso de extracción.

**h. Descarga**

Una vez terminado la extracción se realizará la descarga tanto del separador de aceites esenciales como del material vegetal depositado en el extractor y en el contenedor, obteniéndose así aceite esencial.

**i. Almacenamiento**

El aceite esencial, será envasado en frascos ámbar de 10ml, se almacenará en ambientes de refrigeración a temperaturas promedios de 5-3°C. (Valverde, 2011)

Diagrama de bloque para la obtención del aceite esencial de la especie vegetativa chikchipay (*tagetes multiflora kunth*)

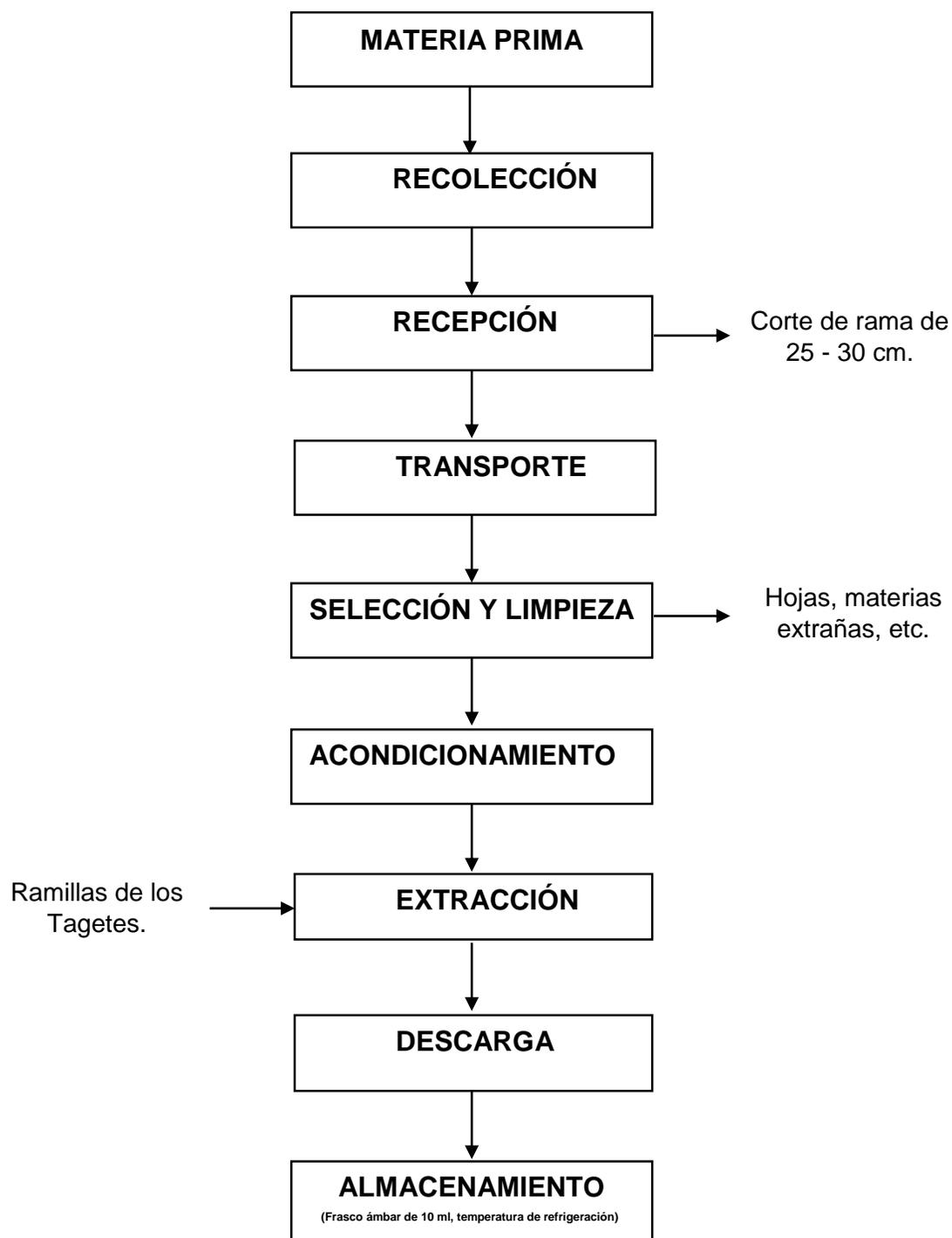


figura 9 Diagrama de bloque para la obtención del aceite esencial de la especie vegetativa chikchipay (*tagetes multiflora kunth*)

## **6.6.2. Descripción del proceso de análisis instrumental por GC – SM**

### **a. Portador “gas helio”**

Se utilizará el equipo de cromatografía para la separación de los compuestos volátiles.

### **b. Muestra de aceite esencial**

Se realizará esta etapa para la separación de compuestos activos por cromatografía de gas.

### **c. Horno**

Se encargará de producir calor para alimentar al gas helio (T°60 °C- T°210 °C).

### **d. Columna**

En este proceso la corriente de gas atraviesa una columna cromatografía que separará los compuestos activos.

### **e. Detector**

En esta fase los componentes activos son detectados por medio de una mezcla que pasará por un análisis cualitativo.

### **f. Cámara de ionización**

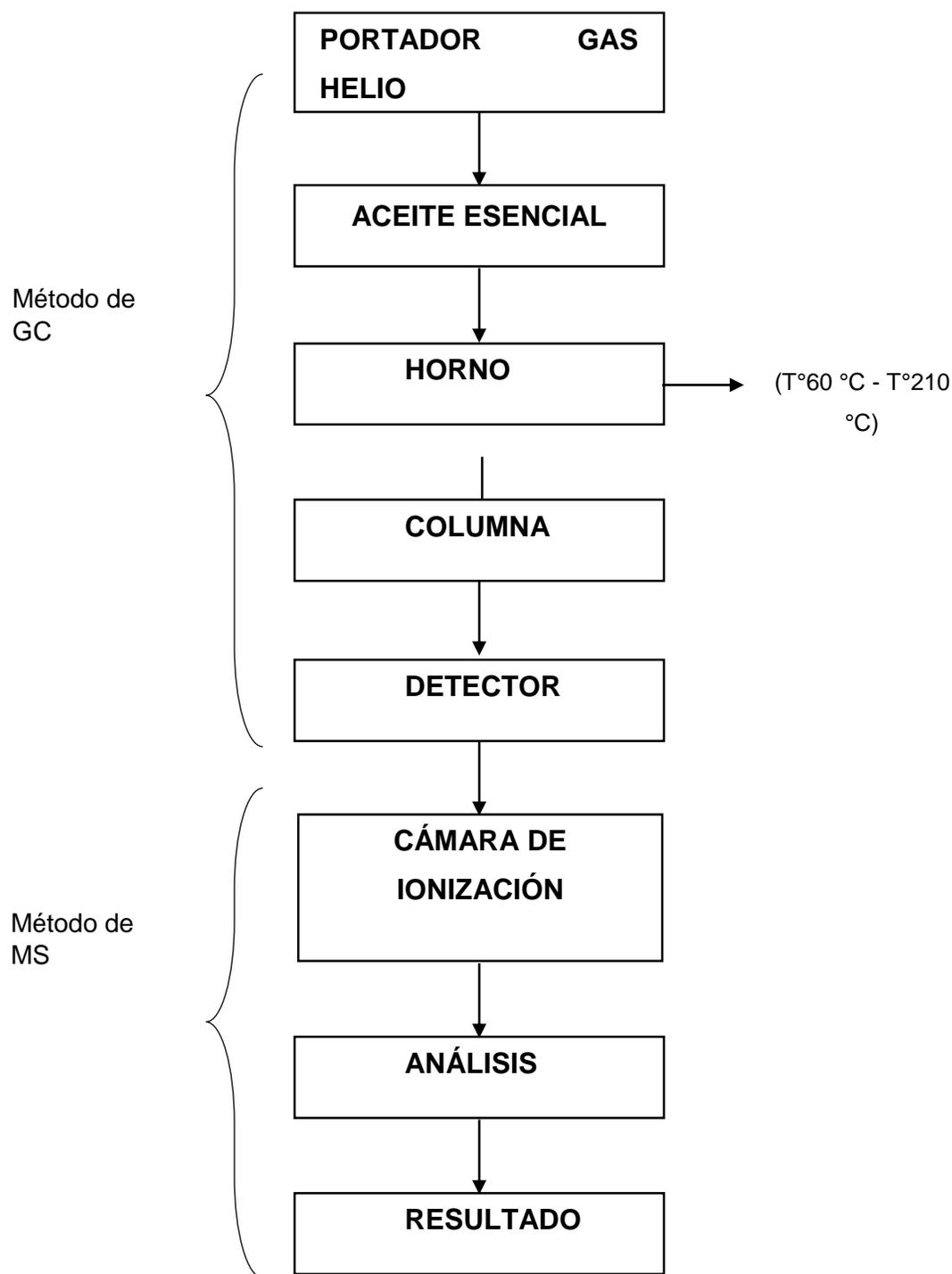
Después del análisis ingresará a una cámara de ionización.

### **g. Análisis**

Consta la comparación de compuestos obtenidos con la librería de patrón.

(Marquez, 2014)

Diagrama de bloque para el proceso de análisis instrumental por cromatografía de gases – espectrometría de masas del aceite esencial de la especie vegetativa chikchimpay (tagetes multiflora kunth)



**figura 10** Diagrama de bloque para el proceso de análisis instrumental por cromatografía de gases – espectrometría de masas del aceite esencial de la especie vegetativa chikchipay (*tagetes multiflora kunth*)

(Marquez, 2014)

### **6.6.3. Descripción de la actividad antioxidante preparación de los reactivos**

- ✓ Radical DPPH• (0.06 mM), se pesará 2.3 mg de DPPH• y se disuelven en 100 mL de metanol (Brand-William et al., 1995). El radical preparado es estable durante 12 h a temperatura ambiente y protegida de la luz.
- ✓ Preparación del estándar de referencia TROLOX: se emplea el Trolox en metanol, se preparará una disolución madre de 2 mM y posteriormente se preparará diluciones de 0.05, 0,1, 0,5 y 1 mM en metanol, para preparar la curva estándar referida al % inhibición con respecto a las diferentes concentraciones de Trolox.
- ✓ Se medirá la absorbancia con cubetas de cuarzo estándar de 1cm, a 515 nm de 2.9 mL del DPPH• (0.06mM), obteniendo así el valor de la absorbancia a tiempo cero, posteriormente se adicionará 100 µL de las diferentes concentraciones del Trolox, y se mide la absorbancia cada quince minutos, durante una hora (hasta alcanzar el equilibrio), se obtendrá así el valor de la absorbancia final, pudiendo calcular el % de inhibición (Samaniego, 2006).

### **Medida de la actividad antioxidante de las muestras**

- ✓ Se extraerá la fracción polar del aceite, se mezclará el aceite en metanol en proporción 1:1 v/v y se centrifugará a 2500-3000 rpm durante diez minutos a 15°C, a continuación, se extraerá la fase metanólica, donde se encuentran los componentes solubles en metanol del aceite (compuestos polifenólicos), responsables en su mayoría del efecto antioxidante de los mismos.
- ✓ Se medirá la absorbancia en diferentes diluciones metanólicas del extracto (1:2, 1:5 y 1:10).
- ✓ Se tomará 2.9 mL del radical DPPH•, se le medirá la absorbancia a 515nm, y se añadirá 100µL del extracto metanólico del aceite a ensayar. Se agita y

se mide su absorbancia cada 15 minutos durante una hora (Samaniego, 2006).

### 6.7. Diseño experimental

El diseño experimental para el trabajo de investigación será tipo diseño completamente al azar (DCA), debido a que se manipulará dos variables de entrada con tres repeticiones y con variable de salida rendimiento del aceite esencial, componente bioactivo y actividad antioxidante se hará una comparación de las dos variables independientes, arreglo experimental se muestra en la tabla (6)

**Tabla 6** Diseño experimental – DCA

Numero de repeticiones (j)	Variable independiente	Variable dependiente		
		Rendimiento	Compuesto bioactivo	Actividad antioxidante
3	Chikchimpay			

#### 6.7.1. ANOVA para el diseño completamente al azar (DCA)

El análisis de varianza (ANOVA) es la técnica central en el análisis de datos experimentales.

La idea general de esta técnica es separar la variación total en las partes con las que contribuye cada fuente de variación en el experimento. En el caso del DCA se separan la variabilidad debida a los tratamientos y debida al error. Cuando la primera predomina “claramente” sobre la segunda, es cuando se concluye que los tratamientos tienen efecto, o dicho de otra manera, las medias son diferentes.

Cuando los tratamientos no dominan contribuyen igual o menos que el error, por lo que se concluye que las medias son iguales.

El objetivo del Análisis de varianza en DCA es probar la hipótesis de igualdad de los tratamientos con respecto a la media de la correspondiente variable de respuesta.

Es importante resaltar que el ANOVA supone que la variable de respuesta se distribuye normal, con varianza constante (los tratamientos tienen varianza similar) y que las mediciones son independientes entre sí. Estos supuestos deben verificarse con las

hipótesis para estar más seguros de las conclusiones obtenidas, de la siguiente manera (Gutierrez, 2008).

***H<sub>0</sub>:  $\mu A = \mu B = \mu C = \mu D = \mu$***

***H<sub>A</sub>:  $\mu i \neq \mu j$  para algún  $i \neq j$***

A continuación, se presentan las siguientes hipótesis:

Tiene efecto significativo el rendimiento, los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante del aceite esencial e hidrolato extraídos de la especie vegetativa chikchimpay.

### **Hipótesis**

**Hipótesis nula H<sub>0</sub>:** No hay efecto significativo el rendimiento, los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante del e hidrolato extraídos de la especie vegetativa chikchimpay.

$$X_i = X_j$$

**Hipótesis alterna H<sub>A</sub>:** Hay efecto significativo el rendimiento, los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante del aceite esencial e hidrolato extraídos de la especie vegetativa chikchimpay.

$$X_i \neq X_j \text{ para algún } i \text{ y } j$$

### **Nivel de significancia ( $\alpha$ )**

Para el caso de comparaciones de tratamiento habitualmente se emplea para  $\alpha = 0.05$

(Gutierrez, 2008)

### **6.7.2. Análisis estadístico Análisis De Varianza**

El análisis de varianza (ANOVA), se refiere en general a un conjunto de situaciones experimentales y procedimientos estadísticos para el análisis de respuestas cuantitativas de unidades experimentales. El problema más sencillo de ANOVA se conoce como el análisis de varianza de un solo factor o diseño completamente al azar, éste se utiliza para comparar dos o más tratamientos, dado que sólo consideran dos fuentes de variabilidad, los tratamientos y el error aleatorio. En todas las corridas experimentales se deben de

realizar en un orden aleatorio. De esta manera, si durante el estudio se hacen  $N$  pruebas, éstas se corren al azar, de manera que los posibles efectos ambientales y temporales se vayan repartiendo equitativamente entre los tratamientos (Romaina, 2012).

El análisis de varianza es una técnica mediante la cual se prueban las medias de los tratamientos y se observan las fuentes de variabilidad de la variable de respuesta. En el caso del diseño completamente al azar, el esquema del ANOVA, se presenta en la tabla (7) siguiente:

**Tabla 7** Esquema del ANOVA

Fuente de variabilidad	$C.L$	$S:C.$	$C.M$	$F_C$	$F_t$
Tratamiento	$t - 1$	$\frac{\sum y_i^2}{r} - TC$	$\frac{SCT}{t - 1}$	$\frac{CMt}{CME}$	* **
Error	$t(r - 1)$	$SCT - SCt$	$\frac{SCE}{t(r - 1)}$		
Total	$rt - 1$	$\sum y_{ij}^2 - TC$			

\* Diferencia estadística significativa

\*\* Diferencia estadística altamente significativa

Donde:  $t = N^\circ$  de tratamientos

$r = N^\circ$  de repeticiones

$SCt$ : Suma de cuadrado de tratamientos

$SCT$ : Suma de cuadrado de totales

$SCE$ : Suma de cuadrado del error

$CMt$ : Cuadrado medio de tratamiento

$SCE$ : Cuadrado medio del error



### **6.7.3. Método de tukey**

El método de Tukey se utiliza en ANOVA para crear intervalos de confianza para todas las diferencias en parejas entre las medias de los niveles de los factores mientras controla la tasa de error por familia en un nivel especificado.

Es importante considerar la tasa de error por familia cuando se hacen comparaciones múltiples, porque la probabilidad de cometer un error de tipo I para una serie de comparaciones es mayor que la tasa de error para cualquier comparación individual. Para contrarrestar esta tasa de error más elevada, el método de Tukey ajusta el nivel de confianza de cada intervalo individual para que el nivel de confianza simultáneo resultante sea igual al valor que especifique. Con este método se prueba el juego de hipótesis (Condo, 2015).

$$H_0: \mu_i = \mu_{i'}$$

$$H_a: \mu_i \neq \mu_{i'} \text{ con } i \neq i'$$

### **6.8. Matriz de consistencia**

**Tabla 9** Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPOTESIS	DEFINICIÓN DE OPERACIONES			RECOLECCIÓN DE DATOS	
			VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DISEÑO O MÉTODO	INDICADORES	INSTRUMENTO
¿Cuáles son los componentes bioactivos y la actividad antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chicchimpay (tagetes multiflora kunth)?	Comparación de los componentes químicos en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chicchimpay (tagetes multiflora kunth).	El aceite esencial muestra una variación de componentes bioactivos frente a los hidrolatos extraídos del chicchimpay (tagetes multiflora kunth).	Variable Independiente Aceite esencial Hidrolato	Compuestos bioactivos y actividad antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos extraídos de la especie vegetativa chicchimpay (tagetes multiflora kunth).	Experimental	componentes bioactivos y la actividad antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chicchimpay (tagetes multiflora kunth)	Cromatografía de gases acoplado a espectrómetro de masas (CG - MS) Método (DPPH)
			Variable dependiente Porcentaje de rendimiento Compuestos bioactivos actividad antioxidante	Se identificará los componentes bioactivos y también se determinará la actividad antioxidante.			
¿Cuál es el porcentaje del rendimiento de extracción de aceite esencial e hidrolatos del chicchimpay (tagetes multiflora kunth)?	Determinar el porcentaje del rendimiento de la extracción de aceite esencial e hidrolatos del chicchimpay (tagetes multiflora kunth).	El aceite esencial presenta menor rendimiento frente al hidrolato extraído del chicchimpay (tagetes multiflora kunth).	Rendimiento	Se determinará el rendimiento del aceite esencial e hidrolatos extraídos de la especie vegetativa chicchimpay (tagetes multiflora kunth).	Experimental	Rendimiento	Balanza analítica
¿Cuáles son los compuestos bioactivos en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chicchimpay (tagetes multiflora kunth)?	Determinar los compuestos bioactivos en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chicchimpay (tagetes multiflora kunth).	El aceite esencial presenta mayores compuestos bioactivos frente al hidrolato extraído del chicchimpay (tagetes multiflora kunth).	Compuesto inactivo	Se determinará los compuestos bioactivos en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chicchimpay (tagetes multiflora kunth).	Experimental	Compuestos bioactivos	Cromatografía de gases acoplado a espectrómetro de masas (CG - MS)
¿Cuál es la actividad antioxidante del aceite esencial e hidrolato extraídos del chicchimpay (tagetes multiflora kunth)?	Evaluar la actividad antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chicchimpay (tagetes multiflora kunth)	La actividad antioxidante presenta una variación en el aceite esencial e hidrolato extraído del chicchimpay (tagetes multiflora kunth).	Actividad antioxidante	Se evaluará la actividad antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chicchimpay (tagetes multiflora kunth)	Experimental	Actividad antioxidante	Método (DPPH)

## 7.RECURSOS Y CRONOGRAMA DE ACTIVIDAD

### 7.1. Recursos humanos

Autor de trabajo de investigación Bach. QUISPE HUASCO, Silvia

Asesor Mg. HUARACA APARCO, Rosa

Co Asesora Dra. DELGADO LAIME, María Del Carmen

### 7.2. Presupuestos y fuente de financiamiento

**Tabla 10** Presupuestos y fuente de financiamiento para el desarrollo de la investigación

ITEM	DESCRIPCION	CANTIDAD	UNID. MEDIDA	PRECIO	PRECIO PARCIAL
				Unid.	
	<b>BIENES</b>				
	<b>Materiales de escritorio</b>				
01	Laptop Lenovo	1	Unid	S/. 2,300.00	S/. 1,900.00
02	USB Hp 2gb	1	Unid	S/. 20.00	S/. 20.00
03	Materiales Consumibles				S/. 954.00
04	Papel bond A-4 de 80 gr	2	Millar	S/. 25.00	S/. 50.00
05	Lapiceros PILOT	3	Unid	S/. 2.00	S/. 6.00
06	Resaltadores color amarillo Faber Castell	2	Unid	S/. 3.00	S/. 6.00
07	Correctores	1	Unid	S/. 5.00	S/. 5.00
08	Cuadernos espiralados Stanford	1	Unid	S/. 7.00	S/. 7.00
09	Cartuchos de tóner para impresora Multifuncional	4	Unid	S/. 220.00	S/. 880.00
	<b>Infraestructura</b>				
	<b>servicio</b>				
10	Servicio Internet	4	Mes	S/.60.00	S/. 240.00
11	Servicio telefonía móvil (Comunicaciones)	1000	Minutos	S/. 0.50	S/. 500.00
12	Servicio de Impresiones	2500	Unid	S/. 0.10	S/. 250.00
13	Servicio de empastados	20	Unid	S/.4.00	S/. 80.00
	<b>Gastos de experimentación</b>				
14	agua mineral	3	Unid	S/.1.00	S/. 3.00
15	Imprevistos	1	Unid	S/.100.00	S/. 100.00
16	Guardapolvo	1	Unid	S/.50.00	S/. 50.00
17	Guantes desechable	1	Caja	S/.15.00	S/. 15.00
18	Gorra desechable	1	Caja	S/.15.00	S/. 15.00
19	Mascarilla desechable	1	Caja	S/.15.00	S/. 15.00
20	Balde Premium	1	Unid	S/.25.00	S/. 25.00

21	Gas propano	1	Balón	S/.38.00	S/. 38.00
22	Vasos	25	Unid	S/.0.10	S/. 2.50
24	Análisis-AE	3	Unid	S/. 500.00	S/.1,500.00
	Gastos total				S/. 6,532.00
	<b>Imprevistos</b>				
25	Imprevistos 10% del costo total	1	Unid	S/. 612.50	S/.612.50
<b>COSTO TOTAL DE LA TESIS</b>					<b>S/.6,700.00</b>

### 7.3. Cronograma de actividad

**Tabla 11** Cronograma de actividad para el desarrollo de actividades de investigación

ACTIVIDADES	MESES					
	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto
Elaboración del proyecto	X	X	X			
Aprobación del proyecto						
Extracción del aceite esencial				X		
Análisis de los resultados					X	
Elaboración del informe final					X	X
Presentación del informe final						

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

### Bibliografía

- Alvarado, M. C. (2017). "Efecto Antioxidante Del Cochayuyo (*Durvillaea Antarctica*) Sobre El Estrés Oxidativo Presente En Ratas Con Diabetes Mellitus Tipo 2 Inducida Experimentalmente". *"Efecto Antioxidante Del Cochayuyo (*Durvillaea Antarctica*) Sobre El Estrés Oxidativo Presente En Ratas Con Diabetes Mellitus Tipo 2 Inducida Experimentalmente"*. Universidad Nacional De San Agustín De Arequipa, Arequipa, Perú.
- Antezana, B. (2017). "Otención de aceite esencial e hidrolato de hierbabuena (*menta spicata*) mediante el proceso de destilación por arrastre con vapor". *Tesis*. Universidad Mayor De San Andrés, La Paz, Bolivia.
- Bandoni, A. (2002). *Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores*. Argentina : Universidad de la Plata.
- Barajas, C. (2011). *Propuesta de mejora utilizando diseño de experimentos en el desarrollo de técnicas analíticas en un laboratorio farmacéutico*. México.
- Carhuapoma, .. M. (2007). *Composición química, actividad anti-*Helicobacter pylori* y antioxidante del aceite esencial de *Satureja brevicalyx* Epling "urqu muña"*. Lima: Tesis .
- Collura, A. ( 1985). Variaciones del rendimiento y composición química de las especies aromáticas y medicinales. *Herbociencia* , 6-15.
- Condo, .. P. (2015). *Diseño experimental en el desarrollo del conocimiento científico de las ciencias agropecuarias*. Ecuador : ESPOCH.
- Cordero, A. (2021). Una nueva base de datos integral sobre usos tradicionales de las plantas nativas. *Una nueva base de datos integral sobre usos tradicionales de las plantas nativas*. Rizoma- CEAB, Santiago, Chile.
- Coronado, H. M. (2015). *Antioxidante: perspectiva actual para la salud humana*. Revista Chilena de nutrición, Chilena.
- Coronado, H. M. (2015). *Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana*. Revista chilena de nutrición, Chile.
- Damián, .. R. (2020). *Composición química, actividad antioxidante, antimicrobiana sobre *E. coli* y *S. aureus* y efecto fungistático sobre *Candida albicans* del aceite esencial de hojas de *Persea caerulea* (Ruiz & Pav) Mez (junjulí)*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.
- Echavarría, A. D. (2016). Evaluación de la capacidad antioxidante y metabolitos secundarios de extracto de dieciséis plantas medicinales. *Revista*. Ciencia Unemi.

- Elías, J., & Sichez, J. (2019). Composición Química, Características Físicoquímicas Y Capacidad Antioxidante De Aceites Esenciales De Cinco Hierbas Aromáticas. *Composición Química, Características Físicoquímicas Y Capacidad Antioxidante De Aceites Esenciales De Cinco Hierbas Aromáticas*. Universidad Privada De Pucallpa, Perú.
- Gallego, M. (2016). Estudio de la actividad antioxidante de diversas plantas aromáticas y/o comestibles. *tesis*. Universitat politécnica, Catalunya, Barcelona.
- García, J., & Gilardoni, G. (2020). Análisis químico del aceite esencial de Siparuna echinata (Kunth) A. DC. (Siparunaceae) de Ecuador y aislamiento del raro terpenoide Sipaucin A. *Artículo Análisis químico del aceite esencial de Siparuna echinata (Kunth) A. DC. (Siparunaceae) de Ecuador y aislamiento del raro terpenoide Sipaucin A*. Instituto Multidisciplinario de Publicaciones Digitales (MDPI), Ecuador .
- Granados, C. (2020). Evaluación De La Actividad Antioxidante Del Aceite Esencial Foliar De Myrcianthes Leucoxylla De Norte De Santander. *Evaluación De La Actividad Antioxidante Del Aceite Esencial Foliar De Myrcianthes Leucoxylla De Norte De Santander*. Universidad De Colombia, Colombia.
- Günther, E. (1948). *the essential oils, history and origin in plants production analysis* . New York: Krieger.
- Gutierrez, H. D. (2008). *Analisis y diseño de experimento*. México: McGrawHill.
- Gutiérrez, M. D. (2002). *Identificación de compuestos volátiles por CG-MS. La cromatografía de gase y la espectrometría de masas. Identificación de compuestos causantes de mal olor*. BOLETIN INTEXTER (U.P.C) N°122.
- Helmut, S. (2018). Sobre la historia del estrés oxidativo. *ELSEVIER*, 122-126.
- Ingrid K., S. B. (2010). Composición química del aceite esencial de tagetes elliptica smith "chincho" y actividades antioxidante, antibacteriana y antifúngica. *Ciencia e Investigación*, 81-86.
- Jara, B. (2018). Optimización De Los Parámetros De Extracción De Flavonoides De La Chijchipa (Tagetes Mandonii), Utilizando El Método De Superficie Respuesta. *tesis*. Universidad San Ignacio De Loyola, Perú.
- Lauriano, A., & Lizaraso, Y. (2017). Caracterización y Obtención de Preservantes Microencapsulados a partir de Extractos Acuáticos de Orégano (Origanum vulgare), Chincho (Tagetes elliptica) y Acedera (Rumex crispus). *tesis*. Universidad San Ignacio De Loyola, Perú.
- Londoño, J. (2012). *Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad*. Colombia: Corporación Universitaria Lasallista.
- Look de Ugaz, O. (1999). *Investigación fotoquímica, métodos en el estudio de productos naturales*. Perú: Fondo.
- López, V. (2020). Caracterización Fitoquímica, Actividad Antioxidante Y Antibacteriana Del Aceite Esencial Y Extractos De Tagetes Patula Sobre Staphylococcus Aureus. *Caracterización Fitoquímica, Actividad Antioxidante Y Antibacteriana Del Aceite*

*Esencial Y Extractos De Tagetes Patula Sobre Staphylococcus Aureus*. Universidad Del Zulia, Ecuador .

- Manuelo, M. (2020). Efecto Antimicótico "In Vivo" Del Ungüento A La Base Del Aceite Esencial De Tagetes Minuta L. Huacatay Frente A Candida Albicans Atcc 6538 En Ratas Albinas. *Tesis*. Universidad Nacional Jorge Basadre Gromann, Tacna, Perú.
- Marelby, L. T. (2012). Introducción a la Industria de los Aceites Esenciales Extraídos de Plantas Medicinales Y Aromáticas. *Introducción a la Industria de los Aceites Esenciales Extraídos de Plantas Medicinales Y Aromáticas*. SENA, Bogotá, Colombia .
- Marín, J. (2019). Composición Química Y Actividad Antioxidante Del Aceite Esencial De Ambrosia Arborescens Miller (Marku). *Tesis Composición Química Y Actividad Antioxidante Del Aceite Esencial De Ambrosia Arborescens Miller (Marku)*. Universidad Nacional De San Antonio Abad Del Cusco, Perú.
- Marquez, .. J. (2014). "*Caracterización De Los Compuestos Activos Del Aceite Esencial De Salvia (Salvia rhodostephana Epling) POR GC -SM*". Huancavelica: Tesis.
- Martínez, .. A. (2003). *Aceites Esenciales*. Medellín.
- Menckeberg, F. (2021). Antioxidantes. *Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA)*. Universidad De Chile, Santiago, Chile.
- Montoya, G. D. (2010). Aceites Esenciales. *Aceites Esenciales*. Universidad De Colombia, Manizales, Colombia.
- Oliveira, G. (2014). "Capacidad antioxidante de Averrhoa L (Carambola) frente a sistemas generadores de radicales libres. *Tesis*. Universidad Nacional Mayor De San Marcos, Lima, Peru.
- Ovidio, E. (2021). Aceites esenciales e hidrolatos de Laurus nobilis , Salvia sclarea y Salvia officinalis : evaluación de la composición química y actividades biológicas en fase líquida y vapor. *Plantas*, 1-17.
- Paredes, .. D. (2010). *Desarrollo De Un Sistema De Extracción De Aceites*. Riobamba: tesis.
- Peredo, H. (2009). Aceites Esenciales: Método De Extracción. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*. Universidad De Las Américas Puebla, México.
- Pulgar, J. (1981). *Geografía Del Perú - Las Ocho Regiones Naturales Del Perú*. Lima, Perú: Editorial Universo.
- Ricaldi, .. S. (2014). *Cromatografía de gases-espectrometría de masas de compuestos fitobioactivos del aceite esencial de Satureja incana*. Apunt. Cienc.Soc.
- Robles, .. J. (2014). Desarrollo de metodología analítica mediante cromatografía/ espectrometría de masas para el control de contaminantes orgánicas prioritarias y emergentes en aguas residuales y superficiales. *Tesis doctoral*. Universidad de Jaén, Jaén.

- Romana, .. J. (2012). *Estadística Experimental Herramientas para Investigación*. Perú: UPT-PERÚ.
- Safar, A., Glafoor, A., & Dastan, D. (2020). Composición química, actividades antibacterianas y antioxidantes del aceite esencial de *Tagetes patula* L. *Composición química, actividades antibacterianas y antioxidantes del aceite esencial de Tagetes patula* L. Universidad de Ciencias Médicas de Hamadan, Irán.
- Sainz, P. M.-D.-R. (2019). "composición y actividades biológicas de los aceites esenciales e hidrato de Artemisia". *Biomoléculas*, 1-12.
- Samaniego, .. C. (2006). *Estudio y evaluación de la capacidad antioxidante de aceites de oliva virgen extra Implicación en la salud*. Tesis.
- Smit, A. (1999). *Control automática de procesos* . España: Limusa.
- Solis, e. a. (2018). *Plantas y Aceites esenciales como insecticidas*. Cusco: 1Ed.
- Stashenko, E. E. (2009). Aceites esenciales. *Aceites esenciales*. UIS-CENIVAM, Bucaramanga, Colombia.
- Sweetillo. (2016). *Los Hidrolatos en Cosmética Natural*.
- Torrenegra, .. M. (2014). *Evaluación De La Actividad Antioxidante Del Aceite Esencial Foliar Extraído De Especies De Oregano (Origanum Vulgare), Oregano "Borde Blanco" (Origanum Vulgare Ssp) Y Oreganito (Lippia Alba Mill) Cultivado En La Zona Norte Del Departamento De Bolívar*. Bolívar: Tesis.
- Tuyo, L. (2015). "Efecto de la actividad antimicótica "in vitro" del aceite esencial de *tagetes minuta* L. "huacatay" frente a *Candida albicans*". Tesis. Universidad Nacional Jorge Basadre De Grohmann, Tacna, Perú.
- Valverde, .. Y. (2011). *Extracción Y Caracterización Del Aceite Esencial Del Romero (Rosmarinus Officinalis) Por El Método De Arrastre De Vapor Obtenida En Estado Fresco Y Secado Convencional*. Tarma .
- Zaragoza, J. (1992). *Composicion Quimica De Los Seres Vivos*. Barcelona: 2ª ed.



Andahuaylas, 23 de mayo de 2022

## CARTA MÚLTIPLE N° 111-2021-UNAJMA-VP/ACAD-FI

### **Señor:**

Mtro. Juan José Ore Cerrón

MSc. David Choque Quispe

Dra. María del Carmen Delgado Laime

### **COMISIÓN DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA**

### **Presente.**

**ASUNTO:** Remito solicitud de Designación de Jurado Evaluador

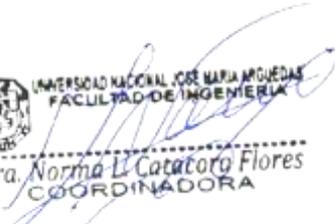
**REFERENCIA:** Solicitud S/N

De mi mayor consideración:

Tengo el agrado de dirigirme a usted, para expresarle un cordial saludo, y a la vez remitirle la solicitud de designación de JURADO EVALUADOR del Proyecto e Informe Final de Tesis denominado "COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EL ACEITE ESENCIAL E HIDROLATOS EXTRAÍDOS DE LA ESPECIE VEGETATIVA CHIKCHIMPAY (TAGETES MULTIFLORA KUNTH)" del Bachiller en Ingeniería Agroindustrial SILVIA QUISPE HUASCO.

Se adjunta la aprobación del asesor y la declaración jurada de autenticidad (Anexo 33), para que su comisión pueda realizar el cambio correspondiente y remitir a esta facultad para proceder con la emisión de la resolución.

Atentamente,

  
UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA ARGUEDAS  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
Dra. Norma L. Catacoro Flores  
COORDINADORA

**SOLICITO:** Designación de jurados

**SEÑOR:**

**COORDINADOR DE LA FACULTAD DE INGENIERIA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA ARGUEDAS**

*YO, Silvia Quispe Huasco, Bachiller de la Carrera Profesional de Ingeniería agroindustrial identificado con DNI: 44951102. Domiciliado en la Av. Sesquicentenario s/n Ante Ud. Con el debido respeto me presento y expongo:*

*Que,*

Siendo Bachiller de la Escuela Profesional de Ingeniería agroindustrial ya habiendo culminado mi proyecto de investigación de Tesis y con la aprobación de mi asesor solicito a usted que me otorgue la Designación de mis jurados, donde el proyecto lleva por título **“COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EL ACEITE ESENCIAL E HIDROLATOS EXTRAÍDOS DE LA ESPECIE VEGETATIVA CHIKCHIMPAY (TAGETES MULTIFLORA KUNTH)”** para lo cual adjunto a la presente la documentación respectiva.

*Solicito:* A usted acceder a mi solicitud de otorgarme Designación de jurados.

*Adjunto:*

- 1) Aprobación del asesor
- 2) Declaración jurada de autenticidad
- 3) Proyecto de investigación de tesis

Andahuaylas, 20 de mayo de 2022



-----  
*Firma del solicitante*



## ANEXO 22

### APROBACIÓN DEL ASESOR

Quién suscribe:

Mg. HUARACA APARCO ROSA por la presente:

#### **CERTIFICA,**

Que, el Bachiller en Ingeniería de agroindustria, SILVIA QUISPE HUASCO ha culminado satisfactoriamente el Proyecto de Tesis intitulado: “COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EL ACEITE ESENCIAL E HIDRATOS EXTRAÍDOS DE LA ESPECIE VEGETATIVA CHIKCHIMPAY (*tagetes multiflora kunth*)” para optar el título profesional de ingeniería agroindustrial.

Andahuaylas, 19 de mayo del 2022.

---

Mg. Huaraca Aparco Rosa  
**Asesor**

---

Br. Silvia Quispe Huasco  
**Tesista**



## ANEXO 33



### DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD

**SILVIA QUISPE HUASCO**

Yo.....,

**Identificado (a) con DNI N° 44951102 de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial**

**Declaro bajo juramento que el Proyecto Titulado:** Trabajo de Investigación. "COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EL ACEITE ESENCIAL E HIDRATOS EXTRAÍDOS DE LA ESPECIE VEGETATIVA CHIKCHIMPAY (*tagetes multiflora kunth*)" Es auténtico y no vulnera los derechos de autor. Además, su contenido es de entera responsabilidad del autor (es) del proyecto, quedando la UNAJMA exenta de toda responsabilidad en caso de atentar contra la Ley de propiedad intelectual y derechos de autor.

**Andahuaylas, 19 de mayo del 2022**

.....  
Firma

N° DNI: 44951102

E-mail: [silviaquispehuasco35@gmail.com](mailto:silviaquispehuasco35@gmail.com)

N° Celular: 910176092

# ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



## PROYECTO DE TESIS:

**Compuestos bioactivos y actividad  
antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos  
extraídos de la especie vegetativa chikchimpay  
(*tagetes multiflora kunth*)**

**AUTOR : Br. QUISPE HUASCO, Silvia**

**ASESOR : Mg. HUARACA APARCO, Rosa**

**CO – ASESOR : Dra. DELGADO LAIME, María Del Carmen**

**ANDAHUAYLAS – PERÚ**

**2022**

# Índice general

<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	iv
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	v
<b>ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS</b> .....	vi
<b>1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	1
1.1. Situación problemática .....	1
1.2. Formulación del problema.....	2
1.2.1. Problema general.....	2
1.2.2. Problema específico.....	2
<b>2. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....	3
<b>3. MARCO TEÓRICO</b> .....	4
3.1. Antecedentes de la investigación Internacional .....	4
3.2. Base teórica.....	8
3.2.1. Clasificación taxonómica del Chikchimpay .....	8
3.2.2. Descripción botánica Chikchimpay .....	8
3.2.3. Usos tradicionales Chikchimpay.....	9
3.2.4. Aceites esenciales .....	9
3.2.5. Hidrolato y usos .....	12
3.2.6. Antioxidante del origen vegetal .....	13
3.2.7. Mecanismo de acción de los antioxidantes .....	14
3.2.8. radical libre.....	15
3.2.9. Método de extracción de aceites esenciales .....	17
3.2.10. Cromatografía .....	19
3.2.11. Método para determinar la actividad antioxidante .....	22
3.3. Marco conceptual .....	24
3.3.1. Aceites esenciales .....	24
3.3.2. Los Hidrolatos .....	25
3.3.3. Los antioxidantes .....	25
3.3.4. Métodos de extracción de los aceites esenciales .....	25
3.3.5. El estrés oxidativo .....	25
3.3.6. Los radicales libres .....	25
3.3.7. Átomo .....	26
<b>4. OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....	26
4.1. Objetivo general.....	26

4.2. Objetivo específico .....	26
<b>5. FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS .....</b>	<b>26</b>
5.1. Hipótesis general.....	26
5.2. Hipótesis específico .....	26
5.3. Identificación de variables.....	27
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>27</b>
6.1. Lugar de ejecución.....	27
6.2. Materiales, instrumentos y equipos .....	27
6.3. Población y muestra.....	29
6.4. Tipo de investigación .....	30
6.4.1. De acuerdo a fin que persigue .....	30
6.4.2. De acuerdo a la técnica de contrastación.....	30
6.5. Método de análisis .....	30
6.5.1. Determinación de compuestos bioactivos y actividad antioxidante.....	30
6.6. Metodología experimental.....	32
6.6.1. Descripción de la obtención del aceite esencial de la especie vegetativa .....	32
6.6.2. Descripción del proceso de análisis instrumental por GC – SM.....	35
6.6.3. Descripción de la actividad antioxidante.....	37
6.7. Diseño experimental .....	38
6.7.1. ANOVA para el diseño completamente al azar (DCA).....	38
6.7.2. Análisis estadístico.....	39
6.7.3. Método de tukey.....	42
6.8. Matriz de consistencia .....	42
<b>7.RECURSOS Y CRONOGRAMA DE ACTIVIDAD .....</b>	<b>44</b>
7.1. Recursos humanos .....	44
7.2. Presupuestos y fuente de financiamiento.....	44
7.3. Cronograma de actividad .....	45
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>46</b>

## Índice de tablas

<b>Tabla 1</b> Clasificación de los métodos cromatográfico.....	20
<b>Tabla 2</b> Materiales .....	27
<b>Tabla 3</b> Equipo .....	28
<b>Tabla 4</b> Materia prima .....	29
<b>Tabla 5</b> Reactivos químicos .....	29
<b>Tabla 6</b> Diseño experimental – DCA .....	38
<b>Tabla 7</b> Esquema del ANOVA .....	40
<b>Tabla 8</b> Esquema de un DCA para igual número de muestras por tratamiento .....	41
<b>Tabla 9</b> Matriz de consistencia .....	43
<b>Tabla 10</b> Presupuestos y fuente de financiamiento para el desarrollo de la investigación.....	44
<b>Tabla 11</b> Cronograma de actividad para el desarrollo de actividades de investigación.....	45

## Índice de figuras

<b>figura 1</b> Chikchimpay (tagetes multiflora kunth) .....	8
<b>figura 2</b> Ejemplos de monoterpenos .....	10
<b>figura 3</b> Ejemplos de sesquiterpenos .....	11
<b>figura 4</b> Ejemplos de fenilpropanos .....	12
<b>figura 5</b> Señalización redox y su relación con el estrés oxidativo .....	15
<b>figura 6</b> Radical DPPH (como radical libre) y su forma estable .....	23
<b>figura 7</b> Reacción de ABTS (forma estable) y agente oxidante generando ABTS <sup>•+</sup> (como radical libre).....	24
<b>figura 8</b> Radical ABTS <sup>•+</sup> (como radical libre) y su forma estable .....	24
<b>figura 9</b> Diagrama de bloque para la obtención del aceite esencial de la especie vegetativa chikchimpay (tagetes multiflora kunth).....	34
<b>figura 10</b> Diagrama de bloque para el proceso de análisis instrumental por cromatografía de gases – espectrometría de masas del aceite esencial de la especie vegetativa chikchimpay (tagetes multiflora kunth).....	37

## Abreviaturas y símbolos

<b>R</b>	: Rendimiento
<b>O<sub>2</sub></b>	: Superóxido
<b>IR</b>	: Índice de refracción
<b>AE</b>	: Aceite esencial
<b>HY</b>	: Hidrolatos
<b>NO</b>	: Óxido Nítrico
<b>OH</b>	: Hidroxilo
<b>EM</b>	: Espectrómetro de Masa
<b>GE</b>	: Gravedad específica
<b>CG</b>	: Cromatografía de gases
<b>CO<sub>2</sub></b>	: Dióxido de carbono
<b>ERO</b>	: Especies reactivas de oxígeno
<b>ERN</b>	: Especies Reactivas del Nitrógeno
<b>DPPH</b>	: Radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
<b>ABTS</b>	: Radical catiónico del ácido 2,2 -Azinobis 3- etil -benzotiazolina)-6-ácido Sulfónico
<b>HPLC</b>	: Cromatografía Líquida de Alta Resolución
<b>TEAC</b>	: Capacidad Antioxidante Equivalente al Trolox
<b>ORAC</b>	: Capacidad de Absorción de Radical Oxígeno
<b>FRAP</b>	: Capacidad de Resolución Férrica al Plasma.
<b>%RAE</b>	: Porcentaje de rendimiento del aceite esencial

# **Compuestos bioactivos y actividad antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos extraídos de la especie vegetativa chikchimpay (*tagetes multiflora kunth*)**

## **1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

### **1.1. Situación problemática**

Los aceites esenciales y sus hidrolatos de las especies vegetativas son compuestos del metabolismo vegetal; la mayoría de ellos son volátiles y son responsables del aroma de las plantas. Dependiendo de la especie, se calcula que un aceite esencial puede contener entre 50 a 300 compuestos químicos, los cuales pertenecen a los grupos de hidrocarburos terpénicos, alcoholes, aldehídos, cetonas, éteres, ésteres, compuestos fenólicos, fenilpropanoides, entre otros (Stashenko, 2009). Los aceites esenciales se definen como mezclas de componentes volátiles, productos del metabolismo secundario de las plantas. Se encuentran muy difundidos en el reino vegetal, de las 295 familias de plantas, de 60 a 80 producen aceites esenciales (Marelby, 2012). Las características químicas específicas de los aceites esenciales varían en función de la zona de cultivo y condiciones ambientales (Collura, 1985). Tienen importancia comercial en la industria de alimentos, farmacéutica, de sabores/fragancias, cosmética y de productos de aseo. Asimismo, el empleo de aceites esenciales es una opción importante para el control de insectos, hongos y nemátodos, como una alternativa al uso de plaguicidas sintéticos (Montoya, 2010). El chikchimpay es una especie vegetativa que se desarrolla de forma silvestre ya sea entre los cultivos agrícolas y no agrícolas en la provincia de Andahuaylas se utiliza como especias y condimentos de preparaciones de alimentos, sin embargo, existe la necesidad de realizar una caracterización de sus componentes químicos tanto en el aceite esencial y sus hidrolatos.

El presente proyecto se plantea con el propósito de caracterizar los componentes químicos en el aceite esencial e hidrolatos del chikchimpay.

## **1.2. Formulación del problema**

### **1.2.1. Problema general**

- ✓ ¿Cuáles son los componentes bioactivos y la actividad antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chikchimpay (*tagetes multiflora kunth*)?

### **1.2.2. Problema específico**

- ✓ ¿Cuál es el porcentaje del rendimiento de extracción de aceite esencial e hidrolatos del chikchimpay (*tagetes multiflora kunth*)?
- ✓ ¿Cuáles son los compuestos bioactivos en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chikchimpay (*tagetes multiflora kunth*)?
- ✓ ¿Cuál es la actividad antioxidante del aceite esencial e hidrolato extraídos del chikchimpay (*tagetes multiflora kunth*)?

## 2. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Perú posee una rica variedad en especies vegetales, debido a las condiciones geográficas favorables de la Cordillera de los Andes, la existencia de tres regiones geográficas y la diversidad de pisos ecológicos (Pulgar, 1981).

Ingrid et al. (2010). Afirma que los aceites esenciales son una compleja mezcla natural de metabolitos secundarios volátiles, aislados de plantas mediante métodos como destilación, extracción con solventes, etc. Los principales constituyentes de los aceites esenciales son monos y sesquiterpenos, incluyendo carbohidratos, éteres, aldehídos y cetonas, los que son responsables de la fragancia y propiedades biológicas de las plantas medicinales.

Los aceites esenciales (AE) son producidos por el metabolismo secundario de la planta y obtenidos principalmente por el proceso de destilación al vapor. En el proceso de aislamiento de aceites esenciales, también se obtienen hidrolatos, los hidrolatos como productos de la destilación al vapor, y una pequeña cantidad de componentes de los aceites esenciales se disuelven en los hidrolatos. Los compuestos oxigenados preciosos, que proporcionan propiedades organolépticas y sabor específicos, así como actividad biológica, los hacen útiles para las industrias alimentaria y cosmética (Ovidio, 2021). Los aceites esenciales cubren un amplio espectro de actividades farmacológicas, demostrando propiedades antiinflamatorias, antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes y anticancerígenas. Durante mucho tiempo se han utilizado en el campo de la cosmética, en la elaboración de perfumes, la conservación de alimentos y aromaterapia Ingrid et al.(2010).

En los últimos años ha crecido el interés por los productos naturales obtenidos de la destilación de plantas aromáticas: aceites esenciales (AE) e hidrolatos (Hys). Como tal, hay muchos artículos científicos sobre la efectividad de los AE en varios contextos: antimicrobianos, inmunomoduladores, antioxidantes, antiinflamatorios, analgésicos, sin embargo, hay poca evidencia algunas especies nativas andinas.

Chikchimpay (*tagetes multiflora kunth*) es empleada, por su agradable aroma, para condimentar distintas preparaciones, como reemplazo del cilantro en potajes

locales como pachamancas y algunos aderezos, y también como paliativo en el síndrome menstrual. Gran parte de su utilidad proviene de su contenido en aceites esenciales, los cuales le brindan el aroma característico. El presente proyecto de investigación tiene como propósito determinar los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante del aceite esencial e hidrolatos de chikchimpay (*Tagetes multiflora kunth*), el estudio posibilitará brindar información para futuros estudios y aplicaciones sobre todo en la industria alimentaria de la mencionada especie con el fin de aprovechar nuestros recursos naturales como alternativa de conservantes alimentarias frente a los conservantes químicos convencionales y a los antioxidantes artificiales, cuyos efectos secundarios provocan en el futuro diferentes problemas de salud.

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1. Antecedentes de la investigación Internacional

Sainz et al., (2019). **Composición química y actividades biológicas de *Artemisia pedemontana* subsp. Aceites Esenciales e Hidrolato de *assoana*.** En el estudio se analizó la composición química de los AEs y su protección fitosanitaria (insectos: *Spodoptera littoralis*, *Rhopalosiphum padi* y *Myzus persicae*; plantas: *Lactuca sativa* y *Lolium perenne*; hongos: *Aspergillus niger*; y nematodos: *Meloidogyne javanica*) y antiparasitaria (*Trypanosoma cruzi*, *Phytomonas davidi*, y antiplasmodiales por la prueba de inhibición de la biocrystalización de ferriprotoporfirina), además del subproducto hidrolato. Los AE mostraron un perfil de 1,8-cineol y alcanfor, con diferencias químicas cuantitativas y cualitativas entre los métodos de cultivo. Estos aceites tenían efectos moderados contra insectos, antifúngicos y fitotóxicos; eran tripanocidas; y exhibió efectos fitomonocidas moderados, mientras que el hidrolato mostró una fuerte actividad nematocida. Ambos AE fueron igualmente antialimentarios; el AE de las plantas de invernadero (etapa de floración) fue más biocida (antifúngico, nematocida y fitotóxico) que el AE de las plantas aeropónicas (etapa de crecimiento), que fue más antiparasitario. Los principales componentes de los aceites (1,8-cineol y alcanfor), o su combinación 1:1, no explicaron ninguno de estos efectos.

**Granados (2020). Evaluación de la Actividad Antioxidante del Aceite Esencial Foliar de (*Myrcianthes leucoxylla*) de Norte de Santander (Colombia).** En la investigación valió la composición química y la actividad antioxidante del aceite esencial, la extracción del aceite obtuvo por arrastre con vapor de agua y la identificación de los componentes evaluó por Cromatografía de Gases de Alta Resolución. Para determinar la actividad antioxidante de los aceites usó dos métodos: capacidad de atrapamiento del catión radical ABTS<sup>+</sup> y capacidad de atrapamiento del radical DPPH. En la cual tuvo como resultado 10 componentes químicos mayoritarios del AE de arrayán de clima frío (*M. leucoxylla*). Concluyó que la inhibición con la metodología del radical DPPH no superó el 15%, mientras que con el radical ABTS<sup>+</sup> el porcentaje de inhibición fue alto. Esto sugiere que en el aceite esencial estudiado se encuentre presentes compuestos donadores de hidrógeno o electrones que pueden estabilizar al radical catiónico ABTS<sup>+</sup>. En cuanto la actividad antioxidante encontrada en el AE de *M. leucoxylla* posibilita la realización de posteriores estudios, en la búsqueda de su aplicación en la industria de alimentos como posible sustituto de los antioxidantes sintéticos, dada la potencial capacidad para atrapar radicales libres.

**Ovidio et al., (2021). Aceites esenciales e hidrolatos de *Laurus nobilis*, *Salvia sclarea* y *Salvia officinalis*: evaluación de la composición química y actividades biológicas en fase líquida y vapor.** En el estudio de los aceites esenciales (AE) y los hidrolatos (HY) de *Laurus nobilis*, *Salvia officinalis* y *Salvia sclarea* para definir sus composiciones químicas y propiedades biológicas. Se utilizaron técnicas de cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC/MS) y Headspace-GC/MS (HS-GC/MS) para caracterizar la composición química en fase líquida y vapor de EO y HY. El 1,8-cineol (42,2 %, 33,5 %) y el  $\alpha$ -pineno (16,7 %, 39,0 %) fueron los principales compuestos del AE de *L. nobilis*; el 1,8-cineol (30,3 %, 48,4 %) y el alcanfor (17,1 %, 8,7 %) fueron para AE de *S. officinalis*; acetato de linalilo (62,6 %, 30,1 %) y linalool (11,1 %, 28,9 %) fueron para *S. sclarea*EO para la fase líquida y vapor, respectivamente. El perfil químico de los HY se caracterizó por el 1,8-cineol (65,1 %, 61,4 %) como componente principal de los HY de *L. nobilis* y *S. officinalis*, mientras que el linalol (89,5 %) fue el componente principal

de *S. sclarea* HY. La actividad antioxidante de EO y HY se llevó a cabo mediante ensayos DPPH y ABTS y las propiedades antimicrobianas también se investigaron mediante microdilución y el método de difusión en disco para fase líquida y vapor contra cinco cepas bacterianas diferentes, como *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525 y *Acinetobacter baumannii* DSM 102855 entre Gram-negativos y *Bacillus cereus* ATCC 10876 y *Kocuria marina* DSM 16420 entre Gram-positivos. Los AE de *L. nobilis* y *S. officinalis* demostraron una actividad antibacteriana considerable, mientras que el AE de *S. sclarea* demostró ser menos eficaz. El método de difusión en agar y la prueba en fase de vapor mostraron la actividad de los AE con los mayores diámetros de inhibición del halo contra *A. baumannii* y *B. cereus*. Se determinó una actividad antioxidante notablemente alta para *L. nobilis* que muestra valores bajos de EC<sub>50</sub> y también para *S. sclarea*; se obtuvieron buenos resultados de EO en ambos ensayos utilizados. *S. officinalis* CE los 50 valores fueron ligeramente superiores a lo que corresponde a una menor actividad antioxidante. Con respecto a los HY, los valores de CE 50 para *L. nobilis*, *S. officinalis* y *S. sclarea* fueron notablemente altos correspondientes a una actividad antioxidante extremadamente baja.

### **Nacionales**

#### **Elías y Sichez (2019). Composición química, características fisicoquímicas y capacidad antioxidante de aceites esenciales de cinco hierbas aromáticas”.**

Tuvo como objetivo determinar la estructura química, peculiaridad fisicoquímica y posibilidad antioxidante de los aceites esenciales de orégano originario (*Lippia graveolens*), chincho (*Tagetes elliptica* Smith), hierbabuena (*Mentha spicata*), huacatay (*Tagetes minuta* L), pampa salvia (*Salvia officinalis* L), se utilizó para la obtención del aceite esencial la destilación de vapor por arrastre, cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para analizar los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante analizó por el Test DPPH. Los resultados fueron los siguientes identificó 22 compuestos químicos que comprenden el 100% de las sustancias que componen el total del aceite esencial de igual forma los compuestos más representativos identificados son Trans -Tagetona (51.37%),  $\beta$ -

trans-Ocimeno (25.03%) y el compuesto C<sub>9</sub>H<sub>18</sub> (6.08%), la acción antioxidante fue de (1.75mg/mL) en aceite esencial de Huacatay. Por otra parte, en aceite esencial de chincho identificó 43 compuestos que comprenden el 100% de la constitución total del aceite esencial, los compuestos más significativos son: C<sub>9</sub>H<sub>18</sub> con (27.45%), cis-Tagetona (16.27%) y β-trans-Ocimeno (11.45%), la capacidad antioxidante fue de (2.43 mg/mL). Concluyó que las sustancias actúan como sistema de defensa y protegen a las plantas de infecciones dándoles color, aroma y propiedades particulares ya que se sabe que las plantas contienen compuestos bioactivos que son beneficiosos para nuestra salud en cuanto a la capacidad antioxidante los resultados expresaron como actividad antiradical o IC<sub>50</sub>, la cual está definida como la concentración del antioxidante que disminuye la absorción del radical a un 50% de la cantidad inicial.

**Marín (2019). Composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de ambrosia arborescens miller (marku).** En la investigación se analizó la identificación de los componentes bioactivos que posee la planta para ello utilizó las hojas tiernas frescas de *Ambrosia arborescens* Miller, el aceite esencial fue extraído por el método de hidrodestilación con trampa de clewenger. Su composición fue determinada por cromatografía de gases - espectrometría de masas y para la determinación de la actividad antioxidante se aplicó el método del DPPH• (1,1- difenil-2- picrilhidrazil). Los resultados obtenidos de la investigación fueron los siguiente; se identificó 94 componentes siendo los más abundantes el βhimachaleno (14,2%), 2,6-dimetil-3,5-heptadien-2-ol (10,6%), germacreno D (7,41 %), α-Bisabolol (6,25%) y 6-isopropenil-4-8a-dimetil-1,2,3,5,6,7,8, 8a-octahidronaftaleno-2-ol (6%) de *Ambrosia arborescens* Miller. Concluyó que el aceite esencial presentó actividad antioxidante por tener en su composición compuestos polifenolicos con propiedades antioxidantes.

## 3.2. Base teórica

### 3.2.1. Clasificación taxonómica del Chikchimpay



**figura 1** Chikchimpay (*Tagetes multiflora* Kunth)

Chikchimpay es una planta nativa de zonas andinas Asociada a Perú en la provincia de Cuzco y Ayacucho (Jara, 2018), también en la provincia de Andahuaylas es utilizada como especie alimenticia y medicinal en zonas altas de la provincia.

**División:** Antophyta

**Clase:** Dicotyledonae

**Super – Orden:** Asterales

**Orden:** Asterales

**Familia:** Asteraceae

**Sub – Familia:** Asteroideae

**Tribu:** Helenieae

**Género:** *Tagetes*

**Especie:** *Mandonii* Sch. Bip. Ex Klatt

### 3.2.2. Descripción botánica Chikchimpay

El chikchimpay es una especie vegetativa ramificado que mide aproximadamente 30 cm de altura. Posee hojas compuestas pinnadas, lanceoladas con unión sésil; las más bajas son pequeñas, con aproximadamente 1 – 1 ½ cm de largo. Son serradas con muchas puntas hasta el raquis. La inflorescencia tiene forma de corimbo con un largo de 1 1/3 cm y las flores no son sésiles. El involucre tiene

aproximadamente 1 cm de largo y 4-5 mm de ancho, es ranurado, punteado, corto con 5 dientes agudos. Flores amarillas de 8 mm de largo descubiertas, lígula de 4 mm de largo y papus de 2 – 2 ½ mm de largo, puntiagudo y pálido (Jara, 2018).

### **3.2.3. Usos tradicionales Chikchimpay**

Cordero et al., (2021) menciona las hojas de Chikchimpay (*tagetes multiflora kunth*) se utilizan para condimentar distintas preparaciones, y como reemplazo del cilantro en el pebre. También se bebe como bebida caliente. Medicinal en infusión se bebe para aliviar el dolor estomacal y para la distensión abdominal.

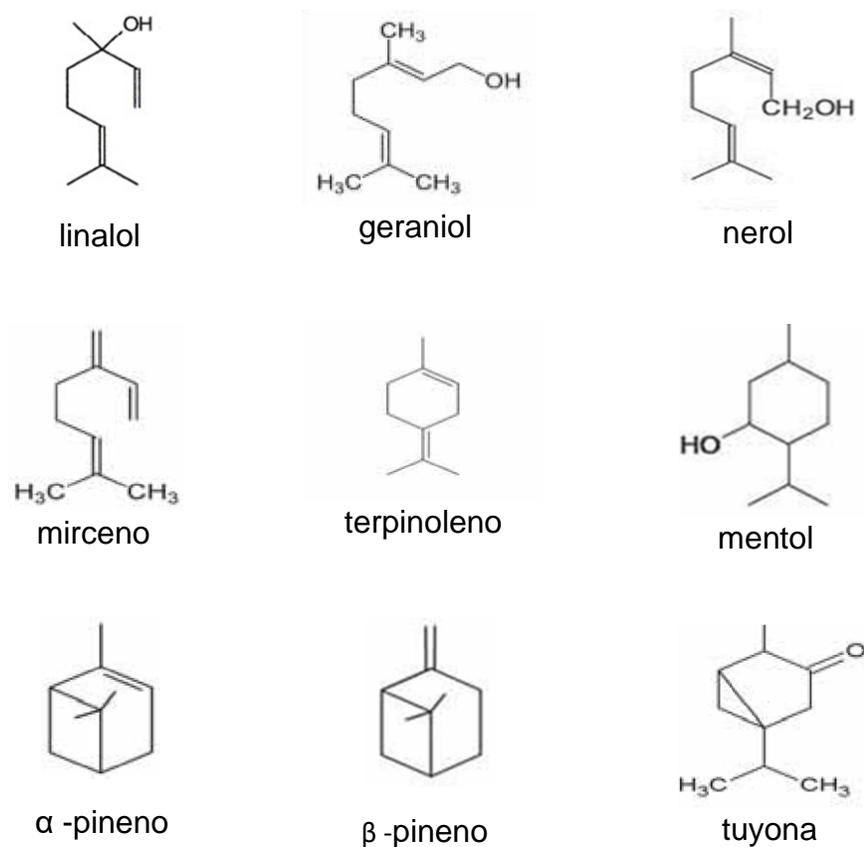
### **3.2.4. Aceites esenciales**

Los aceites esenciales son fracciones líquidas volátiles pueden encontrarse hidrocarburos como: terpenos, alcoholes, compuestos carbonílicos, aldehídos aromáticos y fenoles se encuentran en hojas, cáscaras o semillas de algunas plantas. Generalmente destilables por arrastre con vapor de agua. La pureza y el rendimiento del aceite esencial dependerán de la técnica que se utilice para el aislamiento (Tuyo, 2015)

Molecularmente los aceites esenciales son mezclas complejas de hasta más de 200 componentes, constituidas mayoritariamente por monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanos (Look de Ugaz. O, 1999)

#### **a) Monoterpenos**

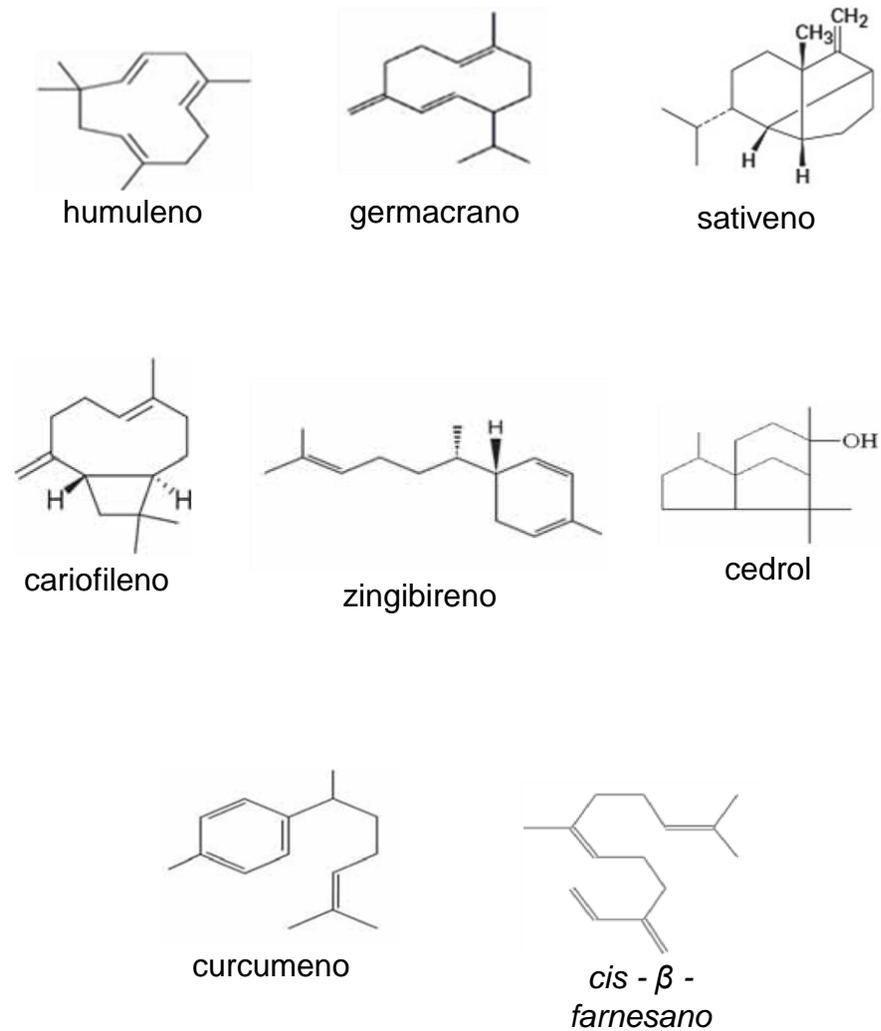
Los monoterpenos junto al isopreno son los compuestos orgánicos volátiles que dominan las emisiones a escala global y son miembros importantes de la familia de los isoprenoides (o terpenoides). Estos compuestos normalmente se pueden almacenar en órganos especializados de las hojas y tallos, lo que contribuye a que parte del carbono que se ha producido en los tejidos vegetales mediante diversos procesos fisiológicos retorne hacia la atmósfera. Esta emisión es producida principalmente por la difusión, debido a un gradiente de presión de vapor desde los compartimentos celulares con concentraciones relativamente altas hacia el aire circundante a las hojas. (Marín, 2019)



**figura 2** Ejemplos de monoterpenos (Solis, 2018)

### b) Sesquiterpenos

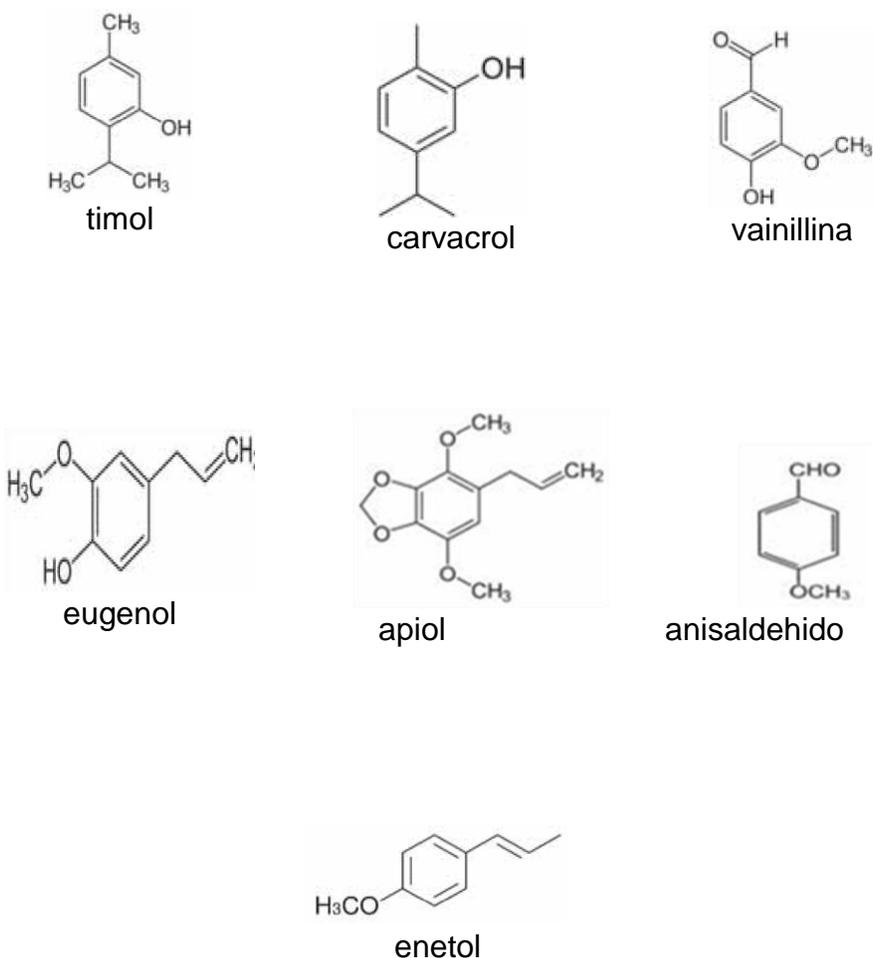
Los sesquiterpenos son compuestos que contienen al menos un grupo carbonilo conjugado, los cuales funcionan como agentes alquilantes. Se cree que la actividad citotóxica de ellos radica en su capacidad de formar enlaces covalentes entre los grupos  $O=C-C=CH_2$  de los sesquiterpenos y a los grupos sulhidrilos de algunas enzimas como la DNA polimerasa, timidilasa, fosfofructoquinasa y glicógeno sintetasa ocasionando la inhibición de la síntesis de DNA en las células cancerígenas. El estrés oxidativo, es uno de los tantos factores que pueden desencadenar el desarrollo del cáncer. Los lípidos constituyen un factor de riesgo para la formación de radicales libres en el organismo y estudios recientes han mostrado que las especies vegetales son buenos agentes antioxidantes. (Marín, 2019)



**figura 3** Ejemplos de sesquiterpenos (Solis, 2018)

### c) Fenilpropanos

Son compuestos de naturaleza química aromática (o sea que contienen un anillo de benceno). Alguno de estos compuestos, como el *p*-cimeno, son terpenos cíclicos aromatizados, pero la mayoría de ellos no son terpénicos. Muchos compuestos aromáticos son fenilpropanoides, es decir que están formados por el esqueleto del fenilpropano. Los fenilpropanoides están relacionados estructuralmente con los aminoácidos fenilalanina y tirosina, para muchos de ellos se derivan de la ruta bioquímica del ácido shikímico. (Marín, 2019)



**figura 4** Ejemplos de fenilpropanos (Solis, 2018)

### 3.2.5. Hidrolato y usos

El hidrolato también denominado hidrosol es el agua residual que se forma por condensación del vapor que ha atravesado la materia vegetal durante el proceso de la obtención de un aceite esencial por un método de extracción, es un producto acuoso de la destilación. La mayor parte de los componentes de los aceites esenciales son volátiles y relativamente inmiscibles en el agua. En esta etapa del proceso se obtiene el aceite esencial como producto principal y un hidrolato al que se le considera un subproducto (Antezana, 2017). El agua, después de la destilación (el llamado hidrolato), puede servir para riegos o, a través del sistema

de cohobación, puede ser reutilizada en el mismo sistema de destilación. Algunos hidrolatos, como sub-productos de la destilación de aceites, se pueden emplear en baños, como agua para aromatización y para la limpieza (Antezana, 2017).

En la industria fitosanitaria los hidrolatos obtenidos durante el proceso de extracción se utilizan para repeler y controlar plagas, con ellos se preparan herbicidas, insecticidas, fungicidas, nematocidas, acaricidas, desodorizantes, desinfectantes (Antezana, 2017).

### **3.2.6. Antioxidante del origen vegetal**

Son sustancias que inhiben o retardan el proceso oxidativo, cuya actividad podría deberse a sus componentes poli fenólicos. (Oliveira, 2014). Los polifenoles constituyen uno de los principales compuestos con actividad antioxidante, presentes en las plantas. (Echavarria, 2016). Los flavonoides, son un tipo de polifenoles que se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas y son sustancias que manifiestan una potente actividad antioxidante. (Oliveira, 2014). La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se atribuye a su facilidad para ceder átomos de hidrógeno de un grupo hidroxilo aromático a un radical libre y a la posibilidad de deslocalización de cargas en el sistema de dobles enlaces del anillo aromático. (Gallego, 2016). Un antioxidante es una sustancia que forma parte de los alimentos de consumo cotidiano y que puede prevenir los efectos adversos de especies reactivas sobre las funciones fisiológicas normales de los humanos. Las propiedades antioxidantes no sólo deben estudiarse por sus interacciones químico-biológicas, sino por su función en el deterioro oxidativo que afecta a los alimentos. Se utilizan en la industria alimentaria adicionados a las grasas u otros productos para retrasar los procesos de oxidación, en tanto previenen el comienzo de la rancidez oxidativa. (Coronado, 2015).

La actividad antioxidante es la capacidad que tiene una sustancia para inhibir la degradación oxidativa (perdida de uno o más electrones) de tal manera que actúan, gracias a su capacidad para reaccionar con radicales libres. (Londoño, 2012). Los antioxidantes son sustancias que son parte de los alimentos de consumo diario, por ende, se ingieren a través de la alimentación. Cabe mencionar que son los más importantes de todos ya que pueden prevenir los efectos adversos de especies

reactivas sobre las funciones fisiológicas normales de los humanos Coronado et al.(2015).

### **3.2.7. Mecanismo de acción de los antioxidantes**

#### **Interacción directa con especies reactivas**

Se refiere a la capacidad que tienen muchos antioxidantes para actuar como “estabilizadores o apagadores de diversas especies reactivas”. En el caso de los radicales libres, tal acción implica su estabilización a través de la cesión de un electrón a dichas especies reactivas. Tal mecanismo, definido como “SET” (single electrón transfer), permite que el Radical Libre pierda su condición por “pareamiento” de su electrón desapareado (Alvarado y condori, 2017).

#### **Prevención de la formación enzimática de especies reactivas**

Algunos antioxidantes pueden actuar previniendo la formación de Reactive Oxygen Species (ROS) y Reactive Nitrogen Species (RNS). Lo hacen inhibiendo, ya sea la expresión, la síntesis o la actividad de enzimas pro-oxidantes involucradas en la generación de especies reactivas, como la NADPH-oxidasa (NOX), la xantina-oxidasa (XO), la mieloperoxidasa (MPO) y el óxido nítrico sintasa (NOS) (Alvarado y condori, 2017).

#### **Prevención de la formación de especies reactivas dependiente de metales**

Implica la inhibición de la formación de especies reactivas se relaciona con contraponer la capacidad que tienen ciertos metales de transición, como hierro y cobre (ambos en su estado reducido), para catalizar (actividad redox) la formación de radicales superóxido a partir de la reducción de oxígeno y de radicales hidroxilos, a partir de peróxido de hidrógeno (Reacción de Fenton) (Alvarado y condori, 2017).

#### **Activación o inducción de la actividad de enzimas antioxidantes**

Como parte de la defensa antioxidante, el organismo humano biosintetiza ciertas enzimas cuya función es remover especies reactivas, principalmente ROS. La acción antioxidante de todas estas enzimas se traduce en una disminución del estado redox celular (Alvarado y condori, 2017).

### 3.2.8. radical libre

Los componentes de un organismo vivo en su metabolismo aeróbico normal están sujetos a una exposición constante de especies redox u oxidantes. Las fuentes pueden dividirse en sitios endógenos y exógenos. Los factores de estilo de vida pueden incidir en ambos tipos de fuentes. Una idea importante, desde el principio, fue la percepción de que las reacciones de oxidación-reducción (redox) en las células vivas se utilizan en procesos fundamentales de regulación redox, denominados colectivamente “Señalización redox” (figura 9) y “control redox” (Damián, 2020).

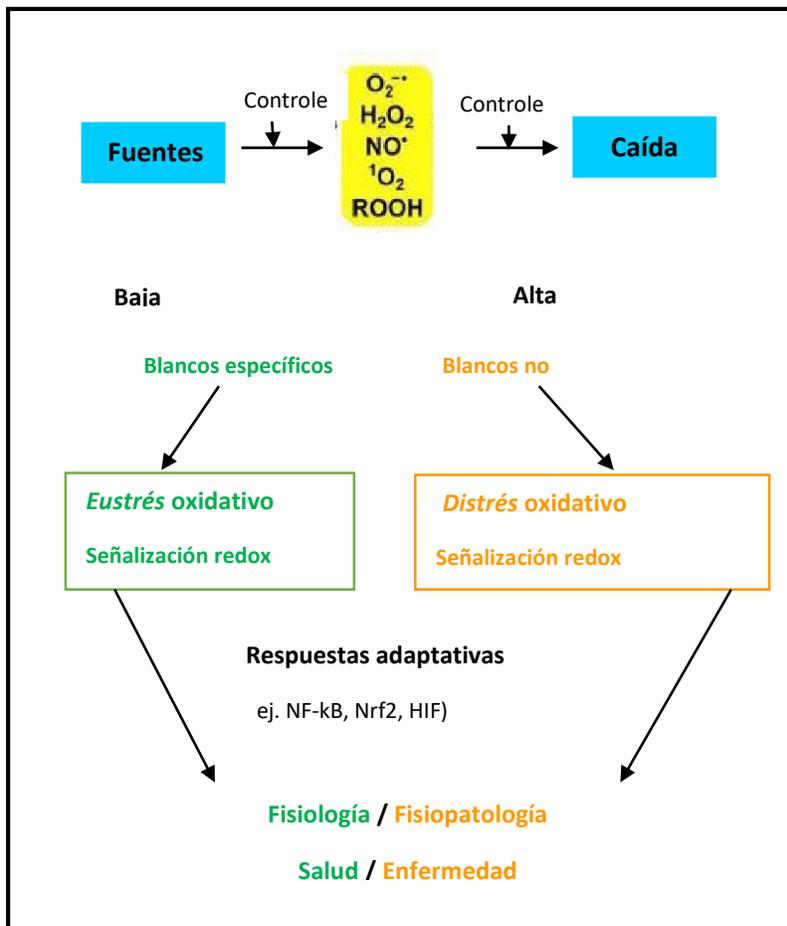


figura 5 Señalización redox y su relación con el estrés oxidativo

Se lleva a cabo un gran desequilibrio molecular por sustancias químicas conocidas como radicales libres (RL), en el cual sus electrones realizan su recorrido orbital de

forma impar; un compuesto se transforma en RL cuando gana un electrón (reducción), cuando pierde un electrón (oxidación molecular) o en la división simétrica de los compuestos covalentes, donde cada fracción retiene al electrón impar, como sucede típicamente en la lipoperoxidación. Los RL buscan obtener una distribución electrónica estable, por lo tanto, por medio de las reacciones redox (reacciones de óxido reducción) interactúan con otras moléculas, generándose una reacción en cadena y logrando la estabilidad cuando dos radicales libres reaccionen entre sí o se sustrae el electrón de sus proximidades llegando así a la paridad electrónica (Damián, 2020).

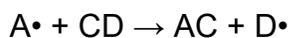
Los radicales libres son moléculas altamente inestables y reactivas ya que son de carácter paramagnético, presentan una vida media corta y tienen capacidad para combinarse inespecíficamente con diferentes moléculas y capacidad para atacar a cualquier tipo de biomoléculas (Damián, 2020).

Las reacciones bioquímicas dadas se clasifican en 3 grupos.

**-Reacciones de iniciación:** A partir de no radicales se forma un radical libre.



**-Reacciones de propagación:** Reacción de molécula estable con radical libre generando la formación de radical libre.



**-Reacciones de terminación:** Reacción entre dos radicales libres, generando un producto estable.



Las especies reactivas contiene dos tipos de moléculas: los radicales libres y los no radicales, originado en procesos fisiológicos normales como en procesos patológicos. Los RL se pueden clasificar por el grupo funcional que presente en su molécula, tales como, nitrógeno, oxígeno, bromo, tiol, fósforo, etc. Las RNS y ROS son dos grupos grandes que están implicados en la biología redox (reacciones de óxido reducción), aunque los radicales libres de oxígeno son de gran importancia y

los más comunes ya que forman parte de los diversos procesos aeróbicos (Damián, 2020).

### **3.2.9. Método de extracción de aceites esenciales**

#### **Extracción por arrastre de vapor**

Los aceites esenciales que derivan de las plantas aromáticas se obtienen típicamente por arrastre de vapor, siendo un proceso simple, clásico y relativamente barato en el cual los aceites esenciales sean extraídos de la planta por una corriente del vapor de agua y entonces ambas fases se separan fácilmente por la diferencia de densidades. Este método es uno de los más utilizados y más antiguo. Su uso se radica en el bajo consumo energético y no ocasiona transformación química en los componentes del aceite. Su fundamento es que por efecto de la temperatura del vapor (100°C) en un cierto tiempo, el tejido vegetal se rompe liberando el aceite esencial. Los aceites esenciales obtenidos de esta forma deberán ser insolubles en agua, de no serlo los componentes solubles en agua se quedarán en la fase acuosa aun después de pasar por el condensador y el separador que permite aislar la fase de aceite esencial de la de agua (Look de Ugaz. O, 1999).

#### **Método de la destilación por arrastre con vapor de agua**

La muestra vegetal, generalmente seca y cortada en trozos pequeños, es encerrada en una cámara inerte y sometida a una corriente de vapor de agua sobrecalentado, la esencia así arrastrada es posteriormente condensada, recolectada y separada de la fracción acuosa. Esta técnica es muy utilizada especialmente para esencias fluídas, especialmente las utilizadas para perfumería. Se utiliza a nivel industrial debido a su alto rendimiento, la pureza del aceite obtenido y porque no requiere tecnología sofisticada (Marín, 2019).

#### **Método de la extracción con solventes volátiles**

La muestra seca y molida se pone en contacto con solventes tales como alcohol, cloroformo, etc. Estos solventes solubilizan la esencia, pero también solubilizan y extraen otras sustancias tales como grasas y ceras, obteniéndose al final una esencia impura. Se utiliza a 26 escala de laboratorio pues a nivel industrial resulta costoso por el valor comercial de los solventes, porque se obtienen esencias

impurificadas con otras sustancias, y además por el riesgo de explosión e incendio característicos de muchos solventes orgánicos volátiles (Marín, 2019).

### **Método de enflorado o enfleurage**

El material vegetal (generalmente flores) es puesto en contacto con un aceite vegetal. La esencia es solubilizada en el aceite vegetal que actúa como vehículo extractor. Se obtiene inicialmente una mezcla de aceite esencial y aceite vegetal la cual es separada posteriormente por otro medio físico-químicos. Esta técnica es empleada para la obtención de esencias florales (rosa, jazmín, azahar, etc.), pero su bajo rendimiento y la difícil separación del aceite extractor la hacen costosa (Marín, 2019).

### **Método de extracción con fluidos supercríticos**

Es de desarrollo más reciente. El material vegetal cortado en trozos pequeños, licuado o molido, se empaca en una cámara de acero inoxidable y se hace circular a través de la muestra un líquido supercrítico (por ejemplo, dióxido de carbono líquido), las esencias son así solubilizadas y arrastradas y el líquido supercrítico que actúa como solvente extractor y se elimina por descompresión progresiva hasta alcanzar la presión y temperatura ambiente, y finalmente, se obtiene una esencia pura. Aunque presenta varias ventajas como rendimiento alto, es ecológicamente compatible, el solvente se elimina fácilmente e inclusive se puede reciclar, y las bajas temperaturas utilizadas para la extracción no cambian químicamente los componentes de la esencia, sin embargo, el equipo requerido es relativamente costoso, ya que se requieren bombas de alta presión y sistemas de extracción también resistentes a las altas presiones (Marín, 2019).

### **Extracción por microondas**

El uso de microondas es otra alternativa para la extracción de aceites esenciales. Esta técnica puede utilizarse asistiendo un método convencional como la hidrodestilación o adaptando un equipo para establecerlo como un método independiente, como la extracción por microondas sin disolvente. No se necesita agregar ningún disolvente o agua si se emplea material fresco. En caso de que el material este seco, éste se rehidrata remojándolo en agua y drenando el exceso antes de la extracción (Peredo, 2009).

### **3.2.10. Cromatografía**

Es un método que permite la separación, identificación y determinación de los componentes químicos en mezclas complejas. Es difícil describir rigurosamente al término 18 cromatografía, ya que se ha aplicado ese nombre a varios sistemas y técnicas. Sin embargo, todos los métodos tienen en común el uso de la fase estacionaria y una fase móvil. Los componentes de una mezcla son transportados a través de una fase estacionaria por el flujo de una fase móvil, y las separaciones se basan en las diferencias de velocidad de migración entre los distintos componentes de las mezclas (Barajas, 2011).

La característica que distingue a la cromatografía de la mayoría de los métodos físicos y químicos de separación, es que se ponen en contacto dos fases mutuamente inmiscibles. Una fase es estacionaria y la otra móvil. Una muestra que se introduce en la fase móvil es transportada a lo largo de la columna que contiene una fase estacionaria distribuida. Las especies de la muestra experimentan interacciones repetidas (repartos) entre la fase móvil y la fase estacionaria. Cuando ambas fases se han escogido en forma apropiada los componentes de la muestra se separan gradualmente en bandas en la fase móvil. Al final del proceso los componentes separados emergen en orden creciente de interacción con la fase estacionaria. El componente menos retardado emerge primero, el retenido más fuertemente eluye al último. El reparto entre las fases aprovecha las diferencias entre las propiedades físicas y/o químicas de los componentes de la muestra (Barajas, 2011).

#### **Técnicas Cromatografías**

##### **Cromatografía en columna**

En este tipo de cromatografía se utiliza un tubo cilíndrico, en el interior se coloca la fase estacionaria y a través de ella se hace pasar la fase móvil. El flujo de la fase móvil (líquido o gas) a través de la fase estacionaria se puede conseguir por presión, capilaridad o por gravedad (Barajas, 2011).

## Cromatografía plana

La fase estacionaria se coloca en una superficie plana y se distinguen dos tipos de cromatografía plana.

Cromatografía en papel, en la que el papel actúa como soporte de la fase estacionaria (cromatografía de partición) (Barajas, 2011).

Cromatografía en capa fina, un sólido actúa como fase estacionaria, o como soporte de la fase estacionaria se extiende en una capa delgada sobre una placa, generalmente de vidrio, en la cromatografía plana está excluido el uso de un gas como fase móvil, por lo que ésta siempre es líquida (Barajas, 2011).

**Tabla 1** Clasificación de los métodos cromatográfico

<b>Clasificación general</b>	<b>Método específico</b>	<b>Fase estacionaria</b>	<b>Tipo de equilibrio</b>
<b>Cromatografía de gases</b>	Gas-líquido (GLC)	Líquido adsorbido	Reparto entre gas y líquido
<b>Cromatografía líquida</b>	Gas-sólido	sólido	Adsorción
	Líquido-líquido	Líquido adsorbido	Adsorción
	Líquido-sólido	sólido	
	Intercambio	Resina de intercambio iónico	Intercambio iónico
	Exclusión por Afinidad	Líquido en los intersticios  Líquido con un grupo específico	Reparto/tamizado  Reparto entre líquido

## Cromatografía de gases

En cromatografía de gases (GC), la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de un gas inerte (generalmente helio o nitrógeno) que no interacciona con las moléculas 20 de analito, su única función es la de transportarlo a través de la columna. El analito se distribuye entre la fase móvil gaseosa y una fase líquida inmovilizada sobre la superficie de un sólido inerte dentro de la columna cromatográfica, de manera que en función de interacción con ambas va a presentar distinto tiempo de retención, por lo que se puede analizar cada analito por separado (Robles, 2014).

La cromatografía de gases se utiliza para el análisis de compuestos que presentan una volatilidad importante a temperaturas inferiores a 350-400 °C, además deben ser termoestables a las temperaturas de trabajo y no han de degradarse ni perderse parte de los mismos a través de reacciones secundarios. La naturaleza de los analitos y su peso molecular se puedan utilizar para predecir su volatilidad, así cuanto mayor sea la polaridad y/o el peso molecular menor será ésta. De manera que, mientras que los hidrocarburos más pesados de 500 uma puedan ser analizados por medio GC, los de peso molecular superior 1400 uma necesitarían condiciones especiales (Robles, 2014).

Cada soluto presente en la muestra tiene diferente afinidad hacia la fase estacionaria, lo que permite su separación: los componentes fuertemente retenidos por esta fase se moverán lentamente en la fase móvil, mientras que los débilmente retenidos lo harán rápidamente. Un factor clave en este equilibrio es la presión de vapor de los compuestos (en general, a mayor presión de vapor, menor tiempo de retención en la columna). Como consecuencia de esta diferencia de movilidad, los diversos componentes de la muestra se separan en bandas que pueden analizarse tanto cualitativa como cuantitativamente mediante el empleo de los detectores seleccionados (Gutiérrez, 2002).

### **Cromatografía de gases- espectrometría de masas (gc-ms)**

Es una técnica combinada (GC-MS) que permite la separación e identificación de mezclas complejas, es comúnmente usado para el análisis de aceites esenciales, manejando un sistema con alta sensibilidad, adquisición de datos y proceso confiable y bajo costo en relación con el gasto de reactivos (Ricaldi, 2014).

La utilización de la cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas requiere sistemas especiales de conexión. En principio, se trata de dos técnicas que trabajan en fase gaseosa y necesitan una pequeña cantidad de muestra para su análisis, por lo que son muy compatibles. El único obstáculo serio a la hora de realizar su 25 acoplamiento es que el efluente que emerge de la columna cromatografía sale a presión atmosférica y debe introducirse en el interior del espectrómetro de masas que trabaja a alto vacío. Actualmente, el acoplamiento directo resulta fácil cuando se utiliza la cromatografía de gases capilar, que es el caso más habitual (Gutiérrez, 2002).

En resumen, una mezcla de compuestos inyectada en el cromatógrafo de gases se separa en la columna cromatografía obteniendo la elución sucesiva de los componentes individuales aislados que pasan inmediatamente al espectrómetro de masas. Cada uno de estos componentes se registra en forma de pico cromatográfico y se identifica mediante su respectivo espectro de masas. En este proceso, el espectrómetro de masas, además de proporcionar los espectros, actúa como detector cromatográfico al registrar la corriente iónica total generada en la fuente iónica, cuya representación gráfica constituye el cromatograma (Gutiérrez, 2002).

#### **3.2.11. Método para determinar la actividad antioxidante**

Para evaluar actividad antioxidante se recurre a diferentes métodos

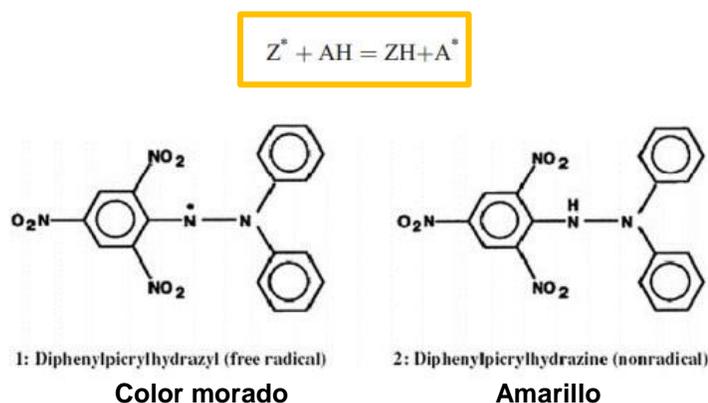
##### **Método de DPPH**

El DPPH o 2,2- difenil-1-picrilhidazil es un radical estable cromóforo de color morado oscuro. La reacción con otros radicales, electrones o átomos de hidrógeno conducen a la pérdida de color del DPPH medido por espectro UV-VIS a 517 nm con la pérdida de la señal de radicales libres, y sirve como un indicador de la capacidad antioxidante, esta reacción se basa en la donación electrónica de

antioxidantes para neutralizar el radical DPPH. Por lo tanto, este método se basa principalmente en la suposición de que la actividad antioxidante es igual a su capacidad de donación del electrón o el llamado poder reductor (Damián, 2020).

La reacción primaria se muestra en la Figura 14, representando al radical DPPH por Z• y la molécula donante por AH, donde ZH es la forma reducida y A• es radical libre producido en el primer paso. La molécula DPPH (Z•) está destinada a representar los radicales libres formados en el sistema cuya actividad debe ser suprimida por la sustancia AH (Damián, 2020).

La reacción primaria es:

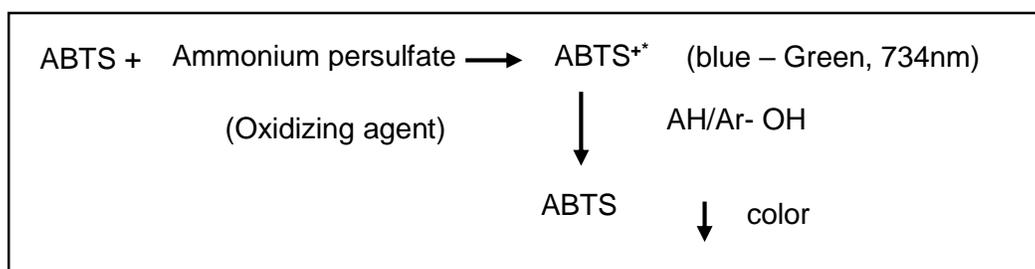


**figura 6** Radical DPPH (como radical libre) y su forma estable

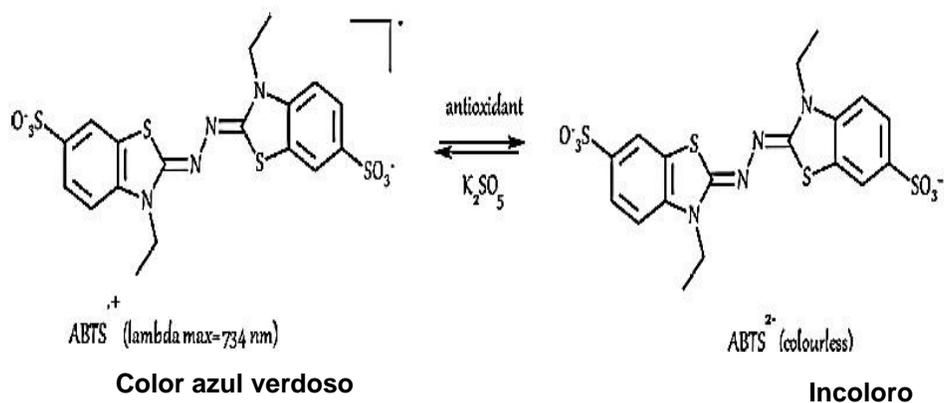
### Método de ABTS •+

El ensayo de la captación del radical ABTS •+ mide la capacidad de los antioxidantes o muestras con dicha capacidad antioxidante para eliminar el catión estable ABTS •+ (2,2'-azinobis (3- ácido etilbenzotiazolina-6-sulfónico)), que presenta inicialmente un azul verdoso cromóforo con absorción máxima a 734 nm y que disminuye en su intensidad en presencia de antioxidantes. ABTS •+ puede ser generado directamente utilizando persulfato de potasio como el agente oxidante, los antioxidantes luego reaccionan solo con ABTS •+ (Figura 15) Entonces se explica que el ABTS inicialmente se somete a una reacción de oxidación con permanganato de potasio, persulfato de potasio o 2,2'-azo-bis (2amidinopropano), produciendo el catión radical del ABTS (ABTS •+) con un color azul verdoso. El ABTS •+ es estable por

varios minutos, el  $ABTS^{+\cdot}$  se somete a la muestra antioxidante, causando la reducción de  $ABTS^{+\cdot}$  y, en consecuencia, la decoloración de la reacción mezcla (Figura 16). Por lo tanto, el grado de decoloración se puede expresar como el porcentaje de inhibición de  $ABTS^{+\cdot}$ , que se determina en función del antioxidante concentración y tiempo (Damián, 2020).



**figura 7** Reacción de ABTS (forma estable) y agente oxidante generando  $ABTS^{+\cdot}$  (como radical libre)



**figura 8** Radical  $ABTS^{+\cdot}$  (como radical libre) y su forma estable

### 3.3. Marco conceptual

#### 3.3.1. Aceites esenciales

Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica (Martínez, 2003).

### **3.3.2. Los Hidrolatos**

son el subproducto de la obtención de aceites esenciales por destilación por arrastre al vapor de flores y plantas aromáticas. El destilado resultante está compuesto básicamente de agua y una capa fina de aceite esencial, que normalmente se separa y se vende aparte. Es decir, con una destilación, se obtienen dos productos el aceite esencial por un lado y el hidrolato que contiene micro-partículas de aceite esencial en suspensión (Sweetillo, 2016).

### **3.3.3. Los antioxidantes**

Un antioxidante se define, en el sentido más amplio de la palabra, como cualquier molécula capaz de prevenir o retardar la oxidación (pérdida de uno o más electrones) de otras moléculas, generalmente sustratos biológicos como lípidos, proteínas o ácidos nucleicos (Menckeberg, 2021).

### **3.3.4. Métodos de extracción de los aceites esenciales**

Los aceites esenciales se pueden extraer de las muestras vegetales mediante varios métodos como: destilación con agua o hidrodestilación con trampa de clewenger, destilación por arrastre de vapor, expresión, extracción con disolventes, extracción por el método enflorado o enfleurage, extracción por fluidos supercríticos y extracción por microondas (Martínez, 2003).

### **3.3.5. El estrés oxidativo**

Es un desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes a favor de los oxidantes. Puede entenderse como un desequilibrio entre la generación de radicales libres y la eliminación de los mismos y está ampliamente involucrado en la aparición y desarrollo de muchas enfermedades (Helmut, 2018).

### **3.3.6. Los radicales libres**

son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado o libre por lo que son muy reactivos ya que tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. un radical libre es cualquier especie (átomo, molécula o ión) que contenga a lo menos un electrón desapareado en su orbital más externo, y que sea a su vez capaz de existir en forma independiente (de ahí el término libre). (Menckeberg, 2021)

### **3.3.7. Átomo**

Es la partícula más pequeña de materia que puede existir libre conservando las propiedades físico-químicas características de ese elemento y que es capaz de intervenir en reacciones químicas. En la estructura del átomo encontramos una región central muy densa formada por dos tipos de partículas los protones y los neutrones. Ambos le otorgan masa al núcleo, los protones son partículas con carga positiva y los neutrones no están cargados (Zaragoza, 1992)

## **4. OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN**

### **4.1. Objetivo general**

- ✓ Comparación de los componentes químicos en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chikchipay (tagetes multiflora kunth).

### **4.2. Objetivo específico**

- ✓ Determinar el porcentaje del rendimiento de la extracción de aceite esencial e hidrolatos del chikchipay (tagetes multiflora kunth).
- ✓ Determinar los compuestos bioactivos en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chikchipay (tagetes multiflora kunth).
- ✓ Evaluar la actividad antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chikchipay (tagetes multiflora kunth)

## **5. FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS**

### **5.1. Hipótesis general**

- ✓ El aceite esencial muestra una variación de componentes bioactivos frente a los hidrolatos extraídos del chikchipay (tagetes multiflora kunth).

### **5.2. Hipótesis específico**

- ✓ El aceite esencial presenta menor rendimiento frente al rendimiento del hidrolato extraído del chikchipay (tagetes multiflora kunth).
- ✓ El aceite esencial presenta mayores compuestos bioactivos frente al hidrolato extraído del chikchipay (tagetes multiflora kunth).
- ✓ La actividad antioxidante presenta una variación en el aceite esencial e hidrolato extraído del chikchipay (tagetes multiflora kunth).

### 5.3. Identificación de variables

Variable independiente

- ✓ Aceite esencial
- ✓ Hidrolato

Variable dependiente

- ✓ Porcentaje de rendimiento
- ✓ Compuestos bioactivos
- ✓ Actividad antioxidante

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. Lugar de ejecución

Localidad, Santa Rosa Distrito de Talavera, Provincia de Andahuaylas, Departamento de Apurímac.

Institución, laboratorio de química de la escuela profesional de ingeniería agroindustrial (EPIA) de la universidad José María Arguedas (UNAJMA).

### 6.2. Materiales, instrumentos y equipos

**Tabla 2** Materiales

CANTIDAD	DESCRIPCIÓN
03	Vasos de precipitado de 50, 100 y 250 ml
01	Separador florentino de 100 ml
03	Probeta de 50 y 100 ml
01	Burea de 50 ml
01	Pera de decantación ml
02	Gradillas para tubos de ensayo
03	Pipeta de 1 a 100 $\mu$ L.
03	Pipeta de 5 ml.
03	Envase de vidrio color ámbar de 15 ml
03	Propipetas

03	Matras Erlenmeyer de 50 ml
01	Gotero
12	Tubos de ensayo
03	Matraces aforados
01	Espátula

### Equipo

En esta Tabla (3) se muestran todo los equipos e instrumento con los cuales se ejecutará el trabajo de investigación.

**Tabla 3** Equipo

CANTIDAD	EQUIPO E INSTRUMENTO
01	Equipo de extracción por arrastre de vapor
01	Cromatógrafo de gases – Agilent Technologies 7890 <sup>a</sup>
01	Espectrofotómetro Agilent Technologies 5975C.
01	Balanza analítica de 0.1 mg – 120 g.
01	Detector selecto de masa Agilent Technologies 5975 C
01	Balanza analítica de 1/100 g. de 50 kg de capacidad
03	Picnómetro de 5 ml
01	Centrifuga
01	Termómetro de 0 a 200 °C

### Materia prima

En la Tabla (4) se muestra la materia prima con la que se va trabajar

**Tabla 4** Materia prima

Cantidad	Materia prima	Descripción
05 kg	Chikchimpay	Recolectada a 2860 msnm. Andahuaylas.

**Reactivos químicos**

En la Tabla (5) se muestran los reactivos a utilizarse en el trabajo de investigación.

**Tabla 5** Reactivos químicos

CANTIDAD	REACTIVOS
60 mg	Radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)
50 ml	Etanol
1 L.	Metanol
10 ml	Fenolftaleína
10 ml	Diclorometano
	Dimetilsulfoxido (DMSO)
50 g	Hidróxido de sodio (NaOH) 1N
3 L	Agua destilada

**6.3. Población y muestra****Población**

Aceites esenciales e hidrolatos extraídos del chikchimpay (tagetes multiflora kunth) procedente de la provincia de Andahuaylas departamento – Apurímac.

**Muestra**

La muestra será referida a 5 ml de aceite esencial y 5 ml de hidrolatos por muestra el análisis que se realizan por triplicado.

## **6.4. Tipo de investigación**

### **6.4.1. De acuerdo a fin que persigue**

#### **Aplicada**

Con esta investigación se logrará conocer la composición de bioactivos de chikchimpay (*Tagetes multiflora* Kunth) y también la actividad antioxidante que permitirá en futuro su aplicación como posibles conservantes alimentarios desde especies vegetativas andinas de nuestra provincia de Andahuaylas.

### **6.4.2. De acuerdo a la técnica de contrastación**

#### **Experimental**

Los datos serán obtenidos de fenómenos acondicionados por el investigador.

## **6.5. Método de análisis**

### **6.5.1. Determinación de compuestos bioactivos y actividad antioxidante**

Se realizarán los siguientes análisis.

#### **a. Determinación de rendimiento del aceite esencial**

Para determinar el rendimiento del aceite esencial, se tomará como referencia el peso (g) de aceite esencial extraído sobre la cantidad de materia vegetal (g), haciendo uso de una balanza analítica (Paredes, 2010).

$$\text{Rendimiento \%} = \frac{w_2}{w_1 * 100}$$

Donde:

W1 = Peso en gramos del material vegetal sometido a extracción.

W2 = Peso en gramos del aceite esencial extraído.

#### **b. Determinación de compuestos bioactivos**

Cromatografía de gases – Espectrometría de masas (CG-MS) La identificación del componente del aceite esencial se realizará por Cromatografía de gases – Espectrometría de masas (CG-MS), en el cromatógrafo Modelo Trace 1310 Termo scientific acoplado a un espectrómetro de masas Modelo ISQ QD Termo scientific, en el laboratorio de Fitoquímica de la Universidad peruana Cayetano Heredia con una columna capilar TG – 5SILMS de diámetro interno 0.25 mm y de 30 metros. Los análisis se llevarán a cabo bajo las siguientes condiciones: programa de temperatura de horno, temperatura inicial 60°C, gradiente 5 °C/min., temperatura final 240 °C (5 min.); gas portador helio con un flujo de 1mL/min.; temperatura del

inyector y detector de 250 °C, volumen de inyección de 1µL y una dilución Split de 1/100. En el cromatógrafo se obtendrá los cromatogramas y el contenido porcentual de cada componente, se calculará a partir del área bajo el pico y los componentes se comparará con el total del pico de áreas de todos los componentes; mientras que la identificación de los componentes de cada cromatograma se realizará mediante la obtención del espectro 41 de masas. Los diferentes componentes del aceite esencial, se identificará utilizando los tiempos de retención de la cromatografía de gases y los espectrómetros de masa de cada componente. Los espectros de masas se compararán con los datos estándar de referencia correspondiente a los espectros de masas de la base de datos librería Mainlib. Lo que permitirá valorar la composición mayoritaria de cada aceite esencial y así determinar la identificación y cuantificación de los aceites esenciales (Marín, 2019).

### **c. Determinación de la actividad antioxidante**

Método (DPPH•) (1,1-Difenil-2-Picrilhidrazil)

El radical libre y estable 1,1-Difenil-2-Picrilhidrazil (DPPH•), Es un indicador para medir la capacidad de secuestro de cualquier compuesto con actividad antioxidante. Su mecanismo de reacción consiste en la sustracción de un átomo de hidrogeno proveniente de un donador. La reacción de ensayo, desarrolla un cambio de color violeta a amarillo a medida que disminuye la absorbancia a 515 nm (Carhuapoma, 2007).

Los resultados se expresan como actividad antiradical o IC50 (Concentración Inhibitoria al 50), la cual está definida como la concentración del antioxidante que disminuye la absorción del radical a un 50% de la cantidad inicial (Torrenegra, 2014).

Los compuestos polifenólicos frente al radical DPPH°, en general la absorbancia desciende rápidamente en los primeros minutos, debido a la transferencia al radical de los átomos de hidrogeno con más facilidad de donación. Seguidamente una etapa de caída más lenta, hasta el equilibrio, debido a la actividad remanente de los productos de oxidación y degradación (Oliveira, 2014).

Se procederá calcular con la siguiente formula:

% de Inhibición para cada concentración con la siguiente formula:

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

Donde:

$A_0$  = Absorbancia a tiempo cero

$A_f$  = Absorbancia final % de Inhibición

## **6.6. Metodología experimental**

### **6.6.1. Descripción de la obtención del aceite esencial de la especie vegetativa chikchimpay (tagetes multiflora kunth)**

#### **a. Materia prima**

Se utilizará la especie vegetativa chikchimpay procedente de la provincia de Andahuaylas.

#### **b. Recolección**

Se llevará a cabo una recolección manual. El recojo se realizará primeras horas de la mañana para evitar una exudación excesiva de planta.

#### **c. Recepción**

Será realizado mediante una inspección en el estado de floración con el corte de 25 – 30cm.

#### **d. Transporte**

El apasionamiento y/o la sobrecarga generan estrés y por lo tanto hay un incremento de temperatura y deterioro de la planta. Es por ello que se efectuará el transporte en sacos con malla que permitirá una aireación.

#### **e. Selección y limpieza**

Se procederá la selección de la materia prima y la eliminación de partículas extrañas (polvo, arena y otros) adheridas a la superficie del chikchimpay y se dará aire sobre una superficie lisa con adecuada ventilación.

#### **f. Acondicionamiento**

Se acondicionará en un contenedor (cesto de acero inoxidable) el material vegetal será hojas frescas una cantidad. El material vegetal contenido en el cesto será depositado en el extractor con agua destilada para la generación de vapor.

**g. Extracción**

Esta operación se realizará a partir de tres muestras de 10kg de materia prima, sometidas al método arrastre con vapor, en un equipo de acero inoxidable y se iniciará el proceso de extracción.

**h. Descarga**

Una vez terminado la extracción se realizará la descarga tanto del separador de aceites esenciales como del material vegetal depositado en el extractor y en el contenedor, obteniéndose así aceite esencial.

**i. Almacenamiento**

El aceite esencial, será envasado en frascos ámbar de 10ml, se almacenará en ambientes de refrigeración a temperaturas promedios de 5-3°C. (Valverde, 2011)

Diagrama de bloque para la obtención del aceite esencial de la especie vegetativa chikchipay (*tagetes multiflora kunth*)

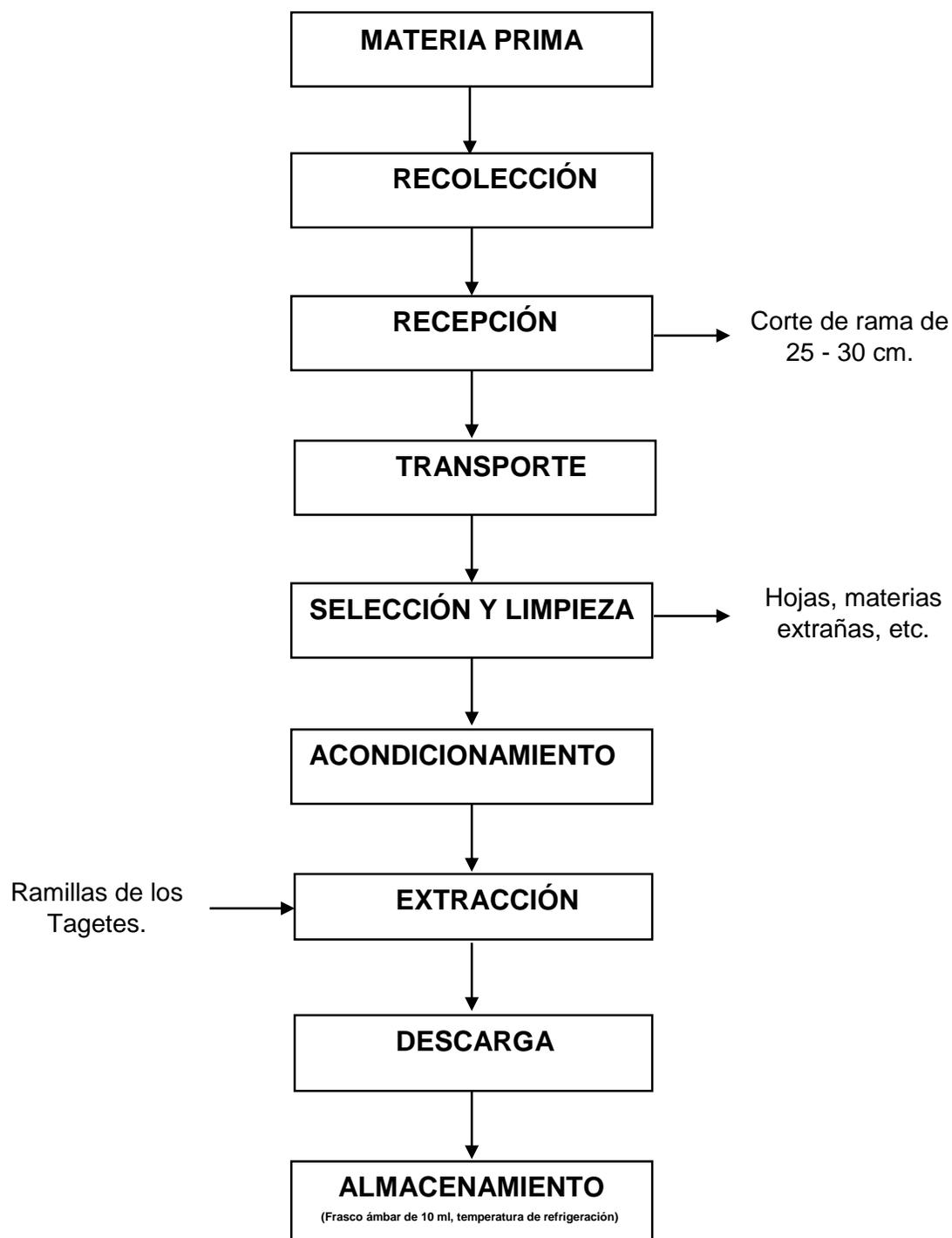


figura 9 Diagrama de bloque para la obtención del aceite esencial de la especie vegetativa chikchipay (*tagetes multiflora kunth*)

## **6.6.2. Descripción del proceso de análisis instrumental por GC – SM**

### **a. Portador “gas helio”**

Se utilizará el equipo de cromatografía para la separación de los compuestos volátiles.

### **b. Muestra de aceite esencial**

Se realizará esta etapa para la separación de compuestos activos por cromatografía de gas.

### **c. Horno**

Se encargará de producir calor para alimentar al gas helio (T°60 °C- T°210 °C).

### **d. Columna**

En este proceso la corriente de gas atraviesa una columna cromatografía que separará los compuestos activos.

### **e. Detector**

En esta fase los componentes activos son detectados por medio de una mezcla que pasará por un análisis cualitativo.

### **f. Cámara de ionización**

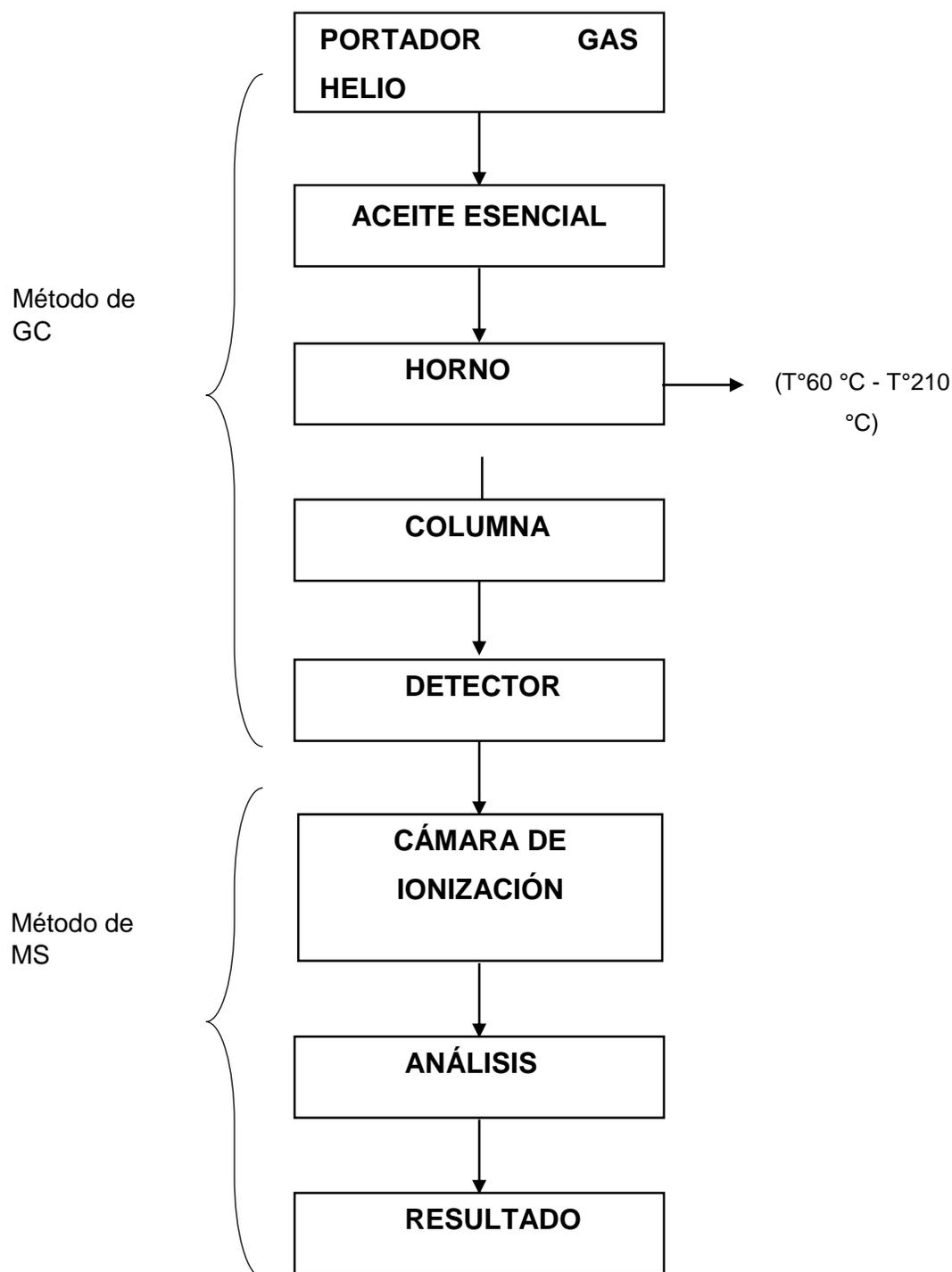
Después del análisis ingresará a una cámara de ionización.

### **g. Análisis**

Consta la comparación de compuestos obtenidos con la librería de patrón.

(Marquez, 2014)

Diagrama de bloque para el proceso de análisis instrumental por cromatografía de gases – espectrometría de masas del aceite esencial de la especie vegetativa chikchimpay (tagetes multiflora kunth)



**figura 10** Diagrama de bloque para el proceso de análisis instrumental por cromatografía de gases – espectrometría de masas del aceite esencial de la especie vegetativa chikchipay (*tagetes multiflora kunth*)

(Marquez, 2014)

### **6.6.3. Descripción de la actividad antioxidante preparación de los reactivos**

- ✓ Radical DPPH• (0.06 mM), se pesará 2.3 mg de DPPH• y se disuelven en 100 mL de metanol (Brand-William et al., 1995). El radical preparado es estable durante 12 h a temperatura ambiente y protegida de la luz.
- ✓ Preparación del estándar de referencia TROLOX: se emplea el Trolox en metanol, se preparará una disolución madre de 2 mM y posteriormente se preparará diluciones de 0.05, 0,1, 0,5 y 1 mM en metanol, para preparar la curva estándar referida al % inhibición con respecto a las diferentes concentraciones de Trolox.
- ✓ Se medirá la absorbancia con cubetas de cuarzo estándar de 1cm, a 515 nm de 2.9 mL del DPPH• (0.06mM), obteniendo así el valor de la absorbancia a tiempo cero, posteriormente se adicionará 100 µL de las diferentes concentraciones del Trolox, y se mide la absorbancia cada quince minutos, durante una hora (hasta alcanzar el equilibrio), se obtendrá así el valor de la absorbancia final, pudiendo calcular el % de inhibición (Samaniego, 2006).

### **Medida de la actividad antioxidante de las muestras**

- ✓ Se extraerá la fracción polar del aceite, se mezclará el aceite en metanol en proporción 1:1 v/v y se centrifugará a 2500-3000 rpm durante diez minutos a 15°C, a continuación, se extraerá la fase metanólica, donde se encuentran los componentes solubles en metanol del aceite (compuestos polifenólicos), responsables en su mayoría del efecto antioxidante de los mismos.
- ✓ Se medirá la absorbancia en diferentes diluciones metanólicas del extracto (1:2, 1:5 y 1:10).
- ✓ Se tomará 2.9 mL del radical DPPH•, se le medirá la absorbancia a 515nm, y se añadirá 100µL del extracto metanólico del aceite a ensayar. Se agita y

se mide su absorbancia cada 15 minutos durante una hora (Samaniego, 2006).

### 6.7. Diseño experimental

El diseño experimental para el trabajo de investigación será tipo diseño completamente al azar (DCA), debido a que se manipulará dos variables de entrada con tres repeticiones y con variable de salida rendimiento del aceite esencial, componente bioactivo y actividad antioxidante se hará una comparación de las dos variables independientes, arreglo experimental se muestra en la tabla (6)

**Tabla 6** Diseño experimental – DCA

Numero de repeticiones (j)	Variable independiente	Variable dependiente		
		Rendimiento	Compuesto bioactivo	Actividad antioxidante
3	Chikchimpay			

#### 6.7.1. ANOVA para el diseño completamente al azar (DCA)

El análisis de varianza (ANOVA) es la técnica central en el análisis de datos experimentales.

La idea general de esta técnica es separar la variación total en las partes con las que contribuye cada fuente de variación en el experimento. En el caso del DCA se separan la variabilidad debida a los tratamientos y debida al error. Cuando la primera predomina “claramente” sobre la segunda, es cuando se concluye que los tratamientos tienen efecto, o dicho de otra manera, las medias son diferentes.

Cuando los tratamientos no dominan contribuyen igual o menos que el error, por lo que se concluye que las medias son iguales.

El objetivo del Análisis de varianza en DCA es probar la hipótesis de igualdad de los tratamientos con respecto a la media de la correspondiente variable de respuesta.

Es importante resaltar que el ANOVA supone que la variable de respuesta se distribuye normal, con varianza constante (los tratamientos tienen varianza similar) y que las mediciones son independientes entre sí. Estos supuestos deben verificarse con las

hipótesis para estar más seguros de las conclusiones obtenidas, de la siguiente manera (Gutierrez, 2008).

***H<sub>0</sub>:  $\mu A = \mu B = \mu C = \mu D = \mu$***

***H<sub>A</sub>:  $\mu i \neq \mu j$  para algún  $i \neq j$***

A continuación, se presentan las siguientes hipótesis:

Tiene efecto significativo el rendimiento, los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante del aceite esencial e hidrolato extraídos de la especie vegetativa chikchimpay.

### **Hipótesis**

**Hipótesis nula H<sub>0</sub>:** No hay efecto significativo el rendimiento, los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante del e hidrolato extraídos de la especie vegetativa chikchimpay.

$$X_i = X_j$$

**Hipótesis alterna H<sub>A</sub>:** Hay efecto significativo el rendimiento, los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante del aceite esencial e hidrolato extraídos de la especie vegetativa chikchimpay.

$$X_i \neq X_j \text{ para algún } i \text{ y } j$$

### **Nivel de significancia ( $\alpha$ )**

Para el caso de comparaciones de tratamiento habitualmente se emplea para  $\alpha = 0.05$

(Gutierrez, 2008)

### **6.7.2. Análisis estadístico Análisis De Varianza**

El análisis de varianza (ANOVA), se refiere en general a un conjunto de situaciones experimentales y procedimientos estadísticos para el análisis de respuestas cuantitativas de unidades experimentales. El problema más sencillo de ANOVA se conoce como el análisis de varianza de un solo factor o diseño completamente al azar, éste se utiliza para comparar dos o más tratamientos, dado que sólo consideran dos fuentes de variabilidad, los tratamientos y el error aleatorio. En todas las corridas experimentales se deben de

realizar en un orden aleatorio. De esta manera, si durante el estudio se hacen  $N$  pruebas, éstas se corren al azar, de manera que los posibles efectos ambientales y temporales se vayan repartiendo equitativamente entre los tratamientos (Romaina, 2012).

El análisis de varianza es una técnica mediante la cual se prueban las medias de los tratamientos y se observan las fuentes de variabilidad de la variable de respuesta. En el caso del diseño completamente al azar, el esquema del ANOVA, se presenta en la tabla (7) siguiente:

**Tabla 7** Esquema del ANOVA

Fuente de variabilidad	$C.L$	$S:C.$	$C.M$	$F_C$	$F_t$
Tratamiento	$t - 1$	$\frac{\sum y_i^2}{r} - TC$	$\frac{SCT}{t - 1}$	$\frac{CMt}{CME}$	* **
Error	$t(r - 1)$	$SCT - SCt$	$\frac{SCE}{t(r - 1)}$		
Total	$rt - 1$	$\sum y_{ij}^2 - TC$			

\* Diferencia estadística significativa

\*\* Diferencia estadística altamente significativa

Donde:  $t = N^\circ$  de tratamientos

$r = N^\circ$  de repeticiones

$SCt$ : Suma de cuadrado de tratamientos

$SCT$ : Suma de cuadrado de totales

$SCE$ : Suma de cuadrado del error

$CMt$ : Cuadrado medio de tratamiento

$SCE$ : Cuadrado medio del error

**Modelo estadístico del DCA**

El modelo aditivo lineal de este diseño es:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij} \quad i = 1, 2, \dots, t$$

$$j = 1, 2, \dots, r$$

$\mu$ ; media de la población

$\tau_i$  = efecto aditivo del  $i$  – ésimo tratamiento

$\epsilon_{ij}$ : Error aleatoria al que está sujeto una observación.

Se distribuyen normalmente  $\sim N(0 \sigma^2)$

En la tabla 8 puede observarse la forma como se debe realizar la distribución de los datos que se recogen del experimento, se elabora una tabla de doble entrada en la que se disponen los niveles de tratamientos y repeticiones del experimento, tener presente que, en la práctica, no siempre se encuentra con experimentos en la cual el número de repeticiones son iguales, como es el presente modelo (Romaina, 2012).

**Tabla 8** Esquema de un DCA para igual número de muestras por tratamiento

Repeticiones	Tratamientos			Gran total
	1	2 ... t		
1	$Y_{11}$	$Y_{21} \dots Y_{t1}$		
2	$Y_{12}$	$Y_{22} \dots Y_{t2}$		
.		.		
.		.		
r	$Y_{1r}$	$Y_{2r} \dots Y_{tr}$		
Total tratamiento	$Y_{1.}$	$Y_{2.} \dots Y_{t.}$		$Y_{..}$
Media	$\bar{Y}_{1.}$	$\bar{Y}_{2.} \dots \bar{Y}_{t.}$		$\bar{Y}_{..}$
Tamaño de muestra	$n$	$n \dots n$		$N$

### **6.7.3. Método de tukey**

El método de Tukey se utiliza en ANOVA para crear intervalos de confianza para todas las diferencias en parejas entre las medias de los niveles de los factores mientras controla la tasa de error por familia en un nivel especificado.

Es importante considerar la tasa de error por familia cuando se hacen comparaciones múltiples, porque la probabilidad de cometer un error de tipo I para una serie de comparaciones es mayor que la tasa de error para cualquier comparación individual. Para contrarrestar esta tasa de error más elevada, el método de Tukey ajusta el nivel de confianza de cada intervalo individual para que el nivel de confianza simultáneo resultante sea igual al valor que especifique. Con este método se prueba el juego de hipótesis (Condo, 2015).

$$H_0: \mu_i = \mu_{i'}$$

$$H_a: \mu_i \neq \mu_{i'} \text{ con } i \neq i'$$

### **6.8. Matriz de consistencia**

**Tabla 9** Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPOTESIS	DEFINICIÓN DE OPERACIONES			RECOLECCIÓN DE DATOS	
			VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DISEÑO O MÉTODO	INDICADORES	INSTRUMENTO
¿Cuáles son los componentes bioactivos y la actividad antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chicchimpanay (tagetes multiflora kunth)?	Comparación de los componentes químicos en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chicchimpanay (tagetes multiflora kunth).	El aceite esencial muestra una variación de componentes bioactivos frente a los hidrolatos extraídos del chicchimpanay (tagetes multiflora kunth).	Variable Independiente Aceite esencial Hidrolato	Compuestos bioactivos y actividad antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos extraídos de la especie vegetativa chicchimpanay (tagetes multiflora kunth).	Experimental	componentes bioactivos y la actividad antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chicchimpanay (tagetes multiflora kunth)	Cromatografía de gases acoplado a espectrómetro de masas (CG - MS) Método (DPPH)
			Variable dependiente Porcentaje de rendimiento Compuestos bioactivos actividad antioxidante	Se identificará los componentes bioactivos y también se determinará la actividad antioxidante.			
¿Cuál es el porcentaje del rendimiento de extracción de aceite esencial e hidrolatos del chicchimpanay (tagetes multiflora kunth)?	Determinar el porcentaje del rendimiento de la extracción de aceite esencial e hidrolatos del chicchimpanay (tagetes multiflora kunth).	El aceite esencial presenta menor rendimiento frente al hidrolato extraído del chicchimpanay (tagetes multiflora kunth).	Rendimiento	Se determinará el rendimiento del aceite esencial e hidrolatos extraídos de la especie vegetativa chicchimpanay (tagetes multiflora kunth).	Experimental	Rendimiento	Balanza analítica
¿Cuáles son los compuestos bioactivos en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chicchimpanay (tagetes multiflora kunth)?	Determinar los compuestos bioactivos en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chicchimpanay (tagetes multiflora kunth).	El aceite esencial presenta mayores compuestos bioactivos frente al hidrolato extraído del chicchimpanay (tagetes multiflora kunth).	Compuesto inactivo	Se determinará los compuestos bioactivos en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chicchimpanay (tagetes multiflora kunth).	Experimental	Compuestos bioactivos	Cromatografía de gases acoplado a espectrómetro de masas (CG - MS)
¿Cuál es la actividad antioxidante del aceite esencial e hidrolato extraídos del chicchimpanay (tagetes multiflora kunth)?	Evaluar la actividad antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chicchimpanay (tagetes multiflora kunth)	La actividad antioxidante presenta una variación en el aceite esencial e hidrolato extraído del chicchimpanay (tagetes multiflora kunth).	Actividad antioxidante	Se evaluará la actividad antioxidante en el aceite esencial e hidrolatos extraídos del chicchimpanay (tagetes multiflora kunth)	Experimental	Actividad antioxidante	Método (DPPH)

## 7.RECURSOS Y CRONOGRAMA DE ACTIVIDAD

### 7.1. Recursos humanos

Autor de trabajo de investigación Bach. QUISPE HUASCO, Silvia

Asesor Mg. HUARACA APARCO, Rosa

Co Asesora Dra. DELGADO LAIME, María Del Carmen

### 7.2. Presupuestos y fuente de financiamiento

**Tabla 10** Presupuestos y fuente de financiamiento para el desarrollo de la investigación

ITEM	DESCRIPCION	CANTIDAD	UNID. MEDIDA	PRECIO	PRECIO PARCIAL
				Unid.	
	<b>BIENES</b>				
	<b>Materiales de escritorio</b>				
01	Laptop Lenovo	1	Unid	S/. 2,300.00	S/. 1,900.00
02	USB Hp 2gb	1	Unid	S/. 20.00	S/. 20.00
03	Materiales Consumibles				S/. 954.00
04	Papel bond A-4 de 80 gr	2	Millar	S/. 25.00	S/. 50.00
05	Lapiceros PILOT	3	Unid	S/. 2.00	S/. 6.00
06	Resaltadores color amarillo Faber Castell	2	Unid	S/. 3.00	S/. 6.00
07	Correctores	1	Unid	S/. 5.00	S/. 5.00
08	Cuadernos espiralados Stanford	1	Unid	S/. 7.00	S/. 7.00
09	Cartuchos de tóner para impresora Multifuncional	4	Unid	S/. 220.00	S/. 880.00
	<b>Infraestructura</b>				
	<b>servicio</b>				
10	Servicio Internet	4	Mes	S/.60.00	S/. 240.00
11	Servicio telefonía móvil (Comunicaciones)	1000	Minutos	S/. 0.50	S/. 500.00
12	Servicio de Impresiones	2500	Unid	S/. 0.10	S/. 250.00
13	Servicio de empastados	20	Unid	S/.4.00	S/. 80.00
	<b>Gastos de experimentación</b>				
14	agua mineral	3	Unid	S/.1.00	S/. 3.00
15	Imprevistos	1	Unid	S/.100.00	S/. 100.00
16	Guardapolvo	1	Unid	S/.50.00	S/. 50.00
17	Guantes desechable	1	Caja	S/.15.00	S/. 15.00
18	Gorra desechable	1	Caja	S/.15.00	S/. 15.00
19	Mascarilla desechable	1	Caja	S/.15.00	S/. 15.00
20	Balde Premium	1	Unid	S/.25.00	S/. 25.00

21	Gas propano	1	Balón	S/.38.00	S/. 38.00
22	Vasos	25	Unid	S/.0.10	S/. 2.50
24	Análisis-AE	3	Unid	S/. 500.00	S/.1,500.00
	Gastos total				S/. 6,532.00
	<b>Imprevistos</b>				
25	Imprevistos 10% del costo total	1	Unid	S/. 612.50	S/.612.50
<b>COSTO TOTAL DE LA TESIS</b>					<b>S/.6,700.00</b>

### 7.3. Cronograma de actividad

**Tabla 11** Cronograma de actividad para el desarrollo de actividades de investigación

ACTIVIDADES	MESES					
	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto
Elaboración del proyecto	X	X	X			
Aprobación del proyecto						
Extracción del aceite esencial				X		
Análisis de los resultados					X	
Elaboración del informe final					X	X
Presentación del informe final						

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

### Bibliografía

- Alvarado, M. C. (2017). "Efecto Antioxidante Del Cochayuyo (*Durvillaea Antarctica*) Sobre El Estrés Oxidativo Presente En Ratas Con Diabetes Mellitus Tipo 2 Inducida Experimentalmente". *"Efecto Antioxidante Del Cochayuyo (*Durvillaea Antarctica*) Sobre El Estrés Oxidativo Presente En Ratas Con Diabetes Mellitus Tipo 2 Inducida Experimentalmente"*. Universidad Nacional De San Agustín De Arequipa, Arequipa, Perú.
- Antezana, B. (2017). "Otención de aceite esencial e hidrolato de hierbabuena (*menta spicata*) mediante el proceso de destilación por arrastre con vapor". *Tesis*. Universidad Mayor De San Andrés, La Paz, Bolivia.
- Bandoni, A. (2002). *Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores*. Argentina : Universidad de la plata.
- Barajas, C. (2011). *Propuesta de mejora utilizando diseño de experimentos en el desarrollo de técnicas analíticas en un laboratorio farmacéutico*. México.
- Carhuapoma, .. M. (2007). *Composición química, actividad anti-*Helicobacter pylori* y antioxidante del aceite esencial de *Satureja brevicalyx* Epling "urqu muña"*. Lima: Tesis .
- Collura, A. ( 1985). Variaciones del rendimiento y composición química de las especies aromáticas y medicinales. *Herbociencia* , 6-15.
- Condo, .. P. (2015). *Diseño experimental en el desarrollo del conocimiento científico de las ciencias agropecuarias*. Ecuador : ESPOCH.
- Cordero, A. (2021). Una nueva base de datos integral sobre usos tradicionales de las plantas nativas. *Una nueva base de datos integral sobre usos tradicionales de las plantas nativas*. Rizoma- CEAB, Santiago, Chile.
- Coronado, H. M. (2015). *Antioxidante: perspectiva actual para la salud humana*. Revista Chilena de nutrición, Chilena.
- Coronado, H. M. (2015). *Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana*. Revista chilena de nutrición, Chile.
- Damián, .. R. (2020). *Composición química, actividad antioxidante, antimicrobiana sobre *E. coli* y *S. aureus* y efecto fungistático sobre *Candida albicans* del aceite esencial de hojas de *Persea caerulea* (Ruiz & Pav) Mez (junjulí)*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.
- Echavarría, A. D. (2016). Evaluación de la capacidad antioxidante y metabolitos secundarios de extracto de dieciséis plantas medicinales. *Revista*. Ciencia Unemi.

- Elías, J., & Sichez, J. (2019). Composición Química, Características Físicoquímicas Y Capacidad Antioxidante De Aceites Esenciales De Cinco Hierbas Aromáticas. *Composición Química, Características Físicoquímicas Y Capacidad Antioxidante De Aceites Esenciales De Cinco Hierbas Aromáticas*. Universidad Privada De Pucallpa, Perú.
- Gallego, M. (2016). Estudio de la actividad antioxidante de diversas plantas aromáticas y/o comestibles. *tesis*. Universitat politècnica, Catalunya, Barcelona.
- García, J., & Gilardoni, G. (2020). Análisis químico del aceite esencial de Siparuna echinata (Kunth) A. DC. (Siparunaceae) de Ecuador y aislamiento del raro terpenoide Sipaucin A. *Artículo Análisis químico del aceite esencial de Siparuna echinata (Kunth) A. DC. (Siparunaceae) de Ecuador y aislamiento del raro terpenoide Sipaucin A*. Instituto Multidisciplinario de Publicaciones Digitales (MDPI), Ecuador .
- Granados, C. (2020). Evaluación De La Actividad Antioxidante Del Aceite Esencial Foliar De Myrcianthes Leucoxylla De Norte De Santander. *Evaluación De La Actividad Antioxidante Del Aceite Esencial Foliar De Myrcianthes Leucoxylla De Norte De Santander*. Universidad De Colombia, Colombia.
- Günther, E. (1948). *the essential oils, history and origin in plants production analysis* . New York: Krieger.
- Gutierrez, H. D. (2008). *Analisis y diseño de experimento*. México: McGrawHill.
- Gutiérrez, M. D. (2002). *Identificación de compuestos volátiles por CG-MS. La cromatografía de gase y la espectrometría de masas. Identificación de compuestos causantes de mal olor*. BOLETIN INTEXTER (U.P.C) N°122.
- Helmut, S. (2018). Sobre la historia del estrés oxidativo. *ELSEVIER*, 122-126.
- Ingrid K., S. B. (2010). Composición química del aceite esencial de tagetes elliptica smith “chincho” y actividades antioxidante, antibacteriana y antifúngica. *Ciencia e Investigación*, 81-86.
- Jara, B. (2018). Optimización De Los Parámetros De Extracción De Flavonoides De La Chijchipa (Tagetes Mandonii), Utilizando El Método De Superficie Respuesta. *tesis*. Universidad San Ignacio De Loyola, Perú.
- Lauriano, A., & Lizaraso, Y. (2017). Caracterización y Obtención de Preservantes Microencapsulados a partir de Extractos Acuáticos de Orégano (Origanum vulgare), Chincho (Tagetes elliptica) y Acedera (Rumex crispus). *tesis*. Universidad San Ignacio De Loyola, Perú.
- Londoño, J. (2012). *Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad*. Colombia: Corporación Universitaria Lasallista.
- Look de Ugaz, O. (1999). *Investigación fotoquímica, métodos en el estudio de productos naturales*. Perú: Fondo.
- López, V. (2020). Caracterización Fitoquímica, Actividad Antioxidante Y Antibacteriana Del Aceite Esencial Y Extractos De Tagetes Patula Sobre Staphylococcus Aureus. *Caracterización Fitoquímica, Actividad Antioxidante Y Antibacteriana Del Aceite*

*Esencial Y Extractos De Tagetes Patula Sobre Staphylococcus Aureus*. Universidad Del Zulia, Ecuador .

- Manuelo, M. (2020). Efecto Antimicótico "In Vivo" Del Ungüento A La Base Del Aceite Esencial De Tagetes Minuta L.Huacatay Frente A Candida Albicans Atcc 6538 En Ratas Albinas. *Tesis*. Universidad Nacional Jorge Basadre Gromann, Tacna, Perú.
- Marelby, L. T. (2012). Introducción a la Industria de los Aceites Esenciales Extraídos de Plantas Medicinales Y Aromáticas. *Introducción a la Industria de los Aceites Esenciales Extraídos de Plantas Medicinales Y Aromáticas*. SENA, Bogotá, Colombia .
- Marín, J. (2019). Composición Química Y Actividad Antioxidante Del Aceite Esencial De Ambrosia Arborescens Miller (Marku). *Tesis Composición Química Y Actividad Antioxidante Del Aceite Esencial De Ambrosia Arborescens Miller (Marku)*. Universidad Nacional De San Antonio Abad Del Cusco, Perú.
- Marquez, .. J. (2014). "*Caracterización De Los Compuestos Activos Del Aceite Esencial De Salvia (Salvia rhodostephana Epling) POR GC -SM*". Huancavelica: Tesis.
- Martínez, .. A. (2003). *Aceites Esenciales*. Medellín.
- Menckeberg, F. (2021). Antioxidantes. *Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA)*. Universidad De Chile, Santiago, Chile.
- Montoya, G. D. (2010). Aceites Esenciales. *Aceites Esenciales*. Universidad De Colombia, Manizales, Colombia.
- Oliveira, G. (2014). "Capacidad antioxdiante de Averrhoa L (Carambola) frente a sistemas generadores de radicales libres. *Tesis*. Universidad Nacional Mayor De San Marcos, Lima, Peru.
- Ovidio, E. (2021). Aceites esenciales e hidrolatos de Laurus nobilis , Salvia sclarea y Salvia officinalis : evaluación de la composición química y actividades biológicas en fase líquida y vapor. *Plantas*, 1-17.
- Paredes, .. D. (2010). *Desarrollo De Un Sistema De Extracción De Aceites*. Riobamba: tesis.
- Peredo, H. (2009). Aceites Esenciales: Método De Extracción. *Temas selectos de ingenieria de alimentos*. Universidad De Las Américas Puebla, México.
- Pulgar, J. (1981). *Geografía Del Perú - Las Ocho Regiones Naturales Del Perú*. Lima, Perú: Editorial Universo.
- Ricaldi, .. S. (2014). *Cromatografía de gases–espectrometría de masas de compuestos fitobioactivos del aceite esencial de Satureja incana*. Apunt. Cienc.Soc.
- Robles, .. J. (2014). Desarrollo de metodología analítica mediante cromatografía/ espectrometría de masas para el cntrol de contaminantes orgánicas prioritarias y emergentes en aguas residuales y superficiales. *Tesis doctoral*. Universidad de Jaén, Jaén.

- Romana, .. J. (2012). *Estadística Experimental Herramientas para Investigación*. Perú: UPT-PERÚ.
- Safar, A., Glafoor, A., & Dastan, D. (2020). Composición química, actividades antibacterianas y antioxidantes del aceite esencial de *Tagetes patula* L. *Composición química, actividades antibacterianas y antioxidantes del aceite esencial de Tagetes patula* L. Universidad de Ciencias Médicas de Hamadan, Irán.
- Sainz, P. M.-D.-R. (2019). "composición y actividades biológicas de los aceites esenciales e hidrato de Artemisia". *Biomoléculas*, 1-12.
- Samaniego, .. C. (2006). *Estudio y evaluación de la capacidad antioxidante de aceites de oliva virgen extra Implicación en la salud*. Tesis.
- Smit, A. (1999). *Control automática de procesos* . España: Limusa.
- Solis, e. a. (2018). *Plantas y Aceites esenciales como insecticidas*. Cusco: 1Ed.
- Stashenko, E. E. (2009). Aceites esenciales. *Aceites esenciales*. UIS-CENIVAM, Bucaramanga, Colombia.
- Sweetillo. (2016). *Los Hidrolatos en Cosmética Natural*.
- Torrenegra, .. M. (2014). *Evaluación De La Actividad Antioxidante Del Aceite Esencial Foliar Extraído De Especies De Oregano (Origanum Vulgare), Oregano "Borde Blanco" (Origanum Vulgare Ssp) Y Oreganito (Lippia Alba Mill) Cultivado En La Zona Norte Del Departamento De Bolívar*. Bolívar: Tesis.
- Tuyo, L. (2015). "Efecto de la actividad antimicótica "in vitro" del aceite esencial de *tagetes minuta* L. "huacatay" frente a *Candida albicans*". Tesis. Universidad Nacional Jorge Basadre De Grohmann, Tacna, Perú.
- Valverde, .. Y. (2011). *Extracción Y Caracterización Del Aceite Esencial Del Romero (Rosmarinus Officinalis) Por El Método De Arrastre De Vapor Obtenida En Estado Fresco Y Secado Convencional*. Tarma .
- Zaragoza, J. (1992). *Composicion Quimica De Los Seres Vivos*. Barcelona: 2ª ed.



# UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA ARGUEDAS

## RESOLUCIÓN N° 082-2022-CFI-UNAJMA

### RESOLUCION DE COORDINACIÓN DE FACULTAD DE INGENIERÍA

Andahuaylas, 18 de abril de 2022

**VISTO:** La propuesta de la Coordinadora de la Facultad de Ingeniería, de fecha 18 de abril de 2022, mediante la cual solicita la designación de los docentes para la conformación de la Comisión de la Unidad de Investigación de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional José María Arguedas, y;

#### CONSIDERANDO:

Que, por Ley N° 28372 del 29 de octubre del 2004, se crea la Universidad Nacional José María Arguedas, con sede en la provincia de Andahuaylas, Región Apurímac; y que por Resolución N° 035-2017-SUNEDU/CD de 02 de octubre del 2017, el Consejo Directivo de la Superintendencia Nacional de Educación Superior Universitaria, otorga la Licencia Institucional a la Universidad Nacional José María Arguedas para ofrecer el Servicio Educativo Superior Universitario;

Que, la Ley Universitaria 30220 en su Artículo Octavo respecto a la autonomía universitaria, establece que: "El estado reconoce la autonomía universitaria". La autonomía inherente a las universidades se ejerce de conformidad a la Constitución, las leyes y demás normativa aplicable, esta Normativa se manifiesta en los siguientes regímenes: Normativo, De gobierno, Académico, Administrativo y Económico;

Que, mediante Carta Múltiple N° 020-2014-SG-UNAJMA, de fecha 30 de julio del 2014; la Secretaría General de la UNAJMA comunica que mediante Acuerdo N° 03 de Sesión Ordinaria de la Comisión de Gobierno se **AUTORIZA** la emisión de **RESOLUCIONES DE COORDINACIÓN DE LA FACULTAD** estrictamente para asuntos académicos y deberán remitirse un original a la Secretaría General;

Que, mediante carta N° 236-2016-SG-UNAJMA de fecha 05 de agosto de 2016 el Ing. Enrique Edgardo Córdor Tinoco, Secretario General de la UNAJMA, comunica que el Dr. Oswaldo Luizar Obregón, Presidente de la Comisión Organizadora de la UNAJMA ha dispuesto que las resoluciones emitidas por la Facultad se deriven a la Vicepresidencia Académica;

Que, con Resolución N° 006-2022-CFI-UNAJMA de fecha 06 de enero de 2022, se designa al Mtro. Juan José Oré Cerrón como Director de la Unidad de Investigación de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional José María Arguedas;

Que, la Dra. Norma Lorena Catacora Flores, Coordinadora de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional José María Arguedas, designado mediante Resolución N° 0127-2022-CO-UNAJMA, de fecha 25 de marzo de 2022; propone la designación de los docentes para la conformación de la Comisión de la Unidad de Investigación de la Facultad de ingeniería de la Universidad Nacional José María Arguedas, a partir de la fecha conforme al siguiente detalle:

N°	COMISIÓN DE UNIDAD DE INVESTIGACIÓN DE LA FACULTAD INGENIERÍA	CARGO
1	Mtro. Juan José Oré Cerrón	Presidente
2	MSc. David Choque Quispe	Miembro
3	Dra. María del Carmen Delgado Laime	Miembro

Que, la Coordinadora de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional José María Arguedas, dispone a la Secretaría Académica de la Facultad de Ingeniería proyectar la Resolución correspondiente, la que se aprueba con cargo a dar cuenta a la Vicepresidencia Académica;

Por estos considerandos y en uso de las atribuciones y facultades del Coordinador de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional José María Arguedas;

#### SE RESUELVE:

**ARTÍCULO PRIMERO: DESIGNAR** a los docentes para la conformación de la Comisión de la Unidad de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional José María Arguedas a partir de la fecha, con las funciones y responsabilidades inherentes a dichos cargos tal como se detalla a continuación:

N°	COMISIÓN DE UNIDAD DE INVESTIGACIÓN DE LA FACULTAD INGENIERÍA	CARGO
1	Mtro. Juan José Oré Cerrón	Presidente
2	MSc. David Choque Quispe	Miembro
3	Dra. María del Carmen Delgado Laime	Miembro



**UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA ARGUEDAS**  
**RESOLUCIÓN N° 082-2022-CFI-UNAJMA**  
**RESOLUCION DE COORDINACIÓN DE FACULTAD DE INGENIERÍA**

---

**ARTÍCULO SEGUNDO: ENCARGAR** a la Facultad de Ingeniería, ejecute y adopte las acciones que correspondan, para el cabal cumplimiento de la presente Resolución.

**ARTÍCULO TERCERO: REMITIR** la presente resolución a la Vicepresidencia Académica de la Universidad Nacional José María Arguedas y a los interesados para su conocimiento y fines pertinentes.

**REGÍSTRESE, COMUNÍQUESE Y ARCHÍVESE.**

  
UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA ARGUEDAS  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
-----  
*Dra. Norma L. Catañora Flores*  
COORDINADORA

  
UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA ARGUEDAS  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
-----  
*Mg. Enrique E. Condor Tinoco*  
SECRETARIO ACADÉMICO