



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional

Esta licencia permite a otras distribuir, combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial y, a pesar que son nuevas obras deben siempre rendir crédito y ser no comerciales, no están obligadas a licenciar sus obras derivadas bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA

EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD



CONSTANCIA

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título de **Informe final de Tesis** es:

Evaluación fitoquímica y antioxidante del aceite esencial de *Origanum Majorana* L. "Mejorana".

Presentado por:

HUAMANI SIMON, YOMIRA ANGELICA

Bachiller del nivel **PREGRADO** de la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**. El resultado obtenido es **0%** por el cual se otorga el calificativo de:

APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad.
Observaciones:

Ica, 17 de Enero de 2023


Dra. MARIA GILDA REYES DIAZ
DIRECTORA DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA


75154858
Recabido 07/02/23

UNIVERSIDAD NACIONAL “SAN LUIS GONZAGA”

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Farmacia y Bioquímica



Evaluación fitoquímica y antioxidante del aceite esencial de
Origanum Majorana L. “Mejorana”.

Salud Pública y Conservación del Medio Ambiente

INFORME FINAL DE TESIS

Autor:

Bach. HUAMANI SIMON YOMIRA ANGELICA

Ica - Perú

2023

DEDICATORIA

A mis padres Victorino Huamani Hualca y Angélica Simón Cupe quienes con su motivación y esfuerzo me han permitido cumplir uno de mis grandes sueños, gracias por inculcar en mí esfuerzo y valentía, de no temer las adversidades y de recordarme que DIOS está conmigo siempre.

A mis dos grandes amores, Lucas y Mateo, que han sido la gran parte de mi motivación para seguir día a día por mis sueños, y seguir cumpliéndolos.

AGRADECIMIENTOS

A la Mg. Rosario Ramos Gamarra quien con sus conocimientos y apoyo pudo guiarme a través de cada una de las etapas de este trabajo de investigación para alcanzar los resultados que queríamos alcanzar.

A La Facultad de Farmacia y Bioquímica por el apoyo y preparación que me permitió tener a lo largo de toda mi carrera profesional.

A Todas las Personas que de una u otra manera me apoyaron en la realización de mi presente

trabajo y poder culminar con el informe final.

ÍNDICE

Índice de contenidos

RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN.	9
1.1. Descripción de la realidad problemática	10
1.2. Antecedentes	11
1.3. Justificación e importancia	15
1.4. Objetivos de la Investigación	15
II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA.	16
2.1. Enfoque de la Investigación	
2.2. Tipo, nivel y diseño de la Investigación	16
2.3. Población y muestra	16
2.4. Criterios de inclusión y exclusión	17
2.5. Criterios éticos	17
2.6. Técnica e instrumento de recolección de la información	17
2.7. Material de trabajo	17
2.8. Proceso de acondicionamiento de la muestra	17
2.9. Tratamiento de la muestra	18
2.10. Obtención del aceite esencial	18
2.11. Determinación de los caracteres del aceite	21
III. RESULTADOS.	38
IV. DISCUSIÓN.	52
V. CONCLUSIONES.	54
VI. RECOMENDACIONES.	55
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	56
VIII. ANEXOS.	60

Índice de tablas

Tabla 1. Relación muestra – volumen	19
Tabla 2. Rendimiento del aceite esencial	38
Tabla 3. Rendimiento del extracto hidroalcohólico	39
Tabla 3. Características organolépticas	40
Tabla 4. Determinación de acidez	41
Tabla 5. Determinación de la densidad relativa	41
Tabla 6. Determinación del índice de refracción	42
Tabla 7. Análisis fitoquímico	43
Tabla 8. Determinación de la actividad anti oxidante por DPPH	44
Tabla 9. Concentración y porcentaje de inhibición del TROLOX	46
Tabla 10. Concentración y absorbancia aceite esencial de <i>Origanum Majorana</i> L	46
Tabla 11. Concentración y porcentaje de inhibición aceite esencial	50

Índice de figuras

Figura 1: Concentración y Absorbancia del TROLO	45
Figura 2. Concentración y porcentaje de inhibición del TROLOX	47
Figura 3. Concentración y Absorbancia del aceite esencial de <i>Origanum Majorana L</i>	49
Figura 4. Concentración y porcentaje inhibición aceite esencial <i>Origanum MajoranaL</i>	51

RESUMEN

En este estudio se determinó las características fitoquímicas y actividad antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Origanum Majorana L* (mejorana). Desde la obtención del extracto hidroalcohólico, determinaciones como la del rendimiento, análisis físico, análisis fitoquímico y determinación de la actividad antioxidante *in vitro* mediante el método de neutralización del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). **Objetivos:** Objetivo General: Determinar la composición fitoquímica y antioxidante del aceite esencial de *Origanum Majorana L* (mejorana). Objetivos Específicos: Obtener el aceite esencial y el extracto hidroalcohólico, Determinar los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico, Evaluar la actividad antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico frente al radical libre DPPH. **Resultados:** Se determinaron valores promedio según se indica: rendimiento de la extracción del aceite esencial: 0.94%; rendimiento del extracto hidroalcohólico: 36.33%; en las características físicas, organolépticamente se describió un aspecto líquido y denso, color amarillo pálido ligeramente verdoso, olor aromático, sabor ligeramente amargo; índice de acidez: 0.2966, densidad relativa a 20°C: 0.92325g/mL, n_D a 20°C: 1.4770. Los metabolitos secundarios determinados cualitativamente, presentes fueron sesquiterpenos, sabineno, hidrocarburos terpenicos flavonoides (antioxidante) sustancias tánicas, pentonasas, minerales, hidroquinonas (hepatotoxixas). En la de terminación de la actividad antioxidante por el método del DPPH, se encontró que el aceite esencial, presenta (IC_{50}) de 2.5288 mg/mL, equivalente, en cuanto a actividad antioxidante, al índice de concentración media del Trolox, a una concentración de 0.5843 mM.

Palabras clave: *Origanum Majorana L* (mejorana), antioxidante, DPPH.

ABSTRACT

In this study, the phytochemical characteristics and in vitro antioxidant activity of the hydroalcoholic extract of *Origanum Majorana L* (marjoram) were determined. From obtaining the hydroalcoholic extract, determinations such as yield, physical analysis, phytochemical analysis and determination of in vitro antioxidant activity by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical neutralization method. Objectives: General Objective: To determine the phytochemical and antioxidant composition of the essential oil of *Origanum Majorana L* (marjoram). Specific Objectives: Obtain the essential oil and the hydroalcoholic extract, Determine the secondary metabolites of the hydroalcoholic extract, Evaluate the in vitro antioxidant activity of the hydroalcoholic extract against the free radical DPPH. Results: Average values were determined as indicated: essential oil extraction yield: 0.94%; hydroalcoholic extract yield: 36.33%; In the physical characteristics, organoleptically, a liquid and dense appearance, slightly greenish pale-yellow color, aromatic smell, slightly bitter taste were described; acid number: 0.2966, relative density at 20°C: 0.92325g/mL, nD at 20°C: 1.4770. The qualitatively determined secondary metabolites present were sesquiterpenes, sabinene, flavonoid terpene hydrocarbons (antioxidant), tannic substances, pentonases, minerals, hydroquinones (hepatotoxins). In the determination of the antioxidant activity by the DPPH method, it was found that the essential oil presents (IC₅₀) of 2.5288 mg/mL, equivalent, in terms of antioxidant activity, to the average concentration index of Trolox, at a concentration of 0.5843 mM.

Keywords: Origanum Majorana L (marjoram), antioxidant, DPPH.

I. INTRODUCCION

Desde tiempos inmemoriales, se emplea especies vegetales como medicina, al tratarse algo, constituyendo en la actualidad, una importante alternativa económica y novedosa en el cuidado de la salud, allí radica la importancia de investigar en el tema.

La especie *Origanum Majorana L.* (mejorana), es originaria de Chipre y el sur Turquía, desde allí ha sido ampliamente difundida, consumida y cultivada en diferentes lugares en el mundo, se adapta a climas fríos y templados – cálidos.

En medicina tradicional se le emplea contra el estreñimiento y afecciones digestivas en general, para tratar casos de falta de apetito, insomnio, ansiedad y nerviosismo y antioxidante.

Presenta dos tipos de fenoles: el *carvacrol* y *timol*, y compuestos tánicos.

A nivel culinario, este componente aromático se utiliza como especia para orientar diversos productos culinarios solo o en combinación con hierbas u otras especias. Se puede comer fresco o seco y es muy versátil. Un ingrediente común en los platos italianos, también se usa en salsas de queso y pasteles.

Siempre se extraen antioxidantes naturales de diferentes especies de plantas, uno de los más importantes, son compuestos fenólicos, ocupan un lugar de mucha importancia, se hallan bastante distribuidos en todo el reino vegetal, en diferentes formas, como fenoles simples, ácidos fenólicos, derivados de ácido hidroxicinámico y flavonoides, presentan el requerimiento estructural para captar los dañinos radicales libres, con un gran potencial como antioxidantes presentes en alimentos. Muchas formulaciones y extractos con propiedades antioxidantes son obtenidos de diferentes especies vegetales, han sido desarrollados, evaluados y aplicados, agregados a diversos alimentos, bebidas, cosméticos y preparaciones farmacéuticas.

En este trabajo de investigación, realicé el análisis fitoquímico y de actividad antioxidante del aceite esencial de la especie vegetal *Origanum Majorana L. "Mejorana"*, a fin de contribuir con la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas y de revalorar las ya existentes, por lo que nos planteamos el objetivo de determinar las características físicas, fitoquímicas y actividad antioxidante *in vitro* del aceite esencial de *Origanum Majorana L. "Mejorana"* frente al radical libre DPPH.

Es importante saber que se han realizado estudios sobre la acumulación de radicales libres en el organismo, los cuales conducen al envejecimiento y muerte celular, enfermedades cardiovasculares, oftalmológicas y cáncer, entre otros problemas de salud. La disponibilidad reducida de algunas vitaminas (p. ej., A, D, E y C) es el resultado de un mecanismo complejo de oxidación de lípidos causado por una menor solubilidad de proteínas y oxidación de vitamina A, β -caroteno y ácido ascórbico.

Los antioxidantes naturales obtenidos de muchas plantas, uno de los compuestos fenólicos más importantes, ocupa un lugar importante, están ampliamente distribuidos en el mundo vegetal, en diversas formas, como fenoles simples, ácidos fenólicos, derivados del ácido hidroxicinámico. Y los flavonoides representan necesidades estructurales para eliminar los radicales libres y tienen un gran potencial, como los antioxidantes que se encuentran en los alimentos. Muchos compuestos y extractos con propiedades antioxidantes derivadas de varias especies de plantas, desarrolladas, evaluadas y utilizadas, agregadas a varios alimentos, bebidas, cosméticos y productos farmacéuticos.

1.1. Descripción de la realidad problemática

En nuestro día a día, están presentes los radicales libres o sustancias oxidantes, que están vinculadas a enfermedades degenerativas, estas pueden provenir de fuentes exógenas (radiación, contaminantes, etc.), y fuentes endógenas, que son producidas como parte natural del metabolismo de los seres vivos, ambas fuentes, finalmente, causaran daño al organismo de los seres vivos.

En la actualidad existen gran cantidad de estudios sobre el tema, promoviéndose el consumo de alimentos que contengan propiedades nutritivas y a la vez contengan sustancias fitoquímicas, con acciones biológicas beneficiosas frente a determinadas enfermedades agudas o crónicas del hombre.

La búsqueda de metabolitos secundarios con actividad antioxidante para contrarrestar los efectos de los radicales libres está en curso, y es necesario evaluar la seguridad y las dosis terapéuticas para determinar su utilidad en la lucha contra las enfermedades causadas por el estrés oxidativo causado por los radicales libres.

Estudios realizados por: Torrenegra M. 2014. Colombia. Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar extraído de especies de orégano (*Origanum vulgare*), orégano “borde blanco” (*Origanum vulgare ssp*) y oreganito (*Lippia alba mill*) cultivado en la zona norte del departamento de Bolívar (Colombia).

Concluyendo que el rendimiento de los aceites esenciales de *Origanum majorana* (mejorana), *Origanum vulgare ssp* (mejorana de borde blanco) y *Lippia alba mill* (mejorana) dependen del método de extracción utilizado para obtenerlas. Se obtuvieron concentraciones más altas de AE por destilación al vapor en comparación con la destilación por microondas; sin embargo, el segundo método es un proceso rápido y relativamente económico en comparación con la destilación del agua. Químicamente, los aceites esenciales contienen principalmente fenoles como carvacrol y timol, atribuidos a las buenas propiedades antioxidantes del orégano y el orégano blanco, según los diferentes modelos evaluados. Por otro lado, el aceite esencial de *Lippia alba* obtenido por destilación hidrolítica no demostró ser un antioxidante efectivo, posiblemente debido a su bajo contenido en timol y carvacrol (<1%).

Finalmente, el aceite esencial de *Origanum Vulgare* SSP (Orégano White Bode) mostró la mayor capacidad para inhibir la oxidación de sustratos alimentarios lipídicos, como el aceite de palma. Con los resultados obtenidos se comprobó que el aceite esencial de orégano es un antioxidante natural que se puede utilizar en los alimentos como alternativa a los antioxidantes sintéticos, ya que pueden eliminar los radicales libres y prevenir la oxidación. ⁽¹⁾

1.2. Antecedentes

- Guerra L. 2011. México. Evaluación de la actividad antimicrobiana y antioxidante de aceites esenciales de plantas usadas en medicina tradicional.

El método de la lista de hidrógeno permite la extracción total de 12 aceites esenciales de 6 plantas evaluadas del noreste de México con un porcentaje de rendimiento 0.06 y 1.93%. Entre el 85 y el 90 % de la composición de 12 aceites esenciales se determina por la cromatografía de gases y la espectrometría de masas y la cromatografía de gases con detectores de ionización de fuego, y construye su índice Covat e índice numérico. Componentes identificados a partir de 12 aceites principalmente (alrededor del 90%) monoterpenos y sesquiterpenos. Este componente puede ser un factor importante en la actividad antibacteriana del aceite. 12 Los aceites esenciales muestran radicales bajos de radicales DPPH (del 10% al 40%) a una concentración máxima de 250 ug/ml con el método DPPH. Asimismo, en la evaluación de la acción antimicrobiana, frente a microorganismos de la variedad de *Staphylococcus aureus* spp, *Staphylococcus aureus* con capacidad de resistencia frente al antibiótico Oxacilina y el *Streptococcus pyogenes*, el óleo primario obtenido por extracción única de la especie vegetal *Thymus vulgaris*, *Origanum Majorana* extracto que presenta un aspecto casi transparente y amarillento y el óleo primario correspondiente a la porción sin pigmento obtenido de las partes aéreas de la especie vegetal *Schinus molle* con mínimos resultados en relación a los antibióticos Vancomicina y Oxacilina que fueron empleados como patrones comparativos de actividad antimicrobiana. ⁽²⁾

- Acevedo D. Navarro M. Monroy L. Composición química del aceite esencial de hojas de orégano (*Origanum Majorana*).

Concluyendo que la composición química está representada por los aceites esenciales de orégano, cultivado en Sucre Colonos (Colombia), del tipo timol. Este compuesto permite dotar a esta planta de un gran valor, por su alto porcentaje en peso, siendo fuente natural de estas sustancias, aportando una amplia gama de propiedades antioxidantes, protectoras de la microflora y nutritivas, lociones, así como su uso en perfumería y cosmética. tantas aplicaciones como opciones necesarias en la industria. ⁽³⁾

- Arcila C. Loarca G. Lecona S. Gonzales E. 2010. México. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. En conclusión, en la actualidad, existe una paulatina tendencia, hacia la investigación y empleo de productos extraídos a partir de especies vegetales, como opciones para impedir la aparición y tratar patologías, en este sentido la especie vegetal *Origanum Majorana* presenta una evidente capacidad fitoterapéutica, al presentar metabolitos secundarios de reconocida actividad antioxidante, que también podrían ser utilizados en la aditivación alimentaria. El óleo básico obtenido del orégano es promotor de la inhibición mutágena, con la consiguiente utilidad en terapias anticancerígenas. La extracción hidroalcohólica del orégano presenta efecto destructivo de bacterias e insectos y volverse más eficaz o incluso más eficaz que los compuestos comúnmente utilizados para este fin. Los resultados del experimento con el orégano confirmaron el potencial de esta planta y la motivaron a aprovecharla al máximo. Es importante descubrir más sobre los beneficios del orégano y obtener una comprensión más profunda del proceso que le da a esta especie sus diversas e interesantes propiedades biológicas. ⁽⁴⁾
- Martínez F. Et al. Los flavonoides: Propiedades y efectos antioxidantes: Concluimos que la investigación ha demostrado que los aceites esenciales de orégano, tomillo y clavo tienen una actividad antioxidante significativa, particularmente contra el aceite esencial de clavo, que también mostró una actividad antibacteriana más efectiva que los controles BHT y BHA. en preparaciones de carne como el salami. ⁽⁵⁾
- Sifuentes G⁸. (2015). Investigador que ha realizado el estudio del orégano, indicando que es una especie vegetal procedente del Ande Central Peruano, que ha demostrado tenaz resistencia frente al granizo, hielo y condiciones de sequedad del terreno por periodos largos de tiempo. Se siembra y cosecha adecuadamente desde el tiempo del incanato a alturas geográficas entre los mil ochocientos a dos mil quinientos metros sobre el nivel del mar. El orégano es una especie vegetal andina de tipo hierba, de gran importancia en nutrición y en medicina tradicional, al contar con metabolitos secundarios con reconocida actividad biológica y fitoterapéutica en el incremento de la fecundidad, energético, de marcada actividad contra la oxidación celular, incrementador de la talla infantil.
- Gonzales G⁹ (2014). Revisó la información existente sobre la especie vegetal *Origanum Majorana l.* “Mejorana”, se desarrolla a dos mil metros sobre el nivel del mar, en el ande central peruano, contando con varios biotipos identificados. Se encontró información científica que da a conocer su acción mejoradora del funcionamiento sexual, como en la generación de espermatozoides, en la

reproducción en la mujer, fortalecedor de las neuronas responsables de la memoria, antidepresivo y evita la angustia, provee energía, antiinflamatorio prostático, fortalece la densidad ósea, reduce el peligro de sufrir enfermedades cardíacas, diabetes mellitus y otras patologías; evidenciándose además, que existen investigaciones que dan a conocer que su consumo prolongado, no produce daño al organismo.

- Piacente S.¹⁰(2002). Realizó la revisión científica existente en relación a la especie vegetal orégano, indicando que, a nivel mundial, existe un marcado interés por sus propiedades biológicas y fitofarmacéuticas, por ser un potente estimulador del estado físico, mental y de la fecundidad. La extracción metanólica realizada a las partes aéreas de esta especie vegetal, evidenciaron la existencia de metabolitos secundarios importantes por sus acciones benéficas en la salud del ser humano.
- Yongh O.¹¹ (2006). Realizó la revisión científica existente sobre la especie vegetal orégano, dando a conocer que se le utiliza desde la antigüedad en medicina tradicional, al presentar acciones biológicas como estimulante sexual, de la fecundidad y frente a la sintomatología del climaterio. En base a esta información, realizó la evaluación de la acción que presenta la porción etanólica, extraída de las partes aéreas de esta planta, frente a la pérdida de densidad ósea, después de la menopausia, en biomodelos experimentales, divididos en cinco agrupaciones con diferentes condiciones provocadas intencionalmente, que permitieron estudiar y dar resultados valorativos que fueron favorables para contrarrestar los efectos de la insuficiencia estrogénica y de la pérdida de densidad ósea resultante.
- Lin B.¹² (2000). Realizó la aplicación por medio bucal y digestivo, a biomodelos experimentales, del extracto seco y finamente pulverizado de las partes aéreas del orégano, evidenciándose que provoca el incremento del conteo de ejemplares hembras apareadas, el mejoramiento de la erección en los biomodelos experimentales empleados, evidenciándose la acción estimulante sexual de esta especie vegetal.
- Ruiz A.¹³ (2005). Realizó una investigación en la porción acuosa de la extracción hidroalcohólica en la especie vegetal orégano del tipo amarillo, que fue aplicado por medio bucal y digestivo, para observar los resultados en la generación de los espermatozoides. La investigación se planteó la meta de analizar la acción de esta planta en la fecundidad de biomodelos experimentales hembras y sexualmente maduras, con la finalidad de obtenerse información acerca de las variaciones producidas en el incremento del número de crías por cada parición, se realizó también, la valoración del incremento gravimétrico del útero en las ratas con el ovario extirpado. Los resultados obtenidos dan a conocer que la confirmación de que

esta especie vegetal en estudio, favorece la condición de mejorador de la fecundidad en ejemplares femeninos.

- Gonzáles G.¹⁴ (2012). Realiza la recolección de información actualizada que le permite dar a conocer que la especie vegetal *Origanum Majorana l.* “Mejorana”, de la familia botánica *Brassicaceae*, ha sido domesticada y realizado su cultivo en nuestro país, teniéndose referencias de esta planta desde hace dos mil años, empleada como saborizante de los alimentos, por su aporte nutricional y en medicina tradicional. Desde el siglo pasado, se ha encontrado evidencia de que existe una ascendente disposición a al consumo de especies vegetales importantes en fitoterapia, en este sentido, se recomienda la utilización de esta especie vegetal como incrementador de la energía física, aporte nutricional, potenciador de la fecundación y regulador de la función sexual, frente a la pérdida de la densidad ósea, prostatitis no cancerígena, fortalecedor de la retención intelectual, captación de los conocimientos y protección dérmica frente los rayos solares; existe evidencia de que su consumo favorece el mejoramiento de la función sexual, el incremento de la espermatogénica y de su capacidad de movilización.
- Broks N.¹⁵ (2008). Realiza la investigación orientada al examen de la acción de *Origanum Majorana l.* “Mejorana”, frente a la hormona femenina estrógeno y la hormona masculina del andrógeno, en la perfilación de las hormonas y en la sintomatología provocada por la posmenopausia en mujeres. Para ello, se contó con la participación de 14 personas de sexo femenino, con posmenopausia, que aceptaron ser parte del estudio con muestreo aleatorio, doble ciego, con control placebo y transversal. Para esto, se administró a cada una, 3.50 gramos por día del extracto de Orégano, por el periodo de tiempo de un mes y medio y un producto y una sustancia que no cuenta con acción terapéutica real frente a la patología ante la que se utiliza por un mes y medio. En la iniciación de la investigación, al cumplirse el mes y medio y luego a los tres meses, se realizó la toma de muestra sanguínea, para realizar la cuantificación del estradiol, de las hormonas foliculoestimulante y luteinizante, asimismo de la globulina que fija a las hormonas sexuales; se evaluó también, la graduación climática de Greenee utilizada para la evaluación del avance de la sintomatología común en la premenopausia y posmenopausia. Se evidencio la no existencia de resultados diferentes en cuanto a las cantidades presentes en sangre para las hormonas antes mencionadas. La graduación climática de Greenee dio a conocer la rebaja importante de la puntuación en la sintomatología psicológica, considerándose entre ellas, a la neurastenia y el abatimiento emocional, asimismo, se observó el mejoramiento de la patología en la función de la sexualidad, luego de la administración del extracto de orégano en los sujetos en estudio. Se llega a las

conclusiones de que la especie vegetal *Origanum Majorana L.* “Mejorana”, a una concentración de 3,50 gramos por decilitro, sirve para la reducción de las sintomatologías psicológicas, incluyéndose a la neurastenia y el abatimiento emocional, reduciéndose también, los valores de anormalidades en la función sexual en la muestra en estudio, en condición de posmenopausia, autónomamente de la acción del estrógeno y andrógeno.

1.3. Justificación e importancia.

La presente investigación justifica su importancia en la necesidad de la búsqueda de información, en la actividad biológica de las especies vegetales que son usadas en la alimentación humana, y que también pueden contener en su composición fitoquímica, metabolitos secundarios con actividad antioxidante, asunto de actualidad por su importancia y tema de investigación científica, ya que las especies vegetales contienen fitoquímicos desconocidos o poco estudiados, que pueden resultar de utilidad al proporcionar acciones benéficas ante las enfermedades, este resulta ser un motivo de investigación muy importante, al dársele utilidad de aprovechamiento en la salud de las personas, al inmenso número de especies vegetales oriundas de nuestro Perú.

1.4. Objetivos de la investigación.

Los objetivos del presente trabajo de investigación son determinar la composición fitoquímica y antioxidante del aceite esencial de *Origanum Majorana L.* (mejorana), además de Obtener el aceite esencial y el extracto hidroalcohólico, determinar los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico y evaluar la actividad antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico frente al radical libre DPPH.

Es muy importante saber que existen estudios sobre los problemas de salud asociados con la acumulación de radicales libres en el organismo, los que conducen al envejecimiento y muerte celular, enfermedades cardiovasculares, oftalmológicas y cancerígenos. La reducción de la disponibilidad de algunas vitaminas como la A, D, E y C, debido a la disminución de la solubilidad de las proteínas y a la oxidación de las vitaminas A, β -caroteno y ácido ascórbico, es consecuencia de un complejo mecanismo de oxidación lipídica.

En el presente trabajo de investigación, realizamos el análisis fitoquímico y de actividad antioxidante del aceite esencial de la especie vegetal *Origanum Majorana L.* (mejorana), con la finalidad de contribuir con la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas y de revalorar las ya existentes, por lo que nos planteamos el objetivo de determinar las características físicas, fitoquímicas y actividad antioxidante *in vitro* del aceite esencial de *Origanum Majorana L.* (mejorana), frente al radical libre DPPH.

II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA

2.1. Enfoque de investigación

En nuestra vida cotidiana, los radicales libres u oxidantes están involucrados en enfermedades degenerativas, estas pueden provenir de fuentes exógenas (radiaciones, contaminantes, etc.), y de fuentes endógenas, que son generadas como parte natural del metabolismo de los seres vivos, ambas fuentes, finalmente, causaran daño al organismo de los seres vivos.

Actualmente existe una gran cantidad de investigación sobre este tema, promoviendo el consumo de alimentos que contienen propiedades nutritivas y al mismo tiempo sustancias fitoquímicas, con acciones biológicas beneficiosas frente a determinadas enfermedades humanas agudas o crónicas.

Se realiza la búsqueda de metabolitos secundarios con efecto antioxidante, para contrarrestar los efectos de los radicales libres, y es necesario evaluar tanto la seguridad como las dosis terapéuticas, para determinar la utilidad de estos compuestos en el combate de enfermedades causadas por el estrés oxidativo de los radicales.

2.2. Tipo, nivel y diseño de investigación.

2.2.1. Tipo de investigación: Exploratoria y Explicativa.

Este estudio es experimental porque establece relaciones de causa y efecto para confirmar la verdad o falsedad de las hipótesis de este estudio. También es descriptivo porque se controlarán las variables que intervienen en el proceso de extracción para obtener un producto con las propiedades requeridas.

2.2.2. Nivel de investigación: Básica.

La investigación será de nivel básico debido a la información que se busca y recién producto de la información hallada se podrá plantear trabajos aplicativos con los datos hallados.

2.2.3. Diseño de investigación: Experimental

El diseño es de tipo experimental de trabajo en el laboratorio de análisis instrumental y control de calidad, haciendo uso de reacciones químicas para buscar información desconocida y encontrar la dependencia de las variables independientes en función al resultado de la variable dependiente.

2.3. Población y muestra

2.3.1. Población

El material de trabajo de la presente investigación, fue la especie vegetal *Origanum Majorana L.* (mejorana).

2.3.2. Muestra

Se recolectó 500 gramos de muestra para su acondicionamiento y traslado al

laboratorio.

2.4. Criterios de inclusión y exclusión

2.4.1. Criterio de inclusión

Hojas recolectadas directamente de la fuente de muestreo y que no presentan signos de deterioro.

2.4.2. Criterio de exclusión

Hojas recolectadas directamente de la fuente de muestreo y que presentan signos de deterioro.

2.5. Criterios éticos

No aplica al tipo de estudio

2.6. Técnica e instrumento de recolección de información

Todos los análisis se realizaron por triplicado, los resultados finales se expresan como valores promedio \pm la varianza. para la especie vegetal. y revisión bibliográfica para informarnos de los diferentes procesos para la obtención y caracterización de aceites vegetales.

2.7. Material de trabajo.

El material de trabajo de la presente investigación, es la especie vegetal *Origanum Majorana L.* (mejorana).

2.8. Proceso de acondicionamiento de la muestra.

2.8.1. Recolección

La recolección de la muestra se realizó en el mercado modelo de la ciudad de Ica, se obtuvo 500 gramos de muestra.

2.8.2. Transporte

Las muestras fueron empacadas en bolsas de papel kraft nuevas, como empaque primario, y llevadas al laboratorio de Análisis Instrumental y Control de Calidad de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNICA.

2.8.3. Certificación botánica. ^(Anexo 03)

La identificación y definición de botánica o taxonomía es muy importante en la descripción de las especies vegetales. Esta identificación no se puede hacer por nombre nativo porque una misma especie puede tener diferentes nombres nativos y diferentes especies pueden ser identificadas por el mismo nombre nativo. La clasificación de plantas proporcionada tiene un nombre científico. Los nombres científicos son siempre binomiales en latín, el primer término define el género y el segundo término define la especie. El binomio latino va seguido del apellido del autor que describe la planta, a menudo abreviado. Finalmente, se agregó la identificación con el nombre del botánico de la zona donde se encontraba el objeto.

La Botánica está certificada por el educador y Biólogo David Miranda Huamán, profesor de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga.

2.8.4. Selección.

Se seleccionó las muestras que estén en buenas condiciones, sin que muestren signos de estar dañados o manchados, ya que esto puede ser indicio de presencia de enfermedades, parásitos, insectos o roedores.

2.8.5. Limpieza.

Se limpió con un paño suave, limpio (de primer uso) y húmedo (agua potable), luego se repetirá la limpieza con agua destilada, para la eliminación del polvo y suciedad.

2.8.6. Reducción del tamaño de partícula.

Se redujo el tamaño de partícula mediante el uso de una tijera de metal de primer uso, para evitar pérdida de aceites esenciales.

2.8.7. Almacenamiento.

Las muestras de suelo se almacenaron en tapas amarillas herméticamente cerradas para protegerlas de la luz y la identificación del título del artículo científico, autor, especie vegetal, partes utilizadas y fecha de almacenamiento para ser transportadas para su remoción del suelo.

2.9. Tratamiento de la muestra

Obtención de *Origanum Majorana L*

El material vegetal a usar fue procedente de la provincia de Ica de la Región Ica.

2.10. Obtención del aceite esencial. ^(Anexo 04)

Los aceites esenciales están emparejados. La destilación al vapor es el proceso de extracción de aceite esencial más común y no es adecuado para flores o ingredientes secos. En esta técnica, esta propiedad se utiliza para garantizar que las moléculas de agua coexistan con las moléculas de aceite en condiciones de vapor de agua. La extracción se realiza cuando el vapor entra en contacto con el material vegetal y libera la esencia y luego la densidad.

Procedimiento:

La muestra de aceite esencial de la especie vegetal en estudio fue obtenida mediante los métodos extractivos del reflujo y del equipo Soxhlet; empleando alcohol etílico como disolvente, con la finalidad de alcanzar la más adecuada proporción entre la muestra en estudio, el volumen y el periodo de tiempo de contacto entre la muestra y el solvente.

– **Método extractivo por reflujo**

El método extractivo por reflujo se describe a continuación:

Nº PROCESO	PROCESO ESPECIFICO	PESO DE MUESTRA (g)	VOLUMEN DE SOLVENTE (mL)	TIEMPO DE EXTRACCIÓN (minutos)
1	A	50	200	120
	B	50	200	180
	C	50	200	240
	D	50	200	300
2	A	50	300	120
	B	50	300	180
	C	50	300	240
	D	50	300	300
3	A	50	400	120
	B	50	400	180
	C	50	400	240
	D	50	400	300
4	A	50	500	120
	B	50	500	180
	C	50	500	240
	D	50	500	300

En la tabla anterior se presenta la información que indica:

En el proceso (muestra) 1 se analizó por cuadruplicado en cada proceso específico (A, B, C, D)

Se tomó el mismo peso de cincuenta gramos de cada muestra

Se empleó volúmenes variables del solvente que fluctuó entre 200 a 500 mililitros,

Se empleó tiempos variables de extracción que fluctuaron entre 120 a 300 minutos.

El procedimiento extractivo por reflujo consiste en la valoración gravimétrica de cincuenta gramos de la alícuota en estudio

Se trasladó la muestra al matraz que sirve de base del reflujo

Luego se añadió la cantidad del solvente expresado en mililitros indicado en la tabla

Se conectó la porción de refrigeración y se dejó circular el agua

Se conectó la electricidad a la manta calentadora y se encendió para iniciar el funcionamiento

Se realizó el proceso extractivo por el tiempo indicado en la tabla

Se realizó el control al observarse el inicio del goteo del disolvente en el equipo de reflujo

Al culminarse el tiempo indicado se apagó la manta de calentamiento

Luego de alcanzarse el enfriamiento, se filtró y trasvasó el extracto a un vaso Erlenmeyer

El vaso Erlenmeyer conteniendo el extracto fluido, se llevó a la estufa de laboratorio para su desecación, a una temperatura estable de 40°C, hasta alcanzar la evaporación total del solvente

Para realizar el análisis del extracto seco, se pesa una porción y se solubiliza empleando agua destilada

– **Método extractivo por equipo Soxhlet.**

En este método se aplicó la extracción continuada, hasta que se agoten los principios activos presentes en la muestra en estudio

Se aplicó la correlación entre el peso de la muestra, volumen del disolvente y tiempo de extracción, según se indica en la tabla:

Nº PROCESO	MUESTRA (g)	VOLUMEN DE SOLVENTE (ml)	TIEMPO DE EXTRACTIVO (minutos)
1	50	200	Por observar
2	50	300	Por observar
3	50	400	Por observar
4	50	500	Por observar

El método extractivo emplea el material de vidrio Pyrex denominado Soxhlet, el cual tiene un volumen de quinientos mililitros (utilizado en los procesamientos 1 y 2), y de mil mililitros (utilizado en los procesamientos 3 y 4).

El procedimiento Soxhlet, permite realizar la separación de metabolitos secundarios en la muestra en estudio, el cual finaliza en el momento en que, al estar en contacto el solvente con la muestra en estudio, ya no se extrae más el óleo primordial. Se realiza mediante el siguiente procedimiento:

- Se armó el equipo de destilación, se introdujo 300 mL de agua destilada y 100g de la especie vegetal en estudio humectada en el balón de pyrex, se procedió a su calentamiento con una plancha de calentamiento a una temperatura que fluctuó entre los 80 a 90°C.
- Con un termómetro de laboratorio se controló la temperatura cuidando que no alcanzara la temperatura de ebullición del agua.
- El vapor de agua, al entrar en contacto con el vegetal, arrastró el aceite liberado en forma de vapor.
- El vapor se hizo pasar a través del refrigerante de vidrio con una corriente de agua fría circulante para su enfriamiento y condensación, el líquido extraído se recibió en una pera de bromo.
- Por diferencia de densidad, la mezcla se separó, quedando el aceite sobre el agua. Se abrió la llave de la pera de bromo para eliminar el agua, dejando únicamente el aceite esencial de la especie vegetal en estudio.
- Finalmente se adicionó 5 mL de acetato de etilo para facilitar la separación de la mezcla. Se esperó diez minutos para la separación del resto del agua y la volatilización del acetato de etilo, el aceite esencial resultante fue almacenado en una fiola pequeña.
- Finalmente se desmontó cuidadosamente y lavó el equipo de destilación.

2.11. Determinación de los caracteres del extracto hidro alcohólico del ceite de orégano

El extracto del aceite de orégano fue sometido a análisis, para la determinación de sus caracteres sensoriales, físicos y fitoquímicos:

– Caracteres sensoriales

Coloración y apariencia

Se midió dos mililitros del aceite de orégano extraído en el paso anterior

Se trasvaso a un tubo de ensayo con tapa hermética y se observó visualmente su coloración y apariencia, para realizar su descripción

Gusto

Con ayuda de un gotero de primer uso, se tomó dos gotas del aceite de orégano extraído

Se trasladó el aceite esencial a una cuchara de primer uso

Se traslado a la lengua del evaluador para su descripción del gusto

Aroma

Con ayuda de un gotero de primer uso, se tomó dos gotas del aceite de orégano extraído

Se trasladó el aceite esencial a una luna de reloj de primer uso

El analista acercó sus fosas nasales para olfatearla la muestra y realizar la descripción del aroma de la muestra en estudio

– **Caracteres físicos**

Se describió los siguientes caracteres físicos

Rendimiento del aceite esencial.

Sirve para medir el volumen de aceite esencial obtenido en relación al peso de la muestra sometida al proceso de extracción respectivo.

Esta relación se expresa porcentualmente o en gramos de aceite esencial por cada cien gramos de materia vegetal procesada

De esta forma se evalúa la eficiencia del método extractivo empleado, empleando la fórmula de la evaluación del rendimiento:

$$\% \text{ de rendimiento} = Xg * 100 Yg$$

Donde:

%= Porcentaje de rendimiento

Xg= gramos de materia prima

Yg= gramos del aceite esencial

– **Análisis fitoquímico**

La identificación de los metabolitos secundarios se realizará con reactivos de coloración y precipitación, según indica la marcha fitoquímica.

Los metabolitos secundarios determinados en la muestra en estudio fueron los siguientes:

Alcaloides:

Se realizarán empleando los reactivos Dragendorff, Mayer, Wagner y Hager.

Preparación de los reactivos:

Mayer:

Se disuelve 1.36 gr de HgCl² (cloruro de mercurio) en 60mL de agua y 5 gr de KI (yoduro de potasio) en 10mL de agua,

Ambas soluciones se combinaron y aforaron a 100 mililitros.

Se agregó el reactivo a la solución previamente removida con HCl diluido (ácido clorhídrico) o H₂SO₄ (ácido sulfúrico).

La solución no debe contener ácido acético ni etanol.

Solo es necesario agregar unas pocas gotas de reactivos ya que algunos alcaloides solubles son más reactivos.

Al ser combinada con la muestra acidulada en estudio, el resultado es afirmativo a presencia de alcaloides, al formarse un precipitado blanquecino.

Hager:

Esta solución química se preparó realizando la saturación de cincuenta mililitros de agua destilada con ácido pícrico.

Al ser combinada con la muestra acidulada en estudio, se observó la formación de un sedimento amarillento que indicó el resultado afirmativo a presencia de alcaloides en la muestra en estudio

Wagner:

Esta solución química se preparó disolviendo 1.26 gramos de Iodo re sublimado y 2.00 gramos de Ioduro potásico en 25 mililitros de agua destilada

Esta solución química, se aforó hasta alcanzar un volumen de 100 mililitros en una fiola del mismo volumen

Al ser combinada con la muestra acidulada en estudio, el resultado es afirmativo a presencia de alcaloides, al observarse la formación de un sedimento con aspecto floculado de coloración marrón

Dragendorff.

Esta solución química se subdivide en dos fracciones:

La fracción A se obtiene disolviendo 0.85gramos de la sal de nitrato de bismuto hidratado en 20 mililitros de ácido trioxonítrico

La fracción B se obtiene disolviendo 27.2 gramos de Ioduro potásico en 50 mililitros de agua destilada.

Se realiza la combinación de ambas fracciones y se deja en reposo por 24 horas

Se inclina el recipiente para retirar las partículas no disueltas de nitrito potásico

Se enrasa a 100 mililitros.

Al ser combinada con la muestra acidulada en estudio el resultado es afirmativo, al formarse un sedimento de tonalidad rojiza, anaranjada o marrón, que persistan por veinticuatro horas.

Método identificación de la presencia de alcaloides en la muestra

Para evaluar el contenido de alcaloides en el extracto alcohólico de orégano se realizó lo siguiente:

Se tomó 5 mililitros del destilado, se agregó 2 mililitros de la solución de ácido clorhídrico al 10%, homogenizándola por inversión repetida

Se llevó a calentamiento en un equipo térmico o baño María, se agitó suavemente por 5 minutos, se dejó en enfriamiento y filtró.

Se enumeró cinco tubos de ensayos del uno al cinco

Se colocó 1 mililitro del extracto alcohólico filtrado, acidificado y enfriado en cada uno de los cinco tubos de ensayo.

Se adicionó cinco gotas del reactivo de Mayer al tubo número 1

Se adicionó cinco gotas del reactivo de Hager al tubo número 2

Se adicionó cinco gotas del reactivo de Wagner al tubo número 3

Se adicionó cinco gotas del reactivo de Dragendorff al tubo número 4

Al tubo número cinco no se le adicionó ningún reactivo, solo contiene el extracto hidroalcohólico, para poder usarlo como testigo o comparación del color y aspecto

La observación de cambio en la coloración original o formación de aspecto turbio o formación de sedimentos de coloración anaranjado, blanquecino, blanquecino cremoso o marrón respectivamente, en un mínimo de tres tubos de ensayo, indicó presencia positiva de alcaloides

Método de Bornträger para identificación de quinonas

Se recogió un mililitro de la fracción alcohólica extraída y se desecó en la estufa

Se disolvió en un mililitro cloruro de metileno

Se agregó un mililitro de solución de hidróxido de sodio al 5%

Se homogenizó mediante la agitación suave

Se esperó un tiempo para que la solución se separe en fases

Se formó una porción básica con agua que se ubicó en la parte de encima, adquiriendo una coloración rosada o roja, lo que significa un resultado favorable a presencia de quinonas en la muestra en estudio. ⁽²¹⁾

Triterpenos y esteroides (Reacción Liebermann Burchard).

Se colocó 0.5 mL de la muestra, se le agregó 0.5 mL de anhídrido acético y 1 gota de ácido sulfúrico concentrado.

La reacción es positiva al aparecer una coloración intensa que puede ser azul, verde o naranja. ⁽¹⁸⁾

Saponinas.

Las saponinas se encuentran en una variedad de plantas, incluidas la alfalfa, la soja y las semillas de frijol, y se ha demostrado que afectan negativamente la asimilación de los alimentos. Es un factor fitoquímico tóxico termoestable.

Procedimiento

Se pesó 5 gramos del extracto hidroalcohólico desecado

Se le agregó 50 mililitros de metanol

Se llevó a destilación en el Soxhlet para la obtención de una fracción metanólica.

Este extracto obtenido se llevó a sequedad en la estufa

Una alícuota de este extracto seco se disolvió, en un tubo de ensayo, con agua desionizada caliente

Se llevó a calentamiento por quince minutos en el equipo baño maría a temperatura de 70° C

Luego, se agitó en forma vigorosa por cinco minutos.

La aparición espumosa con aspecto de colmena de abejas, que permanezca permanente por al menos treinta minutos, indica presencia de saponinas en la muestra en estudio. ⁽²⁰⁾

Flavonoides.

En la determinación de los flavonoides en el extracto acuoso, se procedió de la siguiente manera:

Se midió un mililitro de la fracción obtenida con el agua destilada, empleando una pipeta volumétrica de un mililitro y se trasladó a tubo de ensayo

Se le adicionó un pequeño trocito de magnesio.

Se agregó un mililitro de ácido hidroclicórico al tubo de ensayo, tratando en lo posible de que se deslice suavemente por sus paredes.

Se permitió que el reactivo repose por cinco minutos

Se realizó la observación de minuciosa del resultado de los reaccionantes

Se evidencia la presencia de flavonoides mediante la aparición del color a naranjado o violáceo, indicándose un resultado afirmativo. ⁽²¹⁾

Compuestos fenólicos (tricloruro férrico).

Al formarse una coloración rojo vino al agregar el reactivo del tricloruro férrico, no indica la presencia de compuestos fenólicos en general.

Procedimiento analítico:

Se midió 0.2mL de extracto acuoso.

Luego se le agregó 1 gota de la solución de cloruro férrico al 0.1%.

Al realizar la observación, el cambio de coloración a rojo vino, indicó la presencia de compuestos fenólicos en la muestra. ⁽²⁰⁾

– **Características físicas.**

Mediante métodos físicos de análisis puede determinarse y establecerse la calidad de una droga, además de completar su identificación, entre ellos tenemos: ⁽²¹⁾

Análisis gravimétrico del contenido de humedad

Justificación

Este análisis se realiza mediante la eliminación del fluido acuoso presente en la muestra en estudio, mediante la elevación de la temperatura hasta obtenerse el hervor del agua, con la consiguiente disminución del pesaje, este resultado, es expresado porcentualmente.

Método analítico

Se toma y pesa un vaso Erlenmeyer de 50 mililitros

Se homogeneiza la muestra y se mide 10 mililitros de la muestra en estudio, se transfiere al vaso Erlenmeyer

El vaso Erlenmeyer se colocó en la estufa de secado a una temperatura de cien grados centígrados durante quince minutos

Se trasladó al desecador para enfriamiento.

Luego, se trasladó otra vez, a la estufa a cien grados centígrados por quince minutos

Este paso se repite hasta conseguir un peso constante.

Formula a emplear:

$$\text{Contenido de agua (\%)} = \frac{\text{Disminución de la masa} \times 100}{\text{Masa de la muestra}}$$

Identificación de la consistencia empleando el procedimiento picnométrico

Justificación

El método picnométrico utiliza un aparato de medida de volumen llamado picnómetro, herramienta de medida con capacidad volumétrica es conocida y expresado en mililitros y es utilizado a una temperatura dada.

Es una herramienta sencilla, empleada para identificar con exactitud la consistencia de los fluidos.

Para esta determinación, es necesario conocer la masa del picnómetro, la masa del agua pura y hacer una relación entre sus pesos, lo que dará a conocer su consistencia o densidad

Materiales

Jeringuilla de inyectable

Herramienta picnométrica lavada y secada.

Vaso Erlenmeyer por cien mililitros

Metodología

En una báscula analítica, se pesó la masa de la herramienta picnométrica vacía (peso 1).

Se realizó el llenado de la herramienta picnométrica hasta la línea de enrase con agua desionizada con ayuda de la jeringuilla

Se puso su tapa, observándose el derramamiento de una porción del agua desionizada, por lo que se secó el exterior del recipiente.

Se pesó la herramienta picnométrica conteniendo el agua desionizada.

Se realizó por triplicado la prueba, obteniéndose un valor medio

Se registro este valor medio (peso 2)

Se llevó la herramienta picnométrica a la estufa de secado a una temperatura de 60°C, durante media hora

Se descartó el agua desionizada de la herramienta picnométrica y se llevó a la estufa de secado

La herramienta picnométrica fue llenada con la con oleo esencia de la especie vegetal en estudio

Se eliminó con papel tisú los restos que hubieran sido derramados en las paredes exteriores

Se pesó y anotó

Se realizó por triplicado la prueba, obteniéndose un valor medio

Se anotó este valor medio (peso 3)

Fórmula:

$$\text{Densidad media} = \text{masa del óleo} / \text{masa agua desionizada}$$

En el cual:

Densidad media = Densidad de la alícuota en estudio.

Masa del óleo = Masa promediada (determinación triplicada)

Masa del agua desionizada = Masa promediada (determinación triplicada)

Cuantificación del contenido de residuos calcinados por gravimetría

Justificación

Método basado en la calcinación de un compuesto de origen orgánico. El contenido de ceniza de un compuesto de origen orgánico, es el residuo mineral obtenido luego de ser incinerado, compuesto principalmente por sales y óxidos

Metodología

Se cogió 3 crisoles convenientemente lavados y secos

Se pesó cada uno de ellos y se registró

Se colocó cinco gramos de la muestra en estudio homogénea

Se trasladó a una placa de calentamiento a una temperatura de 100°C, se calentó y carbonizó con precaución

Luego se trasladó al horno de incineración a una temperatura de 600°C (± 50°C) por 120 minutos

Se dejó en enfriamiento por una hora y pesó

Este paso se repite hasta conseguir un peso constante.

Formula a emplear:

$$\text{Porcentaje de ceniza} = \frac{\text{Masa de las cenizas} \times 100}{\text{Masa alícuota en estudio}}$$

Valoración de la acidez

Fundamento.

La valoración de la acidez de una muestra, viene a ser la expresión como porcentaje de los ácidos grasos libres contenidos en el aceite. En los aceites vegetales se expresa como si todos los ácidos libres fueran ácido oleico ($C_{18}H_{34}O_2$).

Determina la cantidad de ácidos grasos libres presentes en un aceite, expresados en ácido oleico (%).

Consiste en una valoración ácido-base, como reactivo valorante se empleó una disolución de KOH 0,1N estandarizada previamente y como indicador se usa una solución hidroalcohólica 7:3 de fenolftaleína al 1%.

Las grasas biosintéticas son neutras, lo que significa que los aceites que se encuentran en las aceitunas sanas tienen un 0% de ácidos libres. Por lo tanto, la presencia de ácidos grasos libres es una anomalía provocada por factores como el mal estado de la fruta, la manipulación o el almacenamiento inadecuados. La acidez es un parámetro negativo para su uso en alimentos por encima de un cierto límite. Un índice de acidez muy bajo corresponde a un aceite de alta calidad, un valor cercano a 0,1 indica un estado ideal del aceite y un manejo adecuado durante la producción.

Justificación

Viene a ser, la valoración gravimétrica del hidróxido de potasio requerido para realizar la neutralización del ácido graso libre, presente en una muestra grasa.

Se expresa porcentualmente, e indica la cantidad del ácido graso libre, presente en cien gramos de muestra grasa; mayormente, por ser uno de los contenidos principales, se indica como acidez oleica.

Material

2 matraces por doscientos cincuenta mililitros.

1 pipeta volumétrica de diez mililitros

1 balanza de laboratorio.

2 buretas con graduación de veinticinco mililitros

2 probetas de cien mililitros

Reactivos:

Solución NaOH 0.2 N.

Solución de fenolftaleína 2%.

Etol 96°

Metodología

Se valoró gravimétricamente 28.4 gramos de la muestra y se colocó en uno de los dos matraces de ciento cincuenta mililitros

Se añadió cincuenta mililitros de etanol alcalinizado

Se añadió dos mililitros de la solución de fenolftaleína

Se llevó a calentamiento a una temperatura de sesenta grados centígrados

Se realizó la titulación en bureta cargado con la solución alcalina de hidróxido de potasio 0.2N

Se empleó el agitador magnético en el proceso de titular la muestra, para mantenerla homogénea y a una temperatura estable

La valoración culminó cuando se formó una coloración rosa grosella persistente por al menos treinta segundos. ⁽²³⁾

Se expresó el porcentaje de la acidez oleico con la aplicación de la siguiente fórmula:

$$\text{Acidez oleica porcentual} = \frac{\text{Vol X Normalidad X 282}}{10 \text{ X masa}}$$

Donde:

Vol es el volumen de álcali (NaOH o KOH) gastado en ml.

Normalidad del reactivo alcalino

282 es el peso molecular del ácido oleico.

10. Se divide entre este valor para calcular directamente el porcentaje.

El peso de la muestra es “p” expresado en gramos.

Valoración del Iodo volumétricamente

Justificación

Esta determinación se fundamenta en que la muestra en estudio cuenta con enlace doble en su estructura química estructura , lo que la hará reactiva frente al reactivo

químico del reaccionan con el Iodo Mono cloruro, solubilizado en una combinación clorofórmica y acética, denominado combinación de Wijs, en mínimo, pero valorado exceso.

Se agrega mercurio iónico como acelerante de los reactivos, al completarse el proceso analítico, la demasía de reactivo de Iodo mono cloruro es tratado con la solución acuosa de potasio yodurado, para liberar el yodo, que será valorado con la solución patrón de sodio tiosulfato.

En la valoración volumétrica del yodo, se valora el contenido de enlaces dobles, contenidos en compuestos grasos o aceite. La expresión se realiza como contenido gravimétrico del yodo reaccionante con los enlaces dobles contenidos en cien gramos de grasa o aceite analizado. Es necesario que se disuelva la porción en estudio, previamente pesada e incorporarles los solventes no polares Tricolorometano y ácido etanoico

Material

Matraz

Vaso Erlenmeyer

Buretas

Probetas

Reactivos

Solución clorofórmica

Ácido etanoico

Potasio ioduro

Sodio tiosulfato

Fécula químicamente pura

Metodología

Se realizó el pesado de un gramo del aceite esencial en estudio, se depositó en un matraz de abertura pulida de ciento veinticinco mililitros

Se añadió diez mililitros de Tricolorometano

Se añadió diez mililitros de ácido acético

Se agregó diez mililitros de la combinación de Wijs

Se colocó en lugar carente de luz por una hora

Se agregó diez mililitros de ioduro de potasio al quince por ciento

Se agregó cincuenta mililitros de agua desionizada

Se tituló la combinación de yodo formado por la separación de Wijs

Se tituló con un medio valorado de sodio tiosulfato 0.1 normal

En forma paralela, se corrió un blanco que contiene los reactivos descritos sin la porción en análisis

Se tituló con la solución de sodio tiosulfato 0.1 normal

Formula:

$$IY = (VB-VM) \times N \times 0.127\text{g/meq} \times 100$$

Donde:

IY = gramos de Iodo absorbido por cada cien gramos de muestra

VB = Volumen del sodio tiosulfato como gasto valorante en blanco.

VM = Volumen sodio tiosulfato como gasto valorante en muestra

N = Normalidad del sodio tiosulfato

0.127 = valor de los miliequivalentes del iodo

El peso muestral es de un gramo

Índice de peróxido

Es la cantidad de peróxido en la muestra (expresada como miliequivalentes de oxígeno activo por kilogramo de grasa) lo que hace que el yoduro de potasio se oxide bajo ciertas condiciones de operación. Las muestras de prueba se disuelven en ácido acético y el Tricolorometano se trata con una solución de yoduro de potasio. El yodo liberado se titula con solución estándar de tiosulfato de sodio.

El índice de peróxidos viene a ser la capacidad del Oxígeno activo explícito indicado como mili equivalencia del Oxígeno por cada mil gramos de muestra lipídica, valorada a través del titulado del yodo libre por el sodio tiosulfato, es necesario que la grasa muestreada haya recibido el tratamiento específico previo, con la solución de potasio ioduro en ácido etanoico; información relevante sobre el índice de óxidos de la muestra lipídica en estudio. Este método utiliza la capacidad reactiva de los grupos peróxidos frente al potasio ioduro, que van a formar alcohol y iodo básico.

Metodología.

Es necesario realizar la determinación del estado de oxidación inicial del aceite antes de que tenga un olor y sabor rancio. Las grasas se oxidan cuando se exponen al oxígeno atmosférico. Cuando las grasas comienzan a oxidarse, se forman varios compuestos, incluidos los peróxidos, que se consideran los principales productos de oxidación. Este índice también indica la capacidad de descomposición de ciertos nutrientes, como la vitamina E, y se mide en miliequivalentes (mEq) de oxígeno activo por kilogramo con un límite de absorción de 20.

Esta es la cantidad (expresada en los contaminantes del entorno de oxígeno activo por kilo grasa) en muestras que oxidarán yoduro de potasio en ciertas condiciones de funcionamiento. La prueba, disuelta en ácido acético y Tricolorometano,

tratada con solución de yodo de potasio. El yodo lanzado es el título de la solución estándar de tiosulfato de sodio.

Materiales:

Matraz de tapa esmerilada de ciento cincuenta mililitros

Bureta volumétrica de diez mililitros

Probeta de cien mililitros

Probeta de diez mililitros

Pipeta volumétrica de un mililitro

Fiola de cien mililitros

Sustancias reactivas:

Tricolorometano.

Ácido etanoico

Potasio ioduro.

Sodio tiosulfato 0.01 N.

Solución de fécula 1 %.

Equipos:

Bascula de laboratorio

Procedimiento:

Se pesa el matraz de boca limada de ciento cincuenta mililitros de capacidad con tapa, completamente lavado y secado.

Se añadió, en forma rápida, dos gramos de la grasa en estudio.

Se agregó veinticinco mililitros de la combinación de triclorometano con ácido etanoico en proporción de 15:10.

Se agregó un mililitro de la combinación hasta alcanzar la saturación de potasio ioduro

Se cerró el matraz esmerilado con su tapa y agitó por unos minutos

Se mantuvo protegido de la luz por cinco minutos.

Se agregó setenta y cinco mililitros de agua desionizada y se agitó en forma vigorosa

Luego se valoró la cantidad de iodo libre con el sodio tiosulfato y se agitó agregando la fécula .

Se produce un cambio de coloración, identificable al virar de morado a morado descolorido o con suciedad

El titulado debe hacerse con agitación vigorosa y permanente, a continuación de cada adición de sodio tiosulfato.

Asimismo, se realizó la misma determinación en blanco (con las combinaciones químicas, pero sin muestra)

El contenido más elevado permitido para grasas y aceite de uso alimentario es de veinte miliequivalentes por cada mil gramos de muestra.

Formula:

$$\text{Índice de peróxidos (I.P.)} = (V - V_0) \times N \times 1000 \text{ (mili equivalente/Kg.) } p$$

Entonces

V = gasto en mililitros de sodio tiosulfato

V₀ = gasto en mililitros en el blanco.

N = Normalidad del sodio tiosulfato sódico

P = masa en gramos de la porción en estudio

Índice de refracción n_D a 20°C.

El índice de refracción es una característica constante de cualquier sustancia, es la relación del ángulo de incidencia del rayo de luz a la luz y el pezón a medida que la luz pasa a través del medio. Esta relación está determinada por la siguiente ecuación:

$$\text{Sen } i / \text{Sen } r = n$$

Por lo tanto, el refractómetro se utiliza como principio de medición, determinando el ángulo crítico, representando el contraste de luz y oscuridad en el campo de visión. La línea divisoria entre ambos campos (superior e inferior) produce la determinación de la inclinación incidente de la luz.

Metodología

Se agregó encima del prisma de valoración, gotas de agua desionizada, empleando una bagueta de extremos redondos.

Se ajustó el instrumento refracto métrico, ubicándose la región espectral visible, que se observa en la raya limítrofe del área de visualización, se movió la perilla de compensación cromática

Se colocó el encuentro reticular encima la raya limítrofe de las regiones clara y oscura.

Luego de haber ajustado el equipo para su funcionamiento adecuado, se colocó gotas de porción a analizar encima del prisma de valoración.

Se cerró el prisma termostalizado y se enfocó en dirección a la fuente de luz natural, por medio de un espejo, para el rayo de luz llegue directamente en el ingreso del termo prisma de valoración

Se procedió de igual manera con el agua desionizada.

Se realizaron 3 mediciones y se calculó el valor medio, con la salvedad de que los valores de las mediciones no serán diferentes en más de 0.002 unidades. ⁽²³⁾

Valoración de la capacidad saponificante

Justificación

La valoración de la capacidad saponificante se explica como la masa expresado en miligramos de KOH, que se requiere para para producir la saponificación de un gramo de muestra lipídica

La muestra problema, de origen lipídico, debe ser admisiblemente purificada, este procedimiento implica la sistemática para obtener la depuración de los lípidos a analizar, ya que la capacidad saponificante tiene una relación inversa con la extensión del ácido graso que constituye a los glicéridos lipídicos

Materiales

Bascula de laboratorio

Buretas.

Matraz Erlenmeyer por doscientos cincuenta mililitros

Pipeta.

Plancha de calentamiento

Materiales de reflujamiento

Reactivos

Disolución acuosa de cloruro de hidrógeno 0.1N

Solución etanólica de hidróxido de potasio 0.1 N

Solución indicadora de fenolftaleína 1%

Metodología

Se pesó con precisión dos gramos de la alícuota en estudio, en un matraz de boca limada de doscientos cincuenta mililitros.

Se añade con precisión veinticinco mililitros de la solución etanólica de hidróxido de potasio 0.1N

Se adaptó la porción de refrigeración del equipo reflujador.

Se llevó a ebullición, manteniéndolo por una hora.

Se retiró el generador calorífico y se añadió cinco gotas del reactivo de fenolftaleína

Se valoró en caliente con la solución acuosa de cloruro de hidrógeno 0.1N

Se realizó la misma prueba en blanco.

Formula:

Los resultados obtenidos, son expresados como la masa (mg) de KOH que se requiere para la saponificación de un gramo de muestra lipídica, se le denomina como Índice de saponificación:

$$\text{Índice de saponificación} = \frac{56'1 \cdot N \cdot (V - V')}{m}$$

Entonces:

- N = Normalidad de la solución acuosa de cloruro de hidrógeno
 V = Mililitros de la solución acuosa de cloruro de hidrógeno gastado en el análisis del blanco.
 V' = Mililitros de la solución acuosa de cloruro de hidrógeno gastado en el análisis de la alícuota en estudio.
 M = masa de la alícuota en estudio

– **Determinación de actividad antioxidante *in vitro* frente al radical libre DPPH.**

Se utilizó el método de captación de radicales libres 2,2-DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZIL (D. P. P. H.). A este radical le falta un electrón cuyo color púrpura se vuelve amarillo pálido en presencia de agentes oxidantes. La espectrofotometría se realizó a 517 nm. Las moléculas de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo se caracterizan por radicales libres estables basados en el movimiento de electrones libres en una molécula común, por lo que las moléculas no se contraen, como ocurre en la mayoría de los casos. radicales libres. Del Cupation también produce un color púrpura intenso caracterizado por una banda de absorción con una resolución de etanol centrada alrededor de 520 nm.

Los resultados son expresados en unidades aceptadas internacionalmente como unidades de capacidad antioxidante equivalente en mM de trolox. ⁽²⁴⁾

Método del DPPH.

Se utilizó el procedimiento de Brand-Williams et al (1,995) modificado, 40 microlitros de muestra fueron adicionados a 960 microlitros de la disolución de metanol con el D. P. P. H., para evaluar la competencia de cada muestra en la captación de los radicales D. P. P. H., lo que se evidencia mediante el descenso de la absorbancia, realizándose la lectura tras treinta minutos de producida la reacción química, en ausencia de luz solar, el análisis se realiza espectrofotométricamente empleándose la longitud de onda de 517 nanómetros, realizándose la comparación de los valores obtenidos en las muestras frente a la curva referencial, elaborada con los resultados de las lecturas en el espectrofotómetro del Trolox, empleado como guía primaria, resultantes que se expresan como valoración del T.E. A. C. (mili moles de Trolox por cada cien gramos de muestra).

La absorbancia se midió en un espectrofotómetro UNICO, y se calculó el porcentaje de inhibición (% Inh.) usando la siguiente ecuación: ⁽²⁴⁾

$$\text{Porcentaje de inhibición} = 1 - \frac{A}{A B} \times 100$$

Por tanto:

A = Valor de absorbancia de la dilución que corresponde a la muestra.

A B = Valor de absorbancia del blanco (solución de D. P. P. H.).

Valoración de la inhibición media (%IM₅₀).

Es denominado también como la capacidad decolorante media, expresada en forma porcentual, es el contenido necesario de la muestra, para que se logre inhibir en un cincuenta por ciento al radical libre D. P. P. H. (CI₅₀).

Este cálculo se realiza teniendo como base a los valores leídos de la absorbancia que se obtuvieron, con lo que se determinó la proporción de la capacidad de inhibir, en la representación descriptiva de Trolox, mediante la aplicación de la siguiente relación: ²⁴

$$\% \text{ CI}_{50} = a - b / a \times 100$$

Donde:

a = primera lectura en la representación descriptiva del segmento

b = segunda lectura de la representación descriptiva del segmento

TEAC = CI₅₀ del Trolox / CI₅₀ de la muestra

Preparación de las soluciones:

Dilución de la muestra problema

Se inició realizando la preparación de una disolución concentrada de 3,20 miligramos por mililitro, a partir de la cual, se obtuvo varias disoluciones de distinta concentración (1,60, 0,80, 0,40, 0,20, 0,10 miligramos por mililitro)

Se midió cinco mililitros de la disolución concentrada, se le agregó la disolución de radical D. P. P. H., hasta alcanzar la línea que indica los 10 mililitros de la fiola; se realizó igual proceso con las consiguientes disoluciones a preparar. En todo momento, las disoluciones se conservaron bajo la protección de los rayos solares. ⁽²⁴⁾

Metodología.

Se tomó un cubo de cuarzo y se le agregó dos mililitros de la disolución del D. P. P. H.

Se realizó la lectura espectrofotométrica a una absorbancia de 517 nanómetros y se registró el resultado.

Se tomó un cubo de cuarzo y se le agregó 0,1 mililitros de la disolución concentrada de la muestra.

Se le agregó 1,9 mililitros de la disolución de D. P. P. H.

Se permitió reposar en ambiente oscuro por media hora.

Se realizó la lectura de la absorbancia a 517 nanómetros y se registró el resultado.

Se repitió el proceso con todas las disoluciones preparadas (1,60, 0,80, 0,40, 0,20, 0,10 miligramos por mililitro).

Los valores encontrados en esta determinación, se indicaron en relación a la capacidad anti oxidante que equivale a los mili moles de Trolox. ⁽²⁴⁾

Elaboración de la disolución del radical libre D. P. P. H.

Se realizó la preparación de la disolución a una concentración de 0,1 mili moles, del D. P. P. H.

Se pesó 3,90 miligramos de D. P. P. H. en un matraz tarado con nivel de aforo

Se agregó 70 mililitros de metanol y se agitó hasta disolver

Se realizó el enrase a 100 mililitros con metanol

Se llevó al aparato de agitación ultrasónica, hasta conseguir una óptima homogenización de la solución

Se procedió a realizar la lectura en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nanómetros

Los resultados obtenidos fueron de $1 \pm 0,1$ (0,9 a 1,1)

Las soluciones elaboradas se deben tener permanente protección de los rayos solares.

La solución de DPPH se preparaba minutos antes de realizar el ensayo, debido a que tiende a degradarse rápidamente por efectos de la luz y la temperatura. ⁽²⁴⁾

Análisis estadístico.

Todos los análisis se realizaron por triplicado, los resultados finales se expresan como valores promedio \pm la varianza.

La varianza es el objetivo de la diferencia, que es la cantidad en la que el valor de los datos puede diferir de la media. La varianza es la media aritmética de las formas en que los valores individuales difieren de la media. La altura del cuadrado asegura que los valores positivos y negativos no se anulen entre sí.

Después de la realización de los análisis correspondientes, los datos fueron ordenados para su presentación, empleando el programa Microsoft Excel 2013.

III.RESULTADOS

3.1. Caracterización física.

3.1.1. Rendimiento del aceite esencial.

TABLA Nº 2.				
RENDIMIENTO DEL ACEITE ESENCIAL (%).				
1	2	3	Promedio	Varianza (σ^2)
0.95	0.93	0.94	0.94	6.6667

Fuente: La Autora

El rendimiento del aceite esencial se encuentra dentro de los valores promedios para obtención del aceite esencial, siendo 0,94 %

3.1.2. Rendimiento del extracto hidroalcohólico.

TABLA Nº 3.				
RENDIMIENTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO (%).				
1	2	3	Promedio	Varianza (σ^2)
36	36	37	36.33	0.2222

Fuente: La Autora

Las pruebas se realizan por triplicado, obteniéndose un promedio de 36,33 %

3.1.3. Características organolépticas.

TABLA Nº4 .	
CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS.	
Aspecto	Líquido denso
Color	Amarillo pálido
Olor	Aromático
Sabor	Ligeramente amargo

Fuente: La Autora

Las características organolépticas del aceite esencial corresponden a las normales.

3.1.4. Determinación del índice de acidez.

TABLA Nº 5.				
DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE ACIDEZ.				
1	2	3	Promedio	Varianza (σ^2)
0.32	0.29	0.28	0.2966	0.0004

Fuente: La Autora

Las pruebas se realizan por triplicado, obteniéndose un promedio de 0,2966 %

3.1.5. Determinación de la densidad relativa a 20°C. (g/mL).

TABLA Nº 6.				
DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD A 20°C. (g/mL).				
1	2	3	Promedio	Varianza (σ^2)
0.92326	0.92325	0.92324	0.92325	9.9999

Fuente: La Autora

Las pruebas se realizan por triplicado, obteniéndose un promedio de 0,92325g/ml

3.1.6. Determinación del índice de refracción nD 20°C.

TABLA Nº 7.				
DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN nD 20°C.				
1	2	3	Promedio	Varianza (σ^2)
1.4769	1.4771	1.4772	1.4770	2.3333

Fuente: La Autora

Las pruebas se realizan por triplicado, obteniéndose un promedio de 1,4770

3.2. Análisis fitoquímico:

TABLA Nº 8.				
RESULTADOS DEL ANÁLISIS FITOQUÍMICO AL EXTRACTO HIDRO ALCOHÓLICO.				
	Metabolito.	Reacción.	Resultado.	Reacción observada.
1	Alcaloides	Mayer	-	Sin cambios.
		Hager	-	Sin cambios.
		Wagner	-	Sin cambios.
		Dragendorff	-	Sin cambios.
2	Triterpenos y esteroides.	Liebermann y Buchard	+++	Formación de color verde oscuro.
3	Saponinas.	Prueba de espuma.	+	Formación de una leve capa de espuma.
4	Compuestos Fenólicos.	Tricloruro férrico.	+++	Formación de color rojo vino.
5	Flavonoides	Shinoda.	+++	Formación de color amarillo.
6	Taninos.	Sol. Gelatina.	+++	Formación de turbidez.

Fuente: La Autora

Leyenda:

(-) Ausente.

(+) Leve.

(++) Moderado.

(+++) Abundante.

3.3. Determinación de la actividad antioxidante por el método del DPPH.

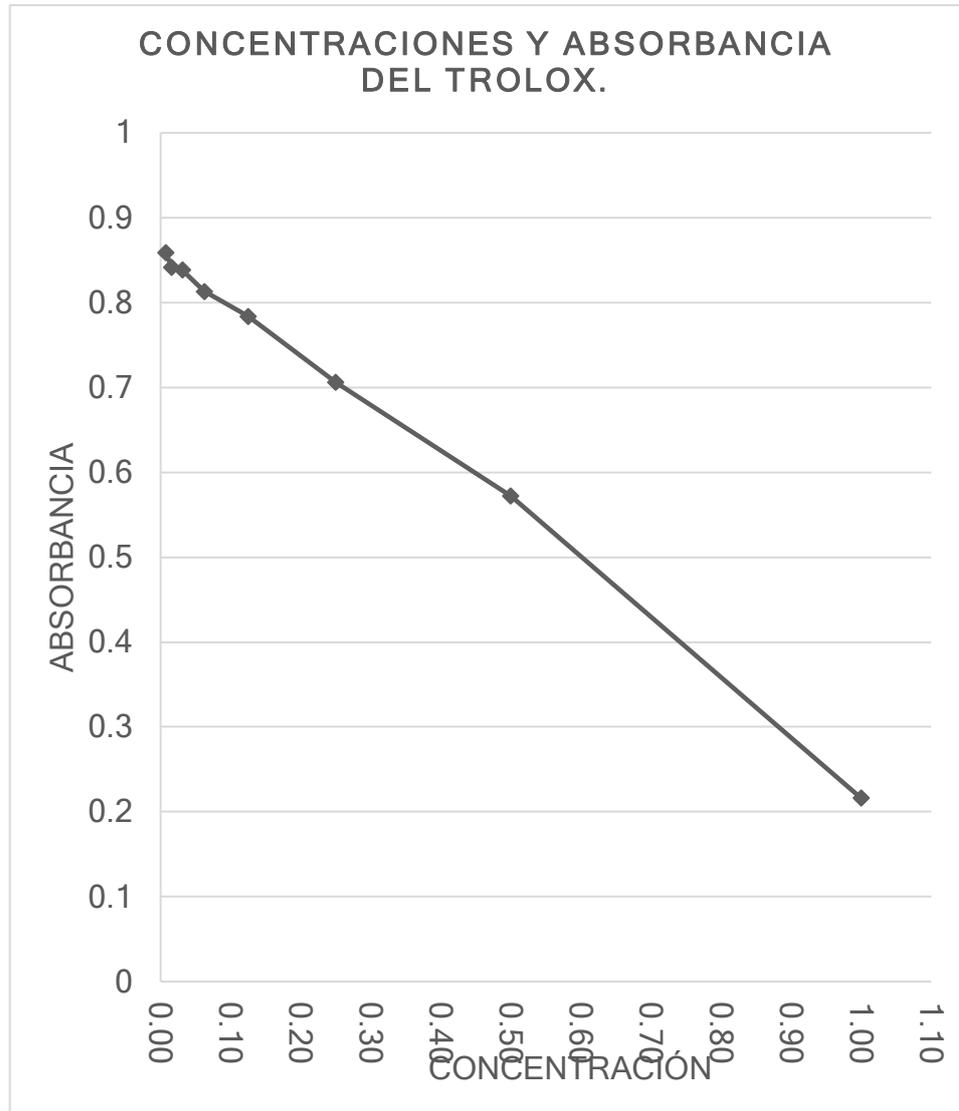
3.3.1. Concentraciones y absorbancia del trolox.

TABLA Nº 9.		
	Concentración mM	Absorbancia
1	1.00	0.2161
2	0.50	0.5722
3	0.25	0.7059
4	0.125	0.7838
5	0.0625	0.8132
6	0.03125	0.8383
7	0.015625	0.8419
8	0.0078125	0.8588
Absorbancia del blanco Trolox 0.9160		

Fuente: La Autora

Se observa que a mayor concentración del trolox, hay menor absorbancia del DPPH es porque lo de colora demostrando así su actividad antioxidante.

FIGURA 1. Concentraciones y absorbancia del trolox.



Fuente: La Autora

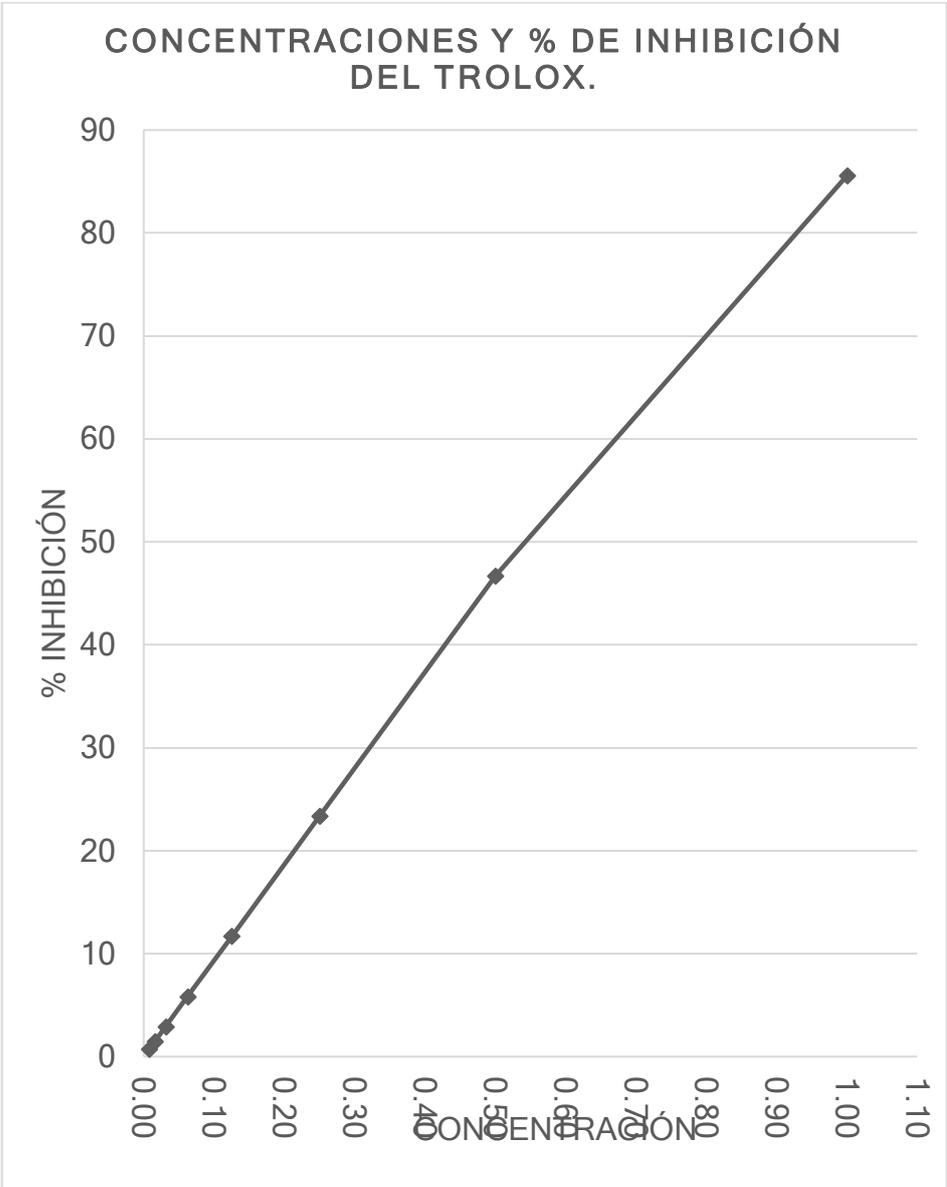
Concentraciones y porcentaje de inhibición del Trolox.

TABLA N° 10.		
	Concentración mM	% Inhibición
1	1.00	85.57
2	0.50	46.70
3	0.25	23.35
4	0.125	11.68
5	0.0625	5.83
6	0.03125	2.92
7	0.015625	1.46
8	0.0078125	0.73
IC ₅₀ =0.5843 mM		

Fuente: La Autora

Se observa que a la concentración de 1mM de Trolox, inhibe al DPPH hasta en un 85%, por tanto, podemos obtener un IC₅₀ de 0,5843 mM

Gráfico de las concentraciones y porcentaje de inhibición del Trolox.



Fuente: La Autora

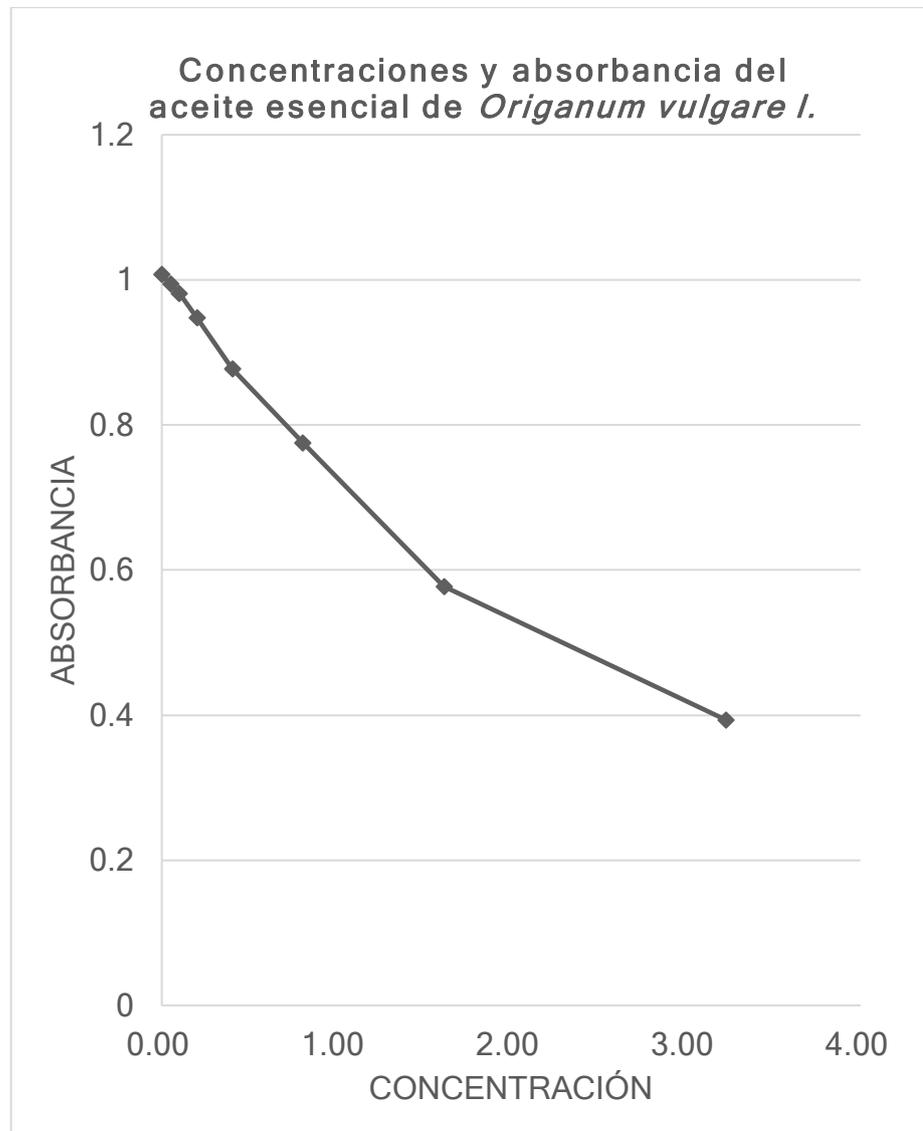
Concentraciones y absorbancia del aceite esencial de Origanum Majorana L.

TABLA N° 11.		
	Concentración (mg/mL)	Absorbancia
1	0	1,0078
2	0,0504	0,9942
3	0,1009	0,9813
4	0,2019	0,9479
5	0,4037	0,8773
6	0,8075	0,7753
7	1,6150	0,5805
8	3,2300	0,3965

Fuente: La Autora

Observamos que a mayor concentración de nuestra muestra problema, hay menor Absorbancia del DPPH, lo que demuestra in vitro su capacidad anti oxidante.

Gráfico de las concentraciones y absorbancia del aceite esencial de *Origanum majorana L.*



Fuente: La Autora

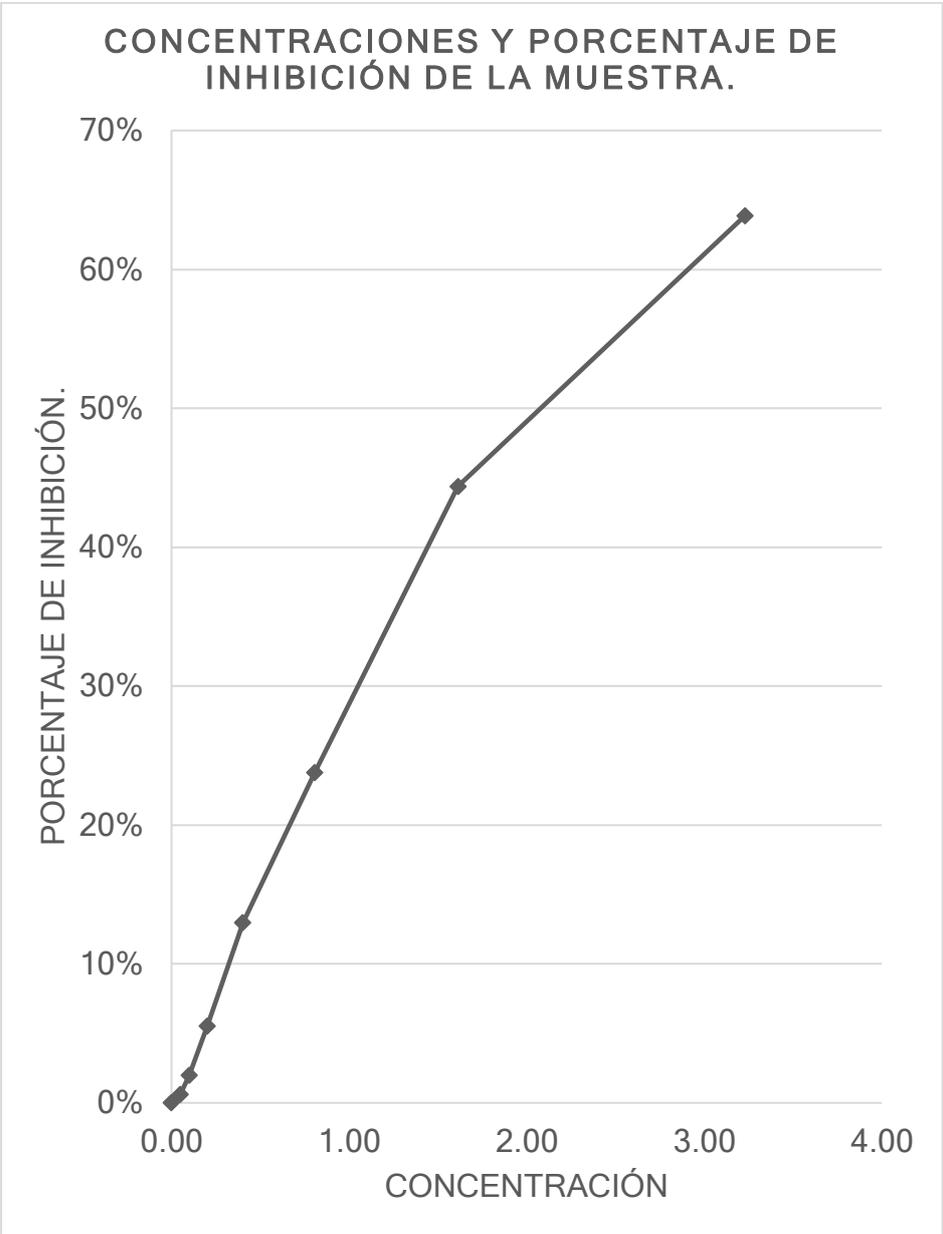
Concentraciones y porcentaje de inhibición del aceite esencial de *Origanum majorna L.*

TABLA Nº 12.		
	Concentración (mg/mL)	% Inhibición.
1	0	0.0000
2	0,0504	0,6137
3	0,1009	1.9788
4	0,2019	5,5132
5	0,4037	12.9841
6	0,8075	23,7777
7	1,6150	44,3915
8	3,2300	63,8624
Absorbancia DPPH 0.9450 Muestra: IC ₅₀ =2.5288 mg/mL		

Fuente: La Autora

Esta mayor concentración de la muestra problema (3,23 mg/ml), inhibe al DPPH hasta en un 63,86%, obteniendo un IC₅₀ de 2,5288.

Gráfico de las concentraciones y porcentaje de inhibición del aceite esencial de *Origanum majorana L.*



Fuente: La Autora

IV. DISCUSIÓN.

Se sabe que las especies vegetales son empleadas en la alimentación, reconociéndose su aporte de nutrientes de alta calidad, ya que son necesarios para la satisfacción de las necesidades nutricionales humanas.

Razón por la cual, se realizan investigaciones referentes a las propiedades nutritivas y también medicinales de las especies vegetales, haciendo énfasis en las oriundas o nativas de los distintos ecosistemas naturales peruano, sobre todo por la gran riqueza vegetal con la que contamos, como los estudios realizados por Salaverry O, Cabrera j. Florístico de algunas plantas medicinales. En la revista peruana de Medicina Experimental y salud publica .2014;31(1): 165-168 (citado el 1 de enero 2014), donde se detalla metódicamente las bondades de este aceite esencial.

Estudios científicos certifican que los vegetales presentan componentes fitoquímicos que, al ser ingeridos, conducen a efectos en el organismo beneficiosos. La evolución y modernización de la ciencia de la nutrición, por esta razón, la investigación se centra en la identificación de los componentes fitoquímicos biológicamente activos, que benefician con la mejora de las condiciones del estado de salud, tanto física como mental, y la reducción del riesgo de contraer enfermedades.

Muchos nutrientes bastante usados tradicionalmente, como frutas, verduras, legumbres, cereales, etc., tienen componentes que resultan beneficiosos para el ser humano. También, se estudian continuamente nuevos y mejores nutrientes los que son enriquecidos con sustancias químicas de origen que se extraen por diferentes medios, ello significa nuevas y mejores alternativas para el cuidado de la salud humana.

Es muy importante entender que los nutrientes funcionales nunca han sido catalogados hasta el momento por la legislación americana o europea. Se considera que son aquellos nutrientes, que son consumidos como parte de una dieta habitual y normal, que tienen componentes biológicos activos con beneficios para la salud porque reducen el riesgo de padecer muchas enfermedades. Entre estos destacan los nutrientes que contienen determinados compuestos con fitoquímicos o metabolitos secundarios que tienen propiedades antioxidantes, mayormente flavonoides y polifenoles, con muchas capacidades biológicamente benéficas.

El *Origanum majorana L.* es originaria de la zona de Turquía ha sido muy difundida, consumida y cultivada en muchas latitudes en el mundo, es considerada principalmente por su aroma y sabor. En nuestro país, se cultiva abundantemente en la provincia de Tarata departamento de Tacna.

Es una especie muy utilizada como planta aromática de uso culinario, posee ciertas muchas cualidades medicinales que son aplicadas contra padecimientos de tipo gástrico y ginecológico.

Su principal actividad biológica de los flavonoides, de mucho interés en la actualidad, es como antioxidante, se hacen numerosas investigaciones en diferentes especies vegetales, con resultados de gran impacto.

Una actividad biológica de los flavonoides, de gran interés en la actualidad, es la actividad antioxidante, se realizan investigaciones en diferentes especies vegetales, con resultados de gran impacto. Esto ha llevado a la creación de nuevos métodos analíticos de su determinación, ya sea *in vivo* o *in vitro*, los cuales son más sencillos de realizar y económicos, reportándose un creciente número de trabajos de investigación en antioxidantes de origen vegetal, como el presente informe final, el cual reporta una considerable actividad antioxidante de la especie *O. Majorana*, lo que se compara a otros autores como los estudios realizados por Torrenegra M. en su trabajo “Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar extraído de especies de orégano (*Origanum vulgare*), orégano “borde blanco” (*Origanum vulgare ssp*) y oreganito (*Lippia alba mill*) cultivado en la zona norte del departamento de Bolívar (Colombia). 2014. Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos. <http://www.bdigital.unal.edu.co/39674/1/45506760.2014.pdf>, y que se corrobora con lo encontrado también en el presente trabajo.

El aceite esencial de *Origanum mejorana L*, fue evaluado en el presente estudio, para ello se realizó el análisis fitoquímico descrito por O. Lock (1994), resaltando la presencia de triterpenos y esteroides, compuestos fenólicos, flavonoides y taninos, compuestos que poseen reconocidas propiedades antioxidantes, lo cual coincide con estudios anteriores realizados en la misma especie vegetal (Albado E, Saez G, Grabiél S, 2001; Cala M, Vásquez A, 2008), mediante el método *in vitro* frente al radical libre 2, 2 - difenil - 1 - picrilhidrazil (DPPH), demostrándose su actividad antioxidante.

V. CONCLUSIONES

1. En la evaluación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico, se determinó la presencia de triterpenos y esteroides, compuestos fenólicos, flavonoides y taninos.
2. En la de terminación de la actividad antioxidante por el método del DPPH, se encontró que el aceite esencial de la especie en estudio, presenta un índice de concentración media (IC_{50}) de 2.5288 mg/mL, equivalente al índice de concentración media del Trolox, de 0.5843 mM.
3. En la caracterización física, se realizó la obtención del aceite esencial y del extracto hidroalcohólico seco, con un rendimiento de 0.94% y 26.33%, respectivamente; en las características organolépticas se determinó un aspecto líquido y denso, color amarillo pálido, olor aromático, sabor ligeramente amargo; índice de acidez 0.2966, densidad relativa a 20°C 0.92325g/mL, índice de refracción nD a 20°C 1.4770.

VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar la certificación botánica y caracterización física respectiva, para evitar errores de identificación y calidad.
2. Emplear métodos analíticos como la cromatografía, para la obtención de fracciones analíticas que darán a conocer la presencia de metabolitos secundarios de interés en las especies vegetales a investigar.
3. Publicar detalladamente los resultados de los estudios realizados, a fin de que se continúe con otros trabajos acerca de esta especie vegetal.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Torrenegra M. Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar extraído de especies de orégano (*Origanum vulgare*), orégano “borde blanco” (*Origanum vulgare ssp*) y oreganito (*Lippia alba mill*) cultivado en la zona norte del departamento de Bolívar (Colombia). 2014. Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos. [Fecha de acceso: 18 de diciembre de 2016]. Disponible en URL: <http://www.bdigital.unal.edu.co/39674/1/45506760.2014.pdf>
2. Guerra L. Evaluación de la actividad antimicrobiana y antioxidante de aceites esenciales de plantas usadas en medicina tradicional. 2011. México. Universidad Autónoma de Nuevo León. Para obtener el Grado de Maestría en Ciencias con orientación terminal en Química Biomédica. [Fecha de acceso: 12 enero 2017]. Disponible en URL: <http://eprints.uanl.mx/2455/1/1080223835.pdf>
3. Acevedo D. Navarro M. Monroy L. Composición química del aceite esencial de hojas de orégano (*Origanum vulgare*). 2013. Información tecnológica, 24(4), 43-48. [Fecha acceso: 14 enero 2017]. Disponible en URL: <http://www.scielo.cl/pdf/infotec/v24n4/art05.pdf>
4. Arcila C. Loarca G. Lecona S. Gonzales E. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. 2010. México. Agencia para el Desarrollo Internacional (US-AID). Asociación de Enlace para la Cooperación Universitaria para el Desarrollo (Association Liaison Office for University Cooperation in Development). Programa TIES-ENLACES. University of Illinois y Universidad Autónoma de Querétaro, México. [Fecha acceso: 21 enero 2017]. Disponible en URL: https://www.researchgate.net/profile/Guadalupe_LoarcaPina/publication/262442668_El_oregano_propiedades_composicion_y_actividad_biologica_de_sus_componentes/links/5624fe5d08aed8dd1949568e/El-oregano-propiedades-composicion-y-actividad-biologica-de-sus-componentes.pdf
5. Martínez F. Et al. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr. Hosp. (2002) XVII (6) 271-278. [Internet]. [Fecha de acceso: 30 marzo 2017]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/veracruzana/muv-2010/muv102e.pdf>
6. Salaverry O, Cabrera j. Florístico de algunas plantas medicinales. Revista peruana de Medicina Experimental y salud pública .2014;31(1): 165-168 (citado el 1 de enero 2014).

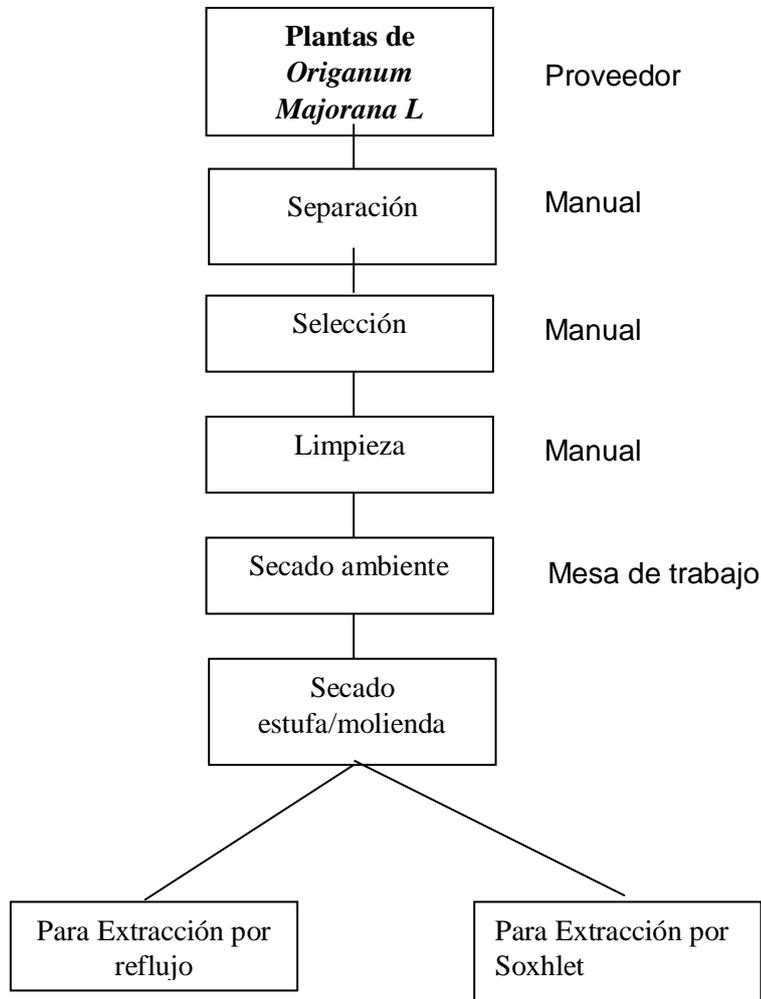
7. Pozo G, Gonzales P. Uso de las plantas medicinales en la comunidad del Cantón Yacuambi durante el periodo julio – diciembre 2011(Tesis de grado Medicina). Loja: la Universidad Catolic de Loja Facultad de medicina 2014.
8. Tello G. Etnobotanic de plants con uso medicinal en la comunidad de Quero, Jauja, Región Junin. Lima 2015 (Tesis Biólogo) Lima: Universidad Nacional Agraria la Molina , Facultad de ciencias Biología; 2015
9. Marjoram, online Etymology dictionary, Douglas Harper, November 2001
10. “Origanum majorana”. Royal Botanic Gardens, Kew. Word Checklist of Selected Plant Families.
11. Diccionario Enciclopédico de Plantas útiles del Perú. Cuzco. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo: Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de Las Casas. 1999.
12. Linnaeus, C. *Species plantarum*. [Internet]. 1753. [Fecha de acceso: 18 de diciembre de 2015]. Disponible en URL:
<http://www.biodiversitylibrary.org/page/358012#page/1/mode/1up>
10. Saldierna J. Recetario de Hierbas y Plantas Medicinales. Ed Lexus. México, 2000.
11. Palacios J. Plantas medicinales nativas del Perú. Tercera edición Lima- Perú, 2006.
12. Nultsch W. Botánica General: manual para médicos y naturalistas. 2013. Ediciones Omega. Barcelona.
13. Cañigueral S. Plantas Medicinales y drogas vegetales, Editorial Masson. España, 1998.
13. SENA. Introducción a la Industria de los aceites esenciales de plantas medicinales y aromáticas. [Internet]. Bogotá. [Fecha de acceso: 16 marzo 2017]. Disponible en URL:
<http://biblioteca.sena.edu.co/index.html>
15. Maldonado O. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. Rev Med UV, Julio - diciembre 2010. [Internet]. [Fecha de acceso: 22 marzo 2017]. Disponible en:
<http://www.medigraphic.com/pdfs/veracruzana/muv-2010/muv102e.pdf>
16. Maldonado O. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. Rev. Med UV, Julio - diciembre 2010. [Internet]. [Fecha acceso: 28 marzo 2017]. Disponible en:
<http://www.aulamedica.es/gdcr/index.php/nh/article/download/3338/3338>.

17. Miranda M. Métodos de análisis de drogas y extractos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana. Ciudad de la Habana. 2002.
14. Izquierdo M. Destilación. Scribd. [Internet]. [Fecha acceso: 17 abril 2017]. Disponible en URL:
<https://es.scribd.com/doc/54656595/Destilacion-por-arrastre-de-vapor>
18. Miranda M. Cuellar A. Manual de Prácticas de Laboratorio. Universidad de la Habana. Cuba, 2002.
19. Lock O. Investigación Fitoquímica. Primera edición. Pontificia Universidad Católica del Perú. 1998.
15. Kuskoski M. Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos. [Internet]. [Fecha de acceso: 12 enero 2017]. Disponible en URL:
http://www.scielo.br/scielo.php?Script=sci_arttext&pid=S0101-20612004000400036
23. AOAC Internacional: Sección Latinoamérica. Métodos Analíticos Oficiales. [Internet] [Fecha acceso: 27 abril 2017]. Disponible en:
<http://www.aoaclatina.com.ar>
24. Jiménez P. Girbés T. Prácticas de Fundamentos de Alimentación y Nutrición. Grado de Nutrición Humana y Dietética. Método del radical DPPH. 2,2-difenil -1-picrylhydrazyl. Determinación de la capacidad antioxidante en extractos. [Internet]. Universidad de Valladolid. 2013. [Internet]. [Fecha de acceso: 22 de junio de 2017]. Disponible en URL:
https://alojamientos.uva.es/guia_docente/uploads/2012/470/45808/1/Documento14.pdf
25. Alonso J. Tratado de fitofármacos y nutracéuticos, Buenos Aires. Editorial Masson. 2004.
26. Avello M, Swalsky VC. Radicales, estrés oxidativo y defensa antioxidante celular. Cali. (2005)
27. Kuskoski M. Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos. [Internet]. [Fecha acceso: 16 julio 2017]. Disponible en:
http://www.scielo.br/scielo.php?Script=sci_arttext&pid=S0101-20612004000400036
28. Muñoz J. Ramos E. Alvarado O, Castañeda C. Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. Rev Soc Quim Perú. 2007.
29. Bruneton J. Farmacognosia. Fitoquímica de Plantas medicinales. Segunda edición. Ed. Acribia España, 2001.

30. SISIB. Sistema de Servicios de Información y Bibliotecas. Comercio y control de calidad. Biblioteca Digital de la Universidad de Chile. Fecha de revisión 22/01/2014. United States Pharmacopeia Convention. The United States Pharmacopeia USP 36 and the National Formulary NF 19
31. Villar Del Fresno A. Farmacognosia General. 1999. Primera edición. Síntesis. España. pp: 136-267.
32. Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, Del Rio D, Salvatore S, Bianchi M, Brighenti, F. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. J Nutr. 2003; 133:2812–9.
33. Cañigüeral S. Plantas Medicinales y drogas vegetales, Editorial Masson. España, 1998.

ANEXOS:

Flujograma 1: Procesos para obtener las hojas secas y molidas



Imágenes de la investigación realizada





