



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:

ANÁLISIS DE METABOLITOS SECUNDARIOS DEL SUBPRODUCTO DE LA EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Tagetes minuta* L (Huacatay) QUE CRECE EN EL DISTRITO PUEBLO NUEVO - ICA.

Presentado por:

AQUIJE VILCA, DEYANIRA ANTUANED

Bachiller del nivel **PREGRADO** de la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**. El resultado obtenido es **3%** 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, 03 de Octubre de 2022


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

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Farmacia y Bioquímica



Análisis de metabolitos secundarios del subproducto de la extracción y caracterización del aceite esencial de *Tagetes minuta* L (*Huacatay*) que crece en el distrito de Pueblo Nuevo– Ica.

Línea de investigación
Salud Pública y Conservación del Medio Ambiente

TESIS

AUTOR
BACH. DEYANIRA ANTUANED AQUIJE VILCA

Ica - Perú

2,023

DEDICATORIA

A Dios padre Todopoderoso por haberme permitido llegar con salud a esta gran meta personal. Llena de regocijo, amor y esperanza dedico este trabajo a mis seres queridos especialmente a mis padres y hermanos porque confiar en mí. Los sentí pilares para seguir adelante. A mis abuelos, tíos y primos por su constante aliento y permitir ser partes de sus vidas llena de orgullo y tradición familiar.

AGRADECIMIENTO

A los docentes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica y amigos que de una u otra forma me apoyaron para llegar a la meta de profesional Químico Farmacéutico.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE	iv
RESUMEN	viii
ASBTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	10
II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA	14
– Aspectos metodológicos	14
• Enfoque de la investigación	14
• Tipo de investigación	14
• Diseño de la investigación	14
• Población y muestra	14
– Técnicas e instrumentos de recolección de la información	15
– Tratamiento de la muestra	15
• <i>Obtención de las partes aéreas de Tagetes minuta L</i>	15
• Caracterización del material a analizar	16
• Obtención del aceite esencial	17
• Caracterización del aceite esencial	18
• Determinación de la actividad antioxidante del aceite esencial	20
<i>de Tagetes minuta L</i>	
• Determinación de metabolitos secundarios en el sub producto	21
<i>de la obtención de aceite esenciales de Tagetes minuta L</i>	
III. RESULTADOS	26
3.1 De la muestra estudiada	26
3.2. De la obtención de las partes aéreas de Tagetes minuta L	26
3.3. De las características del material a ensayar	26
a) Material seco y molido	
b) Material fresco	
3.4. De la obtención del aceite esencial	27
a) Con material seco y molido	
b) Con material fresco	
3. 5. De la caracterización del aceite esencial	28
a) Características organolépticas	
b) Características físico químicas	
3.6. De la determinación de la actividad antioxidante	29
3.7. De la determinación de metabolitos secundarios	31
IV. DISCUSIÓN	33

V. CONCLUSIONES	35
VI. RECOMENDACIONES	36
VII. FUENTES DE INFORMACIÓN	37
VIII. ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°1. Características organolépticas de las hojas frescas y hojas secas y molidas de ***Tagetes minuta L.***

Tabla N°2. Resultados de la extracción de aceites esenciales por el método de hidrodestilación a partir de hojas frescas de ***Tagetes minuta L.***

tabla N°3. Resultados de la extracción de aceites esenciales por el método de arrastres de vapor a partir de hojas frescas de ***Tagetes minuta L.***

Tabla N°4. Características organolépticas del aceite esencial de las hojas frescas de ***Tagetes minuta L*** obtenido por arrastre de vapor.

Tabla N°5. Características físico químicas del aceite esencial de las hojas frescas de ***Tagetes minuta L*** obtenido por arrastre de vapor.

Tabla N°6. absorbancias de las soluciones patrones de trolox frente al radical libre abts°.

Tabla N°7. Resultados de las reacciones para identificar los tipos de compuestos químicos en el sub producto de la extracción de los aceites esenciales de ***Tagetes minuta L.***

ÍNDICE DE FIGURAS

Gráfico N°01. Procesos para obtener partes del Huacatay.

Gráfico N°:2. Curva de calibración entre las soluciones patrón de trolox versus el radical libre ABTS.

RESUMEN

Título: Análisis de metabolitos secundarios del subproducto de la extracción y caracterización del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. (Huacatay) que crece en el distrito de Pueblo Nuevo– Ica.

Aspectos metodológicos: Investigación es experimental, transversal de tipo básico.

Objetivos: Determinar el tipo de metabolitos secundarios que quedan en el subproducto de la extracción y caracterización del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. (Huacatay).

Material y métodos:

La muestra son plantas de Huacatay que crecen en el distrito de Pueblo Nuevo -Ica. Se trabajó con hojas frescas trozadas en tamaño de entre 2-3 mm y hojas secas molidas. Ambas muestras caracterizan organolépticamente y se extrae los aceites esenciales por los métodos de hidrodestilación y arrastres de vapor respectivamente. La presencia de metabolitos secundarios se realizó mediante reacciones de coloración y/o precipitación.

Resultados: El mejor rendimiento fue 0.11 % y proviene del material fresco sometido a arrastre de vapor por 80 minutos. el aceite esencial obtenido tiene: densidad 0.906, Índice de refracción de 1.4428. La dilución de 1 ml del aceite esencial con 9 ml de etanol tiene una actividad antioxidante de 29.73 % frente el radical libre ABTS°, de absorbancia 0.686 y esta actividad es equivalente a la de una disolución 0.4471 mM de trolox. En el extracto acuoso de las hojas frescas post extracción de sus aceites esenciales se hallaron los metabolitos secundarios siguientes: Fenoles, taninos, flavonoides, catequinas, alcaloides, triterpenos esteroidales y saponinas.

Conclusiones: El líquido post extracción de aceites esenciales es una fuente rica en metabolitos secundarios.

Palabras claves: Aceite esencial. Huacatay. *Tagetes minuta* L.

ABSTRACT

Title: Analysis of secondary metabolites of the by-product of the extraction and characterization of the essential oil of *Tagetes minute L* (Huacatay) that grows in the district of Pueblo Nuevo - Ica.

Methodological aspects: Research is experimental, transversal of a basic type

Objectives: Determine the type of secondary metabolites that remain in the by-product of the extraction and characterization of the essential oil of *Tagetes minute L*. (Huacatay).

Material and methods

The sample is Huacatay plants that grow in the district of Pueblo Nuevo -Ica. We worked with fresh leaves cut in size between 2-3 mm and ground dry leaves. Both samples are organoleptically characterized and essential oils are extracted by hydrodistillation and steam dragging methods, respectively. The presence of secondary metabolites was determined by staining and/or precipitation reactions.

Results: The best yield was 0.11 % and it comes from the fresh material subjected to steam stripping for 80 minutes. The essential oil obtained has: density 0.906, refraction index of 1.4428. The dilution of 1 ml of the essential oil with 9 ml of ethanol has an antioxidant activity of 29.73% against the free radical ABTS°, of absorbance 0.686 and this activity is equivalent to that of a 0.4471 mM trolox solution. In the aqueous extract of the fresh leaves after extraction of their essential oils, the following secondary metabolites were found: phenols, tannins, flavonoids, catechins, alkaloids, steroidal triterpenes and saponins.

Conclusions: The post-extraction liquid of essential oils is a rich source of secondary metabolites.

Keywords: Essential oil. Huacatay. *Tagetes minute L*

I. INTRODUCCIÓN

Desde tiempos remotos la gente emplea los productos provenientes del agro para suplir sus necesidades de alimento, medicina y materiales para diferentes actividades. El Perú, merced a la presencia de la cordillera de los andes posee una rica variedad de ecosistemas en los que crecen diferentes especies vegetales. La región Ica posee una flora muy variada con especies vegetales de importancia económica por la producción de frutos para consumo directo de la población o para la industrialización. En los últimos 10 años nuestra provincia ha desarrollado notoriamente en el plano económico, social y cultural como consecuencia del aumento de trabajo generado por la gran oferta de trabajo que ofrece el campo y que se traduce en mejoras económicas para los pobladores iqueños y lo inmigrantes que cubren las plazas de trabajo ofertadas. La mantención de esta tendencia de producción para mantener el desarrollo sostenible pasa por estar pendientes de dar a conocer las bondades de nuevas especies vegetales que se adapten a nuestro clima o de elevar la productividad de las especies vegetales que ya se cultivan ya sea aumentando la producción o aprovechando desperdicios o residuos que quedan después de la cosecha de los frutos¹.

La medicina tradicional, en los últimos años ha cobrado importancia como una terapia alternativa al uso de medicamentos sintéticos producidos en la industria farmacéutica, y cabe destacar el uso de plantas medicinales, de cuyas hojas, frutos, tallos y raíz guardan compuestos químicos denominados metabolitos secundarios que muchas veces tienen actividad biológica. Los aceites esenciales son una compleja mezcla natural de metabolitos secundarios volátiles, aislados de plantas mediante métodos como: destilación, extracción con solventes, generando residuos que deben de contener los otros compuestos químicos que no son volátiles por arrastre de vapor. *Tagetes minuta* L (Huacatay) crece en nuestro medio y de sus hojas se obtiene aceites esenciales que la industria farmacéutica utiliza; y no hay información sobre qué tipos de compuestos químicos quedarían en el sub producto hojas tratadas de la extracción de aceites esenciales. Así, por ejemplo, Rocabado² (2011) señala que en Bolivia *T. minuta* L es usada por sus propiedades ansiolíticas y justifica la búsqueda de nuevos principios activos derivados de especies vegetales, que no generen este tipo de dependencia. Chamorro E³ (2008) Investigó la composición química del aceite esencial

de *Tagetes minuta* L. procedente de diferentes lugares del Chaco (Argentina). Determinó que el aceite de hojas no florecidas contiene mayoritariamente dehidrotagetona, mientras que el aceite de hojas de plantas florecidas al igual que el aceite de flores es rico en β -ocimeno y tagetenona. Díaz F⁴ (2011) señala que es escasa la información sobre los componentes químicos presentes en el aceite esencial de las especies de Tagetes que crecen en México. Usó el método de hidrodestilación y extrajo aceite esencial de las partes aéreas de plantas de Tagetes parryi A. Gray (Asteraceae), y por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas reportó dos compuestos químicos que no habían sido reportados en este género: 3, y 4-isopropil-1-metil-2-ciclohexenol biciclo [3.1.1] heptan-3-ona (100 %). Baldeon J⁵ (2011) Usando el método de arrastre de vapor extrajo aceite esencial de las especies vegetales frescas Tagetes minuta, Tagetes terniflora y Tagetes zipaquirensis y ensayo sus actividades insecticidas contra Premnotrypes vorax. Los aceites los trabajó en las diluciones 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1.0 % respectivamente y los aplicó en la dieta de larvas. Reporta que a los 14 días mueren el 50 % de larvas y a los 21 días la mortalidad llega a 75.4 %. Señala mejor actividad en Tagetes zipaquirensis seguido de Tagetes minuta. Cussa L⁶ (2017) señala que el aceite esencial de *Tagetes minuta* L. se le atribuyen muchas propiedades como por ejemplo antimicrobiano e insecticida, además de ser utilizado como ingrediente en gastronomía, elaboración de té, perfumes, entre otros. Debido a estos antecedentes y a la poca o nula información sobre su toxicidad, desarrollo un estudio con el objetivo de evaluar el efecto citotóxico y genotóxico in vitro de estos aceites esenciales; advierte cuidados o alerta por la alta citotoxicidad, pero no se encontró daño genético. Severo A⁷ (2016) trabajó con extracto hexánico, etanólico y acuoso de las hojas de Tagetes minuta para evaluar la actividad larvicida, pupicida y actividad insecticida en las dosis de 0.1 – 1.0 mg/ml. contra mosquitos Culex quinquefasciatus. Reporta la presencia de saponinas, triterpenos, y flavonoides. Para el extracto etanólico 18 mg/ml le reporta actividad larvicida, para el hexánico pupicida y del para el extracto acuoso reporta que no tiene actividad.

El uso de recursos vegetales con fines alimenticios y medicinales es una práctica que desde la antigüedad ha permitido al hombre su desarrollo y conservación de su salud y a través de las generaciones se han aprovechado los conocimientos heredados de generaciones anteriores con el

advenimiento del papel, la escritura y la imprenta estas prácticas quedaron registradas y hoy aún son aprovechadas por gran cantidad de culturas y personas. El Perú tiene una gran biodiversidad botánica para la cual se atribuye excelentes propiedades alimenticias o medicinales y los estudios científicos para la certificación de estas propiedades aún son insipientes. Razón suficiente para que nuestras universidades desarrollen trabajos de investigación conducentes a validar las propiedades alimenticias o medicinales de nuestros recursos, *Tagetes minuta* L especie vegetal conocida popularmente como Huacatay es oriunda de Sud América y actualmente se desarrolla en prácticamente todas partes del mundo. Desde la antigüedad hasta hoy se le emplea por sus bondades aromáticas útil para la gastronomía y para aliviar malestares digestivos y antiparasitarios mayoritariamente. Actualmente se extrae aceite esencial de esta especie vegetal y es utilizada por la industria farmacéutica para la elaboración de perfumes y viene siendo utilizada para el control de gusanos como nematocida en algunos cultivos. Durante el proceso de extracción de los aceites esenciales queda un líquido post extracción que debe contener los demás metabolitos secundarios presentes en las hojas de la especie vegetal y que no existen trabajos de investigación que demuestren que tipo de componentes químicos estarían aun presentes, después de las condiciones a que fueron sometidos^{8,9}.

La información que se consiguió es de singular importancia puesto que se demuestra que aún hay metabolitos secundarios en este subproducto y recomiendo se inicien estudios para la separación y demostración de las actividades biológicas que tendrían.

Si bien es cierto que existen métodos y tecnologías para la obtención de aceites esenciales se hace necesario sentar las características de estos según el lugar de procedencia y aún más prestar atención a los residuos que generaría la extracción de estos aceites. Razón por la que me planteo las siguientes interrogantes ¿Qué tipo de metabolitos secundarios tiene el subproducto de la extracción y caracterización del aceite esencial de *Tagetes minuta* L (*Huacatay*) que crece en el distrito de Pueblo Nuevo Ica? ¿Qué tipo de polifenoles tiene el sub producto de la extracción de los aceites esenciales? ¿Cuál es la actividad antioxidante que tiene este aceite? Cuyas respuestas permitieron obtener información útil para iniciar estudios de screening farmacológico y determinar sus posibles usos en la salud humana. Siendo por ello los objetivos del estudio.

Determinar la presencia de metabolitos secundarios en el subproducto de la extracción y caracterizar el aceite esencial de *Tagetes minuta* L. (*Huacatay*).

II. ESTRATEGIAS METODOLÓGICAS

2. 1. ASPECTOS METODOLÓGICOS^{10,11,12,13,14,15}

2.1.1. ENFOQUE DE INVESTIGACIÓN

A lo largo del tiempo en el desarrollo de la humanidad se presentaron y presentarán fenómenos o problemas que el hombre ha ido conociendo y resolviendo merced a trabajos de investigación. Actualmente el uso indiscriminado de insecticidas; obliga a los investigadores a la búsqueda del reemplazo de este abuso que echan a perder las relaciones bióticas en nuestro entorno. Las especies vegetales aromáticas como *Tagetes minuta L* ha sido estudiada con este fin y las propuestas para su uso continúan. En nuestro medio esta especie vegetal se desarrolla fácilmente e iniciar estudios para facilitar información química de especies vegetales locales con potencial económico es una noble tarea a cumplir por las instituciones de nivel académico profesional como son principalmente las universidades.

2.1.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN

De acuerdo a las características el presente estudio es de tipo experimental. Los diseños experimentales permiten la manipulación intencionada de una o más variables independientes para analizar las consecuencias que se generan en la variable dependiente. Según esta propuesta, en este estudio, se manipuló de manera intencionada la variable independiente: partes aéreas de *Tagetes minuta L* secas y molidas y frescas versus tiempo de arrastre de vapor para luego analizar las consecuencias de la manipulación que se generarán en la variable dependiente: aceite esencial y sus características respectivas.

2.1.3. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

El diseño de la investigación es el de una investigación experimental cuantitativa. En concordancia con los hechos que permiten obtener la información es una investigación de tipo transversal ya que el estudio se ejecutó en un momento determinado.

2.1.4. POBLACIÓN Y MUESTRA

Población

Está constituida por todas las plantas de *Tagetes minuta L* que crecen en el distrito de

Pueblo Nuevo de la Provincia de Ica. Plantas enteras de *Tagetes minuta* L.

Muestra

Estuvo constituida por plantas sanas con un tamaño de al menos 80 cm de altura que inmediatamente de cosechadas fueron trasladados para su tratamiento. Una parte se secó a la sombra y sirvió para el trabajo de extraer los aceites esenciales a partir de material seco y molido y otra parte se trabajó en estado fresco para extraer los aceites esenciales.

2.2. TÉCNICA E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

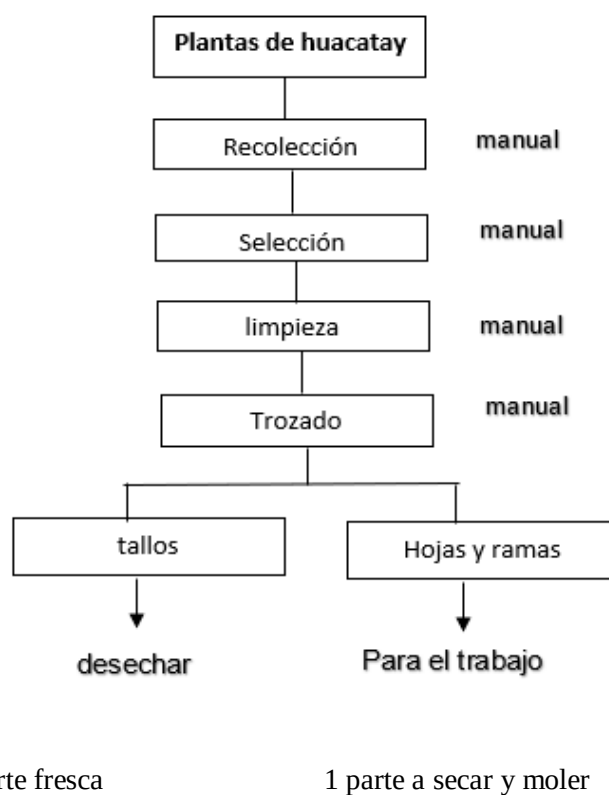
La técnica es un conjunto de procesos, reglas, normas o acuerdos encaminados a obtener resultados específicos y efectivos en la informática, la ciencia, el arte, el deporte, la educación o cualquier otra actividad. La técnica que se usó en el presente estudio es la experimental que consiste en tratar la muestra según la propuesta de métodos de separación de aceites esenciales, caracterización y determinación de la actividad antioxidante. Y de procesos necesarios para realizar reacciones de identificación de metabolitos secundarios presentes en el sub producto de la obtención de los aceites esenciales de *Tagetes minuta* L.

2.3. TRATAMIENTO DE LA MUESTRA

2.3.1. Obtención de partes aéreas de *Tagetes minuta* L

Los procesos para obtener las partes aéreas del Huacatay se presentan en el gráfico siguiente:

GRÁFICO N°01
PROCESOS PARA OBTENER PARTES AÉREAS DEL
HUACATAY



Una vez separadas las hojas del tallo que las tiene fijada son puestas a secar a temperatura ambiente a la sombra por 15 días con remociones diarias. Cuando el material estuvo seco se procedió a la molienda.

La otra parte de las hojas fueron tratadas de inmediato para la obtención de los aceites esenciales.

2.3.2. Caracterización del material a analizar.

Para esta parte del trabajo se tuvieron dos muestras

A: Material seco y molido. Aproximadamente 10 g del material seco y molido se depositaron en una capsula de porcelana y desde allí se juzgó su color, olor, sabor y aspecto.

B: Material fresco

El material fresco, hojas, que se utilizó para la obtención de los aceites esenciales preliminarmente fueron tratadas como sigue: hoja, limpieza, compactado, corte de 2-3 mm, compactado, corte entre 2-3 mm. Esta es la parte que se somete a la caracterización.

2.3.3. Obtención del aceite esencial

Se utilizó un extractor de aceites esenciales de acero inoxidable de 20 litros de capacidad.

- Con material seco y molido

Por hidrodestilación: El material vegetal se sumerge en el agua se condiciona el equipo y se inicia el calentamiento, cuando aparecen las primeras gotas del destilado se inicia el conteo del tiempo. El destilado se recibe en una pera de bromo. Desde aquí se separa el aceite.

Se ejecutaron 3 ensayos:

T1: kg de material seco y molido con 6 litros de agua potable durante 40 minutos.

T2: kg de material seco y molido con 6 litros de agua potable durante 80 minutos.

T3: kg de material seco y molido con 6 litros de agua potable durante 120 minutos.

Por arrastres de vapor: En el cilindro reactor del equipo se colocan los 6 litros de agua, por encima del nivel del agua se fijan dos capas contiguas de 0.5 kg de muestra cada una,

se tapa el equipo y se inicia el calentamiento. cuando aparecen las primeras gotas del destilado se inicia el conteo del tiempo. El destilado se reciben una pera de bromo y desde aquí se separa el aceite.

Se ejecutaron tres ensayos:

T4: Kg de material seco y molido acondicionado en dos capas de 0.5 kg cada una fueron colocada por encima del nivel alcanzado por 6.0 litros de agua potable que preliminarmente contenía el equipo extractor de aceite esenciales. Y se aplicó calor controlándose 40 minutos desde que se condensaron las primeras gotas.

T5: Kg de material seco y molido acondicionado en dos capas de 0.5 kg cada una fueron

colocada por encima del nivel alcanzado por 6.0 litros de agua potable que preliminarmente contenía el equipo extractor de aceite esenciales. Y se aplicó calor controlándose 80 minutos desde que se condensaron las primeras gotas.

T6: Kg de material seco y molido acondicionado en dos capas de 0.5 kg cada una fueron

colocada por encima del nivel alcanzado por 6.0 litros de agua potable que preliminarmente contenía el equipo extractor de aceite esenciales. Y se aplicó calor controlándose 120 minutos desde que se condensaron las primeras gotas.

- **Con material fresco**

Por hidrodestilación: Similar al del material seco

Se ejecutaron 3 ensayos:

T7: 1 kg de material fresco finamente trozado con 6 litros de agua potable durante 40 minutos.

T8: 1 kg de material fresco finamente trozado con 6 litros de agua potable durante 80 minutos.

T9: 1 kg de material fresco finamente trozado con 6 litros de agua potable durante 120 minutos.

Por arrastre de vapor: Similar al del material seco

Se ejecutaron tres ensayos:

T10: 1 Kg de material fresco finamente es acondicionado en dos capas de 0.5 kg cada una fueron colocada por encima del nivel alcanzado por 6.0 litros de agua potable que preliminarmente contenía el equipo extractor de aceite esenciales. Y se aplicó calor controlándose 40 minutos desde que se condensaron las primeras gotas.

T11: 1 Kg de material fresco finamente trozado es acondicionado en dos capas de 0.5 kg cada una fueron colocada por encima del nivel alcanzado por 6.0 litros de agua potableque preliminarmente contenía el equipo extractor de aceite esenciales. Y se aplicó calor controlándose 80 minutos desde que se condensaron las primeras gotas.

T12: 1 Kg de material fresco finamente trozado es acondicionado en dos capas de 0.5 kg cada una fueron colocada por encima del nivel alcanzado por 6.0 litros de agua potable que preliminarmente contenía el equipo extractor de aceite esenciales. Y se aplicó calor controlándose 120 minutos desde que se condensaron las primeras gotas.

2.3.4. Caracterización del aceite esencial

Esta parte del trabajo se realizó con el aceite esencial obtenido en el tratamiento T11.

Se determinaron las características siguientes:

- **Características organolépticas,** utilizando los órganos de:

Color: En un frasco vial de 1 mL se deposita el aceite esencial se deja en reposo por 30 minutos y luego se juzga el color.

Olor: Después de determinar el color, al frasco vial que contiene el aceite esencial se le

retira la tapa e inmediatamente se acerca a la nariz para juzgar el olor.

Aspecto: Con un gotero se retira una gota del aceite esencial y se deposita en yema del dedo pulgar frotándose con el dedo índice para la evaluación de la consistencia

Sabor: Determinado el aspecto el dedo índice es llevado a la boca para la evaluación del sabor.

- **Características físico químicas**

Se ejecutaron las determinaciones siguientes:

1° RENDIMIENTO

Mide la eficacia del proceso en cuanto a obtención de aceite esencial en cada uno de los tratamientos aplicados y se expresa como los mL de aceite obtenido por cada 1000 g de material vegetal tratado en cada uno de los diferentes tratamientos realizados.

2° DENSIDAD

Esta parte del trabajo se realizó con el aceite esencial procedente del proceso del T11.

Definición: La densidad se define como la cantidad total de materia por unidad de volumen. El peso específico (densidad relativa) se define como la relación que hay entre la densidad de un material y la del otro que se toma como referencia, usualmente agua.

Para el aceite esencial la densidad es definida como la relación que hay entre el peso de un volumen dado del aceite esencial y el volumen que ocupa, determinados a 20 °C, y a la densidad relativa como la relación entre la densidad del aceite a 20 °C y la densidad del agua destilada a 20 °C.

Procedimiento: 2 frascos viales de 1 mL de capacidad limpios y secos, se pesan con precisión al 0.1 mg. Con una pipeta de 1 ml graduada al 0.01 mL se deposita 1 mL de agua destilada en uno de los frascos de peso conocido y se registra el peso de 1 mL de agua destilada. La misma pipeta es enjuagada con metanol q.p. y se espera que seque por 15 minutos luego se mide un ml del aceite esencial se deposita en el otro vial de peso conocido y se registra el peso del aceite esencial.

3° ÍNDICE DE REFRACCIÓN

Definición: El índice de refracción se define como la relación del seno del ángulo de incidencia al seno del ángulo de refracción de un rayo luminoso de longitud de onda determinada, que pasa del aire al aceite esencial manteniendo a una temperatura constante. Este parámetro es peculiar y puede ser utilizado como indicador de pureza del aceite

esencial y evitarse adulteraciones.

Procedimiento:

Se coge en refractómetro de Abbe y se limpia, en la placa porta muestra se coloca 1 gota de la muestra a observar, se tapa y con las perillas de mandos se determina el índice de refracción.

4º SOLUBILIDAD

Definición: La solubilidad se define como la capacidad que tiene un disolvente o solvente para disolver o permitir la dispersión de las moléculas de un compuesto químico denominado soluto y entre ellos se produce una sola fase o se dice que el nuevo sistema es homogéneo. Se expresa como la relación peso de soluto máximo que puede disolver 100 g del disolvente.

Procedimiento: En un frasco vial de 5 mL se deposita 0.5 mL del aceite esencial y se pone en contacto con 0.5 mL del solvente ensayo, se tapa el frasco vial y se agita, se deja en reposo por 15 y se observa la solubilidad en esa proporción. Se retira la tapa y se añade 2.00 mL más del mismo solvente, se vuelve a tapar y agitar el frasco vial. Después de 15 minutos se observa la solubilidad. El proceso se repitió con 2 mL más del mismo solvente. Se ensayaron los solventes hexano, metanol q.p y etanol 96°.

2.3.5. Determinación de la actividad antioxidante del aceite esencial de *Tagetes minuta* L.

A) METODO ABTS°

Espectrofotométrico

B) FUNDAMENTO

El método se basa en la capacidad que tienen los compuestos químicos antioxidantes para atrapar los radicales libres de un sistema. La actividad del radical libre en ausencia de agentes antioxidantes se mide espectrofotométricamente; al ponerse en contacto con muestras que tienen compuestos químicos con actividad antioxidante parte del radical libre es atrapado y /o neutralizada disminuyendo su concentración inicial reduciendo su absorbancia inicial.

C) PROCEDIMIENTO

1º. Obtención del radical libre ABTS

El radical ABTS• se obtiene de la reacción de 3.5 mM de ABTS con 1.25 mM de persulfatopotásico. Los reactantes son llevados al frío entre 2-8 °C y protegidos de la luz durante 16-24 horas. Una vez formado el radical ABTS se diluye con etanol hasta obtener una absorbancia de $0,7 \pm 0,05$ a 734 nm.

2° Curva de valoración del trolox

Se preparan cinco disoluciones de concentración conocida de trolox como sigue:

Fiola 1	0.0313 mM
Fiola 2	0.0625 mM
Fiola 3	0.125 mM
Fiola 4	0.250 mM
Fiola 5	0.500 mM

A cinco tubos de ensayo se colocan 2.8 ml de la dilución del radical ABTS° de absorbancia conocida y se le adicionaron 0.20 mL de la disolución de trolox 0.0313, 0.0625, 0.125, 0.250 y 0.500 mM respectivamente, y se dejaron a temperatura ambiente durante 5 minutos; luego de transcurrido este tiempo, se determinó espectrofotométricamente la absorbancia a 734 nm de longitud de onda para determinar la disminución de la concentración de radical libre ABTS°.

3° Preparación de la muestra

El aceite esencial en estudio se disuelve 1.0 mL con 9.0 mL de etanol

4° Determinación del % de actividad antioxidante de la muestra

En un tubo de ensayo se coloca 2.8 mL de la dilución del radical ABTS° de absorbancia conocida se le adicionaron 0.2 mL de la muestra de aceite esencial, el sistema se deja a temperatura ambiente durante 5 minutos; luego de transcurrido este tiempo, se determinó espectrofotométricamente a 734 nm de longitud de onda la disminución del radical ABTS°. El trabajo se realizó por triplicado. Los resultados se hallan con la expresión:

$$\% \text{ de Act. Antiox} = 100 - \text{Abs muestra} \times 100 / \text{Abs Trolox}$$

2.3.6. Determinación de metabolitos secundarios en el subproducto de la extracción del aceite esencial.

La muestra usada es la procedente del tratamiento T11. Los paquetes que contenían las muestras después de haberse separado los aceites esenciales; es sumergida en el agua remanente presente en el equipo de destilación y se eleva la temperatura hasta alcanzar la ebullición y se mantiene así por 10 minutos. Luego se filtra en caliente, sobre un colador de uso doméstico, se deja en reposo, el sedimento se separa por decantación y el líquido decantado se filtra sobre papel de filtro. Desde esta disolución se investigó

la presencia de metabolitos secundarios. 200 mL de esta disolución son extraídos por partición usando hexano como disolvente la fracción hexánica se concentra y se obtiene la parte apolar de la disolución o extracto hexánico. 400 mL de la disolución se coloca en una capsula grande y se lleva a la estufa 70-80°C hasta sequedad, se añade 100 mL de etanol y se calienta a 60 °C por una, se filtra y el líquido filtrado, considerado como fracción etanólica, es utilizado para las determinaciones de compuestos químicos. Se ejecutaron las reacciones siguientes:

1° Reacción de Shinoda. Para la determinación de flavonoides

En un frasco vial de 1 ml se deposita 0.5 ml de la fracción etanólica y se agregan entre 10-12 partículas de limadura de magnesio luego 0.2 ml de HCL concentrado. Se espera que la reacción culmine y se concentra a 1/3 de su volumen, se añade 0.5 ml de una mezcla de etanol- diclorometano 2:3; se observa el color de la fase orgánica. La aparición de una coloración de tinte naranja es indicadora de la presencia de flavonoides. El resultado se contrasta versus los resultados de un blanco trabajado en las mismas proporciones y condiciones solo que en lugar de muestra tiene el solvente etanol.

2°. Reacción de cloruro férrico para determinar compuestos fenólicos.

En un frasco vial pequeño se coloca 0,5 ml de la fracción etanólica y se agrega 2 ml de solución de FeCl₃ al 1 %. Se considera positivo la aparición de coloraciones azul, verde o negro. El resultado se contrasta frente a un blanco que en lugar de muestra tiene disolvente. Se ensayó el extracto acuoso y etanólico.

3°. Reacción de gelatina 1%/ NaCl 10 %. Para determinar taninos.

En un tubo de ensayo se colocan 2 mL de la solución de gelatina en NaCl 10% y se agregagota a gota 0.5 mL de la fracción etanólica ensayada mientras se observa la aparición de un enturbiamiento del sistema. El resultado se contrasta frente a un blanco en el que se sustituye la muestra por el solvente etanol.

4°. Reacción de Rosemhein. Para determinar leucoantocianidinas y/o catequinas.

En un tubo de ensayo, se coloca 2 mL de muestra a ensayar y se agrega 1 mL de HCl concentrado, se lleva a baño maría hirviendo 15 minutos, se retira y se deja enfriar. Luego se adicionan 2 mL de H₂O y 3 ml de alcohol amílico. Se agita por 30 segundos, se deja en reposo por 10 minutos y luego se observa el color en la fase amílica. La aparición de un color que va desde el carmesí oscuro hasta rosado débil, indicará la presencia de

leucoantocianidinas y un color marrón la presencia de catequinas. El resultado se contrasta frente a un blanco en el que se sustituye la muestra por el solvente etanol.

5° Reacción de Liebermann-Burchard. Para determinar esteroides y/o triterpenoides.

En un frasco vial de pequeño se coloca 1 mL de la fracción hexánica y se evapora el solvente casi a sequedad se añade 1 ml de diclorometano y se agita, se agrega 2 - 3 gotas de ácido acético, se mezcla y se adiciona unas gotas del reactivo solución de anhídrido acético/H₂SO₄ 50:1. La aparición de una coloración azul, verde o anaranjado indicara que la muestra tiene resultados positivos El resultado se contrasta frente a un blanco en el que se sustituye la muestra por el solvente hexano.

6°. Reacción de Borntrager. Para determinar nafto y/o antraquinonas.

En un frasco vial de pequeño se coloca 1 mL de la fracción hexánica y se evapora el solvente casi a sequedad se añade 1 mL de diclorometano se agita y se agrega 2 mL de solución acuosa de NaOH al 10%, se tapa el frasco vial y se agita, se deja en reposo y se observa el color que toma la fase acuosa. Se considera positivo si la fase acuosa se torna decolor rojo. El resultado se contrasta frente a un blanco en el que se sustituye la muestra por el solvente hexano.

7°. Reacciones para la determinación de alcaloides.

4 mL de la fracción etanólica se concentran a la mitad de su volumen y se acidifican con 4 gotas de H₂SO₄ 0.25 M. Desde esta preparación se cogen las alícuotas para las reacciones de identificación de compuestos probablemente de naturaleza alcaloidea. se ejecutaron las reacciones siguientes:

Reacción de Dragendorff

(El reactivo se prepara mezclando 8 g de Bi (NO₃)₃ 5H₂O en 20 mL de HNO₃ con 2,72g de KI en 50 mL de agua).

0.2 ml de la fracción etanólica concentrada y acidificada se depositan en el pozuelo de una placa para reacciones a la gota y se añade 3 gotas del reactivo de Dragendorff se mezcla y se observa. La aparición de un precipitado anaranjado o rojo indican que la reacción es positiva.

Reacción de Wagner.

El reactivo se prepara mezclando 1,25g de I₂ más 2 g de KI/5 mL de H₂O diluir hasta 100mL.

0.2 mL de la fracción etanólica concentrada y acidificada se depositan en el pozuelo de una placa para reacciones a la gota, se añade 3 gotas del reactivo de Wagner, se mezcla y se observa. La aparición de un precipitado marrón indicará que la reacción es positiva.

Reacción de Hager.

El reactivo se prepara con ácido pícrico hasta obtener 10 mL de disolución saturada de este compuesto.

0.2 mL de la fracción etanólica concentrada y acidificada se depositan en el pozuelo de una placa para reacciones a la gota, se añade 3 gotas del reactivo de Hager, se mezcla y se observa. La aparición de un precipitado de color crema o amarillo marrón indicará que la reacción es positiva.

Reacción de Mayer.

El reactivo se prepara mezclando 8 g de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en 20 mL de HNO_3 con 2,72g de KI en 50 mL de agua).

0.2 mL de la fracción etanólica concentrada y acidificada se depositan en el pozuelo de una placa para reacciones a la gota, se añade 3 gotas del reactivo de Mayer, se mezcla y se observa. La aparición de un precipitado de color crema o amarillo marrón indicará que la reacción es positiva.

Cada una de las reacciones para identificación de alcaloides fue contrastada mediante un blanco, que contiene en lugar de muestra disolvente etanol en las mismas proporciones y concentración y acidificación con el ácido sulfúrico 0.1 M.

8°. Prueba de la espuma. Para determinar saponinas

En un tubo de ensayo de 13 x 100 se colocan 10 mL del extracto acuoso remanente del filtrado sobre el papel de filtro. 10 %. Se tapa y se agita fuertemente durante 1 minuto.

La presencia de saponinas se juzga por la formación de espuma que persistirá por 30 minutos con una altura no menor de 1 cm.

9°. Prueba de fluorescencia. Para determinar cumarinas.

Se trabajó con la fracción hexánica y etanólica. Se obtienen tiras de papel filtro de 1.5 cm de ancho por 6 cm de largo. Para cada extracto a ensayar se utiliza una tira de papel y se procede como sigue: Se marca tenuemente con lápiz tres puntos equidistantes; en el primero y segundo punto se impregna 1 gota del extracto a ensayar, al tercer punto 1 gota de KOH 0,5 M; se espera que sequen; y luego al primer punto se agrega 1 gota de KOH 0,5 M y se espera que seque. Seguidamente se

observa a la luz ultravioleta de 366 nm de longitud de onda. La aparición de fosforescencia en el primer punto es indicativa de la presencia de cumarinas.

III. RESULTADOS

3.1. DE LA MUESTRA ESTUDIADA

La muestra estudiada es la especie vegetal *Tagetes minuta* L. *popularmente* conocida como Huacatay que crece en el distrito de Pueblo Nuevo en Ica

3.2. DE LA OBTENCIÓN DE LAS PARTES AÉREAS DE TAGETES MINUTA L.

El promedio del peso de 20 plantas cuyos tamaños oscilaron entre 60 – 80 cm de altura fue de 18.42 kg. y desde aquí se retiran las hojas obteniéndose un peso de material fresco de 3.81 kg. Las hojas frescas que fueron secadas a temperatura ambiente y posteriormente en la estufa a una temperatura de 45-50 °C tienen 72.6 % de humedad.

3.3. DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL MATERIAL A ENSAYAR

Los resultados se presentan en el cuadro siguiente:

TABLA 1. Características organolépticas de las hojas frescas y hojas secas y molidas de *Tagetes minuta* L.

Característica Organoléptica	Hojas frescas	Hojas secas y molidas
Color	Verde	Grisáceo
Olor	Fuerte suigéneris	Débil suigéneris
Aspecto	Liso, turgente, brillante	Pulverulento, áspero
Sabor	Suigéneris fuerte, picante, astringente	Suigéneris débil, astringente.

Fuente: La autora del trabajo

3.4. DE LA OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL

A) CON MATERIAL SECO Y MOLIDO

Con material seco y molido los rendimientos de extracción de aceite esencial de *Tagetes minuta* L tanto por el método de extracción por hidrodestilación, así como por el método de arrastre de vapor son muy bajos. En todos los tiempos ensayados en este trabajo no se logró separar directamente del vapor condensado, pero si se presentó una débil emulsión en el tratamiento T6; esta emulsión tratada con hexano permite separar la parte orgánica de la emulsión proporcionando un ligero color amarillo a la fase hexánica por extracción de aceite esencial desde la emulsión.

B) CON MATERIAL FRESCO

Los resultados se presentan en el cuadro siguiente:

TABLA 2. Resultados de la extracción de aceites esenciales por el método de hidrodestilación a partir de hojas frescas de *Tagetes minuta* L.

Tratamiento	Método de hidrodestilación			
	Peso kg	Volumen de agua Litros	Tiempo (minutos)	Rendimiento (%)
T7	1	6	40	0.01
T8	1	6	80	0.02
T9	1	6	120	0.04

Fuente: La autora del trabajo

TABLA 3. Resultados de la extracción de aceites esenciales por el método de arrastres de vapor a partir de hojas frescas de *Tagetes minuta* L

Tratamiento	Método de arrastre de vapor			
	Peso kg	Volumen de agua Litros	Tiempo (minutos)	Rendimiento (%)
T10	1	6	40	0.06
T11	1	6	80	0.11
T12	1	6	120	0.11

Fuente: La autora del trabajo

El mejor tratamiento para obtener los aceites esenciales fue el T11 del cual se obtiene 1.1 mL de aceite por kg de hoja fresca tratada. Es con este aceite que se determinó las características organolépticas y físico químicas del aceite esencial de *Tagetes minuta* L procedente del distrito de Pueblo Nuevo de Ica.

3.5. DE LA CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL

A) CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS

Los resultados se presentan en el cuadro siguiente:

TABLA 4. Características organolépticas del aceite esencial de las hojas frescas de *Tagetes minuta* L obtenido por arrastre de vapor.

Característica Organoléptica	Aceite esencial
Color	Amarillo
Olor	Fuerte suigéneris
Aspecto	Homogéneo, liquido untuoso
Sabor	Suigéneris

B) CARACTERÍSTICAS FISICO QUIMICAS

Los resultados los presento en las tablas siguientes:

TABLA 5. Características físico químicas del aceite esencial de las hojas frescas de *Tagetes minuta* L obtenido por arrastre de vapor.

Característica	Aceite esencial
Rendimiento	0.11 %
Densidad	0.906
Indicé de refracción	1.4428
Solubilidad	Soluble en todas las proporciones al: hexano, metanol y etanol

3.6. DE LA DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

a) Absorbancia del radical libre ABTS°

La absorbancia del radical libre fue de 0.686

b) Absorbancias de las reacciones de soluciones patrón de trolox versus el radical libre de absorbancia conocida.

Los resultados se presentan en el cuadro siguiente:

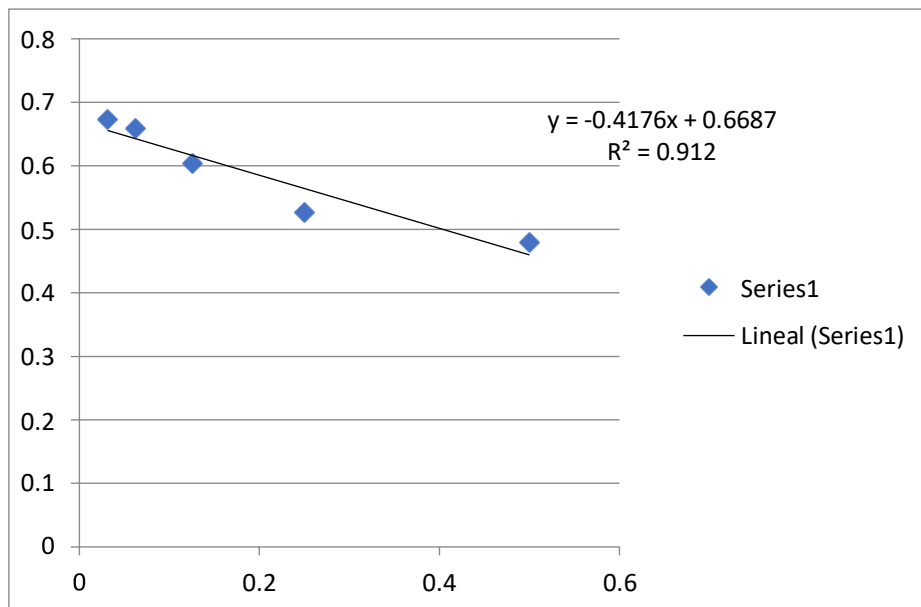
TABLA 6. Absorbancias de las soluciones patrones de TROLOX frente al Radical libre ABTS°

Solución de trolox mM	Absorbancia	Absorbancia menos blanca	Absorbancia
0.000(blanco)	0.022	0.022	0.000
0.0313	0.094	0.022	0.672
0.0625	0.680	0.022	0.658
0.125	0.625	0.022	0.603
0.250	0.549	0.022	0.527
0.500	0.501	0.022	0.479

Fuente: datos obtenidos por la autora del trabajo

Estos datos fueron analizados estadísticamente por el método de los mínimos cuadrados y se hallaron los valores de la recta: intercepto 0.6687, pendiente -0.4176 y R^2 de 0.912. Estos valores fueron utilizados para hallar la actividad antioxidante de la muestra estudiada con respecto a la de las soluciones patrón del antioxidante trolox.

GRAFICO 2. Curva de calibración entre las soluciones patrón de TROLOX Versus el radical libre ABTS°



D) Absorbancia y % de actividad antioxidante de la muestra.

EL promedio de las absorbancias de tres determinaciones fue de 0.482 y le corresponde a un 29.73 % de actividad antioxidante.

La actividad antioxidante de la muestra de aceite esencial en la dilución ensayada es equivalente a la actividad antioxidante de una solución de trolox de 0.4471 Mm.

3.7. DE LA DETERMINACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS

Los resultados se presentan la tabla siguiente:

TABLA 7. Resultados de las reacciones para identificar los tipos de compuestos químicos en el sub producto de la extracción de los aceites esenciales de *Tagetes minuta* L

Reacción	Observación	Resultado
Gelatina sal	Precipitado crema	++ Taninos
Tricloruro férrico	Color verde azulado	+++
Shinoda	Color naranjado	++ Flavonoides
Rosenheim	Marrón	+ Catequinas
Lieberman -Burchard	Color verde	+ Triterpenos esteroidales
Bourtraguer	Color rojo	+ nafto y/o antraquinonas
Dragendorff	Precipitado naranja	+
Mayer	Precipitado marro	
Wagner	Precipitado marrón	
Hager	Precipitado crema	
Fluorescencia	No presenta	-
Espuma	Altura 1.4 cm	+ Saponinas

Fuente: La autora del trabajo

IV. DISCUSIÓN

Tagetes minuta L(Huacatay) es una especie vegetal ampliamente utilizada en la gastronomía peruana y en la de otros países. El interés por su estudio ha aumentado ya que se le reporta diferentes actividades biológicas, Así Manuelo¹⁶ (2020) le reportan actividad contra *Candida albicans*. Cussa⁶ (2017) y Lamara R¹⁷ le reporta actividad insecticida contra afidos que son insectos que atacan varios cultivos principalmente del género Brassica. A esta especie vegetal que crece en nuestro medio, después de separarle su aceite esencial, se obtiene el extracto acuoso del marco con el líquido sobrante del arrastre de vapor y en este extracto hemos determinado la presencia de los metabolitos secundarios. Con respecto al aceite esencial que se obtiene de las partes aéreas frescas por el método de arrastres de vapor con un rendimiento de 0.041 % este valor hallado es diferente al reportado por Baca¹⁸ (2018) quien extrajo aceites esenciales de este género en la Región Amazonas y reporta rendimientos de 0.8 – 1.5%. Mientras que Mendoza J¹⁹ (2019) reporta un rendimiento de 0.57 % esta variabilidad de los rendimientos debe ser por los diferentes ambientes en que se desarrolla el cultivo. Con respecto a la densidad expresada en g/ml, el aceite obtenido en Ica presentó un valor de 0.906. Este valor es concordante con lo reportado para los aceites obtenidos en la Región Amazonas donde la densidad fluctuó entre 0.833 – 0.991 y para lo reportado por Mendoza¹⁹ con un valor de la densidad de 0.8373. Similarmente existen pequeñas diferencias con respecto a los valores de índice de refracción el valor que reporto es de 1.4428, Baca¹⁸ para los aceites esenciales de diferentes sectores de la Región Amazonas reporta valor de índice de refracción de 1.4880 Y Mendoza¹⁹ 1.4960. Estas pequeñas diferencias de los valores de índice de refracción deben darse por los diferentes lugares de procedencia de los aceites lo cual expone al desarrollo de la planta en diferentes condiciones nutricionales y climatológicas. Con respecto a la actividad antioxidante de los aceites esenciales de *Tagetes minuta* L(Huacatay) ha sido estudiado por Baca¹⁸ y para los aceites esenciales procedentes de la Región Amazonas reporta actividad antioxidante, expresada como la concentración inhibitoria media (CI50) para atrapar radicales libres DPPH, reporta valores comprendidos entre 3,449 – 0.670 g/ml,

Castro A²⁰(2017) reporta actividad antioxidante para aceite esencial procedente de zonas semi húmeda semi cálidas de la Región Amazonas valores de CI50 frente a radicales libres de DPPH de 2.488 mg/ml. en el presente estudio se determinó la actividad antioxidante del aceite esencial de Huacatay procedente del distrito de Pueblo Nuevo de la Región Ica y determine que tiene 29.73 % de actividad para atrapar radicales libres ABTS^o esta actividad es el del aceite esencial diluido en etanol en la proporción 1:9 y es equivalente a la actividad antioxidante que tiene una solución de trolox 0.4471 Mm. La presencia de metabolitos secundarios que reporto en el presente estudio está en concordancia con lo reportado por Severo⁷ (2016), Lamara¹⁷(2017) y en el subproducto de la extracción de aceites esenciales queda una fuente rica en metabolitos secundarios de naturaleza fenólica, taninos, alcaloides, triterpenos esteroidales, flavonoides y saponinas que merecen ser estudiados a fin de determinarse sus propiedades biológicas.

V. CONCLUSIONES

1°. El sub producto de extracción de los aceites esenciales de la especie vegetal *Tagetes minuta* **L** tiene los metabolitos secundarios siguientes: taninos, fenoles, triterpenos esteroidales, alcaloides, catequinas y saponinas.

2°. La actividad antioxidante del aceite esencial diluido 1:9 con etanol tiene una actividad antioxidante de 29.73 % para atrapar los radicales libres ABTS° de una concentración que exhibe 0.686 de absorbancia medida a 734 nanómetros de longitud de onda. Esta actividad antioxidante es equivalente a la de una solución de trolox 0.4471 Mm.

VI. RECOMENDACIONES

1º Iniciar estudios para determinar los posibles efectos biológicos que tendría extracto rico en metabolitos secundarios que queda como sub producto de la extracción de los aceites esenciales.

2º Iniciar estudios para la separación de los grupos de compuestos químicos presentes en el extracto, rico en metabolitos secundarios, que queda como sub producto de la extracción de los aceites esenciales.

VII. FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Gutiérrez Carolina. Investigación de los aceites esenciales, sus características y finalidad de uso. análisis del estado de su regulación en Chile y el mundo. Tesis Universidad de Chile Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica. Memoria para optar al título Químico Farmacéutico. (2010)
2. Rocabado G, Gonzales E, De la Fuente F y Araya P. Estudios de la actividad ansiolítica-sedante de la especie *Tagetes minuta* L. Rev. Méd. La Paz v.17 n.1 La Paz 2011
3. Chamorro E, Ballerini G, Sequeira A, Velasco G y Salazar M. Chemical composition of essential oil from *Tagetes minuta* L. leaves and flowers. Journal of the Argentine Chemical Society – Vol. 96 - N° (1-2), 80-86 (2008)
4. Díaz -Cedillo F y Serrato cruz M. Composición del aceite esencial de *Tagetes parryi* A. Gray. Rev. Fitotec. Mex vol.34 no.2 Chapingo abr./jun. 2011.
5. Baldeón J. Actividad insecticida de los aceites esenciales de *Tagetes minuta*, *Tagetes terniflora* y *Tagetes zipaquirensis* sobre *Premnotrypes vorax*. Tesis para optar el título profesional de Bioquímico Farmacéutico. Escuela Superior politécnica de Chimborazo. Riobamba Ecuador.2,011.
6. Cussa L. Toxicidad del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. (*asteraceae*) obtenido de poblaciones silvestres y cultivadas. Tesis para optar el título profesional de Bióloga. Facultad de Ciencias exactas, Físicas y Naturales. Universidad nacional de Córdoba. 2017.
7. Severo A. y Anofi T. Pupicidal and insecticidal activities of *Cosmos bipinnatus*, *Foeniculum vulgare* and *Tagetes minuta* against *Culex quinquefasciatus* mosquitoes. Tropical Journal of Pharmaceutical Research May 2016; 15 (5): 965-972.
8. Funciones de los aceites esenciales en las plantas. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/322736155/Funciones-de-Los-Aceites-Esenciales-en-La-Plantas>.

9. Lannacone J, Alvarino L, Guabloche A, Ventura K, Latorre M, Carhuapoma M y col.

Efecto tóxico agudo y crónico de *Tagetes minuta* “huacatay” (Asteraceae) y Carbaril sobre seis entomófagos de importancia en control biológico. *The Biologist* (Lima) Vol nº 15, Nº 1 Jan- Jun 2017.

10. Peredo-Luna H, Polou-García E López-malo. Aceites esenciales: Métodos de extracción. *Temas Selectos de Alimentos* 3-1 (2009) 24-32.26.
11. Romero MD. *Plantas Aromáticas: Tratado de Aromaterapia Científica*. Primera Edición. Buenos Aires – Argentina: Editorial Kier.
12. Los aceites esenciales. Se puede conseguir en: [/www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-los-aceites-esenciales-13064296](http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-los-aceites-esenciales-13064296).
13. Fontenla G. Caracterización del aceite esencial de Lanche (*Myrcianthes rhopaloides* (H.B.K) Me Vaugh) proveniente del distrito de Chalaco, provincia de Morropón-Piura, obtenido por dos métodos de destilación. Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Forestal. Universidad Nacional Agraria La Molina.2,006
14. Lock O. “Investigaciones Fitoquímicas” Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú. 1992.
15. Harris D. “Análisis Químico Cuantitativo” 2da Edición. Editorial Reverte S.A. 2001.
16. Manuello M.. Efecto antimicótico “in vivo” del ungüento a base del aceite esencial de ***Tagetes minuta* L. (Huacatay)** frente a *Cándida albicans* ATCC. Tesis para optar el título de Química farmacéutica. Universidad nacional Jorge Basadre Grohmann Tacna. Facultad de Ciencias de la salud. Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica. Tacna 2020.
17. Lamara R, Andama M, y Olet E. Phytochemical Composition of Aqueous Crude Extracts of Selected Pesticidal Plants used against Brassica Vegetable Pests. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* ISSN: 2319-7706 Volume 9 Number 1 (2020).
18. Baca Walter. Estudio comparativo del aceite esencial de huacatay (*Tagetes minuta*) de la Región Amazonas por cromatografía líquida de alta resolución. Tesis para optar el

título de Ingeniero Agroindustrial. Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza. Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias. Escuela profesional de Ingeniería Agroindustrial. Chachapoyas-Amazonas. 2018.

19. Mendoza N. Características físico químicas del aceite esencial y determinación del porcentaje relativo de sus componentes hidrocarbonados y oxigenados de las hojas de ***Tagetes minuta L (huacatay)***. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2019
20. Castro-Alayo E, Auquiñivín-Silva E, Fernández-Jerí A, Acha-de la Cruz O, Rodríguez-Humamura y Col. Aceites esenciales de plantas nativas del Perú: Efecto del lugar de cultivo en las características fisicoquímicas y actividad antioxidante. *Scientia Agropecuaria* vol.10 no.4 Trujillo oct. 2019.

VIII ANEXOS



SEPARACIÓN DE LAS PARTES AÉREAS DE TAGETES MINUTA



TROZADO DE PARTES AÉREAS DE TAGETES MINUTA



**ACONDICIONANDO EL PRIMER PAQUETE PARA LA OBTENCION DE ACEITES ESENCIALES POR
EL MÉTODO DE ARRASTRE DE VAPOR**



ACONDICIONANDO EL SEGUNDO PAQUETE PARA LA OBTENCION DE ACEITES ESENCIALES POR EL MÉTODO DE ARRASTRES DE VAPOR



EQUIPO DOMESTICO PARA LA OBTENCION DE ACEITES ESENCIALES



OBTENCION DE ACEITES ESENCIALES POR HIDRODESTILACIÓN MATERIAL FRESCO



SECADO CON LA ESTUFA



ACONDICIONAMIENTO DEL MATERIAL SECADO



ACONDICIONANDO EL SEGUNDO PAQUETE CON MATERIAL SECO PARA LA OBTENCION DE ACEITE ESENCIAL POR ARRASTRES DE VAPOR



CONTROLANDO EL PROCESO DE OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES



ACEITE ESENCIAL EN LA PERA DE BROMO



EL ACEITE ESENCIAL SEPARADO COLECTADO



REACCIÓN DE RECONOCIMIENTO DE SAPONINAS



ESPECTROFOTÓMETRO USADO PARA MEDIR LAS ABSORBANCIAS

Ica, abril del 2,023

Bach. Deyanira Antuaned Aquije Vilca
Tesisista

CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

"AÑO DE LA UNIDAD, LA PAZ Y EL DESARROLLO"

El Blgo. Que suscribe determina que, la muestra biológica presentada por el bachiller en Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga **AQUIJE VILCA DEYANRA ANTUANED**, con DNI N° 72289675, para su determinación pertenece al nombre científico de ***Tagetes minuta* L.** "huacatay", según Sistema de Clasificación de Arthur Cronquist, (1988).

REINO: PLANTAE

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

ORDEN: ASTERALES

FAMILIA: ASTERACEAE

GÉNERO: *Tagetes*

ESPECIE: *Tagetes minuta* L

N.V. "huacatay"

Se emite la presente certificación a solicitud del interesado, para fines de estudios

Ica 22 de abril del 2023.




.....
Dr. Miranda Huamán David Máximo
 BIÓLOGO
CBP. 3681