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”

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Extracción, caracterización y actividad antioxidante del aceite esencial de *Salvia rosmarinus*

Salud Pública y Conservación del Medio Ambiente

INFORME FINAL DE TESIS

AUTOR:

BACH. YESAYRA MILAGROS ARANGO TANTA

Ica -Perú

2026

DEDICATORIA

Al regalo más grande que Dios me pudo regalar, mi hija, la persona más importante que me motivo a seguir adelante y cumplir mis metas, a mis padres, porque ellos son mi orgullo de ser lo que seré, por ser mi apoyo incondicional en este proceso y mis hermanos, por confiar siempre en mí.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradecida con Dios y a mis ángeles celestiales por guiar mi camino en esta etapa universitaria. Agradezco a mis padres, por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años que me han permitido culminar una de mis metas soñadas.

A mis hermanos y familiares por el apoyo moral que me brindaron a lo largo de esta etapa.

A mi asesor por compartirme sus conocimientos, sus orientaciones que han sido fundamentales para mí.

ÍNDICE DEL CONTENIDO

RESUMEN viii

ABSTRACT ix

I. INTRODUCCIÓN 10

II. ESTRATEGIAS METODOLÓGICAS 16

2.1 Aspectos metodológicos 16

2.1.1. Enfoque de investigación 16

2.1.2. Tipo de investigación 16

2.1.3. Diseño de la investigación 16

2.1.4. Población y muestra 16

2.2 Técnica e instrumento de recolección de información 17

2.3 Tratamiento de la muestra 17

2.3.1. Obtención de las hojas de ***Salvia rosmarinus*** *(romero).* 17

2.3.2. Caracterización del material a utilizar para obtener los aceites esenciales 18

2.3.3. Obtención del aceite esencial 199

2.3.4. Caracterización del aceite esencial 20

2.3.5. Determinación de la actividad antioxidante del aceite esencial de ***Salvia rosmarinus***……..22

III. RESULTADOS 29

3.1. Del material objeto de estudio 29

3.2. De las características organolépticas del material a ensayar 29

3.3. De la obtención del aceite esencial ……..29

3.4. De las características organolépticas del aceite esencial de ***Salvia rosmarinus***……...31

3.5. De las características fisicoquímicas del aceite esencial de ***Salvia rosmarinus***……..32

3.6. De la determinación de la actividad antioxidante frente al radical libre DPPH…..….33

IV. DISCUSIÓN.....38

V. CONCLUSIONES.....40

VI. RECOMENDACIONES.....41

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....42

VIII. ANEXOS.....45

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Esquema de trabajo para elaborar la curva de calibración de la reacción entre el radical libre DPPH y las diferentes diluciones del estándar ácido gálico……24

Tabla 2. Esquema para determinar el porcentaje de inhibición al radical libre DPPH por parte del aceite esencial de romero……..26

Tabla 3. Esquema de trabajo para determinar la actividad antioxidante del aceite esencial de ***Salvia rosmarinus*** expresado como CI50……..27

Tabla 4. Descripción organoléptica de las hojas frescas fragmentadas de ***Salvia rosmarinus***……29

Tabla 5. Rendimientos de aceite esencial extraído de ***Salvia rosmarinus*** mediante hidrodestilación, según el tiempo de exposición y la intensidad del calor aplicado……30

Tabla 6. Rendimientos de aceite esencial extraído de ***Salvia rosmarinus*** mediante el método de arrastre de vapor, según diferentes tiempos de exposición y niveles de intensidad térmica……..30

Tabla 7. Determinación de las características organolépticas del aceite esencial de las hojas frescas de ***Salvia rosmarinus*** obtenido por arrastre de vapor……31

Tabla 8. Características fisicoquímicas del aceite esencial de las hojas frescas de ***Salvia rosmarinus*** obtenido por arrastre de vapor……32

Tabla 9. Resultados de las absorbancias de las soluciones diluidas de ácido gálico frente al reactivo DPPH……..33

Tabla 10. Resultados de las absorbancias del radical libre DPPH solo y después del ataque del aceite esencial de romero……...35

Tabla 11. Absorbancia de las distintas diluciones de la muestra en reacción con DPPH para la determinación de la CI_{50}……36

ÍNDICE DE GRAFICOS

Gráfico 1. Procesos para obtener las partes aéreas del romero……18

Gráfico 2. Curva de calibración obtenida a partir de la interacción entre las soluciones estándar de ácido gálico y el radical libre DPPH……34

Gráfico 3. CI50 del aceite esencial de Romero……..37

RESUMEN

El presente es un estudio sobre la especie vegetal ***Salvia rosmarinus*** **(Romero)** popularmente conocida como Romero que crece en el distrito de Santiago de la provincia de Ica, con el objetivo de obtener y caracterizar el aceite esencial del romero. De las hojas de esta especie vegetal se extrajeron sus aceites esenciales por el método de arrastre de vapor usando calor moderado, calor que permite un goteo de condensado de 20 – 25 gotas por minutos por 120 minuto permitiendo un rendimiento de 0.14 %, este fue sometido a su caracterización organoléptica determinando que es una muestra de color débilmente amarillo, olor suigéneris, sabor desagradable y de aspecto homogéneo untuoso; además se le determinó su densidad 0.909 g/cm^3, índice de refracción 1.462 y soluble en todas proporciones al hexano, metanol y alcohol absoluto. Se determinó su actividad antioxidante utilizando como radical libre de referencia el DPPH y se determinó que una solución 10 % del aceite esencial en etanol tiene el 46.06 % de actividad para inhibir la actividad de una solución de radical libre DPPH de absorbancia 1.079. Esta actividad de la muestra analizada corresponde a la actividad de una solución 19.81 mg de ácido gálico /100 mL. La actividad antioxidante expresada como CI_{50} 61.2 µL cuando la absorbancia del DPPH es de 1.024. Concluyo informando que el romero que crece en el distrito de Santiago de la provincia de Ica tiene un considerable contenido de aceites esenciales y con mayor esmero en su cultivo pudiera ser tenido en cuenta para ser convertido en un cultivo industrial.

Palabras clave: ***Salvia rosmarinus***, aceites esenciales, actividad antioxidante.

ABSTRACT

The present study is about the plant species ***Salvia rosmarinus*** (Rosemary), commonly known as Rosemary, which grows in the district of Santiago in the province of Ica, with the aim of obtaining and characterizing the essential oil of rosemary. From the leaves of this plant species, its essential oils were extracted using the steam distillation method with moderate heat, which allows a drip of condensate of 20-25 drops per minute for 120 minutes, yielding 0.14%. This was subjected to organoleptic characterization, determining that it is a sample with a weakly yellow color, a unique smell, an unpleasant taste, and a homogeneous oily appearance. Additionally, its density was determined to be 0.909 g/cm³, refractive index 1.462, and it is soluble in all proportions in hexane, methanol, and absolute alcohol. Its antioxidant activity was determined using DPPH as the reference free radical, and it was found that a 10% solution of the essential oil in ethanol has 46.06% activity to inhibit the activity of a DPPH free radical solution with an absorbance of 1.079. This activity of the analyzed sample corresponds to the activity of a solution of 19.81 mg of gallic acid /100 mL. The antioxidant activity expressed as IC50 61.2 µL when the DPPH absorbance is 1.024. I conclude by stating that the rosemary that grows in the district of Santiago in the province of Ica has a considerable content of essential oils and with greater care in its cultivation, it could be considered for conversion into an industrial crop.

Keywords: ***Salvia rosmarinus***, essential oils, antioxidant activity

INTRODUCCIÓN

A través del tiempo y hasta la actualidad la preocupación fundamental del hombre ha sido y es conservar su bienestar físico y mental. Para gozar de buena salud en un inicio recurrió al consumo de productos naturales bióticos o abióticos. Con el transcurrir del tiempo estas prácticas fueron pasando de generación en generación y han subsistido a pesar de los avances de la ciencia que recurre a la medicina moderna vía fármacos sintéticos para restablecer o cuidar de la salud. Si bien es cierto la medicina moderna alivia y cura varias enfermedades de mucha gente, principalmente de escasos recursos económicos, recurren al uso o consumo de productos naturales que cada día se viene publicando sus virtudes a través de diferentes medios escritos y redes sociales[1,2].

Nuestro país es privilegiado por la naturaleza y permite el desarrollo de innumerables especies vegetales con diversidad de usos, una de estas especies vegetales es la popularmente conocida como romero, (***Salvia rosmarinus)***; es un arbusto perenne, leñoso y aromático que puede alcanzar hasta dos metros de altura. Sus tallos jóvenes están cubiertos de una fina vellosidad que desaparece con el tiempo, volviéndose rojizos y con la corteza agrietada. Las hojas, lineales y opuestas, presentan una coloración verde oscuro por el haz y blanca por el envés debido a la presencia de tricomas. En el Perú, el romero crece en distintas regiones y se le atribuyen propiedades medicinales; como: antifúngico, antibacteriano, analgésico, antiinflamatorio y antihelmíntico, así como usos culturales vinculados a la protección espiritual. Para los aceites esenciales del romero se ha demostrado actividad antimicrobiana y antifúngica, además de un creciente interés científico por su potencial como repelente natural contra insectos que afectan los cultivos[3].

En los mercados locales el romero se comercializa en manojos que se obtienen del desprendimiento de ramas de la planta. Últimamente diversas investigaciones internacionales han aportado evidencia científica sobre la composición química, las propiedades antioxidantes y las aplicaciones biológicas del aceite esencial de ***Salvia rosmarinus***. Y es mi propósito extraer y caracterizar el aceite esencial que se obtienen de plantas de romero que crecen en nuestro medio de tal forma que sirva de bases para futuras investigaciones direccionadas por los reportes de mi trabajo. Para el desarrollo del presente tema el problema principal queda enmarcado en la interrogante siguiente: ¿Cuál es el mejor método que extrae el aceite esencial de ***Salvia rosmarinus*** y que características tiene? Y como problemas específicos ¿Cuál es el mejor método para la extracción del aceite esencial de ***Salvia rosmarinus***? ¿Cuáles son las características organolépticas, físicas y químicas del aceite esencial de ***Salvia rosmarinus***? Y ¿Cuál es la actividad antioxidante del aceite esencial de ***Salvia rosmarinus***? El desarrollo de la parte experimental tuvo lugar en los laboratorios de: Físico química y Química Analítica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica y ello permitió que el objetivo general: Obtener, caracterizar y

determinar la actividad antioxidante del aceite esencial de ***Salvia rosmarinus*** haya sido alcanzado; se desarrollaron actividades para alcanzar los objetivos específicos siguientes: Determinar el mejor método para extraer aceite esencial de ***Salvia rosmarinus***, determinar las características físicas químicas del aceite esencial de ***Salvia rosmarinus*** y determinar el porcentaje de actividad antioxidante que tiene el aceite esencial de ***Salvia rosmarinus***.

Con respecto a estudios en romero algunos trabajos reportados en el marco internacional presento a continuación:

Paya P[4] (2020- España)) Presenta un estudio para obtener aceite esencial de romero mediante destilación por arrastre de vapor, una de las tecnologías más utilizadas para la obtención de aceites esenciales a escala industrial. Este método permite obtener aceite esencial sin utilizar solventes orgánicos y conservando gran parte de los compuestos aromáticos. Señala que el rendimiento suele encontrarse entre 0,5 y 2,7 % dependiendo del estado de la materia prima. Encuentra que el romero seco produce mayores rendimientos que el romero fresco, con materia prima seca pueden alcanzar rendimientos de hasta 2,66 %. Con flujos de vapor de 5Kg/hora. Concluyendo que la destilación por arrastre de vapor es una tecnología técnicamente adecuada para el procesamiento de romero, es económica, que la rentabilidad económica dependerá principalmente del rendimiento de extracción, del precio de venta del aceite y del costo de la materia prima y de la energía.

García O[5] (2024- Ecuador) Desarrolló un estudio con el objetivo de determinar si el aceite esencial de romero posee actividad antimicrobiana contra *Porphyromonas gingivalis* y *Enterococcus faecalis*, con miras a su posible aplicación en productos odontológicos y farmacéuticos. Los investigadores emplearon el método de difusión en disco (**Kirby-Bauer**). Determinando que El aceite esencial de romero mostró actividad inhibitoria contra ambas bacterias. Se observaron halos de inhibición alrededor de los discos impregnados con el aceite esencial. Los resultados sugieren que los compuestos volátiles del romero pueden afectar el crecimiento bacteriano de microorganismos relacionados con enfermedades bucales. Concluyendo que el aceite esencial de ***Salvia rosmarinus*** posee actividad antimicrobiana frente a *P. gingivalis* y *E. faecalis*, por lo que podría considerarse como una fuente natural para el desarrollo de: Enjuagues bucales, geles periodontales, formulaciones odontológicas complementarias y productos farmacéuticos con actividad antimicrobiana.

Contreras I[6] (2023- Mexico) Desarrolló un estudio con el objetivo de evaluar los principales compuestos bioactivos presentes en el aceite esencial de romero y determinar su potencial como conservador natural de alimentos, debido a que existe un interés creciente por reemplazar conservadores sintéticos por alternativas naturales que presenten propiedades antioxidantes y antimicrobianas. El aceite esencial de romero es una de las fuentes naturales más prometedoras

debido a la presencia de terpenos y compuestos fenólicos bioactivos. Usó el programa Molegro Virtual Docker para realizar estudios de acoplamiento molecular (molecular docking) y evaluó la interacción de varios compuestos del romero: Acetato de bornilo, ácido carnósico, ácido rosmarínico, alcanfor, α-pineno y carnosol; frente a la a enzima borneol deshidrogenasa de ***Salvia rosmarinus***, empleando NAD^+ como cofactor. Con el propósito de estimar el potencial antioxidante y antimicrobiano de dichos compuestos. Determinó que el compuesto con mejor interacción fue el acetato de bornilo: Los demás compuestos también mostraron interacción con la enzima, aunque con menor afinidad relativa. Los autores sugieren que los compuestos bioactivos del aceite de romero podrían contribuir a la conservación de alimentos mediante los mecanismos principales: Retraso de la oxidación lipídica, protección frente a radicales libres obteniéndose mayor estabilidad de alimentos ricos en grasas. Además, inhiben el crecimiento de microorganismos alterantes y patógenos por lo que es posible la reducción del uso de conservadores químicos sintéticos. Concluye que: el aceite esencial de romero contiene compuestos con potencial antioxidante y antimicrobiano que respaldan el uso del romero como conservador natural alternativo en alimentos. Sin embargo, sugiere que se requieren estudios experimentales adicionales (in vitro e in vivo) para confirmar los resultados obtenidos mediante simulación molecular.

Cortes [7] (2023-Colombia) Plantea que el conocimiento actual de la química es resultado de una multitud de herencias que, concretadas en oficios, influyeron en la vida cotidiana de todas las culturas. En ese sentido, en conjunto con el Cabildo Indígena Muisca de Bosa, localizado en el barrio San Bernardino en la localidad séptima de Bogotá, Colombia desarrollaron un proyecto basado en la extracción y análisis por cromatografía de gases de aceites esenciales; Malva (***Malva sylvestris***) y Romero (***Salvia rosmarinus***). Y para el aceite esencial de romero reporta un % de rendimiento de 0.098 %, gravedad especifica 0.15mg/µL e índice de refracción de 1.420.

Ricardo L[8] (2021-Colombia). Desarrolla un trabajo para determinar la eficiencia de extracción de aceites esenciales; por enflorado y por arrastre de vapor para el romero ***(Salvia rosmarinus L.)*** y Tomillo (***Thymus vulgaris L.)***, y usarlos como agentes conservantes en Fito cosméticos. Para el enflorado se secan 100 de la muestra y se muelen 28 g, de la muestra molida se pone en contacto con 100 mL de aceite de coco recientemente obtenido agitando permanentemente, se deja en reposo 8 días hasta la separación en 2 fases, la fase del fondo es la muestra embebida de aceite de coco y la superior el exceso de aceite que no pudo ser absorbido por la muestra. Se filtra sobre una tela fina y se obtiene el aceite de la muestra enflorado con el aceite de coco y desde aquí realiza los ensayos para determinar su valor como conservante en Fito cosmética. Obtuvo aceites esenciales por el método de arrastre de vapor y lo ensayaron en concentraciones de 1, 3 y 5 % de lápices labiales contra el ataque hongos. Reporta una cobertura de tan solo 2 meses contra la aparición de hongos en los lápices labiales.

Chongoluisa A[9](2023-Ecuador). Desarrolla un trabajo de investigación para la obtención de aceite esencial de romero (***Salvia rosmarinus***) y su uso como como plaguicida para el control de araña roja (***Tetranychus urticae***) bajo condiciones de laboratorio, da 3 tratamientos y 15 unidades experimentales para establecer cuál de las concentraciones es mejor para el control de araña roja. Las tres concentraciones aplicadas fueron de 15%, 25%, 50%, y 0% (testigo) sobre 30 individuos de ***tetranychus urticae*** en cada unidad experimental, se recolectó datos de la actividad después de 10, 30 y 45 minutos después de haber aplicado la concentración, para contar los individuos muertos. Concluyendo que el aceite esencial del romero (***rosmarinus***) tiene componentes químicos (Canfor 20,99%, Verbenona 0,32%, borneol 5,67%) que actúan como insecticida. Aplicado a la concentración al 50% v/v con un tiempo de 10 minuto, existe un porcentaje de mortalidad de araña roja, con un promedio de 2,5 % pero los costos y los materiales para la destilación del aceite esencial por el método de arrastre de vapor son elevados ya que para obtener 15 ml se necesita el valor de $247.

Quito E[10](2023-Ecuador) evaluó la efectividad de fungicidas orgánicos en el control de la Moniliasis en el cacao. Probó la aplicación de aceites esenciales de romero (***Salvia rosmarinus***) y Tomillo (*Thymus vulgaris*), solos y combinados con Kupper, un coadyuvante. Los tratamientos que incluyen AE de romero (T1) y AE Tomillo (T3) a una dosis de 5 ml/L, así como el tratamiento solo con Kupper (T5) a 6.25 ml/L, presentan los mayores porcentajes de mazorcas sanas. Estos hallazgos tienen implicaciones importantes para la producción de cacao al enfatizar la utilidad de fungicidas orgánicos en la mejora de la calidad y productividad.

Contreras N[13](2006- Colombia). evaluó el efecto retardador de la degradación oxidativa de lípidos de 4 aceites esenciales en un sistema lipídico modelo. La oxidación se indujo por exposición a la radiación UV-B. Determinando las siguientes disminuciones en la concentración de hexanal,(sustancia empleada para medir la actividad antioxidante de los aceites esenciales agregados al aceite de girasol en concentraciones de 10 y 20 g/Kg: 48 y 50%) para el cilantro (Coriander sativum L.), 31 y 50% para el romero (Rosmarinus officinalis L.), 50 y 63% para Lippia alba (Mill.), y 23 y 46% para el ylang-ylang (Cananga odorata) respectivamente.

Ramírez M[12] (2008- Mexico) Empleó el método de arrastre de vapor para la obtener el aceite esencial del romero (*Rosmarinus Officinalis*), las hojas de romero fueron separadas y secadas previamente a la extracción, reporta un rendimiento de 1.79 l/100g de color cristalino con una ligera tonalidad amarillo pálido, con índice de refracción 1.4698 y densidad 0.8813 g/mL.

La capacidad antioxidante del extracto fue medida en base a la capacidad depuradora del radical 2,2-difenil-1- picrahidrazil (DPPH). Se encontró una diferencia significativa entre el porcentaje de inhibición y el tiempo transcurrido antes del análisis. El mayor porcentaje de inhibición fue de 58.34% y se obtuvo con la mayor concentración del aceite extraído el mismo día del análisis. La

mayor concentración de fenoles se presentó en el aceite extraído el mismo día del análisis a la máxima concentración y fue de 2188 mg equivalentes de catecol/kg de muestra.

Debido a la falta de información sobre la obtención y caracterización de los aceites esenciales del romero que crecen en nuestra región desarrolle el presente estudio que tuvo como objetivo, determinar que método es más eficaz para obtener el aceite esencial y caracterizar por sus propiedades organolépticas, físico químicas y actividad antioxidante de este aceite esencial. El estudio se justifica porque es importante porque se debe promover las investigaciones orientadas a la identificación de nuevas alternativas productivas y actividades económicas sostenibles, especialmente aquellas que aprovechen los recursos naturales regionales; en sentido, la ***Salvia rosmarinus*** es una planta con alto potencial debido a sus propiedades medicinales y biológicas cuya información precisa sobre el rendimiento y características de su aceite esencial, resulta de primordial importancia para futuras decisiones sobre el aprovechamiento industrial de este cultivo.

En el ámbito nacional algunos antecedentes del estudio son los reportados por:

Castro E[13] (2019- Perú) Menciona que los aceites esenciales son utilizados en la industria alimentaria merced a su actividad antioxidante. Y desarrolla un trabajo con el objetivo de determinar: El rendimiento (R), gravedad específica (GE), índice de refracción (IR), actividad antioxidante (AA) y composición química de AE de huacatay (*Tagetes minuta), poleo (Minthostachys mollis),* romero (*Rosmarinus officinalis L.)* y sachaculantro *(Eryngium foetidum L.).*La actividad antioxidante se determinó con el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) y no mostró diferencia significativa ~~significativas~~ entre los distritos, pero entre las plantas sí. Entre los componentes volátiles más abundantes se identificó 1–adamantanol (44,42%) en huacatay, β–felandreno (20,85%) en poleo, β–mirceno (34,59%) en romero y α–pineno (23,41%) en sachaculantro. Se concluye que el lugar geográfico afecta significativamente las propiedades fisicoquímicas de los aceites esenciales. Para el romero reporta un rendimiento de 1.65+/- 0.451 mL/100 g de material seco, gravedad especifica de o.907 e índice de refracción 1.475.

Jáuregui J[14] (2023- Peru) Desarrolla un trabajo con el objetivo de evaluar la actividad antioxidante y antifúngica sobre Candida albicans ATCC 10231 y la composición química del aceite esencial de las hojas de Rosmarinus officinalis L. "romero ". Obtiene el aceite esencial por arrastre de vapor con un rendimiento de 1.1%; la actividad antioxidante por el método de radical libre DPPH y ABTS•+. Respectivamente. Determinando una actividad expresada como CI_{50} 125 µL/mL por el método de DPPH y mayor de 400 µL/mL para el método de ABTS•+. Sus hallazgos indican que el aceite esencial tiene una intensa actividad antioxidante y una actividad fungistática moderada a débil y que los resultados en los semisólidos dermatológicos son muy similares, evidenciando la persistencia de la actividad antioxidante en las formulaciones.

Valverde Y[15] (2011- Perú) Desarrolla un trabajo de investigación: "Extracción y caracterización

del aceite esencial del romero ***(Rosmarinus officinalis)*** por el método de arrastre de vapor obtenida en estado fresco y secado convencional" con el objetivo de determinar la influencia del estado fresco y secado convencional del romero en el rendimiento y características fisicoquímicas del aceite esencial obtenida por el método de arrastre de vapor. Ensayo 600 g de material versus 5,000 mL de agua para generar el vapor que condensa en refrigerante acoplado a un separador de densidades. El rendimiento obtenido de la extracción de aceite esencial es: 0,6114% de tejido en estado fresco y 0.9817 % de tejido seco a medio ambiente. La caracterización física del aceite esencial del romero en estado fresco fue el siguiente: aspecto líquido oleoso, color transparente ligeramente amarillo, olor fuerte agradable, sabor picante, densidad relativa 0.9272. El aceite esencial del romero secado a medio ambiente presenta las siguientes características: aspecto líquido oleoso, color transparente ligeramente amarillo, olor fuerte agradable, sabor picante, densidad relativa 0.9289. Con respecto a la caracterización fisicoquímica del aceite esencial del romero es la siguiente, presenta una acidez de 0,060 y pH 6.7 para el aceite obtenido del romero en estado fresco, y una acidez de 0,075 y pH 6.43 para el aceite obtenido del romero secado a medio ambiente.

II. ESTRATEGIAS METODOLÓGICAS

2.1 ASPECTOS METODOLÓGICOS

2.1.1. ENFOQUE DE INVESTIGACIÓN

El desarrollo económico de las regiones, principalmente, deben estar sustentados con el aprovechamiento de sus recursos renovables. Últimamente los tratados de libre comercio han abierto la oportunidad de exportar productos agropecuarios generando mejoras económicas y desarrollo social. Estas perspectivas de desarrollo deben de estar respaldadas con innovaciones de productos para exportar; motivo por lo cual se hace necesario realizar estudios de las especies vegetales u otros recursos naturales que presentan o se aceptan que tienen propiedades benéficas para el hombre, como lo son las diversas especies vegetales a las que se les atribuye propiedades medicinales. ***Salvia rosamarinus*** popularmente conocida como romero es un vegetal de múltiples aplicaciones para el beneficio de la salud física y mental y crece en nuestro medio. Los beneficios de esta planta están relacionados con la presencia de sus aceites esenciales. Sin embargo, no había trabajo de investigación que informe sobre el rendimiento de estos aceites, que características físicas químicas y actividad antioxidante poseen los aceites esenciales presentes en ***Salvia rosamarinus*** que crece en el distrito de Santiago de la provincia de Ica.

2.1.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN[16,17]

Por el tipo de información que se deja a término de desarrollar este tema se trata de una investigación básica, ya que su objetivo principal es generar conocimientos sobre los métodos y procedimientos más adecuados para la obtención y caracterización del aceite esencial de ***Salvia rosmarinus*** que crece en el distrito de Santiago de la provincia de Ica. Y debido a que la información obtenida se recabo mientras se desarrollaba el proyecto; se clasifica como una investigación transversal. Las muestras, las ramas de romero se cortaron e inmediatamente se trasladaron al laboratorio para seguir los procedimientos de extracción y caracterización de sus aceites esenciales.

2.1.3. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN[16,17]

El presente estudio es de diseño experimental dado que se busca establecer la relación entre una variable independiente rama de romero y las variables dependiente rendimiento, características físico químicas y actividad antioxidante.

2.1.4. POBLACIÓN Y MUESTRA[18]

La población está conformada por todas las plantas de ***Salvia rosmarinus*** que crecen en el distrito de Santiago de la Provincia de Ica.

Muestra:

Para el desarrollo del estudio, se seleccionaron 10 plantas de romero que crecen en el Fundo de la Familia Muñante -Gonzales cuyos tamaños oscilaron entre 90 – 120 cm de altitud.

Criterio de inclusión:

Como criterio de inclusión se fijó que la procedencia de las ramas que contienen las hojas de romero provenga de plantas sanas.

Que las ramas secundarias contengan lo más posible de ramas terciarias que son las que contienen las hojas del romero.

Criterio de exclusión:

Plantas cuyos tamaños están por debajo de los 90 cm de altura.

2.2. TÉCNICA E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

Para la obtención de datos se recurrió a la entrevista de personas que cultivan el romero, con el fin de conocer su experiencia y perspectivas sobre el desarrollo y uso de la planta; y de las revisiones bibliográfica que permitió recopilar información sobre los distintos métodos utilizados para la obtención, caracterización y determinación de la actividad antioxidante del aceite esencial de romero.

2.3. TRATAMIENTO DE LA MUESTRA[12,14,15,17,18,19,20,21,22,23,24,.25]

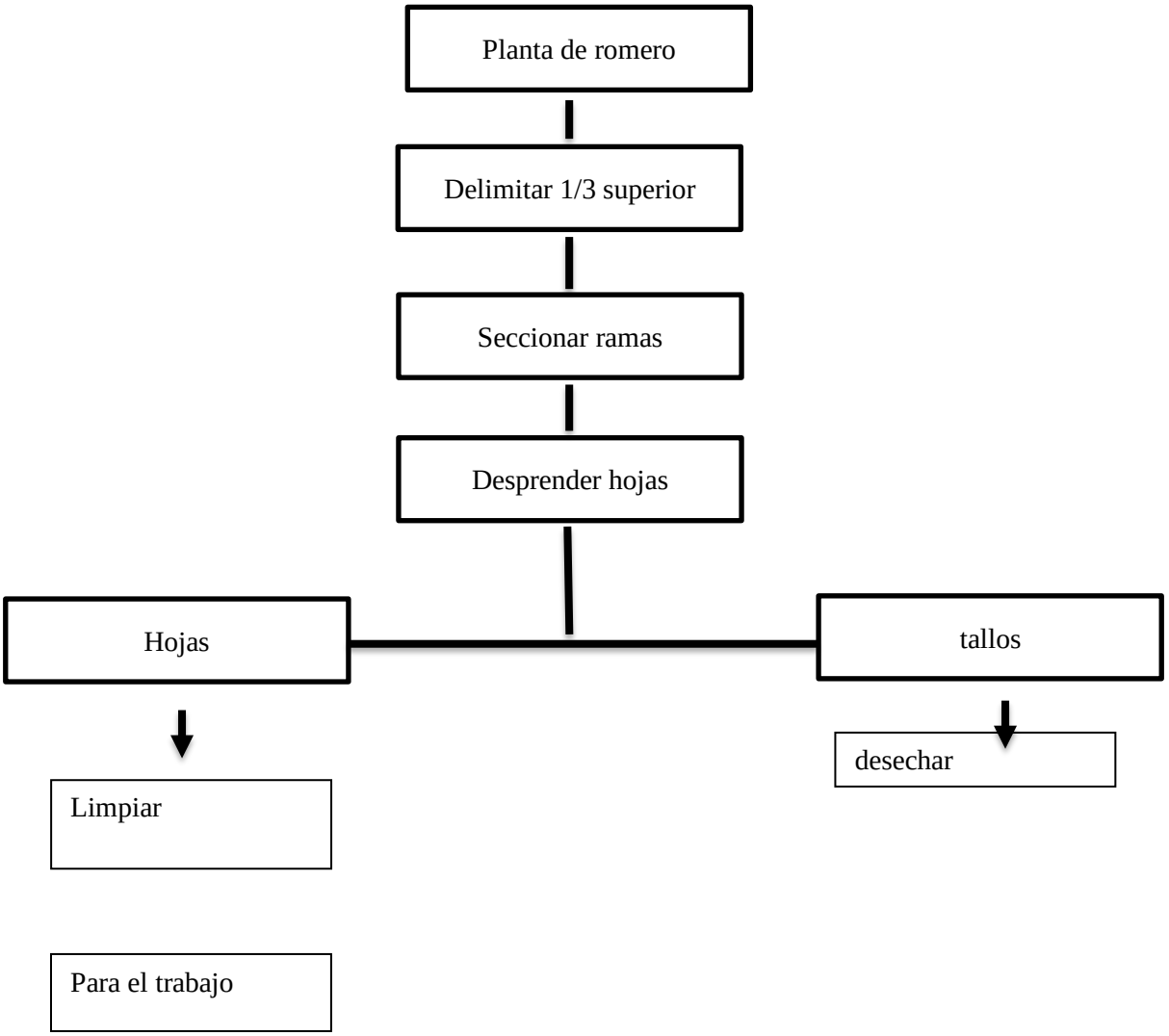
2.3.1. OBTENCIÓN DE LAS HOJAS DE ***Salvia rosmarinus*** *(Romero).*

Para obtener las hojas para extraer el aceite esencial se siguen los pasos siguientes:

- Ubicación de las plantas que cumplen con los criterios de inclusión.
- Delimitar el tercio superior de las plantas.
- Seleccionar las ramas pertenecientes al tercio medio y superior de la planta.
- Desprendimiento manual de las hojas.
- Secado a la sombra con corriente de aire.

Los procesos se ilustran en el grafico siguiente:

Gráfico 1. Procesos para obtener las partes aéreas del romero



2.3.2. CARACTERIZACIÓN DEL MATERIAL A UTILIZAR PARA OBTENER LOS ACEITES ESENCIALES

Para esta parte del trabajo se hicieron pruebas pilotos con hojas secadas a la sombra y hojas frescas con el propósito de precisar cual tendría mejor rendimiento. Determinándose que es mejor trabajar con hojas frescas.

Para el trabajo se empleó ramas con hojas frescas, las ramas después de desprendidas se lavan y enjuagan con agua de uso doméstico, seguidamente se separan las hojas y se cortan en tamaño de entre 2 – 3 mm quedando listas para el análisis organoléptico y ser usadas por el método de hidrodestilación y por el método de arrastre de vapor respectivamente.

2.3.3. OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL

La obtención del aceite esencial se realizó aplicando dos métodos: hidrodestilación y arrastre de vapor. En ambos casos se utilizó calor moderado, que lo defino como la cantidad de energía térmica que recibe el recipiente que contiene 5 litros de agua destiladas con 500 g de la muestra fresca y seccionada en partículas menores de 3 mm, y que permite recolectar el líquido condensado a una velocidad de 15- 25 gotas por minuto. Se empleó el método de hidrodestilación y arrastre de vapor.

HIDRODESTILACIÓN

Se ensayaron tres tratamientos, se mantuvo constante la relación de 500 g de partículas pequeñas de hojas frescas de romero con 5 litros de agua destilada y se variaron los tiempos de exposición al calor a partir de la aparición de las primeras gotas del destilado. Los tratamientos fueron:

Tratamiento 1: 500 g de material con 5,000 mL de agua expuesto 90 minutos.

Tratamiento 2: 500 g de material con 5,000 mL de agua expuesto 120 minutos.

Tratamiento 3: 500 g de material con 5,000 mL de agua expuesto 150 minutos.

Los tres tratamientos de esta parte del trabajo se ejecutaron en un destilador de acero inoxidable de 20 litros de capacidad. En él se colocan 5.0 litros de agua y se incorporan 500 g de las hojas frescas de tamaño menores a 3 mm. se tapa y cierra, por la parte superior de la tapa se conecta el refrigerante y se proporciona el calor desde una cocina a gas de uso doméstico graduándose el calor hasta alcanzar el número de gotas de condesado de 15 a 25 gotas por minutos.

ARRASTRE DE VAPOR

Para esta técnica con los 500 g de las hojas frescas trozadas se prepararon 3 paquetes en un tul fino de color blanco conteniendo cantidades equivalentes entre sí. El destilador de 20 litros en la parte interna, aproximadamente a la mitad, tiene una pestaña que sostiene una placa de acero inoxidable en la cual se depositan los paquetes conteniendo la muestra y no permite que los paquetes conteniendo la muestra toque el agua domestica depositados en el fondo del destilador que fueron 5.0 litros de agua de uso doméstico. Al proporcionar el calor solo el vapor atraviesa las capas o paquetes que contienen la muestra tratada produciéndose el arrastre de los aceites esenciales. El vapor es condensado con la ayuda de un refrigerante cuyo extremo inferior está conectado a una pera de decantación. El calor para mantener la destilación se gradúa para obtener un condensado de entre 15 a 25 gotas por minuto. Por este método se ejecutaron los tratamientos siguientes:

• **Tratamiento 4:** 500 g de material acondicionados en tres paquetes colocados por encima del volumen de agua y expuesto al calor moderado por 90 minutos.
Tratamiento 5: 500 g de material acondicionados en tres paquetes colocados por encima del volumen de agua y expuesto al calor moderado por 120 minutos.
Tratamiento 6: 500 g de material acondicionados en tres paquetes colocados por encima del volumen de agua y expuesto al calor moderado por 150 minutos.

En todos los casos los aceites esenciales obtenidos fueron secados con sulfato de sodio anhidro a razón de 0.05 g /1.0 ml de aceite esencial. Se deposita 1.0 ml de aceite en un frasco vial y se le agrega 50 mg de sulfato de sodio anhidro, se tapa y se agita por 30 segundos, se deja en reposo por 1 hora y se procede a separarlo por filtración. Para posteriormente juzgar su rendimiento.

2.3.4. CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL

En esta parte del trabajo se tuvo en cuenta los resultados de los rendimientos a las que fue sometida la muestra por ambos métodos ensayados. Eligiéndose el aceite que caracterizado correspondió al procedente del método de arrastre de vapor por 120 minutos por ser el de mayor rendimiento en el menor tiempo ensayado.

Se determinaron las características que siguen:

a) CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS:

A fin de identificar las propiedades sensoriales del aceite esencial obtenido se realizaron las evaluaciones siguientes:

Color: En un frasco vial de 1.0 mL se colocó 0.5 del aceite a evaluar, se tapa y se deja en reposo 30 minutos, se coge el frasco vial, se lleva a la altura de la vista, se observa y se procede a la evaluación del color.

Olor: Terminada la evaluación del color, se retira la tapa del frasco, inmediatamente se aproxima a la nariz para realizar una valoración olfativa del aroma característico del aceite.

Sabor: Culminada la evaluación del olor se procede a retirar una gota del aceite esencial en estudio y se lleva a lengua para evaluar su sabor.

Aspecto y textura: Se retira una gota del aceite en estudio y se deposita entre los dedos índice y pulgar de la misma mano y se procede a evaluar sus aspecto y textura.

b) DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS

Se ejecutaron las determinaciones siguientes:

1º RENDIMIENTO

El rendimiento de una extracción es una medida del extracto obtenido a partir de un peso conocido de material que se analiza; para el caso de los aceites esenciales se expresa como el número de mililitros de aceite esencial que se obtiene de cada 100 g del material que se trabaja. La medición se ejecuta después de separar el aceite esencial y ser sometido a un proceso de secado con sulfato de sodio anhidro. El rendimiento se expresa en mL de aceite obtenido por cada 100 g de muestra tratada.

2º DENSIDAD

Definición**:** La densidad se define como la relación que hay entre el peso de la muestra versus el volumen que ocupa. En el caso de los aceites esenciales, se calcula comparando el peso de un mililitro del aceite esencial en estudio versus el peso de un mililitro de agua destilada, ambos medidos a una temperatura estándar de 20 °C.

Procedimiento:

Se usa 1 vial de vidrio, limpio y seco, con capacidad de 1 mL. Primero el vial vacío se pesó con precisión y luego se llenó con 1 mL de agua destilada utilizando una pipeta graduada, seguidamente se pesa el vial con 1.0 mL de agua destilada. Se registra el valor del peso del agua destilada. Se desecha el agua destilada, se seca el vial y se llena con 1.0 ml del aceite esencial en estudio y se registra el peso del 1.0 mL de aceite esencial. Este proceso es homologo al método de determinación de la densidad por el método del picnómetro.

3º INDICE DE REFRACCIÓN

Definición: Se define como la relación matemática que existe entre el seno del ángulo de incidencia y el seno del ángulo de refracción cuando un rayo de luz, con una longitud de onda específica, atraviesa la interfaz de dos medios: en este caso, del aire hacia el aceite esencial en evaluación. Este parámetro se determina una temperatura constante, ya que pequeñas variaciones térmicas pueden alterar el comportamiento de la luz al pasar por el medio. El índice de refracción es característico de cada sustancia, por lo que puede utilizarse como una medida de identidad y pureza del aceite esencial. Valores fuera del rango esperado podrían indicar la presencia de impurezas o adulteraciones.

Procedimiento:

La medición se realizó utilizando un refractómetro tipo Abbe. Primero, se limpia la superficie de la placa porta muestra haciendo uso de etanol absoluto, luego se espera cinco minutos para permitir la evaporación completa del alcohol absoluto, seguidamente se coloca una gota del aceite esencial en estudio sobre la placa porta muestra. Posteriormente, se cerró el sistema óptico del equipo y se procedió a realizar la lectura del índice de refracción conforme a las indicaciones del instrumento, registrando el valor correspondiente

.

4º SOLUBILIDAD

Definición: Se define como la propiedad que tiene un soluto o compuesto químico para ser dispersado homogéneamente en el seno de disolvente sin que el disolvente altere la identidad química del soluto o compuesto químico. El proceso debe de efectuarse a una temperatura constante y conocida. La solubilidad se expresa generalmente como la cantidad máxima de soluto, en gramos, que puede disolverse en 100 gramos de solvente a una temperatura específica. Esta característica es útil para conocer la compatibilidad de aceite esencial con distintos disolventes, lo cual es relevante en su formulación para usos cosméticos, farmacológicos o industriales.

Procedimiento:

Para evaluar la solubilidad, se colocaron 0,2 mL del aceite esencial en un vial de vidrio de 2.0 mL de capacidad. Luego, se añadieron 0,2 mL del solvente seleccionado y se agitó vigorosamente el vial, y se deja reposar durante 15 minutos. Pasado ese tiempo, se observó la mezcla para identificar si la solución era homogénea (indicando buena solubilidad) o si persistían fases separadas. A continuación, se agregaron 0.2 mL más del mismo solvente al mismo vial, se agitó nuevamente y se deja en reposo durante otros 15 minutos y se vuelve a evaluar. Finalmente, se repitió el proceso agregando otros 0.2 mL del mismo solvente, evaluando la solubilidad total.

Los ensayos se realizaron utilizando tres disolventes diferentes: hexano, metanol (calidad analítica) y etanol absoluto, a fin de determinar en cuál de ellos el aceite esencial muestra mayor afinidad y estabilidad en solución.

2.3.5. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE ***Salvia rosmarinus***

Para esta parte del trabajo se preparó una solución diluida del aceite esencial en etanol absoluto en la proporción de 1:9 (una parte de aceite esencial por nueve partes de etanol).

A) MÉTODO**:** Espectrofotométrico UV-Visible usando como radical libre el DPPH
Se empleó el espectrofotómetro marca Unico,

B) FUNDAMENTO: El método se fundamenta en la reacción que se origina entre el radical libre DPPH y los componentes químicos del aceite esencial en estudio que tienen la capacidad de atrapar o reaccionar con este radical. El DPPH es un radical que en disolución etanólica presenta un color violeta intenso cuya absorbancia se mide en el espectrofotómetro cuando este reactivo entra en contacto con sustancias antioxidantes —capaces de donar electrones o hidrógenos— ocurre una reducción del radical, provocando la disminución de su absorbancia. La absorbancia del radical libre solo es decir sin antioxidantes que la hayan atacado se considera 100% de actividad del radical libre, la perdida de absorbancia se expresa en porcentaje y por ser ocasionada por la muestra analizada se dice que es el porcentaje de inhibición al radical libre que tiene la muestra analizada.

C) PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Solución de DPPH: Se pesa 3,1 miligramos del radical libre 1,1 -difenil-2- picrilhidrazil y se disuelve en 100 mililitros de etanol al 96 %, obteniendo así una solución estándar del radical libre.

Soluciones de ácido gálico:

Solución madre: Se disuelve 0.100 g de ácido gálico y se disuelve en 100 mL de agua destilada. Es decir 1 mg/mL,

Soluciones diluidas de ácido gálico: A partir de la solución madre de ácido gálico se elaboraron diluciones sucesivas para obtener concentraciones finales de 5, 10, 15, 20 y 25 mg en 100 mL de disolvente, con el propósito de generar una curva patrón de referencia.

D) CURVA DE VALORACIÓN PARA LA REACCIÓN ENTRE RADICAL LIBRE DPPH VERSUS LAS DILUCIONES DE ÁCIDO GÁLICO

El esquema de trabajo se presenta en la tabla siguiente:

Tabla 1. Esquema de trabajo para elaborar la curva de calibración de la reacción entre el radical libre DPPH y las diferentes diluciones del estándar ácido gálico

Ensayo	**Muestra (mL)**	**Etanol 96º (mL)**	**DPPH (mL)**
Blanco	0,0	3,0	0,0
DPPH	0,0	0,0	3,0
Ácido Gálico 5 mg/100 mL	0,1	0,0	2,9
Ácido Gálico 1 0 mg/100 mL	0,1	0,0	2,9
Ácido Gálico 1 5 mg/100 mL	0,1	0,0	2,9
Ácido Gálico 2 0 mg/100 mL	0,1	0,0	2,9
Ácido Gálico 2 5 mg/100 mL	0,1	0,0	2,9

Fuente: La autora del trabajo

Los reactivos se homogenizan y se dejan en reposo protegiéndolos de la luz. Transcurrido el tiempo se lleva al espectrofotómetro para la lectura de sus absorbancias a 517 nanómetros de longitud de onda.

E) DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL DEL ROMERO

1° EXPRESADO COMO PORCENTAJE DE INHIBICIÓN AL RADICAL LIBRE DPPH

El porcentaje de actividad antioxidante del aceite esencial indica en qué medida la alícuota ensayada de muestra disminuye la actividad del radical libre DPPH de absorbancia conocida la cual se considera 100 % de actividad del radical. Al reaccionar con la muestra en estudios los componentes químicos capaces de reaccionar con el radical libre ocasionaran una disminución de la absorbancia que se expresa en porcentaje y esta es generada por la muestra ensayada y es conocida como la inhibición % de la muestra al radical libre.

Los procesos para esta determinación se detallan en la tabla siguiente:

Tabla 2. Esquema para determinar el porcentaje de inhibición al radical libre DPPH por parte del aceite esencial de romero.

Muestra analizada	Numero de repeticiones	aceite esencial mL	Solvente etanol 96º mL	Solución de DPPH mL
BLANCO	1	0,0	3,0	0,0
	2	0,0	3,0	0,0
	3	0,0	3,0	0,0
DPPH SOLO	1	0,0	0,0	3,0
	2	0,0	0,0	3,0
	3	0,0	0,0	3,0
ACEITE ESENCIAL	1	0,1	0,0	2,9
	2	0,1	0,0	2,9
	3	0,1	0,0	2,9

Fuente: La autora del trabajo

Una vez añadidos los reactivos se agitó cuidadosamente para asegurar una homogenización adecuada. Posteriormente, se dejó reposar durante un período de 10 minutos a temperatura ambiente protegido de la luz, permitiendo que la reacción entre el radical DPPH y los compuestos antioxidantes presentes en la muestra se desarrollara por completo. Finalizado este tiempo, se procedió a realizar la lectura de la absorbancia utilizando un espectrofotómetro, a una longitud de onda de 517 nanómetros.

F) DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EXPRESADA COMO CI_{50}

La CI_{50}, o concentración inhibitoria media, es la cantidad de aceite esencial expresada en microlitros que es capaz de reducir en un 50 % la actividad del radical libre DPPH, la absorbancia registrada de la solución estándar de DPPH se considera como el 100 % de actividad radicalaria, sirviendo como punto de referencia para calcular el porcentaje de inhibición generado por la muestra.

Los detalles del trabajo para esta determinación se presentan en la tabla siguiente:

Tabla 3. Esquema de trabajo para determinar la actividad antioxidante del aceite esencial de *Salvia rosmarinus* expresado como CI_{50}

Muestra	**Numero de repeticiones**	**Aceite esencial mL**	**solvente**	**DPPH**
Blanco	1	0.0	3.0	0.0
DPPH	1	0..0	0.0	3.0
	2	0.0	0.0	3.0
	3	0.0	0.0	3.0
Aceite esencial Tubo 1	1	0.1	0.0	2.9
	2	0.1	0.0	2.9
	3	0.1	0.0	2.9
Aceite esencial Tubo 2	1	0.2	0.0	2.8
	2	0.2	0.0	2.8
	3	0.2	0.0	2.8
Aceite esencial Tubo 3	1	0.3	0.0	2.7
	2	0.3	0.0	2.7
	3	0.3	0.0	2.7
Aceite esencial Tubo 4	1	0.4	0.0	2.6
	2	0.4	0.0	2.6
	3	0.4	0.0	2.6
Aceite esencial Tubo 5	1	0.5	0.0	2.5
	2	0.5	0.0	2.5
	3	0.5	0.0	2.5
Aceite esencial	1	0.6		2.4

Tubo 6	2	0.6	0.0	2.4
	3	0.6	0.0	2.4
Aceite esencial Tubo 7	1	0.7	0.0	2.3
	2	0.7	0.0	2.3
	3	0.7	0.0	2.3
Aceite esencial Tubo 8	1	0.8	0.0	2.2
	2	0.8	0.0	2.2
	3	0.8	0.0	2.2
Aceite esencial Tubo 9	1	0.9	0.0	2.1
	2	0.9	0.0	2.1
	3	0.9	0.0	2.1
Aceite esencial Tubo 10	1	1.0	0.0	2.0
	2	1.0	0.0	2.0
	3	1.0	0.0	2.0

Fuente: La autora del trabajo

Los reactivos se añaden y se homogenizan. Luego de ser mezclados, se dejaron reposar durante 10 minutos protegidos de la luz. Transcurrido ese tiempo, se procedió a realizar la lectura de las absorbancias utilizando un espectrofotómetro, fijado a una longitud de onda de 517 nanómetros.

III. RESULTADOS

3.1. DEL MATERIAL OBJETO DE ESTUDIO

El material vegetal estudiado fue la especie vegetal conocida comúnmente como Romero el nombre científico es ***Salvia rosmarinus***. El nombre científico de la especie fue señalado por el Biólogo David Miranda profesor de Botánica sistemática de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga. La certificación se expone en el anexo 1 de este trabajo.

Una planta de romero contiene entre 9 a 12 ramas secundarias; a su vez una rama secundaria contiene entre 14 a 18 ramas terciarias y de aquí se obtiene aproximadamente 46 gramos de hojas de romero, por lo que de una planta de romero se obtiene aproximadamente entre 414 -552 gramos de hojas de romero.

3.2. DE LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DEL MATERIAL A ENSAYAR

Para el trabajo se utilizaron solamente las hojas que secadas a la sombra y molidas presentan las características organolépticas siguientes:

Tabla 4. Descripción organoléptica de las hojas frescas fragmentadas de *Salvia rosmarinus*

Evaluado	Resultado
Color	Verde
Olor	Suigéneris
Sabor	Astringente, desagradable
Aspecto	Tosco, áspero

Fuente: La autora del trabajo

3.3. DE LA OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL

A) POR HIDRODESTILACIÓN

Los datos obtenidos se detallan en la tabla siguiente:

Tabla 5. Rendimientos de aceite esencial extraído de *Salvia rosmarinus* mediante hidrodestilación, según el tiempo de exposición y la intensidad del calor aplicado.

Tratamiento	**Rendimiento (mL/100 g)**
T1 Calor moderado 90 min	0,02
T2 Calor fuerte 120 min	0,08
T3 Calor moderado 150 min	0,08

Fuente: La autora del trabajo

B) POR ARRASTRE DE VAPOR

Los valores obtenidos se muestran en la tabla siguiente:

Tabla 6. Rendimientos de aceite esencial extraído de *Salvia rosmarinus* mediante el método de arrastre de vapor, según diferentes tiempos de exposición y niveles de intensidad térmica.

Tratamiento	Rendimiento mL de aceite/100 g de muestra
T 4 Calor moderado 90 minutos	0.06
T5 Calor moderado 120 minutos	0.14
T6 Calor moderado 150 minutos	0.14

Fuente: La autora del trabajo

El tratamiento que ofreció el mayor rendimiento en la obtención de aceite esencial de ***Salvia rosmarinus*** fue el método de arrastre de vapor T5 aplicando calor moderado durante 120 minutos.

3.4. DE LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DEL ACEITE ESENCIAL DE *Salvia rosmarinus*

La calidad sensorial del aceite esencial se realizó sobre la muestra obtenida en el tratamiento T5, se aplicaron las pruebas organolépticas que se exponen en la tabla siguiente:

Tabla 7. Determinación de las Características organolépticas del aceite esencial de las hojas frescas de *Salvia rosmarinus* obtenido por arrastre de vapor.

Evaluado	Resultado
Color	Ligeramente amarillo
Olor	Suigéneris
Sabor	Desagradable
Aspecto	Homogéneo, suave, untuoso

Fuente: de la autora del trabajo

3.5. DE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DEL ACEITE ESENCIAL DE *Salvia rosmarinus*

Los resultados los presento en la tabla siguiente:

Tabla 8. Características fisicoquímicas del aceite esencial de las hojas frescas de *Salvia rosmarinus* obtenido por arrastre de vapor.

Evaluado	**Resultado**
Rendimiento	0.14 %
Densidad	0.909 g/mL
Índice de refracción	1.462
Solubilidad	Soluble en todas las proporciones al hexano, metanol y alcohol absoluto

Fuente: De la autora del trabajo

3.6. DE LA DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE FRENTE AL RADICAL LIBRE DPPH

A) DE LAS ABSORBANCIAS DE LAS DILUCIONES DE ÁCIDO GÁLICO

Los resultados se presentan en la tabla siguiente:

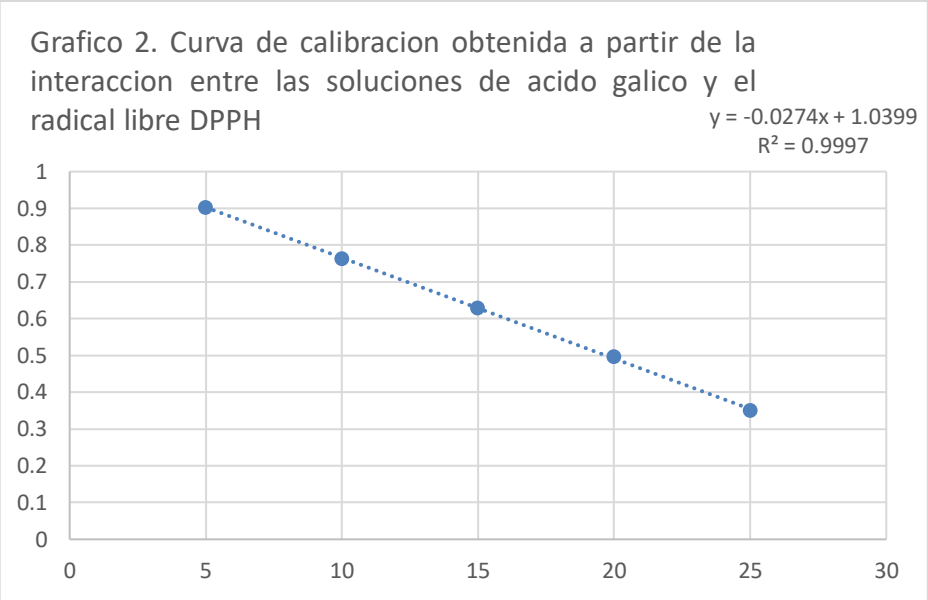
Tabla 9. Resultados de las absorbancias de las soluciones diluidas de ácido gálico frente al reactivo DPPH

Muestra analizada	Absorbancia
Solución de ácido gálico 5 mg/ 100 mL	0.902
Solución de ácido gálico 10 mg/ 100 mL	0.764
Solución de ácido gálico 15 mg/ 100 mL	0.630
Solución de ácido gálico 20 mg/ 100 mL	0.497
Solución de ácido gálico 25 mg/ 100 mL	0.350

Fuente: La autora del trabajo

Estos resultados fueron analizados por el método estadístico de los mínimos cuadrados a fin de obtener los valores de la recta y = mx + b; donde y es el eje de las abscisas y contiene los valores de las absorbancias, x es el eje de las ordenadas y contiene los valores de las concentraciones, es el valor de la pendiente y b es el valor del intercepto. Los datos se usaron para obtener el grafico siguiente:

Gráfico 2. Curva de calibración obtenida a partir de la interacción entre las soluciones estándar de ácido gálico y el radical libre DPPH



Fuente: La autora del trabajo

Conociendo los valores de la recta pendiente = 0.0274, intercepto 1.0399 y el valor de disminución de la absorbancia se puede calcular la equivalencia de disolución en mg de ácido gálico /100 ml que la ocasiona.

B) DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE ROMERO EXPRESADO COMO PORCENTAJE DE INHIBICIÓN AL RADICAL LIBRE DPPH

Los resultados obtenidos se consignan siguiente tabla:

Tabla 10. Resultados de las absorbancias del radical libre DPPH solo y después del ataque del aceite esencial de romero.

Muestra	**Absorbancia**	**Disminución de la absorbancia**	**% de inhibición**
DPPH solo	1.079	0.00	0.00
DPPH con aceite esencial de romero	0.582	0.497	46.06

Fuente: La autora del trabajo.

Se puede notar que la absorbancia del radical libre solo es de 1.079 y esta absorbancia representa el 100 % de su actividad, al ponerse en contacto con la alícuota analizada del aceite esencial de romero la actividad desciende as 0.582, produciéndose una disminución de la absorbancia en 0.497 unidades y esto es ocasionado por la muestra analizada. Esta disminución de la absorbancia expresada en porcentaje es el porcentaje de inhibición de la muestra analizada. Esta actividad antioxidante es la misma que produciría una solución de 19.81 mg de ácido gálico /100mL.

C) ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EXPRESADA COMO CI50

Los resultados (promedio de tres determinaciones) de las absorbancias para determinar la CI_{50} del aceite esencial de ***Salvia rosmarinus*** se presentan en la tabla siguiente:

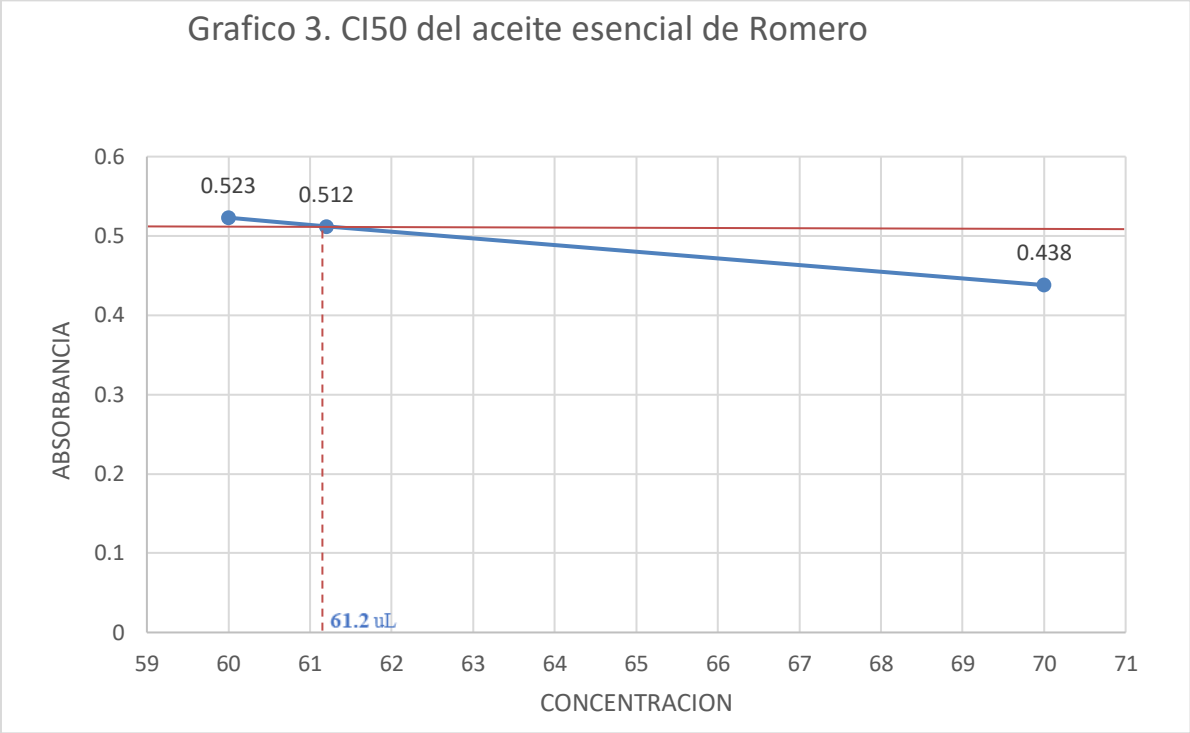
Tabla 11. Absorbancia de las distintas diluciones de la muestra en reacción con DPPH para la determinación de la CI_{50}

MUESTRA	CONCENTRACIÓN	ABSORBANCIA
DPPH	--------	1.024
Tubo 1	10 µL	0.945
Tubo 2	20 µL	0.863
Tubo 3	30 µL	0.770
Tubo 4	40 µL	0.697
Tubo 5	50 µL	0.605
Tubo 6	60 µL	0.523
Tubo 7	70 µL	0.438
Tubo 8	80 µL	0.350
Tubo 9	90 µL	0.280
Tubo 10	100 µL	0.199

Fuente: La autora del trabajo

Los datos obtenidos fueron procesados para calcular la concentración inhibitoria media (CI_{50}) utilizando el método gráfico, cuya representación se muestra en el Gráfico N.º 3.

Gráfico 3. CI $_{50}$ del aceite esencial de Romero



Como se puede apreciar la CI_{50} se encuentra comprendida entre los tubos 6 y 7; la recta que une ambas absorbancias cortas la recta que marca el 50 % de la actividad del radical libre DPPH 0. 512. Desde el punto de intersección de ambas rectas se traza la perpendicular al eje de las coordenadas y se marca el valor de la CI_{50} para la muestra analizada. que para el caso es 61.2 µL.

IV. DISCUSIÓN

Sin duda alguna el uso de la medicina tradicional para la prevención y sanación de diferentes enfermedades viene recobrando el campo perdido ocasionado por el boom de la medicina moderna que cada día va quedando más claro que se dedica a contrarrestar los efectos desagradables, como por ejemplo son calmar el dolor o bajar momentáneamente los niveles de glucosa en los pacientes, pero no resuelven el origen del mal como son la desaparición de tumores o activación de las funciones del páncreas que si apuntarían a resolver los problemas precitados como dolor y glicemia[1]. Esta apreciación es concordante con la opinión de otros investigadores como lo señalan Muñoz W[24] y Velazco E[25]; en ese sentido, que la especie vegetal popularmente conocida como romero ha sido y sigue siendo utilizada como una panacea para la prevención y cura de varias enfermedades; motivo por lo cual actualmente Paya P[5] ha demostrado que se puede instalar una planta industrial para la obtención de aceite esencial de romero con tecnología limpia que puede ser utilizado en la industria farmacéutica y cosmética.

En ese contexto juzgo necesario iniciar estudios con el romero que crece en el distrito de Santiago de la provincia de Ica y sentar las bases para una posible explotación industrial de esta especie dado que nuestra región, merced a su clima, se caracteriza por el desarrollo de diferentes especies vegetales lo que a permitido tener una agroindustria exportadora; y es necesario contribuir para hacer sostenible este desarrollo. Motivo por lo cual trabajé con la especie vegetal romero que crece en el distrito de Santiago de nuestra provincia con el propósito de extraer y caracterizar su aceite esencial y he demostrado que por el método de arrastre de vapor con calor moderado, que proporciona un goteo de líquido destilado entre 15-25 gotas /minuto, se obtiene un rendimiento de 0.14 % de aceite esencial; mientras que: Cortes C[8] para esta especie que crece en la Localidad de San Bernardino -Bogotá-Colombia reporta un rendimiento de 0.098% y Castro E[12] reporta rendimientos de más de 0.2 % lo que pone de manifiesto que el rendimiento obtenido en este trabajo es promisorio y debería ser tomado en cuenta para la elaboración de un proyecto de inversión investigue la posible rentabilidad de esta empresa que se utiliza en la industria farmacéutica en el área de cosmética como lo señala Ricardo L[9] o en otros campos como lo proponen Chongoluisa A[10] y Quito E[11] quienes proponen su uso como bio insecticida o antifúngico respectivamente. Con respecto a las características organolépticas y físico químicas para el aceite esencial obtenido afirmamos que tiene características propias para este tipo de producto, así reporto una densidad de 0.909 mientras que Castro E[12] reporta una densidad de 0.907 y Velarde Y[15] reporta 0.9289. En mi trabajo reporto como Índice de Refracción (I.R) un valor de 1.462. Mientras que Ramírez M[12] reporta un IR de 1.469. Además de estos tradicionales indicadores de calidad para estos productos he determinado la capacidad para atrapar radicales libres por el método del DPPH y para una solución de DPPH de absorbancia 1.079 0.1 mL del aceite obtenido diluido con 9.9 mL de etanol presenta una capacidad para inhibir este radical libre

en un 46.06 %; esta actividad es la misma que produciría una solución de ácido gálico de concentración 19.81 mg/100 mL. Para esta actividad Jauregui J[14] por el método de DPPH reporta que la Cantidad inhibitoria media (CI_{50}) es de 125 µL/mL mientras que Ramírez M[12] reporta una actividad antioxidante expresada como porcentaje de inhibición al radical libre DPPH de 58.34%. Al contrastar el aceite esencial obtenido con las hojas de romero que crece en el distrito de Santiago de la provincia de Ica concluyo que esta especie pudiera ser una alternativa de nuevo cultivo con fines industriales, aunque son necesarios más estudios al respecto.

V. CONCLUSIONES

El mejor método para la extracción de aceites esenciales de ***Salvia rosmarinus*** es el de arrastre de vapor propuesto en el tratamiento 5 de este trabajo que combina 500 g de hojas frescas trozadas en partículas menores a 3 mm, distribuidas en tres paquetes de tela tul blanco que se colocan dentro del destilador sobre una placa de acero inoxidable que no permite la sumersión en los 5 litros de agua de uso doméstico con que se carga el destilador. Al que se le suministra calor moderado, procedente de una cocina a gas de uso doméstico, de tal forma que el condensado fluctué entre 15 a 25 gotas por minuto y se mantiene así por 120 minutos.

.

Las características físico químicas del aceite esencial obtenido son las siguientes: un rendimiento del 0,14 %., densidad de 0.909, índice de refracción de 1.462 y soluble en todas proporciones al hexano, metanol y alcohol absoluto.

La actividad antioxidante del aceite esencial obtenido expresada como porcentaje de inhibición a una disolución de radical libre DPPH de absorbancia 1.079 es de 46.06 % y esta actividad es equivalente a la que ocasionaría una disolución de 19.81 mg de ácido gálico/100 mL. La actividad antioxidante del aceite esencial obtenido expresada como CI_{50} es 61.2 µ*L***.**

VI. RECOMENDACIONES

1. Iniciar estudios multidisciplinarios sobre ***Salvia rosmarinus*** a fin de determinar fehacientemente si la especie que crecen nuestra región pudiera convertirse en un cultivo industrial.

2. Se sugiere llevar a cabo una investigación específica orientada a identificar y aislar los metabolitos secundarios que permanecen como subproductos tras la extracción de los aceites esenciales de ***Salvia rosmarinus*.**

3. Es necesario evaluar los posibles efectos biológicos que estos metabolitos secundarios podrían generar, tanto en organismos vegetales como en animales, con el fin de explorar sus potenciales aplicaciones o riesgos.

4. Se recomienda a las autoridades universitarias la adquisición de equipos de alta tecnología para los laboratorios, como un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrofotómetro de masas, herramienta fundamental para la caracterización detallada de los componentes químicos presentes en los aceites esenciales extraídos.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bussmanm R, Sharon D. plantas medicinales de los andes y la amazonia - La Flora mágica y medicinal del Norte del Perú. Editorial Graficart SRL. Trujillo Perú – 2015.Disponible en:www. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/10/916684/plantas-medicinales-de-los-andes-y-la-amazonia-la-flora-magica-_Qa3dgqr.pdf.

2. Apaza F. Uso de plantas medicinales para tratar síntomas asociados a COVID-19 en usuarios que acuden a la feria dominical de juliaca-2021.Tesis para optar el Título Profesional de Licenciada en Tecnología Médica con Especialidad en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica Huancayo, 2023.

3. Flores E, Sáenz A, Oliva A y col. Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios. TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas. vol.23 Ciudad de México 2020 Epub 05-Mar-2021

4. Payá P, Estudio técnico y económico de extracción de aceite esencial de romero (***Salvia rosmarinus***) mediante destilación de arrastre con vapor Trabajo Fin de Grado en Ingeniería Química. Universitat Politècnica de València escuela politécnica superior de Alcoy.

5. García O, Martínez G, Esquibel J y col. Actividad antimicrobiana de ***Salvia rosmarinus*** (romero) sobre Porphyromonas gingivalis y Enterococcus faecalis. Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguas calientes, (2024) 32(92)

6. Contreras I, Castillo M, Diaz E. Evaluación de los compuestos bioactivos del aceite de romero (Rosmarinus officinalis L.) como conservador alternativo. Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Vol.8 (2023) 920-925.

7. Cortes C. El saber ancestral de la farmacognosia de la malva *(**Malva sylvestris***) y el romero (***Salvia rosmarinus***) desde el pensamiento científico y la química en contexto Trabajo de grado. Universidad Pedagógica Nacional Facultad de Ciencia y Tecnología Departamento de Química. Licenciatura en Química Bogotá, D.C. 2023.

8. Ricardo L. Evaluación del efecto del Romero (***Salvia rosmarinus L***.) y el Tomillo (Thymus vulgaris L.) como conservantes en la producción de un fitocosmético a base de Achiote (Bixa orellana L.). Trabajo de grado como requisito para optar el título de Ingeniero Agro ecólogo. Corporación Universitaria Minuto de Dios. Colombia 2021

9. Chongoluisa A. Evaluación de la obtención de aceite esencial de romero (***Salvia rosmarius***) como plaguicida para el control de le araña roja (Tetranychus urticae) bajo condiciones de laboratorio en el campus Salache-utc, cantón Latacunga, provincia de Cotopaxi, 2022-2023. Universidad Técnica de Cotopaxi. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales.

10. Quito E, Márquez J, Zambrano J y col. Uso de aceites esenciales de plantas aromáticas en el manejo de la moniliasis (Moniliophthora roreri) en el cultivo de cacao. Revista Científica Ecológica agropecuaria. 2023 pg 1-10

11. Contreras N, Martínez J, Stashenko E. Determinación de la actividad antioxidante in vitro de los aceites volátiles de cuatro plantas de uso tradicional mediante la medición de la peroxidación lipídica de aceite. Scientia et Technica Año XII, No 30, mayo.

12. Ramírez M. Extracción por arrastre de vapor y análisis de propiedades antioxidantes del aceite esencial del romero. Tesis profesional presentada para Licenciatura en Ingeniería Química con área en Ingeniería de Procesos. Departamento de Ingeniería Química y Alimentos. Escuela de Ingeniería y Ciencias, Universidad de las Américas Puebla. Cholula, Puebla, México. 2008.

13. Castro E, Oliva H, Aceites esenciales de plantas nativas del Perú: Efecto del lugar de cultivo en las características fisicoquímicas y actividad antioxidante. del cultivo. Scientia Agropecuaria vol.10 no.4 Trujillo oct. 2019

14. Jáuregui j. Actividad antioxidante y antifúngica del aceite esencial de Rosmarinus officinalis l. "Romero" para la formulación de un semisólido dermatológico. Eesis para optar el Grado Académico de Magister. Universidad Nacional Mayor de san Marcos 2023.

15. Valverde Y, Leonardo J. Extracción y caracterización del aceite esencial del romero (Rosmarinus officinalis) por el método de arrastre de vapor obtenida en estado fresco y secado convencional. Tesis para optar el título profesional de: Ingeniero Agroindustrial. Universidad Nacional del Centro Tarma – Perú 2011.

16. Guerrero G, Guerrero C. Metodología de la Investigación. Disponible en: https://books.google.es/books?hl=es&lr=lang_es&id=sJstEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=

Metodolog%C3%ADa+de+la+investigaci%C3%B3n+libros&ots=-j2ccX_ZTq&sig=bXx2UpOsEePsuUoZKnhC0pxkamI#v=onepage&

17. Arias J. Diseño y Metodología de la Investigación. Disponible en: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://gc.scalahed.com/recursos/files/r161r/w26022w/Arias_S2.pdf

18. Lock O. "Investigaciones Fitoquímicas" Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú. 1992.

19. Aceites esenciales. Se puede conseguir en: https://www.ecured.cu/Aceites_esenciales.

20. Martínez Alejandro. Aceites esenciales. (2001) .Universidad de Antioquia. Se puede conseguir en: http://www.med-informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA_esencias2001b.pdf

21. Rodríguez M, Alcaraz L, Real S. Procedimiento para la extracción de aceites esenciales de plantas aromáticas. Se https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/540/1/rodriguez_m.pd

22. Gutiérrez Santiago Carolina. Investigación de los aceites esenciales, sus características y finalidad de uso. análisis del estado de su regulación en chile y el mundo. (2010) Tesis Universidad de Chile Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica. Memoria para optar al título Químico Farmacéutico.

23. Peredo-Luna H, Polou-García E López-malo. Aceites esenciales: Métodos de extracción. Temas Selectos de Alimentos 3-1 (2009) 24-32.

24. Muñoz W, Tapia R, Vásquez D y col. Medicina Alternativa para el Manejo del Dolor Crónico en Enfermedades Degenerativas. Revista Estudios y Perspectivas Vol 5, N° 1(2025)

25. Velazco E, Guzmán E, Ordoñez A y col. Medicina alternativa y complementaria: ¿Qué experiencias tienen las personas al utilizarla? Revista CuidArte. "El Arte de Cuidarte".Vol 7, N°14, pag18-19.ago 2018.

VIII. ANEXOS

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". **YESAYRA MILAGROS ARANGO TANTA** con **DNI N" 74950409** para su determinación la misma que, pertenece al nombre científico de, ***Salvia rosmarinus*** Speen. "romero", según Sistema de Clasificación de Arthur Cronquist, (1988).

REINO: PLANTAE

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

ORDEN: LAMIALES

FAMILIA. LAMIACEAE

GÉNERO: ***Salvia***

ESPECIE: ***Salvia rosmarinus*** Speen.

N.V. "romero"

Sinonimia:

Rosmarinus officinalis L

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

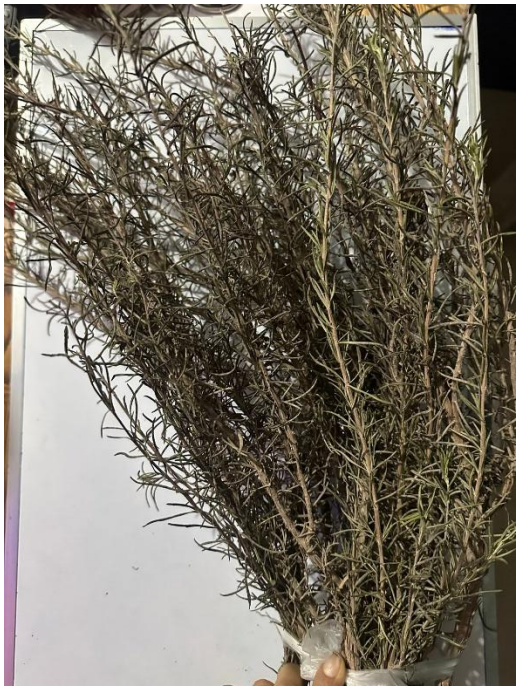
Ica, 15 de noviembre del 2023.

Dr. Miranda Huaman David Máximo
BIÓLOGO
CBP. 3681











Preparando la muestra para la extracción de aceites esenciales



Colocando la muestra para el arrastre de vapor



Colocando la muestra para la hidrodestilación



Separación de los aceites esenciales



Disolviendo el ácido gálico



Preparando las disoluciones de ácido gálico para determinar la actividad antioxidante



Registrando las lecturas de las absorbancias de la curva

de calibración y la muestra de aceite esencial





Determinando el índice de refracción del aceite esencial





Determinando la densidad del aceite esencial



Determinando la solubilidad del aceite esencial

UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD

AT_2026-FFBB-093

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:

Extracción, caracterización y actividad antioxidante del aceite esencial de *Salvia rosmarinus*

Presentado por:

ARANGO TANTA YESAYRA MILAGROS

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.

Con Código de Matricula: 20164822

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

Ica, 10 de agosto de 2026

.....
Dr. PEÑA GALINDO JULIO JOSE
DIRECTOR DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

PGJJ/hadp