



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:

**Extracción, caracterización y actividad antioxidante del aceite esencial de *Ruta graveolens* L**

Presentado por:

**TASAYCO BORJAS, MARIA JOSE**

**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, 13 de Diciembre de 2022

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

RDMG/osad

  
03/02/2023

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"  
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN  
Facultad de Farmacia y Bioquímica



Extracción, caracterización y actividad antioxidante del aceite  
esencial de *Ruta graveolens* L

Salud Pública y Conservación del Medio Ambiente

Informe Final de tesis

AUTOR

BACH. MARÍA JOSÉ TASAYCO BORJAS

Ica - Perú

2022

## **DEDICATORIA**

Es para mí una gran satisfacción poder dedicarles este trabajo a mis padres José Tasayco y María del Pilar Borjas quienes con su motivación y esfuerzo me han permitido cumplir un sueño más; a mis hermanos Fátima, Lucía y José por su apoyo incondicional durante todo este proceso. A mis abuelos por confiar en mí y por sus consejos brindados. Gracias por ser parte de mi vida y por permitirme ser parte de su orgullo.

## **AGRADECIMIENTO**

A mi asesor por compartirme sus conocimientos.

A cada uno de los doctores que me brindaron sus conocimientos a lo largo de mi desarrollo profesional.

Infinitas gracias.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>ÍNDICE</b>	<b>iv</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>viii</b>
<b>ABSTRACT</b>	
<b>ix</b>	
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>10</b>
<b>II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA</b>	<b>14</b>
<b>2.1. Aspectos metodológicos</b>	<b>14</b>
2.1.1. Enfoque de la investigación	14
2.1.2. Tipo de investigación	14
2.1.3. Diseño de la investigación	14
2.1.4. Población y muestra	15
<b>2.2. Técnicas e instrumentos de recolección de la información</b>	<b>15</b>
<b>2.3. Tratamiento de la muestra</b>	<b>15</b>
2.3.1. Obtención de partes aéreas de <i>Ruta graveolens</i> L ( <i>Ruda</i> )	15
2.3.2. Caracterización del material a analizar.	16
2.3.3. Obtención del aceite esencial	16
<b>2.3.4. Caracterización del aceite esencial</b>	<b>18</b>
<b>2.3.5. Análisis para determinar la actividad antioxidante del aceite</b>	<b>20</b>
esencial de <i>Ruta graveolens</i> L ( <i>Ruda</i> )	
2.3.5.1 Frente al radical libre DPPH	20
2.3.5.2. Frente al radical ABTS•+	24
<b>III. RESULTADOS</b>	<b>28</b>
3.1. Del material estudiado	28
3.2. De la obtención de la muestra a analizar.	28
3.3. De las características organolépticas del material a ensayar	28
3.4. De la obtención del aceite esencial	29

3.5. De las características organolépticas del aceite esencial	31
3.6 De las características fisicoquímicas	31
3.7. De la determinación de la actividad antioxidante	32
3.7.1 Frente al radical libre DPPH	32
3.7.2. Frente al radical libre ABTS•+	36
<b>IV. DISCUSIÓN</b>	<b>38</b>
<b>V. CONCLUSIONES</b>	<b>40</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES</b>	<b>41</b>
<b>VII. FUENTES DE INFORMACIÓN</b>	<b>42</b>
<b>VIII. ANEXOS</b>	<b>45</b>



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Tratamiento para determinar el % de inhibición al radical libre DPPH por parte del aceite esencial de ruda.	21
<b>Tabla 2.</b> Tratamiento para graficar la curva de calibración entre el radical libre DPPH versus las diluciones patrón de ácido gálico.	22
<b>Tabla 3.</b> Tratamiento para determinar la actividad antioxidante del aceite esencial de <i>Ruta graveolens</i> L expresado como CI <sub>50</sub> .	23
<b>Tabla 4.</b> Tratamiento para graficar la curva de calibración de la reacción entre soluciones patrón de trolox y el radical libre ABTS•+	26
<b>Tabla 5.</b> Características organolépticas de las hojas frescas trozadas de <i>Ruta graveolens</i> L	28
<b>Tabla 6.</b> Rendimientos de obtención de aceites esenciales de <i>Ruta graveolens</i> L por el método de hidrodestilación en diferentes tiempos de exposición al calor moderado y fuerte.	29
<b>Tabla 7.</b> Rendimientos de obtención de aceites esenciales de <i>Ruta graveolens</i> L por el método de arrastre de vapor en diferentes tiempos de exposición al calor moderado y fuerte.	30
<b>Tabla 8.</b> Características organolépticas del aceite esencial de las hojas frescas de <i>Ruta graveolens</i> L obtenido por arrastre de vapor.	31
<b>Tabla 9.</b> Características fisicoquímicas del aceite esencial de las hojas frescas de <i>Ruta graveolens</i> L obtenido por arrastre de vapor.	31
<b>Tabla 10.</b> Absorbancia del blanco, DPPH solo y aceite esencial de <i>Ruta graveolens</i> L	32
<b>Tabla 11.</b> Absorbancias de las soluciones patrón de ácido gálico frente al DPPH.	32
<b>Tabla 12.</b> Resultados de las absorbancias de diluciones de muestra a ensayar versus DPPH para determinar la CI <sub>50</sub>	34
<b>Tabla 13.</b> Absorbancias de las soluciones patrones de trolox frente al radical libre ABTS•+	36

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1.</b> Procesos para obtener las partes aéreas de la ruda	15
<b>Gráfico 2.</b> Curva de calibración de la reacción entre soluciones patrón de ácido gálico y el radical libre DPPH.	33
<b>Gráfico 3.</b> Determinación de la $CI_{50}$ del aceite esencial de <i>Ruta graveolens</i> L diluido con etanol 1:9 frente al DPPH.	35
<b>Gráfico 4.</b> Curva de calibración de la reacción entre diluciones de soluciones patrón de trolox versus el radical libre ABTS $\bullet+$ .	37

## RESUMEN

El presente trabajo es un estudio sobre la especie vegetal *Ruta graveolens* L (*Ruda*) que crece en el distrito de San Juan Bautista de la provincia de Ica. Las hojas frescas de esta planta en estado de floración fueron separadas y trozadas a tamaño de entre 2 -3 mm de lado y se usaron para la extracción de sus aceites esenciales. Se ensayaron los métodos de hidrodestilación en la proporción 1 kg del material con 6 litros de agua y arrastre de vapor en la proporción 1 kg de material con 4 litros de agua. En ambos casos con calor moderado para obtener un destilado de 10-15 gotas por minuto y calor fuerte para obtener un destilado de 25 – 30 gotas por minuto por tiempos de 40, 80 y 120 minutos respectivamente. El mejor rendimiento se obtuvo del tratamiento mediante arrastre de vapor con calor fuerte por 80 minutos obteniéndose un rendimiento de 0.21 % para un aceite esencial de color amarillo, olor sui géneris, sabor astringente y de aspecto homogéneo. Este aceite tiene una densidad de 0.918 g/ml con índice de refracción 1.4228. El % de actividad antioxidante del aceite esencial, diluido con etanol en la proporción 1:9, frente al DPPH es de 53.98 % y es equivalente al de una solución de ácido gálico 8.66 mg/100mL. El % de actividad antioxidante de la misma muestra frente al radical ABTS•+ de absorbancia 0.706 es 38.52 % y es equivalente al de una solución de trolox 0.4193 mM.

**Palabras claves:** *Ruta graveolens* L, Actividad antioxidante, Aceites esenciales.

## ABSTRACT

The present study on the plant species *Ruta graveolens* L (**Ruda**) that grows in the district of San Juan Bautista in the province of Ica. The fresh leaves of this plant in the flowering stage were separated and chopped to a size of between 2-3 mm on each side and used for the extraction of its essential oils. Hydrodistillation methods were tested in the proportion 1 kg of material with 6 liters of water and steam dragging in the proportion 1 kg of material with 4 liters of water. In both cases with moderate heat to obtain a distillate of 10-15 drops per minute and strong heat to obtain a distillate of 25-30 drops per minute for times of 40, 80 and 120 minutes respectively. The best yield was obtained from the treatment by steam stripping with strong heat for 80 minutes, obtaining a yield of 0.21% for an essential oil of yellow color, sui generis odor, astringent taste and homogeneous appearance. This oil has a density of 0.918 g/ml with a refractive index of 1.4228. The % of antioxidant activity of the essential oil, diluted with ethanol in the proportion 1:9, compared to DPPH is 53.98% and is equivalent to that of a solution of gallic acid 8.66 mg/100mL. The % of antioxidant activity of the same sample against the ABTS•+ radical with an absorbance of 0.706 is 38.52% and is equivalent to that of a 0.4193 mM trolox solution.

**Keywords:** *Ruta graveolens* L, Antioxidant activity, Essential oils.

## I. INTRODUCCIÓN

Desde los albores de la humanidad el uso de las plantas con fines alimenticios, medicinales y ornamentales es una práctica frecuente y común. En nuestro medio se desarrollan una gran cantidad de especies vegetales merced al excelente clima de nuestra región. Gran parte de ellas son cultivadas para nuestra alimentación; pero los cultivos irremediablemente sufren enfermedades o son atacadas por plagas de insectos. Para resolver estos problemas agrarios la industria química prevé de insumos que a la postre sanan la planta, pero terminan perjudicando el ambiente e incluso a las demás formas de vida incluido el hombre, Motivo por lo cual en la actualidad hay la tendencia a obtener los alimentos de cultivos limpios, orgánicos o no tratados con insumos químicos. Una de las alternativas es usar algún producto natural para reemplazar los tratamientos químicos convencionales. Es conocido también que algunas plantas tienen propiedades repelentes y/o insecticidas contra algunos insectos y se usan con tal fin. Las especies vegetales que desprenden fragancias fuertes están relacionadas con esta propiedad. Si consideramos que la fragancia de una planta está concentrada en los aceites esenciales y que se presenta en pequeñas cantidades necesitaríamos grandes volúmenes de plantas aromáticas para obtener planta útil para los tratamientos de las plantas. Es necesario obtener la fragancia o aceite esencial y desarrollar estudios para demostrar sus posibles usos no solamente por sus propiedades cosméticas sino también por los efectos que tendría en algún estadio de la vida de los insectos<sup>1</sup>.

La ruda (*Ruta graveolens L*) es una especie vegetal que crece en nuestro medio. Esta especie vegetal pertenece a la familia Rutáceas, es una hierba perenne que llega a medir mayoritariamente entre 30-60 cm y ocasionalmente alcanza hasta 100 cm. se caracteriza por su olor fuerte y penetrante. Es nativa de Europa, pero fue introducida en América en la edad media y hoy en día la encontramos en diferentes países de Centro y Suramérica. En el Perú crece en varias regiones y en todo lugar se le atribuyen diversas propiedades medicinales y hasta mágicas se le utiliza como: antifúngica, antibacteriana, analgésica, antiinflamatoria y antihelmíntica. Para quitar el susto y cambiar la suerte. Su extracto acuoso tiene actividad anticonceptiva observándose que interfiere en el sistema reproductivo, alterando el nivel hormonal y la morfología de los ovarios en ratas hembras jóvenes. Para los aceites esenciales de esta especie vegetal se reportan actividad antibacteriana y antimicótica, últimamente se están realizando estudios para determinar su actividad repelente de insectos dañinos a diferentes plantaciones. En nuestra región

crece en jardines y algunos cultivos cuyas plantas van a parar en los mercados donde se comercializa en atados de entre 300 – 400 g de ramas de la planta y es bastante consumida por los propios comerciantes de los mercados para ahuyentar las malas vibras y para el florecimiento del negocio. Son varios los estudios que demuestran que el aceite esencial de las partes aéreas de esta planta tiene actividad repelente y biocida contra algunos insectos<sup>2,3</sup>.

Algunos estudios sobre los aceites esenciales en plantas aromáticas han sido desarrollados por:

Ruiz C<sup>4</sup> (2015) presentan un estudio sobre 10 plantas aromáticas peruanas con el propósito de encontrar aceites esenciales que puedan ser usados como atrayentes o repelentes de *Thrips tabaci*, entre otras., ***Ruta graveolens* L.**

Castro A<sup>5</sup> (2011) Desarrolló un trabajo con el objetivo de elucidar los componentes del aceite esencial de ***Ruta graveolens* L.**, determinar su actividad antioxidante y su citotoxicidad. Trabajó con plantas completas que se colectaron en la provincia de Tarma, Región Junín, fueron tratadas en un sistema de arrastre con vapor de agua, obtuvo un rendimiento de 0,3% v/p de aceite esencial. La elucidación estructural de los componentes químicos del aceite esencial se realizó por Cromatografía de Gas/Espectrometría de Masas (CG-EM), reportando los siguientes componentes: 2-octanona, 2-nonanona, nonanal, ciclohexen-5,6-dietenil-1-metil, 2-decanona, metil nonyl éter, 2-undecanona, ciclotetradecano, 2-dodecanona y 2-tridecanona. Para la actividad antioxidante por el método de captación del radical 2,2-difenilpicrilhidrazil (DPPH), reporta una CI<sub>50</sub> de 16.13 mg/ml, mientras que para el ácido ascórbico 2,4 µg/ml lo cual sugiere una baja actividad antioxidante con citotoxicidad sobre el desarrollo embrionario de *Tetrapygnus niger*,

Muñoz J<sup>6</sup> (2007) señala que la pigmentación de la piel es a consecuencia de la producción y distribución de melanina, que es originada por la oxidación sucesiva de la L-Tirosina a L-Dihidroxifenilalanina (L-DOPA) y dopaquinona por el enzima tirosinasa. Indica que las irregularidades en la pigmentación de la piel son un problema estético para muchos individuos lo cual justifica el interés de investigar productos con propiedades aclaradoras de la piel. En ese sentido se propone a buscar inhibidores del enzima tirosinasa a partir de productos naturales y desarrolla un estudio de extractos de ***Ruta graveolens* L** empleando diferentes métodos de extracción a fin de determinar la inhibición de la oxidación de la L-Tirosina catalizada por tirosinasa de hongo y correlaciona esta actividad con la citotoxicidad y el contenido de compuestos fenólicos.

Cusquipoma M<sup>7</sup> (2018) Presenta un estudio con el objetivo de demostrar el efecto antimicótico in vitro del aceite esencial de las hojas de *Ruta graveolens* L sobre *Candida albicans* ATCC 10231. Utilizó el método de Kirby-Bauer. El aceite esencial lo obtuvo de las hojas frescas y por el método de hidrodestilación. Ensayo aceite esencial en concentraciones de 1,6% y 3,2%, como control estándar el Fluconazol (25ug/disco) y control negativo Dimetilsulfóxido (DMSO) al 5%. Reporta halos de inhibición a las 48 horas para el aceite esencial 1,6% (35,95 mm); al 3,2% (41,25 mm); para el control estándar (28.69 mm), y para el control Negativo (6mm). Concluyendo que el aceite esencial de las hojas de *Ruta graveolens* L es un excelente efecto antimicótico frente a *Candida albicans*.

Pino O<sup>8</sup> (2014). Señala que el aceite de ruda es útil en perfumería, como desodorizante y posee actividad insecticida. Y que su composición depende de las condiciones geobotánicas específicas. Y presenta un estudio con el objetivo de establecer las potencialidades del aceite esencial de *R. chalepensis* como candidato para el desarrollo de nuevos antibacterianos en el manejo de fitopatógenos. El aceite esencial se obtuvo por hidrodestilación con equipo Clevenger; determinando su rendimiento y su composición química por CG/EM. La actividad antibacteriana se hizo por el método de difusión en agar. Reporta un rendimiento 0,3 % (v/p) para el AE con predominaron las cetonas alifáticas; las de mayor abundancia relativa fueron 2-undecanona (34,88 %) y 2-nonanona (25,23 %).

Rojas J<sup>9</sup> (2011) Estudio dos muestras de *Ruta graveolens* L procedentes de los estados Mérida y Miranda; Venezuela, aisló los aceites esenciales y fueron analizados por CG/EM lográndose identificar como componentes mayoritarios: 2-undecanona, 2-nonanona y pregeijereno. Los ensayos de actividad antibacteriana señalan que los aceites presentan un amplio rango de inhibición del crecimiento tanto para bacterias Gram positivas *S. aureus* y *E. faecalis*; así como para Gram negativas *E. coli*.

Mena J<sup>10</sup> señala que estudios farmacológicos realizados con la especie vegetal *Ruta graveolens* L (*Ruda*) demuestran que el aceite esencial es responsable de la actividad antimicrobiana. Sostiene que el déficit hídrico es el principal estrés abiótico que afecta al desarrollo de este vegetal generando diversas respuestas de la planta que alteran su metabolismo secundario y consecuentemente la presencia y concentración de sus metabolitos secundarios.

Para la *Ruta graveolens* L que crece en nuestra localidad no hay estudios que señalen el rendimiento y las características de aceites esenciales; conocimientos básicos para proceder a estudiar los posibles usos en el control de plagas de insectos que hacen daños

a los cultivos y merman la rentabilidad de los mismos. Con ese propósito me permito contribuir con un estudio que deje conocimientos básicos sobre el método para extraer aceite esencial de esta planta señalando el rendimiento y las características de este producto<sup>2,11</sup>. Para lo cual considero que el problema general queda enmarcado en la siguiente interrogante: ¿Cuál es el método que extrae mejor el aceite esencial de *Ruta graveolens* L y cuáles son las características físicas química y que actividad antioxidante tiene este aceite esencial?

El desarrollo del tema es importante porque demostramos que de la planta *Ruta graveolens* L que crece en el distrito de San Juan Bautista de nuestra provincia se obtiene buen rendimiento de aceite esencial y deja los conocimientos básicos para iniciar estudios para su conversión en un cultivo industrial dado que el aceite esencial de esta planta ha sido ensayado con resultados positivos para el control de insectos que dañan cultivos de interés económico. Además, prontamente se pueden iniciar estudios para ir reemplazando el uso de insecticidas convencionales por el uso de productos naturales<sup>12</sup>. Razón por la que el objetivo general del presente estudio es obtener, caracterizar y determinar la actividad antioxidante del aceite esencial de *Ruta graveolens* L que crece en nuestro medio.



## II. ESTRATEGIAS METODOLÓGICAS<sup>13,14,15,16,17,18,19,20</sup>

### 2. 1. ASPECTOS METODOLÓGICOS

#### 2.1.1. ENFOQUE DE INVESTIGACIÓN

El método científico para abordar y desarrollar problemas que se presentaron y presentan en el desarrollo de la sociedad es una herramienta que permite seguir creando mejores condiciones de vida para la humanidad. La especie *Ruta graveolens* L es una especie vegetal milenariamente usada por sus propiedades curativas principalmente para los dolores de cabeza y la eliminación de las malas vibras o para el ahuyentar los efectos negativos o la mala suerte en pos de atraer toda clase de buenos momentos tanto para mejorar la salud o para la mejora del bienestar general de la persona. Últimamente su penetrante olor ha sido ensayado para repeler insectos. Los olores de las especies vegetales son responsabilidad de los aceites esenciales que poseen las plantas. 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. La Ruda es especies vegetal aromática que es estudiada en ensayos de actividad insecticida. Es una planta cosmopolita y en nuestro medio crece muy bien y merece iniciarse estudios para separar y caracterizar su aceite esencial.

#### 2.1. 2. TIPO DE INVESTIGACIÓN

El presente estudio es una investigación básica por cuanto se busca obtener información de que método y procesos son los más adecuados para obtener el aceite esencial de *Ruta graveolens* L En concordancia con los hechos que permitieron obtener la información es una investigación de tipo transversal ya que el estudio se ejecutó en un momento determinado.

#### 2.1.3. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

El trabajo desarrollado es de diseño experimental cuantitativa ya que busca encontrar la relación entre la variable independiente (hojas de ruda) en función de la variable dependiente (rendimiento y características de los aceites esenciales)

#### 2.1.4. POBLACIÓN Y MUESTRA

Población: Algunas de las plantas enteras de *Ruta graveolens* L que crecen en el distrito de San Juan Bautista de la provincia de Ica.

Muestra: Hojas de *Ruta graveolens* L que crecen en el distrito de San Juan Bautista de la provincia de Ica.

Criterio de inclusión:

- Plantas sin signos de deterioro.
- Plantas con un tamaño superior a los 50 cm.

Criterio de exclusión:

- Plantas con signos de deterioro
- Plantas con un tamaño inferior a los 50 cm.

#### 2.2. TÉCNICA E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

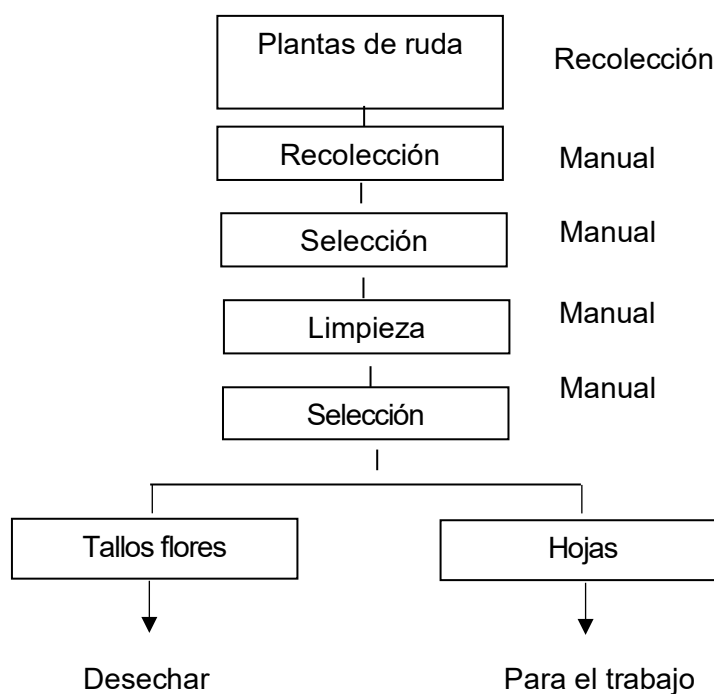
Para la recolección de datos se usarán las técnicas de entrevistas a los involucrados en comercialización de la planta y de la revisión bibliográfica para informarnos de los diferentes procesos para obtener y caracterizar los aceites esenciales.

#### 2.3. TRATAMIENTO DE LA MUESTRA

##### 2.3.1. OBTENCIÓN DE PARTES AÉREAS DE *Ruta graveolens* L (RUDA)

Los procesos se ilustran en el grafico siguiente:

**Gráfico 1. Procesos para obtener las partes aéreas de la ruda**



### 2.3.2. CARACTERIZACIÓN DEL MATERIAL A ANALIZAR.

Se trabajó con Material fresco las hojas que se utilizaron para la obtención de los aceites esenciales preliminarmente fueron tratadas como sigue: hoja, limpieza, compactado, corte de 2-3 mm. Compactado. Esta es la parte que se somete a la caracterización.

### 2.3.3. OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL

Para esta parte del trabajo se utilizan los términos calor moderado: es la cantidad de calor que soporta el sistema de destilación y se regula para que las gotas del destilado que se recolecta este entre 10 – 15 gotas por minuto. Y calor fuerte cuando la cantidad de calor que es el sistema recibe se regula para que las gotas del destilado sean entre 25 – 30 por minuto.

Se ensayaron los métodos de hidrodestilación y arrastre de vapor

#### HIDRODESTILACIÓN

Se trabajó con una misma relación de peso de muestra 1 kg y volumen de agua. Variando el tiempo de exposición al calor, el tiempo se controló desde la aparición de las primeras gotas del destilado. Se ejecutaron los ensayos siguientes:

Tratamiento 1. Un kg de hojas frescas trozadas con 6 l de agua con 40 minutos de exposición a calor moderado para flujo de condensación moderado.

Tratamiento 2. Un kg de hojas frescas trozadas con 6 l de agua con 40 minutos de exposición a calor fuerte para flujo de condensación rápido.

Tratamiento 3. Un kg de hojas frescas trozadas con 6 l de agua con 80 minutos de exposición a calor moderado para flujo de condensación moderado.

Tratamiento 4. Un kg de hojas frescas trozadas con 6 l de agua con 80 minutos de exposición a calor fuerte para flujo de condensación rápido.

Tratamiento 5. Un kg de hojas frescas trozadas con 6 l de agua con 120 minutos de exposición a calor moderado para flujo de condensación moderado.

Tratamiento 6. Un kg de hojas frescas trozadas con 6 l de agua con 120 minutos de exposición a calor fuerte para flujo de condensación rápido.

#### ARRASTRE DE VAPOR

Utilizando tela de tul color blanco el material fresco y trozado se acondicionó en paquetes de 500 g que se sujetaron por encima de la fuente que produciría el vapor de agua. Se acondiciona el equipo de destilación y se ejecutaron los tratamientos siguientes:

Tratamiento 7. Un kg de hojas frescas trozadas y contenidas dentro de dos paquetes son expuestos a 40 minutos de vapor generado por 4 l de agua con calor moderado que produce flujo de condensación moderado.

Tratamiento 8. Un kg de hojas frescas trozadas y contenidas dentro de dos paquetes son expuestos a 40 minutos de vapor generado por 4 l de agua con calor fuerte que produce flujo de condensación rápido.

Tratamiento 9. Un kg de hojas frescas trozadas y contenidas dentro de dos paquetes son expuestos a 80 minutos de vapor generado por 4 l de agua con calor moderado que produce flujo de condensación moderado

Tratamiento 10. Un kg de hojas frescas trozadas y contenidas dentro de dos paquetes son expuestos a 80 minutos de vapor generado por 4 l de agua con calor fuerte que produce flujo de condensación rápido.

Tratamiento 11. Un kg de hojas frescas trozadas y contenidas dentro de dos paquetes son expuestos a 120 minutos de vapor generado por 4 l de agua con calor moderado que produce flujo de condensación moderado.

Tratamiento 12. Un kg de hojas frescas trozadas y contenidas dentro de dos paquetes son expuestos a 120 minutos de vapor generado por 4 l de agua con calor fuerte que produce flujo de condensación rápido.

#### 2.3.4. CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL

Para esta parte del trabajo se evaluó cuál de los tratamientos para obtener el aceite esencial o el mejor rendimiento y fue el del tratamiento 10 es decir aceite esencial obtenido por de arrastre de vapor durante 80 minutos con calor fuerte que produjo y flujo de condensación rápido. El aceite esencial recogido de la destilación es secado con sulfato de sodio anhidro que se separa por filtración dejando el aceite esencial que se utilizó para las determinaciones posteriores.

Se determinaron las características siguientes:

##### a) CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS:

El análisis organoléptico se realizó para caracterizar:

Color: Se coge un frasco vial de 1 mL de capacidad y se depositan en el aceite esencial a analizar, se tapa y se deja en reposo por 30 minutos. Luego se juzga el color.

Olor: Terminada la calificación del color el frasco vial que contiene el aceite esencial se le retira la tapa e inmediatamente se acerca a la nariz para juzgar el olor.

Aspecto: Una gota del aceite esencial a analizar se coloca en yema del dedo

Pulgar frotándose con el dedo índice para juzgar la consistencia

Sabor: Una pequeña gota del aceite a analizar se lleva a la boca para la evaluación del sabor.

##### b) CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS

Se ejecutaron las determinaciones siguientes:

###### 1º RENDIMIENTO

Es la operación técnica que tiene el propósito de precisar la eficacia del proceso en cuanto a obtención de aceite esencial de cada uno de los tratamientos aplicados. La eficacia se expresa como el número de mililitros de aceite esencial obtenido por cada 1,00 g de muestra tratada en cada uno de los diferentes tratamientos realizados. El resultado se juzga después de haber desecado el aceite esencial separado.

## 2° DENSIDAD

Se trabajó con el aceite esencial procedente del proceso de obtención T10.

Definición: La densidad de un objeto o compuesto químico se define como la relación existente entre el peso del material o compuesto químico testado entre el volumen que ocupa dicho cuerpo. El peso específico o densidad relativa es la relación que hay entre la densidad de un material u objeto analizado y la densidad del otro que se toma como referencia, usualmente agua. Para los aceites esenciales la densidad es definida como la relación que hay entre el peso de un mililitro del aceite esencial analizado y el peso de un mililitro de agua destilada ambos registrados a una determinada temperatura 20 °C usualmente.

Procedimiento: Se cogen dos frascos viales limpios y secos de 1 mL de capacidad. Se pesan con una balanza de 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 pipeta se seca. Luego se mide un mL del aceite esencial a analizar y se deposita en el otro vial de peso conocido y se registra el peso del aceite esencial.

## 3° INDICE DE REFRACCIÓN

Definición: Al índice de refracción se le define como la relación que existe entre el seno del ángulo de incidencia al seno del ángulo de refracción de un rayo luminoso de longitud de onda determinada, que pasa desde el aire al aceite esencial en estudio. La determinación se ejecuta a una temperatura constante. Esta propiedad física es propia y puede utilizarse como indicador de pureza del aceite esencial.

Procedimiento:

-Se limpia con etanol la placa porta muestra del equipo refractómetro de Abbe se espera unos 5 minutos para que seque y se deposita una gota de la muestra a analizar se procede a la lectura del índice de refracción.

## 4° SOLUBILIDAD

Definición: La solubilidad de un compuesto químico denominado soluto se define como la capacidad que tiene un disolvente, diluyente o solvente para disolver, permitir la dispersión o recibir en su seno a las moléculas del compuesto químico denominado soluto. Sin que cada uno de ellos soluto y disolvente pierdan su propia identidad química. 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 disolverse en 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 minutos 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 éter etílico, metanol q. p y etanol 96°

### 2.3.5. ANÁLISIS PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE *Ruta graveolens* L (*Ruda*)

Para esta parte del trabajo se utilizó una dilución del aceite esencial de la ruda con etanol en la proporción 1:9

#### 2.3.5.1. FRENTE AL RADICAL LIBRE DPPH

##### A) Método espectrofotométrico:

La actividad antioxidante se determinó por el método de análisis químico cuantitativo espectrofotométrico visible (Espectrofotómetro Marca Unico) en el que se mide la disminución de la concentración (absorbancia) que tiene una solución patrón del reactivo (radical libre) 2,2 difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) cuando es consumido por antioxidantes. El resultado se expresa como porcentaje de inhibición al radical Libre. Se uso el método propuesto por Brand-Williams y colaboradores (1995) modificado por Doroteo y colaboradores (2013).

##### B) Fundamento:

El radical libre DPPH (solución color violeta) de absorbancia conocida reacciona con compuestos secuestradores de electrones desapareados, disminuyendo su concentración y consecuentemente su absorbancia (pérdida de la intensidad de color) que es monitoreada a una longitud de onda de 517 nanómetros.

##### C) Preparación de reactivos

###### Solución de DPPH

Se prepara disolviendo 3.1 mg del reactivo 1,1-difenil-2-picrilhidrazil en 100 mL de etanol 96°.

###### Soluciones patrón de ácido gálico

Por el método de diluciones sucesivas, a partir de una solución madre 1 mg/mL, se obtienen diluciones 5,10,15,20 y 25 mg /100 mL respectivamente.

D) Determinación del porcentaje de inhibición al radical DPPH

El porcentaje de inhibición al radical libre DPPH es la concentración del extracto ensayado expresado en microlitros que hace disminuir en cierto porcentaje las unidades de absorbancia de una solución patrón del radical libre 1,1, difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) cuya absorbancia es 100 %.

Los procesos para la determinación de la actividad antioxidante del aceite esencia de *Ruta graveolens* L se ilustran en la tabla siguiente:

**Tabla 1. Tratamiento para determinar el % de inhibición al radical libre DPPH por parte del aceite esencial de ruda.**

<b>Muestra</b>	<b>Repetición</b>	<b>muestra de aceite esencial mL</b>	<b>Solvente etanol 96° MI</b>	<b>Solución de DPPH mL</b>
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	0.2	0.0	2.8
	2	0.2	0.0	2.8
	3	0.2	0.0	2.8

Los reactivos se adicionaron en el orden de izquierda a derecha, se mezclan adecuadamente y se dejan en reposos por 10 minutos; tiempo después del cual se lleva a la lectura en el espectrofotómetro a 517 nm de longitud de onda.



E) CURVA DE CALIBRACIÓN ENTRE EL RADICAL LIBRE DPPH  
VERSUS LAS DILUCIONES PATRÓN DE ÁCIDO GÁLICO

El set de trabajo para esta determinación lo presento en la tabla siguiente:

**Tabla 2. Tratamiento para graficar la curva de calibración entre el radical libre DPPH versus las diluciones patrón de ácido gálico**

ENSAYO	MUESTRA (mL)	ETANOL 96° (mL)	DPPH (mL)
Blanco	0.0	3.0	0.0
DPPH	0.0	0.0	3.0
Ácido Gálico 5 mg/100 ml	0.2	0.0	2.8
Ácido Gálico 10 mg/100 mL	0.2	0.0	2.8
Ácido Gálico 15 mg/100 mL	0.2	0.0	2.8
Ácido Gálico 20 mg/100 mL	0.2	0.0	2.8
Ácido Gálico 25 mg/100 mL	0.2	0.0	2.8

**Fuente:** La autora del trabajo

E) Determinación de la actividad antioxidante expresada como  $CI_{50}$

La  $CI_{50}$  (concentración inhibitoria media) es el número de microlitros de la muestra ensayada que tiene la capacidad para inhibir el 50% de la actividad del radical libre DPPH. Las unidades de absorbancia de una solución del radical libre DPPH representa el 100 % de la actividad del radical libre. Los procesos que se siguen para esta determinación son los propuestos por Apumayta U<sup>20</sup>. El set de trabajo para esta determinación se presenta en la tabla siguiente:

**Tabla 3. Tratamiento para determinar la actividad antioxidante del aceite esencial de *Ruta graveolens* L expresado como  $CI_{50}$**

Ensayo	Repetición	Aceite esencial mL	Solvente etanol mL	DPPH mL
BLANCO	1	----	3.0	---
	2	---	3.0	---
	3	---	3.0	---
DPPH SOLO	1	---	0.0	3.0
	2	---	0.0	3.0
	3	---	0.0	3.0
TUBO MS 1	1	0.1	0.0	2.9
	2	0.1	0.0	2.9
	3	0.1	0.0	2.9
TUBO MS 2	1	0.2	0.0	2.8
	2	0.2	0.0	2.8
	3	0.2	0.0	2.8
TUBO MS 3	1	0.3	0.0	2.7
	2	0.3	0.0	2.7
	3	0.3	0.0	2.7
TUBO MS 4	1	0.4	0.0	2.6
	2	0.4	0.0	2.6
	3	0.4	0.0	2.6
TUBO MS 5	1	0.5	0.0	2.5
	2	0.5	0.0	2.5

	3	0.5	0.0	2.5
TUBO MS 6	1	0.6	0.0	2.4
	2	0.6	0.0	2.4
	3	0.6	0.0	2.4
TUBO MS 7	1	0.7	0.0	2.3
	2	0.7	0.0	2.3
	3	0.7	0.0	2.3
TUBO MS 8	1	0.8	0.0	2.2
	2	0.8	0.0	2.2
	3	0.8	0.0	2.2
TUBO MS 9	1	0.9	0.0	2.1
	2	0.9	0.0	2.1
	3	0.9	0.0	2.1
TUBO MS 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 agregaron en el orden de izquierda a derecha y después de 10 minutos de reposo al abrigo de la luz se llevaron a su lectura en el espectrómetro para determinar su absorbancia a una longitud de onda de 517 nanómetros.

### 2.3.5.2. FRENTE AL RADICAL ABTS•+

a) Método:

Espectrofotométrico

b) Fundamento

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

c) Obtención del radical libre ABTS•+

El radical ABTS•+ se obtiene a través de la reacción de 3.5 mM de ABTS•+ con 1.25 mM de persulfato potásico. Las muestras fueron incubadas entre 2-8 °C y en oscuridad durante 16-24 h. Una vez formado el radical ABTS•+ se diluyó con etanol hasta obtener una absorbancia, medida a 734 nanómetros, comprendida entre de  $0,700 \pm 0,05$

d) Procedimiento para determinar el porcentaje de inhibición al radical libre ABTS•+

A un volumen de 2.80 mL de la dilución del radical ABTS•+ se le adicionaron 0.2 mL de la muestra de aceite esencial a ensayar y se incubó a temperatura ambiente durante 5 minutos; luego de transcurrido este tiempo, se lleva al espectrofotómetro a 734 nanómetros de longitud de onda para registrar si se produce o no descenso de la absorbancia del radical ABTS•+

e) Actividad inhibitoria expresada como equivalente a mMol de Trolox

La actividad antioxidante de la muestra ensayada de aceite esencial de ruda se expresa como equivalente a la de una solución de trolox para lo cual se trabajó con una serie de disoluciones diluidas de trolox de mili Molaridad conocida que reaccionan en la misma cuantía y volumen de radical ABTS•+ de absorbancia conocida. Para esta parte del trabajo se prepararon las soluciones de trolox siguientes: 0.5, 0.250, 0.125, 0.0625 y 0.0313 mM respectivamente con las cuales se preparó la curva de calibración frente al radical libre ABTS•+; como se ilustra en la tabla siguiente:

**Tabla 4. Tratamiento para graficar la curva de calibración de la reacción entre soluciones patrón de trolox y el radical libre ABTS•+**

<b>Muestra</b>	<b>Repetición</b>	<b>Trolox mL.</b>	<b>Solvente mL</b>	<b>ABTS•+ mL</b>
Blanco	1	0.0.	3.0	0.0
	2	0.0	3.0	0.0
	3	0.0	3.0	0.0
Radical ABTS•+	1	0.0	0.0	3.0
	2	0.0	0.0	3.0
	3	0.0	0.0	3.0
Trolox 0.0313 mM	1	0.2	0.0	2.8
	2	0.2	0.0	2.8
	3	0.2	0.0	2.8
Trolox 0.0625 mM	1	0.2	0.0	2.8
	2	0.2	0.0	2.8
	3	0.2	0.0	2.8
Trolox 0.125 mM	1	0.2	0.0	2.8
	2	0.2	0.0	2.8
	3	0.2	0.0	2.8
Trolox 0.25 Mm	1	0.2	0.0	2.8
	2	0.2	0.0	2.8
	3	0.2	0.0	2.8
Trolox 0.50 mM	1	0.2	0.0	2.8
	2	0.2	0.0	2.8
	3	0.2	0.0	2.8

Fuente: La autora del trabajo

Las cinco muestras de trolox se trabajan por triplicado. En todos los casos es decir las repeticiones 1, 2 y 3 respectivamente se colocan 0.2 mL de la disolución respectivas y se hacen reaccionar con 2.8 mL de la dilución del radical ABTS•+ de absorbancia conocida 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•+.

#### 4° Determinación de la actividad antioxidante de la muestra de aceite esencial de *Ruta graveolens* L

El trabajo se realizó por triplicado En cada tubo de ensayo se coloca 2.8 mL de la dilución del radical ABTS•+ de absorbancia conocida y se le adicionaron 0.2 mL de la muestra de aceite esencial a ensayar, se deja a temperatura ambiente durante 5 minutos; luego de transcurrido este tiempo, se lleva al espectrofotómetro a 734 nm de longitud de onda para registrar si hay o no disminución de la absorbancia del radical ABTS•+.

### III. RESULTADOS

#### 3.1. DEL MATERIAL ESTUDIADO

El material estudiado es la especie vegetal popularmente conocida como Ruda cuyo nombre científico es *Ruta graveolens* L he trabajado con muestras que crecen en el distrito de San Juan Bautista de la Provincia de Ica.

#### 3.2. DE LA OBTENCIÓN DE LA MUESTRA A ANALIZAR.

El peso promedio del peso de 10 plantas cuyos tamaños fueron superior a los 50 cm de altura fue de 9.65 kg. y desde aquí se retiran las hojas obteniéndose un peso de material fresco de 4.70 kg. Las hojas frescas se trozaron con cuchillo de acero inoxidable en pedazos de aproximadamente 2-3 mm de lado.

#### 3.3. DE LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DEL MATERIAL A ENSAYAR

Las características del material trozado se presentan en la tabla siguiente:

**Tabla 5. Características organolépticas de las hojas frescas trozadas de *Ruta graveolens* L**

Característica organoléptica	Hojas frescas trozadas
Color	Verde intenso
Olor	Penetrante sui géneris
Sabor	Desagradable astringente
Aspecto	Grumoso

Fuente: La autora del trabajo

### 3.4.DE LA OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL

#### A) POR HIDRODESTILACIÓN

Los resultados se exponen en la tabla siguiente:

**Tabla 6. Rendimientos de obtención de aceites esenciales de *Ruta graveolens* L por el método de hidrodestilación en diferentes tiempos de exposición al calor moderado y fuerte.**

<b>Tratamiento</b>	<b>Rendimiento (mL/100 g)</b>
T1 Calor moderado 40 minutos	0.01
T2 Calor fuerte 40 minutos	0.04
T3 Calor moderado 80 minutos	0.08
T4 Calor fuerte 80 minutos	0.10
T5 Calor moderado 120 minutos	0.12
T6 Calor fuerte 120 minutos	0.18

**Fuente:** La autora del trabajo



## B) POR ARRASTRE DE VAPOR

Los resultados se presentan en la tabla siguiente:

**Tabla 7. Rendimientos de obtención de aceites esenciales de *Ruta graveolens* L por el método de arrastre de vapor en diferentes tiempos de exposición al calor moderado y fuerte.**

<b>Tratamiento</b>	<b>Rendimiento (mL/100g)</b>
T7 Calor moderado 40 minutos	0.02
T8 Calor fuerte 40 minutos	0.08
T9 Calor moderado 80 minutos	0.08
T10 Calor fuerte 80 minutos	0.21
T11 Calor moderado 120 minutos	0.16
T12 Calor fuerte 120 minutos	0.21

**Fuente:** La autora del trabajo

El mejor rendimiento de aceites esenciales de *Ruta graveolens* L a partir de sus hojas frescas y trozadas en pedazos de tamaño entre 2 – 3 mm de lado fue el de arrastre de vapor con calor fuerte durante 80 minutos.

### 3.5. DE LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DEL ACEITE ESENCIAL

Esta parte del trabajo se ejecutó sobre el aceite esencial de *Ruta graveolens* L que procedió del tratamiento T10 es decir aquel aceite obtenido por arrastre de vapor con calor fuerte por 80 minutos.

Estas apreciaciones las presento en la tabla siguiente:

**Tabla 8. Características organolépticas del aceite esencial de las hojas frescas de *Ruta graveolens* L obtenido por arrastre de vapor.**

<b>Característica Organoléptica</b>	<b>Aceite esencial</b>
Color	Amarillo
Olor	Fuerte sui géneris
Aspecto	Homogéneo, liquido untuoso
Sabor	Suigéneris

**Fuente:** La autora del trabajo

### 3.6 DE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUIMICAS

Los resultados los presento en la tabla siguiente:

**Tabla 9. Características fisicoquímicas del aceite esencial de las hojas frescas de *Ruta graveolens* L obtenido por arrastre de vapor.**

<b>Característica</b>	<b>Aceite esencial</b>
Rendimiento	0.21 %
Densidad	0.918
Indicé de refracción	1.4228
Solubilidad	Soluble en todas las proporciones al: hexano, metanol y etanol

**Fuente:** La autora del trabajo

### 3.7. DE LA DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

#### 3.7.1 FRENTE AL RADICAL LIBRE DPPH

##### a) Porcentaje de inhibición

Los resultados se presentan en la tabla siguiente:

**Tabla 10. Absorbancia del blanco, DPPH solo y aceite esencial de *Ruta graveolens* L**

MUESTRA (promedio de 3 determinaciones)	ABSORBANCIA	% DE INHIBICIÓN
DPPH	1.078	0.00
Aceite esencial	0.496	53.98

**Fuente:** La autora del trabajo

##### b) Curva de calibración DPPH versus ácido gálico para expresar como equivalente a mg ácido gálico/100 mL

Los resultados de las absorbancias de las soluciones patrón de ácido gálico los presento en la tabla siguiente:

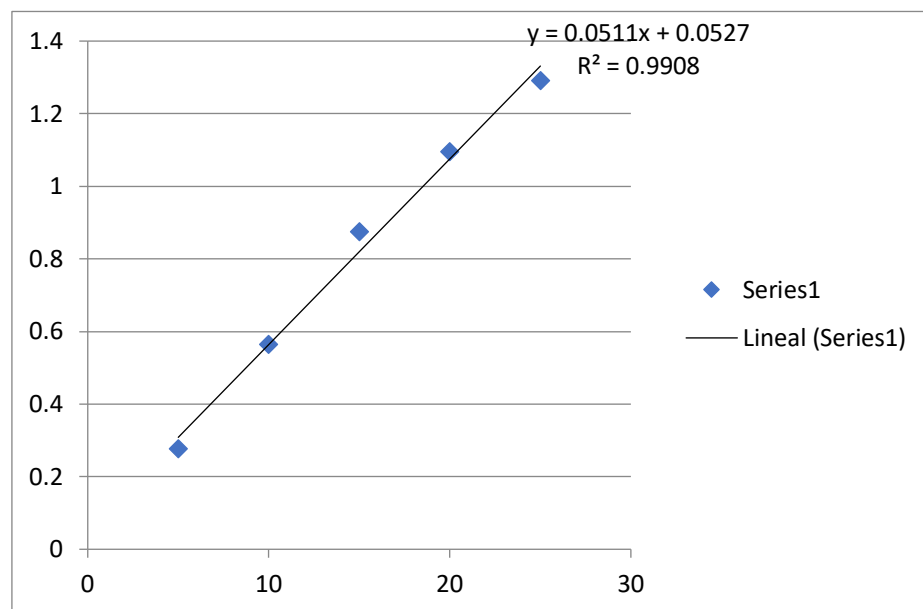
**Tabla 11. Absorbancias de las soluciones diluidas de ácido gálico frente al DPPH**

SOLUCIÓN DE ÁCIDO GÁLICO	ABSORBANCIA
5 mg/100 mL	0.277
10 mg/100 mL	0.563
15 mg/100 mL	0.875
20 mg/100 mL	1.094
25 mg/100 mL	1.290

**Fuente:** La autora del trabajo

Estos datos se utilizaron para determinar los valores de la recta y aplicar el método estadístico de los mínimos cuadrados con lo que se calcula la concentración del aceite de ruda expresada como equivalente mg de ácido gálico/100mL.

**Gráfico 2. Curva de calibración de la reacción entre soluciones patrón de ácido gálico y el radical libre DPPH**



**Fuente:** La autora del trabajo

La muestra analizada tiene una absorbancia de 0.496 unidades lo que corresponde a una concentración que contiene una actividad antioxidante a la de una solución de 8.66 mg de ácido gálico/100 mL.

**c) Actividad antioxidante expresada como  $CI_{50}$**

Los resultados de las absorbancias para determinar la  $CI_{50}$  se presentan en la tabla siguiente:

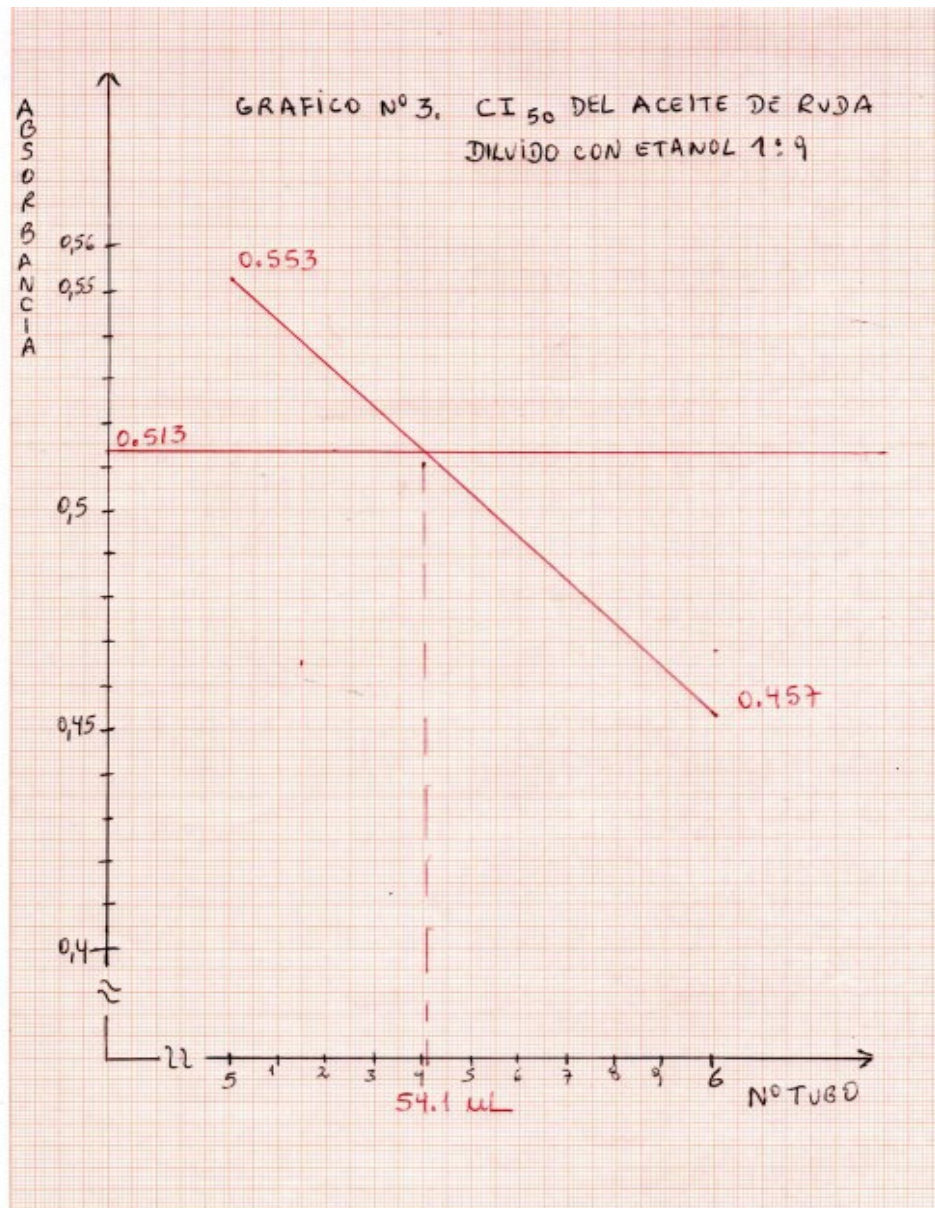
**Tabla 12. Resultados de las absorbancias de diluciones de muestra a ensayar versus DPPH para determinar la  $CI_{50}$**

<b>Muestra</b>	<b>Absorbancia</b>
Blanco	0.022
DPPH solo	1.026
Tubo N°1	0.923
Tubo N°2	0.812
Tubo N°3	0.731
Tubo N°4	0.653
Tubo N°5	0.553
Tubo N°6	0.457
Tubo N°7	0.360
Tubo N°8	0.272
Tubo N°9	0.231
Tubo N°10	0.188

**Fuente:** La autora del trabajo

Estos datos fueron analizados para calcular la  $CI_{50}$  mediante el método gráfico que se presenta en el gráfico N.º 3. Se puede apreciar que la  $CI_{50}$  está comprendida entre los tubos 5 y 6 respectivamente.

**Gráfico 3. Determinación de la  $CI_{50}$  del aceite esencial de *Ruta graveolens* L diluido con etanol 1:9 frente al DPPH**



Fuente: La autora del trabajo

Mediante el método gráfico se determina que la  $CI_{50}$  del aceite esencial de la ruda diluido con etanol en la proporción 1:9 es de 54.1 microlitros.

### 3.7.2. FRENTE AL RADICAL LIBRE ABTS•+

1° Absorbancia del radical libre ABTS•+

La absorbancia del radical libre fue de 0.706

2° Absorbancias de las reacciones de soluciones patrón de trolox versus el radical libre de absorbancia conocida.

Los resultados se presentan en el cuadro siguiente:

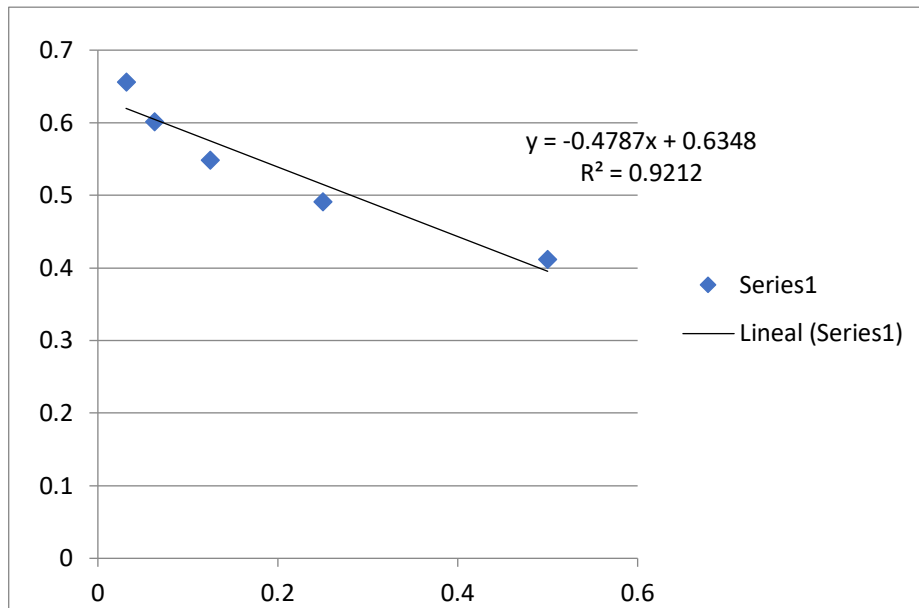
**Tabla 13. Absorbancias de las soluciones patrones de trolox frente al radical libre ABTS•+**

Solución de trolox mM	Absorbancia
0.0313	0.646
0.0625	0.581
0.125	0.514
0.250	0.456
0.500	0.394

**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 0.6348, pendiente -0.4787 y  $R^2$  de 0.9212. Estos valores fueron utilizados para hallar la actividad antioxidante de la muestra estudiada con respecto a la de las soluciones patrón del antioxidante trolox. La curva se presenta en el grafico siguiente:

**GRÁFICO N°4. CURVA DE CALIBRACIÓN DE LA REACCIÓN ENTRE DILUCIONES DE SOLUCIONES PATRÓN DE TROLOX VERSUS EL RADICAL LIBRE ABTS.**



**Fuente:** La autora del trabajo

**3° Absorbancia y % de actividad antioxidante de la muestra.**

EL promedio de las absorbancias de tres determinaciones fue de 0.434 y le corresponde a un 38.52 % de capacidad para inhibir el radical libre ABTS•+ de absorbancia 0.706. La muestra ensayada tiene una actividad antioxidante equivalente a la de una solución de Trolox 0.4193 mM.



#### IV. DISCUSIÓN

*Ruta graveolens* L (*Ruda*) es una planta que, como en el resto de nuestro país, en nuestra región es ampliamente utilizada por sus virtudes mágicas o esotéricas pues se le atribuye la propiedad de ahuyentar la mala suerte o mala vibras atribuyendo esta propiedad a su fuerte y sui géneris olor<sup>21</sup>. Los testimonios de esta propiedad son varios, pero no hay pruebas científicas que lo demuestren. Hoy sabemos que ese fuerte olor es por la presencia de aceites esenciales que son una mezcla de compuestos químicos a los que, si se les ha demostrado actividad biológica benéfica para la salud de las personas. Y como lo reporta Ruiz C<sup>4</sup> (2015) últimamente los aceites esenciales de varias especies vegetales vienen siendo estudiados por sus propiedades repelentes o atrayentes contra insectos que dañan cultivos de interés económico. Con respecto al contenido de aceites esenciales en esta especie vegetal son variados los rendimientos. Así Castro A<sup>5</sup> (2011) para plantas de la provincia de Tarma de la Región Junín, Pino O<sup>8</sup> (2014) para plantas de ruda del Municipio El Salvador (Guantánamo) la Habana reportan rendimientos de 0.3 % y Ramón J<sup>22</sup> (2022) reporta rendimiento de 0.23 %. Todos usando el método de extracción por arrastre de vapor. En mi trabajo por el mismo método utilizando una proporción de 1kg. de hojas frescas trozadas distribuidas en dos capas cilíndricas de aproximadamente 24 cm diámetro por 5- 6 cm de alto expuestas al vapor generado de 4 litros de agua por un tiempo de 80 minutos determino un rendimiento de 0.21 %. Aunque la diferencia de la presencia de metabolitos secundarios en plantas es atribuida también a factores nutricionales del suelo y climatológicos del lugar donde se desarrolla la planta. Las características físico químicas de los aceites esenciales le señalan densidad menor que la del agua e índice de refracción comprendidos entre valores de 1.400 - 1.450 para el aceite esencial de la ruda con la que trabajé la densidad resultó ser 0.918 g/ml el índice de refracción 1.4228, estos valores se encuentran dentro de estos parámetros y son parecidos a los reportados por Cusquipoma M<sup>7</sup> (2014) quien reporta para el aceite esencial de ruda un I.R de 1.4250. Con respecto a la actividad antioxidante del aceite esencial de *Ruta graveolens* L Castro<sup>5</sup> (2011) frente al radical libre DPPH reporta una actividad antioxidante expresada como CI<sub>50</sub> con valor de 16.13 mg/ml esta actividad la asemeja a la actividad antioxidante de una disolución de ácido ascórbico 2.4 microgramos/ml.

Aguirre A<sup>23</sup> (2013) para el aceite esencial de ruda reporta una actividad antioxidante de 33.41 % para inhibir la actividad de una disolución del radical libre DPPH; en mi trabajo halle que para el aceite esencial de ruda diluido con etanol en la proporción 1:9 la capacidad para inhibir la actividad de una solución de radical libre DPPH de absorbancia 1.076 es de 53.98 % y es comparable a la actividad de una disolución de ácido gálico de concentración 8.66 mg/mL y tiene una CI<sub>50</sub> de 54.1 μL. Así mismo esta dilución de aceite esencial de la ruda con la cual trabaje presenta 38.52 % de actividad para inhibir la disolución de radical libre ABTS<sup>•+</sup> de absorbancia 0.706 y esta actividad antioxidante es comparable a la actividad antioxidante que presenta una solución de trolox 0.4193 mM.

## V. CONCLUSIONES

1° A partir de hojas frescas y trozadas de *Ruta graveolens* L utilizando el método de extracción de arrastre de vapor se obtiene los aceites esenciales de esta especie vegetal con un rendimiento de 0.21 %. El proceso que permite tener el máximo rendimiento en el menor tiempo es el que utiliza 1 kg de material distribuido en dos capas de 0.5 kg cada una con 4 litros de agua y suministro de calor fuerte por 80 minutos controlados desde las primeras gotas de condensado.

2° Las características organolépticas y fisicoquímicas lo señalan como: De olor sui géneris, sabor astringente, color amarillo y aspecto uniforme: con densidad 0.918 g/mL, índice de refracción de 1.4228, soluble en todas las proporciones a los solventes hexano, etanol y metanol.

3° La actividad antioxidante del aceite esencial de ruda diluido con etanol en la proporción 1:9 tiene la capacidad de inhibir el 53.98 % la actividad del radical libre DPPH de absorbancia 1.078. Esta muestra tiene una actividad antioxidante equivalente a la actividad antioxidante de una solución 8.66 mg de ácido gálico/100 mL.

4° La actividad antioxidante del aceite esencial de ruda diluido con etanol en la proporción 1:9 tiene la capacidad de inhibir el 38.52 % la actividad del radical libre ABTS•+ de absorbancia 0.706. Esta muestra tiene una actividad antioxidante equivalente a la actividad antioxidante de una solución 0.4193 mM de trolox.

## VI. RECOMENDACIONES

1° Debe realizarse un estudio para identificar y separar los metabolitos secundarios que quedan como sub producto de la separación de los aceites esenciales de *Ruta graveolens* L

2° Debe de estudiarse los posibles efectos biológicos, tanto en plantas como en animales, de los metabolitos secundarios que quedan como sub producto de la separación de los aceites esenciales de *Ruta graveolens* L

3° A las autoridades universitarias recomiendo adquirir para los laboratorios equipos modernos como un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrofotómetro de masas con el cual la caracterización de los aceites esenciales nos permite conocer los constituyentes químicos del aceite esencial estudiado.

## VII. FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Castro D, Díaz J, Serna R y col. Cultivo y producción de plantas aromáticas. Fondo Editorial de la Universidad del Oriente Colombia. 1ª Edición 2011.
2. Escalante C. La familia Asterácea en el distrito San José de los Molinos (Ica, Perú). Revista Xilema Vol 24 N°1 2011.
3. Alarcón J. Plantas aromáticas y medicinales Enfermedades de importancia y sus usos terapéuticos, Bogotá D.C. Colombia, 2011. Disponible en : <https://www.ica.gov.co/getattachment/2c392587-f422-4ff5-a86f-d80352f0aa11/Plantas-aromaticas-y-medicinales-Enfermedades-de.aspx>
4. Ruiz C, Díaz C, Rojas R. Composición química de aceites esenciales de 10 plantas aromáticas peruanas. Rev. Soc. Quím. Perú Vol.81 N°.2 Lima abr./jun. 2015.
5. Castro A, Juárez J, Ramos N, Suarez S, Retuerdo F, Gonzales S y col. Elucidación estructural del aceite esencial de *Ruta graveolens* l. ruda, actividad antioxidante y bioensayo de citotoxicidad. *Ciencia e Investigación* 2011; 14(1): 25-28.
6. Muñoz K, Londoño J. Arango G, Sierra J, Bravo K. Efecto de la técnica de extracción de *Ruta graveolens* sobre la actividad anti tirosinasa y correlación entre la inhibición enzimática, el contenido de compuestos fenólicos y la citotoxicidad. *Vitae* vol.14 no.2 Medellín July/Dec. 2007
7. Cusquipoma María Isabel. Efecto antimicótico in vitro del aceite esencial de las hojas de *Ruta graveolens (ruda)* sobre *Candida albicans*. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico. Universidad Católica los Ángeles de Chimbote Facultad Ciencias de la Salud Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica Trujillo – Perú 2018
8. Pino O, Sánchez Y, Rojas M Abreu Y, Correa T, Martínez D y col . Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Ruta chalepensis* L. Rev. Protección Veg. vol.29 no.3 La Habana sep.-dic. 2014.
9. Rojas J, Mender T, Rojas L, Lucena M, Buitrago A, Guillen E y col. Estudio comparativo de la composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Ruta graveolens* L. recolectada en los estados Mérida y Miranda, Venezuela. *Avances en Química*, 6(3), 89-93 (2011).

10. Mena J, García J, Benavides N, Yépez M. Evaluación de la variación de los compuestos presentes en aceite esencial de *Ruta graveolens* L., sometida a condiciones de estrés hídrico. *Revista Centro de Estudios en Salud*. 2008, Año 8 Vol 1 No. 10 (pags. 120 - 130)
11. Rodríguez M, Alcaraz L, Real S. Procedimiento para la extracción de aceites esenciales de plantas aromáticas. Disponible en: [https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/540/1/rodriguez\\_m.pdf](https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/540/1/rodriguez_m.pdf)
12. 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. Tesis. Universidad de Chile Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica. Memoria para optar al título Químico Farmacéutico. 2,010
13. Aceites esenciales. Disponible en: [https://www.ecured.cu/Aceites\\_esenciales](https://www.ecured.cu/Aceites_esenciales).
14. Peredo-Luna H, Polou-García E López-malo. Aceites esenciales: Métodos de extracción. *Temas Selectos de Alimentos* 3-1 (2009) 24-32.
15. Servicio nacional de aprendizaje. (COLOMBIA-SENA). Introducción a la industria de los aceites esenciales extraídos de plantas medicinales y aromáticas. Disponible en: [https://repositorio.sena.edu.co/sitios/introduccion\\_industria\\_aceites\\_esenciales\\_plantas\\_medicinales\\_aromaticas/](https://repositorio.sena.edu.co/sitios/introduccion_industria_aceites_esenciales_plantas_medicinales_aromaticas/)
16. Fontenla Razzetto Gabriela. 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 Lima. 2,006
17. Lock O. "Investigaciones Fitoquímicas" Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú. 1992.
18. Brand-Williams W, Cuvelier M, Berset, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss. Technology/Food Science and Technology* 1995; 28: 25-30.
19. Doroteo V. Díaz T. Terry C. Rojas R. 2013. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante in vitro de 6 plantas peruanas. *Rev. Soc. Quim. Perú*. 79

- (01):15. Disponible en:<http://sqperu.org.pe/wp-content/uploads/2009/09/Revista-SQP-Vol-79-N1-2013.pdf>
20. Apumayta U. Determinación de polifenoles y actividad antioxidante del grano de la uva quebranta y los productos obtenidos de su industrialización. Tesis de post grado. Para optar el Grado Académico de Magíster en Farmacia y Bioquímica. Con mención en química farmacéutica. universidad nacional san Luis Gonzaga.Ica-2007.
21. Hernando Alonso Martín Forero. Detrás de la ruda: un acercamiento a la transformación simbólica desde la finca, la plaza de mercado y el consumidor... Accelerating the World's Research. disponible en:  
  
[https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/55034890/detras\\_de\\_la\\_ruda-with-cover-page-v2.pdf?expires=1644473183&signature=haf~1wg sdfihjflriplpwbvjr-z91dwfhzdsy7w5t80x~lxwopi7etn14e6pxduocjwq~us](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/55034890/detras_de_la_ruda-with-cover-page-v2.pdf?expires=1644473183&signature=haf~1wg sdfihjflriplpwbvjr-z91dwfhzdsy7w5t80x~lxwopi7etn14e6pxduocjwq~us).
22. Ramón J. Extracción y caracterización de aceites esenciales de ruda *Ruta graveolens L* y el marco *Ambrosia chamissoni* para su potencial uso como plaguicida. Tesis. Para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad de Guayaquil. 2,020.
23. Aguirre A, Arroliga M, Dalie M. Evaluación de la actividad antioxidante en 18 especies vegetales a través del ensayo DPPH recolectadas en el departamento de Matagalpa durante el periodo marzo-agosto 2013. Trabajo monográfico para optar al título de Licenciado en Farmacia y Química. Facultad de Ciencias químicas Escuela de Farmacia. 2,015. Disponible en:  
<http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/handle/123456789/820>

Ica, febrero del 2,022  
Bach. María José Tasayco Borjas  
Tesis

**ANEXO 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA**

**TITULO: Extracción, caracterización y actividad antioxidante del aceite esencial de Ruta graveolens L**

PROBLEMA	OBJETIVO GENERAL	HIPOTESIS PRINCIPAL	OBJETIVOS ESPECIFICOS	HIPOTESIS SECUNDARIA	VARIABLES	INDICADORES	INSTRUMENTO	FUENTE
¿Cuáles son las características físicas químicas y que actividad antioxidante tiene este aceite?	Obtener, caracterizar y determinar la actividad antioxidante del aceite esencial de <b>Ruta graveolens L</b>	El mejor método para extraer aceite esencial de <b>Ruta graveolens L</b> es el de arrastre de vapor. Obteniéndose un aceite de buenas características físicas y químicas y con actividad antioxidante.	<p>-Determinar el mejor método para extraer aceite esencial de Ruta graveolens L</p> <p>-Determinar las características físicas químicas del aceite esencial de Ruta Graveolens L.</p> <p>-Determinar el porcentaje de actividad antioxidante que tiene el aceite esencial de Ruta Graveolens L</p>	<p>-Mediante arrastre de vapor se obtiene aceites esenciales de <b>Ruta graveolens L</b> con un rendimiento de entre 0.1-0.2 %.</p> <p>-Las características organolépticas del aceite esencial de ruda son: color azul tenue, aspecto homogéneo oleoso, sabor y olor desagradables; con una composición química compleja con presencia de compuestos monoterpenicos, diterpenicos y algunos sesquiterpenos.</p> <p>-El aceite esencial de ruda tiene la capacidad para inhibir el 70 - 80 % la actividad del radical libre DPPH.</p>	<p><b>INDEPENDIENTE</b></p>	Características morfológicas	Órganos de los sentidos	Descriptivas
				<p><b>DEPENDIENTE</b></p> <p>Relación peso de material-flujo de vapor- tiempo de destilación</p> <p>Características: organolépticas Y físicas químicas del aceite esencial</p>	<p>Kg de material – litros de vapor-tiempo de hidrodestilación. Color, olor, sabor aspecto. Densidad, Índice de refrac. Solubilidad.</p> <p>Actividad antioxidante % y Cl<sub>50</sub></p>	<p>Equipos de laboratorio</p> <p>Órganos sentidos equipos de laboratorio.</p> <p>Equipos de laboratorio</p>	Experimental	



ANEXO 2:

FOTOS DEL DESARROLLO



Material a utilizar *Ruta graveolens* L

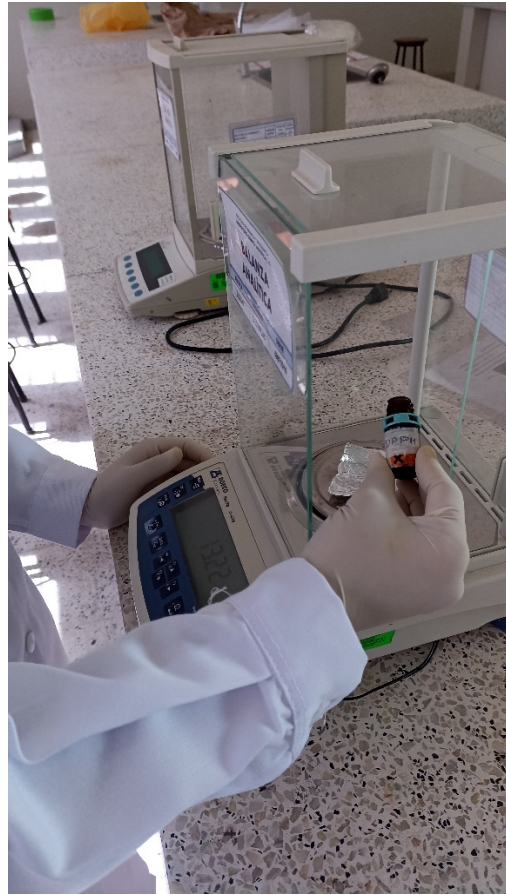
Preparación de paquetes de muestra para obtener aceites esenciales



Cortando el material a utilizar



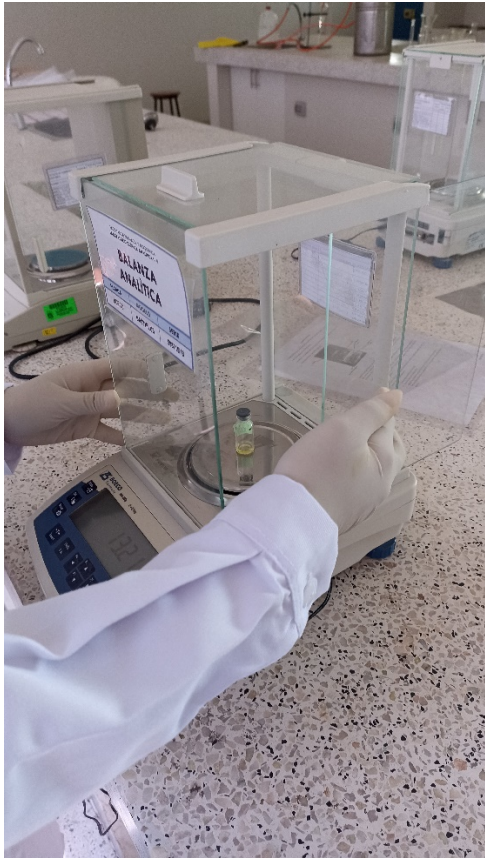
Preparando paquetes para la obtención de aceite esencial.



Determinación de la absorbancia del DPPH



Acondicionamiento de paquetes para destilar los aceites esenciales



Determinación de la densidad del aceite esencial de ruda



Determinación del índice de refracción



Determinación de la solubilidad



# CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

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

El BIgo. Que suscribe determina que, la muestra biológica presentada por el bachiller en Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga **TASAYCO BORJAS María José**, con DNI N° 71093220, para su determinación pertenece al nombre científico de *Ruta graveolens* (L.) "ruda", según Sistema de Clasificación de Arthur Cronquist (1988).

REINO: PLANTAE

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

ORDEN: SAPINDALES

FAMILIA: RUTACEAE

GÉNERO: *Ruta*

ESPECIE: *Ruta graveolens* (L.)

N.V. "ruda"

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

Ica, 24 de febrero del 2023.



  
.....  
Dr. Miranda Huaman David Maximo  
 BIÓLOGO  
CBP. 3681