

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS, FISICAS Y MATEMATICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE QUIMICA



TESIS

COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL ACEITE

ESENCIAL DE *Ageratina pentlandiana* (DC.) R.M. King & H. Rob. (*manca paqui*)

PRESENTADO POR:

Br. ERICKSON GILMER QUISPE
TONCCOCHI

**PARA OPTAR AL TÍTULO
PROFESIONAL DE QUÍMICO**

ASESOR:

Dr. LEONCIO SOLÍS QUISPE

Cusco - Perú

2026



Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

INFORME DE SIMILITUD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-321-2025-UNSAAC)

El que suscribe, el **Asesor** Dr. Leoncio Solis Quispe
..... quien aplica el software de detección de similitud al
trabajo de investigación/tesis titulada: Composicion Química y
actividad antioxidante del aceite esencial de
Ageratina pentlandiana (DC.) R.M. King & H. Rob.
(manca paqui)

Presentado por: Ericsson Gilmer Quispe Torcoachi DNI N° 47486763 ;
presentado por: DNI N°:
Para optar el título Profesional/Grado Académico de Químico

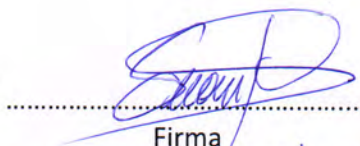
Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 02 veces, mediante el
Software de Similitud, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso del Sistema Detección de**
Similitud en la UNSAAC y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 9.....%.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No sobrepasa el porcentaje aceptado de similitud.	<input checked="" type="checkbox"/>
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las subsanaciones.	<input type="checkbox"/>
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, conforme al reglamento, quien a su vez eleva el informe al Vicerrectorado de Investigación para que tome las acciones correspondientes; Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	<input type="checkbox"/>

Por tanto, en mi condición de Asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y **adjunto**
las primeras páginas del reporte del Sistema de Detección de Similitud.

Cusco, 30 de Abril de 2026.....


.....
Firma

Post firma Leoncio Solis Quispe

Nro. de DNI 23877496

ORCID del Asesor 0000-0001-9979-8590

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema de Detección de Similitud: **oid:** 27259:584876824.....

Erickson Gilmer Quispe Tonccochoi

COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE Ageratina pentlandiana (DC.) R.M. King ...

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::27259:584876824

Fecha de entrega

30 abr 2026, 7:33 a.m. GMT-5

Fecha de descarga

30 abr 2026, 7:56 a.m. GMT-5

Nombre del archivo

TESIS ERICKSON 2026 - 1.pdf

Tamaño del archivo

2.5 MB

112 páginas

19.497 palabras

108.873 caracteres

9% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...




Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Texto mencionado
- ▶ Coincidencias menores (menos de 12 palabras)
- ▶ Trabajos entregados

Exclusiones


- ▶ N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- 9%  Fuentes de Internet
- 1%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alerta de integridad para revisión

-  **Texto oculto**
20 caracteres sospechosos en N.º de páginas
El texto es alterado para mezclarse con el fondo blanco del documento.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a mi Dios quien supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento.

A las personas más importantes en mi vida y que más amo.

Braulio y Silvia mis padres, quienes me enseñaron con su ejemplo a superar todas las barreras que la vida nos presenta, a querer ser mejor cada día, a entender que no hay nada imposible, por estar siempre a mi lado brindándome su apoyo, comprensión y sus consejos para hacer de mí una mejor persona.

A Wildebran mi hermano, el mejor regalo de mis padres, porque me brindo su apoyo, comprensión, paciencia y su compañía.

Y sin dejar atrás a toda mi familia quienes han creído en mí. A mis abuelitos, tíos, primas. Gracias por ser parte de mi vida y por permitirme ser parte de su orgullo.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por estar conmigo en cada paso que doy, por las bendiciones recibidas, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y espíritu, por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante este proceso académico.

Agradezco a mi familia por ser mi soporte y apoyarme incondicionalmente para la realización de este trabajo de investigación.

A la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, por haberme aceptado ser parte de ella y abierto las puertas de su seno científico para poder estudiar mi carrera.

Quiero agradecer de forma muy especial a mi asesor de tesis Dr. Leoncio Solís Quispe, por haberme dado la oportunidad de realizar esta tesis. Agradezco su confianza y apoyo en todo momento, su dedicación a mi formación como investigador y sus consejos, la manera en la que ha guiado mis ideas y el haberme facilitado siempre los medios para llevarlas a cabo.

Asimismo, agradecer a todos mis profesores de la Escuela Profesional de Química por ser parte de mi formación académica.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN	i
SUMMARY	ii
INTRODUCCIÓN	iii

CAPITULO I

PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN	1
1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA	1
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	1
1.2.1. PROBLEMA GENERAL.....	1
1.2.2. PROBLEMAS ESPECIFICOS.....	2
1.3. OBJETIVOS.....	2
1.3.1. OBJETIVO GENERAL	2
1.3.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS	2
1.4. JUSTIFICACION E IMPORTANCIA.....	3

CAPITULO II

MARCO TEORICO.....	4
2.1. ANTECEDENTES	4
2.2. BASES TEORICAS	8
2.2.1. GENERO AGERATINA.....	8

2.2.2. LA ESPECIE <i>Ageratina pentlandiana</i>	9
2.2.3. ACEITES ESENCIALES	11
2.2.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE ACEITES ESENCIALES.	12
2.2.5. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LOS ACEITES ESENCIALES.....	21
2.2.6. CLASIFICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES	22
2.2.7. METODOS DE EXTRACCION DE ACEITES ESENCIALES	23
2.2.8. LEY DE LAMBERT-BEER EN ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA UV- VISIBLE	27
2.2.9. ESPECTROSCOPIA UV-VISIBLE.....	29
2.2.11. ESPECTROMETRIA DE MASAS	32
2.2.12. CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO A ESPECTROMETIA DE MASAS	33
2.2.13. MÉTODO DE EXTRACCION POR HIDRODESTILACION	35
2.2.14. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	36
2.2.15. METODOS UTILIZADOS PARA DETERMINAR LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	37

CAPITULO III

METODOLOGIA Y PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	40
3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	40
3.2. HIPOTESIS DE INVESTIGACION	40
3.3. PROCEDIMIENTO METODOLÓGICO.	40

3.4. MATERIALES, INSTRUMENTOS, EQUIPOS Y REACTIVOS.....	41
3.4.1. MUESTRA	41
3.4.2. INSTRUMENTOS, EQUIPOS Y MATERIALES DE LABORATORIO	41
3.4.3. REACTIVOS Y DISOLVENTES.....	42
3.4.4. EQUIPO DE CÓMPUTO, MATERIALES DE ESCRITORIO	43
3.5. FLUJOGRAMA DE INVESTIGACION.....	44
3.6. POBLACION Y MUESTRA	45
3.7. MUESTREO.....	45
3.8. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.....	46
3.9. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD	46
3.10. OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL.....	47
3.11. CARACTERISTICAS FISICOQUÍMICAS DEL ACEITE ESENCIAL	50
3.11.1. SOLUBILIDAD.....	50
3.11.2. DENSIDAD RELATIVA Y ABSOLUTA.....	50
3.11.3. ÍNDICE DE REFRACCIÓN	52
3.11.4. ÍNDICE DE ACIDEZ	53
3.11.5. ÍNDICE DE SAPONIFICACIÓN	54
3.11.6. ESPECTRO UV DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Ageratina pentlandiana</i>	55

3.12. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Ageratina pentlandiana</i>	55
3.13. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO DPPH·	56
3.13.1. Actividad antioxidante del estándar Trolox.....	56
3.13.2. Actividad antioxidante del aceite esencial.....	58

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN	60
4.1. DE LA DETERMINACIÓN DE HUMEDAD.....	60
4.2. DEL PORCENTAJE DE EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL.....	60
4.5. DEL ESPECTRO UV DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>A. pentlandiana</i>	65
4.7. DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL.....	72
CONCLUSIONES	79
RECOMENDACIONES.....	80
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	81
ANEXOS	88

INDICE DE TABLAS

Tabla 1	Resultados de la humedad de la muestra vegetal de Ageratina pentlandiana.....	60
Tabla 2	Porcentaje de extracción del aceite esencial Ageratina pentlandiana.....	61
Tabla 3	Pruebas de solubilidad del aceite esencial de Ageratina pentlandiana	62
Tabla 4	Características físicoquímicas del aceite esencial de A. pentlandiana	63
Tabla 5	Componentes del aceite esencial de Ageratina pentlandiana.	67
Tabla 6	Absorbancias del estándar Trolox a diferente concentración frente al radical DPPH·...	72
Tabla 7	porcentaje de inhibición (actividad antioxidante) del estándar Trolox frente al radical DPPH·	73
Tabla 8	Absorbancias del aceite esencial a diferente concentración frente al radical DPPH·.....	75
Tabla 9	porcentaje de inhibición (actividad antioxidante) del aceite esencial frente al radical DPPH·	76

INDICE DE FIGURAS

Figura 1	Hojas de <i>Ageratina pentlandiana</i>	10
Figura 2	Algunos monoterpenos frecuentes de los aceites esenciales.....	14
Figura 3	Sesquiterpenos frecuentes de los aceites esenciales.....	15
Figura 4	Fenilpropanos frecuentes en aceites esenciales.....	17
Figura 5	Estructuras químicas representativas de las distintas clases de polifenoles.....	18
Figura 6	Esquema de la ruta biosintética de los polifenoles en las plantas.....	21
Figura 7	Haz de radiación antes y después de atravesar una disolución absorbente.....	28
Figura 8	Estructura general de un espectrofotómetro UV-Vis.....	30
Figura 9	Esquema de un cromatógrafo de gases.....	32
Figura 10	Diagrama de bloques de un espectrómetro de masas.....	33
Figura 11	Mecanismos de reacción en el método CUPRAC.....	37
Figura 12	Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante.....	39
Figura 13	Ubicación de la zona de recolección de la especie vegetal.....	45
Figura 14	Extracción por hidrodestilación con trampa de Clevenger.....	49
Figura 15	Perfil espectroscópico UV de <i>Ageratina pentlandiana</i>	65
Figura 16	Cromatograma del aceite esencial de <i>Ageratina pentlandiana</i>	66
Figura 17	Estructuras químicas de los componentes mayoritarios.....	70
Figura 18	Grafica de absorbancia vs concentración de Trolox.....	73
Figura 19	Curva de calibración de Trolox para el ensayo con radical DPPH.....	74
Figura 20	<i>Curva de calibración del aceite esencial para el ensayo con radical DPPH</i>	77
Figura 21	Flor de <i>Ageratina pentlandiana</i> (ANEXO).....	88

Figura 22	Obtención del aceite esencial de <i>Ageratina pentlandiana</i> (ANEXO).....	88
Figura 23	Refractómetro ABBE utilizado para el índice de refracción (ANEXO)	89
Figura 24	Índice de refracción (ANEXO)	89
Figura 25	Densidad del aceite esencial (ANEXO).....	90
Figura 26	Equipo utilizado para la actividad antioxidante por el método DPPH (ANEXO)	90
Figura 27	Disolventes utilizados para la solubilidad (ANEXO)	91
Figura 28	Preparación de soluciones para el método DPPH (ANEXO).....	91
Figura 29	Reflujo del aceite esencial para el índice de saponificación (ANEXO).....	92
Figura 30	Titulación para el índice de saponificación (ANEXO)	92
Figura 31	Titulación de blanco para determinar el índice de saponificación (ANEXO)	93
Figura 32	Titulación para determinar el índice de acides (ANEXO)	93
Figura 33	Muestras de aceites esenciales estudiadas (ANEXO)	94
Figura 34	Cromatógrafo de Gases – Espectrómetro de Masas (GC-MS). (Termo SCIENTIFIC, Trace 1310, ISQ QD) (ANEXO)	94

INDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Transmitancia	28
Ecuación 2. Absorbancia	28
Ecuación 3. Ley de Lambert y Beer	29
Ecuación 4. TEAC capacidad antioxidante equivalente al Trolox	39
Ecuación 5. Porcentaje de humedad	46
Ecuación 6. Porcentaje de extracción	47
Ecuación 7. Densidad absoluta	51
Ecuación 8. Densidad relativa	51
Ecuación 9. Índice de acidez	53
Ecuación 10. Índice de saponificación	54
Ecuación 11. Porcentaje de componentes del aceite esencial	55
Ecuación 12. Porcentaje de inhibición	57
Ecuación 13. Correlación de la curva de Trolox	57
Ecuación 14. Correlación de la curva del aceite esencial	59

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue, determinar la composición química, las características fisicoquímicas y la actividad antioxidante del aceite esencial de la especie *Ageratina pentlandiana* (DC) R.M.King & H.Rob, procedente de los alrededores de la comunidad de Pampaconga – Limatambo – Anta – Cusco. La extracción del aceite esencial, se realizó por el método de hidrodestilación con trampa de Clevenger; la composición química se determinó por cromatografía de gases – espectrometría de masas (GC-MS) y la determinación de la actividad antioxidante del aceite esencial se realizó aplicando el método DPPH en comparación con el antioxidante estándar trolox. El porcentaje de extracción fue 0.34 %; Sus características fisicoquímicas fueron: densidad de 0.9735 g/cm³, índice de refracción de 1.4985, índice de acidez de 7.96 mg/g e índice de saponificación de 79.3836 mg/g; Respecto a su composición química, los componentes mayoritarios fueron: 2,5-Dimetoxi-p-cimeno (17.18 %), timol metil eter (8.13 %), germacreno D (7.5 %), bornil acetato (7.04 %), 2-Alil-1,4-dimetoxi-3-metil-benzo (6.71 %) y d-3-careno (4.00 %). El aceite esencial mostro una actividad antioxidante frente al radical DPPH·, con concentración inhibitoria media (IC50) de 23.1098 mg/mL y expresada como capacidad antioxidante equivalente al trolox (TEAC) es de 26.37 μmol trolox/g de aceite esencial.

Palabras clave: Aceite esencial, *Ageratina pentlandiana*, Actividad antioxidante, Cromatografía de gases, Espectrometría de masas.

SUMMARY

The objective of this research was to determine the chemical composition, physicochemical characteristics and antioxidant activity of the essential oil of the species *Ageratina pentlandiana* (DC) R.M.King & H.Rob, from the surroundings of the community of Pampacongá - Limatambo - Anta - Cusco. The extraction of the essential oil was carried out by the hydrodistillation method with a Clevenger trap; the chemical composition was determined by gas chromatography - mass spectrometry (GC-MS) and the determination of the antioxidant activity of the essential oil was carried out applying the DPPH method in comparison with the standard antioxidant trolox. The extraction percentage of the essential oil of the species *A. Pentlandiana* was 0.34 %; its physicochemical characteristics were: density of 0.9735 g / cm³, refractive index of 1.4985, acidity index of 7.96 mg / g and saponification index of 79.3836 mg / g; In its chemical composition, as major components it shows, a: 2,5-Dimethoxy-p-cymene (17.18%), thymol methyl ether (8.13%), germacrene D (7.5%), bornyl acetate (7.04%) and 2-Allyl-1,4-dimethoxy-3-methyl-benzene (6.71%) and d-3-carene (4.00 %). The essential oil showed antioxidant activity against the DPPH radical, with an average inhibitory concentration (IC₅₀) of 23.1098 mg/mL and expressed as trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) is 26.37 μmol trolox/g of essential oil.

Keywords: Essential oil, *Ageratina pentlandiana*, Antioxidant activity, Gas chromatography, Mass spectrometry.

INTRODUCCIÓN

Los aceites esenciales son sustancias muy apreciados y de gran valor comercial, ello debido a sus propiedades y aplicaciones que poseen. Los aceites esenciales han sido utilizados desde la antigüedad en diversas culturas para sus diferentes aplicaciones, como: en medicina tradicional, aromatizante de alimentos, plaguicidas en los cultivos. También, los aceites esenciales en nuestra época son muy utilizados en la industria de alimentos, farmacéutica, cosmética, plaguicidas y medicamentos. Por lo que es de sumo interés su estudio, y sobre todo el conocimiento de sus múltiples aplicaciones. Los aceites esenciales son mezclas de sustancias aromáticas que se encuentran en numerosas plantas; estos pueden ser extraídos de diferentes partes de las plantas como flores, hojas, tallos y raíces. Para la extracción de aceites esenciales existen varias técnicas de extracción, entre ellos destacan la extracción por arrastre con vapor, extracción por maceración y la extracción con disolvente. En la composición química de un aceite esencial, pueden estar presentes un amplio número de compuestos químicos diferentes, superando en muchos casos a más de 100. Dentro de las diversas aplicaciones de los metabolitos secundarios, están los aceites esenciales por las diferentes propiedades que se les atribuye, como la acción antioxidante, antiviral, antimicótica, repelente, antitumoral y antibacteriana. (Cañigual & Vila, 2007) (Solís et al.,2018) (Villamizar & Aular, 2022)

En el presente trabajo de investigación se evaluó la composición química, las características fisicoquímicas y la actividad antioxidante del aceite esencial de las hojas de la especie *Ageratina pentlandiana* (DC) R.M.King & H.Rob. (*manca paqui*), especie aromática que se desarrolla en los valles interandinos.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

La *Ageratina pentlandiana*, es una especie vegetal que se desarrolla en los valles interandinos de la cordillera de los Andes; es un pequeño arbusto con muy pocos estudios, cuyas hojas se utilizan en medicina tradicional por los pobladores andinos, lo consumen en infusión para el tratamiento de enfermedades, como: neumonía y bronquitis, también es utilizado como emplasto para el tratamiento de fracturas de huesos en la comunidad de Pampaconga.

La revisión de la bibliografía especializada sobre aceites esenciales, no reporta estudios sobre la composición química ni de la actividad antioxidante del aceite esencial de *Ageratina pentlandiana* (DC) R.M.King & H.Rob. (*manca paqui*) procedente de los alrededores de la comunidad de Pampaconga – Limatambo – Anta – Cusco. Donde se ha observado el uso tradicional de esta planta para el tratamiento de torceduras y fracturas. Razón por la cual se plantea el desarrollo del presente trabajo de investigación de la composición química y la actividad antioxidante del aceite esencial de *Ageratina pentlandiana* (DC) R.M.King & H.Rob. (*manca paqui*).

1.1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.1.1. PROBLEMA GENERAL

¿Cuál es la composición química y la actividad antioxidante del aceite esencial de la especie *Ageratina pentlandiana* (DC) R.M.King & H.Rob. (*manca paqui*) procedente de los alrededores de la comunidad de Pampaconga – Limatambo – Anta - Cusco?

1.1.2. PROBLEMAS ESPECIFICOS

- ¿Cuál es el porcentaje de extracción de aceite esencial por el método de hidrodestilación con trampa de Clevenger?
- ¿Cuáles son las características fisicoquímicas del aceite esencial por métodos y técnicas estandarizadas de laboratorio?
- ¿Qué composición química tendrá el aceite esencial empleando cromatografía de gases – espectrometría de masas (GC/MS)?
- ¿Cuál será la actividad antioxidante del aceite esencial aplicando el método DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)?

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la composición química y la actividad antioxidante del aceite esencial de la especie *Ageratina pentlandiana* (DC) R.M.King & H.Rob. (*manca paqui*) procedente de los alrededores de la comunidad de Pampaconga – Limatambo – Anta - Cusco, por métodos y técnicas experimentales a nivel de laboratorio.

1.2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Obtener el porcentaje de extracción de aceite esencial por el método de hidrodestilación con trampa de Clevenger.
- Determinar las características fisicoquímicas del aceite esencial por métodos y técnicas de laboratorio.
- Determinar la composición química del aceite esencial por cromatografía de gases – espectrometría de masas.

- Evaluar la actividad antioxidante del aceite esencial aplicando el método DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo).

1.3. JUSTIFICACION E IMPORTANCIA

La investigación sobre los aceites esenciales de *Ageratina pentlandiana*, permitirá revalorar a esta especie nativa interandina, puesto que presenta muy pocos estudios. Se encuentra en relativa abundancia en los valles interandinos peruanos, es un arbusto con abundante follaje, contiene aceite esencial y es muy poco utilizada por la sociedad; por las atribuciones que presenta sería conveniente desarrollar investigaciones sobre esta especie, buscando aplicaciones de su aceite esencial, de sus otros metabolitos secundarios y de su celulosa como materia prima para alimento animal.

El conocimiento de la composición química y de la actividad antioxidante del aceite esencial de *Ageratina pentlandiana*, constituyen aportes al conocimiento de los aceites esenciales de las especies de zonas andinas; que podrían permitir el uso de este aceite esencial como antioxidante o para otras aplicaciones. Los resultados de la investigación serán un aporte al conocimiento científico de esta especie y servirá como referencia para futuras investigaciones.

Para el desarrollo de la investigación planteada sobre la evaluación de la composición química y la actividad antioxidante del aceite esencial de la especie *Ageratina pentlandiana*, la Escuela Profesional de Química de la UNSAAC cuenta con el equipo GC-MS, así como materiales y reactivos de laboratorio, los que hacen viable el desarrollo de la investigación.

CAPITULO II

MARCO TEORICO

2.1. ANTECEDENTES

Aggarwal et al. (2023) evaluaron el efecto de la mezcla de cloruro de colina y ácido láctico (CC:LA) como medio de preextracción antes de la hidrodestilación, en la obtención de aceite esencial de la parte floral de *Ageratina adenophora*, por hidrodestilación. Además, examinaron la actividad antiacetil colinesterasa del aceite esencial. El estudio reveló que la incorporación de la mezcla de cloruro de colina y ácido láctico como disolventes eutécticos profundos naturales (NADES) no solo mejoró el rendimiento de extracción de aceite esencial, sino que también afectó la composición porcentual de metabolitos volátiles. Las muestras tratadas con NADES contenían cristales en aceites esenciales, lo que condujo además al aislamiento de un nuevo sesquiterpeno 5,11-epoxicadin-3,4-en-8-ona.

Simran et al. (2022) revisaron información sobre la composición química de la *Ageratina adenophora* (Spreng). Una planta medicinal que contiene una amplia gama de moléculas bioactivas, que se considera que tienen una enorme fuente potencial para desarrollar nuevos agentes terapéuticos. Los estudios farmacológicos de *Ageratina adenophorum* demostraron que posee una amplia gama de propiedades farmacológicas, incluyendo propiedades antimicrobianas, antioxidantes, antiinflamatorias, analgésicas, insecticidas, larvicidas y citotóxicas, así como acaricidas, según estudios in vivo e in vitro. Señalaron que algunos metabolitos secundarios fueron aislados e identificados como fitoquímicos puros de *Ageratina adenophorum*, indicaron que fueron reportados 96 metabolitos secundarios diferentes; que consiste en varios metabolitos

secundarios como fenólicos, monoterpenos , sesquiterpenos , triterpenos , flavonoides , cumarinas , esteroides y fenilpropanoles.

Ustariz et al. (2021) reportaron que *Ageratina neriifolia* (B.L. Rob.) R.M. King and H. Rob. (*Asteraceae*) crece en varios estados de Venezuela en latitudes que van desde los 1,000 hasta los 3,500 m s. n. m. Las hojas frescas lo licuaron y sometieron a destilación por arrastre con vapor (3 h), empleando trampa de Clevenger. El aceite se conservó a - 4 °C hasta su uso para ensayos biológicos; el rendimiento del aceite obtenido por hidrodestilación fue de un 0,20 %. Los componentes del aceite esencial fueron analizados por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, se identificaron veintidós compuestos y los componentes mayoritarios fueron: germacreno-D (45,80 %), α -humuleno (5,99 %), mirceno (5,27 %), limoneno (5,13 %), biciclogermacreno (4,08 %), α -pineno (3,71 %), δ -cadineno (3,27 %).

Valarezo et al. (2021) estudiaron los aceites esenciales de *Ageratina dendroides* (Spreng.) RM King & H. Rob. y *Gynoxys verrucosa* Wedd. recolectados en Ecuador. La extracción del aceite esencial se realizó por hidrodestilación y la composición química se determinó por cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS) y cromatografía de gases-detector de ionización de llama (GC-FID). En las dos especies se identificaron como componentes principales: germacreno D ($29,92 \pm 0,68$ %), δ -cadineno ($9,31 \pm 0,11$ %) y *cis*-cadin-1,4-dieno ($5,48 \pm 0,04$ %) en el aceite esencial de *Ageratina dendroides*, y α -zingibereno ($45,57 \pm 1,66$ %), α -amorfeno ($11,12 \pm 0,24$ %), *p*-cimeno ($15,23 \pm 0,10$ %) y α -felandreno ($11,72 \pm 0,15$ %) en el aceite de *Gynoxys verrucosa*.

Luo et al. (2018) aislaron un nuevo monoterpeno y sesquiterpeno de *Ageratina adenophora* (Spreng.) King & Robinson. El extracto de EtOH de las raíces de *Ageratina. adenophora* se repartió con EtOAc y etanol al 10 % en H₂O, y la subfracción (Fr.1) obtenida del extracto de EtOAc fraccionado por cromatografía en columna de gel de sílice se sometió además a cromatografía en columna sobre gel de

sílice, ODS y Sephadex LH-20 para separar los compuestos. Sus estructuras se determinaron mediante métodos espectroscópicos, incluidas técnicas de resonancia magnética nuclear (RMN) y espectrometría de masas (EM). Fueron identificados un nuevo monoterpeno tipo timol, 2 α -metoxil-3 β -metil-6-(acetil- O - metil)-2,3-dihidrobenzofurano, y un nuevo sesquiterpenoide tipo cadinano, 1,6-dihidroxi-1-isopropil-4,7-dimetil-3,4-dihidronaftalen-2(1 H)-ona.

Rodríguez et al. (2018) evaluaron la actividad antioxidante de los extractos y fracciones polares y apolares de las hojas e inflorescencias de *Ageratina gracilis* por el método DPPH. Los resultados mostraron que la fracción etanólica de hojas presentó la mayor actividad antioxidante comparada con los demás extractos y fracciones. Se estableció la actividad de los extractos y fracciones para estabilizar el radical DPPH comparando con el estándar de quercetina. Todos los porcentajes de inhibición de cada uno de los extractos y fracciones fueron sometidos a regresión lineal para determinar la concentración que inhibe la acción del radical DPPH en un 50 % (IC50). La fracción polar etanólica de hojas de *Ageratina gracilis* mostró la mayor actividad antioxidante con 23.155 % de captación de radicales libres en comparación con los demás extractos y fracciones. El extracto polar y las fracciones polares de hojas de *Ageratina gracilis* presentaron una mayor actividad antioxidante que el extracto apolar y sus fracciones.

Ramírez et al. (2016) evaluaron la composición química de los aceites esenciales de *Ageratina jocotepecana* y su actividad repelente de termitas, especie *Incisitermes marginipennis*. El efecto repelente fue determinado por el comportamiento de las termitas de la madera seca de pino, al sentir el contacto en la pared del túnel en la colonia de madera la presencia de los aceites esenciales. El análisis por cromatografía de gases de los aceites esenciales de flores, hojas y tallo de *Ageratina jocotepecana*, mostró diferencias cualitativas y cuantitativas en componentes. 28 componentes volátiles fueron identificados por sus espectros de masas (MS). Los componentes

mayoritarios fueron: β -cariofileno, carvacrol, spathulenol y terpinen-4-ol., de los cuales el carvacrol fue el mejor repelente de la termita en comparación con el citronelol el control positivo.

Torres et al. (2013) determinaron la composición química de los aceites esenciales de las hojas de *Ageratina jahnii* (B.L.Rob.) R. M. King & H. Rob. y *Ageratina pichinchensis* (Kunth) R. M. King & H. Rob (Asteraceae), colectadas en San José de Acequia, Mérida, Venezuela. La composición química de los aceites esenciales fue analizada por CG/EM. Los aceites extraídos por hidrodestilación dieron un rendimiento del 0,50 % en la especie *Ageratina jahnii* y 0,43 % en la especie *Ageratina pichinchensis*, respectivamente. En los aceites esenciales fueron identificados 15 y 25 compuestos respectivamente, por comparación de sus espectros de masas con los de la base de datos de la librería Wiley y por sus índices de retención (IR). Los componentes mayoritarios en *Ageratina jahnii* fueron: β -mirceno (37.6 %), α -pineno (17.1 %), limoneno (8.8 %), pentacosano (9.2 %). Mientras que para *Ageratina pichinchensis* fueron: isobutirato de 8,9-epoxitimilo (20.2 %), germacreno-D (19.8 %), isobutirato de timilo (10.8 %), eupatoriocromeno (6.5 %), enecalol (5.9 %).

Palá-Paúl et al. (2002) Determinaron la composición química del aceite esencial de las partes aéreas de *Ageratina adenophora* Spreng. cultivada en Canarias mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas GC-MS. El material vegetal se destiló por arrastre de vapor en un aparato tipo Clevenger durante 8 h, según el método recomendado por la Farmacopea Española. En el aceite esencial se identificaron un total de 78 compuestos volátiles, siendo el p -cimeno (11,6%) el componente mayoritario en el aceite esencial. La fracción de sesquiterpenos (44,3%) fue superior a la de monoterpenos (32,1%). Otros componentes representativos del aceite esencial identificados fueron epi- α -cadinol (7,4%), α -felandreno (5,7%), δ -2-careno (5,5%), γ -curcumeno (5,0%), canfeno (4,8%).

La especie *Ageratina pentlandiana* (*manca paqui*) fue descubierta por DC. R.M. King y H.Rob. Pero no se encontraron antecedentes de un estudio científico de la composición química ni de la actividad antioxidante. (King & Robinson, 1970)

2.2.BASES TEORICAS

2.2.1. GENERO AGERATINA

2.2.1.1. DESCRIPCIÓN DEL GÉNERO AGERATINA.

El género *Ageratina*, segregado de *Eupatorium*, está integrado por hierbas perennes, usualmente erectas, posee hojas opuestas (raramente subopuestas o alternas), elípticas, aserradas o crenadas, trinervadas, pinnadas y con peciolo cortos. Las inflorescencias son ligeramente corimbosas con brácteas aproximadamente en un número de 30; corola blanca o lila, con vilanos reducidos y presencia de glándulas únicamente sobre la corola y el aquenio. Las especies del género reciben el nombre de chilco, carrasposa, pulisa, jarilla, salvio amargo, almadruz, etc. Este género está concentrado en México, Centroamérica y andes de Suramérica con una poca extensión en el oriente de los Estados Unidos. El género *Ageratina* ha sido estudiado químicamente por Ferdinand Bohlmann en colaboración con Robert King y Harol Robinson, aunque solo un 20 % de las especies tienen reportes de sustancias algunas de las cuales han mostrado gran interés farmacológico. La química del género es bastante diversa: poliacetilenos, derivados del timol, cromenos, triterpenos, benzofuranos, sesquiterpenos, sesquiterpenlactonas, diterpenos y flavonoides. Los alcaloides del tipo pirrolizidinico son escasos en el género y solo han sido reportados en *Ageratina altissima* (King & Robinson, 1970).

2.2.1.2. USOS TRADICIONALES DEL GÉNERO *Ageratina*.

Varias especies del género *Ageratina* son utilizadas por sus propiedades medicinales, por ello han suscitado interés científico, se han utilizado en medicina tradicional como emolientes, galactagogos, en el tratamiento de heridas y cortaduras leves, como antiinfecciosos y coagulantes; recientemente se han comprobado propiedades citotóxicas y antileucémicas de algunas sesquiterpenlactonas. La *Ageratina angustifolia* es usado para el tratamiento de la erisipela y en el lavado de ojos en las oftalmias. La corteza fresca de *Ageratina adenophora* es aplicada in situ para tratar el dolor de las heridas abiertas. La infusión de las hojas de *Ageratina sternerbergina* se administra por vía oral para tratar cólicos y trastornos digestivos. Se considera todas las especies *Ageratina* con acción tóxica y febrífuga, algunas son aromáticas y diaforéticas; las raíces antisifilíticas y carminativas, y ayuda a eliminar los cólicos y la hinchazón. (Pedrozo, 2001).

2.2.2. LA ESPECIE *Ageratina pentlandiana*

2.2.2.1. DESCRIPCION BOTANICA.

La *Ageratina pentlandiana* (DC) R.M.King & H.Rob, es un arbusto de 40 cm hasta 1 m de altura. Las cabezas de las flores miden aproximadamente 2 cm de diámetro y las flores son de color rosa a violeta pálido sin lígulas con involucre verde, hojas opuestas y es nativo del sur de Perú y norte de Bolivia (2500 – 5200 m.s.n.m.). (Christian, 2008). (Radon, 2011)

La especie fue identificada en el Herbario Vargas Cuz, por el Magister Abel Monteagudo Mendoza, en la Facultad de Ciencias Biologicas de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, en el año 2023. (Herbario Vargas Cuz, 2023)

Figura 1

Hojas de Ageratina pentlandiana.



Nota: Esta imagen fue tomada en su hábitat natural.

2.2.2.2. CLASIFICACIÓN SISTEMÁTICA DE *Ageratina pentlandiana*

La clasificación sistemática de la especie *Ageratina pentlandiana*, descrita y reportada por Aredo et al. (2017), es la siguiente:

División: Angiospermae

Clase: Dicotyledoneae

Subclase: Metaclamydeae

Orden: Campanulales

Familia: Asteraceae

Género: *Ageratina*

Especie: *Ageratina pentlandiana*

Nombre Científico: *Ageratina pentlandiana*

(B.L. Rob.) R.M. King and H. Rob.

Nombre Común: *manca paqui*

Sinonimias

Eupatorium incasicum Wedd, *Eupatorium pentlandianum* DC.

2.2.3. ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales (AE) son las fracciones líquidas volátiles que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas. Son mezclas complejas de hasta más de 100 componentes, tales como compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos), monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanos. Se encuentran ampliamente distribuidos en unas 60 familias, en diferentes partes de la planta (hojas, raíces, pericarpio del fruto, semillas, tallo, flores y en los frutos). (Villamizar & Aular, 2022)

Los aceites esenciales son una mezcla compleja de sustancias aromáticas responsables de las fragancias de las flores. Poseen numerosas acciones farmacológicas, por lo que constituyen la base de la aromaterapia, pero además son ampliamente utilizados en perfumería y cosmética, en la industria farmacéutica y en la industria de la alimentación, licorería y confitería (Montes, 2012). Son mezclas de sustancias obtenidas de plantas, que presentan como características principales su composición química y su carácter fuertemente aromático (refiriéndonos al término aroma y no al

concepto químico de aromaticidad). De los millones de plantas existentes en nuestro planeta, se conocen alrededor de 4000 plantas con aceites esenciales distintos, no todas las plantas contienen aceites esenciales y las que poseen, presentan una concentración tan baja que hace imposible su obtención práctica. Las plantas aromáticas son las que concentran una mayor cantidad de esencias y por lo tanto constituyen la materia prima para su obtención, bien sea utilizado toda la planta, solo su hoja, flores, frutos o raíces dependiendo de la planta concreta de que se trate (Sanchez, 2006).

2.2.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE ACEITES ESENCIALES.

Un aceite esencial está compuesto por centenares de sustancias distintas. Generalmente, aunque hay excepciones, los componentes mayoritarios son hidrocarburos terpenicos (sin aroma o con poca distribución de aroma global) y los minoritarios (pero no por ello menos importantes), son los responsables del aroma característico del aceite esencial y quedan englobados en distintas familias químicas (Montes, 2012).

Hidrocarburos terpénicos: terpenos y terpenoides

Aldehídos: aldehído benzoico, aldehído cinámico, butanal, propanal.

Ácidos: acético, palmítico.

Alcoholes: linanol, geraniol, mentol.

Fenoles: anetol, eugenol.

Esteres: acetato de linalilo, acetato de geranilo.

Cetonas: tuyona

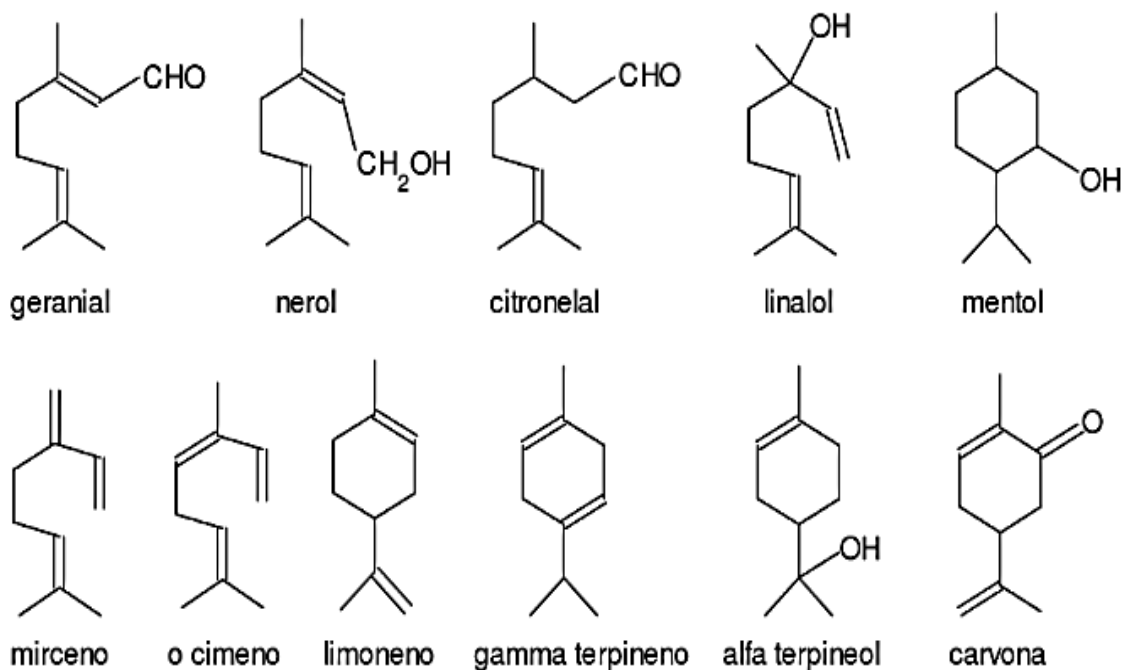
Otros esterres, derivados nitrogenados, sulfuros, tioeteres, tioesteres.

Los aceites esenciales químicamente están formados en su mayoría por los monoterpenos, sesquiterpenos, y compuestos aromaticos. (Lock, 1994)

2.2.4.1. Monoterpenos

Los monoterpenos en su estructura química tienen 10 átomos de carbono y equivalen a 2 moléculas de isopreno. Dichas estructuras químicas son frecuentemente componentes de los aceites esenciales, algunas de ellas se muestran en la Figura 2. El monoterpeneo básico, con 10 átomos de carbono y 16 átomos de hidrógeno ($C_{10}H_{16}$), pueden orientarse y combinarse de muchas maneras distintas, lo que resulta en una gran diversidad de compuestos. El grupo de monoterpenos comprende de los acíclicos y los mono, bi y tricíclicos donde pueden ser solamente hidrocarburos o hidrocarburos oxigenados, como el linalol, mentol, alcanfor y geraniol. (Rodríguez, 2001)

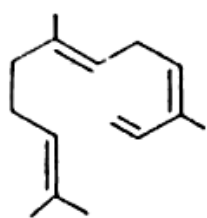
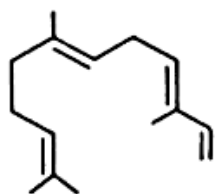
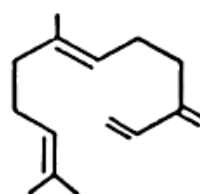
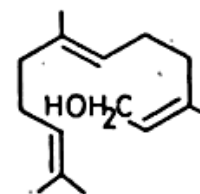
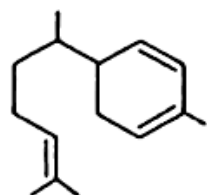
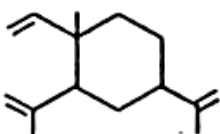
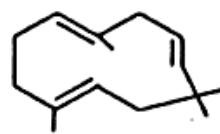
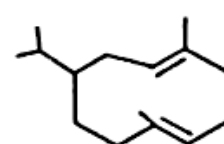
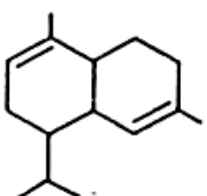
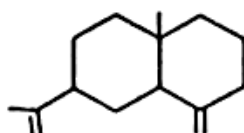
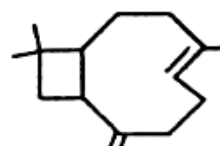
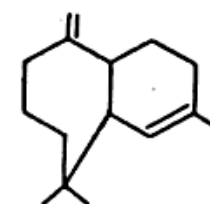
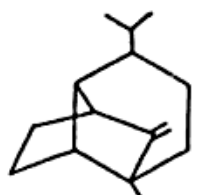
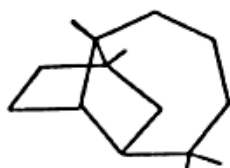
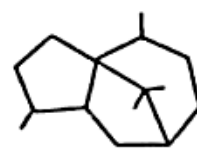
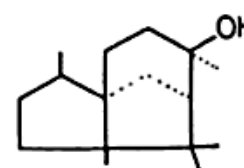
Los monoterpenos ($C_{10}H_{16}$) junto al isopreno son los compuestos orgánicos volátiles que dominan las emisiones a escala global y son miembros importantes de la familia de los isoprenoides (o terpenoides). Estos compuestos normalmente se pueden almacenar en órganos especializados de las hojas y tallos, lo que contribuye a que parte del carbono que se ha producido en los tejidos vegetales mediante diversos procesos fisiológicos retorne hacia la atmósfera. Esta emisión es producida principalmente por la difusión, debido a un gradiente de presión de vapor desde los compartimentos celulares con concentraciones relativamente altas hacia el aire circundante a las hojas. (Bolaños et al., 2015)

Figura 2*Algunos monoterpenos frecuentes de los aceites esenciales*

Fuente: Sánchez (2006)

2.2.4.2. Sesquiterpenos

Los sesquiterpenos son terpenos conformados por la unión de 3 unidades isoprenicas, gran numero son constituyentes habituales de los aceites esenciales y también presentan más de 200 estructuras cíclicas diferente, muchos de los sesquiterpenos tienen funciones de defensa en plantas. Los sesquiterpenos en general son menos volátiles que los monoterpenos (Rodríguez, 2001). Su estructura química está compuesta por 15 átomos de carbono equivalentes a 3 moléculas de isopreno. La Figura 3, muestra algunos sesquiterpenos usuales en los aceites esenciales (Lock, 1994).

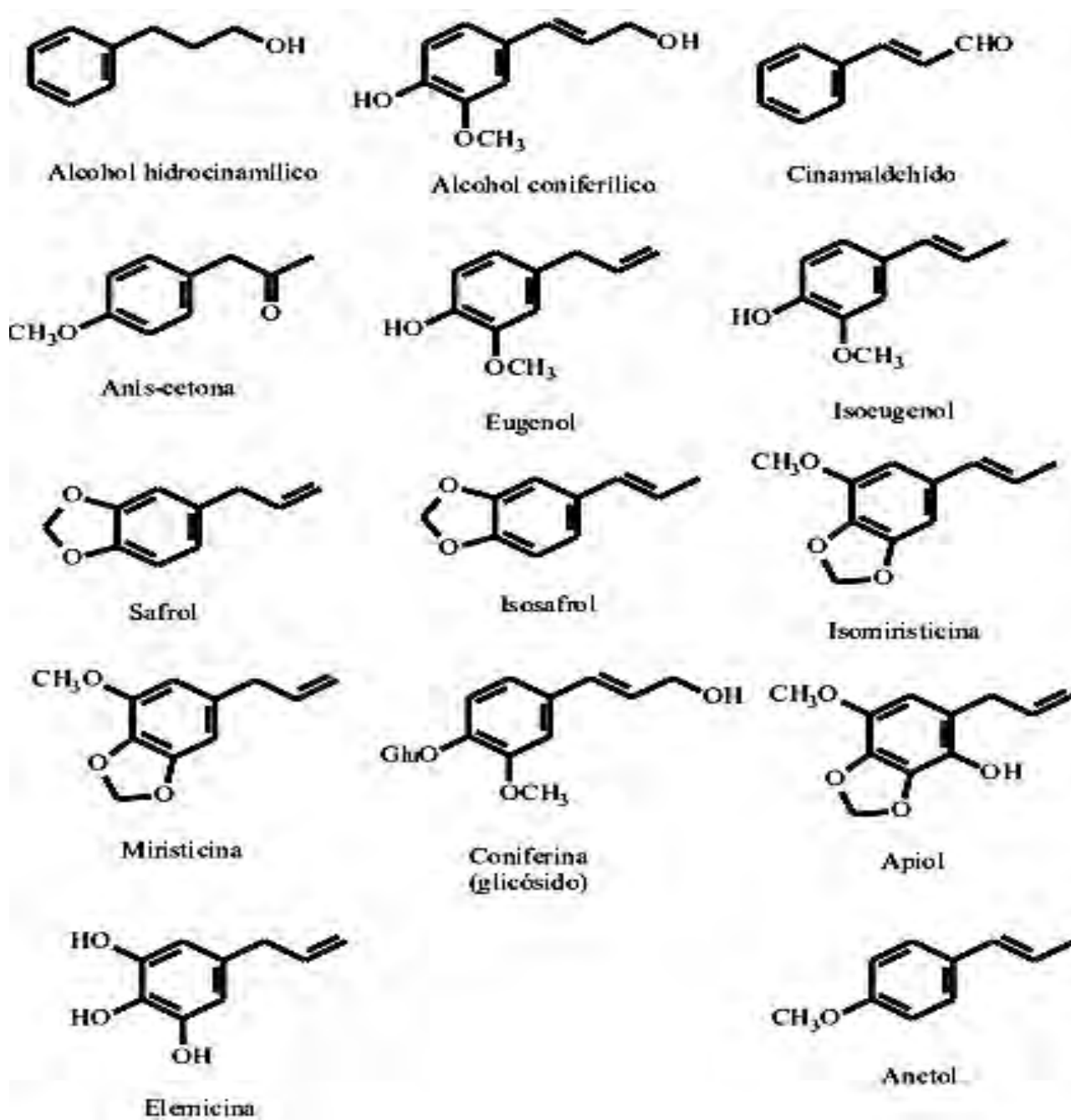
Figura 3*Sesquiterpenos frecuentes de los aceites esenciales***cis- α -farnesano****trans- α -farnesano** **β -farnesano****farnesol****zingibireno****elemano****humuleno****germacrano****cadineno** **β -selineno****cariofileno** **α -himachale****sativeno****longicanfano****ciperano****cedrol**

Fuente: (Lock, 1994)

2.2.4.3. Fenilpropanos

Los fenilpropanos son compuestos orgánicos sustancias naturales ampliamente distribuidas en los vegetales caracterizadas por un anillo aromático unido a una cadena de 3 carbonos y derivados biosintéticamente del ácido Shikímico. La Figura 4, muestra varios ejemplos de fenilpropanoides ampliamente distribuidos. Nótese como la cadena lateral puede presentar varios estados de oxidación (grupos metilo, hidroximetileno, aldehído y carboxilo) e insaturación. El anillo aromático generalmente está sustituido en los carbonos 3, 4 y 5, siendo estos sustituyentes grupos hidroxilo, metoxilo o metiléndioxi, principalmente. (Martínez A. , 2023)

Figura 4

Fenilpropanos frecuentes en aceites esenciales

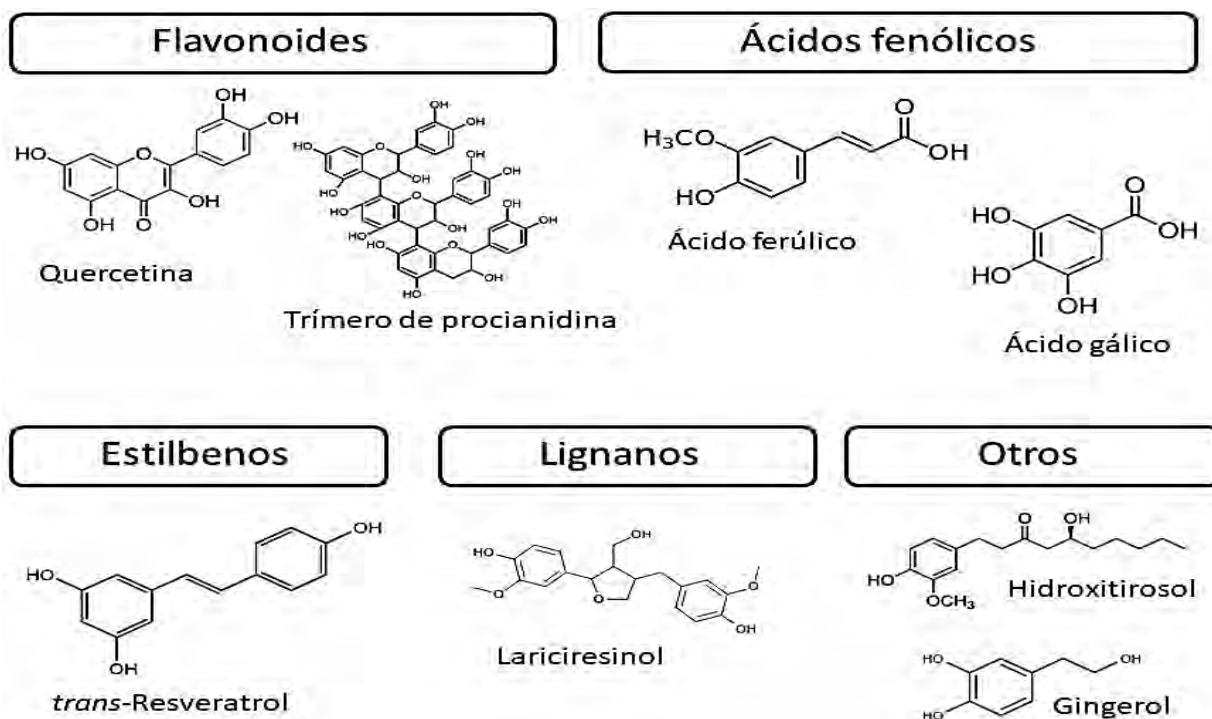
Fuente: Martínez (2023)

2.2.4.4. Los polifenoles

Los fenoles también mencionados polifenoles o compuestos fenólicos, conforman uno de los fitoquímicos más abundantes y ampliamente distribuidos, con más de 8.000 estructuras conocidas. se caracterizan por poseer uno o más grupos fenólicos, es decir, un anillo aromático de seis átomos de carbono (C-6), con uno o varios grupos hidroxilo (-OH) libres. Los polifenoles son antioxidantes fuertes que complementan y se suman a las funciones de las vitaminas y enzimas antioxidantes. se recomienda clasificar los polifenoles en cuatro subgrupos principales: flavonoides, ácidos fenólicos, estilbenos y lignanos. Algunas estructuras químicas representativas de las distintas clases de polifenoles se muestran en la figura 5. (Tsao, 2010) (Eseberri, y otros, 2022)

Figura 5

Estructuras químicas representativas de las distintas clases de polifenoles.



Fuente: (Pérez, 2019)

Se ha descubierto que los polifenoles son antioxidantes potentes que pueden neutralizar los radicales libres donando un electrón o un átomo de hidrógeno. El sistema altamente conjugado y ciertos patrones de hidroxilación, como el grupo 3-hidroxi en los flavonoles, se consideran importantes en las actividades antioxidantes. Los polifenoles suprimen la generación de radicales libres, reduciendo así la tasa de oxidación al inhibir la formación o desactivar las especies activas y los precursores de los radicales libres. (Tsao, 2010).

Los polifenoles provienen biogénicamente a partir de la vía del ácido shikímico y la vía de los poliacetatos, La ruta del ácido shikímico proporciona la síntesis de los aminoácidos aromáticos (fenilalanina o tirosina), y la síntesis de los ácidos cinámicos y sus derivados (fenoles sencillos, ácidos fenólicos, cumarinas, lignanos y derivados del fenilpropano). La ruta de los poliacetatos proporciona las quinonas y las xantonas. (Quiñones, Miguel , & Aleixandre, 2012)

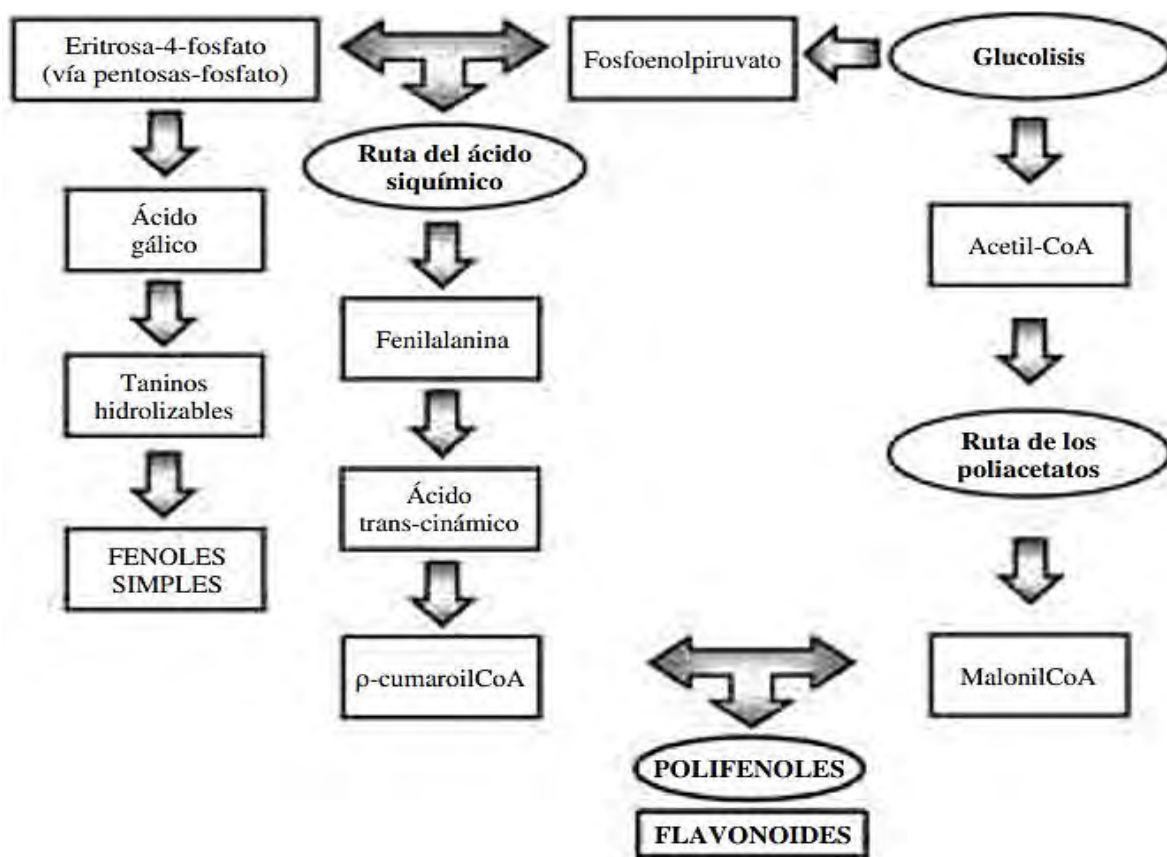
La ruta del ácido shikímico es dependiente de la luz. Se inicia en los plastos por condensación de dos productos típicamente fotosintéticos, la eritrosa-4-fostato, procedente de la vía de las pentosas fosfato, y el fosfoenolpiruvato, originario de la glucólisis. Tras diversas modificaciones, se obtiene el ácido shikímico, del que derivan directamente algunos fenoles. La vía del ácido shikímico puede continuar con la adhesión de una segunda molécula de fosfoenolpiruvato, dando lugar a la fenilalanina, un aminoácido esencial propio del metabolismo primario de las plantas. La fenilalanina entra a formar parte del metabolismo secundario por acción de la enzima fenilalanina amonioliasa, que cataliza la eliminación de un grupo amonio, transformando la fenilalanina en el ácido trans-cinámico. Posteriormente, el ácido trans-cinámico se transforma en ácido ρ -cumárico por incorporación de un grupo hidroxilo a nivel del anillo aromático. La acción de una Coenzima A (CoA), la CoA-ligasa, transforma el ácido ρ -cumárico

en *p*-cumaroilCoA, que es el precursor activo de la mayoría de los fenoles de origen vegetal. (Quiñones, Miguel , & Aleixandre, 2012)

La ruta de los poliacetatos comienza a partir de una molécula inicial de acetilCoA, y a través de una serie de condensaciones se originan los poliacetatos. Por reducción de los poliacetatos se forman los ácidos grasos, y por ciclación posterior se forman una gran variedad de compuestos aromáticos, como las quinonas y otros metabolitos que se generan a través de rutas mixtas. Las rutas mixtas combinan precursores tanto de la vía del ácido shikímico como de la ruta de los poliacetatos. Este es el caso de un importante grupo de moléculas biológicamente activas, denominadas genéricamente flavonoides (figura 6). (Quiñones, Miguel , & Aleixandre, 2012)

Figura 6

Esquema de la ruta biosintética de los polifenoles en las plantas.



Nota: CoA = Coenzima A.

Fuente: (Quiñones, Miguel , & Aleixandre, 2012)

2.2.5. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LOS ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales son volátiles y líquidos a temperatura ambiente. Recién destilados son incoloros o ligeramente amarillos, raramente su coloración se relaciona con el color de la planta de la cual procede. Su densidad es inferior a la del agua (la esencia de sasafrás o de clavo de olor constituyen excepciones). Casi siempre dotados de poder rotatorio, tienen un índice de refracción elevado, es decir, los rayos UV (ultravioleta) reaccionan fácilmente sobre ellos liberando los radicales libres de su composición química y provocando su oxidación. Son solubles

en alcoholes y en disolventes orgánicos habituales, como éter o cloroformo, y alcohol de alta gradación. Son liposolubles y muy poco solubles en agua, pero son arrastrables por el vapor de agua. El rendimiento de esencia obtenido de una planta varía de unas cuantas milésimas por ciento de peso vegetal hasta 1-3 % (Requejo , 2020) .

2.2.6. CLASIFICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales se pueden clasificar en base a diferentes criterios: consistencia, origen y naturaleza química de los componentes mayoritarios.

a) **Consistencia:** de acuerdo con su consistencia los aceites esenciales se clasifican en:

- **Esencias:** son líquidos volátiles a temperatura ambiente.
- **Bálsamo:** son extractos naturales obtenidos de un arbusto o un árbol. Se caracteriza por tener un alto contenido de ácido benzoico y cinámico, así como sus correspondientes esteres. Son de consistencia más espesa, son poco volátiles y propensos a sufrir reacciones de polimerización.
- **Resinas:** son productos amorfos solidos o semisólidos de naturaleza química compleja. Pueden ser de origen fisiológico o fisiopatológico. Por ejemplo, la colofonia, obtenida por separación de la oleoresina trementina. Contienen ácido abiético y derivados. (Guerra & Panduro, 2012)

b) **Origen:** De acuerdo a su origen los aceites esenciales se clasifican como:

- **Naturales:** se obtienen directamente de la planta y no sufren modificaciones físicas ni químicas posteriores, debido a su rendimiento tan bajo son muy costosas.
- **Artificiales:** se obtienen a través de procesos de enriquecimiento de la misma esencia con uno o varios de sus componentes, por ejemplo, la mezcla de esencias de rosa, geranio y jazmín, enriquecida con linalol, o la esencia de anís enriquecida con anetol.
- **Sintéticos:** como su nombre lo indica son los producidos por la combinación de sus componentes los cuales son la mayoría de las veces producidos por procesos de síntesis química. Estos son más

económicos y por lo tanto son mucho más utilizados como aromatizantes y saborizantes (esencia de vainilla, limón, fresa.) (Guerra & Panduro, 2012).

c) **Naturaleza química:** Por sus componentes los aceites esenciales se clasifican en terpenoides y no terpenoides.

a) **No terpenoides.** En este grupo tenemos sustancias alifáticas de cadena corta, sustancias aromáticas, sustancias con azufre y sustancias nitrogenadas. No son tan importantes como los terpenoides en cuanto a sus usos y aplicaciones (Guerra & Panduro, 2012).

b) **Terpenoides.** Son los más importantes en cuanto a propiedades y económicamente. Los terpenos derivan, de unidades de isopreno (C_5) unidas en cadena. Son una clase de sustancias químicas que se hallan en los aceites esenciales, resinas y otras sustancias aromáticas de muchas plantas, como los pinos y muchos cítricos. Principalmente encontramos en los aceites esenciales monoterpenos (C_{10}), aunque también son comunes los sesquiterpenos (C_{15}) y los diterpenos (C_{20}). Pueden ser alifáticos, cíclicos o aromáticos (Guerra & Panduro, 2012).

2.2.7. METODOS DE EXTRACCION DE ACEITES ESENCIALES

Para la extracción de aceites esenciales se emplean varios métodos diferentes, como la destilación al vapor y la extracción con disolventes. Estos métodos se caracterizan por inconvenientes como la baja eficiencia y selectividad de la extracción, el uso de grandes cantidades de disolventes y los largos tiempos de extracción. En muchos casos, la calidad del aceite esencial obtenido por métodos convencionales puede verse influenciada por la hidrolización u oxidación que puede tener lugar debido al largo tiempo de extracción y/o la alta cantidad de agua. Debido a estas limitaciones, se han desarrollado métodos alternativos que normalmente pueden superar estos problemas. La extracción con fluidos supercríticos, la extracción asistida por

microondas y el ultrasonido son métodos novedosos que ahora se reconocen como métodos de extracción eficientes y pueden reducir significativamente los tiempos de extracción, mejorar los rendimientos y la calidad del aceite esencial (Stratakos & Koidis, 2016).

2.2.7.1. El enfleurage

Este método consiste en solubilizar los aromas de las plantas en materias grasas. Era muy utilizado durante la antigüedad en Egipto y Persia. Se extendía una capa de grasa animal sobre unas rejillas especiales y encima se esparcían los pétalos de las flores más delicadas. El peso de las flores hacía que estas dejaran su esencia impregnada en la grasa. Las flores se renovaban continuamente con otras frescas, hasta que la grasa se saturaba de perfume. Los egipcios solían llenar con grasa perfumada un cono que después colocaban sobre sus cabezas. Con el calor del cuerpo, la grasa se disolvía lentamente, liberando la fragancia de la esencia. En la actualidad esta técnica se utiliza en muy pocas ocasiones, debido a su alto costo, y se reserva para ciertas flores extremadamente delicadas, como el jazmín, el nardo y el azahar. La sustancia obtenida de esta forma tiene una elevadísima concentración y por ello se diluye y se trata con otros elementos que disuelven la materia grasa (Padrini, 2017) .

2.2.7.2. Destilación por arrastre con vapor

Es el proceso más común para extraer aceites esenciales, no es aplicable a flores ni a materiales que se apelmazan. En esta técnica se aprovecha la propiedad que tienen las moléculas de agua en estado de vapor de asociarse con moléculas de aceite. La extracción se efectúa cuando el vapor de agua entra en contacto con el material vegetal y libera la esencia, para luego ser condensada. Con el fin de asegurar una mayor superficie de contacto y exposición de las moléculas de aceite, se requiere picar el material según su consistencia (Bruneton, 2001).

El vapor de agua se inyecta desde una caldera externa por medio de tubos difusores, ubicados en la parte inferior de la masa vegetal que se coloca sobre una parrilla interior de un tanque extractor. El vapor de agua provoca que los aceites esenciales se difundan desde las membranas de la célula hacia fuera. Los vapores de agua y aceite esencial que salen, se enfrían hasta regresar a la fase líquida, y se separan en un decantador (Bruneton, 2001).

2.2.7.3. Destilación con agua o hidrodestilación

Consiste en poner a hervir agua, bien sea por fuego directo, camisa de vapor o camisa de aceite, en la cual se ha sumergido previamente el material vegetal, de preferencia en polvo, con el objeto de que el vapor de agua ejerza su acción en el mayor número posible de partículas vegetales. Similar al arrastre con vapor, el vapor producido arrastra los aceites esenciales hasta otro recipiente donde se condensan y se separan. Este sistema de extracción tiene el inconveniente de que la temperatura que se emplea provoca que algunos compuestos presentes en las plantas se degraden y se pierdan. El material vegetal aromático siempre debe encontrarse en contacto con el agua, para así evitar el sobrecalentamiento y la carbonización del mismo. Debe mantenerse en constante agitación para evitar que se aglomere o sedimente al adherirse a las paredes del recipiente, lo cual puede provocar también su degradación térmica. Dado que generalmente no es posible colocar suficiente agua para sostener todo el ciclo de destilación, se han diseñado equipos que presentan un tubo de cohobación lateral que permite el retorno de agua hacia el recipiente de destilación. En general, los aceites producidos por destilación en agua son de menor calidad por las siguientes razones:

- Algunos componentes son sensibles a la hidrólisis, mientras que otros, son susceptibles de polimerización.

- Los compuestos oxigenados tienden a ser parcialmente solubles en el agua de destilación, por lo que es imposible la remoción completa de estos compuestos.
- Los tiempos requeridos de destilación son demasiado largos, lo cual se asocia a un detrimento de la calidad del aceite obtenido (Bruneton, 2001).

2.2.7.4. Destilación agua – vapor o vapor húmedo

Este procedimiento comúnmente se utiliza en el agro para destilar especialmente hierbas y hojas. El material se coloca sobre una parrilla, y luego, entre el fondo y la parrilla se coloca el agua, hasta un nivel un poco inferior a la parrilla. Cuando se dispone de poca agua, el agua que sale con el aceite esencial en la primera extracción, se recircula al extractor para sostener el proceso de destilación. El calentamiento se puede efectuar desde una fuente externa o dentro del propio cuerpo del extractor. El vapor de agua producido, se satura, atraviesa el material que se encuentra sobre la parrilla y provoca el arrastre de la esencia, no existiendo peligro de sobrecalentamiento del material vegetal, tal como ocurre en la hidrodestilación. Se debe prevenir el recalentamiento que produce un olor desagradable en el aceite, y acanalar el vapor generado, de manera que se distribuya uniformemente en el alambique. Aunque este sistema mejora la calidad del aceite obtenido por hidrodestilación, y además tiene aplicación en el trabajo experimental (Maria, 2014).

2.2.7.5. Extracción con fluidos supercríticos.

Los gases butano, propano y dióxido de carbono a elevada presión y muy baja temperatura, más allá de su punto crítico poseen propiedades intermedias entre líquido y gas y así tener la densidad de un líquido y la viscosidad de un gas; por tanto, la buena capacidad de difusión en los sólidos y un buen poder disolvente. La extracción en estas condiciones es muy selectiva y no agresiva. El gas utilizado para la extracción es fácil de eliminar y se puede recuperar. Si bien el

método presenta inconvenientes por el costo y la complejidad del equipo utilizado, pero las ventajas superan su elevado costo. (Solís et al, 2018)

2.2.8. LEY DE LAMBERT-BEER EN ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA UV-VISIBLE

La espectroscopia UV-visible es una de las técnicas más utilizadas en química analítica y se basa en estudiar la interacción de la radiación electromagnética con la materia, mide la cantidad de luz absorbida en función de la longitud de onda utilizada. Esto nos permite identificar sustancias químicas, si hacemos un barrido espectral y representamos gráficamente la intensidad de absorción de radiación, en función de la longitud de onda de la radiación obtenemos la “huella dactilar” denominada así por que los espectros de absorción de cada elemento son únicos, presentando máximos de energía a longitud de onda característicos y con distinta intensidad. (Martínez & Maria, 2012)

En la figura 7 se observa un haz de radiación antes y después de atravesar una disolución absorbente de concentración c y espesor b , debido a las interacciones entre los fotones de la radiación y las partículas absorbentes del medio se produce una disminución entre la potencia del haz incidente P_0 que sale como P de menor intensidad.

Figura 7

Haz de radiación antes y después de atravesar una disolución absorbente



Fuente: (Martínez & Maria, 2012)

De esto podemos definir la transmitancia (ecuación 1), como la fracción de la luz incidente que es transmitida por la disolución.

$$T = \frac{P}{P_0} \quad (1)$$

Donde:

P_0 = luz incidente

P = luz transmitida por la disolución

A través de la definición de transmitancia aparece el concepto de la absorbancia que se define por la ecuación 2:

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} \quad (2)$$

De tal forma que la ley de Lambert y Beer (ecuación 3), señala que la absorción de radiación a una longitud de onda determinada es directamente proporcional a la

concentración de la sustancia absorbente y al espesor de la muestra, a través de una constante de proporcionalidad que se llama absorptividad.

$$A_{\lambda} = \epsilon_{\lambda} \cdot B \cdot C \quad (3)$$

Donde: A_{λ} = absorbancia

ϵ_{λ} = absorptividad (constante)

B = espesor de la cubeta

C = concentración

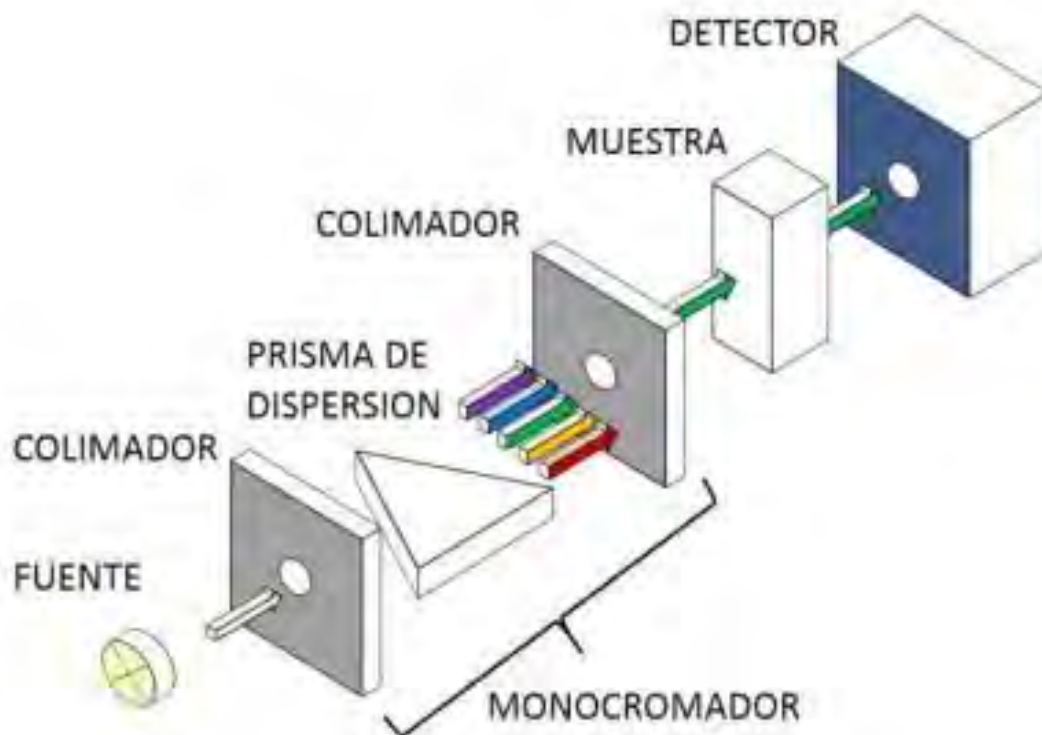
2.2.9. ESPECTROSCOPIA UV-VISIBLE

La espectroscopia UV-Vis es una técnica de medición basada en la absorción de radiación UV y/o visible por parte de las moléculas que componen a una sustancia. Esta espectroscopia se trabaja en un intervalo de longitud de onda de 200 a 800 nm, brindando información de los estados energéticos, atómicos o moleculares, de la muestra de estudio. (Perkampus, 1992)

El instrumento empleado para la obtención de un espectro UV-Vis recibe el nombre de espectrofotómetro (figura 8), está compuesto por una fuente de radiación UV y visible, generalmente se utilizan lámparas de deuterio, wolframio y/o xenón; un monocromador compuesto por un colimador de entrada, un elemento dispersante y un colimador de salida, su función es seleccionar la longitud de onda que incidirá en la muestra; finalmente uno o más detectores son encargados de medir la intensidad de la radiación proveniente de la muestra, formando un espectro de absorción y/o transmisión según se requiera. (Owen, 2000)

Figura 8

Estructura general de un espectrofotómetro UV-Vis

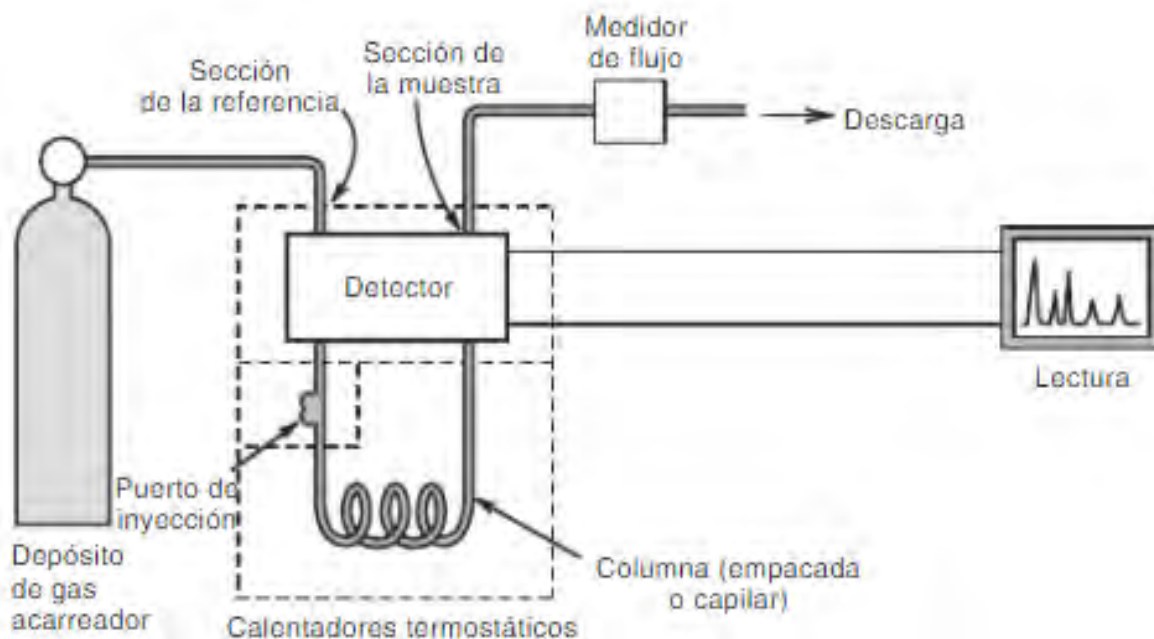


Fuente: (Owen, 2000)

El análisis de un aceite esencial por métodos espectroscópicos, puede ser utilizado para obtener una información sobre su posible composición, y asumir la presencia o ausencia de determinado grupo funcional. En el espectro UV, absorciones intensas entre 202 y 210 nm y ninguna a mayores longitudes de onda sería indicativa de compuestos saturados o de la presencia de insaturaciones aisladas; entre 215 y 250 nm de la presencia de compuestos insaturados, y entre 250 y 270 nm de compuestos aromáticos. (Lock, 1994)

2.2.10. CROMATOGRAFIA DE GASES

La cromatografía de gases (GC) es una de las técnicas más versátiles en los laboratorios, y se usa mucho en la determinación de compuestos orgánicos volátiles. En la cromatografía de gases, la muestra pasa al estado de vapor. Inyectándola a un puerto calentado, y la fase móvil es un gas inerte. En general, la fase estacionaria es un líquido no volátil soportado en una pared capilar con partículas sólidas inertes, como de tierra de diatomeas (restos de esqueletos de algas unicelulares marinas, microscópicas, constituidas principalmente por sílice). La separación se efectúa a medida que los componentes del vapor se equilibran con el gas de la fase móvil y la fase estacionaria. La fase móvil es un gas químicamente inerte que debe encontrarse en forma pura, como argón, helio o nitrógeno. La muestra se detecta automáticamente cuando sale de la columna a flujo constante mediante diversos detectores cuya respuesta depende de la composición del vapor. La respuesta de la sección de muestreo en relación con la señal en la sección de referencia se alimenta a un registrador donde se grafican los picos cromatográficos en función del tiempo de retención. Con la medida del tiempo de retención y la comparación de este tiempo con un estándar de sustancia pura se puede identificar una sustancia (la coincidencia en los tiempos de retención de dos compuestos no garantiza que estos sean idénticos). El área bajo el pico cromatográfico es proporcional a la concentración. (Gary, 2009)

Figura 9*Esquema de un cromatógrafo de gases*

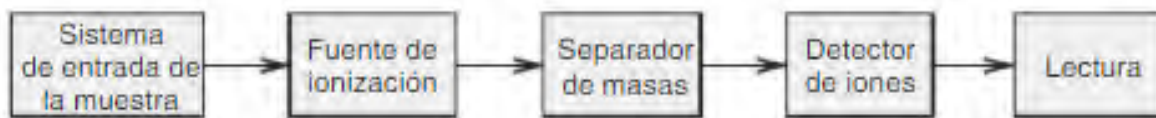
Fuente: Gary (2009)

2.2.11. ESPECTROMETRÍA DE MASAS

La espectrometría de masas es una técnica instrumental sofisticada que produce, separa y detecta iones en fase gaseosa. Una muestra con una presión de vapor moderadamente alta se introduce en un sistema de admisión, que trabaja aun vacío de 10^{-4} a 10^{-7} torr y a alta temperatura, hasta 300°C . la muestra se evapora y arrastra hacia la fuente de ionización. Las moléculas del analito suelen ser neutras y se deben ionizar, lo que se logra con varios métodos, aunque lo habitual es bombardearla con electrones de alta energía en una fuente de impacto electrónico. En realidad, se hace la separación de acuerdo con las relaciones de masa/carga (m/e) de los iones al ser sometidos a un campo magnético (Gary, 2009).

Figura 10

Diagrama de bloques de un espectrómetro de masas



Fuente: Gary (2009)

2.2.12. CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO A ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Con la técnica de cromatografía de gases se puede separar compuestos muy complejos, cuando se acopla con la espectroscopia de masas como sistema de detección, es posible la identificación virtualmente positiva de los eluados con una muy alta sensibilidad, creando un sistema analítico muy poderoso. (Gary, 2009)

El acoplamiento entre un cromatógrafo de gases y un espectro de masas, es la técnica combinada de más amplia utilidad ya que reúne la enorme capacidad de separación que ofrece el cromatógrafo, con la gran sensibilidad y capacidad de aportar información estructural del espectrómetro. El principal problema que se plantea a la hora de acoplar estas dos técnicas es que una de ellas, la cromatografía trabaja a una presión ligeramente superior a la atmosférica, mientras que la espectrometría trabaja a una presión de $10^{-5} - 10^{-6}$ Torr. Se debe tener en cuenta, además que el gas procedente del cromatógrafo de gases es en su mayor parte gas portador, de forma que si se utiliza el mismo gas que sale de la columna para realizar el espectro, los picos del espectro correspondientes al componente de la muestra serían casi invisibles en relación con el pico del gas. Estos inconvenientes se solucionan normalmente utilizando como gas portador helio o hidrógeno a un caudal muy pequeño, lo que implica la utilización de columnas capilares de pequeño diámetro

de 0.23 – 0.25 nm de diámetro, y utilizando bombas de vacío de elevado caudal para mantener el nivel de vacío necesario en el espectrómetro. (Abascal, 2007) (Solís et al., 2018)

2.2.12.1. Identificación de los componentes

Cuando se trabaja con sistemas acoplados de cromatografía de gases y espectrometría de masas, la identificación de un componente se basa, en utilizar el espectro de masas obtenido como una huella química, y la sustancia se identifica comparando los espectros de masa obtenidos con los espectros de masa de compuestos patrón. Los ordenadores que controlan a los espectros de masas actuales, están dotados de sistemas muy eficaces de búsqueda en bibliotecas informatizadas. Habitualmente, se encuentran dos tipos de bibliotecas: unas de tipo general, muy extensas más de 150.000 espectros y otra más pequeña, pero específicas (cientos a miles de espectros) de utilización en un campo de trabajo concreto. Aunque las bibliotecas de espectros de masas, son asequibles comercialmente, casi siempre es posible para el usuario generar una biblioteca o hacer adiciones sobre una existencia. (Abascal, 2007)

La identificación mediante búsqueda, se basa en suponer que las condiciones experimentales se pueden controlar lo suficiente como para producir espectros reproducibles y en que el patrón de fragmentación de un compuesto será único sean cuales fueran las condiciones que se utilicen, la mayoría de las bibliotecas existentes están basadas en espectros obtenidos mediante ionización por impacto electrónico y utilizando analizadores de tipo cuádruplo. Las intensidades de los picos de los espectros de masa dependen en buena medida de variables tales como la energía del haz de electrones, la localización de la muestra con respecto a haz, la presión de vapor de la muestra, la temperatura de la fuente de iones. Lo que da lugar a variaciones significativas en la abundancia relativa de los iones para espectros obtenidos en diferentes laboratorios y con diferentes condiciones, por lo que en muchos casos es deseable confirmar la identidad de un

compuesto por comparación de su espectro con el espectro de un patrón obtenido con el mismo instrumento y bajo idénticas condiciones. Desde el punto de vista cuantitativo, la espectrometría de masas se utiliza ampliamente para la determinación cuantitativa de unos o más componentes en sistemas orgánicos complejos. En el caso de mezclas simples, a veces es posible encontrar para cada componente un pico espectral a un valor único, en estos casos, las concentraciones de analitos se obtienen directamente de las intensidades de los picos espectrales de masa, preparando curvas de calibrado de intensidad de pico frente a la concentración o la masa de cada analito. (Abascal, 2007)

2.2.13. MÉTODO DE EXTRACCION POR HIDRODESTILACION

En la hidrodestilación, el material vegetal fresco o seco y entero, cortado, molido, o la combinación de estos, se introduce en un balón y se adiciona agua hasta la mitad de la capacidad del recipiente. Luego se arma el montaje de destilación sencilla para someter el material a calentamiento durante el proceso de extracción. El agua al llegar al punto de ebullición genera vapor, lo que produce la presión suficiente para vencer la resistencia hidráulica del material vegetal. El vapor entra en contacto con la planta, y extrae así los componentes volátiles. A la salida del condensador se separa el aceite esencial y se obtiene el hidrolato, un líquido acuoso que se puede someter a extracción líquido-líquido con un disolvente orgánico como diclorometano, éter o hexano. El aceite esencial se seca con sulfato de sodio anhidro. Una modificación a esta técnica ha sido el empleo de una trampa de dean-stark (hidrodestilación del tipo Clevenger), en la cual se va acumulando el aceite esencial debido a su inmiscibilidad en el agua. (Cerpa , 2017) (Pino , 2015)

2.2.14. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Los aceites esenciales (AE), son una fuente de antioxidantes naturales no tóxicos comparados a los antioxidantes sintéticos comúnmente utilizados en la industria alimentaria para inhibir o retardar la oxidación lipídica. El mecanismo de actividad antioxidante de los aceites esenciales está relacionado con su composición. El desempeño como agente antioxidante de un AE es el resultado de una interacción compleja entre los compuestos fenólicos de los aceites esenciales y el material oxidable que será protegido. Los fenilpropanos, componentes de los aceites esenciales, están constituidos por compuestos fenólicos, los cuales son los responsables por conferir la actividad antioxidante a los aceites esenciales (Fernández , 2024)

Existen diversas explicaciones de lo que es la capacidad antioxidante, pero el consenso de varias explicaciones, establece que los antioxidantes son sustancias o metabolitos secundarios que a bajas concentraciones retardan o previenen el deterioro, daño o destrucción causado por una oxidación lipídica en las células gracias a un radical libre proveniente de reacciones de oxido-reducción propios de un organismo o agente externo. (Gutierrez, 2022)

La actividad antioxidante, es la capacidad de una sustancia para inhibir la degradación oxidativa, de tal manera un antioxidante actúa, principalmente, gracias a su capacidad para reaccionar con radicales libres formados durante el proceso de oxidación. (Julian, 2012)

Los radicales libres son especies químicas que poseen uno o más electrones desapareados, reaccionan con las moléculas adyacentes mediante reacciones de oxido-reducción para estabilizarse y formar especies menos reactivas. (Halliwell & Whiteman, 2004)

2.2.15. METODOS UTILIZADOS PARA DETERMINAR LA CAPACIDAD

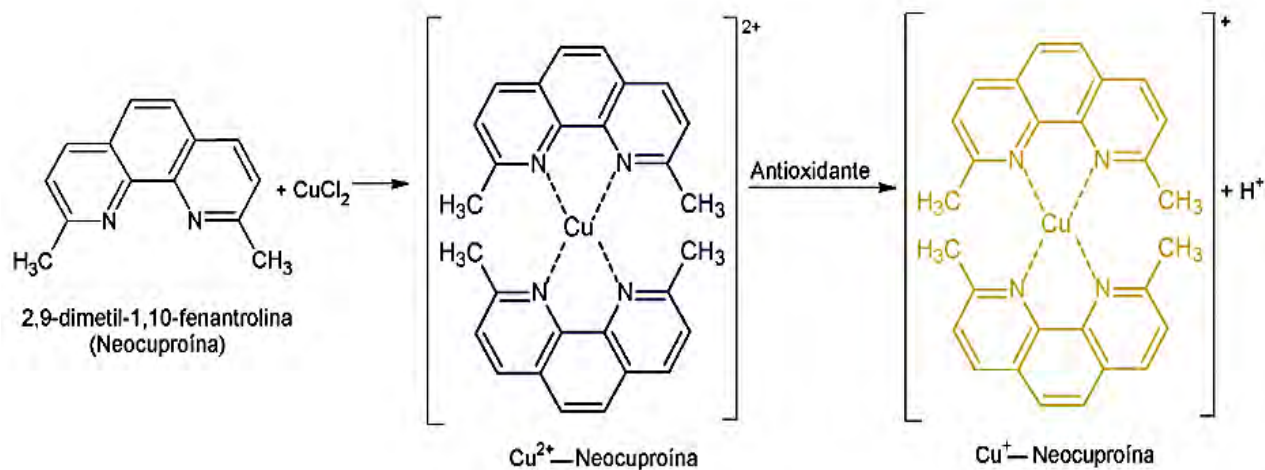
ANTIOXIDANTE

2.2.15.1. METODO CUPRAC

El método CUPRAC es una variante del FRAP usando cobre en lugar de hierro. El ensayo se basa en la reducción del Cu (II) a Cu (I) por la acción combinada de los antioxidantes presentes en la muestra. CUPRAC es un ensayo colorimétrico, basado en los cambios de absorción del complejo azul de bis Neocuproína (Nc) de Cu^{2+} cuando se reduce al complejo amarillo de Nc de Cu^+ en presencia de un antioxidante como se ve en la figura 11. Presentando un máximo de absorbancia a 450 nm. El ion Cu^{2+} al ser oxidante mide la oxidación de los compuestos fenólicos (el Cu^{2+} se reduce captando un electrón y oxida a los compuestos fenólicos). La medida de la absorbancia de la muestra antioxidante se expresa en equivalentes de Trolox mediante la calibración de la curva que se hace a partir de concentraciones conocidas de Trolox. (Moreno, 2021)

Figura 11

Mecanismos de reacción en el método CUPRAC



Fuente: (Moreno, 2021)

2.2.15.2. METODO DEL DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)

La molécula 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH⁺) es uno de los pocos radicales orgánicos estables, presenta una coloración violeta, es comercialmente disponible. El método fue propuesto por Brand-Williams y se basa en la capacidad antioxidante para estabilizar el radical DPPH⁺. Cuando la solución de DPPH reacciona con el sustrato antioxidante que puede donar un átomo de hidrógeno, el color violeta se desvanece. El cambio de color es monitoreado espectrofotométricamente y es utilizado en la determinación de las propiedades antioxidantes requerido para alcanzar el estado estacionario y completar la reacción redox. (Vicente et al., 2009)

El 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) se caracteriza como un radical libre estable en virtud de la deslocalización del electrón de reserva sobre la molécula en su conjunto, de modo que la molécula no se dimeriza, como sería el caso con la mayoría de los demás radicales libres. La deslocalización del electrón también da lugar al color violeta intenso, caracterizado por una banda de absorción en la solución de etanol centrada a unos 517 nm. Cuando una solución de DPPH se mezcla con la de un sustrato (AH) que puede donar un átomo de hidrógeno, entonces esto da lugar a la forma reducida con la pérdida de este color violeta. Como se muestra en la figura 12. (Nur et al., 2013)

La mayoría de los estudios expresan los resultados como el valor de la concentración máxima de la medida inhibitoria (IC₅₀), definido como la cantidad de antioxidante necesario para disminuir la concentración inicial de DPPH⁺ al 50%. Este valor se calcula graficando el porcentaje de captación contra la concentración del extracto. Para extractos de planta o compuestos puros el valor IC₅₀ cambia de acuerdo a la concentración final del DPPH⁺ usado.

Los resultados se expresan en TEAC (capacidad antioxidante equivalente al Trolox $\mu\text{mol/g}$ de muestra) de acuerdo con la ecuación 4.

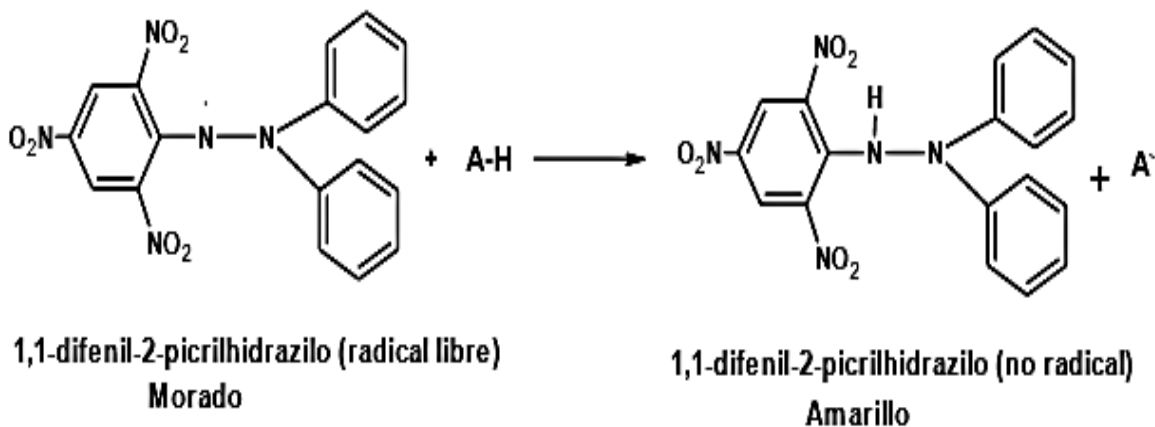
$$TEAC = \frac{IC50 \text{ del trolox } (\mu\text{mol/mL})}{IC50 \text{ de la muestra } (\text{g/mL})} \quad (4)$$

El método del DPPH tiene algunas ventajas entre las que se encuentran:

- Es un método rápido y reproducible en comparación con otros métodos para la determinación de la actividad antioxidante.
- Es simple (no incluye muchos pasos durante el proceso).
- Es el de menor costo en comparación con otros métodos. (Nur et al.,2013)

Figura 12

Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante



Fuente: Alam et al. (2012)

CAPÍTULO III

METODOLOGIA Y PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN.

La investigación es del tipo descriptivo.

La presente investigación, con la aplicación de métodos y técnicas de laboratorio, describe la composición química y la capacidad antioxidante del aceite esencial.

3.2. HIPOTESIS DE INVESTIGACION

El aceite esencial de la especie *Ageratina pentlandiana* (DC) R.M.King & H.Rob. (*manca paqui*), procedente de los alrededores de la comunidad de Pampaconga- Limatambo –Anta – Cusco, presenta en su composición química una compleja mezcla de metabolitos secundarios conformado fundamentalmente por: los monoterpenos, sesquiterpenos, compuestos fenólicos y otros. Algunos de los componentes de su aceite esencial son los responsables de su actividad antioxidante.

3.3. PROCEDIMIENTO METODOLÓGICO.

- Identificación botánica de especie en estudio.
- Muestreo y preparación de la muestra para el trabajo experimental.
- Obtención del aceite esencial.
- Determinación del porcentaje de extracción del aceite esencial.
- Determinación del espectro UV –Vis del aceite esencial.
- Determinación de las características fisicoquímicas del aceite esencial.
- Determinación de la composición química del aceite esencial por cromatografía de gases/espectrometría de masas.

- Determinación de la actividad antioxidante del aceite esencial por el método DPPH.
- Análisis e interpretación de resultados.
- Redacción del informe final.

3.4. MATERIALES, INSTRUMENTOS, EQUIPOS Y REACTIVOS

3.4.1. MUESTRA

Las hojas de la especie *Ageratina pentlandian* (DC) R.M. King & H. Rob. (*manca paqui*)

3.4.2. INSTRUMENTOS, EQUIPOS Y MATERIALES DE LABORATORIO

- Cromatógrafo de Gases – Espectrómetro de Masas (GC-MS). (Termo SCIENTIFIC, Trace 1310, ISQ QD)
- Espectrofotómetro UV-Visible (Termo SCIENTIFIC Evolución 220)
- Estufa Memmert Expert in Thermostatics
- Equipo de destilación por arrastre de vapor
- Trampa de clewenger
- Balanza analítica (LX220A scs)
- Manto eléctrico (ISOLAB, Laborgerate GmbH)
- Refrigerador
- Destilador de agua (GFL)
- Refractómetro (ABBE)
- Frasco color ámbar 10 mL
- Picnómetro 10 mL
- Soporte universal

- Bureta de 50 mL
- Matraces Erlenmeyer
- Vasos precipitados
- Bagueta
- Tubos de ensayo
- Gradilla
- Balón de reflujo
- Goteros
- Pipetas volumétricas 1,2,5,10 mL.
- Fiola de 25 y 50 mL
- Cronometro

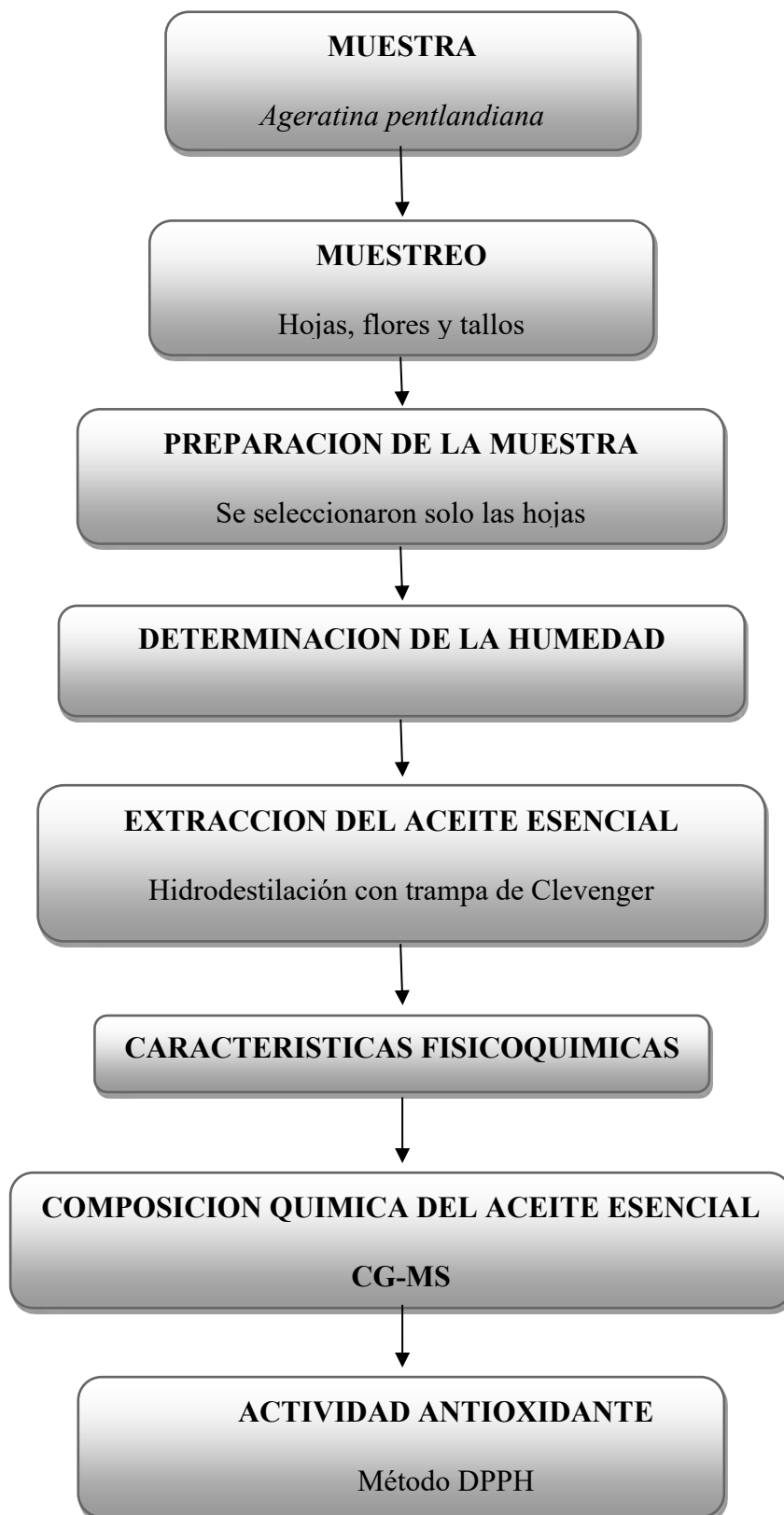
3.4.3. REACTIVOS Y DISOLVENTES

- Etanol 40°, 60°, 70°, 90° (C₂H₅-OH) QP
- Metanol (CH₃-OH) QP
- Indicador fenolftaleína (C₂₀H₁₄O₄)
- Sulfato de sodio anhidro (Na₂SO₄) QP
- Agua destilada
- Reactivo 1,1-difenil-2-picrilhidracil (DPPH⁺) QP
- Reactivo ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox)QP
- Acetona (C₃H₆O) QP
- Éter etílico (C₄H₁₀O) QP

3.4.4. EQUIPO DE CÓMPUTO, MATERIALES DE ESCRITORIO

- Computadora
- Cámara fotográfica
- Cuaderno de apuntes
- Reloj
- Papel
- Libros

3.5. FLUJOGRAMA DE INVESTIGACION



3.6. POBLACION Y MUESTRA

La población de estudio estuvo constituida por la planta sana y en plena floración de la especie vegetal *Ageratina pentlandiana* (DC) R.M.King & H.Rob. (*manca paqui*) que se encuentran en los alrededores de la comunidad de Pampacongá (figura 13) distrito de Limatambo, provincia de Anta, departamento del Cusco. Con una ubicación coordenadas UTM (WGS84). Zona 18L, Este 780 993 m, Norte 8 511 288 m.

Figura 13

Ubicación de la zona de recolección de la especie vegetal.



3.7. MUESTREO

El muestreo del material vegetal se realizó de forma intencional, seleccionando únicamente plantas visualmente sanas y en la etapa de plena floración. La recolección abarcó las partes aéreas de la especie (hojas, flores y tallos) y se llevó a cabo durante las horas del mediodía, bajo

condiciones climáticas favorable. El material vegetal se recolectó en bolsas de papel Kraft, aproximadamente unos 5 kilos y fueron conducidos inmediatamente al laboratorio de Fitoquímica de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

3.8. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

La muestra fresca fue extendida y seleccionada de partículas extrañas que implican impureza para la muestra. Para la extracción del aceite esencial, se seleccionaron solo las hojas, las que fueron sometidos a fragmentación en pequeños trozos, con la finalidad de generar mayor superficie de contacto con el agua y así lograr una rápida y eficiente extracción del aceite esencial.

3.9. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

Método: Termogravimétrico

Fundamento

La humedad, hace referencia a la cantidad de agua presente en la muestra, que se determina por la pérdida de peso de la misma por calentamiento en una estufa hasta peso constante, mediante evaporación del agua. Por tratarse de muestras con metabolitos secundarios y con componentes volátiles al calor como los aceites esenciales, la humedad se determinó a 40°C y los cálculos se realizaron con el peso libre de agua en referencia al peso total de la muestra y expresado como porcentaje, utilizando la ecuación 5.

$$\text{Porcentaje de humedad} = \frac{P_1 - P_f}{P_1} \times 100 \quad (5)$$

Donde:

P_1 = peso inicial (g)

P_f = peso final (g)

Procedimiento

La humedad de las hojas se determinó tomando en cuenta el procedimiento de la A.O.A.C. 930.15/90, pesando aproximadamente 10 g. de muestra fresca en placas Petri previamente taradas, los que se llevaron a la estufa a 40 °C, transcurrido un tiempo determinado (1 hora) se trasladaron a un desecador para su enfriamiento, luego se pesaron y se colocaron nuevamente a la estufa por el tiempo de 1 hora, el procedimiento de enfriamiento y pesado se repitió hasta alcanzar peso constante.

3.10. OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL

Método: Hidrodestilación con trampa de Clevenger.

La extracción del aceite esencial, se realizó por arrastre de vapor de agua, aplicando el procedimiento reportado por Pino (2015) y con la ecuación 6 se determinó el porcentaje de extracción.

$$\text{Porcentaje de extracción} = \frac{P1}{P2} \times 100 \quad (6)$$

Donde: P1 = peso del aceite esencial obtenido

P2 = peso del material vegetal utilizado

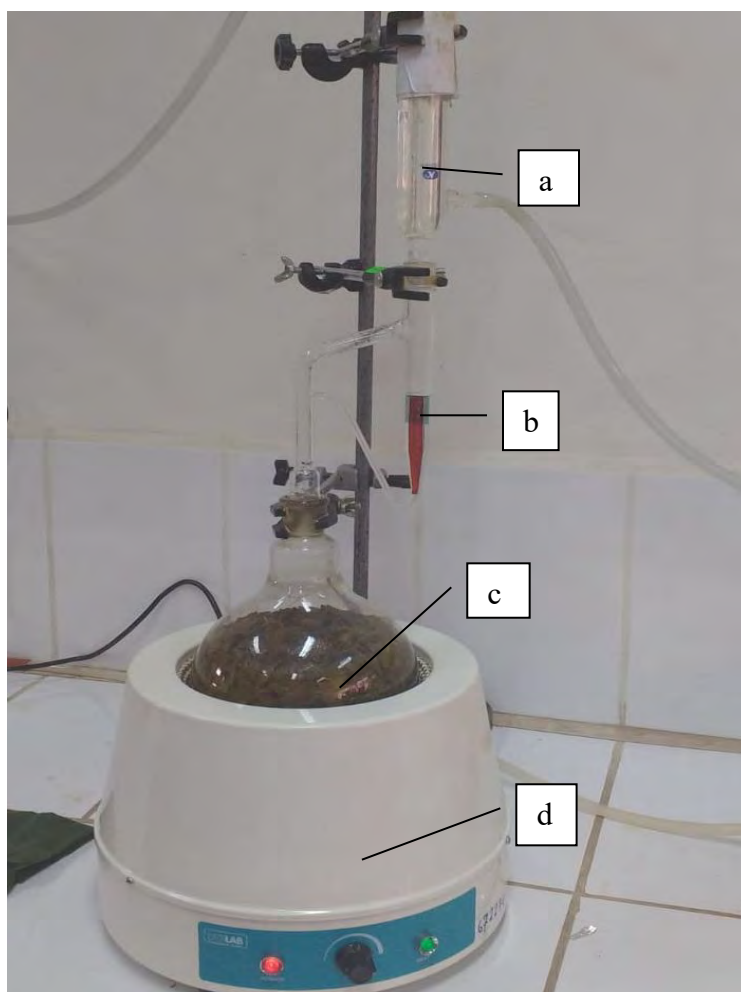
Procedimiento

- Se montó el equipo de hidrodestilación que consta de un balón de destilación, trampa de Clevenger, refrigerante y manta de calentamiento, en lugar seguro como se muestra en la figura 14.
- Se pesó aproximadamente de 250 a 300 g. de la muestra fresca de hojas, fragmentada en trozos pequeños.

- La muestra vegetal se introdujo al balón de destilación, al que, se le añadió agua en una cantidad correspondiente a las $2/3$ partes del balón.
- Con la manta de calentamiento se sometió a temperatura de ebullición, para iniciar el proceso de destilación.
- A la temperatura de ebullición, el aceite esencial de la muestra vegetal fue arrastrada por el vapor producido, la mezcla de vapor-aceite esencial fue condensada en el refrigerante, el condensado fue recolectada en la trampa de Clevenger, donde al aceite esencial se separó por ser insoluble en agua. Al finalizar la extracción, la cantidad de aceite esencial obtenido, fue midió en la escala graduada de la trampa de Clevenger.
- Algunos componentes solubles en agua, quedaron en la fase acuosa, al que se le denomina hidrolato.
- En cada destilación se obtuvo aproximadamente de 0.7 – 1 mL de aceite esencial.
- El aceite esencial fue secado con sulfato de sodio anhidro y conservado en la refrigeradora a 4°C en un frasco ámbar.

Figura 14

Extracción por hidrodestilación con trampa de Clevenger



Nota: a) Refrigerante b) Trampa de Clevenger c) Balón de destilación

d) Manta de calentamiento

3.11. CARACTERISTICAS FISICOQUÍMICAS DEL ACEITE ESENCIAL

3.11.1. SOLUBILIDAD

3.11.1.1. Método: Solubilidad en diferentes disolventes

3.11.1.2. Fundamento

Las pruebas de solubilidad están relacionadas con la estructura y polaridad de los componentes del aceite esencial y la facilidad de formar mezclas homogéneas con los disolventes. Los aceites esenciales de acuerdo a la estructura y polaridad de sus componentes, a la temperatura ambiente, son susceptibles de formar mezclas homogéneas con diferentes disolventes químicamente puros y soluciones etanólicas de concentraciones conocidas. (Domínguez, 1979)

3.11.1.3. Procedimiento

En tubos de ensayo se mezclaron 0.5 mL de aceite esencial con 2.0 mL de los siguientes disolventes; agua, etanol (40%, 60%, 70% y 90 %), etanol absoluto, metanol, acetona, éter etílico, etanol absoluto y hexano a condiciones ambientales, luego cada tubo de ensayo se agitó y se observó la solubilidad del aceite esencial.

3.11.2. DENSIDAD RELATIVA Y ABSOLUTA

3.11.2.1. Método: Picnómetro

3.11.2.2. Fundamento

La Norma Técnica Peruana NTP 319.081, (1974) define la densidad absoluta (ecuación 7) como la relación entre la masa y el volumen dado del aceite esencial y la densidad relativa (ecuación 8) como la relación entre la densidad del aceite a 20°C y la densidad del agua destilada

a la misma temperatura, como ambas densidades se expresan en las mismas unidades, en iguales condiciones y se define como el cociente de dos unidades, la densidad relativa es adimensional.

$$\rho = \frac{m}{v} \quad (7)$$

Donde: ρ = densidad absoluta

m = masa

v = volumen

$$\rho_r = \frac{\rho_1}{\rho_2} \quad (8)$$

Donde: ρ_r = densidad relativa

ρ_1 = densidad absoluta

ρ_2 = densidad del agua

3.11.2.3. Procedimiento

Se determinó la masa del picnómetro de 10 mL, vacío, limpio y seco, después el picnómetro se llenó con agua destilada evitando la formación de burbujas de aire, luego se llevó a baño de agua a 20 °C durante 30 minutos, cuando alcanzó la temperatura deseada, se enrazó la rama capilar del picnómetro con agua destilada luego se tapó, en seguida, se limpió y secó y se determinó su masa. Posteriormente, el picnómetro vació, lavado con etanol, se secó y se llenó con el aceite esencial, luego se mantuvo en baño isotérmico a 20°C por 30 minutos, se secó la parte externa y determinó su masa.

3.11.3. ÍNDICE DE REFRACCIÓN

3.11.3.1. Método: Instrumental por reflectometría

3.11.3.2. Fundamento

El índice de refracción permite determinar la reducción de la velocidad de la luz al propagarse por un medio homogéneo y es una propiedad específica de cada interfase que varía con la temperatura y con la longitud de onda de la luz considerada. (Rodas, 2012)

3.11.3.3. Procedimiento

El índice de refracción del aceite esencial se determinó, según la Norma Técnica Peruana NTP 319.075 (1974). Se limpio los prismas del refractómetro tipo ABBE con agua destilada y se adicionó una gota de muestra de aceite esencial con una bagueta de vidrio en el prisma inferior, ajustando este contra el prisma superior de forma tal que quede entre ellos una capa de muestra de aceite esencial a una temperatura de 20 °C, libre de burbujas de aire. Con la perilla superior se ajustó hasta que el campo aparezca dividido en una porción oscura y otra iluminada, procurando que en la separación de ambas porciones no aparezca una banda de dispersión, sino una línea nítida. Con la perilla inferior se ajustó la posición de esta línea de modo que pase por el punto de intersección de los hilos del retículo y se pueda leer sobre la escala el valor del índice de refracción de la muestra de aceite esencial. Se realiza por triplicado.

El índice de refracción para aceites esenciales oscila generalmente entre 1.43 y 1.62 a temperatura de 20°C, dato que permite establecer si la muestra es pura.

$$\eta_D^{\text{aceite esencial}} = 1.4985$$

Donde: η representa el índice de refracción general y D indica la longitud de onda específica.

3.11.4. ÍNDICE DE ACIDEZ

3.11.4.1. Metodo: Volumétrico

3.11.4.2. Fundamento

El índice de acidez (IA) se define como el número de miligramos de hidróxido potásico necesarios para neutralizar la acidez contenida en un gramo de aceite esencial, por la presencia de ácidos grasos libres (Lock, 1994) y se obtiene con la ecuación 9.

$$\text{Índice de acidez} = \frac{V \times N \times 56.1}{P} \quad (9)$$

Dónde:

V = volumen gastado KOH en mL

N = Normalidad de KOH

P = Peso de muestra (g)

3.11.4.3. Procedimiento

En un matraz Erlenmeyer se pesó aproximadamente 0.3 g de muestra de aceite esencial, se añadió 5 mL de etanol neutralizado (KOH y fenolftaleína), luego 3 gotas de fenolftaleína 0.1 %. Luego se tituló con una solución estándar de KOH 0.075N hasta el cambio de color de (incolore – rosado) gastando un volumen de 0.6 mL

3.11.5. *ÍNDICE DE SAPONIFICACIÓN*

3.11.5.1. **Metodo:** Volumétrico

3.11.5.2. **Fundamento**

El índice de saponificación se define como la cantidad en mg, de hidróxido de potasio necesario para neutralizar los ácidos libres, luego de saponificar los ésteres presentes en 1,0 g de muestra (Lock, 1994), se calcula con la ecuación 10.

$$\text{Índice de saponificación} = \frac{56.1 \times N \times (Vb - Vm)}{P} \quad (10)$$

Dónde: N= normalidad de HCl

Vb= volumen gastado en el blanco en mL

Vm= volumen gastado en la muestra en mL

P= peso de la muestra (g)

3.11.5.3. **Procedimiento**

En un balón de vidrio de 250 mL se pesó 0.3019 g de aceite esencial con 15mL de solución de KOH 0.079 N, luego se sometió a reflujo por 1 hora y posteriormente se enfrió, al que se le agregó 2 gotas de indicador fenolftaleína y enseguida se tituló con una solución de HCl 0.089 N.

Volumen gastado de HCl 0.089 N = 9 mL

Para el blanco se midió 15 ml de KOH 0.079 N. en un matraz erlenmeyer, se le agrego 3 gotas de fenolftaleína.

Luego se tituló con HCl 0.089 N, hasta cambio de color de (violeta – incoloro)

Volumen gastado de HCl 0.089 N en el blanco = 13.8 mL

3.11.6. ESPECTRO UV DEL ACEITE ESENCIAL DE *Ageratina pentlandiana*

El perfil espectroscópico del aceite esencial de *Ageratina pentlandiana*, se obtuvo en el espectrofotómetro UV-Visible (Termo SCIENTIFIC Evolución 220), para lo cual, el equipo se calibró en el rango de 190 – 400 nm con etanol absoluto. Luego se preparó una solución de aceite esencial de 2 µL con 10 mL de etanol absoluto. Esta solución se colocó en la cubeta de cuarzo para obtener el espectro del aceite esencial.

3.12. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Ageratina pentlandiana*

La determinación de la composición química del aceite esencial de *Ageratina pentlandiana*, se realizó utilizando el equipo de Cromatografía de gases – Espectrometría de masas (CG-MS), (Termo SCIENTIFIC, Trace 1310, ISQ QD), en el laboratorio de fitoquímica de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Donde la columna capilar (TG – 5SILMS) de dicho equipo tiene un diámetro interno de 0.25 mm y de 30 metros de longitud. Los parámetros establecidos para el Cromatógrafo de gases fueron: programa de temperatura de horno, temperatura inicial 60°C, gradiente 5°C/min hasta temperatura final de 240°C; gas portador helio con un flujo de 1mL/min. Temperatura del inyector y detector 250°C. Volumen de inyección fue de 1µL y una dilución (Split 100/1).

En el cromatograma, el contenido porcentual de cada componente, se calculó con la ecuación 11, tomando en cuenta el área bajo el pico; el área de cada uno de los componentes se comparó con el área total de los picos del cromatograma.

$$\% \text{ de componente} = \left(\frac{\text{área individual}}{\text{área total}} \right) \times 100 \quad (11)$$

La identificación de cada uno de los componentes del cromatograma se llevó a cabo con la obtención del espectro de masas de los componentes. Los parámetros establecidos en el espectrómetro de masas, fueron; temperatura de fuente 230°C, temperatura de cuádruplo 150°C, energía de ionización 70eV y un rango de masas 40 – 400 m/z.

El tiempo de retención de los componentes en el perfil cromatográfico y los espectros de masa de cada componente, permitió identificar los diferentes componentes del aceite esencial. Los espectros de masas se compararon con los espectros de masas de los estándares de la base de datos librería Mainlib. La aplicación del GC-MS permitió determinar la cuantificación y la identificación de cada uno de los componentes del aceite esencial.

3.13. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO DPPH·

La actividad antioxidante del aceite esencial de *Ageratina pentlandiana*, se determinó con el método DPPH (1,1 – Difenil-2-Picrilhidrazil) descrito y reportado por Brand-Williams (1995), con ligeras modificaciones. Para ello se prepararon los siguientes reactivos.

- Reactivo patrón de TROLOX: se preparó como estándar de referencia una disolución madre de 2 mM en metanol y luego se preparon diluciones de 0.05, 0.2, 0.5, y 1 mM en metanol para la curva estándar referida al porcentaje (%) de inhibición con respecto a las diferentes concentraciones de reactivo Trolox.
- Se preparó una solución del radical DPPH 0.06 mM en etanol. Para ello se pesaron 2.3 mg de DPPH se disolvió y aforó a 100 mL con etanol. Este radical tiene 12 horas de estabilidad a temperatura ambiente y protegida de la luz.

3.13.1. Actividad antioxidante del estándar Trolox

La actividad antioxidante del estándar Trolox frente al radical DPPH·, se determinó a través del siguiente procedimiento:

- Se programó el espectrofotómetro a la longitud de onda 515 nm.
- Se midió la absorbancia del radical DPPH 0.06 mM en el espectrofotómetro, que se considera como la absorbancia a tiempo cero.

Absorbancia de DPPH a tiempo cero = 1.0503

- En cuatro tubos de ensayo se colocó 2.9 mL del radical DPPH, y se le adicionaron 100 μ L de las cuatro diluciones de Trolox.
- Inmediatamente se midieron las absorbancias cada 15 minutos, por una hora.

Con las absorbancias determinadas para el estándar Trolox a diferente concentración frente al radical DPPH, se calculó para cada concentración el porcentaje (%) de inhibición con la ecuación 12.

$$\% \text{ de inhibicion} = \frac{A_0 - A_f}{A_0} \times 100 \quad (12)$$

Donde: A_0 = absorbancia inicial

A_f = absorbancia final

Con los resultados de actividad antioxidante (% de inhibición), calculado para las diferentes concentraciones de Trolox frente al radical DPPH (tabla 7), se graficó la curva de calibración de Trolox para el ensayo con radical DPPH como se muestra en la figura 19.

De la curva estándar del antioxidante de referencia Trolox, se obtuvo la ecuación 13 de correlación, con la cual se obtuvieron su correspondiente equivalencia en Trolox según el porcentaje de actividad antioxidante obtenido.

$$Y = 294.47x + 4.7138 \quad (13)$$

$$R^2 = 0.9781$$

Con la ecuación de correlación se determinó el coeficiente de inhibición (IC_{50}) de Trolox.

3.13.2. Actividad antioxidante del aceite esencial

La actividad antioxidante del aceite esencial de *Ageratina pentlandiana* frente al radical DPPH·, se determinó a través del siguiente procedimiento:

- Se programó el espectrofotómetro a la longitud de onda 515 nm.
- Luego se prepararon diluciones de aceite esencial: metanol. 1:30, 1:40, 1:50 en μL
- Se midió la absorbancia del radical DPPH 0.06 mM en el espectrofotómetro, que se le denomina cómo la absorbancia a tiempo cero.

Absorbancia de DPPH a tiempo cero = 1.0503

- En 3 tubos de ensayo se colocaron 2.9 mL del radical DPPH, a esto se le adiciono 100 μL de las 3 diferentes diluciones de aceite esencial
- Inmediatamente se midió la absorbancia cada 15 minutos, por una hora.

Con las absorbancias determinadas para el aceite esencial a diferente concentración frente al radical DPPH, se calculó para cada concentración el porcentaje (%) de inhibición con la ecuación 12.

Con los resultados de actividad antioxidante (% de inhibición), calculado para las diferentes concentraciones de aceite esencial frente al radical DPPH mostrados en la tabla 9, se graficó la curva de calibración del aceite esencial para el ensayo con radical DPPH como se observa en la figura 20.

A partir de la curva estándar del antioxidante aceite esencial, se obtuvo la ecuación de correlación, con la cual se entregan su correspondiente equivalencia del aceite esencial según el porcentaje de actividad antioxidante obtenido.

$$y = 2.0821x + 1.7515 \quad (14)$$

$$R^2 = 0.9864$$

Con la ecuación de correlación se determinó el coeficiente de inhibición (IC_{50}) de aceite esencial.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. DE LA DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

La humedad de las hojas de *Ageratina pentlandiana* se determinó por el método termogravimétrico, eliminando el agua en una estufa a 40 °C hasta alcanzar peso constante. Los resultados se reportan en la tabla 1.

Tabla 1

Resultados de la humedad de la muestra vegetal de Ageratina pentlandiana

N°	Peso muestra inicial	Peso muestra final	Diferencia de peso
1	10.011 g	2.432 g	7.579 g
2	10.018 g	2.338 g	7.680 g
3	10.014 g	2.368 g	7.646 g
Promedio	10.014 g	2.379 g	7.635 g

Para hallar el porcentaje de humedad se realizó reemplazando valores en la ecuación 5.

$$\% \text{ humedad} = \frac{10.014 - 2.379}{10.014} \times 100$$

$$\% \text{ humedad} = 76.243$$

4.2. DEL PORCENTAJE DE EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL

La extracción del aceite esencial de *Ageratina pentlandiana*, se realizó por el método de hidrodestilación con trampa de Clevenger, aplicando el procedimiento reportado por Pino (2015),

el tiempo de extracción de cada destilación fue de 2 horas. Se realizó 11 extracciones de aceite esencial de las hojas frescas cuyos resultados se muestran en la tabla 2.

Tabla 2

*Porcentaje de extracción del aceite esencial *Ageratina pentlandiana**

N° de extracción	Peso de muestra (g)	Vol. de A.E obtenido (mL)	Masa de AE obtenido (g) m = ρ. V	% de extracción por cada balón de destilación
1	271.43	1	0.9735	0.36
2	294.473	1.1	1.0708	0.36
3	282.255	1.1	1.0708	0.38
4	290.605	1.1	1.0708	0.37
5	282.657	1	0.9735	0.34
6	250.813	0.7	0.6814	0.27
7	285.993	0.9	0.8761	0.31
8	283.682	1	0.9735	0.34
9	275.503	0.9	0.8761	0.32
10	289.628	1	0.9735	0.34
11	280.899	1	0.9735	0.32
TOTAL	3087.938	10.8	10.5135	0.34 %

Nota: m es la masa del aceite esencial, ρ es la densidad, v es el volumen del aceite esencial y AE es el aceite esencial.

El porcentaje obtenido en el presente trabajo de investigación se halló reemplazando valores en la ecuación 6.

$$\text{porcentaje de extracción} = \frac{10.5135}{3087.938} \times 100$$

$$\text{porcentaje de extracción} = 0.34 \%$$

Como se observa en los resultados en la tabla 2, el porcentaje de extracción del aceite esencial por hidrodestilación, a partir de muestras de hojas frescas de la especie *A. pentlandiana* posee un rendimiento del 0.34 %, Este rendimiento de extracción de aceite esencial, está dentro del rango normal considerado para las especies vegetales aromáticas. Domínguez (1979) indica que el contenido de aceite esencial en las plantas varía de unas cuantas milésimas de porcentaje hasta de 1 a 3 %. Para las especies del género *Ageratina*, el rendimiento de extracción de aceite esencial por hidrodestilación empleando trampa de Clevenger, se encuentra en este rango, tal como lo reporta Ustariz et al. (2021) para las hojas de *Ageratina nerifolia* con un rendimiento de 0,20 % y Torres et al. (2013) para los aceites esenciales de *Ageratina jahnii* y *Ageratina pichinchensis*, mostro un rendimiento del 0,50 % y 0,43 % respectivamente.

4.3. DE LAS PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

Las pruebas de solubilidad del aceite esencial de *Ageratina pentlandiana*, fueron determinadas con diferentes disolventes químicamente puros y soluciones etanólicas de concentraciones conocidas, de acuerdo a las recomendaciones de Domínguez (1979). Los resultados se observan en la tabla 3.

Tabla 3

Pruebas de solubilidad del aceite esencial de Ageratina pentlandiana

N°	Disolventes	Solubilidad
1	Agua	-
2	Metanol	+
3	Etanol 40 %	+
4	Etanol 60 %	+

5	Etanol 70 %	++
6	Etanol 90 %	++
7	Acetona	++
8	Acetato de etilo	+++
9	Éter de petróleo	++

Nota: insoluble = - poco soluble = + soluble = ++ muy soluble = +++

Como se observa en la tabla 3, el aceite esencial de *Ageratina pentlandiana* es insoluble en agua, poco soluble en disolventes hidroalcohólicos y muy soluble en disolventes de baja polaridad como el acetato de etilo, posiblemente debido a la presencia de componentes de carácter apolar y ligeramente polar como parte de la composición del aceite esencial.

4.4. DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL ACEITE ESENCIAL

Las características fisicoquímicas dependen de la composición del aceite esencial. Los resultados, determinados para el aceite esencial de *Ageratina pentlandiana*, se reportan en la Tabla 4.

Tabla 4

Características fisicoquímicas del aceite esencial de A. pentlandiana

Aceite esencial de <i>Ageratina pentlandiana</i>	
Aspecto	Líquido ligeramente viscoso
Color	Ligeramente celeste
Aroma	Agradable
Densidad absoluta	0.9735 g/cm ³
Densidad relativa	0.9752
Índice de refracción	1.4985
Índice de acidéz	7.96 mg/g
Índice de saponificación	79.3836mg/g

Para el aceite esencial de *Ageratina pentlandiana*, el índice de refracción es de 1.4985

La densidad absoluta se obtuvo reemplazando los valores en la ecuación 7.

$$\text{Peso de la muestra} = 9.7346 \text{ g}$$

$$\text{Volumen} = 10 \text{ mL}$$

$$\rho = \frac{9.7346}{10} = 0.9735 \text{ g/mL}$$

La densidad absoluta del agua se obtuvo con la ecuación 7. Este dato nos es necesario para hallar la densidad relativa.

$$\text{Peso del agua} = 9.9825 \text{ g}$$

$$\text{Volumen} = 10 \text{ mL}$$

$$\rho = \frac{9.9825}{10} = 0.9982 \text{ g/mL}$$

La densidad relativa se obtuvo reemplazando valores en la ecuación 8.

$$\rho_r = \frac{0.9735}{0.9982} = 0.9752$$

El índice de acidéz se obtuvo reemplazando valores en la ecuación 9.

$$\text{Índice de acidez} = \frac{0.6 \times 0.075 \times 56.1}{0.3171}$$

$$\text{Índice de acidez} = 7.96 \text{ mg/g}$$

El índice de saponificación se halló reemplazando valores en la ecuación 10.

$$\text{Índice de saponificación} = \frac{56.1 \times 0.089 \times (13.8 - 9)}{0.3019}$$

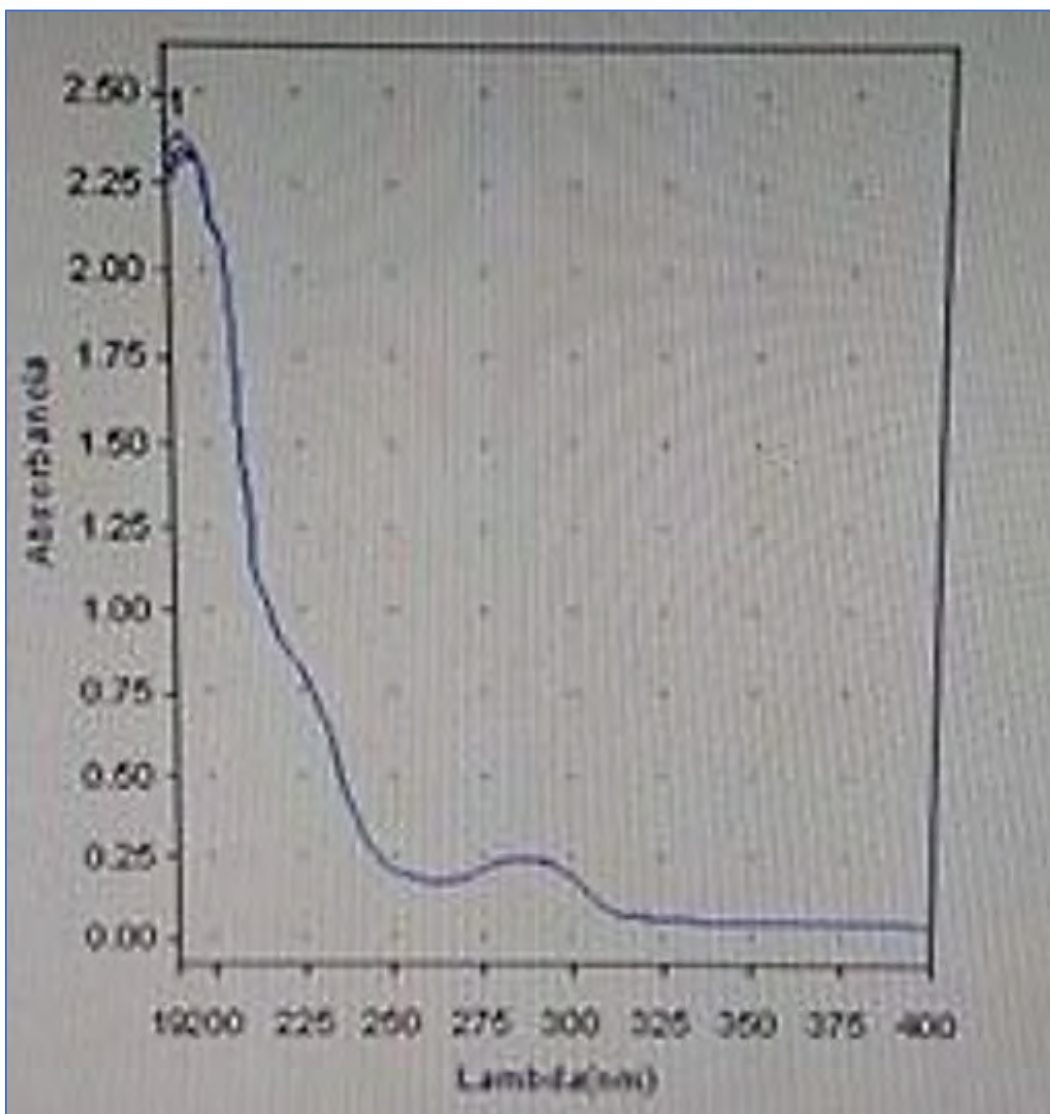
$$\text{Índice de saponificación} = 79.3836$$

4.5. DEL ESPECTRO UV DEL ACEITE ESENCIAL DE *A. pentlandiana*

El perfil espectroscópico UV del aceite esencial de *Ageratina pentlandiana*, se muestra en la figura 15.

Figura 15

Perfil espectroscópico UV de Ageratina pentlandiana.



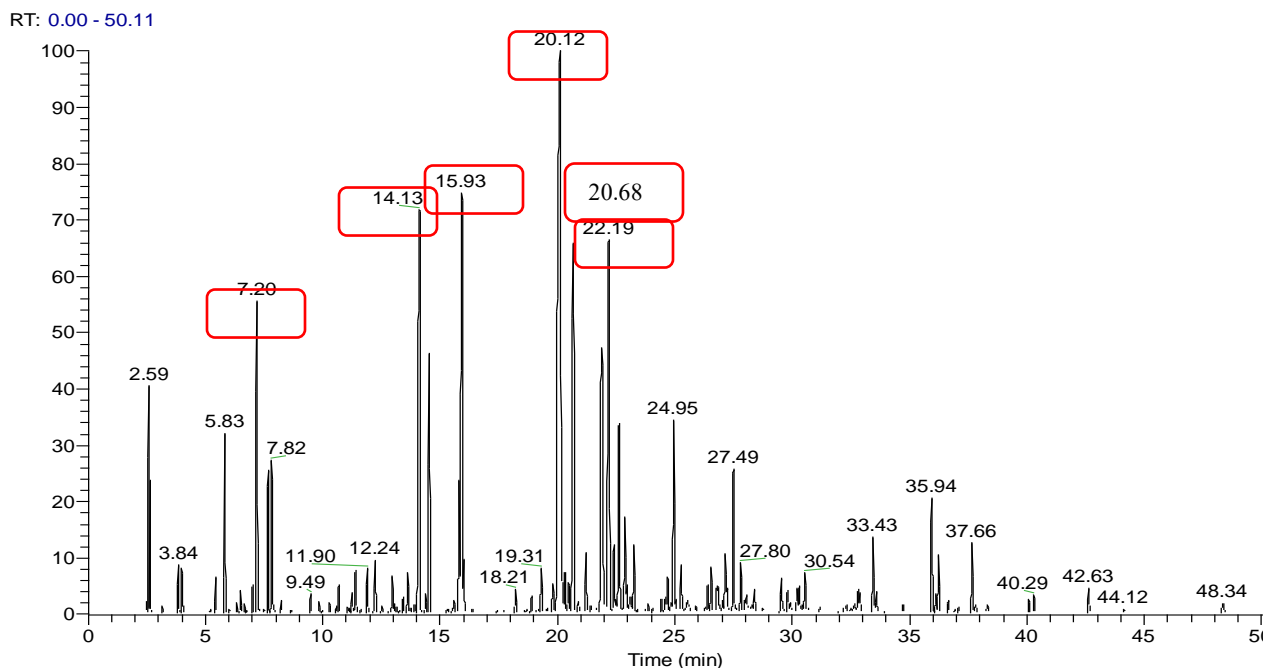
El espectro UV del aceite esencial de *Ageratina pentlandiana*, de acuerdo a sus bandas de absorción muestra característica de su composición, así presenta absorciones intensas entre 190 y 210 nm que indican la presencia de compuestos saturados o compuestos con insaturaciones aisladas; el hombro entre 225 y 240 nm, es señal de la presencia de componentes con insaturaciones conjugadas y la absorción entre 260 y 315 nm es característica de la presencia de componentes aromáticos.

4.6. DE LA COMPOSICIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Ageratina pentlandiana*

El perfil cromatográfico del aceite esencial de *Ageratina pentlandiana*, obtenido por cromatografía de gases, se muestran en la figura 16, donde el número de componentes se determinaron por el número de picos que muestra el cromatograma, debido a que cada uno de los picos son señales de la presencia de los componentes a diferente tiempo de retención.

Figura 16

Cromatograma del aceite esencial de Ageratina pentlandiana



El cromatograma del aceite esencial de *A. pentlandiana*, muestra 40 componentes, en las cuales se observan seis componentes mayoritarios, el pico de tiempo de retención 7.20 min corresponde al d-3-careno, el pico de tiempo de retención 14.13 min corresponde al timol metileter, el pico de tiempo de retención 15.93 corresponde al acetato de bornilo, el pico con un tiempo de retención 20.12 min corresponde a 2,5-dimetoxi-p-cimeno, el pico con tiempo de retención 20.68 min corresponde a 2-alil-1,4-dimetoxi-3-metilbenceno, y el pico con tiempo de retención 22.19 min corresponde a germacreno D.

La composición química del aceite esencial de *Ageratina pentlandiana*, determinada por cromatografía de gases / espectrometría de masas CG/EM, se muestra en la tabla 5.

Tabla 5

Componentes del aceite esencial de Ageratina pentlandiana.

n° de pico	Componente	RT min	% de componentes
1	alfa-pineno	5.44	0.28
2	Camfeno	5.83	1.62
3	Sabineno	6.33	0.09
4	beta-pineno	6.49	0.21
5	Mirceno	6.66	0.08
6	d-2-careno	7.01	0.25
7	d-3-careno	7.2	4.00
8	p-cimeno	7.67	1.44
9	Limoneno	7.82	1.58

n° de pico	Componente	RT min	% de componentes
10	Terpinoleno	9.49	0.19
11	Linalol	9.83	0.11
12	Ni	11.39	0.49
13	lavandulol	11.9	0.45
14	Borneol	12.24	0.63
15	alfa-terpineol	12.96	0.38
16	timol metil eter	14.13	8.13
17	2,4,6-trimetilacetofenona	14.54	3.39
18	perilla aldehido	15.59	0.18
19	lavandulil acetato	15.81	1.57
20	bornil acetato	15.93	7.04
21	Timol	16.01	0.51
22	neril acetato	18.21	0.24
23	beta-elemeno	19.31	0.55
24	2,5-Dimetoxi-p-cimeno	20.12	17.18
25	(E)-cariofylleno (beta-cariofileno)	20.32	0.44
26	beta-cedreno	20.47	0.39
27	2-Alil-1,4-dimetoxi-3-metil- benzeno	20.68	6.71
28	Ni	21.22	0.65

n° de pico	Componente	RT min	% de componentes
29	Ni	21.87	5.91
30	germacreno D	22.19	7.5
31	Ni	22.41	0.81
32	Bicyclogermacreno	22.62	2.47
33	bornil 3-metilbutanoato	22.87	1.06
34	germacreno A	22.96	0.23
35	d-cadineno	23.25	0.72
36	geranil isovalerato	24.69	0.38
37	Ni	24.95	2.54
38	cis-cadin-4-en-7-ol	26.54	0.53
39	alfa-cadinol	27.14	0.66
40	4-Vinilsiringol	27.49	1.69

Donde: RT es el tiempo de retención, (Ni) es componente no identificado

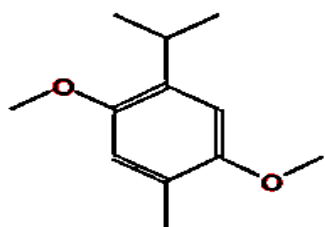
La tabla 5 muestra que se detectaron 40 componentes, de los cuales se lograron identificar por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas 35 componentes que se reportan en la tabla 5. Los componentes mayoritarios son la 2,5-Dimetoxi-p-cimeno (17.18 %), timol metil ether (8.13 %), germacreno D (7.5 %), bornil acetato (7.04 %), 2-Alil-1,4-dimetoxi-3-metil-benzeno (6.71 %) y d-3-careno (4.00 %). Las estructuras químicas de estos componentes mayoritarios se observan en la figura 17.

El porcentaje de cada componente en cromatografía se determina mediante el método de normalización del área, dividiendo el área individual de un pico entre el área total de los picos detectados (estos datos se tienen en el cromatograma obtenido) y multiplicando por 100. Por ejemplo, para el d-3-careno, utilizando la ecuación 11, se tiene:

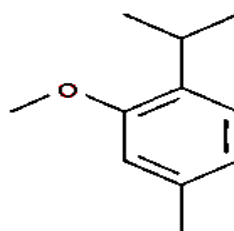
$$\% \text{ d-3-careno} = \left(\frac{1798}{4489} \right) * 100 = 4.00 \%$$

Figura 17

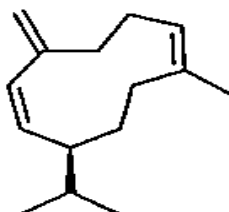
Estructuras químicas de los componentes mayoritarios



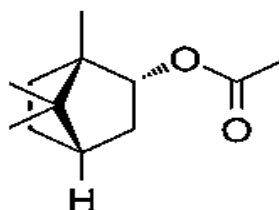
2,5-Dimetoxi-p-cimeno 17.18 %



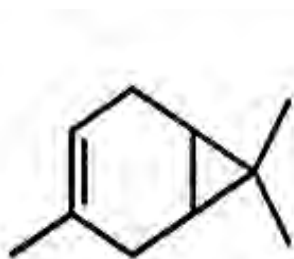
timol metil eter 8.13 %



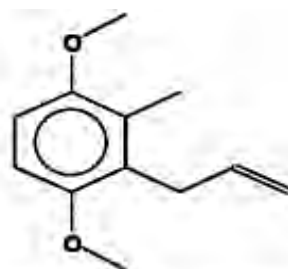
germacreno D 7.5 %



bornil acetato 7.04 %



d-3-careno 4.00 %



2-Alil-1,4-dimetoxi-3-metil-benzeno 6.71 %

Nota: El d-3-careno puede acelerar la curación, reparación y crecimiento óseo especialmente en casos de malnutrición o lesiones. (Jong et al., 2007)

Investigaciones desarrolladas sobre composición química de especies aromáticas del género *Ageratina*, reportan como componentes mayoritarios,

- *Ageratina neriifolia* a: germacreno-D (45,80 %), α -humuleno (5,99 %), mirceno (5,27 %), limoneno (5,13 %), biciclogermacreno (4,08 %), α -pineno (3,71 %) y δ -cadineno (3,27 %) (Ustariz et al., 2021)
- *Ageratina dendroides*: germacreno D (29,92), δ -cadineno (9,31) y cis -cadin-1,4-dieno (5,48) (Valarezo et al., 2021)
- *Ageratina adenophora*, un monoterpeno tipo timol, 2 α -metoxil-3 β -metil-6-(acetil- O - metil)-2,3-dihidrobencofurano, y un sesquiterpenoide tipo cadinano, 1,6-dihidroxi-1-isopropil-4,7-dimetil-3,4-dihidronaftalen-2(1 H)-ona (Luo et al., 2018)
- *Ageratina jocotepecana*: carvacrol, spathulenol y terpinen-4-ol (Ramirez et al., 2016)
- *Ageratina jahnii*: β -mirceno (37.6 %), α -pineno (17.1 %), limoneno (8.8 %), pentacosano (9.2 %). Mientras que para *Ageratina pichinchensis* a: isobutirato de 8,9-epoxitimilo (20.2 %), germacreno-D (19.8 %), isobutirato de timilo (10.8 %), eupatoriocromeno (6.5 %), enecalol (5.9 %) (Torres et al. (2013)
- *Ageratina adenophora* cultivada: p-cimeno (11,6%) epi- α -cadinol (7,4%), α -felandreno (5,7%), δ -2-careno (5,5%), γ -curcumeno (5,0%), canfeno (4,8%) (Palá-Paúl et al., 2002).

Algunos de los componentes, como el germacreno -D, cadineno, limoneno, mirceno y otros se encuentran en la mayoría de las especies del género *Ageratina*, pero no siempre en el mismo porcentaje. La variabilidad en su composición para el género, se debe fundamentalmente a la especie y a las condiciones medioambientales, (Karousou et al. 2005) indican que la diversidad

química de las especies vegetales, está determinada genéticamente y con las condiciones ecológicas donde se desarrolla.

4.7. DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL

La actividad antioxidante del aceite esencial de *Ageratina pentlandiana*, se determinó por el método DPPH, descrito y reportado por Brand-Williams (1995), con ligeras modificaciones.

La concentración inhibitoria del 50 % (CI 50) se determinó mediante regresión lineal obtenida a partir del gráfico del porcentaje de inhibición frente a la concentración de la muestra, en comparación con el antioxidante estándar Trolox.

Actividad antioxidante de Trolox

Los resultados de las absorbancias del estándar Trolox de diferente concentración, frente al radical DPPH se muestran en Tabla 6 y los resultados de la actividad antioxidante del estándar Trolox se muestran en la Tabla 7.

Tabla 6

Absorbancias del estándar Trolox a diferente concentración frente al radical DPPH.

Tiempo (min)	Concentración de Trolox			
	0.05 mM 0.0125 mg/mL*	0.2 mM 0.05 mg/mL*	0.5 mM 0.125 mg/mL*	1 mM 0.25 mg/mL*
0	0.9003	0.8580	0.6859	0.3119
15	0.8971	0.8554	0.6636	0.2251
30	0.8969	0.8341	0.6599	0.2226
45	0.8968	0.8340	0.6586	0.2114
60	0.8965	0.8339	0.6585	0.2110

Nota. *Concentración del estándar Trolox

Figura 18

Grafica de absorbancia vs concentración de Trolox

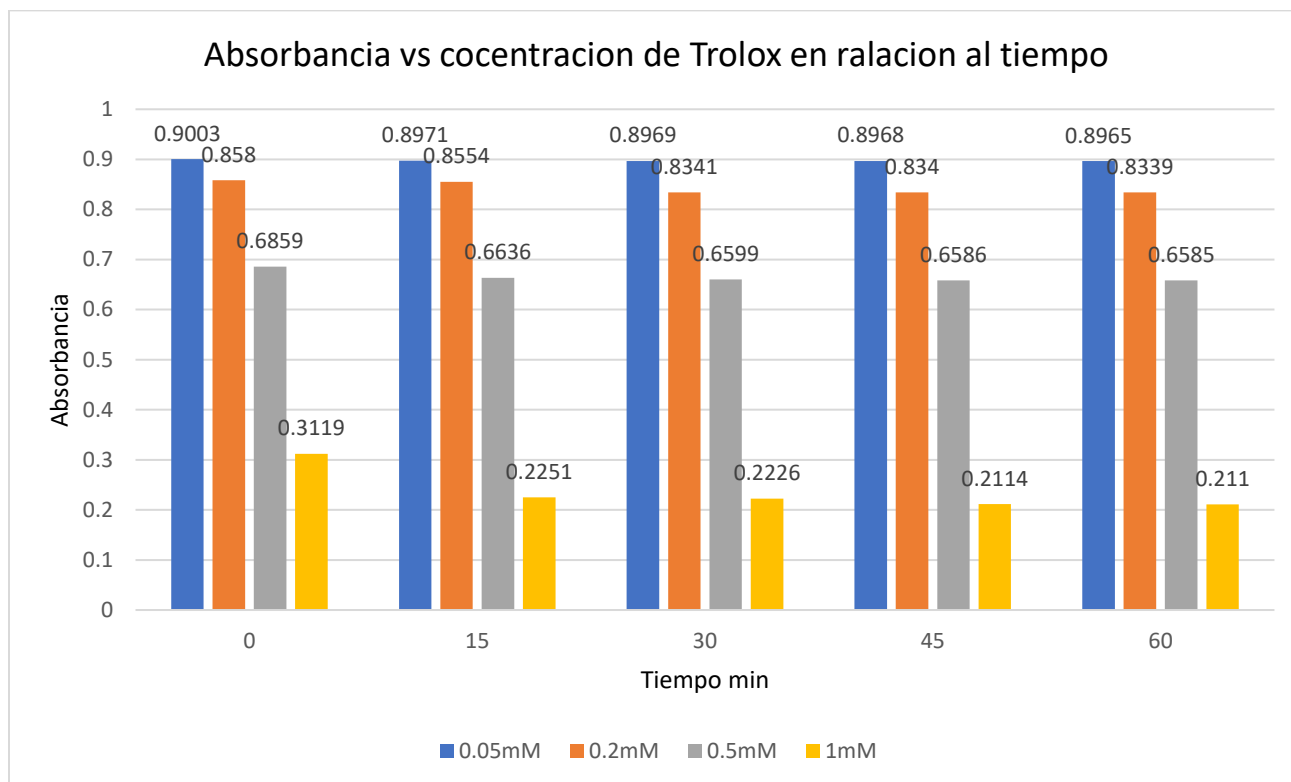


Tabla 7

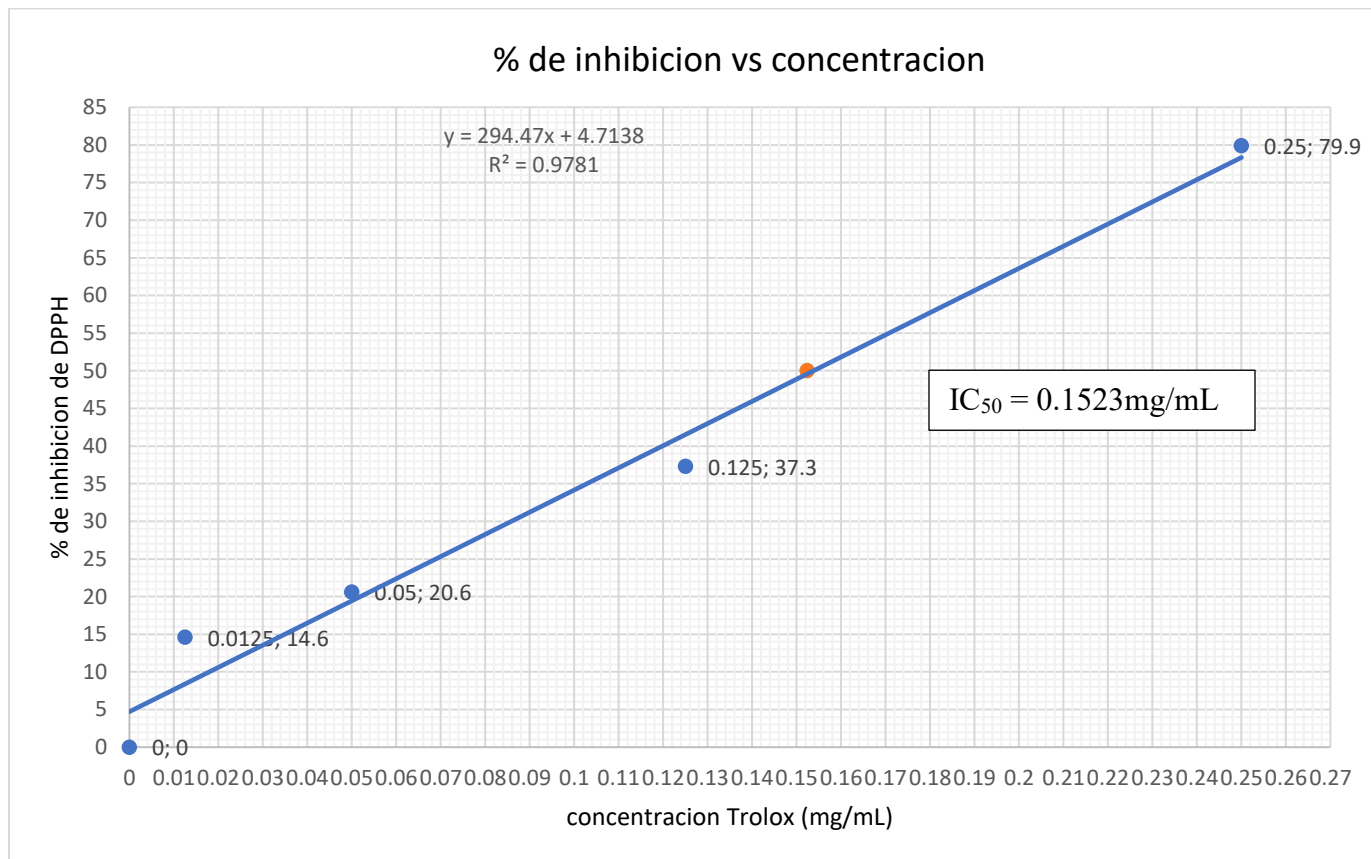
% de inhibición (actividad antioxidante) del estándar Trolox frente al radical DPPH·

Concentración	% de inhibición
0.0125 mg/mL	14.6
0.05 mg/mL	20.6
0.125 mg/mL	37.3
0.25 mg/mL	79.9

La curva de calibración del antioxidante Trolox, para el ensayo con radical DPPH·, se reporta en la figura 19.

Figura 19

Curva de calibración de Trolox para el ensayo con radical DPPH



De la curva estándar del antioxidante de referencia Trolox, se obtuvo la ecuación de correlación, con la cual se entrega su correspondiente equivalencia en Trolox según el porcentaje de actividad antioxidante obtenido.

$$y = 294.47x + 4.7138$$

$$R^2 = 0.9781$$

Con la ecuación obtenida se determinó la concentración inhibitoria media (IC₅₀) con un valor de 0.1523 mg/mL utilizando el intercepto en la pendiente de la línea de regresión lineal.

Actividad antioxidante del aceite esencial

Los resultados de las absorbancias del aceite esencial *Ageratina pentlandiana*, de diferente concentración, frente al radical DPPH se muestran en tabla 8 y los resultados de la actividad antioxidante del aceite esencial se muestran en la tabla 9

Tabla 8

Absorbancias del aceite esencial a diferente concentración frente al radical DPPH.

Tiempo (min)	Diluciones (concentración de aceite esencial)		
	1:30 31.4 mg/mL*	1:40 23.7 mg/mL*	1:50 19.1 mg/mL*
0	0.4982	0.5892	0.6902
15	0.4209	0.5033	0.5957
30	0.409	0.5008	0.5924
45	0.398	0.4952	0.5881
60	0.384	0.4852	0.5850

Nota. * Concentración de aceite esencial en las diluciones

Con las absorbancias determinadas para el aceite esencial a diferente concentración frente al radical DPPH·. Se calculó para cada concentración el % de inhibición con la ecuación 12.

Tabla 9

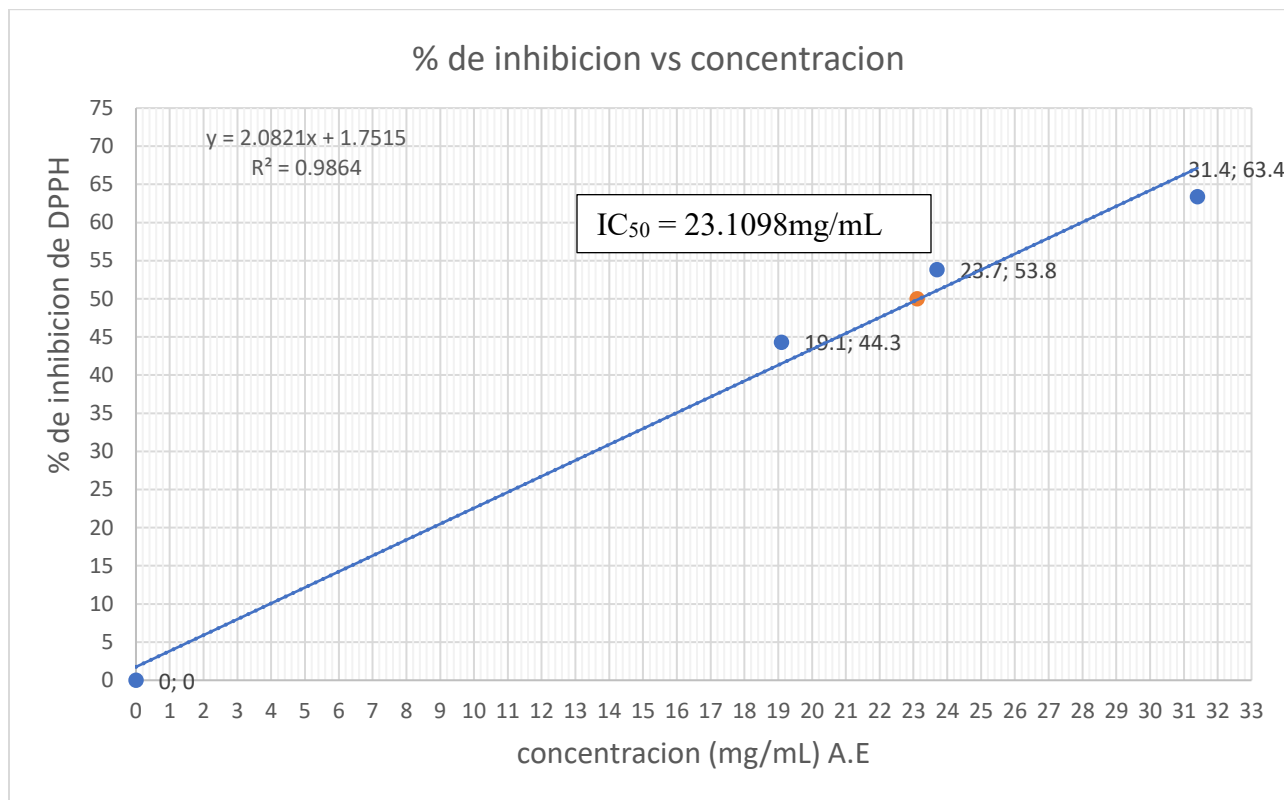
% de inhibición (actividad antioxidante) del aceite esencial frente al radical DPPH·

Concentración	% de inhibición
19.1 mg/ml	44.3
23.7 mg/ml	53.8
31.4 mg/ml	63.4

Con los resultados de actividad antioxidante (% de inhibición) calculado para las diferentes concentraciones de aceite esencial de *Ageratina pentlandiana* frente al radical DPPH·, se graficó la curva de calibración del aceite esencial para el ensayo con radical DPPH·, lo que se reporta en la figura 20.

Figura 20

Curva de calibración del aceite esencial para el ensayo con radical DPPH·



De la curva estándar del antioxidante aceite esencial, se obtuvo la ecuación de correlación, con la cual se entregan su correspondiente equivalencia del aceite esencial según el porcentaje de actividad antioxidante obtenido.

$$y = 2.0821x + 1.7515$$

$$R^2 = 0.9864$$

Para el aceite esencial de *Ageratina pentlandiana*, tenemos el resultado del IC_{50} (concentración inhibitoria al 50 %) un valor de 23.1098 mg/mL .

La actividad antioxidante del aceite esencial de *Ageratina pentlandiana*, se expresa como valor TEAC (capacidad antioxidante equivalente al Trolox) lo cual se obtiene con la ecuación 4.

$$TEAC = \frac{0.6092 (\mu\text{mol/ml})}{0.0231 (\text{g/ml})} = 26.37 \mu\text{mol/g}$$

La actividad antioxidante del aceite esencial de *Ageratina pentlandiana*. expresada como capacidad antioxidante equivalente al Trolox (TEAC) es de 26.37 μmol trolox/g de aceite esencial.

Los aceites esenciales, como mezclas de terpenos y compuestos aromáticos, recientemente han surgido como una alternativa natural debido a sus posibles propiedades antioxidantes. Si bien la eficacia de varios aceites esenciales requiere una mayor evaluación, algunos de ellos, como el orégano, el laurel y el romero, ya han demostrado su éxito en sistemas modelo o matrices alimentarias (Cavero et al., 2024).

Capacidad antioxidante (como % de inhibición) del aceite esencial de *Ageratina pentlandiana* frente al radical DPPH \cdot ; determinada a diferentes concentraciones de mg/mL de aceite esencial, se incrementa conforme se aumenta la concentración de aceite esencial; así como ocurre con el antioxidante estandar trolox.

Se ha calculado el valor inhibitorio medio máximo (IC50), cuyo valor representa la concentración de aceite esencial de *Ageratina pentlandiana* necesaria para neutralizar el 50% de la concentración inicial del radical DPPH. El resultado de (IC50) 23.1098 mg/mL, indica que el aceite esencial en estudio posee una actividad antioxidante relativamente baja en comparación con el IC50 del estandar trolox de 0.1525 mg/ml. Expresada como capacidad antioxidante equivalente al trolox (TEAC) es de 26.37 μmol trolox/g de aceite esenci

CONCLUSIONES

1. El porcentaje de extracción del aceite esencial de la especie *Ageratina Pentlandiana* (*manca paqui*), en base a muestras de hojas frescas, por el método de hidrodestilación con trampa de Clavenger, es de 0.34 % y se concluye que la especie tiene un bajo porcentaje de extracción de aceite esencial pero dentro del rango mencionado en bibliografía.
2. El aceite esencial presenta las siguientes características fisicoquímicas: densidad de 0.9735 g /cm³, índice de refracción de 1.4985, índice de acidez de 7.96 mg/g e índice de saponificación de 79.3836 mg/g.
3. El aceite esencial de la especie *Ageratina Pentlandiana* (*manca paqui*), muestra en su composición química como componentes mayoritarios, a: 2,5-Dimetoxi-p-cimeno (17.18 %), timol metil ether (8.13 %), germacreno D (7.5 %), bornil acetato (7.04 %) 2-Alil-1,4-dimetoxi-3-metil-benzeno (6.71 %) y d-3-careno (4.00 %)
4. El aceite esencial de *Ageratina pentlandiana* presenta una actividad antioxidante relativamente baja frente al radical DPPH·, con una concentración inhibitoria media (IC₅₀) de 23.10 mg/mL y expresada como capacidad antioxidante equivalente al trolox (TEAC) de 26.37 μmol trolox/g de aceite esencial.

RECOMENDACIONES

Desarrollar otras pruebas de aplicación con el aceite esencial de *Ageratina Pentlandiana*, para posibilitar su aplicación y dotarle de un valor agregado.

Realizar el tamizaje fitoquímico y bromatológico de las partes aéreas de esta especie, para detectar presencia de otros metabolitos secundarios interés tecnológico y posibilitar otras aplicaciones, así buscar una aplicación integral de la especie.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abascal, J. (2007). *ESPECTROMETRIA DE MASAS*. Obtenido de Museo Nacional de Ciencias Naturales (AMNCN-CSIC):
http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/espectrometria_de_masas.pdf
- Aggarwal, G., Pal, P., Kuma, M., & Sharma, U. (2023). NADES-based essential oil extraction and isolation of new epoxy sesquiterpene from *Ageratina adenophora* flowers, *Journal of Molecular Structure*, 1292. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.136077>.
- Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiqzaman, M. (2012). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*; 21:, 143-152.
- Alamed, J., Chaiyasit, W., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2009). Relationships between free radical scavenging and antioxidant activity in foods. *Food Chemistry*, 57.
- Aredo, V., Cabrera, j., & Sichi, R. (2017). Inventario de especies vegetales de La Libertad (Perú) y análisis de su potencial agroindustrial. (U. N. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Ed.) *Agroindustrial Science*, 87-104. Obtenido de
<http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/agroindscience>
- Bolaños, T., Camargo, Y., & Vélez, A. (2015). EMISIONES BIOGÉNICAS DE MONOTERPENOS EN EL PARQUE NACIONAL. *Revista Luna Azul*, 102-116.
Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=321733015008>
- Bruneton, J. (2001). *fitoquímica, plantas medicinales*. Zaragoza.
- Cañigueral, S., & Vila, R. (2007). LOS ACEITES ESENCIALES EN FITOTERAPIA. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas*, 6(5), 146. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/856/85617508002.pdf>

- Cerpa , M. (2017). Hidrodestilación de aceites esenciales: modelado y caracterizado [Tesis de doctorado, Universidad de Valladolid].
- Christian, B. (2008). Recuperado el 5 de Abril de 2021, de Planète fleurs:
<http://www.planetefleurs.fr/>
- Domínguez, X. (1979). *Métodos de Investigación Fitoquímica*. Mexico.
- Eiroa, J., Triana , J., Perez , F., Castillo , Q., & Brouard, I. (2017). ESTUDIO QUIMICO DE DOS ESPECIES DE AGERATINA. *DIGITAL.CS CIENCIA EN ABIERTO*. Obtenido de <http://hdl.handle.net/10261/185510>
- Eseberri, I., Trepiana, J., Leniz, A., García , I., Ugarte, H., González, M., & Portillo, M. (2022). Variability in the Beneficial Effects of Phenolic Compounds: A Review. *Nutrients*, 1925. Obtenido de <https://www.mdpi.com/2072-6643/14/9/1925>
- Fernández , R. (2024). *Actividad biológica in vitro y composición química de aceites esenciales extraídos de especies vegetales de la provincia de Jaen- Cajamerca*[Tesis de doctorado,Univercidad Nacional de Santa]. Obtenido de [file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/Tesis%20Fern%C3%A1ndez%20Rosillo%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/Tesis%20Fern%C3%A1ndez%20Rosillo%20(1).pdf)
- Gary, C. (2009). *Química Analítica* (sexta ed.). (R. A., Ed.) Mexico: McGRAW-HILL.
- Guerra , D., & Panduro, D. (2012). Obtenido de Monografias.com:
<https://www.monografias.com/trabajos97/aceites-esenciales/aceites-esenciales.shtml>
- Gutierrez, J. R. (2022). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *revista cubana de medicina militar*, 31(2).
- Halliwell, B., & Whiteman, M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damager in vivo and in cell culture. *Pharmacol*, 142.

- Herbario Vargas Cuz. (2023). Certificado de determinacion taxonomica N° 21-2023-HVC-FCB-UNSAAC.
- Jong, G., Young, S., Yong, K., & Seong, H. (2007). Low concentration of 3-carene stimulates the differentiation of mouse osteoblastic MC3T3-E1 subclone 4 cells. *Phytotherapy Research*, 18-22. Obtenido de <https://doi.org/10.1002/ptr.2247>
- Julian, L. L. (2012). Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. *Biblioteca Digital Lasallista*(9).
- Karousou, R., Koureas , D. N., & Kokkini, S. (2005). La composición del aceite esencial está relacionada con los hábitats naturales: *Coridothymus capitatus* y *Satureja thymbra* en los sitios NATURA 2000 de Creta. *Fitoquímica*, 66:2668-2673. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.09.020>
- King, R. M., & Robinson, H. E. (1970). AGERATINA. *in: phytology*, 19:227.
- Lock, d. O. (1994). *INVESTIGACION FITOQUIMICA* (SEGUNDA ed.). (Y. L. M., Ed.) LIMA-PERU: fondo editorial 1994.
- Luo , B., Li-Mie, D., Qiao-Lin, X., Zhang, X., Zhang , Q., Wen-Bin, L., & Jian-Wen, T. (2018). *A new monoterpene and a new sesquiterpene from the roots of Ageratina adenophora*. *Phytochemistry Letters*, 24, 67-70. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2018.01.012>.
- Maria, Y. y. (2014). *Obtencion de aceites esencial*.
- Martínez, A. (2023). *Aceites Esenciales* . Obtenido de https://www.med-informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA_esencias2001b.pdf

- Martínez, G., & Maria, E. (2012). Aplicación de la ley de Lambert-Beer en espectroscopía UV-visible. *RiuNet repositorio institucional UPV*. Obtenido de <https://riunet.upv.es/handle/10251/16360>
- Montes, S. (2012). Recuperado el 24 de Abril de 2018, de Composicion quimica de los aceites esenciales: <https://es.scribd.com/doc/113509945/Composicion-Quimica-de-Aceites-Esenciales>
- Moreno, M. (2021). Nuevas técnicas electroquímicas para la determinación de la capacidad antioxidante en extractos alimentarios basadas en el método CUPRAC. *Campus de Rabanales*, 19.
- Norma Técnica Peruana NTP 319.075. (1974). *Aceites esenciales: Determinación del índice de refracción*.
- Norma Técnica Peruana NTP 319.081. (1974). *Aceites esenciales: Determinación de la densidad y densidad relativa*.
- Nur, A., Nusrat, J., & Rafiquzzaman, M. (2013). Revisión de la evaluación de métodos in vivo e in vitro de la actividad antioxidante. *Revista farmacéutica saudita*, 21(2).
- Owen, T. (2000). *Fundamentals of modern UV-visible spectroscopy : primer*. Alemania : Agilent Technologies.
- Padrini, F. (2017). *EL GRAN LIBRO DEL MASAJE CON LOS ACEITES ESENCIALES* . (2. Parkstone International, Ed.) Italia : Editorial De Vecchi, S. A. 2016.
- Palá-Paúl, J., Pérez Alonso, M. J., Velasco-Negueruela, A., & Sanz, J. (2002). *Analysis by gas chromatography–mass spectrometry of the volatile components of Ageratina adenophora Spreng., growing in the Canary Islands. Journal of Chromatography A*, 947, (2), 327-331. Obtenido de [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)00016-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)00016-X).

- Pedrozo, J. (2001). Química y actividad antimicrobiana de plantas autóctonas Colombianas. *Tesis de doctorado. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá.*
- Pérez, J. (2019). Polifenoles de la dieta y enfermedades cardiometabólicas. *ANALES RANM*, 298-307. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.32440/ar.2019.136.03.rev11>
- Perkampus, H.-H. (1992). *UV-VIS Spectroscopy and Its Applications*. Berlin: Springer Laboratory.
- Pino , A. A. (2015). *Aceites esenciales. Química, bioquímica, produccion y usos*. La Habana Cuba: Editorial Univercitaria.
- Quiñones, M., Miguel , M., & Aleixandre, A. (2012). The polyphenols, naturally occurring compounds with beneficial effects on cardiovascular disease. *SciELO Analytics*, 76-89. Obtenido de https://scielo.isciii.es/pdf/nh/v27n1/09_revision_08.pdf
- Radon, B. (2011). *Etnobotanica del distrito de Ocongate-Quispicanchis-Cusco*. Obtenido de <https://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/827/253T20110011.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ramirez , C., Garcia , E., Martinez , R., Del Rio, R., & Martinez, M. (Enero de 2016). Composición química del aceite esencial de *Ageratina jocotepecana* y su efecto repelente. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 15(1).
- Requejo , A. (2020). *Aceites esenciales en sinergia*.
- Rodas, M. (2012). *Análisis de parámetros microbiológicos y fisicoquímicos de un aceite esencial de romero obtenido por medio de la destilación por arrastre de vapor [Tesis de doctorado, Universidad Rafael Landívar]*. Guatemala.

- Rodríguez , O., Andrade, W., & Diaz, F. (marzo de 2015). Actividad antioxidante de extractos de hojas de *Bocaina Frutescens L.* (papaveraceae). *Investigación Científica y Tecnológica*, II(14).
- Rodríguez Mayusa J, D. T. (2018). Actividad antioxidante de los extractos y fracciones de hojas e inflorescencias de *Ageratina gracilis*. *ciencia desarrollo e innovacion*, II(2).
- Rodriguez, S. (2001). Determinacion de los factores de emision de monoterpenos en tres especies tipicas de la vegetacion terrestre mediterranea: *pinus pinea*, *pinus halepensis* y *quercus ilex* [Tesis doctoral, Univeidad Politecnica de Cataluña]. Obtenido de <http://www.tdx.cat/TDX-0109102-130702>
- Sanchez, M. F. (2006). *manual practico de ASEITES ESENCIALES, AROMAS Y PERFUMES* (Primera ed.). España: AIYANA.
- Simran, G., Ranabir , S., Paramita, P., Gouranga , N., & Tarun , D. (2022). *An updated review on Eupatorium adenophorum Spreng. [Ageratina adenophora (Spreng.)]: traditional uses, phytochemistry, pharmacological activities and toxicity. Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine, 2. <https://doi.org/10.1016/j.prmcm.2022.10>*.
- Singh, S. (2010). Biodiesel production through the use of different sources and characterization of oils and their esters as the substitute of diesel. *a review. Renew Sustain Energy* .
- Solís, L., Pino, J., Solís, J., Tomaylla, C., & Aragón, L. (2018). *PLANTAS Y ACEITES ESENCIALES COMO INSECTICIDA*. CUSCO.
- Stashenko, E. E. (2019). *aceites esenciales* . santander.
- Stratakos, A., & Koidis, A. (2016). Capítulo 4 - Métodos para extraer aceites esenciales En V. R. *Aceites esenciales para la conservación, el sabor y la seguridad de los alimentos*.

- ACADEMIC PREES*, 31-38. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00004-3>
- Torres, L., Rojas, J., Morales, A., Rojas, L., Lucena, M., & Buitrago, A. (enero de 2013). composición química y evaluación de la actividad antibacteriana. *Boletín latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas*, 12(1).
- Tsao, R. (2010). Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*, 1231-1246. Obtenido de <https://doi.org/10.3390/nu2121231>
- Ustariz, F., Lucena, U., Meza, B., Soto, C., Beltrán, F., Cordero, R., . . . Cáceres, M. (2021). Composición y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Ageratina neriifolia* (Asteraceae) de Mérida-Venezuela. *revista cubana de farmacia*, vol. 5 N° 1.
- Valarezo, E., Aguilera, R., Meneses, M. Á., & Morocho, V. (2021). Estudio de los aceites esenciales de las hojas de las especies de la familia Asteraceae *Ageratina dendroides* y *Gynoxys verrucosa*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 24(3), 400-407. Obtenido de <https://doi.org/10.1080/0972060X.2021.1948919>
- Vicente, A., Manganares, G., & Sozzi, G. (2009). *Nutritional quality* (segunda ed.). (c. university, Ed.) San Diego.
- Villamizar, M., & Aular, Y. (2022). Review of the extraction methods of the essential oil of *Lippia alba*. *Revista Ingeniería UC*, 3-14. Obtenido de https://www.researchgate.net/profile/Yalitza-Aular/publication/360473984_Review_of_the_extraction_methods_of_the_essential_oil_of_lippia_alba/links/627934d12f9ccf58eb39feb2/Review-of-the-extraction-methods-of-the-essential-oil-of-lippia-alba

ANEXOS

Figura 21

Flor de Ageratina pentlandiana

**Figura 22**

Obtención del aceite esencial de Ageratina pentlandiana



Figura 23

Refractómetro ABBE utilizado para el índice de refracción

**Figura 24**

Índice de refracción

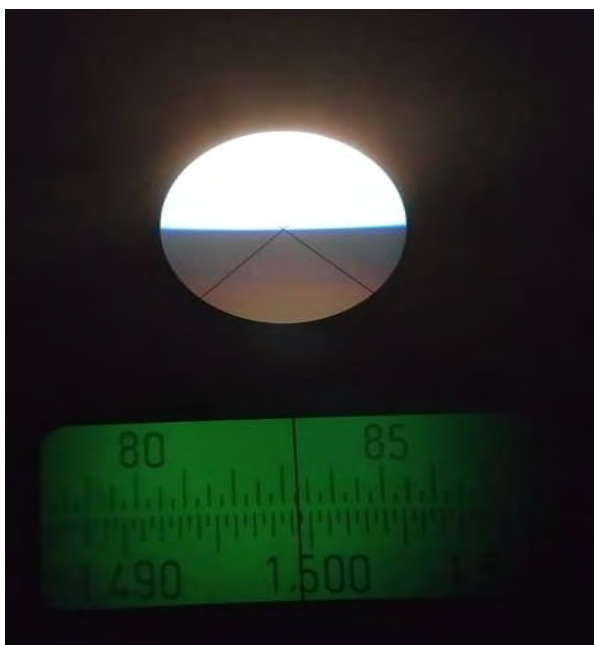


Figura 25

Densidad del aceite esencial

**Figura 26**

Equipo utilizado para la actividad antioxidante por el método DPPH



Figura 27

Disolventes utilizados para la solubilidad

**Figura 28**

Preparación de soluciones para el método DPPH



Figura 29

Reflujo del aceite esencial para el índice de saponificación

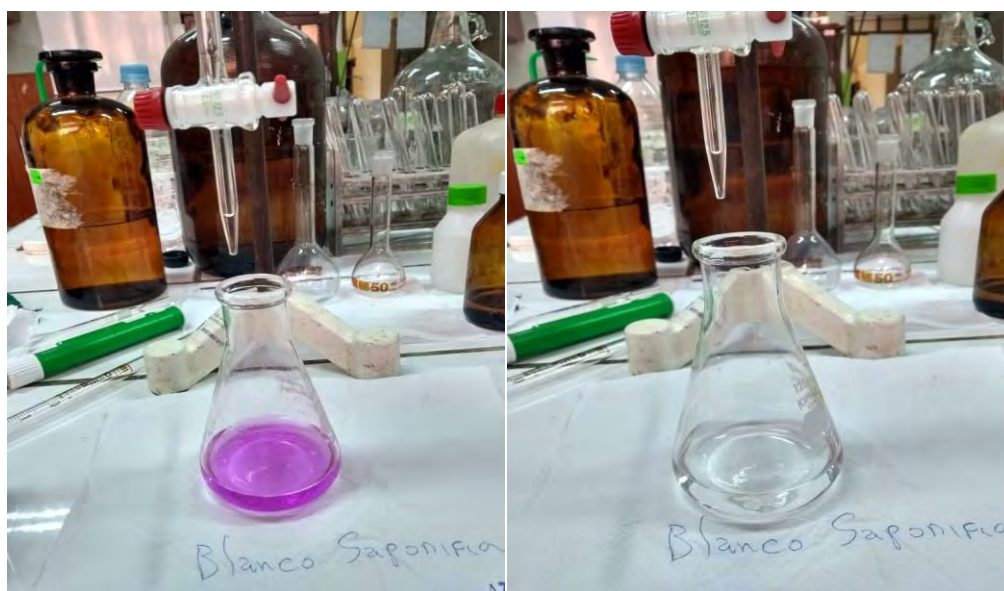
**Figura 30**

Titulación para el índice de saponificación



Figura 31

Titulación de blanco para determinar el índice de saponificación

**Figura 32**

Titulación para determinar el índice de acides



Figura 33

Muestras de aceites esenciales estudiadas

**Figura 34**

Cromatógrafo de Gases – Espectrómetro de Masas (GC-MS). (Termo SCIENTIFIC, Trace 1310, ISQ QD)





UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

- **APARTADO POSTAL**
N° 921 - Cusco - Perú
- **FAX:** 238156 - 238173 - 222512
- **RECTORADO**
Calle Tigre N° 127
Teléfonos: 222271 - 224891 - 224181 - 254398
- **CIUDAD UNIVERSITARIA**
Av. De la Cultura N° 733 - Teléfonos: 228661 - 222512 - 232370 - 232375 - 232226
- **CENTRAL TELEFÓNICA:** 232398 - 252210
243835 - 243836 - 243837 - 243838
- **LOCAL CENTRAL**
Plaza de Armas s/n
Teléfonos: 227571 - 225721 - 224015
- **MUSEO INKA**
Cuesta del Almirante N° 103 - Teléfono: 237380
- **CENTRO AGRONÓMICO K'AYRA**
San Jerónimo s/n Cusco - Teléfonos: 277145 - 277246
- **COLEGIO "FORTUNATO L. HERRERA"**
Av. De la Cultura N° 721
"Estadio Universitario" - Teléfono: 227192

HERBARIO VARGAS CUZ

CERTIFICADO DE DETERMINACIÓN TAXONÓMICA N° 21-2023-HVC-FCB- UNSAAC

La Directora del Herbario Vargas CUZ, Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), deja constancia que: **Erickson Gilmer Quispe Toncochi**, Bachiller de la Escuela Profesional de Química de la UNSAAC; ha presentado a la Dirección del Herbario Vargas CUZ, una (01) muestra botánica para su determinación taxonómica (expediente N°527020), para el proyecto de investigación de tesis, "**COMPOSICION QUIMICA Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE *Ageratina pentlandiana* (DC.) R.M. King & H. Rob. (*manca paqui*)**", la que al ser diagnosticada por el Mgt. Abel Monteagudo Mendoza, utilizando claves dicotómicas, consulta con bibliografía especializada, y comparación con muestras del herbario, concuerdan con la siguiente especie; de acuerdo a la clasificación del Grupo del Sistema Filogenético de las Angiospermas (Angiosperm Phylogeny Group-APG IV, 2016).

N°	FAMILIA	ESPECIE	NOMBRE COMUN
1	Asteraceae	<i>Ageratina pentlandiana</i> (DC.) R.M. King &	"manca paqui"

Se le expide la presente certificación a petición formal de la interesada para los fines que viera por conveniente.

Cusco, 10 de mayo de 2023

Blga. María Luisa Ochoa Cámara
Directora del Herbario Vargas CUZ



TABLA COMPLETA DEL CROMATOGRAMA

N°	componente	Ape x RT	Star t RT	End RT	Area	%Area	Height	%Heigh t
1	a-pinene	5.44	5.37	5.52	1.248E+0 9	0.28	5.98E+0 8	0.57
2	camphene	5.83	5.72	5.91	7.265E+0 9	1.62	2.96E+0 9	2.82
3	sabinene	6.33	6.26	6.43	39172901 3	0.09	1.72E+0 8	0.16
4	b-pinene	6.49	6.44	6.6	94623507 9	0.21	3.78E+0 8	0.36
5	myrcene	6.66	6.61	6.72	36056979 1	0.08	1.59E+0 8	0.15
6	d-2-carene	7.01	6.95	7.1	1.132E+0 9	0.25	4.6E+08	0.44
7	d-3-carene	7.2	7.11	7.28	1.799E+1 0	4	5.12E+0 9	4.87
8	p-cymene	7.67	7.59	7.75	6.451E+0 9	1.44	2.36E+0 9	2.24
9	limonene	7.82	7.76	7.96	7.094E+0 9	1.58	2.53E+0 9	2.4
10	terpinolene	9.49	9.42	9.56	84176796 7	0.19	3.2E+08	0.3
11	linalool	9.83	9.77	9.9	49217878 6	0.11	1.89E+0 8	0.18
12	Ni	11.3 9	11.3	11.48	2.223E+0 9	0.49	6.74E+0 8	0.64
13	lavandulol ?	11.9	11.8 3	12.01	2.017E+0 9	0.45	7.33E+0 8	0.7
14	borneol	12.2 4	12.1 8	12.32	2.828E+0 9	0.63	8.73E+0 8	0.83
15	a-terpineol	12.9 6	12.9 1	13.01	1.721E+0 9	0.38	5.93E+0 8	0.56
16	thymol methyl ether	14.1 3	14.0 1	14.17	3.653E+1 0	8.13	6.56E+0 9	6.24
17	2,4,6- trimethylacetopheno ne	14.5 4	14.4 6	14.61	1.524E+1 0	3.39	4.28E+0 9	4.07
18	perilla aldehyde	15.5 9	15.4 8	15.66	82659998 1	0.18	1.99E+0 8	0.19
19	lavandulyl acetate	15.8 1	15.7 2	15.85	7.062E+0 9	1.57	2.15E+0 9	2.05
20	bornyl acetate	15.9 3	15.8 5	15.98	3.164E+1 0	7.04	6.9E+09	6.57

N°	componente	Ape x RT	Star t RT	End RT	Area	%Are a	Height	%Heigh t
21	thymol	16.0 1	15.9 8	16.06	2.281E+0 9	0.51	8.32E+0 8	0.79
22	neryl acetate	18.2 1	18.1 5	18.29	1.101E+0 9	0.24	3.89E+0 8	0.37
23	b-elemene	19.3 1	19.2 2	19.38	2.461E+0 9	0.55	7.1E+08	0.68
24	2,5-Dimethoxy-p- cymene	20.1 2	19.9 4	20.17	7.722E+1 0	17.18	8.45E+0 9	8.04
25	(E)-caryophyllene (b-caryophyllene)	20.3 2	20.2 6	20.38	1.984E+0 9	0.44	5.86E+0 8	0.56
26	b-cedrene	20.4 7	20.3 9	20.54	1.751E+0 9	0.39	4.6E+08	0.44
27	2-Allyl-1,4- dimethoxy-3-methyl- benzene	20.6 8	20.5 8	20.73	3.017E+1 0	6.71	6.01E+0 9	5.72
28	Ni	21.2 2	21.1 5	21.32	2.917E+0 9	0.65	9.67E+0 8	0.92
29	Ni	21.8 7	21.8	21.97	2.655E+1 0	5.91	4.05E+0 9	3.86
30	germacrene D	22.1 9	22.0 9	22.25	3.372E+1 0	7.5	6.02E+0 9	5.73
31	Ni	22.4 1	22.3 2	22.47	3.658E+0 9	0.81	1.06E+0 9	1.01
32	bicyclogermacrene	22.6 2	22.5 4	22.71	1.11E+10	2.47	3.01E+0 9	2.87
33	bornyl 3- methylbutanoate	22.8 7	22.8 1	22.92	4.753E+0 9	1.06	1.5E+09	1.42
34	germacrene A	22.9 6	22.9 2	23	1.055E+0 9	0.23	3.64E+0 8	0.35
35	d-cadinene	23.2 5	23.1 9	23.34	3.235E+0 9	0.72	1.07E+0 9	1.02
36	geranyl isovalerate	24.6 9	24.6 4	24.75	1.709E+0 9	0.38	5.44E+0 8	0.52
37	Ni	24.9 5	24.8 7	25.01	1.14E+10	2.54	3.13E+0 9	2.98
38	cis-cadin-4-en-7-ol	26.5 4	26.4 7	26.66	2.396E+0 9	0.53	7.23E+0 8	0.69
39	a-cadinol	27.1 4	27.0 8	27.19	2.991E+0 9	0.66	9.04E+0 8	0.86
40	4-Vinylsyringol ??	27.4 9	27.4 1	27.58	7.603E+0 9	1.69	2.33E+0 9	2.22
AREA TOTAL					4.489E+11			

