UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCAVELICA

(CREADA POR LEY N° 25265)

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE AGROINDUSTRIAS

TESIS

"EXTRACCION Y CARACTERIZACION DE ACEITE ESENCIAL DE CHIKCHIMPAY *(Tagetes terniflora H.B.K.)*"

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

CIENCIA Y TECNOLOGIA DE LOS PRODUCTOS AGROINDUSTRIALES

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

PRESENTADO POR EL BACHILLER:

CCOÑAS ANTEZANA, Washington

ACOBAMBA – HUANCAVELICA

2012

ASESOR:

Ing. Roberto Carlos Chuquilín Goicochea

CO – ASESOR:

Ing. Joseph Obed Ricaldi Sarapura

ACTA DE SUSTENTACIÓN O APROBACIÓN DE UNA DE LAS MODALIDADES DE TITULACIÓN

En la Ciudad Universitaria de "Común Era"; auditorio de la Facultad de Ciencias Agrarias, a los 13 días del mes de diciembre del año 2012, a horas 08:00 a.m.; se reunieron; el Jurado Calificador, conformado de la siguiente manera:

Presidente : Ph. D. Agustín PERALES ANGOMA

Secretario : Ing. Rafael Julián MALPARTIDA YAPIAS

Vocal : Ing. Alfonso RUIZ RODRÍGUEZ

Accesitario :

Designados con **RESOLUCIÓN Nº 068-2012-CF-FCA-UNH**; del: proyecto de investigación o examen de capacidad o informe técnico u otros. Intitulado:

"EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE CHIKCHIMPAY (*Tagetes terniflora H.B.K*)"

Cuyo autor es el graduado:

BACHILLER: **CCOÑAS ANTEZANA, Washington**

A fin de proceder con la evaluación y calificación de la sustentación del: proyecto de investigación o examen de capacidad o informe técnico u otros, antes citado.

Finalizado la evaluación; se invito al público presente y la sustentante abandonar el recinto; y, luego de una amplia deliberación por parte del jurado, se llegó al siguiente resultado:

APROBADO [X] **POR** MAYORIA

DESAPROBADO [ ]

En conformidad a lo actuado firmamos al pie.

Presidente

Secretario

Vocal

Accesitario

DEDICATORIA

Con cariño y gratitud a mis padres, Toribio y Santa que me dieron la vida y dieron la suya por verme siempre feliz, por su esfuerzo, ejemplo y confianza, que me inspiraron a seguir adelante en el cumplimiento de mis metas trazadas y que descansen en paz y me iluminen en mí camino.

A mis hermanas, Bertha, Alejandra y Alfonso Ferrua Aguirre,

A mis sobrinos Anthony, Jans, Stefhany mi familia quienes de una u otra forma me brindaron su apoyo en los momentos difíciles de mi carrera profesional y de ellos se cumpla sus sueños.

De manera especial al gran amor de mi vida mi hermosa Naylea Massiel por ser mi razón de ser y de salir adelante cada día. Base de este paso tan importante en mi vida.

Agradecimiento.

Quiero expresar mi agradecimiento:

A Dios Todopoderoso por iluminarme el camino a seguir y que siempre está conmigo en los buenos y sobre todo en los malos momentos.

A la Escuela Académico Profesional de Agroindustrias de la Facultad de Ciencias Agrarias, por abrirme las puertas de sus instalaciones para poder estudiar y desarrollarme como profesional.

A mi asesor de Tesis al Ing. Roberto Carlos CHUQUILIN GOICOCHEA por su generosidad al brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia científica en un marco de confianza, afecto y amistad, fundamentales para la realización de esta tesis.

A mi familia por apoyarme económica y sentimentalmente, este proyecto es de todos ustedes.

A todos, de corazón,

GRACIAS

ÍNDICE

INDICE DE CUADROS

INDICE DE FIGURAS

INDICE DE ANEXOS

RESUMEN

Pág.

CAPÍTULO I: PROBLEMA
1.1. Planteamiento del problema 14
1.2. Formulación del problema 15
1.2.1. Problema general 15
1.2.2. Problemas específicos 15
1.3. Objetivo: General y específicos 15
1.3.1. Objetivo general 15
1.3.2. Objetivos específicos 15
1.4. Justificación 17
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO 17
2.1. Antecedentes
2.2. Bases teóricas 22
2.2.1. Aspectos generales del chikchimpay 22
A. Clasificación taxonómica
B. Uso 22
C. Ecología 22
D. Origen y usos etnobotánicas 23
2.2.2. Definición del aceite esencial 23
2.2.3. Clasificación de los aceites esenciales 26
2.2.4. Componentes de los aceites esenciales 26
2.2.5. Consideraciones de los aceites esenciales de tagetes 29
2.2.6. Aplicaciones de aceites esenciales 30
2.2.7. Toxicidad de aceites esenciales 30
2.2.8. Características de los aceites esenciales 31
2.2.9. Factores que afectan el rendimiento de los aceites esenciales 31
2.2.9.1. Tipo de materia prima 31
2.2.9.2. Tiempo de secado 32
2.2.9.3. Tamaño de partícula 32
2.2.9.4. Tiempo de extracción 32
2.2.9.5. Método de extracción 32
2.2.10. Terpenos 32
2.2.11. Métodos de extracción de sustancias naturales 33
2.2.12. Hidrodestilación 34
2.2.13. Análisis y detección mediante GC-MS 36
A. Cromatografía de gases 36
B. Descripción de la técnica 38
b.1. Fase móvil *38*
b.2. Sistemas de inyección *38*

b.3. Columnas 38
b.4 Sistema de detectores 38
2.3. Hipótesis 39
2.4. Identificación de variables 40
2.4.1. Variable independiente 40
2.4.2. Variable dependiente 40
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN
3.1. Ámbito de estudio 41
3.2. Tipo de investigación 41
3.3. Nivel de investigación 41
3.4. Método de investigación 42
3.4.1. extracción del aceite esencial 42
3.4.2. composición química de aceites esenciales 42
3.5. Diseño de investigación 42
3.5.1. Descripción del diseño descriptivo 43
i. *Preparación de la materia prima* 43
➢ *Limpieza* 43
➢ *Lavado* 43
➢ *Secado* 43
3.6. Población, muestra, muestreo 44
3.6.1. Población 44
3.6.2. Muestra 44
3.6.3. Muestreo 44
3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos 44
3.8. Procedimiento de recolección de datos 45
3.9. Técnicas de procesamiento y análisis de datos 45
3.9.1. Análisis del rendimiento de aceite esencial 45
3.9.2. Análisis de las características físico químicas del aceite esencial 46
3.9.3. Análisis de compuestos bioquímicos del aceite esencial 46
CAPÍTULO IV: RESULTADOS
4.1. Presentación de resultados. 47
4.1.1. Análisis del rendimiento de extracción de aceite esencial de chikchimpay (*Tagetes terniflora* H.B.K) 47
4.1.2. Análisis de las características físico químicas del aceite esencial de chikchimpay (*Tagetes terniflora* H.B.K) 48
4.1.3. Análisis de los compuestos bioquímicos del aceite esencial de chikchimpay (*Tagetes terniflora* H.B.K) 44
4.2. Discusión 52
CONCLUSIONES 55
RECOMENDACIONES 56
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 57
ANEXOS 60

INDICE DE CUADROS

CUADRO N°		PÁGINA
1.	Técnicas e instrumentos de recolección de datos	41
2.	Procedimiento de recolección de datos	42
3.	Rendimiento del aceite esencial de chikchimpay	45
4.	Características organolépticas	46
5	Composición química de aceite esencial chikchimpay *(Tagetes terniflora* H.B.K.)	46

INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°		PÁGINA
1.	Flujograma del diseño descriptivo	40
2.	Cromatograma general de aceite esencial chikchimpay *(Tagetes terniflora* H.B.K.)	48

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N°		PÁGINA
1.	Planta vegetal de Chikchimpay	58
2.	Equipo extractor de aceite esencial	58
3.	Preparación de la muestra	59
4.	Pesado de la muestra	59
5.	Extracción del aceite esencial de chikchimpay	60

RESUMEN

El aceite esencial es el producto del metabolismo secundario de las plantas, muy utilizado en el campo de la industria. El objetivo de este proyecto fue extraer y caracterizar la composición química a través de cromatografía de gases y espectrofotometría de masas del aceite esencial de Chikchimpay (*Tagetes terniflora* H.B.K). El aceite esencial se obtuvo de la planta recolectada del distrito de Acobamba; fue extraído de las hojas y flores de la planta empleando la técnica de fluido de arrastre hidrotermico. En el proceso extractivo de aceites esenciales de *Tagetes terniflora* en tejido deshidratado en condiciones de temperatura al ambiente se obtuvo la presencia de fitobioactivos volátiles y la identificación de componentes químicos de la misma extracción; el rendimiento del aceite esencial fue de 0,129%. Al realizarse el análisis cromatografíco en la Universidad Industrial Santander – Bucaramanga Colombia, reporto 51 componentes en el aceite esencial, los componentes mayoritarios del aceite fueron el cis-tagetona (21,99%), trans-Ocimenona (12,90%). Dentro del grupo de monoterpenos no oxidados a los que pertenece el α-pineno destaca también la presencia de canfeno (menor a 0,1%), limoneno (2,10%), β-pineno (menor a 0,1%), β-mirceno (0,20%) y p-cimeneno (0,60%), acompañados de pequeñas cantidades de otros hidrocarburos monoterpénicos, tales como γ-terpineno, sabineno, terpinoleno, cis-β-ocimeno, etc. Los componentes de interés comercial son el limoneno y linalool. Por tanto el aceite esencial de Chikchimpay obtenido mediante destilación por fluido de arrastre hidrotermico del vegetal deshidratado presento características fisicas como: amarillo verdoso transparente, aromático picante de consistencia fluida. El Chikchimpay es una planta silvestre promisoria de acuerdo a la etnofarmacobotanica local, el presente estudio descriptivo aporta información científica sobre la composición de bioactivos en el aceite; además presenta componentes principales que son del tipo monoterpenos aciclicos triplemente insaturados: cis y trans tagetona, cis y trans ocimenona que junto con otras moléculas con grupos funcionales en menores proporciones: β-pineno, linalool, que le dan la actividad antimicrobiana que posee el aceite esencial.

PALABRAS CLAVES: Aceite esencial, Chikchimpay (*Tagetes terniflora* H.B.K), cromatografía y monoterpenos.

ABSTRACT

The essential oil is the product of secondary metabolism of plants, widely used in the field of industry. The aim of this project was to extract and characterize the chemical composition via gas chromatography and mass spectrophotometry Chikchimpay essential oil (*Tagetes terniflora* HBK). The essential oil is obtained from the plant collected Acobamba district, was extracted from the leaves and flowers of the plant using the technique of hydrothermal fluid drag. In the process of extraction of essential oils in *Tagetes terniflora* dehydrated tissue to ambient temperature conditions obtained fitobioactivos presence and identification of volatile chemical components of the same extraction, the essential oil yield was 0.129%. When performing chromatographic analysis Santander Industrial University - Bucaramanga Colombia, reporting 51 components in the essential oil, the main components of the oil were cis-tagetona (21.99%), trans-Ocimenona (12.90%). Within the group of non-oxidized monoterpenes belonging to the α-pinene also highlights the presence of camphene (below 0.1%), limonene (2.10%), β-pinene (below 0.1%), β-myrcene (0.20%) and p-cimeneno (0.60%) accompanied by small amounts of other monoterpene hydrocarbons, such as γ-terpinene, sabinene, terpinolene, cis-β-ocimene, etc. The components of commercial interest are linalool and limonene. Therefore the essential oil obtained by distillation Chikchimpay flushing fluid present dehydrated vegetable hydrothermal physical characteristics as transparent greenish yellow, spicy aromatic fluid consistency. The Chikchimpay is a wild plant promising etnofarmacobotanica according to local, the present descriptive study provides scientific information on the composition of bioactives in the oil also presents major components are of triply unsaturated acyclic monoterpenes: tagetona cis and trans, cis and ocimenona trans together with other molecules with functional groups at lower rates: β-pinene, linalool, which give the antimicrobial activity that has the essential oil.

KEYWORDS: Essential oil, Chikchimpay (*Tagetes terniflora* HBK), chromatography and monoterpenes.

INTRODUCCIÓN

El Perú es un país privilegiado, presenta una riqueza y megadiversidad de plantas aromáticas, medicinales nativas, que es fuente importante de la etnofarmacología y la medicina tradicional, desde la época del Incanato hasta la actualidad. Siendo estas utilizadas en forma empírica por sus bondades terapéuticas en el cuidado de la salud.

Los aceites esenciales son las fracciones liquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre de vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas, que son llamados así los constituyentes odoríferos o esencias de una planta; lo cual se atribuye principalmente a sus constituyentes mayoritarios. Los terpenos son productos naturales y materias primas sostenibles para la industria de la química fina, son obtenidos de aceites esenciales y usados en saborizantes, fragancias y fármaco.

En los últimos años se retomó el interés por las plantas medicinales y aromáticas, que crecen en forma silvestre, atendiendo a sus crecientes campos de aplicación industrial: fines farmacéuticos, alimenticios, cosméticos, perfumísticos. Además no sólo son de interés por la presencia de ciertos principios activos sino por la acción combinada que los componentes de sus aceites esenciales ejercen con efectos terapéuticos. En este último aspecto es conveniente seleccionar plantas de la región donde son utilizadas porque su composición y características varían con las condiciones del suelo, clima, altura, etc., con la probable variación en sus propiedades físicas, químicas, y también en su acción. Siendo necesario e ineludible la realización de investigación del perfil de su composición geográfica.

La especie Tagetes crece en forma silvestre en diversas zonas de la provincia de Acobamba del Departamento de Huancavelica. Lo cual forma parte del condimento natural de esta zona del país cultural de los pobladores de esta región y algunas de ellas son usadas tradicionalmente en el cuidado de la salud.

El Chikchimpay es un recurso de la flora promisoria de la región Huancavelica y el Perú, también que se desarrolla en las zonas áridas y semiáridas. Los principales tipos de

tagetes son: *Terniflora, multiflora, minuta* , etc.. Uno de los usos más comunes para el Chikchimpay es emplear como condimento en platos típicos como en pachamanca, ccapchi o uchucuta y es un buen complemento en cada una de los diversos platos de la culinaria Acobambina y de la región Huancavelica, sin embargo, en los últimos años se han dado nuevas aplicaciones en diferentes ámbitos, como antimicrobiano en los alimentos, por la presencia de fitobioactivos como terpenos y fenoles.

El Chikchimpay habita en los diferentes pisos ecológicos de nuestra serranía, crece entre 2500 y 3500 msnm, donde existe en abundancia y son de la característica endémica. Es una planta hemicriptófila que durante el invierno –frío y seco– desaparecen sus hojas para brotar nuevamente con las primeras lluvias de la primavera.

Dentro de este contexto, los aceites esenciales (AE) son productos naturales de gran valor e importancia económica para los países que cuentan con biodiversidad dada su aplicación en las diferentes industrias. La bioactividad de los AE se investiga a partir de los efectos farmacológicos que son producidos por sus metabolitos, los cuales son obtenidos por diferentes técnicas fisicoquímicas a partir de las hojas.

CAPÍTULO I: PROBLEMA

1.1. Planteamiento del Problema

El Perú es un campo abierto para la investigación de su rica flora evaluada en 17144 especies (gimnospermas y angiospermas), 2458 géneros y 244 familias (Brako y Zarucchi, 1993), distribuida en la región costera, andina y amazónica.

En el país se presenta una riqueza y mega diversidad de plantas promisorias nativas, es uno de los pilares de la etnofitofarmacología y la medicina tradicional identificada en muchos reportes etnofitofarmacobotanica, desde la época del Incanato hasta la actualidad.

Las plantas medicinales y su aporte, como puede citarse al árbol de quina que cura de la malaria, y muchos trabajo de investigación actualmente buscan la identificación de compuestos bioquímicos activos para la cura de enfermedades, conservación de alimentos, plaguicidas biodegradables sin repercusión en el medio ambiente, entre otros. Estos compuestos son identificados con tecnologías conjugadas para el análisis instrumental de avanzada con cromatografía de gases que permiten la identificación y cuantificación de compuestos bioactivos presentes en materiales vegetales que reportan beneficios para la humanidad.

En la provincia de Acobamba, y en sus distritos como Pomacocha, Caja Espíritu y Marcas, Rosario, Anta, Andabamba y Paucara existe el chikchimpay en forma silvestre, La planta*Tagetes terniflora* conocida vulgarmente con el nombre de *chikchimpay* en el ámbito geográfico de Acobamba – Huancavelica, se presenta como una fuente de aceites esenciales y compuestos bioactivos que aún no han sido revelados al mundo mediante la investigación agroindustrial.

Dentro de este contexto del panorama mundial, los aceites esenciales son productos naturales de gran valor e importancia económica por su aplicación en diversas industrias, en áreas tales como: perfumería, aroma terapia, fármacos, alimentos, pesticidas, fungicidas, acaricidas, entre otros. Es por ello que la presente

investigación pretende poner al Chikchimpay en los ojos del mundo, sus posibles bondades y compuestos de importancia agroindustrial.

1.2. Formulación del Problema

1.2.1. Problema general.

¿Cuál es el rendimiento de extracción y las características de los compuestos bioquímicos del aceite esencial de Chikchimpay (*Tagetes terniflora H.B.K.)*?

1.2.2. Problemas Específicos.

- ¿Cuál es el rendimiento de extracción del aceite esencial de Chikchimpay (*Tagetes terniflora H.B.K.)* obtenido por fluido de arrastre hidrotérmico?
- ¿Cuál es el perfil de los compuestos bioquímicos y su concentración total en el aceite esencial de Chikchimpay (*Tagetes terniflora H.B.K.)*?

1.3. Objetivo: General y Específicos

1.3.1. Objetivo general.

- Extraer y caracterizar el aceite esencial de Chikchimpay (*Tagetes terniflora H.B.K.).*

1.3.2. Objetivos específicos.

- Evaluar el rendimiento de extracción del aceite esencial de Chikchimpay (*Tagetes terniflora* H.B.K.) obtenido por fluido de arrastre hidrotérmico.
- Determinar el perfil de los compuestos bioquímicos y su concentración total en el aceite esencial de Chikchimpay *(Tagetes terniflora* H.B.K.).

1.4. Justificación.

El presente trabajo es de naturaleza descriptiva y con el aporte científico en cuanto al conocimiento del rendimiento, características y concentración de compuestos bioquímicos de aceite esencial de Chikchimpay (*Tagetes terniflora H.B.K.)*, también para la valoración de la biodiversidad de la flora nacional, en el ámbito de la región Huancavelica, siendo el mismo un documento para la inserción posterior de planes de negocio para el biocomercio sostenible en el área de plantas medicinales.

Los productos naturales, en especial de las plantas aromáticas y medicinales, han sido ampliamente utilizadas desde tiempo atrás, como alimento, medicamento, agente conservante, etc. Actualmente, los consumidores han percibido que los compuestos naturales son más inocuos permitiendo esto el aumento de su consumo y utilización, además de abrir paso a un desarrollo importante de la agroindustria de plantas aromáticas y medicinales a nivel mundial. El Perú a pesar de ser considerado como uno de los países en biodiversidad en el mundo no posee desarrollos importantes en la Agroindustrialización de plantas aromáticas y medicinales y teniendo la capacidad para producir esencias es un importador neto de Aceite Esencial.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes.

Según Farrel et al. (1985), mencionan que las especies aromáticas han tenido gran importancia dentro de la vida humana por más de cuarenta siglos antes de Jesucristo, éstas han tenido variados usos durante todo este tiempo, hasta la fecha. Entre sus usos principales se encuentran, los medicinales, así como su utilización en la industria, de los cuales se puede mencionar los extractivos de dichas especies como los aceites esenciales.

Los aceites esenciales se produjeron y usaron por primera vez en oriente, específicamente en Egipto, Persia y la India luego se dieron a conocer en occidente donde en el año 485 a.C. ya se conocía el aceite de trementina el cual es uno de los más antiguos. La primera referencia en la literatura acerca de los aceites esenciales de las especies apareció en la última parte del siglo XIII, en ese tiempo Arnoldo de Villanova describió por primera vez la en la obra de Hieronyman Brunschwig (Strassbourg 1450-1534) la cual tenía por título Liber de arte Ditilandi se hacía mención a los aceites de trementina, romero, enebro y lavanda, obtenidos por destilación de los aceites esenciales de las hojas de romero y salvia.

Según Domínguez et al. (1980) J. J. Houston de la Billardiere fue el primero en someter el aceite esencial de trementina a un análisis elemental, encontrando que la relación carbono-hidrógeno era de 5-8, la misma que se estableció más adelante para todos los hemiterpenos , terpenos, sesquiterpenos y politerpenos.

De los antecedentes mencionados sobre estudios de aceites esenciales no se reporta de sobre la especie de materia de interés de esta investigación, el más próximo es *Tagetes minuta*, *Tagetes multiflora*, considerados por algunos autores los cuales reportan como compuestos químicos en aceite esencial en mayor concentración. *T. minuta* y *T. terniflora* poseen aromas parecidos. En particular, la

fragancia del AE de *T. terniflora* es más agradable y menos picante. (Serrato *et al.,* 2005)

En la literatura sobre la composición del aceite esencial de *T. terniflora* se advierten algunas diferencias: 1) el número de sus compuestos reconocidos varía de 33 (Vila *et al.,* 2000) a 57 (Feo *et al.,* 1998); 2) se ha encontrado limoneno y cis–β ocimeno (Feo *et al.,* 1998) como *trans–tagetona* (Zygaldo *et al.,* 1993; Vila *et al.,* 2000); 3) la cantidad de dihidrotegetona en la composición total del aceite esencial es 66.3% y 33.1% (Vila *et al.,* 2000), a 21% y 79% (Serrato *et al.,* 2005), o 13.7% y 68.3% (Feo *et al.,* 1998). Esta variabilidad en la composición química del aceite esencial de *T. terniflora* se puede deber a diferencias ambientales entre los lugares de origen del material analizado, ya que esta especie se distribuye en forma silvestre desde el sur de Argentina. Hasta chile (Neher, 1965). Actualmente se realizan análisis georeferencial para definir la variación de fitoquimica en la flora para el inventario de recursos y puesta en valor. En el Perú, la especie se localiza en altitudes de 600 a 3500 msnm. en diferentes climas y suelos (Neher, 1965; Turner, 1996; Villarreal, 2004). Para *T. minuta* se ha encontrado variación en el contenido del aceite esencial asociada con la diversidad de hábitats de origen de las muestras, y se ha confirmado la existencia de quimiotipos (Gil *et al.,* 2000). Esta relación químico–ambiental también se ha encontrado en *Artemisia* (Putievsky *et al.,* 1992) y en *Mentha* (Chou y Zhou, 1998).

Según Kirk, Raymond, *et al. (*2008), Desde la antigüedad el hombre ha utilizado las plantas como materia prima para preparaciones tradicionales (infusiones, tés o jugos), con la finalidad de controlar la prevalencia de ciertas enfermedades infecciosas y resolver problemas de resistencia de los microorganismos.

Los AEs son mezclas complejas de compuestos orgánicos volátiles 41 producto del metabolismo secundario de las plantas, caracterizados por un fuerte olor y una amplia gama de efectos sobre el organismo. Son extraídos de órganos específicos de las plantas (hojas, cáscaras, flores, tallos, ramas, semillas, frutos, raíces, la madera o corteza) y están constituidos principalmente por monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanoides. Se han descrito propiedades en los AEs, como antimicrobianos,

antioxidantes, antiinflamatorios, antiespasmódicos y relajantes tanto en animales como en seres humanos.

Los AEs se extraen de diferentes plantas aromáticas cuya composición varía según el lugar de origen, el momento de la recolección, la parte de la planta y el método de extracción; presentan variaciones biológicas causadas por efecto de la luz, el suelo, la temperatura y las condiciones climáticas dando origen a diferentes tipos del AE (quimiotipos); por lo general en climas cálidos las plantas tienen mayor contenido de AEs. El quimiotipo permite identificar en los AEs extractos de una misma variedad botánica pero con composición química distinta. La composición química es fundamental porque incide en las propiedades del aceite y en su grado de toxicidad. Son generalmente líquidos a temperatura ambiente, volátiles, cristalinos y raramente coloreados. Por exposición al aire los AEs se tornan espesos y se colorean intensamente, son poco solubles en agua y solubles en solventes orgánicos con una densidad menor que la del agua.

En la naturaleza, los AEs desempeñan un papel importante, protegiendo y prolongando la vida de las plantas, ya que a menudo constituyen un medio de defensa frente a depredadores, actuando como repelentes de insectos, microorganismos, hongos y animales herbívoros, previniendo así la destrucción de las flores y hojas; otras veces las esencias de las flores y del polen actúan como hormonas de polinización, atrayendo a las abejas y a otros insectos, con lo cual ayudan en la fertilización cruzada de ciertas plantas.

Según Viturro *et al.* (1996), señalan que se realizaron extracciones en escala de laboratorio del AE de esta especie. Dada la potencialidad del uso de este aceite como agente aromatizante peculiar (se usa como condimento de sopas en Ecuador y Perú), en el presente trabajo se procedió al aislamiento del AE a escala piloto a partir de material vegetal en diferentes estadíos de crecimiento, a efectos de evaluar rendimientos de extracción y composición en cantidades correlacionarlos con morfologías.

Además señalaron que la *Tagetes minuta* y *Tagetes terniflora* también podrían ser usados como pesticidas (nematicida). Se le atribuyen propiedades medicinales como digestivo, carminativo y antiabortivo. La infusión de sus hojas se usa para aliviar los dolores gástricos y la decocción de sus flores y hojas frescas para aliviar los catarros y bronquitis. De sus hojas se extrae un aceite esencial utilizado en perfumería.
Finalmente encontraron que los metabolitos secundarios volátiles destilados con vapor de agua conforman el aceite esencial (AE) de estas especies, cuya determinación fue previamente realizada.

Según Díaz (2006), menciona que a pesar de la gran diversidad Peruana de plantas medicinales, su aprovechamiento a nivel comercial es bastante reciente. Debido a esto, existe aún hoy en día un gran desconocimiento de las posibilidades de agregación de valor para las plantas medicinales (Extractos, aceites esenciales, deshidratación, etc.). Solo algunos pocos desarrollos de extracción de aceites esenciales han sido apropiados por comunidades y emprendedores en todo el país, pero falta aún mucha capacidad técnica en el análisis y control de calidad de estos productos. Muy pocas universidades prestan servicios técnicos (asesoría, análisis químicos, etc.) para pequeños productores, y en general hay grandes vacíos en la transferencia de nuevas tecnologías.

Según Cabrera, (1987) menciona que la especie *Tagetes terniflora* morfológicamente muy semejante a *T. minuta,* comparte con este último el uso tradicional, como saborizante alimentario.
De los antecedentes mencionados sobre estudios de aceites esenciales no se reporta sobre la especie de materia de interés de esta investigación, el más próximo es *Tagetes minuta*, Tagetes *multiflora*, considerados por algunos autores los cuales reportan como compuestos químicos en aceite esencial en mayor concentración. *Tagetes minuta* y *Tagetes terniflora* poseen aromas parecidos. En particular, la fragancia del AE de *T. terniflora* es más agradable y menos picante.

Según Díaz y Serrato (2011), mencionan que las especies de Tagetes tienen compuestos específicos en el aceite esencial con efecto biológico contra plagas o enfermedades lo que los convierte en potenciales biopesticidas, así que el ensayo piloto de extracción de aceite constituye una pieza clave para tener idea de las posibilidades practico - económicas del aprovechamiento de estos recursos naturales en México existen alrededor de 35 especies de las cerca de 60 que se conocen en América.

Según Saavedra et al. (2002), mencionan que al ensayar la extracción de aceites esenciales a nivel piloto tiene la finalidad de escalar o inferir este proceso a nivel comercial, por lo que datos del rendimiento de aceite por unidad de peso y contenido del aceite son necesarios además de los datos de inversión. El aprovechamiento comercial de aceites esenciales de Tagetes se practica en la India y en Sudáfrica, países que cuentan con plantas de extracción. Sin embargo, no está disponible la información sobre el proceso industrial. Sólo algunas especies de Tagetes que han sido objeto de aprovechamiento de esa forma; la mayoría de las especies de este taxa aún no se les ha explorado. Se ha valorado el potencial de rendimiento agronómico de las especies aromáticas en campo. El aceite esencial y extractos acuosos, producto de la destilación de plantas aromáticas se utilizan internacionalmente para formular productos que se apliquen en invernadero o en campo contra plagas y/o enfermedades.

La composición esencial de hierbas silvestres como de *T. terniflora* el de Serrato *et al.* (2005), quienes usaron muestras de una población silvestre recolectada en Tlalámac, Atlautla, México, localidad con clima transicional, altitud de 1720 m.s.m. y suelo aluvial. Al cultivar estas plantas de Tlalámac pero en las condiciones de Chapingo, con clima templado subhúmedo, altitud de 2240 m.s.n.m. y suelo franco arcilloso, se encontró la presencia de alilanisol 21 y *transanetol* 79%; este contenido fue constante durante diferentes fechas de cultivo de la especie.

2.2. Bases Teóricas.

2.2.1. Aspectos generales del chikchimpay.

A. Clasificación taxonómica según Mostacero (2011).

Division Angiospermae
Clase Dicotiledoneae
Sub clase Metaclamydeas
Orden Campanulares
Familia Asteraceae
Tribu Helenieae
Genero *Tagetes*
Especie Terniflora H.B.K.

Nombre vulgar**:** chikchimpay, chincho, chichucsa, chigohipa, saliak, saliak-chinchu, wacawaca, quichia.

Es una Hierba anual, erecta; raíz típica. Hojas alternas, pinnatisectas, foliolos laciniados de disposición verticilar. Inflorescencia dispuesta en umbelas; involucro formado por 10 brácteas soldadas, de color púrpura, que encierran 10 flores amarillas. Flores dimorfas: las marginales liguladas y femeninas; las del disco tubulosas, hermafroditas, actinomorfas, pentadentadas, con cáliz formado por 3 – 5 pelos plumosos de color blanco. Fruto, un aquenio.

B. Uso: medicinal y forrajero, también comestible, condimento para la preparación de comidas y una salsa picante llamada Uchukuta o japchi.

C. Ecología: se desarrolla con la llegada de las lluvias, al final de la primavera y durante el verano. Crece en laderas de cerros pedregosas, cauces secos de suelos arenosos, en suelos arcilloso-pedregosos. 1000 – 3000 m.

Lamentablemente no existe mucha información relacionada al sobre el Chikchimpay, es por ello, que mediante esta investigación se sirvan otros científicos a estudiarla y así tener una caracterización más completa de esta planta medicinal, en el Perú. 1000-3500 m (Weberbauer 1945); Tisco, 4200 m (Vargas 1987).

D. **Origen y usos etnobotánicas:** Según Loja Herrera, (2002). Es nativa del noroeste argentino (NOA) conocida vulgarmente con el nombre "quichia".

Habita en terrenos de cultivo, bordes de barrancos y acequias y presenta resistencia a la salinidad. Se cultiva con distintos propósitos: ornamentales, sociales, religiosos, como colorante para comidas y cultivo de borde con otras plantas como tomate con efectos benéficos para estas. Sus hojas son utilizadas como condimento para sopas y guisos.

2.2.2. Definición del aceite esencial

Según Kirk, Raymond, *et al. (2008),* Los aceites esenciales son componentes vegetales que debido a su consistencia son muy volátiles, su olor es intenso aunque en algunas excepciones agradables. Son muy frecuentes en el reino vegetal y son muy pocas las plantas que carecen de ellos por completo.

Los aceites esenciales son llamados también aceites etéreos o esencias, aceites aromáticos y aceites volátiles, se obtienen generalmente por arrastre de vapor debido a que éstos difícilmente se disuelven en el agua o resultan incluso insolubles en ella.

Entre las familias botánicas que contienen los aceites esenciales en cantidades elevadas entre el 0.1 y el 10 por ciento son las labiadas y las umbelíferas. Estos aceites se depositan en las células grasas, las vías o los pelos oleaginosos. Los aceites esenciales están formados por numerosas sustancias diferentes, de esta cuenta es que los hay en los que se han podido identificar hasta más de 50 elementos.

Las plantas medicinales que contienen aceites esenciales tienen en común propiedades curativas antiinflamatorias, expectorantes, diuréticas, antiespasmódicas y tonificantes sobre el estómago, el intestino, la bilis y el hígado. Lo cual implica que las plantas con aceite esencial combaten los agentes patógenos, a las bacterias y posiblemente a los virus.
"Los aceites constituyen la fracción volátil de los principios activos contenidos en una planta, y por tanto, se obtienen mediante técnicas de destilación, en la que se volatilizan los principios por calor, se condensan en frio y se recogen. Se determinan por cromatografía de gases (CGL) y espectrometría de masas si es necesario, tras extracción por destilación de arrastre de vapor a presión atmosférica" Palomino (2001).

Según Saavedra et al., (2002) Para extraerlos por arrastre de vapor, se debe contar con un equipo destilador de pequeñas dimensiones si se trata de una determinación experimental en laboratorio o piloto y de mayor tamaño si es una tarea a nivel industrial.

Los destiladores constan de las siguientes partes: una fuente de calor que genera vapor, un recipiente para alojar la hierba, un colector del aceite esencial separado y un refrigerante para los vapores.

El aceite esencial y extractos acuosos, producto de la destilación de plantas aromáticas se utilizan internacionalmente para formular productos que se apliquen en invernadero o en campo contra plagas y/o enfermedades. Ensayar la extracción de aceites esenciales a nivel piloto tiene la finalidad de escalar o inferir este proceso a nivel comercial, por lo que datos del rendimiento de aceite por unidad de peso y contenido del aceite son necesarios.

Según Briga (1962), estos aceites esenciales son componentes heterogéneos de terpenos, sesquiterpenos, ácidos, ésteres, fenoles, lactonas; todos ellos

fácilmente separables ya sean por métodos químicos o físicos, como la destilación, refrigeración, centrifugación, etc.

El uso de los aceites esenciales de condimentos y especias tanto en la industria de alimentos como en la industria farmacéutica es cada vez más generalizado, debido en parte a la homogeneidad del aroma y a la minimización de las posibilidades de contaminación microbiana, cuando se compara con el uso directo de tales especias y condimentos.

Según Root, W (1983). Los aceites esenciales son mezclas de varias sustancias químicas biosintetizadas por las plantas, que dan el aroma característico a algunas flores, árboles, frutos, hierbas, especias, semillas y a ciertos extractos de origen animal (almizcle, civeta, ámbar gris). Trata de productos químicos intensamente aromáticos, no grasos (por lo que no se enrancian), volátiles por naturaleza (se evaporan rápidamente) y livianos (poco densos).

Son insolubles en agua, levemente solubles en vinagre, y solubles en alcohol, grasas, ceras y aceites vegetales. Se oxidan por exposición al aire. Se han extraído más de 150 tipos, cada uno con su aroma propio y virtudes curativas únicas. Proceden de plantas tan comunes como el perejil y tan exquisitas como el jazmín. Para que den lo mejor de sí, deben proceder de ingredientes naturales brutos y quedar lo más puro posible.

El término esencias o aceites esenciales se aplica a las sustancias sintéticas similares preparadas a partir del alquitrán de hulla, y a las sustancias semisintéticas preparadas a partir de los aceites naturales esenciales. El termino aceites esenciales puros se utiliza para resaltar la diferencia entre los aceites naturales y los sintéticos.

2.2.3. Clasificación de los Aceites Esenciales:

Según Kirk, Raymond, et al. (2008), Los AEs se clasifican con base en diferentes criterios: consistencia, origen y naturaleza de los constituyentes mayoritarios. De acuerdo con su consistencia los aceites se dividen en: fluidos, bálsamos y oleorresinas. Los aceites fluidos son líquidos muy volátiles a temperatura ambiente, los bálsamos contienen principalmente sesquiterpenoides, su consistencia es más viscosa, son poco volátiles y propensos a polimerizarse. Las oleorresinas tienen el aroma característico de las plantas y son típicamente líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas. Por su origen los aceites se clasifican en naturales, artificiales y sintéticos. Los aceites naturales se obtienen directamente de la planta y no sufren modificaciones físicas o químicas y debido a su bajo rendimiento son muy costosos. Los artificiales se obtienen a través de procesos de enriquecimiento de la misma esencia con uno o varios de sus componentes. Los sintéticos como su nombre lo indica son los producidos por la combinación de sus componentes los cuales son la mayoría de las veces obtenidos por procesos de síntesis química, estos son más económicos y por lo tanto son mucho más utilizados como aromatizantes y saborizantes (esencias de vainilla, limón, fresa, etc.).

2.2.4. Componentes de los aceites esenciales.

Según Salaverry et al. (2005) La composición química de los aceites esenciales es muy variada, difieren de una familia a otra, los aceites esenciales están formados principalmente por compuestos orgánicos líquidos más o menos volátiles, se encuentran compuestos de cadena abierta, cíclicos, bicíclicos, tricíclicos así como también sus derivados oxigenados y en algunas ocasiones compuestos sulfurados.

Existe por lo tanto una gran variedad de compuestos los cuales se pueden clasificar en la forma siguiente: compuestos de la serie terpénica; compuestos acíclicos sin ramas laterales; derivados del benceno; y otros compuestos de diversa estructura química.

Los compuestos de la serie terpénica son compuestos naturales que contienen dobles enlaces, los terpenos pueden dividirse en unidades de isopreno de cinco carbonos, los terpenos se clasifican de acuerdo al número de subunidades de isopreno que contienen.

Los monoterpenos poseen dos unidades isoprénicas, es decir, contienen diez átomos de carbono, los sesquiterpenos contienen tres unidades isoprénicas (15 átomos de carbono), los diterpenos poseen cuatro unidades isoprénicas por lo tanto contiene 20 átomos de carbono, y así sucesivamente.

Los compuestos acíclicos sin ramas laterales se refieren a todos los hidrocarburos en cadena recta y sus derivados oxigenados, como los aldehídos y cetonas, los alcoholes, ácidos, éteres y ésteres. De estos, los tres primeros constituyen lo que es la fracción más volátil de los aceites esenciales.

Los derivados del benceno presentan diferentes grados de oxidación por lo tanto puede ocurrir que se unan al anillo aromático grupos de hidroxi, metoxi, metilen así como la cadena lateral puede contener grupos hidroxil o de carboxil.

Según Kirk, Raymond, et al. (2008) Los AEs son mezclas naturales muy complejas que pueden contener aproximadamente 20-60 componentes en concentraciones muy diferentes, se caracterizan por dos o tres grandes constituyentes en concentraciones bastante altas (20-70%) que determinan las propiedades biológicas de los AEs. Los componentes incluyen dos grupos de distinto origen biosintético. El grupo principal está compuesto de terpenos y terpenoides, sus estructuras están formadas de varias unidades de 5-carbonos llamadas isopreno; también presentan en menor proporción componentes aromáticos y alifáticos, todos caracterizados por el bajo peso molecular.

Los AEs están formados principalmente por monoterpenos (C10) y sesquiterpenos (C15). Los primeros son las moléculas más representativas que constituyen el 90% de los AEs y permiten una gran variedad de estructuras tales como: hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, éteres, peróxidos, fenoles, etc. Las estructuras de los sesquiterpenos son

similares a las de los monoterpenos. La extensión de la cadena aumenta el número de ciclaciones que permite una gran variedad de estructuras (más de 50 tipos diferentes). Existen también terpenoides, constituidos por átomos de carbono y oxígeno los cuales determinan el olor y el sabor de las esencias; además se encuentran hemiterpenos (C_5), diterpenos (C_{20}), triterpenos (C_{30}), tetraterpenos (C_{40}), que pueden ser cíclicos, alifáticos, o aromáticos.

Los compuestos aromáticos derivados del fenilpropano son constituyentes menores en los AEs, este grupo básicamente está constituido por fenilpropanoides, alilfenoles y cumarinas. Miembros típicos son el estragol o su isómero anetol, que se encuentran tanto en los aceites de la familia Apiaceae (hinojo, anís), como en Rutacea

Según Garcia, 1988; Jansen et al. (1987). La composición química de los aceites esenciales es muy variada, difieren de una familia a otra, los aceites esenciales están formados principalmente por compuestos orgánicos líquidos más o menos volátiles, se encuentran compuestos de cadena abierta, cíclicos, bicíclicos, tricíclicos así como también sus derivados oxigenados y en algunas ocasiones compuestos sulfurados.

Existe por lo tanto una gran variedad de compuestos los cuales se pueden clasificar en la forma siguiente: compuestos de la serie terpénica; compuestos acíclicos sin ramas laterales; derivados del benceno; y otros compuestos de diversa estructura química.

Según Jansen et al. (1987). Los compuestos de la serie terpénica son compuestos naturales que contienen dobles enlaces, los terpenos pueden dividirse en unidades de isopreno de cinco carbonos, los terpenos se clasifican de acuerdo al número de subunidades de isopropeno que contienen.

Seis componentes principales fueron identificados mediante el análisis por cromatografía de gases y espectrometría de masas. El aceite de hojas de plantas no florecidas contiene principalmente Dihidrotagetona, mientras que el aceite de hojas de plantas florecidas al igual que el aceite de flores es rico en β

- ocimeno y tagetenona. La composición del aceite esencial de ***Tagetes Terniflora*** Varía según las diferentes partes de la planta y de su estadio de crecimiento.

2.2.5. Consideraciones de los aceites esenciales de Tagetes:

El aprovechamiento comercial de aceites esenciales de Tagetes se practica en la India y en Sudáfrica, países que cuentan con plantas de extracción. Sin embargo, no está disponible la información sobre el proceso industrial. Sólo algunas especies de Tagetes que han sido objeto de aprovechamiento de esa forma; la mayoría de las especies de este taxa aún no se les ha explorado; en México existen alrededor de 35 especies de las cerca de 60 que se conocen en América. Las especies de Tagetes tienen compuestos específicos en el aceite esencial con efecto biológico contra plagas o enfermedades (Díaz y Serrato, 2011), lo que los convierte en potenciales biopesticidas, así que el ensayo piloto de extracción de aceite constituye una pieza clave para tener idea de las posibilidades practico-económicas del aprovechamiento de estos recursos naturales.

El aceite esencial de tagetes minuta que se utiliza en la industria de alimentos es obtenido fundamentalmente por medio de solventes orgánicos como la acetona y el hexano (McLeod & Pieris, 1984); y a pesar de que existe amplia información sobre la composición del aceite esencial de tagetes minuta procedente del Asia y del África (Smith & Robinson, 1981), no ocurre lo mismo con los productos de esta parte del globo.

Según Maitre J. *et al*., (1969) comparó por CG, EM, los componentes volátiles de clones de huacatay (tagetes multiflora) producidos *in vitro*, en dos medios de cultivo, con la del rizoma original, encontrando que los monoterpenos (geranial, 1,8- cineole, neral) representan el 63.2% en el medio B5-Gamborg, mientras que los sesquiterpenos (zingebereno, a-curcumeno) representan el 51.3% en el medio Murashige- Skoog.

2.2.6. Aplicaciones de aceites esenciales

Lock, (1994) y Kuklinski (2003), las aplicaciones de los aceites esenciales son muy variadas: son ampliamente utilizados en perfumería, como saborizantes de alimentos y en medicina. Ejemplo: los aceites esenciales de anís, menta y canela son carminativos y soporíferos; el de clavo de olor es analgésico.

Según García. Et al. (1987).Los aceites esenciales extraídos de material vegetal de la familia tagetes, se las atribuyen propiedades antigripales, antipiréticas, antiespasmódicas, antidiarreicos, antifúngicas y antibacterianas, entre otros.

Según Kirk, Raymond, et al. (2008), Los AEs de plantas aromáticas han sido usados en la industria para la producción de jabones, perfumes y artículos de tocador, como también en la industria alimenticia.

Investigaciones sobre la evaluación de las actividades biológicas de los AEs de algunas especies de plantas medicinales han revelado que algunos de ellos exhiben interesantes actividades como insecticidas, antibacterial, antifúngico y espasmolítico. También han sido usados como analgésico, sedante, antiinflamatorio y anestésico local. Estas propiedades se han aprovechado desde hace tiempo, y especialmente en casos de infecciones bronquiales, urinarias y las causadas por cortadas y quemaduras.

2.2.7. Toxicidad de aceites esenciales

Los efectos sobre el organismo pueden clasificarse en terapéuticos o tóxicos dependiendo de la forma de administración del aceite, dosis y susceptibilidad de la persona. Los AEs, en general, comparten ciertas propiedades como la antiséptica, antiinflamatoria y cicatrizante, pero cada esencia se destaca por alguna propiedad única y va a depender de la interacción molecular de sus componentes. Debido a la permeabilidad de los AEs y por su alta lipofilicidad, penetran a través de la piel y mucosas (boca, nariz, faringe) y en el tracto gastrointestinal, por lo tanto, se puede administrar por vía dérmica, respiratoria u oral. La toxicidad del AE está en relación con el ciclo vegetativo de la planta.

Existen aceites que pueden causar convulsiones, efectos narcóticos o estupefacientes, asfixia, ampollas, entre otros.

2.2.8. Características de los aceites esenciales

Según Lopez (1999) Los aceites esenciales se caracterizan por ser uniformes en sabor, en cuanto a origen de la materia prima, el cual es muy intenso, están libres de enzimas, taninos, bacterias y suciedad, razón por la cual las plantas que contienen aceites esenciales combaten los agentes patógenos, a las bacterias y posiblemente a los virus. Los aceites esenciales no son constituyentes de humedad, ni aporta color significativo al producto final, que sería en este caso las especies.

Otra de las características de los aceites esenciales es que bajo condiciones normales de almacenamiento se mantienen estables.

Entre las características desfavorables se encuentra que se oxidan fácilmente, existe pérdida de compuestos volátiles bajo condiciones de altas temperaturas de proceso, de igual manera el sabor y aroma no es completamente típico de la especie natural ya que son muy concentrados, lo que hace difícil su manejo y peso exacto, además son fácilmente alterados.

2.2.9. Factores que afectan el rendimiento de los aceites esenciales.

Existen diferentes factores que pueden afectar el rendimiento de los aceites esenciales, entre los se pueden mencionar los siguientes:

2.2.9.1. Tipo de materia prima

Los aceites esenciales de las especies tienen variaciones dentro de las mismas familias, dependiendo tanto del origen de la planta, el lugar y la época de producción como la edad y cuidados que ésta haya tenido, etc.

2.2.9.2. Tiempo de secado.

Del tiempo de secado dependerá el porcentaje de humedad que la planta tendrá.

2.2.9.3. Tamaño de partícula

Entre más pequeño sea el tamaño de partícula mejor será la transferencia de calor entre el agua y la especie, en el caso de extracción por arrastre con vapor.

2.2.9.4. Tiempo de extracción

Se refiere a la duración del proceso de extracción, en el cual el aceite contenido en la planta se extrae gradualmente.

2.2.9.5. Método de extracción

Dependiendo del tipo de método utilizado, ya que con ciertos métodos se obtienen mejores resultados.

2.1.1. Terpenos

Los terpenos tienen forma estructural y funcionalidad de diferentes clases, pueden estar formados de la combinación de varias unidades de isopreno (C5). La biosíntesis de terpenos consiste en la síntesis de isopentil difosfato (IPP) como precursor, la adición repetitiva de IPPs forman prenildifosfato precedente de varias clases de terpenos y la modificación del prenildifosfato arílico por síntesis especifica de terpenos para formar esqueletos de terpenos y finalmente, la modificación enzimática secundaria (reacciones redox) del esqueleto atribuye las propiedades funcionales de los diferentes terpenos. La mayoría de los terpenos son los monoterpenos (C_{10}) y sesquiterpenos (C_{15}), pero también existen hemiterpenos (C_5), diterpenos (C_{20}), triterpenos (C_{30}) y tetraterpenos (C_{40}). Un terpeno conteniendo oxigeno en su estructura es llamado terpenoide.

Los monoterpenos están formados por dos unidades de isopreno (C_{10}), son las moléculas más representativas constituyendo el 90% de los aceites esenciales junto con una gran variedad de estructuras. Los sesquiterpenos están formados por tres unidades de isopreno (C_{15}), esta extensión incrementa el número de ciclisaciones las cuáles crean una gran variedad de estructuras. La estructura y función de los sesquiterpenos es similar a la de los monoterpenos (Bakkali, 2007).

2.1.2. Métodos de extracción de sustancias naturales

Las plantas contienen un amplio rango de componentes bioactivos como lípidos, fitoquímicos, farmacéuticos, sabores, fragancias y pigmentos. Los extractos vegetales son ampliamente usados en la alimentación e industria farmacéutica. Las técnicas de extracción han sido ampliamente estudiadas para obtener tales componentes naturales de plantas de gran valor para su comercialización. El método tradicional de extracción Soxhlet, el cual ha sido usado por muchas décadas, es muy prolongado y requiere relativamente grandes cantidades de solventes. Existe un incremento en la demanda de nuevas técnicas de extracción con tiempos reducidos y disminución del uso de solventes orgánicos. Métodos novedosos de extracción incluyen la extracción asistida por ultrasonido, extracción asistida por microondas, extracción por fluidos supercríticos y extracción acelerada por solventes, los cuáles son técnicas rápidas y eficientes para usarlas en la extracción de los componentes químicos de las plantas (Wang, 2006). En general, un procedimiento analítico para aceites esenciales y aromas de plantas o especias comprende dos pasos: extracción (destilación por arrastre de vapor, hidrodestilación, extracción por Soxhlet, extracción asistida por ultrasonido, extracción asistida por microondas, etc.) y análisis

(cromatografía de gases, cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas) (Chemat et al, 2005).

2.1.3. Hidrodestilación:

Es llamado comúnmente: destilación por arrastre de vapor, extracción por arrastre, hidrodestilación, hidrodifusión o hidroextracción. Sin embargo, no existe un nombre claro y conciso para definirlo, debido a que se desconoce exactamente lo que sucede en el interior del equipo principal y porque se usan diferentes condiciones del vapor de agua para el proceso. Es así que, cuando se usa vapor saturado o sobrecalentado, fuera del equipo principal, es llamado "destilación por arrastre de vapor" (Günther, 1948).

La hidrodestilación es el método convencional más usado para extraer el material de la planta en aceite esencial. En este método se pasa vapor de agua a través del material vegetal, para extraer las moléculas aromáticas volátiles, las cuáles son llevadas a través de un serpentín refrigerante hasta un recipiente donde se separa el vapor enfriado (agua) del aceite esencial. Así, dentro de la planta se encuentra la "esencia", y después de la destilación y el proceso, "el aceite esencial". La composición de la esencia no es la misma que la del aceite esencial, sino que cambia al presentarse las reacciones químicas durante el procesamiento general de la planta. El calor, agua y oxígeno influyen sobre las esencias y cambian su estructura. Algunas de las partículas más volátiles desaparecen y a veces surgen nuevos compuestos durante el proceso de destilación (Grace, 2001).

Cuando se usa vapor saturado, pero la materia prima está en contacto íntimo con el agua generadora del vapor, se le llama "hidrodestilación" (Günther, 1948). Cuando se usa vapor saturado, pero la materia no está en contacto con el agua generadora, sino con un reflujo del condensado formado en el interior del destilador y se

asumía que el agua era un agente extractor, se le denominó "hidroextracción" (Palomino y Cerpa, 1999).

En la presente memoria, se adoptará el término hidrodestilación, para definir el proceso para obtener el aceite esencial de una planta aromática, mediante el uso del vapor saturado a presión atmosférica.

El generador de vapor no forma parte del recipiente donde se almacena la materia prima, es externo y suministra un flujo constante de vapor.

Su presión es superior a la atmosférica, pero el vapor efluente, que extrae al aceite esencial está a la presión atmosférica. La materia prima forma un lecho compacto y se desprecia el reflujo interno de agua debido a la condensación del vapor circundante.

De manera general, la hidrodestilación se describe de la siguiente manera: La materia prima vegetal es cargada en un hidrodestilador, de manera que forme un lecho fijo compactado. Su estado puede ser molido, cortado, entero o la combinación de éstos. El vapor de agua es inyectado mediante un distribuidor interno, próximo a su base y con la presión suficiente para vencer la resistencia hidráulica del lecho. La generación del vapor puede ser local (hervidor), remota (caldera) o interna (base del recipiente).

Conforme el vapor entra en contacto con el lecho, la materia prima se calienta y va liberando el aceite esencial contenido y éste, a su vez, debido a su alta volatilidad se va evaporando. Al ser soluble en el vapor circundante, es "arrastrado", corriente arriba hacia el tope del hidrodestilador. La mezcla, vapor saturado y aceite esencial, fluye hacia un condensador, mediante un "cuello de cisne" o prolongación curvada del conducto de salida del hidrodestilador. En el condensador, la mezcla es condensada y enfriada, hasta la temperatura ambiental. A la salida del condensador, se obtiene una emulsión líquida inestable. La cual, es separada en un decantador dinámico o florentino.

Este equipo está lleno de agua fría al inicio de la operación y el aceite esencial se va acumulando, debido a su casi inmiscibilidad en el agua y a la diferencia de densidad y viscosidad con el agua. Posee un ramal lateral, por el cual, el agua es desplazada para favorecer la acumulación del aceite. El vapor condensado acompañante del aceite esencial y que también se obtiene en el florentino, es llamado "agua floral". Posee una pequeña concentración de los compuestos químicos solubles del aceite esencial, lo cual le otorga un ligero aroma, semejante al aceite obtenido. Si un hervidor es usado para suministrar el vapor saturado, el agua floral puede ser reciclada continuamente. De otro modo, es almacenada como un sub-producto. El proceso termina, cuando el volumen del aceite esencial acumulado en el florentino no varíe con el tiempo. A continuación, el aceite es retirado del florentino y almacenado en un recipiente y en lugar apropiado. El hidrodestilador es evacuado y llenado con la siguiente carga de materia prima vegetal, para iniciar una nueva operación (Günther, 1948; Al Di Cara, 1983; Parry, 1921; Essential Oils, 1993; Heath and Reineccius, 1986).

2.1.4. Análisis y Detección mediante GC-MS

La cromatografía de gases (GC) combinada con un detector de ionización de llama (FID) o un detector selectivo de masas (MSD) es el método más adecuado para la determinación en compuestos orgánicos volátiles en concentraciones a nivel de trazas (Aragón et al. 2000).

A. CROMATOGRAFÍA DE GASES

La cromatografía de gases permite separar los componentes de una muestra vaporizada en virtud de que éstos se distribuyen entre una fase gaseosa móvil y una fase estacionaria líquida o sólida contenida en una columna. La muestra que se va a analizar

se lleva a la fase gaseosa y se inyecta en una de las cabezas de la columna cromatográfica. La elusión de los componentes se realiza mediante el flujo de una fase gaseosa móvil que, a diferencia de la de otros métodos cromatográficos, es inerte y no interactúa con las moléculas de las especies de la muestra; sólo las transporta a través de la columna. Existen dos tipos de cromatografía de gases: la de gas-líquido y la de gas-sólido. La primera, es la que tiene más aplicaciones en todos los campos de la ciencia y se le conoce comúnmente como cromatografía de gases. La cromatografía de gas-sólido tiene menos aplicaciones debido a que muchas moléculas reactivas o polares poseen tiempos de retención muy largos y las colas de los picos de elución no son aceptables (Skoog et al. 2001).

La cromatografía en fase gaseosa es una técnica de análisis que ofrece resoluciones excelentes con sensibilidad del orden de miligramos a picogramos. Los resultados son cuantitativos y se obtienen en un espacio de tiempo relativamente corto. Los componentes de las muestras deben ser estables a la temperatura de operación, las muestras tiene que ser volátiles. La fase estacionaria es un líquido poco volátil que recubre un soporte sólido o las paredes de la columna. El mecanismo de separación se produce mediante partición de las moléculas de la muestra entre la fase estacionaria y la 10 fase móvil (líquida y gaseosa). Esta modalidad se utiliza en más del 95% de las aplicaciones de la cromatografía líquida debe solubilizar selectivamente las sustancias de la muestra, debe ser termoestable, presentar una baja volatilidad a la temperatura en la cual se realiza el análisis y ser químicamente inerte en relación con los componentes de la muestra (Sharapin, 2000).

B. Descripción de la técnica:

B.1. Fase móvil: La fase móvil gaseosa proporciona un rápido equilibrio entre las fases con mayor eficiencia en la obtención de los análisis. Los gases más utilizados son: nitrógeno, helio, hidrógeno y argón. La fase móvil no debe interactuar con la fase estacionaria ni con la muestra, debe tener bajo costo, ser compatible con el detector y tener alta pureza. Para dar una mayor reproducibilidad al análisis, la saturación del gas debe ser constante y debe ser controlada a través de válvulas de aguja (Sharapin, 2000).

B.2. Sistemas de inyección: La inyección se realiza generalmente con microjeringas que contienen la muestra. El volumen inyectado no debe superar la capacidad de la columna y entre más pequeño sea el volumen usado de la muestra mayor será la eficiencia y la reproducibilidad del análisis. La temperatura aplicada debe ser suficiente para la volatilización de la muestra (Sharapin, 2000).

B.3. Columnas: La columna consiste en un tubo largo que contiene la fase estacionaria. Los materiales más usados son el cobre, el acero, el aluminio, el vidrio y el teflón. El material de la columna no debe interaccionar con la fase estacionaria ni con la muestra (Sharapin, 2000).

B.4 Sistema de detectores: Las sustancias presentes en la muestra pasan a través de la columna, en donde son separadas y llegan al sistema de detección. Con relación a la selectividad, los detectores pueden ser clasificados en universales y selectivos o específicos. Los detectores universales miden la variación de una propiedad del gas de arrastre que sale de la columna mientras que

los detectores específicos miden una propiedad característica de una determinada clase de sustancias. Con relación a la sensibilidad, los detectores cuya respuesta varia poco por cambios en la velocidad de flujo de la fase móvil, 11 son llamados detectores sensibles de flujo de masa. En estos detectores la sensibilidad se define como la relación del área de pico a la masa inyectada. En los detectores sensibles a la concentración, la respuesta varía en función del flujo de la fase móvil y su sensibilidad se define como el producto del área del pico por el flujo de la fase móvil dividido por la masa inyectada.

La respuesta del detector debe ser lineal dentro de un amplio intervalo de concentraciones. Este intervalo de concentraciones se conoce como intervalo lineal dinámico y corresponde a la diferencia entre la concentración máxima del intervalo lineal dinámico y la mínima concentración del mismo y que debe distinguirse de la señal de fondo o ruido del detector. El análisis cuantitativo se puede llevar a cabo gracias a la relación directa que existe entre la respuesta del detector y la concentración de la muestra, siempre y cuando la respuesta obtenida para la muestra se encuentre dentro de ese intervalo (Sharapin, 2000).

2.3. Hipótesis:

Sampieri, Fernandez y Baptista (2006), mencionan que no en todas las investigaciones cuantitativas se formulan hipótesis, únicamente en aquellas cuyo planteamiento define que su alcance será correlacional o explicativo, o las que tienen un alcance descriptivo, pero que intentan pronosticar una cifra o un hecho.

La naturaleza del trabajo es descriptiva.

2.4. Identificación de Variables.

2.4.1. Variable independiente:

Especie: *Tagetes terniflora* H.B.K.

2.4.2. Variable dependiente:

- Rendimiento de extracción.
- Características fisicoquímicas:
  - ✓ Densidad
- Concentración de compuestos bioquímicos.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Ámbito de estudio

El área de influencia que abarco el proyecto fue la provincia de Acobamba específicamente el distrito de Acobamba, de donde se recolecto la materia prima.

La parte de extracción del aceite esencial se desarrollo en el laboratorio y planta piloto de extracción – destilación de la Escuela Académico Profesional de Agroindustrias de la Facultad de Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional de Huancavelica.

Así mismo la determinación de la composición química del aceite esencial se llevo acabo en el laboratorio de la sección análisis fisicoquímico, química industrial, componentes volátiles atravez de cromatografía de gases acoplado a espectrofotometría de masas en el Centro de Investigaciones de la Universidad Industrial Santander (Bucaramanga - Colombia).

3.2. Tipo de investigación.

El estudio se definió como una investigación de tipo aplicada, ya que se busca conocer y entender mejor la composición bioquímica del aceite esencial del Chikchimpay.

3.3. Nivel de Investigación

Este se refiere al grado de profundidad con que se aborda un fenómeno u objeto de estudio. Así, en función de su nivel el tipo de investigación en este caso es Descriptiva.

Los estudios descriptivos buscan especificar las propiedades, las características y los perfiles de personas, grupos, comunidades o cualquier otro fenómeno que se someta a un análisis. Danhke, (1989 citado por y Hernández, Fernández y Baptista, 2004).

3.4. Método de Investigación

Se realizo la descripción correspondiente en base a los resultados brindados por el laboratorio de la sección análisis fisicoquímico, química industrial, componentes volátiles a través de cromatografía de gases acoplado a espectrofotometría de masas en el Centro de Investigaciones de la Universidad Industrial Santander (Bucaramanga - Colombia).

3.4.1. Extracción del aceite esencial: La extracción de los metabolitos secundarios volátiles se efectuó durante el estado de floración de las plantas, ya que según los resultados obtenidos por Durán (2005), este es el estado fenológico en el que las hojas acumulan mayor cantidad de aceites esenciales; y se realizó mediante fluido de arrastre hidrotermico.

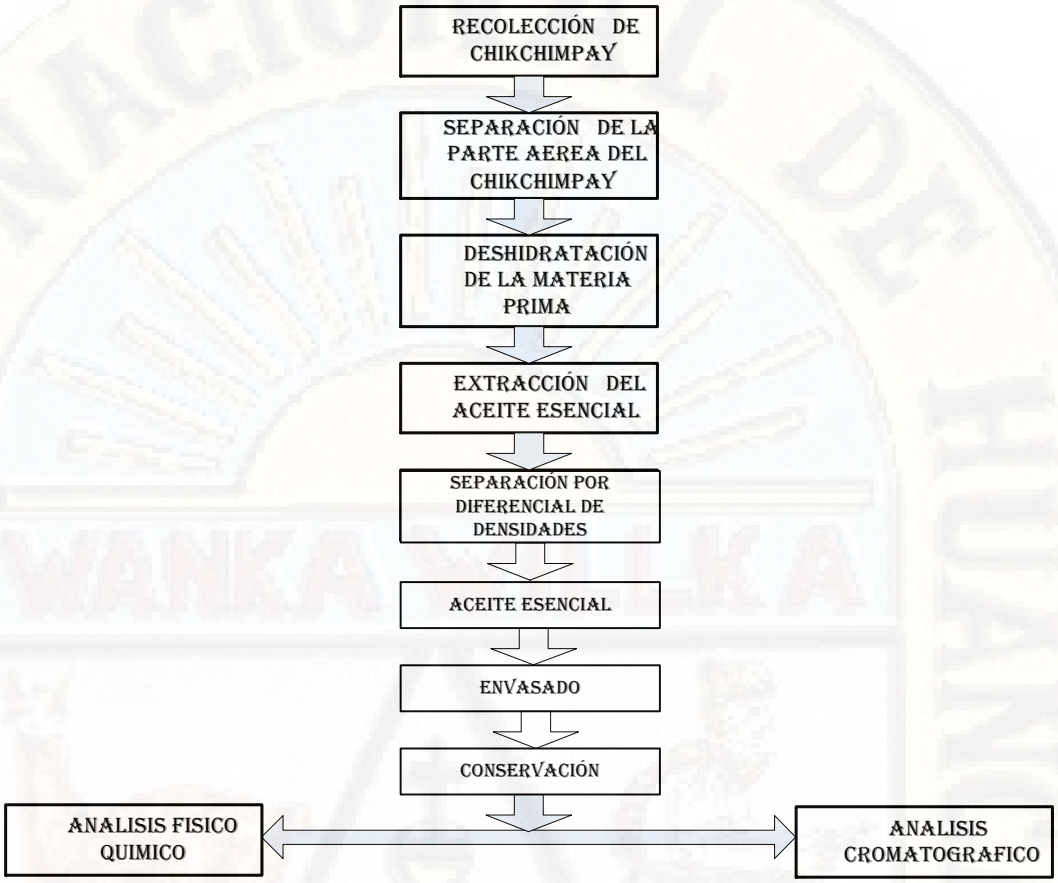
3.4.2. Composición química de aceites esenciales: El método empleado fue cromatografía de gases con detector selectivo de masas (GC-MS).

3.5. Diseño de Investigación

Sampieri, Fernandez y Baptista (2006), definen al diseño como el plan o estrategia que se desarrolla para obtener la información que se requiere en una investigación, en el presente trabajo se empleo un diseño para aportar evidencia respecto a los lineamientos de la investigación.

Para el rendimiento y la calidad de la extracción de aceite esencial de Chikchimpay, se extrajo de la planta las hojas y flores, por medio de fluido de arrastre hidrotermico.

Figura N° 01: Flujograma del diseño descriptivo



3.5.1. Descripción del diseño descriptivo

i. ***Preparación de la materia prima:*** Se utilizó como materia prima el Chikchimpay de la zona del barrio Pillcosay de la Provincia de Acobamba, la cual se adquirido en las laderas y bordes de las siembras con la finalidad de adecuar la materia prima para el proceso de extracción, se realizaron las siguientes operaciones previas:

- ***Limpieza.*** Se eliminaron cuidadosamente las raíces solo para separar la parte aérea de la planta.
- ***Lavado.*** Se realizo con la finalidad eliminar los últimos vestigios de tierra y esto se efectuó un flujo continuo de agua potable a temperatura ambiente para eliminar el exceso de humedad.
- ***Secado.*** Se realizo para facilitar el proceso de extracción y así mismo lograr un mayor tiempo de almacenaje si es que no se va

a extraer de forma inmediata. En este caso se realizo un secado natural en un ambiente adecuado en sombra a temperatura de ambiente.

El tiempo total de secado estuvo comprendido entre una a cuatro a seis semanas.

3.6. Población, Muestra, Muestreo.

3.6.1. Población.

La población estuvo constituido por las plantas de chikchimpay (*Tagetes terniflora* H.B.K), que se encontraban en la zona del barrio Pillcosay de la Provincia de Acobamba.

3.6.2. Muestra.

Tejido deshidratado subunidades flores y hojas de chikchimpay (*Tagetes terniflora* H.B.K). La muestra fue recolectada del borde de los sembríos, perteneciente a la zona del barrio Pillcosay de la Provincia de Acobamba.

3.6.3. Muestreo.

El muestreo se realizó al azar.

3.7. Técnicas e Instrumentos de Recolección de datos

En el presente trabajo de investigación, se empleo diversas técnicas e instrumentos, para lo cual se detalla en el cuadro siguiente:

Cuadro Nº 01. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

Método	Técnica	Instrumento
Indirecto	Recolección de información	Libros, artículos de investigación, boletines y formatos impresos
Directo	Análisis de laboratorio: ➢ Aceite esencial	Método estandarizado: ➢ Método por arrastre de vapor
Directo	Análisis de laboratorio: ➢ Composición química de aceite esencial.	Método estandarizado: ➢ Cromatografía de gases con detector selectivo de masas (GC-MS).

3.8. Procedimiento de Recolección de Datos

En el presente trabajo de investigación, para la recolección de datos se realizo los siguientes procedimientos:

Cuadro Nº 02. Procedimiento de recolección de datos.

Procedimiento:	Recolección de datos:
Revisión de Libros, artículos de investigación, boletines y formatos impresos	Recolección de información
Aplicación del Método por arrastre de vapor	Obtención del aceite esencial.
Aplicación del Método gravimetría-volumétrico	Obtención del rendimiento del aceite esencial
Aplicación del método de Cromatografía de gases con detector selectivo de masas (GC-MS).	Determinación y cuantificación del aceite esencial.

3.9. Técnicas de Procesamiento y Análisis de Datos

El procesamiento de datos permitió observar, identificar y analizar, a través de la obtención de datos en la cual se sistematizó la información recogida de la realidad. En esta investigación se utilizó como técnicas de procesamiento y análisis de datos las que se describen a continuación:

3.9.1. Análisis del rendimiento de Aceite Esencial.

La determinación del porcentaje de rendimiento de aceite esencial (%RAE), se realizo a escala laboratorio por el método de arrastre por vapor de agua en un equipo de destilación de acero inoxidable. Por batch se empleo 1500 g aproximadamente de hojas y flores deshidratadas de Chikchimpay (*Tagetes terniflora*), se obtuvo un determinado volumen que fue medido con separador de aceite esencial de flujo continuo con volumen graduado. Por el método gravimetría-volumétrico se determino el %RAE, aplicando la siguiente fórmula (Bandoni, 2000):

%RAE = Vol. AE (mL)/ Pmuestra (g) x 100

Donde:

Vol. AE : Volumen del aceite esencial obtenido en mililitros.

$P_{MUESTRA}$: Peso de la muestra a destilar en gramos.

3.9.2. Análisis de las características físico químicas del aceite esencial.

Se determino las principales características fisicoquímicas como:

- Densidad relativa.
- Color.
- Apariencia.

3.9.3. Análisis de compuestos fitobioquímicos del aceite esencial.

Se realizo mediante análisis instrumental, utilizando un Cromatografo de gases y espectrofotómetro de masas.

3.9.3.1. Descripción de la técnica empleada:

La preparación de las muestras se llevo acabo por dilución e inyección directa de los aceites esenciales al equipo cromatográfico. El análisis cromatográfico se realizo en un cromatografo de gases AT 6890 series Plus, acoplado a un detector selectivo de masas operado en el modo barrido completo de radiofrecuencias. La columna empleada en el análisis fue DB-5MS. La inyección se realizo en modo Split (30:1), Viny=2µL.

La identificación tentativa de los compuestos registrados en el aceite esencial de Chikchimpay (Tagetes terniflora H.B.K) se estableció en base de sus espectros de masas, usando las bases de datos de Adams,Wiley 138 y NISTO5. La cual aparece en el cuadro N°05 la identificación tentativa y la cantidad relativa (%) de componentes. analizados por GC-MS operado en modo barrido completo en radio frecuencia (full scan).

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1. Presentación de Resultados.

Los análisis realizados al aceite esencial fueron los siguientes:

- Análisis del Rendimiento de extracción.
- Análisis físico químico.
- Análisis de la cromatografía de gases con detector selectivo de masas (GC-MS).

4.1.1. Análisis del rendimiento de extracción de Aceite Esencial de chikchimpay (*Tagetes terniflora* H.B.K).

Extracción y determinación del porcentaje de rendimiento del aceite esencial a partir de la materia vegetal de la especie *Tagetes terniflora* H.B.K.

Preparación de la muestra:

● Se peso las cuatro muestras correspondientes de la materia prima.

● Se introdujo al extractor de aceite esencial de 18 dm3 de acero inoxidable.

● Se realizo el aumento de temperatura en cuanto se refiere al calentamiento, la primera gota de aceite emergió después de 45 minutos, al cabo de 2 horas y 45 minutos se finalizo el proceso de extracción.

Los rendimientos obtenidos en producto extractivo para cada uno de las muestras en que se realizaron las investigaciones fueron:

Cuadro N°03. Rendimiento del aceite esencial de chikchimpay

N°	MUESTRA	PESO (gramos)	Volumen del AE (mililitros)	Rendimiento (%)
01	A	1502	1.8	0.120
02	B	1602	1.9	0.119
03	C	1710	2.1	0.123
04	D	1813	2.7	0.149
PROMEDIO				0.128
DENSIDAD RELATIVA				0.964

Tal y como se puede observar el rendimiento corresponde a la extracción realizada mediante el proceso de hidrodestilación. Como se ve en el Cuadro N°03 el aceite esencial fue extraído en una sola época. De cada muestra se obtuvo el porcentaje de rendimiento, y se realizó un promedio de los rendimientos correspondientes. Se tiene como resultado que de 1656,75g de hojas y flores de chikchimpay se obtienen 2,125ml de aceite esencial, cuyo rendimiento es de 0,128% ±0,0012 de cuatro repeticiones del proceso extractivo.

4.1.2. Análisis de las características físico químicas del Aceite Esencial de chikchimpay (*Tagetes terniflora* H.B.K).

A continuación se indica el calor calculado de la densidad y el pH del aceite esencial recolectado.

- Densidad relativa, se tiene como resultado 0,9624 del aceite esencial de chikchimpay, la cual se determino por el método del picnómetro.

Cuadro N°04. Características Organolépticas

INDICADORES	Aceite Esencial de chikchimpay
Apariencia	Transparente
Color	Amarillo verdoso ligero
Olor	Aromático picante penetrante

El aceite esencial posee un fuerte olor aromático picante. La apariencia del aceite esencial es transparente y el color del aceite es amarillo verdoso ligero.

4.1.3. Análisis de los compuestos bioquímicos del Aceite Esencial de chikchimpay (*Tagetes terniflora* H.B.K)

Los resultados de los análisis cualitativos y cuantitativos del aceite esencial obtenido a partir de chikchimpay (*Tagetes terniflora* H.B.K). Arrojaron el perfil siguiente:

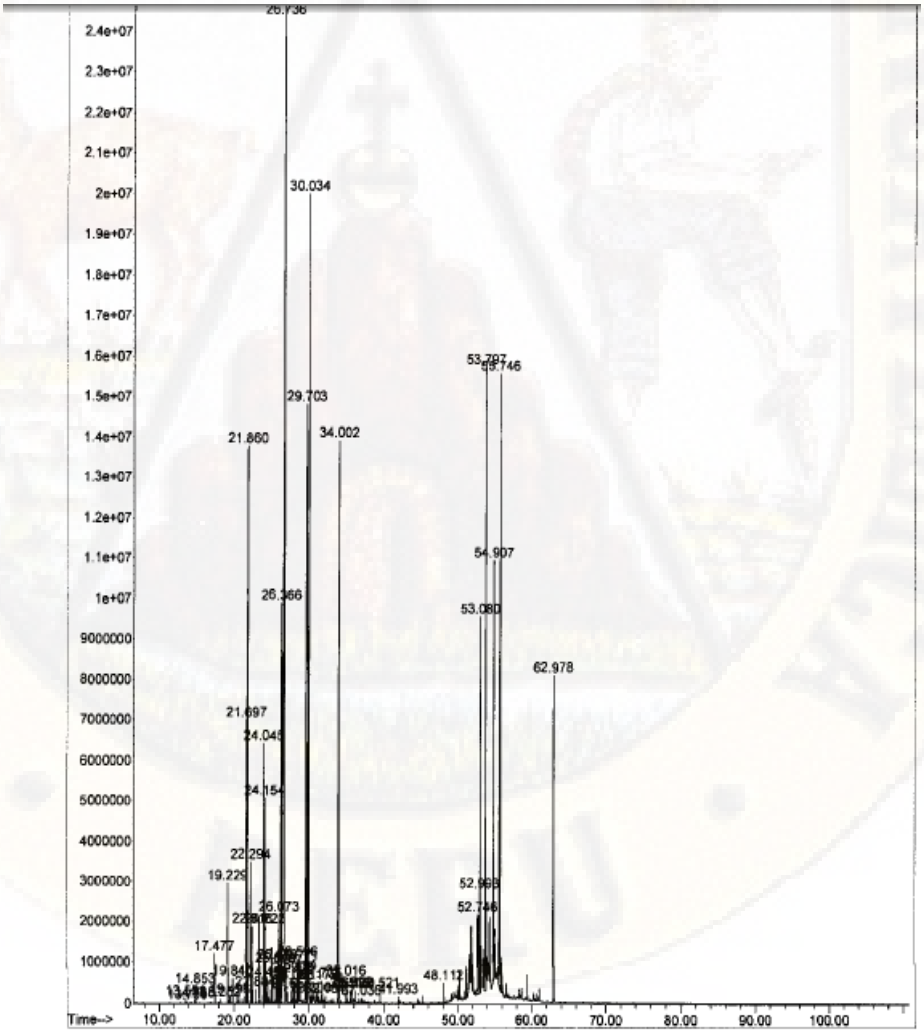
Cuadro N°05. Composición química de aceite esencial chikchimpay (*Tagetes terniflora* H.B.K)

N° Pico	T_R, (min)	IDENTIFICACION DE COMPONENTES	CANTIDAD RELATIVA, %
1	13,55	2- Metilbutanoato de etilo	< 0,1
2	13,79	*tras*- 2- Hexenal	< 0,1
3	14,77	Acetato de 3-metilbutanol	< 0,1
4	14,85	Acetato de 2-metilbutanol	0,1
5	17,48	α-Pineno	0,3
6	18,26	Canfeno	< 0,1
7	19,23	Sabineno	0,8
8	19,50	β-Pineno	< 0,1
9	19,84	β-Mirceno	0,2
10	21,70	Limoneno	2,1
11	21,86	*cis*-β-Ocimeno	4,7

12	22,29	*trans* -β-Ocimeno	0,9
13	22,52	Dihidrotagetona	0,5
14	22,88	y-Terpineno	0,1
15	24,05	Terpinoleno	1,9
16	24,15	6,7- Epoximirceno	1,5
17	24,22	β-Cimeneno	0,6
18	24,50	Linalool	0,2
19	25,65	allo-Ocimeno	0,6
20	25,88	Compuesto oxigenado(M^ 152)	0,3
21	26,07	*trasn* – Miróxido	0,8
22	26,37	*trans*- Tagetona	4,0
23	26,74	*cis*- Tagetona	21,9
24	27,66	Borneol	0,1
25	27,90	Terpinen-4-ol	0,2
26	28,06	β-Cimen-8-ol	0,2
27	28,41	α-terpineol +Metilcavicol	0,3
28	28,60	Compuesto oxigenado(M^ 152)	0,5
29	28,77	Compuesto oxigenado(M^ 150)	0,3
30	29,70	*cis*-Ocimenona	7,3
31	30,03	*trans* –Ocimenona	12,3
32	30,30	Carvona	0,1
33	31,18	Compuesto oxigenado(M^ 150)	0,2
34	31,74	*trans*-Anetol	0,2
35	32,18	Dihidroedulan I	0,1
36	34,00	Piperritenona	9,1
37	35,02	Compuesto oxigenado(M^ 166)	0,2
38	35,51	Compuesto (M^ 166)	0,1
39	35,82	Compuesto oxigenado(M^ 192)	0,1
40	36,12	Acetato de decilo	0,1
41	37,04	*trans*-β-Ceriofileno	< 0,1

42	39,52	Biciclogermacreno	0,1
43	41,99	Espatulenol	0,1
44	48,11	Neofitadieno	0,1
45	52,75	Compuesto oxigenado(M^ 300)	1
46	52,99	Compuesto oxigenado(M^ 302)	1
47	53,08	Compuesto oxigenado(M^ 304)	2,8
48	53,80	Compuesto oxigenado(M^ 302)	6,2
49	54,91	Compuesto (M^ 300)	4,8
50	55,75	Compuesto (M^ 300)	7,9
51	62,98	Dioctil ftalato	2,8

Figura N°02. Cromatograma general de aceite esencial chikchimpay (*Tagetes terniflora* H.B.K)



4.2. Discusión

De acuerdo con los análisis y los datos obtenidos en la parte experimental se puede corroborar que el mejor método para extraer el aceite esencial Chikchimpay es a través del fluido de arrastre hidrotermico, ya que no se modifican las características organolépticas del aceite esencial.

Cabe señalar que solo se pudo sacar una comparación del rendimiento del aceite esencial de 4 muestras, pero con ningunos indicadores, ya que solo en una fecha se recolectó la misma cantidad en peso de las hojas y flores de Chikchimpay, debido al tiempo de floración y en las otras fechas no existía la suficiente cantidad de planta.

Hay que señalar que en nuestro país en este año el clima ha variado mucho y que el mismo día se tiene clima cálido en la mañana y en la tarde el clima es frío, o viceversa, dicho factor también afecta mucho en el rendimiento del aceite esencial, debido a que la planta genera más aceite esencial en clima cálido, mientras que en clima frío aumenta la cantidad de agua en las hojas, disminuyendo la producción del aceite esencial.

Baldeon, X (2011), en su trabajo de investigación sobre la "Actividad insecticida de los aceites esenciales de *Tagetes minuta, Tagetes terniflora* y *Tagetes zipaquirensis* sobre *Premnotrypes vorax*", en su análisis organoléptico del aceite esencial de *Tagetes terniflora fue de* color amarillo pálido, olor aromático picante, aspecto transparente, así también su característica física como la densidad g/mL fue de 1.45. Comparando con el análisis realizado presento características organolépticas como: amarillo verdoso ligero, olor aromático picante penetrante y transparente; solo difieren en el color, respecto a la densidad se encontró como resultado 9.9624, difiere con lo encontrado por Baldeon.

El análisis de Espectroscopia de Masas que se encuentra en el cual esta mediante esta analítica se ha detectado la presencia de 51 componentes en

el aceite esencial de Chikchimpay. Entre los mismos destaca el cis-tagetona, con un contenido de 21,99%, seguido del trans-Ocimenona, cuyo valor alcanza el 12,90%. Dentro del grupo de monoterpenos no oxidados a los que pertenece el α-pineno destaca también la presencia de canfeno (menor a 0,1%), limoneno (2,10%), β-pineno (menor a 0,1%), β-mirceno (0,20%) y p-cimeneno (0,60%), acompañados de pequeñas cantidades de otros hidrocarburos monoterpénicos, tales como γ-terpineno, sabineno, terpinoleno, cis-β-ocimeno, etc.

El aceite esencial de Chikchimpay presenta, igualmente, una riqueza apreciable en derivados monoterpénicos oxidados, entre los que cabe citar en primer lugar al α-terpineol + metilcavicol (0,30%), terpinen-4-ol (0,20%), linalool (0,20%), borneol (0,10%), y otros derivados oxidados presentes en cantidades menos significativas.

Stefanazzi, N. Gutierrez, M. Stadler, T. Bonini, A y Ferrero, A. (2006); en su trabajo sobre la actividad biológica del aceite esencial de *Tagetes terniflora* Kunth (Asteraceae) en *Tribolium castaneun* Herbst (Insecta, Coleoptera, Tenebrionidae); en su análisis cromatografico, a través de un cromatografo gas-liquido (CGL) revelo la presencia de componentes mayoritarios como el cis-ocimeno (27,3%), la cis y trans-tagetona (25,9%) y componentes minoritarios como la cis y trans-ocimenona (17,5%) y la dihidrotgetona (16,8%). Haciendo una comparación con el análisis realizado mediante esta los mismos destaca el cis-tagetona, pero con un contenido de 21,99%, seguido del trans-Ocimenona, cuyo valor alcanza el 12,90%; se nota que existe una diferencia elativa en cada uno de los análisis.

En nuestro país se cuenta con una gran variedad de plantas medicinales, para usarlas diariamente en productos de consumo popular, si se explotara y aprovechara todas las propiedades que tienen estas plantas, se obtendrían productos 100% naturales que nos sirvan como en el caso de este aceite

esencial de Chikchimpay que puede ser utilizado como Biofertilizantes y desinfectantes.

CONCLUSIONES

- El aceite esencial de Chikchimpay obtenido mediante fluido por arrastre hidrotermico del vegetal deshidratado presento características organolépticas como: amarillo verdoso ligero, aromático picante penetrante y transparente.

- El estadio vegetativo (en plena floración) y la condición del tejido vegetal (tejido vegetal) y la carga del material vegetal (g), tienen marcada relación con el rendimiento de extracción de aceite esencial de chikchimpay (*Tagetes terniflora* H.B.K), del cual se determino que la carga aceptable esta en un intervalo de 1502 a 1813 g de material vegetal de chikchimpay (*Tagetes terniflora* H.B.K), siendo la carga óptima de extracción. en el equipo extractor de aceite esencial de 18 litros de volumen de acero inoxidable Max 316.

- El rendimiento promedio es de 0,128% ±0,0012 de cuatro repeticiones del proceso extractivo.

- El perfil de compuestos volátiles a través de CG-SM, se identifico la presencia de 51 componentes en este aceite. A pesar de las variaciones cuantitativas que sufren los componentes principales del aceite esencial de Chikchimpay, éste se caracteriza por la presencia mayoritaria del cis-tagetona, seguido del trans-Ocimenona. Los resultados obtenidos indican que la cis-tagetona se acumula en las sumidades floridas del vegetal. Así mismo se identifico los componentes de mayor valor económico como el limoneno, carvona, neofitadieno y el linalool.

- El aceite esencial de Chikchimpay presenta componentes principales que son del tipo monoterpenos aciclicos triplemente insaturados: cis y trans tagetona, cis y trans ocimenona.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar mas investigaciones teniendo en cuenta las variables como la época de recolección de la planta y siendo las fechas de cosecha y extracción distintas con espacios largos de tiempo, el rendimiento es variable dependiendo de la temperatura ambiental durante este proceso y debido a que al poseer compuestos con elevada volatilidad éste se va perdiendo en el aire.

- Dada su excelente adaptación a nuestras condiciones ecológicas y su interés comercial en el segmento de biocomercio sostenible, chikchimpay puede ser recomendada como cultivo alternativo para su implantación en áreas con posibles cambios de uso de suelos agrícolas y conservación de vegetación genética.

- Sería muy interesante continuar la investigación del aceite chikchimpay y realizar una comparación de la actividad y rendimiento del aceite esencial de otras regiones del país, haciendo un control de malezas, riego y abono para determinar los factores temperatura y altura en la concentración y actividad que estos pueden presentar.

- Implementar e instalar un centro de aromas, para fortalecer el biocomercio sostenible en la región Huancavelica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bakkali F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar M., Biological effects of Essentials oils-A review. Food and Chemical Toxicology, 46, 446-475.
- Brako, L.; Zarucchi, J. Catálogo de las Angiospermas y Gimnospermas del Perú. Missouri Botanical Garden Monographs Systematic Botany Sarasota, USA. V.45, 1993,1288 p.
- Briga J. Los aromáticos en la industria moderna. 2ª edición. Editorial Sintes, Barcelona, España, 1962.
- Chemat S., Hamid A., Ahcene L., Esveld D. Microwave assisted extraction kinetics of terpenes from caraway seeds, Chemical Engineering and Processing, 2005. 44, 1320-1326.
- Chou, G. X., and R. H. Zhou. The variation and chemotypes of the essential oil components in wild *Mentha haplocalyx* Briq. in China. J. Plant Resour. Environ. 1998. 7: 13–18.
- Diaz, J. A. Estrategia para tres sectores de Biocomercio con estudios de mercado específicos. CAF. IAvH. Volumen VII. 2006. Bogotá, D. C. Colombia, 2006. 89 p.
- Díaz-Cedillo F, Serrato-Cruz M A. Composición del aceite esencial de Tagetes parryi A. Gray. Revista Fitotecnia Mexicana, 2011.
- Domínguez A. Métodos de investigación aceites esenciales 1998.pp. 229–233.
- Farrel Kenneth,. Spices, condiments and seasonings. (USA: The Avi Publising Company, Inc.), 1985 pp. 3–12, 16–20, 147–149.
- Feo, V. de, G. della Porta, E. Soria U. F. Senatore. Composition of the essential oil of *Tagetes filifolia* Lag. Flav. Frag. J. 1998. 145–147.
- Gil, A., C. M. Ghersa, and S. Leicach. Essential oil yield and composition of *Tagetes minuta* accessions from Argentina. Biochem. Syst. Ecol. 2000. 261–274.
- Grace, U. Aromaterapia para practicantes, Grupo Editorial Tomo, México. 2001.

- Günther, E. The Essential Oils. Vol. 1: History and origin in Plants Production Analysis. 1948, Krieger Publishing: New York, USA.
- Heath, H.B. Reineccius, G. Flavor Chemistry and Technology. AVI Publishers., USA. 1986.
- Kirk, Raymond, et al. Enciclopedia de tecnología química. España:
- Loja Herrera, B. Contribución al estudio florístico de la provincia de Concepción, (Junín): Dicotiledóneas. www.sisbib.unmsm.edu.pe, Tesis para optar por el grado de Magister en Botánica Tropical. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Ciencias Biológicas. Escuela de Post-Grado. Lima. 2002.
- Lopez O. Mildred Carmina. Extracción y caracterización preliminar del aceite esencial del protium copal, a nivel laboratorio. Tesis Ing. Química. Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Ingeniería, 1999.
- Maistre J. Las Plantas de especias. Editorial Blume, Barcelona, España,1969.
- McLeod A.; Pieris N.M. Volatile constituents of Sri Lankan ginger. Phytochemistry, v23, nº2, 1984. 353-359.
- Neher, R. T. Monograph of the genus *Tagetes* (Compositae). Ph. D. Dissertation. Indiana University. Bloomington, Indiana, USA. 1965. 306 p.
- Palomino, A. y Cerpa, M.G. Modelamiento de la hidroextracción de aceites esenciales. Memorias de la VI Reunión del Programa Nacional de Fenómenos de Transferencia. Universidad Nacional del Callao. Callao, Lima, Perú. 1999.
- Palomino, O. Métodos analíticos para la identificación de Plantas Medicinales. Apuntes del Curso de la Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (AEFI). 2001. pp. 74
- Putievsky, E., U. Ravid, N. Dudai, I. Katzir, D. Carmeli, and A. Eshel. Variations in the essential oil of *Artemisia judaica* L. chemotypes related to phenological and environmental factors. Flav. Fragr. J. 1992. 253–257.
- Root, W. Guía Ilustrada de Hierbas y Especias. Barcelona-España, Blume, 1983. pp. 50, 51, 106, 109.
- Saavedra, N.; W. Cosme V.; C. Viturro; A. Molina; S. G. Molina. Ensayo Piloto de Extracción de Volátiles de *Tagetes terniflora* H.B.K. 2002.

- Salaverry O. La complejidad y análisis de componentes de aceites esenciales de lo simple: plantas medicinales y sociedad moderna. Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2005; 22(4): 245-46.
- Serrato–Cruz., M. A, y J. S. Barajas–Pérez. Poblaciones silvestres de *Tagetes filifolia* Lag. en el centro sur de México. Rev. Fitotec. Mex. (Número Especial 2), 2006. 1–11.
- Skoog et al. Química Analítica. 7ª. Edición. México. Editorial McGraw-Hill. 2001. 687-696 P.
- Smith R.H.; Robinson J.M. The essential oil of ginger from Fiji. Phytochemistry, v20, nº2, 1981. p.203-206.
- Vila, R., J. Iglesias, S. Canigueral, and J. F. Ciccio. Essential oil *of Tagetes filifolia* from Costa Rica. Ing. Ciencia Quím. 19, 2000. 13–14.
- Villarreal Q., J. A. Familia Compositae. Tribu Tageteae. Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes. Fascículo 113. Instituto de Ecología A. C. Pátzcuaro, Michoacán. México. 2003. 85 p.
- Viturro, C. I.; A. C. Molina y A. M. Apaza. Caracterización y evaluación de rendimientos de aceites esenciales de *Tagetes terniflora* del valle de Jujuy. Universidad Nacional de Jujuy. Argentina. 2011.
- Wang, L., Weller, C.Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants, Food Science & Technology, 20. 2006, 1-13.
- Yann-Olivier Hay. El Mercado Internacional de Productos Naturales. Riesgos y Oportunidades Colombianos. Presentación en el III Congreso Internacional de Plantas Medicinales y Aromáticas Universidad Nacional, Palmira. 2008.
- Zygadlo J., A., A. L. Lamarque, D. M. Maestri, C. A Guzmán, and N. R. Grosso. Composition of the inflorescence oils of some *Tagetes* species from Argentina. J. Essential Oil Res. 1993. Pp. 679–682.

ANEXOS

Planta vegetal de Chikchimpay

Equipo extractor de aceite esencial.

Preparación de la muestra.

Pesado de la muestra

Extracción del aceite esencial de Chikchimpay