

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS**



**EFEECTO DEL TIEMPO DE EXPOSICIÓN A ULTRASONIDO SOBRE EL
CONTENIDO DE ANTIOXIDANTES DE LA PACHICHANCA
(*Clinopodium nubigenum* (Kunth) Kuntze)''**

T E S I S

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**PRESENTADA POR LA BACHILLER:
JUDITH MARIBEL CUEVA GUEVARA**

**ASESOR:
Ing. MCs. JIMY FRANK OBLITAS CRUZ**

CAJAMARCA – PERÚ

2024



CONSTANCIA DE INFORME DE ORIGINALIDAD

1. Investigador:
Judith Maribel Cueva Guevara.
DNI:76307956
Escuela Profesional/Unidad UNC:
INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
2. Asesor:
Ing. M. Sc. Jimmy Frank Oblitas Cruz.
Facultad/Unidad UNC: Ciencias Agrarias
3. Grado académico o título profesional
 Bachiller Título profesional Segunda especialidad
 Maestro Doctor
4. Tipo de Investigación:
 Tesis Trabajo de investigación Trabajo de suficiencia profesional
 Trabajo académico
5. Título de Trabajo de Investigación:
EFECTO DEL TIEMPO DE EXPOSICIÓN A ULTRASONIDO SOBRE EL CONTENIDO DE ANTIOXIDANTES DE LA PACHICHANCA (*Clinopodium nubigenum* (Kunth) Kuntze) .
Fecha de evaluación: 02/07/2024
6. Software antiplagio: TURNITIN URKUND (OURIGINAL) (*)
7. Porcentaje de Informe de Similitud: 14%
8. Código Documento: oid:3117:364184517
9. Resultado de la Evaluación de Similitud: 14%
 APROBADO PARA LEVANTAMIENTO DE OBSERVACIONES O DESAPROBADO

Fecha Emisión: 11/07/2024

<i>Firma y/o Sello Emisor Constancia</i>

_____ ING. M.Cs. JIMY FRANK OBLITAS CRUZ. DNI: 40043738

* En caso se realizó la evaluación hasta setiembre de 2023



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
"NORTE DE LA UNIVERSIDAD PERUANA"
Fundada por Ley N° 14015, del 13 de febrero de 1962
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
Secretaría Académica



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En la ciudad de Cajamarca, a los veintiocho días del mes de febrero del año dos mil veinticuatro, se reunieron en el ambiente 2H - 204 de la Facultad de Ciencias Agrarias, los miembros del Jurado, designados según Resolución de Consejo de Facultad N° 259-2022-FCA-UNC, de fecha 16 de setiembre del 2022, con la finalidad de evaluar la sustentación de la TESIS titulada: "EFECTO DEL TIEMPO DE EXPOSICIÓN A ULTRASONIDO SOBRE EL CONTENIDO DE ANTIOXIDANTES DE LA PACHICHANCAS (*Clinopodium nibigenum* (Kunth) Kuntze)", realizada por la Bachiller JUDITH MARIBEL CUEVA GUEVARA para optar el Título Profesional de INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS.

A las once horas y treinta y cinco minutos, de acuerdo a lo establecido en el Reglamento Interno para la Obtención de Título Profesional de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, el Presidente del Jurado dio por iniciado el Acto de Sustentación, luego de concluida la exposición, los miembros del Jurado procedieron a la formulación de preguntas y posterior deliberación. Acto seguido, el Presidente del Jurado anunció la aprobación por unanimidad, con el calificativo de quince (15); por tanto, la Bachiller queda expedita para proceder con los trámites que conlleven a la obtención del Título Profesional de INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS.

A las doce horas y treinta y cinco minutos del mismo día, el Presidente del Jurado dio por concluido el Acto de Sustentación.



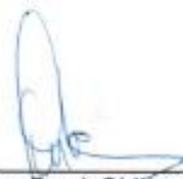
Dra. Consuelo Belania Plasencia Alvarado
PRESIDENTE



Dr. José Gerardo Sahuana Granados
SECRETARIO



Ing. M. Sc. Fanny Lucila Rimarachín Chávez
VOCAL



Ing. M. Sc. Jimmy Frank Oblitas Cruz
ASESOR

Dedicatoria

A Dios por haberme dado la oportunidad de llegar a esta instancia y asombrarme con sus bondades, a mis padres Augusto Cueva Tasilla y Olga Guevara Quiroz, por ser los guías para tomar las decisiones más convenientes en su tiempo y demostrarme que las cosas deben hacerse correctamente, por ser un ejemplo de lucha, perseverancia y esmero para alcanzar los objetivos además estar siempre presente en mi vida y a mis hermanos y hermanas por ser el apoyo incondicional en todo momento para salir adelante.

Judith Maribel.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional de Cajamarca mi alma mater, por ser la responsable directa de mi formación profesional y permitirme ser parte de ella, a los ingenieros de la E.A.P. de Ingeniería en Industrias Alimentarias por haberme compartido sus conocimientos, así como brindarme las herramientas para desenvolverme de la mejor manera en un futuro.

Judith Maribel.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
CAPÍTULO I.....	3
I. INTRODUCCIÓN	3
1.1. Problema de investigación	4
1.2. Formulación del problema	4
1.3. Objetivo general	5
1.3.1. Objetivos específicos	5
1.4. Justificación de la investigación.....	6
1.5. Hipótesis de la investigación.....	7
CAPÍTULO II.....	8
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	8
2.1. Antecedentes de la investigación.....	8
2.2. Bases teóricas	10
2.2.1. Pachichanca (<i>Clinopodium nubigenum</i> (Kunth.) Kuntze).....	10
2.2.1.1. Descripción botánica de la pachichanca	11
2.2.1.2. Usos ancestrales de las especies de la pachichanca.....	11
2.2.1.3. Cultivo y recolección de la pachichanca	11
2.2.1.4. Composición química de la pachichanca.....	11
2.2.1.5. Principios activos de la pachichanca	12
2.2.1.6. Propiedades medicinales de la pachichanca.....	14
2.2.1.7. Importancia a nivel industrial de la pachichanca	15
2.2.2. Utilización de extractos vegetales en la industria alimentaria.....	15
2.2.3. Aceite esencial.....	15
2.2.3.1. Caracterización de aceites esenciales	16
2.2.4. Antioxidantes.....	17
2.2.4.1. Clasificación de antioxidantes	17
2.2.5. Antioxidantes alimentarios.....	18

2.2.6.	Métodos para evaluar la actividad antioxidante en alimentos	19
2.2.6.1.	Método ORAC (Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno)	19
2.2.6.2.	Método FRAP (Capacidad antioxidante para reducir el ion férrico).....	19
2.2.6.3.	Método TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity).....	19
2.2.6.4.	Método DPPH:.....	20
2.2.7.	Ultrasonido	20
2.2.8.	Metodología de superficie de respuesta	21
2.3.	Definición de términos básicos	23
CAPÍTULO III		24
III.	MARCO METODOLÓGICO	24
3.1.	Ubicación geográfica del trabajo de investigación	24
3.2.	Materia prima e insumos.....	24
3.2.1.	Material biológico.....	24
3.2.2.	Material y equipo de laboratorio.....	24
3.2.3.	Reactivos	25
3.2.4.	Material de campo	25
3.3.	Métodos de análisis	25
3.3.1.	Determinación de la eficiencia de la densidad.....	25
3.3.2.	Determinación de la capacidad antioxidante	26
3.4.	Metodología experimental	27
3.4.1.	Tipo de investigación	27
3.4.2.	Variable independiente.....	27
3.4.3.	Variable dependiente.....	27
3.5.	Unidad de análisis, población y muestra de estudio	27
3.5.1.	Unidad de análisis.....	27
3.5.2.	Población.....	27
3.5.3.	Muestra de estudio	27
3.6.	Descripción de operaciones.....	29
3.7.	Factores de estudio	37

3.8.	Diseño experimental	37
3.9.	Codificación de tratamientos.....	38
3.10.	Modelo estadístico	38
3.11.	Matriz y distribución de tratamientos	39
CAPÍTULO IV		40
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	40
4.1.	Caracterización de la pachichanca o pachachamcua	40
4.1.1.	Botánica de la pachichanca o pachachamcua	40
4.1.2.	Taxonomía de la pachichanca.....	41
4.1.3.	Análisis químico proximal de la pachichanca	42
4.2.	Determinación de contenido de antioxidantes de la pachichanca.....	43
4.2.1.	Análisis de varianza para eficiencia de extracción	43
4.2.2.	Análisis de varianza para C50	47
CAPÍTULO V		51
V.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	51
5.1.	Conclusiones:	51
5.2.	Recomendaciones:	51
CAPÍTULO VI.....		52
VI.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
CAPÍTULO VII.....		60
VII.	ANEXOS	60

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	37
<i>Factores de estudio</i>	37
Tabla 2	38
<i>Codificación de tratamientos</i>	38
Tabla 3	39
<i>Matriz y distribución de tratamientos</i>	39
Tabla 4	41
<i>Taxonomía de la pachichanca</i>	41
Tabla 5	42
<i>Análisis químico proximal de la pachichanca</i>	42
Tabla 6	43
<i>Valores obtenidos en la fase experimental</i>	43
Tabla 7	43
<i>ANOVA para la eficiencia de extracción</i>	43
Tabla 8	47
<i>Análisis de Varianza para C50</i>	47
Tabla 9	67
<i>C50 para muestra de pachichanca (P1)</i>	67
Tabla 10	68
<i>C50 para muestra de pachichanca (P2)</i>	68
Tabla 11	69
<i>C50 para muestra de pachichanca (P3)</i>	69
Tabla 12	70
<i>C50 para muestra de pachichanca (P4)</i>	70
Tabla 13	71
<i>C50 para muestra de pachichanca (P5)</i>	71
Tabla 14	72
<i>C50 para muestra de pachichanca (P6)</i>	72

Tabla 15.....	73
<i>C50 para muestra de pachichanca (P7)</i>	73
Tabla 16.....	74
<i>C50 para muestra de pachichanca (P8)</i>	74
Tabla 17.....	75
<i>C50 para muestra de pachichanca (P9)</i>	75

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	10
<i>Pachichanca o pachachamcua (Clinopodium nubigenun (Kunth.) Kuntze)</i>	10
Figura 2	28
<i>Flujograma - Obtención de aceite esencial de la planta pachichanca</i>	28
Figura 3	29
<i>Recolección de muestra (Pachichanca)</i>	29
Figura 4	30
<i>Selección y clasificación de las plantas de pachichanca</i>	30
Figura 5	31
<i>Lavado de las plantas de pachichanca</i>	31
Figura 6	31
<i>Desinfectado de las plantas de pachichanca</i>	31
Figura 7	32
<i>Pesado de las plantas de pachichanca</i>	32
Figura 8	32
<i>Plantas de pachichanca dentro de equipo de autoclave</i>	32
Figura 9	33
<i>Medición de muestras de pachichanca en equipo de ultrasonido</i>	33
Figura 10	33
<i>Destilado de las muestras de pachichanca</i>	33
Figura 11	34
<i>Recolección del aceite esencial de pachichanca</i>	34
Figura 12	35
<i>Separación de fases (decantación)</i>	35
Figura 13	36
<i>Envasado del aceite esencial de pachichanca</i>	36
Figura 14	40
<i>Ilustración botánica de la pachichanca (Clinopodium nubigenum (Kunth.) Kuntze)</i>	40
Figura 15	44

<i>Pareto estandarizado para significancia estadística</i>	44
Figura 16	44
<i>Gráfico de efectos principales para la eficiencia</i>	44
Figura 17	45
<i>Gráfico de superficie plana y 3D para eficiencia de extracción</i>	45
Figura 18	46
<i>Superficie de deseabilidad para eficiencia</i>	46
Figura 19	48
<i>Gráfico de superficie plana y 3D para C50</i>	48
Figura 20	49
<i>Superficie de deseabilidad para C50</i>	49
Figura 21	67
<i>C50 para muestra de pachichanca (P1)</i>	67
Figura 22	68
<i>C50 para muestra de pachichanca (P2)</i>	68
Figura 23	69
<i>C50 para muestra de pachichanca (P3)</i>	69
Figura 24	70
<i>C50 para muestra de pachichanca (P4)</i>	70
Figura 25	71
<i>C50 para muestra de pachichanca (P5)</i>	71
Figura 26	72
<i>C50 para muestra de pachichanca (P6)</i>	72
Figura 27	73
<i>C50 para muestra de pachichanca (P7)</i>	73
Figura 28	74
<i>C50 para muestra de pachichanca (P8)</i>	74
Figura 29	75
<i>C50 para muestra de pachichanca (P9)</i>	75

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1.....	60
<i>Taxonomía de la pachichanca o pachachamcua</i>	<i>60</i>
ANEXO 2.....	61
<i>Determinación espectrofotométrica de fenoles totales en la planta pachichanca.....</i>	<i>61</i>
ANEXO 3.....	62
<i>Composición química de un aceite esencial de acuerdo a (Gilardoni et al., 2021)</i>	<i>62</i>
ANEXO 4.....	63
<i>Análisis químico proximal de la pachichanca.....</i>	<i>63</i>
ANEXO 5.....	67
<i>C₅₀ para cada una de las muestra de pachichanca evaluadas</i>	<i>67</i>

RESUMEN

La investigación se realizó en dos etapas; la primera etapa (obtención de aceite esencial y exposición de muestras a ultrasonido) se realizó en el laboratorio de Bioingeniería de los Alimentos de la E.A.P. de IIA de la (Universidad Nacional de Cajamarca) y la segunda etapa: determinación de capacidad antioxidante (DPPH) se realizó en el laboratorio de Química de la (Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo). El objetivo principal fue determinar el efecto del tiempo de exposición a ultrasonido y tiempo de extracción en el contenido de antioxidante de la pachichanca (*Clinopodium nubigenum* (Kunth.) Kuntze). La muestra de pachichanca se obtuvo del Caserío de Pucará, Distrito de Tumbadén, Provincia de San Pablo, Región Cajamarca. Se trabajó con la planta completa de pachichanca la cual incluye (raíz, tallo, hojas, fruto y flores), los tiempos de extracción fueron (40, 80 y 120 min) y los tiempos de exposición a ultrasonido (20, 30 y 40 min). Se usó el método de reducción de la concentración del radical DPPH a la mitad (C₅₀). Se concluyó que el tiempo de extracción fue significativo ($p < 0.05$) en la eficiencia de extracción, mientras que el tiempo de ultrasonido no ejerció efectos, así mismo la interacción de los factores no fue significativo; el tiempo óptimo de exposición a ultrasonido sobre el contenido de antioxidantes fue de 34.9 minutos y para tiempo óptimo de extracción de antioxidantes fue 120 minutos en función a la variable C₅₀ logrando un valor de 1.86.

Palabras clave: pachichanca, efecto, tiempo de exposición, ultrasonido, contenido antioxidante.

ABSTRACT

The research was carried out in two stages; The first stage (obtaining essential oil and exposing samples to ultrasound) was carried out in the Food Bioengineering laboratory of the E.A.P. of IIA of the (National University of Cajamarca) and the second stage: determination of antioxidant capacity (DPPH) was carried out in the Chemistry laboratory of the (Pedro Ruiz Gallo National University). The main objective was to determine the effect of ultrasound exposure time and extraction time on the antioxidant content of pachichanca (*Clinopodium nubigenum* (Kunth.) Kuntze). The pachichanca sample was obtained from the Caserío de Pucará, Tumbadén District, San Pablo Province, Cajamarca Region. We worked with the complete pachichanca plant which includes (root, stem, leaves, fruit and flowers), the extraction times were (40, 80 and 120 min) and the ultrasound exposure times (20, 30 and 40 min). The method of reducing the concentration of the DPPH radical by half (C50) was used. It was concluded that the extraction time was significant ($p < 0.05$) in the extraction efficiency, while the ultrasound time had no effects, likewise the interaction of the factors was not significant; The optimal ultrasound exposure time on the antioxidant content was 34.9 minutes and for the optimal antioxidant extraction time it was 120 minutes based on the C50 variable, achieving a value of 1.86.

Keywords: pachichanca, effect, exposure time, ultrasound, antioxidant content.

CAPÍTULO I

I. INTRODUCCIÓN

Nuestro país es mundialmente reconocido por su diversidad biológica y en los últimos años las plantas exóticas han sido investigadas por sus propiedades medicinales, en virtud de su eficiencia farmacológica, pocos efectos secundarios y bajo costo. Las especies vegetales tienen compuestos químicos que las protegen contra infecciones microbianas o infestaciones por plagas y tienen actividades terapéuticas, asimismo por sus propiedades nutricionales son de gran utilidad en la industria alimentaria (Mena y Salas, 2022).

La planta pachichanca o pachachamcua (*Clinopodium nubigenum* (Kunth.) Kuntze), es una planta perenne característica de los páramos de nuestra sierra andina es usada con la finalidad de regular la temperatura corporal y aliviar ciertas enfermedades. Tiene un gran potencial industrial debido a sus principios activos como alcaloides, almidón, taninos, flavonoides, aceites esenciales, triterpenos y esteroides (Álvarez y Arcos, 2021).

Los tratamientos físicos como el ultrasonido, entre muchos otros (pulsos eléctricos, irradiaciones, microondas, luz blanca), se convierte en una alternativa muy promisoría para el procesamiento de alimentos, por cuanto permiten realizar operaciones de estabilización sin incrementar drásticamente la temperatura del sistema y, por lo tanto, preservan mucho mejor las características sensoriales del producto (González, 2021).

El procesamiento con ultrasonido se aplica a una variedad de mezclas líquidas y bebidas, mejora la emulsificación y homogeneización con reducción del tamaño de partículas, También influyen en la esterilización de líquidos, con actividad microbiana, es una característica del tratamiento ultrasónico en una gama de jugos de frutas, observándose una mayor estabilidad y una disminución del deterioro en el almacenamiento aumentando los niveles de compuestos bioactivos (Paniwnyk, 2017).

Los antioxidantes evitan la oxidación y alargan la vida útil del producto. En el mercado nacional, los aceites esenciales de sunfo son difíciles de encontrar por el uso limitado. Es primordial impulsar la extracción de aceites esenciales de plantas aromáticas del medio para su aprovechamiento (Mena y Salas, 2022).

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo fundamental determinar el efecto del tiempo de exposición a ultrasonido y tiempo de extracción sobre el contenido de antioxidantes en la pachichanca (*Clinopodium nubigenum* (Kunth.) Kuntze).

1.1. Problema de investigación

En las zonas rurales a más de 3000 msnm. Existen plantas nativas que aún no han sido reconocida, pero son utilizadas en su gran mayoría para té, ya sea por su olor aromático agradable o porque cura algunos males o dolencias que padecen. Perú es uno de los países con muy alta diversidad biológica entre los que destacan las plantas, que en total suman unas 25 000. De todas las plantas del Perú, unas 5 000 son de uso conocido como alimentarias, medicinales, condimentarias, tintóreas, curtientes, maderables, ornamentales, para abono y muchos otros (Brack, 2020).

Hay una tendencia mundial por consumir productos naturales. Con respecto al factor cultural, se menciona que el mercado peruano consume estos productos desde antes de la conquista española, donde consumían hierbas para tratar diferentes males, estos conocimientos se trasladaron de generación a generación. En la actualidad hay una tendencia por consumir productos derivados de plantas medicinales o productos naturales, con la llegada del internet las personas cuentan con más información (Fajardo 2018).

El Perú, es considerado entre los diecisiete países más diversos del mundo es un país rico en plantas medicinales, con más de 1,109 variedades, esto por su variado clima (Elías, 2017). Históricamente, esta amplia diversidad vegetal ha servido al poblador peruano como fuente primaria de alimentos, medicina, energía, construcción, fibras, actividades humanas simbólicas y ritualistas (De la Cruz y Zevallos, 2017) permitiendo de esta manera la acumulación de conocimientos tradicionales asociado a especies vegetales.

1.2. Formulación del problema

¿Cuál es el efecto del tiempo de exposición a ultrasonido y tiempo de extracción sobre el contenido de antioxidantes de la pachichanca (*Clinopodium nubigenum* (Kunth.) Kuntze)?

1.3. Objetivo general

- Determinar el efecto del tiempo de exposición a ultrasonido y tiempo de extracción sobre el contenido de antioxidantes en la pachichanca (*Clinopodium nubigenum* (Kunth.) Kuntze).

1.3.1. Objetivos específicos

- Caracterizar la planta conocida como pachichanca del Caserío Pucará Distrito de Tumbadén, Provincia San Pablo, Región Cajamarca.
- Determinar el valor óptimo para el tiempo de exposición a ultrasonido y tiempo de extracción de antioxidante de la pachichanca.

1.4. Justificación de la investigación

El ser humano a lo largo de la historia ha empleado las plantas para suplir necesidades básicas como básicas alimento, medicina, vivienda y vestido, incluso en actos rituales. Esta cultura ancestral ha sido adoptada por las siguientes generaciones las mismas que no han considerado los beneficios o problemas relacionados con uso, manipulación o consumo. Es por esta razón que, visualizamos la necesidad de realizar estudios e investigaciones que permitan determinar, conocer e implementar de manera adecuada, este tipo de plantas en tratamientos terapéuticos, farmacológicos, cosmetológicos, agroindustria, entre otras, aprovechando la gran biodiversidad de plantas.

La pachichanca o pachachamcua (*Clinopodium nubigenum* Kuntze) es una planta de la Sierra Andina, posee un aroma intenso, es utilizada por las personas que viven en los páramos a modo de medicina tradicional para diversas enfermedades por ejemplo los trastornos digestivos, antiinflamatoria, fortificante, expectorante, antioxidante, antimicrobiana, etc. Actualmente no se conoce que existan investigaciones sobre los componentes bioactivos de la planta. Por lo cual es necesario investigar sobre la composición fitoquímica y la optimización de la extracción de compuestos bioactivos que pueden ser usados en la industria, y de esta manera impulsar la economía de los sectores de la agricultura e industrias.

La industria alimentaria busca nuevas tecnologías, nuevos productos, nuevos insumos y nuevos procedimientos que generen bajos costos, asegurándose que sea técnica y económicamente aplicable, con la finalidad de generar estabilidad fisicoquímica, perfeccionar las características sensoriales y prolongar la vida de anaquel de los alimentos. Los extractos son productos líquidos obtenidos a partir de compuestos vegetales y disolventes líquidos, pueden ser bastante concentrados y por eso son recomendables como antioxidante, antimicrobiano, antiinflamatorios que son utilizados como agentes conservadores en los alimentos.

El presente trabajo de investigación pretende determinar el efecto del tiempo de exposición a ultrasonido y tiempo de extracción sobre el contenido de antioxidantes en la pachichanca (*Clinopodium nubigenum* (Kunth.) Kuntze). Se pretende también con esta investigación dar un valor agregado a esta planta nativa de la sierra de Cajamarca así como un reconocimiento a nivel industrial para que sea utilizada para diversos fines alimentarios a nivel nacional e internacional.

1.5. Hipótesis de la investigación

El tiempo de exposición a ultrasonido y el tiempo de extracción ejerce un efecto significativo en el contenido de antioxidantes de la pachichanca (*Clinopodium nubigenum* (Kunth) Kuntze).

CAPÍTULO II

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. Antecedentes de la investigación

Mena y Salas (2022) en su investigación: “Extracción del aceite esencial de sunfo (*Clinopodium nubigenum* Kunth. Kuntze) por el método de arrastre de vapor, para su caracterización química, antioxidante” determinaron el mejor proceso de extracción del aceite esencial a 150 min y 1:5 g/L con un rendimiento de 1,5183%, los compuestos volátiles del aceite esencial fueron 23 compuestos, de los cuales se identificaron 3 compuestos mayoritarios siendo la pulegona (44,31%), mentona (22,05%) y timol (14,39%). En la capacidad antioxidante se obtuvo 190,54 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ en FRAP (Ferric ion reducing antioxidant Power) y 289,84 $\mu\text{mol ET} / \text{g ABTS}$ (Ácido 2,2 – azinobis (3etilbenzotiazolin) 6sulfónico).

Álvarez y Arcos (2021) en su tesis: “Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir del sunfo (*Clinopodium nubigenum* Kuntze) en función del contenido de polifenoles totales y actividad antioxidante”. Detectaron compuestos grasos en el extracto etéreo, agrupamiento lactónico y triterpenos, en el extracto etanólico agrupamiento lactónico, catequinas, saponinas y quinonas / benzoquinonas y en el extracto acuoso azúcares reductores, saponinas, compuestos fenólicos, flavonoides, mucilagos y principios amargos. Se obtuvo a una concentración de etanol de 90%, tiempo de 24h y temperatura de extracción de 60°C, con valores en polifenoles totales (0,23mg/g) y actividad antioxidante (825,3 $\mu\text{molFe}^{2+}/\text{g}$). El extracto optimizado se obtuvo sensorialmente un color verde oscuro, homogéneo, opaco y un aroma intenso.

Setyaningsih et al., (2019) en su investigación “Evaluaron perfiles de extracción usando el ultrasonido como parte del proceso, encontrando quince compuestos fenólicos en granos de arroz mediante extracción asistida por ultrasonido y cromatografía líquida de ultra rendimiento con detección de matriz de fotodiodos”. La optimización de respuesta múltiple se realizó para desarrollar un método de extracción simultánea de 15 compuestos fenólicos. Las condiciones óptimas fueron: temperatura de extracción 45 ° C, tiempo 25 min, ciclo 0.4 s –1, amplitud de ultrasonido 47%, composición solvente 80% metanol en agua a pH 4.25, y relación muestra / solvente 1: 5. Se determinaron la linealidad, LOD, LOQ, precisión y recuperación.

Noriega, et. al, (2018) en su investigación; “Evaluación del aceite esencial de hojas y flores de sunfo, destilaron al vapor y analizaron por cromatografía de GC/MS para determinar su composición química”. Donde encontraron acetato de carvacrol, carvacrol, pulegona y timol. Evaluaron la actividad antioxidante. La especie mostro un potencial medicinal, una actividad antibacteriana significativa en diferentes concentraciones contra *Staphylococcus aureus* (2,5% v/v), *Streptococcus pyogenes* (0,6% v/v), *Streptococcus pneumoniae* (0,6% v/v) y *Streptococcus mutans* (0,6% v/v), es una interesante alternativa natural contra las bacterias que generan resistencia a otros antibióticos.

Según Coral (2018) En su tesis titulada “Diseño de una planta para la elaboración de un deshidratado para infusiones de (sunfo *Clinopodium nubigenum*)” donde realice un análisis sensorial mediante encuestas a especialistas y potenciales consumidores, determinando que los parámetros de deshidratación para la infusión que tienen características organolépticas más aceptables son el secado a 50 °C con flujo de 7 o 5 unidades. Se determinó que el secado a 60 °C altera el sabor del deshidratado debido a la pérdida de componentes volátiles de la planta. El secado a 40 °C no es eficiente en tiempo y redujo un menor porcentaje de humedad, además permite la proliferación de microorganismos termófilos, por lo cual se determinó que no es adecuado efectuar el secado a esta temperatura.

Según Márquez et al. (2014). En su investigación: “Actividad antioxidante y concentración de compuestos fenólicos del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* S.). Encontraron un valor máximo promedio equivalente a 9,8 µmol de Trolox por gramo de fruta fresca de actividad antioxidante en el día sexto de postcosecha, para los compuestos fenólicos encontraron la mayor concentración en el día octavo de postcosecha, siendo de 1,23 miligramos de ácido gálico por gramo de fruta fresca, desde el día uno fue aumentado y permaneció constante hasta el día 11 a partir del día 12 mostro decrecimiento debido a la etapa de sobre maduración. concluyendo que la actividad antioxidante en la etapa de postcosecha del tomate de árbol no presentó diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% y no presentaron correlación positiva entre la capacidad antioxidante y la concentración de fenoles totales.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. *Pachichanca (Clinopodium nubigenum (Kunth.) Kuntze)*

Es una planta aromática característica de la cordillera de los andes y del páramo, se la puede encontrar en varios países como: Perú, Colombia, Costa Rica, Panamá, Ecuador, Bolivia y Venezuela. Crece en una vegetación tupida con subpares, parejas y pumas, en altitudes de aproximadamente 2500 a 4500 m” también se la puede localizar en espacios húmedos cerca de un flujo de agua (Ladislav, 2017).

Algunos cronistas la llaman como tomillo de las alturas que crece de manera natural en casi todos los pajonales. La mejor época de siembra es en los meses de marzo hasta mayo, por lo que se coloca las plántulas de pachachamcuas en hileras de 25cm de distancia, considerando que es el lugar donde todas las plantas van a crecer y se presiona las semillas contra el suelo utilizando una tabla. A los 14 a 21 días se produce la germinación. La pachachamcua es vulnerable al ataque de *Alternaria* spp. Este es un hongo patógeno que provoca notables pérdidas económicas en el caso de que se desarrolla con fuerza en los últimos cultivos (Medina, 2021).

Figura 1

Pachichanca o pachachamcua (Clinopodium nubigenun (Kunth.) Kuntze)



Nota: Imagen de la planta pachichanca tomado de (Medina, 2021).

2.2.1.1. Descripción botánica de la pachichanca

La pachachamcua es una planta aromática vascular perenne rastrera, alcanza 15 cm como altura máxima, caracterizada por su gran intensidad de aroma. Su raíz es pivotante y fibrosa. Presenta un tallo de forma cuadrangular ramificado, de color café rojizo, cubierto de tricomas y vellosidades de color blanco (Bravo y Zavala, 2020).

Presenta hojas de forma oval lanceoladas simple y opuesta, base ligeramente truncada, suelen medir de largo hasta 4 mm, acumuladas en los tallos. Sus flores son zigomorfas y labiadas, miden de 3 a 5 mm, con 5 sépalos de color verde, 5 pétalos de color lila muy claro, con un color oscuro del centro. Su fruto es seco indehiscente y tetraquenio (Ginocchio y Pérez, 2019).

2.2.1.2. Usos ancestrales de las especies de la pachichanca

La especie *Clinopodium nubegigenium* tiene varias aplicaciones dentro del campo medicinal. Esta planta se utiliza principalmente para elevar la temperatura del cuerpo en lugares con temperaturas muy bajas. Su fuerte aroma favorece la descongestión de la nariz, afecciones respiratorias, pulmonía, tos, y tiene efectos desinflamatorios. Las hojas de la planta tienen efectos cicatrizantes en la piel, alivian infecciones intestinales y afecciones de la cabeza. Sin embargo, su principal uso es en infusión para tartar problemas de soroche en lugares con gran altitud (De la Torre, 2019).

2.2.1.3. Cultivo y recolección de la pachichanca

Esta especie se encuentra distribuida a lo largo de los matorrales de los cerros y pajonales. Esta planta se la encuentran de forma espontánea en lugares de climas fríos, suelos con gran contenido de nutrientes y con presencia de humedad. Es una planta perenne, por lo que su recolección puede ser en cualquier época del año. Se la puede secar a temperatura ambiente en lugares con gran oscuridad y se la conserva, colocándola en un recipiente hermético oscuro (De la Torre, 2019).

2.2.1.4. Composición química de la pachichanca

Existen diversos estudios que hablan acerca de las propiedades naturales de la especie *Clinopodium nubegenum*, pero no hay estudios que demuestren su perfil bioquímico, cabe destacar que para el correcto estudio de la planta, se debe tener identificada la estructura de la planta, para que de esta manera conocer su composición

química. Es de gran relevancia el conocimiento de la calidad de la parte empleada como un agente terapéutico dentro de la medicina (Bermudez, Oliveira y Velázquez, 2019).

2.2.1.5. *Principios activos de la pachichanca*

Sus principios activos y las proporciones de los componentes químicos de esta planta están ligados directamente a factores climáticos y ecológicos; esta planta posee cantidad abundante de alcaloides, almidón, taninos, flavonoides, aceites esenciales, triterpenos y esteroides, contienen propiedades farmacológicas (Castillo, 2020).

Al uso medicinal se le puede atribuir la presencia de flavonoides, los mismos le otorgan a la planta propiedades antioxidantes, antitrombótico, combaten la fragilidad capilar, protegen al hígado y estómago, le dan a la planta capacidad antibacteriana, antiinflamatoria y analgésica. El sabor amargo característico de la planta proviene de los terpenos y esteroides conjuntamente con los taninos, los terpenos se utilizan con frecuencia para dar el aroma, fragancia en alimentos, cosmetología y en el campo medicinal tiene propiedades antiulcerosas, anticancerígenas y antimicrobianas. Los alcaloides tienen un efecto sedante y analgésico. (Ginocchio y Pérez, 2019)

- **Alcaloides:**

Son metabolitos secundarios sintetizados de las plantas, generalmente, un compuesto químico que posee un nitrógeno heterocíclico procedente del metabolismo de aminoácidos. Son hidrosolubilidad en pH ácido y solubles en pH alcalino (solventes orgánicos) (Escobar, 2018).

- **Táninos:**

Son compuestos polifenólicos que se dividen en hidrosolubles y condensados. Son utilizados como defensa por las plantas debido que atacan las bacterias, hongos y virus aglutinando las proteínas de su superficie y evita que se marchite (Escobar, 2018).

- **Componentes grasos:**

Constituyentes naturales de las grasas y los aceites. Están clasificados por su estructura química en tres grupos: saturados, monoinsaturados y poliinsaturados. Son altamente volátiles y se los puede desprender físicamente de otros compuestos de la planta o tejido membranoso (Escobar, 2018).

- **Triterpenos / esteroides:**

Son terpenos de 30 carbonos. Por lo general se forman por la unión cabeza-cabeza de dos cadenas de 15 carbonos, cada una de ellas está formada por unidades de isopreno unidas cabeza-cola. Otorgan el aroma, sabor a las plantas y componen la base de los aceites esenciales (Escobar, 2018).

- **Catequinas:**

Es un metabolito secundario vegetal que forma parte de la familia de los flavonoides. Es considerado un tipo de fenol natural y antioxidante (Iñiguez, 2021).

- **Azúcares reductores:**

Son aquellos azúcares que tienen un grupo carbonilo (grupo funcional) intacto, así mismo pueden funcionar como reductores con otras moléculas que ejercerán como oxidantes. Esta particularidad facilita determinar la concentración de una solución de azúcar cuantificando la cantidad de agente oxidante que es reducido para la determinación de diabetes. Su sabor dulce es característico y son solubles en agua, su solubilidad depende de la temperatura (Iñiguez, 2021).

- **Saponinas:**

Son glucósidos de esteroides o de triterpenoides, llamados así por sus propiedades similar a las del jabón. Han sido asociadas con un efecto estimulante, tonificante, anti estrés, así como antimicrobiano, antivírico y antimicótico (Iñiguez, 2021).

- **Compuestos fenólicos:**

Son compuestos orgánicos con uno o más grupos hidroxilo en el anillo aromático. Los compuestos fenólicos a la vez con las vitaminas son importantes antioxidantes en la dieta alimenticia. Están presentes en frutas, hortalizas, raíces y cereales (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, y Bravo, 2021).

- **Quinonas / benzoquinonas:**

Son compuestos orgánicos con una base aromática, como benceno, naftaleno, antraceno y fenantreno, consideradas moléculas cíclicas di cetónicas conjugadas. En la naturaleza se encuentran en forma de pigmentos en plantas (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, y Bravo, 2021).

- **Flavonoides:**

Son metabolitos secundarios de polifenoles, comúnmente con un grupo cetona. Tienen un alto contenido de vitamina C, generalmente su pigmentación tiene una coloración amarilla, efecto antioxidante y antiinflamatorio (Peñarrieta, Tejada, Mollinedo, Vila, y Bravo, 2021).

- **Mucílagos:**

Son polisacáridos (conjunto de monosacáridos o hidratos de carbono simple), análogos, por su composición y sus propiedades, las gomas o dextrinas al tomar contacto con el agua aumenta de volumen obteniendo una solución coloidal (solución acuosa espesa). Es coagulable al alcohol, se la utiliza para suspender sustancias insolubles y para aumentar la viscosidad (Waizel y Waizel, 2019).

- **Principios amargos:**

Están relacionados con procesos de cicatrización y acciones antisépticas, propician, además, una acción tónica general y son eficaces para luchar contra diversos estados de debilidad, agotamiento y anemia, por lo que se les considera tónicos, aperitivos o digestivos (Waizel y Waizel, 2019).

2.2.1.6. *Propiedades medicinales de la pachichanca*

Es una planta alelopática con atributos peculiares, capaz de regular la temperatura corporal de esta manera se previene o se restablece “el mal del soroche” en zonas frías, posee un aroma intenso que descongiona la nariz mejorando las afecciones respiratorias, detiene las hemorragias, tiene poder cicatrizante, antiparasitario, antimicrobiano y un excelente desinflamante (Peñarrieta, Tejada, Mollinedo, Vila, y Bravo, 2021).

Para la población indígena que habita en los páramos andinos constituye un gran recurso de medicina tradicional a la Pachachamcua debido a que es una planta alelopática con propiedades peculiares, capaz de combatir problemas estomacales, malestares, dolores musculares, enfermedades respiratorias, además es un potente antiinflamatorio, fortificante del sistema inmunológico, regula la temperatura corporal (Coral, 2018). Además, es consumida como energizante por los pobladores, para su desempeño en el sector agrícola.

2.2.1.7. *Importancia a nivel industrial de la pachichanca*

El deshidratado de plantas medicinales es una nueva alternativa para la conservación de las plantas de pachachamcua, el 25% de medicinas se están realizando con aceites esenciales, extractos, hierbas y especies a partir del procesamiento de las plantas. En la actualidad, la pachachamcua a escala industrial es relativamente poco, donde se produce té de pachachamcua, pero su uso realmente se hace de manera casera. El proceso de recolección y almacenamiento de dicha planta no es el adecuado, por ende existe una pérdida de propiedades. Además los beneficios de esta planta no han tenido aplicaciones farmacéuticas y agroindustriales (De la Torre, 2019).

2.2.2. *Utilización de extractos vegetales en la industria alimentaria*

Los extractos vegetales y su utilización en la industria alimentaria están sujetos a diferentes estándares ya que el extracto debe cumplir extractos requisitos para ser aprobado como aditivo natural por la legislación en la normativa alimentaria. Los extractos se han utilizando en alimentos desde la antigüedad para mejorar las características sensoriales y conservar el alimento por mucho más tiempo. Los estudios realizados a extractos vegetales han permitido emplearlos en calidad de antioxidantes, antimicrobianos, aromatizantes, saborizantes, colorantes, energizantes y enriquecedores del alimento con activos naturales propios de la planta (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, y Bravo, 2021).

2.2.3. *Aceite esencial*

Los aceites esenciales, son líquidos hidrofóbicos concentrados, fragantes y volátiles extraídos de las plantas, su composición química depende, de la especie vegetal: su procedencia, condiciones geobotánicas y agrícolas del cultivo (D'Armas, et al., 2017).

El aceite esencial ha despertado el interés de la industria, por su actividad antimicrobiana contra diferentes tipos de bacterias y hongos, citostática e insecticida, también se usan como sabores alimenticios, como aditivos naturales en alimentos.

Las propiedades antioxidantes son otorgadas por los compuestos fenólicos (Castro, et. al, 2019).

Los aceites esenciales han evidenciado poseer propiedades antimicrobianas, antioxidantes, antiparasitarias, antiinflamatorias, antidiarreicas y antimicóticas. De igual manera, mejoran la conversión alimenticia y la palatabilidad de los alimentos, estimulando las enzimas digestivas (Montero, et. al, 2017).

2.2.3.1. Caracterización de aceites esenciales

- **Evaluación sensorial:** Se lleva a cabo mediante catadores, los cuales toman en cuenta el olor, color, apariencia y textura del aceite, son pieza clave al momento de elegir un aceite esencial (Logroño y Lozano, 2019).
- **Características físicas** - Según: (Morocco (2017):
 - Densidad: Es la masa de una sustancia dividida entre su volumen, en los aceites volátiles, varía entre 0.84 y 1.2. Los que son más ligeros en agua (densidades menores a 0.9 g/cm³)
 - Viscosidad: Resistencia a la deformación del fluido.
 - Índice de refracción: Determina la reducción de la velocidad de la luz al propagarse por un medio homogéneo y es una propiedad específica de cada interfase y varía con la temperatura y con la longitud de onda de la luz considerada.
- **Características químicas** - Según: Siancas (2021):
 - pH
 - Índice de acidez: Manifiesta el grado de acidez y expresa el número de mg de hidróxido potásico necesarios para neutralizar el ácido contenido en un gramo de aceite.
 - Índice de éster: Determina la cantidad de ésteres en una muestra y expresa los mg de hidróxido potásico necesarios para saponificar los ésteres contenidos en un gramo de aceite esencial.
 - Índice de saponificación: Es la suma del índice de acidez y el índice de éster.
 - Composición Porcentual: Puede ser de interés donde la calidad de un aceite se define por el contenido de algunos de sus compuestos.
- **Determinación de componentes aromáticos**
 - **Cromatografía de gases a espectrometría de masas (GC-MS):** Es una técnica económica, ampliamente utilizada para el análisis cualitativo y cuantitativo de una gran variedad de muestras. La separación se lleva a cabo cuando los componentes de la muestra se volatilizan reparten entre la fase móvil (gas inerte), y la fase estacionaria (sólido o líquido) retenidos en una columna (Fukalova y Abalco, 2020).
 -

2.2.4. Antioxidantes

Los antioxidantes son compuestos químicos con la capacidad de neutralizar los radicales libres retardando o previniendo la oxidación de otras moléculas (Jamanca y Alfaro, 2017). Con frecuencia son agentes reductores tales como tioles o polifenoles, Ayudan a prevenir o combatir la oxidación celular que va ligado al envejecimiento fisiológico en general como varias enfermedades (cardiovasculares, degenerativas, alzheimer, parkinson y el cáncer) (Alvarez, De La Rosa, Gonzáles, y Ayala, 2022).

Comúnmente también son denominados como carroñeros de radicales libres. Son moléculas que interactúan con los radicales libres, para prevenir o retrasar daños a las células. La oxidación celular propicia el envejecimiento prematuro y una serie de enfermedades (cardiovasculares, degenerativas, Alzheimer, Parkinson, cáncer, entre otras) (Bernácer, 2022). Los antioxidantes pueden ser antioxidantes endógenos (son biosintetizados por el propio organismo) y antioxidantes exógenos (vitamina C, E, A, etc.) (Tovar, 2018).

2.2.4.1. Clasificación de antioxidantes

a. Por su naturaleza:

- Antioxidantes naturales:

Se los encuentra de manera natural en los alimentos principalmente de origen vegetal, siendo estos: vitaminas (A, C y E), minerales (selenio, zinc y cobre) y sustancias fotoquímicas (polifenoles). Uno de los grupos más representativo los antioxidantes naturales lo constituyen los compuestos fenólicos, al que pertenecen los flavonoides y los ácidos fenólicos junto con taninos, estilbenos y lignanos. Estos compuestos son metabolitos secundarios de las plantas y se consideran responsables de la calidad sensorial y nutricional de frutas y verduras, donde se encuentra ampliamente distribuidos, así como aceite de oliva y te, entre otros alimentos (Vilaplana, 2017).

La potente toxicidad de los antioxidantes sintéticos ha dado lugar a que aumente el interés por estos compuestos de origen natural, a los que también se les atribuyen propiedades antimicrobianas, antivirales y antiinflamatorias, como principales componentes de los polifenoles, de los que se han descrito más de 8.000 compuestos. Uno de los subgrupos más numerosos lo constituyen los flavonoides, los cuales pueden encontrarse bien en forma libre o como glucósidos. Existen más de 4000 flavonoides, de los 500 se encuentran en forma libre (Vilaplana, 2017).

- **Antioxidantes artificiales o sintéticos:**

Se los produce por síntesis química y usualmente son codificados para su aplicación principalmente en la industria de los alimentos (Vilaplana, 2017).

- b. Por su solubilidad**

- **Antioxidantes solubles en agua:**

Conocidos como hidrofílicos, están en la parte interna de la célula son un fragmento del núcleo central y de los fluidos, cuidan la parte interna de la célula, ejerce la función de regenerador y protector en la zona del citoplasma celular (Bernácer, 2022).

- **Antioxidantes solubles en lípidos:**

Conocidos como hidrófobos, protegen las membranas de la célula contra los radicales libres y el deterioro oxidativo de los lípidos (Alvarez, De La Rosa, Gonzáles, y Ayala, 2022).

- c. Por su origen:**

- **Antioxidantes sintetizados por el organismo:**

Este grupo de compuestos son sintetizados por el cuerpo humano. Los diferentes antioxidantes están presentes en una amplia gama de concentraciones en fluidos corporales y tejidos. Entre estas sustancias tenemos al glutatión y la ubiquinona mayormente presente dentro de las células, mientras que otros tales como el ácido úrico se distribuyen más uniformemente a través del cuerpo (Tovar, 2018).

- **Antioxidantes obtenidos de fuentes externas:**

Este grupo de antioxidantes son asimilados por el organismo a partir de las dietas alimenticias constituidas por los diversos tipos de alimentos (Bernácer, 2022).

2.2.5. Antioxidantes alimentarios

Los antioxidantes alimentarios son compuestos químicos que en pequeñas cantidades evitan o retrasan la oxidación de sustancias fácilmente oxidables, tales como los lípidos. La oxidación de lípidos en los alimentos es un proceso complejo en el que frecuentemente intervienen radicales libres y que pueden producirse durante la recolección, procesamiento y almacenamiento de los alimentos. Factores como el calor, luz, oxígeno, enzimas, metales de transición, metaloproteínas y microorganismos pueden actuar como indicadores o promotores de este proceso dando lugar a alteraciones en el

aroma y sabor de alimento, a la pérdida de ácidos grasos esenciales, de vitaminas liposolubles y de otros compuestos bioactivos, y a la formación de especies potencialmente tóxicas (Vilaplana, 2017).

2.2.6. Métodos para evaluar la actividad antioxidante en alimentos

2.2.6.1. Método ORAC (Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno)

Este método está basado en el mecanismo HAT, consiste en medir la capacidad de afinidad de un radical específico, el peróxido. El proceso consiste en atacar a la molécula de fluoresceína, dando lugar a la eliminación del color rojo fluorescente que ésta emite. En el caso de que haya presencia de compuestos antioxidantes, estos reaccionan con los radicales y el color de la fluoresceína se mantiene. De esta manera, es posible comparar la disminución de la fluorescencia en presencia y en ausencia de un antioxidante (Karadag et al., 2019; Niki, 2021).

Como ventajas del método ORAC cabe destacar su alta sensibilidad, precisión y reproducibilidad (Ndhlala et al., 2021). Sin embargo, uno de los inconvenientes frente a otros métodos es que requiere aproximadamente 60 minutos más de reacción que otros ensayos. (Karadag et al., 2019).

2.2.6.2. Método FRAP (Capacidad antioxidante para reducir el ion férrico)

El ensayo FRAP es un método de espectrofotometría basado en la reacción SET, concretamente en la reducción del complejo de la tripiridil-triazina férrica (2,4,6-tripiridil-s-triazina) que es incoloro, al complejo ferroso de color azul por un antioxidante a pH 3.6. Esta reacción produce un cambio de color que es monitorizado midiendo la absorbancia a 595 nm (Fernández y Pachón et al., 2016). Como ventajas de este método se puede decir que es sencillo y económico. Sin embargo, no mide los antioxidantes que contienen grupos SH (un átomo de azufre y un átomo de hidrógeno), ya que estos compuestos no son capaces de reducir el hierro férrico a un complejo ferroso, siendo esta reducción la base del método (Benzie y Strain, 2019).

2.2.6.3. Método TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)

El ensayo TEAC es un método espectrofotométrico basado en reacciones SET, en el cual el principal proceso es la inhibición de la absorbancia del catión radical de ABTS⁺ (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolona-6-sulfonato) (Shahidi y Zhong, 2019) por parte de los antioxidantes. Durante este proceso se forman cationes radicales de ABTS

generándose un radical intermedio que reacciona con el ABTS para formar el catión radical ABTS⁺ (Peixinho y Santrock, 2021).

Los cationes radicales son neutralizados mediante la transferencia de electrones u átomos de hidrogeno, el catión radical pierde color y disminuye la absorción espectrofotométrica y puede monitorizarse a 415, 645, 734 y 815 nm. Cuando esto ocurre quiere decir que hay presencia de sustancias antioxidantes. Además, cabe destacar que este método es útil para el estudio de antioxidantes liposolubles e hidrosolubles (Shahidi y Zhong, 2019).

2.2.6.4. Método DPPH:

El fundamento de este método se basa en medir la capacidad de una muestra de captar radicales libres, consiste en una reacción que al mismo tiempo es de transferencia de electrones y de átomos de hidrógeno (SET y HAT). Su principio se sustenta en el empleo de la molécula DPPH (1,1-difenil2-picril-hidrazilo) es un radical libre estable. Cuando el color violeta del radical desaparece quiere decir que la disolución de DPPH ha reaccionado con los antioxidantes, a través de la donación de hidrógeno para formar la molécula estable DPPH-H. Este cambio de color es controlado mediante espectrofotometría a la longitud de onda de 515 nm (Alam et al., 2019).

2.2.7. Ultrasonido

El método de extracción asistida por ultrasonido, debido a su mayor eficiencia y menor consumo de energía y agua, se ha convertido en una alternativa adecuada a los métodos de extracción convencionales y un método aprobado para procesar sustancias vegetales, especialmente compuestos con bajo peso molecular y este efecto aditivo del ultrasonido. Las ondas sonoras rompen las células vegetales y liberaran su contenido al entorno de extracción. Varios investigadores han aplicado la extracción sono-asistida para mejorar el rendimiento de extracción y acortar el tiempo de extracción (Belhachat et al., 2018).

El ultrasonido genera ondas sónicas de intensidad específica y la amplitud en función de la frecuencia operativa. El ultrasonido puede ser clasificado en dos categorías principales, el ultrasonido de baja potencia (de 100 kHz y superior) y el ultrasonido de alta potencia (de 20 a 100 kHz), ambos de los cuales se han utilizado en la industria alimentaria. El ultrasonido de baja potencia fue aplicado por la industria alimentaria para evaluar las propiedades fisicoquímicas de productos alimenticios tales como la

composición y estructura, y otras evaluaciones de control de calidad, mientras que el ultrasonido de alta potencia ha sido aplicado a una amplia gama de aplicaciones que incluyen cristalización, emulsificación, secado y procesos de congelación, así como la inactivación de enzimas (Belhachat et al., 2018).

La sonicación en referencia con el ultrasonido tiene algunas implicaciones sobre la desintegración celular, aumentando así la transferencia de masa. Se basa en la aplicación de ultrasonido logrando una ruptura de las estructuras celulares de los alimentos vegetales y con ello una mejor extracción del aceite esencial (Peredo, Luna et al., 2019).

El fenómeno de cavitación se da durante ultrasonidos, en el que debido a la acción de las intensas ondas sonoras se produce en los sitios de nucleación del líquido múltiples microburbujas, que luego crecen y posteriormente colapsan (Damyeh et al., 2016).

El colapso de las burbujas trae como consecuencia la conversión de la energía sónica en energía mecánica en forma de ondas de choque. Esta energía transmite el movimiento a partes desintegradas de las células que se produjeron cuando el contenido de energía de ultrasonido supera la resistencia de la pared. Los chorros de agua y las ondas de choque producidas por el ultrasonido, son los principales factores que intervienen en la rotura de la célula. El efecto mecánico de ultrasonido acelera la liberación de los componentes mediante la interrupción de las paredes celulares, mejora la transferencia de masa, y facilita el acceso de disolventes en el contenido celular (Damyeh et al., 2016).

2.2.8. Metodología de superficie de respuesta

La metodología de superficie de respuesta (MSR) es un conjunto de técnicas matemáticas y estadísticas útiles para modelar y analizar problemas en los cuales una respuesta de interés es influenciada por varias variables, siendo el objetivo optimizar esta respuesta (Okoh et al., 2021).

La MSR permite seleccionar previamente un número discreto de factores que se sabe que son los que más influyen en una función objetivo, que para el caso de la industria alimentaria pueden ser en el producto y en su aceptación global. A partir de la variación de estos factores y siguiendo diseños experimentales adecuados, se obtienen datos cuantitativos de la variable respuesta (aceptación) que, ajustando a un modelo matemático, proporcionan una ecuación multivariante que resume los resultados del

estudio y permite predecir las respuestas para valores que no fueron determinados en el experimento (Delgado, 2021).

La MSR tiene aplicaciones importantes en el diseño, análisis y optimización de productos existentes y operaciones unitarias, y su uso disminuye el volumen de experimentos, reactivos, tiempo, aportes financieros, energía, entre otros. En los últimos años, la MSR se ha aplicado extensivamente para la optimización de múltiples variables en muchos bioprocesos y mostró resultados satisfactorios. Es ampliamente utilizado en agricultura, biología, alimentos, química y otros campos. El principal objetivo de la MSR es optimizar simultáneamente los niveles de estas variables, determinar las condiciones operativas óptimas para obtener la respuesta deseable (Ye y Jjiang, 2021).

El objetivo de la MSR es optimizar la respuesta, para la cual se diseña un experimento que proporcione valores razonables de la variable respuesta y, a continuación, determinar el modelo matemático que mejor se ajuste a los datos obtenidos (Ye y Jjiang, 2021).

El diseño central compuesto es el experimento diseñado de superficie de respuesta que más se utiliza. Los diseños centrales compuestos son un diseño factorial o factorial fraccionado con puntos centrales, ampliado con un grupo de puntos axiales (también denominados puntos de estrella) que permiten estimar la curvatura. Los diseños centrales compuestos son especialmente útiles en los experimentos secuenciales, porque frecuentemente permiten ampliar experimentos factoriales anteriores al agregar puntos axiales y centrales (Belhachat et al., 2018).

La optimización por el método de superficie es más ventajosa que la tradicional optimización simple por parámetros individuales donde el objetivo es localizar el tratamiento ganador entre todos aquellos que son probados, en la medida en que la MSR pretende localizar las condiciones óptimas de operación del proceso con un ahorro de tiempo, espacio y materia prima (Ye y Jjiang, 2021).

2.3. Definición de términos básicos

- **Aceite esencial:** Se define como mezclas de componentes volátiles, productos del metabolismo secundario de las plantas. Se encuentran muy difundidos en el reino vegetal, de las 295 familias de plantas, de 60 a 80 producen aceites esenciales (León y Robles, 2019).
- **Antioxidante:** Sustancia que protege las células de los daños que causan los radicales libres (moléculas inestables elaboradas por el proceso de oxidación durante el metabolismo normal) (Arts, Voss, Haenen y Bast, 2021).
- **Densidad:** Magnitud que expresa la relación entre la masa y el volumen de un cuerpo, y cuya unidad en el sistema internacional es el kilogramo por metro cúbico (kilogramo(s) por metro cúbico) (Palipane, Driscoll y Srzednicki, 2022).
- **Eficiencia:** Capacidad de lograr resultados deseados con el mínimo posible de recursos (Majors, 2018).
- **Inhibición:** Suspender transitoriamente una función o actividad del organismo mediante la acción de un estímulo adecuado (Bassanetti, 2017).
- **Pachichanca o pachachamcua:** Es una planta aromática medicinal localizada en los páramos del Perú cuya función es ayudar a combatir los síntomas del soroche o mal de altura (Ladislav, 2017).
- **Proceso de extracción:** Proceso mediante el cual los aceites esenciales se pueden extraer usando diferentes métodos como: prensado, destilación con vapor de agua, extracción con solventes volátiles, enfleurage y con fluidos supercríticos (Huie, 2022).
- **Ultrasonido:** Los ultrasonidos son una serie de ondas mecánicas, generalmente longitudinales, cuya frecuencia está por encima de la capacidad de audición del oído humano (Jian, Xiang-hong, Mei-qiang, y Zhi-chao, 2016)

CAPÍTULO III

III. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Ubicación geográfica del trabajo de investigación

Esta investigación (obtención de aceite esencial de hojas de pachichanca y la medición y exposición de muestras a ultrasonido) se realizó en la Universidad Nacional de Cajamarca en los laboratorios de Tecnología de frutas y Bioingeniería de Alimentos de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Facultad de Ciencias Agrarias, distrito, provincia y región de Cajamarca. Geográficamente localizado en las siguientes coordenadas:

Coordenadas: 7°10'01" S 78°29'44" O / -7°166943, -78.495427.

Altitud: 2750 msnm

Temperatura: 15°C

Precipitación: 11%

Humedad: 73%

El análisis de DPPH (Capacidad antioxidante) se desarrolló en el Laboratorio de química perteneciente a las instalaciones de la Universidad pública: Pedro Ruiz Gallo ubicada en Av. Juan XXIII 391 Lambayeque, Perú; cuyas coordenadas geográficas son: 6°42'26"S 79°54'29"O / -6.707215, -79.90792.

3.2. Materia prima e insumos

3.2.1. *Material biológico*

- Planta completa (raíz, tallo, hojas, fruto y flores) de Pachichanca en estado fresco.

3.2.2. *Material y equipo de laboratorio*

- Balanza electrónica
- Bureta de vidrio
- Botas blancas
- Destilador de aceite esencial
- Equipo de ultrasonido
- Espectrofotómetro UV/Vis 1240.
- Fiola de vidrio
- Guantes quirúrgicos

- Mandil
- Malla cubre pelo
- Naso buccal
- Picnómetro capacidad 5 ml

3.2.3. Reactivos

- Agua destilada
- Ácido ascórbico
- DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo, D-9132)
- Metanol
- Quercetina
- Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico 97%)

3.2.4. Material de campo

- Cámara digital.
- Equipo de protección personal.
- Etiquetas.
- Frascos de plástico.
- GPS.
- Lapiceros.
- Libreta de campo.

3.3. Métodos de análisis

- Esta primera parte de la investigación se trabajó en el Laboratorio de Bioingeniería de los Alimentos de la E.A.P. de IIA. de la Universidad Nacional de Cajamarca. Para la medición y exposición de muestras a ultrasonido fue necesario calcular la eficiencia de la densidad; este procedimiento se detalla a continuación:

3.3.1. Determinación de la eficiencia de la densidad

Se utilizó un picnómetro de 5 ml. de capacidad. Inicialmente se lavó el picnómetro con detergente, se enjuagó el mismo con agua destilada y con etanol, luego se secó en la estufa por 60 minutos a 100 °C, la manipulación del picnómetro se hizo con dos pinzas, después se colocó en el desecador por 15 minutos. Se pesó en la balanza electrónica el

picnómetro tomando medidas hasta que se obtenga un peso constante, se procedió a llenar el picnómetro con el aceite esencial de cada muestra, cuidadosamente se tapó el picnómetro y se limpió el exceso de aceite. Luego se pesó en la balanza electrónica y por diferencia de pesos se determinó la densidad relativa del aceite esencial de cada unidad experimental con la siguiente fórmula:

$$Densidad \left(\frac{g}{ml} \right) = \frac{[(Peso \text{ del picnómetro} + muestra) - (Peso \text{ del picnómetro})]}{Volumen \text{ del aceite esencial}}$$

- La segunda parte de la investigación (Determinación de la Capacidad antioxidante) se trabajó en el laboratorio de Química de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.
- Este procedimiento se detalla a continuación:

3.3.2. *Determinación de la capacidad antioxidante*

La capacidad antioxidante se determinó a través del método DPPH. Usando la capacidad de eliminación de radicales libres de los extractos se determinó el radical DPPH (2, 2-difenil 1-picril hidrazilo) como se describe por (Barros et al., 2018), donde 40 μ L de muestra fueron adicionados a 960 μ L de una solución metanólica de DPPH, y se evaluó la capacidad de las muestras para atrapar el radical DPPH, por medio de la disminución en la absorbancia leída luego de 30 minutos de reacción a una longitud de onda de 517 nm, y se comparó el valor con la curva de referencia construida con Trolox como patrón primario, expresando los resultados como valores TEAC (μ mol Trolox/100g de muestra).

Luego se calculó el porcentaje de inhibición (% Inh) usando la siguiente Ecuación: (Hamlaoui et al., 2018)

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{A_{BLANCO} - A_{MUESTRA}}{A_{BLANCO}}$$

Siendo:

$A_{MUESTRA}$: la absorbancia del Aceite Esencial, y a partir de ésta, soluciones diluidas a diferentes concentraciones (0.15, 0.30, 0.60, 1.50, 3.00 y 3.50 ppm), tomando en cada ensayo 40 μ L y adicionando 960 μ L de la solución del radical DPPH

A_{Blanco} es la absorbancia de la Referencia, preparada con 40 μL de DMSO y 960 μL de la solución del radical DPPH•

Los resultados se expresaron calculando la cantidad de antioxidante necesaria para reducir la concentración del radical DPPH a la mitad (C_{50}), este valor se calculó por regresión lineal, graficando la concentración versus el porcentaje de Inhibición (Tovar del Río, 2019).

3.4. Metodología experimental

3.4.1. Tipo de investigación

- De acuerdo con la orientación: Tipo (Aplicada)
- De acuerdo con la técnica de contrastación: Diseño (Experimental).

3.4.2. Variable independiente

- Tiempo de exposición a ultrasonido
- Tiempo de extracción

3.4.3. Variable dependiente

- Capacidad antioxidante (eficiencia, densidad, C_{50})

3.5. Unidad de análisis, población y muestra de estudio

3.5.1. Unidad de análisis

Para la unidad de análisis se utilizó (plantas de pachichanca) frescas y en óptimas condiciones sin daño y sin alteraciones físicas ni microbiológicas.

3.5.2. Población

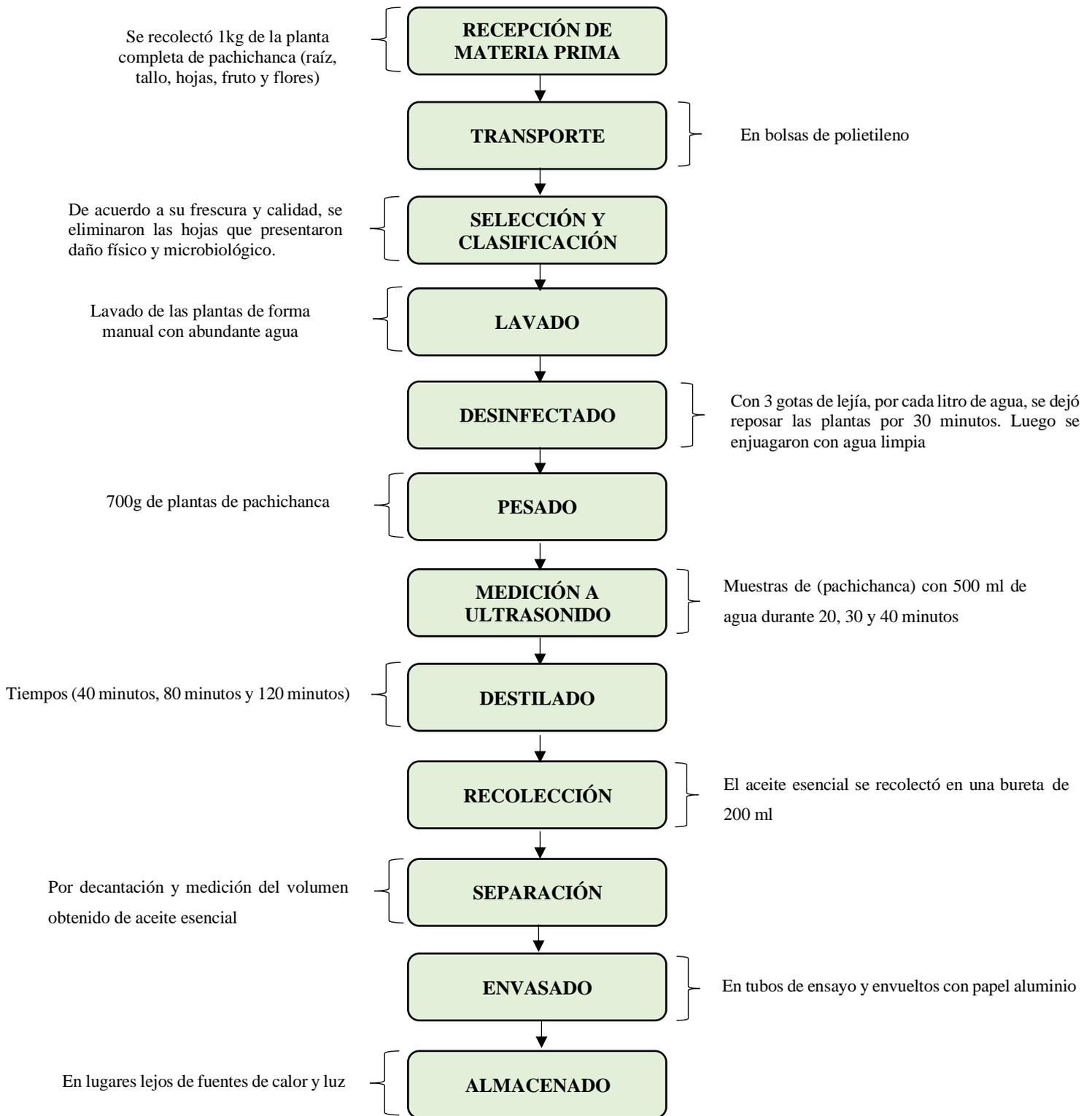
Para la población se recolectaron plantas de pachichanca de la especie (*Clinopodium nubigenum* (Kunth.) Kuntze) del Caserío de Pucará, Distrito de Tumbaden, Provincia de San Pablo, Región Cajamarca.

3.5.3. Muestra de estudio

Se utilizó (1kg) de la planta completa de pachicahanca (raíz, tallo, hojas, fruto y flores).

Figura 2

Flujograma - Obtención de aceite esencial de la planta pachichanca



Nota: Elaboración propia, adaptada de (Guillén, 2022).

3.6. Descripción de operaciones

La obtención de aceite esencial se realizó en el laboratorio de Bioingeniería de los Alimentos de la E.A.P de IIA – Universidad Nacional de Cajamarca. Siguiendo la metodología de Guillén (2022):

1. Recepción:

Se recolectó (1kg) de plantas de Pachichanca (*Clinopodium nubigenum* (Kunth) Kuntze) del caserío de Pucará distrito de Tumbaden, provincia de San Pablo, región Cajamarca. Se recolectaron las plantas a primeras horas de la mañana para poder obtener muestras frescas, sin radiación solar para evitar su deshidratado.

Figura 3

Recolección de muestra (Pachichanca)



2. Transporte:

En esta etapa se debe garantizar que las condiciones de transporte, no afecten las características fisicoquímicas del material vegetal (plantas de Pachichanca). Se transportaron las plantas de pachachamcua en bolsas de polietileno.

3. Selección y clasificación:

En el parámetro de selección se siguió las (BPM) Buenas Prácticas de Manufactura para que el posterior proceso productivo se realice de forma óptima. se separaron de las hojas y los tallos deteriorados, que no presenten daño físico ni microbiológico.

Figura 4

Selección y clasificación de las plantas de pachichanca



4. Lavado:

Se realizó de forma manual se lavaron las plantas de Pachichanca con abundante agua potable lo que permitió separar materiales como polvo, raíces y otros elementos extraños.

Figura 5

Lavado de las plantas de pachichanca



5. Desinfectado:

El desinfectado de las plantas de Pachichanca se realizó con 3 gotas de lejía, por cada litro de agua, se dejó reposar las plantas por 30 minutos. Luego se enjuagaron con agua limpia.

Figura 6

Desinfectado de las plantas de pachichanca



6. Pesado:

La etapa de pesado se realizó con la finalidad de determinar el rendimiento final.

Figura 7

Pesado de las plantas de pachichanca



7. Medición a ultrasonido:

Se colocó 100g de muestra con 500ml de agua en los tiempos de: 20, 30 y 40 minutos a temperatura ambiente.

Figura 8

Plantas de pachichanca dentro de equipo de autoclave



Figura 9

Medición de muestras de pachichanca en equipo de ultrasonido



8. Destilado:

Para la etapa del destilado se llenó el caldero con 2 litros de agua y se colocó la rejilla agujereada. Se llevó las muestras a ebullición en los siguientes tratamientos:

T1: 40 minutos; T2: 80 minutos; T3: 120 minutos.

Figura 10

Destilado de las muestras de pachichanca



9. Recolección del aceite esencial:

Para la etapa de recolección del aceite esencial extraído por destilado se colectó en una bureta de 200 ml y en una fiola de 100ml

Figura 11

Recolección del aceite esencial de pachichanca



10. Separación de fases por decantación:

La mayor parte de los componentes de los aceites esenciales son volátiles y relativamente inmiscibles en el agua, característica que permite su separación de la mezcla del destilado. La etapa de separación se realizó por decantación del aceite esencial luego se midió el volumen obtenido del mismo.

Figura 12

Separación de fases (decantación)



11. Envasado:

El aceite contenido en la bureta fue envasado en tubos de ensayo y envuelto con papel aluminio para evitar que se deteriore o pierda sus principios activos. Finalmente se obtuvieron las siguientes cantidades de aceite esencial:

T1: extracción a 40 minutos (2.5 ml de aceite esencial)

T2: extracción a 80 minutos (2.5 ml de aceite esencial) y

T3: extracción a 120 minutos (3 ml de aceite esencial).

Figura 13

Envasado del aceite esencial de pachichanca



12. Almacenado:

Para el almacenado de los aceites esenciales se buscó un lugar lejos de fuentes de calor y luz para evitar su deterioro y alteración.

3.7. Factores de estudio

Los factores de estudio están constituidos por: tiempo de exposición a ultrasonido y tiempo de extracción:

Tabla 1

Factores de estudio

FACTOR A:	
Tiempo de exposición a ultrasonido	
A_1	20 minutos
A_2	30 minutos
A_3	40 minutos
FACTOR B:	
Tiempo de extracción	
B_1	40 minutos
B_2	80 minutos
B_3	120 minutos

Nota: En la Tabla 1 se describe los factores de estudio; Factor A: tiempo de exposición a ultrasonido (20 minutos, 30 minutos, 40 minutos). Y Factor B: tiempo de extracción (40 minutos, 80 minutos, 120 minutos).

3.8. Diseño experimental

El diseño experimental usado fue un arreglo de superficie de respuesta del tipo Factorial completo de 2 factores experimentales con 3 niveles, con tres respuestas que son las variables dependientes, dando un total de 9 corridas (tratamientos).

3.9. Codificación de tratamientos

Tabla 2

Codificación de tratamientos

Tratamiento	Tiempo de ultrasonido (minutos)	Tiempo de extracción (minutos)
P1	-1	-1
P2	0	-1
P3	1	-1
P4	-1	0
P5	0	0
P6	1	0
P7	-1	1
P8	0	1
P9	1	1

Nota: La Tabla 2 muestra la codificación de tratamientos: tiempo de ultrasonido (minutos) y tiempo de extracción (minutos).

3.10. Modelo estadístico

Se usará para la investigación una aproximación de *segundo orden*, tomando los términos de primero y segundo orden de la expansión, usando el polinomio cuadrático siguiente:

$$E(y) = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i < j} \sum_{ij} \beta_{ij} x_i x_j$$

β_0, β_1, x_1 son del modelo de primer orden

β_{ii} = coeficiente cuadrático de la variable i

β_{ij} = coeficiente de interacción de las variables i, j .

3.11. Matriz y distribución de tratamientos

Tabla 3

Matriz y distribución de tratamientos

Tratamientos	Factor A Tiempo de exposición a ultrasonido (minutos)	Factor B Tiempo de extracción (minutos)
P1	20	40
P2	30	40
P3	40	40
P4	20	80
P5	30	80
P6	40	80
P7	20	120
P8	30	120
P9	40	120

Nota: En la Tabla 3 se describe la matriz y distribución de tratamientos (tiempo de exposición a ultrasonido (20, 30 y 40 minutos) y el tiempo de extracción (40, 80 y 120 minutos).

CAPÍTULO IV

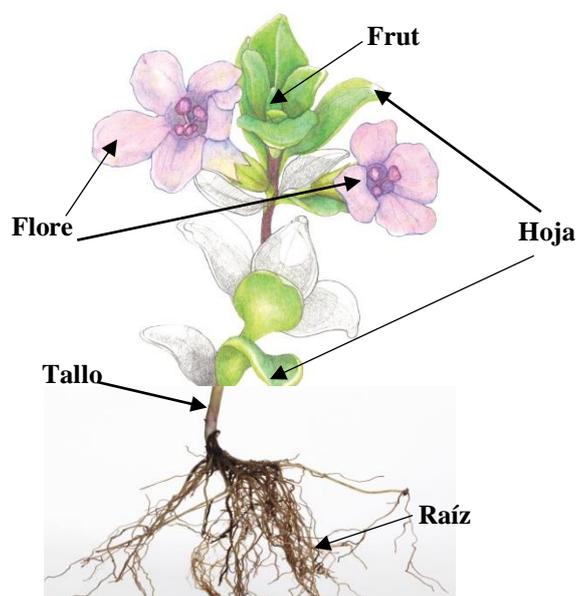
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Caracterización de la pachichanca o pachachamcua

4.1.1. Botánica de la pachichanca o pachachamcua

Figura 14

Ilustración botánica de la pachichanca (*Clinopodium nubigenum* (Kunth.) Kuntze)



Nota: Ilustración botánica de pachichanca (*Clinopodium nubigenum* (Kunth.) Kuntze) imagen obtenida de Zurita (2015).

La pachichanca o pachachamcua es una planta aromática vascular compuesta por raíz, tallo, hojas, flor y fruto; es una especie perenne rastrera, alcanza 15 cm como altura máxima, caracterizada por su gran intensidad de aroma. Su raíz es pivotante y fibrosa. Presenta un tallo de forma cuadrangular ramificado, de color café rojizo, cubierto de tricomas y vellosidades de color blanco (Bravo y Zavala, 2020).

Presenta hojas de forma oval lanceoladas simple y opuesta, base ligeramente truncada, suelen medir de largo hasta 4 mm, acumuladas en los tallos. Sus flores son zigomorfas y labiadas, miden de 3 a 5 mm, con 5 sépalos de color verde, 5 pétalos de color lila muy claro, con un color oscuro del centro. Su fruto es seco indehiscente y tetraquenio (Ginocchio y Pérez, 2019).

Es un arbusto tapizante perenne con abundantes tricomas, posee una raíz fibrosa y pivotante, es muy aromático, sus tallos son ramificados, de color café rojizo con un largo de 30 a 50cm (Ladislav, 2017). Sus hojas son ovadas con un tamaño de 3.4 x 2.4 mm opuestas y se encuentran acumuladas en los tallos. Las flores son íngrimas se las localiza en las axilas de las hojas, son zigomorfas tiene 5 pétalos desiguales con un matiz lila blanquecino y en su centro con una pigmentación más oscura y sus frutos son secos (Melissa, 2021),

4.1.2. Taxonomía de la pachicanca

Para su caracterización se acudió al herbario “**Isidoro Sanchez Vega**” de la Universidad Nacional de Cajamarca; hace constar que corresponde, taxonómicamente al vegetal terrestre (ANEXO 1):

Tabla 4

Taxonomía de la pachicanca

Taxonomía de la Pachicanca o Pachachamcua	
Reino	<i>Plantae</i>
Clase	<i>Equisetopsida C. Agardh</i>
Subclase	<i>Magnoliidae Novák ex Takht</i>
Suborden	<i>Asternae Takht</i>
Orden	<i>Lamiales Bromhead</i>
Familia	<i>Lamiaceae Martinov</i>
Tribu	<i>Mentheae</i>
Género	<i>Clinopodium L</i>
Especie	<i>C. nubigenum</i>
Nombre científico	<i>Clinopodium nubigenum</i> (Kunth.) Kuntze
Nombre Común	Pachicanca, Pachachamcua

Nota: Elaboración propia con datos taxonómicos adaptados de (Coral, 2018).

Esto es corroborado por estudios taxonómicos como los de Muñoz, (2018) que caracterizaron a esta misma planta como *Clinopodium nubigenum* (Kunth) Kuntze, una planta aromática perteneciente a la familia Lamiaceae, también se conoce con el sinónimo *Thymus nubigenus* Kunth, *Micromeria nubigena* (Kunth) Benth y *Satureja nubigena* (Kunth).

Segun Illescas y Lovato (2020) esta planta Pertenece a la familia Lamiacea, que incluye más de 3 500 especies vegetales, con 200 géneros aproximadamente, englobando hierbas perennes, sub arbustos y raramente árboles o trepadoras; las plantas de esta familia, poseen un alto contenido de aceites esenciales en todos sus órganos.

Como un aporte especial se determinó mediante espectrofotométrica los fenoles totales en la planta Pachichanca el cual se puede observar en el (ANEXO 2)

Bibliográficamente el aceite esencial de la pachichanca fue analizado por cromatografía de gases, teniendo en cuenta setenta (70) compuestos identificados, la mayoría monoterpenoides (Gilardoni et.al. 2021) esta composición se observa en el (ANEXO 3).

4.1.3. Análisis químico proximal de la pachichanca

Tabla 5

Análisis químico proximal de la pachichanca

Análisis químico proximal de la pachichanca	
Humedad	10.59
Cenizas	9.06
Extracto etéreo	1.44
Proteína	7.37
Fibra cruda	30.33
Extracto libre de nitrógeno	51.8

Nota: En la Tabla 5 se observa el análisis químico proximal obtenido para la planta pachichanca con 10.59% de humedad, 9.06% de cenizas, 1.44% de extracto etéreo, 7.37% de proteína, 30.33% de fibra cruda y 51.8% de extracto libre de nitrógeno.

La descripción de procesos para la obtención de los compuestos químicos de la pachachamcua están citados en el (ANEXO 4)

4.2. Determinación de contenido de antioxidantes de la pachichanca

Tabla 6

Valores obtenidos en la fase experimental

Tratamientos	Tiempo de ultrasonido (minutos)	Tiempo de extracción (minutos)	Eficiencia	Densidad	C ₅₀
P1	20	40	0.18	0.923	1.893
P2	30	40	0.2	0.931	1.839
P3	40	40	0.2	0.925	1.842
P4	20	80	0.21	0.931	1.624
P5	30	80	0.22	0.986	2.065
P6	40	80	0.23	0.941	1.863
P7	20	120	0.23	0.938	1.885
P8	30	120	0.24	0.939	1.815
P9	40	120	0.31	0.942	1.758

En la Tabla 6, se muestra el cuadro ANOVA para la eficiencia, donde se observa claramente que ambos tiempos tuvieron un efecto sobre la eficiencia de extracción, más solo el tiempo de extracción tuvo un efecto significativo

4.2.1. Análisis de varianza para eficiencia de extracción

Tabla 7

ANOVA para la eficiencia de extracción

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Tiempo de ultrasonido	0.0024	1	0.0024	8.20	0.0644
B: Tiempo de extracción	0.00666667	1	0.00666667	22.78	0.0175
AA	0.0000888889	1	0.0000888889	0.30	0.6199
AB	0.0009	1	0.0009	3.08	0.1777
BB	0.0000888889	1	0.0000888889	0.30	0.6199
Error total	0.000877778	3	0.000292593		
Total (corr.)	0.0110222	8			

R-cuadrada = 92.0363 %

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 78.7634 %

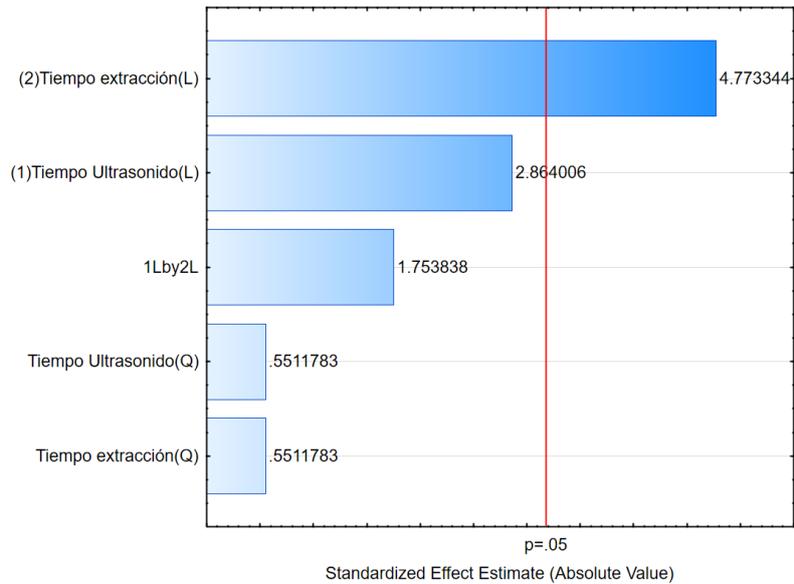
Error estándar del est. = 0.0171053

Error absoluto medio = 0.00864198

Este comportamiento también se observa en la Figura 15, donde gráficamente se ve que solo el tiempo de extracción es mayor al p-valor de 0.05.

Figura 15

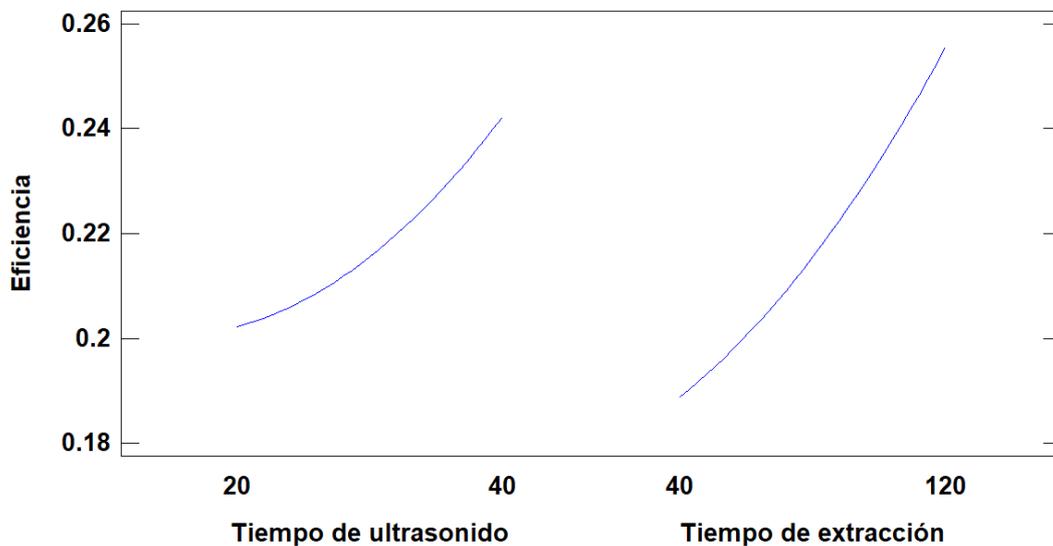
Pareto estandarizado para significancia estadística



Cabe mencionar que si bien el tiempo de ultrasonido aplicado no fue significativo este aumento la eficiencia de extracción, esto se ve claramente en el gráfico de efectos principales de la Figura 16.

Figura 16

Gráfico de efectos principales para la eficiencia

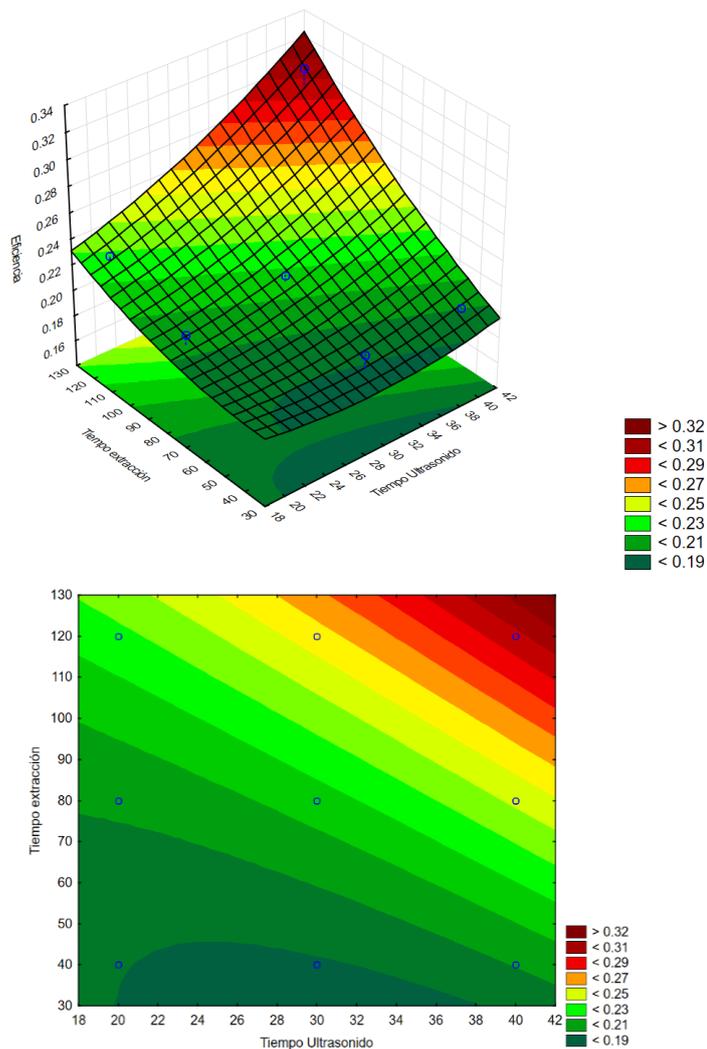


Este tipo de resultados se ha obtenido ya en la literatura donde investigaciones manifiestan que el ultrasonido es una técnica de extracción útil para compuestos en alimentos sólidos debido al efecto de cavitación. La cavitación está relacionada con el poder de los ultrasonidos aplicados a la muestra. Sin embargo, hay algunos otros factores que son importantes con respecto a la eficiencia de extracción, incluida la temperatura de la extracción, la composición del disolvente, la frecuencia de los ultrasonidos y el ciclo utilizado. Los factores antes mencionados pueden influir en la eficiencia de los EAU, por lo que deben optimizarse para extraer los analitos de interés (Setyaningsih et al., 2019)

Ya que se obtuvo valores significativos y observamos que existe una tendencia de mayor extracción en función al tiempo, se genera una superficie para observar en que valores de tiempo son óptimos los valores de extracción.

Figura 17

Gráfico de superficie plana y 3D para eficiencia de extracción



Esta tendencia positiva del tiempo sobre la extracción se debe que el fenómeno de fragmentación informado por varios autores (Machado, Faccio, y Pistón, 2019) está relacionado con la reducción del tamaño de partícula durante la ultrasonicación debido a colisiones entre partículas y ondas de choque creadas por burbujas de cavitación colapsadas.

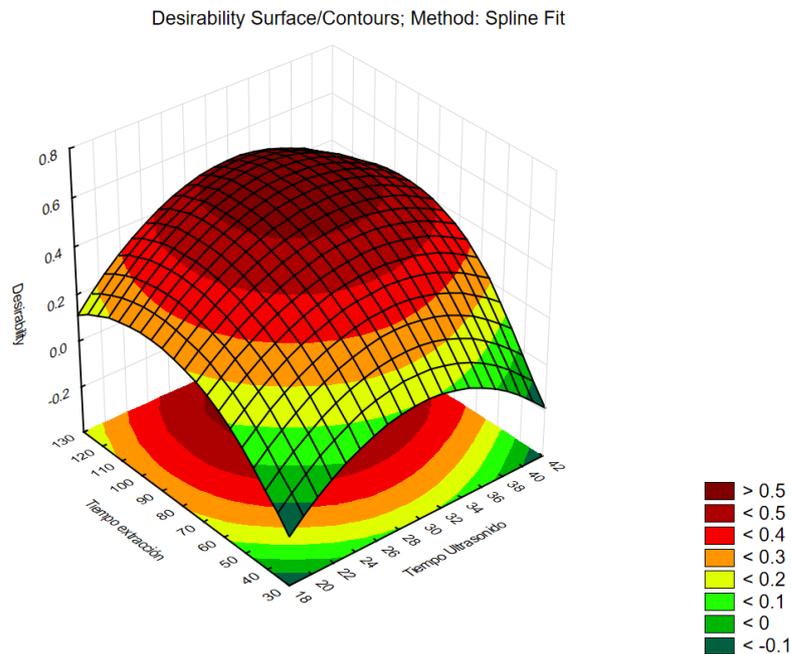
De acuerdo a estos valores se obtiene una ecuación ajustada de:

$$\text{Eficiencia} = 0.265556 - 0.005 * \text{Tiempo de ultrasonido} - 0.000958333 * \text{Tiempo de extracción} + 0.0000666667 * \text{Tiempo de ultrasonido}^2 + 0.0000375 * \text{Tiempo de ultrasonido} * \text{Tiempo de extracción} + 0.00000416667 * \text{Tiempo de extracción}^2$$

Finalmente, al hacer un análisis de Deseabilidad (Desirability), donde esta representa la mayor cantidad de aceite esencial obtenido, usando el método Spline Fit de Statistica, podemos observar que ambas variables de tiempo son óptimas a 34.9 minutos para Tiempo de ultrasonido y 120 de tiempo de extracción. Estos hallazgos coinciden con la literatura ya que cuando se aplica más tiempo de ultrasonido, mayor será la eficacia de extracción de aceite ya que se rompen las células vegetales liberando así más compuestos volátiles incluyendo a los aceites esenciales gracias a que la aplicación de ultrasonido crea ondas de presión que generan microcavidades en el líquido facilitando la extracción de aceite (Rodríguez y Fernández, 2017).

Figura 18

Superficie de deseabilidad para eficiencia



4.2.2. Análisis de varianza para C₅₀

En la Tabla 8, se muestra el análisis de varianza usado para analizar el efecto del tiempo de ultrasonido y de extracción en la actividad antioxidante del aceite esencial de la pachichanca expresado como C₅₀.

Tabla 8

Análisis de Varianza para C₅₀

Fuente	Suma Cuadrados	de	Gl	Cuadrado Medio	Razón- F	Valor- P
A: Tiempo de ultrasonido	0.000620167	1		0.000620167	0.02	0.8931
B: Tiempo de extracción	0.00224267	1		0.00224267	0.08	0.7991
AA	0.0182405	1		0.0182405	0.63	0.4859
AB	0.001444	1		0.001444	0.05	0.8378
BB	0.000288	1		0.000288	0.01	0.9269
Error total	0.0870987	3		0.0290329		
Total (corr.)	0.109934	8				

R-cuadrada = 20.7719 %

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 0.0 %

Error estándar del est. = 0.17039

Error absoluto medio = 0.0820741

Como se observa no existe un cambio significativo en el valor C₅₀ lo cual muestra que la cavitación generada por el ultrasonido no afectó la calidad del aceite esencial expresado con su potencial antioxidante. Esto posiblemente se debe a que el ultrasonido puede reducir el tamaño de partícula de los componentes del aceite esencial, lo que aumenta su área superficial y, por lo tanto, su capacidad para interactuar con los radicales libres y otras especies reactivas de oxígeno.

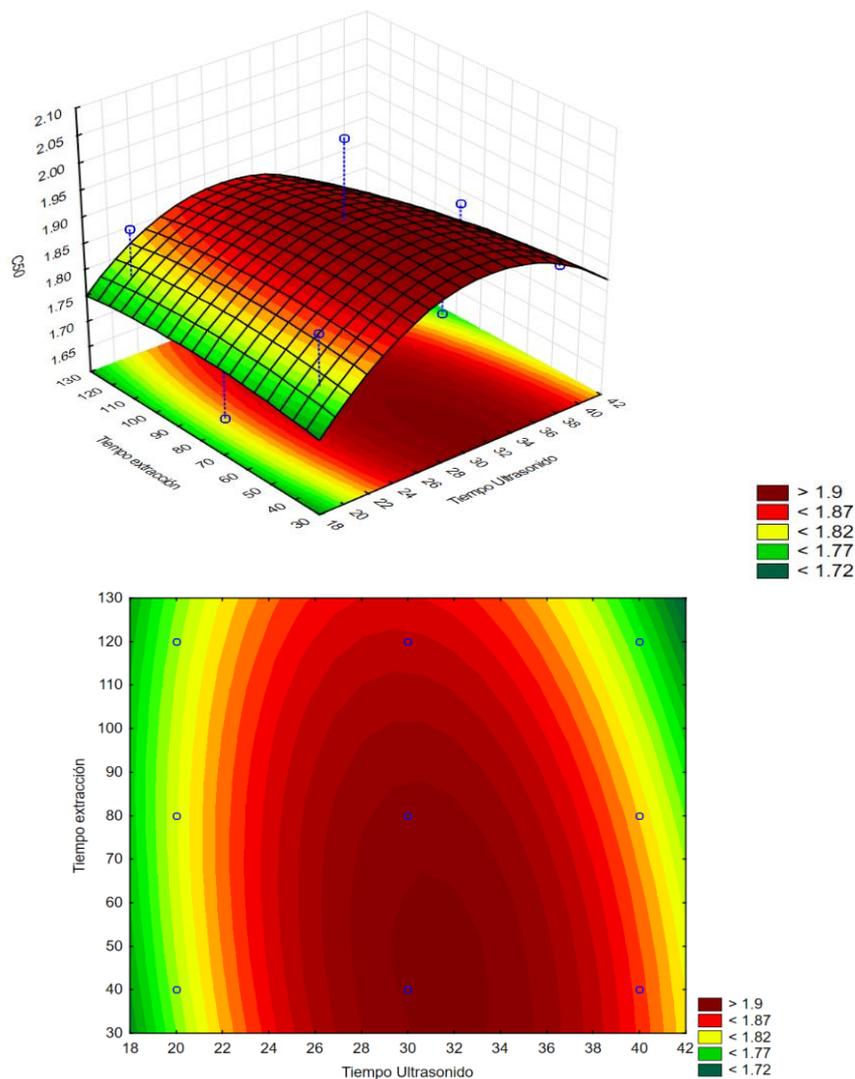
En la bibliografía autores como Machado et al. (2019) advierten que el fenómeno de fragmentación está relacionado con la reducción del tamaño de partícula durante la ultrasonicación debido a colisiones entre partículas y ondas de choque creadas por burbujas de cavitación colapsadas y que pueden afectar a compuestos, lo cual claramente no sucedió en este caso ya que no se encontró diferencias significativas en los datos.

Desde ya este resultado corrobora lo que la bibliografía manifiesta que el ultrasonido se convierte en un tratamiento adecuado ya que evita el tratamiento duro durante la preparación de la muestra y la búsqueda de procedimientos de extracción eficientes que involucren condiciones suaves para lograr tiempos de extracción más cortos, consumo reducido de ácido y ahorro de energía / costos. (Bendicho et al., 2012)

Con el fin de evaluar las tendencias donde se puede obtener una mayor estabilidad de los antioxidantes se genera las superficies respectivas, mostrada en la figura 7.

Figura 19

Gráfico de superficie plana y 3D para C50

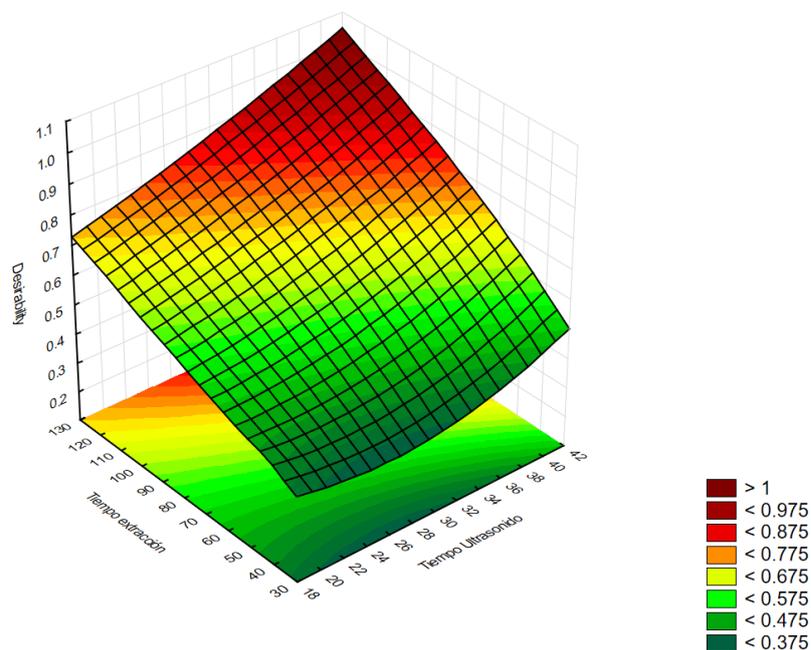


Tal como se observa al hacer un análisis de Deseabilidad, donde esta representa los mayores valores de C50, usando el método Spline Fit de Statistica, podemos observar que ambas variables de tiempo son óptimas a 34.9 minutos para Tiempo de ultrasonido y 120 de tiempo de extracción, logrando un valor de 1.85589, con lo cual podemos definir

que incluir el ultrasonido en esta técnica la convierte en un sistema "verde" para la extracción de antioxidante, es importante destacar que, aunque la aplicación del ultrasonido puede tener beneficios en la extracción y la actividad antioxidante, la optimización de los parámetros operativos, como la intensidad y la duración del ultrasonido, es crucial. Niveles excesivos de ultrasonido podrían, en algunos casos, provocar la degradación de compuestos antioxidantes sensibles al calor (Kaderides et al., 2019).

Figura 20

Superficie de deseabilidad para C50



Finalmente podemos definir que cuando se aplica el ultrasonido a suspensiones homogéneas, la ultrasonicación puede inducir cavitación y así acelerar la extracción, disolución, digestión y otros procesos, como en nuestro caso obtener una mayor eficiencia de extracción de aceite esencial, autores manifiestan que facilitan adicionalmente la ruptura celular (para muestras biológicas) y la posterior liberación de analitos encapsulados (Machado et al., 2019).

Otro punto importante es que la presente tesis uso un equipo de ultrasonido de bajo costo de 40 KHz lo cual os da opción a que esta tecnología pueda incluirse fácilmente en otros procesos de extracción de importancia alimentaria. Chemat et al., (2017) ya había manifestado que, entre los diversos tipos de instrumentos disponibles actualmente, los baños ultrasónicos y las sondas de ultrasonido son los más utilizados en los laboratorios analíticos.

Ambos instrumentos funcionan a una frecuencia fija (generalmente 20 kHz para sondas y 40 kHz para baños), con una eficiencia de cavitación de la sonda superior a la del baño, ya que se introduce una mayor intensidad en un área específica en el primer caso.

Cabe resaltar que es necesario estudiar más esta técnica, el alcance de la tesis no tuvo el objetivo de ver el efecto de las interacciones entre variables, lo cual quedaría como un tema a seguir estudiando, ya autores manifiestan que lo más probable es que se produzca una combinación de sus efectos, por ejemplo, la mezcla intensa debida a la propagación de ondas de ultrasonido en el medio líquido mejora la transferencia de masa y, por lo tanto, aumenta la velocidad de extracción del analito. (Vilkhu et al., 2021).

CAPÍTULO V

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones:

- En la caracterización de la planta Pachichanca o Pachachamcua recolectada del caserío de Pucará distrito de Tumbaden, provincia de San Pablo, Región Cajamarca, se identificó taxonómicamente que pertenece a la especie *Clinopodium nubigenum* (Kunth) Kuntze de la familia Lamiaceae, orden lamiales y que tiene por nombre común “pachichancas” o “pachachamcua. En el análisis químico proximal para la pachachamcua se obtuvo: 10.59% de humedad, 9.06% de cenizas, 1.44% de extracto etéreo, 7.37% de proteína, 30.33% de fibra cruda y 51.8% de extracto libre de nitrógeno.
- El tiempo de extracción tuvo un efecto significativo ($p < 0.05$) y el tiempo de ultrasonido aplicado no fue significativo ($p > 0.05$) en la eficiencia de extracción, además la interacción de las variables en estudio no ejerció efecto significativo en el potencial antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium nubigenum* (Kunth) Kuntze.
- El valor óptimo de tiempo de exposición a ultrasonido sobre el contenido de antioxidantes fue de 34.9 minutos y para tiempo de extracción de antioxidantes el valor óptimo fue 120 minutos en función a la variable C_{50} logrando un valor de 1.86.

5.2. Recomendaciones:

- Se recomienda utilizar más frecuencias de ultrasonido, en investigaciones posteriores ya que sería de mucho interés observar la influencia de la frecuencia en los procesos de extracción generados.

CAPÍTULO VI

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alam, M. Bristi, N. y Rafiquzzaman, M. (2019). “*Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharmaceutical*” Journal: SPJ: The Official 21 Publication of the Saudi Pharmaceutical Society, 21 2, 143–152.
- Álvarez, P. y Arcos, E. (2021). “*Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir del Sunfo (Clinopodium nubigenum kuntze.) en función del contenido de polifenoles totales y actividad antioxidante*”. Latacunga – Ecuador.
- Alvarez, E., De La Rosa, L., Gonzáles, G., y Ayala, J. (2021). “*Antioxidantes en alimentos y salud. México*”.Editorial. Obtenido de <https://docplayer.es/57194382-Antioxidantes-en-alimentos-y-salud.html>.
- Arts, M. Voss, H. Haenen, G. y Bast, A. (2021). “*Antioxidant Capacity of reaction products limits the applicability of the Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) assay*” Food and Chemical Toxicology, Pp.42, 1: 45-49
- Bendicho, C., De La Calle, I., Pena, F., Costas, M., Cabaleiro, N., y Lavilla, I. (2012). “*Ultrasound-assisted pretreatment of solid samples in the context of green analytical chemistry*”. TRAC Trends in Analytical Chemistry, 31, 50-60. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2011.06.018>
- Benzie, I. y Strain, J. (2019). “*The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”*”: The FRAP Assay. Analytical Biochemistry, 239(1), 70– 76. <https://doi.org/https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>.
- Belhachat, D. Mekimene, L. Belhachat, M. Ferradji, A. y Aid, F. (2018). “*Application of response surface methodology to optimize the extraction of essential oil from ripe berries of Pistacia lentiscus using ultrasonic pretreatment*”. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants 9: 132-140. doi: 10.1016/j.jarmap.208.04.003.

- Bermúdez, A. Oliveira, M. y Velásquez, j. (2019). “*La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: Una revisión de sus objetivos y enfoques actuales*”. España, Madrid: Trujillo.
- Bernácer, R. (2022). “*Antioxidantes*”. En línea: <https://www.webconsultas.com/dieta-y-nutricion/nutrientes/antioxidantes-3971>.
- Bassanetti, I. et al. (2017). “*Investigation of antibacterial activity of new classes of essential oils derivatives*”. Food Control, 73, 2017, p. 606-612.
- Bravo, R. y Zavala, M. (2020). “*Propuesta para la producción y comercialización de una bebida no alcohólica mediante el aprovechamiento de la pomarrosa Syzygium jambos y Sunfo Syzygium y jambos*”. [Tesis - Licenciatura en Gastronomía; Universidad de Guayaquil]. Repositorio institucional. Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/51352>.
- Castillo, D. (2020). “*Caracterización de los compuestos bioactivos del sunfo (clinopodium nubigenum), con propósitos agro-industrial*”. [Tesis-Ingeniería agroindustrial y de alimentos; UDLA]. Repositorio institucional. Obtenido de <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/12187>.
- Castro, E. Chávez, S. Auquiñivín, E. Fernández, A. Acha, O. Rodríguez, N. y Sepúlveda, D. (2019). “*Aceites esenciales de plantas nativas del Perú*”: Efecto del lugar de cultivo en las características fisicoquímicas y actividad antioxidante. Scielo, 10(4), 479-487. <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.04.04>.
- Coral, P. (2018). “*Diseño de una planta para la elaboración de un deshidratado para infusiones de Sunfo Clinopodium nubigenum (Kunth) Kuntze*”. [Tesis de Ingeniería Agroindustrial, Escuela Politécnica Nacional]. Repositorio Digital Institucional. Obtenido de <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/19876>.

- Damyeh, M. Niakousari, M. y Saharkhis, M. (2016). “*Ultrasound pretreatment impact on Prangos ferulacea Lindl. And Satureja macrosiphonia Bornm. essential oil extraction and comparing their physicochemical and biological properties*”. Industrial Crops and Products 87: 105–115. doi: 10.1016/j.indcrop.2016.04.025.
- D'Armas, H. Montesinos, K. Jaramillo, C. y León, R. (2017). “*Composición química de los aceites esenciales de las hojas de ocho plantas medicinales cultivadas en Ecuador Cubana de plantas medicinales*”, 22(2). En línea: <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/428/282.pe>.
- De la Torre, L. (2019). “*Guía de Plantas Útiles de los Páramos de Ecuador*”. En Línea: <https://biblio.flacsoandes.edu.ec/libros/digital/56372.pdf.pe>
- Delgado, J. (2021). “*Aplicación del Ultrasonido en la Industria de los Alimentos*”. Revista Especializada en Ingeniería de Procesos en Alimentos y Biomateriales. Bogotá, Colombia, UNAD. doi:10.22490/25394088.1098
- Escobar, A. (2018). “*Caracterización química de alcaloides del género*” [Química Farmaceutica-Tesis, ICESI]. Biblioteca Digital. Obtenido de <http://hdl.handle.net/10906/76979>
- Fernández, H. Pachón, M. Villaño, D. Troncoso, A. y García, M. (2016). “*Revisión de los métodos de evaluación de la actividad antioxidante in vitro del vino y valoración de sus efectos in vivo*”.
- Fukalova, T. y Abalco, T. (2020). “*Caracterización fitoquímica del aceite esencial de orégano (O. vulgare L.) por cromatografía de gases procedente de dos provincias del Ecuador*”. [Titulación-Química de alimentos; Universidad Central del Ecuador]. En línea: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/20545>.
- Ginocchio, G. y Pérez, R. (2019). “*Efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de clinopodium nubigenum (kunth) kuntze (pachachamcua) sobre cepas de streptococcus pyogenes ATCC 19615*”. [Tesis-Químico Farmacéutico y Bioquímico; Universidad Inca Garcilaso de la Vega]. Repositorio institucional. Obtenido de <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/4291>

- Gildardo, M. (2021). *“Aceites esenciales, una alternativa de diversificación para el eje cafetero”*. Colombia: Sección de publicaciones e imagen de la Universidad Nacional de Colombia.
- González, G. (2021). *“Aplicación de Ultrasonidos para la estabilización de sistemas alimentarios”*. En: II Congreso de Desarrollo Agro-industrial. Instituto Universitario de la Paz UNIPAZ. Barrancabermeja. Pp. 1-5.
- Guillén, M. (2022). *“Aplicación del ultrasonido en la extracción por hidrodestilación y microondas de aceite esencial de cáscara de limón (Citrus aurantifolia)”*. Universidad Agraria “La Molina”. Lima – Perú.
- Huie, C. (2022). *“A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants”*. Analytical and Bioanalytical Chemistry 373: 23–30. doi: 10.1007/s00216-002-1265-3
- Illescas, A. y Lovato, C. (2020). *“Estudio del Perfil Fitoquímico y posibles aplicaciones de los extractos alcohólicos, etéreo y acuoso del Sunfo (clinopodium nubigenum (kunth) kuntze)”* [Tesis - Ingeniería Agroindustrial;Universidad Técnica de Cotopaxi]. Repositorio institucional. Obtenido de <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/6998.pe>.
- Iñiguez, F. (2021). *“Estudios de la difusión de catequina y epicatequina en películas de ácido poliláctico y su caracterización fisicoquímica”* [Tesis de Maestría en Ciencias,Gobierno de Mexico]. Repositorio CIAD. Obtenido de <http://ciad.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1006/341.pe>.
- Jian, J. Xiang-hong, L. Mei-qiang, C. y Zhi-chao, X. (2016) *“Improvement of leaching process of Geniposide with ultrasound”*. Ultrasonics Sonochemistry, 13(5), 455–462. doi: 10.1016/j.ultsonch.2005.08.003.
- Kaderides, K., Papaoikonomou, L., Serafim, M., y Goula, A. (2019). *“Microwave-assisted extraction of phenolics from pomegranate peels: Optimization, kinetics, and comparison with ultrasounds extraction”*. Chemical Engineering and Processing - Process Intensification, 137, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2019.01.006>.

- Karadag, A. Ozcelik, B. y Saner, S. (2019). “Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food Analytical Methods*”, 2(1), 41–60.
<https://doi.org/10.1007/s12161-008-9067-7>
- Ladislav, H. (2017). “*Clinopodium-Nibigenum*”. Obtenido de Botany.cz:
<https://botany.cz/cs/clinopodium-nubigenum/.pe>.
- León, A. y Robles, A. (2019). “*Estudio de prefactibilidad para la Instalación de una planta extractoras de Aceites Esenciales*”. Tesis Ing. Ibarra, Ecuador, UTN.
 Recuperado de <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/250>
- Logroño, P. y Lozano, J. (2019). “*Estudio de diversidad química cualitativa y cuantitativa de aceites esenciales provenientes de diferentes variedades de rosas híbridas de té*”. [Tesis; Universidad Politécnica Salesiana]. Repositorio institucional. Obtenido de <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/17406>
- Machado, I. Faccio, R. y Pistón, M. (2019). “*Characterization of the effects involved in ultrasound-assisted extraction of trace elements from artichoke leaves and soybean seeds*”. *Ultrasonics Sonochemistry*, 59, 104752.
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104752>
- Márquez, C., Otero, C., Rojano, B., y Osorio, J. (2014). “*Actividad antioxidante y concentración de compuestos fenólicos del tomate de árbol (Cyphomandra betacea s.) en poscosecha*”. *Temas Agrarios*, 173-184.
<https://doi.org/10.21897/rta.v19i2.732>
- Majors, R., (2018). “*Practical aspects of solvent extraction*”. LCGC North America, 22(3), 143-147.
- Medina, J. (2021). “*Plantas Medicinales*”. Obtenido de:
<http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/4190/1UTC-PC-000114.pdf>.
- Mena, G. y Salas, E. (2022). “*Extracción del aceite esencial de sunfo (Clinopodium nubigenum Kunth Kuntze) por el método de arrastre de vapor, para su caracterización química, antioxidante y microbiológica*”. Universidad Técnica de Cotopaxi. Latacunga – Ecuador.

- Melissa, H. (2021). “*Clinopodium nubigenum (Kunth)*. En B. Cuamacás, D. Fernández Fernández, E. Freire, M. Haro, V. Herrera, B. Obando, A. Yánez, *Plantas de los páramos del distrito Metropolitano de Quito – Ecuador*”. (pág. 77). Obtenido de <http://www.mobot.org/mobot/research/pdf/PlantasParamosDMQ.pdf.pe>.
- Mena, G. y Salas, E. (2022). “*Extracción del aceite esencial de sunfo (Clinopodium nubigenum Kunth. Kuntze) por el método de arrastre de vapor, para su caracterización química, antioxidante y microbiológica*”. Iatacunga – Ecuador.
- Montero, M., Revelo, J. Avilés, D. Valle, E. y Guevara, D. (2017). “*Efecto Antimicrobiano del Aceite Esencial de Canela (Cinnamomum zeylanicum) sobre Cepas de Salmonella*”. Scielo, 28(4), 987-993. doi: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v28i4.13890>
- Morocco, S. (2017). “*Caracterización micro-histológica, físico y químico del aceite esencial de las hojas de matico (Piper aduncum), extraído por arrastre de vapor en un equipo modular*”. [Tesis- Ingeniería química; Universidad Nacional del Altiplano- Puno]. Repositorio institucional. Obtenido de <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/5334>
- Noriega, P., Mosquera, T., Osorio, E., Guerra, P., y Fonseca, A. (2018). “*Aceite esencial de Clinopodium Nubigenum (Kunth) Kuntze: composición química, actividad antioxidante y prueba antimicrobiana contra patógenos respiratorios*”. Academic journals, 10(9), 149-157. doi:10.5897/JPP2017.0467
- Niki, E. (2021). “*Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. Free Radical Biology y Medicine*” Pp. 49(4), 503–515. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.04.016>
- Okoh, O. Sadimenko, A. y Afolayan, A. (2021). “*Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of Rosmarinus officinalis L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods*”. Food and Agriculture Organization of the United Nations. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.09.084.

- Palipane, K.; Driscoll, R. y Srzednicki, G. (2022). “*Density, Porosity and Composition of Macadamia In-Shell Nuts*”. *Food Australia*. 44 (6), 276-280.
- Paniwnyk, L. (2017). “*Applications of ultrasound in processing of liquid foods*”. *Ultrasonics Sonochemistry*, Pp. 38:794-806.
- Peñarrieta, M., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J., y Bravo, J. (2021). “*Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos*”. *Redalyc.org*, 31(2), 68-81. Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=426339682006>
- Peixinho, A. y Santrock, J. (2021). “*Análisis químico de antocianinas en frutos silvestres colombianos*”. 11(2), 10–14. <https://doi.org/10.16194/j.cnki.31-1059/g4.2011.07.016>
- Peredo, H. Luna, A. Palou, K. García, E. López, y Malo, A. (2019). “*Aceites esenciales: métodos de extracción*”. Puebla, México. *Ingeniería de Alimentos* 3: 24-32. Recuperado de [https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TsIA-3\(1\)-Peredo-Luna-et-al2009.pdf.pe](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TsIA-3(1)-Peredo-Luna-et-al2009.pdf.pe)
- Rodriguez, S. y Fernandez, F. (2017). “*Extraction Processes Assisted by Ultrasound. En D. Bermudez-Aguirre (Ed.)*”, *Ultrasound: Advances for Food Processing and Preservation* (pp. 351-368). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804581-7.00014-2>
- Shahidi, F. y Zhong, Y. (2019). “*Measurement of antioxidant activity*”. *Journal of Functional Foods*, 18, 757–781. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047>.
- Setyaningsih, W., Saputro, I. Carrera, C. y Palma, M. (2019). “*Optimisation of an ultrasound-assisted extraction method for the simultaneous determination of phenolics in rice grains*”. *Food Chemistry*, 288, 221-227. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.02.107>
- Tovar, V. (2018). “*Actividad antibacteriana y antioxidante del aceite esencial extraído del tronco y corteza de la especie *Handroanthus chrysanthus* (Guayacán)*”. [Titulación - Química farmacéutica; Universidad Central de Ecuador]. Repositorio institucional. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/15263>.

- Siancas, J. (2021). “*Determinación de la presión de vacío óptima para mejorar el rendimiento y la calidad del aceite esencial de limón sutil (Citrus aurantifolia) obtenido por hidrodestilación*”. [Tesis; Universidad Nacional de Piura]. Repositorio institucional. <http://repositorio.unp.edu.pe/handle/20.500.12676/282>
- Vilaplana M. (2017). “*Antioxidantes presentes en los alimentos*”. Revista Digital del Ámbito Farmacéutico – Nutrición – Vol. 26 Núm. 10.
- Vilkhu, K., Manasseh, R., Mawson, R., y Ashokkumar, M. (2021). Ultrasonic Recovery and Modification of Food Ingredients. En H. Feng, G. Barbosa-Canovas, & J. Weiss (Eds.), *Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing* (pp. 345-368). https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7472-3_13
- Ye, CL. Y Ying, C. (2021). “*Optimization of extraction process of crude polysaccharides from plantago asiática L. by response Surface methodology. Carbohydrate Polymers*” 84: 495-502. doi: 10.1016/j.carbpol.2014.10.032
- Waizel, J. y Waizel, S. (2019). “*Las plantas con principios amargos y su uso medicinal. ¿Un futuro dulce?* Anales de Otorrinolaringología Mexicana, 207. Obtenido de <https://otorrino.org.mx/article/las-plantas-con-principios-amargos-y-su-usomedicinal-un-futuro-dulce/.pe>.

CAPÍTULO VII

VII. ANEXOS

ANEXO 1

Taxonomía de la Pachichanca o Pachachamcua



**HERBARIUM CPUN
"ISIDORO SÁNCHEZ VEGA"
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

CONSTANCIA

C-26-03-19

El que suscribe;

Director del Herbario CPUN "Isidoro Sánchez Vega", hace constar; que después de haber comparado y analizado la muestra botánica procedente del poblado de Pucará, distrito de Tumbadón, provincia de San Pablo, departamento de Cajamarca (coordenadas: X 758476 W 9275910); hace constar que corresponde, taxonómicamente al vegetal terrestre:

Especie: *Clinopodium nubigenum* (Kunth) Kuntze
Familia: Lamiaceae
Orden: Lamiales
N. V. : "pachichanca" o "pachachamcua"

La muestra fue colectada por la bachiller Judith Maribel Cueva Guevara, herborizada e identificada en este Herbario.

Se expide la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.



M.Sc. Gustavo Iberico Vela
DIRECTOR HERBARIO CPUN "I.S.V."

Av. Alahuélpá 1050 – Carretera Cajamarca - Baños de Tarma - Telf.

ANEXO 2

Determinación espectrofotométrica de fenoles totales en la planta Pachichanca



SISTEMA DE SERVICIOS Y ANÁLISIS
QUÍMICOS S.A.C. SLAB

INFORME DE ENSAYO IE-131022-04

1. DATOS DEL CLIENTE

1.1 Cliente : TRANSPORTES ACUARIO S.A.C.
1.2 RUC/DNI : 20453556086
1.3 Dirección : PROL ANGAMOS MZA. M LOTE. 2 URB. EL JARDIN (GRIFO CONTINENTAL SAC) CAJAMARCA - CAJAMARCA - CAJAMARCA

2. FECHAS

2.1 Inicio : 13 de Octubre de 2022
2.2 Fin : 25 de Octubre de 2022
2.3 Emisión de informe : 25 de Octubre de 2022

3. CONDICIONES AMBIENTALES DE ENSAYO

3.1 Temperatura : 20.2 °C
3.2 Humedad Relativa : 52 %

4. ENSAYO SOLICITADO Y METODOLOGÍA UTILIZADA

4.1. ENSAYOS FISICOQUÍMICOS

PARÁMETRO	MÉTODO DE REFERENCIA
Determinación de Fenoles Totales	Espectrofotometría UV Visible Folin-Ciocalteu

5. DATOS DE LA MUESTRA ANALIZADA

Tabla N°1: Datos de la Muestra Analizada

Código Interno de Muestra	Tipo de Muestra	Descripción
S-5048	Hierba Medicinal	HIERBA MEDICINAL

6. RESULTADOS

6.1. Resultados Obtenidos

Tabla N°2: Resultados Fisicoquímicos

Código Interno de Muestra	Parámetro	Unidad	Resultados
S-5048	Fenoles Totales	Mg Ácido Gálico/ g	6.96

- Los Resultados pertenecen a las muestras entregadas al laboratorio
- Queda prohibida la copia parcial de este informe sin el consentimiento por escrito de SISTEMA DE SERVICIOS Y ANÁLISIS QUÍMICOS SAC.

FIN DE DOCUMENTO

DIEGO ROMANO VERGARAY D'ARRIGO
QUÍMICO
CQP. 1337

ANEXO 3

Composición química de un aceite esencial de acuerdo a (Gilardoni et al., 2021)

Table 1. Chemical analysis of the essential oil of *C. nubigenum*. LRI: Linear Retention Index (Van den Dool & Kratz, 1963).

COMPOUNDS	%A	%B	LRI	COMPOUNDS	%A	%B	LRI
1-Butanol-2-methyl acetate*	0.01	<0.01	876	Isobornyl acetate	0.1	<0.01	1288
α -Pinene	0.85	0.45	934	<i>trans</i> -Sabinyl acetate	0.23	0.10	1294
Camphene	0.12	0.03	949	Nonanyl acetate	0.18	0.02	1312
3-Methyl-cyclohexanone			951	Myrtenyl acetate	0.89	0.05	1328
Sabinene	3.26	0.33	974	Piperitenone	1.52	0.34	1345
β -Pinene			978	Citronellyl acetate	1.06	0.46	1355
2-Pentyl furan	0.11	0.06	992	Eugenol	1.11	0.51	1361
3-Octanol	0.11	0.04	996	Piperitenone oxide	0.21	0.11	1370
<i>p</i> -Mentha-1(7),8-diene	0.05	0.03	1005	α -Copaene	7.03	2.09	1381
Limonene	6.46	2.07	1030	<i>trans</i> -Myrtranol acetate	0.22	0.08	1387
<i>trans</i> - β -Ocimene	0.06	0.01	1048	β -Bourbonene	0.76	0.29	1389
γ -Terpinene	0.01	0.01	1059	β -Cubebene			1393
<i>p</i> -Mentha-3,8-diene	0.02	0.02	1071	Elemene< β ->	0.32	<0.01	1395
Terpinolene	0.09	0.01	1090	(<i>E</i>)-Caryophyllene	0.18	0.06	1423
<i>p</i> -Cymene	2.08	1.73	1091	β -Copaene	0.50	0.16	1433
1,6-Octadien-3-ol,3,7-dimethyl-*	7.31	7.00	1101	α -Humulene			1458
Linalool	0.52	0.81	1101	γ -Muurolene	1.06	0.38	1480
Nonanal	0.06	0.02	1105	Germacrene D			1485
1-Octen-3-yl acetate	0.46	0.02	1113	(<i>E,E</i>)- α -Farnesene	0.39	0.29	1510
3-Octanol acetate	0.25	0.02	1124	Zonarene	5.76	2.08	1529
α -Campholenal			1128	α -Calacorene	0.41	0.05	1547
<i>cis</i> -Limonene oxide			1135	β -Calacorene	0.57	0.05	1568
<i>cis-p</i> -Mentha-2,8-dien-1-ol			1137	1 α ,10 α -epoxy-Amorph-4-ene	0.25	0.06	1576
<i>p</i> -Menth-3-en-8-ol	0.14	0.01	1150	β -Copaen-4- α -ol< β ->			1592
Menthone	11.57	0.15	1156	α -Corocalene	0.06	0.02	1629
Menthofuran			1167	Muurola-4,10(14)-dien-1- β -ol	0.04	0.01	1635
<i>cis</i> -Isopulegone*	1.56	4.74	1178	α -Muurolol	0.02	<0.01	1649
α -Terpineol	0.05	0.10	1194	<i>cis</i> -Calamemen-10-ol	0.08	0.06	1668
Decanal	0.06	0.08	1207	Cadalene			1683
Acetic acid, non-3-enyl ester*	0.80	0.13	1209	Mostakone	0.59	0.01	1687
Benzofuran-4,7-dimethyl*	0.33	0.08	1216	Amorpha-4,9-dien-2-ol	0.26		1705
Coahuilensol, methyl ether	0.30	0.01	1226	10- <i>nor</i> -Calamemen-10-one			1711
Pulegone*	37.11	72.79	1249	Pentadecanal*			1718
Linalyl acetate	0.05	0.01	1257	Hexadecanal*			1783
Cinnamaldehyde<(E)->	0.03	0.02	1274	2-Pentadecanone,6,10,14-trimethyl-*			1849
				Tot. %	97.59	98.09	

A: from air-dried aerial parts. B: from fresh aerial parts. *Identified only by Wiley and NIST MS libraries.

ANEXO 4

Análisis químico proximal de la pachichanca o pachachamcua

El análisis químico proximal de la planta pachichanca se realizó en el (Laboratorios de Análisis y Control de Alimentos – Facultad de Ciencias Pecuarias - UNC). Siguiendo el (Método Oficial de Análisis “Association of Official Analytical Chemist – AOAC – 2017).

Los valores obtenidos muestran como unidad de referencia el porcentaje (%) para la caracterización de la hoja de *Clinopodium nubigenum*, se efectuaron los análisis de humedad, cenizas, extracto etéreo libre de nitrógeno, proteína, fibra y actividad antioxidante.

****Determinación de cenizas***

Procedimiento experimental:

Se tomó 4 g de la hoja fresca de la planta de pachachamcua, esta muestra fue colocada sobre un crisol y fue incinerada en la mufla, a una temperatura de 550°C, durante un transcurso de 8 horas, hasta la obtención de unas cenizas de color gris.

Para calcular el porcentaje de cenizas se utilizó la siguiente ecuación:

$$\%C = \frac{Pcc - Pcv}{Pcm - Pcv} \times 100$$

Donde:

$\%C$ = Contenido final de cenizas

Pcv = Peso de crisol vacío

Pcc = Peso de crisol con cenizas

Pcm = Peso de crisol con la muestra de hojas frescas.

****Determinación de humedad***

Procedimiento experimental:

Se procedió a pesar 3g de hojas frescas de pachachamcua, la cual fue colocada en un recipiente de acero inoxidable. La muestra fue extendida en toda la superficie del recipiente de acero inoxidable y llevada a la estufa a una temperatura de 105°C durante 12 horas. Finalmente se tomó la muestra, la cual fue enfriada en un desecador y posteriormente pesada. El cálculo de porcentaje de humedad se realizó con la siguiente ecuación:

$$\%H = \frac{Prms - Prv}{Prmh - Prv} \times 100$$

Donde:

$\%H$ = Porcentaje de humedad

Prv = Peso de recipiente vacío

$Prms$ = Peso del recipiente con la muestra seca

$Prmh$ = Peso del recipiente con la muestra de hojas frescas.

****Determinación de extracto etéreo***

Procedimiento experimental

Se colocó dentro de los vasos de acero inoxidable 30ml de hexano. A continuación se pesó 3g de muestra fresca (hojas de pachachamcua) misma que se colocó en un dedal. Posteriormente se colocaron los dedales y vasos en el equipo (FOSS Soxtec TM 2043). El calentador alcanzó una temperatura de 130°C para de esta manera sumergir los dedales por un tiempo de 15 minutos. Posteriormente se dió paso al reflujo de extracción con ayuda de hexano grado técnico. Luego los vasos fueron retirados del equipo para ser llevados a la estufa a una temperatura de 105°C con el fin de que el hexano técnico se volatilice completamente. Finalmente los vasos fueron retirados a un desecador para finalmente ser pesados.

La ecuación utilizada fue la siguiente:

$$\%EE = \frac{Phr - Phv}{Pm} \times 100$$

Donde:

$\%EE$ = Porcentaje de extracto etéreo

Phv = Peso del crisol vacío

Phr = Peso del crisol con el residuo

Pm = Peso de la muestra

****Determinación de proteína***

Procedimiento experimental:

Se peso 2g de muestra (hojas de pachachamcua) y se la colocó en papel bond, luego se colocó la muestra en los tubos para proceder a la digestión, tomando en consideración los números de las muestras colocadas en cada uno de los tubos. Posteriormente se coloca dos pastillas de digestión Kjeltabs Cu/3.5 y se añade 20 ml de ácido sulfúrico. Seguidamente se transfirió a un digestor para calendar a 400°C durante un lapso de 1 hora. Finalmente se obtuvo los valores con respecto al porcentaje de problema mismos que se visualiza en la pantalla del equipo. Este tiene como unidad de referencia al porcentaje.

****Determinación de fibra***

Procedimiento experimental:

Se pesó 3g de muestra para colocarla en un recipiente de 600ml, posteriormente se añadió 1ml de alcohol y 200ml de ácido sulfúrico. A continuación se sometió a un proceso de digestión durante un lapso de 25 minutos, se añadió 25 ml de hidróxido de sodio al 22%, 1ml de alcohol y se procedió a digerir durante 30 minutos. La fibra debió ser recogida y colocada en crisoles utilizando lana de vidrio como capa. Posteriormente debió ser lavada y desmineralizada con agua caliente añadiendo 100ml de ácido sulfúrico al 0.007% y 20ml de hexano. A continuación la fibra se secó a 105°C en una estufa por un lapso de 8 horas para finalizar la muestra se sometió a una incineración en la mufla a 600°C durante un tiempo de 4 horas para posteriormente ser situada en un desecador luego se dejó enfriar y por último se pesó la muestra.

Para la determinación de la fibra cruda se aplicó la siguiente ecuación:

$$\%Fc = \frac{Pcf - Pcc}{Pm} \times 100$$

Donde:

$\%Fc$ = Porcentaje de fibra cruda

Pcf = Peso del crisol secado a 105°C

Pcc = Peso del crisol luego de la calcinación

Pm = Peso de la muestra

****Determinación de fibra***

Procedimiento experimental:

Se aplicó la siguiente ecuación:

$$ELN (\%) = 100 - (\%Proteína + \%Extracto E + \%Fibra + \%Cenizas)$$

$\%Proteína$ = Contenido de proteína cruda (%)

$\%Extracto E$ = Contenido de extracto etéreo (%)

$\%Fibra$ = Contenido de fibra cruda (%)

$\%Cenizas$ = Contenido de ceniza (%)

ANEXO 5

C₅₀ para cada una de las muestra de pachichanca evaluadas

*Nota estos datos nos sirvieron para determinar la reducción de la concentración del radical DPPH a la mitad (C₅₀), este valor se calculó por regresión lineal, graficando la concentración versus el porcentaje de inhibición, mediante el diseño de superficie de respuesta cuyos gráficos estadísticos se mencionan con anterioridad en la discusión de resultados.

Tabla 9

C₅₀ para muestra de pachichanca (P1)

P1			
Concentración	Absorbancia	% Inhibición	C ₅₀
0.15	0.081	90.504	
0.3	0.1301	84.748	
0.6	0.2711	68.218	1.89
1.5	0.477	44.080	3
3	0.58	32.005	
3.5	0.652	23.564	
Blanco	0.853		
Pendiente	-18.69766223		
Intersección	85.38870813		

Figura 21

C₅₀ para muestra de pachichanca (P1)

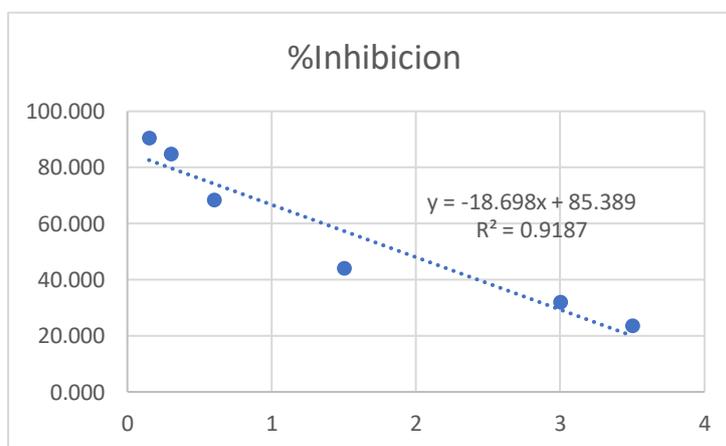


Tabla10*C50 para muestra de pachichanca (P2)*

P2			
Concentración	Absorbancia	% Inhibición	C50
0.15	0.081	90.504	
0.3	0.1299	84.771	
0.6	0.273	67.995	1.83
1.5	0.475	44.314	9
3	0.625	26.729	
3.5	0.648	24.033	
Blanco	0.853		
Pendiente	-19.35288717		
Intersección	85.58177324		

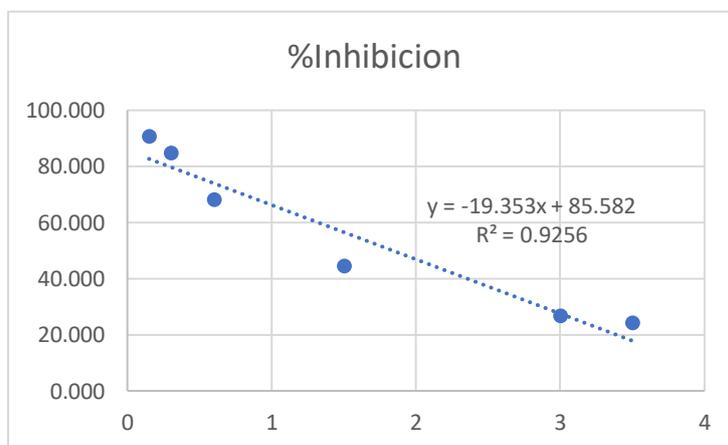
Figura 22*C50 para muestra de pachichanca (P2)*

Tabla 11

C50 para muestra de pachichanca (P3)

P3			
Concentración	Absorbancia	%Inhibicion	C50
0.15	0.085	90.035	
0.3	0.129	84.877	
0.6	0.28	67.175	1.84
1.5	0.475	44.314	2
3	0.612	28.253	
3.5	0.652	23.564	
Blanco	0.853		
Pendiente	-19.10155466		
Intersección	85.18118727		

Figura 23

C50 para muestra de pachichanca (P3)

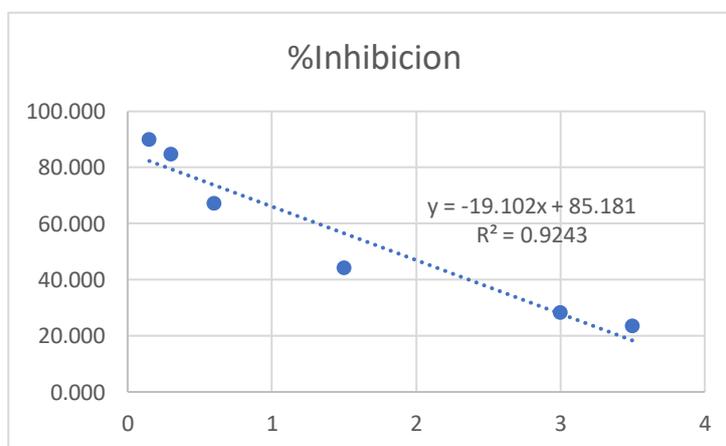


Tabla 12*C50 para muestra de pachichanca (P4)*

P4			
Concentración	Absorbancia	%Inhibicion	C50
0.15	0.085	90.035	
0.3	0.125	85.346	
0.6	0.284	66.706	1.62
1.5	0.585	31.419	4
3	0.658	22.860	
3.5	0.698	18.171	
Blanco	0.853		
Pendiente	-20.92462632		
Intersección	83.98413278		

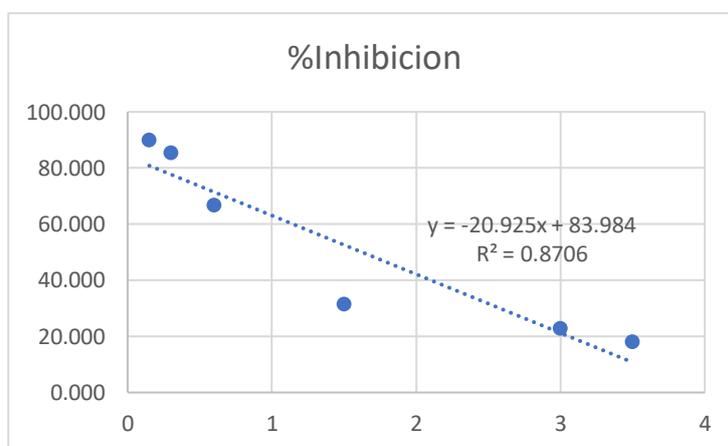
Figura 24*C50 para muestra de pachichanca (P4)*

Tabla 13*C50 para muestra de pachichanca (P5)*

P5			
Concentración	Absorbancia	%Inhibición	C50
0.15	0.0801	90.610	2.065
0.3	0.125	85.346	
0.6	0.264	69.050	
1.5	0.421	50.645	
3	0.512	39.977	
3.5	0.652	23.564	
Blanco	0.853		
Pendiente	-17.7080529		
Intersección	86.57482816		

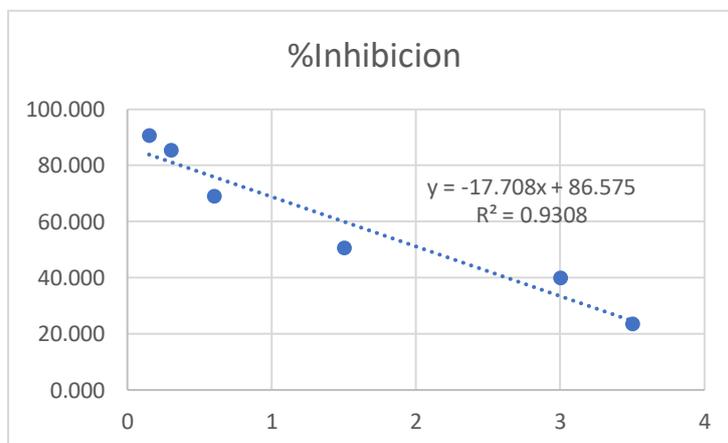
Figura 25*C50 para muestra de pachichanca (P5)*

Tabla 14

C50 para muestra de pachichanca (P6)

P6			
Concentración	Absorbancia	%Inhibicion	C50
0.15	0.082	90.387	1.863
0.3	0.142	83.353	
0.6	0.268	68.581	
1.5	0.485	43.142	
3	0.562	34.115	
3.5	0.678	20.516	
Blanco	0.853		
Pendiente	18.8333278		
Intersección	85.0892339		

Figura 26

C50 para muestra de pachichanca (P6)

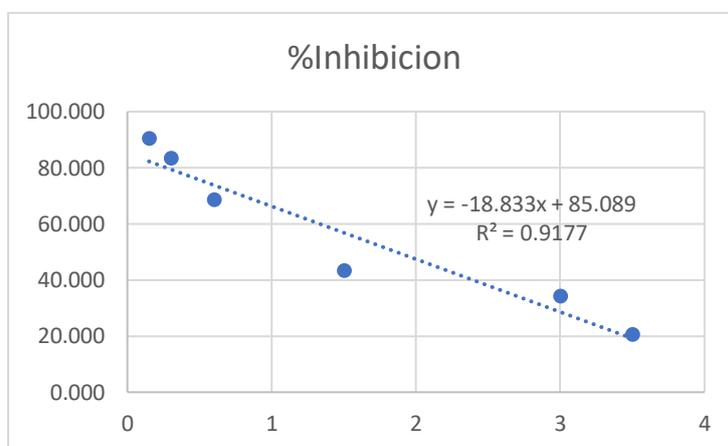


Tabla 15

C50 para muestra de pachichanca (P7)

P7			
Concentración	Absorvancia	%Inhibicion	C50
0.15	0.086	89.918	
0.3	0.131	84.642	
0.6	0.265	68.933	1.88
1.5	0.422	50.528	5
3	0.598	29.894	
3.5	0.679	20.399	
Blanco	0.853		
Pendiente	19.5920103		
Intersección	86.9369798		

Figura 27

C50 para muestra de pachichanca (P7)

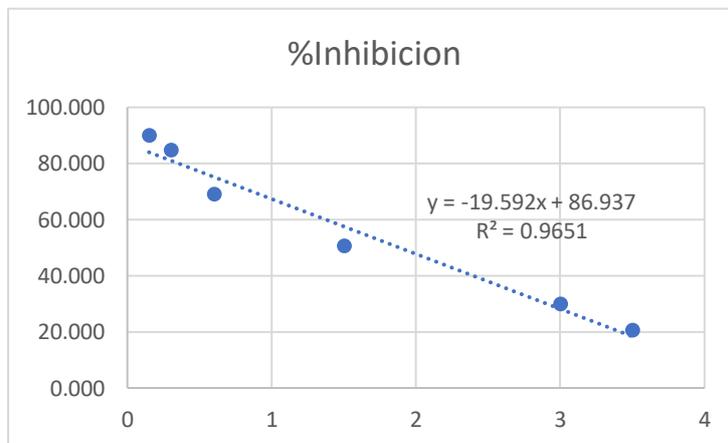


Tabla 16*C50 para muestra de pachichanca (P8)*

P8			
Concentración	Absorbancia	%Inhibición	C50
0.15	0.0855	89.977	
0.3	0.132	84.525	
0.6	0.281	67.057	1.81
1.5	0.485	43.142	5
3	0.594	30.363	
3.5	0.678	20.516	
Blanco	0.853		
Pendiente	-19.324588		
Intersección	85.077971		

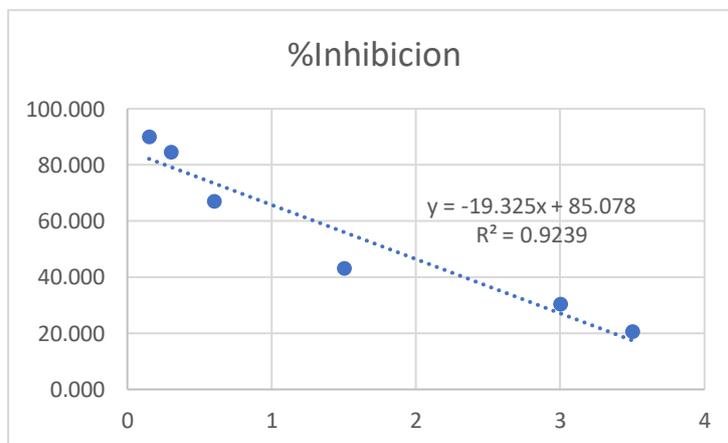
Figura 28*C50 para muestra de pachichanca (P8)*

Tabla 17*C50 para muestra de pachichanca (P9)*

P9			
Concentración	Absorbancia	%Inhibición	C50
0.15	0.09	89.449	
0.3	0.145	83.001	
0.6	0.281	67.057	1.75
1.5	0.498	41.618	8
3	0.621	27.198	
3.5	0.675	20.868	
Blanco	0.853		
Pendiente	-19.46509		
Intersección	84.2250258		

Figura 29*C50 para muestra de pachichanca (P9)*