



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES
CARRERA DE AGROINDUSTRIAS
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

**“CARACTERIZACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO DE TZINZO (*Tagetes minuta*)
EN FUNCIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CAPACIDAD
ANTIOXIDANTE”**

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de Ingenieras
Agroindustriales

Autoras:

Morales Chicaiza Ginger Solange

Roldán Garcés Mishell Jaqueline

Tutor:

Rojas Molina Jaime Orlando, Quim. Mg.

LATACUNGA – ECUADOR

Agosto 2023

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Ginger Solange Morales Chicaiza, con cedula de ciudadanía N.º 1726616046 y Mishell Jaqueline Roldán Garcés, con cedula de ciudadanía N.º 1756137061, declaramos ser autoras del presente proyecto de investigación: Caracterización del extracto acuoso de Tzinzo (*Tagetes minuta*) en función de la composición química y capacidad antioxidante, siendo Químico Mg. Jaime Orlando Rojas Molina, Tutor del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Latacunga, 17 de agosto del 2023



Ginger Solange Morales Chicaiza
Estudiante
C.C. 1726616046



Mishell Jaqueline Roldán Garcés
Estudiante
C.C. 1756137061



Quim. Jaime Orlando Rojas Molina, Mg.
Docente Tutor
C.C.0502645435

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **MORALES CHICAIZA GINGER SOLANGE**, identificada con cedula de ciudadanía **1726616046**, de estado civil soltera, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, la Doctora Idalia Eleonora Pacheco Tigselema, en calidad de Rectora, y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - LA CEDENTE es una persona natural estudiante de la carrera de Ingeniería Agroindustrial, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “Caracterización del extracto acuoso de Tzinzo (*Tagetes minuta*) en función de la composición química y capacidad antioxidante.”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

Historial Académico

Inicio de la carrera: Abril-Agosto 2019

Finalización de la carrera: Abril – Agosto 2023

Aprobación en Consejo Directivo: 25 de Mayo 2023

Tutor: Químico Mg. Jaime Orlando Rojas Molina

Tema: “Caracterización del extracto acuoso de Tzinzo (*Tagetes minuta*) en función de la composición química y capacidad antioxidante”

CLÁUSULA SEGUNDA. - LA CESIONARIA es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. - Por el presente contrato, **LA CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA. - OBJETO DEL CONTRATO: Por el presente contrato **LA CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.

f) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA. - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LA CEDENTE** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. - **LA CESIONARIA** podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA/EL CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 17 días del mes de agosto del 2023.



Ginger Solange Morales Chicaiza
LA CEDENTE

Dra. Idalia Eleonora Pacheco Tigselema
LA CESIONARIA

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **ROLDÁN GARCÉS MISHHELL JAQUELINE**, identificada con cedula de ciudadanía **1756137061**, de estado civil soltera, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, la Doctora Idalia Eleonora Pacheco Tigselema, en calidad de Rectora, y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - **LA CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de Ingeniería Agroindustrial, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “Caracterización del extracto acuoso de Tzinzo (*Tagetes minuta*) en función de la composición química y capacidad antioxidante”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

Historial Académico

Inicio de la Carrera: abril – agosto 2019

Finalización de la carrera: abril – agosto 2023

Aprobación en Consejo Directivo: 25 de Agosto 2023

Tutor: Químico Mg. Jaime Orlando Rojas Molina

Tema: “Caracterización del extracto acuoso de Tzinzo (*Tagetes minuta*) en función de la composición química y capacidad antioxidante”

CLÁUSULA SEGUNDA. - **LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. - Por el presente contrato, **LA CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA. - **OBJETO DEL CONTRATO:** Por el presente contrato **LA CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.

f) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA. - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LA CEDENTE** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. - LA CESIONARIA podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 17 días del mes de agosto del 2023.

Mishell Jaqueline Roldán Garcés
LA CEDENTE

Dra. Idalia Eleonora Pacheco Tigselema
LA CESIONARIA

AVAL DEL TUTOR EL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tutor del Proyecto de Investigación con el título:

CARACTERIZACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO DE TZINZO (*Tagetes minuta*) EN FUNCIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE”, de Morales Chicaiza Ginger Solange y Roldán Garcés Mishell Jaqueline de la carrera de Ingeniería Agroindustrial, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

Latacunga, 17 de agosto del 2023



Quim. Jaime Orlando Rojas Molina, Mg.

DOCENTE TUTOR

CC: 0502645435

AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, las postulantes: Morales Chicaiza Ginger Solange y Roldán Garcés Mishell Jaqueline, con el título de Proyecto de Investigación **“CARACTERIZACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO DE TZINZO (*Tagetes minuta*) EN FUNCIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE”**, han considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

Por lo antes expuesto, se autoriza los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, 17 de agosto del 2023



Lector 1 (Presidente)
Ing. Franklin Antonio Molina Borja, Mg.
CC: 0501821433



Lector 2
Ing. Ana Maricela Trávez Castellano, Mg.
CC: 0502270937



Lector 3
Ing. Edwin Ramiro Cevallos Carvajal, Mg.
CC: 0501821433

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi profundo agradecimiento a la Universidad Técnica de Cotopaxi, por brindarme la oportunidad de adquirir conocimiento y crecer como individuo. A mis estimados docentes, cuya dedicación y orientación fueron fundamentales en mi formación, en especial al Quim. Orlando Rojas, cuya orientación y conocimientos han guiado mi camino hacia la culminación de esta tesis.

Quiero agradecer de manera especial a mi familia por su apoyo incondicional a lo largo de este emocionante viaje de preparación, su amor, paciencia y aliento constante han sido fundamentales para llegar a este punto. Y a mis queridos amigos, por estar a mi lado en cada paso de este camino.

Ginger Solange Morales Chicaiza

AGRADECIMIENTO

Agradezco primeramente a Dios por darme la fuerza, sabiduría y constancia necesaria para poder culminar este trabajo. A mi madre, quien a pesar de tantas dificultades estuvo brindándome todo su apoyo incondicional. A mi hermano José, por depositar toda su confianza en mí y por ser como un padre ya que él estuvo apoyándome durante la carrera universitaria, infinitamente gracias por todo ese amor. A mi mejor amigo por estar siempre ahí para mí y ayudarme en mis peores momentos para seguir adelante frente a todos los obstáculos, por brindarme sus palabras de aliento y enseñarme a nunca rendirme. A la Universidad Técnica de Cotopaxi por abrirme la puerta y darme esa oportunidad de estudiar en la Carrera de Ingeniería Agroindustrial, donde encontramos grandes Docentes los cuales nos comparten sus saberes y nos forjan a ser unos buenos profesionales con valores. De igual manera al Químico Orlando Rojas, tutor del proyecto, quien nos guio y apoyó durante el desarrollo y culminación del proyecto.

Mishell Jaqueline Roldán Garcés

DEDICATORIA

A Dios por su infinita bondad y amor, por permitirme haber llegado hasta este punto, brindándome fortaleza y guía en este proceso académico.

Dedico esta tesis a mi amada familia, a mi Madre Marcia Chicaiza, por siempre tener la confianza y fe en mí, en mis metas, a mi padre Alfonso Morales, con su ejemplo de constancia y perseverancia que me ha mostrado, los cuales han sido fundamentales para salir adelante, a mi hermano Darío, por su apoyo, sus palabras de aliento, por acompañarme en esta etapa. Su amor incondicional y apoyo constante han sido mi fuente de fortaleza a lo largo de este desafiante recorrido. Cada paso que he dado en este camino ha sido guiado por su aliento y confianza en mí. Gracias por estar siempre a mi lado, por creer en mis sueños y por ser mi mayor inspiración. Esta dedicatoria es un humilde reconocimiento a la importancia fundamental que tienen en mi vida.

Ginger Solange Morales Chicaiza

DEDICATORIA

A mi abuelita quien a pesar que no está a mi lado me llena de muchas bendiciones desde el cielo, a mi mami por darme ese plato de comida en esas noches de desvelo, por cumplir una tarea y ser mi sustento en todo momento. A mi hermano José, que siempre ha estado junto a mí a pesar de tantas dificultades, quien fue y seguirá siendo mi consejero y motivo de inspiración para culminar mi meta y como olvidar a mi tía que día tras día me brindo todo su apoyo, para mí son las personas más especiales en mi vida ustedes me dieron aliento cuando todo parecía venirse abajo, que en ocasiones no hacía falta que dijeran una palabra, pues con su ejemplo y ganas de salir adelante me motivaron a continuar a pesar de las circunstancias y demostrarme que todo esfuerzo tendrá su fruto. Y como no agradecer a todas esas personas que han estado conmigo, compartiendo cada uno de mis pequeños logros y sobre todo brindándome una palabra de ánimo y motivándome en cada paso que doy en mi vida.

Mishell Jaqueline Roldán Garcés

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: “CARACTERIZACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO DE TZINZO (*Tagetes minuta*) EN FUNCIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE”

AUTORAS: Morales Chicaiza Ginger Solange
Roldán Garcés Mishell Jaqueline

RESUMEN

La presente investigación tomo como objetivo caracterizar el extracto acuoso de Tzinzo (*Tagetes minuta*) en términos de su composición química y capacidad antioxidante. Se llevó a cabo la recolección y selección de la materia prima, procediendo al corte de las hojas en óptimas condiciones, las mismas que fueron sometidas a un proceso de desecación para obtener la droga cruda y a través de la aplicación de la metodología del perfil fitoquímico, se logró la identificación de metabolitos secundarios en el extracto acuoso, entre ellos alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides, mucílagos y principios amargos. Se implementó un diseño experimental de superficie respuesta para la extracción, empleando el software estadístico Design Expert 8.0.6. las condiciones óptimas fueron concentración de etanol al 87,34 % m/m, tiempo de extracción de 12 h y temperatura de 69,39 °C, esto generó un contenido de polifenoles de 268,76 mg/g y una capacidad antioxidante de 870,16 ($\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ muestra). Los análisis físicoquímicos del extracto optimizado revelaron un pH de 5,22; acidez de 0,31 % m/m ácido sulfúrico y una humedad del 95,01 % m/m, con una capacidad antioxidante reductora de hierro de 0,756 ($\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ muestra), Mediante cromatografía de gases con detector de masas se determinó la composición química del extracto acuoso de Tzinzo, identificando 9 compuestos volátiles, los componentes principales fueron la *trans-tagetona* (36,44 %), *trans-anetol* (15,50 %) y el fitol (19,49 %), en cuanto a la efectividad antioxidante expresada en IC_{50} los resultados para el método ABTS mostraron una concentración de 0,34 (0,02) mg/ml y para el método de FRAP se obtuvo una concentración de 765,20 (6,45) ($\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ muestra), los cuales indican la presencia de antioxidantes que permiten neutralizar los radicales libres. El estudio concluyó que el extracto acuoso de *Tagetes minuta* posee una notable capacidad antioxidante debido a su composición química en compuestos fenólicos, flavonoides y volátiles, estos resultados sugieren que el extracto podría tener aplicaciones potenciales en la industria alimentaria y farmacéutica como agente antioxidante natural.

Palabras clave: Tzinzo, extracto acuoso, cromatografía de gases, optimización, polifenoles, capacidad antioxidante.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTY OF AGRICULTURAL AND NATURAL RESOURCES SCIENCES

THEME: "CHARACTERIZATION OF THE AQUEOUS EXTRACT OF TZINZO (*Tagetes minuta*) IN TERMS OF CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT CAPACITY"

AUTHORS: Morales Chicaiza, Ginger Solange
Roldán Garcés, Mishell Jaqueline

ABSTRACT

The present investigation take as objective to characterize the aqueous extract of Tzinzo (*Tagetes minuta*) in terms of its chemical composition and antioxidant capacity. The collection and selection of raw material were carried out, followed by cutting the leaves under optimal conditions. The leaves were subjected to a drying process to obtain the raw drug. Through the application of phytochemical profiling methodology, secondary metabolites were identified in the aqueous extract, including alkaloids, phenolic compounds, flavonoids, mucilages, and bitter principles. An experimental design using response surface methodology was implemented for extraction, using the statistical software Design Expert 8.0.6. The optimal conditions were ethanol concentration of 87,34 % w/w, extraction time of 12 h, and temperature of 69,39 °C, this generated a polyphenol content of 268,76 mg/g and an antioxidant capacity of 870.16 ($\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ sample). Physicochemical analyses of the optimized extract revealed a pH of 5, 22; acidity of 0, 31 % w/w sulfuric acid, and moisture content of 95, 01 % w/w. The reducing antioxidant capacity of iron was 0,756 ($\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g}$ sample). Using gas chromatography with mass detector, the chemical composition of the aqueous extract of Tzinzo was determined, identifying 9 volatile compounds. The main components were *trans*-tagetone (36, 44 %), *trans*-anethole (15, 50 %), and phytol (19, 49 %). Regarding antioxidant effectiveness expressed in IC_{50} , the results for the ABTS method showed a concentration of 0, 34 (0, 02) mg/ml, and for the FRAP method, a concentration of 765, 20 (6, 45) ($\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ sample) was obtained. These results indicate the presence of antioxidants capable of neutralizing free radicals. The study concluded that the aqueous extract of *Tagetes minuta* possesses significant antioxidant capacity due to its chemical composition of phenolic compounds, flavonoids, and volatiles. These findings suggest that the extract could have potential applications in the food and pharmaceutical industries as a natural antioxidant agent.

Keywords: Tzinzo, aqueous extract, gas chromatography, optimization, polyphenol content, antioxidant capacity.

ÍNDICE

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
AVAL DEL TUTOR EL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	vii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	iii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	v
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	viii
AGRADECIMIENTO	ix
AGRADECIMIENTO	x
DEDICATORIA.....	xi
DEDICATORIA.....	xii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT	xiv
ÍNDICE.....	xv
INDICE DE TABLAS.....	xix
ÍNDICE DE GRAFICAS	xix
ÍNDICE DE ANEXOS	xx
1. INFORMACIÓN GENERAL	1
Título del Proyecto	1
Fecha del proyecto.....	1
Lugar de ejecución.....	1
Nombres de equipo de investigadores	1
Área de conocimiento.....	1
2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO	2
3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	3
4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	4
Beneficiarios Directos	4
Beneficiarios indirectos	5
5. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	5
6. OBJETIVOS.....	7
Objetivo General.....	7
Objetivos Específicos	7
7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS	8
8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA TÉCNICA.....	13
8.1 Antecedentes.....	13

9. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	15
9.1. El Tzinzo (<i>Tagetes minuta</i>)	15
9.1.1 Taxonómica	16
9.1.2 Distribución geográfica.	17
9.1.3 Descripción botánica	17
9.1.4 Composición Química de la planta de Tzinzo (<i>Tagetes minuta</i>).....	18
9.1.5 Principios activos del Tzinzo.....	20
9.1.6 Propiedades medicinales.....	20
9.1.7 Uso Agroindustrial del Tzinzo	21
9.2. Definición del extracto acuoso	22
9.2.1 Características del extracto acuoso.....	22
9.2.2 Extracto acuoso de Tzinzo.....	23
9.2.3 Composición del extracto acuoso de Tzinzo	23
9.3.1 Clasificación de los extractos acuosos	24
9.3 Extracción del extracto acuoso	24
9.4. Métodos de extracción para la obtención de extractos acuosos de productos aromáticos de origen vegetal.....	25
9.4.1 Decocción.	25
9.4.2 Infusión:.....	26
9.4.3 Destilación:.....	27
9.4.4 Maceración:	27
9.5 Métodos para determinar la capacidad antioxidante	28
9.5.1 Método del ABTS.....	29
9.5.2 Método de FRAP	29
9.6 Marco Conceptual.....	30
9.6.1. ABTS:.....	30
9.6.2. Alambique:	30
9.6.3. Antibacteriano:	30
9.6.4. Antiemética:	30
9.6.5. Antimicrobiana:	30
9.6.6. Antioxidante:	30
9.6.7. CMI:	30
9.6.8. Compuesto:.....	30
9.6.9. Extracción:.....	30

9.6.10. FRAP:	30
10. VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS	31
10.1. Hipótesis nula	31
10.2. Hipótesis alternativa	31
10.3. Validación de la hipótesis.....	31
11. METODOLOGÍA / DISEÑO EXPERIMENTAL	32
11.1. Tipos de investigación	32
11.1.1 Investigación cuantitativa	32
11.1.2 Investigación cualitativa	32
11.1.3 Investigación descriptiva	33
11.1.4 Investigación Documental	33
11.2. Técnicas de Investigación.....	33
11.2.1 Observación	33
11.2.2 Diseño experimental	34
11.2.3 Materiales y equipos	35
11.3. Metodología para el análisis del perfil fitoquímico.....	37
11.3.1 Ensayo de Sudan.....	37
11.3.2 Ensayo de Alcaloides.....	37
11.3.3 Ensayo de Baljet	38
11.3.4 Ensayo de Esteroides y triterpenoides libres	38
11.3.5 Ensayo de Catequinas	38
11.3.6 Ensayo de Resinas	39
11.3.7 Ensayo de Fehling	39
11.3.8 Ensayo de Espuma.....	39
11.3.9 Ensayo de Hidroxamato Férrico	39
11.3.10 Ensayo de Nihidrina	39
11.3.11 Ensayo de Shinoda.....	40
11.3.12 Ensayo de Borntrager	40
11.3.13 Ensayo de principios amargos y astringentes	40
11.3.14 Ensayo de Mucilagos.....	40
11.3.15 Ensayo de Kedde	40
11.4. Metodología de obtención del extracto acuoso de Tzinzo (<i>Tagetes minuta</i>)	41
11.4.1 Recolección	41
11.4.2 Selección.....	41

11.4.3	Desinfección	42
11.4.4	Cortado	42
11.4.5	Secado.....	43
11.4.6	Macerado	43
11.4.7	Separación y almacenamiento	44
11.4.8	Diagrama de flujo procedimiento del extracto acuoso	45
11.4.9	Caracterización del extracto acuoso de Tzinzo	46
11.5.	Caracterización de la composición del extracto acuoso de Tzinzo (<i>Tagetes minuta</i>), mediante la siguiente metodología	46
11.5.1	Cromatografía de gases con selectivo de masas.....	46
11.6.	Determinación de la capacidad antioxidante del extracto acuoso de Tzinzo (<i>Tagetes minuta</i>), mediante los siguientes métodos.....	46
11.6.1	Capacidad para reducir el hierro férrico a ferroso (FRAP)	46
11.6.2	Determinación de la capacidad antioxidante por el método de captura de cationes de radicales libres ABTS.	47
11.7.	Diseño experimental	47
11.7.1	Cuadro de Variable.....	48
11.7.2	Combinaciones para el tratamiento del diseño experimental	49
12.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	50
12.2.	Optimización del proceso de extracción	51
12.3.	Modelo codificado para el contenido de polifenoles totales	54
12.4.	Modelo capacidad antioxidante reductora de hierro	57
12.5.	Optimización numérica del proceso de extracción de la droga cruda de Tzinzo ...	60
12.6.	Efectividad antioxidante del extracto acuoso de Tzinzo	62
12.7.	Caracterización del extracto acuoso de Tzinzo	63
12.8.	Composición del extracto acuoso Tzinzo (<i>Tagetes minuta</i>) mediante cromatografía de gases con detector de masas.....	64
13.	IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIOECONÓMICOS, Y AMBIENTALES)	68
13.1.	Impactos Técnicos.....	68
13.2.	Impactos Sociales	68
13.3.	Impactos Ambientales	68
13.4.	Impactos económicos	68
14.	CONCLUSIONES.....	69
15.	RECOMENDACIONES	70

16.	PRESUPUESTO.....	72
17.	BIBLIOGRAFÍA.....	71
18.	ANEXOS.....	81

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos planteados	8
Tabla 2.	Taxonomía del Tzinzo.....	16
Tabla 3.	Composición química del a Tzinzo	18
Tabla 4.	Propiedades medicinales.....	21
Tabla 5.	Usos agroindustriales de <i>Tagetes minuta</i>	22
Tabla 6.	Composición química de las plantas aromática.....	23
Tabla 7.	Clasificación de los extractos acuosos.....	24
Tabla 8	Condiciones experimentales para el diseño de experimentos	48
Tabla 9.	Cuadro de variables	48
Tabla 10.	Combinación para el tratamiento del diseño experimental del extracto acuoso de Tzinzo.....	49
Tabla 11.	Análisis perfil fitoquímico de la planta Tzinzo (<i>Tagetes minuta</i>).....	50
Tabla 12.	Matriz experimental para la evaluación de polifenoles y capacidad antioxidante de la planta de Tzinzo.....	52
Tabla 13.	Modelos codificados del contenido de polifenoles totales	55
Tabla 14.	Capacidad antioxidante reductora del hierro	58
Tabla 15.	Optimización numérica del proceso de extracción de la droga cruda de Tzinzo ...	60
Tabla 16.	Valores predichos y experimentales	61
Tabla 17.	Efectividad antioxidante del extracto de tzinzo.....	62
Tabla 18.	Caracterización del extracto acuso de Tzinzo	63
Tabla 19.	Determinación de compuestos del extracto acuso de Tzinzo	65
Tabla 20.	Presupuesto.....	72

ÍNDICE DE GRAFICAS

Figura 1.	Planta de Tzinzo	16
Figura 2.	Tzinzo (<i>Tagetes minuta</i>)	17
Figura 3.	Tzinzo (hojas, tallos).....	18
Figura 4.	Decocción.....	26

Figura 5. Infusión	26
Figura 6. Destilación	27
Figura 7. Maceración.....	28
Figura 8. Recolección.....	41
Figura 9. Selección	42
Figura 10. Desinfección.....	42
Figura 11. Cortado.....	43
Figura 12. Secado	43
Figura 13. Maceración.....	44
Figura 14. Separación y almacenamiento	44
Figura 15. Contenido de Polifenoles	56
Figura 16. Capacidad Antioxidante Reductora de Hierro	59
Figura 17. Optimización numérica del proceso de extracción de la droga cruda de Tzinzo..	61
Figura 18. Cromatografía del extracto acuoso de Tzinzo (<i>Tagetes minuta</i>)	66

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Elaboración del extracto acuoso de Tzinzo.....	81
ANEXO 2. Informe de la composición del extracto acuoso de Tzinzo	84
ANEXO 3. Análisis del componente del extracto acuoso de Tzinzo	85
ANEXO 4. Análisis del compuesto ALPHA- THUJONE.....	86
ANEXO 5. Análisis del compuesto CIS- TAGETONA	87
ANEXO 6. Análisis del compuesto TRANS- TAGETONA	88
ANEXO 7. Análisis del compuesto TRANS- ANETOL	89
ANEXO 8. Análisis del compuesto NEOFITADIENO	90
ANEXO 9. Análisis del compuesto FITOL	91
ANEXO 10. Análisis del compuesto TIANTRENO.....	92
ANEXO 11. Análisis del compuesto Benzo (b)Nafto(2,3-d) Tiofeno.....	93
ANEXO 12. Hojas de vida.....	94
ANEXO 13. Aval del Traductor	97

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto

Caracterización del extracto acuoso de Tzinzo (*Tagetes minuta*) en función de la composición química y capacidad antioxidante.

Fecha del proyecto

Fecha de inicio: abril 2023

Fecha de finalización: agosto 2023

Lugar de ejecución

Barrio: Salache bajo

Parroquia: Eloy Alfaro

Cantón: Latacunga

Provincia: Cotopaxi

Zona: 3

Institución: Universidad Técnica de Cotopaxi

Facultad que auspicia: Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales (CAREN)

Carrera que auspicia: Carrera de Ingeniería Agroindustria

Nombres de equipo de investigadores

Tutor de titulación: Quim. Jaime Orlando Rojas Molina. Mg.

Estudiantes: Morales Chicaiza Ginger Solange y Roldán Garcés Mishell Jaqueline

Área de conocimiento

Área: Ingeniería, Industria y Construcción

Subárea: Industria y producción

Línea de investigación

Línea: Desarrollo y seguridad alimentaria

Sub líneas: Desarrollo de nuevos productos agroindustriales e ingredientes bioactivos para uso alimentario

2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

El Tzinzo (*Tagetes minuta*), comúnmente conocida como: estrelicia, huacatay, margarita o menta del monte, es una planta herbácea perteneciente a la familia Asteráceas. Es originaria de América del Sur, específicamente de regiones como Perú, Chile, Argentina y Bolivia. Es ampliamente cultivada en otros países tropicales y subtropicales debido a sus usos medicinales, ornamentales y culinarios. Es una planta de crecimiento rápido que puede alcanzar hasta 2 metros de altura, sus tallos son delgados y erectos, con hojas verdes y dentadas que desprenden un aroma distintivo a menta cuando se frota, sus flores pequeñas y amarillas agrupadas en inflorescencias, que se asemejan a las margaritas. Las flores son de forma tubular y tienen una apariencia similar a un pequeño girasol, una de las características más notables de la *Tagetes minuta* es su intenso aroma a menta o anís, este aroma es apreciado en la cocina y en la medicina tradicional de algunas regiones (De la Cruz, 2018).

El Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual (Indecopi, 2019) menciona que las plantas aromáticas son de gran importancia en los sectores industrial y biomédicos, así como en los sectores ornamentales y agrícolas. Esto se debe a que contienen compuestos bioactivos con efectos bactericidas, fungicidas, nematocidas e insecticidas.

Por esta razón se utilizó la planta de Tzinzo (*Tagetes minuta*) para realizar un extracto acuoso el cual se realizó en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales (CAREN) de la Universidad Técnica de Cotopaxi, utilizando etanol al 99,99 % para la maceración, llevándolo a la estufa Universal 30 por 24 horas a 60 °C y posteriormente con el evaporador rotativo RE-2000 B, se obtuvo el extracto, el mismo que se utilizó para realizar los análisis respectivos como: el perfil fitoquímico, polifenoles y la capacidad antioxidante. Es importante tener en cuenta que esta información se basa en referencias hasta el año 2022, por

lo que los avances o investigaciones adicionales realizadas después de esa fecha podrían no estar contemplados en esta respuesta.

3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

Desde tiempos remotos, el ser humano ha mantenido una estrecha relación con las plantas medicinales y aromáticas, como menciona Criollo (2023). Mucho antes del uso del fuego y la domesticación de animales, su sustento dependía básicamente de las plantas. Con la llegada del periodo Neolítico, el ser humano se volvió sedentario y, con ello, se desarrolló la agricultura, comenzaron a cultivar cereales y plantas como el hinojo o el cilantro como especias, y posteriormente realizaron fermentados con semillas y plantas.

Ecuador se posiciona como uno de los países reconocidos en el mundo por su riqueza y enorme biodiversidad de flora y fauna. Dentro de la flora ecuatoriana, existen aproximadamente 500 variedades de plantas medicinales y aromáticas distribuidas en diferentes regiones (Chamorro *et al.*, 2016).

Spotorno (2021), las plantas aromáticas forman un grupo de especies vegetales caracterizadas por la presencia de sustancias aromáticas, colorantes y con diferentes sabores distribuida en toda su estructura o en diversos órganos como frutos, semillas, raíces, hojas, flores o inflorescencias. En la actualidad se pueden utilizar todo tipo de plantas aromáticas en distintas industrias, como la alimentaria, cosmética, detergentes y desinfectantes, perfumería, entre otras. El Tzinzo (*Tagetes minuta*), tiene una amplia gama de beneficios debido a sus propiedades medicinales, antioxidantes, bactericidas, insecticidas y antibacterianas, se destaca por compuestos como la tetraciclinas, cefalosporinas, aminoglucósidos y macrólidos. Además, se puede utilizar en la industria alimentaria como saborizante en productos alimenticios como postres, lácteos congelados, dulces, productos horneados y gelatinas, así como en bebidas alcohólicas. Otra alternativa de uso sería como base para la síntesis química de nuevos compuestos aromáticos mediante la extracción de su esencia (Álvarez *et al.*, 2022).

El extracto acuoso de Tzinzo, se puede obtener de diferentes partes de la planta, como las hojas, las flores o las semillas, los cuales se adquiere mediante diferentes métodos como extracción con agua (extracto acuoso) o mediante solventes orgánicos para obtener extractos más concentrados, los cuales permite extraer y analizar los componentes presentes en la plantas estos pueden ser, compuestos de hidrocarburos de la serie polimetilénica, del grupo mono y sesquiterpenos, junto a otros compuestos oxigenados, tales como alcoholes, aldehídos, cetonas, ácidos, ésteres y óxidos, a su vez se puede observar compuestos volátiles como terpenos y terpenoides, fenilpropanoides y compuestos no volátiles como ácidos fenólicos, hidroxibenzoicos, hidroxicinámicos, cumarinas, flavonoides, lignanos (Labrada *et al.*, 2018).

Los extractos acuosos, son ampliamente conocidos por su versatilidad y pueden aplicarse en las industrias alimentarias y farmacéuticas para diferentes propósitos, incluida la transmisión controlada de compuestos biológicamente activos (sólidos, líquidos o gaseosos) y la estabilización de agentes antimicrobianos.

Los extractos acuosos tienen diversas aplicaciones dentro de la industria, por ello es un área con un potencial elevado en la investigación y desarrollo, se puede aprovechar de mejor manera el extracto acuoso de *Tagetes minuta*, ya que esta planta no es muy conocida y pasa desapercibida. Se ha investigado poco al respecto y no existe una industrialización del Tzinzo en Ecuador. Gracias a la investigación de este proyecto, se podrán incrementar los aportes y beneficios que este extracto podría brindar a la agroindustria.

4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Beneficiarios Directos

Los agricultores del cantón Mejía en la provincia de Pichincha son los principales beneficiarios de esta investigación. Al adquirir conocimiento sobre las propiedades de la planta *Tagetes minuta*, obtienen la capacidad de cultivarla de manera más estratégica, lo que impulsa su actividad agrícola y los coloca en una posición competitiva en el mercado. Esto se traduce en

la oportunidad de negociar precios más favorables por sus productos y de acceder a segmentos de mercado más exigentes que valoran los compuestos fitoquímicos y las propiedades antioxidantes. Este incremento en el valor comercial podría traducirse en un aumento significativo en los ingresos de los agricultores, lo que a su vez podría contribuir al crecimiento económico de la comunidad y al bienestar de las familias agrícolas del cantón Mejía.

Beneficiarios indirectos

Son alrededor de 500 estudiantes de la de la carrera de Agroindustria de la Universidad Técnica de Cotopaxi junto con distintas industrias, alimentarias, biotecnológicas y farmacéuticas, que al obtener datos confiables sobre los parámetros fitoquímicos y antioxidantes del extracto acuoso utilizando un cromatógrafo de gases ha abierto la puerta a oportunidades adicionales de investigación. Los resultados obtenidos en nuestro proyecto sirven como base sólida para futuras investigaciones que puedan explotar y expandir aún más el conocimiento en este campo, beneficiando tanto a la academia como a la industria.

5. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

A nivel mundial, se conocen aproximadamente 17.500 especies de plantas aromáticas distribuidas en 60 familias. Una de las familias más numerosas es Asteráceas, compuesta por más de 1.700 géneros y alrededor de 24.000 especies que se encuentran en todo el mundo, excepto en la Antártida. Aunque originaria de América del Sur, esta familia se ha extendido globalmente y es uno de los grupos más numerosos de angiospermas (Indecopi, 2019).

En Ecuador, se estima que existen alrededor de 500 especies de plantas medicinales conocidas, de las cuales 125 son ampliamente comercializadas, aunque esto solo representa una fracción de la riqueza total del país. La industria de productos e ingredientes naturales tiene una historia centenaria en Ecuador, especialmente en las provincias de Loja y Chimborazo, así como en la región amazónica. Sin embargo, esta industria ha experimentado un declive debido al aumento de los índices bursátiles. A mediados del siglo XX, el sector de productos e ingredientes

naturales comenzó a recuperarse cuando agricultores de diferentes partes del país buscaron valorar los productos ecuatorianos, como la manzanilla, hierbaluisa y melisa, e incursionaron en mercados no tradicionales. Estos productos se aplican en las industrias cosmética, farmacéutica y alimentaria (Estrada, 2017; Empresa Kuen, 2021).

La *Tagetes minuta* es una planta que ha sido ampliamente utilizada en la gastronomía debido a su sabor y aroma distintivos, Pico (2021), el extracto acuoso de *Tagetes minuta* puede ser obtenido mediante métodos de extracción simple como la maceración en calor, este extracto presenta compuestos funcionales y antioxidantes los cuales pueden tener distintas aplicaciones sin embargo por el desconocimiento de las propiedades del extracto, este no se ha industrializado, pese a que es una opción prometedora como aditivo natural, la industria alimentaria busca constantemente mejorar las propiedades y la calidad de los productos alimentarios con compuestos funcionales, al tiempo que cumplen con las demandas de los consumidores en cuanto a seguridad y salud. Los antioxidantes y los conservantes son componentes clave en la industria alimentaria, ya que ayudan a prevenir la oxidación y el deterioro de los alimentos, prolongando su vida útil y manteniendo su frescura y calidad.

Por lo tanto, este estudio propone aprovechar las propiedades medicinales de la planta de Tzinzo, la cual posee compuestos químicos y antioxidantes debido a los metabolitos secundarios presentes. Estos compuestos pueden prevenir o retardar el daño a las células y proteger al cuerpo humano de diversos trastornos. Por ende, se busca implementar una tecnología apropiada para la extracción del extracto acuoso de Tzinzo, así como analizar sus características mediante cromatografía de gases con detector de masas. Estos resultados podrán aplicarse en ámbitos relacionados con la inocuidad alimentaria y la salud, lo que permitirá reemplazar antioxidantes y conservantes químicos por alternativas naturales. Esto beneficiará a los consumidores del producto, a los productores de materia prima y al medio ambiente.

6. OBJETIVOS

Objetivo General

Caracterizar el extracto acuoso de Tzinzo (*Tagetes minuta*) en función de la composición química y capacidad antioxidante.

Objetivos Específicos

- Identificar compuestos bioactivos en la planta de Tzinzo (*Tagetes minuta*), mediante tamizaje Fitoquímico.
- Optimizar el proceso de extracción de compuestos bioactivos de la planta de Tzinzo en función de la composición química y capacidad antioxidante.
- Cuantificar los compuestos volátiles del extracto acuoso de Tzinzo (*Tagetes minuta*) mediante cromatografía de gases con detector de masas.
- Determinar la capacidad antioxidante del extracto acuoso de Tzinzo mediante las metodologías de FRAP y ABTS.

7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS

Tabla 1.

Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos planteados

OBJETIVOS	ACTIVIDAD	DESCRIPCIÓN	MEDIOS DE VERIFICACIÓN
Objetivo Especifico 1			
Identificar compuestos bioactivos en la planta de Tzinzo (<i>Tagetes minuta</i>), mediante tamizaje Fitoquímico.	Se realizó los análisis del perfil fitoquímico del extracto etéreo, etanólico y acuoso.	Datos obtenidos del perfil fitoquímico.	Determinación de los distintos tipos de metabolitos en los diferentes extractos, información en la Tabla 11.
Objetivo Especifico 2			
Realizar el proceso de extracción de compuestos bioactivos de la planta de Tzinzo en función de la composición química y capacidad antioxidante.	<ul style="list-style-type: none"> • Se adquirió y selecciono la materia prima. • Se limpió la planta. • Eliminación de contaminantes. • Se seleccionó solo las hojas en buen estado. • Se cortó de las hojas. • Se maceraron las hojas por 24 horas a 60 °C, con una solución de etanol y agua destilada. • Se eliminó el solvente con el evaporador rotatorio. 	Extracción del extracto acuoso de Tzinzo (<i>Tagetes minuta</i>) Mediante el método de evaporación reducida. Obtención del Extracto acuoso Tzinzo Obtención de las corridas experimentales a través del programa Design Expert 8.0.6 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, EE.UU.).	Diagrama de flujo de la extracción del extracto acuoso Tzinzo Fotografías del proceso Metodología empleada Condiciones experimentales para la extracción en la Tabla 8. Cuadro de variables en la Tabla 9. Matriz experimental diseño experimental de superficie respuesta en la Tabla 12.

Objetivo específico 3			
Cuantificar los compuestos volátiles del extracto acuoso de Tzinzo mediante cromatografía de gases con detector de masa.	Determinar los compuestos volátiles presente en el extracto acuoso mediante cromatografía de gases. Analizar e interpretar los resultados obtenidos.	Resultados de compuestos volátiles del extracto acuoso de Tzinzo, mediante cromatografía de gases acoplado a un detector espectrómetro de masa. Identificación e interpretación de los compuestos orgánicos que están presentes en el extracto.	Información en el apartado de resultados de la prueba realizada en la Tabla 19. Cromatogramas en la Figura 18.
Objetivos Especifico 4			
Determinar la capacidad antioxidante del extracto acuoso de Tzinzo mediante la metodología de FRAP y ABTS.	Se determinó la capacidad antioxidante del extracto acuoso, mediante la metodología de FRAP y ABTS. Se analizó e interpreto los resultados obtenidos.	Resultados obtenidos de la capacidad antioxidante por el método de FRAP Y ABTS. Interpretación de los resultados obtenidos.	Información en el apartado de resultados en la Tabla 17.

Nota: En la Tabla que muestra las actividades y medios de verificación que cumplió en los objetivos planteados. **Elaborado por:** Autoras (Morales & Roldán; 2023).

8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA TÉCNICA

8.1 Antecedentes

De acuerdo con Oyenihí *et al.* (2021) con su tema de investigación “Los extractos de hoja de *Tagetes minuta* desencadenaron la apoptosis en la línea celular de cáncer de mama humano MCF-7”, menciona que: en este estudio, se exploró los mecanismos subyacentes al potencial anticancerígeno de la MT (en el cáncer de mama). El estudio realizado mostró por primera vez que los extractos de hojas de *Tagetes minuta* inducen la muerte de células de cáncer de mama por apoptosis mitocondrial dependiente de caspasa. Por lo tanto, se concluye que los extractos de hexano y diclorometano de *Tagetes minuta* (hoja) pueden utilizarse como agente anticancerígeno.

Según Del Villar Martínez *et al.* (2011) los tratamientos con los extractos empleados no estimulan la proliferación de las células HeLa y se sugiere que los extractos tienen una actividad quimioprotectora, ya que inducen muerte del tipo apoptosis en bajo porcentaje.

Según Hinojosa *et al.*, (2018) menciona que los extractos naturales de las plantas mejoran algunos aspectos de los alimentos con baja calidad nutricional y capacidad antioxidante. El uso de plantas y extractos naturales en los alimentos es cada vez más popular en el consumo cotidiano ya que sus beneficios para la salud se conocen desde la antigüedad, por lo que es importante conocer su procedencia y, sobre todo, ver como incorporar estas sustancias naturales en nuestros cuerpos, donde protegen nuestras células y tejidos.

Aquije (2023) señala que los extractos son productos vegetales naturales que contienen mezclas complejas, por lo que poseen una gama de propiedades fitoquímicas y antioxidantes, que son de gran importancia en diferentes industrias alimenticias, farmacéuticas y de fragancias. La mayoría de estos compuestos se derivan de terpenoides, especialmente terpenos fenólicos, fenilpropanoides y flavonoides.

Según los autores Herrera & Sandoval (2019) indican que las especies de *Tagetes minuta* se utilizaron originalmente en la industria alimentaria como fuente de extractos acuosos de hojas, tallos y flores como agentes aromatizantes, y que sus pigmentos también tienen potencial como colorantes alimentarios naturales.

Aparco & Tadeo (2021) redactan que los extractos acuosos son compuestos volátiles naturales que se producen en grandes cantidades a partir de materiales vegetales como flores, semillas, capullos, hojas, frutos, madera, raíces, cortezas y ramas, que dan a las plantas aromáticas su sabor, olor o aroma característico.

Cordero & Pinedo (2019) explican que los extractos se pueden aplicar en varios casos, incluidas las industrias farmacéutica y de la salud (como agentes antisépticos, antibióticos, antiparasitarios y antiinflamatorios), industrias químicas, sectores alimentarios (como agentes conservantes y aromatizantes), industrias cosméticas y de perfumería (como fragancias, antibacterianos y agentes aromaterapéuticos), y también, agentes patógenos agrícolas como fitopesticidas, plagas agrícolas y bioinsecticidas y biofungicidas.

Soto & Rosales (2016) con el proyecto de investigación “Optimización de las variables de extracción de flavonoides a partir de hojas de la Guanábana (*Annona muricata L*)”, menciona que el comportamiento obtenido para las concentraciones de etanol y relaciones disolvente/material vegetal empleadas es esperado debido a que los procesos de extracción son más eficientes cuando la cantidad de disolvente es elevada.

9. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

9.1. El Tzinzo (*Tagetes minuta*)

El Tzinzo, también conocido como huacatay (*Tagetes minuta*), es una planta de la familia Asteráceas que tiene propiedades medicinales. Se utiliza tradicionalmente para tratar cólicos, diarrea, vómitos, fiebre, enfermedades de la piel y trastornos hepáticos. Además, se ha demostrado que tiene propiedades antimicrobianas contra diversos microorganismos, tanto Gram negativos como Gram positivos, incluyendo *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* y *Shigella flexneri* (Cordero & Pinedo, 2019).

En la actualidad, el huacatay es una planta ampliamente utilizada en la cocina debido a sus variedades y sabores, siendo un condimento muy popular. Esta hierba es nativa de Perú y se destaca por su aroma penetrante y distintivo, que ha perdurado desde los tiempos de los incas. En los pueblos andinos de Perú y Bolivia, es común encontrar huacatay fresco y se utiliza para sazonar, ya que su sabor único no tiene sustituto. El cultivo del huacatay se ha extendido a todas partes del mundo debido a su facilidad de siembra y cosecha. Es un cultivo de clima cálido que puede soportar altas temperaturas. Además de su valor culinario, el huacatay es considerado importante debido a su fibra, calcio, vitamina C y hierro. Sin embargo, como cualquier cultivo, el huacatay está expuesto a plagas y enfermedades. Estas se intentan controlar mediante el uso de fertilizantes químicos u orgánicos. Es importante destacar que la presencia de ciertos químicos, como el plomo, en los cultivos de huacatay puede contaminar y afectar la producción y calidad de la planta (De la Cruz, 2018).

Figura 1.*Planta de Tzinzo***Fuente:** (Morales & Roldán, 2023)**9.1.1 Taxonómica**

Las especies del género *Tagetes* son plantas herbáceas que pertenecen a la familia Asteraceae, nativas de América, en el mundo están reconocidas 17500 especies aromáticas distribuidas en 60 familias, las Asteraceae, una de las familias más numerosas, compuesta por más de 1700 géneros y unas 24000 especies distribuidas por todo el planeta (Indecopi, 2019).

Tabla 2.*Clasificación de la taxonomía del Tzinzo*

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
Subdivisión	Spermatophyta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Asterales
Genero	<i>Tagete</i>
Especie	<i>Tagetes minuta</i>

Elaborado por: (Díaz, 2019)

9.1.2 Distribución geográfica.

La familia de las Caléndulas (*Tagetes minuta*) contiene alrededor de 55 especies a nivel mundial, en nuestro país existen diversidad de la familia las cuales se distribuyen en las provincias de Cotopaxi, Chimborazo, Pichincha, Latacunga. Varias de estas especies se cultivan principalmente con fines ornamentales, ceremoniales, medicinales y para pigmentos. El género incluye especies como: *T. erecta* (Molina, 2021).

Figura 2.

Tzinzo (Tagetes minuta)



Elaborado por: Autoras (Morales & Roldán, 2023)

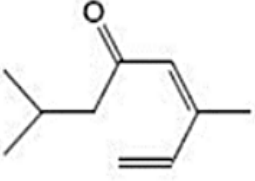
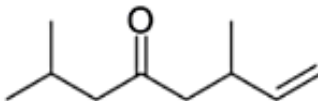
9.1.3 Descripción botánica

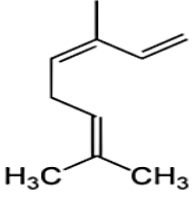
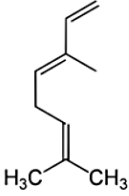
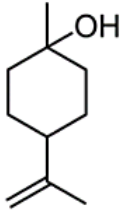
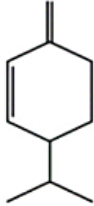
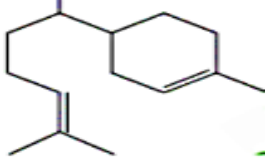
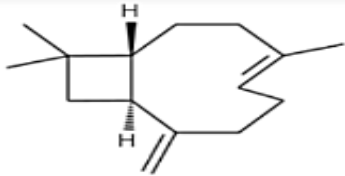
El huacatay, cuyo nombre científico es *Tagetes minuta*, pertenece a la familia de las Asteráceas es una planta herbácea, esta planta tiene un aroma agradable, es alto de 60 cm a 1 m y tiene cabezuelas pequeñas alargadas y agrupadas. Haciendo una descripción más detalla la planta tiene 0,30 a 1 metro de alto. Posee hojas lanceoladas, dentadas que miden de 1,2 a 2,5 y hasta 5 cm de largo por 0,2 hasta 0,7 mm de ancho. Sus flores liguladas (flores periféricas) de 1 a 3, amarillas, ovadas (con forma de huevo) a elípticas de 0,1 a 0,2 cm de largo. La planta se propaga por semillas. Éstas requieren luz para germinar, su temperatura óptima es de 25 °C (Ayala, 2021).

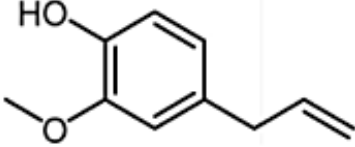
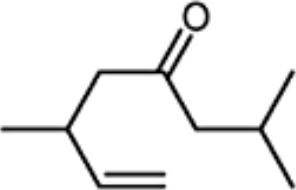
Figura 3.*Tzinzo (hojas, tallos)***Elaborado por:** Autoras (Morales & Roldán, 2023)**9.1.4 Composición Química de la planta de Tzinzo (*Tagetes minuta*)**

Entre los componentes principales de la planta de *Tagetes minuta* se incluyen hidrocarburos monoterpénicos, monoterpenos oxigenados y, en ocasiones, sesquiterpenos, entre los que se encuentran los isómeros (*Z*) y (*E*)- β -ocimeno, los isómeros de limoneno, (*Z*)- y (*E*)-ocimenona, dihidrotagetona y espatilenol, también el (*Z*)-Ocimenona y (*E*)-ocimenona (34,8 %) se han reportado como compuestos principales en ciertas especies de *Tagetes minuta* (Eras, 2019).

Tabla 3.*Composición química de la planta de Tzinzo*

Tagetona	Dihidrotagetona
 <p data-bbox="228 1742 869 1848">Es un compuesto químico que pertenece al grupo de los monoterpenos.</p>	 <p data-bbox="869 1713 1522 1848">Fomentan potencialidades fitoquímicos y antioxidantes.</p>

<p style="text-align: center;">Cis-Ocimenona</p>  <p>Principal metabolito bioactivo dentro del extracto acuoso de Tzinzo.</p>	<p style="text-align: center;">Trans-Ocimenona</p>  <p>Componte químico primordial en el extracto acuoso, líquido incoloro o amarillo claro con un aroma similar al clavo de olor y se encuentra de forma natural en ciertas plantas.</p>
<p style="text-align: center;">Terpineol</p>  <p>El terpineol genera una gran capacidad antioxidante dentro del extracto y también da olor al extracto.</p>	<p style="text-align: center;">β Felandreno</p>  <p>El β Felandreno genera una gran capacidad antioxidante dentro del extracto.</p>
<p style="text-align: center;">β Bisaboleno</p>  <p>Es el principal metabolito que genera en el extracto una gran cantidad de capacidad antioxidante.</p>	<p style="text-align: center;">β Cariofileno</p>  <p>Es el metabolito bioactivo más predominante que genera gran capacidad antioxidante.</p>

Eugenol	β ocimeno
 <p>Fomentan potencialidades antimicrobianas y antioxidantes con fines de su uso como conservantes alimentarios.</p>	 <p>Es un metabolito que le da el aroma al extracto</p>

Nota: En la Tabla muestra las estructuras de enlace lineales de los principales compuestos de la Tzinzo. **Elaborado por:** Autoras (Morales & Roldán, 2023), **Fuente:** Indecopi (2019).

9.1.5 Principios activos del Tzinzo

El Tzinzo contiene un aceite esencial compuesto por monoterpenos como β -pineno, limoneno, butirato de 2-fenilpropilo, 1-deceno, un decano, 1-dodeceno, 2-undeceno. *L. T. Máxima Kuntze*, *T. patula explosiva L.*, *T. lucida Cav.*, *T. tenuifolia*. (Contreras, 2018).

9.1.6 Propiedades medicinales

El huacatay puede ser usado como pesticida (nematicida), pero también se le atribuyen propiedades medicinales como digestivo, carminativo y antiabortivo. La infusión de sus hojas se usa para aliviar los dolores gástricos y la decocción de sus flores y hojas frescas para aliviar los catarros y bronquitis. De sus hojas se extrae un aceite esencial utilizado en perfumería y aromaterapia (Iannacone *et al.*, 2017).

Tabla 4.*Propiedades medicinales*

Actividad	Microorganismos
Antimicrobiano	Bacterias Gram-positivas: Géneros <i>Paenibacillus</i> , <i>Bacillus</i> . Bacterias Gram-negativas: Géneros <i>Echerichia</i> , <i>Pseudomonas</i> .
Antifúngico	<i>Ascospaera</i> , <i>Apis</i> , <i>Trichopylaton</i> , <i>mentagrophytes</i> , <i>Microsportum gypsum</i> , <i>Aspergillus niger</i> , especies del género <i>Penicillum</i> .
Antiviral	<i>Carnation ring spot (CaRSV)</i> , <i>Carnation vein mottle (CaVMV)</i> .
Nematicida	<i>Haemonchus contortus</i> , <i>Meloidogyne</i> .
Repelente, insecticida, ovicida, ninficida	<i>Stegomyia aegypti</i> , <i>Aedes Fluviatilis</i> , <i>Drosophila melanogaster</i> , especies de <i>Aphididae</i> .
Acción similar a ansiolíticos sedantes <i>in vivo</i>	Sistema nervioso Central de murinos

Elaborado por: Autoras (Morales & Roldán, 2023) **Fuentes:** (Indecopi, 2019)

9.1.7 Uso Agroindustrial del Tzinzo

La planta de Tzinzo presenta diferentes propiedades por su alto contenido de compuestos fenólicos y flavonoides los mismos que son utilizados dentro de la agroindustria como conservantes y condimentos.

Tabla 5.*Usos agroindustriales de Tagetes minuta*

Industria farmacéutica	• Carminativo
	• Alivia dolores de garganta
	• Antiabortivo
	• Digestivo
	• Catarros
	• Bronquitis
	• Gripe
Industria Alimentaria	• Conservante en la carne de cuy
	• Condimento (Anticucho, Guisos y Asados)
Industria Cosmética	• Aceites
	• Perfumes
	• Shampoo
	• Colonias
	• Jabones

Elaborado por: Autoras (Morales & Roldán, 2023) **Fuente:** (Iannacone *et al.*, 2017)

9.2. Definición del extracto acuoso

Se puede realizar a partir de plantas frescas, secas, semisecas o fermentadas. Consiste en la separación de sustancias y se obtienen dos componentes: el propio extracto y el residuo (el llamado bagazo). Un método utilizado es la cromatografía de gases (destilación), que produce aceites esenciales, productos grasos y extractos con una composición muy compleja (Chacón, 2021).

9.2.1 Características del extracto acuoso

Dentro de las características del extracto acuoso es que este tiene una textura liviana como el agua, pero rica en aceite, por su alto vitaminas y minerales se lo utiliza más en la cosmetología como nutriente para piel grasa, el cual permite tener una piel más redensificada, lisa, suave, luminosa y con un aspecto jugoso. La primera impresión es muy buena, al instante se notan sus efectos, la piel queda hidratada, suave y jugosa (Meyer *et al.*, 2018).

9.2.2 Extracto acuoso de Tzinzo

El extracto acuoso es un producto sólido o espeso obtenido mediante la maceración de las hojas de Tzinzo que contiene sustancias químicas naturales por lo que se lo utiliza para la elaboración de jabones, cremas, pomadas, bálsamos, perfumes, tinturas, cosméticos, champús, entre otros (Cussa, 2017).

9.2.3 Composición del extracto acuoso de Tzinzo

Los extractos procedentes de las plantas aromáticas (aceites esenciales, extractos acuosos) son una familia de compuestos orgánicos de bajo peso molecular que muestran una actividad biológica variable. Dentro de la composición química, encontramos un amplio rango de compuestos activos, los cuales se dividen en dos grandes grupos, de acuerdo con su estructura y sus propiedades químicas (Sierra, 2022).

El extracto acuso de Tzinzo contiene compuestos grasos, alcaloides, triterpenos/esteroides (Lieberman), catequinas, resinas, azúcares reductores, saponinas, compuestos fenólicos (cloruro férrico), aminoácidos libres, quinonas, flavonoides, glucósidos cardiotónicos, mucílagos.

Tabla 6.

Composición química de las plantas aromáticas

Compuestos volátiles	<ul style="list-style-type: none"> • Terpenos y terpenoides • Fenilpropanoides • Otros
Compuestos no volátiles	<ul style="list-style-type: none"> • Ácidos fenólicos • Hidroxibenzoicos • Hidroxicinámicos • Cumarinas • Flavonoides • Lignanós

Elaborado por: Autoras (Morales & Roldán, 2023) **Fuente:** (Medina, 2023)

9.3.1 Clasificación de los extractos acuosos

Los extractos acuosos se clasifican en base a sus propiedades y componentes químicos la cual se presenta a continuación:

Tabla 7.

Clasificación de los extractos acuosos

Clasificación de los extractos acuosos		
Consistencia	Esencias fluidas	Compuestos líquidos a temperatura ambiente
	Oleorresinas	Líquidos viscosos o semisólidos
	Naturales	Se obtienen directamente de la planta y no sufren cambios físicos o químicos posteriores.
Origen	Artificiales	Añadidura de otros componentes
Naturaleza química	Compuestos mayoritarios	Composición química

Fuente: (TIVBROS, 1923)

9.3 Extracción del extracto acuoso

Un extracto se refiere a una sustancia obtenida mediante la extracción de una parte de una materia prima utilizando un disolvente como etanol o agua. Por otro lado, un extracto acuoso se refiere a una sustancia líquida concentrada que contiene compuestos aromáticos y que se obtiene de las plantas a través de la destilación por arrastre de vapor de agua de las partes de la planta que contienen glándulas secretoras de esencia (Casado, 2018).

Según López *et al.* (2020) es importante tener en cuenta que la elección del método de extracción dependerá de varios factores, como las propiedades de la materia prima, los compuestos específicos que se deseen extraer y el propósito del extracto en cuestión. Cada método de extracción tiene sus ventajas y limitaciones, y es necesario seleccionar el más adecuado según las necesidades y objetivos del proceso de extracción.

9.4. Métodos de extracción para la obtención de extractos acuosos de productos aromáticos de origen vegetal

Chillagana & Veloz (2019) explica que los extractos acuosos se pueden obtener mediante diferentes métodos como, la infusión, la maceración y la destilación. Los investigadores desarrollaron un método para obtener extractos de plantas que consiste en someter la planta a una cierta cantidad de energía, también conocida como flujo, según se define en la presente invención. El término "extracto vegetal" se utiliza en su sentido habitual y se refiere a una preparación concentrada o no concentrada de consistencia líquida, semisólida o sólida obtenida extrayendo los componentes vegetales activos del material vegetal mediante métodos adecuados (Campos, 2020). Estos ingredientes activos se pueden obtener de varias partes de la planta (Folcarà *et al.*, 2016).

Un proceso de extracción es una aplicación de operaciones unitarias en el campo de la ingeniería química y bioquímica para extraer productos naturales. Consiste en efectuar un cambio en el material sólido y/o líquido para obtener la separación de un conjunto de compuestos de interés (Dellacassa *et al.*, 2015). Algunas de las técnicas utilizadas para la extracción de extractos acuosos son:

- Destilación con agua o hidrodestilación.
- Destilación por arrastre con vapor.
- Destilación con agua y vapor.
- Maceración.

9.4.1 Decocción.

La decocción implica hervir la muestra en agua durante un período de tiempo determinado. El calor acelera la extracción de los compuestos solubles en agua y ayuda a romper las células de la muestra para liberar los compuestos. Después de la ebullición, el líquido se filtra para obtener el extracto acuoso (Fernández, 2022).

Figura 4.*Decocción***Fuente:** (Fernández, 2022)**9.4.2 Infusión:**

La infusión implica la extracción de los compuestos solubles en agua de la muestra utilizando agua caliente o a temperatura ambiente. Se permite que la muestra se sumerja en el agua durante un período de tiempo determinado para permitir la liberación y disolución de los compuestos en el líquido. Luego, se filtra el líquido para obtener el extracto acuoso, el cual se utiliza para análisis posteriores y para evaluar la presencia y concentración de compuestos bioactivos, como antioxidantes, polifenoles, flavonoides u otros compuestos químicos de interés. Los extractos acuosos obtenidos mediante infusión se pueden utilizar en estudios de actividad biológica (Fernández, 2022).

Figura 5.*Infusión***Fuente:** (Zanin, 2023)

9.4.3 Destilación:

En este método, se calienta la muestra en un aparato de destilación y el vapor producido se condensa y se recoge como extracto acuoso. La destilación se utiliza a menudo cuando se desean compuestos volátiles presentes en la muestra (Campos, 2020).

Figura 6.

Destilación



Fuente: (Pranaróm, 2019)

9.4.4 Maceración:

Pineda (2019) indica que la maceración es un proceso de extracción sólido-líquido, donde la materia prima posee una serie de compuestos solubles en el líquido de extracción que se pretende extraer. La maceración se puede realizar en frío o con calor.

La maceración en frío, las materias primas se colocan en recipientes de vidrio y se añade alcohol durante un tiempo determinado para extraer los compuestos aromáticos.

La maceración en caliente es similar a la maceración en frío, pero se realiza a una temperatura más alta, lo que acelera la extracción y reduce los tiempos de maceración.

En la expresión, el material vegetal es exprimido mecánicamente para liberar el aceite, el cual es recolectado y filtrado. Este método se utiliza para el caso de la esencia de cítricos, donde se basa en la ruptura de las glándulas secretoras de aceite y en recolectar de forma inmediata la

esencia para evitar que sea absorbida por la corteza esponjosa resultante de este tipo de procesos (Dellacassa *et al.*, 2015).

Figura 7.

Maceración



Fuente: (Guzmán, 2023)

9.5 Métodos para determinar la capacidad antioxidante

En base a la investigación de Villanueva (2019) y Sánchez *et al.* (2017), existen diferentes métodos para evaluar la capacidad antioxidante de sustancias. Un antioxidante dietético se encuentra en alimentos de consumo diario y puede proteger al organismo de los efectos negativos de especies reactivas que podrían afectar las funciones fisiológicas normales en humanos. Además de analizar las interacciones químico-biológicas de las propiedades antioxidantes, es importante estudiar su papel en el deterioro oxidativo de los alimentos. Estos antioxidantes son utilizados en la industria alimentaria, donde se añaden a las grasas y otros compuestos para prevenir la oxidación.

El conocimiento de la actividad antioxidante de las plantas es de gran importancia, ya que podrían tener potencial como recursos antioxidantes para reducir el estrés oxidativo en el cuerpo. Esto podría brindar un gran apoyo en el tratamiento de enfermedades crónicas como la diabetes, la hipertensión arterial y el cáncer, ya que estos trastornos están asociados con la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno.

9.5.1 Método del ABTS

Según la investigación de Pérez *et al.* (2017), la capacidad antioxidante se refiere a la habilidad de un antioxidante para estabilizar el radical ABTS, el cual se forma como resultado de la oxidación del mismo con una enzima llamada meta mioglobina y peróxido de hidrógeno. Este método se basa en medir la reducción del radical ABTS (+) a ABTS, lo cual se evidencia por la decoloración del radical. La cuantificación de la decoloración del radical ABTS (+) se utiliza para determinar el grado de inhibición de este radical por parte de los antioxidantes. Además, este grado de decoloración se expresa como un porcentaje de inhibición del radical ABTS+ y está relacionado con la concentración del antioxidante.

9.5.2 Método de FRAP

El método FRAP (Poder Antioxidante Reductor Férrico) es una técnica ampliamente utilizada en investigaciones para evaluar la capacidad antioxidante de diferentes muestras, como extractos vegetales, alimentos, suplementos dietéticos y muestras biológicas. Este método ofrece una medida rápida y sencilla de la capacidad antioxidante relativa y se utiliza como una herramienta en estudios de actividad antioxidante y evaluaciones de calidad de productos (Giraldo *et al.*, 2022).

El método FRAP se basa en la capacidad de reducción del plasma. Fue desarrollado por Benzie y Strain, quienes lo utilizaron para evaluar la capacidad antioxidante en diversos productos nutracéuticos y fitoterapéuticos. La reducción de los radicales libres en el plasma induce cambios en la presencia o ausencia de una sustancia que, al entrar en contacto con el compuesto 2, 4, 6-tripiridiltriazina férrica (TPTZ), detecta compuestos con potenciales redox.

En resumen, el método FRAP es una técnica valiosa para medir la capacidad antioxidante al evaluar la capacidad de reducción de muestras utilizando el plasma y el compuesto TPTZ, permitiendo la detección de compuestos con propiedades redox (Guiance & Isern, 2019).

9.6 Marco Conceptual

9.6.1. ABTS: Método para evaluar la actividad antioxidante equivalente a Trolox.

9.6.2. Alambique: Aparato para destilar formado por un recipiente, donde se calienta un líquido hasta convertirlo en vapor, y un conducto refrigerado.

9.6.3. Antibacteriano: Sirve para combatir las infecciones causadas por bacterias.

9.6.4. Antiemética: Impide o evita el vómito.

9.6.5. Antimicrobiana: Impide la formación o el desarrollo de los microbios.

9.6.6. Antioxidante: Son sustancias naturales o fabricadas por el hombre que pueden prevenir o retrasar algunos tipos de daños a las células.

9.6.7. CMI: Es la concentración mínima inhibitoria que determina la concentración más baja (en $\mu\text{g/ml}$) de un antibiótico que inhibe el crecimiento de una determinada cepa bacteriana.

9.6.8. Compuesto: Sustancia elaborada con la unión química de dos o más elementos.

9.6.9. Extracción: Es la separación de un componente en el seno de una mezcla por la acción de un solvente.

9.6.10. FRAP: Reducción del hierro férrico (Fe^{+3}) presente en el reactivo de FRAP hasta la forma ferrosa (Fe^{+2}) por presencia de antioxidantes.

10. VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS

10.1. Hipótesis nula

La concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción no influye en los compuestos fitoquímicos y capacidad antioxidante que posee el extracto acuoso de Tzinzo.

10.2. Hipótesis alternativa

La concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción si influye en los compuestos fitoquímicos y capacidad antioxidante que posee el extracto acuoso de Tzinzo.

10.3. Validación de la hipótesis

En esta investigación se aceptó la hipótesis alternativa y se rechazó la hipótesis nula, lo que indica que los diferentes factores como la concentración de etanol, el tiempo y la temperatura de extracción sí influyen de manera significativa en la presencia de compuestos fitoquímicos y la capacidad antioxidante en el extracto acuoso de Tzinzo. Este resultado respalda la idea que las variables mencionadas juegan un papel importante en la composición química y las propiedades antioxidantes del extracto.

11. METODOLOGÍA / DISEÑO EXPERIMENTAL

Los tipos de investigación, técnicas y materiales empleados en las diferentes etapas experimentales, que se realizaron en el laboratorio, son detallados a continuación:

11.1. Tipos de investigación

11.1.1 Investigación cuantitativa

Pereyra (2022), esta investigación se enfoca en establecer una relación entre los elementos de estudio, delimitar el problema y determinar su dirección. El estudio emplea metodologías descriptivas, analíticas y experimentales. Según López & Sandoval (2016), el método FRAP permite evaluar los datos de manera científica o numérica utilizando la estadística.

En cuanto al enfoque de la investigación, se observa un enfoque cuantitativo debido a que se utilizaron factores numéricos se utilizaron variables como: el tiempo, temperatura y concentración de etanol al someterse a estos tratamientos, los resultados obtenidos se recogen y tabulan para un posterior análisis, se establecieron condiciones óptimas de la extracción como los valores obtenidos de las muestras, se procede a su respectivo análisis de la composición química y capacidad antioxidante.

11.1.2 Investigación cualitativa

La investigación cualitativa se enfocó en examinar la calidad de acciones, relaciones, problemas, activos, materiales o herramientas en una situación o problema específico. Su objetivo principal es realizar una descripción holística y exhaustiva de un fenómeno o actividad en particular. A diferencia de otros enfoques de investigación, como la investigación descriptiva, correlacional o experimental, la investigación cualitativa no busca establecer relaciones causales entre variables, sino que se centra en comprender las dinámicas y procesos involucrados en un problema (Pereyra, 2022).

En este estudio, se empleó la investigación cualitativa para identificaren los análisis fitoquímicos los diferentes metabolitos como triterpenos, compuestos fenólicos, flavonoides

entre otros, en la cromatografía de gases con detector de masas encontró 9 compuestos químicos presentes en el extracto acuoso los principales son *tras*-tagetona, *tras*-anetol y fitol.

11.1.3 Investigación descriptiva

La investigación descriptiva tiene como objetivo principal conocer las características y propiedades de un fenómeno específico. Utiliza análisis estadísticos para procesar los datos recolectados y puede plantear hipótesis que ayuden a caracterizar el fenómeno en estudio. Se enfoca en señalar las características clave de la población bajo análisis (Albán *et al.*, 2020).

En esta investigación, se describió el proceso optimizado de extracción del extracto acuoso de Tzinzo, se estableció las condiciones óptimas utilizando modelos matemáticos, además, se proporcionó una descripción detallada de las características y propiedades del extracto, los cuales incluyen aspecto físico, solubilidad, pH y cualquier otra información relevante del extracto acuoso en términos de su composición fitoquímica y capacidad antioxidante.

11.1.4 Investigación Documental

Según Reyes & Carmona (2020) Esta investigación se apoya en documentos de varios tipos, esta investigación usa los siguientes métodos:

- **Investigación Bibliografía:** Que se basa en la investigación y revisión de libros
- **Investigación Hemerográfica:** Que se basa en artículos o ensayos de revistas y periódicos.
- **Investigación Archivística:** Que se basa en documentos que se encuentran en los archivos, como cartas, oficios, circulares, expedientes.

11.2. Técnicas de Investigación

11.2.1 Observación

Según Galarza (2021) la observación científica implica tener un objetivo claro, definido y preciso. El investigador debe saber qué desea observar y con qué propósito, lo cual requiere una preparación cuidadosa de la observación.

En este estudio, se empleó la observación científica para analizar el proceso de extracción y recopilar los resultados obtenidos durante el proceso. Además, se realizó la recopilación de información relevante y se registraron los datos en los documentos de investigación correspondientes.

11.2.2 Diseño experimental

La investigación experimental se basa en la manipulación intencionada de la realidad o del estado natural de un objeto o fenómeno. El objetivo del investigador es controlar de manera deliberada una variable experimental y luego observar los efectos que ocurren en condiciones controladas (Galarza, 2021).

Según Piña *et al.* (2015) indica que la metodología de superficies de respuesta (RSM) por sus siglas en inglés), es un conjunto de técnicas matemáticas utilizadas para abordar problemas en los que una respuesta de interés es influenciada por múltiples factores cuantitativos. El objetivo principal de estas técnicas es diseñar un experimento que genere valores adecuados para la variable respuesta, y luego determinar el modelo matemático que mejor se ajuste a los datos obtenidos. El propósito final es establecer los valores óptimos de los factores que maximicen el valor de la variable respuesta.

En este estudio, se pudo implicar varios pasos, primero, se defino los diferentes objetivos de investigación, como fue el analizar propiedades físicas o químicas del extracto. Luego, se decido las variables dependientes (tiempo, temperatura y el Concentración de Etanol) e independientes (composición química y capacidad antioxidante), el tamaño de la muestra y cómo obtendrá el extracto. Se demostró la viabilidad de optimizar la extracción del extracto acuoso mediante la realización de 20 corridas experimentales. Además, se llevó a cabo la caracterización de 10 compuestos fitoquímicos, se determinó el contenido de polifenoles y se evaluó la capacidad antioxidante de los extractos obtenidos.

11.2.2.1 Variables analizar

11.2.2.1.1 Variables independientes:

Concentración de Etanol

Tiempo

Temperatura

11.2.2.1.2 Variable dependiente

Composición química

Capacidad antioxidante

11.2.3 Materiales y equipos

A continuación, se detallan todos los materiales de laboratorio empleados durante el desarrollo de la investigación.

11.2.3.1 Materiales de laboratorio

- Balones aforados de vidrio de 5 ml
- Balones aforados de 10 ml
- Bureta de vidrio de 1000 ml
- Gradilla
- Matraz con trampa de Clevenger
- Matraz Erlenmeyer de vidrio de 500 ml
- Pipeta volumétrica de vidrio de 10 ml
- Pinzas
- Papel filtro
- Tubos de ensayo de 10 ml
- Varilla de agitación
- Vasos de precipitación de 250 ml
- Papel aluminio

11.2.3.2 Equipos

- Balanza Analítica 0,0001 g
- Espectrofotómetro GENESYS 20 Modelo 4001/4j
- Estufa UNIVERSAL 30
- Micropipeta automática 100-1000µl Microlit
- Rotary evaporate RE-2000B

11.2.3.3 Reactivos

- Agua destilada
- Etanol 90,99 %
- Agua peptonada
- Reactivo ABTS (2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium Salt)

Técnica FRAP

- FeCl
- Acetato de sodio
- Ácido acético
- Reactivo TPTZ
- Sal de Mohr
- Ácido clorhídrico

Determinación de polifenoles

- Carbonato de sodio
- Folling
- Ácido gálico
- Etanol 99.8 %

- Agua destilada

11.2.3.4 Materia prima

- Planta de Tzinzo

11.3. Metodología para el análisis del perfil fitoquímico.

Flores (2019) indica que el extracto acuoso de *Tagetes minuta*, también conocida como "huacatay" o "estragón de montaña", puede contener una variedad de compuestos fitoquímicos debido a su naturaleza soluble en agua.

11.3.1 Ensayo de Sudan

El ensayo utilizando Sudán III permite identificar la existencia de compuestos grasos en una muestra. Para llevar a cabo este proceso, se añadió 1 ml de una solución diluida en agua del colorante Sudán III a una porción del extracto presente en un solvente de extracción. Posteriormente, se aplicó calor mediante un baño de agua hasta que el solvente se evaporó por completo. Se consideró que había presencia de compuestos grasos cuando se apreciaban gotas o una capa de color rojo en el líquido. Se estableció un resultado positivo si surgían gotas o una película roja tanto en el líquido como en las paredes internas del tubo de ensayo (Castro *et al.*, 2011).

11.3.2 Ensayo de Alcaloides

La mayoría de los alcaloides, con excepción de los alcaloides de amonio cuaternario y N-óxidos de amina, son solubles en solventes orgánicos poco polares, como cloroformo y mezclas de éste, pero pueden formar sales solubles en agua en presencia de ácidos minerales diluidos, como el ácido clorhídrico al 5% en agua. Esta propiedad ácido-base se aprovechó para su purificación a partir de extractos totales. Luego de este paso inicial se realizaron pruebas de precipitación en medio ácido, utilizando para ello sales de metales pesados como el ioduro de potasio (reactivo de Dragendorff), el ioduro de potasio y mercurio (reactivo de Mayer) y la sal de Reineckato de amonio, entre otros (Carvajal *et al.*, 2009).

11.3.3 Ensayo de Baljet

El Ensayo de Baljet se utiliza para identificar la existencia de compuestos que contienen grupos lactónicos, específicamente coumarinas, aunque otros compuestos con lactonas también pueden dar una respuesta positiva en este ensayo. Para realizarlo, si la muestra del extracto no está en alcohol, es necesario evaporar el solvente en un baño de agua y luego volver a disolverla en la menor cantidad posible de alcohol (1 ml). Bajo estas condiciones, se añade 1 ml del reactivo, y se observa si hay un cambio en la coloración (Castro *et al.*, 2011).

11.3.4 Ensayo de Esteroides y triterpenoides libres

Para analizar esteroides y triterpenoides libres en plantas, se emplea comúnmente la prueba de Liebermann-Burchard. Antes de realizar esta prueba, se ejecuta un proceso de separación inicial. Se obtiene un extracto en éter de petróleo a partir del extracto etanólico seco. El extracto éter se somete a una extracción adicional usando una mezcla de metanol y agua en proporción 9:1. Luego, se recupera la capa superior y se somete a cromatografía en capa delgada utilizando gel de sílice F254 como fase estacionaria y una mezcla de hexano y acetato de etilo (95:5) como fase móvil. La cromatografía se seca y posteriormente se rocía con el reactivo de Liebermann-Burchard (una solución etanólica de anhídrido acético en presencia de ácido sulfúrico). A continuación, se calienta a 110°C durante 5 a 10 minutos. Se considera que el resultado es positivo si se observan manchas en tonos de rojo, azul o verde bajo estas condiciones (Carvajal *et al.*, 2009).

11.3.5 Ensayo de Catequinas

Para el ensayo de catequinas. Se tomó una gota del extracto metanólico con ayuda del capilar en un papel de filtro. Sobre la mancha, se aplicó carbonato de sodio y se colocó bajo la luz UV. Una evidencia positiva es la aparición de una mancha verde carmelita (Juárez, 2018).

11.3.6 Ensayo de Resinas

Para detectar este tipo de compuesto, adicione a 2 mL de la solución alcohólica, 10 mL de agua destilada. La aparición de un precipitado, indica un ensayo positivo (Quevedo, 2022).

11.3.7 Ensayo de Fehling

Se puede detectar la presencia de azúcares reductores en un extracto. Si la muestra no está en agua, se debe evaporar el solvente en un baño de agua y luego disolver el residuo en 1-2 ml de agua. Luego, se añaden 2 ml de un reactivo recién preparado y se calienta en un baño de agua durante 5-10 minutos. Se considera que el ensayo es positivo si la solución se torna de color rojo (Castro, 2011).

11.3.8 Ensayo de Espuma

Se utiliza para reconocer la existencia de saponinas, tanto del tipo esterooidal como triterpénicas. Si la muestra se encuentra en etanol, se diluye en 5 veces su volumen en agua y se agita vigorosamente durante 5-10 minutos. El ensayo se considera positivo si se observa una espuma en la superficie del líquido con un grosor o altura superior a 2 mm, y esta espuma persiste por más de 2 minutos (Castro *et al.*, 2011).

11.3.9 Ensayo de Hidroxamato Férrico

Se procede a colocar una gota del extracto en la placa, a la cual se agrega una gota de clorhidrato de hidroxilamina disuelto en etanol al 10 %. Posteriormente, se añaden algunas gotas de hidróxido de potasio al 10 % en etanol y se calienta la mezcla en una llama hasta que aparezcan burbujas. Luego, se añade una gota de ácido clorhídrico 0,5 mol/L y otra gota de cloruro férrico al 1 %. Si el color resultante es violeta, se considera que el resultado es positivo (Juárez, 2018).

11.3.10 Ensayo de Nihidrina

Se utiliza para detectar la presencia de aminoácidos libres o aminas en general en una muestra. Se toma una porción del extracto en alcohol, o el residuo tras la concentración en un baño de agua si el extracto está en otro solvente orgánico. Esta muestra se mezcla con 2 ml de una

solución de ninhidrina al 2 %. La mezcla se calienta durante 10 minutos en un baño de agua. Se considera que el ensayo es positivo si se observa un color violáceo (Quevedo, 2022).

11.3.11 Ensayo de Shinoda

Se aplica para detectar la presencia de cumarinas, que son derivados lactónicos del ácido ortohidroxicinámico. Estas sustancias están presentes en diferentes partes de las plantas y exhiben fluorescencia bajo luz ultravioleta, generalmente en tonos azules. Este método es simple y se utiliza para localizar cumarinas en extractos vegetales. Las cumarinas son fotosensibles y pueden cambiar de manera rápida debido a la exposición a la luz. El ensayo se considera positivo si el alcohol amílico se colorea de naranja (Juárez, 2018).

11.3.12 Ensayo de Borntrager

Se evaporó el extracto alcohólico a baño maría, en 1 mL de cloroformo se disolvió el residuo, luego se agregó 1 mL de hidróxido de sodio al 5 % en agua, se agitó y se dejó reposar hasta la separación. Si tiene una pigmentación rosada o roja (+++) en la fase acuosa superior es positivo (Quevedo, 2022).

11.3.13 Ensayo de principios amargos y astringentes

El ensayo se realiza saboreando 1 gota del extracto acuoso o del vegetal y reconociendo el sabor de cada uno de estos principios, bien diferenciados al paladar (Illescas & Lovato, 2020).

11.3.14 Ensayo de Mucilagos

Permite reconocer la presencia de polisacáridos. Para ello se toma una pequeña parte del extracto, se enfría en agua de 0 °C a 5°C y si la solución toma consistencia gelatinosa el ensayo es positivo (Juárez, 2018).

11.3.15 Ensayo de Kedde

Se emplea para identificar la presencia de glicósidos cardiotónicos en un extracto. Se toma una porción del extracto en etanol y se mezcla con 1 ml del reactivo. Luego, se permite que la mezcla repose durante 5-10 minutos. El ensayo se considera positivo si se desarrolla una

coloración violácea que persiste durante 1-2 horas. Las soluciones utilizadas en este ensayo se preparan por separado y se mezcla la misma cantidad en volumen de cada una de ellas justo en el momento de llevar a cabo el ensayo. Esta mezcla es la que se añade a la porción del extracto que se está evaluando (Illescas y Lovato, 2020).

11.4. Metodología de obtención del extracto acuoso de Tzinzo (*Tagetes minuta*)

11.4.1 Recolección

El Tzinzo se recolectó en la provincia de Pichincha en el cantón Mejía en la parroquia de Alóag, coordenadas “0°30'53.8"S 78°34'17.2"W-0.514930, -78.571437”, con la ayuda de una tijera de podar desinfectada, se cortó a una altura de 10 cm desde el suelo los tallos de mejores condiciones y se eliminó las partes de la planta que no fueron necesarias (malezas). Se evitó el contacto con la tierra para minimizar la carga microbiana del material vegetal cosechado, se transportó en sacos secos y limpios como se observa en la figura 8.

Figura 8.

Recolección



Fuente: (Morales y Roldán, 2023)

11.4.2 Selección

Mediante una inspección visual se identificó las partes de plantas no deseadas (manchas, resquebrajadura, hongos, parásitos, etc.) y la evaluación de ciertas características de la materia prima (*Tagetes minuta*), como su apariencia, daños, tamaño, color, olor y el sabor, como se observa en la figura 9.

Figura 9.*Selección*

Fuente: (Morales y Roldán, 2023)

11.4.3 Desinfección

Se colocó en tinas para su lavado con agua potable y para la desinfección química una solución de hipoclorito de sodio al 0,1 %; al finalizar se enjuago con abundante agua destilada y se escurrió las plantas, como se observa en la figura 10.

Figura 10.*Desinfección*

Fuente: (Morales & Roldán, 2023)

11.4.4 Cortado

Se separó las hojas de Tzinzo, las cuales con ayuda de una tijera se fueron cortando en un pedazo de 1 cm, como se observa en la figura 11.

Figura 11.*Cortado***Fuente:** (Morales & Roldán, 2023)

11.4.5 Secado

Se llevó a desecar en la estufa por 24 horas a 60 °C, para la obtención de la droga cruda, como se observa en la figura 12.

Figura 12.*Secado***Fuente:** (Morales & Roldán, 2023)

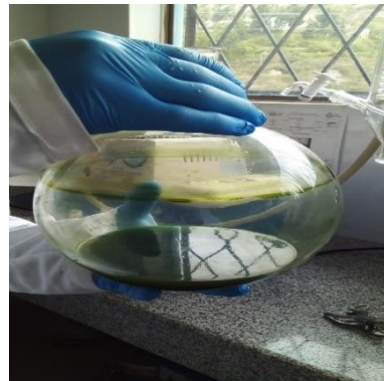
11.4.6 Macerado

El extracto acuoso del Tzinzo se obtuvo mediante maceración con Etanol al 99.90 %, y con agua destilada en una reacción de 75 % y 25 % respectivamente la cual se procederá a dejar 24 horas, como se observa en la figura 13.

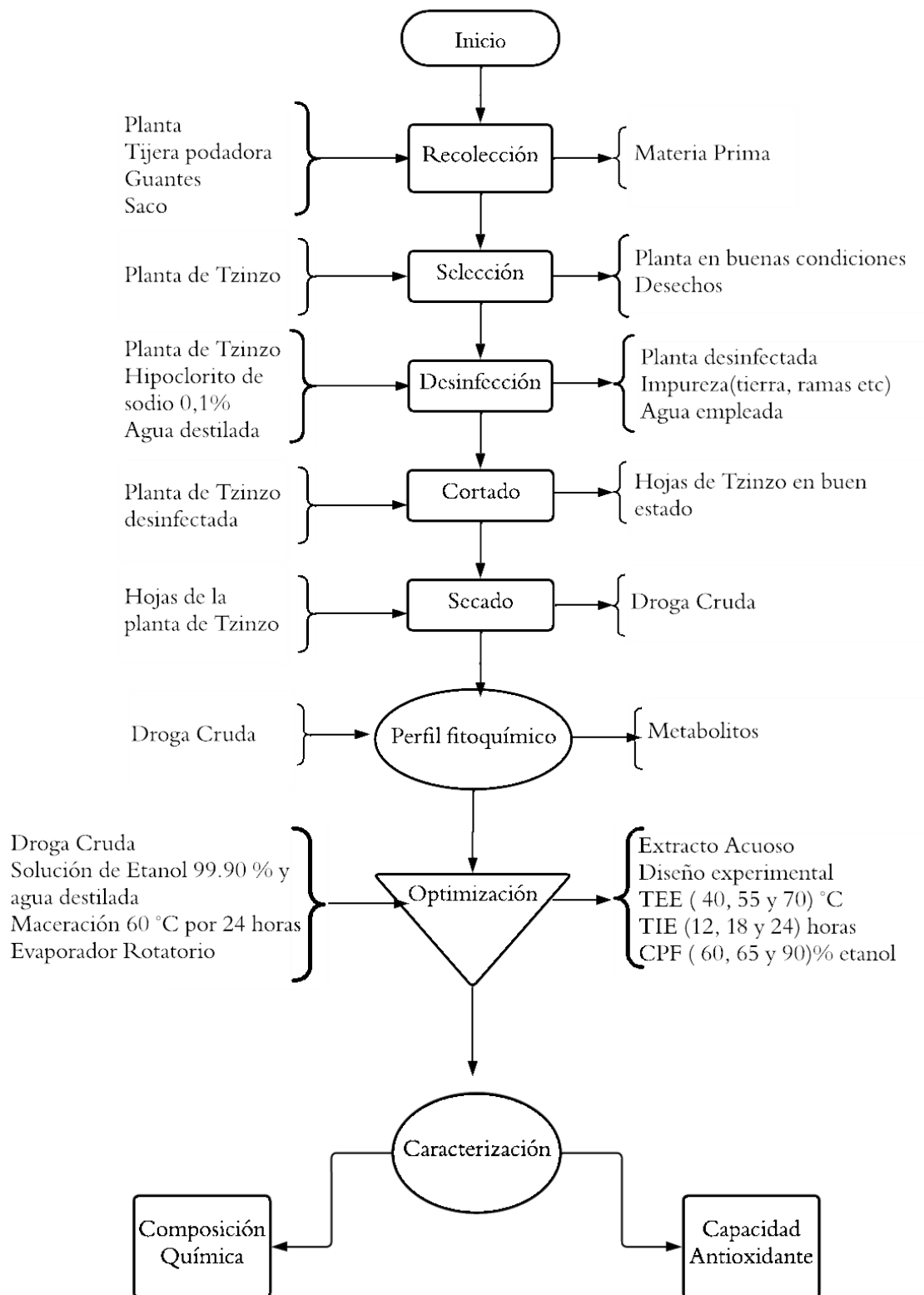
Figura 13.*Maceración***Fuente:** (Morales & Roldán, 2023)

11.4.7 Separación y almacenamiento

La separación se realizó mediante el Rotary Evaporate RE- 2000B el cual con la ayuda de vapor ira quitando los solventes y solo quedara la parte del extracto acuoso, se observa en la figura 14.

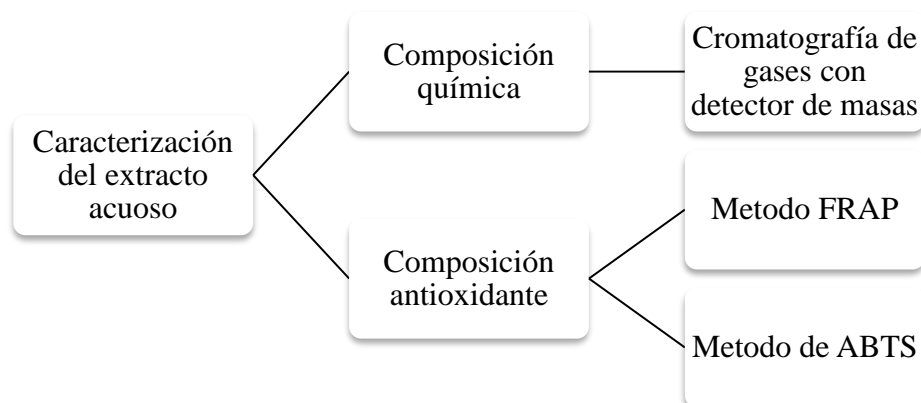
Figura 14.*Separación y almacenamiento***Fuente:** (Morales & Roldán, 2023)

11.4.8 Diagrama de flujo procedimiento del extracto acuoso



Elaborado por: Autoras (Morales & Roldan, 2023)

11.4.9 Caracterización del extracto acuoso de Tzinzo



Elaborado por: Autoras (Morales & Roldan, 2023)

11.5. Caracterización de la composición del extracto acuoso de Tzinzo (*Tagetes minuta*), mediante la siguiente metodología

11.5.1 Cromatografía de gases con selectivo de masas

En el análisis del Tzinzo, se utilizó una técnica llamada cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), empleando un espectrómetro de masas Agilent Technologies 5975 inert XL MSD con detector de triple eje. Durante el análisis, la temperatura del inyector se mantuvo a 250 °C. Los parámetros y condiciones aplicados en la espectrometría de masas fueron los siguientes: se utilizó una fuente de iones de impacto electrónico (EI) con una temperatura de 230 °C, se aplicó una energía electrónica de 70 eV, la temperatura de la interfaz se mantuvo a 250 °C, se utilizó un rango de escaneo masivo de 30–400 u y se empleó el modo de exploración completa (Melo *et al.*, 2020).

11.6. Determinación de la capacidad antioxidante del extracto acuoso de Tzinzo (*Tagetes minuta*), mediante los siguientes métodos.

11.6.1 Capacidad para reducir el hierro férrico a ferroso (FRAP)

El ensayo de antioxidantes reductores férricos (FRAP) se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita en el presente estudio. Para preparar el reactivo, se mezclaron 10 mmol/L de reactivo TPTZ (2, 4,6-tri (2-piridil)-s-triazina) con 20 mmol/L de cloruro férrico en tampón acetato a un

pH de 3,6. Los resultados cuantitativos se calcularon utilizando una curva estándar de sulfato ferroso como estándar externo en un rango de concentración de 0,02 a 1,5 $\mu\text{mol/mL}$. Antes del análisis, el extracto de propóleo se diluyó 200 veces y se mezclaron 20 μL del extracto con 200 μL del complejo férrico. Los resultados se calcularon y expresaron como micromoles de Fe^{2+} por gramo de propóleo. La absorbancia se leyó a una longitud de onda de 593 nm utilizando un espectrofotómetro y se realizaron tres mediciones por muestra (Svečnjak *et al.*, 2020).

11.6.2 Determinación de la capacidad antioxidante por el método de captura de cationes de radicales libres ABTS.

Se utilizó trolox como estándar antioxidante, y los resultados se expresaron en términos de la capacidad antioxidante equivalente de trolox (TEAC, por sus siglas en inglés), que representa la capacidad antioxidante total del compuesto comparado con trolox. La solución catiónica radical se preparó mediante la reacción de ABTS 3,5 [mM] con persulfato potásico 140 [mM]. Para permitir la completa reacción y estabilización del radical, la solución de ABTS se mantuvo protegida de la luz a temperatura ambiente durante un período de 16 horas. La solución de ABTS se diluyó en etanol hasta obtener una absorbancia de 0,7 (0,05) a 734 nm. Se realizó una curva de calibración estándar de trolox utilizando concentraciones de 100, 250, 500 y 1000 μM . Para la construcción de la curva de calibración de la capacidad antioxidante del extracto, se utilizaron concentraciones de 1000, 2000, 4000, 6000, 8000 y 10000 $\mu\text{g/mL}$. En un ambiente oscuro, se transfirió una alícuota de 30 μL de cada solución estándar a tubos de ensayo, y luego se agregaron 3,0 mL de la solución de ABTS radical. Después de 6 minutos de reacción, se midió la absorbancia a 734 nm (Cunza & Roca, 2020).

11.7. Diseño experimental

Para el tratamiento estadístico, experimental y procesamiento de la información, se empleó en el programa Design Expert 8.0.6 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, EE.UU.) para el diseño experimental se utilizó el modelo de optimización numérica mediante el diseño de superficie

respuesta IV Óptimo, el cual genera una ecuación matemática que evidencia la tendencia de las condiciones del proceso. Para determinar las condiciones óptimas de proceso, en el equipo de laboratorio se evalúan los factores: Concentración de Etanol (CPF), tiempo de extracción (TIE) y temperatura de extracción (TEE), y como variable respuesta se evalúa la composición química y la capacidad antioxidante.

Tabla 8.

Condiciones experimentales para el diseño de experimentos

Factor	Nomenclatura	UM	Tipo	Subtipo	Mínimo	Máximo
Concentración de Etanol	CPF	% m/v	Numérico	Discreta	60	90
Tiempo	TIE	H	Numérico	Discreta	12	24
Temperatura	TEE	°C	Numérico	Discreta	40	70

Nota: Distribución de factores para el diseño experimental **Elaborado por:** (Morales & Roldán 2023).

11.7.1 Cuadro de Variable

La Tabla 9 presenta las variables que se utilizaron en la investigación de extracto acuoso de Tzinzo (*Tagetes minuta*), se describen las variables a evaluar y sus indicadores.

Tabla 9.

Cuadro de variables

Variable dependiente	Variable independiente	Indicadores	Dimensiones
Extracto Acuoso de Tzinzo (<i>Tagetes minuta</i>)	Concentración de Etanol	<ul style="list-style-type: none"> Extracción del extracto acuoso Caracterización del extracto acuoso de Tzinzo en función de la composición química y capacidad antioxidante 	Contenido de Polifenoles
	Tiempo		Composición Química
	Temperatura		Capacidad Antioxidante

Elaborado por: (Morales & Roldán 2023)

11.7.2 Combinaciones para el tratamiento del diseño experimental

En la Tabla 10 presenta combinación para el tratamiento del diseño experimental del extracto acuoso de Tzinzo, mediante el programa Design Expert 8.0.6, utilizando el diseño de superficie respuestas IV Óptimo y las condiciones experimentales, se establecieron 20 corridas donde se evaluó diferentes factores de estudio el tiempo (12h, 18h y 24h), temperatura (70 °C, 55 °C y 40 °C) y concentración de etanol (90 %, 75 %,60 %) m/m que son presentadas a continuación:

Tabla 10.

Combinación para el tratamiento del diseño experimental del extracto acuoso de Tzinzo.

Corrida	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Concentración etanol (%) m/m
1	70	12	75
2	55	18	90
3	55	12	60
4	55	12	75
5	55	24	60
6	55	12	60
7	70	12	90
8	70	24	90
9	70	18	90
10	70	12	90
11	40	18	60
12	40	12	90
13	40	12	60
14	40	12	90
15	55	12	75
16	55	12	75
17	40	18	75
18	55	18	90
19	70	18	60
20	40	24	90

Elaborado por: (Morales & Roldán 2023)

12. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

12.1 Análisis del perfil fitoquímico

La Tabla 11 presenta análisis del perfil fitoquímico de la droga cruda del Tzinzo (*Tagetes minuta*) la cual fue sometida a pruebas químicas para la detección de los componentes bioactivos, los cuales se presenta a continuación:

Tabla 11.

Análisis perfil fitoquímico de la planta Tzinzo (Tagetes minuta)

Metabolito	Ensayo	Extracto etéreo	Extracto etanólico	Extracto acuoso
Compuestos grasos	Sudán	++		
Alcaloides	Dragendorff	-	-	+
Agrupamiento lactónico	Baljet	++	-	
Triterpenos / esteroides	Lieberman. B	+++	-	
Catequinas	Catequinas		+/-	
Resinas	Resinas		-	
Azúcares reductores	Fehling		-	-
Saponinas	Espuma		+	-
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico (III)		+++	+++
Aminoácidos libres / aminos	Ninhidrina		-	
Quinonas / benzoquinonas	Bontranger		++	
Flavonoides	Shinoda		+++	+++
Glucósidos cardiotónicos	Kedde		-	
Mucílagos	Mucílagos			+
Principios amargos	Principios amargos			+

+: Presencia +/: Regular -: Ausencia

Nota: Los análisis fitoquímicos fueron realizados en el laboratorios de la Universidad Técnica de Cotopaxi, **Elaborado por :** (Morales & Roldán, 2023).

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede observar la presencia de metabolitos secundarios en la droga cruda del Tzinzo (*Tagetes minuta*). En el extracto etéreo se identificó

la presencia de compuestos grasos, agrupamiento lactónico y triterpenos. En el extracto etanólico se encontraron catequinas, saponinas, compuestos fenólicos, quinonas o benzoquinonas, y flavonoides. Por último, en el extracto acuoso se detectaron alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides, mucílagos y principios.

En cuanto a la *Tagetes filifolia* Lag, un estudio mostro un perfil fitoquímico que reveló un alto fenoles en el extracto en alcohol etílico y en el extracto en agua destilada, con ausencia en el extracto etéreo. Se encontró un contenido moderado de quinonas en el extracto en alcohol etílico, con ausencia en el extracto etéreo y en el extracto en agua destilada. No se encontraron esteroides, triterpenos ni alcaloides en ninguno de los tres extractos (Sánchez *et al.*, 2017).

Otro estudio del perfil fitoquímico del Tzinzo identificó la presencia de terpenos, especialmente monoterpenos, así como flavonas, flavonoides, taninos catéquicos y en menor medida, esteroides, sesquiterpenolactonas y compuestos fenólicos. No se encontraron saponinas, naftoquinonas, antraquinonas ni taninos pirogálicos (Uvidia, 2013).

En cuanto a la *Tagetes erecta* L., se ha reportado la presencia de flavonoides, terpenoides, taninos, saponinas, glucósidos cardiotónicos y cumarinas en sus extractos. Las proporciones de estos metabolitos pueden variar debido a factores como la época del año, el secado y la variedad o genotipo de la planta (Camacho *et al.*, 2019).

12.2. Optimización del proceso de extracción

La Tabla 12 presenta la matriz experimental con los datos conseguidos a través del modelo de superficie respuesta, utilizada para evaluar el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de la planta de Tzinzo (*Tagetes minuta*), se utilizó una experimentación de 20 corridas experimentales, considerando factores de estudio como la concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción.

Tabla 12.

Matriz experimental para la evaluación del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de la planta de Tzinzo

Corrida	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Concentración etanol (%) m/m	Contenido de polifenoles (mg/g)	Actividad antioxidante ($\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g muestra}$)
1	70	12	75	250,32	798,23
2	55	18	90	275,45	801,23
3	55	12	60	201,23	651,65
4	55	12	75	245,34	701,23
5	55	24	60	235,34	691,45
6	55	12	60	212,23	641,76
7	70	12	90	270,23	780,12
8	70	24	90	324,23	834,34
9	70	18	90	301,45	820,34
10	70	12	90	272,78	789,01
11	40	18	60	134,45	450,01
12	40	12	90	136,34	601,23
13	40	12	60	113,65	456,21
14	40	12	90	133,45	502,34
15	55	12	75	243,24	712,23
16	55	12	75	244,23	687,87
17	40	18	75	162,98	475,67
18	55	18	90	273,12	788,34
19	70	18	60	280,12	810,23
20	40	24	90	193,12	630,87

Nota: Tabla de datos generados por el Software Design Expert 8.0.6 con datos experimentales,

Elaborado por: (Roldán & Morales, 2023).

Se visualiza que en la corrida numero 8 existe un mayor contenido de polifenoles de 324,23 mg/g, la misma que fue ejecutada en una temperatura de 70 °C durante 24 horas y con una concentración del etanol al 90 % m/m. Fernández (2022) indica que el contenido de polifenoles totales para la *Ambrosia peruviana all* (Altamisa), perteneciente a la familia de las Asteraceae al igual que la *Tagetes minuta*. presenta un contenido de polifenoles totales dependiendo el tipo

de extracción realizada, para el extracto exhaustiva (metanólico al 80 %) presenta un contenido de polifenoles totales de 13,20 (0,28) (mg de catequina eq./g de muestra seca), para el extracto por infusión obtuvo valores de 20,76 (0,26) (mg de catequina eq./g de muestra seca) y para el extracto por decocción obtuvo un contenido de polifenoles de 25,04 (0,60) (mg de catequina eq./g de muestra seca) cabe recalcar que todos estos extractos se realizaron solo con las hojas de *Ambrosia peruviana all* (Altamisa). Para la capacidad antioxidante en el extracto metanólico, infusión y decocción de las hojas de *Ambrosia peruviana All* (Altamisa) es equivalente a una concentración de 57,18 (0,55); 89,00 (2,37) y 89,92 (4,99), expresado en mM Trolox eq/1 g muestra seca respectivamente.

Criollo (2015) en los estudios realizados, obtuvo en la curva de calibración dicho valor oscila entre los 10,163 $\mu\text{g/g}$ de contenido de polifenoles, utilizando altamisa (*Ambrosia artemisiifolia*) perteneciente a la familia Asteraceae.

La capacidad antioxidante de 834,34 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$, la misma que fue ejecutada en una temperatura de 70 °C durante 24 horas y con una concentración del etanol al 90 % m/m. En una investigación realizada con las hojas de ajeno (*Artemisia annua L*) se obtuvo 99,06 ($\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g}$ muestra) de capacidad antioxidante (Guillen, 2015).

Por tanto, los valores obtenidos muestran que la familia de las Asteraceae presenta contenido de polifenoles y capacidad antioxidantes, sin embargo, la *Tagetes Minuta*, presenta un valor elevado en cuanto a contenido de polifenoles y capacidad antioxidante.

Los polifenoles son un grupo diverso de compuestos químicos que se encuentran en plantas y alimentos de origen vegetal. Estos compuestos tienen múltiples anillos fenólicos en su estructura y se dividen en varias clases, como flavonoides, taninos, ácidos fenólicos y lignanos.

Los polifenoles son conocidos por sus propiedades antioxidantes, que juegan un papel crucial en su capacidad para proteger las células y tejidos del daño causado por los radicales libres y el estrés oxidativo.

Los polifenoles actúan como antioxidantes al neutralizar los radicales libres al donar electrones sin convertirse ellos mismos en radicales libres. Esto ayuda a prevenir la reacción en cadena de oxidación y el daño celular resultante. Es importante tener en cuenta que los efectos antioxidantes de los polifenoles pueden variar según su estructura química y concentración, así como la interacción con otros compuestos (Casado, 2018).

12.3. Modelo codificado para el contenido de polifenoles totales

En la Tabla 13 se describe el modelo codificado del contenido de polifenoles el mismo que se adapta a un modelo matemático lineal significativo, y a su vez indica que la relación entre tiempo, temperatura y concentración de etanol para la extracción los cuales son determinantes para el estudio. El análisis de varianza indica que el valor de F es significativo (95,77 %), fue superior a la tabla de Fisher por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, se concluye que el modelo y los factores de estudio si influyen en el contenido de polifenoles totales.

El coeficiente de regresión R^2 expresa que el modelo ajustado es de 97.82 % de variabilidad del contenido de polifenoles totales, con un 95 % de nivel de confianza, por lo cual se acepta el modelo matemático. El R^2 ajustado no sube cuando los términos no significativos son agregados al modelo matemático, mientras que el R^2 predicho decrece cuando existen muchos términos no significativos.

El modelo indica que existe una conexión importante entre las variables dependientes del modelo codificado, el contenido de polifenoles aumento con mayor tiempo y temperatura de extracción por lo cual estos dos factores tienen mayor influencia en la extracción alcanzando un valor máximo en una temperatura de 70 °C en un tiempo de 24 horas. Conforme a los resultados visibles en la tabla 13, la relación entre la temperatura y el tiempo de extracción (TEE y TIE) es significativa ($p \leq 0,01$). La variabilidad de los coeficientes de la concentración

de etanol, temperatura y tiempo de extracción estarán relacionados directamente en la determinación del contenido de polifenoles.

Tabla 13

Modelos codificados del contenido de polifenoles totales

Indicador	Polifenoles totales (mg/g)
Intercepto	213,62
X _{TEE}	64,34*
X _{TIE}	26,80*
X _{CPF}	10,03*
X _{TEE} X _{TIE}	0,85
X _{TEE} X _{CPF}	-0,82
X _{TIE} X _{CPF}	3,15
X _{TEE} ²	-36,07*
X _{TIE} ²	-2,75*
X _{CPF} ²	-12,47*
R ²	0,9885
R ² ajustado	0,9782
R ² predicho	0,8135
F modelo	95,77*
F falta de ajuste	15,55
Precisión adecuada	33,235

CPF: concentración de etanol

TIE: tiempo de extracción

TEE: temperatura de extracción

*Valor significativo para $p \leq 0,01$.

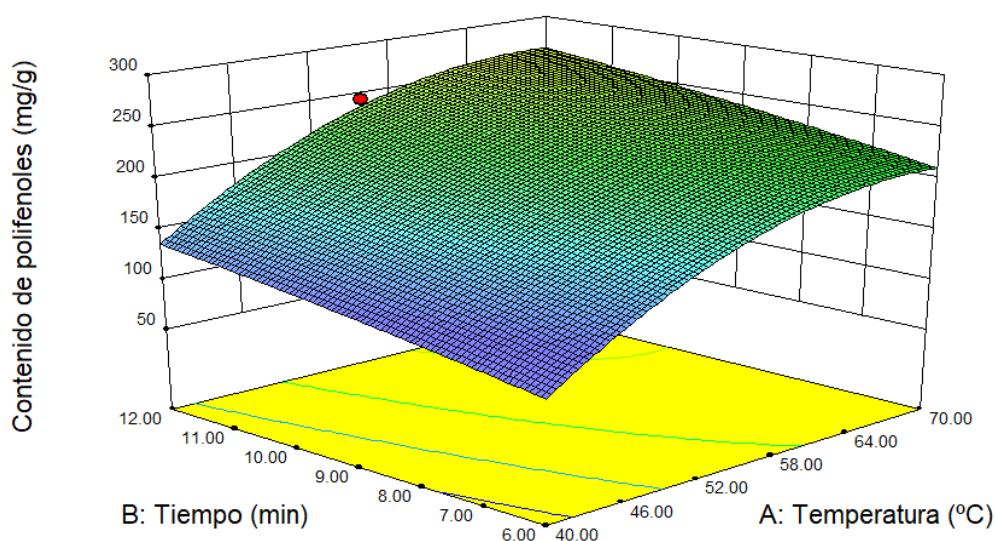
Nota: Tabla de datos generados por el Software Design Expert 8.0.6 con datos experimentales,

Elaborado por: (Roldán & Morales, 2023).

En la Figura 15 se muestra el modelo codificado del contenido de polifenoles, en la cual se puede apreciar la interacción sobre los factores tiempo de extracción (TIE) y la temperatura de extracción (TEE) sobre el contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso, notándose que el contenido incrementa cuando la relación de la temperatura y el tiempo de extracción aumentan, esto indica que estos factores son directamente proporcionales al contenido de polifenoles totales.

Figura 15.

Contenido de Polifenoles



Nota: Tabla de datos generados por el Software Design Expert 8.0.6 con datos experimentales,

Elaborado por: (Roldán & Morales, 2023).

Tello *et al.* (2020) en la investigación realiza, del extracto acuoso de *Taraxacum officinale* (diente de león) la cual pertenece a la familia de las asteráceas, presenta un contenido de polifenoles totales de 62,08 mg/g de extracto seco.

Badami *et al.* (2018) menciona que en los estudios realizados para la planta suncho dulce (*Tessaria dodoneifolia*) de Santiago del Estero pertenecientes a la familia de las asteráceas, presenta para la extracción por reflujo, extracción por maceración y extracción por fluido supercrítico, presentan un contenido de polifenoles de 36,40 (0,87); 32,93 (0,37) y 27,07 (1,09) respectivamente expresados en mg EAG/g de MS.

Según los autores Muñoz & Tueros (2019) menciona que utilizando manzanilla (*Matricaria chamomilla L.*) obtuvo valores entre 69,28 y 66,72 mg/g de polifenoles. Mientras que Hernández, (2018) indica que utilizando ajeno obtuvo valores entre 7,32 – 121,19 mg/g los cuales presentan una semejanza con los valores obtenidos en nuestros resultados considerando

que la manzanilla y el ajeno pertenecen a la misma familia y sus características son similares al Tzinzo (*Tagetes minuta*).

Los polifenoles (PFT) presentes en las plantas constituyen un grupo de metabolitos secundarios considerados antioxidantes naturales con múltiples beneficios biológicos para el ser humano. Sailema (2019) indica una relación con el tipo de técnica de extracción utilizada muestran que los métodos convencionales (reflujo y maceración) presentan contenidos similares, siendo los obtenidos por reflujo levemente superiores, en el caso de la investigación la *Tagetes minuta*, presenta mayor contenido de polifenoles a diferencia de las otras plantas.

12.4. Modelo capacidad antioxidante reductora de hierro

En la Tabla 14 indica el modelo capacidad antioxidante reductora de hierro, donde se observa una diferencia significativa para el modelo lineal para la expresión matemática donde se muestra que la relación de temperatura, tiempo y concentración de etanol son determinantes para el estudio. El análisis de varianza indica que el valor de F de la tabla de Fisher es mayor por lo tanto el modelo es significativo (41,12 % mg/m), por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, en la cual se afirma que los diferentes factores de estudio si influyen en el proceso de extracción del extracto acuoso de Tzinzo en función a la capacidad antioxidante. El coeficiente de regresión R^2 expresa que el modelo ajustado es de 95 % variabilidad de la capacidad antioxidante, con un 95 % de nivel de confianza, por lo cual se acepta el modelo matemático. El R^2 ajustado no sube cuando los términos no significativos son agregados al modelo matemático, mientras que el R^2 predicho decrece cuando existen muchos términos no significativos.

El modelo indica que hay una conexión importante entre las variables dependientes del modelo codificado, la capacidad antioxidante aumento con mayor tiempo y temperatura de extracción por lo cual estos dos factores tienen mayor influencia en la extracción alcanzando un valor máximo en una temperatura de 70 °C en un tiempo de 24 horas. Conforme a los resultados

visibles en la tabla 14, la relación entre la temperatura y el tiempo de extracción (TEE y TIE) es significativa ($p \leq 0,01$). La variabilidad de los coeficientes de la concentración de etanol, temperatura y tiempo de extracción estarán relacionados directamente en la capacidad antioxidante.

Tabla 14.

Capacidad antioxidante reductora del hierro

Indicador	Capacidad antioxidante reductor del hierro ($\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g}$ muestra)
Intercepto	767,70*
X_{TEE}	74,02*
X_{TIE}	55,72*
X_{CPF}	28,80*
$X_{\text{TEE}} X_{\text{TIE}}$	4,93
$X_{\text{TEE}} X_{\text{CPF}}$	2,50
$X_{\text{TIE}} X_{\text{CPF}}$	1,13
X_{TEE}^2	-39,38*
X_{TIE}^2	-7,97*
X_{CPF}^2	-10,73
R^2	0,9737
R^2 ajustado	0,9500
R^2 predicho	0,6696
F modelo	41,12*
F falta de ajuste	9,06
Precisión adecuada	20,983

CPF: concentración de etanol

TIE: tiempo de extracción

TEE: temperatura de extracción

*Valor significativo para $p \leq 0,01$

Nota: Tabla de datos generados por el Software Design Expert 8.0.6 con datos experimentales,

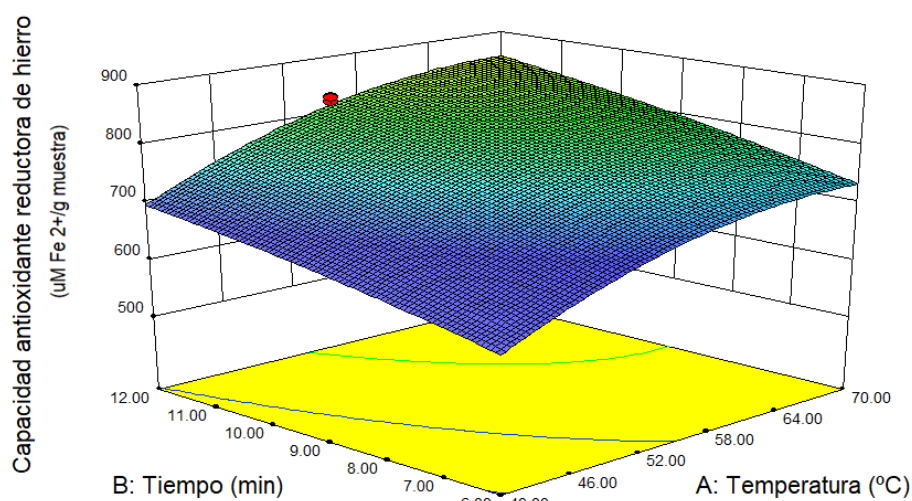
Elaborado por: (Roldán & Morales, 2023).

En la Figura 16 se muestra el modelo codificado de la capacidad antioxidante, en la cual se puede apreciar la interacción sobre los factores tiempo de extracción (TIE) y la temperatura de extracción (TEE) sobre capacidad antioxidante en el extracto acuoso, notándose que el

contenido incrementa cuando la relación de la temperatura y el tiempo de extracción aumentan, esto indica que estos factores son directamente proporcionales al contenido de la capacidad antioxidante.

Figura 16.

Capacidad Antioxidante Reductora de Hierro



Nota: Tabla de datos generados por el Software Design Expert 8.0.6 con datos experimentales,

Elaborado por: (Roldán & Morales, 2023).

En otra investigación realizada con ajeno (*Artemisia absinthium*), los valores se encontraron entre 115,7-763,9 mg Fe⁺²/100 g. (Hernández, 2018).

Por otro lado Díaz & Guamán (2022), halló la capacidad antioxidante del extracto de los capítulos de anís de monte (*Tagetes filifolia*) a una concentración de 100, 50 y 5 µg/ml; encontrándose en el extracto en alcohol etílico o etanólico a 100 µg/ml mayor capacidad antioxidante (91,26 %).

Boncun *et al.* (2013) indica que el extracto hidroetanólico y acuoso de las hojas de *CynarascolymusL.* (Alcachofa), siendo estos 49,9 % y 25,3 % para el extracto hidroetanólico y acuoso respectivamente. Asimismo se observa que la cantidad de DPPH capturado por el extracto hidroetanólico es mucho mayor que el extracto acuoso; siendo

estos 15,8 $\mu\text{g/mL}$ y 8,2 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente, evidenciándose que el extracto hidroetanólico presenta un mayor porcentaje de captura del radical DPPH.

12.5. Optimización numérica del proceso de extracción de la droga cruda de Tzinzo

La tabla 15 indica la optimización numérica del proceso de extracción de la droga cruda de Tzinzo, para el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante reductor hierro, presentes en la droga cruda de Tzinzo se optimizó numéricamente la extracción bajo condiciones de concentración de etanol, tiempo y temperatura, con la finalidad de superar los datos arrojados por el programa en la concentración de metabolitos donde se selecciona un dato anhelado con una temperatura de 69,39 °C, tiempo de 12 horas y unas concentración de etanol de 87,34 % m/v obteniendo un contenido de polifenoles 268,76 mg/m y una capacidad antioxidante de 870,17 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$, donde el índice fue 0,756; la deseabilidad obtenida se acerca al valor de uno esto nos indica que el proceso nos presenta las características de calidad deseable para la extracción.

Tabla 15.

Optimización numérica del proceso de extracción de la droga cruda de Tzinzo

Numero	Temperatura °C	Tiempo H	Concentración etanol (%) m/m	Contenido de Polifenoles	Capacidad antioxidante reductora de hierro	Deseabilidad
1	<u>69.39</u>	<u>12.00</u>	<u>87.34</u>	<u>268.76</u>	<u>870.168</u>	<u>0.756</u>

Nota: Tabla de datos generados por el Software Design Expert 8.0.6 con datos experimentales,

Elaborado por: (Roldán & Morales, 2023).

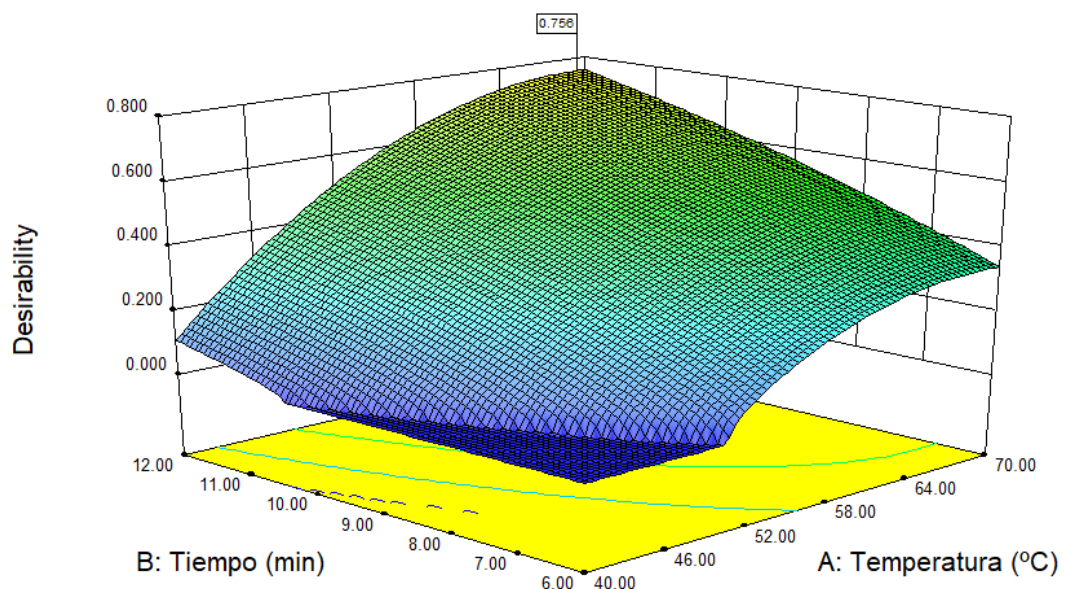
En la Tabla 16 se demuestran los valores predichos por el programa Design Expert y los valores obtenidos en la experimentación, como resultado los valores experimentales los cuales son; el contenido de polifenoles totales 268,76 mg/g y poder antioxidante reductor del hierro 870,168 $\mu\text{molFe}^{2+}/\text{g}$, estos valores demuestran ser superiores a los predichos por el programa.

Tabla 16.*Valores óptimos predichos y experimentales*

Parámetro	Valor predicho	Valor experimental
Contenido de polifenoles (mg/g)	268,76	270,70
Capacidad antioxidante ($\mu\text{molFe}^{2+}/\text{g}$)	870,168	872,154

Elaborado por: (Roldán & Morales, 2023)

La Figura 17 se indica la superficie respuesta de la optimización numérica del proceso de extracción de la droga cruda de Tzinzo donde el modelo matemático propuesto presenta un buen ajuste sabiendo que se obtuvo para un Tiempo de extracción (TIE) 12 horas y una Temperatura de extracción (TEE) de 69,39 °C una predicción de deseabilidad de 0,756 cercana a uno que es el valor ideal.

Figura 17.*Optimización numérica del proceso de extracción de la droga cruda de Tzinzo***Nota:** Tabla de datos generados por el Software Design Expert 8.0.6 con datos experimentales,**Elaborado por:** (Roldán & Morales, 2023).

12.6. Efectividad antioxidante del extracto acuoso de Tzinzo

En la tabla 17 se muestra efectividad antioxidante del extracto de Tzinzo, para evaluar la capacidad antioxidante presente en el extracto acuoso, se realizó los ensayos de ABTS 765,20 (6,45) $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ y FRAP 567,34 (6,34) mg ácido gálico/g, cuyos resultados se exponen en la tabla.

Tabla 17.

Efectividad antioxidante del extracto de Tzinzo

ABTS ² IC ₅₀ ⁴ (mg/ml)	FRAP ³		Contenido de polifenoles totales mg ácido gálico/g
	Concentración (mg/ml)	$\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$	
0,34 (0,02)	4	765,20 (6,45)	567,34(6,34)
	2	434,12 (10,10)	
	1	245,45 (8,12)	

¹ efectividad antioxidante expresada en IC₅₀

² ABTS: ensayo de decoloración de cationes radicales

³ FRAP: capacidad para reducir el hierro férrico a ferroso.

⁴ IC₅₀: compuesto antioxidante total necesario para disminuir el radical ABTS inicial a concentración en un 50%

Nota: Tabla de datos generados por el Software Design Expert 8.0.6 con datos experimentales,

Elaborado por: (Roldán & Morales, 2023).

Los resultados de IC₅₀ de FRAP y ABTS, obteniéndose en la concentración 4 765,20 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$, en la concentración 2 434,12 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ y en la concentración 1 245,45 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ respectivamente, los resultados obtenidos son altos en comparación a otros extractos, lo que indica que existe una buena capacidad antioxidante.

Según Llimpe *et al.* (2021) determinan que los resultados de FRAP y ABTS se obtuvo una capacidad antioxidante máxima de 41,06 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ y una capacidad antioxidante mínima de 21,02 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ por lo que representa que tiene una baja actividad antioxidante.

En un estudio realizado por (Soto *et al.*, 2018) usando clavel de moro (*Tagetes patula L.*) obtuvo un valor de 153,48 mg AG/g de EMH (extracto metanólico en hojas), considerando que

pertenece a la misma familia de las asteráceas se puede observar una no pequeña diferencia en cuanto al contenido de polifenoles, dentro de la investigación realizada por (Velázquez *et al.*, 2012) utilizando manzanilla obtuvo un valor de 1,37 $\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g}$ (FRAP) y 0,60 $\mu\text{mol eq. Tx/mL}$ (ABTS), siendo considerablemente mayor la cantidad obtenida del Tzinzo (*Tagetes minuta*) para ambos casos. Por otro lado, en el mismo estudio se recomienda que el ensayo FRAP requiere de un pH ácido, mientras que el ensayo de ABTS se realiza a un pH cercano al neutro. Al incrementarse el pH del medio, los grupos ionizables donan radicales hidrógenos y permiten la transferencia de electrones más fácilmente.

Actualmente, la actividad antioxidante ha sido ampliamente utilizada como parámetro para describir los efectos de una determinada molécula. Dicha actividad está asociada a compuestos capaces de proteger sistemas biológicos contra los efectos nocivos causados por el exceso formación de especies reactivas de oxígeno (Vieyra, 2023).

12.7. Caracterización del extracto acuoso de Tzinzo

En la tabla 18 indica la caracterización del extracto acuoso de Tzinzo, los análisis fisicoquímicos realizados del extracto optimizado muestran los siguientes parámetros presentados a continuación.

Tabla 18.

Caracterización del extracto acuoso de Tzinzo

PARÁMETROS	UNIDAD	MEDIDA
Potencial De Hidrógeno	-	5,22
Humedad	%m/m	95,01
Acidez Ácido Sulfúrico	%m/m ácido sulfúrico	0,31

Elaborado por: (Morales & Roldán, 2023)

En los resultados se puede apreciar los parámetros evaluados al extracto acuoso de Tzinzo, en las características fisicoquímicas la cual arroja un potencial de hidrogeno 5,22; Roca *et al.*, (2019) el cual indica que el estudio en la *Tagetes erecta Lin.* el extracto acuoso posee un pH

entre 5,5 a 6,9 dependiendo de la parte de la planta usada para elaborar el extracto, a su vez el extracto acuoso de Tzinzo posee una humedad de 95,01 % m/m, una acidez 0,31 % m/m ácido sulfúrico, y 834,34 $\mu\text{molFe}^{2+}/\text{g}$ del antioxidante reductor de hierro, según Velásquez (2017), indica que el análisis de la actividad antioxidante del extracto de *Tagetes multiflora Kunth* utilizando el método de DPPH, se observaron resultados para el IC_{50} y el TEAC. El IC_{50} del extracto etanólico fue de 60,93 (0,40) $\mu\text{g}/\text{mL}$, mientras que el IC_{50} del extracto acuoso fue de 40,42 (0,24) $\mu\text{g}/\text{mL}$. En cuanto al TEAC, el extracto etanólico mostró un valor de 55,94 (0,47) μg equivalente de trolox/ mL , mientras que el extracto acuoso mostró un valor de 83,53 (0,50) μg equivalente de trolox/ mL , dado que un IC_{50} más bajo indica una mayor capacidad antioxidante, se concluye que el extracto acuoso presenta una mayor capacidad antioxidante que el extracto etanólico. Es importante destacar que la extracción de compuestos antioxidantes y el contenido de polifenoles, está influenciada por diversos factores, como el tipo de disolvente, la naturaleza y preparación del material a extraer, la estructura química de los compuestos fenólicos, la temperatura, el tiempo de extracción, la relación sólido-líquido, el método de extracción utilizado y la posible presencia de sustancias interferentes.

12.8. Composición del extracto acuoso Tzinzo (*Tagetes minuta*) mediante cromatografía de gases con detector de masas.

En la tabla 19 se indica la determinación de los compuestos del extracto acuoso de Tzinzo reportado, donde se expone una composición química compleja, marcada por compuestos químicos orgánicos presentes en el extracto acuoso, se han cuantificado 9 compuestos volátiles que representan el 100 % de la composición del extracto como compuestos volátiles mayoritarios la *trans*-tagetona (36,44 % p/v), *trans*-anetol (17,50 % p/v) y el fitol (19,49 % p/v). Los dos componentes químicos corresponden al grupo fenólico

Tabla 19.

Determinación de los compuestos del extracto acuoso de Tzinzo

Compuesto	Unidad	Códigos de muestras extracto de Tzinzo	Tiempo de retención
Alfa –Tujeno	% p/v	2,88	22,511
Cis – Tagetona	% p/v	3,15	25,237
<i>Trans</i> – Tagetona	% p/v	36,44	26,971
<i>Trans</i> – Anetol	% p/v	17,50	35,349
<i>Trans</i> – Cariofileno	% p/v	1,03	37,864
Neofitadieno	% p/v	8,59	51,454
Fitol	% p/v	19,49	65,607
Tiantreno	% p/v	2,18	65,324
Benzo(b) Nafto(2,3-d) Tiofeno	% p/v	8,73	77,375
Total, compuestos en el extracto ensayado	% p/v	100,00	%p/v

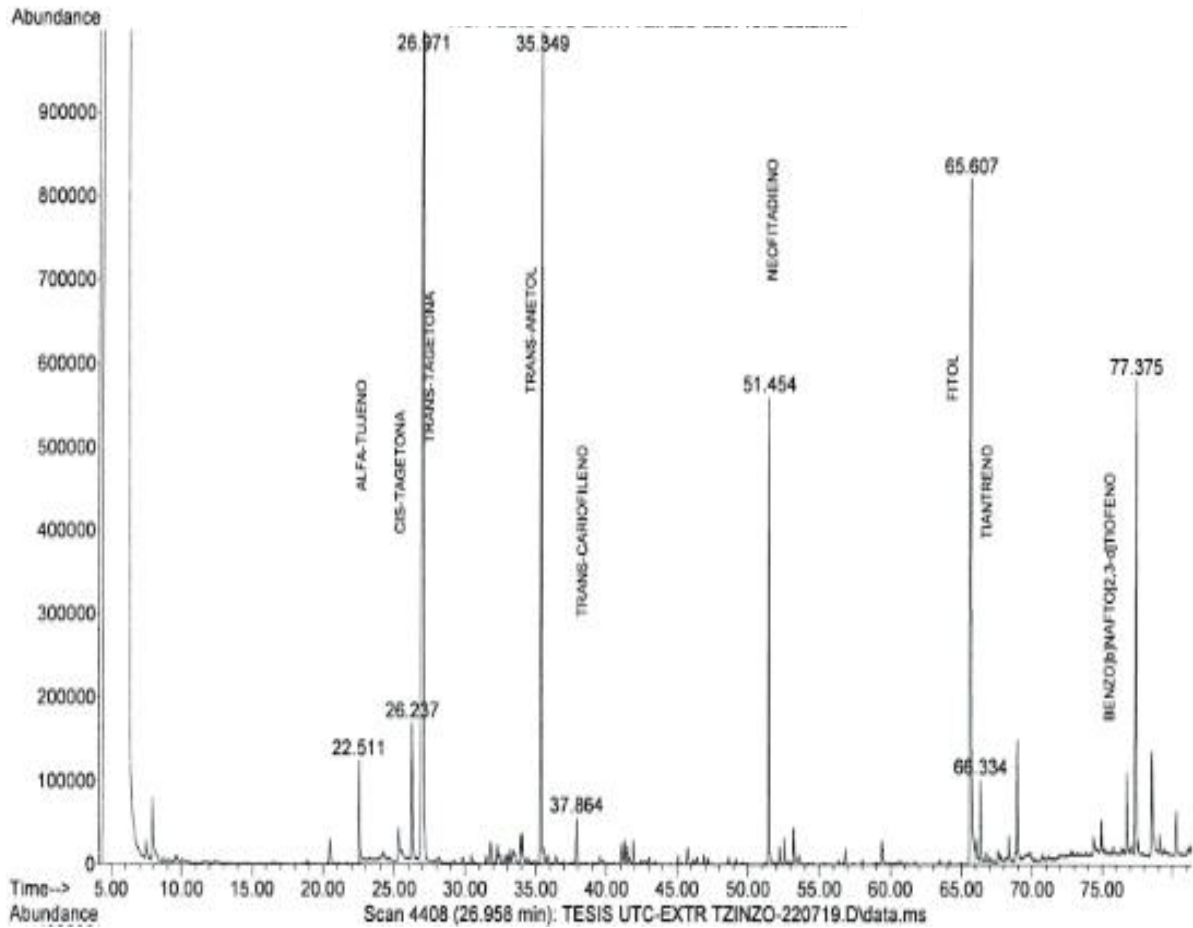
Nota: Recopilación de la composición química del extracto acuoso de Tzinzo (*Tagetes minuta*)

emitido por el laboratorio Cientific Crom.

La composición del extracto acuoso difiere a lo reportado por otros autores; Llimpe *et al.*, (2021) menciona que la *trans*- tagetona tiene un porcentaje del (25,94 %), el *trans*- Anetol (18,56) y los autores Rueda *et al.*, (2018) mencionan que el fitol tiene un (19,98 %), Estudios de extractos acuosos en plantas de la misma especie y región geográfica, muestran variaciones en su composición química debido al estrés, la altura o la estación del año. Este hecho permite agrupar los extractos acuosos según la presencia de varios compuestos clave en su composición como resultado de variaciones genéticas. Además, la composición de los extractos puede depender de otras variables como: la técnica de extracción, procesamiento o almacenamiento del material vegetal y las condiciones de crecimiento geobotánica.

Figura 18.

Cromatograma del extracto acuoso de Tzinzo (Tagetes minuta)



Nota: Se evidencia en la figura el cromatograma de los compuestos orgánicos de la composición química del extracto acuoso de Tzinzo (*Tagetes minuta*) emitido por el laboratorio Cientific Crom.

En la figura 18 se observa la cromatografía de extracto acuoso de Tzinzo, en la cual representa la relación entre el tiempo de retención (min) y la abundancia de los compuestos. La abundancia de los compuestos está dada por la altura y el área del pico, al ser mayor su altura y superficie, el número de iones que produce es mayor, es decir, mayores superficies corresponden a compuestos con mayor número, donde se exhibe una composición de 9 compuestos químicos orgánicos presentes en el extracto, donde los compuestos mayoritarios fueron, la *trans*-tagetona

en un 26,971 % p/p, *trans*-anetol 35,349 % p/p y el fitol 65,607 % p/p, cada pico corresponde a una sustancia en particular, debido a su tiempo de retención definido.

Las presencias de los compuestos químicos mencionados anteriormente dan la característica al Tzinzo, donde la capacidad antioxidante que presentan los resultados, corrobora la mencionada actividad, además de otorgarle el olor característico y el uso culinario como especia, y en el caso de una industria podría implementarse como un aditivo natural.

Según Soto *et al.* (2018) menciona que el cromatograma de hojas y flores de *Tagetes patula L.* Los mayores componentes fueron seis, en orden ascendente: Indane 5,47 %, D-limoneno 5,76 %, Z-ocimeno 5,98 %, terpinoleno 6,73 %, Bervenona 19,98 % y la piperitona con 40,4 %, representando estos seis 84,02 %.

13. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIOECONÓMICOS, Y AMBIENTALES)

13.1. Impactos Técnicos

Ecuador posee una amplia diversidad de plantas, de las cuales se desconoce sus propiedades benéficas, por lo que esta investigación aplicó los conocimientos técnicos de la química y estadística, para definir las condiciones óptimas de la extracción del Extracto acuoso de Tzinzo, además estudió las características químicas y capacidad antioxidante del extracto acuoso, generando posibles alternativas de aplicación en los alimentos.

13.2. Impactos Sociales

El Ecuador es un país netamente agropecuario, por lo que la utilización del Tzinzo como materia prima para la producción de extracto acuoso, generaría nuevos cultivos no tradicionales en la producción primaria, generando fuentes de empleo en los sectores rurales involucrados.

13.3. Impactos Ambientales

El impacto ambiental es mínimo, debido a que la producción del extracto acuoso no genera desechos tóxicos que puedan ocasionar daños al ambiente, además que la producción de esta nueva variedad no genera afectación en la flora endémica de la naturaleza.

13.4. Impactos económicos

El proyecto tiene un impacto económico visible debido a que con la obtención del extracto acuoso de Tzinzo de las mejores corridas se obtuvo un contenido de polifenoles 324,23 y una capacidad antioxidante de 834,34 con un tiempo de 24 horas, el cual es viable en su producción, apoyando a la generación de subproductos a partir del mismo dentro de las diferentes industrias por sus principios activos.

14. CONCLUSIONES

- En la droga cruda de la planta de Tzinzo se identificó la presencia de compuestos fitoquímicos, evidenciando que los extractos de Tzinzo contienen metabolitos secundarios, mostrando en el extracto etéreo compuestos grasos, agrupamiento lactónico y triterpenos, en el extracto etanólico agrupamiento la catequinas, saponinas y quinonas / benzoquinonas, compuestos fenólicos y flavonoides y en el extracto acuoso alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides, mucilagos y principios amargos.
- Se optimizó el proceso de extracción de compuestos bioactivos del extracto acuoso de Tzinzo, mediante un modelo matemático de superficie respuesta, donde se establecieron las mejores condiciones, una temperatura de extracción de 69,39 °C, un tiempo de extracción de 12 horas y una concentración de etanol del 87,34 % m/m, mediante una comparación de los valores experimentales de polifenoles totales (267,70 mg/g) y actividad antioxidante (868,154 $\mu\text{molFe}^{2+}/\text{g}$), con los valores obtenidos en los predichos de la optimización de polifenoles totales (268,76 mg/g) y actividad antioxidante (870,168 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$). Los valores obtenidos por medio de la experimentación resultaron superiores a los valores de la optimización numérica.
- Los compuestos volátiles del extracto acuoso de Tzinzo fueron determinados mediante una cromatografía de gases con la sensibilidad y capacidad selectiva del detector de masas, encontrando 9 compuestos, de los cuales se identificó la composición del extracto como compuestos volátiles mayoritarios la *trans*-tagetona (36,44 % p/v), *trans*-anetol (17,50 % p/v) y el fitol (19,49 % p/v). Los dos componentes químicos corresponden al grupo fenólico. En el área de la tecnología de alimentos, el estudio y análisis de compuestos orgánicos volátiles han tomado gran relevancia, ya que dan a conocer la composición y determinan la calidad. La *tagetona*, anetol y el fitol son compuestos naturales que se encuentran en diversas plantas, en la industria alimentaria,

se utilizan como antioxidantes debido a sus propiedades para prevenir la oxidación de los alimentos, lo que ayuda a mantener su frescura y calidad. Estos compuestos pueden extender la vida útil de productos alimenticios al protegerlos de los efectos negativos de la oxidación.

- El extracto acuoso presenta una capacidad antioxidante de 870,168 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ además se evaluó la capacidad antioxidante a través de las técnicas de FRAP y ABTS 765,20 $\mu\text{molFe}^{2+}/\text{g}$ y 0,34 (0,02) $\mu\text{mol ET}/\text{g}$ respectivamente, el ABTS tiene una actividad antioxidante baja y el FRAP tiene una actividad antioxidante alta, eso indica que el extracto acuoso de Tzinzo tiene una capacidad significativamente mayor para reducir los radicales libres y combatir el estrés oxidativo según la prueba FRAP, en comparación con la prueba ABTS. En otras palabras, el FRAP muestra que el compuesto tiene una mayor capacidad para neutralizar los radicales libres y proteger contra el daño oxidativo en comparación con la capacidad demostrada por el ABTS.

15. RECOMENDACIONES

- Realizar la extracción por separado (tallos y hojas) para observar en qué parte de la planta de Tzinzo (*Tagetes minuta*) existe una mayor concentración de polifenoles y capacidad antioxidante.
- Determinar la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles del extracto acuoso de Tzinzo en diferentes edades fenológicas.
- La selección y el tratamiento de la materia prima es esencial antes de la extracción, ya que, en el proceso de maceración puede arrastrar impurezas dando como resultado un extracto sucio.
- Envasar el extracto en frascos ámbar, sellarlos bien y almacenar a una temperatura de 2 a 8 °C o en lugares frescos, secos, oscuros y protegidos del calor para evitar perder

sus compuestos bioactivos; mucho calor puede ocasionar que se evapore más rápido el AE.

- Evitar la exposición frecuente y prolongada del extracto acuoso con el aire para no alterar su consistencia, olor y propiedades.
- Se recomienda realizar investigaciones sobre la aplicación del extracto acuoso de Tzinzo (*Tagetes minuta*) en la industria alimentaria, se recomienda utilizarlo en la tecnología de micro encapsulado, para prolongar la vida útil de la carne y productos cárnicos, como estabilizante del color y vida útil en pulpa de frutas y como recubrimiento comestible en frutas y hortalizas.

16. PRESUPUESTO

Tabla 20

Presupuesto

Recursos	Cantidad	Uso H.	Valor. U	Valor
Equipos				
Cromatografía de gases	1,00	5,00	100,00	500,00
Separación por Evaporador Rotatorio	1,00	5,00	10,00	50,00
Estufa	1,00	120,00	0,0934	11,21
Balanza analítica	1,00	4,00	5,00	20,00
Micro pipeta automática	1,00	4,00	2,00	8,00
TOTAL				589,21
Materiales y suministros				
Tubos de ensayo 10 ml	10,00	U	0,25	2,50
Balones aforados vidrio 5 ml	5,00	U	5,00	25,00
Matraz con trampa de clewenger	5,00	U	3,00	15,00
Pipeta volumétrica de vidrio 10 ml	5,00	U	3,00	15,00
Varilla de agitación	1,00	U	5,00	5,00
Vasos de precipitación (250mL)	5,00	U	3,00	15,00
Cajas Petri	15,00	U	3,00	45,00
Pinzas	1,00	U	5,00	5,00
Matraz de Erlenmeyer 100ml	10,00	U	2,20	22,00
Matraz Erlenmeyer 250 ml de vidrio	12,00	U	2,98	35,76
Papel filtro	1,00	U	5,00	5,00
Gradillas	3,00	U	10,00	30,00

Reactivos				220,26
Agua Destilada	10,00	U	1,00	10,00
Agua peptonada	50,00	U	1,00	25,00
Etanol	12,00	L	10,00	120,00
Material Bibliográfico y fotocopias				155,00
INSUMOS	Cantidad	Unidades/horas	V.U	V.T
Esferos	8,00	U	0,50	4,00
Impresiones	960	U	0,15	144,00
Carpetas	2,00	U	0,30	0,60
Clips	1,00	Caja	0,50	0,50
Grapas	1,00	Caja	1,00	1,00
Computadora	2,00	U	900	1800
Anillados	8,00	U	1,80	14,40
CD	1,00	U	2,50	2,50
Empastados	1,00	U	55,00	55,00
Gatos varios				2022,00
Internet	360,00	Horas	0,60	216,00
Alimentación	180,00	Días	4,00	720,00
Transporte	180,00	Días	5,00	900,00
Materia prima				1836,00
Tzinzo	10,00	Kg	0,50	5,00
TOTAL				4827,47

Elaborado por: (Molares & Roldán, 2023)

17. BIBLIOGRAFÍA

- Alban, G. P. G., Arguello, A. E. V., & Molina, N. E. C. (2020). Metodologías de investigación educativa (descriptivas, experimentales, participativas, y de investigación-acción). *Recimundo*, 4(3), 163-173.
- Alvarez, R. T., Cama, D. N., & Monzon, L. T. (2022). Efecto del acondicionamiento y de la técnica secuencial ultrasonido-microondas sobre el rendimiento, propiedades funcionales y químicas del aceite esencial e hidrolatos extraídos de hojas de *Tagetes elliptica* Smith. *Scientia Agropecuaria*, 13(4), 315-325.
- Aparco, R. H., Laime, M. D. C. D., & Tadeo, F. T. (2021). Metabolitos bioactivos y actividad antioxidante in vitro del aceite esencial extraído de dos especies del género *Tagetes*. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 50(3).
- Aquije Vilca, D. A. (2023). Análisis de metabolitos secundarios del subproducto de la extracción y caracterización del aceite esencial de *Tagetes minuta* L (Huacatay) que crece en el distrito de Pueblo Nuevo-Ica.
- Ayala Cuvi, L. E. (2021). Efecto de la tintura de huacatay (*Tagetes Minuta*) para el tratamiento de gingivitis en caninos domésticos (*Canis Lupus Familiaris*) (Bachelor's thesis, Ecuador: Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC)).
- Badami, P. A., Barraza, J. D., Suarez, I. E., Vásquez, A. B., Salguero, A. R., Boggetti, H. J., & González, E. A. (2018). Extracción con fluido supercrítico de polifenoles de suncho dulce (*Tessaria dodoneifolia*) de Santiago del Estero. Comparación con métodos convencionales. *Quebracho (Santiago del Estero)*, 26(2), 60-60.
- Boncun, B., Ruiz, G., Soto, M., Venegas, E., & Ruidias, D. (2013). Capacidad antioxidante in vitro de los extractos acuosos e hidroetanólicos de las hojas de *Cynara scolymus* L. "alcachofa" frente al 2, 2-difenil-1-picrilhidrazilo. *Pharmaciencia*, 1(1), 1-8.

- Camacho-Campos, Conrado, Pérez-Hernández, Yunel, Valdivia-Ávila, Aymara, Ramírez-Pérez, Héctor L., & Gómez-Brisuela, Leissy. (2019). Propiedades fitoquímicas y antibacterianas de extractos de *Tagetes erecta* L. (Asteraceae). *Revista Cubana de Química*, 31(1), 53-64. Recuperado en 05 de julio de 2023, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-54212019000100053&lng=es&tlng=es.
- Campos Albornoz, M. E. (2020). Extractos vegetales en el control de la mosca del botón floral (*Dasiops* Sp) en granadilla (*Passiflora Ligularis*) en condiciones edafoclimáticas de Molinos 2018.
- Carvajal Rojas, L., Hata Uribe, Y., Sierra Martínez, N., & Rueda Niño, D. (2009). Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de cupatá (*Strychnos schultesiana* Krukoff). *Colombia forestal*, 12(1), 161-170.
- Casado Villaverde, I. (2018). Optimización de la extracción de aceites esenciales por destilación en corriente de vapor.
- Castro, R. T., Verdecia, E. A., & Tamayo, I. M. (2011). Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólico, etéreo y acuoso de las hojas y tallo de la *Isocarpha cubana* B. *MULTIMED*, 15(3).
- Chacón Mejía, V. J. (2021). Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto hidroetanólico de hojas, semillas y flores de *bauhinia forficata* en cepas de *escherichia coli*, *staphylococo aureus* y *pseudomona aeruginosa* (Master's thesis).
- Chamorro, S., Hilbay, R., Gonzále, M., & Palacios, T. (Eds.). (2016). Vista de Reingeniería en los procesos de secado, molienda y tamizado de plantas aromáticas para mejorar la calidad de los derivados, caso: Empresa JAMBI KIWA (Vol. 1). FIGEMPA: Investigación y Desarroll. <https://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/RevFIG/article/view/47/64>
- Chillagana Pumashunta, E. M., & Veloz Guacapiña, D. E. (2019). Extracción acuosa y secado del mucilago de Yausabara (*Pavonia sepium* A. St-Hil (Bachelor's thesis, Ecuador, Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC)).

- Contreras Bailón, A. (2018) Análisis fitoquímico, actividad insecticida y antifúngica de extractos de *tagetes lucida* y *tagetes patula*.
- Cordero Hidalgo, M., & Pinedo Caldas, G. (2019). Efecto antimicrobiano del extracto etanólico de las hojas de *tagetes minuta* l (huacatay) en cepas de *pseudomona aeruginosa*, in vitro.
- Criollo Chango, J. E. (2023). *La medicina ancestral y la memoria colectiva en la parroquia Salasaka* (Bachelor's thesis, Universidad Técnica de Ambato-Facultad de Ciencias Humanas y de la Educación-Carrera de Turismo).
- Criollo, Maldonado A. A. (2015). Determinación cuantitativa de polifenoles y metabolitos con propiedades antioxidantes en el extracto de altamisa (*Ambrosia artemisiifolia*), (Bachelor's thesis).
- Cunza, S. S., Pillihuaman, E. A., & Roca, E. G. R. (2020). Actividad antioxidante, polifenoles y flavonoides de *Coffea arabica* de cinco regiones peruanas. revista de la sociedad quimica del Perú, 86(4), 343-354.
- Cussa, L. (2017). Toxicidad del aceite esencial de *Tagetes minuta* L.(Asteraceae) obtenido de poblaciones silvestres y cultivadas (Bachelor's thesis).
- De la Cruz Avilez, J. J. (2018, marzo 23). Acumulación de plomo en el cultivo de huacatay *Tagetes minuta* debido al manejo de fertilizantes en Carapongo. Edu.pe. <https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/20518/DE%20LA%20CRUZ%20AJJ.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Del Villar Martínez, A. A., Arredondo, F., & del Carmen, P. M. (2011). EFECTO CITOTÓXICO IN VITRO DE EXTRACTOS DE *Tagetes erecta* L. EN CÉLULAS HeLa (Doctoral dissertation).
- Dellacassa, E., Lorenzo, B. D., & Paz, D. (2015) de productos aromáticos de origen vegetal.
- Díaz Soatunce, D. E., & Guamán Heredia, E. X. (2022). Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir del Tzintzo (*Tagetes minuta*) en función del contenido de polifenoles y

capacidad antioxidante (Bachelor's thesis, Ecuador: Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC)).

Díaz, D. (Julio de 2019). Dspace.uce.edu.ec. Obtenido de Comparación de dos métodos de evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de Tzinzo: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/18804/1/T-UCE-0015-ODO-178.pdf>

Empresa Kuen, L. (2021). CAPÍTULO 9 HIERBAS AROMÁTICAS Y MEDICINALES Y JOYERÍA: INNOVACIONES PARA ACCEDER A NICHOS ESPECIALIZADOS DE MERCADO. Edu.ec. <https://www.uasb.edu.ec/observatorio-pyme/wp-content/uploads/sites/6/2021/04/HIERBAS-1.pdf>

Eras Díaz, D. S. (2019). Comparación de dos métodos de evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de Tzinzo (*Tagetes Minuta*) sobre cepas de Porphyromona Gingivalis. Estudio in vitro (Bachelor's thesis, Quito: UCE).

Estrada Pineda, L. F. (2017). Estudio de prefactibilidad financiera para la producción de plantas aromáticas medicinales y condimentarias bajo condiciones de producción orgánica en sistemas de siembra Urbanos en Medellín.

Fernandez Delgado, J. N. (2022) Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante del extracto metanólico y acuoso de las hojas de ambrosia peruviana all (altamisa).

Flores Alcalde, N. M. (2019). Elaboración de una salsa a base de huacatay (*Tagetes minuta*) y rocoto (*Capsicum pubescens*) evaluando sus características fisicoquímicas y sensoriales.

Folcarà, C., Sciotto, S., & Checa, Z. (2016, enero 15). 12 PATENTE DE INVENCION B1. Googleapis.com. <https://patentimages.storage.googleapis.com/52/23/03/c088defe8c2131/ES2533200B1.pdf>

Galarza, C. A. R. (2021). Diseños de investigación experimental. CienciAmérica: Revista de divulgación científica de la Universidad Tecnológica Indoamérica, 10(1), 1-7.

- Giraldo, L., Ramos, N., & Castro, A. (2022). Polifenoles totales y actividad antioxidante in vitro del extracto acuoso de la corteza de *Brunfelsia grandiflora* D. Don. *Ciencia e Investigación*, 25(1), 61-66.
- Guiance, S. H., & Isern, D. M. (2019). Estudio cuantitativo y comparativo de la actividad antioxidante total en Soja por método FRAP. *INVENIO: Revista de investigación académica*, (40), 47-60.
- Guillen Morales, M. M.(2015). Capacidad antioxidante y contenido de polifenoles de las hojas *Artemisia annua* L.(*Artemisia*, ajenjo chino, ajenjo dulce).
- Guzmán, A. (2023, May 31). *aceite-de-laurel*. *Cocina Vital - Recetas fáciles*; *Cocina Vital*.
<https://www.cocinavital.mx/blog-de-cocina/tips-de-salud/como-hacer-aceite-de-laurel-beneficios-salud/2023/05/attachment/aceite-de-laurel/>
- Hernández, T. (2018). Liberación de compuestos antioxidantes de ajenjo (*Artemisia absinthium*) y aranthó (*Decatropis bicolor*) por diferentes métodos de extracción, (Bachero's thesis).Edu.Mx:8080.<http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/jspui/bitstream/231104/2186/1/Liberaci%C3%B3n%20de%20compuestos%20antioxidantes%20de%20ajenjo%20%28Artemisia%20absinthium%29%20y%20aranth%C3%B3%20%28Decatropis%20bicolor%29.pdf>
- Herrera Moncada, W. L., & Sandoval Fuentes, M. G. (2019). Toxicidad del extracto etanólico de plantas de campo y callos In Vitro de *Tagetes Minuta* y *Tagetes Erecta* sobre *Meloidogyne* spp. en *Solanum Lycopersicum* L., Lambayeque 2019.
- Hinojosa Farías, M. J., Ñanculef Flores, S., Pajarito Miranda, D., Palma Sánchez, V, & Torres Palma, V. (2014). Efectos de extractos naturales obtenidos del ajo, matico y tomillo sobre el Crecimiento de *Candida Albicans* comparada con la utilización del fármaco Fluconazol como estándar de tratamiento, en pruebas de laboratorio durante el año 2014.
- Iannacone, J., Alvariño, L., Guabloche, A., Ventura, K., La Torre, M. I., Carhuapoma, M., & Castañeda, L. (2017). *The Biologist (Lima)*. *Biologist (Lima)*, 15(1), 85-97.

Illescas Bayas, A. M., & Lovato Armas, C. R. (2020). Estudio del Perfil Fitoquímico y posibles aplicaciones de los extractos alcohólicos, etéreo y acuoso del Sunfo (*clinopodium nubigenum* (kunth) kuntze) (Bachelor's thesis, Ecuador, Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi UTC.).

Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual (Indecopi). (2019, Enero 3). Huacatay. Gob.pe. obtenido de: <https://www.indecopi.gob.pe/documents/20791/3180041/huacatay.pdf/34301a4a-8f44-7402-4442-ebb6487dee0a>

Juarez Diaz, J. M. Estudio de las características fisicoquímicas y fitoquímicas de las hojas de *Eucalyptus globulus* Labill (eucalipto).

Labrada-Hechavarría, Y., Cordoví-Velázquez, J. M., Ledea-Rodríguez, J. L., Rapado-Paneque, M., & Rosabal-Cordoví, Ú. M. (2018). Caracterización física y química de aceite esencial de *Azaridachta indica* A Juss expuesto a radiación gamma. *Revista Cubana de Química*, 30(3), 470-482.

Llimpe, P., Aguirre, L., & Taípe, O. (2021, February 5). <http://file:///C:/Users/HP/Downloads/Dialnet-CapacidadAntioxidanteYMetabolitosBioactivosInVitro-8178974-2.pdf>

López, N., & Sandoval, I. (2016). Métodos y técnicas de investigación cuantitativa y cualitativa.

López-Cózar Navarro, C., Benito Hernández, S., & Priede Bergamini, T. (2020). Identificación de los factores principales asociados a la elección de grados universitarios en el ámbito agroalimentario. *Revista española de orientación y psicopedagogía*.

Medina Jiménez, C. A. (2023). *Caracterización del aceite esencial de Tzintzo (Tagetes minuta), en función a la composición química, capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana* (Master's thesis, Ecuador: Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC).).

- Melo-Guerrero, M. C., Ortiz-Jurado, D. E., & Hurtado-Benavides, A. M. (2020). Comparación de la composición y de la actividad antioxidante del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) obtenido mediante extracción con fluidos supercríticos y otras técnicas verdes. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 44(172), 845-856.
- Meyer Torres, G., Sarmiento, O. I., Ramírez, R. I., & Guevara, O. (2018). Evaluación del rendimiento del aceite esencial de caléndula (*Calendula officinalis* L) obtenido por OAHD. *Revista Ion*, 31(1), 13-19.
- Molina Flores, X. (2021). *Tagetes lucida*: Fuente potencial de cumarinas bioactivas.
- Moro, A. (2013). Caracterización de los extractos de las plantas aromáticas, potenciales aplicaciones en las matrices lácteas. Universidad de Castilla-La Mancha. <http://file:///C:/Users/HP/Downloads/TESIS%20Moro%20Pe%C3%B1a.pdf>
- Muñoz Yucra, L. A., & Tueros Vásquez, J. M. (2019). Efecto cicatrizante del gel elaborado con extracto etanólico de las flores de *matricaria chamomilla* l.(manzanilla) en ratones albinos.
- Oyenihi, O. R., Delgoda, R., & Matsabisa, M. G. (marzo de 2021). Los extractos de hoja de *Tagetes minuta* desencadenaron la apoptosis en la línea celular de cáncer de mama humano MCF-7. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0254629920311583>
- Pereyra, L. E. (Ed.). (2022). Metodología de la investigación. Klik.
- Pérez-Jaramillo, C. C., Sánchez-Peralta, W. F., Murillo-Arango, W., & Méndez-Arteaga, J. J. (2017). Acción antioxidante conjunta de extractos etanólicos de *Mollinedia lanceolata*, *Croton leptostachyus* y *Siparuna sessiliflora*. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 41(158), 64-70.
- Pico Llerena, D. A. (2021). Bebida a partir de la chinchilla (*Tagetes minuta*) y su uso en la gastronomía con valor agregado (Bachelor's thesis).

- Pineda Bermeo, I. C. (2019). Desarrollo y optimización de aperitivos de cáscaras de mandarina y hojas de higo (Bachelor's thesis, Universidad del Azuay).
- Piña, M. R., Rodríguez, M. A., & Benavides, E. M. (2015). Metodología robusta para superficies de respuestas. *Cultura Científica y Tecnológica*, (12).
- Pranarom. (2019). La destilación de aceites esenciales. Pranarom.es. <https://www.pranarom.es/content/15-la-destilacion-de-aceites-esenciales>
- Quevedo Barreto, L. A. (2022). Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir de chillangua (*eryngium foetidum* L), en función del contenido de polifenoles y actividad antioxidante (Master's thesis, Ecuador: Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC)).
- Reyes-Ruiz, L., & Carmona Alvarado, F. A. (2020). La investigación documental para la comprensión ontológica del objeto de estudio.
- Roca, L. B., Guzmán, B. H., Gómez, A. B., Sosa, E. H., Pérez, M. G., & Navarro, B. A. (2009). Caracterización física y tamizaje fitoquímico de la especie *Tagetes erecta* Lin. *Revista Cubana de química*, 21(2), 10-15., L. B., Guzmán, B. H., Gómez, A. B., Sosa, E. H., Pérez, M. G., & Navarro, B. A. (2009). Caracterización física y tamizaje fitoquímico de la especie *Tagetes erecta* Lin. *Revista Cubana de química*, 21(2), 10-15.
- Rueda, E. M. S., Ruiz, Y. L. R., Chamorro, N. L., & Landázuri, P. (2018, August 13). *Extractos de Tagetes patula* L. (Asteraceae): un potencial bactericida contra el Moko. Org.Mx. <https://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v9n5/2007-0934-remexca-9-05-949.pdf>
- Sailema Ortiz, M. L. (2019). Extracción simultánea de polifenoles totales y flavonoides totales en hojas de *Fragaria* spp (Bachelor's thesis, Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología. Carrera de Ingeniería Bioquímica).
- Sánchez-Humala, R, Ruiz-Briceño, A.M, Ruiz-Burneo, C.G, Ruiz-Castro, G.M, Sairitupac-Paredes, D.R, Aguirre, L.G, Salazar-Granara, A, & Loja-Herrera, B. (2017). Actividad antioxidante y marcha fitoquímica de los capítulos de *Tagetes filifolia* Lag. “pacha anís. *Horizonte Médico*

(Lima), 17(1), 18-24. Recuperado en 05 de julio de 2023, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-558X2017000100004&lng=es&tlng=es.

- Sierra-Diego, M. (2022). Determinación de antioxidantes en plantas aromáticas. *Lavandula angustifolia*.
- Soto Rueda, E. M., Rodríguez Ruiz, Y. L., Loango Chamorro, N., & Landázuri, P. (2018). Extractos de *Tagetes patula* L.(Asteraceae): un potencial bactericida contra el Moko. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 9(5), 949-959.
- Soto-García, M., & Rosales-Castro, M. (2016). Efecto del solvente y de la relación masa/solvente, sobre la extracción de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de corteza de *Pinus durangensis* y *Quercus sideroxyla*. *Maderas. Ciencia y tecnología*, 18(4), 701-714.
- Spotorno, V. G. (2021). *Hierbas y especies culinarias: beneficios para la salud*. Foro de la Alimentación, la Nutrición y la Salud.
- Svečnjak, L., Marijanović, Z., Okińczyc, P., Marek Kuś, P., & Jerković, I. (2020). Mediterranean propolis from the adriatic sea islands as a source of natural antioxidants: Comprehensive chemical biodiversity determined by GC-MS, FTIR-ATR, UHPLC-DAD-QqTOF-MS, DPPH and FRAP assay. *Antioxidants*, 9(4), 337.
- Tello, J. M. T., Hernández, O. D. L., Betancourt, Y. P., Bonilla, V. E. R., & Carpio, C. M. (2020). Potencial antiinflamatorio y citotóxico del extracto acuoso de *Taraxacum officinale* (diente de león). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 25(2).
- TIVBROS, P. (1923). *MC0059652.pdf*. Obtenido de Extractos Medicinales de plantas : <http://www.memoriachilena.gob.cl/archivos2/pdfs/MC0059652.pdf>
- Uvidia Ortiz, R. A. (2013). Determinación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico y subextractos etéreo y clorofórmico de *Duranta tricanta* Juss, *Callistemon speciosus* y *Tagetes minuta* L (Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo).

- Velásquez Villafuerte, D. B. (2017). Evaluación de la actividad antimicrobiana, antioxidante y citotoxicidad de los extractos etanólico y acuoso de *Tagetes multiflora kunth* “chinche”
- Velázquez, E. E., Rivas-Díaz, K., Loarca-Piña, M., Flavia, G., Mendoza-Díaz, S., ReynosoCamacho, R., & Ramos-Gómez, M. (2012). Comparación del contenido fenólico, capacidad antioxidante y actividad antiinflamatoria de infusiones herbales comerciales. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(3), 481-495.
- Vieyra, M. I. G., Chavez, M. S. G., Valadez, H. N. H., Martínez, R. A. G., Raquel, F. R. L. G. F., González, L., & García, J. A. G. (2023). Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de aceites esenciales y extractos de plantas aromáticas. *JÓVENES EN LA CIENCIA*, 21, 1-7.
- Villanueva Gutiérrez, M. (2019). Métodos para determinar la capacidad antioxidante de *Caesalpinia spinosa* “TARA”.
- Zanin, Zanin T. (2023). Gstatic.com. https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcShKsKwbmxOfKhh6p5EDIXxix5INcJNNGns_Q&usqp=CAU

18. ANEXOS

ANEXO 1. Elaboración del extracto acuoso de Tzinzo

ANEXO 1.1.



Fuente: (Morales y Roldán, 2023)

Obtención de la planta de Tzinzo.

ANEXO 1.2.



Fuente: (Morales y Roldán, 2023)

Selección de las partes en buen estado del
Tzinzo.

ANEXO 1.3.



Fuente: (Morales y Roldán, 2023)

Desinfección de la planta de Tzinzo.

ANEXO 1.4.



Fuente: (Morales y Roldán, 2023)

Selección de hojas.

ANEXO 1.5.

Fuente: (Morales y Roldán, 2023)

Pesado de la materia prima.

ANEXO 1.6.

Fuente: (Morales y Roldán, 2023)

Secado de la materia prima.

ANEXO 1.7.

Fuente: (Morales y Roldán, 2023)

Preparación de la solución para el
macerado.

ANEXO 1.8.

Fuente: (Morales y Roldán, 2023)

Preparación del macerado.

ANEXO 1.9.

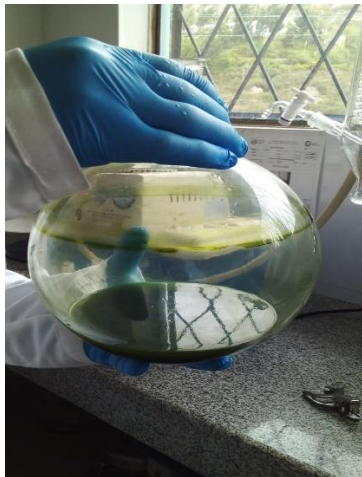
Fuente: (Morales y Roldán, 2023)

Obtención del macerado.

ANEXO 1.10.

Fuente: (Morales y Roldán, 2023)

Eliminación del solvente.

ANEXO 1.11.

Fuente: (Morales y Roldán, 2023)

Obtención del extracto acuoso de Tzinzo.

ANEXO 2. Informe de la composición del extracto acuoso de Tzinzo

CIENTIFIC CROM	INFORME DE ENSAYOS	CÓDIGO: FT-17
CONFIDENCIAL		PÁGINA: 1 de 1
		REVISIÓN: 00

Dirección: La Esperanza 1, Las Guinnes N16-107 y la Vifas. (Quito-Ecuador). Tel: 2033-099-0988500615

INFORME DE ENSAYOS No: 0013-22

REFERENCIA: OT-13-22

INFORME DE ENSAYOS DE ANALISIS QUIMICOS

CLIENTE: Ginger Morales (Universidad Técnica de Cotopaxi)
 NÚMERO DE ORDEN: S/N
 FECHA DE RECEPCIÓN: 8 de Mayo 2023
 FECHA DEL INFORME: 9 de Junio 2023
 MUESTREADO POR:

DETERMINACION DE COMPUESTOS ORGANICOS EN ACEITES ESENCIALES

CLASIFICACIÓN	PARÁMETRO	UNIDAD	CÓDIGOS DE MUESTRA	MÉTODO INTERNO	MÉTODO REFERENCIA
			EXTRACTO DE TZINZO		
ACEITES ESENCIALES	Alfa-Tujeno	%p/v	2.88	LP-CGM	Método para Compuestos Organicos en Aceites esenciales: Método de Agilent Technologies ,Catálogo de aplicaciones 2015, Cromatografía de gases con detector selectivo de masas (MSD)
	Cis-Tagetona	%p/v	3.15		
	Trans-Tagetona	%p/v	36.44		
	Trans-Anetol	%p/v	17.50		
	Trans-Cariofileno	%p/v	1.03		
	Neofitadieno	%p/v	8.59		
	Fitol	%p/v	19.49		
	Tiantreno	%p/v	2.18		
	Benzo[b]Nafto[2,3-d]Tiofeno	%p/v	8.73		
	TOTAL DE COMPUESTOS EN EL ACEITE ESENCIAL ENSAYADO	%p/v	100,00		

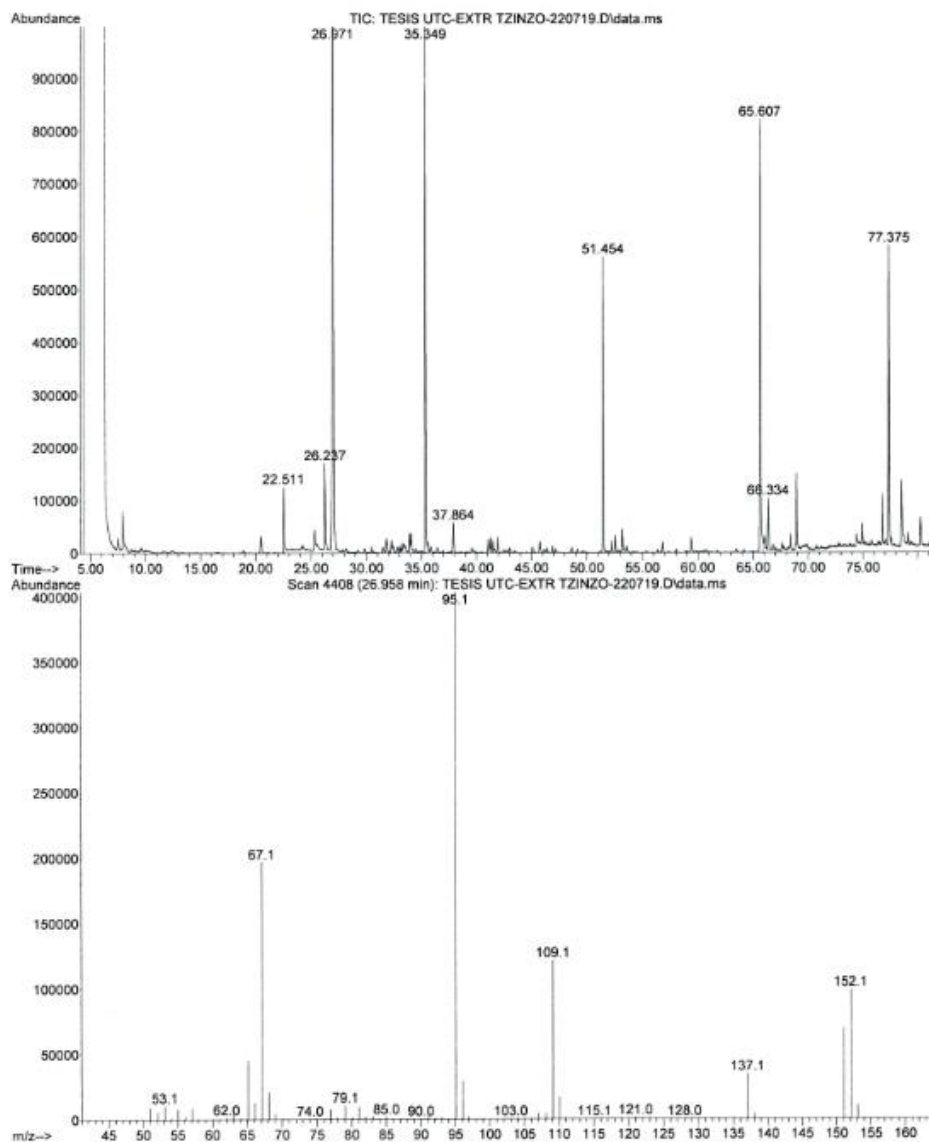
Observaciones: Los resultados corresponden a las muestras ensayadas.

Elaborado por:

Dr. Ximel Parreño

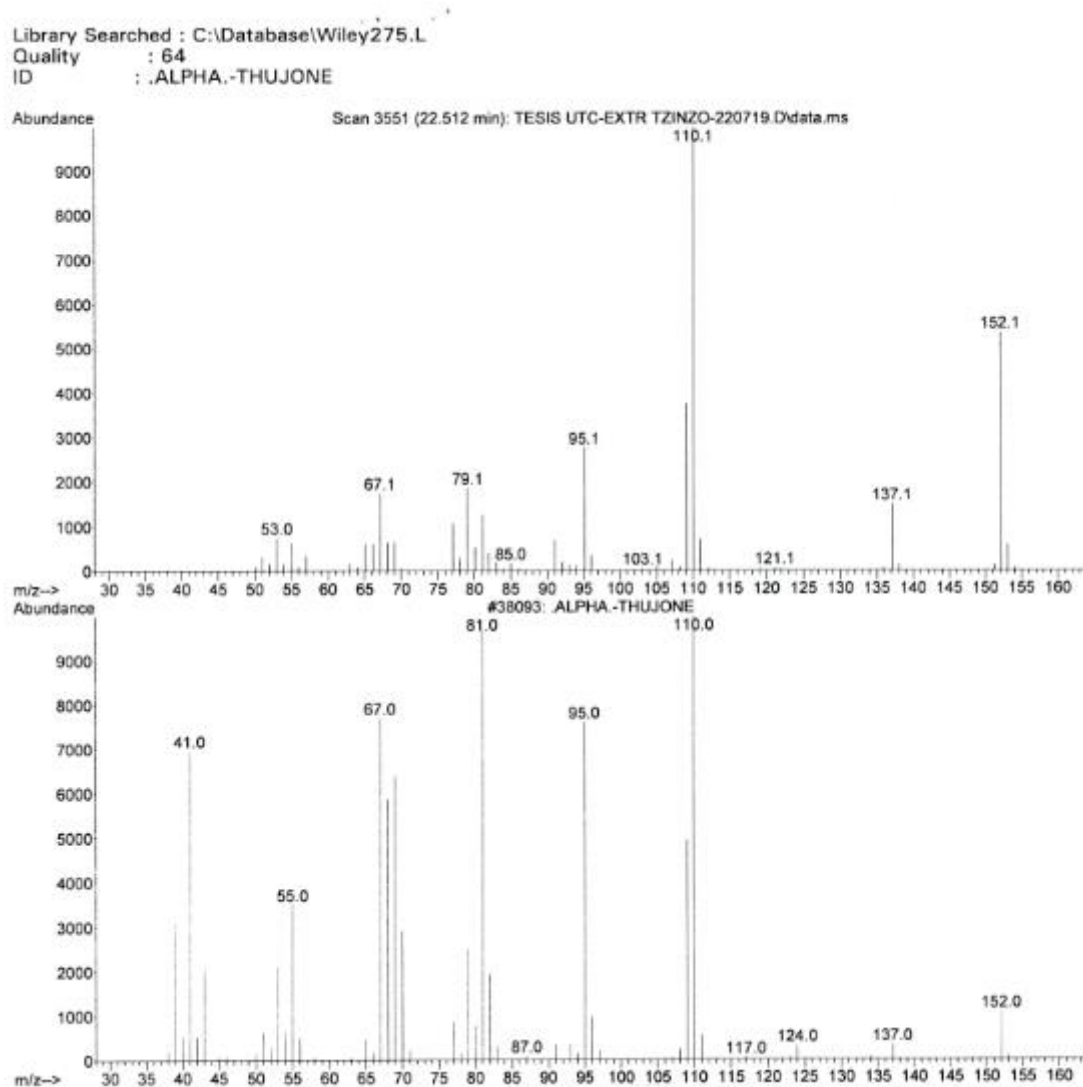
ANEXO 3. Análisis del componente del extracto acuoso de Tzinzo

File : D:\DATOS msd\ACEITES ESENCIALES\ACT ESENCIALES 220719 TESIS
 ... UTC ACEITE TZINZO\TESIS UTC-EXTR TZINZO-220719.D
 Operator : KP
 Instrument : GC-MSD KP
 Acquired : 1 using AcqMethod ACEITES ESENCIALES.M
 Sample Name: TESIS UTC-EXTR TZINZO-220719
 Misc Info : ANALISIS DE COMPONENTES EN EXTRACTO DE TZINZO



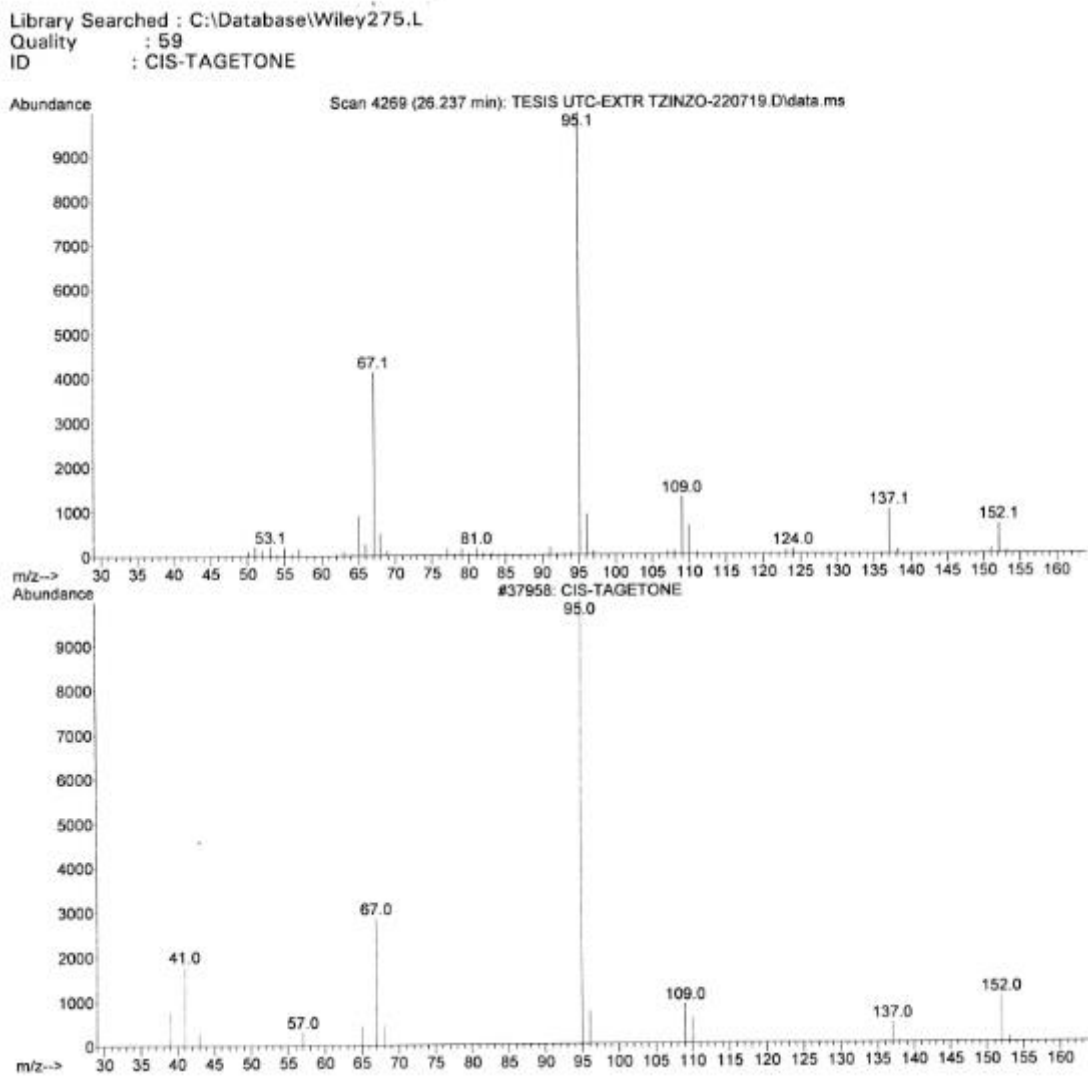
Los cromatogramas representan el análisis de los compuestos del extracto acuoso de Tzinzo, entre ellos tenemos al alfa-tujeno 22,511, cis-tagetona 26,237, *trans*-tagetona 26, 971, *trans*-cariofileno 37,864, teniendo como compuestos mayoritarios al neofitadieno 51,454, fitol 65,607, tiantreno 66,334 y el benzo[b]Nafto[2,3d]tiofeno 77,375.

ANEXO 4. Análisis del compuesto ALPHA- THUJONE



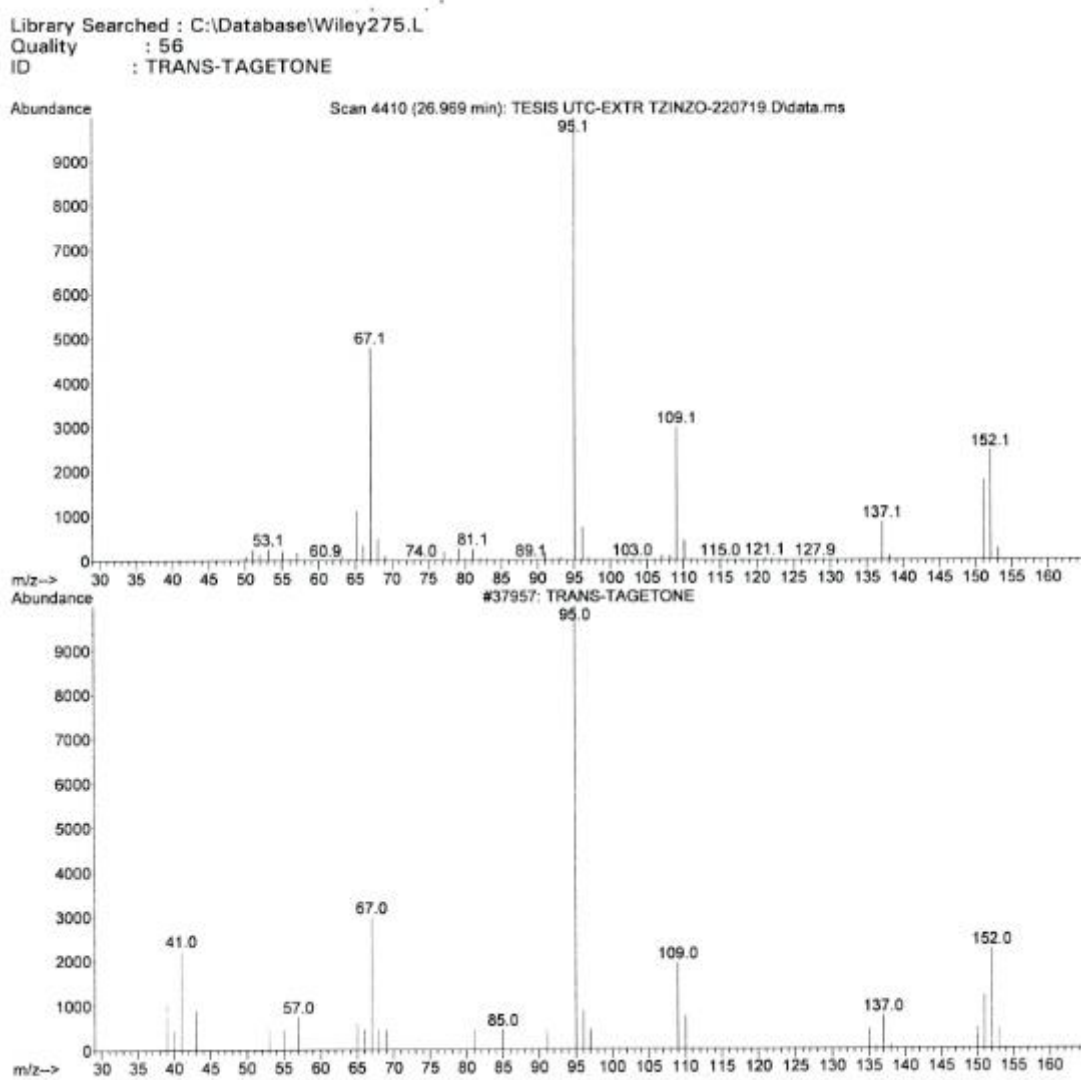
Los cromatogramas representan la relación de la m/z por la abundancia del compuesto alpha-thujone, por ello se manifiesta que cada pico genera una desintegración de cada ion de hidrogeno, tal es el caso de 110,1 el cual muestra el mayor valor de m/z por abundancia de 10.000 del compuesto.

ANEXO 5. Análisis del compuesto CIS- TAGETONA



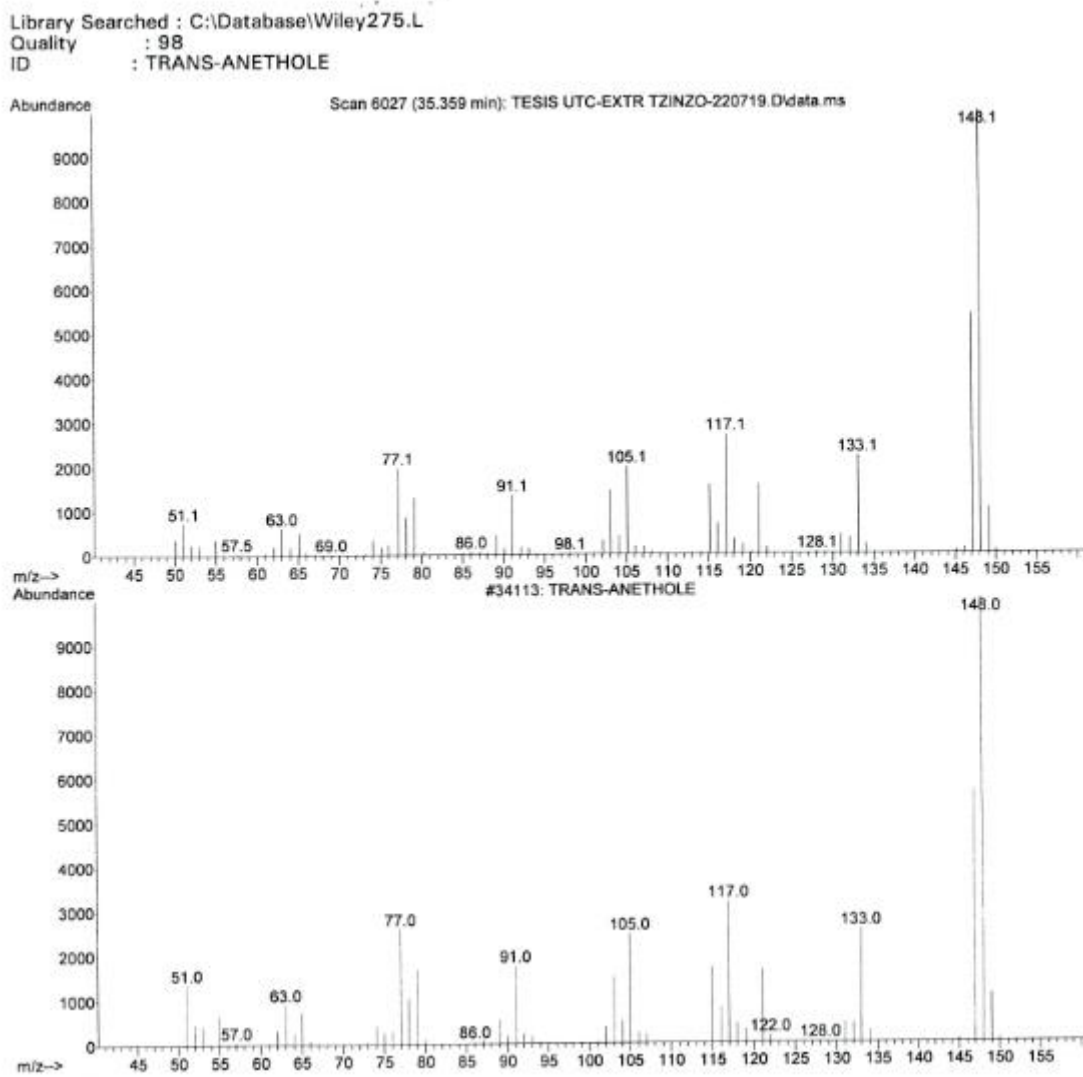
Los cromatogramas representan la relación de la m/z por la abundancia del compuesto cis-tagetone, por ello se manifiesta que cada pico genera una desintegración de cada ion de hidrogeno, tal es el caso de 95,1 el cual muestra el mayor valor de m/z por abundancia de 10.000 del compuesto.

ANEXO 6. Análisis del compuesto TRANS- TAGETONA



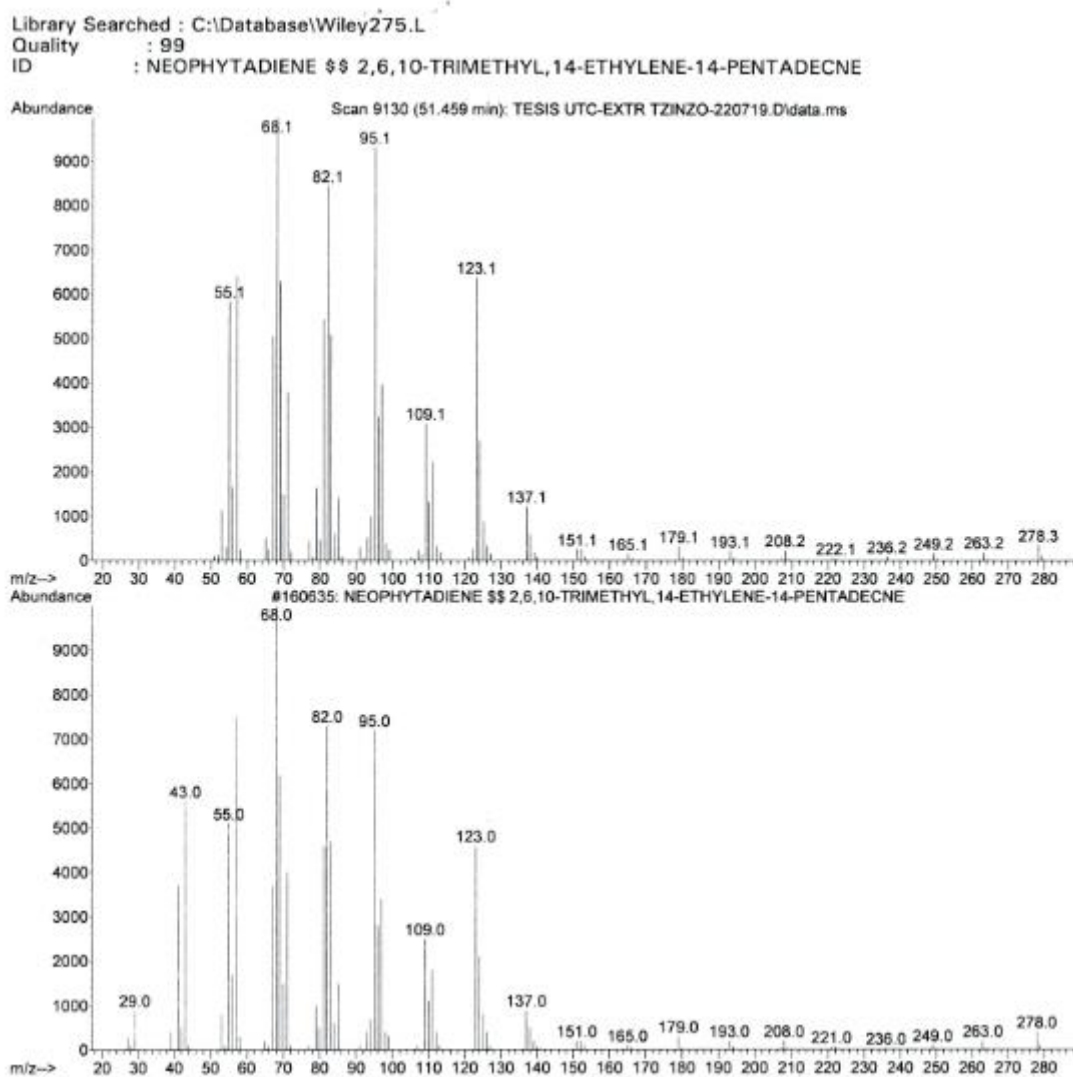
Los cromatogramas representan la relación de la m/z por la abundancia del compuesto *trans*-tagetone, por ello se manifiesta que cada pico genera una desintegración de cada ion de hidrogeno, tal es el caso de 95,1 el cual muestra el mayor valor de m/z por abundancia de 10.000 del compuesto.

ANEXO 7. Análisis del compuesto TRANS- ANETOL



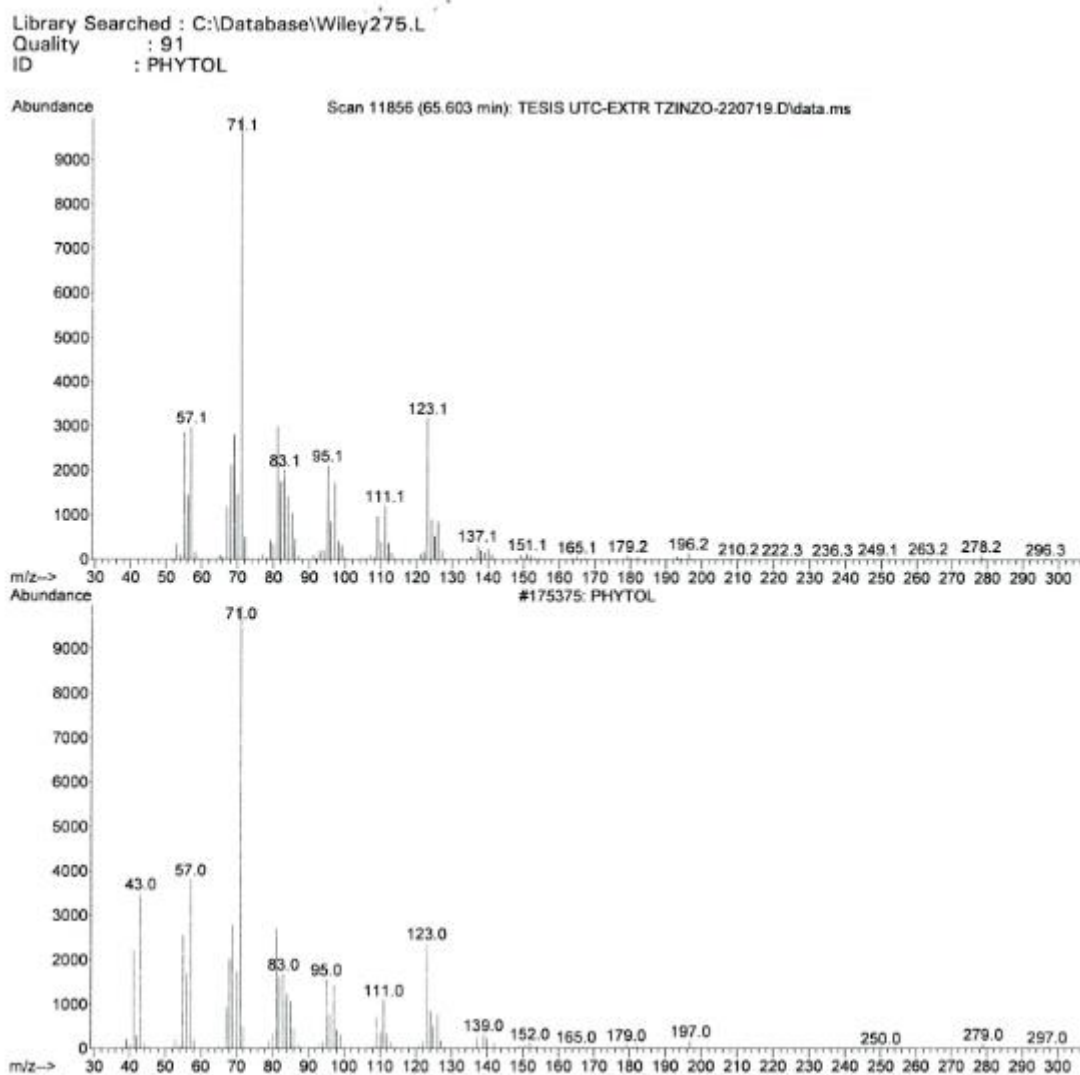
Los cromatogramas representan la relación de la m/z por la abundancia del compuesto *trans*-anethole, por ello se manifiesta que cada pico genera una desintegración de cada ion de hidrogeno, tal es el caso de 148,1 el cual muestra el mayor valor de m/z por abundancia de 10.000 del compuesto.

ANEXO 8. Análisis del compuesto NEOPHYTADIENO



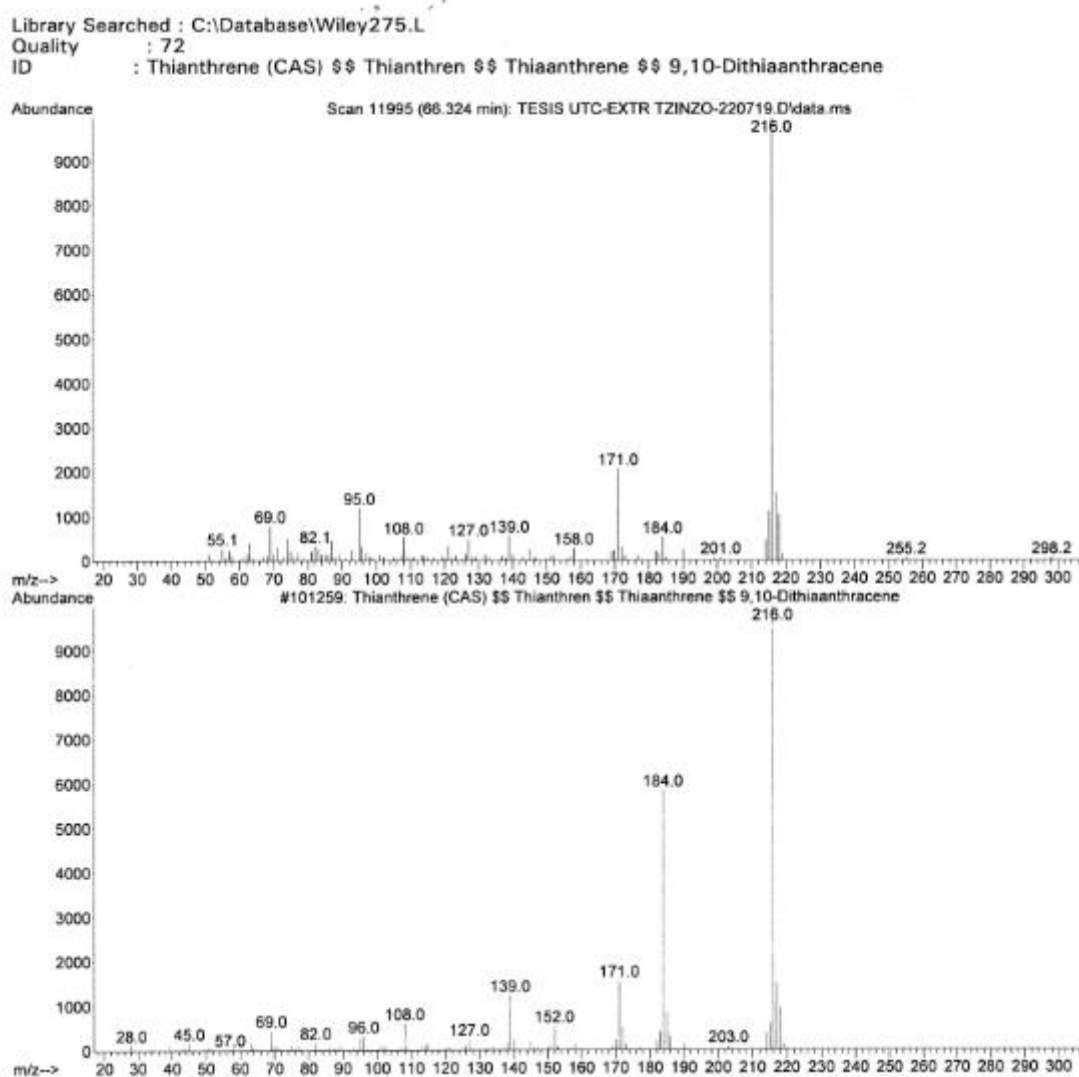
Estos cromatogramas representan la relación de la m/z por la abundancia de los compuestos neophytadiene, 2,6,10-trimethyl,14-ethylene-14-pentadecne, por ello se manifiesta que cada pico genera una desintegración de cada ion de hidrogeno, tal es el caso de 95,1 en 9500 y 68,1 el cual muestra el mayor valor de m/z por abundancia de 10.000 del compuesto.

ANEXO 9. Análisis del compuesto FITOL



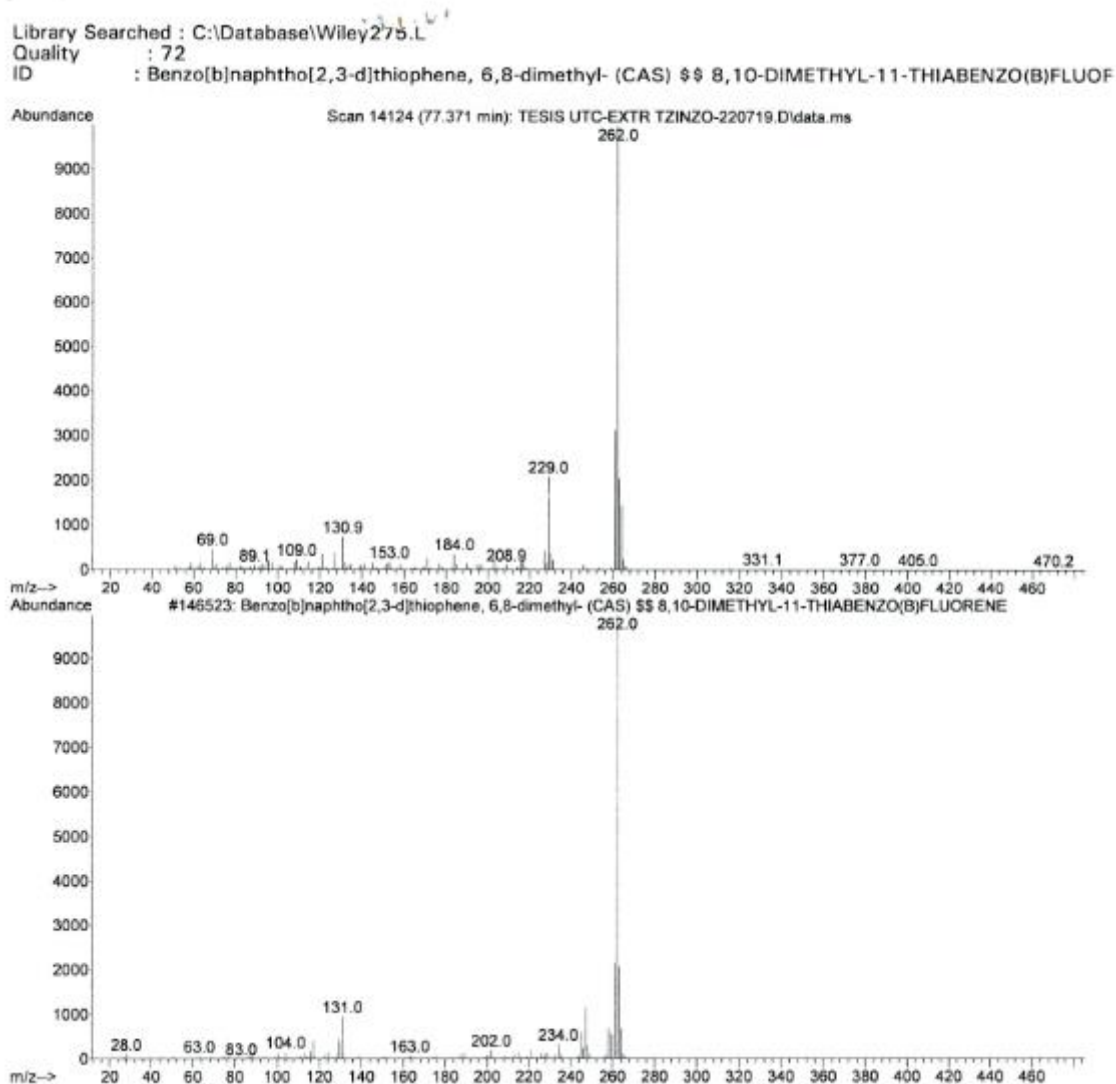
Los cromatogramas representan la relación de la m/z por la abundancia del compuesto phytol, por ello se manifiesta que cada pico genera una desintegración de cada ion de hidrogeno, tal es el caso de 71,1 el cual muestra el mayor valor de m/z por abundancia de 10.000 del compuesto.

ANEXO 10. Análisis del compuesto TIANTRENO



Los cromatogramas representan la relación de la m/z por la abundancia del compuesto thianthrene 9,10-dithiaanthracene, por ello se manifiesta que cada pico genera una desintegración de cada ion de hidrogeno, tal es el caso de 216,0 el cual muestra el mayor valor de m/z por abundancia de 10.000 del compuesto.

ANEXO 11. Análisis del compuesto Benzo (b)Nafto(2,3-d) Tiofeno



Los cromatogramas representan la relación de la m/z por la abundancia del compuesto benzo[b]naphtho[2,3-d] thiophene,6,8-dimethyl, 8,10-dimethyl-11-thiabenzob[fluorene, por ello se manifiesta que cada pico genera una desintegración de cada ion de hidrogeno, tal es el caso de 262,0 el cual muestra el mayor valor de m/z por abundancia de 10.000 del compuesto.

ANEXO 12. Hojas de vida**ANEXO 13.1 Hojas de vida del tutor****CURRICULUM VITAE****DATOS PERSONALES**

NOMBRES: JAIME ORLADO

APELLIDOS: ROJAS MOLINA

NACIONALIDAD: ECUATORIANO

CEDULA DE IDENTIDAD: 050264543-5

FECHA DE NACIMIENTO: 15 DE OCTUBRE DE 1984

EDAD: 39 AÑOS

ESTADO CIVIL: SOLTERO

CARGAS FAMILIARES: (1)

CIUDAD: LATACUNGA

DOMICILIO: LA MERCED, QUIJANO Y ORDOÑEZ Y
JUAN ABEL ECHEVERIA 7-60

TÉLEFONO: 032802455/0999084592

**TITULOS OBTENIDOS:**

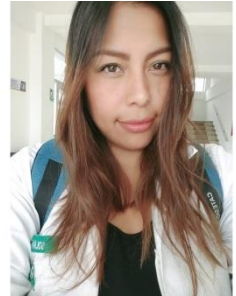
- DOCENTE INVESTIGADOR UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI.
- QUÍMICO DE ALIMENTOS EN LA UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR.
- MASTER EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS EN LA UNIVERSIDAD DE LA HABANA
- MAGISTER EN SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD EN LA UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR.
- DOCENTE OCASIONAL DE LA CARRERA DE AGROINDUSTRIAS.
- ACTUALMENTE CURSANDO EL DOCTORADO EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS EN LA UNIVERSIDAD DE LA HABANA.
- COORDINADOR DEL PROYECTO APLICACIÓN DE MICROENCAPSULADOS DE PRINCIPIOS ACTIVOS DE PLANTAS EN LA AGROINDUSTRIA.
- MIEMBRO DE LOS GRUPOS DE INVESTIGACIÓN UTC EN PROCESOS TECNOLÓGICOS AGROINDUSTRIALES Y TECNOLOGÍA PARA LA OBTENCIÓN Y ESTABILIZACIÓN DE MUCÍLAGOS DE PLANTAS DE USO INDUSTRIAL.

ANEXO 14.2 Hojas de vida del estudiante

CURRICULUM VITAE

DATOS PERSONALES

NOMBRES: GINGER SOLANGE
APELLIDOS: MORALES CHICAIZA
NACIONALIDAD: ECUATORIANA
CEDULA DE IDENTIDAD: 172661604-6
LICENCIA: Tipo B
FECHA DE NACIMIENTO: 06 DE MAYO DE 1997
EDAD: 26 AÑOS
ESTADO CIVIL: SOLTERA
CARGAS FAMILIARES: (0)
DIRECCIÓN: YARUQUI LALAGACHI CENTRAL
TÉLEFONO: 2778-006/0969052199



ESTUDIOS ACADÉMICOS

PRIMARIA: UNIDAD EDUCATIVA “SANTA CATALINA LABOURE”
SECUNDARIA: UNIDAD EDUCATIVA “TECNICA YARUQUI”
TÍTULO OBTENIDO: BACHILLERATO “TECNICO EN CONTABILIDAD”
SUPERIOR: UNIVERSIDAD TECNICA DE COTOPAXI
TÍTULO OBTENIDO: INGENIERA EN AGROINDUSTRIAS

IDIOMAS:

SUFICIENCIA EN INGLÉS B1

CERTIFICADOS

2019 SEGURIDAD E HIGIENE ALIMENTARIA

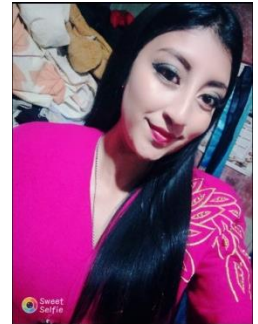
2023 INOCUIDAD ALIMENTARIA

ANEXO 15.3 Hojas de vida del estudiante

CURRICULUM VITAE

DATOS PERSONALES

NOMBRES: MISHHELL JAQUELINE
APELLIDOS: ROLDÁN GARCÉS
NACIONALIDAD: ECUATORIANA
CEDULA DE IDENTIDAD: 175613706-1
LICENCIA: Tipo B
FECHA DE NACIMIENTO: 24 DE NOVIEMBRE DE 1999
EDAD: 23 AÑOS
ESTADO CIVIL: SOLTERA
CARGAS FAMILIARES: (0)
DIRECCIÓN: ALOAG- EL CORTIJO
TÉLEFONO: 022389579/09678996174



ESTUDIOS ACADÉMICOS

PRIMARIA: UNIDAD EDUCATIVA “SELFINA CASTRO”
SECUNDARIA: UNIDAD EDUCATIVA “ALOAG”
TÍTULO OBTENIDO: BACHILLERATO “TECNICO EN CONTABILIDAD”
SUPERIOR: UNIVERSIDAD TECNICA DE COTOPAXI
TÍTULO OBTENIDO: INGENIERA EN AGROINDUSTRIAS

IDIOMAS:

SUFICIENCIA EN INGLÉS B1

CERTIFICADOS

2019 SEGURIDAD E HIGIENE ALIMENTARIA

2023 INOCUIDAD ALIMENTARIA

ANEXO 16. Aval del Traductor



UNIVERSIDAD
TÉCNICA DE
COTOPAXI



CENTRO
DE IDIOMAS

AVAL DE TRADUCCIÓN

En calidad de Docente del Idioma Inglés del Centro de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; en forma legal **CERTIFICO** que:

La traducción del resumen al idioma Inglés del proyecto de investigación cuyo título versa: **“CARACTERIZACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO DE TZINZO (Tagetes minuta) EN FUNCIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE”** presentado por: Morales Chicaiza, Ginger Solange Roldán Garcés, Mishell Jaqueline egresadas de la Carrera de: Agroindustrial, perteneciente a la **Facultad De Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales** lo realizaron bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del Idioma.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo a las peticionarias hacer uso del presente aval para los fines académicos legales.

Latacunga, agosto del 2023

Atentamente,

TANIA
ELIZABETH
ALVEAR JIMENEZ

Firmado digitalmente
por TANIA ELIZABETH
ALVEAR JIMENEZ
Fecha: 2023.08.15
17:08:12 -05'00'

Tania Alvear Jiménez
DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS-UTC
CI: 0503231763

