



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

Título:

“CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE ENELDO (*Anethum graveolens*), EN FUNCIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA, CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA”

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de Ingeniera
Agroindustrial

Autor:

QUEVEDO ANALUISA MARJORIE ARACELY

Tutor:

ROJAS MOLINA JAIME ORLANDO QUÍM. MG.

LATACUNGA - ECUADOR

Agosto 2022

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Marjorie Aracely Quevedo Analuisa, con cédula de ciudadanía No. 2300086077, declaro ser autora del presente proyecto de investigación: “Caracterización del aceite esencial de eneldo (*Anethum graveolens*), en función de la composición química, capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana”, siendo el Químico Mg. Jaime Orlando Rojas Molina, Tutor del presente trabajo; y, eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y 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, 25 de agosto del 2022

Marjorie Aracely Quevedo Analuisa
Estudiante
CC. 2300086077

Quím. Jaime Orlando Rojas Molina, Mg.
Docente Tutor
CC: 0502645435

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHO DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **QUEVEDO ANALUISA MARJORIE ARACELY**, identificada con cédula de ciudadanía No. **2300086077** de estado civil soltera, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, el Ingeniero Ph.D. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector, 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 Agroindustria, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “Caracterización del aceite esencial de eneldo (*Anethum graveolens*), en función de la composición química, capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

Historial Académico

Fecha de inicio de la carrera: Octubre 2018 – Marzo 2019

Fecha de finalización: Abril 2022 – Agosto 2022

Aprobación en Consejo Directivo: 3 de junio del 2022

Tutor: Químico Mg. Jaime Orlando Rojas Molina

Tema: “Caracterización del aceite esencial de eneldo (*Anethum graveolens*), en función de la composición química, capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana”

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

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LACIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LACEDENTE** 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 25 días del mes de agosto del 2022.

Marjorie Aracely Quevedo Analuisa

LA CEDENTE

Ing. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, Ph.D.

LA CESIONARIA

AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

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

“CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE ENELDO (*Anethum graveolens*), EN FUNCIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA, CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA”, de Quevedo Analuisa Marjorie Aracely, de la carrera de Agroindustria, 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, 25 de agosto del 2022

Quím. 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, la postulante: Quevedo Analuisa Marjorie Aracely, con el título del Proyecto de Investigación: “CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE ENELDO (*Anethum graveolens*), EN FUNCIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA, CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA”, ha 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 realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, 25 de agosto del 2022

Lector 1 (Presidente)

Ing. Ana Maricela Trávez Castellano, Mg.

CC: 0502270937

Lector 2

Ing. Edwin Ramiro Cevallos Carvajal, Mg.

CC: 0501864854

Lector 3

Ing. Franklin Antonio Molina Borja, Mg.

CC: 0501821433

AGRADECIMIENTO

En primera instancia agradezco a Dios, por brindarme salud y guiarme para culminar con éxito esta etapa de mi vida.

A mis padres, por su apoyo incondicional, sus consejos, confianza y por el esfuerzo realizado para hacer realidad uno de mis sueños.

A toda mi familia y amigos por sus palabras de aliento y apoyo para no dejarme caer en los momentos más difíciles de mi Carrera universitaria.

A la Universidad Técnica de Cotopaxi, de manera especial a la carrera de Agroindustria, por abrirme las puertas y permitido construir mi sueño.

Mi gratitud a todos los docentes de la carrera, en especial a mi tutor de tesis el Quím. Orlando Rojas por compartir sus conocimientos, por el apoyo, orientación y paciencia durante el desarrollo y culminación de mi proyecto de investigación.

Quevedo Analuisa Marjorie Aracely

DEDICATORIA

El presente proyecto de investigación se lo dedico con mucho cariño y amor a Dios, por darme salud y fortaleza en el trayecto de mis estudios y en mi diario vivir.

A mis padres René Quevedo y Eva Analuisa, por ser los pilares más importantes, por sus consejos y por demostrarme su apoyo incondicional para alcanzar mis objetivos.

A mi familia, amigos y compañeros que me han motivado y acompañado en el transcurso de esta etapa.

Quevedo Analuisa Marjorie Aracely

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIA AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: “CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE ENELDO (*Anethum graveolens*), EN FUNCIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA, CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA”

AUTOR: Quevedo Analuisa Marjorie Aracely

RESUMEN

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Agroindustrias de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales (CAREN) de la Universidad Técnica de Cotopaxi, donde se caracterizó la extracción de aceite esencial de eneldo (*Anethum graveolens*) en función a la composición química, su capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana, se empleó el método de destilación por arrastre de vapor utilizando un equipo marca “XIAOJIAN” (Lanphan Ltd., China), el análisis estadístico se realizó mediante el diseño de superficie - respuesta utilizando el programa Design Expert 8.0.6, se establecieron 17 corridas experimentales y los factores de estudio fueron, tiempo (60, 90, 120 min) y la relación de masa/ disolvente (1:3; 1:4; y, 1:5 g/L). Los resultados obtenidos para el rendimiento del aceite esencial fueron de 1,3834 % en una proporción 1:5 g/L y un tiempo de 120 minutos. El análisis de la composición química se efectuó a través de la cromatografía de gases acoplado a un detector espectrómetro de masa en el equipo Agilent Technologies modelo: 7890^a GC System acoplado a un detector selectivo de masa 5975C inert XLMSD with Triple-Axis Detector, donde se reportó la presencia de 10 compuestos químicos presentes en el aceite esencial cuyos componentes mayoritarios fueron: Estragol (77,18 % p/v), Trans-Anetol (8,73 % p/v) y Alfa-Felandreno (5,65 % p/v), la capacidad antioxidante fue de 240,01 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ para el ensayo FRAP y 270,14 $\mu\text{mol ET}/\text{g}$ para el ensayo ABTS, para la actividad antimicrobiana se evidenció con el 0,5 mg/L de inhibición para *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATTC 39327.

Palabras claves: *Anethum graveolens*, antioxidante, capacidad mínima inhibitoria, FRAP, ABTS.

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI
FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES

THEME: “CHARACTERIZATION OF THE ESSENTIAL OIL OF DILL (*Anethum graveolens*), ACCORDING TO THE CHEMICAL COMPOSITION, ANTIOXIDANT CAPACITY AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY”

Author:

Quevedo Analuisa Marjorie Aracely

ABSTRACT

The present research was carried out in the Agroindustries laboratory of the Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources (CAREN) of the Technical University of Cotopaxi, where the extraction of essential oil from dill (*Anethum graveolens*) was characterized based on the chemical composition, its antioxidant capacity and antimicrobial activity, the steam distillation method was used using a "XIAOJIAN" brand equipment (Lanphan Ltd., China), the statistical analysis was performed by surface design - response using the Design Expert 8.0.6 program, 17 experimental runs were produced and the study factors were time (60, 90, 120 min) and the mass/solvent ratio (1:3; 1:4; and 1:5 g/L). The results obtained for the essential oil yield were 1.3834 % in a proportion of 1:5 g/l and a time of 120 minutes. The analysis of the chemical composition was carried out through gas chromatography coupled to a mass spectrometer detector in the Agilent Technologies equipment model: 7890^a GC System coupled to a 5975C inert XLMSD with Triple-Axis Detector mass selective detector, where reported the presence of 10 chemical compounds present in the essential oil whose main components were: Estragole (77.18 % w/v), Trans-Anethole (8.73 % w/v) and Alpha-Phellandrene (5.65 % w /v), the antioxidant capacity was 240.01 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ for the FRAP assay and 270.14 $\mu\text{mol TE}/\text{g}$ for the ABTS assay, for antimicrobial activity it was evidenced with 0.5 mg/L of inhibition for *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATTC 39327

Keywords: *Anethun graveolens*, antioxidant, minimum inhibitory capacity, FRAP, ABTS.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHO DE AUTOR	iii
AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	v
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	vi
AGRADECIMIENTO	vii
DEDICATORIA	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
ÍNDICE DE CONTENIDOS	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xv
ÍNDICE DE FIGURAS	xv
1. INFORMACIÓN GENERAL	1
2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	2
3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	3
4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	3
5. OBJETIVOS	4
5.1. Objetivo General	4
5.2. Objetivos específicos	4
6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS	5
7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA TÉCNICA	6
7.1. Antecedentes	6
7.2. Marco Teórico	7
7.2.1. Eneldo (<i>Anethum graveolens</i>)	7
7.2.2. Clasificación taxonómica	8
7.2.3. Características botánicas	8

7.2.4.	Constituyentes químicos.....	9
7.2.5.	Propiedades y beneficios del eneldo (<i>Anethum graveolens</i>)	9
7.2.6.	Aceites esenciales	10
7.2.7.	Métodos de Extracción de aceites esenciales	11
7.2.8.	Método de extracción por arrastre de vapor.....	13
7.2.9.	Métodos para determinar la capacidad antioxidante del aceite esencial.....	14
7.3.	Capacidad antimicrobiana de los aceites esenciales	15
7.3.1.	Capacidad inhibitoria mínima (CIM)	16
7.3.2.	Cepas microbianas	16
7.4.	Marco Conceptual.....	19
8.	VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS	20
8.1.	Hipótesis alternativa.....	20
8.2.	Hipótesis nula	20
9.	METODOLOGÍAS/DISEÑO EXPERIMENTAL.....	20
9.1.	Métodos y Técnicas	20
9.2.	Tipos de investigación.....	20
9.2.1.	Investigación cuantitativa	20
9.2.2.	Investigación cualitativa.....	21
9.2.3.	Investigación descriptiva	21
9.2.4.	Bibliográfica Documental.....	21
9.2.5.	Investigación experimental	21
9.3.	Técnicas	22
9.3.1.	Observación.....	22
9.3.2.	Materiales y equipos	22
9.4.	Metodología de extracción del aceite esencial de eneldo (<i>Anethum graveolens</i>)	24
9.4.1.	Recolección	24
9.4.2.	Selección del material vegetal.....	24

9.4.3.	Limpieza y desinfección del material vegetal	25
9.4.4.	Secado.....	25
9.4.5.	Trituración.....	26
9.4.6.	Extracción del aceite esencial por arrastre de vapor	26
9.4.7.	Separación y almacenamiento del aceite esencial	27
9.4.8.	Diagrama de flujo de la extracción del aceite esencial de eneldo (<i>Anethum graveolens</i>)	28
9.4.9.	Caracterización del aceite esencial de eneldo	29
9.4.10.	Rendimiento (%).....	29
9.5.	Caracterización de la composición del aceite esencial de eneldo (<i>Anethum graveolens</i>)	29
9.5.1.	Cromatografía de gases con selectivo de masas	29
9.6.	Determinación de la capacidad antioxidante del aceite esencial de eneldo (<i>Anethum graveolens</i>).....	30
9.6.1.	Capacidad para reducir el hierro férrico a ferroso (FRAP)	30
9.6.2.	Determinación de la actividad antioxidante por el método de captura de cationes de radicales libres ABTS	30
9.7.	Capacidad antimicrobiana del aceite esencial de <i>Anethum graveolens</i>	31
9.7.1.	Determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI)	31
9.8.	Diseño experimental	32
9.8.1.	Cuadro de variables.....	32
10.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	34
10.1.	Proceso de extracción del aceite esencial de eneldo (<i>Anethum graveolens</i>) en función al rendimiento	34
10.2.	Evaluación del modelo para el rendimiento	35
10.2.1.	Deseabilidad del proceso de extracción del aceite esencial de <i>A. graveolens</i>	39
10.3.	Composición del aceite esencial de eneldo (<i>Anethum graveolens</i>) mediante cromatografía de gases con detector selectivo de masas (MSD).....	40

10.4.	Capacidad antioxidante del aceite esencial de eneldo (<i>Anethum graveolens</i>) mediante ensayo FRAP y ABTS.....	44
10.5.	Capacidad antimicrobiana del aceite esencial de eneldo (<i>Anethum graveolens</i>) ..	45
11.	IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS).....	46
11.1.	Técnicos	46
11.2.	Sociales	46
11.3.	Ambientales.....	46
11.4.	Económicos	47
12.	PRESUPUESTO.....	48
13.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	49
13.1.	Conclusiones	49
13.2.	Recomendaciones	49
14.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
15.	ANEXOS	60

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Actividades y sistemas de tareas</i>	5
Tabla 2. <i>Clasificación taxonómica del eneldo</i>	8
Tabla 3. <i>Condiciones experimentales para el diseño de experimentos</i>	32
Tabla 4. <i>Cuadro de Variables</i>	33
Tabla 5. <i>Corridas experimentales para la extracción del aceite esencial de eneldo (A. graveolens)</i>	34
Tabla 6. <i>Parámetros del modelo codificado del contenido para el rendimiento</i>	35
Tabla 7. <i>Deseabilidad del proceso</i>	39
Tabla 8. <i>Determinación de compuestos orgánicos del aceite esencial de Anethum graveolens</i>	41
Tabla 9. <i>Resultados de la capacidad antioxidante</i>	44
Tabla 10. <i>Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de eneldo</i>	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Recolección de la materia prima Anethum graveolens</i>	24
Figura 2. <i>Selección del material vegetal de A. graveolens</i>	24
Figura 3. <i>Limpieza y desinfección del material vegetal</i>	25
Figura 4. <i>Secado del material vegetal A. graveolens</i>	25
Figura 5. <i>Trituración del material vegetal A. graveolens</i>	26
Figura 6. <i>Extracción del aceite esencial de eneldo</i>	27
Figura 7. <i>Separación y almacenamiento del aceite esencial de eneldo</i>	27
Figura 8. <i>Diagrama de flujo de la extracción del aceite esencial de eneldo (Anethum graveolens)</i>	28
Figura 9. <i>Caracterización del aceite esencial de eneldo</i>	29
Figura 10. <i>Modelo de rendimiento en porcentaje y tiempo de extracción (TIE) en minutos</i> ..	37
Figura 11. <i>Interacción entre los factores rendimiento, tiempo de extracción (TIE) y relación masa/agua (RMA)</i>	38
Figura 12. <i>Relación de los valores predicho y actual para el rendimiento</i>	39
Figura 13. <i>Optimización numérica para el modelo de rendimiento</i>	40
Figura 14. <i>Cromatografía del aceite esencial de Anethum graveolens</i>	43

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título

“Caracterización del aceite esencial de eneldo (*Anethum graveolens*), en función de la composición química, capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana”

Lugar de ejecución

Barrio: Salache Bajo. (ver nexos 1).

Parroquia: Eloy Alfaro.

Cantón: Latacunga

Provincia: Cotopaxi

Zona: 3

País: Ecuador

Institución: Universidad Técnica de Cotopaxi

Facultad que auspicia: Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Carrera que auspicia: Agroindustria

Equipo de Investigadores:

Tutor:

Quím. Rojas Molina Jaime Orlando Mg.

Postulante:

Quevedo Analuisa Marjorie Aracely

Área de Conocimiento:

Ingeniería, Industria y Construcción

Línea de investigación:

Análisis, conservación y aprovechamiento de la biodiversidad local.

Sub líneas de investigación de la Carrera:

Optimización de procesos tecnológicos agroindustriales.

2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

El Ecuador es un país con una gran biodiversidad debido a la presencia de pisos climáticos con condiciones geográficas aptas para el desarrollo de miles de especies vegetales con características botánicas únicas, flores con aromas, follaje denso y propiedades medicinales características de cada especie para remediar problemas de dolencias en los seres humanos.

Varias especies con propiedades beneficiosas son de gran importancia dentro de la tradición y cultura de la sociedad, ancestros de nuestros indígenas utilizaban a las plantas medicinales para aliviar sus dolencias, incluso para realizar rituales de sanación o predicción; ahora este conocimiento ancestral ha permitido que actualmente utilicemos varias especies vegetales con el mismo fin de sanación.

El uso de aceites esenciales a nivel mundial ha generado una continua renovación en el ámbito tecnológico debido a los diferentes métodos de extracción utilizados y que se asocia a la variación de la composición del aceite esencial, pero el método por arrastre de vapor ha sido el procedimiento más utilizado para la producción de aceites esenciales debido a su manejo sencillo (Sevillano et al. 2019), esto ha permitido utilizar los aceites esenciales en varios ámbitos de la industria con excelentes resultados.

Además, según Castro et al. (2017) menciona que el aceite esencial de eneldo presenta propiedades antimicrobianas, antifúngicas y antioxidantes, pudiendo utilizarlo para evitar el deterioro de los alimentos, por sus propiedades diuréticas, refuerza el sistema inmunológico, facilita la digestión, alivia dolores menstruales y calma las hemorroides, también en la industria alimentaria es usada como saborizante y aderezo en ciertos alimentos (Penelo, 2018).

La finalidad de esta investigación es caracterizar el aceite esencial de eneldo (*Anethum graveolens*) en función a los compuestos químicos, capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana, debido a la presencia de esta planta en varios sectores rurales de la provincia de Cotopaxi y su uso por sus propiedades medicinales y culinarias según la tradición y costumbres de los pobladores.

Con los antecedentes mencionados anteriormente se justifica la presente investigación al caracterizar el aceite esencial de eneldo (*Anethum graveolens*) en función de su capacidad antioxidante y su actividad antimicrobiana.

3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

- **Directos.**

Los beneficiarios directos será la población agrícola del cantón Saquisilí que corresponde al 17 % del total de los habitantes del cantón de acuerdo al informe PDOT 2014 – 2019 del GAD Municipal de Saquisilí que pueden dedicarse a la producción del eneldo (*Anethum graveolens*).

- **Indirectos**

Los beneficiarios indirectos será la población que a futuro consumirá el aceite esencial de eneldo (*Anethum graveolens*) para fines alimentarios, medicinales o terapéuticos. También como fuente bibliográfica para la comunidad universitaria del país.

4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

A nivel mundial se conoce que los aceites esenciales son muy apetecidos para la industria de los alimentos, cosméticos, insumos agrícolas, etc., la diversidad de plantas a nivel mundial proporciona la posibilidad de extraer los aceites esenciales y usarlas en el campo que sea requerido.

Forero et al. (2017) manifiesta que las plantas aromáticas presentan información escasa de su producción y consumo, debido a que la mayor parte de estas plantas provienen de países en vías de desarrollo, donde toda la información es ocasional, incompleta y no es fiel a la realidad.

A nivel mundial, son diez aceites esenciales que representan el 85% del mercado, estos son obtenidos de naranja, limón, menta, cedro, eucalipto, lavanda, lavandina y pinos, siendo Brasil en Latinoamérica el país que presenta un mayor índice de exportación de aceites esenciales ubicándose en el cuarto lugar (Forero et al., 2017).

La biodiversidad del Ecuador es tan heterogénea, debido a la presencia de diferentes especies en el ámbito vegetal, Cerón (2006) manifiesta que el conocimiento de las bondades de las plantas medicinales viene del conocimiento ancestral y que se ha mantenido hasta la actualidad.

El conocimiento empírico ha permitido utilizar a las plantas en el ámbito medicinal, empleando sus propiedades en beneficio de los seres humanos, en la actualidad con las nuevas tecnologías se conoce las propiedades de las plantas y sus usos en los diferentes campos agroindustriales.

Nuestro país presenta una inmensa biodiversidad vegetal, desde plantas introducidas hasta plantas endémicas, de las cuáles muchas veces no se conocen sus propiedades, por lo que es necesario actualizar un inventario nacional de especies vegetales e iniciar su estudio, basado en los conocimientos de los pueblos y la ciencia actual para el beneficio de la sociedad.

El eneldo es originario de Asia, pero adaptado favorablemente en nuestro territorio, por sus características, el aceite esencial es muy requerido de esta planta, por lo tanto, es necesario aplicar la metodología de extracción por arrastre de vapor para cuantificar la cantidad de aceite que se puede obtener de la totalidad de la planta de eneldo.

La caracterización de los compuestos bioactivos del aceite esencial de eneldo ayudarán a determinar las aplicaciones de los mismos en el aspecto medicinal, industrial, agrícola, cosmético, alimentario, entre otros, permitiendo que esta planta sea cultivada de manera intensiva para beneficio del sector agrícola de nuestra región y país.

5. OBJETIVOS

5.1.Objetivo General

- Caracterizar el aceite esencial del eneldo (*Anethum graveolens*), en función de la composición química, capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana

5.2.Objetivos específicos

- Evaluar el proceso de extracción del aceite esencial del eneldo (*Anethum graveolens*) en función al rendimiento.
- Cuantificar los compuestos volátiles del aceite esencial del eneldo (*Anethum graveolens*) mediante cromatografía de gases acoplado a un detector espectrómetro de masa.
- Determinar la capacidad antioxidante del aceite esencial de eneldo (*Anethum graveolens*) mediante la metodología de FRAP y ABTS.
- Establecer la actividad antimicrobiana del aceite esencial de eneldo (*Anethum graveolens*) mediante la concentración mínima inhibitoria (CMI).

6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS

Tabla 1.

Actividades y sistemas de tareas

Objetivos específicos	Actividades	Resultado de la Actividad	Medio de Verificación
<p>Evaluar el proceso de extracción del aceite esencial de eneldo (<i>Anethum graveolens</i>) en función al rendimiento.</p>	<p>Adquisición y selección de la materia prima. Limpieza y aseo de la planta. Eliminación de contaminantes Secamiento de la materia prima. Trituración del material vegetal. Cálculo de la materia prima a utilizar en el proceso de destilación. Aplicación del diseño experimental. Extracción del aceite esencial de eneldo (<i>A. graveolens</i>) por arrastre de vapor. Calcular el rendimiento del proceso.</p>	<p>Extracción del aceite esencial de eneldo (<i>Anethum graveolens</i>) mediante el método de arrastre de vapor. Obtención del aceite esencial de eneldo (<i>Anethum graveolens</i>). Evaluación del rendimiento del aceite esencial obtenido.</p>	<p>Diagrama de flujo de la extracción del aceite esencial de eneldo (<i>Anethum graveolens</i>). (Pág. 28) Fotografías del proceso (pág. 66, Anexo 6)</p>
<p>Cuantificar los compuestos volátiles del aceite esencial del eneldo (<i>Anethum graveolens</i>) mediante cromatografía de gases acoplado a un detector espectrómetro de masa.</p>	<p>Obtención de 1 ml de aceite esencial de eneldo (<i>A. graveolens</i>). Cuantificación de los compuestos volátiles del aceite esencial mediante cromatografía de gases acoplado a un detector espectrómetro de masa. Análisis e interpretación de los resultados obtenidos.</p>	<p>Obtención e identificación de los compuestos volátiles y orgánicos del aceite esencial de eneldo (<i>Anethum graveolens</i>).</p>	<p>Reporte de resultados del espectrómetro de masa para la identificación de compuestos volátiles (pág. 64, Anexo 5).</p>
<p>Determinar la capacidad antioxidante del aceite esencial de eneldo (<i>Anethum graveolens</i>) mediante la metodología de FRAP y ABTS.</p>	<p>Obtención de 1 ml de aceite esencial de eneldo (<i>Anethum graveolens</i>). Determinación la capacidad antioxidante del aceite esencial, mediante la metodología de FRAP y ABTS. Análisis e interpretación de los resultados obtenidos.</p>	<p>Resultados obtenidos de la capacidad antioxidante del aceite esencial de eneldo mediante método FRAP y ABTS. Interpretación de los resultados obtenidos.</p>	<p>Información de resultados de la metodología FRAP y ABTS. (Pág. 44, Tabla 9)</p>

Objetivos específicos	Actividades	Resultado de la Actividad	Medio de Verificación
Establecer la actividad antimicrobiana del aceite esencial de eneldo (<i>Anethum graveolens</i>) mediante la CMI	Obtención de 0,005 ml de aceite esencial mediante la extracción y determinar de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI), por el método de dilución en tubos. Práctica con cepas de referencia <i>Salmonella entérica</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923, <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 39327, para la determinación de la capacidad antimicrobiana en el aceite esencial de eneldo. Analizar e interpretar los resultados obtenidos.	Identificación de la actividad antimicrobiana del aceite de eneldo en las cepas bacterianas Interpretación de resultados.	Reporte del análisis microbiológico de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de eneldo. (Pág. 45, Tabla 10)

Nota: Contenido de la tabla con los objetivos específicos. Fuente: Quevedo, M. (2022)

7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA TÉCNICA

7.1. Antecedentes

Castro et al. (2017) menciona que la “Evaluación *in vitro* de la capacidad antimicrobiana del aceite esencial de eneldo (*Anethum graveolens*) como inhibidor del crecimiento de *Staphylococcus aureus*, coliformes y hongos presentes en la carne de trucha” que este aceite tiene propiedades antimicrobianas y antifúngicas, pudiendo ser utilizado para evitar el deterioro de los alimentos, donde utilizó dosis de 50 µl y 100 µl, y el método de extracción de hidrodestilación, donde el rendimiento que obtuvo fue de 1,32 % en base seca y utilizó una relación 1:5 de agua y material vegetal por 90 minutos, obteniendo la mayor inhibición con la dosis de 100 µl para coliformes totales.

En la investigación denominada “Caracterización química de aceites esenciales comerciales y evaluación de su capacidad antialimentaria y fumigante contra *Tribolium castaneum*” de Azuero (2019) manifiesta que el aceite de eneldo presentó los siguientes compuestos químicos: acetato de α -terpinilo (15,01 %), metileugenol (11,92 %) y carvacrol (9,22 %); además de, monoterpenos (52,7 %), sesquiterpenos (1,57 %) y fenilpropanos (8,23 %), donde recomienda el uso del aceite de eneldo para control de *T. castaneum* mediante fumigación”

Patiño et al., (2014) en su investigación denominada “Extracción por arrastre de vapor de aceite esencial del romero” indica que utilizó las hojas y tallos del romero, secándolos por 4 días bajo sombra, luego de aplicar el método de extracción por arrastre de vapor obtuvo 40 ml de aceite esencia a partir de 5 kg de materia seca.

Sevillano et al., (2019) manifiestan en su investigación denominada “Optimización de la extracción por arrastre de vapor de aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) utilizando diseños secuenciales” donde el principal objetivo fue evaluar el efecto de densidad de carga, flujo de vapor y condición de la materia prima en el rendimiento del aceite esencial, obteniendo el aceite esencial de las hojas del romero obteniendo el mayor rendimiento cuando la materia prima se encuentra en condición seca, una densidad de carga de 1 kg y 5kg h^{-1} de flujo de vapor de agua dando un 2,66 % de rendimiento.

7.2.Marco Teórico

7.2.1. Eneldo (*Anethum graveolens*)

El eneldo (*Anethum graveolens*) es una hierba perenne que regularmente alcanza entre 0,7 m y 1,20 m de altura en la madurez. Se utilizan las hojas frescas o secas para preparar salsas, sopas, ensaladas y otros platos. Las semillas se utilizan como especias para encurtidos y para añadir sabor a guisados y carnes asadas. El eneldo es originario del sur de Rusia, África Occidental y el Mediterráneo. Es parte de la familia Umbelliferae que también incluye cilantro y el perejil. El eneldo también se puede cultivar fácilmente en recipientes, tanto en interiores como en exteriores (Masabni, 2013).

Es utilizado tradicionalmente como una popular hierba aromática y especia que tiene una larga historia de uso que se remonta a más de 5.000 años. Se usaba como remedio para la indigestión y flatulencia y como estimulante para la secreción de leche. Además, se utiliza como anticonvulsivo, antiemético, anticalambres (en niños), cicatrizante de heridas y para aumentar el apetito y fortalecer el estómago (Ali y Al, 2014).

Callan, et al. (2007) indican que la planta de eneldo tiene un solo tallo con una flor umbelada terminal o primaria, así como umbelas secundarias y de mayor orden que se desarrollan más abajo en el tallo más adelante en la temporada de crecimiento. Esta arquitectura de la planta da como resultado la formación continua de tejido floral inmaduro en la parte inferior de la planta a medida que maduran las flores y los frutos más viejos de la umbela primaria.

Anethum graveolens L. es una importante hierba aromática anual que se usa ampliamente como especia y sus conocidas aplicaciones carminativas, estomacales y diuréticas. Pertenece la familia Apiaceae, y se distribuye en el suroeste de Asia y el Mediterráneo. Nativa del sureste de Europa, se ha cultivado desde la antigüedad y se ha encontrado que está estrechamente relacionado con las especies de eneldo indio (*A. sowa*) y eneldo europeo (*A. graveolens*). Los

países mediterráneos de Europa del Este, India y Rusia son los principales productores de aceite esencial de eneldo (Aati et al., 2022).

7.2.2. Clasificación taxonómica

Bisanti (2017), manifiesta que el nombre del género proviene del griego “anethon” (anís), que, a su vez, deriva de los antiguos egipcios. Este término puede ser traducido de distancia la enfermedad en referencia a las propiedades medicinales.

En la tabla 2 se observa la clasificación taxonómica del eneldo.

Tabla 2.

Clasificación taxonómica del eneldo

Reino	Vegetal
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Rosidae
Orden	Apiales
Familia	Apiaceae
Género	<i>Anethum</i>
Especie	<i>A. graveolens</i>

Nota: Taxonomía del eneldo tomado de Taghi et al. (2016)

7.2.3. Características botánicas

Planta anual, herbácea, de 25-50 cm., glauca, glabra, con raíz pivotante y olor fétido, los tallos son frágiles, con estrías verdes y blancas con huecos que pueden llegar a medir 1m, las hojas son tritrapinnatisectas, finamente divididas en lacinias filiformes y mucronadas, de color verde oscuro y sabor un tanto semejante al perejil, las flores son de color amarillo que aparecen agrupadas en umbrales de 15-30 radios, florece a mediados del verano el cáliz está ausente, sus pétalos son amarillos, enteros oblongos, con el ápice curvado hacia dentro, los frutos son de 5-6 mm, oval-elípticos, de color marrón oscuro, rodeados de un ala clara, la semilla es ovalada y de color pardo con un olor intenso y agradable y si se mastican tienen un sabor aromático picante. Todas las partes de la planta de eneldo contienen aceite esencial, acumulándose este aceite en las diferentes partes de la planta y cambia significativamente tanto en cantidad como en calidad durante el período vegetativo (Infoagro, 2020).

7.2.4. Constituyentes químicos

El eneldo (*Anethum graveolens*) de acuerdo a Ali y Al (2014) y Radulescu et al. (2010) indican que contiene aceites esenciales, aceite graso, humedad (8,39 %), proteínas (15,68 %), carbohidratos (36 %), fibra (14,80 %), ceniza (9,8 %) y elementos minerales como calcio, potasio, magnesio, fósforo, sodio, vitamina A y niacina. Los frutos de *A. graveolens* contienen entre 1 - 4% de aceite esencial cuyos principales compuestos son: carvona (30 – 60 %), limoneno (33 %), α -felandreno (20,61 %), incluido pineno, diterpeno, dihidrocarvona, cineol, mirceno, paramirceno, dillapiol, isomiristicina, miristicina, miristina, apiol y dillapiol. También contiene furanocumarina, 5-(4''-hidroxi-3''metilo-2''-butenilo)-6, 7-furocumarina, oxipeucedanina, hidrato de oxipeucedanina y falcarindiol.

7.2.5. Propiedades y beneficios del eneldo (*Anethum graveolens*)

Meena et al. (2019) indican que el análisis fitoquímico cualitativo y cuantitativo de la planta mostró que las hojas, tallos y raíces son ricos en taninos, terpenoides, glucósidos cardíacos y flavonoides.

Tradicionalmente, *Anethum graveolens* posee una amplia gama de propiedades antiinflamatorias. Estudios farmacológicos indican que el eneldo presenta acciones antimicrobianas, antihiperlipidémicas (disminuye los lípidos en la sangre) y antihipercolesterolémicas (previene o controla el incremento del colesterol en la sangre) de las semillas de eneldo (Saleh et al., 2018).

Los extractos de semilla de *Anethum graveolens* L. tienen importantes propiedades protectoras de la mucosa, antisecretoras y antiulcerosas contra las lesiones estomacales; además, proporcionan dos flavonoides importantes: quercetina e isoharmentina, que tienen actividad antioxidante y podrían contrarrestar los radicales libres. Este efecto puede ayudar a controlar la úlcera péptica. El extracto clorhídrico obtenido del fruto del eneldo es un potente relajante que respalda el uso en la medicina tradicional para los trastornos gastrointestinales. Los extractos crudos, además de tener fuertes efectos antihiperlipidémicos también pueden mejorar el estado antioxidante biológico al reducir la peroxidación de lípidos en el hígado y modular las actividades de las enzimas antioxidantes (Patel et al., 2019).

Entre las propiedades, se ha informado que los extractos acuosos de *Anethum graveolens* mostraron una actividad antibacteriana de amplio espectro contra *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *Shigella flexneri* y *Salmonella typhi*; Aati et al., (2022) reporta que el aceite esencial de *A. graveolens* presentó actividad antimicrobiana para gram positivos

como *S. aureus* (CP011526.1), *B. licheniformis* (KX785171.1), y *L. innocua* (DSM, 20649), y gram negativos, como *E. xiangfangensis* (CP017183.1), *E. fergusonii* (CU928158.2) y *P. aeruginosa* (NR-117678.1), también se adiciona la actividad para tres hongos *C. albicans* (MF942350), *C. parapsilosis* (MF942354) y *A. parasiticus* (CBS 100926) en una dosis de 20 µL del aceite esencial extraído de las semillas.

7.2.6. Aceites esenciales

Los aceites esenciales son extractos líquidos de plantas con propiedades aromáticas, con numerosas aplicaciones en variadas industrias. Existen varios métodos utilizados para la extracción de aceites esenciales, y cada uno de ellos presenta ciertas ventajas y determina las propiedades biológicas y fisicoquímicas de los aceites extraídos. Los aceites esenciales de las plantas llegan a contener más de 200 componentes siendo algunos volátiles y no volátiles. La aplicación de los aceites esenciales como agentes antimicrobianos, anticancerígenos, antiinflamatorios y antivirales se debe a las propiedades que presentan (Aziz et al., 2018).

Una de las definiciones de los aceites esenciales menciona que son mezclas de componentes volátiles, productos del metabolismo secundario de las plantas. Se encuentran muy difundidos en el reino vegetal, de las 295 familias de plantas, de 60 a 80 producen aceites esenciales. Las principales plantas que contienen aceites esenciales, se encuentran en familias como: compuestas, labiadas, lauráceas, mirtáceas, rosáceas, rutáceas, umbelíferas, pináceas (SENA, 2018).

Otra definición que menciona Casado (2018) citando a Steglich, et al. (2010), indica que los aceites esenciales no son sustancias puras sino una mezcla compleja de compuestos orgánicos volátiles y de carácter aromático que se pueden encontrar en algunas familias de plantas. Generalmente son los que proporcionan el olor característico, y se localizan en diversas partes de la planta como el fruto (anís, comino), la raíz (valeriana, angélica), las flores (rosa, lavanda), las hojas (eucalipto, romero) o la cáscara de los frutos (bergamota, naranja). Su concentración en la materia prima es muy baja, tanto que a veces resulta imposible su extracción. Normalmente, las plantas más usadas para la obtención de aceites esenciales contienen de media en torno al 0,5 – 5 % en masa de aceite respecto a toda la planta.

También los aceites esenciales son normalmente sustancias volátiles, líquidas a temperatura ambiente; estas propiedades los diferencian de los llamados aceites fijos. Tienen algo de color y su densidad es, por lo general, menor que la del agua. Su índice de refracción es alto y la mayoría desvían la luz polarizada. Son solubles en lípidos y disolventes orgánicos comunes y

pueden destilarse con vapor. Los aceites esenciales son muy poco solubles en agua. Los aceites esenciales son mezclas complejas de diversos constituyentes en concentraciones variables dentro de límites definidos. Estos constituyentes pertenecen, sobre todo, pero no exclusivamente, a dos grupos caracterizados por orígenes biogénicos distintos: terpenoides y sustancias biosintetizadas a partir de ácido shikímico que producen derivados de fenilpropano (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2016).

El aceite esencial de eneldo europeo (*Anethum graveolens* L.) destilado al vapor se usa ampliamente para dar sabor a alimentos y bebidas. La mayor parte del aceite se produce en los frutos, aunque las hojas y los tallos también contienen aceite (Callan et al., 2007)

Son líquidos a temperatura ambiente, aromáticos y generalmente ligeros, con densidad inferior a la del agua, aunque hay excepciones. A diferencia de los aceites vegetales son volátiles y su textura no es grasa. Sus puntos de ebullición son altos, por encima del agua. Presentan actividad óptica e índice de refracción alto, propiedades que se usan para determinar su pureza. Son insolubles en agua y otros disolventes polares, pero solubles en alcohol y en la mayoría de disolventes orgánicos como el cloroformo o la acetona (Casado, 2018). (Defina claramente el concepto y revisar tamaño de letra)

7.2.7. Métodos de Extracción de aceites esenciales

Según Rodríguez et al. (2012) manifiestan que los aceites esenciales se pueden extraer mediante diferentes métodos: prensado, destilación con vapor de agua, extracción de solventes volátiles, enfleurage y con fluidos supercríticos.

Navarrete et al. (2010) indican que los aceites esenciales pueden ser extraídos mediante prensado en frío, hidrodestilación, fluidos supercríticos e hidrodifusión con microondas y gravedad entre otros. Tradicionalmente en algunos países, son extraídos industrialmente mediante técnicas económicas viables como el prensado en frío o la destilación por arrastre de vapor.

7.2.7.1. Extracción por prensado o extrusión

La técnica del prensado se usa para obtener aceites esenciales de cáscaras, cortezas o materiales duros como las semillas, se utiliza la energía mecánica en energía térmica y se obliga al material a moverse a lo largo de un tubo mediante el uso de un tornillo. Tras descargar las semillas, estas se calientan y se preparan para entrar en el expulsor, el cual extraerá el aceite. Se seleccionan las semillas, luego pasan a ser molidas y se las somete al prensado. Las prensas pueden ser

hidráulicas o discontinuas y continuas. La actual extracción por presión se lleva a cabo casi exclusivamente por prensas continuas, debido a la economía de sus instalaciones, pero no realiza una profunda extracción de las materias grasas contenidas en sus semillas. En recipientes calentadores de doble fondo se calienta la harina (semillas molidas) a temperaturas que oscilan entre 90°C y 95°C, dependiendo del material con que se trabaje. El calentamiento busca eliminar el exceso de humedad de la harina, con lo cual se aumenta el rendimiento al lograrse mayores presiones y facilitarse la fluidez del material trabajado (Valencia, 2018).

7.2.7.2.Extracción con solventes

La muestra seca y molida se pone en contacto con solventes como alcohol o cloroformo. Estos compuestos solubilizan el aceite esencial, pero también extraen otras sustancias como grasas y ceras, obteniéndose al final una esencia impura. Se utiliza a escala de laboratorio, pues a nivel industrial resulta costoso por el alto valor comercial de los solventes y porque se obtienen esencias mezcladas con otras sustancias Rodríguez et al. (2012).

7.2.7.3.Enfleurage

El método de enfleurage se utilizan grasas naturales con puntos de ablandamiento alrededor de 40 °C, normalmente manteca de cerdo RBD (Refinada, Blanqueada, Desodorizada). Se extiende en o bandejas en profundidad no mayor a 5 mm y sobre ella se colocan los pétalos de flores o el material vegetal, desde donde se van a extraer los principios odoríficos, el contacto puede durar de 3 a 5 días. Luego el material vegetal es removido y reemplazado por material fresco, esta operación se repite buscando la saturación de la grasa. Posteriormente la grasa impregnada del principio activo, se lava con alcohol libre de congéneres (alcohol de perfumería), relación 1:1 dos veces consecutivas. El alcohol se filtra y se destila a vacío con presión de 21 mm Hg y una temperatura de 30 °C, hasta recuperar un 80 % del volumen de alcohol, como mínimo, en el fondo queda un residuo llamado “absolute” con todo el activo debido a que es más pesado (Mejía y Ortiz, 2021).

7.2.7.4.Extracción con fluidos supercrítico

Velasco et al. (2007) manifiestan que la sustancia más empleada es el CO₂, que en estas condiciones presenta baja viscosidad, baja tensión superficial, alto coeficiente de difusión (10 veces más que un líquido normal), que conlleva a un alto contacto con la superficie del material y puede penetrar pequeños poros y tejidos del material vegetal asegurando una buena eficiencia

en la extracción en un corto tiempo. En la parte final del proceso hay una remoción total del solvente y se realiza a una temperatura baja, se disminuye la pérdida de sustancias volátiles y se evita la formación de sabores y olores extraños debido a la desnaturalización del aceite esencial y por remanentes de otras sustancias empleadas en el proceso de extracción.

7.2.8. Método de extracción por arrastre de vapor

La destilación por arrastre con vapor de agua es el método más común para la obtención de aceites esenciales. Se trata de un proceso de separación por el cual, mediante el uso de vapor de agua, se vaporizan los componentes volátiles de la materia vegetal. El procedimiento consiste en hacer pasar un flujo de vapor a través de la materia prima, de modo que arrastra consigo los aceites esenciales. Posteriormente, estos vapores se enfrían y se condensan, dando lugar al destilado líquido formado por dos fases inmiscibles, la acuosa y la orgánica, que es el aceite esencial. Estas se pueden separar por decantación, gracias a la diferencia de densidad existente entre ambas (Casado, 2018).

En la destilación por arrastre con vapor de agua, la muestra vegetal generalmente fresca y cortada en trozos pequeños, es encerrada en una cámara inerte y sometida a una corriente de vapor de agua sobrecalentado, la esencia así arrastrada es posteriormente condensada, recolectada y separada de la fracción acuosa. Esta técnica es muy utilizada especialmente para esencias fluidas, especialmente las utilizadas para perfumería. Se utiliza a nivel industrial debido a su alto rendimiento, la pureza del aceite obtenido y porque no requiere tecnología sofisticada (Martínez, 2014).

La destilación al vapor es un tipo de destilación (un proceso de separación o extracción) para una planta sensible a la temperatura, como los compuestos aromáticos naturales. Alguna vez fue un método de laboratorio popular para la purificación de compuestos orgánicos, pero se ha vuelto obsoleto por la destilación al vacío. La destilación al vapor sigue siendo importante en ciertos sectores industriales (Rassem et al., 2016).

La destilación al vapor es uno de los métodos antiguos y oficiales aprobados para el aislamiento de aceites esenciales de materiales vegetales. Los materiales vegetales cargados en el alambique se someten al vapor sin maceración en agua. El vapor inyectado atraviesa las plantas desde la base del alambique hasta la parte superior. La destilación al vapor es un método en el que el vapor fluye a través del material. Este vapor funciona como agente que rompe los poros de la materia prima y libera el aceite esencial. El sistema produce una mezcla de vapor y aceite esencial deseado. Luego, este vapor se condensa aún más y se recolecta el aceite esencial. El

principio de esta técnica es que la presión de vapor combinada es igual a la presión ambiental a unos 100 °C, de modo que los componentes volátiles con puntos de ebullición que oscilan entre 150 y 300 °C pueden evaporarse a una temperatura cercana a la del agua. Además, esta técnica también se puede realizar bajo presión dependiendo de la dificultad de extracción de los aceites esenciales (Rassem et al., 2016).

7.2.9. Métodos para determinar la capacidad antioxidante del aceite esencial

Los antioxidantes son moléculas capaces de prevenir o retardar la oxidación de moléculas biológicas como proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. Son de vital importancia para la prevención de la actuación de los radicales libres sobre el organismo; disminuyendo los procesos oxidativos, retardando el proceso de envejecimiento y previniendo el desarrollo de diversas enfermedades (Rioja et al., 2018).

Otro método típico, es la capacidad de reducción del hierro (FRAP, del inglés Ferric Reducing Antioxidant Power), que evalúa el efecto combinado de las defensas antioxidantes no enzimáticas que se encuentran presentes en los fluidos biológicos, como un índice de la capacidad de resistir el daño oxidante. Este método se desarrolla bajo condiciones ácidas (pH 3.6). En presencia de antioxidantes, la forma férrica del compuesto hierro-tripiridyl-triazina (Fe^{3+} -TPTZ) se reduce a la forma ferrosa (Fe^{2+} -TPTZ). El compuesto Fe^{2+} -TPTZ produce una coloración azul intensa que tiene una absorción máxima de 593 nm, los resultados del ensayo FRAP, se ha visto que correlacionan con los antioxidantes presentes en plantas o frutos (Benítez et al., 2020).

Además, Rioja et al. (2018) indica también que las pruebas de actividad antioxidante se realizan con los sobrenadantes por los métodos estandarizados colorimétricos ABTS (ácido 2, 2'-azino-bis -3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico), FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). Ambos métodos se emplean por tener una cinética de determinación más rápida que permite ahorrar tiempo en comparación con otros métodos de determinación de la Capacidad Antioxidante Total.

7.2.9.1. Método ABTS (ácido 2, 2'-azino-bis -3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)

Este método se fundamenta en la cuantificación de la decoloración del radical ABTS^+ , debido a su reducción a ABTS por la acción de antioxidantes. El radical catiónico ABTS^+ es un cromóforo verde azulado que absorbe a una longitud de onda de 734 nm y se genera por una reacción de oxidación del ABTS (2,2'-azino-bis- (3-etil benzotiazolin-6-sulfonato de amonio)

con persulfato de potasio. De esta manera el grado de decoloración como porcentaje de inhibición del radical $ABTS^+$ está determinado en función a la concentración (Bohórquez, 2016)

Según Kuskoski et al. (2005) donde cita a Re *et al.* (1999), el radical $ABTS^+$ se obtiene tras la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato potásico (2,45 mM, concentración final) incubados a temperatura ambiente ($\pm 25^\circ\text{C}$) y en la oscuridad durante 16 h. Una vez formado el radical $ABTS^+$ se diluye con etanol hasta obtener un valor de absorbancia comprendido entre 0,70 ($\pm 0,1$) a 754 nm (longitud de onda de máxima absorción).

7.2.9.2. Método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Este método evalúa el efecto combinado de las defensas antioxidantes no enzimáticas que se encuentran presentes en los fluidos biológicos, como un índice de la capacidad de resistir el daño oxidante. Este método se desarrolla bajo condiciones ácidas (pH 3.6). En presencia de antioxidantes, la forma férrica del compuesto hierro-tripiridyl-triazina (Fe^{3+} -TPTZ) se reduce a la forma ferrosa (Fe^{2+} -TPTZ). El compuesto Fe^{2+} -TPTZ produce una coloración azul intensa que tiene una absorción máxima de 593 nm (Benzie & Strain, 1996). Los resultados del ensayo FRAP, se ha visto que correlacionan con los antioxidantes presentes en plantas o frutos (Benitez et al., 2020).

El ensayo FRAP es simple, práctico y económico y puede ofrecer un índice putativo de la capacidad antioxidante. Debido a que la reacción de FRAP con antioxidantes produce un producto de un solo color, es decir, $Fe(II)$ -TPTZ, las curvas de absorbancia versus concentración de FRAP son bien lineales en un amplio rango, y la aditividad de TAC generalmente se observa en mezclas, excepto en aquellas que contienen pequeñas -tioles moleculares y proteicos (Mesa et al., 2015).

7.3. Capacidad antimicrobiana de los aceites esenciales

La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales se relaciona con su composición química, por ejemplo, en frutos cítricos se encuentran un promedio de 40 compuestos, estos se encuentran principalmente en la cáscara de la fruta, su extracción es económicamente sostenible, debido a que la cáscara constituye una pérdida para la industria de jugos de frutas; es así que el interés de estos como agentes antimicrobianos y conservantes de alimentos abre una posible alternativa para sustituir los conservantes y antibióticos convencionales (Argote et al., 2017).

Bermúdez et al. (2019) manifiesta que estudios indican que la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales se debe a la inhibición o interacción de la mezcla de compuestos con múltiples blancos en la célula. Por ejemplo, su propiedad hidrofóbica, que resulta en la ruptura de la membrana lipídica de la membrana celular, aumentando su permeabilidad, lo que ocasiona la pérdida del contenido celular vital y su posterior muerte.

Pruebas microbiológicas indican que los aceites esenciales, en general a altas concentraciones inhiben la actividad antimicrobiana. Por ejemplo, el aceite de zacate limón cumple la función de fungicida en concentraciones de 1:5 y 1:10; mientras que el aceite de albahaca en concentraciones de 1:5 y 1:10 presentó resultados similares al zacate limón como fungicida. De igual manera, los aceites esenciales presentaron un comportamiento antimicrobiano frente a las coliformes totales, presentes en los alimentos como en el agua de consumo doméstico (Vanoye et al., 2022).

7.3.1. Capacidad inhibitoria mínima (CIM)

Cuando se quiere evaluar la sensibilidad de los microorganismos frente a un nuevo compuesto antimicrobiano se aplican métodos fenotípicos como la dilución o la difusión. Mientras las técnicas de difusión nos permiten hacer un screening inicial sobre la capacidad antimicrobiana de los compuestos a estudiar, las técnicas de dilución nos permiten determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), entendida como la concentración mínima de antimicrobiano que impide el crecimiento de un microorganismo en las condiciones del ensayo (Pérez & Rivas, 2021).

La cuantificación de la actividad in vitro de los antimicrobianos se evalúa habitualmente mediante algunas de las variantes de los métodos de dilución. La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se define como la mínima concentración de antimicrobiano (en μ gramo/mL) que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo después de 24 horas de incubación a 37 °C. La CMI se ha establecido como “Estándar dorado” frente a otros métodos que evalúan la susceptibilidad antimicrobiana; además de confirmar resistencias inusuales, da respuestas definitivas cuando el resultado obtenido por otros métodos es indeterminado (Andrews, 2001).

7.3.2. Cepas microbianas

7.3.2.1. Salmonella enterica

El género *Salmonella* pertenece a la familia Enterobacteriaceae y está constituido por bacterias gramnegativas, intracelulares facultativas, que se han agrupado en las especies *S. enterica* y *S.*

bongori. Sin embargo, el potencial patogénico está representado por *S. enterica* y por sus más de 2.600 serotipos descritos hasta la fecha (Barreto et al., 2016).

Sin embargo, tienen diferencias importantes tales como el rango de hospederos a los cuales infectan y los síntomas clínicos de la enfermedad que producen. Es así como *S. enterica* serovar *Enteritidis* (*S. Enteritidis*) y *S. enterica* serovar *Typhimurium* (*S. Typhimurium*) poseen un amplio rango de hospederos y la mayoría de las veces generan una enfermedad gastrointestinal en el ser humano, infección sistémica en el ratón y un cuadro crónico asintomático en aves. Otros serovares en cambio, tienen una alta especificidad de hospedero y generalmente causan la enfermedad en una única especie animal, como es el caso de *S. enterica* serovar *Typhi* (*S. Typhi*), que afecta sólo al ser humano generando una enfermedad sistémica denominada fiebre tifoidea (Uzzau et al., 2000).

Salmonella se transmite por la ruta fecal-oral, ya sea directamente, o bien indirectamente, a través de los alimentos. Es capaz de sobrevivir la acidez del estómago y la alta osmolaridad del intestino delgado, induce su internalización por las células epiteliales intestinales del íleon y resiste la fagocitosis mediada por las células dendríticas y macrófagos, logrando colonizar el tejido linfoide subyacente y los ganglios linfáticos mesentéricos (Dandekar et al., 2014).

7.3.2.2. *Staphylococcus aureus* ATTC25923

Staphylococcus aureus es una bacteria de gran importancia debido a su participación en diferentes patologías, esto dado por la intervención de los distintos factores de virulencia y patogenicidad, codificados por los diversos genes que son aumentados a lo largo de su ciclo de vida. Se conoce que este microorganismo es de difícil tratamiento y es capaz de colonizar e invadir las células de su hospedero, lo cual es posible debido a su fisiopatología, donde se encuentran mecanismos de resistencia como la formación de biopelícula las cuales crean una matriz extracelular conformada principalmente por proteínas, poli actualmente conocido como sacáridos y ácidos nucleicos. La formación de esta matriz causa que la interacción de los antibióticos con las bacterias no se dé de manera adecuada que resulte en fallas en los tratamientos (Pasachova et al., 2019).

Staphylococcus aureus es una bacteria cocoide coagulasa positiva, Gram positiva, inmóvil, del filo Firmicutes. Aunque el género *Staphylococcus* incluye 52 especies y 28 subespecies, *S. aureus* es, con mucho, el más relevante desde el punto de vista clínico. *S. aureus* se encuentra en la microbiota comensal humana de la mucosa nasal en el 20-40 % de la población general. La prevalencia informada varía debido a las diferencias en el tamaño y la demografía de las

poblaciones de estudio, la calidad del muestreo y las técnicas de cultivo utilizadas. Cuando las barreras cutáneas y mucosas se rompen, por ejemplo, debido a enfermedades crónicas de la piel, heridas o intervención quirúrgica, *S. aureus* puede acceder a los tejidos subyacentes o al torrente sanguíneo y provocar una infección. Las personas con dispositivos médicos invasivos (como catéteres venosos centrales y periféricos) o sistemas inmunitarios comprometidos son particularmente vulnerables a la infección por *S. aureus* (Lee et al., 2018).

7.3.2.3. *Escherichia coli* ATTC25922

La *Escherichia coli* es una bacteria que se encuentra en el sistema digestivo de los animales y de los seres humanos, y al ser parte de la flora intestinal se puede utilizar como indicador favorito para detectar y medir la contaminación fecal en la evaluación de la seguridad de los alimentos y el agua. Por lo general, son comensales inofensivas, que constituyen el 1 % de la población microbiana del tracto gastrointestinal; pero algunas *E. coli* son patógenas y pueden contaminar los alimentos, el agua y el medioambiente. Diferentes cepas de *E. coli* que causan enfermedades humanas se clasifican según el tipo de síntomas que producen; se ha encontrado que, de los cinco grupos de 92 cepas, *E. coli* serotipo O157:H7 (Enterohemorrágica, ECEH) es la más importante porque se ha considerado un patógeno emergente en relación con la salud pública por ser la causante de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS) en el mundo (Franco et al., 2013).

Escherichia coli es un comensal del intestino de los vertebrados que está cada vez más implicado en diversas infecciones intestinales y extraintestinales como patógeno oportunista, es una bacteria presente en el intestino distal de los organismos de sangre caliente donde la mayoría de las cepas de *E. coli* son inocuas, pero ciertos tipos pueden causar graves intoxicaciones alimentarias. “La mayoría de las cepas de *E. coli* son inofensivas. Sin embargo, algunas de ellas, como *E. coli* productora de toxina Shiga, pueden causar graves enfermedades a través de los alimentos (Linzitto y Tunes, 2019).

7.3.2.4. *Pseudomonas aeruginosa* ATTC 39327

Paz et al. (2019) manifiesta que *P. aeruginosa* es un patógeno ubicuo, oportunista y bastante persistente en el medio ambiente presenta esta bacteria una forma de bastón aproximadamente de 0,5-1 μm de diámetro y 1,5-5 μm de largo. Posee un flagelo polar que le confiere la motilidad necesaria. Es considerada como una bacteria aerobia facultativa por la capacidad que tiene para crecer en medios anaerobios tomando el nitrógeno o arginina como terminal de aceptación de

protones. Este patógeno ubicuo en el medio ambiente puede llegar a persistir de manera eficaz en el agua y en el suelo viviendo con un requerimiento nutricional mínimo y tolerando diversos medios físicos. Puede crecer entre 20 y 43°C, y al crecer en altas temperaturas se diferencia del resto de las otras especies de *Pseudomonas*.

Azam y Asad, (2019) indica que *P. aeruginosa* es una especie bacteriana patógena que causa infecciones y enfermedades tanto en plantas como en animales, incluidas varias enfermedades humanas, especialmente en pacientes inmunocomprometidos, y muchas infecciones adquiridas en hospitales. Dado que *P. aeruginosa* es un patógeno oportunista, la aparición de resistencia antimicrobiana dificulta su tratamiento y erradicación.

Mientras que Tran et. al., (2020) menciona que *P. aeruginosa* es una especie Gram negativa ubicua, reconocida como unas de las bacterias más amenazantes para la vida y catalogado como patógeno prioritario por la Organización Mundial de la Salud (OMS).

7.4. Marco Conceptual

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

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

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

7.4.4. Antiemética: Impide o evita el vómito.

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

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

7.4.7. CMI: Es la concentración mínima inhibitoria que determina la concentración más baja (en µg/ml) de un antibiótico que inhibe el crecimiento de una determinada cepa bacteriana.

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

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

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

7.4.11. Inhibitorio: Que impide la manifestación de una reacción o conducta.

7.4.12. Lignificación: Proceso de desarrollo de la planta.

7.4.13. Lixiviación: Extracción de la materia soluble de una mezcla mediante la acción de un disolvente líquido.

7.4.14. Microambiente: Son las células, moléculas y estructuras que rodean y sostienen otras células y tejidos.

7.4.15. Microbiota: Es el conjunto de microorganismos vivos o bacterias que se encuentran en el intestino o tubo digestivo del organismo humano.

7.4.16. Odoríferas: Que tiene buen olor y fragancia.

7.4.17. Taninos: Sustancia que se extrae de la corteza de algunos árboles.

8. VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS

8.1. Hipótesis alternativa

La relación masa / disolvente y tiempo, influyen significativamente en el rendimiento de la extracción aceite esencial de eneldo (*Anethum graveolens*).

8.2. Hipótesis nula

La relación masa / disolvente y tiempo, no influyen significativamente en el rendimiento de la extracción aceite esencial de eneldo (*Anethum graveolens*).

9. METODOLOGÍAS/DISEÑO EXPERIMENTAL

9.1. Métodos y Técnicas

Para la realización de esta investigación se procedió a tomar en cuenta los tipos de investigación: bibliográfico documental, la investigación cuantitativa, cualitativa, descriptiva y experimental.

9.2. Tipos de investigación

9.2.1. Investigación cuantitativa

Hernández Sampieri et al. (2016) indica que la investigación cuantitativa se utiliza para la recolección de datos para probar hipótesis con base en la medición numérica y utilizando análisis estadístico, para establecer pautas de comportamiento y probar teorías.

La investigación es cuantitativa, porque se aplicó el análisis químico para determinar las cantidades de compuestos químicos que presenta el aceite esencial de eneldo (*Anethum graveolens*). Además, en el proceso de extracción del aceite esencial, se utilizó variables

continuas que ayudaron a obtener los resultados óptimos del proceso como también metodologías de análisis químico.

9.2.2. Investigación cualitativa

La investigación cualitativa usa la recolección y análisis de datos para responder las preguntas de investigación, además pueden desarrollar preguntas o hipótesis antes, durante y después para perfeccionarlas o responderlas (Hernández Sampieri et al., 2016)

La investigación cualitativa permitió seleccionar la especie vegetal, de acuerdo a las características morfológicas y taxonómicas. Además, se utilizó metodologías cromatográficas para la identificación de compuestos químicos del aceite esencial.

9.2.3. Investigación descriptiva

La investigación descriptiva permite conocer las características del fenómeno donde se aplican análisis estadísticos para los datos recolectados y plantear hipótesis que ayuden a la caracterización del fenómeno en estudio (Ramos, 2020).

La investigación descriptiva se aplicó en la descripción, discusión e interpretación de resultados, donde mediante el estudio de cromatografía de gases se describieron los compuestos químicos del aceite esencial de eneldo, su capacidad antioxidante y su actividad antimicrobiana.

9.2.4. Bibliográfica Documental

La investigación documental es una técnica de la investigación cualitativa que recolecta, recopila y selecciona información de las lecturas de documentos, revistas, libros, grabaciones, filmaciones, periódicos, artículos resultados de investigaciones, memorias, etc.; donde la observación está presente en el análisis, identificación, selección y articulación con el objeto de estudio (Reyes y Carmona, 2020).

La investigación se respaldó en la revisión de bibliografía, documentos, revistas digitales de investigaciones realizadas anteriormente que servirá de base para el contexto del marco teórico y la fundamentación de los resultados obtenidos en relación con el trabajo de investigación.

9.2.5. Investigación experimental

Según Fidias (2015) citado por (Ramos, 2020) manifiesta que la investigación experimental es un proceso que consiste en someter a un objeto o grupo de individuos en determinadas condiciones, estímulos o tratamiento (variable independiente), para observar los efectos o reacciones que se producen (variable dependiente).

La investigación utilizó un diseño experimental de superficie respuesta, donde se emplearon factores de relación masa/disolvente y tiempo, evaluando el rendimiento del proceso, para obtener las condiciones óptimas de extracción del aceite esencial eneldo (*Anethum graveolens*).

9.3. Técnicas

9.3.1. Observación

La observación es la técnica más eficaz para llevar a cabo una investigación descriptiva, recopilando objetivamente datos centrados en números y valores o utilizando métodos de análisis estadísticos (Guevara et al., 2020).

La técnica de la observación científica permitió identificar el estado fenológico ideal del eneldo (*Anethum graveolens*) para la extracción del aceite esencial.

En la etapa de extracción y caracterización del aceite esencial, se recurrió al registro de las observaciones para su posterior evaluación y obtención de resultados.

9.3.2. Materiales y equipos

9.3.2.1. Material vegetal

- Eneldo (*Anethum graveolens*)

9.3.2.2. Materiales de laboratorio

- Tubos de ensayo 10 mL
- Balones aforados vidrio 5 mL
- Balones aforados 10 mL
- Pipeta volumétrica de vidrio 10 mL
- Varilla de agitación
- Vasos de precipitación (250mL)
- Cajas Petri
- Gradillas
- Pinzas
- Papel filtro

9.3.2.3. Equipos

- Cromatógrafo de gases con espectrometría de masas (GC-MS) en un equipo Agilent Technologies 5975 inert XL MSD with Triple-Axis Detector.
- Espectrofotómetro GENESYS 20 Modelo 4001/4j
- Incubador Biocell modelos M345

- Extractor por arrastre de vapor “XIAOJIAN” (Lanphan Ltd., China)
- Balanza Analítica (0,0001g)
- Micropipeta automática 100-1000µl Microlit.
- Estufa universal por convención UN30
- Equipo con trampa Clevenger

9.3.2.4.Reactivos

- Agua destilada
- Reactivo ABTS (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt).
- Agar nutritivo
- Agar Mueller Hilton
- Cloruro Férrico
- Acetato de sodio
- Reactivo TPTZ (2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride)
- Sal de Mohr
- Ácido clorhídrico
- Carbonato de sodio
- Folling
- Ácido gálico
- Etanol 99.8 %
- Agua destilada
- Sulfato de sodio
- Trolox grado analítico

9.3.2.5.Cepas microbianas

- *Salmonella enterica*
- *Staphylococcus aureus* ATTC25923
- *Escherichia coli* ATTC25922
- *Pseudomonas aeruginosa* ATTC 39327

9.4. Metodología de extracción del aceite esencial de eneldo (*Anethum graveolens*)

9.4.1. Recolección

El material vegetal se recolectó en la etapa fenológica de floración, la cual se cosechó de una manera manual en los campos en el sector rural del cantón Saquisilí, provincia de Cotopaxi, como se observa en la figura 1.

Figura 1.

Recolección de la materia prima Anethum graveolens



Fuente: Quevedo, M. (2022)

9.4.2. Selección del material vegetal

Se seleccionó la planta de eneldo en etapa de floración y sin síntomas de enfermedades, ataque de plagas, deformaciones o fisiopatías, como se observa en la figura 2.

Figura 2.

Selección del material vegetal de A. graveolens



Fuente: Quevedo, M. (2022)

9.4.3. Limpieza y desinfección del material vegetal

Se procedió a limpiar y desinfectar con una solución acuosa de hipoclorito de sodio 0,1 %, con el fin de eliminar contaminantes presentes en el material vegetal para proceder posteriormente al secado, como se observa en la figura 3.

Figura 3.

Limpieza y desinfección del material vegetal



Fuente: Quevedo, M. (2022)

9.4.4. Secado

Se procedió a secar el material vegetal en una estufa a 40 °C, por un lapso de tiempo de 48 horas, obsérvese en la figura 4.

Figura 4.

Secado del material vegetal A. graveolens



Fuente: Quevedo, M. (2022)

9.4.5. Trituración

Se realizó cortes de la planta con la ayuda de una tijera podadora, hasta obtener cortes de 2 cm, para que el proceso de penetración del vapor agua en los tejidos vegetales sea eficiente, como se observa en la figura 5.

Figura 5.

Trituración del material vegetal A. graveolens



Fuente: Quevedo, M. (2022)

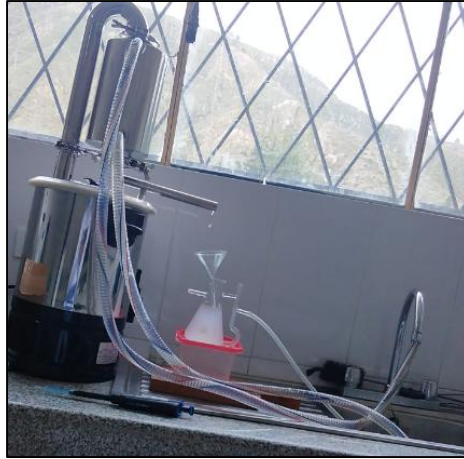
9.4.6. Extracción del aceite esencial por arrastre de vapor

Se procedió a colocar el material vegetal de eneldo y agua destilada, en un extractor por arrastre de vapor (Lanphan Ltd., China), para la extracción del aceite esencial se utilizaron las siguientes condiciones:

- Tiempo (A) 60, 90 y 120 minutos,
- Relación material/agua destilada (B) 1:3, 1:4 y 1:5, la temperatura del proceso se mantuvo en función de la temperatura de ebullición del agua (100 °C).
- Una vez iniciado el proceso se recolecta las gotas que van cayendo durante la extracción de aceite esencial (Patiño et al., 2014).

Figura 6.

Extracción del aceite esencial de eneldo



Fuente: Quevedo, M. (2022)

9.4.7. Separación y almacenamiento del aceite esencial

Para la separación del aceite esencial de eneldo en agua hidrolatada se utilizó una trampa de Clevenger, que permitió recopilar el aceite en un vaso de precipitación debido a la flotación en la superficie, posteriormente se filtró la muestra, y se envasó en frascos ámbar para almacenarlo a temperatura de refrigeración aproximada de 5°C.

Figura 7.

Separación y almacenamiento del aceite esencial de eneldo

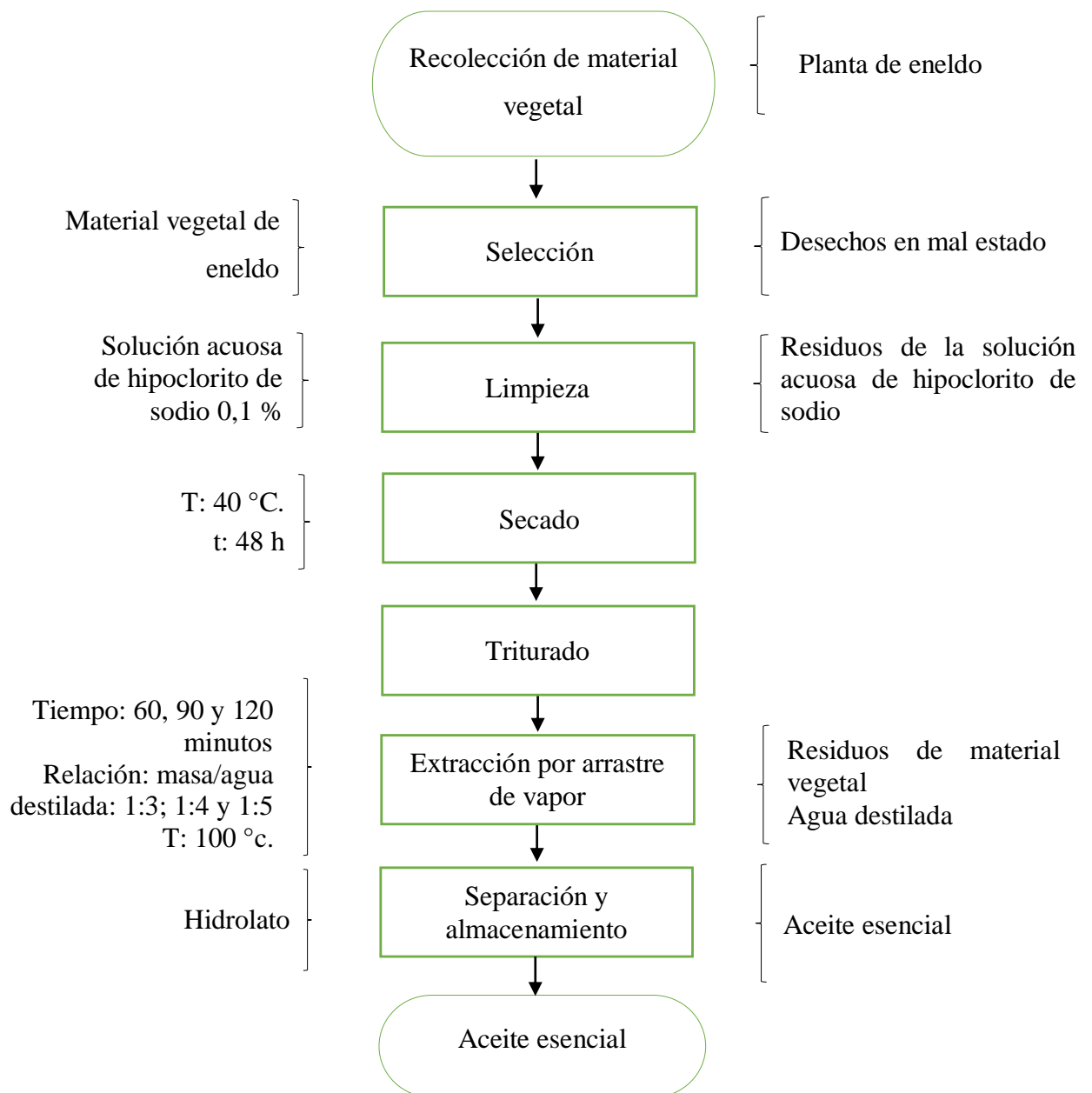


Fuente: Quevedo, M. (2022)

9.4.8. Diagrama de flujo de la extracción del aceite esencial de eneldo (*Anethum graveolens*)

Figura 8.

Diagrama de flujo de la extracción del aceite esencial de eneldo (*Anethum graveolens*)



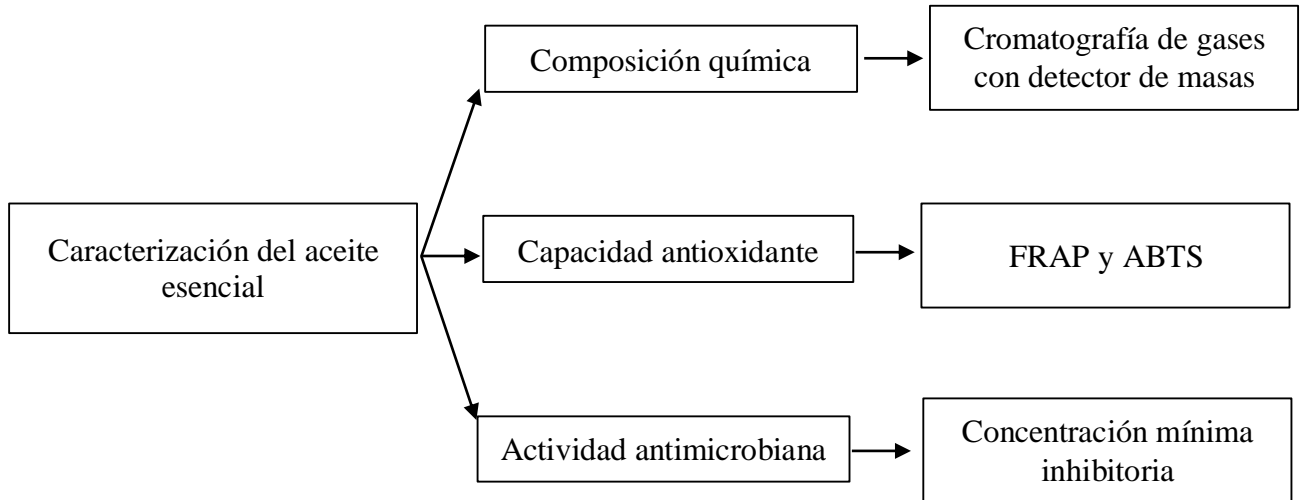
Nota: La figura representa el diagrama de flujo para la extracción del aceite esencial de eneldo.

Fuente: Quevedo, M. (2022).

9.4.9. Caracterización del aceite esencial de eneldo

Figura 9.

Caracterización del aceite esencial de eneldo



Nota: En la figura se indica cuáles son los procesos de la caracterización del aceite esencial de eneldo. Fuente: Quevedo, M. (2022)

9.4.10. Rendimiento (%)

Los rendimientos de aceite esencial de eneldo de cada corrida experimental, se expresaron en gramos de aceite por 100 g de material vegetal, según la ecuación propuesta por Córdova et al. (2020):

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{Masa de aceite esencial obtenido (g)}}{\text{Masa del peso seco de eneldo (g)}} \times 100$$

9.5. Caracterización de la composición del aceite esencial de eneldo (*Anethum graveolens*)

9.5.1. Cromatografía de gases con selectivo de masas

El análisis de la composición química del aceite esencial de eneldo se realizó utilizando un cromatógrafo de gases con espectrometría de masas (GC-MS) en un equipo de cromatografía de gases Agilent Technologies modelo: 7890 GC System acoplado a un detector selectivo de masa 5975C inert XLMSD with Triple-Axis Detector.

Según la metodología aplicada por Córdova et al., (2020) donde indican los siguientes pasos para realizar el análisis cromatográfico: la temperatura del inyector debe ser de 240 °C, se

añadió 1 ml de solución de patrón interno (ácido C13:0, a 10 mg. ml en metanol), y 3 ml de cloruro de acetilo al 10 % (v/v) en metanol, luego se cerró el tubo de ensayo y se llevó a 85°C durante 2 horas, aplicando agitación discontinua, se enfrió y se añadieron 4 ml de hexano y 4 ml de agua destilada, posteriormente se adicionaron 4 ml de etanol y se agitó de manera manual por unos segundos, se colocó una alícuota de 3 ml de la fase orgánica en otro tubo de ensayo, en el que se adicionaron 4 ml de hexano, 4 ml de hidróxido de sodio y 1 ml en metanol, se cerró y agitó por 15 minutos, se adicionaron 4 ml de agua destilada y nuevamente se agitó por 15 minutos más, se dejó en reposo, se transfirió una alícuota de 2 ml hacia un vial de 4 ml de capacidad, del que se tomaron 60 μ l, y se diluyeron en 1,5 ml de hexano para el respectivo análisis.

9.6. Determinación de la capacidad antioxidante del aceite esencial de eneldo (*Anethum graveolens*)

9.6.1. Capacidad para reducir el hierro férrico a ferroso (FRAP)

El ensayo de antioxidantes reductores férricos (FRAP) se realizó de la siguiente manera: el reactivo se preparó mezclando 10 mmol/L de reactivo TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina) con 20 mmol/L de cloruro férrico en tampón acetato (pH 3,6). Los resultados cuantitativos se calcularon utilizando una curva de calibración de sulfato ferroso utilizada como estándar externo (0,02–1,5 μ mol/mL). Antes de análisis, los extractos de propóleo se diluyeron 20-200 veces y 20 μ L de las soluciones de extracto se mezcló con 200 μ L de complejo férrico. Los resultados se calcularon y expresaron como micromoles de Fe²⁺ por gramo de propóleo. La absorbancia lumínica ($\lambda = 593$ nm) se leyó en cubetas de poliestireno óptico utilizando un espectrofotómetro. Todas las mediciones se realizaron por triplicado (Svečnjak et al., 2020).

9.6.2. Determinación de la actividad antioxidante por el método de captura de cationes de radicales libres ABTS

La actividad antioxidante del aceite esencial, se realizó a través de la metodología de captura del catión radical ABTS. Se utilizó trolox como estándar antioxidante y los resultados se expresaron en términos de la capacidad antioxidante del compuesto equivalente de trolox, expresada en valor TEAC (Capacidad Antioxidante Equivalente Trolox, capacidad antioxidante total del compuesto equivalente trolox).

La solución catiónica radical se preparó haciendo reaccionar ABTS 3,5 mM con persulfato potásico 140 mM. Para completar la reacción y la estabilización radical, la solución radical

ABTS permaneció protegida de la luz, en temperatura ambiente por un período de 16 horas. La solución de ABTS se diluyó en etanol hasta obtener una absorbancia de $0,7 \pm 0,05$ a 734 nm. La curva de calibración estándar de Trolox se realizó a concentraciones de 100, 250, 500 y 1000 μM . Las concentraciones utilizadas para construir la curva de calibración para la capacidad antioxidante del aceite esencial fueron de 1000, 2000, 4000, 6000, 8000 y 10000 $\mu\text{g/mL}$ en el medio ambiente oscuro, se transfirió una alícuota de 30 μL de cada solución estándar a tubos de ensayo y se agregó 3,0 mL de la solución radical ABTS. Las absorbancias se midieron a 734 nm después de 6 min de reacción (Kuskoski et al., 2005).

9.7.Capacidad antimicrobiana del aceite esencial de *Anethum graveolens*

Se evaluó el efecto del aceite esencial de eneldo sobre varias cepas bacterianas correspondientes a la colección de la Universidad Técnica de Cotopaxi: *Salmonella entérica* U822s, *Staphylococcus aureus* ATTC25923, *Escherichia coli* ATTC25922, *Listeria monocytogenes* ATTC 19115, siendo estas cepas microbianas activadas con anticipación, se las sembró en un medio de cultivo de agar nutritivo para determinar la viabilidad en el ensayo de susceptibilidad microbiana.

9.7.1. Determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI)

Se adaptó el Método de dilución en agar propuesto por Griffin et al., (2000), donde se realizó de la siguiente manera: se cultivó a partir de las cepas microbianas referenciales para la investigación, utilizando 10 mL de agar Mueller - Hinton y se incubaron a 37 °C por un lapso de 48 horas.

Para la preparación de las cajas de Petri, se utilizó agar Mueller – Hinton adicionándole Tween 20 al 0,5 % y se añadió el aceite esencial de eneldo a partir de alícuotas de 15 mL de agar para dar concentraciones de 0; 0,1; 0,5; 1, 3 y 5 % v/v.

Se procedió a pipetear 10 μl de cada cepa sobre la superficie del agar y se incubó a 37 °C por 24 horas. En tubos de ensayo se colocaron 1 mL de las diluciones del aceite esencial con 1 ml del inóculo microbiano (106 ufc/mL suspendidos en caldo Mueller Hinton). Los tubos se incubaron a 32 ± 2 °C (bacterias) y a 25 ± 1 °C (hongos) durante 24 horas. Transcurrido este tiempo, se sembró 1ml del contenido de los tubos, empleando medios apropiados para el crecimiento de cada microorganismo y se incubaron a las temperaturas referidas anteriormente. La CMI se determinó como la menor concentración del aceite esencial capaz de inhibir el crecimiento microbiano.

9.8. 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 evidencia la tendencia de las condiciones del proceso.

Para definir las condiciones óptimas del proceso, en el diseño experimental se evaluó los factores: tiempo (A) y relación material/agua destilada (B), y se valoró como variable respuesta el rendimiento tomando como referencia a Castro et al. (2017). En la Tabla 3 se muestra los intervalos a valorar en la experimentación para cada factor.

Tabla 3.

Condiciones experimentales para el diseño de experimentos

Factor	Nomenclatura	UM	Tipo	Subtipo	Mínimo	Máximo
Tiempo	A	Min	Numérico	Discreta	60	120
Relación material/agua destilada	B	g/L	Numérico	Discreta	1:5	1:3

Nota: Distribución de factores para el diseño experimental. Fuente: Quevedo, M. (2022)

Mediante el programa Design Expert 8.0.6, utilizando el diseño de superficie respuestas IV Óptimo y las condiciones experimentales, se establecieron 17 corridas que son presentadas en la Tabla 5.

9.8.1. Cuadro de variables

Las variables que se evaluaron en la investigación de la extracción de aceite esencial de eneldo (*Anethum graveolens*) se presenta en el siguiente cuadro donde se describen los parámetros a evaluar y sus indicadores:

Tabla 4.
Cuadro de Variables

Variable Dependiente	Variable Independiente	Indicadores	Dimensiones
Aceite esencial de eneldo (<i>Anethum graveolens</i>)	Tiempo Relación material/agua destilada	Condiciones óptimas de la extracción	minutos (min) g.L ⁻¹
		Verificación de las condiciones óptimas de extracción.	minutos (min) g.L ⁻¹
		Características del aceite esencial de Eneldo	Porcentaje (%)
		Capacidad antioxidante	Porcentaje (%)
		Capacidad antimicrobiana	μmol ET /g y μmol Fe ²⁺ /g
			mg/L

Nota: Descripción de las variables evaluadas en la investigación. Fuente: Quevedo, M., 2022.

10. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

10.1. Proceso de extracción del aceite esencial de eneldo (*Anethum graveolens*) en función al rendimiento

Castro et al. (2017) manifiesta que se evaluó dos proporciones de agua (1:5 y 1:6) y los tiempos de extracción fueron de 60 y 90 minutos con una temperatura promedio de 92 °C y una presión atmosférica de 14,8 PSI, posteriormente utilizaron la metodología de separación de fases con la ayuda de un embudo de decantación; se obtuvo un rendimiento de 1,32 % con la relación 1:5 (eneldo: agua destilada) durante 90 minutos.

En la tabla 5 se observa que en la investigación se realizaron tres relaciones de material vegetal y agua (1:3; 1:4 y 1:5), con tres períodos de tiempo 60, 90 y 120 minutos, donde se obtuvieron los resultados para el mayor porcentaje de rendimiento donde la relación 1:5 con un tiempo de 120 minutos alcanzando un rendimiento de 1,3834 % de aceite esencial de *A. graveolens*, corroborando los resultados obtenidos en la investigación.

Tabla 5.

Corridas experimentales para la extracción del aceite esencial de eneldo (A. graveolens)

Corrida	Tiempo (min)	Relación material/agua destilada	Rendimiento (%)
1	90	3	1,0812
2	120	3	1,3632
3	60	2	0,6345
4	90	2	0,9311
5	60	2	0,609
6	60	3	0,8365
7	120	1	1,1134
8	120	2	1,2201
9	60	1	0,5576
10	90	2	0,9762
11	90	1	0,7834
12	120	1	1,0874
13	90	1	0,7201
14	60	3	0,8782
15	120	2	1,1987
16	90	3	1,0576
17	120	3	1,3834

Concentraciones: 1. 1:3; 2. 1:4; 3. 1:5

Nota: Modelo lineal. Fuente: Quevedo, M. (2022)

10.2. Evaluación del modelo para el rendimiento

El modelo de superficie respuesta aplicado en la investigación permitió obtener los rendimientos mediante 17 corridas de datos para la extracción del aceite esencial de *A. graveolens* donde se observa en la tabla 5 un rango de datos entre 0,5576 y 1,3834 %.

Ozliman et al. (2021) reporta que encontró diferencias estadísticas significativas en el rendimiento del aceite esencial de *A. graveolens*, debido a la fertilización y manejo de suelo aplicado en el cultivo de la planta, donde obtuvo por separado 0,26 a 0,72 % en tallos; 0,27 a 1,70 % en las hojas; y, 4,58 a 6,18 % en semillas.

Charles et al., (1995) manifiesta que el contenido de aceite esencial de *A. graveolens* se encontró en un rango de 0,10 a 0,30 % en tallos frescos, mientras que en semillas se encontró entre 1,75% a 4 %. Mientras que Rana y Blazquez, (2014) indican que el aceite esencial se aisló mediante el método de hidrodestilación convencional de las partes aéreas y frescas de *A. graveolens*, además se usó un aparato tipo Clevenger y reportan que el rendimiento del aceite fue del 0,3 % en peso fresco.

La Tabla 6, expone los datos de la matriz experimental obtenidos mediante un diseño de superficie respuesta, donde se obtuvo un modelo lineal para ajustar la ecuación matemática para el rendimiento como variable respuesta.

Obteniendo significación estadística para TIE (Tiempo de extracción) y RMA (Relación masa/agua).

Tabla 6.

Parámetros del modelo codificado del contenido para el rendimiento

Indicador	Rendimiento (%)
Intercepto	0,94
X _{TIE}	0,28*
X _{RMA}	0,16*
R ²	0,9811
R ² ajustado	0,9768
R ² predicho	0,9681
F modelo	225,26*
F falta de ajuste	4,32
Precisión adecuada	45,702

RMA: relación masa/agua

TIE: tiempo de extracción

*Valor significativo para $p \leq 0,05$.

Nota: Tabla de datos generada por el Software Design-Expert® 8.0.6 con datos experimentales.
Fuente: Quevedo, M. (2022)

El aceite esencial de *A. graveolens* ha sido estudiado por muchos años, pero según Charles et al., (1995) indica que el contenido total de aceite esencial y su composición puede variar debido a los diferentes métodos de aislamiento y determinación, su origen geográfico, las condiciones ambientales del cultivo y su estado fenológico de crecimiento al momento de la cosecha.

Los resultados del modelo codificado de rendimiento, se muestran en la Tabla 6, se observa que el valor X_{TIE} que hace referencia al tiempo y presenta significancia estadística para $p \leq 0,05$ es mayor e influye en el proceso del rendimiento, esto demuestra que mientras mayor es la relación masa/agua, mayor será el tiempo de extracción y por ende mayor será el rendimiento del aceite esencial.

Además, el modelo matemático expuesto en la tabla 6 se determinó que X_{TIE} (tiempo de extracción), X_{RMA} (relación masa/agua) y F modelo son positivos, resultandos significativos estadísticamente, dando a conocer que los dos factores evaluados tienen influencia directa con el rendimiento del aceite esencial.

De acuerdo a Gutiérrez y Vladimirovna (2016) indica que mientras más cerca el R^2 esté al valor de 1, el modelo estadístico tiene mejor ajuste de los datos indicando que existe una predicción perfecta de los datos obtenidos en la investigación.

El valor alcanzado por el coeficiente de determinación (R^2) fue de 0,9811 que se acerca al valor de 1, esto indica que existe una confiabilidad de 98,11% garantizando el modelo lineal aplicado en la investigación, esto nos proporciona un valor de predicción ideal en la extracción del aceite esencial, llegando a concluir que las variables utilizadas, es decir, tiempo de extracción y relación masa/agua presentan significancia estadística para el análisis de los datos obtenidos en el proceso de extracción por el método de vapor de agua.

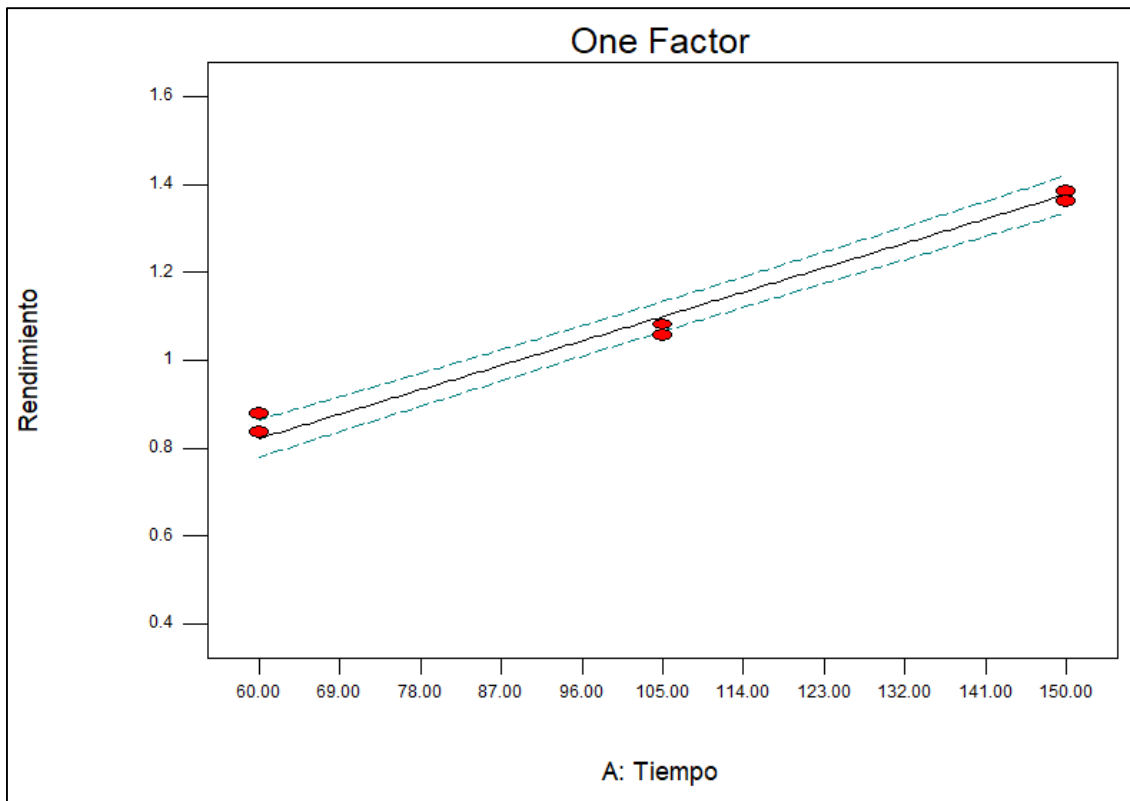
En la figura 10 se representa el rendimiento de la extracción del aceite esencial de *A. graveolens*, donde se observa que mientras transcurre el tiempo se obtiene mayor porcentaje de rendimiento en el proceso de extracción, en la tabla 5 se indica que se obtuvo 1,3834 % en un tiempo de 120 minutos a una relación de 1:5 (material vegetal: agua). Esto demuestra que existe una proporcionalidad directa entre los factores evaluados.

Singh et al., (2006) manifiestan que en la extracción del aceite esencial de *A. graveolens* L. extraídas de las semillas fue de 2,6 % con olor característico y sabor fuerte y fue conservado a 4 °C en refrigeración.

Chahal et al., (2017) manifiestan que el contenido de aceite esencial luego de la extracción de varias partes de la planta donde se incluyeron hojas, flores y semillas llegó a 2,01 usando el método de hidrodestilación.

Figura 10.

Modelo de rendimiento en porcentaje y tiempo de extracción (TIE) en minutos



Nota: Tabla de datos generada por el Software Design-Expert® 8.0.6 con datos experimentales.
Fuente: Quevedo, M. (2022)

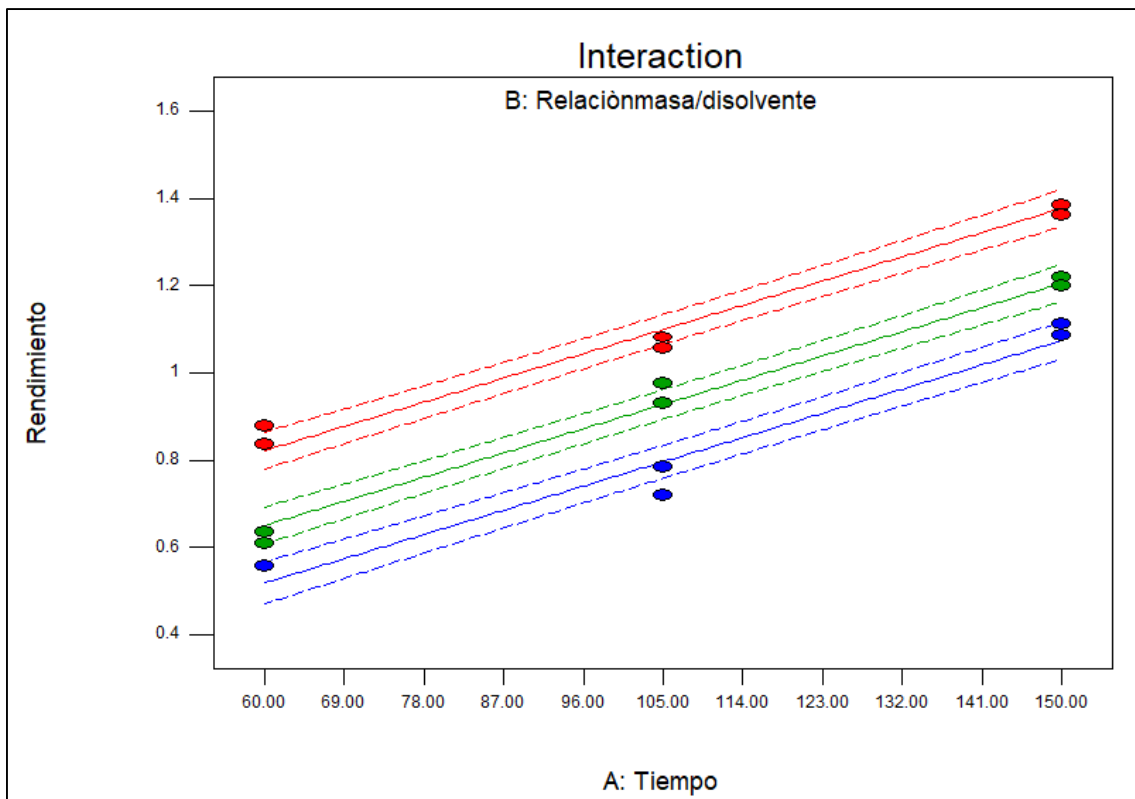
En la figura 11 observamos dos factores: el tiempo y la relación masa/agua, donde se nota claramente que existe una razón directamente proporcional a la variable respuesta que corresponde al rendimiento; es decir, que mientras mayor es el rendimiento, aumenta el tiempo de extracción y a mayor rendimiento existe un aumento en la relación masa/disolvente. Esto se corrobora con los resultados obtenidos en la tabla 5, donde el menor rendimiento fue de 0,5576 % a un tiempo de 60 minutos y una relación 1:3; mientras que el mayor rendimiento fue de 1,3834 con un tiempo de 120 minutos y una relación 1:5.

Attique et al. (2012) manifiesta que para la extracción del aceite esencial de *A. graveolens* llegó a un porcentaje de 1,45 % muy cercano al valor más alto que se obtuvo de la extracción del aceite esencial mediante el método de arrastre de vapor.

Radwan et al. (2020) manifiesta que en el proceso de destilación al vapor el objetivo principal es romper las glándulas de aceite en las plantas, vaporizar el aceite y luego condensarlo y separarlo del agua, proceso que se llevó a cabo con los resultados obtenidos y presentados en la tabla 5.

Figura 11.

Interacción entre los factores rendimiento, tiempo de extracción (TIE) y relación masa/agua (RMA)

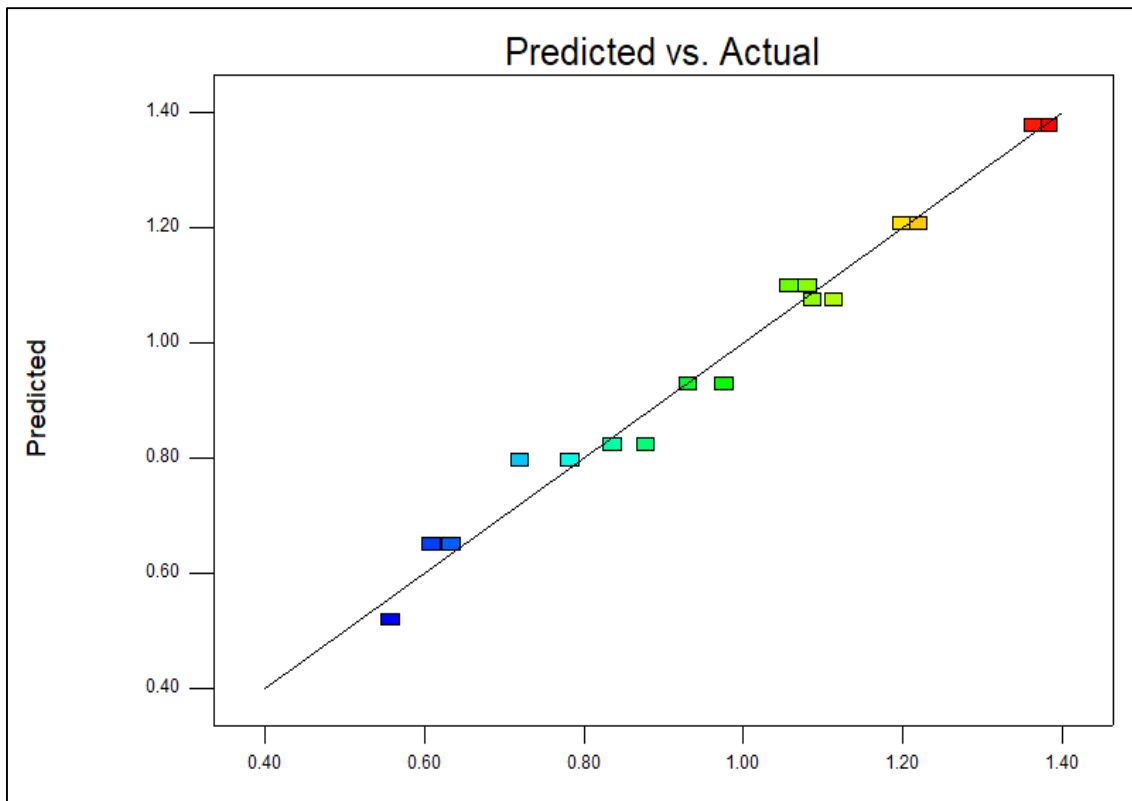


Nota: Tabla de datos generada por el Software Design-Expert® 8.0.6 con datos experimentales.
Fuente: Quevedo, M. (2022)

Se observa en la figura 12 la relación entre los valores predichos (ideales) y valores actuales (experimentales) donde el modelo matemático planteado presenta dispersión entre los valores mencionados, dando como resultado la eficacia del modelo propuesto, esto se verifica en la gráfica a los valores que se encuentran más cercanos a la línea media que representa un coeficiente de determinación R^2 aceptable con 0,9811 es decir que el 98,11 % de los datos obtenidos están dentro de la estimación real del rendimiento del aceite esencial, mientras que el valor del coeficiente de determinación R^2 predicho fue de 0,9681; es decir, que tuvo un porcentaje de 96,81 % teniendo una diferencia de 1,30 % siendo aceptable la relación entre coeficientes.

Figura 12.

Relación de los valores predicho y actual para el rendimiento



Nota: Tabla de datos generada por el Software Design-Expert® 8.0.6 con datos experimentales.
Fuente: Quevedo, M. (2022)

10.2.1. Deseabilidad del proceso de extracción del aceite esencial de *A. graveolens*

La tabla 7 indica la deseabilidad del proceso realizado para la extracción del aceite esencial de *A. graveolens*, donde selecciona un dato anhelado con un tiempo de 120 minutos, la relación masa/agua 3 (1:5) y el rendimiento promedio de los valores máximos con 1,377761, donde el índice fue de 0,996.

Tabla 7.

Deseabilidad del proceso

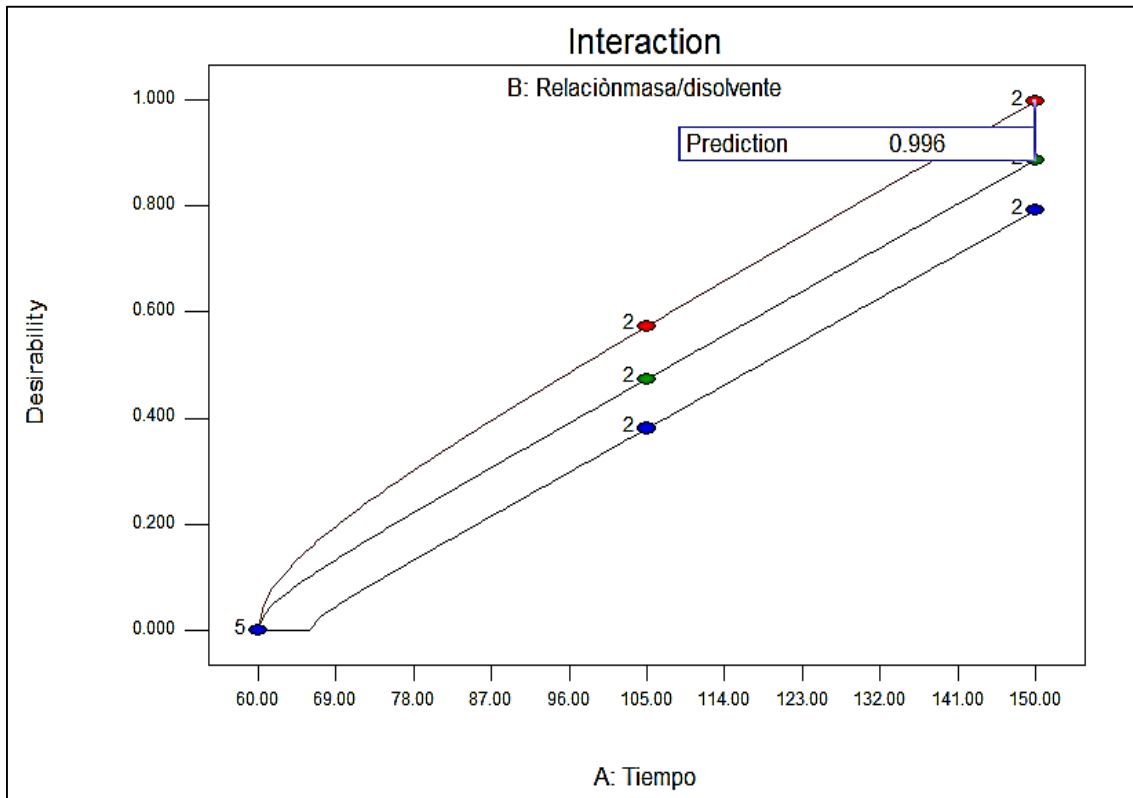
Número de deseabilidad	Tiempo	Relación masa/disolvente	Rendimiento	Deseabilidad	
1	120	3	1,377761	0,996	Selected

Nota: Tabla de datos generada por el Software Design-Expert® 8.0.6 con datos experimentales.
Fuente: Quevedo, M. (2022)

La deseabilidad obtenida de 0,996 se acerca a uno esto nos indica que el proceso presenta las características de calidad deseable para el aceite esencial.

Figura 13.

Optimización numérica para el modelo de rendimiento



Nota: Tabla de datos generada por el Software Design-Expert® 8.0.6 con datos experimentales.
Fuente: Quevedo, M. (2022)

En la figura 13 se indica la superficie respuesta del rendimiento en la optimización numérica donde el modelo matemático propuesto presenta un buen ajuste, sabiendo que se obtuvo para una RMA 1:5 y TIE de 120 min una predicción de deseabilidad de 0,996 muy cercana a 1 que es el valor ideal.

10.3. Composición del aceite esencial de eneldo (*Anethum graveolens*) mediante cromatografía de gases con detector selectivo de masas (MSD)

En la tabla 8 se observa la cromatografía del aceite esencial de *Anethum graveolens* reportado por el Laboratorio Científico Crom, donde se exhibe una composición química de 10 compuestos químicos orgánicos presentes en el extracto del aceite esencial de *Anethum graveolens* donde

los compuestos mayoritarios fueron el Estragol con 77,18 %p/v; el Trans-Anetol con 8,73 %p/v; Alfa-Felandreno con 5,65 %p/v y L-Fenchona con 3,38 %p/v.

Tabla 8.

Determinación de compuestos orgánicos del aceite esencial de Anethum graveolens

Parámetro	Unidad	Cantidad	Tiempo de retención (min)	Método referencia
Alfa-Pineno	%p/v	1,18	15,591	Método para Compuestos Orgánicos en aceites esenciales: Método de Agilent Technologies, Catálogo de aplicaciones 2015, Cromatografía de gases con detector selectivo de masas (MSD)
Beta-Pineno	%p/v	0,26	18,894	
Beta-Mirceno	%p/v	0,39	18,894	
Alfa-Felandreno	%p/v	5,65	20,308	
Limoneno	%p/v	0,77	22,431	
Beta-Felandreno	%p/v	1,44	22,431	
Eucaliptol	%p/v	1,04	22,431	
L-Fenchona	%p/v	3,38	27,299	
Estragol	%p/v	77,18	33,998	
Trans-Anetol	%p/v	8,73	38,756	

Nota: Resultados de la composición química del aceite de *Anethum graveolens* emitida por el Laboratorio Cientific Crom

Sonker et al., (2014) indica que las diferencias encontradas en composición química de los aceites esenciales y su concentración, puede corresponder a la procedencia de las plantas, también a las variaciones en sus condiciones climáticas, geográficas y suelo, factores que pueden influir en la constitución de los aceites, incluso en plantas de la misma especie.

El estragol de acuerdo a Alves (2019) menciona que es un fenilpropanoide presente en varios aceites esenciales de muchas especies vegetales, especialmente en *Ravensara anisata*, *Ocimum basilicum* y *Croton zehntneri*, muy utilizado en la medicina y en la cocina, como también en la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria como conservante; además, posee varias actividades biológicas como la antioxidante y antimicrobiana, ansiolítica, contráctil del músculo esquelético, relajante del músculo visceral y antiinflamatoria en dosis de 3 a 30 mg/kg.

El trans-Anetol y estragol son compuestos ampliamente utilizados como saborizantes y aromatizantes en las industrias de alimentos y bebidas alcohólicas; además, son utilizados en perfumes, jabones y detergentes y como precursores en síntesis orgánica para formulaciones farmacéuticas. Estos compuestos presentan varias actividades biológicas como insecticida, bactericida, antiinflamatoria y anestésica y se han encontrado en una variedad de especies aromáticas que incluyen el tarragón, albahaca, hinojo, anís y anís estrellado (Muñoz et al.; 2007).

Radulescu et al. (2010) determinó en su investigación la identificación de 21 componentes orgánicos en el aceite esencial de las hojas de *Anethum graveolens* donde el 79,14 % fueron hidrocarburos monoterpénicos, donde Alfa-Felandreno con 62,71 % fue el mayor constituyente.

Ozliman et al. (2021), expresan que en el análisis de los componentes del aceite esencial de *Anethum graveolens* se encontró que la composición total del aceite de las hojas estaba en el rango de 64,08 a 84,33 %, siendo el apiol de eneldo, la carvotanacetona, el α -felandreno y el limoneno los compuestos más abundantes que constituyen alrededor del 22,02 al 43,55 % de la concentración total investigada de aceites esenciales.

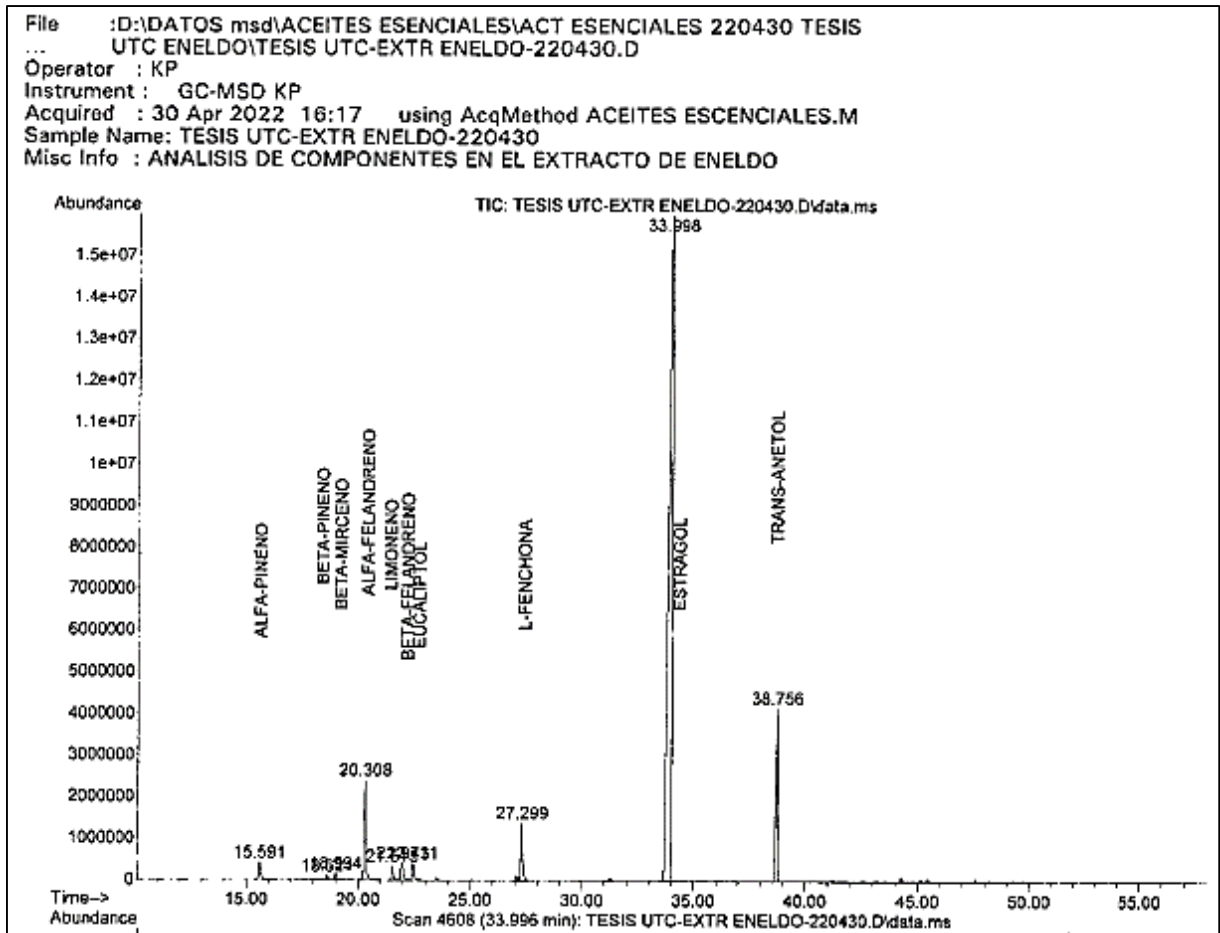
Mientras que Rana y Blazquez (2014) reportan que los componentes químicos del aceite esencial de *A. graveolens* fueron α -felandreno (31,8 %), apiol 15,3 %, éter de eneldo (13,2 %), limoneno (11,8 %), geraniol (10,6 %) y p-cimeno (5,3 %). Los hidrocarburos monoterpénicos (50,9 %) constituyeron la mayor parte del aceite y el α -felandreno (31,8 %), el limoneno (11,0 %), el p-cimeno (5,3 %) y el α -pineno (1,2 %) fueron los compuestos principales. Se encontró que el apiol (15,3 %) y el éter de eneldo (13,2 %) contribuyen juntos con el 28,5 % del aceite.

Konoz y Abbasi (2017) al igual que los investigadores mencionados anteriormente indican que los principales compuestos químicos que se encontraron en el aceite volátil de eneldo fueron α -Phellandrene (46,50 %), β -Phellandrene (12,05 %), O-cimeno (5,21 %), 3,6-dimetil-2,3,3a,4,5,7a-hexahidrobenzofurano (4,2 %), Apiol de eneldo (3,98 %), Timol (3,22 %) y Germacreno D (3,13 %).

El análisis del aceite esencial fue realizado utilizando un espectrómetro de masas donde se obtuvo la presencia de 35 componentes que representa el 98,9 % de la cantidad total. El componente químico mayoritario fue la carvona (55,2 %), limoneno (16,6 %), apiol de eneldo (14,4 %), linalol (3,7 %), trans-dihidrocarvona (2,8 %), cis-dihidrocarvona (2,6 %), trans-isocroweacina (0,8 %), y varios otros componentes en porcentajes menores (Singh et al., 2006).

Figura 14.

Cromatografía del aceite esencial de Anethum graveolens



Nota: Se evidencia en la figura la cromatografía de los compuestos orgánicos del aceite esencial de *Anethum graveolens* emitido por el Laboratorio Cientific Crown.

En la figura 14 se observa la cromatografía del aceite esencial de *Anethum graveolens* reportado por el Laboratorio Cientific Crom, donde se exhibe una composición química de 10 compuestos químicos orgánicos presentes en el extracto del aceite esencial de *Anethum graveolens* donde los compuestos mayoritarios fueron el Estragol con 77,18 %p/v; el Trans-Anetol con 8,73 %p/v; Alfa-Felandreno con 5,65 %p/v y L-Fenchona con 3,38 %p/v.

Las presencias de los compuestos químicos mencionados anteriormente dan la característica al eneldo, donde la capacidad antimicrobiana que presenta en los resultados de laboratorio, corroboran la mencionada actividad, además de otorgarle el olor característico y su uso en el arte culinario como aderezo o en la industria alimentaria como un producto para la eliminación de ciertos hongos presentes en frutas y hortalizas.

10.4. Capacidad antioxidante del aceite esencial de eneldo (*Anethum graveolens*) mediante ensayo FRAP y ABTS

Los resultados obtenidos de la capacidad antioxidante del aceite de eneldo (*Anethum graveolens*) presentado en la tabla 9 se evidencia que para el ensayo ABTS se alcanzó un valor de 270,14 $\mu\text{mol ET/g}$ y para el ensayo FRAP el valor fue de 240,01 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$, de acuerdo a Trujillo (2018), la capacidad antioxidante es la capacidad de retardar o prevenir la oxidación de moléculas biológicas como las proteínas, lípidos y ácidos nucleicos.

Tabla 9.

Resultados de la capacidad antioxidante

Ensayo	Unidades	Resultado
ABTS	$\mu\text{mol ET/g}$	270,14
FRAP	$\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$	240,01

Nota: Resultados de la capacidad antioxidante del aceite de *Anethum graveolens* mediante ensayos FRAP y ABTS. Fuente: Quevedo, M. (2022)

Para el ensayo ABTS, Shyu et al. (2009) manifiestan que los extractos etanólicos de las flores de *A. graveolens* tienen una alta capacidad oxidante con un valor de 0,62 mmol TE/g de extracto seco, donde se evidencia que el valor obtenido es extremadamente elevado de acuerdo al valor obtenido.

Nguyen et al. (2020) indican que mediante el ensayo ABTS, los resultados mostraron que el extracto etanólico de hojas (ELE) y el extracto acuoso de hojas (ALE) de *A. graveolens* fueron efectivos en la eliminación de radicales ABTS de una manera dependiente de la concentración. El ELE mostró actividad antioxidante con un valor de $51,17 \pm 0,68 \mu\text{g/ml}$ mientras que ALE ilustró un valor de $87,43 \pm 3,07 \mu\text{g/ml}$. Los resultados de la investigación en comparación con los anteriormente mencionados se encuentran muy elevados con 270,14 $\mu\text{mol ET/g}$.

Selen, Islibir y Sagiroglu (2011) manifiestan que las propiedades antioxidantes de los extractos en agua, etanol y acetona de las hoja de eneldo (*A. graveolens*) fueron evaluadas mediante diferentes métodos antioxidantes, donde el método del tiocanato férrico, poder reductor, captación de radicales libres DPPH, captación de peróxido de hidrógeno y actividad quelante de iones ferrosos, llegando a obtener los mejores resultados para el extracto acuoso de la hoja de *A. graveolens* mostrando un 79,66 % (a 1 mg/mL) para DPPH; 63 % (a 800 $\mu\text{g/mL}$) en el efecto quelante de metales y 60 % (a 400 $\mu\text{g/mL}$) en captación de peróxido de hidrógeno.

Para el ensayo FRAP, Oshagi et al. (2016) manifiestan que obtuvieron como resultados un rango entre 1,26 a 2,39 mM; mientras que Bahramikia y Yazdanparast (2008) obtienen 1,0 mM/mg en extracto crudo de la planta de *A. graveolens*

Gallego (2016) manifiesta que los compuestos polifenólicos presentes en los aceites esenciales de las plantas ejercen efectos protectores para algunas enfermedades graves como el cáncer y las enfermedades cardiovasculares; además, tienen un papel crucial en la fisiopatología asociada a neoplasia, aterosclerosis y enfermedades neurodegenerativas. En este sentido, los efectos de los compuestos químicos presentes en los aceites esenciales de las plantas son muy activos y eficientes contra varios tipos de cáncer.

10.5. Capacidad antimicrobiana del aceite esencial de eneldo (*Anethum graveolens*)

Luego de realizar los análisis de la actividad antimicrobiana se observa en la tabla 10 los resultados obtenidos.

Tabla 10.

Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de eneldo

Microorganismo	Aceite esencial (mg/L)
<i>Salmonella enterica</i>	2,0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	2,0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATTC 39327	0,5

Nota: Resultados de la actividad microbiana de *A. graveolens*. Fuente: Quevedo, M. (2022)

La tabla 10 indica los valores obtenidos luego de realizar el análisis de la capacidad antimicrobiana del aceite esencial de *A. graveolens* donde las cepas microbianas presentan valores mínimos que indican las propiedades antimicrobianas del aceite esencial. Se puede evidenciar que el aceite de eneldo tuvo acción antimicrobiana efectiva para *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* a una dosis de 0,5 mg/L.

Castro et al. (2017) manifiesta que el aceite esencial de eneldo redujo notablemente el crecimiento de *Staphylococcus aureus* en carne de trucha a partir del quinto día, también resalta que este aceite esencial puede ser utilizado como recubrimiento de alimentos debido a que actúa como una película protectora, manteniendo la calidad; el aceite esencial de eneldo tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de *S. aureus*, coliformes y hongos, debido a la presencia de

carvona, limoneno, dihidrocarvona, p-cymeno, α -felandreno y apiol que son sustancias con actividad antimicrobiana.

Baananou et al. (2013) manifiestan que el extracto de *A. graveolens* mostró una actividad antibacteriana contra las tres cepas probadas con una fuerte actividad antibacteriana contra *E. coli* (5,6 mg/mL) y *S. aureus* (4 mg/mL) en comparación con *P. aeruginosa* (16,5 mg/mL), esto corrobora los resultados obtenidos y presentados en la tabla 10.

Bermúdez et al., (2019) indica que la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales se debe a la inhibición o interacción de la mezcla de compuestos con múltiples blancos en la célula. Por ejemplo, su propiedad hidrofóbica, que resulta en la ruptura de la membrana lipídica de la membrana celular, aumentando su permeabilidad, lo que ocasiona la pérdida del contenido celular vital y su posterior muerte.

11. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS)

11.1.Técnicos

La presente investigación presenta un impacto positivo porque al caracterizar la extracción del aceite esencial de eneldo mediante la extracción de vapor se evidenció sus componentes químicos, que evidencian propiedades beneficiosas para la industria de alimentos, donde se podrá utilizar el aceite esencial en varios procesos agroindustriales relacionados a los procesos alimentarios por sus capacidades antioxidantes y sus propiedades antimicrobianas, que ayudarán a preservar los alimentos que sean recubiertos con el aceite esencial.

11.2.Sociales

Los proyectos relacionados con la extracción de aceites esenciales propuesto por la carrera de Ingeniera Agroindustrial de la Universidad Técnica de Cotopaxi de diferentes especies vegetales afirma la vinculación de la Universidad con el pueblo, a sabiendas que el eneldo por su potencial agroindustrial beneficiará a los agricultores de las comunidades rurales del cantón Saquisilí que se dediquen a su cultivo para el aprovechamiento de esta especie vegetal promoviendo la cultura y conocimiento ancestral e incentivando la adición de un valor agregado en la industrialización de la misma.

11.3.Ambientales

El cuidado del medio ambiente es uno de los objetivos primordiales de nuestra sociedad debido al abuso de agrotóxicos en los cultivos, emisiones de gases de invernadero, combustión de

combustibles fósiles, etc., los procesos agroindustriales de extracción de aceites esenciales permite incentivar la explotación de una especie vegetal que crece en los sectores rurales de algunos cantones de la provincia de Cotopaxi donde se la considera una especie de arvense y sin darle la importancia por sus características beneficiosas, promoviendo la conservación de recursos naturales y su producción sostenible.

11.4.Económicos

Los beneficios económicos de la extracción del aceite esencial de eneldo serán de gran valía para la población que se dedique a su cultivo, generando ingresos por la producción de materia prima que será útil para la industria de alimentos, farmacéutica, cosmetológica en la provincia, siendo los productores los mayormente beneficiarios.

12. PRESUPUESTO

Recursos	PRESUPUESTO PARA LA ELABORACIÓN DEL PROYECTO			
	Cantidad	Unidad	V. Unitario \$	Valor Total \$
Materiales				
Asa de Digral sky	1	Unidad	7,75	7,75
Papel aluminio	10	Unidad	3,00	30,00
Papel traza	1	Unidad	6,50	6,50
Frascos de ámbar	5	Unidad	1,00	5,00
SUBTOTAL 1				49,25
Material bibliográfico y fotocopias				
Carpetas	2	Unidad	0,75	1,50
Esferos	3	Unidad	0,40	1,20
Copias	250	Unidad	0,02	5,00
Impresiones	200	Unidad	0,05	10,00
Anillados	8	Unidad	5,00	40,00
Empastados	2	Unidad	35,00	70,00
SUBTOTAL 2				127,70
Gastos Varios				
Internet	100	Horas	0,50	50,00
Transporte	16	Días	1,20	19,20
Alimentación	16	Días	2,25	36,00
SUBTOTAL 3				105,20
Materia prima				
Planta de eneldo	11	Unidad	2,50	27,50
SUBTOTAL 4				27,50
Análisis				
Cromatografía de gases	1	Unidad	100,00	100,00
SUBTOTAL 5				100,00
Reactivos				
Reactivo TPTZ (2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride)	1	g	13,50	13,50
Reactivo de ABTS (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt)	1	g	64,89	64,89
Sal de Mohr	5	g	10,0	50,00
Ácido clorhídrico	100	ml	0,1	10,00
Trolox grado analítico	1	g	61,00	61,00
Carbonato de sodio	10	g	3,00	30,00
Etanol 99,8%	1000	ml	0,06	60,00
Ácido Gálico	10	g	3,00	30,00
Folling	4	ml	10,00	40,00
Tween 20 500 mL	1	ml	75,00	75,00
Ácido sulfúrico 5N	1	ml	15,00	15,00
Agar Mueller Hinton	500	g	0,39	195,00
Agua destilada	5	gal	2,50	12,50
SUBTOTAL 6				656,89
SUBTOTAL				1066,54
IMPREVISTOS (12%)				127,98
TOTAL				1194,52

13. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

13.1. Conclusiones

- En la extracción de aceite esencial de eneldo (*A. graveolens*) se determinaron las condiciones óptimas en una relación de masa/disolvente de 1:5 utilizando 1 kg de materia vegetal y 5 L de agua destilada por un lapso de tiempo de 120 min, obteniendo un rendimiento promedio de 1,37 %, mientras que su deseabilidad con un valor de 0,996 % relacionando varios factores como el tiempo, relación masa/disolvente y metodología de extracción de aceite esencial de eneldo.
- Por medio de la metodología de cromatografía de gases con detector selectivo de masas (MSD), se determinó la composición química del aceite esencial de *Anethum graveolens*, donde se reportó la presencia mayoritaria de Estragol (77,18 %p/v), luego los compuestos: Trans-Anetol (8,73 %p/v), Alfa-Felandreno (5,65 %p/v), L-Fenchona (3,38 %p/v), Beta-Felandreno (1,44 %p/v), Alfa-Pineno (1,18 %p/v), Eucaliptol (1,04 %p/v), Limoneno (0,77 %p/v), Beta-Mirceno (0,39 %p/v); y, finalmente con el menor porcentaje el Beta-Pineno (0,26 %p/v).
- Luego de realizar los análisis mediante los ensayos de FRAP Y ABTS se concluye que el aceite esencial de eneldo presenta capacidad antioxidante alta con los siguientes resultados: el ensayo FRAP tiene un valor de 270,14 $\mu\text{mol Fe}_{2+}/\text{g}$, mientras que en el ensayo ABTS presentó un valor de 240,01 $\mu\text{mol ET}/\text{g}$.
- La capacidad antimicrobiana del aceite esencial de eneldo (*Anethum graveolens*) sobre las cepas microbianas cultivadas *Salmonella entérica* y *Staphylococcus aureus* ATTC25923, presentaron mayor resistencia a la capacidad antimicrobiana del aceite esencial con valores de 2,0 mgL^{-1} , mientras que *Escherichia coli* ATTC25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 39327, presentaron resultados favorables con valores de 0,5 mgL^{-1} , conociendo que con un porcentaje de 5 % y 3 % se inhibe el crecimiento de las bacterias gram-positivas y gram-negativas.

13.2. Recomendaciones

- Se recomienda recolectar el material vegetal en etapa de floración y secarlo completamente para iniciar el proceso de extracción del aceite esencial para obtener un buen porcentaje de rendimiento.
- Es necesario utilizar otras metodologías de extracción de aceites esenciales para evaluar su rendimiento de acuerdo a la cantidad de materia vegetal utilizada.

- Es importante realizar pruebas de la capacidad antimicrobiana de eneldo en otras cepas bacterianas para conocer su efectividad y recomendar su uso en la industria de alimentos.
- Por la gran biodiversidad de nuestro país en especies vegetales y en base a los conocimientos ancestrales y medicinales, es de gran importancia extraer aceites esenciales de diferentes plantas para su futuro uso industrial.

14. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aati, H., Perveen, S., Aati, S., Orfali, R., Alqahtani, J., Al-Taweel, A., Wanner, J., & Aati, A. (2022). *Headspace solid-phase microextraction method for extracting volatile constituents from the different parts of Saudi Anethum graveolens L. and their antimicrobial activity*. Heliyon.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09051>
- Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. (2016).
<https://www.aemps.gob.es>.
https://www.aemps.gob.es/publicaciones/publica/docs/Guia_Aceites_Esenciales.pdf
- Ali, E., & Al, S. (2014). *The pharmacological importance of Anethum graveolens review*. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 6(4), 11 - 13.
- Almajano, M. (2016). <https://www.tdx.cat/>.
<https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/403986/TMGGI1de1.pdf;jsessionid=6D72DA799B3BB431FE59E730D55BC8FE?sequence=1>
- Alves, E. (2019). <https://repositorio.ufpb.br>.
https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/123456789/18866/1/EdvaldoBalbinoAlvesJ%c3%banior_Dissert.pdf
- Andrews, J. (2001). *Determination of minimum inhibitory concentrations*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 5 - 16.
https://doi.org/https://doi.org/10.1093/jac/48.suppl_1.5
- Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., & Çapanoglu, E. (2016). *Antioxidant Activity/Capacity Measurement. 1. Classification, Physicochemical Principles, Mechanisms, and Electron Transfer (ET)-Based Assays*. Agricultural and Food Chemistry, 997 - 1027.
- Argote, F., Suárez, Z., Tobar, M., Pérez, J., Hurtado, A., & Delgado, J. (2017). *Evaluation of the inability capacity of essential oils in Staphylococcus aureus and Escherichia coli*. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 52 - 60.
- Arora, D., & Kaur, G. (2007). *Antibacterial activity of some Indian medicinal plants*. Journal of Natural Medicines, 313 - 317.

- Attique, R., Khokhar, I., Mahmood, Z., & Mahmud, S. (2012). *Chemical composition and insecticidal activity of the essential oil of Anethum graveolens L.* Science International Lahore, 453 - 455.
- Azam, M., & Asad, H. (2019). *Updates on the pathogenicity status of Pseudomonas aeruginosa.* Drug Discovery Today, 350 - 359.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.drudis.2018.07.003>
- Aziz, A., Ahmad, A., Setapar, H., Karakucuk, A. A., Lokhat, D., Rafatullah, M., Ganash, M., Kamal, M., & Ashraf, G. (2018). *Essential Oils: Extraction Techniques, Pharmaceutical And Therapeutic Potential - A Review.* Current Drug Metabolism, 1100 - 110.
<https://doi.org/https://doi.org/10.2174/1389200219666180723144850>
- Azuero, J. (2019). <https://repository.javeriana.edu.co>.
<https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/43252>
- Baananou, S., Bouftira, I., Mahmoud, A., Boukef, K., Marongiu, B., & Boughattas, N. (2013). *Antiulcerogenic and antibacterial activities of Apium graveolens essential oil and extract.* Natural Product Research, 1075 - 1083.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1080/14786419.2012.717284>
- Bahramikia, S., & Yazdanparast, R. (2007). *Improvement of liver antioxidant status in hypercholesterolemic rats treated with Anethum graveolens extracts.* Pharmacologyonline, 119 - 132.
- Barreto, M., Castillo, M., & Retamal, P. (2016). *Salmonella enterica: una revisión de la trilogía agente, hospedero y ambiente, y su trascendencia en Chile.* Infectología al día, 547 - 553.
- Benítez, A., Villanueva, J., Gonzáles, G., Alcántar, V., Puga, R., & Quintero, A. (2020). *Determination of the total antioxidant capacity of food and human plasma by photochemiluminescence: Correlation with spectrophotometric (FRAP) and fluorometric (ORAC) assays.* TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 1-9.
<https://doi.org/https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.244>
- Benitez, A., Villanueva, J., González, G., Alcántar, V., Puga, R., & Quintero, A. (2020). *Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos*

- (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP). Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 1 - 9.
- Bermúdez, M., Granados, F., & Molina, A. (2019). *Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Psidium guajava and Cymbopogon citratus*. *Agronomía Mesoamericana*, 147 - 163.
- Bisanti, G. (2017). <https://antropocene.it>. <https://antropocene.it/es/2017/06/17/anethum-graveolens/>
- Bohórquez, R. (2016). <https://repository.udca.edu.co/>.
<https://repository.udca.edu.co/bitstream/handle/11158/591/Determinaci%C3%B3n%20de%20actividad%20antioxidante%20Displostephium%20philyciode.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Brunke, E., Hammerschmidt, F., Koester, F., & Mair, P. (1991). *Constituents of Dill (Anethum graveolens L.) with Sensory Importance*. *Journal of Essential Oil Research*, 257 - 267.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1080/10412905.1991.9697936>
- Callan, N., Johnson, D., Wescott, M., & Welty, L. (2007). *Herb and oil composition of dill (Anethum graveolens L.): Effects of crop maturity and plant density*. *Industrial Crops and Products*, 282 - 287.
- Casado, I. (2018). <https://oa.upm.es>.
https://oa.upm.es/49669/1/TFG_IRENE_CASADO_VILLAVERDE.pdf
- Castro, D., Pantoja, A., & Gomajoa, H. (2017). *In vitro evaluation of the antimicrobial capacity of the essential oil of dill –Anethum graveolens– as a growth inhibitor of Staphylococcus aureus, coliforms and fungi found in trout meat*. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 44 - 51.
- Cerón, C. (2006). *Plantas medicinales de los Andes ecuatorianos*. *Botánica Económica de los Andes Centrales*, 285 - 293.
- Chahal, K., Kumar, A., Bhardwaj, U., & Kaur, R. (2017). *Chemistry and biological activities of Anethum graveolens L. (dill) essential oil: A review*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 295 - 306.
- Charles, D., Simon, J., & Widrlechner, M. (1995). *Characterization of Essential Oil of Dill (Anethum graveolens L.)*. *Journal of Essential*, 11 - 20.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1080/10412905.1995.9698456>

- Córdova, C., Guillen, J., & Tuesta, T. (2020). *Extracción por microondas libre de solvente del aceite esencial de naranja (Citrus sinensis) , y el efecto de las condiciones de proceso en su rendimiento, composición y actividad antimicrobiana*. *Revista Chilena de Nutrición*, 965 - 974.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182020000600965>
- Dandekar, T., Fieselmann, A., Fisher, E., Popp, J., Hensel, M., & Noster, J. (2014). *Salmonella—how a metabolic generalist adopts an intracellular lifestyle during infection*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 1 - 19.
- Elyemni, M., Louaste, B. N., Elkamli, T. B., Chaouch, M., & Eloutassi, N. (2019). *Extraction of Essential Oils of Rosmarinus officinalis L. by Two Different Methods: Hydrodistillation and Microwave Assisted Hydrodistillation*. *The Scientific World Journal*, 1 - 6.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2019/3659432>
- Forero, L., Forero, Z., Cícero, D., & Alves, A. (2017). *Análisis exploratorio de las exportaciones de aceites esenciales en Brasil: evidencia desde 2000 hasta 2015*. *IDESIA*, 61 - 70.
- Franco, P., Ramírez, L., Orozco, M., & López, L. (2013). *Determinación de Escherichia Coli e identificación del serotipo O157:H7 en carne de cerdo comercializada en los principales supermercados de la ciudad de Cartagena*. *Revista Lasallista de Investigación*, 91 -100.
- GAD Cantón Saquisilí. (2015). <http://app.sni.gob.ec/>. http://app.sni.gob.ec/sni-link/sni/PORTAL_SNI/data_sigad_plus/sigadplusdocumentofinal/0560000700001_PDYOT%20GADMI%20CANTON%20SAQUISILI_17ABR2015_19-04-2015_21-20-53.pdf
- Griffin, S., Markham, J., & Leach, D. (200). *An Agar Dilution Method for the Determination of the Minimum Inhibitory Concentration of Essential Oils*. *Journal of Essential Oil Research*, 249 - 255.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1080/10412905.2000.9699509>
- Guevara, G., Verdesoto, A., & Castro, N. (2020). *Metodologías de investigación educativa (descriptivas, experimentales, participativas, y de investigación-acción)*. *Recimundo*, 163 - 173.

- Gutiérrez, E., & Vladimirovna, O. (2016). *Estadística Inferencial para Ingenierías y Ciencias 1*. México: Grupo Editorial Patria.
- Hernández Sampieri, R., Fernández, C., & Baptista, P. (2016). *Metodología de la Investigación (Sexta Edición ed.)*. México D. F.: McGraw Hill - Interamericana Editores S. A.
- Infoagro. (2020). <https://www.infoagro.com>.
https://www.infoagro.com/documentos/el_cultivo_del_eneldo__parte_i_.asp
- Konoz, E. H., & Abbasi, A. (2017). *Comparison of two methods for extraction of dill essential oil by gas chromatography-mass spectrometry coupled with chemometric resolution techniques*. *International Journal of Food Properties*, 2 - 13. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1080/10942912.2017.1326054>
- Kuskoski, E., Asuero, A., Troncoso, A., Mancini, J., & Fett, R. (2005). *Aplicação de diversos métodos químicos para determinar atividade antioxidante em polpa de frutas*. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 726 - 732.
- Lee, A., Lencastre, H., Garau, J., Kluytmans, J., Malhotra, S., Peschel, A., & Harbarth, S. (2018). *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*. *Primer*.
- Linzitto, O., & Tunes, M. (2019). *Revision sobre bacterias gram negativas de importancia clinica*. *Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes (REIE)*, 28 - 31.
- López, M. (2004). *Los aceites esenciales. Aplicaciones farmacológicas, cosméticas y alimentarias*. *Ámbito Farmacéutico*, 88 - 91.
- Martínez, A. (2014). <http://www.med-informatica.com>. http://www.med-informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA_esencias2001b.pdf
- Masabni, J. (2013). <https://aggie-horticulture.tamu.edu>. <https://aggie-horticulture.tamu.edu/vegetable/files/2013/09/EHT-053S-dill.pdf>
- Meena, S., Lal, G., Dubey, M., Meena, M., & Ravi, Y. (2019). *Medicinal and therapeutic uses of Dill (Anethum graveolens L.)- A review*. *International Journal Seed Spices*, 14 - 26.
- Mejía, H., & Ortiz, A. (2021). <http://tesis.udea.edu.co>.
<http://tesis.udea.edu.co/handle/10495/18717>

- Mesa, A., Zapata, S., Arana, L., Zapata, I., Monsalve, Z., & Rojano, B. (2015). *Actividad antioxidante de extractos de diferente polaridad de Ageratum conyzoides L.* . Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 1 - 10.
- Muñoz, A., Bottia, E., Cárdenas, C., Patiño, J., Días, O., Martínez, J., Kouznetsov, V., & Stashenko, E. (2007). *Estudio comparativo sobre la capacidad de atrapamiento del catiónradical ABTS+. Por los aceites esenciales de especies aromáticas con alto contenido de trans-ANETOL Y ESTRAGOL.* Scientia Et Technica, 117 - 120.
- Nair, R., & Chanda, S. (2007). *Antibacterial Activities of Some Medicinal Plants of the Western Region of India.* Turkish Journal of Biology, 231 - 236.
- Navarrete, C., Gil, J., Durango, D., & García, C. (2010). *Extracción y caracterización del aceite esencial de manarina obtenido de residuos agroindustriales.* Dyna, 85 - 92.
- Nguyen, V., Nguyen, N., An, T., Van, N., & Anh, N. (2020). *Evaluation of polyphenol content and antioxidant activities of Dill leaves extract Anethum graveolens L.* IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering.
<https://doi.org/doi:10.1088/1757-899X/991/1/012032>
- Oshagi, E., Khodadadi, I., Tavailani, H., & Taghi, M. (2016). *Aqueous Extract of Anethum Graveolens L. has Potential Antioxidant and Antiglycation Effects.* Iranian Journal of Medical Sciencies, 328 - 333.
- Ozliman, S., Yaldiz, G., Camlica, M., & Ozsoy, N. (2021). *Chemical components of essential oils and biological activities of the aqueous extract of Anethum graveolens L. grown under inorganic and organic conditions.* Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 8-20.
- Pasachova, J., Ramírez, S., & Muñoz, L. (2019). *Staphylococcus aureus: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular.* Estrella nueva, 25 - 38.
- Patel, S., Amin, A., & Patel, H. (2019). *Integrated weed management practices for dill seed (Anethum graveolens L.) cultivation.* International Journal of Seed Spices, 81 - 85.
- Patiño, L., Saavedra, A., & Martínez, J. (2014). <http://www.usfx.bo>.
<http://www.usfx.bo/nueva/Dicyt/Handbooks/Ciencias%20Tecnol%F3gicas%20y>

- %20Agrarias_2/Ciencias%20Tecnol%3gicas%20y%20Agrarias_Handbook_Vol%20II/PAPERS_25/art15.pdf
- Paz, V., Mangwani, S., Martínez, A., Álvarez, D., Solano, S., & Vázquez, R. (2019). *Pseudomonas aeruginosa: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria*. Revista Chilena de Infectología, 180 - 189.
- Penelo, L. (2018). *La Vanguardia*. <https://www.lavanguardia.com/comer/materia-prima/20180928/452052642281/eneldo-propiedades-beneficios-valor-nutricional.html>
- Pérez, E., & Rivas, A. (2021). <https://riunet.upv.es>.
<https://riunet.upv.es/handle/10251/167611#>
- Radulescu, V., Popescu, M., & Ilies, D. (2010). *Chemical composition of the volatile oil from different plant parts of Anethum graveolens l. (umbelliferae) cultivated in Romania*. Farmacia Journal, 594 - 600.
- Radwan, M., Morad, M., Ali, M., & Wasfy, K. (2020). *A solar steam distillation system for extracting lavender volatile oil*. Energy Reports, 3080 - 3087.
- Ramos, C. (2020). *Los Alcances de la Investigación*. CienciAmerica, 9(3).
- Rana, V., & Blazquez, M. (2014). *Chemical Composition of the Essential Oil of Anethum graveolens Aerial Parts*. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 1219 - 1223. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1080/0972060X.2014.894894>
- Rassem, H., Nour, A., & Yunus, R. (2016). *Techniques For Extraction of Essential Oils From Plants: A Review*. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 117 - 127.
- Reyes, L., & Carmona, F. (2020). <http://bonga.unisimon.edu.co>.
<http://bonga.unisimon.edu.co/handle/20.500.12442/6630>
- Rioja, A., Vizaluque, B., Aliaga, E., Tejada, L., Book, O., Mollinedo, P., & Peñarrieta, J. (2018). *Determinación de la capacidad antioxidante total, fenoles totales, y la actividad enzimática en una bebida no láctea en base a granos de Chenopodium quinoa*. Revista Boliviana de Química, 168 - 176.
- Rodríguez, M., Alcaraz, L., & Real, S. (2012).
<https://cibnor.repositorioinstitucional.mx>.
https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/540/1/rodriguez_m.pdf

- Said-Al Ahl, H., Sarhan, A., Abou Dahab, M., El-Shanat, N., Ali, M., & Naguib, N. (2015). *Flavonoids, essential oil and its constituents of Anethum graveolens L. Herb Affected by Nitrogen and Bio-Fertilizers*. Agricultural and Biological Sciences Journal, 105 - 109.
- Saleh, A., Selim, S., Al Jaouni, S., & AbdElgawad, H. (2018). *CO2 enrichment can enhance the nutritional and health benefits of parsley (Petroselinum crispum L.) and dill (Anethum graveolens L.)*. Food Chemistry, 519 - 526.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.046>
- Selen Islibir, S., & Sagiroglu, A. (2011). *Antioxidant Potential of Different Dill (AnethumGraveolens L.) Leaf Extracts*. International Journal of Food Properties, 894 - 902.
- Servicio Nacional de Aprendizaje, S. (2018). <https://repositorio.sena.edu.co>.
https://repositorio.sena.edu.co/sitios/introduccion_industria_aceites_esenciales_plantas_medicinales_aromaticas/pdf/ACEITES%20ESENCIALES%20EXTRAIDOS%20DE%20PLANTAS%20MEDICINALES%20Y%20AROMATICAS.pdf
- Sevillano, R., Siche, R., Castillo, W., & Silva, E. (2019). *Optimización de la extracción por arrastre de vapor de aceite esencial de romero (Rosmarinus officinalis) utilizando diseños secuenciales*. Manglar.
<https://doi.org/10.17268/manglar.2019.008>
- Shyu, Y., Lin, J., Chang, Y., Chiang, C., & Yang, D. (2009). *Evaluation of antioxidant ability of ethanolic extract from dill*. Food Chemistry, 515 - 521.
- Singh, G., Maurya, S., Lampasona, M., & Catalan, C. (20006). *Chemical Constituents, Antimicrobial Investigations, and Antioxidative Potentials of Anethum graveolens L. Essential Oil and Acetone Extract: Part 52*. Journal of Food Science, 208 - 215.
- Sonker, N., Pandey, A., Singh, P., & Tripathi, N. (2014). *Assessment of Cymbopogon citratus (DC.) stapf essential oil as herbal preservatives based on antifungal, antiaflatoxin, and antiochratoxin activities and in vivo efficacy during storage*. Journal Food Science, 28 - 34. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12390>
- Svečnjak, L., Marijanović, Z., Okińczyk, P., Marek Kuś, P., & Jerkovic, I. (2020). *Mediterranean Propolis from the Adriatic Sea Islandsas a Source of Natural*

- Antioxidants: Comprehensive Chemical Biodiversity Determined by GC-MS, FTIR-ATR, UHPLC-DAD-QqTOF-MS, DPPH and FRAP Assay.* Antioxidants, 36. <https://doi.org/10.3390/antiox9040337>
- Taghi, M., Khodadadi, I., Tavilani, H., & Abbasi, E. (2016). *The Role of Anethum graveolens L. (Dill) in the Management of Diabetes.* Journal of Tropical Medicine. <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2016/1098916>
- Texas A&M AgriLife Extension Service. (2013). <https://aggie-horticulture.tamu.edu>. <https://aggie-horticulture.tamu.edu/vegetable/files/2013/09/EHT-053S-dill.pdf>
- Tran, M., Wibowo, D., & Rehm, B. (2020). *Pseudomonas aeruginosa Biofilms.* International Journal of Molecular Sciences. <https://doi.org/10.3390/ijms21228671> www.mdpi.com/journal/ijms
- Trujillo, C. (2018). <http://e-spacio.uned.es>. http://e-spacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ-Ctrujillo/Trujillo_Hernandez_Cristina_TFM.pdf
- Uzzau, S., Brown, D., Wallis, T., Rubino, S., Leori, G., Bernard, S., Casadeus, J., Platt, D., & Olsen, J. (2000). *Host adapted serotypes of Salmonella enterica.* Epidemiol Infect, 299 - 255.
- Valencia, M. (2018). <http://recursosbiblio.url.edu.gt>. <http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesisjrkd/2018/06/17/Valencia-Maylin.pdf>
- Vanoye, M., Martin, B., Pech, J., Chan, M., García, J., & Torres, K. (2022). *Capacidad Antimicrobiana de Cinco Aceites Esenciales de Plantas Aromáticas en Escárcega, Campeche, México.* European Scientific Journal, 198 - 213. <https://doi.org/https://doi.org/10.19044/esj.2022.v18n17p197>
- Velasco, R., Villada, H., & Carrera, H. (2007). *Aplicaciones de los Fluidos Supercríticos en la Agroindustria.* Información Tecnológica, 53 - 65.
- Xin, M., Liu, H., Zheng, Y., Guo, D., Shi, C., Xu, Y., & Xia, X. (2019). *Inhibitory Effect of Thymoquinone on Listeria monocytogenes ATCC 19115 Biofilm Formation and Virulence Attributes Critical for Human Infection.* Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00304>

15. ANEXOS

Anexo 1. Ubicación del lugar de ejecución de la investigación



Anexo 2. Hoja de vida del Docente Tutor

DATOS INFORMATIVOS DEL TUTOR ACADÉMICO

DATOS PERSONALES

NOMBRES: JAIME ORLANDO

APELLIDOS: ROJAS MOLINA.

FECHA Y LUGAR DE NACIMIENTO: 15/10/1985

NACIONALIDAD: ECUATORIANO

CEDULA D IDENTIDAD: 0502645435

ESTADO CIVIL: CASADO

DIRECCIÓN DOMICILIARIA: La MERCED, QUIJANO Y ORDOÑEZ JUAN ABEL ECHEVERRÍA 7-60

TELÉFONO CELULAR: 0999084592

CORREO PERSONAL: rojas_orlando1984@hotmail.com

ESTUDIOS REALIZADOS Y TÍTULOS OBTENIDOS:



Nivel	Título obtenido	Institución educativa
Tercer	Químico de alimentos	Universidad Central del Ecuador.
Cuarto	Maestría en sistema de gestión de calidad	Universidad Central del Ecuador.

Anexo 3. Hoja de vida de las Postulantes

Hoja de Vida de la Postulante

DATOS PERSONALES:

NOMBRES:	MARJORIE ARACELY
APELLIDOS:	QUEVEDO ANALUISA
NACIONALIDAD:	ECUATORIANA
CÉDULA:	230008607-7
FECHA DE NACIMIENTO:	26 DE NOVIEMBRE DEL 2000
EDAD:	21 AÑOS
ESTADO CIVIL:	SOLTERA
DIRECCIÓN:	LATACUNGA AV. AMAZONAS Y GUAYAQUIL
CELULAR:	0990507463
CORREO PERSONAL:	mquevedoanaluisa@gmail.com
CORREO INSTITUCIONAL:	marjorie.quevedo6077@utc.edu.ec



ESTUDIOS REALIZADOS Y TÍTULOS OBTENIDOS:

PRIMARIA: UNIDAD EDUCATIVA “JORGE WASHINTONG”

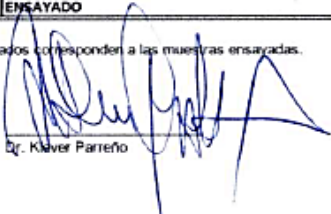
SECUNDARIA: UNIDAD EDUCATIVA “JORGE WASHINTONG”

UNIVERSIDAD: UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI EGRESADA TERCER NIVEL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

SUFICIENCIA EN INGLÉS: APROBADO

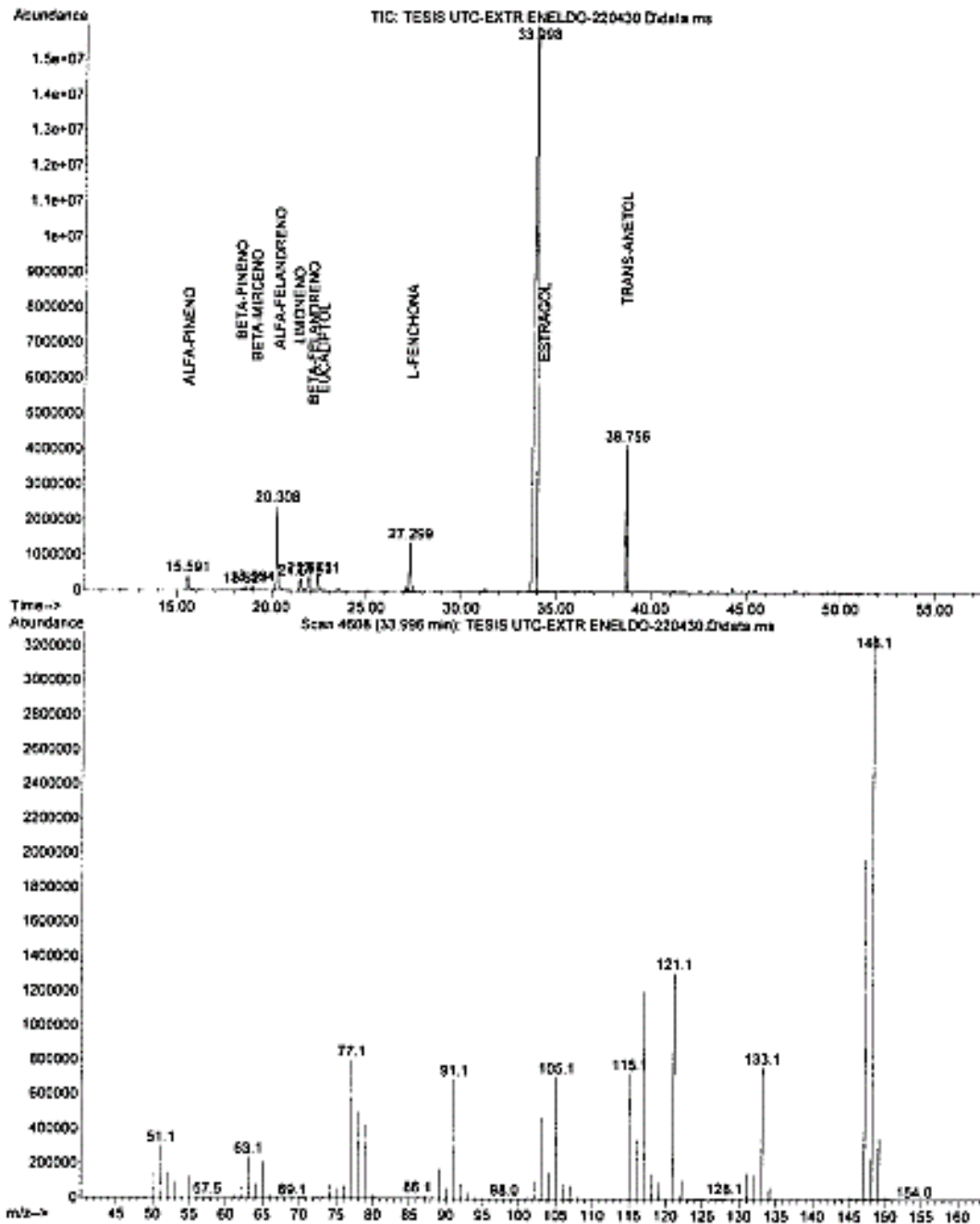
Marjorie Aracely Quevedo Analuisa

Anexo 4. Resultados de la composición química del aceite esencial de eneldo

CIENTIFIC CROM	INFORME DE ENSAYOS		CÓDIGO: FT-17		
CONFIDENCIAL			PÁGINA: 1 de 1		
				REVISIÓN: 00	
<small>Dirección: La Esperanza 1, Las Quinias N16-197 y la Vinas. (Quito-Ecuador). Tel. 2033-099-096598615</small>					
INFORME DE ENSAYOS No: 008-22 REFERENCIA: OT-05-22					
INFORME DE ENSAYOS DE ANALISIS QUIMICOS					
CLIENTE: Karla Mena (Universidad Técnica de Cotopaxi) NÚMERO DE ORDEN: N/A FECHA DE RECEPCIÓN: 29 de abril 2022 FECHA DEL INFORME: 17 de mayo 2022 MUESTREADO POR: Cliente					
DETERMINACION DE COMPUESTOS ORGANICOS EN ACEITES ESENCIALES					
CLASIFICACIÓN	PARÁMETRO	UNIDAD	CÓDIGOS DE MUESTRA	MÉTODO INTERNO	MÉTODO REFERENCIA
			ENELDO		
ACEITES ESENCIALES	Alfa-Pineno	%p/v	1,18	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)
	Beta-Pineno	%p/v	0,26		
	Beta-Mirceno	%p/v	0,39		
	Alfa-Felandreno	%p/v	5,65		
	Limoneno	%p/v	0,77		
	Beta-Felandreno	%p/v	1,44		
	Eucaliptol	%p/v	1,04		
	L-Fenchona	%p/v	3,38		
	Estragol	%p/v	77,18		
	Trans-Anetol	%p/v	8,73		
	TOTAL DE COMPUESTOS EN EL ACEITE ESENCIAL ENSAYADO		%p/v		
Observaciones: Los resultados corresponden a las muestras ensayadas.					
Elaborado por:		 Dr. Klever Parreño			

Anexo 5. Cromatogramas de la composición química del aceite esencial de eneldo

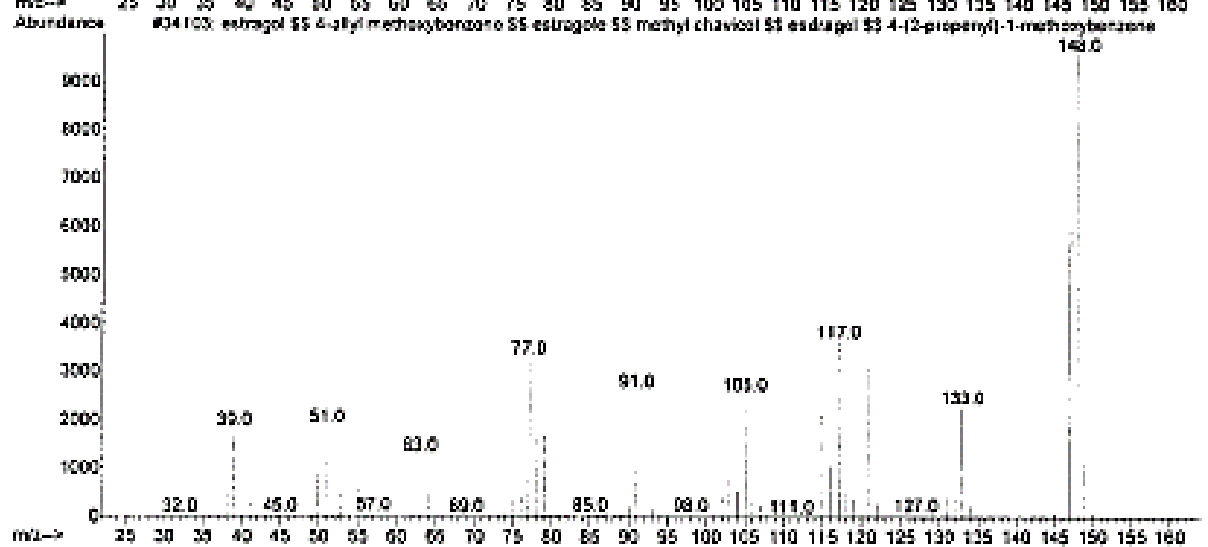
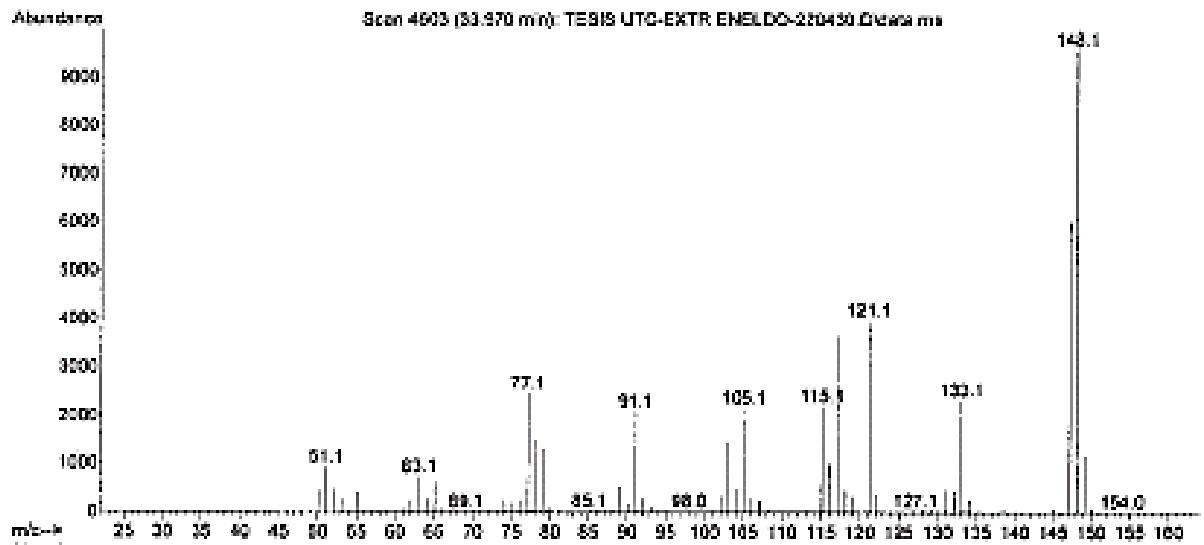
File : D:\DATOS msc\ACEITES ESENCIALES\ACT ESENCIALES 220430 TESIS
 ... UTC ENELDO\TESIS UTC-EXTR ENELDO-220430.D
 Operator : KP
 Instrument : GC-MSD KP
 Acquired : 30 Apr 2022 16:17 using AcqMethod ACEITES ESENCIALES.M
 Sample Name: TESIS UTC-EXTR ENELDO-220430
 Misc Info : ANALISIS DE COMPONENTES EN EL EXTRACTO DE ENELDO



Library Searched : C:\Database\Wiley275.L

Quality : 99

ID : estragal §§ 4-allyl methoxybenzene §§ estragole §§ methyl chavicol §§ estragal §§ 4-(2-propenyl)-1-methoxybenzene



Anexo 6. Fotografías

Fotografía 1. Selección y picado del material vegetal de eneldo



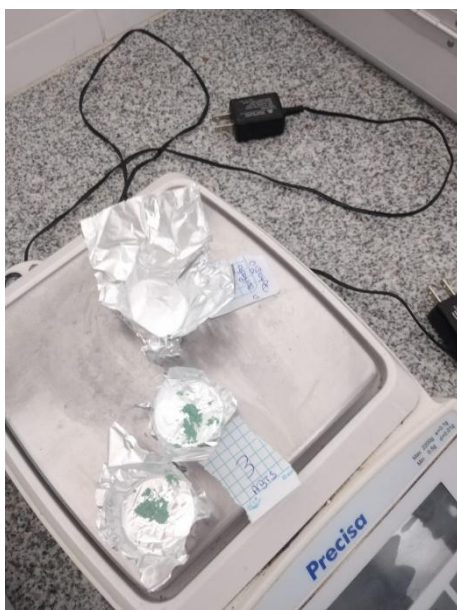
Fotografía 2. Instalación del equipo para extraer el aceite esencial



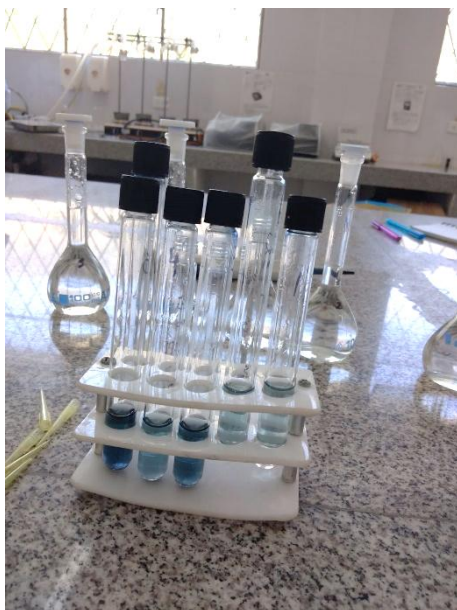
Fotografía 3. Preparación de reactivos para determinación de antioxidantes



Fotografía 4: Pesado de reactivos para la metodología de FRAP Y ABTS



Fotografía 5. Reactivos para la determinación de la capacidad antioxidante



Fotografía 6. Pesado de reactivos para la metodología de FRAP Y ABTS



Fotografía 7. Siembra microbiológica para la determinación de la actividad microbiana



Fotografía 8. Adecuación del espacio para la siembra microbiológica



Anexo 7. Aval del Traductor