



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES
CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

**OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN HIDROALCOHÓLICA A
PARTIR DEL TZINTZO (*Tagetes minuta*) EN FUNCIÓN DEL CONTENIDO DE
POLIFENOLES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE**

Proyecto de Investigación previo a la obtención del Título de Ingenieros
Agroindustriales

Autores:

Díaz Soatunce Diana Elizabeth

Guamán Heredia Edison Xavier

Tutor

Rojas Molina Jaime Orlando Quim. Mg.

LATACUNGA – ECUADOR

Marzo 2022

DECLARACIÓN DE AUDITORÍA

Díaz Soatunce Diana Elizabeth, con cédula de ciudadanía No. 0504054339; y, Guamán Heredia Edison Xavier, con cédula de ciudadanía No. 0504347451, declaramos ser autores del presente proyecto de investigación: “Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir del tzintzo (*Tagetes minuta*) en función del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante”, siendo el Químico Mg. Jaime Orlando Rojas Molina, Tutor del presente trabajo; y, eximimos expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

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

Latacunga, 24 de marzo 2022

Diana Elizabeth Díaz Soatunce

Estudiante

CC: 0504054339

Edison Xavier Guamán Heredia

Estudiante

CC: 0504347451

Quim. Mg. Jaime Orlando Rojas Molina

Docente Tutor

CC: 0502645435

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **DÍAZ SOATUNCE DIANA ELIZABETH**, identificada con cédula de ciudadanía **0504054339** 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 denomina **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

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

Historial Académico:

Inicio de la carrera: Abril 2017 – Agosto 2017

Fecha de finalización: Octubre 2021 – Marzo 2022

Aprobación en Consejo Directivo: 7 de Enero de 2021

Tutor: Quim. Mg Jaime Orlando Rojas Molina

Tema: “Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir del tzintzo (*Tagetes minuta*) en función del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante”

CLÁUSULA SEGUNDA. - LA CESIONARIA es una persona jurídica de derecho público creada por la 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. - 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 prohibición 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 importancia al territorio nacional de copias de 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 está contemplada en la ley como excepción a, derecho patrimonial.

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

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

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explorar 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 24 días del mes de marzo del 2022.

Diana Elizabeth Díaz Soatunce
LA CEDENTE

Ing. Ph.D. Cristian Tinajero Jiménez
LA CESIONARIA

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **GUAMÁN HEREDIA EDISON XAVIER**, identificado con cédula de ciudadanía **0504347451** de estado civil soltero, a quien en lo sucesivo se denominará **EL 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 denomina **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA.- EL CEDENTE es una persona natural estudiante de la carrera de Ingeniería Agroindustrial, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado: **“Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir del tzintzo (*Tagetes minuta*) en función del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante”**, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

Inicio de la carrera: Abril 2017 – Agosto 2017

Fecha de finalización: Octubre 2021 – Marzo 2022

Aprobación en Consejo Directivo: 7 de Enero de 2021

Tutor: Quim. Mg. Jaime Orlando Rojas Molina

Tema: “Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir del tzintzo (*Tagetes minuta*) en función del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante”

CLÁUSULA SEGUNDA. - LA CESIONARIA es una persona jurídica de derecho público creada por la 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. - OBJETO DEL CONTRATO: Por el presente contrato **EL 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 prohibición 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 importancia al territorio nacional de copias de 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 está contemplada en la ley como excepción a, derecho patrimonial.

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

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

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

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

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

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

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 24 días del mes de marzo del 2022.

Edison Xavier Guamán Heredia
EL CEDENTE

Ing. Ph.D. Cristian Tinajero Jiménez
LA CESIONARIA

AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

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

“OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN HIDROALCOHÓLICA A PARTIR DEL TZINTZO (*Tagetes minuta*) EN FUNCIÓN DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE”, de Díaz Soatunce Diana Elizabeth y Guamán Heredia Edison Xavier, de la carrera de Ingeniería Agroindustrial, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

Latacunga, 24 de marzo del 2022

Quim. Mg. Jaime Orlando Rojas Molina

DOCENTE TUTOR

CC: 0502645435

AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tribunales de Lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitida por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, los postulantes Díaz Soatunce Diana Elizabeth y Guamán Heredia Edison Xavier, con el título del Proyecto de Investigación: “OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN HIDROALCOHÓLICA A PARTIR DEL TZINTZO (*Tagetes minuta*) EN FUNCIÓN DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE”, han considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

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

Latacunga, 24 de marzo del 2022

Lector 1 (Presidente)
Ing. Mg. Ana Maricela Trávez Castellano
CC: 0502270937

Lector 2
Ing. Mg. Zoila Eliana Zambrano Ochoa
CC: 0501773931

Lector 3
Ing. Mg. Edwin Ramiro Cevallos Carvajal
CC: 0501864854

AGRADECIMIENTO

Agradezco primeramente a Dios por darme la fuerza, sabiduría y constancia necesaria para poder culminar este trabajo.

A mis padres, quienes a pesar de tantas dificultades estuvieron bríndame todo su apoyo incondicional.

A mi hermano Henry, por depositar toda su confianza en mí y por ser como un padre ya que él estuvo apoyándome durante la carrera universitaria, infinitamente gracias por todo ese amor y por hacer creer en mí misma que si puedo lograr cualquier meta propuesta.

A mis hermanos y hermanas, quienes de una u otra manera estuvieron pendientes y apoyándome en los buenos y malos momentos.

A mi novio por estar siempre ahí para mí y ayudarme en mis peores momentos para seguir adelante frente a todos los obstáculos, por brindar sus palabras de aliento y enseñarme a nunca rendirme.

A la Universidad Técnica de Cotopaxi por abrirme la puerta y dar esa oportunidad de estudiar en la Carrera de Ingeniería Agroindustrial, donde encontramos grandes Docentes los cuales no comparten sus saberes y que nos forjan a ser unos buenos profesionales con valores. De igual manera al Químico Orlando Rojas, tutor del proyecto, quien nos guió y apoyó durante el desarrollo y culminación del proyecto.

Diana Elizabeth Díaz Soatunce

AGRADECIMIENTO

En este largo recorrido de la vida muchas de las cosas que conseguimos es gracias al apoyo de las personas que queremos y nos ayudan a ser mejores y agradezco a Dios por darme una hermosa familia, a mis amigos y a cada persona que me brindó su apoyo en esta etapa muy importante en mi vida.

De igual manera a los docentes que nos impartieron sus conocimientos con el objetivo de culminar con éxito nuestra carrera y llegar a ser un profesional sobre todo a mi tutor Quim. Jaime Orlando Rojas Molina Mg, quien estuvo pendiente del correcto desarrollo del proyecto de investigación.

Edison Xavier Guamán Heredia

DEDICATORIA

A mis padres quienes con su esfuerzo y amor han estado aconsejándome de la mejor manera para salir adelante.

A mi hermano Henry, que siempre ha estado junto a mí a pesar de tantas dificultades, quien fue y seguirá siendo mi consejero y motivo de inspiración para culminar mi meta.

A mis hermanos y hermanas quienes siempre me han mostrado su cariño y apoyo para seguir adelante en mi vida y en la culminación de mi carrera.

Y como no agradecer a todas esas personas que han estado conmigo, compartiendo cada uno de mis pequeños logros y sobre todo brindándome una palabra de ánimo y motivándome en cada paso que doy en mi vida.

Diana Elizabeth Díaz Soatunce

DEDICATORIA

A mi madre Mercedes, por darme ese plato de comida en esas noches de desvelo, por cumplir una tarea y ser mi sustento en todo momento. De igual manera mi hermano Edgar por su apoyo incondicional desde el inicio de mi carrera hasta estos momentos cuando estoy a punto de culminarla y como olvidar a mi otra madre, mi tía Luisa que me acogió en su hogar como un hijo más y me regaló ese cariño en circunstancias difíciles, para mí son las personas más especiales en mi vida ustedes me dieron aliento cuando todo parecía venirse abajo, que en ocasiones no hacía falta que dijeran una palabra, pues con su ejemplo y ganas de salir adelante me motivaron a continuar a pesar de las circunstancias y demostrarme que todo esfuerzo tendrá su fruto.

Edison Xavier Guamán Heredia

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: “OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN HIDROALCOHÓLICA A PARTIR DEL TZINTZO (*Tagetes minuta*) EN FUNCIÓN DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE”.

AUTORES: Díaz Soatunce Diana Elizabeth
Guamán Heredia Edison Xavier

RESUMEN

El presente trabajo se realizó con la finalidad de optimizar el proceso de extracción hidroalcohólica a partir de la planta del tzintzo (*Tagetes minuta*) en función de su contenido de polifenoles y capacidad antioxidante, para ello se procedió a recortar las hojas y tallos en tamaño aproximado de 1-2 cm para luego poner en las bandejas de aluminio para llevar a la estufa a una temperatura de 40°C por 72 horas para su respectivo proceso de deshidratación. En el análisis del perfil fitoquímico se encontró componentes bioactivos tales como flavonoides, compuestos fenólicos, mucílagos, alcaloides entre otros, en donde los polifenoles y flavonoides tenían una mayor concentración. Las corridas se establecieron mediante el programa Design Expert 8.0.6 en el que se determinó 27 corridas con 3 factores: tiempo (6 h, 15 h y 24 h), temperaturas (30 °C, 45°C y 60°C) y concentración de etanol (60%-75%-90%). Al someter la droga cruda a una solución hidroalcohólica se determinó el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de las diferentes corridas experimentales con los distintos factores. Los valores obtenidos variaron entre 43,21 - 132,12 mg/g para el contenido de polifenoles y de 678,34 $\mu\text{MFe}^{+2}/\text{g}$ - 982,12 $\mu\text{MFe}^{+2}/\text{g}$ para la capacidad antioxidante en los cuales se obtuvo el valor mayor en condiciones similares tanto para el contenido de polifenoles como para la capacidad antioxidante, a mayor concentración de etanol, mayor temperatura y tiempo mayor será la obtención de polifenoles y su capacidad antioxidante. Finalmente, los valores de deseabilidad y caracterización que se obtuvieron fueron los siguientes: en análisis sensorial su olor fue característico, su aspecto opaco y homogénea. Las características físico-químicas: contenido de polifenoles totales se obtuvo un total de 133,56 mg AG/g, poder antioxidante de reducción férrica (FRAP) 989,12 $\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g}$ y ABTS 27,32 $\mu\text{mol ET}/\text{g}$; un pH de 5,67, acidez de 0,33 %m/m ácido sulfúrico y una humedad del 97,12 %.

Palabras claves: capacidad antioxidante, droga cruda, extracto, flavonoides, hidroalcohólica, optimización, polifenoles, tzintzo.

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI
FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES

THEME: “OPTIMIZATION OF THE HYDROALCOHOLIC EXTRACTION PROCESS FROM TZINTZO (*Tagetes minuta*), DEPENDING ON THE CONTENT OF POLYPHENOLS AND ANTIOXIDANT CAPACITY”

AUTHORS: Díaz Soatunce Diana Elizabeth
Guamán Heredia Edison Xavier

ABSTRACT

The present work was carried out with the purpose of optimizing the hydroalcoholic extraction process from the "tzintzo" plant based on its polyphenol content and antioxidant capacity, for which the leaves and stems were cut to an approximate size of 1-2 cm and then put in the aluminum trays to take to the stove at a temperature of 40°C for 72 hours for their respective dehydration process. In the analysis of the phytochemical profile, bioactive components such as flavonoids, phenolic compounds, mucilages, alkaloids, among others, were found, where polyphenols and flavonoids had a higher concentration. The runs were established using the Design Expert 8.0.6 program in which 27 runs with 3 factors were determined: time (6 h, 15 h and 24 h), temperatures (30 °C, 45°C and 60 °C) and ethanol concentration (60%-75%-90%). By subjecting the crude drug to a hydroalcoholic solution, the content of total polyphenols and the antioxidant capacity of the different experimental runs with the different factors were determined. The values obtained varied between 43,21 – 132,12 mg/g for the content of polyphenols and 678,34 mg/g – 982,12 mg/g for the antioxidant capacity, in which the highest value was obtained under similar conditions. For both polyphenol content and antioxidant capacity, the higher the ethanol concentration, the higher the temperature and the longer the time, the polyphenols and their antioxidant capacity will be obtained. Finally, the values of desirability and characterization that were obtained were the following: in sensory analysis, its smell was characteristic, its appearance opaque and homogeneous. The physical-chemical characteristics: total polyphenol content, a total of 133,56 mg AG/g, iron reduction antioxidant power (FRAP) 989,12 µM Fe²⁺/g and ABTS 27,32 µmol ET/g; a pH of 5,67, acidity of 0,33% m/m sulfuric acid and humidity of 97,12%.

Keywords: antioxidants capacity, crude drug, extract, flavonoids, hydroalcoholic, optimization, polyphenols, tzintzo.

ÍNDICE

DECLARACIÓN DE AUDITORÍA	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR	iii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR	v
AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	vii
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	viii
AGRADECIMIENTO	ix
AGRADECIMIENTO	x
DEDICATORIA	xi
DEDICATORIA	xii
RESUMEN	xiii
ABSTRACT	xiv
ÍNDICE	xv

ÍNDICE GENERAL

1. INFORMACIÓN GENERAL	1
2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	2
3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	3
3.1. Directos	3
3.2. Indirectos	3
4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	3
5. OBJETIVOS	4
5.1. Objetivo general	4
5.2. Objetivos específicos	4
6. ACTIVIDADES Y SISTEMAS DE TAREAS DE LOS OBJETIVOS	5
7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA TÉCNICA	6
7.1. Antecedentes	6
7.2. Fundamentación teórica	7
7.2.1. <i>Tzintzo (Tagetes minuta)</i>	7
7.2.2. <i>Clasificación taxonómica</i>	8
7.2.3. <i>Descripción botánica</i>	8
7.2.4. <i>Composición química</i>	8
7.2.5. <i>Usos</i>	9
7.2.6. <i>Extracto hidroalcohólico</i>	10

7.2.7.	<i>Tipos de extractos</i>	10
7.2.7.1.	Extractos fluidos o líquidos	11
7.2.7.2.	Extractos semisólidos o blandos	11
7.2.7.3.	Extractos pulverizados o secos	11
7.2.8.	<i>Empleo de extractos vegetales en la industria alimentaria</i>	11
7.2.9.	<i>Actividad antioxidante</i>	12
7.2.10.	<i>Tipos de antioxidantes</i>	13
7.2.10.1.	Antioxidantes no enzimáticos	13
7.2.10.2.	Antioxidantes enzimáticos	13
7.2.11.	<i>Evaluación del proceso de secado de las hojas del tzintzo</i>	13
7.2.12.	<i>Secado de hojas</i>	14
7.2.13.	<i>Tamizaje fitoquímico</i>	14
7.2.13.1.	Ensayo de Sudán	14
7.2.13.2.	Ensayo de Dragendorff	14
7.2.13.3.	Ensayo de Baljet	14
7.2.13.4.	Ensayo de Liebermann-Burchard	14
7.2.13.5.	Ensayo de Catequinas	14
7.2.13.6.	Ensayo de Resinas	-14
7.2.13.7.	Ensayo de Fehling	14
7.2.13.8.	Ensayo de Espuma	14
7.2.13.9.	Ensayo de Cloruro Férrico III	15
7.2.13.10.	Ensayo de Ninhidrina	15
7.2.13.11.	Ensayo de Borntranger	15
7.2.13.12.	Ensayo Shinoda	15
7.2.13.13.	Ensayo Kedde	15
7.2.13.14.	Ensayo Mucílagos	15
7.2.13.15.	Ensayos Principios Amargos	15
7.3.	Marco conceptual	15
8.	HIPÓTESIS	16
8.1.	Hipótesis nula	16
8.2.	Hipótesis alternativa	16
8.3.	Validación de hipótesis	17
9.	METODOLOGÍA / DISEÑO EXPERIMENTAL	17
9.1.	Tipos de investigación	17

9.1.1.	<i>Investigación cuantitativa</i>	17
9.1.2.	<i>Investigación descriptiva</i>	17
9.1.3.	<i>Investigación experimental</i>	18
9.2.	Técnicas de investigación	18
9.2.1.	<i>Observación</i>	18
9.3.	Instrumentos de investigación	18
9.3.1.	<i>Ficha de observación</i>	18
9.4.	Metodología de la elaboración	19
9.4.1.	<i>Materiales para la optimización del proceso hidroalcohólico del tzintzo</i>	19
9.4.2.	<i>Metodología para la obtención del extracto del tzintzo</i>	20
9.4.2.1.	Recolección de la muestra vegetal (<i>Tagetes minuta</i>)	20
9.4.2.2.	Selección y limpieza de la muestra vegetal	21
9.4.2.3.	Corte y secado	22
9.4.2.4.	Molienda	23
9.5.	Metodología para la extracción	23
9.5.1.	<i>Obtención de los extractos etéreo, etanólico y acuoso</i>	23
9.5.2.	<i>Tamizaje fitoquímico</i>	24
9.6.	Metodología para la determinación de contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante	24
9.6.1.	<i>Ensayo FRAP (ferric reducing antioxidant power)</i>	24
9.6.2.	<i>Ensayo ABTS (Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)</i>	26
9.6.3.	<i>Determinación del contenido de polifenoles totales</i>	26
9.7.	Caracterización del extracto hidroalcohólico optimizado	28
9.7.1.	<i>Color</i>	28
9.7.2.	<i>Olor</i>	28
9.7.3.	<i>Aspecto</i>	28
9.7.4.	<i>Homogeneidad</i>	28
9.7.5.	<i>Contenido de polifenoles</i>	28
9.7.6.	<i>Capacidad antioxidante FRAP</i>	29
9.7.7.	<i>Capacidad antioxidante ABTS</i>	29
9.7.8.	<i>Determinación de pH</i>	29
9.7.9.	<i>Determinación de acidez</i>	29
9.7.10.	<i>Determinación de humedad</i>	29
9.7.11.	<i>Obtención de la droga cruda</i>	30
9.7.12.	<i>Polifenoles totales y capacidad antioxidante</i>	31

9.8.	Diseño experimental	32
9.9.	Cuadro de variables	33
10.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	34
10.1.	Análisis perfil fitoquímico	34
10.2.	Representación de las corridas experimentales	35
10.3.	Parámetros del modelo codificado para el contenido de polifenoles totales	37
10.4.	Parámetros del modelo codificado del poder antioxidante reductor del hierro	39
10.5.	Validación de los valores predichos y experimentales del proceso de la cantidad de polifenoles y capacidad antioxidante	40
10.6.	Optimización del modelo lineal	42
10.7.	Caracterización del extracto optimizado del tzintzo (<i>Tagetes minuta</i>)	43
11.	IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS)	45
11.1.	Técnicos	45
11.2.	Sociales	45
11.3.	Ambientales	45
11.4.	Económicos	45
12.	PRESUPUESTO	46
13.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	48
13.1.	Conclusiones	48
13.2.	Recomendaciones	49
14.	REFERENCIAS	50
15.	ANEXOS	56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	<i>Actividades y sistema de tareas de los objetivos</i>	5
Tabla 2	<i>Taxonomía tzintzo (<i>Tagetes minuta</i>)</i>	8
Tabla 3	<i>Composición química del tzintzo (<i>Tagetes minuta</i>)</i>	9
Tabla 4	<i>Descripción del diseño</i>	32
Tabla 5	<i>Cuadro de variables</i>	33
Tabla 6	<i>Análisis perfil fitoquímico del tzintzo (<i>Tagetes minuta</i>)</i>	34
Tabla 7	<i>Representación de las corridas experimentales</i>	35
Tabla 8	<i>Representación de las corridas experimentales (continuación)</i>	36
Tabla 9	<i>Parámetros del modelo codificado para el contenido de polifenoles totales</i>	37
Tabla 10	<i>Parámetros del modelo codificado del poder antioxidante reductor del hierro</i>	39

Tabla 11 <i>Valores predichos y experimentales del proceso</i> -----	41
Tabla 12 <i>Características sensoriales del extracto optimizado del tzintzo (Tagetes minuta)</i> -----	43
Tabla 13 <i>Valores del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del extracto optimizado</i> -----	43
Tabla 14 <i>Características físico-químicas del extracto optimizado del tzintzo (Tagetes minuta)</i> -	44
Tabla 15 <i>Presupuesto del proyecto</i> -----	46
Tabla 16 <i>Presupuesto del proyecto (continuación)</i> -----	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 <i>Tzintzo (Tagetes minuta)</i> -----	7
Figura 2 <i>Recolección</i> -----	21
Figura 3 <i>Selección y limpieza de muestra vegetal</i> -----	21
Figura 4 <i>Corte</i> -----	22
Figura 5 <i>Secado</i> -----	22
Figura 6 <i>Molienda</i> -----	23
Figura 7 <i>Capacidad antioxidante</i> -----	24
Figura 8 <i>Polifenoles</i> -----	27
Figura 9 <i>Parámetros del modelo codificado para el contenido de polifenoles totales</i> -----	38
Figura 10 <i>Parámetros del modelo codificado del poder antioxidante reductor del hierro</i> -----	40
Figura 11 <i>Optimización del proceso</i> -----	42

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Lugar de ejecución -----	56
Anexo 2. Datos informativos del docente tutor académico-----	57
Anexo 3. Datos informativos del estudiante 1 -----	58
Anexo 4. Datos informativos del estudiante 2 -----	60
Anexo 5. Fotografías-----	62
Anexo 6. Aval del traductor -----	64

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título

Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir del tzintzo (*Tagetes minuta*) en función del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante.

Lugar de ejecución

Barrio: Salache Bajo

Cantón: Latacunga

Provincia: Cotopaxi

Zona: 3

Institución, Facultad académica y carrera que auspicia

Facultad en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Carrera de Ingeniería Agroindustrial

Nombres de equipo de investigadores

Tutor:

Quim. Mg. Jaime Orlando Rojas Molina

Estudiantes:

Diana Elizabeth Díaz Soatunce

Edison Xavier Guamán Heredia

Área de conocimiento

Ingeniería, Industria y Producción

Línea de investigación

Desarrollo y seguridad alimentaria

Sublínea de investigación

Optimización de procesos tecnológicos agroindustriales

2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

El presente trabajo de investigación tiene como finalidad la extracción de los compuestos antioxidantes de la planta del tzintzo (*Tagetes minuta*). Varias plantas se utilizan como especias y condimentos desde los tiempos antiguos, es ampliamente conocido en múltiples culturas del mundo y ha sido transmitido a través de generaciones. Este saber tradicional se ha ido perfeccionando a lo largo del tiempo por el rigor científico de ensayos químicos, farmacológicos, toxicológicos y clínicos; para explicar, de forma racional, el uso terapéutico de una planta permitiendo, además, la eficacia de su empleo en los alimentos.

El tzintzo (*Tagetes minuta*), es una hierba anual de la familia de las asteráceas, de tamaño erecto, puede alcanzar más de 2 metros de altura; tiene hojas lanceoladas, dentadas y un olor fuerte. Esta planta no es considerada en la actualidad como un aditivo o complemento para la preparación de alimentación y en gran parte se debe a que con el tiempo se olvida de la existencia de esta planta ancestral propia de los andes. Gran parte de la población no sabe de su existencia y por su mala fama como planta indeseable en los cultivos es desechada sin saber de sus beneficios, por esa razón se pretende mostrar la importancia de su uso dentro de la industria y promover las diferentes alternativas benéficas que brinda. (Massuh et al., 2017)

En la actualidad no existen estudios donde se pueda conocer la composición química del tzintzo, por ello realizaremos la determinación del extracto en el cual se pueda verificar que esta planta sea útil en la industria alimentaria. También se justifica porque se está estandarizando el proceso de extracción de ciertas plantas ya que es importante obtener datos confiables en los procesos de optimización a nivel de la industria para obtener productos de calidad, además, los productos estandarizados ofrecen a los consumidores mayor seguridad para su salud ya que cuentan con ciertas normativas básicas.

Los aditivos alimentarios son obtenidos mediante síntesis química, lo que puede generar daño a la salud de los consumidores. Este extracto puede ser utilizado como antioxidante, conservante, antimicrobiano, antidiabético, antiinflamatorio, saborizante o aromatizantes y también constituye en alimentos nutraceuticos lo cual trae múltiples beneficios para la salud humana.

Actualmente en la industria alimentaria se está mostrando un cambio significativo en cuanto al desarrollo de nuevos productos, mediante la aplicación de ciertos extractos naturales de plantas que poseen características de interés industrial como antioxidante, antimicrobiano,

antiinflamatorios, saborizantes o aromatizantes que son utilizados como agentes conservadores de los alimentos.

3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

3.1. Directos

Los beneficiarios directos serán las comunidades que viven en los alrededores de la Universidad, así como a los estudiantes que forman parte de la carrera para que puedan dar uso del desarrollo del proyecto como promotor para nuevas investigaciones y/o aplicaciones.

Según (Castro, 2011). “En el sector de Salache Grande viven alrededor de 1200 habitantes” entre hombres y mujeres de todas las edades.

3.2. Indirectos

Los beneficiarios indirectos serán los consumidores y las industrias alimentarias que puedan apoyar en esta investigación para elaborar productos innovadores o para dar un valor agregado a los productos ya elaborados.

4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

El uso de aditivos alimentarios dentro de la industria y la creciente demanda de productos alimenticios genera que con el tiempo se busquen mejores formas para la elaboración de los mismos o nuevas alternativas para el creciente mercado y una de las alternativas que más se utiliza es la aplicación de aditivos químicos o sintéticos por su bajo costo y mayor durabilidad. Sin embargo, el uso de estos aditivos provoca daños a los consumidores debido a que contiene sustancias químicas lo que provoca perjuicios a corto, mediano y largo plazo. (Echeverría, 2020)

Dentro del grupo de los aditivos se encuentran los polifenoles o compuestos fenólicos que son moléculas naturales del metabolismo secundario de las plantas que derivan de las vías de shiquimato y de los fenilpropanoides. En el reino vegetal se encuentran ampliamente distribuidos, de hecho, las plantas sintetizan miles de compuestos fenólicos diferentes. El contenido de polifenoles en las plantas y frutos tiene variaciones que dependen del genotipo, especie, condiciones ambientales, grado de madurez, composición del suelo, ubicación geográfica y condiciones de almacenamiento. Además de participar en la función fisiológica de los vegetales, también son componentes importantes de la dieta humana, aunque no se consideran como nutrientes. Son objeto frecuente de investigación debido a sus diversas

funciones como lo es la asimilación de nutrientes, síntesis proteica, actividad enzimática, fotosíntesis, formación de componentes estructurales. (García et al., 2017)

Por esta razón se ha visto la necesidad en realizar un estudio sobre los beneficios que brinda la planta de tzintzo (*Tagetes minuta*) considerando que las aplicaciones de los polifenoles presentes en dicha planta son varias como en la industria alimentaria y farmacéutica y con el tiempo han tenido una mayor relevancia el uso de los mismos, este estudio puede marcar una pauta importante con respecto al reemplazo continuo de aditivos sintéticos por aditivos naturales y de esa manera ampliar el uso y aplicaciones de compuestos naturales y reduciendo el riesgo de problemas en la salud de los consumidores. Además, esta investigación pretende que en un futuro sirva como precedente para posteriores estudios que se desarrollen poniendo principal hincapié en los beneficios que brinda el tzintzo (*Tagetes minuta*) y sus aplicaciones.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Optimizar el proceso de extracción hidroalcohólica de la droga cruda obtenida a partir del tzintzo (*Tagetes minuta*) en función del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante.

5.2. Objetivos específicos

- Determinar el perfil fitoquímico del tzintzo (*Tagetes minuta*) mediante tamizaje fitoquímico.
- Extraer los principios bioactivos de la planta de tzintzo (*Tagetes minuta*) en función a la cantidad de polifenoles y capacidad antioxidante.
- Caracterizar el extracto hidroalcohólico optimizado de la droga cruda mediante la cantidad de polifenoles, capacidad antioxidante (FRAP y ABTS), pH, acidez y humedad.

6. ACTIVIDADES Y SISTEMAS DE TAREAS DE LOS OBJETIVOS

Tabla 1

Actividades y sistema de tareas de los objetivos

OBJETIVO	ACTIVIDAD (TAREAS)	RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD	MEDIO DE VERIFICACIÓN
Determinar el perfil fitoquímico del tzintzo (<i>Tagetes minuta</i>).	<p>Recolección de las muestras</p> <p>Secado de la muestra.</p> <p>Pesado de la muestra.</p> <p>Reacciones de identificación mediante tamizaje fitoquímico.</p> <p>Determinación de los compuestos bioactivos del tzintzo (<i>Tagetes minuta</i>).</p>	<p>Se analizó los componentes bioactivos encontrados del tzintzo (<i>Tagetes minuta</i>).</p>	<p>Los componentes bioactivos del tzintzo (<i>Tagetes minuta</i>) observar en el ítem 10.1. y en la tabla 6.</p>
Extraer los principios bioactivos de la planta del tzintzo (<i>Tagetes minuta</i>) en función a la cantidad de polifenoles y capacidad antioxidante	<p>Preparación de las disoluciones químicas.</p> <p>Colocar las disoluciones a las condiciones establecidas en los factores.</p> <p>Determinar la cantidad de polifenoles y la capacidad antioxidante del tzintzo (<i>Tagetes minuta</i>).</p>	<p>Se verificó la cantidad de antioxidantes y polifenoles totales del extracto hidroalcohólico del tzintzo (<i>Tagetes minuta</i>).</p>	<p>Los valores de los polifenoles y capacidad antioxidante observar en los ítems 10.2.-10.3.-10.4., en las tablas 7, 8, 9 y 10 y en las figuras 9 y 10.</p>
Caracterizar el extracto hidroalcohólico optimizado de la droga cruda.	<p>Caracterización del extracto obtenido, en donde se determina la cantidad de polifenoles y capacidad antioxidante.</p> <p>Determinación de las características sensoriales (olor, color, aspecto y propiedades físicas-químicas (polifenoles, capacidad antioxidante, pH, acidez y humedad) del extracto optimizado.</p>	<p>Se realizó el análisis del extracto optimizado de la droga cruda.</p>	<p>La caracterización del extracto hidroalcohólico optimizado observar en el ítem 10.7. y en las tablas 12, 13 y 14.</p>

Elaborado por: (Díaz E. & Guamán E.)

7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA TÉCNICA

7.1. Antecedentes

Según (Gaibor et al., 2017) en su investigación “Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir de pulpa de cerezo negro (*Syzygiumcumini l. skeels*)” manifiesta que para seguir con la optimización del proceso de extracción hidroalcohólica de cualquier tipo de planta o fruto primeramente hay que conocer los principios bioactivos por ello hay que seleccionar las formas de manera general sus características como son el tamaño, color, ausencia de magulladura, alteraciones morfológicas y desarrollo fúngico visible. Posteriormente, se les deshidratan para obtener su extracto para su posterior análisis.

(Meneses et al., 2008) con el tema de “Optimización del proceso de extracción de flavonoides de flor de manzanilla (*Matricaria recutita L.*)” manifiestan que la extracción se debe realizar en tubos de ensayo con tapas en el cual se debe añadir disolvente y 1 g de extracto para obtener la concentración deseada, por otra parte también cabe mencionar que para conocer el número de tratamientos requeridos se debe realizar la interacción de los factores y niveles para obtener la curva de calibración con el resultado obtenido de los principios bioactivos de la droga cruda.

Según (Arencibia, 2018) con el proyecto de investigación “Optimización de la extracción de antocianinas a partir de manzana malaya (*Syzygium malaccense*)” menciona que para un obtener un mejor resultado de la extracción de antioxidantes y polifenoles es de vital importancia emplear el programa Design Expert 8.0.6 ya que este diseño nos permite el procesamiento de resultados para la optimización del proceso de extracción hidroalcohólica. También, el extracto optimizado se debe medir el pH, sólidos totales, densidad y para la cuantificación de polifenoles totales se debe realizar de acuerdo a la metodología propuesta por Slinkard y Singleton (1997), en el cual el ensayo consiste en añadir el extracto en la disolución de Folin y dejar por un tiempo determinado para medir la absorbancia en un espectrofotómetro. Finalmente, concluyeron que el mayor ($p \leq 0,05$) rendimiento de extracción de principios bioactivos corresponde con el mayor tiempo de extracción y porcentaje de etanol.

(García et al., 2017) con el proyecto de investigación “Optimización de las variables de extracción de flavonoides a partir de hojas de la Guanábana (*Annona muricata L.*)”, menciona que el comportamiento obtenido para las concentraciones de etanol y relaciones disolvente/material vegetal empleadas es esperado debido a que los procesos de extracción

son más eficientes cuando la cantidad de disolvente es elevada. Generalmente grandes cantidades de disolvente pueden disolver constituyentes más eficientemente, conduciendo a un aumento del rendimiento de extracción. Por el contrario, pequeñas relaciones de disolvente material vegetal pueden propiciar bajos rendimientos de extracción debido a que se alcanza el equilibrio y al no existir una diferencia de concentración del metabolito en la fase líquida y dentro de la matriz vegetal finaliza el proceso de transferencia de masa. Por consiguiente, la elección de volúmenes apropiados de disolventes es una tarea muy importante.

7.2. Fundamentación teórica

7.2.1. Tzintzo (*Tagetes minuta*)

Figura 1

Tzintzo (Tagetes minuta)



Fuente: (Díaz E. & Guamán E.)

Los nombres comunes del tzintzo (*Tagetes minuta*) varía según la región, con mayor frecuencia en la literatura se encuentra como: yuyito del amor, chil chil, huacatay, chinchilla, asnayuyo, suico, es una especie del género tagetes, pertenecientes a la familia Asteraceae, además es una hierba anual que cumple su ciclo en el verano. Se trata de una especie del sur de Sudamérica donde vegeta en pastizales templados y regiones montañosas de Perú, Bolivia, Chile, Ecuador y en partes en Argentina, Paraguay. (Visintin & Bernardello, 2005)

El tzintzo (*Tagetes minuta*) se utiliza como medicamentos tradicionales en muchos países para tratar cólicos, diarrea, vómito, fiebre, enfermedades de la piel y los trastornos hepáticos, demostrando también que es muy útil en la gastronomía del Ecuador como es en la preparación del locro de zapallo como un condimento adicional y contienen propiedades

antimicrobianas (Cofre, 2012). Según (Visintin & Bernardello, 2005), nos manifiesta que en efecto “es una potencial fuente de aceites aromáticos, los cuales son usados para la fabricación de perfumes y fragancias”.

7.2.2. Clasificación taxonómica

La descripción taxonómica del tzintzo (*Tagetes minuta*) se presenta en la tabla 2

Tabla 2

Taxonomía tzintzo (Tagetes minuta)

Reino	Plantae
Subreino	Traqueobionta
Superdivisión	Spermatophyta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Subfamilia	Asteroideae
Tribu	Tageteae
Genero	Tagetes
Especie	T. minuta

Fuente: (Flores, 2019)

7.2.3. Descripción botánica

Es una hierba anual, aromáticas al estrujarse, que germina, florece y sucumbe en el curso de un año, también, es erecta, glabra, de olor penetrante, persistente pero agradable, generalmente mide entre 60 cm a 1m, pero pueden crecer hasta 2m de altura. Hojas pinnatisectas con 4-8 pares de segmentos lanceolado, aserrados y segmentos terminales algo mayor, con flores de color blanco con toques amarillo pálido, valiéndose de insectos para polinizar las flores y el fruto se encuentra en capsula, siendo un fruto simple que se abre al madurar. Se propaga muy bien por semilla. (Uvidia, 2012)

7.2.4. Composición química

Según (Uvidia, 2012) nos indica que el tzintzo (*Tagetes minuta*) es una de las especies ricas en compuestos secundarios, tales como, compuestos acíclicos y bicíclicos, monoterpenos monocíclicos, sesquiterpenos, flavonoides, tiofenos, y compuestos aromáticos. Dichos

componentes varían según la parte de la planta y estado de crecimiento. Se dice que el aceite de hojas de la planta sin florecer contiene principalmente dehidrotagetona, pero el aceite de las hojas de una planta en flor y el aceite de las flores es rico en β - ocimeno y tagetenona.

Según (Flores, 2019) nos menciona que en la siguiente tabla se puede apreciar la composición química de huacatay o tzintzo (*tagetes minuta*), en ella se puede observar el alto contenido de calcio, así como fósforo, hierro y ácido ascórbico reducido.

Tabla 3

Composición química del tzintzo (Tagetes minuta)

Componentes	Cantidad
Agua (g)	83,4
Proteína (g)	5
Grasa (g)	0,8
CHO (g)	8
Fibra (g)	2,3
Ceniza (g)	2
Calcio (mg)	412
Fósforo (mg)	79
Hierro (mg)	8,7
Niacina (mg)	1,47
Ácido ascórbico Reducido (mg)	17,7

Fuente: (Díaz E. & Guamán E.)

7.2.5. Usos

En la gastronomía peruana el tzintzo (*Tagetes minuta*) se usa como condimentos en la preparación de ajíes, tales como salsas, guisos y asados. Es un ingrediente esencial en la preparación de ocopa, una salsa de ají, cebolla, ajo y maní, estos se les suele servir sobre las papas cocidas, además si lo mezclan con el tagetes elíptica como aderezo para el pollo a la brasa esto le da un sabor exquisito.

En la cocina boliviana es muy utilizada en diversas variantes de lagua, así como en la elaboración del queso Humacha, plato típico que consiste en papas y mazorcas de maíz que se

cocinan y se cubren con un aderezo, tradicionalmente se sirve salsa de queso y hierbas aromáticas en Pascua.

La planta entera se utiliza como medicamento como antiparasitario, relajante muscular, aromaterapia, espermatogénesis, diurético, laxante. También se usa en el tratamiento de gastritis, enfermedades parasitarias y fúngicas, infecciones respiratorias, además los vapores que emiten sus hojas se usan para tratar dolores de cabeza, bronquitis, infecciones, también se usa para desinfectar los pulmones, también se usa para desinfectar el dormitorio. Su aceite se utiliza para hacer perfumes y linimentos. (Sarmiento, s.f.)

Externamente, se usa para tratar hemorroides e infecciones de la piel, ayuda con heridas y cortes, por lo que debe usarse en pieles moderadas, especialmente en personas con piel sensible. No debe utilizarse durante el embarazo o cuando se dude de su existencia. En la cocina, sus hojas se utilizan como especia para dar sabor a sopas y salsas. El aceite extraído de la planta se utiliza para dar sabor a dulces, helados y bebidas. (Sarmiento, s.f.)

7.2.6. *Extracto hidroalcohólico*

Según (Fernández, 2019) manifiesta que en los extractos hidroalcohólico, el líquido que está en contacto con las plantas es el alcohol etílico de diferentes graduaciones según el activo a extraer.

7.2.7. *Tipos de extractos*

Los extractos vegetales son productos extraídos directamente de los frutos, hojas, semillas o raíces de una planta, los cuales contienen componentes que pueden realizar una función beneficiosa en el organismo cuando se ingieren a través de un alimento, un complemento alimenticio, o cuando los aplicamos en la piel mediante un cosmético. También actúan como conservantes y antioxidantes de dichos alimentos y cosméticos. (Gran velada, 2021)

Un ejemplo de un extracto vegetal con potentes propiedades antioxidantes y múltiples beneficios para la salud y la piel es el extracto de fruto de olivo con altos contenidos de Hidroxitirosol.

Según el medio en el que están macerados, los extractos vegetales pueden ser:

- Glicólicos: macerados principalmente en propilenglicol.

- Hidroalcohólicos o tinturas: macerados en alcohol etílico de diferentes graduaciones según el activo a extraer.
- Oleosos: macerados en un aceite vegetal.
- Hidrosolubles: macerados en glicerina y agua. (Gran velada, 2021)

7.2.7.1. Extractos fluidos o líquidos

Los extractos fluidos son preparaciones líquidas tal que 1 parte por masa o volumen es equivalente a 1 parte por masa o droga vegetal o tejido animal seco (Lenin, 2013), empleando como disolvente agua, alcohol o una mezcla hidroalcohólica donde cada mililitro contiene los contribuyentes extraídos de 1 gramo del material crudo que se representa o se especifique lo contrario. (Quiñones, 2016)

7.2.7.2. Extractos semisólidos o blandos

Según (Quiñones, 2016) menciona que los extractos pulverizados, blandos son preparaciones de consistencias intermedias entre los extractos fluidos y pulverizados ya que estos son obtenidos por evaporación parcial del solvente (agua, alcohol o mezclas hidroalcohólica) empleado en la extracción.

7.2.7.3. Extractos pulverizados o secos

Según (Quiñones, 2016) manifiesta que los extractos pulverizados son preparaciones sólidas con consistencias de polvo obtenidos por la evaporación del disolvente utilizado para la extracción a esto se le puede aplicar en diferentes concentraciones de agua, alcohol o una mezcla hidroalcohólica.

7.2.8. Empleo de extractos vegetales en la industria alimentaria

Los extractos vegetales y su empleo en la industria alimentaria se encuentran sometidos a diferentes criterios, dando casi bien en muchos de los casos los extractos de origen vegetal lo podemos encontrar en plantas o frutas que se consume comúnmente, al momento de hablar de las normativas que se aplica en las industrias alimentarias nos encontramos con la incomprensión legislativa en tanto que para llevar a cabo de manera precisa con la legislación alimentaria se necesita pedir la aceptación como nuevos alimentos. (Ferrer, 2015)

7.2.9. *Actividad antioxidante*

Un antioxidante es una sustancia que pertenece a los alimentos de consumo diario y que puede prevenir los efectos adversos de especies reactivas sobre las funcionalidades fisiológicas de los humanos. Las características antioxidantes no solo tienen que estudiarse por sus relaciones químicas-biológicas, sino por su funcionalidad en el deterioro oxidativo que perjudica a los alimentos. Se usa en la industria alimentaria adicionados a las grasas u otros productos para retrasar los procesos de oxidación, en tanto previenen el inicio de la rancidez oxidativa, (grasas). (Coronado et al., 2015)

Según (Olivares et al., 2010) menciona que “el estilo de vida presente puede fomentar inadecuados hábitos alimenticios, consumiendo alimentos con baja calidad nutricional y capacidad antioxidante”. Los antioxidantes y sus efectos en la salud son pocas las personas que conocemos su estructura química, su procedencia y sobre todo lo que deberíamos hacer para incorporar a nuestros organismos estos agentes naturales en donde proteja nuestras células y tejidos. (Gámiz, 2018)

Las técnicas de ABTS y FRAP, miden la capacidad de un antioxidante en la reducción de un oxidante, el cual cambia de color una vez que es limitado y se fundamentan en la función de transferencia de electrones. Asimismo, los resultados del porcentaje de inhibición de los extractos logrados de diferentes tratamientos de sustracción, así como de ciertos bioactivos se utilizan como estándares de referencia. (Soto & Rosales, 2016)

Los compuestos antioxidantes pueden inhibir o retardar la oxidación de otras moléculas y/o propagación de las reacciones en cadena de los radicales libres. Se dividen en dos categorías principalmente que son: sintéticos y naturales. En general los antioxidantes sintéticos son compuestos de estructuras fenólicas con varios grados de sustitución alquímica, mientras que los antioxidantes naturales pueden ser: compuestos fenólicos (tocoferoles, flavonoides y ácidos fenólicos), compuestos nitrogenados (alcaloides, derivados de la clorofila, aminoácidos y aminas) o carotenoides, así como el ácido ascórbico. Los antioxidantes sintéticos como el BHA y BHT (Butil –hidroxianisol y Butil -hidroxitolueno) desde el siglo pasado se los ha utilizado como antioxidantes. Sin embargo, se han impuesto medidas de precaución y se ha restringido su uso debido a su carcinogenicidad. El interés hacia los antioxidantes naturales ha incrementado considerablemente ya que la capacidad de actuar como tal se ha demostrado en el laboratorio. (Muñoz & Gutiérrez, 2015)

La técnica de FRAP (Poder Antioxidantes Reductor de Hierro) es una técnica de microscopía muy empleada en biología celular para el estudio de la dinámica de proteínas (Berguño et al., s.f.), evalúa el efecto combinado de las defensas antioxidantes no enzimáticas que se encuentran presentes en los fluidos biológicos, como el índice de la capacidad de resistir el daño oxidante. Los resultados del ensayo FRAP, se ha visto que correlacionan con los antioxidantes presentes en plantas o frutos. (Benítez et al., 2020)

7.2.10. Tipos de antioxidantes

7.2.10.1. Antioxidantes no enzimáticos

Este es el nombre genérico de una familia homogénea de compuestos que tienen en su estructura una porción hidroquinona metilada en mayor y menor grado y una cadena isoprenoide. La α -tocoferol es el uno de los componentes más abundantes de la vitamina E, la vitamina E tiene un grupo hidroxilo fenólico responsable de la actividad estabilizadora de los radicales libres presentes y una cadena que favorece a la región lipídica de la bicapa de antioxidantes. (Gavilánez, 2020)

7.2.10.2. Antioxidantes enzimáticos

(Gavilánez, 2020) manifiesta que los antioxidantes son producidos por el propio organismo, como las llamadas enzimas el cual tienen un poder reductor. También hay un conjunto de enzimas que aportan protección de diferente manera y que tienen como función principal regenerar las moléculas de los antioxidantes perdidos.

7.2.11. Evaluación del proceso de secado de las hojas del tzintzo

Las hojas frescas del tzintzo (*Tagetes minuta*) se secaron en un horno sin circulación de aire forzado (estufa) a 40 °C durante 3 días (Inocencio Camones et al., 2015). Para perder el agua fácilmente de las hojas se les corta en pedazos de aproximadamente 1 cm.

La pérdida de humedad se determinó al inicio y durante el período de secado, tomando muestras de diferentes lugares en la bandeja y moviendo ocasionalmente la muestra para obtener homogeneidad en el contenido de humedad, en el cual se determinó por gravimetría indirecta por volatilización mediante la separación del agua de las hojas por secado en una balanza (Sartorius Mod. MA-40, Alemania) a 105°C hasta masa constante. Los resultados se expresan como porcentaje de humedad. La droga cruda obtenida mediante el posterior secado

y molienda mediante un molino manual se envasó en bolsas Ziploc de doble cierre (Thai Griptech Co. LTD, Tailandia) y en un desecador hasta su posterior análisis.

7.2.12. Secado de hojas

No se sabe cuándo comenzó la conservación de los alimentos por deshidratación, pero la historia muestra que nuestros antepasados aprendieron a secar los alimentos por ensayo y error para conseguir una posibilidad de subsistencia en épocas de escasez de alimentos. Las primeras noticias sobre el secado involucraron vegetales y aparecieron en el siglo XVIII. Más tarde, el desarrollo del secado industrial se implementó a nivel mundial. (Palomino, 2016)

7.2.13. Tamizaje fitoquímico

(Pujol et al., 2020) manifiesta que el tamizaje fitoquímico es una investigación preliminar, con pruebas simples y rápidas que permiten la determinación cualitativa de los principales grupos químicos presentes en el material vegetal y como guía para el posterior fraccionamiento de los extractos de interés.

7.2.13.1. Ensayo de Sudán: Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos grasos.

7.2.13.2. Ensayo de Dragendorff: Permite reconocer en un extracto la presencia de alcaloides.

7.2.13.3. Ensayo de Baljet: Permite reconocer en un extracto la presencia de agrupamiento lactónico.

7.2.13.4. Ensayo de Liebermann-Burchard: Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides.

7.2.13.5. Ensayo de Catequinas: Permite reconocer en un extracto la presencia de catequinas.

7.2.13.6. Ensayo de Resinas: Permite reconocer en un extracto la presencia de resinas.

7.2.13.7. Ensayo de Fehling: Permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores.

7.2.13.8. Ensayo de Espuma: Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas.

7.2.13.9. Ensayo de Cloruro Férrico III: Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos fenólicos.

7.2.13.10. Ensayo de Ninhidrina: Permite reconocer en un extracto la presencia de aminoácidos libres y/o aminas.

7.2.13.11. Ensayo de Borntrager: Permite reconocer en un extracto la presencia de quinonas y/o benzoquinonas.

7.2.13.12. Ensayo Shinoda: Permite reconocer en un extracto la presencia de flavonoides.

7.2.13.13. Ensayo Kedde: Permite reconocer en un extracto la presencia de glucósidos cardiotónicos.

7.2.13.14. Ensayo Mucílagos: Permite reconocer en un extracto la presencia de mucílagos.

7.2.13.15. Ensayos Principios Amargos: Permite reconocer en un extracto la presencia de principios amargos.

7.3. Marco conceptual

- **Actividad antioxidante:** Es una molécula capaz de retardar los procesos de oxidación de otras moléculas.
- **Alcaloides:** Son productos de una secuencia de reacciones bioquímicas del metabolismo de las plantas.
- **Antioxidante:** Sustancia que impide la formación de óxidos.
- **Bioactivos:** Los compuestos bioactivos cumplen funciones en el cuerpo que pueden promover la buena salud.
- **Droga cruda:** Es una parte activa de un vegetal que solo es sometido a los procesos de recolección o cosecha y secado.
- **Extracto:** Sustancia muy concentrada que se obtiene de una planta, semilla u otra cosa por diversos procedimientos.
- **Fenoles:** Son compuestos que resultan de reemplazar un hidrógeno o más de su anillo aromático por uno o más OH.
- **Flavonoides:** Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos

ultravioletas, la contaminación ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc.

- **Hidroalcohólico:** Es una disolución, en la cual el líquido que está en contacto con las plantas, el extracto tiene olor característico, al de la materia prima desecada esta puede ser obtenida por maceración o percolación.
- **Hipótesis:** Suposición hecha a partir de unos datos que sirve de base para iniciar una investigación o una argumentación.
- **Optimizar:** Los objetivos comunes son minimizar el costo y maximizar el rendimiento y/o la eficiencia.
- **Polifenoles:** Los polifenoles son un grupo de sustancias químicas encontradas en plantas caracterizadas por la presencia de más de un grupo fenol por molécula.
- **Tamizaje fitoquímico:** Este proceso se realiza consecutivamente a los extractos etéreo, alcohólico y acuoso del producto natural con el fin de identificar o comparar los metabolitos secundarios extraídos con cada disolvente de diferentes polaridades.
- **Tzintzo:** Es una hierba anual de la familia de las asteráceas. De porte erecto, puede alcanzar una altura entre 60 cm hasta más de 2 m de altura; tiene hojas pinnatisectas, lanceoladas, dentadas, su fruto está encapsulado, sus flores son blancas con toques amarillentas, tiene un olor fuerte y crece en pastizales templados o regiones montañosos.
- **Valor predicho:** es un valor donde anuncia algo que va suceder según la situación como en este caso las corridas experimentales que se realizó sirven para la validación de los valores experimentales.

8. HIPÓTESIS

8.1. Hipótesis nula

H₀. La concentración de etanol, tiempo y temperatura no influye en la optimización del proceso de extracción hidroalcohólico a partir del tzintzo (*Tagetes minuta*).

8.2. Hipótesis alternativa

H₁. La concentración de etanol, tiempo y temperatura influye en la optimización del proceso de extracción hidroalcohólico a partir del tzintzo (*Tagetes minuta*).

8.3. Validación de hipótesis

Se acepta la hipótesis alternativa H1 y se rechaza la hipótesis nula Ho debido a que la concentración de etanol, tiempo y temperatura sí influyen en la optimización del proceso de extracción hidroalcohólico a partir del tzintzo.

9. METODOLOGÍA / DISEÑO EXPERIMENTAL

9.1. Tipos de investigación

Al iniciar una investigación o proyecto se debe plantear el tipo de investigación que se va a emplear y para este fin existen varios tipos que ayudan a obtener los resultados que se esperan, cada uno de manera distinta y acorde a la meta planteada, sin embargo, la investigación cuantitativa es la forma más adecuada de llegar a los resultados que se logró obtener con la finalidad de tener datos confiables de los análisis.

9.1.1. Investigación cuantitativa

La investigación cuantitativa es aquella en la que se recogen y analizan datos cuantitativos sobre variables. La investigación cualitativa evita la cuantificación. Los investigadores cualitativos hacen registros narrativos de los fenómenos que son estudiados mediante técnicas como la observación participante y las entrevistas no estructuradas. La diferencia fundamental entre ambas metodologías es que la cuantitativa estudia la asociación o relación entre variables cuantificadas y la cualitativa lo hace en contextos estructurales y situacionales.

La aplicación cuantitativa se aplicó para identificar los valores que se obtuvieron de las muestras después se procede a su respectivo análisis tales como la cantidad de polifenoles, capacidad antioxidante presente en la planta de tzintzo (*Tagetes minuta*) y estas variables están relacionadas con el tiempo, temperatura y concentración de etanol. Por lo tanto, al someterse a varios tratamientos los resultados obtenidos se recogen y tabulan para un posterior análisis.

9.1.2. Investigación descriptiva

La investigación descriptiva o método descriptivo de investigación es el procedimiento usado en ciencia para describir las características del fenómeno, sujeto o población a estudiar. Al contrario que el método analítico, no describe por qué ocurre un fenómeno, sino que se limita a observar lo que ocurre sin buscar una explicación.

Luego de obtener los resultados cuantitativos se procedió a describir el proceso y las posibles razones por la que se obtuvo dichos resultados considerando los tres aspectos fundamentales dentro del proyecto temperatura, tiempo y concentración de etanol.

9.1.3. Investigación experimental

La investigación experimental se diferencia de los otros tipos de investigación porque el objetivo de estudio y su método dependen del investigador y de las decisiones que establezca para llevar a cabo el experimento. En el experimento se manipulan de manera voluntaria las variables y se observan los resultados en un ambiente controlado. Se realizan repeticiones de los experimentos para verificar determinadas hipótesis realizadas por el investigador. Esto se puede realizar en un laboratorio o en el campo.

Dentro de este tipo de investigación se procedió a la utilización de instrumentos para iniciar con el proceso experimental, así como también las muestras de la planta y de esa manera aplicar a cada uno de los tratamientos a diferentes condiciones y observar en cuál de ellos se obtienen mejores resultados.

9.2. Técnicas de investigación

Las técnicas más comunes y utilizadas en la investigación cualitativa es la observación, la encuesta y la entrevista, y en la cuantitativa es más por la recopilación de datos estadísticos y documental esta recolección de datos se da mediante cuestionarios que asumen en nombre de encuestas con el fin de tener datos estadísticos más confiables.

9.2.1. Observación

Es una técnica que consiste en observar atentamente el fenómeno, hecho o caso, tomar información y registrarla para su posterior análisis.

- Esta técnica se empleó con la finalidad de identificar la eficacia del extracto hidroalcohólico del tzintzo (*Tagetes minuta*).

9.3. Instrumentos de investigación

9.3.1. Ficha de observación

Tipo de instrumento para conocer la manera como se desarrollan las actividades y los resultados.

- Se utilizó para registrar los datos experimentales obtenidos de los diferentes análisis físico-químicas realizados.

9.4. Metodología de la elaboración

Cada uno de los procedimientos se realizó en los laboratorios de la Universidad Técnica de Cotopaxi, extensión Salache en la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales.

9.4.1. Materiales para la optimización del proceso hidroalcohólico del tzintzo

Materia prima:

- Tzintzo

Materiales:

- Tijeras
- Papel aluminio
- Bandejas de papel aluminio
- Bolsas plásticas
- Matraces Erlenmeyer 100 ml
- Matraces Erlenmeyer 250 ml
- Balones aforados 100 ml
- Balones aforados 50 ml
- Balones aforados 10 ml
- Balones aforados 500 ml
- Micropipetas
- Pipetas
- Pera de succión
- Gradillas
- Tubos de ensayo
- Molino manual
- pH metro

Equipos:

- Espectrofotómetro
- Balanza Analítica

- Bomba de vacío
- Estufa

Reactivos:

- Agua destilada
- Solución de carbonato de sodio 7,5
- Solución diluida de Folin – Ciocalteu
- Ácido gálico
- Solución de ácido clorhídrico
- Solución Cloruro Férrico
- Solución buffer de acetato
- Solución TPTZ
- Fosfato disodio
- Etanol grado analítico
- Metanol grado analítico
- Hidróxido de Sodio
- Sal de Mohr
- Trolox

9.4.2. Metodología para la obtención del extracto del tzintzo**9.4.2.1. Recolección de la muestra vegetal (*Tagetes minuta*)**

La recolección de las plantas fue realizada en la provincia de Cotopaxi, cantón Latacunga, comunidad Salache Grande, Barrio Sandilín.

Se inició con el reconocimiento de la especie por lo que aquí en Ecuador no es muy reconocida, por ello tuvimos que buscar bien y reconocerla para utilizar como objeto de estudio para el proyecto. Se recolectaron 4 Kg de las muestras (tzintzo), en el cual con la tijera le recortamos desde su base para obtener varias muestras, después de la recolección todas las muestras fueron colocadas en un costal para su posterior análisis.

Figura 2*Recolección*

Fuente: (Díaz E. & Guamán E.)

9.4.2.2. Selección y limpieza de la muestra vegetal

Se selecciona las plantas que se encuentren en buen estado de manera general las mismas características de estado vegetativo, tamaño, color y ausencia de manchas, grietas, alteraciones morfológicas visibles e infectadas por hongos y parásitos.

Figura 3*Selección y limpieza de muestra vegetal*

Fuente: (Díaz E. & Guamán E.)

9.4.2.3. Corte y secado

El secado consiste en eliminar la mayor cantidad de agua presente en la planta y así conservar los compuestos bioactivos y prevenir la oxidación del tzintzo (*Tagetes minuta*).

De la muestra obtenida se seleccionaron las hojas y tallos en las mejores condiciones. Se procedió a recortar las hojas y tallos en tamaño aproximado de 1-2 cm para luego poner en las bandejas de aluminio para llevar a la estufa a una temperatura de 40°C por 72 horas para obtener la muestra deshidratada.

Figura 4

Corte



Fuente: (Díaz E. & Guamán)

Figura 5

Secado



Fuente: (Díaz E. & Guamán E.)

9.4.2.4. Molienda

La molienda consiste en la reducción de tamaño de la muestra tzintzo (*Tagetes minuta*) deshidratado. Una vez que obtuvimos la muestra deshidratada procedimos a llevar a moler en un molino manual y se obtuvo un producto fino, en el cual se obtuvo la droga cruda del tzintzo (*Tagetes minuta*), lo cual se envasaron al vacío en fundas de polietileno para su posterior análisis.

Figura 6

Molienda



Fuente: (Díaz E. & Guamán E.)

9.5. Metodología para la extracción

En el proceso de extracción se obtuvo los principios bioactivos, en el cual se utilizó solventes orgánicos como: soluciones hidroalcohólicas, éter etílico y agua destilada.

Por lo tanto, la extracción con solventes consiste en la separación de los principios activos de la planta al ponerla en contacto con solventes o la mezcla de ellos, capaz de solubilizar dichos principios (Amaguaña & Churuchumbi, 2018).

9.5.1. Obtención de los extractos etéreo, etanólico y acuoso

Este método se aplicó para obtener los metabolitos secundarios de la muestra vegetal del tzintzo (*Tagetes minuta*) en el cual fue sometidos a ensayos. La muestra seca previamente molida fue sometida a tres extracciones con diferentes disolventes (éter etílico, etanol y agua destilada). Para lo cual se colocaron 200 g de droga cruda y 800 mL de éter etílico y se maceró durante 48 horas a temperatura ambiente con agitación periódica (una vez por día). Se filtró para obtener el extracto etéreo y fue almacenado en un frasco ámbar con su respectiva rotulación.

El residuo sólido luego de haber sido secado y pesado, se extrajo con tres veces peso en volumen con etanol absoluto por maceración durante 48 horas a temperatura de ambiente con agitación constante a cada hora; se filtró para obtener el extracto alcohólico que se almacenó en un frasco ámbar bien etiquetado.

El residuo sólido luego de haber secado y pesado, se extrajo con tres veces su peso en volumen con agua destilada por maceración durante 48 horas a temperatura ambiente; se filtró para obtener el extracto acuoso que se almacenó en un frasco ámbar bien etiquetado; el residuo sólido luego de haber secado y pesado se desechó (Ramos & Solórzano, 2016).

9.5.2. Tamizaje fitoquímico

Se determinó la presencia o ausencia de los principios bioactivos del tzintzo (*Tagetes minuta*), en cada extracto (etéreo, etanólico y acuoso) por separado, se procedió a tomar una muestra para cualificar la presencia de metabolitos según descrito por (Ramos & Solórzano, 2016).

9.6. Metodología para la determinación de contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante

9.6.1. Ensayo FRAP (ferric reducing antioxidant power)

Figura 7

Capacidad antioxidante



Fuente: (Díaz E. & Guamán E.)

Según Benzie & Strain (1996) “El ensayo FRAP fue desarrollado originalmente para medir el poder reductor en muestras de plasma. Según (Mesa et al., 2015) “Este método evalúa la capacidad antioxidante de muestra de acuerdo a su capacidad para reducir el hierro férrico hasta la forma ferrosa”.

Primeramente, preparar la solución de trabajo a diario de FRAP, esta solución de trabajo deberá prepararse a diario. Mezclar 900 μL de solución TPTZ con 2,5 mL de solución $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20 mM y 25 mL de tampón acetato (mantener en baño a 37°C) y mezclar 1020 μL de solución tampón pH 3,6, 100 μL de TPTZ 10 mM y 100 μL de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20 mM.

Reactivo (preparación de soluciones FRAP)

1. Solución de ácido clorhídrico 40 mM: Añadir 3,3 mL de HCl a 1 L de agua destilada.
2. Solución Cloruro Férrico 20 mM: Pesar 0,81 g de FeCl_3 anhídrido y disolver en 250 mL de agua destilada. Añadir algunas gotas (3) de HCl concentrado.
3. Solución buffer de acetato 300 mM (pH 3,6): Pesar 3,1 g de acetato de sodio trihidratado ($\text{NaAc} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), disolver en agua. Adicionar 16 mL de ácido acético glacial. Completar el volumen hasta 1L con agua destilada. Comprobar el pH final con un pH metro. Ajustar pH si es necesario con NaOH o HAc.
4. Solución TPTZ 10 mM: Pesar 0,0312 g del reactivo TPTZ y disolver en un matraz de 10 ml con HCl 40 mM.

Curva de calibración FRAP

- Pesar en balanza analítica 0,3922 g de sal Mohr [$\text{FeSO}_4 (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$]. trasvasar cuantitativamente hacia volumétrico (matraz aforado) de 100 mL con agua destilada. Antes de enrasar adicionar 1 mL de HCl (1:1).
- Tomar alícuota de 1, 2, 3, 5, 7, 10 mL (medidas en bureta) y diluir a 100 mL con agua destilada. Estas diluciones corresponden a las concentraciones de 100, 200, 300 y 1000 μM de Fe^{2+} (catión ferroso)

Para la determinación se tomaron 50 μL del extracto de la muestra y se añadieron en un tubo de ensayo de 10 mL de capacidad. Posteriormente, se adicionaron 1,5 mL del reactivo FRAP. Se atemperó a 37 °C durante 30 minutos y se leyó la absorbancia a 593 nm.

El cálculo de la actividad antioxidante se realizó por medio de una curva de calibración de Fe^{2+} empleando la sal de Mohr [$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$] como patrón, según la ecuación siguiente:

$$AAA = \frac{\frac{(A - a)}{b} * v * fd}{P.M.} \quad (1)$$

Donde:

- AAT: Actividad antioxidante total.
- A: Absorbancia del extracto.
- a: Intercepto de la curva de calibración.
- b: Pendiente de la curva de calibración.
- V: Volumen del extracto (mL).
- fd: factor de dilución de la muestra

9.6.2. Ensayo ABTS (Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)

Esta metodología fue desarrollada por Re et al., (1999), y descrita por Kuskoski et al., (2005), en donde 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 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 (Rioja et al., 2018).

Una vez formado el radical ABTS⁺ se diluye con buffer fosfato pH 7 hasta obtener un valor de absorbancia aproximado de 0,70 ($\pm 0,1$) a 732 nm (longitud de onda de máxima absorción). El extracto acuoso se diluyó con agua tipo III hasta que se produjo un porcentaje de inhibición entre el 20 y 80 % del radical, en comparación con la absorbancia del blanco, tras añadir una cantidad de la muestra. A la dilución del radical ABTS⁺ se le determina la absorbancia a 732 nm a 25°C, se añade la muestra (previamente diluida) y se mide de nuevo la absorbancia a 732 nm transcurridos 7 minutos. El antioxidante sintético de referencia, Trolox, se ensaya a concentraciones de 0, 3, 6, 9, 12, 15 y 18 μM (concentración final) en metanol, en las mismas condiciones para construir la curva de calibración. Los resultados se expresarán en TEAC o μmoles de Trolox/g (actividad antioxidante equivalente a Trolox) (Maya et al., 2012).

9.6.3. Determinación del contenido de polifenoles totales

Según Jurado et al., (2016) manifiesta que “los compuestos fenólicos se cuantificaron de acuerdo al método descrito por Slinkard y Singleton (1997) con el reactivo de Folin – Ciocalteu”

Figura 8
Polifenoles



Fuente: (Díaz E. & Guamán E.)

Preparación con soluciones del F.C.

1. Solución de carbonato de sodio 7,5%: Pesar 75 g de Na_2CO_3 anhídrido y disolver en 1 L de agua destilada.
2. Solución diluida de Folin – Ciocalteu: Tomar 10 mL del reactivo Folin – Ciocalteu y diluir a 100 mL con agua destilada

Curva de calibración del F.C.

Solución madre: Pesar 500 mg de ácido gálico (en balanza analítica) y disolver con unos mL de metanol a temperatura ambiente. Transferir cuantitativamente a un volumétrico de 50 mL y enrasar con agua destilada. Concentración=10 mg/mL

De esta solución concentrada de ácido gálico tomar alícuota de 1 hasta 5 mL y adicionar en volumétrico de 100 mL, enrasar con agua destilada. Estas diluciones corresponden a las concentraciones de 100, 200 y 500 mg/mL de ácido gálico (solución de trabajo).

La preparación de la muestra consistió en tomar 1 g de la droga cruda del tzintzo. Se mezclaron 50 μL de la muestra con 2,5 mL de disolución acuosa de Folin-Ciocalteu. La mezcla se agitó y se dejó en reposo durante 5 min. Se adicionaron 2 mL de una disolución al 7,5 % (m/v) de Na_2CO_3 . Se agitó nuevamente, se dejó reposar durante 2 h y se leyó la absorbancia a 765 nm. Se utilizó ácido gálico como patrón entre 100 y 900 mg/L. El contenido de fenoles totales se expresó como ácido gálico de tzintzo (*Tagetes minuta*), mediante la siguiente ecuación:

$$CF = \frac{\frac{(A - a)}{b} * v * fd / 1000}{P.M.} \quad (2)$$

Dónde:

- CF: Contenido de polifenoles totales.
- A: Absorbancia.
- a: Intercepto de la curva de calibración.
- b: Pendiente de la curva de calibración.
- V: Volumen total del extracto (mL).
- fd: Factor de dilución de la muestra.
- P.M.: Masa de la muestra.

9.7. Caracterización del extracto hidroalcohólico optimizado

9.7.1. Color

En el proceso de la caracterización del extracto hidroalcohólico se verificó su color, en donde el principal órgano para esta determinación es la vista, ya que el color juega un papel muy importante en la percepción de la calidad.

9.7.2. Olor

En el proceso de la caracterización del extracto hidroalcohólico se verificó su olor ya que, es la percepción por medio de la nariz de sustancias volátiles liberadas por el extracto hidroalcohólico.

9.7.3. Aspecto

Durante el proceso de caracterización se pudo apreciar que el extracto hidroalcohólico tuvo un aspecto opaco por lo que esta mezcla fue con la droga cruda del tzintzo con el etanol.

9.7.4. Homogeneidad

La homogeneidad de la caracterización del extracto hidroalcohólico se la realizó al disolver la droga cruda del tzintzo en el etanol, en donde se obtuvo una mezcla homogénea.

9.7.5. Contenido de polifenoles

Para este análisis se tomó como referencia la metodología propuesta en el numeral 10.6.3.

9.7.6. Capacidad antioxidante FRAP

Para este análisis se tomó como referencia la metodología propuesta en el numeral 10.6.1.

9.7.7. Capacidad antioxidante ABTS

Para este análisis se tomó como referencia la metodología propuesta en el numeral 10.6.2.

9.7.8. Determinación de pH

El pH es una unidad de medida que sirve para establecer el nivel de acidez o de alcalinidad de una sustancia. El pH se expresa como logaritmo negativo de base 10 en la actividad de iones de hidrógeno. Así el pH en su propia escala nos indica valores que van desde el 0 a 14, donde 7 es neutro, bajo de 7 son ácidos y arriba de 7 son alcalinos (Raffino, 2021).

Para la determinación de pH se realizó una disolución de la muestra previamente molida del tzintzo para luego ser colocada el equivalente a una gota en el potenciómetro el cual al dejarlo por unos instantes nos indica la escala en la que se encuentra el pH de la muestra.

9.7.9. Determinación de acidez

La determinación de acidez se realizó mediante la dilución de 1.10 y con un volumen de 2 mL de muestra en agua destilada. Titulada con NaOH 0.1 N usando fenolftaleína como indicador. La titulación se detuvo con la presencia de un color rosa persistente o cambio de color en el extracto. La acidez se expresó como %m/m ácido sulfúrico (Ruiz, 2010).

9.7.10. Determinación de humedad

Todos los alimentos contienen agua en mayor o menor grado, y puede aparecer de dos formas: como agua libre que se libera con facilidad por evaporación o secado y como agua ligada, que se encuentra combinada químicamente a la proteína. Conocer la humedad de los alimentos permite determinar su composición centesimal, facilitar su elaboración, prolongar su conservación y, especialmente, impedir que el producto sea adulterado (Alkemi, 2017).

Se inició pesando la muestra fresca de tzintzo (*Tagetes minuta*) que se recolectó para luego ser colocada en la estufa por un tiempo de 48 horas a una temperatura de 40 °C. Transcurrido ese tiempo se retiraron las muestras de la estufa para ser pesadas nuevamente. Posteriormente se verificó la diferencia que existía entre el pesaje inicial (fresco) con el pesaje

final (seco) y saber que cantidad de agua perdió durante el secado, la cual utiliza la siguiente ecuación para el cálculo de porcentaje de humedad.

$$\% \text{ humedad} = \frac{m_0 - m}{m_0} \times 100 \quad (3)$$

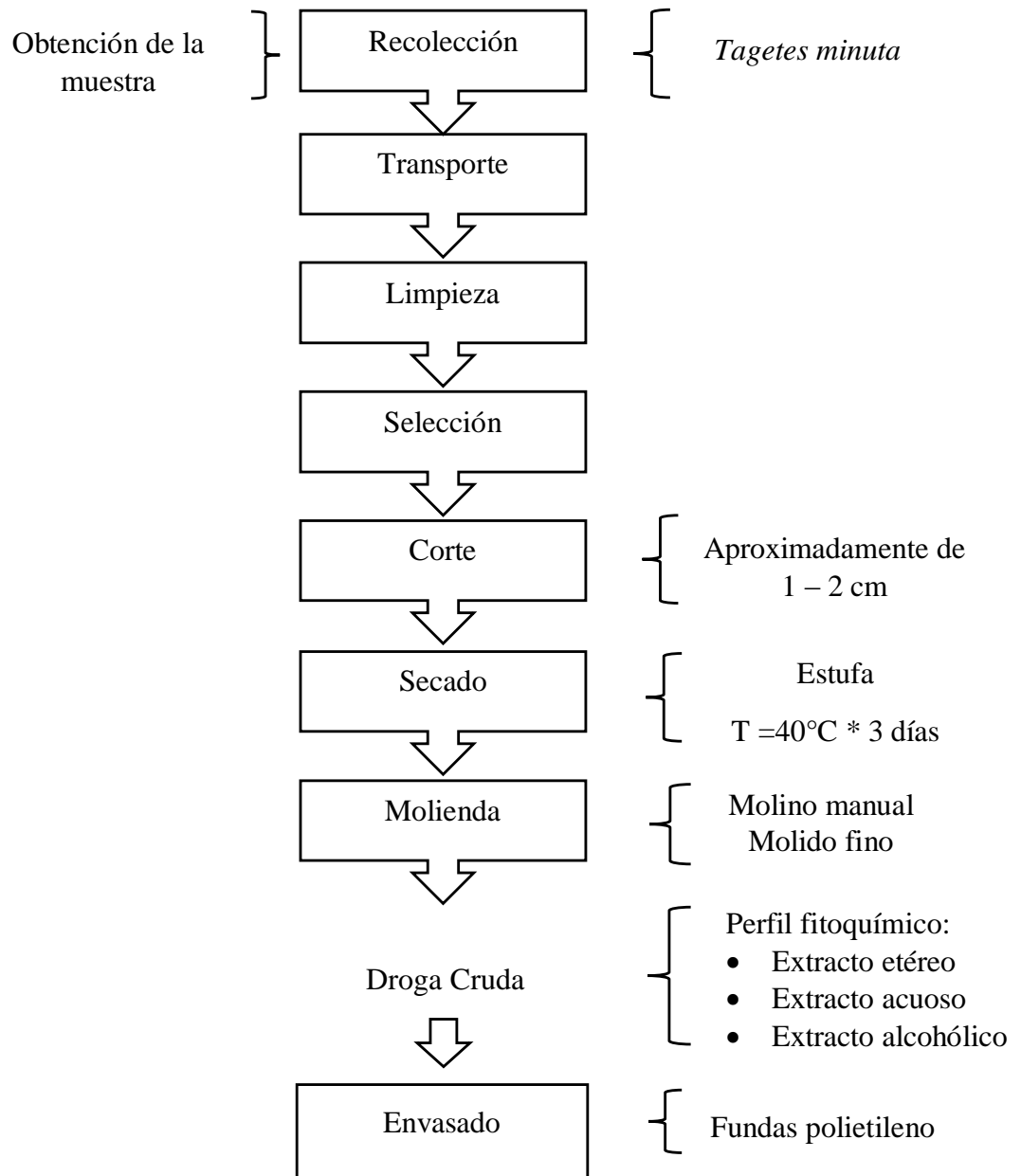
Dónde:

m_0 = masa inicial

m = masa final

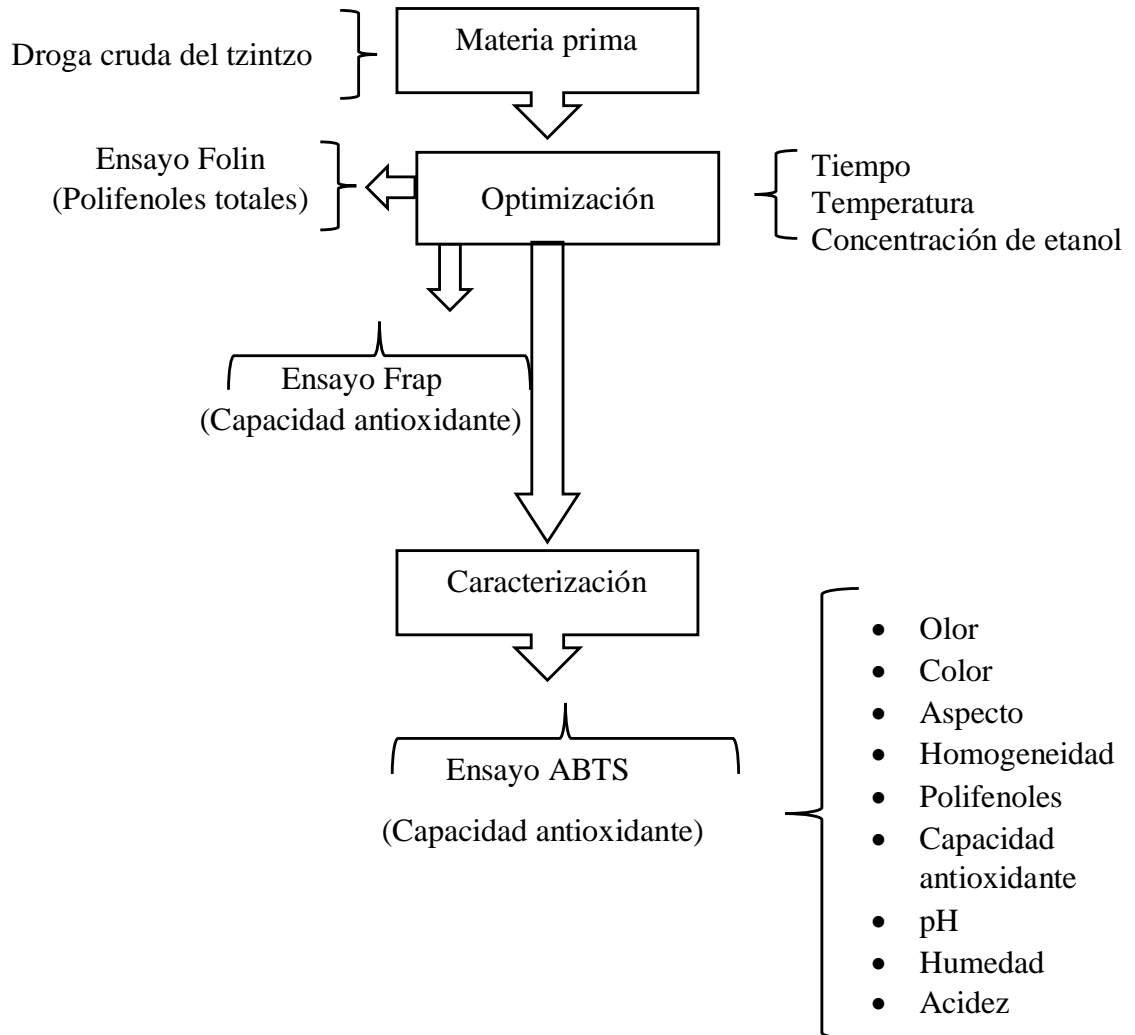
9.7.11. Obtención de la droga cruda

Diagrama de flujo obtención de la droga cruda del tzintzo (*Tagetes minuta*)



9.7.12. Polifenoles totales y capacidad antioxidante

Diagrama de flujo obtención de polifenoles totales y capacidad antioxidante



9.8. Diseño experimental

En la investigación se empleó el programa Design Expert 8.0.6 para el diseño experimental y procesamiento de los extractos hidroalcohólicos del tzintzo (*Tagetes minuta*), de forma tal que el extracto seleccionado presentará el mayor rendimiento de extracción de polifenoles totales y actividad antioxidante. Se utilizará el método de optimización numérica a través de un diseño de superficie respuesta IV Óptimo, generando un modelo matemático que describa las variaciones de las variables en cada extracto (Gaibor et al., 2017).

Los factores evaluados fueron el porcentaje de etanol (A), tiempo de extracción (B) y temperatura (C), mientras que el rendimiento de extracción de polifenoles totales y actividad antioxidante fueron las variables de respuesta. El número total de combinaciones definidas por el software fue 27 corridas.

Tabla 4

Descripción del diseño

Detalle	UM	TIPO	
Concentración de etanol	%m/v	Numérico	60% Etanol 75% Etanol 90% Etanol
Tiempo (h)	H	Numérico	6 horas 15 horas 24 horas
Temperatura (°C)	°C	Nominal	30°C 45°C 60°C

Elaborador por: (Díaz E. & Guamán, E.)

9.9. Cuadro de variables

Tabla 5

Cuadro de variables

Variable dependiente	Variable independiente	Indicadores	Dimensiones
Optimización de proceso de extracción hidroalcohólica del tzintzo (<i>Tagetes minuta</i>)	Tiempo (h): 6-15-24	Optimización del extracto hidroalcohólico	<ul style="list-style-type: none"> • Contenido de polifenoles • Capacidad antioxidante
	Temperatura (°C): 30-45-60	Caracterización del extracto hidroalcohólico	<ul style="list-style-type: none"> • Características sensoriales • Características físico-químicas
	Concentración de etanol (% m/v): 60-75-90	extracto optimizado	<ul style="list-style-type: none"> • Contenido de polifenoles • Capacidad antioxidante

Elaborado por: (Díaz E. & Guamán, E.)

10. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

10.1. Análisis perfil fitoquímico

La droga cruda del tzintzo (*Tagetes minuta*) fue sometida a pruebas químicas para la detección de los componentes bioactivos

Tabla 6

Análisis perfil fitoquímico del tzintzo (Tagetes minuta)

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

Fuente: Laboratorios UTC

+: Presencia

+ -: Regular

-: Ausencia

De acuerdo a la tabla 6 se obtuvo los resultados del análisis fitoquímico a través de tres métodos de extracción etéreo, etanólico y acuoso de la planta de tzintzo (*Tagetes minuta*) en donde se logró encontrar compuestos bioactivos, evidenciándose en el extracto etéreo compuestos grasos, agrupamiento lactónico y triterpeno/esteroides. En el extracto etanólico hay catequinas, saponinas, compuestos fenólicos, quinonas/benzoquinonas y flavonoides. En el extracto acuoso se encuentran alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides, mucílagos y principios amargos.

Por lo tanto, lo más importante en esta investigación es hablar acerca de polifenoles y flavonoides por ello en ciertos extractos se obtuvieron mayor presencia de dichos metabolitos.

En otras investigaciones se reporta la presencia de otros compuestos, (Bazán & Benites, 2014) identificó la presencia de flavonoides con intensidad de color rojizo, mediante el extracto metanólico y extracto acuoso con ensayo Shinoda, mientras que (Zavaleta et al., 2005) en su investigación similar determina la presencia de flavonoides en gran cantidad como rutina 1,80 mg/g, morina 3,20 mg/g y quercetina 2,99 mg/g. Según en el estudio realizado por (Uvidia, 2012) en el tzintzo comprobó la presencia de terpenos principalmente monoterpenos, al igual que flavonas, flavonoides, taninos catéquicos, y con baja evidencia encontró los esteroides, sesquiterpenlactonas y compuestos fenólicos coincidiendo con (Cofre, 2012) quien indica la presencia de flavonoides (Shinoda, positivo), aceites y grasas (Sudán III, positivo), saponinas (espuma positivo), esteroides (Liebermann-Buchard, positivo), quinonas (Borntrager, positivo), catequinas (verde carmelita a luz UV positivo).

10.2. Representación de las corridas experimentales

Tabla 7

Representación de las corridas experimentales

Corrida	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Concentración etanol (%)	Contenido de polifenoles (mg/g)	Actividad antioxidante ($\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g muestra}$)
1	60	24	60	104	946,12
2	60	6	75	98,34	932,56
3	45	24	75	82,23	892,13
4	60	15	90	112,12	951,3
5	30	6	60	54,01	701,12
6	60	24	60	101,23	942,12
7	45	15	75	76,24	852,13
8	45	15	75	77,32	856,13
9	45	15	75	75,14	840,12
10	45	15	60	71,15	803,12
11	60	6	75	94,23	908,23
12	30	6	75	50,98	723,45
13	60	15	90	108,12	948,21

Elaborado por: (Díaz E. & Guamán E.)

Tabla 8*Representación de las corridas experimentales (continuación)*

Corrida	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Concentración etanol (%)	Contenido de polifenoles (mg/g)	Actividad antioxidante ($\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g muestra}$)
14	30	15	75	43,21	678,34
15	30	15	90	58,54	765,45
16	45	15	60	73,67	812,23
17	45	15	75	76,98	852,23
18	45	6	90	83,01	901,13
19	45	6	90	82,65	899,13
20	45	6	60	65,34	777,14
21	60	6	60	88,12	902,17
22	45	15	75	75,37	841,13
23	60	24	90	132,12	982,12
24	30	24	90	67,09	789,13
25	30	24	60	56,87	745,23
26	45	24	75	80,09	874,89
27	30	24	60	53,67	756,12

Elaborado por: (Díaz E. & Guamán E.)

En la tabla 7 y 8 se muestran los resultados obtenidos de las corridas o tratamientos experimentales. Dentro del contenido de polifenoles los valores variaron entre 43,21 mg/g - 132,12 mg/g, siendo este último correspondiente a la corrida 23. En otras investigaciones realizadas (Criollo, 2015) obtuvo en la curva de calibración dicho valor oscila entre los 10,163 $\mu\text{g/g}$ utilizando altamisa (*Ambrosia artemisiifolia*) perteneciente a la familia asteraceae.

Mientras que la capacidad antioxidante los valores variaron entre 678,34 - 982,12 ($\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g muestra}$). En una investigación realizada por (Morales, 2018) obtuvo 99,06 ($\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g muestra}$) de capacidad antioxidante de las hojas de ajeno (*Artemisia annua L.*). Por tanto, los valores obtenidos muestran similitud con investigaciones realizadas con anterioridad para la capacidad antioxidante y polifenoles totales.

Según (Hernández, 2018) en si investigación usando ajeno, el valor más alto correspondió al extracto obtenido a partir de 2% de muestra, extraído a 55°C durante 5 minutos, mientras que el segundo resultado más alto se obtuvo en condiciones de 90°C por 15 minutos (731,6 mgFe²⁺/g), lo que indica que la extracción a tiempos prolongados y altas

temperaturas puede dar lugar a la oxidación de los compuestos que se pueden llevar a cabo reacciones de óxido reducción por la luz como exposición al oxígeno y a la degradación. De igual manera (Henry et al., 2021) menciona que los mayores valores del contenido de polifenoles usando la planta marina hierba de tortuga (*Thalassia testudinum*), fueron obtenidos entre la primera y segunda hora de extracción, lo cual indica que no es necesario mantener el proceso de extracción por un tiempo mayor.

10.3. Parámetros del modelo codificado para el contenido de polifenoles totales

Tabla 9

Parámetros del modelo codificado para el contenido de polifenoles totales

Indicador	Polifenoles totales (mg/g)
Intercepto	78,93
X _{CPF}	7,15*
X _{TIE}	5,79*
X _{TEE}	24,91*
R ²	0,940
R ² ajustado	0,933
R ² predicho	0,910
F modelo	121,03*
F falta de ajuste	16,94
Precisión adecuada	36,33

CPF: concentración de etanol

TIE: tiempo de extracción

TEE: temperatura de extracción

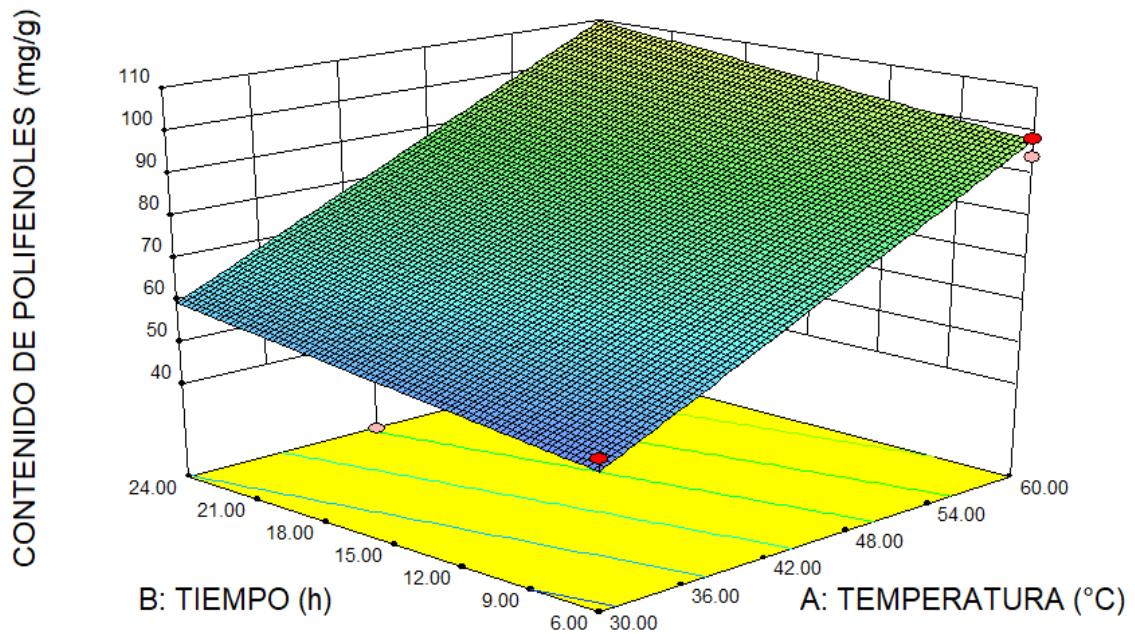
*Valor significativo para $p \leq 0,01$.

Fuente: Design Expert 8.0.6

El análisis de variación del contenido total de polifenoles se ajustó a un modelo lineal en el cual resultó significativo indicando que, si hay una relación entre el tiempo, temperatura y la concentración de etanol y dando un valor del coeficiente de correlación (R^2) de 0,940.

Figura 9

Parámetros del modelo codificado para el contenido de polifenoles totales



Fuente: Design Expert 8.0.6

En la figura 9 se muestra la superficie ocupada por la influencia del tiempo, la temperatura y la concentración de etanol a la que fueron expuestas las muestras para obtener los puntos óptimos con mayor obtención de polifenoles totales la parte superior de la superficie mostrada se observa un ligero color naranja amarillento lo que indica el punto donde se encuentra la cantidad más alta obtenida de polifenoles (Muñoz et al., 2012) utilizando manzanilla (*Matricaria chamomilla L.*) obtuvo valores entre 69,28 y 66,72 mg/g de polifenoles y (Hernández, 2018) utilizando ajeno obtuvo valores entre 7,32 – 121,19 mg/g los cuales presentan una semejanza con los valores obtenidos en nuestros resultados considerando que la manzanilla y el ajeno pertenecen a la misma familia y sus características son similares al tzintzo (*Tagetes minuta*).

10.4. Parámetros del modelo codificado del poder antioxidante reductor del hierro

Tabla 10

Parámetros del modelo codificado del poder antioxidante reductor del hierro

Indicador	Poder antioxidante reductor del hierro ($\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g}$ muestra)
Intercepto	845,19
X_{CPF}	28,86*
X_{TIE}	19,48*
X_{TEE}	99,93*
R^2	0,930
R^2 ajustado	0,921
R^2 predicho	0,904
F modelo	101,95*
F falta de ajuste	14,30
Precisión adecuada	32,69

CPF: concentración de etanol

TIE: tiempo de extracción

TEE: temperatura de extracción

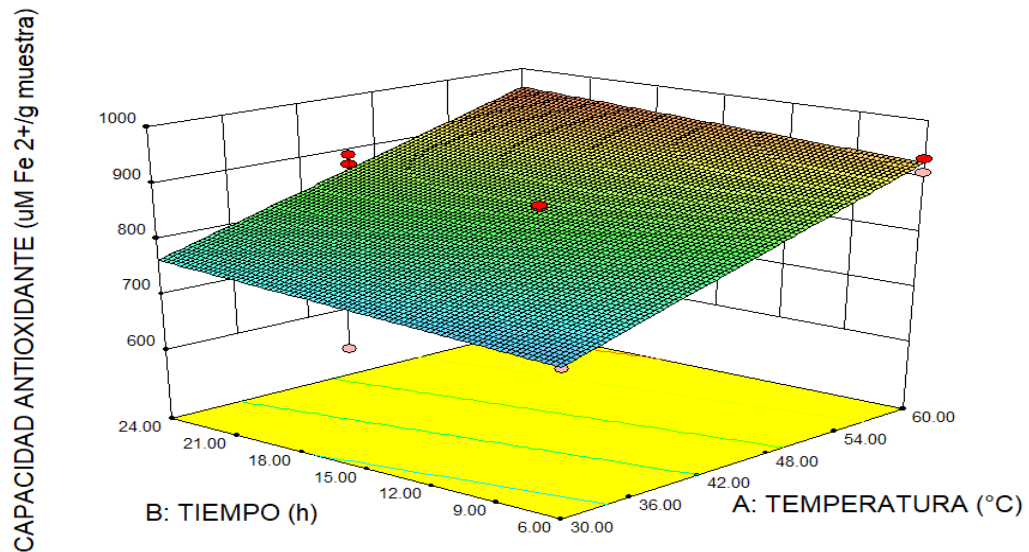
*Valor significativo para $p \leq 0,01$.

Fuente: Design Expert 8.0.6

El análisis de varianza de la capacidad antioxidante muestra que el modelo aplicado resultó significativo, además de que existe una interacción de los factores (tiempo, temperatura, concentración de etanol) de variabilidad en la capacidad antioxidante que está presente en el tzintzo (*Tagetes minuta*).

Figura 10

Parámetros del modelo codificado del poder antioxidante reductor del hierro



Fuente: Design Expert 8.0.6

Los resultados que se observan en la figura 10 demuestra que el punto óptimo para una mayor capacidad antioxidante se alcanza cuando el tiempo de incubación es de 24 horas optimización horas a una temperatura de 60°C y con una concentración de etanol de 90% (corrida 23). Condiciones iguales para el contenido de polifenoles, (mayor temperatura, tiempo y concentración de etanol) mayor capacidad antioxidante. En otra investigación realizada con ajeno, los valores se encontraron entre 115,7-763,9 mgFe⁺²/100 g. (Hernández, 2018) por otro lado (Aguirre et al., 2017), halló la capacidad antioxidante del extracto de los capítulos de anís de monte (*Tagetes filifolia*) a una concentración de 100, 50 y 5 µg/ml; encontrándose en el extracto en alcohol etílico o etanólico a 100 µg/ml mayor actividad antioxidante (91,26%).

10.5. Validación de los valores predichos y experimentales del proceso de la cantidad de polifenoles y capacidad antioxidante

Para aceptar los datos de la optimización numérica, se realizó corridas experimentales a las condiciones predichas, que a continuación en la tabla se comparó los valores óptimos y predichos, los mismos que reflejan que no existe una diferencia considerable entre los valores experimentales y predichos de la cantidad de polifenoles, por lo que se acepta la optimización numérica.

Tabla 11*Valores predichos y experimentales del proceso*

Parámetro	Valor predicho	Valor experimental
Cantidad de polifenoles (mg/g)	132,12	133,56
Capacidad antioxidante ($\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g}$)	982,12	989,12

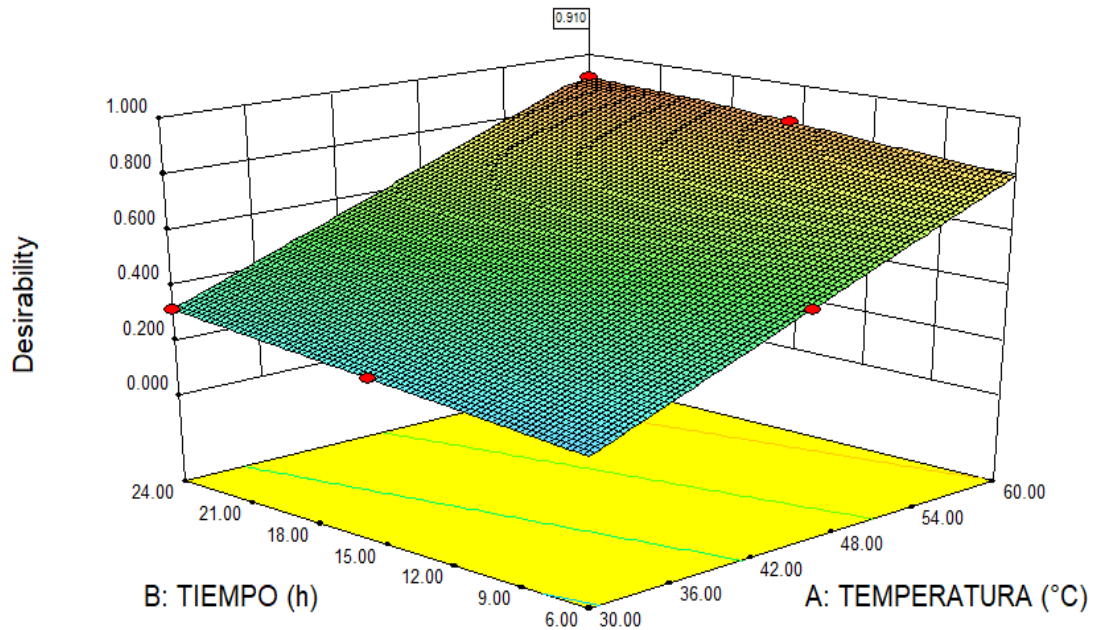
Elaborado por: (Díaz E. & Guamán E.)

En la tabla 11 se muestran los valores predichos y experimentales para la cantidad de polifenoles y capacidad antioxidante, los valores predichos se obtuvieron del programa Design Expert 8.0.6 después de que se ingresarán los datos de las corridas experimentales el mismo que de acuerdo a estos datos refleja las condiciones a las que se debe exponer el extracto de tzintzo (*Tagetes minuta*) para alcanzar la mayor cantidad de polifenoles y capacidad antioxidante, así como también muestra el valor que se obtendrá en la parte experimental. Sin embargo, se puede observar que los valores experimentales que se obtuvieron son ligeramente más altos a los valores predichos por el programa, en el caso de la cantidad de polifenoles el valor predicho es 132,12 mg/g y el valor experimental es 133,56 mg/g es decir que hubo una diferencia de 1,44 mg/g y para la capacidad antioxidante el valor predicho y experimental son 983,12 $\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g}$ y 989,12 $\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g}$ respectivamente, dando una diferencia de 6 $\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g}$.

10.6. Optimización del modelo lineal

Figura 11

Optimización del proceso



Fuente: Design Expert 8.0.6

Una vez demostrado el buen ajuste y adecuación del modelo, se procedió a la optimización de las dos variables de respuesta. La figura 11 presenta la superficie de respuesta lograda para la optimización de las variables estudiadas. La condición óptima prevista se obtuvo con una temperatura de 60 °C, por un tiempo de 24 horas y concentración de etanol al 90%, con una función de deseabilidad en este punto de 0,91, cercana al máximo de 1. Con esta combinación, se encontraron los siguientes valores: contenido de polifenoles totales 116,781 (mg/g) y una actividad antioxidante de 993,874 ($\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g muestra}$). Lo que da como resultado las condiciones o puntos críticos del modelo lineal aplicado para la optimización de las dos variables respuesta.

10.7. Caracterización del extracto optimizado del tzintzo (*Tagetes minuta*)

Tabla 12

*Características sensoriales del extracto optimizado del tzintzo (*Tagetes minuta*)*

	Parámetros		Unidad
Características sensoriales	Color	Verde claro	-
	Olor	Característico	-
	Aspecto	Ligeramente Opaco	-
	Homogeneidad	Si	-

Elaborado por: (Díaz E. & Guamán E.)

En la tabla 12 se observa las características sensoriales del extracto optimizado del tzintzo (*Tagetes minuta*) como es de color verde claro, olor característico de la planta de tzintzo (*Tagetes minuta*), aspecto ligeramente opaco y si existe una homogeneidad en el extracto, es decir que sus componentes no se podían distinguir a simple vista.

Tabla 13

Valores del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del extracto optimizado

	Parámetros	Valor	Unidad
Principios bioactivos	Contenido de polifenoles totales	133,56	mg AG/g
	Poder antioxidante de reducción férrica (FRAP)	989,12	$\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g}$
	Poder antioxidante de reducción férrica (ABTS)	27,32	$\mu\text{mol ET /g}$

Elaborado por: (Díaz E. & Guamán E.)

En la tabla 13 se muestra el contenido de polifenoles que tuvo un valor de 133,56 mg AG/g, en un estudio realizado por (Soto et al., 2018) usando clavel de moro (*Tagetes patula L.*) obtuvo un valor de 153,48 mg AG/g de EMH (extracto metanólico en hojas),

considerando que pertenece a la misma familia de las asteráceas se puede observar una no pequeña diferencia en cuanto al contenido de polifenoles.

La capacidad antioxidante encontrada en la parte experimental fue 989,12 $\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g}$ (FRAP) y 27,32 $\mu\text{mol ET /g}$ (ABTS) dentro de la investigación realizada por (Velázquez et al., 2012) utilizando manzanilla obtuvo un valor de 1,37 $\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g}$ (FRAP) y 0,60 $\mu\text{mol eq. Tx/mL}$ (ABTS), siendo considerablemente mayor la cantidad obtenida del tzintzo (*Tagetes minuta*) para ambos casos. Por otro lado, en el mismo estudio se recomienda que el ensayo FRAP requiere de un pH ácido, mientras que el ensayo de ABTS se realiza a un pH cercano al neutro. Al incrementarse el pH del medio, los grupos ionizables donan radicales hidrógeno y permiten la transferencia de electrones más fácilmente.

Tabla 14

Características físico-químicas del extracto optimizado del tzintzo (Tagetes minuta)

	Parámetros	Valor	Unidad
Características físico-químicas	pH	5,67	-
	Acidez	0,33	%m/m ácido sulfúrico
	Humedad	97,12	%

Elaborado por: (Díaz E. & Guamán E.)

En la tabla 14 se observa los resultados del tzintzo (*Tagetes minuta*) para el análisis de pH para la caracterización del extracto fue de 5,67; comparada con lo que se obtuvo según (Flores, 2019) fue de 6,95 y según (Uvidia, 2012) reporta un pH de 4,51. Lo cual podemos decir, que el pH del tzintzo (*Tagetes minuta*) que se obtuvo experimentalmente no tiene una gran diferencia al ser comparado con los demás autores. Con respecto a la acidez obtenida fue de 0,33; comparado con lo que obtuvo según (Flores, 2019), el cual es de 3,6 de acidez, es decir, existe una diferencia notable por lo que la planta estuvo en una madurez alta. Mientras que la humedad obtenida del extracto hidroalcohólico del tzintzo presenta el 97,12%, (Mahdavi et al., 2016) reporta valores de humedad de extractos a 92,83%.

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

11.1. Técnicos

El impacto técnico dentro de la investigación de este proyecto ofrece a la industria alimentaria un extracto de calidad, y que esto permita aplicar a los alimentos como es el extracto de tzintzo (*Tagetes minuta*), por lo que este extracto tiene una alta capacidad de antioxidantes que permitirá reducir el uso de antioxidantes químicos, sintéticos a la industria alimentaria

11.2. Sociales

Dentro del impacto social lo que se busca es que el extracto hidroalcohólico del tzintzo (*Tagetes minuta*), sea una iniciativa importante para la población para producir y mantener el cultivo y al extraer el dicho extracto nos sirva para mejorar la calidad de los alimentos y que nos permitirá generar un desarrollo mejor en el ámbito social de la provincia y del país.

11.3. Ambientales

La ejecución de este proyecto busca innovar la industria alimentaria con el uso de extractos de origen vegetal y de esa manera reducir el uso de otro tipo de productos principalmente químicos que pueden provocar daños a la salud de las personas que consumen alimentos que contienen este tipo de aditivos.

11.4. Económicos

El desarrollo de este proyecto beneficiaría directamente a las personas que sean incentivadas al cultivo de la planta del tzintzo (*Tagetes minuta*), debido a que el tzintzo (*Tagetes minuta*) no es una planta muy reconocida y utilizada en las industrias y cocina en general, el proyecto pretende incentivar su cultivo lo que brindaría un aporte económico al ser expendido como materia prima a la industria alimentaria para su posterior procesamiento de productos con valor agregado.

12. PRESUPUESTO

Tabla 15

Presupuesto del proyecto

Recursos	Cantidad	Unidad	Valor unitario\$	Valor total \$
Materia prima				
Tzintzo	4	Kg	1,5	6
				6
Materiales				
Tijeras	2	U	0,7	1,4
Papel aluminio	3	U	3	9
Bandejas de papel aluminio	2	U	0,6	1,2
Papel absorbente	1	U	2	2
Bolsas plásticas	3	U	0,1	0,3
Matraz Erlenmeyer 100 ml	5	U	4,5	22,5
Matraz Erlenmeyer 250 ml	7	U	5,25	36,75
Balones aforados de 100 ml	5	U	4,75	23,75
Balones aforados de 50 ml	5	U	4,45	22,25
Balones aforados de 10 ml	5	U	3,5	17,5
Balones aforados de 500 ml	5	U	5,5	27,5
Micropipeta	1	U	66	66
Pipetas	5	U	3	15
Pera de succión	2	U	6	12
Gradillas	3	U	4	12
Tubos de ensayo	30	U	2	60
pH metro	1	U	8,25	8,25
Molino manual	1	U	45	45
				329,15

Elaborado por: (Díaz E. & Guamán E.)

Tabla 16*Presupuesto del proyecto (continuación)*

Recursos	Cantidad	Unidad	Valor unitario\$	Valor total \$
Equipos				
Estufa	1	U	1200	2,96
Espectrofotómetro	1	U	2400	0,66
Reactivos				
Troxol	1	G	115	115
Metanol	1	Lt	2,9	2,9
Agua destilada	1	Gl	3,25	3,25
Carbonato de sodio	1	G	50	50
Ácido gálico	10	G	10	100
Ácido clorhídrico	100	mL	0,5	50
Cloruro férrico	50	G	1	50
Buffer de acetato	1	G	12,75	12,75
Fosfato disodio	1	G	15,75	15,75
Etanol	3	Lt	30	90
Hidróxido de sodio	1	G	16,75	16,75
Sal de mohr 500 g	2	G	50	100
Solución Folin	100	mL	1,5	150
TPTZ	2	G	100	200
				956,4
Materiales bibliográficos y fotocopias				
Internet	200	horas	0,5	100
Papel boom	2	paquete	4,5	9
Esferos	3	U	0,35	1,05
Adhesivo	2	U	1	2
Marcador	2	U	0,75	1,5
Anillados	3	U	9	27
Empastado	1	U	25	25
				165,55
			Total	1461,15

Elaborado por: (Díaz E. & Guamán E.)

13. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

13.1. Conclusiones

- Se evaluó el perfil fitoquímico de los distintos metabolitos de la planta del tzintzo (*Tagetes minuta*) mediante la aplicación de los tres extractos, extracto acuoso, extracto etéreo y extracto etanólico, donde se detectó la gran presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, compuestos grasos, alcaloides, agrupamiento lactónico, triterpenos / esteroides, saponinas, quinonas /benzoquinonas, mucílagos y principios amargos, hubo poca presencia de catequinas y ausencia de resinas, azúcares reductores aminoácidos libres /aminas y glucósidos cardiotónicos.
- En la extracción de los principios bioactivos de la planta del tzintzo (*Tagetes minuta*) las condiciones óptimas tanto para la obtención del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante fue a 60°C por 24 horas y a una concentración de etanol al 90% m/v, donde se obtuvieron predichos de 132,12 mg/g de los polifenoles y 982,12 μMFe^{2+} /g de capacidad antioxidante.
- La caracterización del extracto hidroalcohólico optimizado del tzintzo (*Tagetes minuta*) presenta 133,56 mg AG/g de polifenoles, 989,12 $\mu\text{M Fe}^{2+}$ /g de capacidad antioxidante mediante el ensayo FRAP y 27,32 $\mu\text{mol ET/g}$ de capacidad antioxidante mediante el ensayo ABTS, respectivamente, presenta ciertas características sensoriales como: color verde claro, olor característico a la planta, aspecto ligeramente opaco y tiene homogeneidad en el extracto, además, características físico-químicas como: pH 5,67; acidez 0,33 % m/m ácido sulfúrico y humedad 97,12%.
- Se realizó una comparación entre los valores predichos y experimentales en donde se obtuvo valores similares tanto para la capacidad antioxidante como para el contenido de polifenoles que son los siguientes: para la cantidad de polifenoles el valor predicho es 132,12 mg/g y el valor experimental es 133,56 mg/g con una diferencia entre ambos de 1,44 mg/g y para la capacidad antioxidante el valor predicho y experimental son 983,12 $\mu\text{M Fe}^{2+}$ /g y 989,12 $\mu\text{M Fe}^{2+}$ /g respectivamente, dando una diferencia de 6 $\mu\text{M Fe}^{2+}$ /g. por eso se da la validación de la optimización numérica.

13.2. Recomendaciones

- Realizar la extracción por separado (tallos y hojas) para observar en qué parte de la planta de tzintzo (*Tagetes minuta*) existe una mayor concentración de polifenoles y capacidad antioxidante.
- Para investigaciones posteriores se recomienda tener en cuenta que el ensayo FRAP requiere de un pH ácido entre 5 y 6,5 mientras que el ensayo de ABTS se realiza a un pH cercano al neutro de entre 6,5 y 7,5.
- Exponer las corridas experimentales a condiciones mayores a las predichas en esta investigación para de esa manera comprobar si existe una mayor optimización o por el contrario se obtiene valores inferiores.
- Se recomienda para futuras investigaciones se reemplace el tamizaje fitoquímico por métodos instrumentales como la detección cromatografía, lo cual sería un trabajo más exacto y preciso.

14. REFERENCIAS

- Aguirre, L. G., Sánchez-Humala, R., Ruiz-Briceño, A. M., Ruiz-Burneo, C. G., Ruiz-Castro, G. M., Sairitupac-Paredes, D. R., & Loja-Herrera, B. (Marzo de 2017). Actividad antioxidante y marcha fitoquímica de los capítulos de *Tagetes filifolia* Lag." pacha anís. *Horizonte Médico (Lima)*, 17(1), 18-24.
- Alkemi. (2017). *Determinación de la humedad Alimentaria: Métodos*. Determinación de humedad: <https://alkemi.es/blog/determinacion-humedad-alimentaria/>
- Alvarado Chávez, B. (2017). *Actividad antioxidante y citotóxica de 35 plantas medicinales de la Cordillera Negra*, (Bachero's thesis).
- Amaguaña Rojas, F. J., & Churuchumbi Rojas, E. F. (2018). Estandarización fitoquímica del extracto de caléndula (*Calendula officinalis*). ESTANDARIZACIÓN FITOQUÍMICA DEL EXTRACTO DE CALÉNDULA (*Calendula officinalis*).
- Arencibia, J. A. (2018). Optimización de la extracción de antocianinas a partir de manzana malaya (*Syzygium malaccense*). *Revista de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias*, 4(1).
- Bazán Sandoval, Y. E., & Benites Melquiades, J. I. (2014). Características farmacognósticas de las hojas y cuantificación de flavonoides totales del extracto fluido de tagetes minuta l.(huacatay) provenientes del caserío pedregal, provincia Trujillo, región La Libertad.
- Benítez-Estrada, A., Villanueva-Sánchez, J., González-Rosendo, G., Alcántar-Rodríguez, V. E., Puga-Díaz, R., & Quintero-Gutiérrez, A. G. (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*, 23(1), 1-9.
- Benzie, I., & Strain, J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Berguño , R., Carlos Federico, & Salgado Salter, J. (s.f.). *SIMULACIÓN DE TÉCNICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE COEFICIENTES DE DIFUSIÓN: FRAP Y FCS*. http://users.df.uba.ar/gsolovey/fisica2/tp_especiales/FRAP%20y%20FCS.pdf

- Castro, J. C. (2011). Diseño de una propuesta de tratamiento y purificación del agua de consumo humano en el centro de experimentación y producción Salache (CEYPSA) de la Universidad Técnica de Cotopaxi.
- Cofre Santo, C.D. (2012). *Determinación de la Actividad Insecticida y/o Anti Alimentario del Aceite Esencial de Tzinsu Tagetes minuta en Drosophila melanogaster*, (Bachelor's thesis).
- Coronado, M., Vega y León, S., Gutiérrez, R., Vásquez, M., & Radilla, C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista chilena de nutrición*, 42(2), 206-212.
- Criollo ,Maldonado A. A. (2015). *Determinación cuantitativa de polifenoles y metabolitos con propiedades antioxidantes en el extracto de altamisa (Ambrosia artemisiifolia)*, (Bachelor's thesis).
- Fernández Guzman, J. C. (2019). Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica y caracterización preliminar de un extracto de valeriana (Valeriana pilosa R&P).
- Ferrer, J. M. (2015). *Extractos vegetales, un análisis sobre cómo se aplica la legislación alimentaria*. Extractos vegetales: <https://www.ainia.es/ainia-news/extractos-vegetales-un-analisis-sobre-como-se-aplica-la-legislacion-alimentaria/>
- Flores Alcalde, N.M. (2019). Elaboración de una salsa a base de huacatay (Tagetes minuta) y rocoto (Capsicum pubescens) evaluando sus características fisicoquímicas y sensoriales.
- Gaibor, F. M., Cuba, A., Rodríguez, D., García, M. A., & Casariego, A. (2017). Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir de pulpa de cerezo negro (Syzygium cumini L. Skeels): Optimization of the hydroalcoholic extraction process from black cherry (Syzygium cumini L. Skeels) pulp. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 27(2), 51-59.
- Gámiz, P. (2018). *Antioxidantes, ¿qué son y para qué sirven?* Antioxidantes: <https://fundaciondelcorazon.com/blog-impulso-vital/3250-antioxidantes-ique-son-y-para-que-sirven.html>

- García, Y. H., Izquierdo, S. S., Esquijarrosa, J. A., Díaz, A. R., López, M., & Vidal, J. M. (2017). Optimization of variables for extraction of flavonoids from *Annona muricata* L. leaves. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 21(3), 298-308.
- Gavilanez Montesdeoca, S. A. (2020). *Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir del orégano (Origanum vulgare L.)*, (Bachelor's thesis, Ecuador: Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC).).
- González Coria, J.C., & Horianski, M.A. (2018). Actividad Antibacteriana in vitro de extractos Hidroalcohólicos secos de Yerba Mate elaborada procedente de Paraguay. *Revista de Ciencia y Tecnología*,(30), 1-10
- Google maps. (2022). <https://goo.gl/maps/SEEW5ZELEo71Yo8L6>
- Gran velada. (2021). *Tipos de extractos vegetales, diferencias y usos*. Extractos vegetales: <https://www.granvelada.com/blog/diferencias-tipos-extractos-vegetales/>
- Henry, Y., Hernández, O. L., Navarro, Y. H., & Laguna, A. (2021). ESTUDIO DE EXTRACCIÓN DE POLIFENOLES DE THALASSIA TESTUIDUM. *Alimentos Ciencia e Ingeniería*, 28(1), 47-55.
- Hernández, T. (2018). *Liberación de compuestos antioxidantes de ajeno (Artemisia absinthium) y aranthó (Decatropis bicolor) por diferentes métodos de extracción*, (Bachelor's thesis).
- Isaza Maya, Y., Restrepo Molina, D., López Vargas, J., Ochoa González, O., & González, J. G. (2012). Capacidad antioxidante, a los 10 días de almacenamiento, de sistemas modelo de salchicha tipo frankfurt adicionadas con extracto de cereza (*prunusavium* L.). *Revista de la Facultad de Ingeniería Universidad Central de Venezuela*, 27(2), 21-29.
- Jurado Teixeira, B., Aparcana Ataurima, I. M., Villarreal Inca, L. S., Ramos Llica, E., Calixto Cotos, M. R., Hurtado Manrique, P. E., & Acosta Alfaro, K. M. (2016). Evaluación del contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de los frutos de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) de diferentes lugares del Perú. *Revista de la sociedad química del Perú*, 82(3), 272-279.
- Lenin. (2013). *Extracto fluido*. Temas de Farmacognosia: <https://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/temas/extractos/extracto-fluido>

- Mahdavi, S. A., Jafari, S. M., Assadpoor, E., & Dehnad, D. (2016). Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. *International journal of biological macromolecules*, 85, 379-385.
- Massuh, Y., Torres, L., Ocaño, S. F., Brunetti, P. C., Chaves, A. G., Zygadlo J.A., Ojeda, M. S., (2017). CONICET: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/67641>
- Meneses-Reyes, J. C., Soto-Hernández, R. M., Espinosa-Solares, T., & Ramírez-Guzmán, M. E. (2008). Optimización del proceso de extracción de flavonoides de flor de manzanilla (*Matricaria recutita* L.). *Agrociencia*, 42(4), 425-433.
- Mesa-Vanegas, A. M., Zapata-Urbe, S., Arana, L. M., Zapata, I. C., 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*, 14(1), 1-10.
- Muñoz Juárez, M. A., & Gutiérrez, D. M. (2015). DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE DIVERSAS PARTES DEL ÁRBOL *Nicotiana Glauca*. *Facultad de Química*.
- Olivares, L. D., Cabrera, G. B., & Martínez, M. T. (2010). Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *Investigación y ciencia*, 18(50), 10-15.
- Palomino Cahuana, J. H. (2016). Estudio de las Condiciones de Secado sobre la Cinética de Deshidratación de las Hojas de Romero (*Rosmarinus Officinalis* L.).
- Pinto, B. (2013). http://biblioteca.clacso.edu.ar/Uruguay/icp-unr/20170112025613/pdf_570.pdf
- Pujol, A., Tamargo, B., Salas, E., Calzadilla, C., Acevedo, R., & Sierra, G. (2020). Tamizaje fitoquímico de extractos obtenidos de la planta *Sapindus saponaria* L que crece en Cuba. *revistabionatura*, 5(3), 1209-1214. Tamizaje fitoquímico de extractos obtenidos de la planta *Sapindus saponaria* L que crece en Cuba.
- Quiñones, Y. C. (15 de Marzo de 2016). *Universidad de La Habana. Instituto Universidad*. Universidad de La Habana. Instituto Universidad de La Habana. Instituto de Farmacia y Alimentos de Farmacia y Alimentos Departamento de Alimentos: file:///C:/Users/PERSONAL/Downloads/Yanelis%20Chongo_2016.pdf

- Raffino, M. (2021). *¿Qué es el pH?* Concepto de pH: <https://concepto.de/ph/>
- Ramos, M., & Solórzano, R. (2016). *Características farmacognósticas de las hojas de Alternanthera lanceolata (Benth.) Schinz "lancetilla" p.* Biblioteca digital: https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/10/915992/caracteristicas-farmacognosticas-de-las-hojas-de-alternanthera-_RyDXzZl.pdf
- Rioja Antezana, A. P., Vizaluque, B. E., Aliaga-Rosse, E., Tejada, L., Book, O., Molido, P., & Peñarrieta, J. M. (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*, 35(5), 168-176.
- Ruiz, E. E. (Septiembre de 2010). Elaboración de una bebida a base de quitosano y extracto de jamaica rosa (Hibiscus sabdariffa). *UNIVERSIDAD VERACRUZANA*.
- Sarmiento, L. (s.f.). *Huacatay (Tagetes minuta)*. Plantas medicinales: <https://www.jardineriaon.com/tagetes-minuta.html>
- Soto Rueda, E. M., Rodríguez Ruiz, Y. L., Loango Chamorro, N., & Landázuri, P. (13 de Agosto de 2018). Extracts of Tagetes patula L.(Asteraceae): a bactericidal potential against Moko. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 9(5), 949-959.
- Soto-García, M., & Rosales-Castro, M. (2016). Efecto del solvente y de la relación masa/solvente, sobre la extracción de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de corteza de Pinus durangensis y Quercus sideroxylla. *Maderas. Ciencia y tecnología*, 18(4), 701-714.
- Tomar, S., Kulkarni, G., Parakhia, M., Thakkar, J., Rathod, V., Solanki, R., & Golakiya, B. (2014). Genetic diversity analysis in coriander (Coriandrum sativum) genotypes through morphological and molecular characterization. *Research Journal of Biotechnology*, 9(3), 1-11.
- Torres-Aguirre, G., Muñoz-Bernal, O., Álvarez-Parrilla, E., Núñez-Gastélum, J., Wall-Medrano, A., Sáyago-Ayerdi, S., & de la Rosa, L. (2020). Optimización de la extracción e identificación de compuestos polifenólicos en anís (Pimpinella anisum), clavo (Syzygium aromaticum) y cilantro (Coriandrum sativum) mediante HPLC acoplado a espectrometría de masas. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 21(2).

- Uvidia, R. A. (2012). *Determinación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico y subextractos etéreo y clorofórmico de Duranta tricante Juss, Callistemon speciosus y Tagetes minuta L.* (Bachelor's thesis).
- Valencia-Avilés, E., Ignacio-Figueroa, I., Sosa-Martínez, E., Bartolomé-Camacho, M. C., Martínez-Flores, H. E., & García-Pérez, M. E. (2017). Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas*. (16), 15-29.
- Velázquez, E. E., Rivas-Díaz, K., Loarca-Piña, M., Flavia, G., Mendoza-Díaz, S., Reynoso-Camacho, R., & Ramos-Gómez, M. (2012). Comparación del contenido fenólico, capacidad antioxidante y actividad antiinflamatoria de infusiones herbales comerciales. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(3), 481-495.
- Velázquez, K. (Junio de 2012). Comparación del contenido fenólico, capacidad antioxidante y actividad antiinflamatoria de infusiones herbales comerciales. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(3).
- Visintin, A. M., & Bernardello, G. (2005). Morfología y anatomía floral de *Tagetes minuta* L.(Asteraceae). *ArnaldoA*, 12(1-2), 8-15.
- Zavaleta, J., Muñoz, A. M., Blanco, T., Alvarado-Ortiz, C., & Loja, B. (2005). Capacidad antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos. *Horizonte Médico*, 5(2).

15. ANEXOS

Anexo 1. Lugar de ejecución



Fuente: (Google maps, 2022)

Vista satelital de la ubicación de la Universidad Técnica de Cotopaxi, Provincia de Cotopaxi, donde se ejecutó el proyecto de investigación

Anexo 2. Datos informativos del docente tutor académico

ROJAS MOLINA JAIME ORLANDO



DATOS PERSONALES

CÉDULA DE CIUDADANÍA : 0502645435

FECHA DE NACIMIENTO : 15/10/1984

ESTADO CIVIL : Casado

CIUDAD : Latacunga

DOMICILIO : La Merced, Quijano y Ordoñez y Juan Abel Echeverría
7-60

TELÉFONO : 032802455/0999084592

LUGAR/OCUPACIÓN ACTUAL : DOCENTE UNIVERSIDAD TÉCNICA DE
COTOPAXICORREO ELECTRÓNICO : jaime.rojas@utc.edu.ec

Anexo 3. Datos informativos del estudiante 1

Datos personales

Nombre: Diana Elizabeth Díaz Soatunce

Fecha de Nacimiento: 08-08-1998

Lugar de nacimiento: La Maná

Nacionalidad: Ecuatoriana

Dirección: Latacunga. Avenida Marco Aurelio Subía, Calle Imbabura

Celular: 0990569592

E-mail: diana.diaz4339@utc.edu.ec

elizabethdiazsoatunce@gmail.com

Estado civil: Soltera

Estudio Primario: Escuela Fiscal Mixta Brasil “Pucayacu”

Estudios Secundarios: Colegio Técnico Agropecuario “Pucayacu”

Unidad Educativa “Guasaganda”

Graduado el 08/03/2016 de Bachiller en Ciencias

Título de Bachiller: Ciencias

Logros académicos: Participación en competencia de ortografía.

Participación en atletismo deportivo

Estudio Superior: Universidad Técnica de Cotopaxi

Nivel: Cursando Décimo Semestre de Ingeniería Agroindustrial



PARTICIPACIÓN EN SEMINARIOS:

- “Seminario Internacional de Ingeniería, Ciencia y Tecnología Agroindustrial 2018”.
- I Congreso Binacional Ecuador - Perú “Agropecuaria, Medio Ambiente y Turismo 2019”
- “II Seminario Internacional Agroindustrial” Desafíos en nuestra región en procesos tecnológicos. Desarrollo e Innovación, Investigación y Publicación de Artículos Científicos 2019.
- Aplicación de los mucílago en el sector Agroalimentario - Difusión del proyecto de investigación 2020.

Anexo 4. Datos informativos del estudiante 2

Datos personales

Nombre: Edison Xavier Guamán Heredia

Cédula: 0504347451

Fecha de nacimiento: 27-02-1997

Lugar de nacimiento: Quito

Nacionalidad: Ecuatoriana

Dirección: Salache-Rumipamba

Celular: 0958772525

e-mail: edisonguaman1997@gmail.com

edison.guaman7451@utc.edu.ec

Estado civil: Soltero

Estudio primario: Educación Primaria Club Rotario

Estudio secundario: “Primero de Abril”

Graduado el 21/07/2015

Título de bachiller: Ciencias

Logros académicos: Seleccionado para la selección de fútbol

Estudio superior: Universidad Técnica de Cotopaxi

Nivel: Cursando Décimo Semestre de Ingeniería Agroindustrial



PARTICIPACIÓN EN SEMINARIOS:

- “Seminario Internacional de Ingeniería, Ciencia y Tecnología Agroindustrial 2018”.
- I Congreso Binacional Ecuador - Perú “Agropecuaria, Medio Ambiente y Turismo 2019”
- “II Seminario Internacional Agroindustrial” Desafíos en nuestra región en procesos tecnológicos. Desarrollo e Innovación, Investigación y Publicación de Artículos Científicos 2019.
- Aplicación de los mucílagos en el sector Agroalimentario - Difusión del proyecto de investigación 2020.

Anexo 5. Fotografías

Fotografía 1.

Secado de hojas y tallos del tzintzo (Tagetes minuta)



Fuente: (Díaz E. & Guamán E.)

Fotografía 2

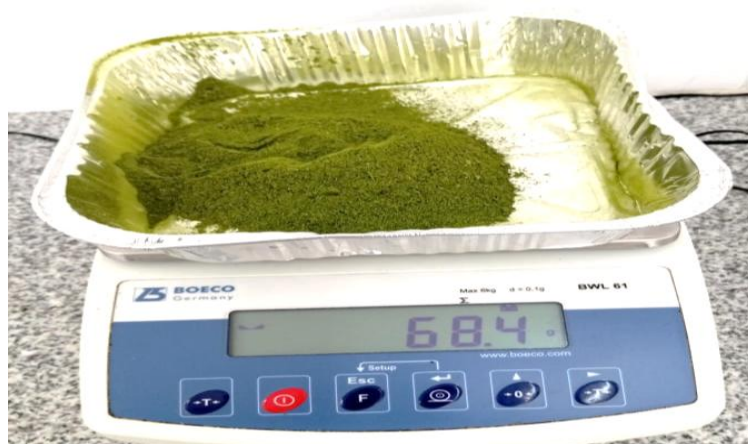
Pesaje de muestra seca



Fuente: (Díaz E. & Guamán E.)

Fotografía 3

Pesaje de la droga cruda



Fuente: (Díaz E. & Guamán E.)

Fotografía 4

Pesaje en la balanza analítica



Fuente: (Díaz E. & Guamán E.)

Fotografía 5

Preparación de las disoluciones



Fuente: (Díaz E. & Guamán E.)

Fotografía 6

Disoluciones en extracto hidroalcohólico

