



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

**“EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE SUNFO (*Clinopodium nubigenum*
Kunth Kuntze) POR EL MÉTODO DE ARRASTRE DE VAPOR, PARA SU
CARACTERIZACIÓN QUÍMICA, ANTIOXIDANTE Y MICROBIOLÓGICA”**

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

Autoras:

Mena Ayala Gabriela Katherine
Salas Vásquez Estefany Mishell

Tutor:

Rojas Molina Jaime Orlando Quím. Mg.

LATACUNGA – ECUADOR

Agosto 2022

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Gabriela Katherine Mena Ayala, con cédula de ciudadanía No. 0504049529; y, Estefany Mishell Salas Vásconez, con cédula de ciudadanía No. 0550015069; declaramos ser autores del presente proyecto de investigación: “Extracción del aceite esencial de sunfo (*Clinopodium nubigenum* Kunth Kuntze) por el método de arrastre de vapor, para su caracterización química, antioxidante y microbiológica”, 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, 26 de agosto del 2022

Gabriela Katherine Mena Ayala
Estudiante
CC: 0504049529

Estefany Mishell Salas Vásconez
Estudiante
CC: 0550015069

Quím. Jaime Orlando Rojas Molina, Mg
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 **MENA AYALA GABRIELA KATHERINE**, identificada con cédula de ciudadanía **0504049529** de estado civil soltera, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, el Ph.D. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez, Barrio El Ejido, Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - **LA CEDENTE** es una persona natural estudiante de la Carrera de Agroindustria, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “Extracción del aceite esencial de sunfo (*Clinopodium nubigenum Kunth Kuntze*) por el método de arrastre de vapor, para su caracterización química, antioxidante y microbiológica”, 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: Octubre 2017 – Marzo 2018

Finalización: Abril 2022 – Agosto 2022

Aprobación en Consejo Directivo: 3 de junio del 2022

Tutor: Químico Mg. Jaime Orlando Rojas Molina

Tema: “Extracción del aceite esencial de sunfo (*Clinopodium nubigenum Kunth Kuntze*) por el método de arrastre de vapor, para su caracterización química, antioxidante y microbiológica”.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 26 días del mes de agosto del 2022.

Mena Ayala Gabriela Katherine
LA CEDENTE

Ing. Tinajero Jiménez Cristian Fabricio, Ph.D.
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 **SALAS VÁSCONEZ ESTEFANY MISHHELL**, identificada con cédula de ciudadanía **0550015069** de estado civil soltera, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, el Ph.D. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez, Barrio El Ejido, Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - **LA CEDENTE** es una persona natural estudiante de la Carrera de Agroindustria, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “Extracción del aceite esencial de sunfo (*Clinopodium nubigenum Kunth Kuntze*) por el método de arrastre de vapor, para su caracterización química, antioxidante y microbiológica”, 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: octubre 2017 – marzo 2018

Finalización: abril 2022 – agosto 2022

Aprobación en Consejo Directivo: 3 de junio del 2022

Tutor: Quím. Mg. Jaime Orlando Rojas Molina

Tema: “Extracción del aceite esencial de sunfo (*Clinopodium nubigenum Kunth Kuntze*) por el método de arrastre de vapor, para su caracterización química, antioxidante y microbiológica”.

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

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

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

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.

- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- e) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

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

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

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

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

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

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

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

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 26 días del mes de agosto del 2022.

Salas Vásconez Estefany Mishell
LA CEDENTE

Ing. Tinajero Jiménez Cristian Fabricio, Ph.D.
LA CESIONARIA

AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

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

“EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE SUNFO (*Clinopodium nubigenum* Kunth Kuntze) POR EL MÉTODO DE ARRASTRE DE VAPOR, PARA SU CARACTERIZACIÓN QUÍMICA, ANTIOXIDANTE Y MICROBIOLÓGICA”, de Mena Ayala Gabriela Katherine y Salas Vásquez Estefany Mishell, de la Carrera de Agroindustria, considero que el presente trabajo cumple con los requerimientos metodológicos y aportes científicos técnicos suficientes para ser sometidos a la evaluación del Tribunal de Lectores para su respectiva validación.

Latacunga, 26 de agosto del 2022

Químico Rojas Molina Jaime Orlando

DOCENTE TUTOR

CC:0502645435

AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, los postulantes: Mena Ayala Gabriela Katherine y Salas Vásconez Estefany Mishell, con el título del Proyecto de Investigación “EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE SUNFO (*Clinopodium nubigenum* Kunth Kuntze) POR EL MÉTODO DE ARRASTRE DE VAPOR, PARA SU CARACTERIZACIÓN QUÍMICA, ANTIOXIDANTE Y MICROBIOLÓGICA”, 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, 26 de agosto del 2022

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

Lector 2
Ing. Edwin Ramiro Cevallos Carvajal, Mg.
CC: 0501864854

Lector 3
Ing. Renato Agustín Romero Corral, Mg.
CC: 1717122483

AGRADECIMIENTO

Primeramente agradezco a Dios por darme a salud y sabiduría para llegar tan lejos y poder cumplir mi sueño, a mi madre que desde el cielo me da su bendición cada día de mi vida, a mi abuelita por su apoyo incondicional, a mi padre y a mi hermano por cada frase motivadora que me ayudaron en los momentos más difícil durante mi carrera a mi familia y amigos por sus palabras de aliento, a cada uno de mis docentes que formaron parte de mi vida universitaria que en el transcurso de mi carrera no solo fueron docentes sino esa mano amiga que me guio.

Finalmente, a mi querida alma mater la Universidad Técnica De Cotopaxi que me abrió las puertas para mi formación profesional y se convirtió en mi segundo hogar.

Mena Gabriela

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por permitirme vivir para poder cumplir mis sueños y anhelos, por haberme otorgado a una familia maravillosa, por haberme entregado el regalo más grande, mi hijo. A mis docentes, sustento académico de mi ápice profesional; porque han fomentado en mí, el deseo de superación y triunfo en la vida. A todos ellos, mi más sincero agradecimiento.

Salas Estefany

DEDICATORIA

Este trabajo de tesis lo dedico a mi madre que está en el cielo y que sin su apoyo y sus bendiciones jamás hubiese logrado culminar esta meta, también a mi abuelita Rosa Moreno que jamás desistió ni desmayo durante estos 5 largos años de apoyo incondicional que siempre lo llevare en mi mente y en mi corazón.

Mena Gabriela

DEDICATORIA

Este logro profesional se lo dedico a mi padre, por haber forjado en mí el sentimiento de superación personal y profesional; a mi madre, por su apoyo incondicional; a mis hermanos, por su eterno y sincero cariño; a mi hijo, fuente de mi fortaleza moral; sin ustedes, mis metas no tendrían razón de ser.

Salas Estefany

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: “EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE SUNFO (*CLINOPODIUM NUBIGENUM KUNTH KUNTZE*) POR EL MÉTODO DE ARRASTRE DE VAPOR, PARA SU CARACTERIZACIÓN QUÍMICA, ANTIOXIDANTE Y MICROBIOLÓGICA”.

AUTORAS: Gabriela Katherine Mena Ayala
Estefany Mishell Salas Vásquez

RESUMEN

El presente trabajo se realizó con el objetivo de caracterizar el aceite esencial del sunfo (*Clinopodium nubigenum Kunth Kuntze*) y el rendimiento del aceite esencial; con el empleo del software Design Expert 8.0.6 (Stad-Ease Inc., Minneapolis, EE.UU.), se estableció un modelo matemático de superficie respuesta, donde se obtuvieron 17 corridas experimentales con las variables operativas de tiempo (60, 105 y 150 min) y relación material vegetal/ agua destilada (1:3, 1:4, 1:5). La temperatura del proceso se mantuvo constante en función a la ebullición del agua, el aceite esencial fue separado con un equipo con trampa de Clevenger, luego se dejó reposar con 2 g de Na₂SO₄ por media hora, después se decantó y filtro la muestra, posteriormente se envasó en frascos ámbar de vidrio. Las mejores condiciones de extracción del aceite esencial fueron a un tiempo de 150 min y relación vegetal/ agua destilada 1:5, donde se obtuvo un rendimiento experimental de 1,5291 %. En la cromatografía de gases con detector de masas, se encontró 23 compuestos, siendo la pulegona (44,31%), mentona (22,05%) y timol (14,39%) los compuestos mayoritarios. En la capacidad antioxidante se obtuvo 190,54 μmol Fe²⁺/g en FRAP y 289,84 μmol ET /g ABTS. La capacidad antimicrobiana se realizó a través de la concentración mínima inhibitoria, donde el aceite esencial mostró efectividad frente a la *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATTC 39327, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella entérica*.

Palabras claves: Arrastre de vapor, corridas experimentales, trampa de Clevenger, rendimiento, capacidad antioxidante, actividad antimicrobiana.

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI
FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES

Title: “EXTRACTION OF SUNFO ESSENTIAL OIL (CLINOPODIUM NUBIGENUM KUNTH KUNTZE) BY THE STEAM ENTRAINMENT METHOD, FOR ITS CHEMICAL, ANTIOXIDANT AND MICROBIOLOGICAL CHARACTERIZATION”,

AUTORAS: Mena Ayala Gabriela Katherine
Salas Vásconez Estefany Mishell

ABSTRACT

The present work was carried out with the objective of characterizing sunfo essential oil (*Clinopodium nubigenum Kunth Kuntze*), and essential yield oil; Using Expert Design 8.0.6 software (Stad-Ease Inc., Minneapolis, USA), a mathematical model was established of surface response, where 17 experimental runs were obtained with operating variables of time (60, 105 and 150 min) and plant material/distilled water ratio (1:3, 1:4, 1:5). The process temperature was kept constant in function of water boiling, the essential oil was separated with a Clevenger trap equipment, then it was left to stand with 2 g of Na₂SO₄ for thirty minutes, and later the sample was decanted and filtered, subsequently It was packed in amber glass bottles. The best conditions of essential oil extraction were at a time of 150 min and a vegetable/distilled water ratio of 1:5, where an experimental yield was obtained of 1.5291%. In gas chromatography with mass detector, 23 compounds were found being pulegone (44.31%), menthone (22.05%) and thymol (14.39%) the main components. At antioxidant capacity were obtained 190.54 μmol Fe²⁺/g in FRAP and 289.84 μmol ET /g ABTS. The antimicrobial capacity was made through minimum inhibitory concentration where the essential oil showed effectiveness against *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATTC 39327, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella enterica*.

Keywords: Steam entrainment, experimental runs, Clevenger trap, performance, antioxidant capacity, antimicrobial activity.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	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 DE CONTENIDOS	XV
ÍNDICE DE TABLAS.....	XVIII
ÍNDICE DE FIGURAS	XVIII
ÍNDICE DE ANEXOS	XVIII
1. INFORMACIÓN GENERAL	1
2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO.....	2
3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	3
3.1. BENEFICIARIOS DIRECTOS:.....	3
3.2. BENEFICIARIOS INDIRECTOS:	3
4. PROBLEMA.....	4
5. OBJETIVOS	6
5.1. OBJETIVO GENERAL:	6
5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	6
6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS	7
7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA.....	8
7.1. ANTECEDENTES	8
7.2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	10
7.2.1. <i>Sunfo (Clinopodium nubigenum Kuntze)</i>	10
7.2.2. <i>Caracterización taxonómica del sunfo</i>	10
7.2.3. <i>Clasificación taxonómica</i>	10

7.2.4. Descripción botánica	10
7.2.5. Principios activos del sunfo	11
7.2.6. Propiedades Medicinales.....	11
7.2.7. Aceite esencial	11
7.2.7.1. Caracterización de los aceites esenciales.....	11
7.2.8. Acción antimicrobiana	12
7.2.8.1. Prueba de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)	13
7.2.9. Métodos convencionales de extracción de aceite	13
7.2.9.1. Destilación por arrastre de vapor	13
7.2.10. Uso agroindustrial del aceite esencial.....	13
7.2.11. Antioxidantes	14
7.2.12. Rendimiento	14
7.3. MARCO CONCEPTUAL.....	15
8. VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPOTESIS	16
8.1. HIPÓTESIS NULA	16
8.2. HIPÓTESIS ALTERNATIVA.....	16
9. METODOLOGÍA / DISEÑO EXPERIMENTAL.....	17
9.1. TIPOS DE INVESTIGACIÓN	17
9.1.1. Investigación cuantitativa.....	17
9.1.2. Investigación descriptiva	17
9.1.3. Investigación experimental	17
9.2. TÉCNICAS.....	18
9.3. MATERIALES Y EQUIPOS	18
9.3.1. Materiales de Laboratorio.....	18
9.3.2. Equipos.....	18
9.3.3. Reactivos	19
9.3.4. Materia prima.....	19
9.4. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO DE ELABORACIÓN	20
9.4.1. Recolección.....	20
9.4.2. Selección y limpieza de la materia prima	20
9.4.3. Extracción del aceite esencial del sunfo por arrastre de vapor	20
9.4.4. Rendimiento.....	20
9.4.5. Determinación de la composición química del aceite esencial de sunfo.....	21
9.4.5.1. Cromatografía de gases acoplada a masas (GC-MS)	21

9.4.6. <i>Determinación de la capacidad antioxidante reductora de hierro del aceite esencial</i>	21
9.4.6.1. Ensayo Frap	21
9.4.6.2. Método de ABTS.....	21
9.4.7. <i>Determinación de la actividad antimicrobiana del aceite</i>	22
9.5. DIAGRAMA DE FLUJO	23
9.5.1. <i>Diagrama de flujo de la extracción del aceite esencial de sunfo</i>	23
9.5.2. <i>Diagrama de la caracterización del aceite esencial del sunfo extraído por arrastre de vapor</i>	24
9.6. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	25
10. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	26
10.1. OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE SUNFO (CLINOPODIUM NUBIGENUM KUNTH KUNTZE) EN FUNCIÓN AL RENDIMIENTO.....	26
10.1.1. <i>Rendimiento</i>	27
10.1.2. <i>Optimización numérica del proceso de extracción del aceite esencial</i>	29
10.2. COMPOSICIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE SUNFO, MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO DETECTOR ESPECTRÓMETRO DE MASA.....	31
10.3. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE SUNFO MEDIANTE EL PROCEDIMIENTO DE FRAP Y ABTS.....	33
10.4. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE SUNFO ..	34
11. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS).....	35
11.1. TÉCNICOS	35
11.2. SOCIALES	35
11.3. AMBIENTALES	35
11.4. ECONÓMICOS.....	35
12. PRESUPUESTO	36
13. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	38
13.1. CONCLUSIONES.....	38
13.2. RECOMENDACIONES.....	39
14. REFERENCIAS	40
15. ANEXOS	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos planteados	7
Tabla 2 Taxonómica del sunfo (<i>Clinopodium nubigenum</i> (Kunt) Kuntze)	10
Tabla 3 Factores evaluados para el diseño experimental	25
Tabla 4 Cuadro de variables evaluados.....	25
Tabla 5 Matriz experimental para la evaluación del rendimiento del aceite esencial de la planta de sunfo	26
Tabla 6 Parámetros del modelo codificado para el contenido del rendimiento.....	27
Tabla 7 Solución optimizada.....	29
Tabla 8 Rendimiento de los predichos y experimentalmente.	30
Tabla 9 Composición química del aceite esencial de sunfo	31
Tabla 10 Análisis de captación de radicales libres	33
Tabla 11 Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de sunfo.....	34
Tabla 12 Presupuesto de la investigación	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Interacción de los factores en el rendimiento del aceite esencial de sunfo	28
Figura 2 Valores experimentales y predichos establecidos por el software para el rendimiento del aceite esencial del sunfo.....	29
Figura 3 Optimización numérica para el rendimiento	30
Figura 4 Cromatograma del aceite esencial de Sunfo	32

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Datos informativos del tutor.....	50
Anexo 2 Datos de la estudiante Gabriela Mena.....	51
Anexo 3 Datos de la estudiante Estefany Salas	52
Anexo 4 Fotografías	53
Anexo 5 Aval del Traductor	55

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título de investigación:

“Extracción del aceite esencial de sunfo (*Clinopodium nubigenum* Kunth Kuntze) por el método de arrastre de vapor, para su caracterización química, antioxidante y microbiológica”.

Fecha de inicio:

Octubre 2021

Fecha de finalización:

Agosto 2022

Lugar de ejecución

Provincia: Cotopaxi – Zona:3

Cantón: Latacunga

Parroquia: Salache Bajo

Barrio: Eloy Alfaro

Institución

Universidad Técnica de Cotopaxi

Facultad

Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Carrera que auspicia:

Ingeniería Agroindustrial

Nombres de equipo de investigación:

Tutor de investigación:

- Quím. Mg. Jaime Orlando Rojas Molina

Estudiantes:

- Gabriela Katherine Mena Ayala
- Estefany Mishell Salas Vásconez

Área de conocimiento:

Área: Ingeniería, industria y construcción.

Sub – área: Industria y producción.

Línea de investigación

Línea: Desarrollo y seguridad alimentaria.

Sub – línea: Optimización de procesos tecnológicos agroindustriales.

2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

La humanidad desde tiempos inmemorables, han mantenido un vínculo con los recursos naturales. A nivel mundial, la medicina tradicional continúa constituyendo un eje fundamental de la prestación de servicios de salud, principalmente en los países en desarrollo y países donde predomina el uso de la medicina convencional.

El Ecuador es mundialmente conocido por su diversidad de plantas que posee por metro cuadrado. En los últimos años en todo el mundo, las plantas han sido investigadas por sus propiedades medicinales, en virtud de su eficiencia farmacológica, pocos efectos secundarios y bajo costo. Las especies vegetales tienen compuestos químicos que las protegen contra infecciones microbianas o infestaciones por plagas y tienen actividades terapéuticas.

El sunfo (*Clinopodium nubigenum* Kunth Kuntze), es una planta perenne característica de los páramos de la Sierra Andina, es usada con la finalidad de regular la temperatura corporal y aliviar ciertas enfermedades. Tiene un gran potencial industrial debido a sus principios activos como alcaloides, almidón, taninos, flavonoides, aceites esenciales, triterpenos y esteroides. Los antioxidantes evitan la oxidación y alarga la vida útil del producto. En el mercado nacional, los aceites esenciales de sunfo son difíciles de encontrar por el uso limitado (Fonseca, 2016). Es primordial impulsar la extracción de aceites esenciales de plantas aromáticas del medio para su aprovechamiento.

El presente estudio tiene como propósito extraer y caracterizar el aceite esencial de sunfo, por el método de arrastre de vapor, con la finalidad de estandarizar el proceso, demostrar las propiedades, beneficios y ser una base para futuras investigaciones, dando nuevas alternativas a la industria para satisfacer las necesidades de la sociedad.

La destilación por arrastre de vapor es un proceso que se puede llevar fácilmente a escala industrial por su bajo costo, con un amplio conocimiento de la tecnología. Presenta varias ventajas sobre otros procesos de extracción: no es necesario utilizar disolventes orgánicos por lo cual no se realizan pasos de separación posteriores.

3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

3.1. Beneficiarios directos:

Serán las personas que cosechan la planta de sunfo (*Clinopodium nubigenum Kunth Kuntze*) con el propósito de comercializarla, además las empresas que comercializan los aceites esenciales como son Ecoquator y Green Harmony.

3.2. Beneficiarios indirectos:

La sociedad al conocer el potencial del aceite esencial de sunfo (*Clinopodium nubigenum Kunth Kuntze*), podrán desarrollar subproductos en función al aceite esencial; disponiendo de un producto más natural para su uso.

4. PROBLEMA

El Ecuador es un país rico en biodiversidad, el cual ofrece una variedad de plantas medicinales, sin embargo, no se logra potencializarlas en algunas provincias, lo cual ha limitado el aprovechamiento de las bondades que ofrecen las plantas en su composición química. Cotopaxi al ser considerada zona agrícola, posee condiciones climáticas óptimas para el cultivo de plantas medicinales, no visualiza las oportunidades comerciales que se logren generar con el producto para el desarrollo industrial, a causa de que su visión está encaminada a la agricultura y comercialización de productos primarios sin realizar transformación alguna que brinde valor agregado a los consumidores.

El sunfo es desconocido en el mercado, sin embargo, las comunidades lo aprovechan de manera tradicional en infusiones. En el mercado nacional, los aceites esenciales de sunfo son difíciles de encontrar, por el uso limitado de técnicas de extracción y desconocimiento de sus bondades. La falta de implementación de tecnologías que permitan simplificar, optimizar y mejorar la calidad de los procesos en la industria ha dificultado el avance tecnológico para transmitir un aporte técnico y científico, para posteriores investigaciones en el campo de las esencias aromáticas. Los aceites esenciales de han demostrado una capacidad antimicrobiana contra bacterias gram positivas y gram negativas al ser adicionados en carnes, pescado, lácteos, entre otros; los terpenos son aprovechados como insumos en la producción de productos agroindustriales para dar aroma y fragancia a los licores, aromatizantes de panela, confites, desinfectantes, etc.

El estilo de vida actual puede conducir a hábitos alimentarios inadecuados, como el consumo de alimentos de baja calidad nutricional y capacidad antioxidante. Esto ha provocado graves problemas de salud en las personas, como la obesidad y diversas enfermedades crónico-degenerativas (cáncer, la diabetes mellitus y las enfermedades cardiovasculares, entre otras) como consecuencia del estrés oxidativo en las células. Los antioxidantes son metabolitos secundarios que interactúan con los radicales libres y los neutralizan, pueden prevenir o retardar el daño a las células cediendo un electrón de su estructura, protegiendo el cuerpo humano de diferentes padecimientos.

Hoy en día ha surgido la necesidad de buscar alternativas de conservación, esto debido a que se ha asociado el consumo de conservantes químicos con intoxicaciones. La demanda de productos frescos mínimamente tratados está aumentando, así como el interés por los agentes antimicrobianos de origen natural, por esto en la actualidad se busca la combinación de dos o

más factores que interaccionen aditiva o sinérgicamente controlando a la población microbiana, permitiendo con esto productos semejantes al producto fresco, pero con menos aditivos.

De esta manera se pretende que la sociedad se beneficie del aceite esencial de sunfo, que puede ser usado como antioxidante, antibacteriano, insecticida, etc., en la industria.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general:

Extraer el aceite esencial de sunfo (*Clinopodium nubigenum* Kunth Kuntze) por el método de arrastre de vapor, para su caracterización química, antioxidante y microbiológica.

5.2. Objetivos específicos

- Optimizar el proceso de extracción del aceite esencial de sunfo (*Clinopodium nubigenum* Kunth Kuntze) en función al rendimiento.
- Determinar los compuestos volátiles del aceite esencial de sunfo mediante el método de cromatografía de gases acoplado a un detector espectrómetro de masa.
- Evaluar la capacidad antioxidante del aceite esencial de sunfo mediante el procedimiento de FRAP y ABTS.
- Establecer la capacidad antimicrobiana del aceite esencial de sunfo, por medio de la metodología de concentración mínima inhibitoria.

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

Tabla 1

Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos planteados

Objetivos	Actividad (Tareas)	Resultados de la Actividad	Medio de verificación
Objetivo 1			
Optimizar el proceso de extracción del aceite esencial de sunfo (<i>Clinopodium nubigenum</i> Kunth Kuntze) en función al rendimiento.	Recolección y selección de las muestras. Secado de la planta. Extracción del aceite esencial del sunfo, por arrastre de vapor. Calcular el rendimiento.	Aceite esencial. Rendimiento del aceite esencial de sunfo.	Información en la tabla 7.
Objetivo 2			
Determinar los compuestos volátiles del aceite esencial de sunfo mediante el método de cromatografía de gases acoplado a un detector espectrómetro de masa.	Cuantificar los compuestos volátiles presente en el aceite esencial mediante cromatografía de gases acoplado a un detector espectrómetro de masa. Analizar e interpretar los resultados obtenidos.	Valores obtenidos de la cuantificación de los compuestos volátiles. Identificación e interpretación de los compuestos orgánicos.	Información en la tabla 9.
Objetivo 3			
Evaluar la capacidad antioxidante del aceite esencial de sunfo mediante el procedimiento de FRAP y ABTS.	Determinación experimental de la capacidad antioxidante del aceite esencial.	Datos expresados de la capacidad antioxidante del aceite esencial. Interpretación de los resultados.	Información en la tabla 10.
Objetivo 4			
Establecer la capacidad antimicrobiana del aceite esencial de sunfo, por medio de la metodología de concentración mínima inhibitoria.	Realizar los ensayos experimentales de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI), por el método de dilución en tubos. Práctica de cepas. Identificación de la capacidad antimicrobiana presente en el aceite esencial.	Comprobación de la capacidad antimicrobiana del aceite esencial de sunfo.	Información en la tabla 11.

Elaborado por: Autoras (Mena & Salas; 2022)

7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

7.1. Antecedentes

Sevillano, et. al, (2019) evaluaron el efecto de la densidad de carga, flujo de vapor y la condición de la materia prima en el rendimiento del aceite esencial de Romero, extraído por arrastre de vapor. En la primera etapa trabajaron con la metodología Taguchi con un arreglo ortogonal L4 (23) a 3 niveles; con 2 flujos de vapor (4 kg/h y 6 kg/h), estados de materia prima (seca y fresca) y densidades de carga (1 kg y 3 kg). En la segunda etapa de optimización utilizaron el MSR con un diseño compuesto central rotatable (DCCR), la misma que emplearon para evaluar el efecto de las variables. El mayor rendimiento de aceite esencial se obtuvo de la planta seca, densidad de carga 1 kg y flujo de vapor de agua 5 kg/h, dándoles 2,66% de rendimiento.

Castro y su grupo de investigación (2019) determinaron el rendimiento (R), gravedad específica (GE), índice de refracción (IR), actividad antioxidante (AA) y composición química de aceite esencial de huacatay, poleo, romero y sachaculantro. Usaron el análisis de varianza de efectos fijos con tres repeticiones y análisis de clúster. Con el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) y sus componentes más abundantes fueron identificados con cromatografía GC/MS para la actividad antioxidante. Entre los componentes volátiles más abundantes se identificó 1-adamantanol (44,42%) en huacatay, β -felandreno (20,85%) en poleo, β -mirceno (34,59%) en romero y α -pineno (23,41%) en sachaculantro. Concluyeron que el lugar geográfico si afecta significativamente las propiedades fisicoquímicas de los aceites esenciales.

Briones y Guerrero (2019) extrajeron aceites esenciales de palo santo y mandarina por el método de arrastre de vapor, realizaron el diseño, construcción y experimentación de un equipo a escala banco, implementando cálculos y fundamentos ingenieriles obtenidos de diferentes fuentes bibliográficas. El palo santo presento un rendimiento del 2,7985% y de 4,3425%, y la cáscara de mandarina 0,0816%, lo cual indico un resultado muy bajo en comparación al palo santo; cuando compararon con otras investigaciones el aceite de mandarina obtuvo un mayor rendimiento.

Vega (2019) determinó la actividad antimicrobiana frente a *Streptococcus pneumoniae*, con sensibilidad límite según la escala de Duraffourd, de los aceites esenciales de *Schinus molle*, *Senecio calvus* y *Clinopodium pulchellum*, la concentración mínima inhibitoria de los aceites esenciales obtenidos por destilación por arrastre de vapor de agua fue de: 100% (V/V) *Schinus*

molle, 75%(V/V) *Senecio calvus*, 50%(V/V) *Clinopodium pulchellum* y obtenidos por hidrodestilación fueron de: 100%(V/V) para *Schinus molle*, 50%(V/V) para *Senecio calvus* y 50%(V/V) para *Clinopodium pulchellum*, frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619.

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

7.2. Fundamentación teórica

7.2.1. Sunfo (*Clinopodium nubigenum* Kuntze)

Es una planta endémica de Costa Rica, Panamá, Venezuela, Colombia, Perú y Ecuador, habita el páramo y montañas de la cordillera. En Ecuador se distribuye en la región sierra en las provincias de: Loja, Azuay, Cañar, Chimborazo, Bolívar, Tungurahua, Cotopaxi, Pichincha, Imbabura y Carchi (Chacha, 2019). En las comunidades del páramo andino, el sunfo lo han utilizado como medicina natural, para tratar ciertos malestares que acontecen al ser humano.

7.2.2. Caracterización taxonómica del sunfo

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

7.2.3. Clasificación taxonómica

Tabla 2

Taxonómica del sunfo (Clinopodium nubigenum (Kunt) Kuntze)

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

Elaborado por: (Coral, 2018)

7.2.4. Descripción botánica

El sunfo es una planta aromática vascular perenne rastrera, alcanza 15 cm como altura máxima, caracterizada por su gran intensidad de aroma. Su raíz es pivotante y fibrosa. Presenta un tallo de forma cuadrangular ramificado, de color café rojizo, cubierto de tricomas y vellosidades de color blanco (Bravo & Zavala, 2020). Presenta hojas de forma oval lanceoladas simple y opuesta, base ligeramente truncada, suelen medir de largo hasta 4 mm, acumuladas en los tallos. Sus flores son zigomorfas y labiadas, miden de 3 a 5 mm, con 5 sépalos de color

verde, 5 pétalos de color lila muy claro, con un color oscuro del centro. Su fruto es seco indehiscente y tetraquenio (Ginocchio & Pérez, 2019).

7.2.5. Principios activos del sunfo

Las proporciones de los componentes químicos de la planta estarán ligador directamente a factores climáticos y ecológicos. El sunfillo posee en cantidad abundante de taninos, flavonoides, aceites esenciales, triterpenos y esteroides (Castillo, 2020).

7.2.6. Propiedades Medicinales

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

7.2.7. Aceite esencial

Los aceites esenciales, son líquidos hidrofóbicos concentrados, fragantes y volátiles extraídos de las plantas, su composición química depende, de la especie vegetal: su procedencia, condiciones geobotánicas y agrícolas del cultivo (D'Armas, et al., 2017). El aceite esencial ha despertado el interés de la industria, por su actividad antimicrobiana contra diferentes tipos de bacterias y hongos, citostática e insecticida, también se usan como sabores alimenticios, como aditivos naturales en alimentos. Las propiedades antioxidantes son otorgadas por los compuestos fenólicos (Castro, et. al, 2019).

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

7.2.7.1. Caracterización de los aceites esenciales

- **Evaluación sensorial**

Se lleva a cabo mediante catadores, los cuales toman en cuenta el olor, color, apariencia y textura del aceite, son pieza clave al momento de elegir un aceite esencial (Logroño & Lozano, 2019).

- **Características físicas**
 - **Densidad:** Es la masa de una sustancia dividida entre su volumen, en los aceites volátiles, varía entre 0.84 y 1.2. Los que son más ligeros en agua (densidades menores a 0.9 g/cm³) (Morocco, 2017).
 - **Viscosidad:** Resistencia a la deformación del fluido.
 - **Índice de Refracción:** Determina la reducción de la velocidad de la luz al propagarse por un medio homogéneo y es una propiedad específica de cada interfase y varía con la temperatura y con la longitud de onda de la luz considerada (Morocco, 2017).
- **Características químicas**
 - pH
 - **Índice de acidez:** Manifiesta el grado de acidez y expresa el número de mg de hidróxido potásico necesarios para neutralizar el ácido contenido en un gramo de aceite.
 - **Índice de éster:** Determina la cantidad de ésteres en una muestra y expresa los mg de hidróxido potásico necesarios para saponificar los ésteres contenidos en un gramo de aceite esencial.
 - **Índice de saponificación:** Es la suma del índice de acidez y el índice de éster.
 - **Composición Porcentual:** Puede ser de interés donde la calidad de un aceite se define por el contenido de algunos de sus compuestos (Siancas, 2021).
- **Determinación de componentes aromáticos**
 - **Cromatografía de gases a espectrometría de masas (GC-MS)**

Es una técnica económica, ampliamente utilizada para el análisis cualitativo y cuantitativo de una gran variedad de muestras. La separación se lleva a cabo cuando los componentes de la muestra se volatilizan reparten entre la fase móvil (gas inerte), y la fase estacionaria (sólido o líquido) retenidos en una columna (Fukalova & Abalco, 2020).

7.2.8. Acción antimicrobiana

A medida que aumenta la resistencia a los patógenos, ha suscitado un gran interés en estudios de los fenoles y mono terpenos que poseen los aceites esenciales, debido a su capacidad que posee para interactuar directamente con el citoplasma de los patógenos o por su hidrofobicidad, pueden incorporarse a los lípidos de la membrana celular bacteriana, en donde ocurre una fuga de iones y otros compuestos del microorganismo. Los efectos antimicrobianos

de los aceites esenciales están relacionados con su composición y efectos citotóxicos, que provocan el deterioro de la membrana celular (Carhuallanqui, et. al, 2020).

7.2.8.1. Prueba de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Es la concentración mínima capaz de inhibir el desarrollo de organismos microscópicos, puesto que a menor CMI mayor susceptibilidad del microorganismo (Montero, 2021). Es una prueba cuantitativa, que puede llevarse a cabo en agar o en medio líquido, a través de soluciones en caldo, a diversas concentraciones del agente antibiótico el cual es inoculado (Asun, 2019). Algunos estudios, han corroborado la efectividad del aceite esencial frente a patógenos comunes en la industria alimentaria, dentro de los cuales se encuentran: *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *S. aureus*, *Campylobacter*, *Enterococcus fecalis*, *Vibrio parahemolyticus*, *Listeria monocytogenes*, entre otros (Argote, et. al, 2017).

7.2.9. Métodos convencionales de extracción de aceite

Los aceites esenciales se extraen de los tejidos de las plantas a través de diferentes procedimientos físicos y químicos. No sólo la idoneidad cuantitativa del proceso depende del método elegido, sino también de la composición del producto obtenido, de este factor dependerá la calidad y del posible uso (Villada, 2019).

7.2.9.1. Destilación por arrastre de vapor

Es el método más usado por sus bajos costos y a la variedad de solventes que se pueden emplear (agua, etanol, metanol, éter,); volatilizandolos compuestos activos de la planta en el vapor; el proceso dura un amplio intervalo de tiempo. El agua como disolvente debe de ser de 100 °C (Castillo, 2020).

7.2.9.2. Extracción con solventes orgánicos:

Se debe obtener la droga cruda de la planta para un mejor contacto con el solvente.

7.2.9.3. Maceración:

Se utiliza grasas naturales con puntos de ablandamiento (40 °C). Se unta la grasa en bandejas y sobre ella se coloca el material floral o vegetal, la grasa saturada está llena de aroma, se lava con alcohol de perfumería y se destila (Villada, 2019).

7.2.10. Uso agroindustrial del aceite esencial

Son empleados como aditivos naturales (saborizantes, colorantes, antioxidantes o conservantes) para potenciar el sabor de todo tipo de bebidas, helados, galletas, golosinas

productos lácteos, etc; para aromatizar productos como caramelos, chocolates y en la preparación de bebidas alcohólicas y no alcohólicas, en refrescos y helados (Amaya & Sandoval, 2020).

7.2.11. Antioxidantes

Comúnmente denominados como carroñeros de radicales libres. Son moléculas que interactúan con los radicales libres, para prevenir o retrasar daños a las células. La oxidación celular propicia el envejecimiento prematuro y una serie de enfermedades (cardiovasculares, degenerativas, Alzheimer, Parkinson, cáncer, entre otras) (Bernácer, 2022).

Los antioxidantes pueden se clasifican en antioxidantes endógenos (son biosintetizados por el propio organismo) y antioxidantes exógenos (vitamina C, E, A, etc.) (Tovar, 2018).

7.2.12. Rendimiento

El contenido del aceite esencial se incrementa cuando el rocío se elimina de la planta. En generalidad las plantas comprenden del 0.01% al 10% de contenido de aceite esencial, correspondiendo del 1% al 2% en cantidad media de las plantas aromáticas. Dependiendo del tipo de unto se pueden preservar de 2 a 5 años (Sarmiento & Romero, 2017).

7.3. Marco conceptual

- **Antioxidante:** sustancia que permite prevenir o retrasar la oxidación de otras moléculas.
- **Antimicrobiano:** Sustancia que destruye microorganismos, tales como las bacterias o el moho, o les impide crecer y causar enfermedad.
- **Fenol:** sólido incoloro a blanco cuando ocurre en forma pura. La preparación comercial es un líquido que se evapora más lentamente que el agua. El fenol tiene un olor repugnantemente dulce y alquitranado característico.
- **Flavor:** Sabor.
- **Líquidos hidrofóbicos:** sustancias que son repelidas por el agua o que no se pueden mezclar con ella.
- **Lixiviación:** Extracción de la materia soluble de una mezcla mediante la acción de un disolvente líquido.
- **Perenne:** es incesante, continuo, que no muere.
- **Pivotante:** Que se hunde verticalmente en la tierra, como una prolongación del tronco.
- **Volatilizar:** Hacer pasar un cuerpo del estado sólido o líquido al gaseoso.
- **Unto:** Sustancia de consistencia grasa y pegajosa que se usa para untar; en especial la que se emplea con fines terapéuticos o la que se emplea como sustancia alimenticia.
- **Zigomorfos:** Que tiene simetría bilateral, es decir, un solo plano de simetría.

8. VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPOTESIS

8.1. Hipótesis nula

Ho: El tiempo y la relación de materia vegetal no influye en la extracción del aceite esencial de sunfo (*Clinopodium nubigenum Kunth Kuntze*) por el método de arrastre de vapor.

8.2. Hipótesis alternativa

H1: El tiempo y la relación de materia vegetal influye en la extracción del aceite esencial de sunfo (*Clinopodium nubigenum Kunth Kuntze*) por el método de arrastre de vapor.

9. METODOLOGÍA / DISEÑO EXPERIMENTAL

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

9.1. Tipos de investigación

9.1.1. Investigación cuantitativa

Trata con fenómenos que se pueden medir a través de técnicas estadísticas para el análisis de los datos recogidos, describiendo, explicando, prediciendo y controlando el objetivo de sus causas y ocurrencias a partir del desvelamiento de las mismas, fundamentando sus conclusiones sobre el uso riguroso de la métrica o cuantificación, de la recolección de sus resultados como de su procesamiento, análisis e interpretación, a través del método hipotético-deductivo (Sánchez, 2019).

Se utilizó porque tiene un largo alcance con la finalidad de explorar las causas del problema, recopilar y analizar los datos de las variables (dependiente e independiente), con el uso de herramienta informática, estadística y matemática para obtener resultados. Nos ayudó a dar solución a las hipótesis.

9.1.2. Investigación descriptiva

Se efectúa cuando se desea describir, en todos sus componentes principales en una realidad (Guevara, et. al, 2020).

Se empleó con la finalidad de analizar, describir y explicar la relación existente entre las variables, para obtener resultados significativos que puedan contribuir al conocimiento.

9.1.3. Investigación experimental

Ayuda a manejar los conceptos básicos de experimentación científica, considerar la importancia de la observación directa de los fenómenos físicos o químicos, adquirir destreza en la manipulación y montaje de equipos especializados, revelar, analizar, validar e interpretar los datos obtenidos experimentalmente; igualmente a sacar conclusiones (García, et. al, 2018).

Se la uso con el propósito de someter el aceite esencial de sunfo a determinadas condiciones, manipulando la variable independiente, para observar los efectos o reacciones que se producen en la variable dependiente, establecer la causa y el efecto del fenómeno.

9.2. Técnicas

Nos permitió obtener datos e información, organizando las diversas etapas de la investigación, desde la recolección de datos hasta su análisis e interpretación. Facilita el control de la cantidad y la calidad de la información obtenida a lo largo de la investigación. Constituye una guía sobre la validez de la hipótesis de la investigación.

9.2.1.1. Observación:

Es el principio del entendimiento del mundo y de la actividad científica; siendo de ese modo la contradicción entre el observador y el objeto percibido, se centra en el entendimiento de lo observado, variando el nivel de atención (López, et. al, 2019).

Es una técnica cualitativa, se la aplico en las diversas etapas del proceso de investigación, desde la formulación del problema hasta la verificación de la hipótesis y la elaboración de las conclusiones.

Instrumentos para registrar la investigación

9.3. Materiales y equipos

9.3.1. Materiales de Laboratorio

- Asas de Didrasky
- Balones aforados vidrio 5 mL
- Balones aforados 10 mL
- Bureta de vidrio de 1000 mL
- Cajas Petri
- Gradillas
- Matraz con trampa de Clevenger
- Matraz Erlenmeyer de vidrio 500mL
- Pipeta volumétrica de vidrio 10 mL
- Pinzas
- Papel filtro
- Tubos de ensayo 10 mL
- Varilla de agitación
- Vasos de precipitación (250mL)

9.3.2. Equipos

- Balanza Analítica (0,0001g)

- Cromatógrafo de gases con espectrometría de masas (GC-MS) en un equipo Agilent Technologies 5975 inert XL MSD with Triple-Axis Detector.
- Espectrofotómetro GENESYS 20 Modelo 4001/4j
- Extractor de aceite esencial por arrastre de vapor (Lanphan Ltd., China)
- Incubador Biocell modelos M345
- Micropipeta automática 100-1000µl Microlit.

9.3.3. Reactivos

- Agua destilada
- Agua peptonada
- Agar nutritivo
- Agar Mueller-Hinton
- Acetato de sodio
- Ácido acético
- Ácido clorhídrico
- Ácido gálico
- Cloruro Férrico
- Carbonato de sodio
- *Escherichia coli* ATTC25922
- Etanol 99.8%
- *Pseudomonas aeruginosa* ATTC39327
- TPTZ (2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride)
- ABTS (2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt)
- *Salmonella entérica* U822s
- *Staphylococcus aureus* ATTC25923
- Sal de Mohr
- Sulfato de sodio

9.3.4. Materia prima

- Planta de sunfo (flores, hojas, tallo y raíz)

9.4. Descripción del método de elaboración

9.4.1. *Recolección*

La planta de sunfo fue recolectada en la provincia de Cotopaxi en el cantón de Latacunga, parroquia Ignacio Flores, en las primeras horas del día, teniendo en cuenta que el rocío ya no esté en la planta y la floración de la misma; con la ayuda de una tijera de podar, se recortaron los tallos en mejores condiciones que se visualizó y se las guardó en un costal de fibra natural para evitar maltratarla al momento de transportarla.

9.4.2. *Selección y limpieza de la materia prima*

Se inspeccionó la planta y se descartó las que no presentaron buen aspecto (manchas, resquebrajadura, hongos, parásitos, entre otros). Con una solución acuosa de hipoclorito de sodio al 0,1% se limpió las impurezas presentes en el sunfo, finalmente se enjaguó con agua destilada y se procedió a secarla.

9.4.3. *Extracción del aceite esencial del sunfo por arrastre de vapor*

La planta de sunfo fue colocada dentro del equipo de arrastre de vapor conjuntamente con el agua destilada, al calentarse la caldera se evapora el agua y el aceite volátil, que se condensa en el refrigerador, recogándose con el agua en el colector (el tiempo de extracción inicia cuando cae la primera gota de la mezcla agua-aceite), de la cual para separarlo se añadió 2 g sulfato de sodio por media hora por diferencia de densidad se lo aísla. Se los envasa en frascos ámbar y fueron almacenados a 4°C.

Se extrajo el aceite esencial a una temperatura constante de 100 °C en diferentes condiciones de tiempo (60, 105 y 150 minutos) y relación material vegetal/agua destilada (1:3, 1:4 y 1:5). Para cada corrida experimental se utilizó la relación 1/1 entre el material vegetal y el disolvente.

9.4.4. *Rendimiento*

Se obtuvo a través de un análisis de laboratorio, para lo cual se analizó la muestra conseguida por el arrastre de vapor para saber que cantidad de aceite esencial de sunfo se obtuvo en relación al peso total de la planta. El rendimiento fue calculado mediante la ecuación, y se evidenció a modo de proporción del aceite extraído (Pantoja, et. al, 2017).

$$\%Rendimiento = \frac{(Peso\ del\ aceite\ esencial)}{(Peso\ de\ hojas)} \times 100 \quad (Ecuación\ 1)$$

9.4.5. Determinación de la composición química del aceite esencial de sunfo

9.4.5.1. Cromatografía de gases acoplada a masas (GC-MS)

La composición química de los aceites esenciales se determinó con la cromatografía GC-MS, debido a que es una técnica analítica con la capacidad de separación, identificación y cuantificación de mezclas de sustancias volátiles y semivolátiles (Jami & Jaramillo, 2019).

Se inyectó 1,0 uL del aceite esencial del sunfo diluido en n-hexano, empleando 1,2 ml/min de helio en calidad de transportador a flujo constante. Se relacionaron los índices de retención (Kovats índices-IR), espectro de masa con datos publicados en literatura y con espectro de masa de librería de la computadora para la caracterización de los componentes (Ponce, 2019).

9.4.6. Determinación de la capacidad antioxidante reductora de hierro del aceite esencial.

9.4.6.1. Ensayo Frap

Los ensayos efectuados en el laboratorio de la institución, se realizaron de acuerdo a la metodología de Benzie y Strain (1996) y modificada por Zou y su equipo de trabajo (López, 2017).

La solución de FRAP estuvo conformada por 3 componentes en una relación 10:1:1 v/v/v respectivamente (León, 2022).

a) Solución buffer de ácido acético-acetato de sodio 300 mM, con pH de 3.6 a 4. Para este estudio el pH de la solución se ajustó a 3.85

b) Solución de cloruro férrico 20 mM

c) Solución de TPTZ (2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina) 10 mM disuelto en ácido clorhídrico 40 mM La solución fue calentada a 37 °C durante 10min. En la curva de calibración, se usaron diluciones de Trolox a concentraciones de 25, 50, 100, 200, 400 mEq/L, además se preparó un blanco. Cada muestra fue trabajada por triplicado (López, 2017).

Se colocó 20 µL de muestra o patrón y 600 µL de la dilución a, b y c. Durante 30 minutos se incubó a temperatura ambiente en la oscuridad. Posteriormente, se tomó una alícuota de 100 µL de cada tubo y se transfirió a un pocillo de microplaca. La absorbancia fue analizada a una longitud de onda de 593 nm (León, 2022).

9.4.6.2. Método de ABTS

La técnica se fundamentó en la cuantificación de la decoloración del radical causada por la presencia de donantes de hidrógeno o de electrones procedentes de los compuestos fenólicos (Palacios, 2018).

Se empleo 100 μ L de la muestra y 1 mL de la solución del radical ABTS⁺; seguidamente se disolvió en buffer ácido acético-acetato de sodio (pH 5) para alcanzar una absorbancia alrededor de 0,7 nm. Las mediciones fueron realizadas a una longitud de onda de 734 nm a los 3 min de reacción. a temperatura ambiente. Se usó un lector multi-modal Cytation 3 Los resultados se expresaron mediante la construcción de una curva patrón usando como antioxidante trolox (0-200 μ mol/L) (Rioja, et. al, 2018).

La solución del radical ABTS⁺ se obtuvo mezclando 5 ml de solución ABTS 7 [mM] con 88 μ L de solución de persulfato de potasio 140 [mM] (Rioja, et. al, 2018).

9.4.7. Determinación de la actividad antimicrobiana del aceite

Se corrobora la actividad antimicrobiana del aceite esencial de sunfo en cepas bacterianas. Los microorganismos empleados pertenecen a la colección de la Universidad Técnica de Cotopaxi: *Salmonella entérica* U822s, *Staphylococcus aureus* ATTC25923, *Escherichia coli* ATTC25922, *Listeria monocytogenes* ATTC 19115, *Bacillus cereus* ATTC 10876 y *Pseudomonas aeruginosa* ATTC10145.

Las cepas bacterianas fueron activadas previo a su empleo, fueron sembradas en medio de agar nutritivo, con la finalidad de valorar su factibilidad en los ensayos de susceptibilidad bacteriana. La actividad antimicrobiana del aceite de sunfo ante las cepas bacterianas se determinó mediante el siguiente método:

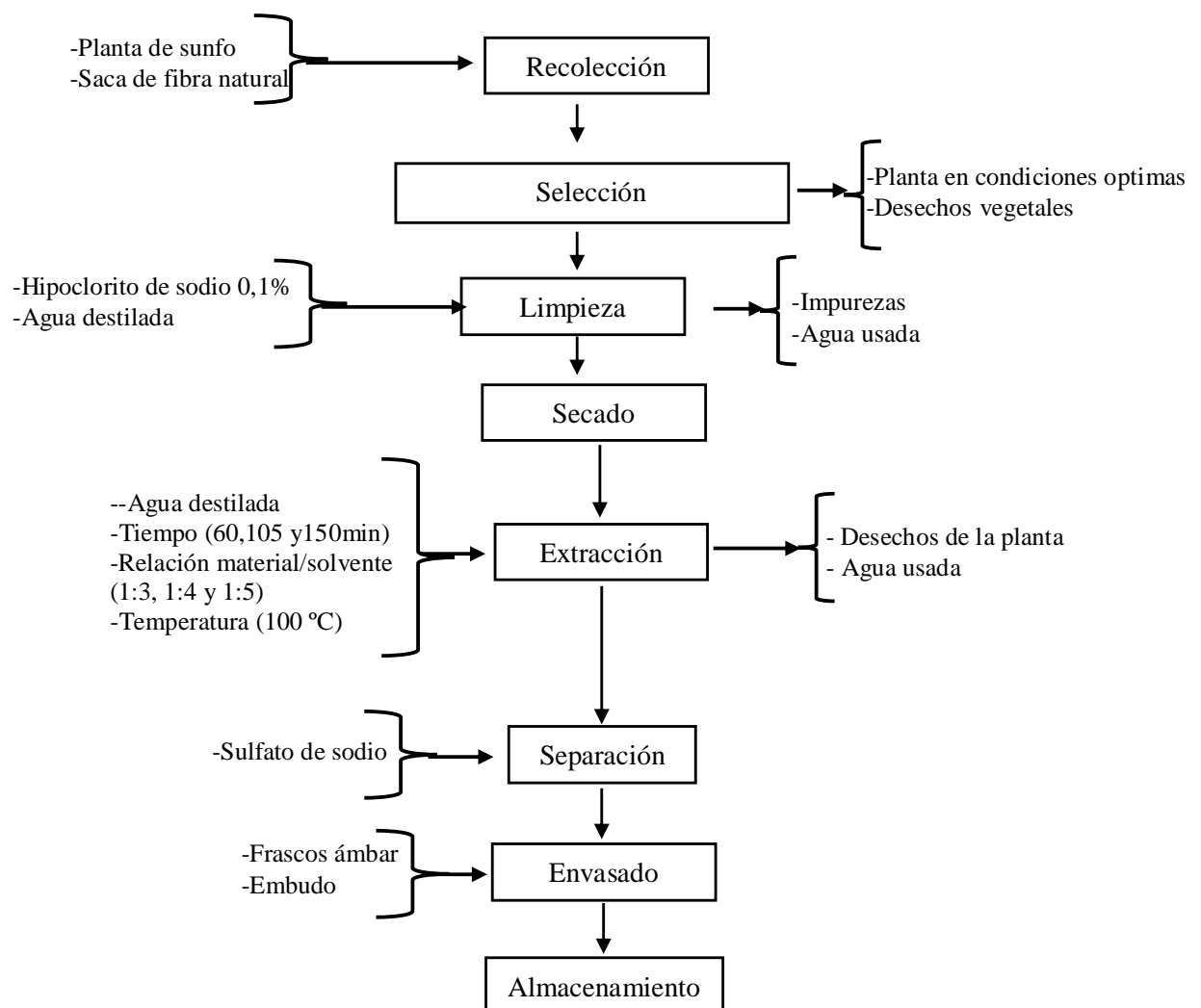
- **Determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI). Método de dilución en tubos.**

Para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI), se preparó un medio que consta de caldo Mueller Hinton y una solución estéril de Tween 20, con el fin de obtener una homogeneidad de la fracción de aceite esencial en el medio, y maximizar su miscibilidad en el medio. Para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI), se preparó un medio de cultivo que contiene agar Mueller-Hinton (38 gr /1L de agua destilada) y una solución de Tween 20 (20 ml), previamente esterilizadas en un autoclave, se utilizaron 5 cajas Petri para formar el cultivo en concentraciones de (0 ; 0,1 ; 0,5 ; 1, 3 y 5%) de cada fracción de aceite (0 ; 0,025 ; 0,125; 0,25 ; 0,75 ; 1,25), Tween 20 (0,125), Agar Muller-Hinton (25ml), lo cual se dejó por un día en refrigeración. Previamente se dividió con el asa de

Digralsky en 4 partes enumeradas previamente para colocar 10 μ L de cada inóculo (*Escherichia coli* ATTC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATTC10145, *Salmonella entérica* U822s, *Staphylococcus aureus* ATTC25923), esto se dejó en el incubador bacteriológico Biocell modelo M345 por 48 horas a 37°C. El resultado de la CMI correspondió a la concentración más baja del aceite esencial capaz de inhibir el crecimiento bacteriano.

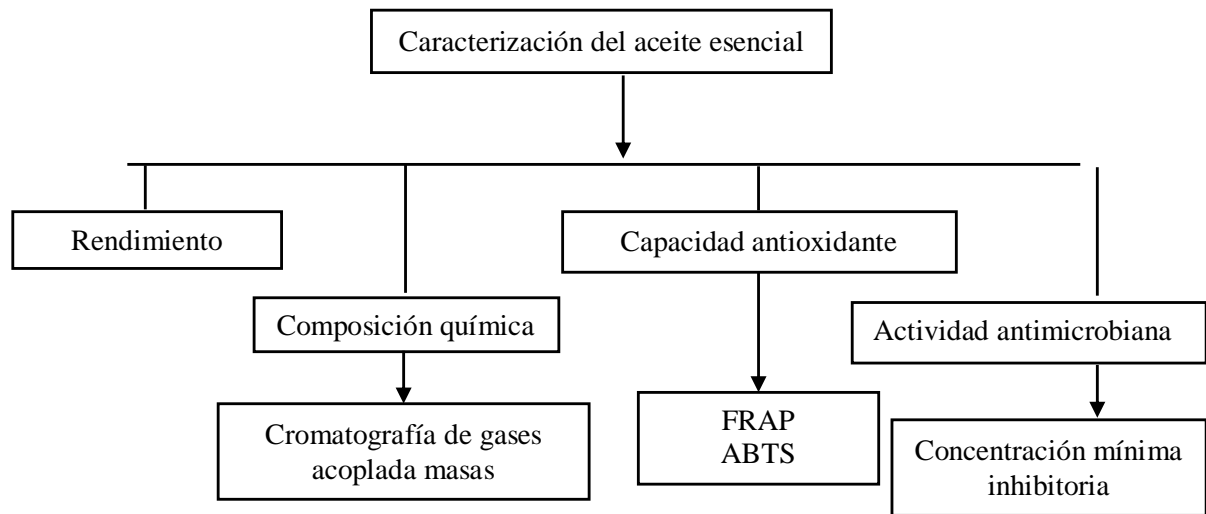
9.5. Diagrama de flujo

9.5.1. Diagrama de flujo de la extracción del aceite esencial de sunfo



Elaborado por: Autoras (Mena, Salas; 2022)

9.5.2. Diagrama de la caracterización del aceite esencial del sunfo extraído por arrastre de vapor



Elaborado por: Autoras (Mena, Salas; 2022)

9.6. Diseño experimental

El software Design Expert 8.0.6 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, EE.UU.), facilitó el diseño experimental y el proceso de optimización numérica del aceite esencial, encontrando la deseabilidad máxima, a través del método de superficie de respuesta con un modelo lineal; el programa estableció 17 corridas experimentales evaluando los factores de tiempo (60, 105, y 150 min) y relación material/agua destilada (1:3; 1:4; 1:5); de tal manera que el aceite esencial del sunfo (*Clinopodium nubigenum Kunth Kuntze*), seleccionado contenga mayor cantidad de antioxidantes y actividad antimicrobiana. En la tabla 3 se muestra los intervalos a valorar en la experimentación para cada factor.

Tabla 3 Factores evaluados para el diseño experimental

Detalle	Tipo	
Tiempo	Numérico	60
		105
		150
Relación material/ agua destilada	Numérico	1:3
		1:4
		1:5

Elaborado por: Autoras (Mena, Salas; 2022)

Las variables evaluadas durante el proyecto de investigación son detalladas en a tabla 4.

Tabla 4 Cuadro de variables evaluados

Variable Dependiente	Variable Independiente	Indicadores	UM
Extracción y caracterización del aceite esencial de Sunfo <i>Clinopodium nubigenum Kunth Kuntze</i>	Factores de tiempo (60, 105, y 150 min) y relación material vegetal/agua destilada (1:3; 1:4; 1:5).	Rendimiento de cada corrida experimental.	%
		Condiciones óptimas de la extracción	min
		Verificación de las condiciones óptimas de extracción.	g/L
		Características del aceite esencial optimizado	mg/g
		ABTS	μmol ET /g
		FRAP	μmol Fe ²⁺ /g

Elaborado por: Autoras (Mena, Salas; 2022)

10. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

10.1. Optimización del proceso de extracción del aceite esencial de sunfo (*Clinopodium nubigenum* Kunth Kuntze) en función al rendimiento.

A través de la experimentación de 17 corridas experimentales utilizando como factores de estudio se evaluó el tiempo (60 min, 105 min y 150 min); con una relación del material/agua destilada (1:3;1:4; 1:5) el rendimiento.

En la tabla 5 se muestra la matriz experimental con los datos conseguidos a través del modelo de superficie de respuesta, para la evaluación del rendimiento del aceite esencial de sunfo.

Tabla 5 Matriz experimental para la evaluación del rendimiento del aceite esencial de la planta de sunfo

Corrida	Tiempo (min)	Relación material/agua destilada (g/L)	Rendimiento (%)
1	105	1:3	1,2231
2	150	1:5	1,4893
3	60	1:4	0,8423
4	105	1:4	1,0123
5	60	1:4	0,8564
6	60	1:3	1,0245
7	150	1:5	1,3102
8	150	1:4	1,3894
9	60	1:5	0,6342
10	105	1:4	1,0023
11	105	1:5	0,8342
12	150	1:5	1,3012
13	105	1:5	0,8123
14	60	1:3	1,0120
15	150	1:4	1,3723
16	105	1:3	1,2176
17	150	1:3	1,4801

Elaborado por: Autoras (Mena, Salas; 2022)

Se visualiza en la corrida 2, un mayor rendimiento (1,4893%) del aceite esencial, la misma que fue ejecutada a 150 min por 1:5 de la relación material vegetal/ agua destilada.

En base a estos resultados se considera al Sunfo (*Clinopodium nubigenum* Kunth Kuntze) como una planta con altas proporciones de aceites esenciales, el rendimiento mostrado por

el aceite de Sunfo es aceptable, debido a que presenta valores similares a los descritos para plantas ancestrales como menta, hierba buena, manzanilla y llantén (Cholota, 2011, p. 113).

10.1.1. Rendimiento

El valor del F del modelo lineal resulto elevado al de la tabla de Fisher, por consiguiente, se desestimó la hipótesis nula. La relación masa/agua (RMA) y tiempo de extracción (TIE) son factores significativos ($p \leq 0,05$.); comprobando que la variabilidad de los coeficientes tendrá una relación directa en la determinación del rendimiento.

La Tabla 6 demuestra la importancia del ANOVA y el coeficiente de estimación del contenido de la variable respuesta. Se observo que el modelo lineal es relevante, lo cual refleja que existe una relación significativa entre la relación masa/ agua y tiempo de extracción, con las variables dependientes del modelo. El coeficiente de correlación R^2 señalo que el modelo matemático ajustado es de 93,78% de cambio en el rendimiento.

Tabla 6 *Parámetros del modelo codificado para el contenido del rendimiento*

Indicador	Rendimiento (%)
Intercepto	1,08
X_{TIE}	0,28*
X_{RMA}	0,16*
R^2	0,9378
R^2 ajustado	0,9234
R^2 predicho	0,8950
F modelo	65,31*
F falta de ajuste	151,44
Precisión adecuada	24,866

RMA: relación masa/agua

TIE: tiempo de extracción

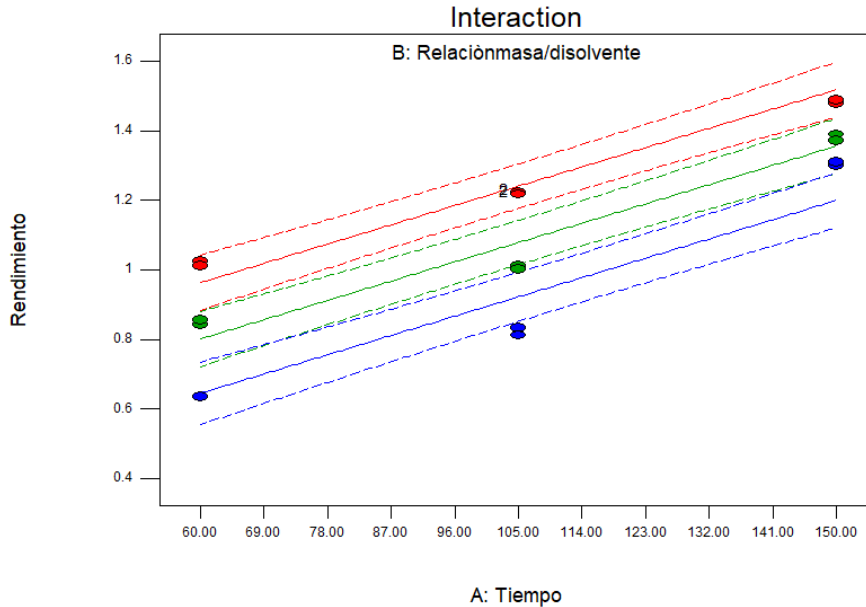
Elaborado por: Autoras (Mena, Salas; 2022)

Sevillano y su grupo de trabajo (2019) obtuvieron mayor rendimiento del aceite esencial de romero el 2,66%, a un flujo de vapor de 5,0 kg/h y una carga de materia prima de 1 kg. En el estudio presentado por (Arango, et. al, 2012) obtuvieron rendimiento promedio del aceite esencial de orégano de 2,76% (p/p) de aceite esencial mediante la extracción por arrastre con vapor. Como se puede evidenciar a través de investigaciones de diferentes años los valores obtenidos están dentro de los parámetros para el rendimiento del aceite esencial de sunfo.

La figura 1 muestra la eficacia del método de arrastre de vapor sobre la extracción del aceite esencial de sunfo. El tiempo con mayor rendimiento es de 150 min, con un rendimiento

porcentual de 1,4893% para el aceite esencial. El rendimiento del aceite esencial puede estar relacionado con las características intrínsecas de la planta.

Figura 1 Interacción de los factores en el rendimiento del aceite esencial de sunfo

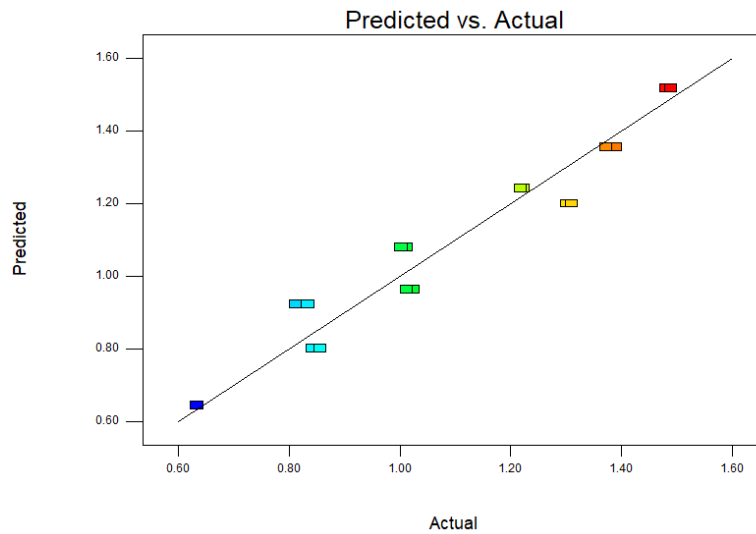


Elaborado por: Autoras (Mena, Salas; 2022)

Se exponen los valores predichos por el modelo matemático y experimentales para el rendimiento del aceite esencial de sunfo, es posible afirmar que los datos del RMA y TIE se ajustan en gran proporción a una distribución normal, en debida forma los puntos experimentales se aproximan a la línea del diseño actual.

En la figura 2 se puede observar el diseño lineal sencillo, con la interacción de los factores cuantitativos evaluados (X_{RMA} y X_{TIE}), es positiva porque se muestra un incremento significativo del rendimiento, desde el nivel bajo hasta el nivel alto, en el momento en que la relación masa disolvente y el tiempo acrecienta, esto quiere decir que la hipótesis alternativa es aceptada. Lo que nos permite tomar acciones y decisiones para mejorar el desempeño del proceso.

Figura 2 Valores experimentales y predichos establecidos por el software para el rendimiento del aceite esencial del sunfo



Elaborado por: Autoras (Mena, Salas; 2022)

10.1.2. Optimización numérica del proceso de extracción del aceite esencial

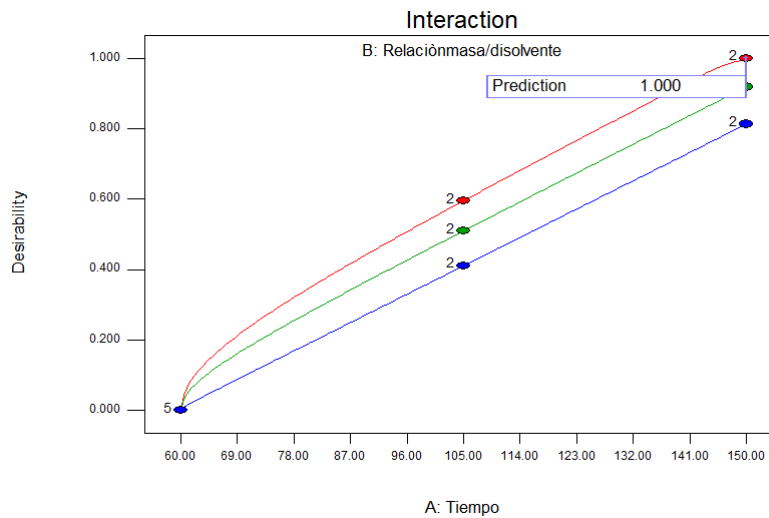
El optimizado fue realizado bajo las variables independientes aplicando sus debidas restricciones con la finalidad de predecir las variables dependientes para obtener valores superiores al del mejor rendimiento. La muestra seleccionada fue la de mayor significancia desde el punto de vista estadístico (Tabla 7).

Tabla 7 Solución optimizada

Parámetro	Unidad	Solución
Tiempo	Min	150,00
Relación masa/solvente	g/L	3
Rendimiento	%	1,5183
Deseabilidad	-	1

Elaborado por: Autoras (Mena, Salas; 2022)

La figura 3 muestra la superficie de respuesta obtenida para la optimización de las variables estudiadas. La condición óptima prevista se obtuvo con un tiempo de extracción de 150 min y una relación masa/solvente de 1:5, con una deseabilidad de 1 siendo el valor ideal. Por lo tanto, a mayor tiempo de extracción y relación masa/solvente se obtendrá cantidades significativas en el rendimiento.

Figura 3 Optimización numérica para el rendimiento

Elaborado por: Autoras (Mena, Salas; 2022).

Mediante la combinación establecida se encontró que el valor experimental (1,5291 %) es relevante que el valor predicho (1,5183 %), se visualiza en la tabla 8.

Tabla 8 Rendimiento de los predichos y experimentalmente.

Parámetro	UM	Valor predicho	Valor experimental
Redimiendo	%	1,5183	1,5291

Elaborado por: Autoras (Mena, Salas; 2022).

En el presente estudio se observó un rendimiento del aceite esencial del *Clinopodium nubigenum* Kunth Kuntze de 1,5291%, siendo menor al de la investigación realizada por Moncayo (2020) al extraer el aceite esencial de *Clinopodium tomentosum* obtuvo un rendimiento de 2.8 % referido a la planta seca. Gómez (2018) que obtuvo 1,56% del aceite esencial de sunfo, considerando el promedio general de rendimiento (<1% y 3%).

El rendimiento de los aceites esenciales de las plantas está ligado a la especie vegetal, edad, lugar de recolección, factores abióticos (luminosidad, temperatura, etc.), tiempo de la recolección y condiciones climáticas a las que la planta está propensa (Torres, et. al, 2018). Los valores obtenidos en esta investigación fueron menores al mencionado, puesto que el sunfo fue recolectado en temporada de lluvia.

Dado que la muestra pierde humedad durante el proceso de transferencia, también se cree que esto depende de las condiciones de cultivo, la humedad del suelo y el momento de la recolección de sunfo.

10.2. Composición del aceite esencial de sunfo, mediante cromatografía de gases acoplado detector espectrómetro de masa.

En la tabla 9 se muestran los resultados de la composición química del aceite esencial de la planta de sunfo, obtenidos por LP-CGM, encontrando 23 compuestos, de los cuales se identificaron 3 compuestos mayoritarios como; pulegona 44,31%, mentona 22,05% y timol 14,39%; en pequeñas cantidades P-cimeno 3,48%, linalool 3,32 %, 1-ogten-3-IL acetato 2,27%, limoneno 1,19%, L-mentona 1,06%, citronelil acetato 0,96%, calareno 0,85%, cis-isopulegona 0,76%, 1,3,8-para-mentatrieno 0,76%, gamma-terpineno 0,76%, piperitenona 0,66%, trans-isopulegona 0,66%, carvacrol 0,65%, delta-cadineno 0,58%, biciclogermacren 0,47%, beta-pineno 0,35%, alfa-pineno 0,28%, iso-spatulenol 0,09%, mint furanona 1 0,06%, spatulenol 0,05%.

Tabla 9 Composición química del aceite esencial de sunfo

Compuesto químico	Unidad	%	Min
Alfa-Pineno	%p/v	0,28	13,143
Beta-Pineno	%p/v	0,35	15,888
Limoneno	%p/v	1,19	18,555
P-Cimeno	%p/v	3,48	19,395
Gamma-Terpineno	%p/v	0,76	20,443
Linalool	%p/v	3,32	22,923
1-Ogten-3-IL Acetato	%p/v	2,27	23,100
L-Mentona	%p/v	1,06	27,510
Mentona	%p/v	22,05	28,366
Trans-Isopulegona	%p/v	0,66	29,425
Cis-Isopulegona	%p/v	0,76	29,425
(+)- Pulegona	%p/v	44,31	32,948
Timol	%p/v	14,39	34,608
Citronelil Acetato	%p/v	0,96	35,049
Carvacrol	%p/v	0,65	35,163
1,3,8-Para-Mentatrieno	%p/v	0,76	35,937
Calareno	%p/v	0,85	38,360
Piperitenona	%p/v	0,66	39,024
Biciclogermacreno	%p/v	0,47	41,924
Delta-Cadineno	%p/v	0,58	42,713
Spatulenol	%p/v	0,05	46,926
Mint Furanona 1	%p/v	0,06	47,943
Iso-Spatulenol	%p/v	0,09	49,422
Total	%p/v	100	

Elaborado por: (Laboratorio Cientific Crom; 2022) y Autoras (Mena, Salas; 2022).

Según Torossi (2021) la pulegona es un compuesto monoterpeno oxigenado alicíclico orgánico transparente e incoloro, de un olor agradable; de mayor valor sintético o comercial y permite que los aceites esenciales sean utilizados por la industria alimentaria como antimicrobiano.

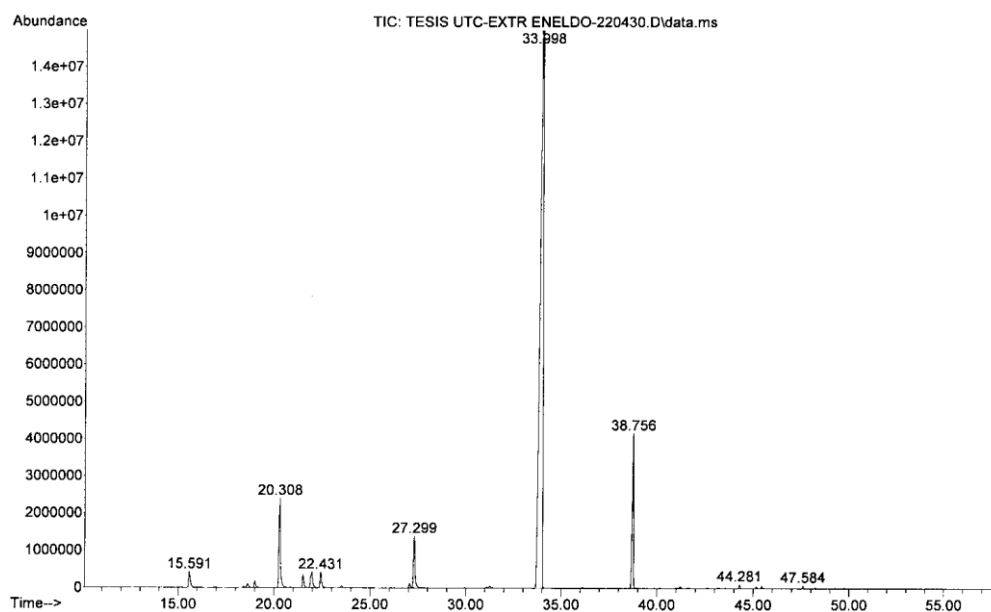
Su toxicidad es conocida desde tiempos remotos, hace alusión al poder insecticida y repelente. De igual forma, a sus posibles efectos con partos prematuros y abortos son muy conocidos por la medicina popular local (Abalco, 2020). El mentona es un compuesto monoterpeno de aroma peculiar, que se encuentra de manera natural junto con el mentol en muchos aceites esenciales.

Erazo (2017) menciona que timol es un monoterpeno (2-isopropil-5-metil-fenol), es una sustancia cristalina incolora de un olor característico que está presente en la naturaleza en los aceites esenciales. Con gran potencial desinfectante, antioxidante y antimicrobiano (Erazo, et. al, 2017).

Estos componentes mencionados son considerados aditivos aromatizantes, saborizantes naturales, es decir, mezclas de sustancias naturales con propiedades odoríferas y/o sápidas, capaces de conferir o intensificar el aroma y/o el sabor de los alimentos (Torossi, 2021).

En la figura 4 se evidencia la composición química de los compuestos presentes en el aceite esencial del sunfo (*Clinopodium nubigenum* Kunth Kuntze), apreciando una composición variada en cada pico, destacándose la pulegona, mentona y timol en el cromatograma obtenido por GC-MS, donde se representa la relación entre abundancia y los tiempos de retención de los compuestos químicos, mientras más grande sea la arista tendrá mayor cantidad la sustancia.

Figura 4 Cromatograma del aceite esencial de Sunfo



Elaborado por: Autoras (Mena, Salas; 2022).

Se visualiza los resultados obtenidos en el análisis cromatográfico, las aristas representan el tiempo de retención que muestra la mezcla y compartición entre compuestos, elevando la calidad del aceite, se evidenciaron en los rendimientos, en el cual se dio a notar que el mayor tiempo posee el Iso-Spatulenol con 49,422 min y como mínimo el Alfa-Pineno 13,143 min.

En la composición química del aceite esencial obtenido por cromatografía de gases con la sensibilidad y capacidad selectiva del detector de masas, se encontró 23 compuestos, de los cuales se identificaron 3 compuestos mayoritarios siendo la pulegona (44,31%), mentona (22,05%) y timol (14,39%), lo cual coincide con la investigación realizada por Osorio (2018) en la identificación de los compuestos del aceite esencial de sunfo fue acetato de carvacrol, carvacrol (20,6%), pulegona (6,3%) y timol (5,5%); la diferencia de concentración de los compuestos químicos debe estar relacionado con el hábitat y las condiciones en las que se trabajó la planta.

Guerra (2016) detectó 55 compuestos en *Clinopodium nubigenum*, de ellos identificó 45, siendo los compuestos mayoritarios el acetato de carvacrol (42, 17%), carvacrol (20,66%), pulegona (6,3%) timol (5,54%) y p-cimeno (5,2%).

10.3. Capacidad antioxidante del aceite esencial de sunfo mediante el procedimiento de FRAP y ABTS

En la tabla 10 se evidencia un elevado contenido de fenoles totales presentes en el aceite esencial, los resultados obtenidos en la evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial del sunfo fue a través de la técnica de FRAP (Ferric ion reducing antioxidant Power) 190,54 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ y ABTS (Ácido 2,2 –azinobis (3etilbenzotiazolin) 6sulfónico) 289,84 $\mu\text{mol ET}/\text{g}$.

Tabla 10 Análisis de captación de radicales libres

Ensayo	Unidades	Resultado
ABTS	$\mu\text{mol ET}/\text{g}$	289,84
FRAP	$\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$	190,54

Elaborado por: Autoras (Mena, Salas; 2022).

Boom, et. al, (2018) realizo la evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial de eucaliptos, en la cual obtuvo 600-2500 mg/L para FRAP, siendo superior al valor obtenido en el aceite esencial del *Clinopodium nubigenum Kunth Kuntze*. Fernández y Reascos (2022)

mediante ensayos FRAP y ABTS determinaron $37,67 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ en el ensayo FRAP y en el ensayo ABTS presenta un valor de $46,46 \mu\text{mol ET/g}$ en el aceite esencial de ruda

10.4. Evaluación de la capacidad antimicrobiana del aceite esencial de sunfo

En la tabla 11 se exponen los resultados de la capacidad antimicrobiana del aceite esencial de sunfo, se encontró un intervalo de 0,5 a 2%, conforme a la experimentación se puede establecer el orden de efectividad en la concentración mínima inhibitoria: *Escherichia coli* ATCC 25922 = *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 39327 > *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 > *Salmonella enterica*. El microorganismo *Salmonella enterica* mostró mayor resistencia en la CMI con 2%.

Tabla 11 Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de sunfo

Microorganismo	Aceite esencial (mg/L)
<i>Salmonella enterica</i>	2,0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1,0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 39327	0,5

Elaborado por: Autoras (Mena, Salas; 2022).

Moncayo (2020) muestra que el aceite esencial de sunfo tiene un potencial medicinal prometedor que exhibe una actividad antibacteriana significativa en diferentes concentraciones contra *Staphylococcus aureus* (2,5% v/v), *Streptococcus pyogenes* (0,6% v/v), *Streptococcus pneumoniae* (0,6% v/v) y *Streptococcus mutans* (0,6% v/v), lo que sugiere una interesante alternativa natural en la lucha contra las bacterias que generan resistencia a otros antibióticos.

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

11.1. Técnicos

Con la investigación realizada del aceite esencial del sunfo, se da a conocer sus compuestos bioactivos, los mismos que servirán como juicio de valor para posteriores investigaciones que buscan sustituir los aditivos sintéticos por naturales en la elaboración de productos funcionales, definiendo las condiciones óptimas de la extracción del aceite esencial, las características químicas, capacidad antioxidante reductora de hierro y actividad antimicrobiana del aceite. Siendo rentable para la industria por su bajo costo de producción.

11.2. Sociales

El uso del sunfo como materia prima para la producción de aceite esencial, incentivara el interés de las personas a cultivar la planta, facilitando a la industria para el aprovechamiento de la planta con la finalidad de innovar los productos para satisfacer las necesidades de la sociedad

11.3. Ambientales

La producción del aceite esencial por arrastre de vapor, no genera muchos desechos tóxicos para el ambiente, siendo la mayor parte residuos naturales que se desintegran con facilidad. Es una alternativa para reemplazar los productos químicos por unos naturales que son amigables con el medio ambiente.

11.4. Económicos

La obtención del aceite es rentable le ayudará a la industria a minimizar los costos de producción, a su vez se generará fuentes de empleo en los sectores rurales, promoviendo la economía del país.

12. PRESUPUESTO

Tabla 12 Presupuesto de la investigación

Cantidad	Recursos	PRESUPUESTO PARA LA ELABORACIÓN DEL PROYECTO		
		H. uso	Valor Unitario \$	Depreciación de 120 días
Equipos				
1	Cromatógrafo de gases con espectrometría de masas (GC-MS) en un equipo Agilent Technologies 5975 inert XL MSD with Triple-Axis Detector	5	20,00	100,00
1	Espectrofotómetro GENESYS 20 Modelo 4001/4j	6	10,00	60,00
1	Incubador Biocell modelos M345	50	1,00	50,00
1	Extractor por arrastre de vapor (Lanphan Ltd., China)	25	8,00	200,00
1	Balanza Analítica (0,0001g)	4	5,00	20,00
				430,0
Cantidad	Descripción	Unidad	Valor Unitario \$	Valor Total \$
Materiales				
10	Tubos de ensayo 10 mL	U	1,00	10,00
5	Balones aforados vidrio 5 mL	U	5,00	25,00
5	Balones aforados 10 MI	U	4,00	20,00
5	Matraz con trampa de Clevenger	U	3,00	15,00
1	Micropipeta Microlit 100-1000 µl volumen variable	U	88,00	88,00
5	Pipeta volumétrica de vidrio 10 MI	U	3,00	15,00
1	Piseta plástica 500ml	U	2,55	2,55
1	Punta Microlit 1000 µl paquete	U	20,00	20,00
1	Varilla de agitación	U	1,60	1,60
5	Vasos de precipitación (250mL)	U	2,80	14,00
15	Cajas Petri	U	1,20	18,00
2	Gradilla plástica	U	1,25	2,50
1	Pinzas	U	4,50	4,50
1	Papel aluminio	U	2,50	2,50
1	Limpión industrial	M	3,15	3,15
2	Alcohol antiséptico	L	3,30	6,60
				248,40
Reactivos				

11	Agua destilada	L	0,90	9,90
5	Cloruro Férrico	g	1	5,0
5	Acetato de sodio	g	1	5,0
1	Ácido acético	U	50	50,0
1	Reactivo TPTZ	g	20	20,0
2	Sal de Mohr	g	11	22,0
100	Ácido clorhídrico	ml	0,12	12,0
5	Carbonato de sodio	g	0,52	2,60
3	Folling	g	5,20	15,60
1	Ácido gálico	g	28	28,0
3	Etanol 99.8%	L	4	12,0
4	Sulfato de sodio	g	0,51	2,04
1	Trolox de grado analítico	g	151	151,0
				357,14
	Material Bibliográfico y fotocopias			
4	Esferos.	U	0,30	1,20
340	Impresiones.	U	0,05	17,00
3	Anillado	U	1,00	3,00
100	Computadora	U	1,1872	118,72
				139,92
	Gastos varios			
650	Internet	Horas	0,10	65,00
36	Trasporte	Días	3,10	111,60
36	Alimentación	Días	2,50	90,00
				266,60
	Materia prima			
10	Sunfo	Kg	3	30
				30,0
TOTAL				1,472.06

Elaborado por: Autoras (Mena, Salas; 2022).

13. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

13.1. Conclusiones

- A través de un modelo matemático se determinó el mejor proceso optimizado de extracción del aceite esencial, teniendo como factores un tiempo de 150 min y 1:5 g/L de la relación masa/ solvente, en el predicho se obtuvo un rendimiento de 1,5183%, se comprobó el proceso de optimización numérica, mediante una comparación con el valor conseguido experimentalmente (1,5291 %). El valor obtenido por medio de la experimentación fue superior al resultado de la optimización numérica.
- Se determino los compuestos volátiles del aceite esencial del *Clinopodium nubigenum Kunth Kuntze* mediante el método de cromatografía de gases con la sensibilidad y capacidad selectiva del detector de masas, se encontró 23 compuestos, de los cuales se identificaron 3 compuestos mayoritarios siendo la pulegona (44,31%), mentona (22,05%) y timol (14,39%), en comparación con los 20 compuestos presentes en el sunfo.
- La capacidad antioxidante del aceite esencial de sunfo fue evaluada mediante el procedimiento de FRAP y ABTS; en el cual se obtuvo $190,54 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ en FRAP (Ferric ion reducing antioxidant Power) y $289,84 \mu\text{mol ET} / \text{g}$ ABTS (Ácido 2,2 – azinobis (3etilbenzotiazolin) 6sulfónico). Estos valores manifiestan que el aceite esencial tiene una buena propiedad para eliminar o prevenir la oxidación de células,
- La capacidad antimicrobiana del aceite esencial de sunfo fue establecida por medio de la metodología de concentración mínima inhibitoria, frente a diferentes microorganismos como el *Escherichia coli* ATCC 25922 = *Pseudomonas aeruginosa* ATTC 39327 > *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 > *Salmonella entérica*.

13.2. Recomendaciones

- Evitar la utilización de solventes orgánicos para la destilación, puesto que el producto conseguido por este método puede poseer cantidades de trazas de solventes, los cuales son difíciles de separar.
- Los aceites deben ser envasados en frascos ámbar de vidrio, protegidos de la luz, alejados de fuente de calor y rotulados de manera legible para evitar confusiones. Los aceites esenciales son frágiles y pueden alterarse si se conservan de manera inadecuada.
- Investigar la toxicidad del aceite esencial de sunfo, que permitan corroborar si el aceite puede ser aplicado en la Agroindustria.

14. REFERENCIAS

- Abalco, T. (2020). *Caracterización fitoquímica del aceite esencial de orégano (O. vulgare L.) por cromatografía de gases procedente de dos provincias del Ecuador. [Titulación - Química de Alimentos; Universidad Central del Ecuador]*. Repositorio institucional. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/20545>
- Amaya, P., & Sandoval, J. (2020). *Evaluación de la obtención y uso del aceite esencial de eucalipto (eucalyptus globulus) como fungicida. [Trabajos de grado-Ingeniería química; Universidad de América]*. Repositorio institucional. Obtenido de <https://hdl.handle.net/20.500.11839/8101>
- Arango, O., Bolaños, F., Oscar, V., Hurtado, A., & Toro, I. (2012). Optimización del rendimiento y contenido de timol de aceite esencial de orégano silvestre obtenido por arrastre con vapor. *Scielo*, 10(2). Obtenido de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612012000200025#:~:text=Con%20la%20extracci%C3%B3n%20por%20arrastre,%20de%20aceite%20esencial.
- Argote, F., Suarez, Z., Tobar, M., Pérez, J., Hurtado, A., & Delgado, J. (2017). Evaluación de la capacidad inhibitoria de aceites esenciales en Staphylococcus aureus Y Escherichia coli. *Scielo*, 15(2), 52-60. doi:[https://doi.org/10.18684/bsaa\(v15\)edición especialn2.578](https://doi.org/10.18684/bsaa(v15)edición especialn2.578)
- Asun, A. (2019). *Elaboración de un manual de protocolos de técnicas de laboratorio estandarizadas para la evaluación de la susceptibilidad a los antibióticos en bacterias aisladas desde animales productores de alimentos. [Tesis-Médico Veterinario; Universidad de Chile]*. Repositorio institucional. Obtenido de <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/182829>
- Bernácer, R. (2022). *Antioxidantes*. Obtenido de Webconsultas: <https://www.webconsultas.com/dieta-y-nutricion/nutrientes/antioxidantes-3971>

- Boom, E., Orozco, J., Alean, J., & Rojano, B. (2018). Evaluación de la Actividad Antioxidante de Aceites Esenciales de Eucaliptos Cultivados en Colombia. *Scielo*, 29(6), 57-66. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642018000600057>
- Boom, E., Orozco, J., Jader, A., & Rojano, B. (2018). Evaluación de la Actividad Antioxidante de Aceites Esenciales de Eucaliptos Cultivados en Colombia. *Scielo*, 29(6), 57-66. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642018000600057>
- Bravo, R., & Zavala, M. (2020). *Propuesta para la producción y comercialización de una bebida no alcohólica mediante el aprovechamiento de la pomarrosa Syzygium jambos y Sunfo Syzygium y jambos. [Tesis - Licenciatura en Gastronomía; Universidad de Guayaquil]*. Repositorio institucional. Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/51352>
- Briones, H., & Guerrero, D. (2019). Extracción de aceites esenciales de mandarina (citrus reticulata) y palo santo (Bursera Graveolens) por el método de arrastre de vapor. *Ingeniar*, 2(3), 14-23. doi:<https://doi.org/10.46296/ig.v2i3.0007>
- Cadena, P., Rendón, R., Aguilar, J., Salinas, E., de la Cruz, F., & Sangerman, D. (2017). Métodos cuantitativos, métodos cualitativos o su combinación en la investigación: un acercamiento en las ciencias sociales. *Scielo*, 8(7), 1603-1617. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342017000701603
- Carhuallanqui, A., Salazar, M., & Ramos, D. (2020). Efecto antimicrobiano del aceite esencial de Orégano frente a *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*. *Scielo*, 22(1), 25-33. doi:<http://dx.doi.org/10.18271/ria.2020.530>
- Castillo, C. (2020). Extracción de aceites esenciales de los residuos de las cáscaras de naranja (*Citrus sinensis* L.), mandarina (*Citrus reticulata*) y limón (*Citrus aurantifolia* Swingle) para su uso como aditivo en la elaboración de un jabón artesanal. *[Trabajo de titulación-*

- Carrera de ingeniería agroindustrial; Universidad Católica de Santiago de Guayaquil*]. Repositorio institucional. Obtenido de <http://repositorio.ucsg.edu.ec/handle/3317/15263>
- Castillo, D. (2020). *Caracterización de los compuestos bioactivos del sunfo (clinopodium nubigenum), con propósitos agroindustriales.[Tesis-Ingeniería agroindustrial y de alimentos; UDLA]*. Repositorio institucional. Obtenido de <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/12187>
- Castro, E., Chávez, S., Auquiñivín, E., Fernández, A., Acha, O., Rodríguez, N., . . . Sepúlveda, D. (2019). Aceites esenciales de plantas nativas del Perú: Efecto del lugar de cultivo en las características fisicoquímicas y actividad antioxidante. *Scielo*, 10(4), 479-487. doi:<http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.04.04>
- Castro, E., Chávez, S., Auquiñivín, E., Fernández, A., Acha, O., Rodríguez, N., . . . Sepúlveda, D. (2019). Aceites esenciales de plantas nativas del Perú: Efecto del lugar de cultivo en las características fisicoquímicas y actividad antioxidante. *Scielo*, 10(4), 479-487. doi:<http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.04.04>
- Chacha, C. (2019). *Aprovechamiento agroindustrial de la planta de sunfo (clinopodium nubigenum kunth-kuntze), para la elaboración de una tisana aromática.[Tesis - Ingeniería Agroindustrial; UNACH]*. Repositorio. Obtenido de <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/6152>
- Coral, P. (2018). *Diseño de una planta para la elaboración de un deshidratado para infusiones de Sunfo Clinopodium nubigenum (Kunth) Kuntze [Tesis Agroindustrial (IAGRO); Escuela Politécnica Nacional]*. Repositorio institucional. Obtenido de <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/19876>
- D'Armas, H., Montesinos, K., Jaramillo, C., & León, R. (2017). Composición química de los aceites esenciales de las hojas de ocho plantas medicinales cultivadas en Ecuador.

- Cubana de plantas medicinales*, 22(2). Obtenido de <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/428/282>
- Erazo, M. (2017). *Efecto antimicrobiano del timol sobre cepas de estreptococos mutans: estudio in vitro. [Titulación - Odontología; Universidad Central del Ecuador].* Repositorio institucional. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/8270>
- Erazo, M., Arroyo, F., Arroyo, D., Castro, M., Santacruz, S., & Armas, A. (2017). Efecto antimicrobiano del cinamaldehído, timol, eugenol y quitosano sobre cepas de *Streptococcus mutans*. *Scielo*, 54(4), 1-9. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0034-75072017000400005&script=sci_arttext&tlng=pt
- Fernández, L., & Reascos, L. (2022). *Extracción de aceite esencial de Ruda (ruta graveolens) mediante la metodología de arrastre de vapor. [Tesis - Ingeniería Agroindustrial; Universidad Técnica de Cotopaxi].* Repositorio institucional.
- Fukalova, T., & Abalco, T. (2020). *Caracterización fitoquímica del aceite esencial de orégano (O. vulgare L.) por cromatografía de gases procedente de dos provincias del Ecuador. [Titulación-Química de alimentos; Universidad Central del Ecuador].* Repositorio institucional. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/20545>
- Galvez, L., Alvarez, M., Alcázar, O., Mayta, F., Lozano, F., Cordova, E., & Revoredo, R. (2021). Actividad antioxidante del gel a base de extracto de *Origanum vulgare* ¿Importante para la salud bucal? Estudio preliminar. *Scielo*, 31(1), 6-16. doi:<http://dx.doi.org/10.20453/reh.v31i1.3921>
- García, L., López, F., Moreno, G., & Ortigosa, C. (2018). El método experimental profesional en el proceso de enseñanza–aprendizaje de la Química General para los estudiantes de

- la carrera de ingeniería mecánica. *Scielo*, 30(2), 328-345. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-54212018000200013
- Ginocchio, G., & Pérez, R. (2019). *Efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de clinopodium nubigenum (kunth) kuntze (pachachamcua) sobre cepas de streptococcus pyogenes ATCC 19615. [Tesis-Químico Farmacéutico y Bioquímico; Universidad Inca Garcilaso de la Vega]*. Repositorio institucional. Obtenido de <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/4291>
- Gómez, E. (2018). *Sensibilidad microbiana y poder insecticida de los aceites esenciales de clinopodium nubigenum y ambrosia arborescens. [Tesis-Ingeniería en Biotecnología; Universidad Técnica del Norte]*. Repositorio institucional. Obtenido de <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/8457>
- Guerra , P. (2016). *Evaluación de la actividad antioxidante Bioautográfica de dos variedades de aceites esenciales andinos Clinopodium nubigenum (Kunt) Kuntze y Baccharis latifolia (Ruiz & Pav.) Pers. [Tesis-Biotecnología; Universidad Politécnica Salesiana]*. Repositorio institucional. Obtenido de https://core.ac.uk/display/84693356?source=1&algorithmId=15&similarToDoc=275625308&similarToDocKey=CORE&recSetID=85cba8d2-b4b1-4763-81f1-245fa682d48b&position=5&recommendation_type=same_repo&otherRecs=323347200,14007940,84697990,365290623,84693356
- Guevara, G., Verdesoto, A., & Castro, N. (2020). Metodologías de investigación educativa (descriptivas, experimentales, participativas, y de investigación-acción). *Recimundo*, 4(3), 163-173. doi:10.26820/recimundo/4.(3).julio.2020.163-173
- Guevara, G., Verdesoto, A., & Castro, N. (2020). Metodologías de investigación educativa (descriptivas, experimentales, participativas, y de investigación-acción). *Recimundo*, 4(3), 163-173. Obtenido de <https://recimundo.com/index.php/es/article/view/860>

- Illescas, A., & Lovato, C. (2020). *Estudio del Perfil Fitoquímico y posibles aplicaciones de los extractos alcohólicos, etéreo y acuoso del Sunfo (clinopodium nubigenum (kunth) kuntze)*[Tesis - Ingeniería Agroindustrial;Universidad Técnica de Cotopaxi]. Repositorio institucional. Obtenido de <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/6998>
- Jami, G., & Jaramillo, L. (2019). *Quimio-biodiversidad de aceites esenciales producidos de variedades híbridas provenientes de diferentes tipos de rosas. [Tesis-ingeniería en biotecnología de los recursos naturales; Universidad Politécnica Salesiana]*. Repositorio institucional. Obtenido de <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/17575>
- León, D. (2022). *Análisis de la capacidad antioxidante de los extractos de microalgas Nannochloropsis oculata y posible Hapalosiphon sp. obtenidos de biomasa fresca vs liofilizada. [Tesis de pregrado; Universidad de Cuenca]*. Repositorio institucional. Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/38752>
- Logroño, P., & Lozano, J. (2019). *Estudio de diversidad química cualitativa y cuantitativa de aceites esenciales provenientes de diferentes variedades de rosas híbridas de té.[Tesis; Universidad Politécnica Salesiana]*. Repositorio institucional. Obtenido de <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/17406>
- López, A. (2017). *Efecto de diferentes métodos de cocción en el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante en brócoli (Brassica oleracea var. Italica) y coliflor (Brassica oleracea var. Botrytis). [Tesis-Maestría en Ciencias en Nutrición; UANL]*. Repositorio institucional. Obtenido de <http://eprints.uanl.mx/id/eprint/14352>
- López, A., Benítez, X., Leon, M., Maji, P., Dominguez, D., & Baez, D. (2019). La observación. Primer eslabón del método clínico. *Scielo*, 21(2). Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1817-59962019000200014

- Moncada, J., & Morales, A. (2017). Plantas Útiles del Bosque de Chilmá Bajo, Provincia del Carchi, Ecuador. *Dialnet*, 15(3), 41-53. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6237985>
- Moncayo, A. (2020). *Caracterización de metabolitos secundarios de naturaleza esteroidea presentes en el aceite esencial y extractos etanólico y clorofórmico de la especie Clinopodium tomentosum (Kunth) Govaerts (Lamiaceae). [Grado-Ingeniería en biotecnología; UPS]*. Repositorio institucional. Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/18437>
- Montero, M. (2021). *Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de Ruta graveolens (Ruda) sobre Staphylococcus aureus subesp aureus ATCCR 25904. [Tesis - Maestría en Ciencias Veterinarias; Universidad Técnica de Cotopaxi]*. Repositorio institucional. Obtenido de <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/7623>
- Montero, M., Revelo, J., Avilés, D., Valle, E., & Guevara, D. (2017). Efecto Antimicrobiano del Aceite Esencial de Canela (*Cinnamomum zeylanicum*) sobre Cepas de Salmonella. *Scielo*, 28(4), 987-993. doi:<http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v28i4.13890>
- Morocco, S. (2017). *Caracterización micro-histológico, físico y químico del aceite esencial de las hojas de matico (Piper aduncum), extraído por arrastre de vapor en un equipo modular. [Tesis- Ingeniería química; Universidad Nacional del Altiplano- Puno]*. Repositorio institucional. Obtenido de <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/5334>
- Noriega, P., Mosquera, T., Osorio, E., Guerra, P., & Fonseca, A. (2018). Aceite esencial de *Clinopodium Nubigenum (Kunth) Kuntze*: composición química, actividad antioxidante y prueba antimicrobiana contra patógenos respiratorios. *Academic journals*, 10(9), 149-157. doi:10.5897/JPP2017.0467

- Osorio, E. (2018). Clinopodium Nubigenum (Kunth) Kuntze Essential Oil: Chemical Composition, Antioxidant Activity, and Antimicrobial Test Against Respiratory Pathogens. *UPS*, *10*(9), 149-157. Obtenido de <https://pure.ups.edu.ec/es/publications/clinopodium-nubigenum-kunth-kuntze-essential-oil-chemical-composi>
- Palacios, L. (2018). *Determinación de la capacidad antioxidante de bayas y frutos del bosque. [Grado en química analítica; Universidad de Jaén]*. Repositorio institucional. Obtenido de <https://hdl.handle.net/10953.1/6515>
- Pantoja, A., Hurtado, A., & Martinez, H. (2017). Evaluación del Rendimiento, Composición y Actividad Antioxidante de Aceite de Semillas de Mora (*Rubus glaucus*) Extraído con CO₂ Supercrítico. *Scielo*, *28*(1), 35-46. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642017000100005>.
- Ponce, G. (2019). *Composición química por cromatografía a gases y actividad antibacteriana del aceite esencial de Salvia sagittata Ruiz & Pav frente a la Escherichia coli y Staphylococcus aureus. [Tesis-Ingeniería agroindustrial; Universidad Nacional del Centro del Perú]*. Repositorio institucional. Obtenido de <http://hdl.handle.net/20.500.12894/5968>
- Poveda, T., & Rivera, D. (2021). Estudio de bebidas y plantas ancestrales para la elaboración de un menú gastronómico con productos tradicionales del ecuador. Caso de estudio: planta ayahuasca (*Banisteriopsis Caapi*). *Scielo*, *13*(3), 444-453. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2218-36202021000300444
- Rioja, A., Vizaluque, B., Aliaga, E., Tejada, L., Book, O., Mollinedo, P., & Peñarrieta, M. (2018). Determinación de la capacidad antioxidante total, fenoles totales, y la actividad enzimática de una bebida no láctea en base a granos de chenopodium quinoa. *Redalyc*,

- 35(5), 168-176. Obtenido de <https://www.redalyc.org/journal/4263/426358213006/html/>
- Ruiz, J. (2019). *Ingeniería básica de una planta de extracción de aceite esencial de "Mentha arvensis L." por destilación de arrastre con vapor. [Tesis-ingeniería química; Universidad de Sevilla]*. Repositorio institucional. Obtenido de <https://hdl.handle.net/11441/94165>
- Sánchez, F. (2019). Fundamentos epistémicos de la investigación cualitativa y cuantitativa: Consensos y disensos. *Scielo*, 13(1), 102-122. doi:<http://dx.doi.org/10.19083/ridu.2019.644>
- Sarmiento, J., & Romero, S. (2017). *Validación de la técnica de dilución en agar modificada; para la estimación in vitro de la actividad antimicrobiana frente a una cepa ATCC de Escherichia coli y su aplicación a 3 aceites esenciales. [Tesis-Bioquímico farmacéutico; Universidad de Cuenca]*. Repositorio institucional. Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/28790>
- Sevillano, R., Siche, R., Castillo, W., & Silva, E. (2019). Optimización de la extracción por arrastre de vapor de aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) utilizando diseños secuenciales. *Manglar*, 16(1), 53-61. doi:10.17268/manglar.2019.008
- Siancas, J. (2021). *Determinación de la presión de vacío óptima para mejorar el rendimiento y la calidad del aceite esencial de limón sutil (Citrus aurantifolia) obtenido por hidrodestilación. [Tesis; Universidad Nacional de Piura]*. Repositorio institucional. Obtenido de <http://repositorio.unp.edu.pe/handle/20.500.12676/2821>
- Torossi, F. (2021). *Reacciones destinadas a disminuir el contenido de (R)-(+)-Pulegona en aceites esenciales de menta de uso alimenticio. [Tesis-Maestría; Universidad Nacional de Educación a Distancia]*. Repositorio institucional. Obtenido de <http://e-spacio.uned.es/fez/view/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ-Fdtorossi>

- Torres, G., Sarmiento, O., Ramírez, R., & Guevara, O. (2018). Evaluación del rendimiento del aceite esencial de caléndula (*Calendula officinalis* L) obtenido por OAHD. *ION*, 31(1), 13-19. doi:<https://doi.org/10.18273/revion.v31n1-2018002>
- Tovar, V. (2018). *Actividad antibacteriana y antioxidante del aceite esencial extraído del tronco y corteza de la especie Handroanthus chrysanthus (Guayacán)*. [Titulación - Química farmacéutica; Universidad Central de Ecuador]. Repositorio institucional. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/15263>
- Vega, R. (2019). *Actividad antimicrobiana de aceites esenciales obtenidos por dos métodos de extracción diferentes de tres especies vegetales medicinales peruanas frente a Streptococcus pneumoniae*[Tesis CIE-BI; Universidad Nacional Agraria la Molina]. Repositorio institucional. Obtenido de <https://hdl.handle.net/20.500.12996/4306>
- Villada, T. (2019). *Producción de aceites esenciales aromáticos de lavandas en el Valle Calchaquí*. [Tesina- Licenciatura en administración agropecuaria Universidad Católica de Salta]. Repositorio institucional. Obtenido de http://bibliotecas.ucasal.edu.ar/opac_css/index.php?lvl=cmspage&pageid=24&id_noti ce=66255

15. ANEXOS

Anexo 1

Datos informativos del tutor

DATOS PERSONALES

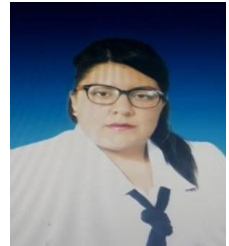
CÉDULA DE CIUDADANÍA	:	0502645435
FECHA DE NACIMIENTO	:	15/10/1984
ESTADO CIVIL	:	Casado
CIUDAD	:	Latacunga
DOMICILIO	:	La Merced, Quijano y Ordoñez y Juan Abel Echeverría 7-60
TELÉFONO	:	(03)2802455 / 0999084592
LUGAR/OCUPACIÓN ACTUAL	:	DOCENTE UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
TELÉFONO	:	0322253162
CORREO ELECTRÓNICO	:	rojas_orlando1984@hotmail.com



Anexo 2 Datos de la estudiante Gabriela Mena

DATOS PERSONALES

Nombres: Gabriela Katherine
 Apellidos: Mena Ayala
 Fecha de Nacimiento: 09 de agosto de 1998
 Cedula de identidad: 050404952-9
 Estado Civil: Soltera
 Dirección: Latacunga, parroquia 11 de noviembre, BarrioSan Gerardo, vía a Poalo
 Teléfono Móvil: 0981376843 / 0990490190
 E-mail: gabriela.mena9529@utc.edu.ec
 Lugar de Nacimiento: Cotopaxi, Latacunga, La Matriz



EXPERIENCIA LABORAL

Primaria Unidad Educativa Jaime Andrade Fabara Latacunga- Cotopaxi
 Secundaria: Unidad Educativa Primero de Abril Graduada como Bachiller en Ciencias
 Superior Universidad Técnica de Cotopaxi - Ingeniería Agroindustrial

EXPERIENCIA LABORAL

- Vinculación con la comunidad: La victoria GAD parroquial
 Área: Alimentos – agricultura
 Duración: 3 meses
- Práctica Preprofesional: Empresa Healthy Leben
 Área: Producción- Seguridad alimentaria
 Duración 3 meses
- Práctica Preprofesional: La Americana
 Área: Producción - Seguridad alimentaria
 Duración: 2 meses
- Practica preprofesional: La Madrileña
 Área: Producción
 Duración: 2 meses

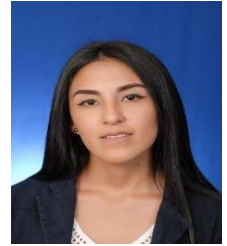
CURSOS REALIZADOS

- Primer Seminario Internacional de Agroindustria: Seguridad Alimentaria Innovación de Calidad.
- Gestión de la agroindustria-UTC como eje de desarrollo en la industria agroalimentaria.
- 1er. congreso internacional de innovación y emprendimiento en tiempos de pandemia y post pandemia
- II Jornadas en Línea de Difusión de Investigación Agroindustrial Modalidad: virtual
- II seminario en línea “gestión de la agroindustria-utc como eje de desarrollo en la industria agroalimentaria
- Seminario Taller de Sensores Fitosanitarios de mosca de la fruta Modalidad: virtual
- Seminario principios bioactivos de plantas en la industria agroalimentaria Modalidad: virtual
- La industria de los super alimentos
- I seminario nacional de innovación y emprendimiento en tiempos de pandemia y post pandemia
 “emprender con éxito

Anexo 3 Datos de la estudiante Estefany Salas

DATOS PERSONALES

Nombres: Estefany Mishell
 Apellidos: Salas Vásconez
 Fecha de Nacimiento: 30 de mayo de 1996
 Cedula de identidad: 0550015069
 Estado Civil: Soltera
 Dirección: Latacunga, calle hermanas Paez y Quito
 Teléfono Móvil: 0962985605
 E-mail: estefany.salas5069@utc.edu.ec
 Lugar de Nacimiento: Cotopaxi, Latacunga, La Matriz



EXPERIENCIA LABORAL

Primaria Unidad Educativa la Inmaculada Latacunga- Cotopaxi
 Secundaria: Unidad Educativa particular Sagrado corazón de Jesús Bachiller en
 Químico Biólogo
 Superior Universidad Técnica de Cotopaxi - Ingeniería Agroindustrial

EXPERIENCIA LABORAL

- Vinculación con la comunidad: La victoria GAD parroquial
 Área: Alimentos – agricultura
 Duración: 3 meses
- Práctica Pre-profesional: Empresa Healthy Leben
 Área: Producción- Seguridad alimentaria
 Duración: 3 meses

CURSOS REALIZADOS

- Gestión de la agroindustria-UTC como eje de desarrollo en la industria agroalimentaria"
- 1er. Congreso internacional de innovación y emprendimiento en tiempos de pandemia y post pandemia
- Idioma: Suficiencia en inglés
- Seminario Taller de Sensores Fitosanitarios de mosca de la fruta
- Seminario principios bioactivos de plantas en la industria agroalimentaria
- I seminario nacional de innovación y emprendimiento en tiempos de pandemia y post pandemia " emprender con éxito

Anexo 4 Fotografías

Recolección de la planta de sunfo



Selección de la materia prima



Extracción del aceite esencial de sunfo por el método de arrastre de vapor



Actividad antimicrobiana del aceite esencial de sunfo



Elaborado por: Autoras (Mena, Salas; 2022)

Anexo 5 *Aval del Traductor*