

UNIVERSIDAD PERUANA LOS ANDES
Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica



TESIS

- Título** : **EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO DE POLIFENOLES DE HUACATAY (*Tagetes minuta L.*) Y SU CAPACIDAD ANTIOXIDANTE, HUAYUCACHI, 2022**
- Para Optar** : **El Título profesional de Químico Farmacéutico**
- Autoras** : **Bachiller Catelin Esther Javier Orihuela**
Bachiller Yhassmin Carhuamaca Garcia
- Asesora** : **Dra. Mirtha Huaranga Sanchez Isabel**
- Línea de investigación** : **Salud y Gestión de la Salud**
- Fecha de inicio y culminación de la investigación** : **Octubre 2022 a setiembre 2023**

Huancayo – Perú 2023

DEDICATORIA

Primeramente, al Señor por brindarnos salud y orientarnos en nuestro camino, así como a nuestros padres y hermanos por señalarnos el sendero hacia el crecimiento personal y profesional, y por su respaldo tanto emocional como en el económico.

Las autoras

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a Dios por cuidarnos a lo largo de nuestro viaje y darnos la fortaleza para enfrentar y superar los desafíos y contratiempos que hemos encontrado en nuestro camino.

Además expresamos nuestro agradecimiento a los profesores de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Peruana los Andes, cuya sabiduría y compromiso han sido fundamentales en nuestra preparación profesional.

Las autoras

CONSTANCIA DE SIMILITUD

N° 00149-FCS -2024

La Oficina de Propiedad Intelectual y Publicaciones, hace constar mediante la presente, que la **Tesis** Titulada:

EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO DE POLIFENOLES DE HUACATAY (Tagetes minuta L.) Y SU CAPACIDAD ANTIOXIDANTE, HUAYUCACHI, 2022

Con la siguiente información:

Con autor(es) : **BACH. CARHUAMACA GARCIA YHASSMIN
BACH. JAVIER ORIHUELA CATELIN ESTHER**

Facultad : **CIENCIAS DE LA SALUD**

Escuela profesional : **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

Asesor (a) : **DRA. MIRTHA HUARINGA SANCHEZ ISABEL**

Fue analizado con fecha **09/04/2024** con **70 pág.**; en el Software de Prevención de Plagio (Turnitin); y con la siguiente configuración:

Excluye Bibliografía.

Excluye Citas.

Excluye Cadenas hasta 20 palabras.

Otro criterio (especificar)

El documento presenta un porcentaje de similitud de **23 %**.

En tal sentido, de acuerdo a los criterios de porcentajes establecidos en el artículo N° 15 del Reglamento de Uso de Software de Prevención de Plagio Versión 2.0. Se declara, que el trabajo de investigación: **Si contiene un porcentaje aceptable de similitud.**

Observaciones:

En señal de conformidad y verificación se firma y sella la presente constancia.

Huancayo, 09 de abril de 2024.



MTRA. LIZET DORIELA MANTARI MINCAMI
JEFA

Oficina de Propiedad Intelectual y Publicaciones

INTRODUCCIÓN

La presente investigación lleva por título Extracción asistida por ultrasonido de polifenoles de huacatay (*Tagetes minuta L.*) y su capacidad antioxidante, busca aportar al avance de la industria farmacéutica y beneficiar a la población en su conjunto.

Se lleva a cabo a partir de la observación del problema que el huacatay (*Tagetes minuta L.*), también llamado chinchilla, chincho, es una hierba que crece anualmente y es nativa de los pastizales templados y las zonas montañosas del sur de Sudamérica. En Perú, se encuentra presente en la costa, la sierra y la selva, el huacatay ha logrado tener una marcada connotación cultural para la obtención de ingredientes naturales para ser empleados en la producción de aceites comestibles con el propósito de retrasar su oxidación, así como en la fabricación de películas comestibles para preservar los alimentos mediante biopolímeros que contienen polifenoles. Además, se utilizan como aditivos en la formulación de medicamentos y como componentes en suplementos para una dieta balanceada.⁶

En consideración a lo anteriormente mencionado, el Capítulo I abarca la importancia nutricional todos aquellos aspectos referidos con la realidad problemática a partir de una breve visión general de la extracción asistida por ultrasonido de polifenoles, además de eso, su estrecha relación e importancia de la capacidad antioxidante; sin olvidar que ambas variables son herramientas para determinar extracción asistida por ultrasonido.

En el Capítulo II se contemplan tres ítems: uno referido a los antecedentes nacionales e internacionales en base a la revisión de aquellas investigaciones relacionadas con el tema bajo estudio; el segundo considera las bases teóricas de cada variable, respecto a sus dimensiones y el tercero corresponde al marco conceptual.

A su vez, en el Capítulo III se presentan las hipótesis (general y específicas) formuladas en base a los problemas de investigación y el Capítulo IV está referida a la metodología, se especificó que se trata de un estudio de tipo aplicada, con diseño experimental y empleó la observación como técnica de recolección de datos. La población de estudio estuvo compuesta por el Huacatay (*Tagetes minuta L.*) procedente del Distrito de Huayucachi, analizando 40kg de hojas de huacatay seleccionados mediante un muestreo no probabilístico utilizando criterios de inclusión y exclusión, los análisis

fueron registrados en una ficha de recolección de datos para ser procesados en Software SPSS y en el programa Microsoft Excel versión 2016. Los principios éticos de la investigación se fundamentan en lo estipulado por los artículos 27° y 28° del Reglamento general de Investigación de la Universidad Peruana Los Andes.

En el Capítulo VI se presentó los resultados obtenidos, observándose que, según el análisis químico proximal de hojas de *Tagetes minuta* L. (huacatay), se determinó en función a método normalizados de la norma Técnica AOAC (método gravimétrico y volumétrico).

Se concluye que, el uso de ondas ultrasónicas aumentó la efectividad para extraer compuestos fenólicos de muestras de hojas de *Tagetes minuta* L. y su capacidad antioxidante en contraste con el método tradicional de extracción,. El valor obtenido para la extracción de manera convencional fue 99.43mg EAG/100 g. Huacatay menor a los que se obtuvo por ultrasonido 5434.96 mg EAG/100 g. Huacatay.

CONTENIDO

CARATULA	¡Error! Marcador no definido.
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO	iii
INTRODUCCIÓN.....	v
CONTENIDO.....	vii
CONTENIDO DE TABLAS	x
CONTENIDO DE FIGURA.....	xi
RESUMEN	12
CAPÍTULO I.....	14
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	14
1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA.....	14
1.2. DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA	15
1.3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	15
1.3.1. Problema General.....	15
1.3.2. Problemas Específicos.....	15
1.4. JUSTIFICACIÓN.....	16
1.5. OBJETIVOS	17
1.5.1. Objetivo general	17
1.5.2. Objetivos Específicos.....	17
CAPÍTULO II.....	18
MARCO TEÓRICO	18
2.1 ANTECEDENTES	18
2.1.1 Nacionales.....	18
2.1.2 Internacionales	19
2.2 BASES TEÓRICAS	20
2.2.1 Huacatay.....	20
2.2.2 Hoja del huacatay	21
2.2.3 Polifenoles.....	21
2.2.4 Capacidad Antioxidante	24
2.2.5 Extracción de polifenoles	24
2.3 MARCO CONCEPTUAL	28
CAPÍTULO III	29

HIPÓTESIS	29
3.1 HIPÓTESIS GENERAL.....	29
3.2 HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	29
3.3 VARIABLES.....	29
3.3.1 Variables independientes.....	29
3.3.2 Variables dependientes.....	29
3.3.3 Operacionalización de variables.....	30
CAPÍTULO IV	31
METODOLOGÍA.....	31
4.1 MÉTODO DE INVESTIGACIÓN.....	31
4.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	31
4.3 NIVEL DE INVESTIGACIÓN.....	31
4.4 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	31
4.5 POBLACIÓN Y MUESTRA	32
4.5.1 Población.....	32
4.5.2 Muestra.....	32
4.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	33
4.6.1 Materiales de laboratorio.....	33
4.6.2 Equipos.....	33
4.6.3 Reactivos	33
4.6.4 Metodología	34
4.7 TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS	38
4.8 ASPECTOS ÉTICOS DE LA INVESTIGACIÓN	38
CAPÍTULO V	39
RESULTADOS	39
5.1 DESCRIPCIÓN DE RESULTADOS.....	39
5.1.1. Análisis de químico proximal de las hojas de huacatay.....	39
5.1.2. Contenido de polifenoles y capacidad antioxidante extraídos de manera convencional.....	39
5.1.3. Influencia del tiempo de sonicación y concentración de etanol sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante en la extracción asistida por ultrasonido de las hojas de huacatay (Tagetes minuta L)	42
5.1.4. Identificación de los valores del contenido de polifenoles y su capacidad antioxidante en el extracto obtenido por ultrasonido de las hojas de huacatay (Tagetes minuta L)	42

5.2 CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS.....	43
5.2.1. Contrastación de la hipótesis general.....	43
5.2.2. Contrastación de la hipótesis específica 1.....	45
5.2.3. Contrastación de la hipótesis específica 2.....	46
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	48
CONCLUSIONES.....	50
RECOMENDACIONES	51
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
ANEXOS.....	56
Anexo 1 - Matriz de consistencia.....	57
Anexo 2: Matriz de Operacionalización de variables.....	59
Anexo 3: Análisis químico proximal.....	60
Anexo 4: Análisis Estadístico.....	63
Anexo 5. Evidencias fotográficas.....	64
Anexo 6. Compromiso de autoría.....	67

CONTENIDO DE TABLAS

Tabla 1. Operacionalización de variables.....	30
Tabla 2. Análisis químico proximal de las hojas de huacatay.....	39
Tabla 3. Contenido de polifenoles y capacidad antioxidante obtenido de manera convencional.....	40
Tabla 4. Análisis de varianza.....	40
Tabla 5. Capacidad antioxidante extraído por método convencional.....	41
Tabla 6. Contenido de polifenoles obtenidos por Ultrasonido.....	40
Tabla 7. Capacidad Antioxidante de Tagetes minuta L. por EAU.....	41
Tabla 8. ANOVA para la capacidad antioxidante del huacatay por EAU.....	42
Tabla 9. Varianza de la capacidad antioxidante con respecto al tiempo de sonificación y la conc. de etanol.....	44
Tabla 10. Analisis de varianza de compuestos fenolicos.....	48

CONTENIDO DE FIGURA

Figura 1. Huacatay (<i>Tagetes minuta</i> L.).....	20
Figura 2. Clasificación general de los compuestos polifenólicos (CPF).....	21
Figura 3. Contenido de polifenoles totales (mg AG /g DW).....	22
Figura 4. Principio de cavitación.....	26
Figura 5. Colapso y liberación de compuestos.....	26
Figura 6. Diseño experimental	30
Figura 7. Diagrama de flujo de extracción de polifenoles	35
Figura 8. Diferencia significativa del contenido de polifenoles.....	40
Figura 9. Capacidad antioxidante obtenidos de manera convencional.....	41
Figura 10. Contenido de polifenoles extraídos por ultrasonido	42
Figura 11. Diferencia significativa entre tratamientos para la capacidad antioxidante	44

RESUMEN

El huacatay es una hierba anual, proveniente de los pastizales de climas templados y las áreas montañosas de Sudamérica, así como el Perú. En la actualidad se usa en la industria farmacéutica como aditivo en la elaboración de medicamentos, también es usado en la industria alimentaria como ingrediente para la elaboración de suplementos dietéticos. En la presente investigación se evaluó la extracción asistida por ultrasonido de polifenoles de huacatay (*Tagetes minuta L.*) y su capacidad antioxidante. El método de extracción empleado fue por ultrasonido, donde la relación entre lo extraído y los radicales libres indica una eficaz capacidad de inhibición de los radicales, por ende, demuestra la capacidad del huacatay (*Tagetes minuta L.*) de donar hidrógeno y electrones capaces de estabilizar las reacciones de los radicales. Asimismo se obtuvo los siguientes resultados: El contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante del huacatay (*Tagetes minuta L.*) se ven afectados por el método de extracción mediante ultrasonido; por otro lado, el contenido de polifenoles obtenida por el método de extracción asistida por ultrasonido mostro un valor máximo de 5434.96 mg AGE / 100 g de huacatay y una capacidad antioxidante de 1445.48 mg de trolox con el tratamiento de extracción C2t3, notándose un aumento substancial en lo que respecta a los resultados obtenidos mediante el método de extracción convencional. De acuerdo con el análisis estadístico, se observa una disparidad significativa entre los dos tratamientos. En cuanto a la hipótesis, se analizó mediante el estadístico ANOVA, obteniendo un $p < 0.05$, el cual comprueba que la extracción asistida por ultrasonido influye positivamente en el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante del *Tagetes minuta L.* (Huacatay).

Palabras clave: Polifenoles, extracción, filtrado, concentración, rendimiento de extracción.

ABSTRACT

Huacatay is an annual herb, from the grasslands of temperate climates and mountainous areas of South America, as well as Peru. It is currently used in the pharmaceutical industry as an additive in the production of medicines, it is also used in the food industry as an ingredient for the production of dietary supplements. In the present investigation, the ultrasound-assisted extraction of polyphenols from huacatay (*Tagetes minuta L.*) and its antioxidant capacity were evaluated. The extraction method used was ultrasound, where the relationship between what was extracted and the free radicals indicates an effective radical inhibition capacity, therefore, demonstrating the ability of huacatay (*Tagetes minuta L.*) to donate hydrogen and electrons capable of stabilize radical reactions. The following results were also obtained: The polyphenol content and antioxidant capacity of huacatay (*Tagetes minuta L.*) are affected by the ultrasound extraction method; On the other hand, the polyphenol content obtained by the ultrasound-assisted extraction method showed a maximum value of 5434.96 mg AGE / 100 g of huacatay and an antioxidant capacity of 1445.48 mg of trolox with the C2t3 extraction treatment, noting a substantial increase. regarding the results obtained through the conventional extraction method. According to the statistical analysis, a significant disparity is observed between the two treatments. Regarding the hypothesis, it was analyzed using the ANOVA statistic, obtaining a $p < 0.05$, which proves that ultrasound-assisted extraction positively influences the polyphenol content and antioxidant capacity of *Tagetes minuta L.* (Huacatay)..

Keywords: Polyphenols, extraction, filtering, concentration, extraction yield.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

Los compuestos bioactivos son elementos que se encuentran en las plantas y funcionan como un mecanismo de protección, otorgándoles características como color, aroma y propiedades especiales que son beneficiosas para la salud humana.

En años recientes, la búsqueda de productos más naturales se ha convertido en un estudio de creciente interés por parte del sector farmacéutico y la industria alimentaria. Por ejemplo, se busca obtener aditivos naturales para retardar la oxidación en la elaboración de aceites comestibles. También se exploran aplicaciones en la elaboración de films comestibles para preservar alimentos mediante biopolímeros que contienen polifenoles. Además, se considera su uso como aditivo en la producción de medicamentos y como ingrediente en suplementos dietéticos para promover una alimentación saludable.

La extracción suele ser el paso inicial en el proceso de aislamiento de compuestos bioactivos de tejidos vegetales. En este proceso, se deben considerar varios factores, como el tipo y la proporción del disolvente, la temperatura, el tiempo y, especialmente, la tecnología utilizada, ya que influirá en el rendimiento. En el caso de la extracción asistida por ultrasonido, se deben tener en cuenta parámetros específicos, como el ciclo, la amplitud, la frecuencia, la potencia, el tiempo de extracción, la temperatura y el solvente utilizado.

Investigaciones realizadas a cabo sobre la extracción asistida por ultrasonido de polifenoles señalan que es crucial considerar la amplitud (entre el 60% y el 100%), el tiempo (de 10 a 15 minutos) y el tipo de solvente (etanol en una concentración del 50 al

80%) para lograr una extracción óptima. Asimismo, la presencia de oxígeno, humedad, calor o las condiciones de almacenamiento pueden afectar y disminuir las propiedades beneficiosas de los polifenoles extraídos.¹

1.2. DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

El diseño experimental de la investigación se dividió en dos fases; la primera fase consistió en la extracción asistida por ultrasonido (EAU) de polifenoles de huacatay (*Tagetes minuta L.*); la segunda fase fue la evaluación de su capacidad antioxidante.

Las muestras de huacatay fueron recolectadas del distrito de Huayucachi, provincia de Huancayo, departamento de Junín, por los responsables de la investigación. Las hojas del huacatay fueron sometidas aun método de extracción asistida por ultrasonido, se utilizó la interacción entre los extractos obtenidos mediante este proceso y los radicales libres como indicador de la capacidad de inhibición de dichos radicales.

La extracción constituye el paso inicial en el aislamiento de fenoles de los tejidos vegetales, por lo que es crucial considerar varios aspectos como el tipo de disolvente, la proporción de disolvente, la temperatura, el tiempo y, principalmente, la tecnología empleada para lograr un rendimiento óptimo. Después de la extracción, es esencial preservar las propiedades funcionales de los fenoles, ya que tanto los fenoles como su actividad antioxidante pueden ser afectados por diversos factores como la luz, la humedad, el pH, la temperatura, entre otros. Por esta razón, se busca investigar la preservación de estas propiedades funcionales para su potencial aplicación en industrias como la alimentaria.

1.3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.3.1. Problema General

¿Cuál es la influencia del método de extracción por ultrasonido en el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de huacatay (*Tagetes minuta L.*)?

1.3.2. Problemas Específicos

- ¿Cuál es la influencia del tiempo de sonificación y concentración de etanol sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante en la extracción asistida por ultrasonido de las hojas de huacatay (*Tagetes minuta L.*)?

- ¿Cuáles son los valores del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante, en el extracto obtenido por ultrasonido del huacatay (*Tagetes minuta L.*)?

1.4. JUSTIFICACIÓN

1.4.1. Social

A la actualidad existen diversos estudios que muestran sobre los principios activos de las hierbas medicinales en el cual resaltan su capacidad antioxidante, antifúngica y antibacteriana. El huacatay, una planta aromática usada como condimento en la cocina, también posee propiedades que lo hacen apto como conservante natural.

La finalidad de la investigación es dar un valor agregado al huacatay ya que el extracto de huacatay es rico en compuestos fenólicos. De esta manera se busca posibilidades de desarrollo de nuevas tecnologías de extracción y aplicación de estos compuestos en la industria farmacéutica, fomentando el cultivo del huacatay a nivel regional.

El estudio surge de la urgencia de reemplazar aditivos sintéticos con alternativas naturales que sean menos tóxicos y tengan un menor impacto ambiental en su producción. Además, se busca fomentar el uso de productos naturales en beneficio de la salud pública.

.1.4.2. Teórica

En la investigación realizada se ha generado y aplicado un conjunto de conocimientos tecnológicos e información relacionada con la extracción de aceite de "huacatay", dirigidos específicamente a la industria farmacéutica. Esto responde a la creciente tendencia de la industria farmacéutica a nivel mundial de utilizar fuentes naturales como alternativas de materia prima, especialmente las provenientes de Perú. Se busca que estos aceites naturales sean empleados tanto como ingredientes nutricionales directos como en la gastronomía.

Los polifenoles de origen natural han sido objeto de atención en numerosos estudios científicos debido a sus impactos beneficiosos en la salud humana, especialmente por su alto contenido y función antioxidante.

Estudios previos indican que el método de extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de plantas incrementa el rendimiento y acorta el tiempo de

extracción. Estos compuestos muestran propiedades funcionales que podrían ser empleadas en la industria farmacéutica con el fin de prevenir y tratar enfermedades degenerativas.

1.4.3. Metodológica

Durante el desarrollo de la investigación, se acudió al empleo de técnicas de extracción de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante por el método ultrasonido, bajo condiciones de tiempo de sonicación y concentración de etanol teniendo como ingrediente funcional al huacatay (*Tagetes minuta L.*). Los resultados del estudio están sostenidos en técnicas de investigación válidas para este tipo de investigaciones y servirán de antecedente para futuras investigaciones en esta materia.

1.5. OBJETIVOS

1.5.1. Objetivo general

Evaluar la influencia del método de extracción por ultrasonido en el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de huacatay (*Tagetes minuta L.*).

1.5.2. Objetivos Específicos

- Determinar la influencia del tiempo de sonificación y concentración de etanol sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante en la extracción asistida por ultrasonido de las hojas de huacatay (*Tagetes minuta L.*).
- Identificar los valores del contenido de polifenoles y su capacidad antioxidante en el extracto obtenido por ultrasonido de las hojas de huacatay (*Tagetes minuta L.*).

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES

2.1.1 Nacionales

Acosta L.⁵ en su más reciente estudio, logró desarrollar un conservante microencapsulado utilizando hierbas aromáticas como acedera, chincho y orégano, mediante el empleo de extracción asistida por ultrasonido y microencapsulación por atomización. Los hallazgos revelaron que estos extractos de hierbas poseen una notable capacidad antioxidante, lo que sugiere su potencial como ingredientes o aditivos alimentarios con características beneficiosas para la salud.

Castro-Alayo EM⁶, et al, en su investigación científica sobre aceites esenciales de ciertas plantas nativas del Perú reporta una mayor capacidad antioxidante para el huacatay con un valor de 2,667 mg/MI, demostrando así el potencial antiradicalario que posee el huacatay.

Rojas T, Fuentes M, Contreras E⁷, menciona que las sustancias bioactivas de los residuos como los compuestos fenólicos se puede recuperar mediante la extracción por ultrasonido puesto que es una técnica limpia, rápida y amigable con el medio ambiente llegando a la conclusión que el mejor tratamiento para extracción de compuestos fenólicos del sanky fue 60%v/v, 40 minutos, 35°C reportando un valor de 43,9 mg ácido gálico/g muestra seca.

Chanco J, Leandro Z.⁸ en su investigación sobre la microencapsulación de extracto de huacatay obtenido por ultrasonido concluye que hay influencia de este método sobre

la cantidad de polifenoles y la capacidad antioxidante, mostrando que el huacatay seco posee el mayor contenido de polifenoles, alcanzando 7708,11 mg EAG/100 g, junto con una capacidad antioxidante de 1675,54 mg Eq. Trolox/100 g a una concentración de 60% de etanol, 100% de amplitud y 15 minutos, con una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

Hinostroza Quiñonez G, Saavedra N, Corilla D, et al.⁹ en su estudio sobre la microencapsulación por atomización de extracto de orégano (*Origanum vulgare*) y huacatay (*Tagetes minuta*). Obteniendo como resultado que la capacidad antioxidante DPPH del huacatay obtenido mediante extracción con metanol utilizando ultrasonido exhibió un valor de 231 μ M trolox eq/100 ml de extracto.

2.1.2 Internacionales

Medina NC.² en su investigación sobre el efecto del ultrasonido sobre la capacidad antioxidante y efecto antibacteriano del quitosano obtenido a partir de la cáscara de limón persa, concluye que este método mejora el rendimiento de la extracción de los compuestos fenólicos presentes en la cáscara de limón.

Pacheco J.³ llevó a cabo la nanoencapsulación de polifenoles derivados de residuos de alcachofa (*Cynara scolymus* L.) mediante gelificación iónica. Se realizaron pruebas de extracción asistida por ultrasonido, variando el tiempo (9.7 minutos) y la concentración del solvente (etanol al 53%). Bajo estas condiciones, se obtuvieron los valores experimentales correspondientes.

Corilla D⁴, investigó el proceso de extracción, microencapsulación y cuantificación de compuestos fenólicos asistida por ultrasonido utilizando residuos de café (*Coffea Arabica* L.). Logró optimizar la extracción de polifenoles mediante ultrasonido, obteniendo los mejores resultados a una concentración de 41,1646 mg AGE/g de muestra seca, 57,0163 mg Trolox/g de muestra seca por DPPH y 46,8562 mg Trolox/g de muestra seca por ABTS. Estos hallazgos sugieren que las condiciones óptimas para la extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos son una frecuencia del 95%, un tiempo de 9 minutos y una mezcla de etanol:agua al 53%, lo que resulta en un valor práctico de 41,1646 mg AGE/g de muestra.

2.2 BASES TEÓRICAS

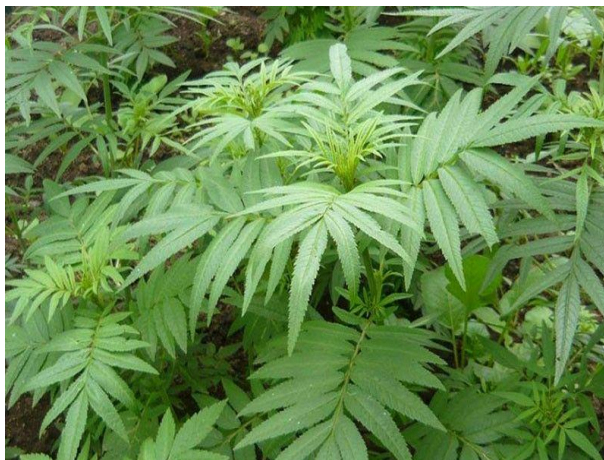
2.2.1 Huacatay

a) Origen y distribución geográfica

El huacatay es una hierba autóctona que se desarrolla en ambientes de clima templado y zonas montañosas en Sudamérica, desde Perú hasta Argentina. En Perú, se distribuye en diversas áreas que incluyen la costa, la sierra y la selva.⁶

El huacatay es una planta silvestre que alcanza una altura de 1 a 2 metros y se caracteriza por tener hojas lanceoladas con un aroma intenso. Sus hojas tienen dimensiones de 4 a 8 cm de longitud y de 3 a 4 cm de ancho. También posee flores pequeñas en comparación al tamaño de la planta. Tiene condiciones climáticas favorables para su crecimiento y desarrollo, si se produce en mayor cantidad será muy favorable para las personas ya que mejorará su calidad de vida.⁸

Figura 1. Huacatay (*Tagetes minuta* L.)



Fuente: Propia

b) Clasificación taxonómica del huacatay (*Crionquist* ,1981)

Reino Plantae

División Magnoliophyta

Clase Magnoliopsida

Orden Asterales

Familia Asteráceas

Genero Tagetes

Especie Tagetes minuta L

2.2.2 Hoja del huacatay

2.2.2.1. Usos

El huacatay desempeña un papel fundamental en la cocina peruana, ya que se utiliza como condimento en la elaboración de diversas salsas, ajíes, guisos y asados. Es un ingrediente esencial en la preparación de la reconocida crema de ocopa, una salsa popular en Perú, así como en la pachamanca, gracias a su distintivo y potente aroma. Además de su uso culinario, el huacatay se emplea como pesticida y se le atribuyen propiedades medicinales. Destaca especialmente la hoja de huacatay, que es de gran importancia para la industria, ya que de ella se extrae un aceite esencial utilizado en perfumería y en la industria alimentaria.¹⁰

2.2.2.2. Composición química

El huacatay es una planta que contiene alta capacidad biológica extensa tales como medicinales, antioxidantes, propiedades antimicrobianas, antibacteriana, actividad nematocida e insecticida.¹¹

El poder biológico que posee la *Tagetes minuta* L es gracias a su composición de monoterpenos tales como β -pineno, limoneno, 2-fenilpropil butirato, 1-Deceno, Undecano, 1-Dodeceno, 2-Undecenal (Aldehído) y no solo ello sino también posee polifenoles.¹¹

Por otro lado, es rico en compuestos de metabolitos secundarios, incluyendo acíclicos, monocíclicos y monoterpenos bicílicos, sesquiterpenos, flavonoides, tiofenos y aromáticos.¹¹

2.2.3 Polifenoles

a) Generalidades

Se refieren a compuestos orgánicos que se distinguen por tener múltiples grupos fenol en cada molécula. Principalmente se encuentran en plantas, las cuales los producen como parte de su metabolismo secundario.¹⁰

Los compuestos fenólicos son sustancias químicas presentes en los vegetales (plantas, frutas) capaces de producir metabolitos secundarios provenientes de la fenilamina. Hay más de 8000 compuestos fenólicos identificados.¹

b) Función de los compuestos fenólicos

Los compuestos exhiben una alta capacidad antioxidante gracias a su habilidad para disminuir la generación de radicales libres. En términos generales, estos compuestos actúan como antioxidantes con múltiples funciones y emplean diversos mecanismos para su acción.¹

c) Actividad antioxidante de los polifenoles

Valencia A. et al. indica que los polifenoles pueden afectar el crecimiento de tumores malignos al salvaguardar el ADN, desactivar los agentes cancerígenos y frenar la actividad de los genes que causan mutaciones.¹

Creus E.¹² indica que la función antioxidante de estos compuestos desempeña un papel crucial en la prevención de la oxidación de las lipoproteínas y en el desarrollo de lesiones arterioscleróticas.


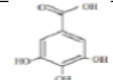
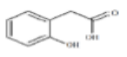
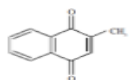
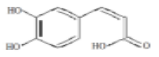
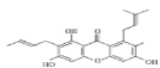
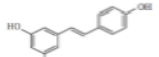
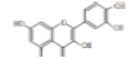
d) Efecto sobre macro nutrientes

Valenzuela GM.¹³ indica que los polifenoles actúan como inhibidores de nutrientes al interactuar con proteínas, almidones y enzimas digestivas, lo que resulta en la formación de complejos y reduce el valor nutritivo de los alimentos..¹³

e) Origen, estructura y distribución de los polifenoles

En la actualidad existen muchos compuestos diferentes que presentan estructura molecular en presencia de uno o más anillos fenólicos, estos compuestos se denominan polifenoles los cuales se encuentran en la naturaleza principalmente en vegetales y frutas compuestos que sintetizan estos compuestos como productos de su metabolismo secundario. para protegerlos de situaciones estresantes y diversos estímulos (agua, luz, etc.).¹⁴

Figura 2. Clasificación general de los compuestos polifenólicos (CPF)

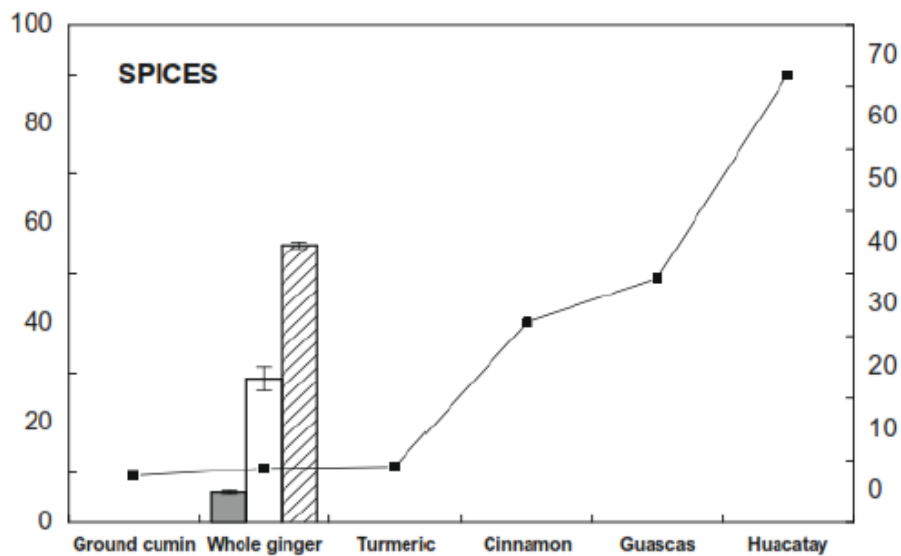
Clase	Estructura	Ejemplo	Clase	Estructura	Ejemplo
Fenoles simples	C ₆	 Catecol	Ácidos hidroxibenzoicos	C ₆ -C ₁	 Ácido gálico
Ácidos fenilacéticos	C ₆ -C ₂	 Ácido 2-hidroxi-fenilacético	Naftoquinonas	C ₆ -C ₄	 Menadiona
Ácidos hidroxicinámicos	C ₆ -C ₃	 Ácido caféico	Xantomas	C ₆ -C ₁ -C ₆	 Mangostina
Estibenos	C ₆ -C ₂ -C ₆	 Resveratrol	Flavonoides	C ₆ -C ₃ -C ₆	 Quercetina

Fuente: Mercado et al., (2013)

f) Polifenoles del huacatay

Zavaleta et al. (2005) señaló la presencia de polifenoles en 8 alimentos peruanos tales como: huacatay, olluco, sachatomate, sachapapa morada, pituca, sachaculantro, aguaymantoy el tumbo). Reportando el contenido de ácidos fenólicos para el huacatay (ácido clorogénico de 1.60mg/g, ácido ferúlico de 16.60 mg/g y ácido cafeico de 3.98 mg/g). Las hojas de Huacatay poseen 67mg ± 7 dw de polifenoles totales en comparación de otras con las otras especies.¹⁵

Figura 3. Contenido de polifenoles totales (mg AG /g DW)



Fuente: Zavaleta J. et al.

2.2.4 Capacidad Antioxidante

Los componentes químicos con propiedades antioxidantes se presentan en concentraciones más bajas en comparación con aquellas que son susceptibles a la oxidación, lo que resulta en la retardación y prevención de la oxidación de estos componentes. Estos compuestos también son reconocidos por su capacidad de proteger al sistema celular de los procesos que resultan en una cantidad excesiva de oxidación.¹⁶

La presencia tanto de compuestos fenólicos naturales como artificiales desempeña una función significativa debido a sus propiedades redox, las cuales les permiten absorber y neutralizar los radicales libres durante el proceso de descomposición del peróxido. La diferencia entre estos dos se debe al hecho de que se cree que los siguientes causan cáncer y que las características naturales tiene correlación positiva entre el nivel de polifenoles y la capacidad antioxidante de plantas como el orégano., el huacatay, el romero, etc.¹⁸

Zheng, W.Z. y Wang, S.Y.³² señala que la capacidad antioxidante varía según el compuesto fenólico analizado y su capacidad de disolverse en la fase líquida o lipídica., y también los diferentes métodos utilizados, para intentar solucionar el problema. Al respecto, los científicos evaluaron la actividad antioxidante utilizando trolox (ácido 6-hidroxi2,5,7 estetrametilcromano 22 carboxílico), que es estándar, soluble en agua en vitamina E.

La importancia de los polifenoles se debe a que interfieren con el desarrollo en diferentes etapas del melanoma protegiendo al ADN del daño oxidativo, inactivando carcinógenos e inhibiendo la carcinogénesis, genes mutagénicos de enzimas responsables de activar carcinógenos.¹⁸

2.2.5 Extracción de polifenoles

Da Porto C.et al.¹⁸ indica que en años recientes se han llevado a cabo numerosos estudios sobre la extracción de compuestos de diversos vegetales utilizando métodos convencionales como la maceración con diversos disolventes orgánicos (Bendicho et al., 2012). La relevancia de estos compuestos fenólicos ha motivado el desarrollo de técnicas como el ultrasonido, la energía de microondas, los fluidos supercríticos y la extracción acelerada por disolventes.¹⁸

Armenta et al. Agrega que el propósito principal de estas innovadoras tecnologías es disminuir el consumo de energía, el tiempo y los gastos asociados, además de promover la protección del medio ambiente y la salud al emplear estos compuestos en la industria alimentaria.

2.2.5.1 Extracción asistida por ultrasonido (EAU)

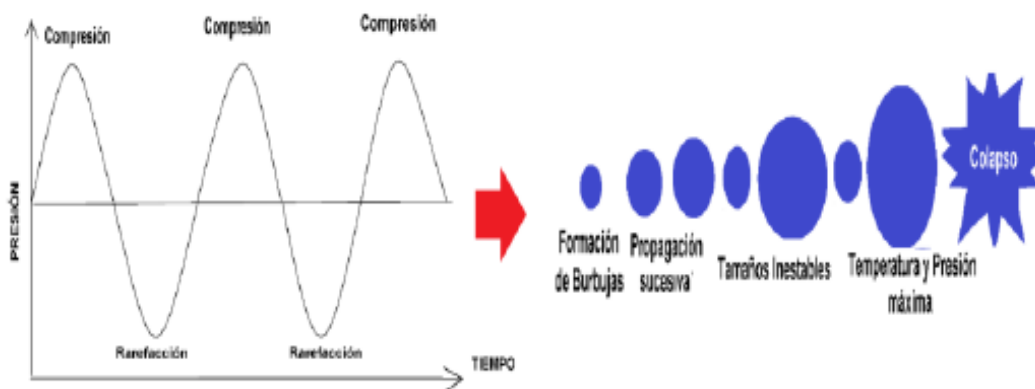
Awad TS, et al.²⁰ indica que este enfoque se fundamenta en la transmisión de ondas mecánicas mediante una serie de ciclos, caracterizadas por su longitud, amplitud, frecuencia, velocidad, potencia e intensidad. Según Tippens & Hernández (2007), el conjunto de ondas en el ultrasonido se identifica como ondas ultrasónicas, las cuales tienen frecuencias que superan el rango audible (>20 kHz) pero son inferiores a las frecuencias de las microondas (hasta 10 MHz).²⁰

El principio de la EAU consiste en la transmisión de vibraciones mecánicas, las cuales tienen las características de longitud, amplitud, frecuencia, velocidad, potencia e intensidad de propagación como una sola onda. Conjunto de ciclos. Las ondas de ultrasonido conforman el espectro denominado como ondas ultrasónicas. Estas ondas tienen frecuencias que se sitúan por encima del umbral audible (> 20 kHz) pero por debajo de las frecuencias de las microondas (hasta 10 MHz).²¹

El ultrasonido utiliza la transmisión de vibraciones mecánicas que constituyen un conjunto de ondas de alta y baja presión, conocidas como ondas de compresión y de rarefacción. Estas ondas poseen características distintivas que incluyen:²²

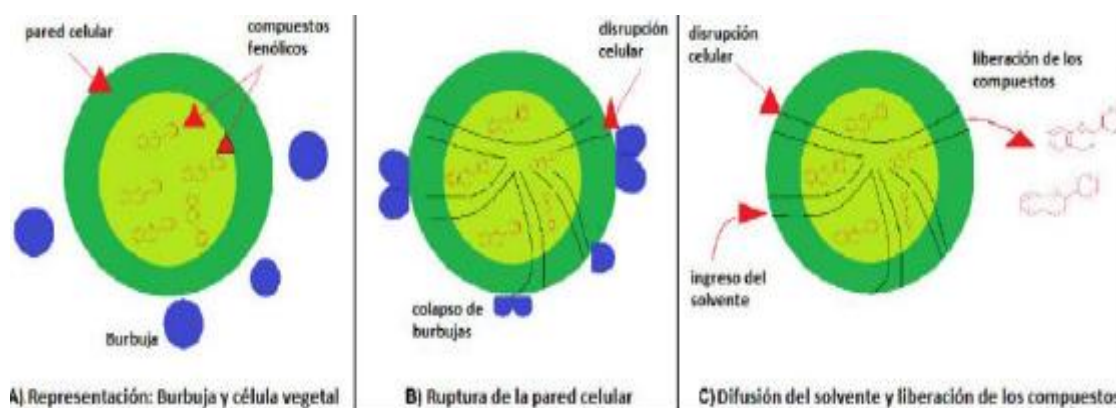
- Longitud: es la distancia entre dos puntos de onda alta y baja
- Amplitud: es la altura máxima de una onda
- Frecuencia (Hz): es el número de ciclos por unidad de tiempo
- Velocidad (m/s): frecuencia x longitud de onda
- Potencia (W): es el cociente de la energía utilizada en un tiempo.
- Intensidad (W/cm²): es el cociente de la potencia a través de un área determinado.

Figura 4. Principio de cavitación



Fuente: Medina-Torres et al. (2017)

Figura 5. Colapso y liberación de compuestos



Fuente: Medina-Torres et al. (2017)

2.2.5.2 Parámetros que afectan el proceso de EAU:

a. **Solvente:** La viscosidad afecta la intensidad de las cavitaciones ultrasónicas, de igual forma la presión de vapor del medio y la tensión superficial.²³

En la extracción de compuestos polifenólicos se utilizan disolventes orgánicos puros o combinados como: etanol acuoso que es una mezcla de etanol y agua en diferentes proporciones, metanol, acetona entre otros. La FDA menciona que el etanol, la acetona y el acetato de etilo se consideran solventes de Clase 3 que pueden usarse en la preparación de alimentos de esta manera de acuerdo con las buenas prácticas de fabricación. Los disolventes de clase 2, como el metanol y el hexano, se pueden utilizar en determinadas condiciones debido a su toxicidad. Estudios científicos confirman la eficacia del etanol como disolvente en la extracción de polifenoles.³

- b. Temperatura:** Izquierdo (2011), Hemwimol, Pavasant y Shotipruk (2017), mencionan que el método de EAU genera calor y esto hace que la temperatura aumente por esta razón se debe controlar la temperatura de extracción. Además, cabe señalar que un aumento de temperatura provoca la descomposición de algunos compuestos. Un claro ejemplo es la degradación de compuestos polifenólicos, por lo que buscamos trabajar a bajas temperaturas en la extracción de estos compuestos.²⁴
- c. Tiempo de extracción:** Izquierdo (2011), indica que el desempeño de la extracción se incrementa cuanto mayor es el tiempo de duración del ultrasonido debido al mayor tiempo de contacto entre el líquido y el material vegetal sólido.²⁰ Cheng et al. (2015), añade que se debe tener en cuenta el tiempo de exposición a la sonicación, debido a que esta puede dañar la calidad de los compuestos de interés, se debe entender que hay una relación entre la energía de ultrasonido, la estabilidad de los compuestos y el medio. El proceso de extracción consta de 2 etapas, la primera etapa llamada paso de lavado de 10 a 20 minutos se puede recuperar hasta 90 ° y la segunda etapa llamada paso de extracción lenta que puede durar hasta 60 minutos, para ser soportada. Nótese que se busca minimizar el tiempo de minería para reducir los costos de producción, por lo que se recomienda trabajar en las primeras etapas.²⁵
- d. Características del ultrasonido:** Izquierdo (2011), señala que la frecuencia, la potencia, la distribución de las ondas ultrasónicas y su intensidad son factores clave que influyen significativamente en el rendimiento y la eficacia del proceso de extracción. Esto se debe a que aumentar o disminuir estos parámetros puede causar alteraciones que pueden ser beneficiosas o perjudiciales para la obtención de la sustancia deseada.

2.2.5.3 Efecto de las variables involucradas en la eficiencia y rendimiento de EAU

Abugabr (2020), indica que al realizar la extracción, es necesario tener en cuenta diversas variables que tienen una estrecha relación con la eficiencia y el rendimiento del proceso. Estas variables abarcan el tiempo, la temperatura, el tipo de disolvente y su concentración, así como el método de aplicación de la irradiación ultrasónica (ya sea directamente o indirectamente).²⁶

2.3 MARCO CONCEPTUAL

- a) **Tiempo de sonicación:** La técnica de sonicación implica la ruptura de la membrana celular mediante el uso de ultrasonidos. Los equipos de sonicación son indispensables en laboratorios de HPLC y Biología Molecular.²
- b) **Actividad antioxidante:** elimina los radicales libres e inhibe enzimas prooxidantes¹.
- c) **Polifenoles:** son compuestos naturales producidos como parte del metabolismo secundario de las plantas, que se originan a partir de las rutas del shikimato y de los fenilpropanoides.¹
- d) **Ultrasonido:** Se fundamenta principalmente en la cavitación acústica que tiene la capacidad de inducir ciertas compresiones y rarefacciones presentes en las moléculas del solvente, induciendo a una formación de burbujas provocados por el cambio de presión y temperatura.²
- e) **Amplitud:** Es la longitud de onda entre la compresión y rarefacción donde a mayor amplitud mayor recuperación de compuestos bioactivos.²
- f) **Frecuencia:** Es la medición del número de veces que se repite un fenómeno en una unidad de tiempo su unidad de tiempo su unidad de medida es en Hertzios 1 Hz significa un ciclo (u onda) por segundo.²

CAPÍTULO III

HIPÓTESIS

3.1 HIPÓTESIS GENERAL

El método de extracción por ultrasonido influye positivamente sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de huacatay (*Tagetes minuta L.*).

3.2 HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

- El tiempo de sonificación y la concentración de etanol influyen positivamente sobre contenido de polifenoles y capacidad antioxidante en la extracción asistida por ultrasonido de las hojas de huacatay (*Tagetes minuta L.*).
- Los valores del contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante por la extracción asistida por ultrasonido influye positivamente en la obtención del extracto.

3.3 VARIABLES

3.3.1 Variables independientes

- Concentración de etanol: 40 %, 60 % y 80 %
- Tiempo de extracción: 10 min, 15 min y 20 min

3.3.2 Variables dependientes

- Contenido de polifenoles totales
- Actividad antioxidante

3.3.3 Operacionalización de variables

Tabla 1. Operacionalización de variables

Variab	Definición conceptual	Dimensiones	Indicadores
Concentración de etanol (V.I.1)	Sustancia capaz de inhibir la degradación oxidativa, gracias a su capacidad de reaccionar con los radicales libres ²⁰ .	40 % 60% 80%	Cavitación acústica
Tiempo de sonicación (V.I.2)	El tiempo en la extracción de compuestos fenólicos puede aumentar, siguiendo un mecanismo formado por dos etapas principales. El primero se denomina paso de "lavado", que cubre los primeros 10 a 20 minutos de extracción. En la segunda etapa, conocida como extracción lenta, la transferencia de masa del soluto desde la matriz al solvente se realiza por difusión. (Sahin & Samli, 2013),	10 min 15 min 20 min	Ondas sónicas
Contenido de polifenoles (V.D.1)	Son un grupo de sustancias químicas caracterizadas por la presencia de más de un grupo fenol por molécula encontradas en frutas, verduras, cereales y bebidas.	Método de Folin-Ciocalteu	Coloración azul
Actividad antioxidante (V.D.2)	La actividad antioxidante en los polifenoles es reconocido por su contribución a la mejora de la salud humana y actúan como quelantes de iones metálicos o captadores de radicales libres que neutralizan especies reactivas de oxígeno peligrosas mediante la donación de un electrón (Pozo-Martinez et al., 2022). Ambas actividades son responsables de las propiedades antioxidantes, que pueden ser útiles para evaluar la calidad de los alimentos o en la realización de las características beneficiosas de los productos (Li et al., 2014; Zrinski et al., 2020).	Método DPPH Método ABTS	Decoloración de color azul violeta, hacia un amarillo pálido

Fuente: Elaboración propia

CAPÍTULO IV

METODOLOGÍA

4.1 MÉTODO DE INVESTIGACIÓN

En esta investigación se empleó el método científico, el propósito es comprender el comportamiento de las variables para mejorar la calidad del producto. El método específico es explicativo, ya que implica identificar las relaciones causales entre la variable independiente (contenido de polifenoles) y la variable dependiente (capacidad antioxidante del huacatay).²⁷

4.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN

De tipo aplicada, se distingue por la participación activa de las investigadoras, quienes trabajan para resolver el problema de investigación y evaluar el impacto de la extracción asistida por ultrasonido de polifenoles en la capacidad antioxidante del huacatay (*Tagetes minuta* L.).²⁷

4.3 NIVEL DE INVESTIGACIÓN

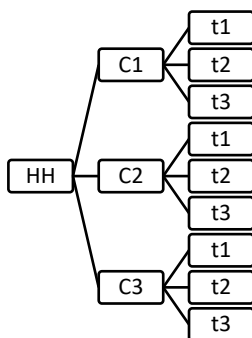
De nivel explicativo, Debido a que ofrecerá datos acerca de la capacidad antioxidante del huacatay (*Tagetes minuta* L.) mediante la extracción asistida por ultrasonido.²⁷

4.4 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

El diseño para esta investigación es experimental, Debido a que este estudio cuenta con todos los componentes de un experimento, empleando el método de superficie de respuesta. En este método se aplican técnicas para controlar la variable independiente y

observar las variaciones en la variable dependiente, permitiendo analizar si ocurre algún cambio.²⁷

Figura 6. Diseño experimental



Fuente: Elaboración propia

Donde:

HH: Hojas de huacatay
C1: Concentración de etanol (40%)
C2: Concentración de etanol (60%)
C3: Concentración de etanol (80%)
t1: Tiempo de sonicación (10 min)
t2: Tiempo de sonicación (15 min)
t3: Tiempo de sonicación (20 min)

4.5 POBLACIÓN Y MUESTRA

4.5.1 Población

La población para este estudio consiste en las hojas de huacatay (*Tagetes minuta* L.) procedentes del distrito de Huayucachi, ubicado en la provincia de Huancayo, Junín. Esta población representa el conjunto de elementos dentro de un ámbito general que se investiga.²⁷

4.5.2 Muestra

Las hojas aisladas del huacatay en el laboratorio. Este fragmento es una muestra representativa de la población, ya que se distingue por su objetividad y refleja fielmente las características de la población. Los resultados obtenidos en esta muestra se pueden generalizar a todos los elementos que componen la población previamente mencionada.²⁷

4.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Para la ejecución presente investigación se utilizó la técnica de la observación ya que mediante este medio pudimos visualizar las herramientas de laboratorio, como equipo ultrasonido para Fenoles totales y capacidad antioxidante.

Utilizamos la ficha de recolección de datos (ver anexo 4) como nuestro instrumento, el cual nos facilitó la recopilación de la información requerida para alcanzar los objetivos de nuestra investigación. Este estudio se llevó a cabo en el laboratorio de Control de Calidad de la Facultad de Ingeniería de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional del Centro del Perú.

Se trató de analizar el impacto de la extracción asistida por ultrasonido de polifenoles y su capacidad antioxidante de las hojas del huacatay (*Tagetes minuta L.*) para luego ser evaluados.

4.6.1 Materiales de laboratorio

Se utilizaron diversos materiales de vidrio, como matraces, vasos de precipitación, probetas y frascos de color ámbar, así como otros elementos como papel filtro, espátulas, micropipetas y sus respectivas puntas, pinzas metálicas, pisetas, papel de aluminio, bolsas de polietileno con cierre hermético, papel toalla y cinta aislante.

4.6.2 Equipos

Equipo ultrasonido, espectrofotómetro, balanza analítica, agitador de tipo vórtice, rotavapor, centrifuga, bomba de vacío, refractómetro, rotavapor.

4.6.3 Reactivos

Etanol y metanol químicamente puro, reactivo de Folin-Ciocalteu, ácido acético, hidróxido de sodio, reactivo DPPH, Trolox, Ácido Gálico, solución saturada de cloruro de sodio.

4.6.4 Metodología

4.6.4.1 Secado al ambiente

El proceso de secado al aire libre implica utilizar la luz solar disponible, considerando que la exposición directa al sol puede provocar que las hierbas se marchiten. Por esta razón, se opta por secar las hierbas a la sombra, donde no estén expuestas directamente a los rayos solares. De este modo contribuir con la responsabilidad ambiental porque se hizo considerado de una energía renovable.²⁸

4.6.4.2 Extracción de polifenoles de forma convencional

Las hojas de Huacatay (*Tagetes minuta L.*) fueron secadas a temperatura ambiente, molidas y tamizadas este material vegetal fue sometido al proceso de extracción a tres concentraciones de etanol (40, 60, 80%) por un tiempo de 48 horas finalmente filtrado y concentrado para la respectiva cuantificación de fenoles y su capacidad antioxidante.

4.6.4.3 Extracción de polifenoles asistida por ultrasonido (EAU)

Awad et al. (2012), menciona que la Extracción Asistida por Ultrasonido (EAU) se fundamenta en la transmisión de vibraciones mecánicas formadas por una serie de ciclos, que incluyen tanto altas como bajas presiones, conocidas como compresiones y rarefacciones, respectivamente.

Musielak et al. (2016), indica que para obtener el extracto concentrado de polifenoles, se utilizó una concentración de 1:10 (p/v) de etanol en proporciones del 40%, 60% y 80%. La mezcla se colocó en un matraz cubierto con papel de aluminio y se sometió a ultrasonido durante 1 ciclo, a una potencia de 130W, una frecuencia de 30 kHz, una amplitud del 100% y tiempos de sonicación de 10, 15 y 20 minutos. Después de la extracción, el líquido se filtró utilizando papel de filtro con la ayuda de una bomba de vacío, y luego se concentró al 50% en un rotavapor, eliminando el etanol para obtener únicamente el extracto. Durante este proceso, se mantuvo una temperatura de 45°C y una velocidad de rotación de 110 rpm. Finalmente, el extracto se almacenó en frascos de color ámbar a una temperatura de 4°C.

4.6.4.4 Determinación de polifenoles totales: Método de Folin-Ciocalteu

El nivel total de polifenoles se evaluó utilizando el método de Folin-Ciocalteu a través de espectrofotometría. Este método se fundamenta en la oxidación de los fenoles utilizando reactivos que contienen molibdeno y wolframio.²⁹

Para preparar el reactivo de Folin-Ciocalteu, primero se diluye con agua en una proporción de 1:1. Luego, se procede a preparar una solución al 7.5% de Na₂CO₃. En un tubo de ensayo, se añaden 0.5 ml de muestra, 3.75 ml de agua, 0.25 ml de reactivo Folin y 0.5 ml de Na₂CO₃. Después, se agita la mezcla para homogeneizarla y se cubre con papel metálico, dejándola reposar en la oscuridad durante una hora. La absorbancia se mide a 765 nm en comparación con un blanco (agua destilada), y las muestras se diluyen con agua o etanol para ajustarlas al rango de la curva de calibración. Esta curva se construye utilizando diversas concentraciones de una solución de ácido gálico a 1 g/L, donde la unidad EAG/L representa el equivalente de ácido gálico por litro.²

4.6.4.5 Actividad antioxidante

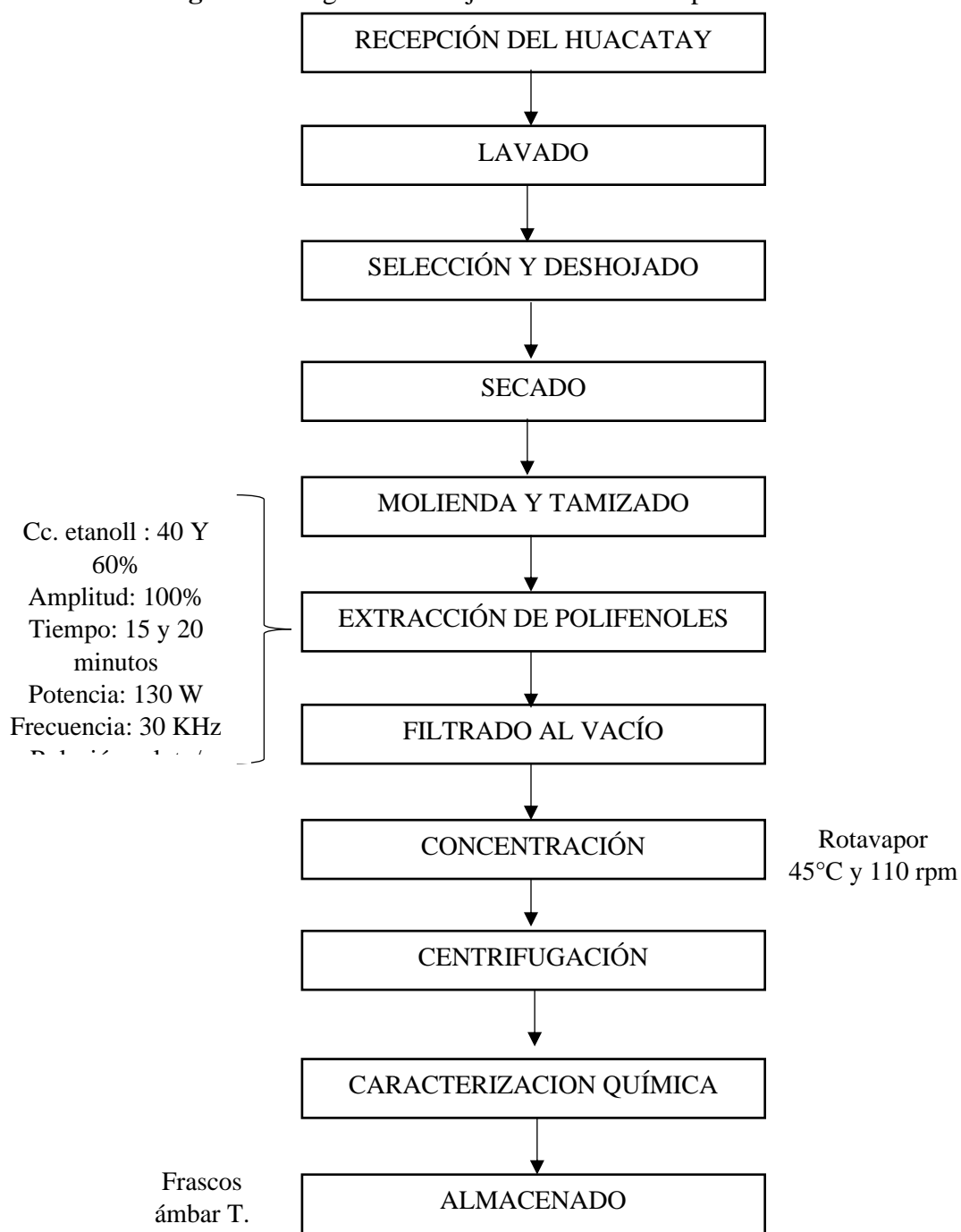
Se trata de una medida de la capacidad de un compuesto para retrasar o evitar la oxidación, así como para inhibir otras reacciones al oxidarse por sí mismo. Los métodos más comúnmente empleados para medir esta capacidad antioxidante incluyen FRAP, ABTC, TEAC (Capacidad Antioxidante Equivalente Trolox), DPPH y ORAC.¹⁹

- **Método DPPH**

El método implica una reacción con 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) en una solución metanólica, que inicialmente tiene un color violeta intenso. Este color se desvanece al agregar la muestra que contiene antioxidantes. Los resultados se expresarán como un porcentaje de inhibición de los radicales libres, este método DPPH es el ensayo más rápido sencillo y preciso y de menor costo.³⁰

4.6.4.6 Diagrama de flujo del proceso de extracción de polifenoles de las hojas de huacatay

Figura 7. Diagrama de flujo de extracción de polifenoles



Fuente: Elaboración propia

4.6.4.7 Descripción del proceso de extracción de polifenoles de las hojas de huacatay

- **Recepción:** Se recepción huacatay del distrito de Sapallanga
- **Lavado:** Se realizó por inmersión en agua fría y se desinfectó con hipoclorito de sodio a 5 ppm.

- **Selección y deshojado:** Se separó las hojas con daños extrayéndolo de su tallo.
- **Secado:** Este proceso fue a temperatura ambiente (entre 16- 20°C)
- **Molienda y Tamizado:** Se realizó manualmente con un molino y tamizado con una malla número 40.
- **Extracción de polifenoles:** Esta operación se realizó con el método de extracción asistida por ultrasonido a 30KHz de frecuencia, potencia de 100 watts, relación de soluto/ solvente de 1/10 g/ml, para tres concentraciones de etanol (40,60 y 80%), amplitud (100%) y tres tiempos de sonicación (10, 15 y 20 minutos).
Se desarrolló un diseño completamente al azar (DCA)
Número de repeticiones: 3
Numero de tratamientos: 3 concentraciones de etanol x 3 tiempos.
Con intervalo de confianza del 95 % y ($p \leq 5\%$)

Modelo aditivo lineal para extracción asistida por Ultrasonido

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + r_l + \varepsilon_{ijkl}$$

Y_{ijk} = contenido de polifenoles y capacidad antioxidante en el extracto a partir de hojas de huacatay

μ = efecto de la media general

A_i =efecto del i-esimo nivel óptimo de la concentración de etanol para la extracción (i=1,2)

B_j =efecto del j- esimo nivel óptimo del tiempo de extracción (j=1,2)

r_k = repeticiones (k= 1,2,3)

ε_{ijkl} = Efecto del error aleatorio

- **Filtrado:** Con papel watman y el equipo de la bomba de vacío.
- **Concentración:** Usando el rotavapor a una temperatura de 45°C, 110 rpm y 175 mbar.
- **Centrifugación:** se separó sobrenadantes centrifugando el extracto a 3000 rpm por 10 minutos.
- **Caracterización química:** En esta operación se cuantifico el contenido de polifenoles y antioxidantes del extracto por el método de Folin-Ciocalteu y DPPH.

4.7 TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

Los resultados de la extracción asistida de polifenoles sobre la capacidad antioxidante del huacatay, Se representan mediante tablas y figuras gráficas utilizando el software estadístico Design-Expert, Versión 11. En este análisis se examinaron los factores y componentes esenciales, identificando las interacciones y finalmente obteniendo configuraciones de proceso para la extracción asistida de polifenoles en función de los factores estudiados.

4.8 ASPECTOS ÉTICOS DE LA INVESTIGACIÓN

La siguiente investigación se rigió por lo establecido en artículo 27 del reglamento de investigación de la Universidad Peruana Los Andes el cual estipula:

El cuidado del medio ambiente y la preservación de la biodiversidad, junto con la responsabilidad hacia la pertinencia, alcances y consecuencias de la investigación, son aspectos fundamentales. Esto aplica tanto a nivel individual e institucional como a nivel social. Es crucial mantener la integridad de la investigación en todas sus etapas, desde la formulación del problema hasta la interpretación y la comunicación de los resultados.

Este estudio también se rigió por lo estipulado en el artículo 28 apeándose estrictamente a las normas establecidas como:

Realizar investigaciones originales y coherentes, además de proceder con rigor científico asegurando la validez, la fiabilidad y credibilidad de sus métodos, fuentes y datos. Finalmente tratar con total hermetismo la información obtenida sin buscar lucro personal ni fines ilícitos.

CAPÍTULO V

RESULTADOS

5.1 DESCRIPCIÓN DE RESULTADOS

5.1.1. Análisis de químico proximal de las hojas de huacatay

En la Tabla 2 se presentan los resultados del análisis químico proximal de las hojas de *Tagetes minuta* L. (huacatay), los cuales se determinaron siguiendo métodos normalizados de la Norma Técnica AOAC, así como mediante técnicas gravimétricas y volumétricas.

Tabla 2. Análisis químico proximal de las hojas de huacatay

Parámetro	Determinación \pmSD
Actividad de agua (aw)	0.36 ± 0.06
% Acidez	3.50 ± 0.62
% Humedad	6.90 ± 0.46
% Cenizas	8.90 ± 1.25
pH a 20 °C	5.60 ± 1.45
Sólidos (°Brix)	10.40 ± 1.15

Fuente: Elaboración propia

5.1.2. Contenido de polifenoles y capacidad antioxidante extraídos de manera convencional

a) Contenido de polifenoles

En la tabla 3 se observa los resultados obtenidos para el contenido de polifenoles extraídos de manera convencional donde C1t1 = 40% etanol x 48 horas, C2t1=60% etanol x 48 horas y C3t1(80% etanol x 48 horas)

Tabla 3. Contenido de polifenoles

Tratamientos	Contenido de polifenoles (mg EAG/100 g Huacatay seco)
C3t1	99.43 ± 0.90 ^a
C2t1	74.32 ± 6.90 ^b
C1t1	47.82 ± 0.90 ^c

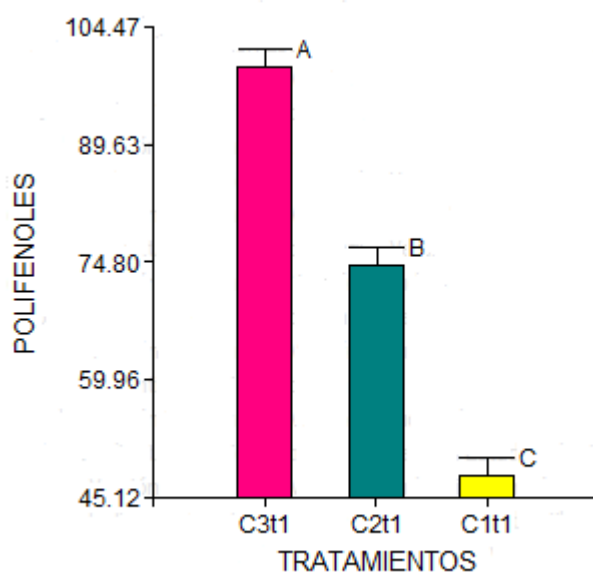
Fuente : Elaboración propia

En la tabla 4 se observa el valor de p es menor a 0.05 por ende existe diferencia significativa entre tratamientos por tanto en la figura 8 y tabla 3 se muestra las comparaciones según Duncan entre tratamientos donde C3t1 (80% etanol x 48 horas) extrajo mayor contenido de polifenoles.

Tabla 4. Análisis de varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3996.86	2	1998.43	121.50	<0.0001
TRATAMIENTOS	3996.86	2	1998.43	121.50	<0.0001
Error	98.68	6	16.45		
Total	4095.54	8			

Figura 7. Diferencia significativa del contenido de polifenoles



Fuente: Elaboración propia

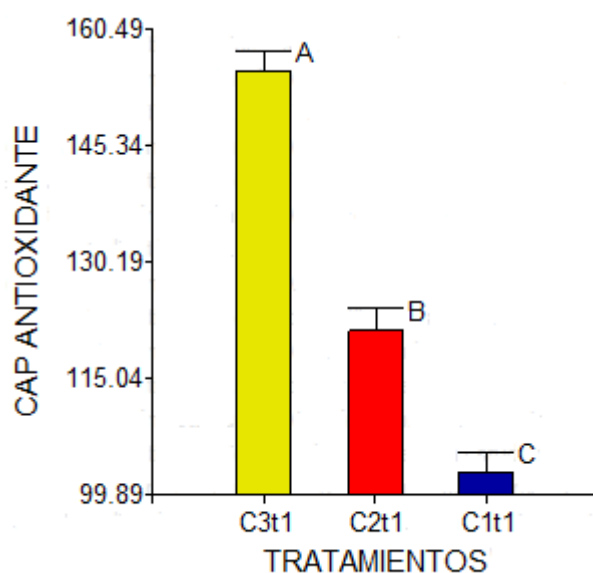
b) Capacidad antioxidante

Tabla 5. Capacidad antioxidante extraída por método convencional

Tratamientos	Capacidad antioxidante (mg Trolox/100 huacatay) \pm SD
C3t1	155.11 \pm 7.23 ^a
C2t1	121.43 \pm 3.07 ^b
C1t1	102.64 \pm 7.23 ^c

Fuente: Elaboración propia

Figura 9. Capacidad antioxidante obtenida de manera convencional



Fuente: Elaboración Propia

La capacidad de antioxidante tiene una relación directa con el contenido de polifenoles, en la tabla 5 y figura 9 se observa los valores obtenidos por el método convencional a una concentración de 80% de etanol por 48 horas.

Se realizó un análisis de varianza donde el valor de p es menor a 0.05 por ende se desarrolló una comparación múltiple según Duncan.

5.1.3. Influencia del tiempo de sonificación y concentración de etanol sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante en la extracción asistida por ultrasonido de las hojas de huacatay (*Tagetes minuta* L)

Los resultados para el contenido de polifenoles fueron valores de 1234.50 a 5434.96 mg EAG/100 g, el tratamiento con mayor resultado fue C2t3 (concentración de etanol 60% por un tiempo de 20 min) seguido por el tratamiento C3t2 (concentración de etanol 80% por un tiempo de 15 min) se observa también que el menor contenido de fenoles fue para el tratamiento C1t1 (concentración de etanol 40% por un tiempo de 10 min). Por lo tanto, el tiempo de sonificación y la concentración de etanol influye en el contenido de polifenoles la capacidad antioxidante en la extracción asistida por ultrasonido.

5.1.4. Identificación de los valores del contenido de polifenoles y su capacidad antioxidante en el extracto obtenido por ultrasonido de las hojas de huacatay (*Tagetes minuta* L)

a) Contenido de polifenoles

Tabla 6. Contenido de polifenoles obtenidos por Ultrasonido

Tratamientos	Contenido de polifenoles (mg EAG/100 g Huacatay)
C2t3	5434.96 ± 0.28 ^a
C3t2	4538.20 ± 1.81 ^b
C3t3	4255.67 ± 0.49 ^c
C2t2	2556.97 ± 2.81 ^d
C3t1	2344.60 ± 1.54 ^e
C2t1	1424.37 ± 1.41 ^f
C1t3	1335.00 ± 1.31 ^g
C1t2	1313.99 ± 1.39 ^h
C1t1	1234.50 ± 0.52 ⁱ

Fuente: Elaboración propia

b) Capacidad antioxidante

Tabla 7. Capacidad Antioxidante de *Tagetes minuta* L. por EAU

Tratamientos	Capacidad antioxidante (mg Trolox/100 huacatay) \pm SD
C2t3	1445.48 \pm 1.23 ^a
C3t2	1236.71 \pm 0.55 ^b
C2t2	1147.94 \pm 1.11 ^c
C3t3	1111.40 \pm 1.21 ^d
C1t2	1107.71 \pm 0.45 ^e
C1t3	998.14 \pm 0.19 ^f
C3t1	989.14 \pm 1.54 ^g
C2t1	968.88 \pm 0.74 ^h
C1t1	941.14 \pm 0.55 ⁱ

Fuente: Elaboración propia

Los hallazgos derivados de la interacción entre los extractos producidos mediante la Extracción Asistida por Ultrasonido (EAU) y los radicales libres revelaron una notable capacidad para inhibir dichos radicales. Esto evidencia que el huacatay (*Tagetes minuta* L.) son capaces de donar de hidrógeno y electrones capaces de estabilizar las reacciones de los radicales.

5.2 CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS

5.2.1. Contrastación de la hipótesis general

a) Planteamiento de las hipótesis estadísticas

H₀ = El método de extracción por ultrasonido influye negativamente sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de huacatay (*Tagetes minuta* L.).

H₁ = El método de extracción por ultrasonido influye positivamente sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de huacatay (*Tagetes minuta* L.).

b) Nivel de significancia

Se dispone de un nivel de significancia de 0,05.

c) Estadístico de prueba

Para la comprobación de las hipótesis se usó el estadístico ANOVA

d) Lectura de p valor y decisión estadística

p mayor a 0,05, entonces se acepta la hipótesis nula.

p menor a 0,05, entonces se rechaza la hipótesis nula.

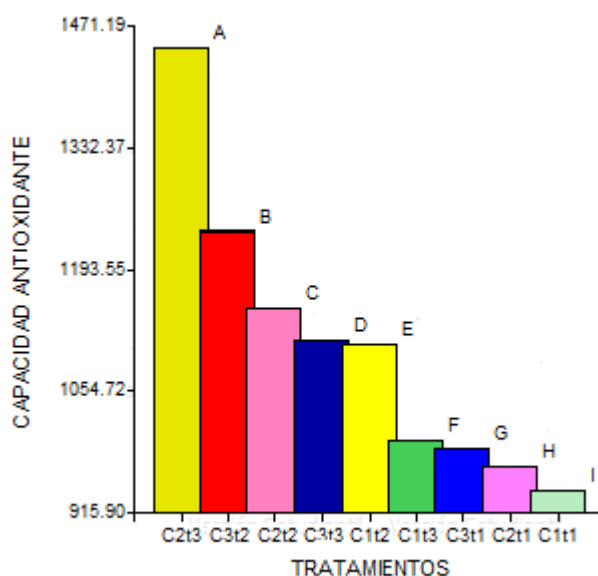
e) Conclusiones estadísticas

En la tabla 8 se muestra el cuadro ANOVA donde se observa que existe diferencia significativa entre variables y sus respectivas interacciones ($p < 0,005$) para la capacidad antioxidante del huacatay por ello se pasó a realizar una comparación de medias de tratamientos según Duncan.

Tabla 8. ANOVA para la capacidad antioxidante del huacatay por EAU

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	616161.93	8	77020.24	117591.48	<0.0001
TRATAMIENTOS	616161.93	8	77020.24	117591.48	<0.0001
Error	11.79	18	0.65		
Total	616173.72	26			

Figura 10. Diferencia significativa entre tratamientos para la capacidad antioxidante



Fuente: Elaboración propia

En las tablas 8 y 10 se nota que el valor de p es inferior a 0.05, lo cual sugiere que se confirma la hipótesis establecida en el estudio de que el proceso de extracción asistida por ultrasonido influye positivamente en el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante del *Tagetes minuta L.*

f) Interpretación en función al objetivo

Al concluir con la comprobación de la hipótesis se demostró que la hipótesis general guarda relación con el objetivo general planteado en la investigación.

5.2.2. Contrastación de la hipótesis específica 1

a) Planteamiento de las hipótesis estadísticas

H_0 = El tiempo de sonificación y la concentración de etanol influyen negativamente sobre contenido de polifenoles y capacidad antioxidante en la extracción asistida por ultrasonido de las hojas de huacatay (*Tagetes minuta L.*).

H_1 = El tiempo de sonificación y la concentración de etanol influyen positivamente sobre contenido de polifenoles y capacidad antioxidante en la extracción asistida por ultrasonido de las hojas de huacatay (*Tagetes minuta L.*).

b) Nivel de significancia

Se dispone de un nivel de significancia de 0,05.

c) Estadístico de prueba

Para la comprobación de las hipótesis se usó el estadístico ANOVA.

d) Lectura de p valor y decisión estadística

p mayor a 0,05, entonces se acepta la hipótesis nula.

p menor a 0,05, entonces se rechaza la hipótesis nula.

e) Conclusiones estadísticas

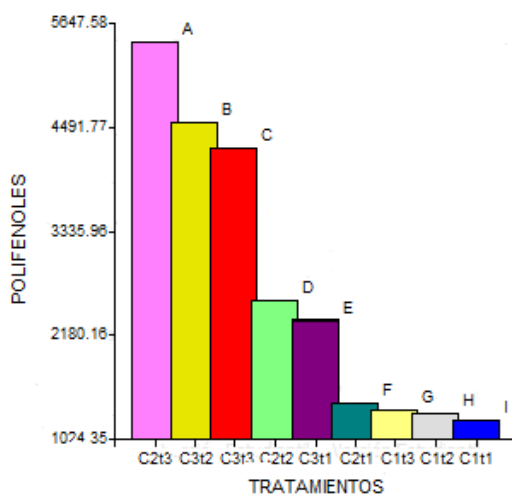
En la figura 11 y tabla 6 se observa la influencia de las variables en el contenido de polifenoles siendo el mejor tratamiento C2t3. El proceso de extracción se incrementó con la concentración de etanol a 80% y un incremento de tiempo a 15 minutos porque a la

concentración de 80% y tiempo de 20 minutos empezó a disminuir los compuestos fenólicos. Por otro lado cuanto menos tiempo y menor concentración de etanol(C1t1).

Tabla 9. Análisis de varianza de la capacidad antioxidante con respecto al tiempo de sonificación y la concentración de etanol

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4240.98	2	2120.49	102.70	<0.0001
TRATAMIENTOS	4240.98	2	2120.49	102.70	<0.0001
Error	123.88	6	20.65		
Total	4364.87	8			

Figura 11. Contenido de polifenoles extraídos por ultrasonido



Asimismo en la tabla 9 el p es menor a 0.05, por lo tanto se acepta la hipótesis específica planteada el tiempo de sonificación y la concentración de etanol influyen positivamente sobre contenido de polifenoles y capacidad antioxidante en la extracción asistida por ultrasonido de las hojas de huacatay (*Tagetes minuta L*), ya que el contenido de polifenoles es directamente proporcional a la capacidad antioxidante.

5.2.3. Contrastación de la hipótesis específica 2

a) Planteamiento de las hipótesis estadísticas

H₀ = Los valores del contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante por la extracción asistida por ultrasonido influye negativamente en la obtención del extracto.

H₁ = Los valores del contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante por la extracción asistida por ultrasonido influye positivamente en la obtención del extracto.

b) Nivel de significancia

Se dispone de un nivel de significancia de 0,05.

c) Estadístico de prueba

Para la comprobación de las hipótesis se usó el estadístico ANOVA.

c) Lectura de p valor y decisión estadística

p mayor a 0,05, entonces se acepta la hipótesis nula.

p menor a 0,05, entonces se rechaza la hipótesis nula.

d) Conclusiones estadísticas

Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza para el contenido de polifenoles (ver tabla 10) de la Extacción asistida por ultrasonido del huacatay, donde el p-valor entre los tratamientos es menor a 0.05 Este resultado sugiere que hay una discrepancia significativa entre los tratamientos examinados. Por ello se desarrolló la prueba de comparación múltiple según Duncan mostrando una diferencia significativa entre tratamientos.

Tabla 10. ANOVA: Análisis de varianza del contenido de compuestos fenólicos

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	62890908.24	8	7861363.53	428490.36	<0.0001
TRATAMIENTOS	62890908.24	8	7861363.53	428490.36	<0.0001
Error	330.24	18	18.35		
Total	62891238.48	26			

Además, en la Tabla 10 se observa que el valor p es inferior a 0.05, lo que conlleva a la aceptación de la hipótesis formulada en la investigación: que los niveles de contenido de fenoles y la capacidad antioxidante obtenidos mediante la extracción asistida por ultrasonido tienen un impacto positivo en la obtención del extracto.

e) Interpretación en función al objetivo

Al concluir con la comprobación de la hipótesis se demostró que la hipótesis específica guarda relación con el objetivo específico planteado en la investigación.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Con respecto al contenido de polifenoles, el incremento en la concentración de etanol del 40 al 80% mostró una diferencia significativa del contenido de polifenoles, Guntero et al. (2015), indican que el etanol es el potenciador de la solubilidad de los orgánicos menos polares que conduce a una mejor extracción, Padilla et al. (2012) mencionó que el etanol era eficaz en la extracción de polifenoles y que la FDA lo consideraba clase 3, apto para la industria alimentaria. Los valores que se obtuvieron fueron 5434.96(C2t3), 453820(C3t2), 4255.67(C3t3), 2556.97(C2t2), 2344.60(C3t1), 1424.37(C2t1), 1335.00(C1t3), 1313.99(C1t2), 1234.50(C1t1). La importancia del contenido fenólico radica en su capacidad para mantener una actividad constante durante el proceso de oxidación de lípidos debido a su capacidad para eliminar los radicales libres, inhibiendo así los carcinógenos y las mutaciones genéticas³¹. El mayor contenido de polifenoles fue 5434.96 mg EAG/100 g Huacatay seco (concentración de etanol del 80% y tiempo de extracción de 15 minutos) este valor es mayor a lo que se obtuvo de manera convencional (155,11 mg EAG/100 g Huacatay seco) en un tiempo de 48 horas y a una concentración de etanol de 80%. Galvez et al. (2010) extrajeron polifenoles de manera convencional de plantas nativas ornamentales peruanas una de ellas es huacatay que reportó 67mg EAG/100g) por otro lado Jiménez et al. (2016), obtuvieron 194.06 mg EAG/ 100g. Se observa claramente que si hay influencia del método de extracción puesto que obtenidos son valores mayores a todos los resultados que obtuvieron de manera convencional.

Por otro lado Chanco J, Leandro Z.⁸, obtuvieron una mayor eficiencia en el contenido de polifenoles (7708,11 mg EAG/ 100 g) a una concentración de 60% de etanol, 100% de amplitud y 15 minutos, mientras que este estudio se obtuvo la máxima eficiencia concentración de etanol 60% por un tiempo de 20 min. Se puede notar que solo el tiempo es distinto.

Otros estudios realizados por Rojas T et al; Pacheco J.³ y Corilla D⁴, propusieron condiciones de extracción distintas (60% etanol y 40 minutos; 53% etanol y 9.3 minutos y 53% etanol con 9 minutos respectivamente) a los usados en la extracción en nuestra

investigación. Se debe tener en cuenta que ellos utilizaron otras especies de muestra para su ensayo sin embargo utilizaron el mismo método de extracción (EAU).

Con respecto a la actividad antioxidante evaluado por el método DPPH, nuestro estudio reportó los siguientes resultados 1445.48(C3t3), 1236.71(C3t2), 1236.71(C3tt2), 1147.94(C2t2), 1111.40(C3t3), 1107.71(C1t2), 998.14(C1t3), 989.14(C3t1), 968.88(C2t1), 941.14(C1t1), asimismo los efectos de las variables: concentración de etanol y tiempo de extracción produjeron diferencias significativas en la capacidad antioxidante al incrementar sus respectivos valores de estas variables, lo cual se debió a la capacidad antioxidante asociada al contenido de polifenoles, asimismo Zheng y col. (2001) y Evans et al. (1996), también establecieron esta asociación al mencionar que la capacidad antioxidante es directamente proporcional al compuesto fenólico. En vista de lo anterior, debe entenderse que la influencia de las variables estudiadas con el contenido de polifenoles también afecta la capacidad antioxidante.

La capacidad antioxidante máxima obtenida en nuestro estudio fue de 1445.48 mg de trolox, resultados que se asemejan a los obtenidos por Chanco J, Leandro Z.⁸ quienes obtuvieron una capacidad antioxidante de 1675.54 mg Eq. Trolox/100g de huacatay seco, sin embargo nuestros resultados difieren a los obtenidos por Castro-Alayo EM⁶, en su estudio quien obtuvo el valor de 2,667 mg/MI con respecto a la capacidad antioxidante, también difieren a los obtenidos por Hinostroza Quiñonez G, Saavedra N, Corilla D, et al.⁹ en su estudio sobre la microencapsulación por atomización de extracto de huacatay (*Tagetes minuta*), quienes obtuvieron un valor de 231 uM trolox eq/100 ml extracto, esto debido que utilizaron un solvente distinto (metanol).

Zheng, W.Z. and Wang, S.Y. (2001), menciona que la capacidad antioxidante fluctúa según el compuesto fenólico analizado y su solubilidad en la fase líquida o lipídica, y también los diferentes métodos utilizados, para intentar solucionar el problema, respecto a lo mencionado podemos observar que en la presente investigación se observa la relación positiva de los compuestos fenólicos con su capacidad antioxidante esto demuestra que el huacatay tiene alto poder antiradicalario. La extracción asistida por ultrasonido mejoró en el contenido de su actividad antioxidante en comparación al método convencional, de igual manera nosotros también pudimos demostrar este enunciado en nuestra investigación.

CONCLUSIONES

- El método de extracción por ultrasonido influye positivamente en el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de huacatay (*Tagetes minuta L*). Esto se comprobó mediante el estadístico ANOVA, obteniendo un $p < 0.05$.
- El tiempo de sonificación y concentración de etanol influye positivamente sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante en la extracción asistida por ultrasonido de las hojas de huacatay (*Tagetes minuta L*), se obtuvieron los siguientes resultados para el contenido de polifenoles fueron valores de 1234.50 a 5434.96 mg EAG/100 g y el tratamiento con mayor resultado fue C2t3 (concentración de etanol 60% por un tiempo de 20 min).
- Por otro lado, el contenido de polifenoles obtenida por el método de extracción asistida por ultrasonido mostró un valor máximo de 5434.96 mg AGE / 100 g de huacatay y una capacidad antioxidante de 1445.48 mg de trolox con el tratamiento de extracción C2t3, notándose un aumento substancial con relación a los valores obtenidos en la extracción de manera convencional. Esto nos demuestra que existe una relación directa positiva entre el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante, ya que el ultrasonido mejoro la eficiencia en la obtención de los extractos.

RECOMENDACIONES

- Se sugiere que las autoridades universitarias difundan los resultados de este estudio entre la comunidad científica y la sociedad en general. El objetivo es informar sobre el uso del método de extracción mediante ultrasonido o ondas ultrasónicas para extraer compuestos fenólicos.
- Se recomienda evaluar la influencia de amplitud, frecuencia, temperatura en el contenido de polifenoles y su capacidad antioxidante.
- Se recomienda realizar estudios de que tipos de compuestos fenólicos están presentes en el Huacatay.
- Se sugiere realizar comparaciones de polifenoles presentes entre variedades del huacatay.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Valencia Avilés E, Figueroa II, Sosa Martínez E, Bartolomé Camacho MC, Martínez Flores HE, García Pérez ME. Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas. 2017;2021.
2. Medina Torres NC. Efecto del Ultrasonido en la Extracción y Nanoencapsulación de Polifenoles de Limón Persa (*Citrus Latifolia*). Cent Investig y Asist en Tecnol y Diseño del estado Jalisco, A C. 2017;1–131.
3. Pacheco J. Nanoencapsulación por gelificación iónica de polifenoles a partir de residuos de alcachofa (*Cynara scolymus* L.) Asistidas por ultrasonido, 2020 [Tesis]:Huancayo: Universidad Nacional Del Centro Del Perú; 2021.[Actualizado 2023 julio 30;citado 2023 agosto 5].Disponible en : https://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/7096/T010_72572209_T.pdf?sequence=1&isAllowed=y
4. Corilla D. extracción, microencapsulación y cuantificación de ccompuestos fenónicos asistida por ultrasonido a partir de residuos de café (*Coffea Arábica* L.) 2019 [Tesis]:Huancayo: Universidad Nacional Del Centro Del Perú; 2020.[Actualizado 2019 diciembre 17;citado 2023 agosto 5].Disponible en : https://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/5733/T010_47301715_M.pdf?sequence=1&isAllowed=y
5. Acosta L, Lizaraso Giles A, Cisneros Zevallos FH. Caracterización y obtención de preservantes microencapsulados a partir de Extractos Acuosa de Orégano (*Origanum vulgare*), Chincho (*Tagetes elliptica*) y Acedera (*Rumex crispus*). Univ San Ignacio Loyola [Internet]. 2018; Available from: <http://repositorio.usil.edu.pe/handle/USIL/2768>
6. Castro-Alayo EM, Chávez-Quintana SG, Auquiñivín-Silva EA, Fernández-Jeri AB, Acha-De la Cruz O, Rodríguez-Hamamura N, et al. Essential oils of native plants from Peru: Effect of the place of cultivation on the physicochemical characteristics and antioxidant activity. *Sci Agropecu*. 2019;10(4):479–87.
7. Rojas T, Fuentes M, Contreras E. Compuestos Fenólicos De La Cáscara De Sanky Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds of the Peel of Sanky. *Rev Soc Quim Perú*. 2019;85(2):258–67.

8. Chanco J, Leandro Z, Evaluación de la microencapsulación por atomización en el contenido de polifenoles de huacatay (*Tagetes minuta* L.) Obtenido por ultrasonido Sc huch LFD, Faccin Â, Gonçalves CL, Vieira VSC, Gonçalves HP. REVISÃO SISTEMÁTICA DE *Tagetes minuta* L. (Asteraceae): USO POPULAR, COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA. *Sci Anim Heal.* 2015;3(2):192
9. Hinostroza Quiñonez, G., Saavedra Mallma, N. E., Corilla Flores, D. D., & Flores Mamani, E. (2020). Microencapsulación por atomización de extracto de orégano (*Origanum vulgare*) y huacatay (*Tagetes minuta*). *Journal of Gri-ood Science*, 1(1), 53–59. recuperado a partir de <https://revistas.uncp.edu.pe/index.php/jafs/article/view/546>
10. Roca B, Guzmán H, Gómez B, Sosa H, Pérez G, Navarro A. CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LA ESPECIE *Tagetes erecta* Lin. *Rev Cuba Química.* 2009;XXI(2):10–5.
11. Bandana K, Raina R, Kumari M, Rani J. *Tagetes minuta*: An overview. ~ 3711 ~ *Int J Chem Stud.* 2018;6(2):3711–7.
12. Creus EVAG. Compuestos fenólicos. 2004;23:80–4.
13. Valenzuela GM, Cravzov AL, Soro AS, Tauguin AL, Giménez MC, Gruszycki MR, et al. Relación entre actividad antioxidante y contenido de fenoles y flavonoides totales en semillas de *Cucurbita* spp Relationship between antioxidant activity and total phenolic and total flavonoid contents in *Cucurbita* spp seeds. 2014;30(1):19–24.
14. Quiñones M, Aleixandre MMA. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. [The polyphenols, Nat Occur Compd with Benef Eff Cardiovasc Dis. 2012;27(1):76–89.
15. Zavaleta J, Muñoz AM, Blanco T, Alvarado-Ortiz C, Loja B. Capacidad antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos. *Horiz Med (Barcelona).* 2005;5(2).
16. Londoño JL, Químico Farmacéuti-Co P. Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad PARTE III / PART III. :129–62.

17. Fu L, Xu BT, Xu XR, Gan RY, Zhang Y, Xia EQ, et al. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chem.* 2011;129(2):345–50.
18. SERDAR G, SÖKMEN M, DEMİR E, SÖKMEN A, BEKTAŞ E. Extraction of antioxidative principles of *Achillea biserrata* M. Bieb. and chromatographic analyses. *Int J Second Metab.* 2016;2(2):3–15.
19. Da Porto C, Porretto E, Decorti D. Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. *Ultrason Sonochem* [Internet]. 2013;20(4):1076–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.12.002>
20. Awad TS, Moharram HA, Shaltout OE, Asker D, Youssef MM. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Res Int* [Internet]. 2012;48(2):410–27. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.004>
21. Vargas A, Amescua L, Bernal A, Pineda C. Principios Físicos Básicos del Ultrasonido, Sonoanatomía del Sistema Musculoesquelético y Artefactos Ecográficos. *Acta Ortopédica Mex.* 2008;22(6):361–73.
22. Manev Z, Petkova N. Influence of ultraviolet light and ultrasound irradiation on the physicochemical, sensory and microbiological characteristics of pear jam enriched with fibers. *Biointerface Res Appl Chem.* 2021;11(6):14304–15.
23. Huang D, Men K, Li D, Wen T, Gong Z, Sunden B, et al. Application of ultrasound technology in the drying of food products. *Ultrason Sonochem* [Internet]. 2020;63(November 2019):104950. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104950>
24. Hemwimol S, Pavasant P, Shotipruk A. Ultrasound-assisted extraction of anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. *Ultrason Sonochem.* 2006;13(6):543–8.
25. Şahin S, Şamli R. Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound-assisted extraction with response surface methodology. *Ultrason Sonochem.* 2013;20(1):595–602.
26. Abugabr Elhag HE, Sulaiman AZ, Ajit A. Sequential ultrasound-microwave

- assisted extraction of water soluble proteins from *Eurycoma longifolia* roots. IOP Conf Ser Mater Sci Eng. 2020;736(2).
27. R. Hernandez CF. Metodología de la investigación. Vol. 53, Journal of Chemical Information and Modeling. 2014. 1689–1699 p.
 28. Castillo-Téllez M, Castillo-Téllez B, Ovando-Sierra JC, Hernández-Cruz LM. Influencia de las condiciones de secado solar en la coloración de plantas medicinales. Rev Energías Renov. 2019;3(9):28–34.
 29. Sarmiento TR. Impacto del procesamiento sobre la pared celular y las propiedades hipoglucémicas y tecnofuncionales de leguminosas. 2012;269.
 30. Santander-M. M, Osorio M. O, Mejía-E. D. Evaluación de propiedades antioxidantes y fisicoquímicas de una bebida mixta durante almacenamiento refrigerado. Rev Ciencias Agrícolas. 2017;34(1):84.
 31. Benavides-guerrero R, Revelo-cuarán YA, Osorio-mora O, Arango-bedoya O. Extracción asistida con ultrasonido de compuestos fenólicos de dos variedades de papas (*Solanum phureja*) nativas andinas y evaluación de su actividad antioxidante Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from two varieties of an Andean nativ. Inf Tecnológica. 2020;31(5):43–50.
 32. Zheng, W.Z. and Wang, S.Y. (2001) Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49(11), 5165-5170.

ANEXOS

Anexo 1 - Matriz de consistencia

TÍTULO: EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO DE POLIFENOLES DE HUACATAY (<i>Tagetes minuta</i> L.) Y SU CAPACIDAD ANTIOXIDANTE, HUAYUCACHI, 2022					
Autores: Bachilleres: Catelin Esther Javier Orihuela - Yhassmin Carhuamaca García					
FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	FORMULACIÓN DE OBJETIVOS	FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS	VARIABLES	DIMENSIÓN	METODOLOGÍA
<p>Problema general</p> <p>¿Cuál es la influencia del método de extracción por ultrasonido en el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de huacatay (<i>Tagetes minuta</i> L.)?</p>	<p>Objetivo general</p> <p>Evaluar la influencia del método de extracción por ultrasonido en el contenido de fenoles y capacidad antioxidante de huacatay (<i>Tagetes minuta</i> L.)</p>	<p>Hipótesis general</p> <p>El método de extracción asistida por ultrasonido influirá positivamente en el contenido de polifenoles y su actividad antioxidante del huacatay (<i>Tagetes minuta</i> L.)</p>	<p>Variable independiente</p> <p>Concentración de etanol</p> <p>Tiempo de extracción</p>	<p>40 %</p> <p>60%</p> <p>80%</p> <p>10 min</p> <p>15 min</p> <p>20 min</p>	<p>Método de investigación. - Método científico.</p> <p>Tipo de investigación. – Aplicada</p> <p>Nivel de investigación. – Explicativo.</p> <p>Diseño de la investigación. – Diseño experimental</p> <p>Población y muestra. – La población son las hojas de huacatay provenientes del distrito de Sapallanga provincia de Huancayo-Junín y la muestra son las hojas aisladas del huacatay en el laboratorio.</p>

<p>Problemas específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> • ¿Cuál es la influencia del tiempo de sonicación y concentración de etanol sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante en la extracción asistida por ultrasonido de las hojas de huacatay (<i>Tagetes minuta</i> L)? • ¿Cuáles son los valores del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante, en el extracto obtenido por ultrasonido del huacatay (<i>Tagetes minuta</i> L)? 	<p>Objetivos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinar la influencia del tiempo de sonicación y concentración de etanol sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante en la extracción asistida por ultrasonido de las hojas de huacatay (<i>Tagetes minuta</i> L) • Identificar los valores del contenido de polifenoles y su capacidad antioxidante en el extracto obtenido por ultrasonido de las hojas de huacatay (<i>Tagetes minuta</i> L) 	<p>Hipótesis específica</p> <ul style="list-style-type: none"> • El tiempo de sonicación y la concentración de etanol influyen positivamente sobre contenido de polifenoles y capacidad antioxidante en la extracción asistida por ultrasonido de las hojas de huacatay (<i>Tagetes minuta</i> L). • Los valores del contenido de fenoles y la capacidad antioxidante por la extracción asistida por ultrasonido influye positivamente en la obtención del extracto. 	<p>Variable dependiente</p> <p>Contenido de polifenoles totales.</p> <p>Actividad antioxidante</p>	<p>Método de Folin-Ciocalteu</p> <p>Método DPPH</p> <p>Método ABTS</p>	<p>Técnicas e instrumento de recolección de datos</p> <p>Técnicas. - Observación</p> <p>Instrumento- Ficha de recolección de datos.</p> <p>Técnicas de procesamiento y análisis de datos.- Se aplicó las normas internacionales de la metodología AOCS (2008), bajo la norma técnica de muestreo por atributos NTP-2859 que establecen la manipulación y procesamiento de datos. Se utilizará el software estadístico Design-Expert. Versión 11 para los datos estadísticos y Microsoft Excel. Los resultados fueron tabulados haciendo uso del estadístico ANOVA.</p> <p>Aspectos éticos de la investigación. – Basadas en los artículos 27° y 28° del Reglamento general de investigación de la Universidad Peruana Los Andes.</p>
--	--	---	---	--	---

Fuente: Elaboración propia, junio 2023.

Anexo 2: Matriz de Operacionalización de variables

Variables	Definición conceptual	Dimensiones	Indicadores
Concentración de etanol (V.I.1)	Sustancia capaz de inhibir la degradación oxidativa, gracias a su capacidad de reaccionar con los radicales libres ²⁰ .	40 % 60% 80%	Cavitación acústica
Tiempo de sonicación (V.I.2)	El tiempo en la extracción de compuestos fenólicos puede aumentar, siguiendo un mecanismo formado por dos etapas principales. El primero se denomina paso de "lavado", que cubre los primeros 10 a 20 minutos de extracción. En la segunda etapa, conocida como extracción lenta, la transferencia de masa del soluto desde la matriz al solvente se realiza por difusión. Sahin & Samli, (2013),	10 min 15 min 20 min	Ondas sónicas
Contenido de polifenoles (V.D.1)	Son un grupo de sustancias químicas caracterizadas por la presencia de más de un grupo fenol por molécula encontradas en frutas, verduras, cereales y bebidas.	Método de Folin-Ciocalteu	Coloración azul
Actividad antioxidante (V.D.2)	La actividad antioxidante en los polifenoles es reconocido por su contribución a la mejora de la salud humana y actúan como quelantes de iones metálicos o captadores de radicales libres que neutralizan especies reactivas de oxígeno peligrosas mediante la donación de un electrón (Pozo-Martinez et al., 2022). Ambas actividades son responsables de las propiedades antioxidantes, que pueden ser útiles para evaluar la calidad de los alimentos o en la realización de las características beneficiosas de los productos (Li et al., 2014; Zrinski et al., 2020).	Método DPPH Método ABTS	Decoloración de color azul violeta, hacia un amarillo pálido

Fuente: Elaboración propia, junio 2023.

Anexo 3: Análisis químico proximal

a) Humedad:

La metodología implica secar la muestra en una estufa a una temperatura controlada de 100 ± 3 °C hasta que alcance un peso constante. Este proceso de secado suele durar entre 2 y 3 horas.

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{Pérdida de peso en (g)}}{\text{Peso de muestra en (g)}} \times 100 \text{ Dónde:}$$

P1 = Peso de cápsula vacía

P2 = Peso de cápsula más muestra

P3 = Peso de cápsula más muestra seca

P2- P3 = Pérdida de peso

P2- P1 = Peso de muestra

b) Proteína total:

$$\% \text{ de Nitrógeno} = \frac{\text{Gasto (mL)} \times \text{NHCl} \times P_{meqN_2} \times f \times v}{\text{TM (mL ó g)}} \times 100$$

La muestra se somete a un proceso de calentamiento y digestión con ácido sulfúrico concentrado, en presencia de catalizadores. Durante este proceso, la materia orgánica, los hidratos de carbono y las grasas se descomponen, formando dióxido de carbono y agua. Las proteínas se descomponen, produciendo amoníaco, el cual reacciona con el ácido sulfúrico para formar sulfato de amonio. Este sulfato de amonio, en un medio ácido, es estable y solo se descompone con liberación de amoníaco en un medio básico. Posteriormente, se añade una solución de una base fuerte al 50% para liberar el nitrógeno en forma de amoníaco. Este amoníaco se captura en una solución de ácido bórico al 2.5% y se titula con ácido clorhídrico al 0.1 N.

$$\% \text{ de Nitrógeno} = \frac{\text{Gasto (mL)} \times \text{NHCl} \times P_{meqN_2} \times f \times v}{\text{TM (mL ó g)}} \times 100$$

Dónde:

TM = Tamaño de muestra seca (g)

FV = Factor de valoración.

P meq N₂ = 0,014

c) Grasa total:

El contenido de grasa bruta en un producto se refiere a la porción del mismo que puede ser extraída mediante hexano, e incluye no solo la grasa, sino también otras sustancias solubles como ceras, pigmentos y vitaminas. Este proceso se llevó a cabo mediante extracción con hexano como solvente, utilizando el equipo Soxhlet.

Cálculo % Grasa = $\frac{\text{Peso de balón con grasa} - \text{Peso balón}}{\text{Peso de muestra}} \times 100$

Dónde:

PM = Peso de muestra seca, en gramos.

PV = Peso del balón vacío, en gramos.

PG = Peso de balón más extracto etéreo seco, en gramos.

d) Ceniza total :

El procedimiento se realiza mediante incineración en seco, el cual implica la quema de la materia orgánica presente en la muestra (harina) en una mufla a una temperatura de $600 \text{ }^\circ\text{C} \pm 25 \text{ }^\circ\text{C}$. Durante este proceso, la materia orgánica se descompone y forma dióxido de carbono, agua y los residuos en forma de sales minerales. La incineración continúa hasta que la muestra se haya quemado completamente, y se considera completa cuando los residuos adquieren un color negro o gris.

Cálculo

$$\% \text{ Ceniza totales} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

Dónde:

m_2 = masa del crisol con cenizas, en gramos.

m_1 = masa del crisol con muestra, en gramos.

m_0 = masa del crisol vacío, en gramos.

e) Fibra total:

La metodología se fundamenta en la secuencial separación de la ceniza, proteína, grasa y la sustancia extraída libre de nitrógeno. Esta separación se logra mediante el tratamiento con una solución diluida de ácido sulfúrico y álcalis, agua caliente y acetona. El ácido sulfúrico descompone los carbohidratos insolubles (como el almidón y parte de la hemicelulosa), mientras que los álcalis convierten las sustancias proteicas en formas solubles, separan la grasa, disuelven parte de la hemicelulosa y la lignina. Finalmente, el éter o acetona extraen las resinas, colorantes, residuos de grasa y eliminan el agua.

$$\% \text{ de Fibra} = \frac{(P_{pm} - P_p) - (P_{cpm} - P_{cp})}{TM (g)} \times 100$$

Dónde:

P_{pm} = peso seco papel filtro + muestra

P_p : peso de papel filtro

P_{cpm} : peso final (tras incineración): crisol + (papel filtro + muestra) seco.

P_c : peso crisol

TM: tamaño de muestra, peso de muestra inicial.

f) Carbohidratos totales (NIFEX):

Se calculó por diferencia, restando del 100 % los porcentajes de humedad, proteína, grasa y ceniza.

El contenido de carbohidratos se determina mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Carbohidratos} = 100 \% - (\% \text{Humedad} + \% \text{Ceniza} + \% \text{Fibra} + \% \text{proteínas} + \% \text{grasa})$$

Anexo 4: Análisis Estadístico

Análisis de la varianza

POLIFENOLES

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
POLIFENOLES	27	1.00	1.00	0.16

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	62890908.24	8	7861363.53	428490.36	<0.0001
TRATAMIENTOS	62890908.24	8	7861363.53	428490.36	<0.0001
Error	330.24	18	18.35		
Total	62891238.48	26			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 18.3467 gl: 18

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.								
C2t3	5434.96	3	2.47	A							
C3t2	4538.20	3	2.47		B						
C3t3	4255.67	3	2.47			C					
C2t2	2556.97	3	2.47				D				
C3t1	2344.60	3	2.47					E			
C2t1	1424.37	3	2.47						F		
C1t3	1342.00	3	2.47							G	
C1t2	1313.99	3	2.47								H
C1t1	1234.50	3	2.47								

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	27	1.00	1.00	0.07

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	616161.93	8	77020.24	117591.48	<0.0001
TRATAMIENTOS	616161.93	8	77020.24	117591.48	<0.0001
Error	11.79	18	0.65		
Total	616173.72	26			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 0.6550 gl: 18

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.								
C2t3	1445.48	3	0.47	A							
C3t2	1236.71	3	0.47		B						
C2t2	1147.94	3	0.47			C					
C3t3	1111.40	3	0.47				D				
C1t2	1107.71	3	0.47					E			
C1t3	998.14	3	0.47						F		
C3t1	989.14	3	0.47							G	
C2t1	968.88	3	0.47								H
C1t1	941.14	3	0.47								

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 5. Evidencias fotográficas



Fuente: Elaboración propia UNCP junio, 2023.





Fuente: Elaboración propia UNCP junio, 2023.

Anexo 6. Compromiso de autoría

COMPROMISO DE AUTORÍA

En la fecha, yo **Catelin Esther Javier Orihuela**, identificada con DNI 70225351, domiciliada en Prolong. Nemezio Racz N°3875 - Huancayo; egresada de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Peruana Los Andes, por la presente me comprometo a asumir las consecuencias administrativas y/o penales que hubiera lugar si en la elaboración de mi investigación titulada **"EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO DE POLIFENOLES DE HUACATAY (*Tagetes minuta* L.) Y SU CAPACIDAD ANTIOXIDANTE, HUAYUCACHI, 2022"**, se consideren datos falsos, falsificación, plagio, auto plagio, etc. y declaro bajo juramento que este trabajo de investigación es de mi autoría, los datos presentados serán reales y se respetarán las normas internacionales de citas y referencias de las fuentes consultadas.

Huancayo, 27 de junio de 2023



Bach. Catelin Esther Javier Orihuela

DNI 70225351

COMPROMISO DE AUTORÍA

En la fecha, yo **Yhassmin Carhuamaca García**, identificada con DNI 71311041, domiciliada en Jr. Mariscal Cáceres s/n - Huancayo; egresada de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Peruana Los Andes, por la presente me comprometo a asumir las consecuencias administrativas y/o penales que hubiera lugar si en la elaboración de mi investigación titulada **“EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO DE POLIFENOLES DE HUACATAY (*Tagetes minuta* L.) Y SU CAPACIDAD ANTIOXIDANTE, HUAYUCACHI, 2022”**, se consideren datos falsos, falsificación, plagio, auto plagio, etc. y declaro bajo juramento que este trabajo de investigación es de mi autoría, los datos presentados serán reales y se respetarán las normas internacionales de citas y referencias de las fuentes consultadas.

Huancayo, 27 de junio de 2023



Bach. Yhassmin Carhuamaca García

DNI 71311041



UNIVERSIDAD PERUANA LOS ANDES
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
DIRECCIÓN DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN

DECLARACIÓN DE CONFIDENCIALIDAD

Yo, Catelin Esther Javier Orihuela, identificada con DNI 70225351, egresada de la Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica, vengo implementando el proyecto de investigación titulado "EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO DE POLIFENOLES DE HUACATAY (*Tagetes minuta* L.) Y SU CAPACIDAD ANTIOXIDANTE, HUAYUCACHI, 2022", en ese contexto, declaro bajo juramento que los datos que se generen como producto de la investigación, así como la identidad de los participantes serán preservados y serán usados únicamente con fines de investigación, de acuerdo a lo especificado en los Artículos 27° y 28° del Reglamento General de Investigación y en los artículos 4° y 5° del Código de Ética para la investigación Científica de la Universidad Peruana Los Andes, salvo con autorización expresa y documentada de alguno de ellos.

Huancayo, 27 de junio del 2023



Catelin Esther Javier Orihuela
Bach. Catelin Esther Javier Orihuela
DNI 70225351
Responsable de investigación

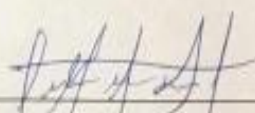


DECLARACIÓN DE CONFIDENCIALIDAD

Yo, Yhassmin Carhuamaca García, identificada con DNI 71311041, egresada de la Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica, vengo implementando el proyecto de investigación titulado “ EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO DE POLIFENOLES DE HUACATAY (*Tagetes minuta* L.) Y SU CAPACIDAD ANTIOXIDANTE, HUAYUCACHI, 2022”; en ese contexto, declaro bajo juramento que los datos que se generen como producto de la investigación, así como la identidad de los participantes serán preservados y serán usados únicamente con fines de investigación, de acuerdo a lo especificado en los Artículos 27° y 28° del Reglamento General de Investigación y en los artículos 4° y 5° del Código de Ética para la investigación Científica de la Universidad Peruana Los Andes, salvo con autorización expresa y documentada de alguno de ellos.

Huancayo, 27 de junio del 2023




Bach. Yhassmin Carhuamaca García
DNI 71311041
Responsable de investigación