

**UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**



**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**Comparación de tres métodos en la extracción de aceite esencial
de orégano silvestre (*Lippia ssp.*)**

TESIS

Para obtener el título profesional de

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

Bach: Alberth Eisten Ventura Grández

CHACHAPOYAS-PERÚ

2017

**UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**



**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**Comparación de tres métodos en la extracción de aceite esencial de orégano
silvestre (*Lippia ssp.*)**

TESIS

Para obtener el título profesional de

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

AUTOR : Bach. Alberth Eisten Ventura Grández

ASESOR : Ms. Segundo Grimaldo Chávez Quintana

CHACHAPOYAS-PERÚ

2017

DEDICATORIA

A Dios por su sabiduría.

A mis padres, Juana Grández Huamán y Antolín Ventura Reap por esculpirme de valores y su apoyo incondicional.

A mis hermanos, Roger Ventura Grández y Cleyvin Ventura Grández, por acompañarme siempre y darme ánimos para seguir adelante.

AGRADECIMIENTO

El presente trabajo de tesis primeramente me gustaría agradecerte a ti Dios por bendecirme para llegar hasta donde he llegado, porque hiciste realidad este sueño anhelado.

A la UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS por darme la oportunidad de estudiar y ser un profesional.

A mi asesor de tesis Ms. Segundo Grimaldo Chávez Quintana, quien con sus conocimientos, su experiencia, paciencia y motivación ha logrado orientarme para realizar esta tesis.

Al personal docente y técnico de los diferentes laboratorios de la UNTRM por su apoyo y paciencia durante la parte experimental y análisis realizados en la presente investigación.

AUTORIDADES UNIVERSITARIAS

PhD. JORGE LUIS MAICELO QUINTANA.

RECTOR

Dr. OSCAR ANDRÉS GAMARRA TORRES.

VICERRECTOR ACADÉMICO

Dra. MARÍA NELLY LUJÁN ESPINOZA.

VICERRECTORA DE INVESTIGACIÓN

Ing. M. Sc. ARMSTRONG FERNÁNDEZ JERI

DECANO DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS

VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS

El docente de la UNTRM que suscribe, hace constar que ha asesorado la realización de la tesis titulada “**Comparación de tres métodos en la extracción de aceite esencial de orégano silvestre (*Lippia sp.*)**” del egresado de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la UNTRM.

Bach. Alberth Eisten Ventura Grández

Se da el **Visto Bueno** al informe final de la tesis mencionada, dándole pase para que sea sometido a la revisión del Jurado Evaluador, comprometiéndose a supervisar el levantamiento de las observaciones dadas por el Jurado Evaluador, para su posterior Sustentación.

Chachapoyas, 27 de junio de 2017

Ms. Segundo Grimaldo Chávez Quintana

Asesor

DECLARACIÓN JURADA DE NO PLAGIO

Yo, Alberth Eisten Ventura Grandez, identificado con DNI N° 46823353, estudiante de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.

Declaro bajo juramento que:

1. Soy autor de la tesis titulada:
“Comparación de tres métodos en la extracción de aceite esencial de orégano silvestre (Lippia sp.)”
La misma que presento para optar:
El título profesional de Ingeniero Agroindustrial.
2. La tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente, para la cual se han respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas.
3. La tesis presentada no atenta contra los derechos de terceros.
4. La tesis no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
5. Los datos publicados en los resultados son reales, no han sido falsificados, ni duplicados, ni copiados,

Por lo expuesto, mediante la presente asumo toda responsabilidad que pudiera derivarse por la autoría, originalidad y veracidad del contenido de la tesis, así como por los derechos sobre la obra y/o invención presentada. Asimismo, por la presente me comprometo asumir además todas las cargas pecuniarias que pudieran derivarse para LA UNTRM en favor de terceros por motivos de acciones, reclamaciones o conflictos derivados del incumplimiento de lo declarado o las que encontraren causa en el contenido de la tesis.

De identificarse fraude, piratería, plagio, falsificación o que el trabajo de investigación haya sido publicada anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones civiles y penales que de mi acción se deriven.

Chachapoyas, 27 de junio de 2017

JURADO EVALUADOR

Ing. M. Sc. ARMSTRONG FERNÁNDEZ JERI
PRESIDENTE

Ing. LIZETTE DANIANA MÉNDEZ FASABI
SECRETARIO

Ing. MsC. TONY STEVEN CHUQUIZUTA TRIGOSO
VOCAL

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTO	ii
AUTORIDADES UNIVERSITARIAS	iii
VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS.....	iv
DECLARACIÓN JURADA DE NO PLAGIO	v
JURADO EVALUADOR.....	vi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVO.....	1
III. MARCO TEÓRICO	2
3.1 Antecedentes.....	2
3.2 Bases teóricas.....	4
<i>Lippia sp</i>	4
Aceite esencial	4
Composición química de los aceites esenciales.....	5
Métodos de extracción.....	7
3.3 Definición de términos básicos.....	10
IV. MATERIAL Y MÉTODOS.....	11
4.1. Variables de estudio	11
4.2. Diseño de investigación	11
4.3. Metodología	12
Recolección del material vegetal	12
Extracción del aceite esencial	12
Evaluación de la variable respuesta	13

V.	RESULTADOS.....	16
5.1.	Rendimiento.....	16
5.2.	Tiempo de extracción.....	17
5.3.	Calidad.....	17
	Índice de refracción.....	17
	Actividad antioxidante.....	18
VI.	DISCUSIÓN.....	19
VII.	CONCLUSIONES.....	21
VIII.	RECOMENDACIONES.....	22
IX.	BIBLIOGRAFÍA.....	23

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla. 1. La taxonomía del <i>Lippia sp.</i>	4
Tabla 2. La composición química del aceite esencial con base en los grupos funcionales de moléculas.	5
Tabla 3. Las industrias usuarias de productos aromáticos naturales y aceites esenciales.	6
Tabla 4. Los parámetros utilizados para el control de calidad de aceites esenciales	7
Tabla 5. Variables de estudio	11
Tabla 6. Arreglo experimental empleado	11
Tabla 7. Rendimiento del aceite esencial de orégano silvestre obtenida por tres métodos de extracción.....	16
Tabla 8. Tiempo de extracción de tres métodos de aceite esencial de orégano silvestre.	17
Tabla 9. Índice de refracción de, aceite esencial de orégano silvestre.	17
Tabla 10. Capacidad antioxidante (IC50) del aceite esencial de orégano silvestre.	18
Tabla. 11. Evaluación rendimiento del aceite esencial de orégano silvestre.....	30
Tabla. 12. Tiempo de extracción de orégano silvestre.....	30
Tabla. 13. Determinación del porcentaje de captación de radicales libre (DPPH) del aceite. ..	31
Tabla. 14. Evaluación de la actividad antioxidante (IC50)	32
Tabla. 15. Análisis de varianza de los resultados.....	32
Tabla. 16. Comparaciones múltiples de medias de los resultados, según la prueba tukey al 5 % de error.....	33
Tabla. 17. Subconjuntos homogéneos de los resultados.....	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Rendimiento del aceite esencial de orégano silvestre obtenida por tres métodos de extracción.....	16
Figura 2. Peso del material vegetal para someter a extracción.	28
Figura 3. Fotografía de la extracción de arrastre de vapor.	28
Figura 4. Extracción por hidrodestilación.	29
Figura 5. Fotografía de pretratamiento (6 minutos) en microondas para hidrodestilación asistida.	29
Figura 6. Aceite esencial obtenido, después de decantar.....	30

RESUMEN

Se evaluó la obtención de aceite esencial de *Lippia sp.* (orégano silvestre), mediante tres métodos de extracción (arrastre de vapor, hidrodestilación e hidrodestilación asistida con microondas). Los métodos fueron evaluados en función a rendimiento % (v/p), tiempo de extracción (h) y calidad [índice de refracción (IR) y poder antioxidante (DPPH)] del aceite esencial obtenido por triplicado. Se trabajó con muestras de orégano silvestre recolectadas en el distrito de Luya, provincia de Luya, región Amazonas. El método de destilación por arrastre de vapor permitió obtener un mayor rendimiento (2,41 ml/g), la hidrodestilación requiere de menor tiempo (2,24 h) y el aceite esencial obtenido por el método de hidrodestilación tuvo mayor actividad antioxidante.

ABSTRACT

The preparation of essential oil of *Lippia* spp. (Wild oregano) by three methods of extraction (steam trapping, hydrodistillation and microwave assisted hydrodistillation). The methods were evaluated as a function of % (v / w) yield, extraction time (h) and quality [refractive index (IR) and antioxidant power (DPPH)] of the essential oil obtained in triplicate. It was worked with samples of wild oregano harvested in the Luya district, province of Luya, Amazonas region. The steam distillation method allowed to obtain a higher yield (2.41 ml / g), the hydrodistillation required a shorter time (2.24 h) and the essential oil obtained by the hydrodistillation method had higher antioxidant activity.

I. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial se conocen dos tipos de orégano comercial: el europeo *Origanum vulgare* de la familia Labiatae y el americano (*Lippia sp.*) de la familia Verbernaceae. Ambos se caracterizan por su amplia distribución y sus cualidades aromáticas. El género *Lippia* en América, abarca diversas especies y la composición química del aceite esencial es similar a la del orégano europeo (Kintzios, 2002).

Por sus propiedades el aceite esencial de orégano, es demandado por las industrias farmacéutica, refresquera y de perfumería. Por lo que debe reunir ciertas cualidades para asegurar su calidad, seguridad y eficacia (Acuña & Cruz, 2008). Los aceites esenciales de las plantas aromáticas se pueden extraer mediante diferentes métodos (prensado, destilación con vapor de agua, extracción con solventes volátiles, enfleurage, con fluidos supercríticos, etc.) (Alcaraz , Rodríguez , & Real , 2012)

Las técnicas de extracción a utilizar dependen del tipo de aceite a obtener, la especie y el futuro uso que se le vaya a dar al aceite esencial; puesto que en la agroindustria se requiere de aceites esenciales de alta calidad, es necesaria la evaluación de diferentes métodos de extracción. (Álvarez & Uribe , 2004).

Actualmente en la región Amazonas encontramos una gran diversidad de especies de hierbas aromáticas entre ellas el *Lippia sp* (orégano silvestre). Por tratarse de una especie poco estudiada, no se conoce una técnica de obtención de su aceite esencial óptima. (León, 2006). El interés de esta investigación nace por la necesidad de conocer los métodos de extracción de su aceite esencial de orégano silvestre. Con la finalidad de desarrollar tecnologías de aprovechamiento de la biodiversidad, el cual es fundamental para el sector productivo local porque permite diversificar e incrementar el nivel competitivo.

II. OBJETIVO

El objetivo de investigación fue comparar tres métodos en la extracción de aceite esencial de orégano silvestre (*Lippia sp.*).

III. MARCO TEÓRICO

3.1 Antecedentes

Comparación de dos métodos de extracción de aceite esencial utilizando *Piper aduncum* (cordoncillo) procedente de la zona cafetera. En la Universidad Nacional de Colombia sede Manizales en diciembre del 2003 se obtuvo aceite esencial de *P. aduncum*, procedente de la zona cafetera, se extrajo de hojas y espigas utilizando las técnicas de arrastre con vapor de agua e hidrodestilación. El mejor rendimiento (2,1493%) fue obtenido por el método de hidrodestilación aplicado a las espigas del material, luego de incluir en el montaje el manejo de equipos presurizados (Albarracín & Montoya, 2003).

Extracción asistida con microondas de aceite esencial de Acuyo (*Piper Auritum*) y evaluación de su efecto antifúngico contra *Penicillium Expansum*. En este trabajo se realizó la extracción asistida por microondas del aceite esencial de hojas de acuyo (*P. auritum*) que crece de forma silvestre en la zona central del estado de Veracruz, al cual se le determinó rendimiento, composición química, propiedades físicas (índice de refracción, densidad y color) y se probó su efectividad como agente antifúngico en sistemas modelo contra *P expansum*. El rendimiento de la extracción fue alto (2,85%), comparado con el reportado con otros métodos de extracción; El índice de refracción del aceite esencial fue de 1.5283 ± 0.00007 . Los parámetros de color obtenidos para el aceite esencial de acuyo fueron: $L=86.37 \pm 0.1768$, $a=-0.41 \pm 0.0637$ y $b=20.70 \pm 0.1556$, por lo que el aceite califica como transparente con tono amarillo/verde (Gómez, Morales, & Lopez, 2016).

Comparación de la hidrodestilación asistida por radiación de microondas (MWHD) con hidrodestilación convencional (HD) en la extracción de aceite esencial de *Minthostachys mollis*. En Colombia en la universidad de Cartagena se ha extraído y caracterizado aceite esencial a partir de las hojas de la especie vegetal *M. mollis* mediante hidrodestilación (HD) e hidrodestilación asistida por radiación con microondas (MWHD). El aceite esencial presentó rendimientos con valores de 0,09% (HD) y 0,92% (MWHD), e índice de refracción 1,47 HD y 1,4655 MWHD.

Concluyendo que la MWHD es una técnica rápida, eficiente y relativamente económica en comparación con la HD convencional (Torrenegra, 2014).

Comparación de diferentes métodos de extracción para el análisis de los metabolitos secundarios volátiles de *Lippia alba*, cultivado en Colombia, y la evaluación de Su actividad antioxidante in vitro. En esta investigación utilizaron los métodos de hidrodestilación (HD), extracción simultánea por disolución de disolvente (SDE), hidrodestilación asistida por microondas (MWHD) y la supercrítica (SFE) para aislar los metabolitos secundarios volátiles de las hojas y tallos frescos del *L. alba*. Los componentes principales aislados del material vegetal fresco fue limoneno (27-77%), carvona (14-30%), piperitona (0,3-0,5%), piperitenona (aproximadamente 0,4%) y β - (0,5 - 6,5%). La actividad antioxidante in vitro del aceite esencial de *L. alba*, obtenido por hidrodestilación se evaluó mediante determinación de Hexanal, el principal compuesto de carbonilo liberado por el ácido linoleico sometido a peroxidación (1mm Fe²⁺, 37°C, 12 h) y por cuantificación de este ácido como su éster metílico. En las mismas condiciones, el aceite esencial de *L. alba* HD y la vitamina E exhibieron un antioxidante similar efectos (Stashenko, Jaramillo, & Martínez, 2003).

Actividad antioxidante in vitro de las hojas y flores metanólicas extractos de *Lippia alba*. La actividad antioxidante in vitro de hojas metanólicas y extracto de flores de *L. alba* fue determinado por el ensayo de escamación de radicales libres de DPPH. También se determinó el poder reductor de los extractos. Se utilizó ácido ascórbico como control estándar y positivo para ambos análisis. Se realizó todo el análisis con el uso del espectrofotómetro UV-Visible. Las hojas y flores metanólicas los extractos de *L. alba* habían mostrado un radical DPPH (1, 1-difenil-2-picril-hidrazil) muy significativo en comparación con el antioxidante de control. La actividad de eliminación del radical DPPH del extracto se incrementó con la concentración creciente. La actividad antioxidante se analizó el valor de CI50. Concluyeron que los extractos de *L. alba* tienen una fuente potencial de antioxidantes de origen natural (Naznin & Hasan, 2009).

3.2 Bases teóricas

Lippia sp

El género *Lippia* está constituido por especies entre hierbas y arbustos, que se encuentran distribuidas principalmente en América central, América del sur y África tropical. Son especies de interés económico, por sus diversos usos, como fuente de aceites y extractos con propiedades antimicrobianas, larvisida, insecticida, antibacterial, anti fúngica y antioxidante, entre otras (Pascual, Slowing, Carretero, & Sanchez, 2001).

Tabla. 1. *La taxonomía del Lippia sp.*

Categoría	Taxonómica
Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsidae
Orden:	Lamiales
Familia:	Verbenaceae
Género:	<i>Lippia</i>

Fuente: Sánchez (2007)

Aceite esencial

Los aceites esenciales o esencias vegetales son mezclas de un número variable de sustancias orgánicas olorosas y que son empleadas en perfumería, en la industria alimentaria o como fuentes de materias primas (Dominguez, 1985). Son mezclas de componentes volátiles, producto del metabolismo secundario de las plantas; en su composición química entran hidrocarburos del grupo de los terpenos, junto con compuestos oxigenados de bajo peso molecular (alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos), que son los que les dan a los aceites esenciales el aroma que los caracteriza (Alcaraz, Rodríguez, & Real, 2012).

Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y son muy importantes en la industria

cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos, colorantes, antioxidantes, conservantes y saborizantes) (López L, 2004).

Composición química de los aceites esenciales

La composición química de los aceites esenciales es muy compleja, los metabolitos secundarios volátiles se pueden clasificar con base en los grupos funcionales que contienen sus moléculas, según se muestra en la tabla 1.

Tabla 2. *La composición química del aceite esencial con base en los grupos funcionales de moléculas.*

Grupo funcional	Naturaleza química	Ejemplo
Hidrocarburos	Terpénicos	Limonemo, α -terpinemo
	Aromáticos	Cumeno ρ -cimeno
	Sesquiterpénicos	Trans- β -cariofileno
	Monoterpénicos	citral
Aldehídos	Alifáticos	Nonanal, octadenal
	Aromáticos	Cinamaldehido
	Monoterpénicos	Geraniol, citrolenolol
Alcoholes	Alifáticos	3-Decanol
	Sesquiterpénicos	Espatulanol, cedrol
	Arómaticos	Alcoholes bencilico
Fenoles	Aromáticos	Timol, carvacrol

Fuente: Díaz (2007)

Tabla 3. *Las industrias usuarias de productos aromáticos naturales y aceites esenciales.*

Industrias	Aplicaciones
Alimenticia	Salsas, condimentos, bebidas refrescantes, alimentos procesados y enlatados
Licorera	Aperitivos y saborizantes
Cosmética	Perfumes, dentífricos, cremas, lociones
Farmacéutica	Veterinaria, antisépticos, analgésicos, aromaterapia y homeopatía
Uso domestico	Desodorantes, desinfectantes del ambiente y jabones.
Agroquímica	Bioinsecticidas y aleloquímicos
Textil	Elaboración de enmascaradores de olores y tratamiento con mordientes después del teñido
Petroquímica y minería	Utiliza esencias o terpenos derivados de ellas como vehículos flotantes y lubricantes.
Pinturas	Enmascaradores de olores disolvente biodegradable.
Química Fina	Precursores químicos, por ejemplo citral, safrol, trementina.

Fuente: Díaz (2007)

Tabla 4. *Los parámetros utilizados para el control de calidad de aceites esenciales*

Parámetros	Descripción	
Características organolépticas	Olor	
	Color	
Determinaciones físicas	Densidad	
	Miscibilidad en etanol	
	Índice de refracción	
	Poder rotatorio	
Índices químicos	Índice de acidez	
	Índice de fenoles	
	Índice de éster	
	Determinación de aldehídos y cetonas	
Características Cromatografías	Cuantificación de los componentes principales	Fuente: Díaz (2007)
	Análisis por cromatografía de gases (GC-MS, GC)	
Características espectroscópicas	Ultravioleta	
	Infrarrojo	
	RMN	

Métodos de extracción

Existen diferentes métodos para obtener aceites esenciales, entre ellos se encuentran: Extracción por arrastre de vapor, por hidrodestilación, con solventes orgánicos, con maceración, el prensado, extracción por microondas, la extracción con fluidos supercríticos, etc (Stasheko, 1996). A continuación se describe algunos de ellos.

- ❖ **Destilación por arrastre de vapor.** Es el método más antiguo y sencillo método para obtener aceites esenciales, a partir del material vegetal lo más fresco posible (Quintero , 2004). Esta es una operación que es utilizado para separar sustancias insolubles en agua y de elevado punto de ebullición, este método permite destilar sustancia a menor temperatura evitando su descomposición. Los vapores del producto volátil son arrastrados por vapor de agua sobrecalentado, procedimiento que permite extraer los compuestos volátiles orgánicos de los vegetales que los producen, separándoles y purificándoles de otros compuestos sin que lleguen a modificarse. Esta técnica es particularmente útil cuando la sustancia en cuestión hierve por encima de los 100°C a presión atmosférica y se descompone a la temperatura de ebullición, ya que la presión de sus vapores junto al vapor del agua, sumadas vencen a la presión atmosférica y dan lugar a la destilación (Barba, 1993).
- ❖ **Hidrodestilación.** El término hidrodestilación es el proceso para obtener el aceite esencial de una planta aromática, mediante el uso del vapor saturado a presión atmosférica. En la hidrodestilación se usa vapor saturado, pero la materia prima está en contacto íntimo con el agua generadora del vapor. La generación del vapor puede ser local (hervidor), remota (caldera) o interna (base del recipiente). Conforme el vapor entra en contacto con el lecho, la materia prima se calienta y va liberando el aceite esencial contenido y éste, a su vez, debido a su alta volatilidad se va evaporando. Al ser soluble en el vapor circundante, es “arrastrado”, corriente arriba hacia el tope del hidrodestilador. La mezcla, vapor saturado y aceite esencial, fluye hacia un condensador, mediante un “cuello de cisne” o prolongación curvada del conducto de salida del hidrodestilador (Márquez, 2011).
- ❖ **Hidrodestilación asistida.** Hidrodestilación asistida, lo definimos como el proceso para obtener el aceite esencial de una planta aromática, mediante el uso del vapor saturado a baja presión, generando el vacío (Márquez, 2011).
- ❖ **Hidrodestilación asistida por microondas.** La técnica de extracción asistida por microondas es promisoria en la química de productos naturales

(Quintero , 2004). Esta técnica consiste colocar en un matraz de 1000 mL 100 g de muestra secos y triturados, y 300 ml de agua destilada, posteriormente se introduce en el horno de microondas y se acopla a un condensador con sistema de recirculación de agua fría. Se selecciona las condiciones del horno de microondas al 80% de potencia (380 W) y así generar vapores. El vapor obtenido al llegar al condensador se enfría y se transforma en un extracto líquido que se recibe en un matraz. Se separa el aceite esencial por decantación. Los rendimientos conseguidos son similares a la hidrodestilación, pero el tiempo de operación es mínimo (Juárez, 2011).

- ❖ **Extracción con disolventes orgánicos.** Los solventes penetran en la materia vegetal y disuelven las sustancias, que son evaporadas y concentradas a baja temperatura. Después, se elimina el disolvente, obteniendo la fracción deseada. La selección del disolvente pretende que sea capaz de disolver rápidamente todos los principios y la menor cantidad de materia inerte, que tenga un punto de ebullición bajo y uniforme que permita eliminarlo rápidamente, pero evitando pérdidas por evaporación, químicamente inerte, para no reaccionar con los componentes de los aceites, no inflamable y barato. Este disolvente ideal no existe, y los más empleados son el éter de petróleo, con punto de ebullición de 30 a 70°C, que se evapora fácilmente y es inflamable, benceno, que disuelve también ceras y pigmentos, y alcohol, que es soluble en agua. Se emplea cuando hay componentes de peso molecular elevado que no son lo suficientemente volátiles. (Escudero, 1999).
- ❖ **Extracción por prensado o expresión.** Este método está creciendo a nivel mundial. Este método es aplicado en la extracción de aceites esenciales, aceites orgánicos, y para la producción de biocombustibles con la finalidad de incrementar el valor de los mismos (Gonzales, 2008).en el prensado el material vegetal es exprimido mecánicamente para liberar el aceite y este es recolectado y filtrado. Bien seas en prensas tipo Batch o en forma continua, dentro de estos se tienen los equipos: Tornillo sin fin de alta o

baja presión, extractor expeller, extractor centrífugo, extractor decanter y rodillos de prensa (Sanchez, 2006)

3.3 Definición de términos básicos

Extracción: La extracción es la técnica más empleada para separar un producto orgánico de una mezcla o de una fuente natural, también puede definirse como la separación de un componente de una mezcla por medio de un disolvente (Mejia, 2011).

Aceite esencial: Un aceite esencial es una mezcla de diferentes sustancias de tipo química que han sido sintetizadas por las plantas, siendo aquellas que consiguen dar ese aroma característico que poseen muchas planta, flores, especias, etc. Los aceites esenciales son productos químicos muy aromatizados, de tipo no graso y poco densas, pero bastante volátiles, lo que hace que sean fácilmente evaporadas (Méndez, 2010).

Calidad: La calidad se define como adecuación al uso, esta definición implica una adecuación del diseño del producto o servicio (calidad de diseño) y la medición del grado en que el producto es conforme con dicho diseño (calidad de fabricación o conformidad). La calidad de diseño se refiere a las características que potencialmente debe tener un producto para satisfacer las necesidades de los clientes y la calidad de conformidad apunta a cómo el producto final adopta las especificaciones diseñadas. (Juran , Gryna, & Frank, 1993).

Antioxidante. Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de un sustrato oxidable, actuando como donador de electrones (agente reductor). Todos los seres vivos que utilizan el oxígeno para obtener energía, liberan radicales libres, lo cual es incompatible con la vida a menos que existan mecanismos celulares de defensa que los neutralice. A estas defensas se las denomina Antioxidantes. Los niveles bajos de los mismos, o la inhibición de las enzimas antioxidantes causan estrés oxidativo y pueden dañar o matar las células (Alomar, 2007).

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Variables de estudio

Tabla 5. *Variables de estudio*

Variables dependientes	Variables independientes
Rendimiento % (v/p).	Métodos de extracción
Tiempo de extracción(h)	(Extracción por arrastre de vapor,
Calidad del aceite esencial	Extracción por hidrodestilación,
[Índice de refracción (IR),	Extracción por hidrodestilación
Poder antioxidante (DPPH)]	asistida con microondas)

4.2. Diseño de investigación

Teniendo en cuenta que la investigación es de un solo factor entonces se ha utilizado un Diseño Completamente al Azar (DCA) simple, donde la variable de estudio fue el método de extracción empleado (arrastre de vapor, hidrodestilación e hidrodestilación por microondas); los tratamientos se realizaron con tres repeticiones. Para el análisis de varianza se utilizó un cuando ANVA para el diseño completamente al azar con igual número de repeticiones por tratamiento. Para la comparación de medias se utilizó la prueba tukey al 5 % de error porcentual.

El arreglo experimental fue el que se indica en la tabla 6.

Tabla 6. *Arreglo experimental empleado*

Variable respuesta	Tratamientos (métodos de extracción)		
	Método 1	Método 2	Método 3
Rendimiento	R1	R1	R1
Tiempo de extracción	R2	R2	R2
Calidad	R3	R3	R3

4.3. Metodología

Recolección del material vegetal

Las muestras de orégano fueron recolectadas aproximadamente a 15 minutos al sur del distrito de Luya (2278 m.s.n.m), provincia de Luya, región Amazonas, en el mes de marzo del 2017 a horas de 4:30 pm. El material vegetal fue empacado y luego trasladado al laboratorio de ingeniería de la UNTRM-A. Inmediatamente se extendieron y se dejó a temperatura ambiente por cinco días para su secado. Posteriormente se separó las ramas de las hojas, cabe resaltar que se trabajó solo con hojas. Luego se pesaron y se sometieron al proceso de extracción.

Extracción del aceite esencial

La práctica se llevó a cabo en el Laboratorio de Ingeniería de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias de la UNTRM-A, se realizó por triplicado cada método. Se empleó un equipo de destilación con capacidad para 1 L (balón de destilación).

- ❖ **Destilación por arrastre de vapor.** Se montó el equipo de destilación. Luego se pesaron un promedio de 100 g de material vegetal. Seguidamente se colocó agua destilada en un matraz Kitazato (generador de vapor) y en el otro matraz las hojas del *Lippia sp.* Se calentó con un mechero el matraz con agua hasta ebullición. Después de un tiempo se suspendió el proceso cuando se terminó de extraer el aceite esencial. En seguida se separó el aceite esencial por decantación. Se colocó el aceite en botella ámbar de 10 ml con tapa y se etiquetó. Inmediatamente fueron almacenados a una temperatura de -10°C hasta su análisis.
- ❖ **Hidrodestilación.** Se armó el equipo de hidrodestilación. Luego se pesó el orégano silvestre seco (100 g). En un matraz Kitazato se agredó agua destilada (400 ml) y la muestra (100g). Se calentó el matraz con el mechero hasta ebullición. El proceso se suspendió cuando haya terminado de extraer el aceite esencial. Seguidamente el aceite esencial se separó por decantación. Se colocó la muestra en una Botella ámbar de 10 ml con

tapa y se etiquetó. El aceite fue almacenado a una temperatura de -10°C hasta su análisis.

- ❖ **Hidrodestilación asistida con microondas.** El método se realizó conforme al procedimiento descrito por Juarez (2011) con algunas modificaciones: Se pesó el orégano silvestre seco (80 g). En un matraz Kitazato se agregó agua destilada (400 ml) y la muestra (80g). El matraz con la muestra se sometió a un horno microondas ELECTROLUX con un ciclo de irradiación de 6 minutos y a una potencia del 80%. En seguida se colocó el matraz en el equipo de hidrodestilación. Se suministró calor al matraz con el mechero. El proceso se suspendió cuando terminó de extraerse el aceite esencial. Seguidamente el aceite se separó por decantación. Se colocó la muestra en una Botella ámbar de 10 ml con tapa y se etiquetó. El aceite fue almacenado a una temperatura de -10°C hasta su análisis.

Evaluación de la variable respuesta

Determinación del rendimiento, tiempo de extracción y calidad (Índice de refracción y poder antioxidante) del aceite esencial de *Lippia sp.*

- ❖ **Rendimiento**

El rendimiento se midió en % (v/p): Se pesó el material vegetal seco (muestra) en cada extracción. Después se midió en volumen del aceite. Luego se utilizó la siguiente ecuación:

$$\%Rendimiento = \frac{V}{W} \times 100 \text{ (Ecuación n}^\circ \text{ 1)}$$

Donde, V es el volumen (ml) del aceite esencial y w es el peso (g) de la muestra.

❖ **Tiempo de extracción.**

Se registró la hora de inicio (H_i), cuando empezó a caer la primera gota. También se registró la hora final (H_f), cuando termino de extraerse el aceite esencial. Luego se utilizó la siguiente ecuación.

$$TE(h) = H_f - H_i \text{ (Ecuación } n^{\circ}2)$$

Donde, H_i es hora de inicio y H_f hora final

❖ **Calidad**

Índice de refracción

Se esta variable se utilizó el método descrito por García (2007):

Calibración del refractómetro tipo ABE modelo 2WAS: Se depositó una gota de agua destilada en el prisma principal y se dejó reposar por 30 segundos, en seguida se cerró la tapa y se ajustó el vial de calibración hasta que la línea de sombra llegue a la marca cero, luego se abrió la tapa y se secó el prisma principal con un paño suave de algodón (García, 2010).
Medición de la muestra: Se agregó una gota de aceite al prisma principal y se cerró la cubierta, una sola gota es suficiente para obtener una lectura. Se observó a través del ocular y se ajustó la luz. Luego se registró el índice de refracción (IR), cabe resaltar que la lectura se realizó a temperatura ambiente (20 °C aproximadamente), posteriormente se secó el refractómetro con un paño de algodón.

Actividad antioxidante

Para determinar la actividad antioxidante se utilizó el método del DPPH, desarrollado por Brad, Culvelier y Berset (1995); cuyo fundamento es que este radical tiene un electrón desapareado y es de un color azul-violeta, y se decolora a un amarillo pálido por reacción de una sustancia antioxidante, la absorbancia es medida por espectrometría a 717 nm, y con la diferencia de absorbancia se calcula el porcentaje de captación de radicales libres.

Procedimiento: Se preparó 100 ml de solución DPPH (2,2-difenil-1-picril hidrazilo) en metanol de 75 mg/ml. Luego se preparó una solución

metabólica de muestra a analizar en una concentración de 300 ug/ml (solución A). Se preparó el blanco con metanol agua 2:1 para ajustar el espectrofotómetro a cero. En seguida el blanco de muestra con 0,75 ml de muestra (solución A) y 1,5 de metanol. El patrón de referencia fue preparado con 1,5 de solución DPPH y 0,75 ml de agua. También se preparó la muestra con 0,75 de solución A y 1,5 ml de solución DPPH, se dejó en reposo por 30 minutos y se realizó la lectura a 517 nm en un espectrofotómetro digital UNICO modelo S-2100-uvE. Seguidamente se midió la absorbancia del patrón de referencia y del blanco de muestra. Las observaciones se realizaron por triplicado. Posteriormente, con los valores de la absorbancia obtenidas se determina el % de captación de radicales libre (DPPH) mediante la siguiente formula:

$$\text{Captacion RL} = \left[1 - (A2 - A3)/A1\right] \times 100 \text{ (Eccuación n3)}$$

Donde; A1 es absorbancia del patrón de referencia, A2 absorbancia de la muestra, y A3 absorbancia del blanco de muestra.

La práctica se realizó a 4 concentraciones (300, 400, y 600 ug/ml). Posteriormente se determinó actividad antioxidante en concentración inhibitoria medio máxima (IC50). Se utilizó como control a la vitamina C.

V. RESULTADOS

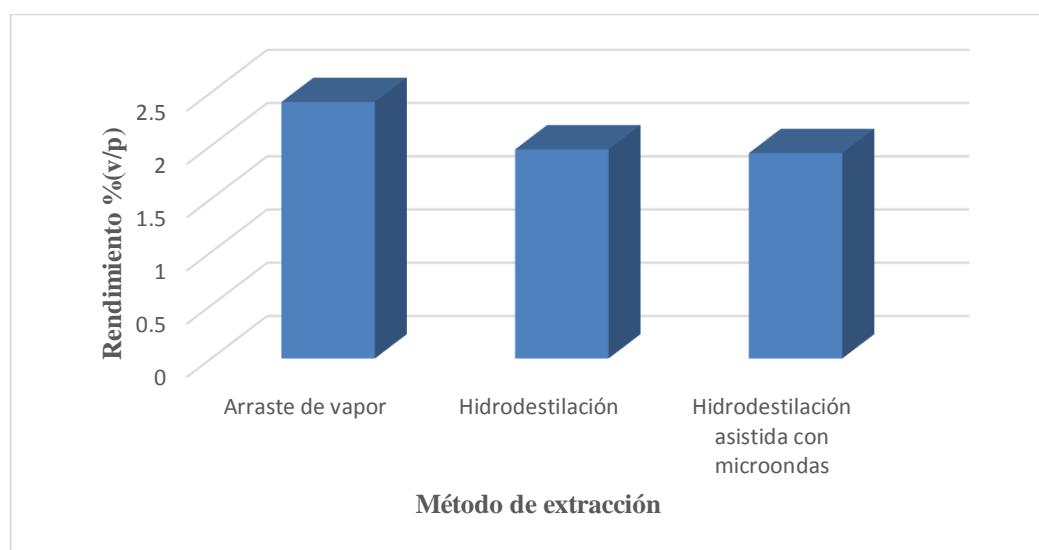
5.1. Rendimiento

El rendimiento promedio de aceites esenciales de orégano silvestre obtenido por tres métodos (por arrastre de vapor, hidrodestilación e hidrodestilación asistida con microondas), presentaron valores entre 1.93% y 2.41%, tal como se muestra en la tabla 6. La diferencia del rendimiento de esencial obtenida por arrastre de vapor con los demás métodos, fueron notorias tal como se muestra en la figura 1 siendo significativos de acuerdo al análisis de varianza y la prueba tukey al 95% de confianza (anexo 5).

Tabla 7. Rendimiento del aceite esencial de orégano silvestre obtenida por tres métodos de extracción.

Método de extracción	Rendimiento % (v/p)
Arrastre de vapor	2,41%
Hidrodestilación	1,964%
Hidrodestilación asistida con microondas	1,929%

Figura 1. Rendimiento del aceite esencial de orégano silvestre obtenida por tres métodos de extracción.



5.2. Tiempo de extracción

Como se puede observar en la tabla 7, el método que demora menos (2,24 h) en extraerse es hidrodestilación, y el demora mas es por arrastre de vapor (3,23 h).

De acuerdo la tabla 7 y a la prueba tukey al 5% de error porcentual (anexo 5) se determinó que las diferencias entre los tiempos de extracción de los métodos fueron significativos.

Tabla 8. *Tiempo de extracción de tres métodos de aceite esencial de orégano silvestre.*

Método de extracción	Tiempo de extracción (horas)
Arrastre de vapor	3,23
Hidrodestilación	2,24
Hidrodestilación asistida con microondas	2,95

5.3. Calidad

Índice de refracción

Como se puede apreciar en la tabla 8, el método de extracción arrastre de vapor tiene un IR (1,485987) menor que los demás métodos. De acuerdo a la prueba tukey a un nivel de 95% (anexo 5), se determinó que existe diferencia significativa entre los métodos de arrastre de vapor e hidrodestilación asistida con microondas, y para las demás comparaciones entre los métodos no existe diferencia significativa.

Tabla 9. *Índice de refracción de, aceite esencial de orégano silvestre.*

Método de extracción	Índice de refracción
Arrastre de vapor	1,4860
Hidrodestilación	1,4876
Hidrodestilación asistida con microondas	1,4878

Actividad antioxidante

La actividad antioxidante del aceite esencial de orégano silvestre se muestra en la tabla 9, donde podemos ver que el poder antioxidante (4,42) se obtuvo el aceite obtenido por hidrodestilación y el menor (3,533) por el método hidrodestilación asistida con microondas. Según la prueba tukey al 95% de confianza (anexo 5) podemos apreciar que existe diferencia significativa entre los métodos, excepto para arrastre de vapor e hidrodestilación asistida con microondas.

Tabla 10. *Capacidad antioxidante (IC50) del aceite esencial de orégano silvestre.*

Método de extracción	Actividad antioxidante (IC50)
Arrastre de vapor	3,608
Hidrodestilación	4,420
Hidrodestilación asistida con microondas	3,533

VI. DISCUSIÓN

La extracción mediante arrastre de vapor presentó rendimiento del 2,41%, el método hidrodestilación tuvo un 1,964%, y el método hidrodestilación asistida con microondas presento 1,923% de rendimiento. Lo anterior es acorde con lo reportado por Muñoz (2007) en la literatura para el género *Lippia*, con valores que fluctúan entre el 1 a 3% del aceite. Por otro lado el método de extracción por arrastre de vapor tuvo mayor rendimiento que los demás métodos. Este concuerda descrito por Barba (1993), quien indica que el método de arrastre de vapor se utiliza a nivel industrial debido a su alto rendimiento. Los métodos hidrodestilación e hidrodestilación asistida con microondas presentaron rendimiento de 1,964 y 1,929% respectivamente. Ambos tuvieron rendimientos similares y más bajos que por el método de arrastre de vapor. Esto no concuerda con la literatura reportado por Juárez (2011), El cual tuvo resultados donde la hidrodestilación asistida con microondas tiene mayor rendimiento que la hidrodestilación normal. En este caso se puede deber posiblemente a las modificaciones del procedimiento descrito por Juárez (2011) para la hidrodestilación asistida con microondas.

El método de hidrodestilación demora un tiempo de 2,24 horas e hidrodestilación asistida con microondas demora 2,95 horas. Esto no está acorde con lo reportado por Golmakani y Rezaei (2088), quien en una comparación realizada entre un método convencional de hidrodestilación con hidrodestilación asistida con microondas para la extracción de aceite esencial de *Lippia alba*, dio como resultado un tiempo de extracción; 75 minutos hidrodestilación asistida con microondas y 2 horas con hidrodestilación normal. Esto se debe a las modificaciones del procedimiento descrito por Juárez (2011) para la hidrodestilación asistida con microondas.

La actividad antioxidante del aceite esencial del orégano silvestre tuvo efectos parecidos a la vitamina C, esto indica que el aceite esencial del *Lippia sp* tiene un buen actividad antioxidante. Estos resultados se ajustan a lo reportado por Stashenko, Jaramillo y Martínez (2003), quienes en estudio de comparación de diferentes métodos de extracción para el análisis de los metabolitos secundarios volátiles de *Lippia alba*, cultivado en Colombia, y la evaluación de Su actividad antioxidante in vitro; concluyen que el aceite esencial de *L. alba* y la vitamina E tienen efectos similares en su actividad antioxidante. Asimismo Naznin y Hasan (2009) en su investigación “Actividad antioxidante in vitro de las hojas y flores metanólicas extractos de *Lippia Alba*”; concluyeron que el género *Lippia* es una fuente potencial de antioxidantes de origen natural. Por otro lado el método de extracción por hidrodestilación obtuvo una mayor actividad antioxidante. Este resultado coincide con Stashenko, Jaramillo y Martínez (2003), quien en su investigación de comparación de diferentes métodos de extracción para el análisis de los metabolitos secundarios volátiles de *Lippia alba*, cultivado en Colombia, y la evaluación de Su actividad antioxidante in vitro, obtuvo como resultado que el aceite obtenido de *L alba* por hidrodestilación normal, en las mismas condiciones, presentó una mayor actividad antioxidante.

VII. CONCLUSIONES

- El rendimiento de los aceites esenciales de *Lippia sp* depende del método de extracción, obteniéndose mayor rendimiento por método de arrastre de vapor.
- El método hidrodestilación normal e hidrodestilación asistida con microondas son métodos más rápidos.
- El método de extracción influye en la actividad antioxidante, obteniéndose mayor IC50 con el método por hidrodestilación normal.
- La actividad antioxidante encontrada en el aceite esencial de *Lippia sp* posibilita la realización de posteriores estudios, en la búsqueda de su aplicación en la industria de alimentos como posible sustituto de los antioxidantes sintéticos, dada la potencial capacidad para atrapar radicales libres.

VIII. RECOMENDACIONES

- Si se desea tener un método de extracción con alto rendimiento y que no requiera de tecnología sofisticada; se recomienda el método por arrastre de vapor. Y si se desea un método rápido se recomienda el método hidrodestilación normal.
- Realizar estudios sobre el aceite esencial del *Lippia sp*, en la búsqueda de su aplicación en la industria de alimentos como posible sustituto de los antioxidantes sintéticos, dada la potencial capacidad para atrapar radicales libres.
- Comparar el efecto antioxidante del aceite esencial de orégano silvestre con el de otros aceites esenciales y de otros antioxidantes comerciales.
- Se recomienda realizar un análisis bromatológico.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Acuña, & Cruz. (2008). *Estudio para la obtención de aceite de orégano de alta calidad*. Durango: instituto tecnológico de durango.
- Albarracin, G., & Montoya, C. (2003). *Comparación de dos métodos de extracción de aceite esencial utilizando piper aduncum (cordoncillo) procedente de la zona cafetera. manizales - colombia*.
- Alcaraz , L., Rodríguez , M., & Real , S. M. (2012). *Procedimientos para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas*. mexixo: primera edicion.
- Alomar, F. (2007). *ANTIOXIDANTES: captadores de radicales libres ó sinónimo de salud*. Madrid.
- Álvarez , Z., & Uribe , E. (2004). *Extracción de aceites esenciales con vapor de agua: banco de ensayos y propuesta de plan de negocio*. Medellin: universidad nacional de colombia.
- Barba, J. M. (1993). *introduccion al analisis de los productos naturales*. Mexico: universidad autonoma metropolitana.
- Brand, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). *Use of a free radicalnmethod to evaluateantioxidant activity*. Lebensm.
- Castañeda, C. B., Ramos, L. E., & Ibáñez, V. L. (2008). Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Revista Horizonte Médico*, 8(1), 56-72.
- Díaz , F. (2007). *Estudio comparativo de la composicion química y evaluación de la actividad antioxidante del aciete Esencial de (aloycia triphilla britton) cultivada en tres Reguiones de Colombia*. Colombia.
- Dominguez, A. (1985). *Metodo de investigacion fitoquimica*. mexico.
- Escudero, A. M. (1999). *Las Plantas de Extractos. Bases para un Plan de Desarrollo del Sector*. madrid.
- Fournet, A., Rojas de Arias, A., Charles, B., & Bruneton, J. (1996). Chemical constituents of essential oils of Mufia, Bolivian plants traditionally used as pesticides, and their insecticidal properties against Chagas' disease vectors. *Journal of Ethnopharmacology*, 52(1996), 145-149.
- Frankel, E. (1998). *Lipid oxidation* (Segunda ed.). Bridg water, UK: The Oily Press Ltd.

- García, A., Leyva, M. A., Martínez, J. R., & Stashenko, E. E. (2007). Determinación de la composición química y actividad antioxidante in vitro del aceite esencial de *Piper auritum* Kunth (piperaceae) difundida en la Costa Colombiana. *Scientia et Technica*, 1(33), 439-442. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4812535>
- García, I. M. (2010). *¿cómo utilizar el refractómetro?* colombia.
- Golmakani, a., & Rezaei, P. (2008). comparación entre un método convencional de hidrodestilación con hidrodestilación asistida con microondas para la extracción de aceite esencial de *Lippia alba*. madrid.
- Gómez, C., Morales, S., & Lopez, M. (2016). *Extracción asistida con microondas de aceite esencial de acuyo (piper auritum) y evaluación de su efecto antifúngico contra Penicillium expansum*. mexico.
- Gonzales, P. (2008). *Extracción de aceite de la semilla de calabacilla loca (cucurbita foetidissima) mediante biolixiviación y prensado*. Mexico.
- Granados C, Santafé G, & Yañez. (2012). Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar de. *Revista de la Facultad de Ingeniería*.
- Guala, M. S., Elder, E. V., Perez, G., & Chiesa, A. (2009). Evaluación del poder antioxidante de fracciones de aceite esencial crudo de *Schinus molle* L. obtenidas por destilación al vacío. *Información Tecnológica*, 20(2), 83-88. doi:doi:10.1612/inf.tecnol.4024it.08
- Guillén, M. D., Ruiz, A., Cabo, N., Chirinos, R., & Pascual, G. (2003). Characterization of sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil by FTIR spectroscopy and H NMR. comparison with linseed oil. *JAOCS*, 80(8), 755-762.
- Juárez, G. (2011). *Extracción asistida con microondas y arrastre de vapor de aceite esencial de epazote (Chenopodium ambrosoides) y su evaluación como agente antifúngico*. Mexico: Universidad de las Américas Puebla.
- Juran, M., & Gryna, J. (1993). *manual de control de calidad*. tercera.
- Kintzios, S. E. (2002). *Oregano: the genera Origanum and Lippia*.
- León, B. (2006). *Verbenaceae endémicas del Perú*. lima.
- Márquez, S. D. (2011). *Evaluación del rendimiento en la obtención del aceite "piper auritum kunth" mediante la hidrodestilación asistida por microondas*. Veracruz.
- Martínez, A. (1996). *Aceites esenciales*. Recuperado el 8 de agosto de 2016, de Universidad de Antioquia: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/esencias2001b.pdf>

- Mejia, G. (2011). *Quimica organica*. Bolivia.
- Méndez, Á. (2010). *quimica organics*. Mexico.
- Muñoz, A. (2007). *Composición y capacidad antioxidante de especies aromáticas y medicinales con alto contenido de Timol y Carvacrol*. Mexico.
- Naznin, A., & Hasan, N. (2009). *In Vitro Antioxidant Activity of Methanolic Leaves and Flowers*. Estados Unidos.
- Pascual, M. E., Slowing, K., Carretero, E., & Sanchez, D. (2001). *lippia: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review,j*.
- Paucar-menacho, L. M., Salvador-Reyes, r., Guillén-Sánchez, J., Capa-Robles, J., & Moreno-Rojo, C. (2015). Estudio comparativo de las características físico-químicas del aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.), aceite de oliva (*Olea europaea*) y aceite crudo de pescado. *Scientia Agropecuaria*, 6(4), 279-290. doi:DOI: 10.17268/sci.agropecu.2015.04.05
- Quintero , A. (2004). *Aceite esencial de las hojas de hyptis umbrosa salzm extraido por diferentes tecnicas*. venezuela.
- Rodríguez, A., Corazón-Guivin, M., Cachique, D., Mejía, K., Del Castillo, D., Renno, J.-F., & García-Dávila, C. (2010). Diferenciación morfológica y por ISSR (Inter simple sequence repeats) de especies del género *Plukenetia* (Euphorbiaceae) de la Amazonía peruana: propuesta de una nueva especie. *Revista Peruana de Biología*, 17(3), 325-330.
- Rodríguez, G., Villanueva, E., Glorio, P., & Baquerizo, M. (2015). Estabilidad oxidativa y estimación de la vida útil del aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil. *Scientia Agropecuaria*, 6(3), 155-163. doi:DOI: 10.17268/sci.agropecu.2015.03.02
- Rzedowski, J. (2002). *Flora del Bajío y de regiones adyacentes. Vernaceae*. mexixo: fascilolu 100.
- Sánchez, O. (2007). *Métodos de Evaluación de Riesgo de Extinción de las especies silvestres en México (MER)*. mexico.
- Sanchez, C. (2006). *extracción de aceites esenciales*. bogota.
- Semarant. (2007). *Manual de criterios técnicos que establece los criterios técnicos para el aprovechamiento sustentable de recursos forestales no maderables de clima árido y semiárido*. mexico.

- Stasheko, E. (1996). *Plantas aromáticas y aceites esenciales*. España: Universidad Industrial de Santander.
- Stashenko, E., Jaramillo, B., & Martínez, J. (2003). *Comparación de diferentes métodos de extracción para el análisis de los metabolitos secundarios volátiles de Lippia alba (Mill.) NORDESTE. Brown, cultivado en Colombia, y la evaluación de Su actividad antioxidante in vitro*. Bucaramanga.
- Torrenegra, M. (2014). *Comparación de la Hidro-destilación Asistida por Radiación de Microondas (MWHD) con Hidro-destilación Convencional (HD) en la Extracción*

ANEXOS

Anexo 1. Fotografías de la extracción del aceite esencial de orégano silvestre.

Figura 2. Peso del material vegetal para someter a extracción.



Figura 3. Fotografía de la extracción de arrastre de vapor.



Figura 4. Extracción por hidrodestilación.



Figura 5. Fotografía de pretratamiento (6 minutos) en microondas para hidrodestilación asistida.



Figura 6. Aceite esencial obtenido, después de decantar.



Anexo 2. Evaluación del rendimiento

Tabla. 11. Evaluación rendimiento del aceite esencial de orégano silvestre

Repetición	Tratamiento 1			Tratamiento 2			Tratamiento 3		
	Peso(gr)	V (ml)	RED (P/V)	Peso(gr)	V (ml)	RED (P/V)	Peso(gr)	V (ml)	RED (P/V)
r1	106.85	2.57	2.40523424	105.9731	2.07	1.95332589	89.7854	1.76	1.96022961
r2	103.1635	2.63	2.54935127	107.0645	1.98	1.84935249	85.6468	1.46	1.70467548
r3	109.0978	2.48	2.27318974	102.3963	2.14	2.08991926	90.0074	1.91	2.12204774
Rendimiento	T1		2.40925842	T2		1.96419922	T3		1.92898428

Anexo 3. Evaluación de tiempo de extracción.

Tabla. 12. Tiempo de extracción de orégano silvestre.

Repetición	Tiempo de extracción		
	Tratamientos		
	T1	T2	T3
R1	3.16	2.15	3.06
R2	3.24	2.33	2.58
R3	3.3	2.25	3.2
TE (horas)	3.2333	2.24333333	2.94666667

Anexo 4. Evaluación de la actividad antioxidante del orégano silvestre.

Tabla. 13. Determinación del porcentaje de captación de radicales libre (DPPH) del aceite.

Tratamiento 1	repetición 01			repetición 02			repetición 03		
con 300 ug	0.828	0.26511628	0.27255814	0.793	0.31534884	0.30387597	0.867	0.2455814	0.24403101
	0.813	0.27906977		0.809	0.30046512		0.881	0.23255814	
	0.819	0.27348837		0.814	0.29581395		0.858	0.25395349	
con 400 ug	0.795	0.31255814	0.30852713	0.691	0.41674419	0.39813953	0.775	0.33813953	0.37007752
	0.811	0.29767442		0.711	0.39813953		0.714	0.39488372	
	0.792	0.31534884		0.731	0.37953488		0.733	0.3772093	
con 500 ug	0.655	0.46325581	0.45860465	0.604	0.50325581	0.45953488	0.665	0.45116279	0.46387597
	0.66	0.45860465		0.667	0.44465116		0.634	0.48	
	0.665	0.45395349		0.682	0.43069767		0.655	0.46046512	
con 600 ug	0.616	0.49767442	0.50325581	0.543	0.56	0.56465116	0.613	0.50093023	0.50930233
	0.611	0.50232558		0.546	0.5572093		0.589	0.52325581	
	0.603	0.50976744		0.525	0.57674419		0.61	0.50372093	
Tratamiento 2	repetición 01			repetición 02			repetición 03		
con 300 ug	0.811	0.28697674	0.29472868	0.878	0.22976744	0.25302326	0.836	0.26139535	0.27875969
	0.813	0.28511628		0.838	0.26697674		0.794	0.30046512	
	0.784	0.31209302		0.843	0.26232558		0.822	0.2744186	
con 400 ug	0.896	0.31421648	0.32714055	0.851	0.34491115	0.33101777	0.825	0.36752827	0.35945073
	0.854	0.34814216		0.863	0.33796446		0.813	0.37722132	
	0.89	0.319063		0.894	0.31017771		0.867	0.33360258	
con 500 ug	0.812	0.3917609	0.39929995	0.793	0.40872375	0.40791599	0.801	0.4006462	0.41249327
	0.792	0.40791599		0.785	0.41518578		0.784	0.41437803	
	0.804	0.39822294		0.804	0.39983845		0.774	0.42245557	
con 600 ug	0.721	0.4733441	0.46203554	0.722	0.47415186	0.48276791	0.729	0.46607431	0.47953689
	0.735	0.46203554		0.698	0.49353796		0.709	0.4822294	
	0.749	0.45072698		0.714	0.48061389		0.699	0.49030695	
Método 3	repetición 01			repetición 02			repetición 03		
con 300 ug	1.2	0.35183066	0.34458429	1.247	0.32148997	0.31212989	1.215	0.34212034	0.32492837
	1.204	0.34954233		1.27	0.30830946		1.254	0.31977077	
	1.234	0.33237986		1.273	0.30659026		1.266	0.31289398	
con 400 ug	1.197	0.3604119	0.38386728	1.132	0.38739255	0.38376313	1.155	0.3765043	0.38911175
	1.123	0.402746		1.165	0.36848138		1.13	0.39083095	
	1.148	0.38844394		1.118	0.39541547		1.114	0.4	
con 500 ug	0.969	0.49370709	0.48360031	1.029	0.44641834	0.44030564	1.023	0.452149	0.47507163
	0.969	0.49370709		1.112	0.39885387		0.924	0.50888252	
	1.022	0.46338673		0.978	0.4756447		1.002	0.46418338	
con 600 ug	0.878	0.54691076	0.54691076	0.91	0.51461318	0.52722063	0.923	0.50945559	0.52397326
	0.865	0.55434783		0.897	0.52206304		0.879	0.53467049	
	0.891	0.53947368		0.857	0.54498567		0.891	0.5277937	

Tabla. 14. Evaluación de la actividad antioxidante (IC50)

Repetición	Métodos de extracción		
	Arrastre de vapor	Hidrodestilación	Hidrodestilación asistida por microondas
R1	3.85748219	4.75087108	3.35077793
R2	3.31042654	4.2154047	3.6980057
R3	3.65842697	4.29465649	3.55051245
IC50	3.60877856	4.42031076	3.53309869

Anexo. 5. Análisis de varianza y comparaciones múltiples de los resultados

Tabla. 15. Análisis de varianza de los resultados

Pruebas de efectos inter-sujetos			
Origen	Variable dependiente	F	Sig.
Tratamiento	IR	5,788	,040
	TE	19,659	,002
	R	8,278	,019
	IC50	11,425	,009

Tabla. 16. Comparaciones múltiples de medias de los resultados, según la prueba tukey al 5 % de error

Variable dependiente	(I) Trat	(J) Trat	Diferencia de medias (I-J)	Sig.	Intervalo de confianza al 95%		
					Límite inferior	Límite superior	
IR	HSD Tukey	T1	T2	-,0015900	,076	-,0033735	,0001935
			T3	-,0018133*	,047	-,0035968	-,0000299
		T2	T1	,0015900	,076	-,0001935	,0033735
			T3	-,0002233	,923	-,0020068	,0015601
		T3	T1	,0018133*	,047	,0000299	,0035968
			T2	,0002233	,923	-,0015601	,0020068
TE	HSD Tukey	T1	T2	,9900*	,002	,4915	1,4885
			T3	,2867	,259	-,2119	,7852
		T2	T1	-,9900*	,002	-1,4885	-,4915
			T3	-,7033*	,012	-1,2019	-,2048
		T3	T1	-,2867	,259	-,7852	,2119
			T2	,7033*	,012	,2048	1,2019
R	HSD Tukey	T1	T2	,445059201987443*	,034	,041316253118501	,848802150856385
			T3	,480274138955830*	,025	,076531190086888	,884017087824772
		T2	T1	-,445059201987443*	,034	-,848802150856385	-,041316253118501
			T3	,035214936968387	,962	-,368528011900555	,438957885837329
		T3	T1	-,480274138955830*	,025	-,884017087824772	-,076531190086888
			T2	-,035214936968387	,962	-,438957885837329	,368528011900555
IC50	HSD Tukey	T1	T2	-,811532192192746*	,018	-1,442928154370654	-,180136230014838
			T3	,075679871270812	,929	-,555716090907096	,707075833448720
		T2	T1	,811532192192746*	,018	,180136230014838	1,442928154370654
			T3	,887212063463558*	,012	,255816101285650	1,518608025641466
		T3	T1	-,075679871270812	,929	-,707075833448720	,555716090907096
			T2	-,887212063463558*	,012	-1,518608025641466	-,255816101285650

Tabla. 17. Subconjuntos homogéneos de los resultados

prueba	Rendimiento			
	Trat	N	Subconjunto	
			1	2
	T3	3	1,928,984,279,357,400	
	T2	3	1,964,199,216,325,790	
	T1	3		2,409,258,418,313,230
	Sig.		,962	1,000
			Tiempo de extracción	
	Trat	N	Subconjunto	
			1	2
	T2	3	22,433	
	T3	3		29,467
	T1	3		32,333
	Sig.		1,000	,259
HSD Tukey ^{a,b}			Índice de refracción	
	Trat	N	Subconjunto	
			1	2
	T1	3	14,859,867	
	T2	3	14,875,767	14,875,767
	T3	3		14,878,000
	Sig.		,076	,923
			actividad antioxidante	
	Trat	N	Subconjunto	
			1	2
	T3	3	3,533,098,692,679,070	
	T1	3	3,608,778,563,949,880	
	T2	3		4,420,310,756,142,630
	Sig.		,929	1,000