



## RESEARCH ARTICLE



## Effect of the conditioning and ultrasound-microwave sequential technique on the yield, chemical and functional properties of the essential oils and hydrolats extracted from the leaves of *Tagetes elliptica* Smith

Efecto del acondicionamiento y de la técnica secuencial ultrasonido-microondas sobre el rendimiento, propiedades funcionales y químicas del aceite esencial e hidrolatos extraídos de hojas de *Tagetes elliptica* Smith

Ruben Torre Alvarez<sup>1\*</sup> ; Diana Nolzaco Cama<sup>1</sup> ; Lena Tellez Monzon<sup>2</sup> 

<sup>1</sup> Facultad de Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria La Molina, Av. La Molina s/n, Ap. 12-056, Lima. Perú.

<sup>2</sup> Departamento académico de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú. Av. La Molina s/n, Ap. 12-056, Lima. Perú.

\* Corresponding author: [ltellez@lamolina.edu.pe](mailto:ltellez@lamolina.edu.pe) (L. Tellez Monzon).

Received: 12 May 2022. Accepted: 9 October 2022. Published: 29 November 2022.

### Abstract

Thermal regulation and ultrasound affect the physical, chemical, and antioxidant properties of essential oils and hydrosols extracted by microwaves from the leaves of *Tagetes elliptica* S. (chíncho). The leaves were conditioned by dehydration or freezing, then pre-treated with ultrasound for 15 or 30 minutes at 40 Hz to finally obtain the essential oil (AECH) and hydrolat (HCH) through microwave extraction (500 W and 30 minutes). Yields, phenolic content, antioxidant capacity, leaf structure by optical microscopy, and chemical composition by gas chromatography and mass spectrometry (GC-MS) were evaluated. The conditioning of the leaves by freezing and sonication for 30 minutes obtained the best performance,  $8.86 \pm 0.1\%$  and  $67.40 \pm 4.8\%$ , phenolic content of  $39.4 \pm 0.1$  mg EAG/mL and  $346.2 \pm 13.6$  mg EAG/mL, and antioxidant capacity of  $35.7 \mu\text{mol EqT/mg}$  and  $0.25 \mu\text{mol EqT/mg}$  equivalent, for AECH and HCH, respectively in every case. Structural damage of the leaves was observed due to the effect of the conditioning-ultrasound-microwave treatments, achieving a more significant release of bioactive compounds. The main compounds of the essential oil were tagetenones (49.2%), followed by cis-miroxide (14.5%), dihydrotagetone (13.9%), tagetone (9.8%) and ocimene (2.4%); the main compounds in the hydrolate were cis-myroxide (44.66%), followed by cis-tagetone (23.84%), trans-tagetone (12.24%), linalool oxide (5.48%) and dihydrotagetone (4.04%). The significant contribution of the present study is the extraction techniques and chemical profile of *tagetes elliptica* extracts.

**Keywords:** chíncho; hydrosols; antioxidants; polyphenols; phenolics.

### Resumen

La regulación térmica y el ultrasonido afectan las propiedades físicas, químicas y antioxidantes de los aceites esenciales e hidrosoles obtenidos por extracción con microondas de las hojas de *Tagetes elliptica* S. (chíncho). Para ello, las hojas fueron acondicionadas por deshidratación o congelación, luego pretratadas con ultrasonido por 15 o 30 minutos a 40Hz, para finalmente obtener el aceite esencial (AECH) e hidrolato (HCH) mediante una extracción por microondas (500W y 30 minutos). Se evaluó los rendimientos, contenido fenólico, capacidad antioxidante, estructura de las hojas mediante microscopía óptica y composición química por cromatografía de gases y espectrometría de masas (CG-MS). Un acondicionamiento de las hojas por congelación y una sonicación por 30 minutos, obtuvo el mejor rendimiento,  $8,86 \pm 0,1\%$  y  $67,40 \pm 4,8\%$ , contenido fenólico de  $39,4 \pm 0,1$  mg EAG/mL y  $346,2 \pm 13,6$  mg EAG/mL, y capacidad antioxidante de  $35,7 \mu\text{mol EqT/mg}$  y  $0,25 \mu\text{mol EqT/mg}$  equivalente, para AECH e HCH; respectivamente en cada caso. El daño estructural de las hojas fue observado por efecto de los tratamientos recibidos acondicionamiento-ultrasonido-microondas, logrando una mayor liberación de compuestos bioactivos. Los compuestos mayoritarios del aceite esencial fueron las tagetenonas (49,2%), seguido por cis-miróxico (14,5%), dihidrotagetona (13,9%), tagetona (9,8 %) y ocimeno (2,4%); los compuestos mayoritarios en el hidrolato fueron el cis-miróxico (44,66%), seguido por cis-tagetona (23,84%), trans-tagetona (12,24%), óxido de linalool (5,48%) y dihidrotagetona (4,04%). El aporte significativo del presente estudio son las técnicas de extracción y el perfil químico de los extractos de *Tagetes elliptica*.

**Palabras clave:** chíncho; hidrosoles; antioxidantes; polifenoles; fenólicos.

DOI: <https://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2022.028>

### Cite this article:

Torres Alvarez, R., Nolzaco Cama, D., & Tellez Monzon, L. (2022). Efecto del acondicionamiento y de la técnica secuencial ultrasonido-microondas sobre el rendimiento, propiedades funcionales y químicas del aceite esencial e hidrolatos extraídos de hojas de *Tagetes elliptica* Smith. *Scientia Agropecuaria*, 13(4), 315-325.

## 1. Introducción

Los antiguos pobladores descubrieron que las hierbas aromáticas tenían efectos en la conservación natural de sus alimentos y sobre la salud, además, conforme se fue desarrollando la civilización estas plantas siguieron ganando valor a tal punto de significar fuente de desarrollo económico para imperios como el egipcio, chino, indio, griego, África entre otros (Gowda et al., 2022; Iannicelli et al., 2018; Inoue et al., 2019; Labiad et al., 2020; RK et al., 2022). El Perú es un país megadiverso, con una costumbre ancestral en el uso de plantas medicinales, es así que las especies del género *Tagetes* no solo son usadas en la gastronomía peruana, sino que además han demostrado propiedades antioxidantes y antimicrobianas (Alva et al., 2018; Aparco et al., 2022; Castro-Alayo et al., 2019; Taype-Landeo & Ruiz-Rodríguez, 2021). Una de las especies de *Tagetes*, es el "chincho" (*Tagetes elliptica* Smith) que se cultiva principalmente en la región central de la sierra peruana, y es usada en la elaboración de la "pachamanca", uno de sus platillos tradicionales más importantes, y que representa una costumbre que data desde tiempos incaicos y preincaicos (Natividad et al., 2009), estudios previos reportaron actividad antibactericida, antifúngica, antioxidante y un gran aporte de sabor y aroma a las comidas en la gastronomía peruana (Alva et al., 2018; Segovia et al., 2010).

Hoy en día, la industria alimentaria está explorando fuentes naturales para ayudar a conservar los alimentos, significando con ello un reemplazo parcial o total de los aditivos sintéticos. Algunas fuentes son las hojas de plantas, de las cuales se pueden obtener extractos de diversas maneras (Abd Aziz et al., 2021; Fotsing et al., 2021), y la extracción por microondas es una tecnología emergente en comparación a la tradicional hidrodestilación; el uso de microondas como tecnología verde ha sido investigada ampliamente, incluso cuando se usan diferentes solventes o no se usan en absoluto (Wang et al., 2017; Guerfi et al., 2020; Ismail et al., 2021), dos extractos pueden ser recuperados del proceso, uno es el aceite esencial y otro es el hidrolato. Existen estudios previos del uso secuencial de ultrasonido y microondas con el fin de disminuir los tiempos del proceso; a pesar de ello, pocas son las investigaciones respecto al uso de estas tecnologías sobre plantas como *Tagetes* (Tomás et al., 2010; Moghaddam et al., 2011; Senatore et al., 2004).

Las características químicas de un hidrolato y un aceite esencial dependen de sus componentes, el primero es hidrofóbico y el segundo hidrofílico; sin embargo, trazas de aceite esencial pueden estar presentes también en los hidrolatos. El aceite esencial es el responsable del aroma característico de una planta, en tanto también fácilmente oxidable; mientras que el hidrolato es menos aromático y este extracto ha sido más usado en aromaterapia (Fotsing et al., 2021; Lei et al., 2018; Lima et al., 2009; Śmigielski et al., 2013). La composición de los extractos otorga información para poder potenciar el uso y actividad biológica que aportaría en el cuerpo humano o sobre el producto donde se añade.

Adicional a los métodos de extracción, comúnmente se trabaja con materias primas frescas para obtener extractos, pero mantenerlas en ese estado durante un estudio

de investigación es complicado, por lo que algunas alternativas son deshidratar las muestras a ser estudiadas; o poder congelar las mismas para evitar cambios en su composición. Plantas frescas, deshidratadas y congeladas por diversos métodos han sido usadas para obtener de ellas, extractos diferentes (Li et al., 2018; Saini et al., 2014; Lemus-Mondaca et al., 2018; Saifullah et al., 2019) y se ha observado el efecto sobre los rendimientos y componentes químicos; en la mayoría de los casos se ha discutido que el acondicionamiento podría influenciar grandemente en estas características. Debido al potencial uso de los aceites esenciales de *Tagetes elliptica* Smith "chincho", ameritaría un mayor estudio sobre tratamientos previos a las hojas para su eficiente extracción.

En este contexto, la presente investigación tuvo como objetivo principal, la obtención del aceite esencial (AECH) e hidrolato (HCH) de hojas de chincho acondicionadas por deshidratación y congelación, sonicadas a 15 y 30 minutos y ser sometidas a una extracción por microondas; determinando el efecto sobre el rendimiento, contenido fenólico, capacidad antioxidante y caracterizar químicamente ambos extractos obtenidos a las mejores condiciones.

## 2. Materiales y métodos

**2.1 Materia prima.** Se recolectó *Tagetes elliptica* Smith, chincho, de la provincia de Chupaca (Junín, Perú) a 3360 m.s.n.m. Las hojas frescas se separaron de los tallos y se pesaron (Ohaus MB45-350, México) para su posterior acondicionamiento (Figura 1).

**2.2 Acondicionamiento de las hojas.** Se evaluaron dos acondicionamientos: a) deshidratación por aire caliente, extendiendo las hojas sobre mallas de acero inoxidable expuestas a 45 °C durante 3 horas (Reter DRR200, Perú) y b) congelación de las hojas en una congeladora vertical a -20 °C (Electrolux H320, Suecia).

**2.3 Técnica secuencial ultrasonido-microondas.** Las hojas deshidratadas y congeladas previamente recibieron un tratamiento ultrasónico a una frecuencia de 40 KHz (Branson Ultrasonics CPX3800H-E, Estados Unidos) durante 15 y 30 minutos. En el caso de las hojas deshidratadas se sumergieron en agua en una relación 1:10 (agua: hojas) previo al tratamiento ultrasónico. Un diseño factorial de 2<sup>2</sup> acondicionamientos y 2 tiempos de ultrasonido dieron como resultado un total de 4 tratamientos, que se sometieron a una extracción por microondas (Milestone, Italia) a una potencia de 500 watts durante 30 minutos. Los extractos condensados de aceite esencial e hidrolato para cada tratamiento, fueron separados y almacenados a -20 °C en frascos ámbar hasta su análisis.

## 2.4 Métodos de Análisis

**2.4.1 Rendimiento.** Se registró los pesos iniciales de hojas y los volúmenes de aceite esencial e hidrolato obtenidos luego de la extracción. Los rendimientos se expresaron en porcentaje.

**2.4.2 Microscopía óptica.** Las hojas frescas, deshidratadas, congeladas, sonicadas y con tratamiento con microondas fueron observadas a través de un microscopio óptico (BM800 BOECO, Alemania), considerando el método Peeling (Hernández et al., 2015).

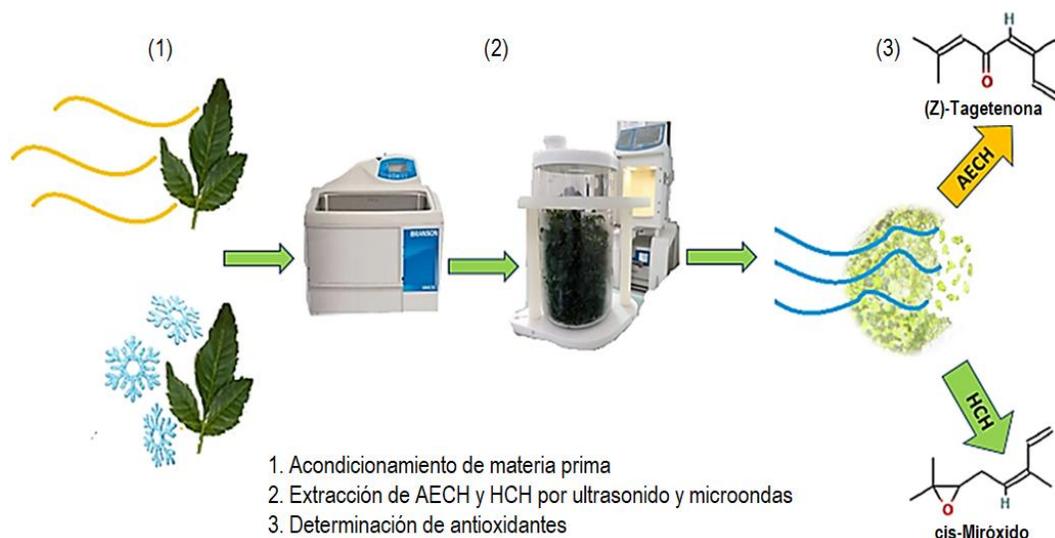


Figura 1. Procesamiento de la extracción del aceite esencial de chincho e hidrolatos.

Se realizó el preparado histológico con la ayuda de pinzas y una hoja de bisturí extrayendo pequeñas porciones de epidermis, se cortó superficialmente en forma de V, se colocó en el portaobjetos, y se añadió gotas de aceite de inmersión evitando la formación de burbujas de aire. Se enfocó desde aumentos de 10X hasta 100X, a fin de obtener la mejor visualización.

**2.4.3 Determinación de compuestos fenólicos totales.** La cuantificación se realizó por el método de Folin Ciocalteu **Nayak et al. (2015)** con algunas modificaciones. Se inició realizando diluciones 1:5 (aceite esencial: metanol o hidrolato: metanol), se tomaron alícuotas de 20  $\mu\text{L}$  de las muestras mediante el uso de una micropipeta, a continuación, se agregó 250  $\mu\text{L}$  del reactivo Folin Ciocalteu, 1250  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 2% y 480  $\mu\text{L}$  de agua destilada. Se agitó durante 15 segundos y luego se reposó en oscuridad durante 45 minutos. Seguidamente se realizaron lecturas a una  $\lambda = 760 \text{ nm}$ . Para la cuantificación se requirió de una curva de calibración con ácido gálico entre 0,005-0,180 mgAG/ml. Los resultados fueron expresados como miligramos equivalentes de ácido gálico (EAG)/ 100 gramos de muestra (hojas de chincho) en base seca.

**2.4.4 Determinación de la capacidad antioxidante.** La cuantificación de la capacidad antioxidante se realizó mediante el método DPPH con algunas modificaciones reportado por **Mercado-Mercado et al. (2013)**. Las muestras fueron diluidas en metanol en una relación 1:2 (aceite esencial/hidrolato: metanol), se tomaron alícuotas de 50  $\mu\text{L}$ , a continuación, se añadió 1950  $\mu\text{L}$  de la solución de DPPH diluida y agitó durante 15 segundos en un agitador vortex, luego, reposo en oscuridad durante 45 minutos, posteriormente se realizó las lecturas a  $\lambda = 517 \text{ nm}$ . Para la cuantificación se requirió de una curva de calibración con Trolox entre 40 a 600  $\mu\text{Mol}$  Trolox. Los resultados fueron expresados como meq-g de trolox (EAG)/ g de muestra (hojas de chincho) en base seca.

**2.4.5 Composición del aceite esencial e hidrolato.** El tratamiento que presentó mayor rendimiento, contenido

fenólico y capacidad antioxidante se caracterizó en su composición mediante un cromatógrafo de gases (Agilent Technologies 7890, Estados Unidos) con detector espectrómetro de masas (Agilent Technologies 5975C, Estados Unidos), columna DB-5ms (J&W 122-1545.67659) de 60 m x 250  $\mu\text{m}$  x 0,25  $\mu\text{m}$  a 325  $^{\circ}\text{C}$  con rampas de temperatura iniciando en 40  $^{\circ}\text{C}$  con incrementos de 5  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  hasta 180  $^{\circ}\text{C}$ , 2,5  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  hasta 200  $^{\circ}\text{C}$  por 2 minutos y finalmente 25  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  hasta 300  $^{\circ}\text{C}$  hasta 5 minutos, tiempo de corrida: 47 min, 1  $\mu\text{L}$  de inyección, split 20:1 y gas helio (1ml/min) como portador. En el caso de aceite esencial se consideró 20  $\mu\text{L}$  de muestra y 1 mL de diclorometano como disolvente. En el caso de hidrolato, se toma 30 mL de la muestra disuelto en 10 mL de diclorometano, se agrega sulfato de sodio como desecante a la fase orgánica. En ambos productos se inyectó 1  $\mu\text{L}$  de muestra al cromatógrafo de gases.

**2.5 Análisis estadístico.** El diseño experimental para los tratamientos evaluados fue utilizando un Diseño factorial de  $2^2$ , con un total de 4 tratamientos. Para encontrar las diferencias significativas entre los tratamientos, se realizó la prueba de comparación LSD de Fisher. La evaluación estadística se llevó a cabo usando el paquete estadístico Statgraphics Centurion XVI para Windows 2017 considerando un nivel de significancia de  $p < 0,05$ .

### 3. Resultados y discusión

#### 3.1 Rendimiento

En la **Tabla 1** se observa el rendimiento de AECH y HCH obtenido por cada tratamiento. Se encontraron diferencias significativas entre los mismos, las mejores condiciones fueron acondicionamiento con congelación y pretratamiento ultrasónico de 30 minutos, para obtener  $0,86 \pm 0,10\%$  de AECH, y  $64,40 \pm 4,80\%$  de HCH. Cuando la temperatura es lo suficientemente baja, el líquido intracelular metaestable superenfriado puede congelarse, formando cristales de hielo grandes cuando la congelación es lenta, lo que resulta en una congelación intracelular que destruye los sistemas de membrana (**Arora, 2018**;

Chang & Zhao, 2021; Gowda, 2022). Adicionalmente, la sonicación produce microburbujas en un tiempo corto, que al colapsar liberan energía elevando la presión y temperatura, generando grietas superficiales y rompimiento del tejido celular, este mecanismo se conoce como cavitación (Qun et al., 2017; Jadhav et al., 2022).

La congelación y descongelación funcionan como un mecanismo potencial para incrementar los rendimientos de extractos naturales como luteína y zeaxantina (Jiao et al., 2018); la sonicación, como una tecnología verde, ha conseguido mejorar la extracción de fitoquímicos, aumentando la transferencia de masa desde el interior de las células hacia el medio externo en un corto tiempo y con menos solvente (Panja, 2018).

**Tabla 1**

Rendimiento del aceite esencial e hidrolato de *Tagetes elliptica* Smith

Tratamiento	AECH (%bs)	HCH (%bh)
T1: Deshidratado, sonicado 15 min	0,17 ± 0,00 <sup>a</sup>	62,00 ± 1,70 <sup>a</sup>
T2: Deshidratado, sonicado 30 min	0,17 ± 0,00 <sup>a</sup>	60,80 ± 1,30 <sup>a</sup>
T3: Congelado, sonicado 15 min	0,49 ± 0,01 <sup>b</sup>	58,90 ± 1,20 <sup>b</sup>
T4: Congelado, sonicado 30 min	0,86 ± 0,10 <sup>c</sup>	67,40 ± 4,80 <sup>b</sup>

<sup>a, b, c</sup> indican la existencia de diferencia significativa en cada tratamiento según la prueba LSD de Fisher a un nivel de significancia del 95%.

Por otro lado, la extracción mediante microondas posiblemente también influyó en el rendimiento. Abbasi et al. (2022) encontraron un efecto secuencial del ultrasonido y microondas en comparación a solo la extracción por microondas; según Panja (2018), en este último ocurren dos mecanismos, el primero es un calentamiento dieléctrico y el segundo es la conducción iónica. Como consecuencia de la potencia (500 W) utilizada se afectó el rendimiento del aceite esencial e hidrolato obtenido, lo que concuerda con Megawati et al. (2019).

**Tabla 2**

Rendimiento del aceite esencial de otras especies de *Tagetes* con hidrodeshidratación

Especie	Rendimiento	Procedencia	Referencia
<i>Tagetes minuta</i>	1% – 1,55%	Irán	Moghaddam et al. (2011)
<i>Tagetes minuta</i>	0,25% – 0,70%	India	Senatore et al. (2004)
<i>Tagetes elliptica</i>	0,05%	Perú	Tomás et al. (2010)
<i>Tagetes elliptical</i>	0,04%	Perú	Ruiz & Salazar (2021)
<i>Tagetes elliptica</i>	0,05 – 0,048	Perú	Aparco et al. (2022)
<i>Tagetes minuta</i>	0,25%	África	Abdoul-Latif et al. (2022)

En cuanto al rendimiento del aceite esencial, los valores obtenidos son superiores a resultados con especies similares procedentes de Irán e India, obtenidos por hidrodeshidratación (Tabla 2). Otras comparaciones con técnicas de ultrasonido-microondas no se han investigado anteriormente con la especie en estudio. Las diferencias pueden deberse a las condiciones edafológicas de las plantas (Mohammadhosseini et al., 2017; Senatore et al., 2004; Tomás et al., 2010; Ruiz & Salazar et al. 2021; Aparco et al., 2022), pero también a las condiciones del proceso de extracción; Benmoussa et al. (2018), Kusuma et al. (2018) y Nurhaslina et al. (2022) citaron que la potencia de microondas, así como el tiempo de radiación tienen una influencia lineal en el rendimiento del aceite esencial.

### 3.2 Microscopía óptica

Se aprecia en la Figura 2 las vistas microscópicas (100X) de epitelio de hojas de chincho fresco, deshidratadas, congeladas, sonicadas a los 15 y 30 minutos en cada caso. En las hojas frescas, se pueden visualizar la presencia de tricomas, ya que suelen verse como puntos translúcidos sobre la superficie con coloración amarillenta verdosa. En *Tagetes minuta* se determinaron los tricomas con las mismas coloraciones, pero cambiantes de forma según la madurez de la hoja (redondeada: hoja joven, alargada: hoja madura) y ubicándose en las nervaduras (Naidoo et al., 2021).

Luego del acondicionamiento, en las hojas deshidratadas, se visualiza un oscurecimiento del líquido intracelular, este cambio es posible como producto del calentamiento de las hojas, considerando que los tricomas responsables de almacenar los compuestos activos de la planta se encuentran ubicadas comúnmente en la parte superficial de las hojas siendo más susceptible a un daño (Santos et al., 2016), éste calentamiento podría producir reacciones oxidativas enzimáticas y no enzimáticas en el material vegetal y con ello una pérdida de compuestos (Li et al., 2018); sin embargo, la deshidratación puede retener o no los compuestos bioactivos dependiendo del compuesto químico, la técnica de deshidratación y la planta específica, según previos estudios (Saini et al., 2014; Kumar et al., 2015). Por otro lado, en las hojas congeladas se observó presencia de hielo al interior de la estructura y una coloración verde más intensa, que se deduce podría ser el líquido intracelular liberado cuando la muestra empieza una descongelación mientras fue observada al microscopio. Al respecto, los pretratamientos con congelación pueden ser controlados de tal forma que los cristales de hielo sean de mayor tamaño, con velocidades de congelación lenta, facilitando el mayor daño a los sistemas de membrana (Arora, 2018), y consecuentemente aumento del rendimiento de la extracción.

Las vistas al microscopio luego de la sonicación muestran un evidente cambio de color; en hojas deshidratadas, hacia un amarillo oscuro y en hojas congeladas, hacia un color verde amarillento, los cambios de color guardan relación con la elevación de temperatura que se produjo luego de la sonicación. Posteriormente, luego de la extracción por microondas, las hojas presentaron mayor oscurecimiento, como consecuencia de los tratamientos aplicados: acondicionamiento-sonicación-microondas.

### 3.3 Determinación de compuestos fenólicos totales

En la Tabla 3 se muestra el contenido de compuestos fenólicos del aceite esencial e hidrolato recuperado luego de cada tratamiento. El análisis estadístico mostró diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre cada uno de los tratamientos, con un mayor contenido de polifenoles,  $39,40 \pm 0,10$  mg EqAG/mL para aceite esencial y  $346,20 \pm 13,60/100$  mL para hidrolato, cuando las hojas fueron acondicionadas por congelación y luego de recibir una sonicación por 30 minutos.

Semeniuc et al. (2018) determinaron que el contenido de compuestos fenólicos del aceite esencial de 4 variedades de plantas (albahaca, perejil, apio de monte y tomillo) fue entre 2,2 y 22,5 mg EqAG/mL, valores inferiores a los encontrados en AECH. Ahora bien, Wang et al. (2017)

analizó el contenido fenólico de 26 aceites esenciales populares en Taiwán, reportando desde 10,11 hasta 220,0 mg EqAG/mL de aceite esencial, encontrándose dentro de este rango, el valor obtenido en el AECH y en el HCH. Mahajan et al. (2020) menciona que la cantidad y calidad de los metabolitos naturales depende de la frecuencia y

duración de distintos tipos de estrés (bio-abiótico), mientras la planta esté bajo estrés esta deja de fijar carbono para su crecimiento, prefiriendo formar metabolitos secundarios lo cual le permite adaptarse al medio y las prepara incluso si llegasen a recibir daño.

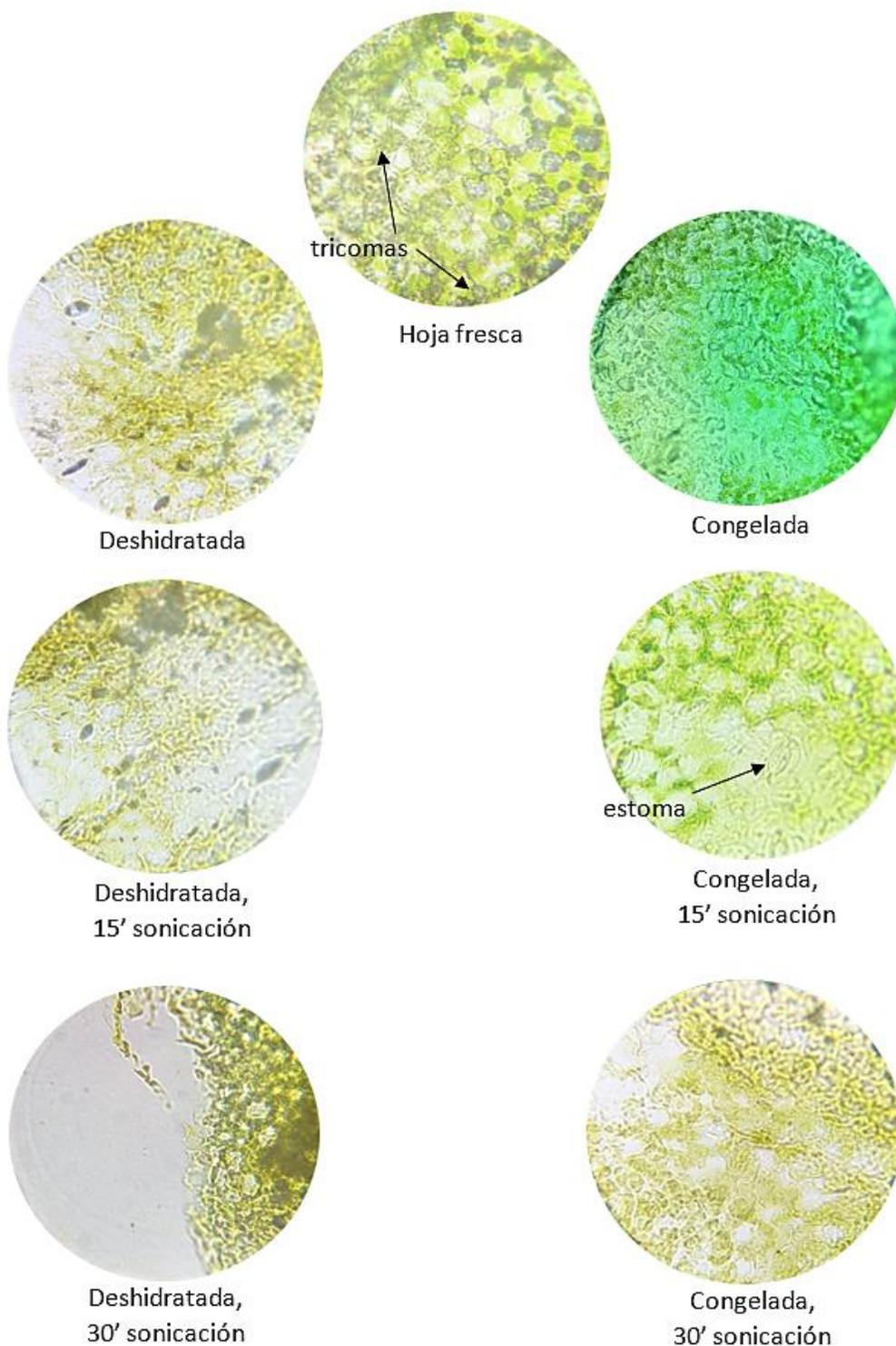


Figura 2. Vistas al microscopio de las hojas de *Tagetes elliptica* Smith después del acondicionamiento y sonicación.

Mansour-Gueddes et al. (2022) argumentan que estos nuevos compuestos están formados en las hojas y raíces. Jakubczyk et al. (2021) también concluyeron que el contenido fenólico se ve afectado por el origen, encontrando mayor cuantificación de fenoles en muestras de Francia procedentes de una agricultura ecológica. Por todo ello, el contenido en compuestos fenólicos en chincho debió influenciarse por el clima, suelo, tipo de agricultura y estrés recibido durante su crecimiento.

Tabla 3

Contenido de compuestos fenólicos totales en el aceite esencial e hidrolato

Tratamiento	AECH (mgEqAG/mL)	HCH (mgEqAG/100mL)
T1: Deshidratado y sonicado 15 min	31,300 ± 0,20 <sup>a</sup>	123,20 ± 5,20 <sup>a</sup>
T2: Deshidratado y sonicado 30 min	32,30 ± 0,30 <sup>b</sup>	176,70 ± 10,30 <sup>b</sup>
T3: Congelado y sonicado 15 min	35,60 ± 0,10 <sup>c</sup>	268,90 ± 5,20 <sup>c</sup>
T4: Congelado y sonicado 30 min	39,40 ± 0,10 <sup>d</sup>	346,20 ± 13,60 <sup>d</sup>

<sup>a, b, c, y d</sup> indican la existencia de diferencia según la prueba LSD de Fisher a un nivel de significancia del 95%.

### 3.4 Determinación de la capacidad antioxidante

La Tabla 4 muestra la capacidad antioxidante en AECH y HCH para cada tratamiento. A un nivel de significancia de  $p < 0,05$  se encontró diferencias significativas entre los tratamientos, presentando mayor capacidad antioxidante el acondicionamiento con congelación y ultrasonido por 30 minutos (35,7 ± 3,00 μMolEqT/mg en AECH y 0,25 ± 0,00 en HCH); estos resultados guardan una relación directa con el contenido de compuestos fenólicos. Ho et al. (2019) y Jakubczyk et al. (2021) mencionan que la actividad antioxidante y la cantidad de polifenoles están estrechamente relacionadas, principalmente debido a que los compuestos fenólicos promueven la actividad antioxidante, mostrando efectos antioxidantes directos debido a la presencia de grupos hidroxilo, que actúan como donantes de H<sub>2</sub>.

Para las muestras de aceite esencial de hojas de chincho, se encontraron valores entre 87% y 92% de capacidad antioxidante en porcentaje de inhibición del radical libre DPPH. Wang et al. (2017) reportaron valores desde 0,6 hasta 94% en el análisis a 26 muestras de aceite esencial de distintas fuentes, siendo los aceites de clavo de olor (94,13%), tomillo (68,55%) y albahaca (62,26%) obtenidos mediante destilación los que mayor inhibición del reactivo DPPH mostraron. Jakubczyk et al. (2021) reportó valores entre 4,43% y 39,87% en muestras de hidrolato de distintas variedades, siendo las más altas en las muestras de

lavanda silvestre (39,87%), manzanilla romana (36,60%) y romero (33,53%). De acuerdo con anteriores investigaciones, el contenido antioxidante del AECH estaría dentro de lo reportado para otras plantas, pero el porcentaje encontrado para el HCH fue superior a otros hidrolatos.

### 3.5 Composición del aceite esencial e hidrolato

El análisis de cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS) se utilizó para identificar los componentes contenidos en el AECH e HCH. En la Tabla 5 se presenta los compuestos mayoritarios para el AECH, el compuesto mayoritario son las tagetenonas (49,2%), seguido por cismiróxido (14,5%) y Dihidrotagetonona (13,9%), tagetonona (9,8%), y ocimeno (2,4%) que son compuestos biosintetizados por Tagetes (*Tagetes elliptica* Smith) y son una mezcla de compuestos terpénicos. Cruz et al. (2021) indican que los compuestos mayoritarios de los tagetes son (E)- (E)-tagetonona (43,9%) y dihidrotagetonona (20,7%), seguidos por trans-β-ocimeno, eucaliptol, limoneno, β-cubebeno(E) y (Z)- tagetenonas, con potencial para ser usados en cosméticos, productos farmacéuticos y como repelente de plagas; la tagetonona es tóxica para insectos. Por otro lado, los compuestos mayoritarios cistagetonona y (E)-tagetonona se ha identificado en varias especies de *Tagetes*: *T. caracasana*, *T. patula* y *T. subulata* *T. minuta*, *T. lemmonii*, *Tagetes argentino* (Gakuubi et al., 2016; Vázquez et al., 2011).

Cruz et al. (2021) y Karimian et al. (2014) informaron que la composición química del aceite esencial de *T. minuta* eran β-ocimeno, dihidrotagetonona, tagetonona, Z-ocimeno y E-ocimeno, es muy semejante a lo reportado en la presente investigación (Dihidrotagetonona y tagetonona) de AECH. También, el *T. elliptica* desarrolló otro tipo de quimiotipo β-cariofileno, m-tert-butil-fenol, tagetonona (Aparco et al., 2022), pero tiene similitud con la investigación (Tagetonona); sin embargo, el quimiotipo desarrollado fue tagetenonas-miróxido-dihidrotagetonona es similar a lo reportado por Vázquez et al. (2011). Así, los principales componentes del aceite esencial de tagetes estaba compuesta por cis/trans, cetona/alcohol, aldehído/alcohol, ocimeno (cis/trans, cetona/alcohol, aldehído/alcohol) y derivados del tiofeno. El ocimeno es conocido por su dulce olor a hierba, también conocido como uno de los principales componentes de la albahaca y la lavanda, comparando los resultados del presente estudio con investigaciones anteriores, el contenido de aceite esencial se encontró más alto que en las muestras cultivadas y el aceite esencial presentó un alto contenido de β-ocimeno (Pelín Bahadırli, 2020).

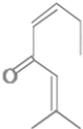
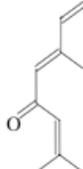
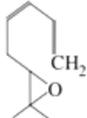
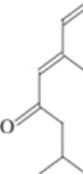
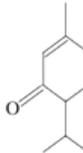
Tabla 4

Capacidad antioxidante de las muestras de aceite esencial e hidrolato de hojas chincho, *Tagetes elliptica* Smith, para cada tratamiento

Tratamiento	Aceite esencial		Hidrolato	
	CAOX EqT	%	CAOX EqT	%
T1: Deshidratado y sonicado 15 min	31,70 ± 0,00 <sup>a</sup>	87,50 ± 0,10 <sup>a</sup>	0,08 ± 0,00 <sup>a</sup>	47,50 ± 0,10 <sup>a</sup>
T2: Deshidratado y sonicado 30 min	33,40 ± 0,00 <sup>b</sup>	89,50 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,12 ± 0,01 <sup>b</sup>	49,70 ± 0,30 <sup>b</sup>
T3: Congelado y sonicado 15 min	33,90 ± 0,00 <sup>c</sup>	90,10 ± 0,10 <sup>c</sup>	0,19 ± 0,01 <sup>c</sup>	53,00 ± 0,50 <sup>c</sup>
T4: Congelado y sonicado 30 min	35,70 ± 3,00 <sup>d</sup>	92,50 ± 0,00 <sup>d</sup>	0,25 ± 0,00 <sup>d</sup>	55,60 ± 0,20 <sup>d</sup>

CAOX EqT: Capacidad Antioxidante en Equivalente Trolox en μMol EqT/mg de aceite esencial o Hidrolato. %: Capacidad antioxidante en porcentaje de inhibición del radical libre DPPH.

**Tabla 5**  
Compuestos mayoritarios del aceite esencial de chincho

ítem	Nombre del compuesto (NIST08.L)	t <sub>r</sub> (min)	% en la muestra (áreas relativas)
1	 <b>(Z)- Tagetenone</b>	22,65	34,15 ± 0,06
2	 <b>(E)-Tagetenone</b>	22,86	15,04 ± 0,02
3	 <b>(Z) - myroxide)</b>	18,26	14,48 ± 0,00
4	 <b>Dihydrotagetone</b>	17,00	13,87 ± 0,04
5	 <b>(E)-Tagetone</b>	19,93	5,82 ± 0,01
6	 <b>(Z)-Tagetone</b>	20,11	4,01 ± 0,13
7	 <b>(Z)-β-ocimene</b>	16,41	2,43 ± 0,00

Tampoco se puede descartar la posibilidad de transformación de un principio volátil en otro debido al desarrollo de bolsas de calor excesivo dentro de la biomasa durante las extracciones basadas en microondas (Binello et al., 2014). Existe la posibilidad de que ciertos principios volátiles sean más abundantes en el aceite extraído con microondas, mientras que otros principios pueden ser más abundantes en el aceite extraído de hidrodestilación

(Singh Chouhan et al., 2019; Singh et al. 2015) indicaron que las vías biosintéticas de varios compuestos terpenoides inician con la transformación del ácido mevalónico lo que involucra varias reacciones como fosforilación, hidrólisis, condensación, oxidación, reducción, ciclación, etc. Todo inicia con la conversión de compuesto monoterpénoide geranil pirofosfato GPP a monoterpénos: Los aceites esenciales de *Tagetes* contienen monoterpénos

tanto acíclicos como cíclicos. Los monoterpenos acíclicos incluyen: (Z)- $\beta$ - y (E)- $\beta$ -ocimeno, (Z)- y (E)-tagetona y (Z)- y (E)-tagetenona (también conocidas con el nombre de ocimenonas). Los principales constituyentes de los aceites de *T. minuta* son (Z)- $\beta$ -ocimeno, dihidrotagetona, (Z)- y (E)-tagetona y (Z)- y (E)-tagetenonas; sin embargo, el aceite esencial de *Tagetes* se ve influenciado por el ultrasonido y microondas como lo menciona (Mohammadhosseini et al., 2017) lo que conlleva a desarrollar un quimiotipo tagetenonas-miróxido-dihidrotagetona.

En la **Tabla 6** se reportan los hidrolatos de chincho HCH. Esta planta es abundante en componentes oxigenados, teniendo como componentes mayoritarios a geraniol+acetato de linalilo, (E)-ocimenona, Z-tagetona y dihidrotagetona.

Con respecto al hidrolato, los compuestos mayoritarios en la muestra de hidrolato corresponden al obtenido por congelación y sonicación durante 30 minutos, donde el principio activo con mayor presencia fue el cis-miróxido (44,66%) seguido por cis-tagetona (23,84%), trans-tagetona (12,24%), óxido de linanool (5,48%) y dihidrotagetona (4,04%). Díaz (2014) cita que en hidrolatos de *Tagetes elliptica* no registran cuantificación de compuestos químicos, y que su composición se debe al proceso de extracción (Gouda et al., 2021; Ruiz & Salazar, 2021), y de la presencia de aceites esenciales que pueden ser arrastrados por el agua intrínseca en las células vegetales sin agua adicional (Chemat et al., 2017). Según reportes en la literatura, esto explicaría el incremento de compuestos en los hidrolatos y ello se corrobora en estudios de *Tagetes erecta*, *T. minuta*, *T. patula* y *T. tenuifolia*, los cuales se caracterizan por poseer el mismo conjunto de componentes (dihidrotagetona tagetonas, ocimenonas y piperitona) pero en proporciones diferentes y típicas en cada especie (Marotti et al., 2011).

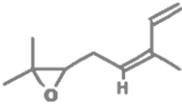
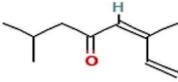
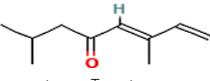
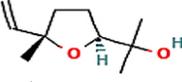
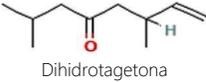
Varios investigadores han identificado (Z)- $\beta$ -ocimeno, dihidro-tagetona (Z)- y (E)-tagetona, y (Z)- y (E)-tagetenona [(Z)- y (E)-ocimenona] como componentes principales del hidrolato de *T. minuta*. El hidrolato de *T. elliptica* Smith es rico en miróxido y tagetenona, componentes que parecen estar correlacionadas biogénicamente. Con el progreso de la etapa vegetativa, se encontró que la dihidrotagetona disminuía con un aumento de las tagetonas (Moghaddam et al., 2011).

Mnayer et al. (2017) indican que los compuestos extraídos de aceite y hidrolatos deberían ser casi similares en su composición química, de acuerdo a los resultados si existió similitud en algunos compuestos; sin embargo, la composición cualitativa en el hidrolato disminuyó lo que probablemente se deba a la presencia de compuestos que han sufrido procesos de oxidación, hidrólisis u otras reacciones químicas (Megawati et al., 2019). Respecto a ello, los hidrolatos por efecto de los ultrasonidos puede formar moléculas reactivas de H, OH y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, las cuales pueden interactuar con muchas sustancias químicas, dando lugar a sus transformaciones (degradación), particularmente susceptibles a tales interacciones son los compuestos volátiles que pueden sufrir diversas reacciones en la "burbuja" de cavitación (Kowalski et al., 2015).

#### 4. Conclusiones

El acondicionamiento de hojas de chincho (congelación a -20 °C), con pretratamiento de sonicación por 30 minutos, incrementó el rendimiento, contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante del aceite esencial e hidrolato; el daño producido en las estructuras celulares, tricomas de las hojas, por efecto del acondicionamiento, ultrasonido y microondas sugiere una reacción oxidativa pero que facilitó la extracción de compuestos.

**Tabla 6**  
Compuestos mayoritarios del hidrolato de hojas de chincho

Ítem	Nombre del compuesto y estructura química* (NIST08.L)	t <sub>r</sub> (min)	% en la muestra (áreas relativas)
1	 cis-Miróximo	18,24	44,66 ± 0,35
2	 cis-Tagetona	22,54	23,84 ± 1,10
3	 trans-Tagetona	22,77	12,24 ± 0,04
4	 Óxido de Linanool	23,68	5,48 ± 0,02
5	 Dihidrotagetona	16,94	4,04 ± 0,06

El perfil químico de la fracción lipófila (aceite esencial) y por primera vez en la fracción agua (hidrosol) presentó diversos componentes mayoritarios, algunos similares como tagetona, miróxido y dihidrotagetona, y particularmente tagetenonas en el aceite esencial; los compuestos bioactivos serían los responsables de la actividad antioxidante cuantificada para ambos extractos. Además, son una fuente de metabolitos bioactivos que fomentan potencialidades antioxidantes y biológicas con fines de su uso como conservantes alimentarios. Finalmente, se puede incursionar en desarrollar nanopartículas de Ag, utilizando *Tagetes elliptica* (chincho) y evaluar sus actividades antimicrobianas, también identificar el perfil de las flores y tallos de los tagetes mediante extracción verde (microondas).

#### Agradecimientos

Ruben Torre Alvarez agradece el apoyo financiero del proyecto Concytec – Banco mundial titulado: “Conservación natural de hamburguesas y marinados de carne de alpaca mediante la incorporación libre y nanoencapsulada del aceite esencial y el extracto acuoso del chincho obtenido mediante extracción asistida por microondas y ultrasonido”, a través de su unidad ejecutora Fondecyt (Contrato N° 70-2018-Fondecyt-BM-IADT-AV).

#### ORCID

R. Torre Alvarez  <https://orcid.org/0000-0002-2564-2312>

D. Nolazco Cama  <https://orcid.org/0000-0002-8192-7611>

L. Tellez Monzon  <https://orcid.org/0000-0001-9282-8638>

#### Referencias bibliográficas

- Abbasi, H., Sharifzadeh, S., & Karimi, S. (2022). Comparison of essential oil from *Ocimum Basilicum* obtained via sequential ultrasound-microwave extraction with microwave method. *Iranian Journal of Biosystems Engineering*, 53(1), 25-40.
- Abd Aziz, N. A., Hasham, R., Sarmidi, M. R., Suhaimi, S. H., & Idris, M. K. H. (2021). A review on extraction techniques and therapeutic value of polar bioactives from Asian medicinal herbs: Case study on *Orthosiphon aristatus*, *Eurycoma longifolia* and *Andrographis paniculata*. In *Saudi Pharmaceutical Journal*, 29(2), 143-165.
- Abdoul-Latif, F. M., Elmi, A., Merito, A., Nour, M., Risler, A., Ainane, A., Bignon, J., & Ainane, T. (2022). Essential oils of *Tagetes minuta* and *Lavandula coronopifolia* from Djibouti: Chemical composition, antibacterial activity and cytotoxic activity against various human cancer cell lines. *Int. J. Plant Biol.*, 13, 315-329.
- Alva, R. R., Díaz, C. M., Rodríguez, J. J., Gómez, M., & Vilela, Z. K. (2018). Gastronomía de autor con uso de *Tagetes elliptica* “maría sachá” y *Juglans neotropica* “nogal” como especias locales para diversificar la oferta turística de la ciudad de Chachapoyas, 2016. *Revista Científica UNTRM: Ciencias Sociales y Humanidades*, 1(1), 14.
- Aparco, R. H., Laime, M. D. C. D., & Tadeo, F. T. (2022). Metabolitos bioactivos y actividad antioxidante in vitro del aceite esencial extraído de dos especies del género *Tagetes*. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 50(3), 726-739.
- Arora, R. (2018). Mechanism of freeze-thaw injury and recovery: a cool retrospective and warming up to new ideas. *Plant Science*, 270, 301-313.
- Benmoussa, H., Elfalleh, W., He, S., Romdhane, M., Benhamou, A., & Chawech, R. (2018). Microwave hydrodiffusion and gravity for rapid extraction of essential oil from *Tunisian cumin* (*Cuminum cyminum* L.) seeds: Optimization by response surface methodology. *Industrial Crops and Products*, 124, 633-642.
- Binello, A., Orio, L., Pignata, G., Nicola, S., Chemat, F., & Cravotto, G. (2014). Effect of microwaves on the in situ hydrodistillation of four different Lamiaceae. *Comptes Rendus Chimie*, 17(3), 181-186.
- Castro-Alayo, E. M., Chávez-Quintana, S. G., Auquiñivín-Silva, E. A., Fernández-Jeri, A. B., Acha-De la Cruz, O., et al. (2019). Essential oils of native plants from Peru: Effect of the place of cultivation on the physicochemical characteristics and antioxidant activity. *Scientia Agropecuaria*, 10(4), 479-487.
- Chang, T., & Zhao, G. (2021). Ice inhibition for cryopreservation: materials, strategies, and challenges. *Advanced Science*, 8(6), 2002425.
- Chemat, F., Rombaut, N., Meullemiestre, A., Turk, M., Perino, S., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. (2017). Review of Green Food Processing techniques. Preservation, transformation, and extraction. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 41, 357-377.
- Cruz, F., Espinoza, M., Santiesteban, A., Cruz-López, L. (2021). Caracterización química de los volátiles de *Tagetes nelsonii*. *Polibotánica*, 0(51), 203-211.
- Díaz, U. J. (2014). Estructura química del extracto acuoso y etanólico de las hojas de *Tagetes elliptica* Sm. “Chincho”, actividad antibacteriana y antifúngica en la aplicación de un alimento andino [Universidad Nacional Mayor de San Marcos].
- Fotsing, F., Stéphane, Y., Kezetas, B., Jules, J., El-Saber Batiha, G., Ali, I., & Bruno, L. N. (2021). *Extraction of Bioactive Compounds from Medicinal Plants and Herbs*, 1-39.
- Gakuubi, M. M., Wagacha, J. M., Dossaji, S. F., & Wanzala, W. (2016). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Tagetes minuta* (Asteraceae) against selected plant pathogenic bacteria. *International Journal of Microbiology*, Article ID 7352509.
- Gouda, M., El-Din Bekhit, A., Tang, Y., Huang, Y., Huang, L., He, Y., & Li, X. (2021). Recent innovations of ultrasound green technology in herbal phytochemistry: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 73, 105538.
- Gowda, N. A. N., Gurikar, C., Anusha, M. B., & Gupta, S. (2022). Ultrasound-Assisted and Microwave-Assisted Extraction, GC-MS Characterization and Antimicrobial Potential of Freeze-dried *L. camara* Flower. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 16(1), 526-540.
- Guerfi, M., Berredjem, M., Bouzina, A., Ben Hadda, T., Marminon, C., Otmane Rachedi, K. (2020). Novel  $\alpha$ -sulfamidophosphonate analogues of fotemustine: efficient synthesis using ultrasound under solvent-free conditions. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, 151(12), 1859-1865.
- Hernández, M. P., Novoa, M. C., Colares, M. N., Perrotta, V. G., Nughes, L. M., Arambarri, A. M. (2015). Anatomía foliar de hierbas terrestres medicinales que crecen en la región rioplatense (Buenos Aires, Argentina). *Bonplandia*, 24(2), 97-124.
- Ho, Y. S.; Wu, J. Y. & Chang, C. Y. (2019). A new natural antioxidant biomaterial from *Cinnamomum osmophloeum* Kanehira leaves represses melanogenesis and protects against DNA damage. *Antioxidants*, 8(10), 474.
- Iannicelli, J., Guariniello, J., Pitta Álvarez, S., & Escandón, A. (2018). Traditional uses, conservation status and biotechnological advances for a group of aromatic / medicinal native plants from America. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat*, 17(5), 453-491.
- Inoue, M., Hayashi, S., & E. Craker, L. (2019). Role of Medicinal and Aromatic Plants: Past, Present, and Future. In *Pharmacognosy - Medicinal Plants*. 1-13
- Ismail, M. F., Madkour, H. M., Salem, M. S., Mohamed, A. M., & Aly, A. F. (2021). Design, synthesis and insecticidal activity of new 1, 3, 4-thiadiazole and 1, 3, 4-thiadiazolo [3, 2-a] pyrimidine

- derivatives under solvent-free conditions. *Synthetic Communications*, 51(17), 2644-2660
- Jakubczyk, K., Tuchowska, A., & Janda-Milczarek, K. (2021). Plant hydrolytes—Antioxidant properties, chemical composition and potential applications. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 142, 112033.
- Jadhav, N. L., Garule, P. A., & Pinjari, D. V. (2022). Comparative study of ultrasound pretreatment method with conventional hydrodistillation method for extraction of essential oil from *Piper betle* L. (Paan). *Indian Chemical Engineer*, 64(2), 132-140.
- Jiao, Y., Li, D., Chang, Y., & Xiao, Y. (2018). Effect of freeze-thaw pretreatment on extraction yield and antioxidant bioactivity of corn carotenoids (lutein and zeaxanthin). *Journal of Food Quality*, 1-8.
- Karimian, P., Kavoozi, G., & Amirghofran, Z. (2014). Anti-oxidative and anti-inflammatory effects of *Tagetes minuta* essential oil in activated macrophages. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(3), 219-227.
- Kowalski, R., Kowalska, G., Jamroz, J., Nawrocka, A., & Metyk, D. (2015). Effect of the ultrasound-assisted preliminary maceration on the efficiency of the essential oil distillation from selected herbal raw materials. *Ultrasonics Sonochemistry*, 24, 214-220.
- Kumar, S. S., Manoj, P., Shetty, N. P., & Giridhar, P. (2015). Effect of different drying methods on chlorophyll, ascorbic acid and antioxidant compounds retention of leaves of *Hibiscus sabdariffa* L. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(9), 1812-1820.
- Kusuma, H. S., Altway, A., & Mahfud, M. (2018). Solvent-free microwave extraction of essential oil from dried patchouli (*Pogostemon cablin* Benth) leaves. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 58, 343-348.
- Labiad, H., Et-Tahir, A., Ghanmi, M., Satrani, B., Aljaiyash, A., Chaouch, A., & Fadli, M. (2020). Ethnopharmacological survey of aromatic and medicinal plants of the pharmacopoeia of northern Morocco. *Ethnobotany Research and Applications*, 19, 1-16.
- Lei, G., Li, J., Zheng, T., Yao, J., Chen, J., & Duan, L. (2018). Comparative Chemical Profiles of Essential Oils and Hydrolyte Extracts from Fresh Flowers of Eight *Paeonia suffruticosa* Andr. Cultivars from central China. *Molecules*, 23(12).
- Lemus-Mondaca, R., Vega-Gálvez, A., Rojas, P., Stucken, K., Delporte, C., et al. (2018). Antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory potential of *Stevia rebaudiana* leaves: effect of different drying methods. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 11, 37-46.
- Li, R., Shang, H., Wu, H., Wang, M., Duan, M., & Yang, J. (2018). Thermal inactivation kinetics and effects of drying methods on the phenolic profile and antioxidant activities of chicory (*Cichorium intybus* L.) leaves. *Scientific reports*, 8(1), 1-9.
- Lima, B., Agüero, M. B., Zygado, J., Tapia, A., Solis, C., et al. (2009). Antimicrobial activity of extracts, essential oil and metabolites obtained from *Tagetes mendocina*. In *J. Chil. Chem. Soc.*, 54(1), 68-72.
- Mahajan, M., Kuiry, R., & Pal, P. K. (2020). Understanding the consequence of environmental stress for accumulation of secondary metabolites in medicinal and aromatic plants. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 18, 100255.
- Mansour-Gueddes, S. B., Saidana-Najja, D., Flamini, G., Cheraief, I., & Braham, M. (2022). Assessment of the climatic condition's impact on volatiles, polyphenols and mineral contents in Tunisian olive tree (*Olea europaea* L.). *Polish Journal of Environmental Studies*, 31(1), 219-230.
- Marotti, M., Piccaglia, R., Biavati, B., & Marotti, I. (2011). Characterization and yield evaluation of essential oils from different tagetes species. *Journal of Essential Oil Research*, 16(5), 440-444.
- Megawati, Fardhyanti, D. S., Sediawan, W. B., & Hisyam, A. (2019). Kinetics of mace (*Myristica arillus*) essential oil extraction using microwave assisted hydrodistillation: Effect of microwave power. *Industrial Crops and Products*, 131, 315-322.
- Mercado-Mercado, G., Rosa-Carrillo, L. D. L., Wall-Medrano, A., López-Díaz, J. A., & Álvarez-Parrilla, E. (2013). Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutrición hospitalaria*, 28(1), 36-46.
- Mnayer, D., Fabiano-Tixier, A.-S., Petitcolas, E., Ruiz, K., Hamieh, T., & Chemat, F. (2017). Extraction of green absolute from thyme using ultrasound and sunflower oil. *Resource-Efficient Technologies*, 3(1), 12-21.
- Moghaddam, M., Omidbiagi, R., & Sefidkon, F. (2011). Changes in content and chemical composition of *Tagetes minuta* oil at various harvest times. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(1), 18-20.
- Mohammadhosseini, M., Akbarzadeh, A., & Flamini, G. (2017). Profiling of compositions of essential oils and volatiles of *Salvia limbata* using traditional and advanced techniques and evaluation for biological activities of their extracts. *Chemistry & Biodiversity*, 14(5), 28273408.
- Naidoo, Y., Rikisahedew, J. J., Dewir, Y. H., Ali, A. A. & Rihan, H. Z. (2021). Foliar micromorphology, ultrastructure and histochemical analyses of *Tagetes minuta* L. leaves. *Micron*, 150, 103125
- Nayak, B., Dahmoune, F., Moussi, K., Remini, H., Dairi, S., Aoun, O. & Khodir, M. (2015). Comparison of microwave, ultrasound and accelerated-assisted solvent extraction for recovery of polyphenols from *Citrus sinensis* peels. *Food chemistry*, 187, 507-516
- Natividad, B., A., Cisneros, S., G., Rojas, P., R., Matos, R., A., & Ramos, R., M. (2009). Componentes antioxidantes del chincho (*Tagetes elliptica* Sm): Vitamina C y flavonoides. *Investig. Valdizana*, 3(2), 94-99.
- Nurhaslina, C. R., Andi Bacho, S., & Mustapa, A. N. (2022). Review on drying methods for herbal plants. *Materials Today: Proceedings*, 63, S122-S139.
- Panja, P. (2018). Green extraction methods of food polyphenols from vegetable materials. *Current Opinion in Food Science*, 23, 173-182.
- Pelin Bahadırli, N. (2020). Essential oil content and compositions of naturalized *Tagetes minuta* L. (Wild marigold). *Volatiles & Essent. Oils*, 7(2), 17-21.
- Qun, Y., Chuan, L., Zhenhua, D., Bing, L., Weiwen, D. & Feifei, S. (2017). Ultrasonic microwave-assisted extraction of polyphenols, flavonoids, triterpenoids, and vitamin C from *Clinacanthus nutans*. *Journal of Food Sciences*, 35(1), 89-94.
- Rk, J., Sm, B., & Joshi, R. K. (2022). Volatile composition and biological activities of tagetes (Marigold): An overview. *International Journal of Pharmacognosy & Chinese*, 6(1), 1-13.
- Ruiz, J. R., & Salazar, M. E. (2021). Composición química y actividad antibacteriana de los aceites esenciales de *Citrus paradisi*, *Juglans neotropica* Diels, *Schinus molle* y *Tagetes elliptica* Smith. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 87(3), 228-241.
- Saifullah, M., McCullum, R., McCluskey, A., & Vuong, Q. (2019). Effects of different drying methods on extractable phenolic compounds and antioxidant properties from lemon myrtle dried leaves. *Heliyon*, 5(12), e03044.
- Saini, R. K., Shetty, N. P., Prakash, M., & Giridhar, P. (2014). Effect of dehydration methods on retention of carotenoids, tocopherols, ascorbic acid and antioxidant activity in *Moringa oleifera* leaves and preparation of a RTE product. *Journal of food science and technology*, 51(9), 2176-2182.
- Santos, L. R. D., de Melo Silva, S. C. & Rodrigues, T. M. (2016). Non-glandular trichomes in Lamiaceae and Verbenaceae species: morphological and histochemical features indicate more than physical protection. *New Zealand Journal of Botany*, 54(4), 446-457.
- Segovia, I. K., Suárez De La Cruz, L. L., Castro, A. J., Suárez, S., & Ruiz, J. R. (2010). Composición química del aceite esencial de

- Tagetes elliptica* smith "chincho" y actividades antioxidante, antibacteriana y antifúngica. *Ciencia e investigación*, 13(2), 81-86.
- Semeniuc, C. A., Socaciu, M. I., Socaci, S. A., Mureşan, V., Fogarasi, M., & Rotar, A. M. (2018). Chemometric comparison and classification of some essential oils extracted from plants belonging to Apiaceae and Lamiaceae families based on their chemical composition and biological activities. *Molecules*, 23(9): 2261.
- Senatore, F., Napolitano, F., Mohamed, M. A. H., Harris, P. J. C., Mkeni, P. N. S., & Henderson, J. (2004). Antibacterial activity of *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) essential oil with different chemical composition. *Flavour and Fragrance Journal*, 19(6), 574-578.
- Singh Chouhan, K. B., Tandey, R., Sen, K. K., Mehta, R., & Mandal, V. (2019). Critical analysis of microwave hydrodiffusion and gravity as a green tool for extraction of essential oils: Time to replace traditional distillation. *Trends in Food Science & Technology*, 92, 12-21.
- Singh, P., Krishna, A., Kumar, V., Krishna, S., Singh, K., Gupta, M., & Singh, S. (2015). Chemistry and biology of industrial crop *Tagetes* Species: a review. *Journal of Essential Oil Research*, 28(1), 1-14.
- Śmigielski, K. B., Prusinowska, R., Krosowiak, K., & Sikora, M. (2013). Comparison of qualitative and quantitative chemical composition of hydrolate and essential oils of lavender (*Lavandula angustifolia*). *Journal of Essential Oil Research*, 25(4), 291-299.
- Taype-Landeo, O. I., & Ruiz-Rodriguez, A. I. (2021). Compuestos bioactivos, perfil antioxidante y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Tagetes erecta* y *Tagetes patula*. *Dominio de las Ciencias*, 7(5), 451-464.
- Vázquez, A. M., Aimar, M. L., Demmel, G. I., Criado, S. G., Ruiz, G. M., et al. (2011). Determinación de compuestos orgánicos volátiles de *Tagetes argentina* Cabrera (Asteraceae) utilizando análisis por HS-SPME. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 10(5), 463-469.
- Tomás, G., Huamán M., J., Aguirre M., R., Guerrero A., M., Orihuela R., C., Candia T., K., & Barreda T., M. (2010). Estudio químico y fitoquímico del *Tagetes elliptica* "chincho" y *Calathea lutea* "bijao", como alternativa de alimentos funcionales. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, 13(1), 11-13.
- Wang, H. F., Yih, K. H., Yang, C. H., & Huang, K. F. (2017). Antioxidant activity and major chemical component analyses of twenty-six commercially available essential oils. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(4), 881-889.