



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

CARRERA DE AGROINDUSTRIA

**INFORME DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR PREVIO A
LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

MECANISMO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

TEMA:

**CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE EXTRACTOS DE PROPÓLEO,
CANELA Y CLAVO DE OLOR OBTENIDOS MEDIANTE TÉCNICA
DE ULTRASONIDO**

AUTOR

VILLACRES ZAMBRANO ENRIQUE GONZALO

TUTOR:

ING. NELSON ENRIQUE MENDOZA GANCHOZO, Mgtr

CALCETA, OCTUBRE 2024

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo **ENRIQUE GONZALO VILLACRÉS ZAMBRANO**, con cédula de ciudadanía 1727149591, declaro bajo juramento que el Trabajo de Integración Curricular titulado: **CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE EXTRACTOS DE PROPÓLEO, CANELA Y CLAVO DE OLOR OBTENIDOS MEDIANTE TÉCNICA DE ULTRASONIDO** es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración, concedo a favor de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos, conservando a mi favor todos los derechos patrimoniales de autor sobre la obra, en conformidad con el Artículo 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación.



ENRIQUE GONZALO VILLACRÉS ZAMBRANO
CC:1727149591

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

Enrique Gonzalo Villacrés Zambrano, con cédula de ciudadanía 1727149591, autorizo a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, la publicación en la biblioteca de la institución del Trabajo de Integración Curricular titulado: CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE EXTRACTOS DE PROPÓLEO, CANELA Y CLAVO DE OLOR OBTENIDOS MEDIANTE TÉCNICA DE ULTRASONIDO, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y total autoría.



ENRIQUE GONZALO VILLACRÉS ZAMBRANO
CC: 1727149591

CERTIFICACIÓN DEL COORDINADOR DEL GRUPO DE INVESTIGACIÓN

Yo, Ing. Luis Alberto Ortega Arcia, Ph. D, Coordinador del Grupo de Investigación **CIA**, certifico que el estudiante, **ENRIQUE GONZALO VILLACRES ZAMBRANO**, realizó su Trabajo de Integración Curricular **CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE EXTRACTOS DE PROPÓLEO, CANELA Y CLAVO DE OLOR OBTENIDOS MEDIANTE TÉCNICA DE ULTRASONIDO** previo a la obtención del título de **INGENIERO AGROINDUSTRIAL**. Este trabajo se ejecutó como parte de una actividad del programa/proyecto de investigación titulado **REDUCCIÓN DE CONTAMINANTES EN PRODUCTOS AGROALIMENTARIOS PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD E INOCUIDAD EN LA ZONA DE PLANIFICACIÓN 4** y registrado en la Secretaría Nacional de Planificación con CUP **91880000.0000.389246**.

**ING. LUIS ALBERTO ORTEGA ARCIA, Ph. D
COORDINADOR DEL GRUPO DE
INVESTIGACIÓN CIA**

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

ING NELSON ENRIQUE MENDOZA GANCHOZO, Mgtr. certifica haber tutelado el Trabajo de Integración Curricular titulado: **CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE EXTRACTOS DE PROPÓLEO, CANELA Y CLAVO DE OLOR OBTENIDOS MEDIANTE TÉCNICA DE ULTRASONIDO**, que ha sido desarrollado por **ENRIQUE GONZALO VILLACRÉS ZAMBRANO**, previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial, de acuerdo al **REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR DE CARRERAS DE GRADO** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

ING. NELSON ENRIQUE MENDOZA GANCHOZO, Mgtr
CC:1308159464
TUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del Tribunal correspondiente, declaramos que hemos APROBADO el Trabajo de Integración Curricular titulado: **CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE EXTRACTOS DE PROPÓLEO, CANELA Y CLAVO DE OLOR OBTENIDOS MEDIANTE TÉCNICA DE ULTRASONIDO**, que ha sido desarrollado por **ENRIQUE GONZALO VILLACRÉS ZAMBRANO**, previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial, de acuerdo al **REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR DE CARRERAS DE GRADO** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

Ing. Dennys Lenin Zambrano Velásquez,
Mgtr.
CC: 1310342769
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. Ricardo Ramon Montesdeoca
Párraga, Ph.D.
CC: 1310832488
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. José Fernando Zambrano Ruedas,
Mgtr.
CC: 1310828460
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTO

A Dios por darme las fuerzas por ser mi motor de vida que con su voluntad he podido llegar a cumplir mi sueño. A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de crecer como ser humano a través de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día.

A mis padres que toda su vida me han apoyado, han estado a mi lado, son los que con su cariño me han impulsado siempre a perseguir mis metas y nunca abandonarlas.

A mis hermanos quienes han estado conmigo desde el primer escalón.

Agradezco muy Profundamente al Arq. Galo Falquez Avilés quien ha sido mi guía y no me ha dejado rendir, pese a todos mis problemas me ha dado el ánimo para salir adelante, gracias por todos sus consejos los llevaré grabados para siempre en mi memoria y los pondré en práctica como futuro profesional.

De la misma manera, un agradecimiento especial al Ing. José Fernando Zambrano Ruedas quién estuvo en cada etapa de mi trabajo de investigación, al Ing. Francisco Demera Lucas por motivarme a seguir adelante y a mi tutor Ing. Nelson Mendoza Ganchozo por su guía en este trabajo de titulación.

.

ENRIQUE GONZALO VILLACRÉS ZAMBRANO

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico a mis padres, las personas que me han brindado el máximo tesoro que pueden dejar a un hijo, gracias por darme una carrera para mi futuro.

A mis hermanos que siempre estuvieron apoyándome, dándome palabras llenas de amor.

ENRIQUE GONZALO VILLACRÉS ZAMBRANO

CONTENIDO GENERAL

| | |
|---|-------------|
| DECLARACIÓN DE AUTORÍA..... | ii |
| AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN | iii |
| CERTIFICACIÓN DEL COORDINADOR DEL GRUPO DE INVESTIGACIÓN | iv |
| CERTIFICACIÓN DEL TUTOR..... | v |
| APROBACIÓN DEL TRIBUNAL | vi |
| AGRADECIMIENTO | vii |
| DEDICATORIA | viii |
| CONTENIDO GENERAL | ix |
| CONTENIDO DE TABLAS | xi |
| CONTENIDO DE FIGURAS..... | xi |
| RESUMEN | xii |
| ABSTRACT | xiii |
| CAPÍTULO I. ANTECEDENTES..... | 1 |
| 1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DE PROBLEMA | 1 |
| 1.2. JUSTIFICACIÓN | 2 |
| 1.3. OBJETIVOS | 4 |
| 1.3.1. OBJETIVO GENERAL | 4 |
| 1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 4 |
| 1.4. HIPÓTESIS..... | 4 |
| CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO | 5 |
| 2.1. PROPÓLEO..... | 5 |
| 2.1.2. TIPOS DE PROPÓLEOS | 5 |
| 2.2. CANELA..... | 6 |
| 2.3. CLAVO DE OLOR..... | 6 |
| 2.4. EXTRACTOS | 7 |
| 2.4.1. TIPOS DE EXTRACTOS..... | 7 |
| 2.5. NORMA RTE INEM 068 PARA EXTRACTOS (PROPOLEO,CANELA,CLAVO DE OLOR) | 8 |
| 2.6. EXTRACCIÓN POR ULTRASONIDO | 8 |
| 2.6. ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA VISIBLE | 10 |
| 2.7. COMPUESTOS BIOACTIVOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE | 11 |
| 2.7.1. POLIFENOLES | 11 |
| 2.7.2. FLAVONOIDES..... | 11 |
| 2.8. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE | 12 |
| CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO | 15 |

| | |
|--|-----------|
| 3.1. UBICACIÓN | 15 |
| 3.2. DURACIÓN DEL TRABAJO..... | 16 |
| 3.3. MÉTODOS..... | 16 |
| 3.3.1. MÉTODO DESCRIPTIVO | 16 |
| 3.3.2. BIBLIOGRÁFICO | 16 |
| 3.4. TÉCNICAS ANALÍTICAS | 16 |
| 3.4.1. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS DE PROPÓLEO, CANELA Y CLAVO DE OLOR..... | 16 |
| 3.4.2. DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES (TÉCNICA DE FOLIN- CIOCALTEU) | 17 |
| 3.4.3. DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES | 17 |
| 3.4.4. DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE..... | 18 |
| 3.4.5. DETERMINACIÓN DE RENDIMIENTO..... | 18 |
| 3.5. UNIDAD EXPERIMENTAL..... | 18 |
| 3.6. VARIABLE DE ESTUDIO..... | 18 |
| 3.7. MANEJO DEL EXPERIMENTO | 19 |
| 3.7.1. DIAGRAMA DE PROCESO DE LA CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL PROPÓLEO OBTENIDO MEDIANTE TÉCNICA DE ULTRASONIDO | 20 |
| 3.7.4. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO..... | 21 |
| 3.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO | 22 |
| CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 25 |
| 4.1. RENDIMIENTO DE CADA EXTRACTO POR TÉCNICA DE ULTRASONIDO | 25 |
| 4.2. CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL PROPÓLEO, EXTRACTO DE CANELA Y CLAVO DE OLOR MEDIANTE ANÁLISIS DE POLIFENOLES, FLAVONOIDES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE | 27 |
| CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... | 31 |
| BIBLIOGRAFÍA..... | 32 |
| ANEXOS..... | 39 |

CONTENIDO DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Análisis descriptivo de la variable rendimiento de acuerdo a los extractos por separado. | 25 |
| Tabla 2. Análisis de normalidad de la variable rendimiento por extracto | 25 |
| Tabla 3. Análisis de normalidad de las variables por extracto | 29 |

CONTENIDO DE FIGURAS

| | |
|---|--------------------------------------|
| Figura 1. Ubicación del Campus politécnico | 15 |
| Figura 2. Ubicación Laboratorio Escuela Superior Politécnica Nacional | 15 |
| Figura 3. Obtención de extracto de propóleo por ultrasonido | 20 |
| Figura 4. Obtención de extracto de clavo de olor por ultrasonido | ¡Error! Marcador no definido. |
| Figura 5. Obtención de extracto de canela por ultrasonido ¡Error! Marcador no definido. | |
| Figura 6. Representación gráfica de la normalidad por cada extracto | 26 |
| Figura 7. Representación gráfica de rendimiento por cada extracto | 26 |
| Figura 8. Gráfico radar contenido (polifenoles, flavonoides, capacidad antioxidante) | 28 |
| Figura 9. Representación gráfica de la normalidad para la variable Polifenoles para cada extracto. | 30 |
| Figura 10. Representación gráfica de la normalidad para la variable Flavonoides totales para cada extracto. | 30 |
| Figura 11. Representación gráfica de la normalidad para la variable Capacidad | 30 |

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo identificar el contenido de polifenoles, flavonoides y capacidad antioxidante de los extractos de propóleo, canela y clavo de olor, como alternativa de conservante natural para la elaboración de bebidas nutracéuticas, en cumplimiento con el programa de Investigación Institucional del grupo CIA "Reducción de contaminantes en productos agroalimentarios para el aseguramiento de la calidad e inocuidad en la zona de planificación 4 de Ecuador. La toma de muestra de propóleo se obtuvo de la Apícola Cayambe, para canela y clavo de olor se obtuvieron de la marca Ta'Riko Empresa TIA S.A. Se aplicó estadística descriptiva a las variables polifenoles, flavonoides y capacidad antioxidante, calculando la media, mediana, desviación estándar, mínimo y máximo, coeficiente de variación y prueba de normalidad de Shapiro Wilk. En cuanto a contenido de polifenoles expresados en mg de equivalente de ácido gálico (mg EAG/100 mL), los extractos de clavo de olor, canela y propóleo presentaron valores promedios de 1633,80, 560,10 y 211,40 respectivamente, los valores de contenido de flavonoides totales expresados en mg de equivalente de catequina (mg EC/100 mL), los extractos de clavo de olor, canela y propóleo presentaron valores promedios de 339,30, 423,80, y 47,40 respectivamente, mientras los valores de capacidad antioxidante expresados en equivalente de Trolox ($\mu\text{mol TEAC}/100 \text{ mL}$), los extractos de clavo de olor, propóleo y canela presentaron valores promedios de 3025,30, 59,60 y 50,80 respectivamente. El extracto de clavo de olor presentó alto contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante frente a los demás extractos analizados.

Palabras clave: Polifenoles; Flavonoides, Capacidad antioxidante; Compuestos bioactivos; Conservante natural.

ABSTRACT

The objective of this Research was to identify the content of polyphenols, flavonoids and antioxidant capacity of propolis, cinnamon and clove extracts, as an alternative natural preservative for the production of nutraceutical drinks, in compliance with the group's Institutional Research program. CIA "Reduction of contaminants in agri-food products to ensure quality and safety in planning zone 4 of Ecuador. The propolis sample was obtained from Apicola Cayambe, for cinnamon and cloves it was obtained from the Ta'Riko Empresa TIA S.A. brand. Descriptive statistics were applied to the variables polyphenols, flavonoids and antioxidant capacity, calculating the mean, median, standard deviation, minimum and maximum, coefficient of variation and Shapiro Wilk's normality test. Regarding polyphenol content expressed in mg of gallic acid equivalent (mg GEA/100 mL), the extracts of clove, cinnamon and propolis presented average values of 1633.80, 560.10 and 211.40 respectively. the values of total flavonoid content expressed in mg of catechin equivalent (mg EC/100 mL), the extracts of clove, cinnamon and propolis presented average values of 339.30, 423.80, and 47.40 respectively, while the antioxidant capacity values expressed in Trolox equivalent ($\mu\text{mol TEAC}/100\text{ mL}$), the extracts of clove, propolis and cinnamon presented average values of 3025.30, 59.60 and 50.80 respectively. The clove extract had a high content of bioactive compounds and antioxidant capacity compared to the other extracts analyzed.

Keywords: Polyphenols; Flavonoids, Antioxidant capacity; bioactive compounds; Natural preservative.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DE PROBLEMA

Hoy en día se ha vuelto difícil elegir el tipo de alimento que se va a adquirir debido a que los consumidores eligen cantidad mas no calidad, tal es el caso en la producción de bebidas en donde las mismas tienen una mayor cantidad de químicos en su composición, uno de ellos es la utilización de conservantes químicos los cuales muchas veces afectan a la salud de quien los consume, por otra parte el crecimiento microbiano y la decoloración, son las principales causas del deterioro de la calidad de las bebidas. Por lo cual, para la industria representa un reto prolongar el mayor tiempo posible la calidad en la elaboración de las bebidas, hoy en día existen consumidores que prefieren adquirir productos orgánicos, los cuales han ido creando una tendencia del consumo de alimentos naturales (Cauja, 2019).

Actualmente en Ecuador no se aprovechan al 100 % los recursos naturales como es el caso del propóleo, no solo por el desconocimiento de su potencial biológico (antibacteriano y antimicótico), sino también por la falta de estudios en cuanto a la composición química (compuestos bioactivos), que depende de la ubicación geográfica de la colmena de dónde se extraen (Palomino et al., 2009).

Eficacia y aceptación la inquietud del consumidor acerca de los antimicrobianos de origen natural derivados de vegetales, microorganismos y recursos animales continúa en constante aumento. Esta tendencia es ampliamente motivada por una creciente concientización respecto a los riesgos asociados con los aditivos y conservantes sintéticos empleados en la industria alimentaria (Batiha et al., 2021).

Según (Mamur et al. 2010 citado por Loyola 2021), en un estudio experimental realizado al sorbato de potasio, se demostró que dicho aditivo químico es genotóxico y causa daños a los linfocitos de la sangre humana in vitro, se observó rotura de las cadenas de ADN en dichos linfocitos. En base a este sustento bibliográfico se manifiesta que el sorbato de potasio no otorga garantías

al ser humano para mantener una buena salud al consumir alimentos procesados.

La presente investigación se realizará debido a la falta de conocimiento sobre el contenido químico de compuestos bioactivos como polifenoles, flavonoides y capacidad antioxidante en materias primas como el propóleo (*Apis mellifera*), la canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y el clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), que pudieran ser agentes conservantes de origen natural en la industria de los alimentos y que pudieran ser sustituyentes del sorbato de potasio. Por ello se realiza la siguiente interrogante ¿Es posible que la extracción por ultrasonido de propóleo, canela y clavo de olor presenten características químicas en contenido de polifenoles, flavonoides y capacidad antioxidante?

1.2. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años, se ha avanzado en las tecnologías de extracción para maximizar rendimientos, reducir tiempos y costos, y mantener la eco-compatibilidad. Entre estas, la extracción Asistida por Ultrasonido emerge como alternativa destacada. Su practicidad, seguridad, eficiencia económica, reproducibilidad y baja demanda de energía y solventes la distinguen como una opción viable para la obtención de compuestos bioactivos procedentes de materias biológicas (Soria y Villamiel, 2010; Vieira et al., 2013 citado por Medina, 2017).

Las propiedades biológicas del propóleo han revelado características funcionales entre las que se encuentran la antibacteriana, antimicótica, antioxidante, antiinflamatoria, cicatrizante, citotóxica, anestésica, antitumoral y hepatoprotectora, anticancerígeno (Herrera, 2019).

Los compuestos fenólicos presentes en la canela contienen altas propiedades funcionales como: antiséptico, analgésico, fungicida, diurético, expectorante, antimicrobiano, antioxidante y cardioprotector. Las propiedades del cinamaldehído un compuesto que está presente en la canela, reduce la hemoglobina glucosilada, el colesterol y los triglicéridos, aumenta la insulina en el plasma de las células reduciendo significativamente la glucosa en la sangre, tiene la propiedad de impedir el crecimiento microbiano de bacterias como

Bacillus subtilis las más débiles y entre las más resistente la *Escherichia coli*. La cáscara de la canela encierra algunos fungicidas con una actividad antifúngica hacia *Artenaria solani* y *C. lunata*, *Paenibacillus larvae* (Sánchez, 2013 citado por Alvarado, 2019)

De acuerdo con Gonelimali et al. (2018) en un estudio en el que se evaluó el potencial antimicrobiano de extractos etanólicos y acuosos de rosal, romero, clavo y tomillo sobre patógenos, microorganismos que causan deterioro en los alimentos, en el que demostraron actividades antimicrobianas y antifúngicas, respecto al clavo de olor mencionan que presentó efectos antifúngicos sobre *Candida albicans* y sobre *Bacillus cereus* como la cepa más sensible al extracto acuoso de clavo de olor con una concentración inhibidora mínima del 0.315%.

Haro et al. (2021) destacan el relevante potencial biológico del aceite esencial de clavo de olor, abarcando propiedades antimicrobianas, antioxidantes e insecticidas. Se exploran los impactos de diversos métodos de extracción (hidrodestilación, destilación al vapor, extracción asistida por ultrasonidos, extracción asistida por microondas, prensado en frío y extracción con fluidos supercríticos) en la concentración de compuestos volátiles clave para la obtención de aceite y extractos orgánicos de clavo de olor. El eugenol prevalece como compuesto principal, constituyendo al menos el 50% de la composición, mientras que el 10-40% restante comprende acetato de eugenilo, β -cariofileno y α -humuleno.

Este trabajo de caracterización contribuirá al Proyecto de Investigación Institucional de la ESPAM MFL y del grupo de investigación CIA titulado PROPIEDADES NUTRACÉUTICAS Y CONSERVANTES DE PROPÓLEO, EXTRACTO DE CANELA Y CLAVO DE OLOR ENCAPSULADOS EN LA PREPARACIÓN DE BEBIDAS FUNCIONALES.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Identificar los compuestos fenólicos, flavonoides y capacidad antioxidante del propóleo y extractos de canela y clavo de olor obtenidos mediante técnica de ultrasonido.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener los extractos de las materias primas (Propóleo, canela y clavo de olor) mediante técnica de ultrasonido.
- Evaluar el rendimiento de los extractos del propóleo, clavo de olor y canela obtenidos mediante técnica de ultrasonido.
- Caracterizar químicamente el propóleo, extracto de canela y clavo de olor mediante análisis de polifenoles, flavonoides y capacidad antioxidante.

1.4. HIPÓTESIS

La aplicación de la técnica de ultrasonido para obtener propóleo y extractos de canela y clavo de olor permitirá identificar y cuantificar de manera precisa los compuestos químicos presentes en dichos productos, incluyendo Compuestos Bioactivos (Polifenoles, flavonoides y capacidad antioxidante).

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. PROPÓLEO

El propóleo es una materia igual a la resina elaborada por las abejas a partir de las germinaciones de los álamos y los árboles conos. Las reinas lo usan para edificar abejas y puede contener subproductos de las colmenas. El propóleo parece auxiliar a tratar bacterias, virus y hongos. También podría tener efectos antiinflamatorios y ayudar a aliviar la piel. El propóleo en pocas ocasiones está disponible en su forma natural. Generalmente se obtiene de las colmenas.

Las personas prácticamente utilizan propóleo para la diabetes, el herpes labial y la hinchazón y las úlceras dentro de la boca. También se utilizan para quemaduras, úlceras bucales, herpes genital y muchas otras condiciones, pero no existe una buena certeza científica que respalde estos usos (Natural Medicines Comprehensive Database, 2022).

2.1.2. TIPOS DE PROPÓLEOS

GREEN PRÓPOLIS

En 'Green Própolis' se distingue por su color verde debido a su origen en las yemas y hojas, esta sustancia actúa frente a los microorganismos de interés clínico en cavidad oral, piel y otros. El própolis verde origina la salud de las células prostáticas, beneficia el sistema inmune, la salud de las células mamarias y la salud cardíaca y circulatoria. Igualmente, estos tipos de propóleo proporcionan niveles de azúcar saludables y contienen compuestos fenólicos característicos como artemisinina, baccharin, ácidos fenólicos y flavonoides determinados como los antioxidantes, que resguardan las finas células nerviosas y ayudan a tener una buena salud intelectual general. (Fernández, 2020).

RED PRÓPOLIS

Es el único prototipo de propóleo que se caracteriza por sus compuestos fenólicos como isoflavonas que contienen actividad antioxidante, ácidos fenólicos, ácido cafeico, ácido ferúlico, flavonoides que incluyen diversos tipos como la quercetina y la kaempferol que proporcionan beneficios cardiovasculares y del sistema inmune, el Red Própolis también contiene terpenoides. Como consecuencia de esto, el Red Própolis tiene una extraordinaria capacidad para combatir contra los radicales libres. Entre sus aplicaciones, el Própolis rojo se emplea como un agregado en pacientes con cáncer, ya que su constitución ayuda a mejorar el sistema inmunitario. Además, el propóleo rojo es antibacteriano, antivírico y antioxidante (Fernández, 2020).

2.2. CANELA

La palabra canela proviene del francés *cannelle*, también se la puede conocer como canelo, canela de la india, ha sido muy utilizada en las artes culinarias y quiromántico, los árboles de canela (*Cinnamomum verum* o *Cinnamomum zeylanicum*) son árboles perennes, a los cuales se les aprovecha su corteza interna que es utilizada como especia, esta se obtiene pelando y frotando las ramas, La canela es un árbol de ciclo perenne que puede alcanzar más de 10 m de altura en su estado silvestre , sin embargo, en plantaciones extensivas estos árboles son podados para facilitar su cultivo. Contiene sustancias nativas, cinamaldehído y ácido cinámico, que pueden causar la mortalidad, repelencia y la no alimentación de los insectos (Loeza, Gutiérrez y Dzib, 2022)

2.3. CLAVO DE OLOR

El clavo de olor (*Syzygium aromaticum* o *Eugenia caryophyllata*) es una especia que pertenece a la familia Myrtaceae, caracterizada por su presencia en ambientes predominantemente tropicales. Originaria de Indonesia, en la actualidad se cultiva en diversos países como India, Australia, Brasil, Haití, Kenia, Madagascar, Malasia, México, Seychelles, Sri Lanka, Tanzania, entre otros. Su nombre proviene del parecido de su botón floral con un clavo metálico. Esta planta prospera en suelos ricos en humus arcilloso, así como en suelos lateríticos típicos de regiones cálidas, que son pobres en sílice pero ricos en hierro y alúmina (óxido de aluminio), y se caracterizan por ser profundos y

suelos. El clavo de olor se obtiene de un árbol perenne que florece dos veces al año; los botones florales, que inicialmente son pálidos, pasan por una fase verde antes de adquirir un color rojo o marrón oscuro. Las partes de este árbol más utilizadas para la extracción del aceite esencial conocido como eugenol son los tallos, las hojas y los botones florales no abiertos. (Paucar, 2022).

2.4. EXTRACTOS

Son compuestos derivados de la obtención de sustancias biológicamente activas presentes en los tejidos de plantas, por el uso de un solvente (alcohol, agua, mezcla de estos u otro solvente selectivo) y un proceso de extracción adecuado. De una misma planta, dependiendo de la parte de ella utilizada, del solvente y de la técnica de extracción, podremos obtener una diferente gama de sustancias y se pueden utilizar en diferentes sectores como el cosmético, farmacéutico o alimentario (Santamaría et al., 2015).

2.4.1. TIPOS DE EXTRACTOS

Extractos Fluidos o líquidos: “Los extractos fluidos, también conocidos como extractos líquidos, son preparaciones de drogas vegetales que contiene alcohol como disolvente o como preservante, o ambos, preparados de tal manera que cada mililitro contiene los constituyentes extraídos de 1 g del material crudo que representa” (Solís et al., 2003 citado por Amaguaña y Churuchumbi, 2018).

Extractos Secos: “Los extractos secos se obtienen evaporando todo el solvente hasta que tienen una consistencia en polvo. Son altamente estables, aunque en ocasiones resultan ser higroscópicos, además son de fácil manipulación y se les puede utilizar para preparar tinturas de extractos fluidos” (Kuklinski, 2003 citado por Amaguaña y Churuchumbi, 2018).

Extractos Semisólidos o blandos: “Tienen una riqueza superior a la droga de partida, se obtienen evaporando el disolvente hasta obtener un producto de textura semisólida pero que no moja el papel de filtro” (Cañigueral, 2003 citado por Amaguaña y Churuchumbi, 2018).

Crioextractos: “Se obtiene por molturación de la droga vegetal correctamente

desecada, sometida a condiciones de congelación (-196 °C), mediante inyección de nitrógeno líquido, de forma que los principios activos no se ven alterados por la acción del calor desprendido en un proceso de molturación y que, dependiendo de la droga vegetal, puede llegar a ser hasta 70 °C. Son muy útiles para la obtención de proteínas y enzimas de ciertas especies” (Castillo & Martínez, 2007 citado por Amaguaña y Churuchumbi, 2018).

2.5. NORMA RTE INEM 068 PARA EXTRACTOS (PROPOLEO,CANELA,CLAVO DE OLOR)

La norma INEM indica que para extractos es de carácter de Obligatorio el Reglamento Técnico Ecuatoriano RTE INEN para obtención de extractos esencias y preparativos como café, té hierbas aromáticas y bebidas energéticas. (INEM 2014)

2.6. EXTRACCIÓN POR ULTRASONIDO

La Extracción por ultrasonido es una técnica amplia y posible de usar para poder lograr obtención de estos compuestos bioactivos, con mínimos tiempos de extracción, saludable con el medio ambiente, logrando obtener grandes rendimientos y selectividad. El umbral de esta técnica está basado en el fenómeno de cavitación que se suele dar por la formación, en crecimiento y colapso de burbujas de vapor o gas formadas por la operación de las ondas de una repetición determinada. La cavitación da camino a una influencia negativa a un líquido, las potencias intermoleculares de Van der Waals no son lo justamente fuertes como para poder mantener la cohesión y se pueden lograr formar pequeñas cavidades o micro burbujas llenas de gas que sufren deformaciones radiales y tangenciales con un cuerpo tan pequeño que la energía del colapso se entrega a un número relativamente pequeño de moléculas” (Fajardo et al., 2022). De acuerdo con (Bhargava et al. 2021 citado por Fajardo et al., 2022) mencionan las siguientes ventajas y desventajas:

Ventajas

- Es una tecnología ecológica que ha mejorado de manera competente varios procesos en la industria alimentaria.

- Actúa como un excelente sustituto de varias tecnologías convencionales basadas en calor que son perjudiciales para la calidad del producto.
- Contribuye de manera efectiva a la firmeza de las frutas y verduras, una mejor mezcla de las masas, la inactivación microbiana, la homogeneización, la esterilización, la pasteurización y la emulsificación.
- Ha dado como resultado la producción de un producto de mejor calidad a temperaturas más bajas, con una mejor tasa de transferencia de calor y masa.
- Acelera el proceso de filtración, lo que aumenta la vida útil del filtro, acelera la congelación y da como resultado un tamaño de cristal más pequeño, operaciones de secado y descongelación más rápidas.
- Proporcionó una técnica de procesamiento rápido, lo que limita el costo de producción.
- Mejoró la eficiencia del proceso al eliminar la necesidad de pasos de proceso y aumentar el rendimiento del producto.
- Además, se mejora la calidad y pureza del producto final, al potenciar sus propiedades organolépticas, firmeza y textura.
- También ayuda en la retención de las características nutricionales del producto y aumenta la vida útil del producto.

Desventajas

- Cuando se aplica a altas intensidades genera calor debido a una escalada de temperatura, lo que tiene efectos perjudiciales sobre las características organolépticas y nutricionales del producto alimenticio.
- La eficacia contra las inactivaciones microbianas y enzimáticas no ha sido del todo exitosa. Sin embargo, el efecto sinérgico junto con la temperatura y la presión puede causar la inactivación.
- Los ultrasonidos de alta potencia pueden causar efectos físicos y químicos

adversos en los alimentos.

- Los radicales libres generados debido a la cavitación dan como resultado la oxidación de lípidos acompañada de sabores y olores desagradables, desnaturalización de proteínas y reducción del contenido fenólico total debido a la degradación del ácido ascórbico.
- La aplicación de la temperatura y presión con el ultrasonido, también forma radicales libres que catalizan una reacción que puede dañar la estructura de la proteína y afectar adversamente la textura del producto alimenticio.

2.6. ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA VISIBLE

Es un enfoque de análisis que puede evaluar la concentración de longitudes de onda de luz ultravioleta uniforme que una muestra puede captar o difundir en comparación con una fuente de referencia o en claro. La estructura de la muestra afecta en esta participación y puede ofrecer datos sobre lo que hay en la muestra y en qué concentración (Kalstein, 2022).

Esta maneja la luz a través de una de las zonas visibles, ultravioleta próxima (UV) e infrarroja próxima (NIR) del campo electromagnético. Las zonas visibles son las que poseen una extensión de onda entre 380 nm y 780 nm. Las transformaciones electrónicas pueden evaluarse cuando las moléculas absorben una de las radiaciones de esta área del espectro. Esta conexión puede usarse para:

- **Análisis cualitativos.** - Determinan la presencia de ciertos elementos el valor contenido de DOBI y caroteno en aceites y grasas comestibles, la caracterización de la contaminación, como el cromo y el hierro en el agua, la caracterización de la cianocobalamina y la comprobación de la pureza del ADN/ARN son algunos ejemplos.
- **Análisis cuantitativos.** -Determinan una de las cantidades de ciertas sustancias.
Por ejemplo, la determinación de las concentraciones de las sustancias

en el agua, como la DQO o el amoníaco, la determinación de la unidad de amargor de las bebidas alcohólicas, la medida del contenido de azúcar en las bebidas y la cuantificación de las proteínas. (Toledo, 2023)

2.7. COMPUESTOS BIOACTIVOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

2.7.1. POLIFENOLES

Son uno de los grandes grupos de compuestos bioactivos que se encuentran ampliamente presentes en estos alimentos de origen vegetal y que pueden desempeñar un papel importante en la nutrición de las personas. Las principales fuentes de dieta son frutas, verduras y bebidas derivadas de plantas, como el té, el café, el vino tinto y los jugos de frutas. Los polifenoles más comunes en propóleo son los flavonoides, que se dividen en varias clases como flavonas, flavonolas, flavanonas y flavonoles. También hay estilbenos, que mejoran la salud cardiovascular, y finalmente lignanos. La canela, por otro lado, tiene propiedades polifenoles como cumarinas, que tienen propiedades anticoagulantes, flavonoides y ácidos fenólicos. El clavo de olor contiene una variedad de polifenoles, incluidos los flavonoides y el eugenol, que tienen propiedades microbianas y analgésicas (Castro, 2021).

2.7.2. FLAVONOIDES

Los principales componentes bioactivos del propóleo son los flavonoides, así como los ácidos fenólicos y sus ésteres, que se conocen genéricamente aparte de "compuestos fenólicos". Ambos resguardan los tejidos vegetales más sensibles de la radiación solar al captar la radiación en la región UV del espectro electromagnético (Verdugo M y Bruno Tola 2017).

Los flavonoides son compuestos fenólicos diaril-propánicos que poseen una estructura del tipo C6-C3-C6 con dos conjuntos estimulantes (bencénicos) unidos entre sí por una cadena de 3 carbonos ciclada por oxígeno. Los isoflavonoides son representantes de compuestos fenólicos diaril-propánicos. Se pueden encontrar como compuestos aglicos libres o en forma de O-heterósidos o C-heterósidos; usualmente se encuentran unidos a glucosa, aunque también pueden estar unidos a ramnosa y, muy frecuentemente, a galactosa. La gran

parte de los flavonoides se agrupan como O-heterósidos. (López, 2002).

Distribución

Los flavonoides se encuentran ampliamente presentes en las plantas superiores, con las familias rutáceas, poligonáceas, compuestas y umbelíferas como las principales. Debido a que la luz solar favorece su síntesis, abundan principalmente en partes aéreas jóvenes y más expuestas al sol, como hojas, frutos y flores.

Al igual que la mayoría de los metabolitos secundarios, estos compuestos son cruciales para la planta porque, además de ser responsables de la coloración de muchas flores, frutos y hojas, intervienen en la polinización atrayendo a los insectos, tienen efecto antirradical, etc. (López, 2002).

Propiedades

Los flavonoides son sustancias sólidas que se concretan y tienen un color blanco o amarillento. Sus heterósidos son incompatibles con los apolares porque son muy solubles en H₂O acalorada, alcohol y disolventes orgánicos antárticos. Sin embargo, cuando se encuentran en un estado independiente, son muy poco solubles en H₂O, pero dependiendo de su polaridad, son solubles en disolventes orgánicos más o menos oxigenados. Por otro lado, son sustancias sencillamente oxidables, lo que les da un resultado antioxidante porque se oxidan más fácilmente que otros tipos de sustancias (López, 2002).

2.8. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

La medición de la capacidad antioxidante es crucial para evaluar la calidad de un alimento, cuantificar los antioxidantes presentes en un sistema y determinar la biodisponibilidad de estos compuestos en el organismo humano. El potencial de las sustancias antioxidantes presentes en los alimentos y en el cuerpo humano en relación con las reacciones de oxidación se puede encontrar utilizando los métodos actualmente disponibles. (Benítez et al., 2020).

Los métodos usados para la determinación de la capacidad antioxidante:

MÉTODO DEL RADICAL 1,1-DIFENIL PICRIL HIDRAZIL (DPPH)

Esta es una técnica de obtención de radicales libres muy utilizada para evaluar la función conservante de frutas, verduras, café y otros productos alimenticios. Se basa en que la 1,1-difenil-2-picrilhidrazina y una sustancia de color violeta intenso en solución con metanol, admita un electrón o un átomo de hidrógeno. En este estudio se utiliza un espectrofotómetro con una longitud de onda de 517 nm para medir la absorbancia al aceptar un electrón. Durante este proceso, la solución DPPH se rebela contra un sustrato antioxidante que puede conceder un átomo de hidrógeno, lo que hace que el color violeta de la solución inicial se desvanece y se convierte en amarillo (Ruiz, 2020).

MÉTODO DEL 2,2 'AZINO-BIS (ÁCIDO 3-ETILBENZOTIAZOLINA-6-SULFÓNICO) (ABTS)

El precursor Ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico produce el radical ABTS. Este precursor produce un radical verde-azulado con alta estabilidad y un espectro de absorción ultravioleta visible. Es un radical artificial que no puede mimetizar bien una situación in vivo, por lo que puede reaccionar con varios compuestos fenólicos con potenciales altos o bajos. La sustancia antioxidante utilizada con el tiempo interfiere con los resultados de la reacción. La ventaja de este ensayo es que puede llevarse a cabo tanto en muestras hidrosolubles como liposolubles, seleccionando el disolvente adecuado para cada caso (Angarita y Cobos, 2017).

MÉTODO DE REDUCCIÓN FÉRRICA / CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (FRAP)

Este método utiliza una técnica indirecta para determinar la capacidad antioxidante. Se basa en la capacidad de una sustancia antioxidante para disminuir el Fe^{3+} a Fe^{2+} , que es menos antioxidante. El complejo férrico-2, 4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ), que es incoloro, se reduce al complejo ferroso azul a niveles de pH bajos. El método utiliza espectrofotometría para medir la absorbancia de Fe^{2+} . Por lo tanto, la sustancia objeto de estudio más antioxidante aumenta la reducción, la concentración de Fe^{2+} y la señal de absorbancia (Angarita y Cobos, 2017).

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1. UBICACIÓN

La extracción por ultrasonido de propóleo, canela y clavo de olor se realizaron en los laboratorios de bromatología de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López” ubicada en el Campus Politécnico, sitio El Limón, cantón Bolívar, provincia de Manabí en las Coordenadas $0^{\circ}49'37.96''$ latitud sur, $80^{\circ}11'14.24''$ longitud oeste y una altitud de 19 msnm (Google Earth, 2024), Los análisis de caracterización química se realizaron en la ciudad de Quito en el Laboratorio de ciencias de alimentos y biotecnología Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria (Escuela Politécnica Nacional) Coordenadas $0^{\circ}12'38''S$ $78^{\circ}29'20''O$ / -0.21055556 , -78.48888889 (Google Earth, 2024).



Figura 1. Ubicación del Campus politécnico



Figura 2. Ubicación Laboratorio Escuela Superior Politécnica Nacional

3.2. DURACIÓN DEL TRABAJO

La presente investigación se realizó en 40 semanas a partir de la aprobación del proyecto.

3.3. MÉTODOS

3.3.1. MÉTODO DESCRIPTIVO

La investigación se desarrolló mediante estadística descriptiva, donde se utilizó las características básicas de los datos del estudio. Proporcionando resúmenes sencillos sobre la muestra y las medidas.

El uso de la estadística descriptiva permitió resumir y exhibir un conjunto de datos mediante una composición de descripciones tabuladas y gráficas. La estadística descriptiva se emplea para poder resumir datos cuantitativos complejos. (Ortega, 2023)

3.3.2. BIBLIOGRÁFICO

La investigación bibliográfica o fundamentada consiste en buscar información en la literatura que se relacione con el tema a investigar. Se estableció como uno de los pasos más importantes para cualquier descubrimiento e incluye la elección de fuentes de información. Debido a que incluye un conjunto de pasos que abarcan la observación, la búsqueda, la interpretación, la consideración y el análisis, se estima un paso esencial para establecer las bases necesarias para el desarrollo de cualquier estudio (Mata, 2020).

Con el objetivo de ejecutar un análisis y uso adecuado de la información recopilada, se utilizaron repositorios digitales de tesis y doctorados de múltiples universidades, así como artículos en páginas de publicaciones científicas como Scielo, Redalyc y Scopus.

3.4. TÉCNICAS ANALÍTICAS

3.4.1. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS DE PROPÓLEO, CANELA Y CLAVO DE OLOR

Para la extracción del propóleo, canela y clavo de olor se procedió a triturar las materias en una cápsula de porcelana hasta lograr obtener 50 gramos por cada muestra. En una probeta se midieron 90 mL de agua destilada como solvente por los 50 gramos de la muestra, la solución formada se llevó al equipo de ultrasonido marca Sonorex modelo Super RK103H, aplicando una sonda ultrasonidos acoplada a un regulador de ciclo y amplitud junto con un baño termostático en el interior del ultrasonido a 120 watts con una temperatura de 40°C y una frecuencia de 40 kHz en un tiempo de 45 minutos, llevando el control de la temperatura para cada uno de los extractos. Una vez finalizado este procedimiento, la muestra se filtró al vacío para separar el sólido del extracto, utilizando una tela lino.

3.4.2. DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES (TÉCNICA DE FOLIN-CIOCALTEU)

Polifenoles Totales:

Se realizó mediante el método desarrollado en el Laboratorio de Ingeniería de Alimentos del Departamento de Ciencias de los Alimentos y Biotecnología-DECAB de la Escuela Politécnica Nacional donde se procedió a Mezclar 20 μ L de extracto con 100 μ L de solución acuosa de Folin-Ciocalteu (1/4) en una microplaca de 96 pocillos. Se Agita por 60 segundos y se deja reposar durante 240 segundos. Añadimos 75 μ L de solución acuosa de carbonato de sodio (100 g/L) y Agitar por 60 segundos y dejar reposar durante 2 horas a 25 °C. Medir la absorbancia a 750 nm en el lector de microplacas Biotek modelo SYNERGY H1. Realizar el mismo procedimiento para el estándar de ácido gálico para la determinación de la curva de calibración. Los resultados son expresados en miligramos de equivalentes de ácido gálico por 100 mL de muestra.

3.4.3. DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES

Flavonoides:

Según Marcillo et al. (2021) y Thoo et al., (2010) para el análisis de flavonoides se utilizó un método colorimétrico desarrollado en el DECAB a una longitud de onda máxima de 510 nm, El equipo utilizado para la lectura de la absorbancia es

un espectrofotómetro UV-VIS marca Shimadzu modelo UV-160A. Para poder cuantificar el analito se realizó una curva de calibración con un estándar de Catequina en un rango de concentración que va de 50 a 300 mg/L, con un $R^2=0.999$. Para realizar la reacción de las muestras de clavo de olor y extracto de canela, se tomó una alícuota de 0.2 ml de los extractos y se aforó a 5 ml (factor de dilución= 25) y para el propóleo se tomó una alícuota de 0.3 ml del extracto y se aforó a 1 ml (factor de dilución= 3.33). El resultado se reportó como mg equivalente de catequina por 100 ml de muestra.

3.4.4. DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Capacidad antioxidante: DPPH

Para realizar este análisis se desarrolló un método acoplado donde Bobo et al. (2014) y Martínez et al. (2020) nos indican que se mezcla 20 μL de extracto con 180 μL de solución acuosa de DPPH (150 μM) en una microplaca de 96 pocillos. En el lector de microplacas Biotek modelo SYNERGY H1 así realizar una cinética para tomar las medidas de absorbancia a 515 nm hasta los 40 min a 25 °C. Seguir el mismo procedimiento con el estándar de trólox (2500 μM) para obtener lecturas de absorbancia para la curva de calibración. Poner como blancos 20 μL agua con 180 μL de metanol (80 % v/v). Para el control poner 20 μL agua con 180 μL de la solución de DPPH (150 μM). Los resultados son expresados en μmol equivalente de trólox por 100 mL de muestra.

3.4.5. DETERMINACIÓN DE RENDIMIENTO

El resultado corresponde al porcentaje en peso del extracto seco con respecto a la cantidad de volumen en gramos. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado” (Calachahui y Mozo, 2023).

3.5. UNIDAD EXPERIMENTAL

La investigación se efectuó con 150 gramos de propóleo, 150 gramos de canela, 150 gramos de clavo de olor obteniendo la cantidad de volumen de los extractos los cuales tendrán tres réplicas para garantizar reducir el error en el estudio.

3.6. VARIABLE DE ESTUDIO

VARIABLE INDEPENDIENTE

- Propóleo
- Canela
- Clavo de olor

VARIABLE DEPENDIENTE

- Polifenoles
- Flavonoides
- Capacidad antioxidante
- Rendimiento m/v

3.7. MANEJO DEL EXPERIMENTO

Para dar cumplimiento con los objetivos establecidos en esta investigación se procedió de la siguiente manera:

Se procedió como primer punto la obtención de los diferentes extractos mediante la técnica de ultrasonido siguiendo el diagrama de flujo de la caracterización química del propóleo y extractos de canela y clavo de olor obtenidos mediante técnica de ultrasonido.

3.7.1. DIAGRAMA DE PROCESO DE LA CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL PROPÓLEO, CANELA, CLAVO DE OLOR OBTENIDO MEDIANTE TÉCNICA DE ULTRASONIDO

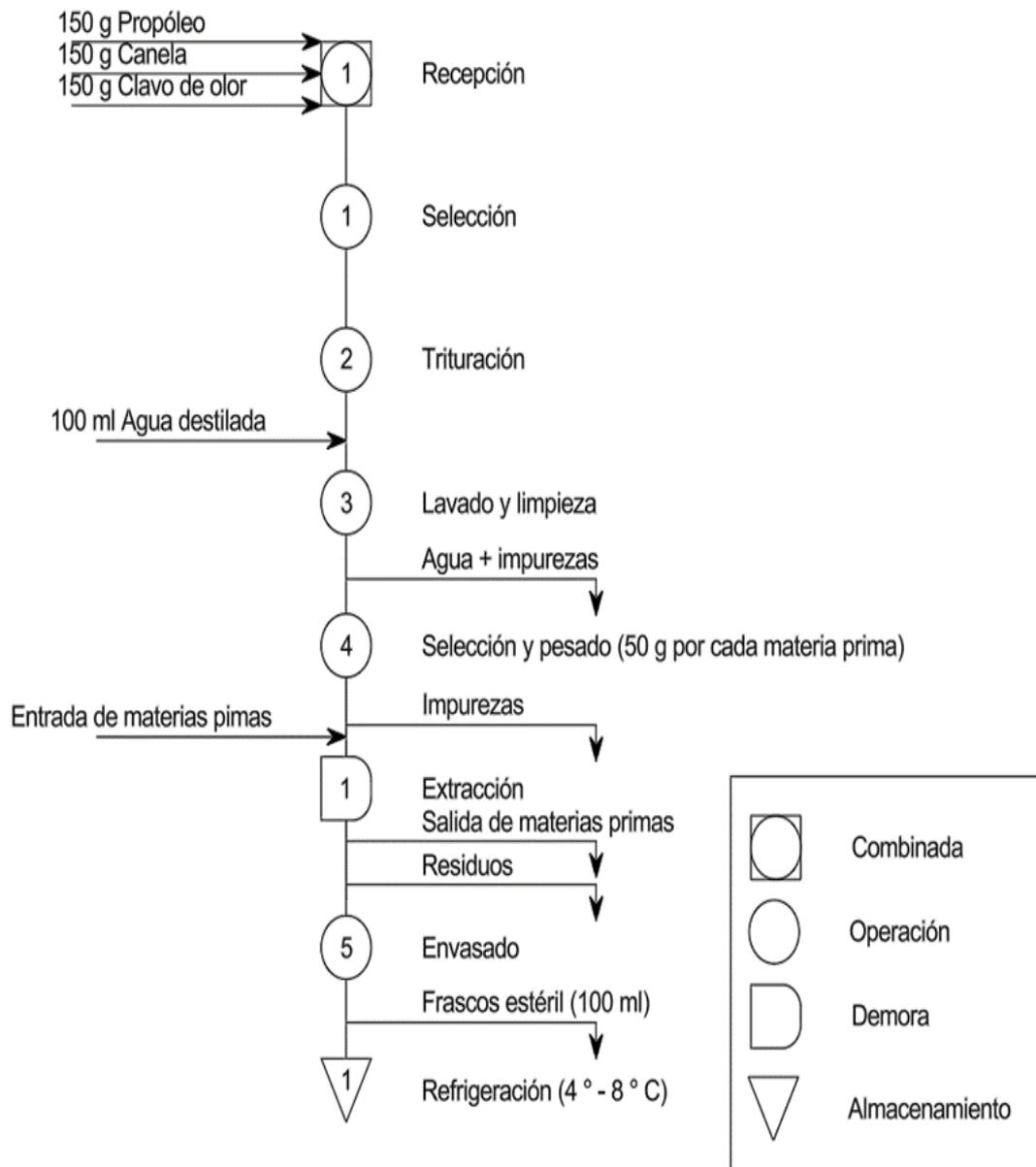


Figura 3. Obtención de extracto de propóleo por ultrasonido

3.7.4. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

Recepción de la materia prima

El propóleo se recolectó en la Ciudad de Quito en la apícola Cayambe donde se obtuvo 150 g de la materia prima por método de raspado de igual manera la canela y el clavo de olor se obtuvieron de la marca comercial Ta`Riko de Almacenes TIA S.A.

Selección

Se verificó si las materias primas (Propóleo, canela, clavo olor) que estuvieran en un buen estado sin ningún tipo de sustancia como restos de otras materias primas indeseables.

Trituración

Se procedió a la trituración manual del propóleo, canela y clavo de olor con ayuda de un mortero para dar mejor rendimiento en su extracción por medio del equipo de ultrasonido.

limpieza

Se realizó una limpieza con agua destilada para poder eliminar las impurezas del propóleo, clavo de olor y canela.

Pesado

Se pesó 50 gramos por cada materia prima (propóleo, canela, clavo de olor) en la balanza analítica marca Sartorius modelo CP2245.

Extracción

Se procedió a la obtención de los extractos por cada materia prima utilizando un equipo de marca Sonorex modelo Super RK103H a una frecuencia de 40kHz durante 45 minutos, a una temperatura de 40°C para cada muestra.

Envasado

Se envasó en recipientes estéril para su almacenado.

Almacenado

Se almacenó los extractos de propóleo, canela y clavo de olor en recipientes de plástico (polipropileno) de 100 mL, cubiertos con papel aluminio, las muestras se mantuvieron a temperatura de refrigeración (4°C – 8°C), posteriormente fueron trasladadas al laboratorio de la facultad de química y agroindustria de la Escuela Politécnica Nacional departamento DECAP en la ciudad de Quito.

3.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico se realizó un resumen y se presentó los resultados de las tres réplicas realizadas al propóleo, canela y clavo de olor en un conjunto de datos, que comprenderá tres categorías principales: distribución de frecuencias, medidas de tendencia central y medidas de variabilidad. Este tipo da la flexibilidad de utilizar tanto datos cuantitativos como datos cualitativos.

Para la tabulación de datos se utilizó el software Microsoft Excel y para el análisis de datos se utilizó el software estadístico Jamovi versión 2.4.8 (Love et al., 2023)

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RENDIMIENTO DE CADA EXTRACTO POR TÉCNICA DE ULTRASONIDO

Se evaluó mediante análisis descriptivos el rendimiento de los extractos. Los resultados mostraron que el extracto de propóleo tuvo un rendimiento medio de 18 % y una desviación estándar DE = 2,00, mientras que los extractos de canela y clavo de olor tenían porcentajes medios de 16,7 % (DE= 5,03) y 23,3 % (DE = 3,06), respectivamente. Los valores mínimo y máximo para el porcentaje de rendimiento fueron 16 y 20 %, respectivamente, para el extracto de propóleo; 12 y 22 % para el extracto de canela; 20 y 26 % para el extracto de clavo de olor.

Tabla 1. Análisis descriptivo de la variable rendimiento de acuerdo a los extractos por separado.

| Variable | Extractos | N | Media | Mediana | DE | Mínimo | Máximo | CV (%) |
|-----------------|---------------|---|-------|---------|------|--------|--------|--------|
| Rendimiento (%) | Propóleo | 3 | 18,0 | 18 | 2,00 | 16 | 20 | 11,11 |
| | Canela | 3 | 16,7 | 16 | 5,03 | 12 | 22 | 30,20 |
| | Clavo de olor | 3 | 23,3 | 24 | 3,06 | 20 | 26 | 13,09 |

DE: Desviación Estándar

CV: Coeficiente de Variación

Prueba de Shapiro-Wilk para Normalidad del rendimiento

Para cada tipo de extracto en la variable porcentaje de rendimiento, se realizó la prueba de Shapiro-Wilk para evaluar la normalidad de los datos. Los resultados indicaron que los datos de rendimiento para los extractos de propóleo, canela y clavo de olor, siguen una distribución normal ($p > 0,05$).

Tabla 2. Análisis de normalidad de la variable rendimiento por extracto

| Variable | Extractos | N | Shapiro-Wilk | |
|-----------------|---------------|---|--------------|-------|
| | | | W | p |
| Rendimiento (%) | Propóleo | 3 | 1,000 | 1,000 |
| | Canela | 3 | 0,987 | 0,780 |
| | Clavo de olor | 3 | 0,964 | 0,637 |

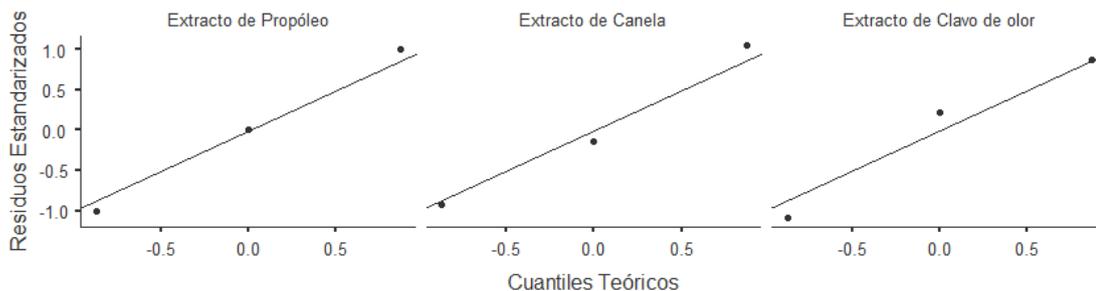


Figura 4. Representación gráfica de la normalidad por cada extracto

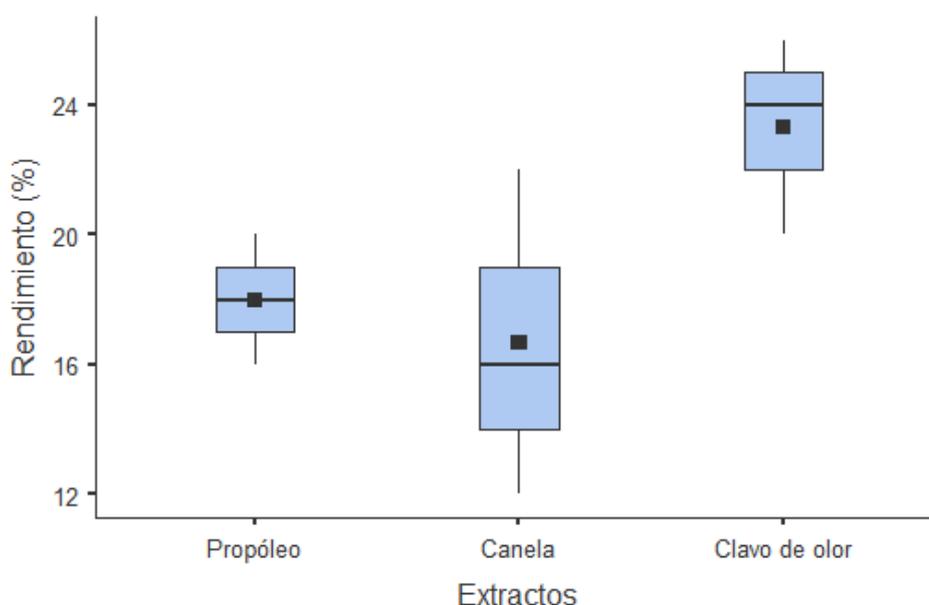


Figura 5. Representación gráfica de rendimiento por cada extracto

El contenido de extracto de canela en estudio mostró que tiene un rendimiento alto a diferencia de la investigación realizada por Benavides et al. (2016), quienes indican que tuvieron un rendimiento que osciló entre 0,934 a 2,089% para el extracto de Propóleo se obtuvo como resultado un poco más bajo en referencia a lo argumentado por Delgado, Andrade y Ramírez (2015) quienes obtuvieron un rendimiento de extracto de propóleo del 33 %. Así también se comparó el rendimiento del clavo de olor en estudio que es mucho mayor que el que indica Saldaña (2019) que obtuvo un 6%.

4.2. CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL PROPÓLEO, EXTRACTO DE CANELA Y CLAVO DE OLOR MEDIANTE ANÁLISIS DE POLIFENOLES, FLAVONOIDES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Contenido de Polifenoles de los extractos

El contenido de polifenoles en los tres tipos de extractos se evaluó mediante análisis descriptivos. Los resultados mostraron que el extracto de propóleo tuvo un contenido medio de polifenoles de 211,40 mg EAG/100 mL (EAG= Equivalentes de ácido gálico), mientras que los extractos de canela y clavo de olor mostraron contenidos medios de 560,10 mg EAG/100 mL (DE= 37,925) y 1633,80 mg EAG/100 mL (DE = 31,637), respectivamente.

Contenido de Flavonoides Totales de los extractos

El contenido de flavonoides en los tres tipos de extractos se evaluó mediante análisis descriptivos. Los resultados mostraron que el extracto de propóleo tuvo un contenido medio de flavonoides de 47,40 mg EC/100 mL (EC= Equivalentes de catequina, mientras que los extractos de canela y clavo de olor presentaron contenidos medios de 423,80 mg EC/100 mL (DE= 37,925) y 339,30 mg EC/100 mL (DE = 31,637), respectivamente.

Capacidad Antioxidante de los extractos

La capacidad antioxidante de los extractos se evaluó mediante análisis descriptivos. Se encontró que el extracto de propóleo tuvo una capacidad antioxidante media de 59,63 $\mu\text{mol TEAC}/100\text{ mL}$. Las medias de la capacidad antioxidante para los tres tipos de extractos siguiendo el mismo orden fueron 59,48, 51,34 y 3013,86 $\mu\text{mol TEAC}/100\text{ mL}$.

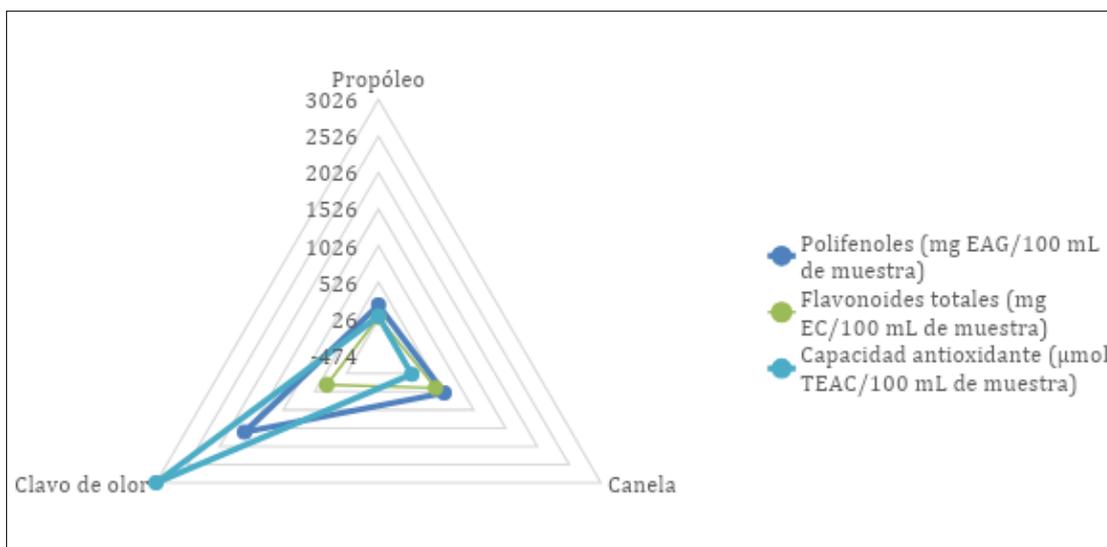


Figura 6. Gráfico radar contenido (polifenoles, flavonoides, capacidad antioxidante)

El contenido de polifenoles en el propóleo identificado en este estudio fue relativamente alto, respecto a lo reportado por Aboulghazi et al. (2022), quienes indican haber obtenido valores que oscilan entre 86,98 y 187,21 mg GAEq/g. El contenido de polifenoles en el extracto de canela es relativamente alto, en referencia a lo argumentado por Ahmad et al. (2023) con un valor de 315 mg GAE/g, por otra parte, Nandam & Vangalapati (2012) reportan haber encontrado un valor de 13,5 mg/L. Así también se comparó el contenido de polifenoles en el clavo de olor, mismo que supera a los valores encontrados, 9,8 – 60,9 mg GA/g MS por Tymczewska et al. (2023) y al valor reportado por Torres et al. (2018), quienes citan a Wodjdylo et al. (2007) e indican que el contenido de polifenoles que obtuvieron es 15 veces mayor a los de otro estudio (8,96 mg EAG/g).

El contenido de flavonoides en el propóleo identificado en este estudio fue relativamente alto, respecto a lo reportado por Palomino et al. (2009), quienes indican haber obtenido por extracto etanólico valores que oscilan entre $4,75 \pm 0,01$ y $34,50 \pm 0,07$ mg QE/g. El contenido de flavonoides en el extracto de canela es relativamente similar, en referencia a lo argumentado por Anal, Jaisanti & Noomhorm (2014) con un valor de $427,9 \pm 13,34$ mg QE/g. Así también se comparó el contenido de flavonoides en el clavo de olor, mismo que supera a los valores reportados por Ishaq et al. (2019) de, 15,54 mg TFC/g expresado en equivalente de catequina/ 100 g de muestra.

El valor de capacidad antioxidante en el propóleo en este estudio mostró un resultado congruente respecto a lo reportado por Palomino et al. (2009), quienes indican haber obtenido valores que oscilan entre 33,9 y 324,6 $\mu\text{mol TE/g}$. El valor de capacidad antioxidante en el extracto de canela es relativamente alto en referencia a lo argumentado por Ahmad et al. (2023) con un valor de 9,5 mmol Trolox eq/100 g. Así también se comparó la capacidad antioxidante en el clavo de olor, mismo que supera los valores encontrados, 602,7 – 2199,5 $\mu\text{mol TE/g MS}$ por (Tymczewska et al., 2023).

Prueba de Shapiro-Wilk para Normalidad de contenido de polifenoles, flavonoides y capacidad antioxidante

Para cada tipo de extracto y para cada variable (contenido de polifenoles, flavonoides totales y capacidad antioxidante), se realizó la prueba de Shapiro-Wilk para evaluar la normalidad de los datos. Los resultados indicaron que los datos de los polifenoles para los extractos de propóleo, canela y clavo de olor, así como la capacidad antioxidante del extracto de propóleo siguen una distribución normal ($p > 0,05$), mientras los datos de los extractos de canela y clavo de olor para la variable capacidad antioxidante y clavo de olor para la variable flavonoides totales no siguieron una distribución normal ($p < 0,05$).

Tabla 3. Análisis de normalidad de las variables por extracto

| Variable | Extractos | N | Shapiro-Wilk | |
|---|---------------|---|--------------|---------|
| | | | W | p |
| Polifenoles (mg EAG/100 mL de muestra) | Propóleo | 3 | 0,999 | 0,936 |
| | Canela | 3 | 0,989 | 0,804 |
| | Clavo de olor | 3 | 0,871 | 0,298 |
| Flavonoides totales (mg EC/100 mL de muestra) | Propóleo | 3 | 0,960 | 0,616 |
| | Canela | 3 | 0,893 | 0,364 |
| | Clavo de olor | 3 | 0,750 | < 0,001 |
| Capacidad antioxidante ($\mu\text{mol TEAC/100 mL de muestra}$) | Propóleo | 3 | 0,977 | 0,712 |
| | Canela | 3 | 0,750 | < 0,001 |
| | Clavo de olor | 3 | 0,750 | < 0,001 |

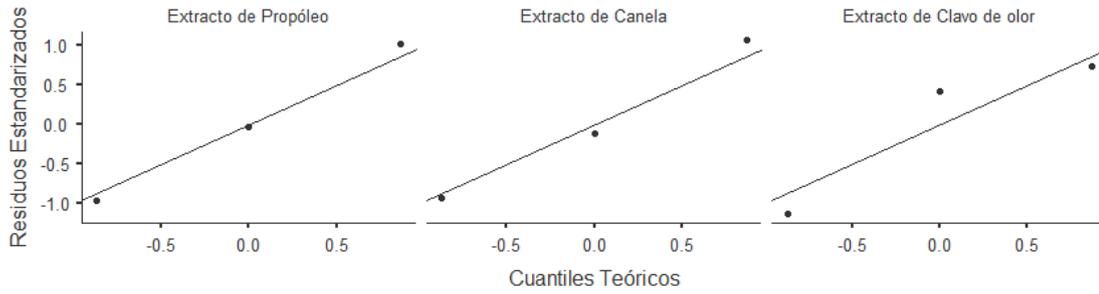


Figura 7. Representación gráfica de la normalidad para la variable Polifenoles para cada extracto.

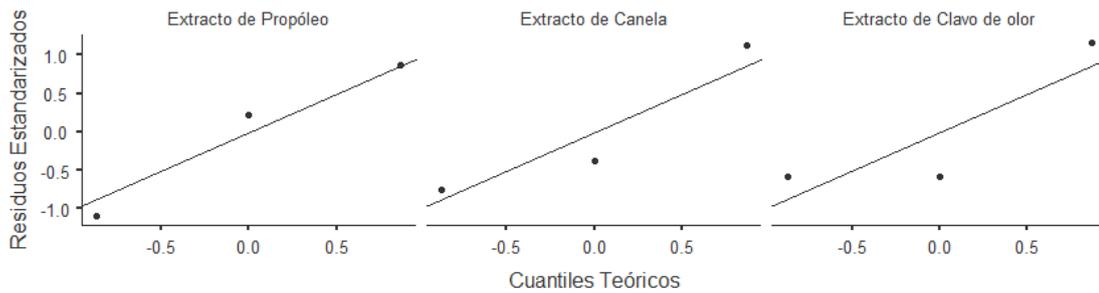


Figura 8. Representación gráfica de la normalidad para la variable Flavonoides totales para cada extracto.

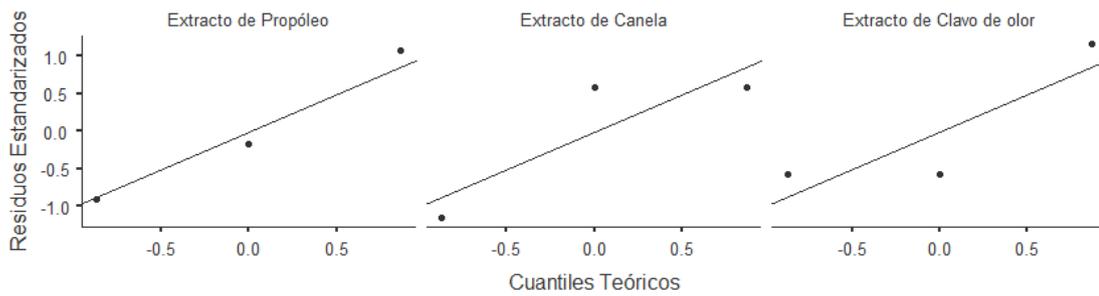


Figura 9. Representación gráfica de la normalidad para la variable Capacidad

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- Todos los extractos obtenidos por ultrasonido y analizados mediante las respectivas metodologías demuestran contener polifenoles, flavonoides y capacidad antioxidante, además al ser analizadas en conjunto con otras investigaciones presentaron resultados congruentes.
- Todos los extractos mostraron porcentajes de rendimiento coherentes, sin embargo, el extracto de clavo de olor fue el de mayor porcentaje de obtención.
- Es de considerar que el extracto de clavo de olor presentó alto contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante frente a los demás extractos de este estudio, incluso al ser comparado con valores obtenidos por otras investigaciones, los valores de esta investigación mostraron excelentes resultados.

Recomendaciones

- Probar la capacidad antimicrobiana de cada uno de los extractos y analizar la vida útil de una bebida láctea, respecto a mohos, levaduras y aerobios mesófilos.
- Realizar un estudio avanzado específicamente en el contenido de tipos de flavonoides presentes en cada uno de los extractos.
- Analizar el poder antioxidante mediante metodología FRAP y comparar con los datos del método aplicado en esta investigación.

BIBLIOGRAFÍA

- Aboulghazi, A., Bakour, M., Fadil, M., & Lyoussi, B. (2022). Simultaneous optimization of extraction yield, phenolic compounds and antioxidant activity of Moroccan propolis extracts: Improvement of ultrasound-assisted technique using response surface methodology. *Processes*, 10(2), 297. <https://doi.org/10.3390/pr10020297>
- Ahmad, A., Mushtaq, Z., Saeed, F., Afzaal, M., & Al Jbawi, E. (2023). Ultrasonic-assisted green synthesis of silver nanoparticles through cinnamon extract: biochemical, structural, and antimicrobial properties. *International Journal of Food Properties*, 26(1), 1984-1994. <https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2238920>
- Alvarado, A. (2019). *Utilización de diversas cantidades (0, 0.05, 0.10 y 0.15 mL) de aceite esencial de canela (Cinnamomum verum) como conservante de capulí en almíbar (Prunus serótina)* (Tesis de grado). Obtenido de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/11843/1/84T00643.pdf>
- Amaguaña, F., y Churuchumbi, E. (2018). *Estandarización fitoquímica del extracto de caléndula (Calendula officinalis)*. (Tesis de grado). Universidad Politécnica Salesiana. Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16149/1/UPS-QT13324.pdf>
- Angarita, L., y Cobos, D. (2017). *Estudio cromatográfico por hplc-uv, cuantificación de fenoles, flavonoides y evaluación de la capacidad antioxidante en miel de abejas*. (Tesis de grado). <https://repository.udistrital.edu.co/server/api/core/bitstreams/01e7c804-1c00-420b-8b32-a0e77aae75aa/content>
- Anal, A. K., Jaisanti, S., & Noomhorm, A. (2014). Enhanced yield of phenolic extracts from banana peels (*Musa acuminata* Colla AAA) and cinnamon barks (*Cinnamomum varum*) and their antioxidative potentials in fish oil. *Journal of Food Science and Technology*, 51(10), 2632–2639.

<https://doi.org/10.1007/s13197-012-0793-x>

Batiha, G.E.S., Hussein, D. E., Algammal, A. M., George, T. T., Jeandet, P., Al-Snafi, A. E., Tiwari, A., Pagnossa, J. P., Lima, C., Thorat, N.D., Zahoor, M., Abhijit, M., Alghamdi, S., Hetta, H., & Cruz-Martins, N. (2021). Application of natural antimicrobials in food preservation: *Recent views. Food Control*, 126, 108066. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108066>

Benavides, O. L., Arturo, D. P., y Villegas, C. (2016). Cuantificación de cinamaldehído y rendimiento en aceite esencial de canela comercial obtenido por hidrodestilación asistida con microondas. *Vitae*, 23, S640. <https://www.proquest.com/docview/1783660262?sourcetype=Scholarly%20Journals>

Benítez, A., Villanueva, J., González, G., Alcántar, V., Puga, R. y Quintero, A. (2020). Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por foto quimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP). *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 23: 1-9. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.244>

Bobo-García, G., Davidov-Pardo, G., Arroqui, C., Vírseda, P., Marín-Arroyo, M. R., & Navarro, M. (2015). Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(1), 204-209. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6706>

Calachahui, Y., y Mozo, C. (2023). *Evaluación del rendimiento en la extracción de aceite de semillas de tuna (opuntia ficus-indica) obtenido mediante tres métodos y su caracterización fisicoquímica*. (Tesis de grado). <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/8381>

Castro, M. (2021). Polifenoles: compuestos bioactivos con efectos benéficos en la prevención de diabetes tipo 2. *REDCieN*, 1(1), 6.

<https://redcien.com/index.php/redcien/article/view/5>

- Cauja, J. (2019). *Evaluación de las propiedades del propóleo como conservante natural en una bebida elaborada a base de piña*. (Tesis de grado) <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/6593/1/tesis%20jonathan%20cauja.pdf>
- Delgado, M., Andrade, J., y Ramírez, C. (2015). Caracterización fisicoquímica de propóleos colectados en el Bosque La Primavera Zapopan, Jalisco. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 6(28), 74-87. <https://www.scielo.org.mx/pdf/remcf/v6n28/v6n28a6.pdf>
- Fajardo, J., Sánchez, F., Dueñas, Juan., y Dueñas, A. (2022). Extracción asistida por ultrasonido y su aplicación en la obtención de aceites vegetales. *Centro Azúcar*, 49(4), 125-143. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2223-48612022000400125&lng=es&tlng=es.
- Fernández, R. (2020). *Diferencias entre green própolis y red própolis*. Mielypropolis. <https://mielypropolis.com/diferencias-entre-green-propolis-red->
- Gonelimali, F., Lin, J., Miao, W., Xuan, J., Charles, F., Chen, M. & Hatab, S. (2018). Antimicrobial Properties and Mechanism of Action of Some Plant Extracts Against Food Pathogens and Spoilage Microorganisms. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1639. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01639>
- Guija, E., Inocente, M., Ponce, J. y Zarzosa, E. (2015). Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. *Horizonte Médico*. 15(1):57-60. <https://doi.org/10.24265/horizmed.2015.v15n1.08>
- Haro, J., Castillo, G., Martínez, M. & Espinosa, H. (2021). Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, Chemical Composition, Food Applications, and Essential Bioactivity for Human Health. *Molecules*. 26, 6387. <https://doi.org/10.3390/molecules26216387>

- Herrera, M (2019) *Caracterización química y actividad biológica de propóleos producidos en el estado de Yucatán*. (Tesis de grado). https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/1565/1/PCB_D_Tesis_2019_Guadalupe_Herrera_Lopez.pdf
- Ishaq, A., Syed, Q. A., Khan, M. I., & Zia, M. A. (2019). Characterising and optimising antioxidant and antimicrobial properties of clove extracts against food-borne pathogenic bacteria. *International Food Research Journal*, 26(4), 1165-1172. <https://www.proquest.com/openview/6636f855727edcb6b0d4d69de8724db4/1?pq-origsite=gscholar&cbl=816390>
- Inem (2014). MINISTERIO DE INDUSTRIAS Y PRODUCTIVIDAD SUBSECRETARÍA DE LA CALIDAD <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/reglamentos/RTE-068-1R.pdf>
- Kalstein. (2022). *Espectrofotómetro UV-vis*. Kalstein. <https://kalstein.co.ve/que-es-un-espectrofotometro-de-uv-vis/>
- Loeza, H., Gutiérrez, R. y Dzib, D. (2022). Uso del aceite esencial de canela en los sistemas de producción pecuaria. *Abanico Agroforestal*, 4, 1-34. <http://dx.doi.org/10.37114/abaagrof/2022.3>
- López, M. (2002). Flavonoides. *Fitoterapia*, 21(4), 108-113. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-flavonoides-13028951#:~:text=Los%20flavonoides%20son%20compuestos%20fen%C3%B3licos,un%20fenilo%20en%20posici%C3%B3n%20>
- Love, J., Dropman, D., Selker, R., Galluci, M., Jentschke, S., Balci, S., Seol, H., & Agosti, M. (2023). The jamovi project (version 2.4.8) [Computer Software]. <https://www.jamovi.org>
- Loyola, M. (2021). *Evaluación del efecto del benzoato de sodio y sorbato de potasio sobre el crecimiento de Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus del yogur*. (Tesis de grado). Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/23605/1/UCE-FCQ->

LOYOLA%20MELANIE.pdf

- Marcillo, V., Anaguano, M., Molina, M., Tupuna, D.S., & Ruales, J. (2021). Characterization and quantification of bioactive compounds and antioxidant activity in three different varieties of mango (*Mangifera indica* L.) peel from the Ecuadorian región using H²PLC-UV/VIS and UPLC-PDA, *NFS Journal*. 23, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2021.02.001>
- Martinez-Morales, F., Alonso-Castro, A.J., Zapata-Morales, J.R. et al. Use of standardized units for a correct interpretation of IC50 values obtained from the inhibition of the DPPH radical by natural antioxidants. *Chem. Pap.* 74, 3325–3334 (2020). <https://doi.org/10.1007/s11696-020-01161-x>
- Medina, N. (2017). *Efecto del ultrasonido en la extracción y nano encapsulación de polifenoles de limón persa (Citrus latifolia)*. (Tesis de maestría). <https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/447/1/Nelly%20Carolina%20Medina.pdf>
- Nandam, S., & Vangalapati, M. (2012). Optimization of physico-chemical parameters for the extraction of phenolic components from cinnamon species. *Journal of Academia and Industrial Research*, 1(4), 183-185. <http://www.jairjp.com/SEPTEMBER%202012/09%20SREE%20SATYA.pdf>
- Natural Medicines Comprehensive Database Consumer Version [Internet]. (2022). Therapeutic Research Faculty; ©1995-2018. Propóleo; [actualizado 7 ago. 2019; revisado 28 jul. 2022; consulta 22 jul. 2023]. <https://bit.ly/3B2zqS9>
- Ortega, C. (2023). Estadística descriptiva: Qué es, objetivo, tipos y ejemplos. Obtenido de <https://www.questionpro.com/blog/es/estadistica-descriptiva/>
- Palomino, L. R., García, C. M., Rojano, B. A., y Diego, L. (2009). Determinación del contenido de fenoles y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento de Antioquia (Colombia). *Vitae*, 16(3), 388-395. <https://www.redalyc.org/pdf/1698/169813261013.pdf>

- Paucar, J. (2022). *Evaluación del efecto funcional antimicrobiano de extracto liofilizado de clavo de olor (Syzygium aromaticum) como ingrediente de una película comestible en carne molida para hamburguesas*. (Tesis de grado). Obtenido de <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/36549/1/IASA%20I-TIC-0010.pdf>
- Ruiz, M. (2020). *Determinación de la actividad antioxidante*. Unisimon. <https://bit.ly/4ghNwiN>
- Saldaña, J. (2019). *Comparación de dos métodos de extracción de los aceites esenciales de clavo de olor (Syzygium aromaticum) y Canela (Cinnamomum verum)*. (Tesis de grado). <https://repositorio.untrm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14077/2110/Salda%c3%b1a%20Fern%c3%a1ndez%20Juan%20Jhordy.pdf?sequence=1&isAllowed=>
- Santamaría, C., Martín, A., y Astorga, F. (2015). *Extractos vegetales aplicación para la reducción de estrés*. Nutrición animal. <https://nutricionanimal.info/download/0315-enaWEB.pdf>
- Toledo, M. (2023). *Espectroscopia ultravioleta-visible: conceptos básicos*. Obtenido de https://www.mt.com/mx/es/home/applications/Application_Browse_Laboratory_Analytics/uv-vis-spectroscopy/uvvis-spectroscopy-explained.html
- Torres, G., Muñoz, Ó., Álvarez, E., Núñez, J., Wall, A., Sáyago, G., y Rosa, L. (2018). Optimización de la extracción e identificación de compuestos polifenólicos en anís (*Pimpinella anisum*), clavo (*Syzygium aromaticum*) y cilantro (*Coriandrum sativum*) mediante HPLC acoplado a espectrometría de masas. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 21(2). <http://tip.zaragoza.unam.mx/index.php/tip/article/view/4/139>
- Tymczewska, A., Klebba, J., & Szydłowska-Czerniak, A. (2023). Antioxidant Capacity and Total Phenolic Content of Spice Extracts Obtained by

Ultrasound-Assisted Extraction Using Deep Eutectic and Conventional Solvents. *Applied Sciences*, 13(12), 6987.
<https://doi.org/10.3390/app13126987>

Y.Y. Thoo, S.K. Ho, J.Y. Liang, C.W. Ho, C.P. Tan, (2010). Effects of binary solvent extraction system, extraction time and extraction temperatura on phenolic antioxidants and antioxidant capacity from mengkudu (*Morinda citrifolia*), *Food Chem.* 120 290-295.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.064>

Verdugo M y Bruno Tola (2017) Capacidad antioxidante y composición química de varios extractos de propóleos de la zona sur del Ecuador
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/14947/1/UPS-CT007371.pdf>

ANEXOS

Anexo 1. trituración de materias primas



Anexo 2. Se traslada Propóleo, canela y clavo de olor a baño de ultrasonido



Anexo 3. Agua destilada en probeta a 100 ml por cada extracto



Anexo 4. Extracto de materias primas en frascos estéril de 100 ml por replica



Anexo.5 Informe de resultados de ensayo de polifenoles y capacidad antioxidante.

| | | | |
|---|---|---|---|
|  | DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB) Ladrón de Guevara E11-253, Edificio 19 - segundo piso Telf: 2976300 ext4236, email: decab@epn.edu.ec PO-Box 17-01-2759 - Quito-Ecuador | CÓDIGO: F-PT-7.7-01-04 |  |
| | | FECHA DE VIGENCIA: 2023/06/26 | |
| ISO/IEC 17025 | | VERSIÓN: 04 | |

INFORME DE RESULTADOS DE ENSAYO O TRABAJO

CLIENTE/EMPRESA: Villacrés Enrique
Persona de contacto: Enrique Villacrés
Dirección cliente: Av. Teniente Hugo Ortíz y Juan Ante OE 3-76
Correo electrónico: enriqueman@hotmail.es

INFORME No: IE-LIA-24-002
Teléfono: 098 724 9717
Fax: N/A

Tipo de muestra: Muestras líquidas con sólidos suspendidos

Fecha de muestreo: N/A (proporcionada por el cliente)
Referencia al plan y método de muestreo: N/A (proporcionada por el cliente)
Fecha de recepción muestra en SC: 2024-02-05
Fecha de realización análisis: 2024-02-06 a 2024-02-09
Fecha de emisión informe: 2024-02-14 a 2024-02-21
Condiciones ambientales (T, HR): 25 °C (si aplica de acuerdo con el método)

ORDEN DE TRABAJO: DC-OT0012-2024

IDENTIFICACIÓN DE LA(S) MUESTRA(S) Y SERVICIO (S)

| No. muestra | ID Muestra | Descripción muestra | Servicio/Analito | Laboratorio |
|-------------|------------|--------------------------|------------------------|-------------------------|
| 1 | DC-MU10249 | Muestra de clavo de olor | Polifenoles totales | Ingeniería de Alimentos |
| | | | Capacidad antioxidante | |
| 2 | DC-MU10250 | Muestra de canela | Polifenoles totales | Ingeniería de Alimentos |
| | | | Capacidad antioxidante | |
| 3 | DC-MU10251 | Muestra de propóleo | Polifenoles totales | Ingeniería de Alimentos |
| | | | Capacidad antioxidante | |

RESULTADOS

| ID Muestra | Servicio/Analito | Resultados | Unidades | Método |
|------------|------------------------|------------|--|-----------------------------|
| DC-MU10249 | Polifenoles totales | 1 597,75 | mg equivalente de ácido gálico/100 ml de muestra | Espectrofotometría (750 nm) |
| | | 1 656,80 | | |
| | | 1 646,96 | | |
| | Capacidad antioxidante | 3 048,22 | µmol equivalente de Trólox/100 ml de muestra | Espectrofotometría (DPPH) |
| | | 3 013,86 | | |
| | | 3 013,86 | | |

| | | | |
|---|---|---|---|
|  | DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB) Ladrón de Guevara E11-253, Edificio 19 - segundo piso Telf: 2976300 ext4236, email: decab@epn.edu.ec PO-Box 17-01-2759 - Quito-Ecuador | CÓDIGO: F-PT-7.7-01-04 |  |
| | | FECHA DE VIGENCIA: 2023/06/26 | |
| ISO/IEC 17025 | | VERSIÓN: 04 | |

| ID Muestra | Servicio/Analito | Resultados | Unidades | Método |
|------------|------------------------|------------|--|-----------------------------|
| DC-MU10250 | Polifenoles totales | 524,60 | mg equivalente de ácido gálico/100 ml de muestra | Espectrofotometría (750 nm) |
| | | 600,05 | | |
| | | 555,58 | | |
| | Capacidad antioxidante | 51,34 | µmol equivalente de Trólox/100 ml de muestra | Espectrofotometría (DPPH) |
| | | 49,80 | | |
| | | 51,34 | | |
| DC-MU10251 | Polifenoles totales | 223,05 | mg equivalente de ácido gálico/100 ml de muestra | Espectrofotometría (750 nm) |
| | | 200,15 | | |
| | | 210,94 | | |
| | Capacidad antioxidante | 60,56 | µmol equivalente de Trólox/100 ml de muestra | Espectrofotometría (DPPH) |
| | | 58,85 | | |
| | | 59,48 | | |

COMENTARIOS:

- Las muestras entregadas por el cliente, al tratarse de muestras líquidas con sólidos suspendidos, se homogenizaron, se pasaron por un baño ultrasónico, se centrifugaron y se filtraron previo a la ejecución de los análisis.
- Bajo requerimiento del cliente, los resultados son reportados por triplicado.
- Por pedido del cliente, mediante Oficio No. ESPAM MFL-CA-2024-030-OF, se adjunta fotografías del cliente en el laboratorio, simulando la ejecución del análisis:

| | | | |
|---|---|---|---|
|  | DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB) Ladrón de Guevara E11-253, Edificio 19 - segundo piso Telf: 2976300 ext4236, email: decab@epn.edu.ec PO-Box 17-01-2759 - Quito-Ecuador | CÓDIGO: F-PT-7.7-01-04 |  |
| | | FECHA DE VIGENCIA: 2023/06/26 | |
| ISO/IEC 17025 | | VERSIÓN: 04 | |

Realizado por:



Analista DECAB

Aprobado por:

 Firmado digitalmente por EDWIN RAFAEL VERA CALLE
 Razón: He registrado este documento

Responsable de Calidad DECAB

Anexo 6. Preparación de soluciones y reactivos

Anexo 7. Preparación de estándares

Anexo 8. Informe de resultados de ensayo de flavonoides

| | | | |
|---|--|---|---|
|  | DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB) Ladrón de Guevara E11-253, Edificio 19 - segundo piso Telef: 2976300 ext4236, email: decab@epn.edu.ec PO-Box 17-01-2759 - Quito-Ecuador | CÓDIGO: F-PT-7.7-01-04 |  |
| | | FECHA DE VIGENCIA: 2023/06/26 | |
| ISO/IEC 17025 | | VERSIÓN: 04 | |

INFORME DE RESULTADOS DE ENSAYO O TRABAJO

CLIENTE/EMPRESA: Enrique Villacrés **Informe No:** IE-QAN-24-003
Persona de contacto: Enrique Villacrés **Teléfono:** 0987249717
Dirección cliente: Av. Teniente Hugo Ortiz y Juan Ante OE 3-78 **Fax:** N/A
Correo electrónico: enriqueman@hotmail.es **Tipo de muestra:** Muestras líquidas con sólidos suspendidos

Fecha de muestreo: N/A (proporcionada por el cliente)
Referencia al plan y método de muestreo: N/A (proporcionada por el cliente)
Fecha de recepción muestra en SC: 2024-02-08
Fecha de realización análisis: 2024-02-08 / 2024-02-09
Fecha de emisión del informe: 2024-02-14
Condiciones ambientales (T, HR): N/A

ORDEN DE TRABAJO: DC-OT0012-2024

IDENTIFICACIÓN DE LA(S) MUESTRA(S) Y SERVICIO (S)

| No. muestra | ID Muestra | Descripción muestra | Servicio/Analito | Laboratorio |
|-------------|------------|---------------------|---------------------|----------------------------------|
| 1 | DC-MU10249 | Clavo de olor | Flavonoides totales | Química de Alimentos y Nutrición |
| 2 | DC-MU10250 | Ext. Canela | Flavonoides totales | Química de Alimentos y Nutrición |
| 3 | DC-MU10251 | Propóleo | Flavonoides totales | Química de Alimentos y Nutrición |

RESULTADOS

| ID Muestra | Servicio / Analito | Resultado | Unidades | Método |
|------------|---------------------|-----------|---|----------------------------|
| DC-MU10249 | Flavonoides totales | 343,29 | mg equivalente de Catequina/100 ml de muestra | Espectrofotometría - DECAB |
| | | 337,36 | | |
| | | 337,36 | | |
| DC-MU10250 | Flavonoides totales | 422,95 | mg equivalente de Catequina/100 ml de muestra | Espectrofotometría - DECAB |
| | | 426,34 | | |
| | | 422,10 | | |

| | | | |
|---|---|---|---|
|  <p>ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL</p> | <p>DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB) Ladrón de Guevara E11-253, Edificio 19 - segundo piso Telf: 2976300 ext4236, email: decab@epn.edu.ec PO-Box 17-01-2759 - Quito-Ecuador</p> | <p>CÓDIGO: F-PT-7.7-01-04</p> |  |
| | | <p>FECHA DE VIGENCIA: 2023/06/26</p> | |
| | <p>ISO/IEC 17025</p> | <p>VERSIÓN: 04</p> | |

| ID Muestra | Servicio / Analito | Resultado | Unidades | Método |
|------------|---------------------|-----------|---|----------------------------|
| DC-MU10251 | Flavonoides totales | 47,47 | mg equivalente de Catequina/100 ml de muestra | Espectrofotometría - DECAB |
| | | 47,58 | | |
| | | 47,24 | | |

Realizado por:



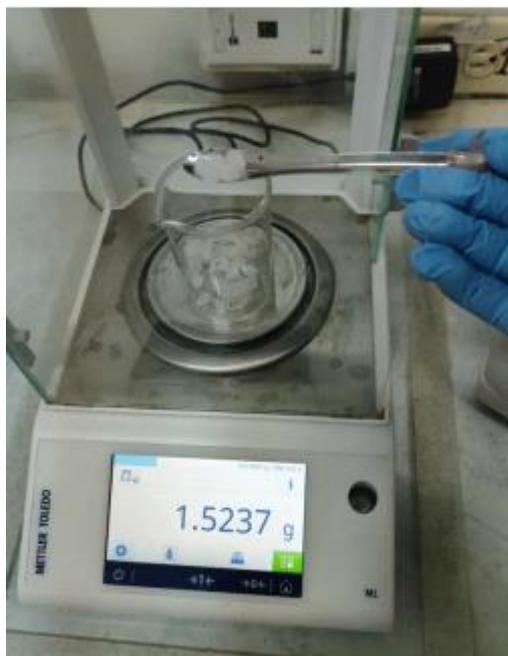
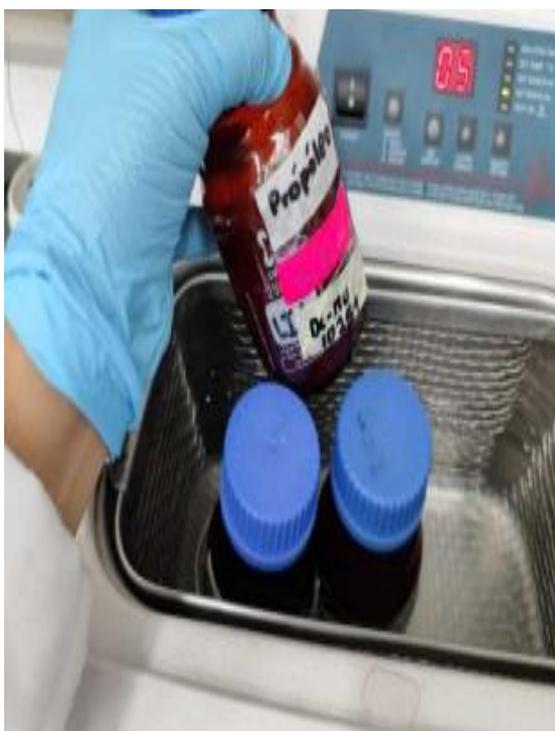
Firmado digitalmente por:
MAYRA TATIANA
SANAGUANO CORELLA

Analista DECAB

Aprobado por:

Firmado digitalmente por
EDWIN RAFAEL
VERA CALLE
Razón: He revisado
este documento

Responsable de Calidad DECAB

Anexo 9. Preparación de soluciones y reactivos (Flavonoides)**Anexo 10.** Homogenización, sonicación, centrifugación, filtración de muestras

Anexo 11. Preparación de estándares, dilución de muestras, reacción**Anexo 12.** Medición de absorbancias en el espectrofotómetro

Anexo 13. Fórmula de Rendimiento

$$R = \frac{P_o - P_f}{P_o} \times 100$$

Po= Peso inicial de materia prima

Pf= Peso en gramos del extracto

Cuadro de rendimiento de extractos en %

| Rendimiento | |
|---------------|-----|
| Propóleo | 20% |
| | 18% |
| | 16% |
| Canela | 12% |
| | 16% |
| | 22% |
| Clavo de olor | 20% |
| | 24% |
| | 26% |

Anexo 14. Rendimiento del propóleo en %

$$R = \frac{P_o - P_f}{\text{Peso de muestra}} * 100\%$$

Propóleo réplica 1

$$R = \frac{P_o 150g - P_f 120g}{150g} * 100 \%$$

$$R = 20\%$$

Propóleo réplica 2

$$R = \frac{P_o 150g - P_f 126g}{150g} * 100 \%$$

$$R = 18\%$$

Propóleo réplica 3

$$R = \frac{P_o 150g - P_f 126g}{150g} * 100 \%$$

$$R = 18\%$$

Anexo 15. Rendimiento de canela en %**Canela réplica 1**

$$R = \frac{Po\ 150g - Pf\ 132g}{150g} * 100\ %$$

$$R = 12\ %$$

Canela réplica 2

$$R = \frac{Po\ 150g - Pf\ 126g}{Po\ 150g} * 100\ %$$

$$R = 16\ %$$

Canela réplica 3

$$R = \frac{Po\ 150g - Pf\ 132g}{150g} * 100\ %$$

$$R = 12\ %$$

Anexo 16. Rendimiento de Clavo de olor %**Clavo de olor réplica 1**

$$R = \frac{Po\ 150g - Pf\ 120g}{Po\ 150g} * 100\ %$$

$$R = 20\ %$$

Clavo de olor réplica 2

$$R = \frac{Po\ 150g - Pf\ 114g}{Po\ 150g} * 100\ %$$

$$R = 24\ %$$

Clavo de olor réplica 3

$$R = \frac{Po\ 150g - Pf\ 111g}{Po\ 150g} * 100\ %$$

$$R = 26\ %$$