

**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:

**EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN A PARTIR DE
TRES PLANTAS SILVESTRES POR DOS TIPOS DE
CROMATOGRÀFIA**

AUTORAS:

**MAITE CAROLINA ANGULO ALCIVAR
JOSSELYN KERLITA CEDEÑO RODRÌGUEZ**

TUTOR:

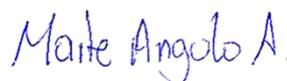
ING. RAMÓN TOBÍAS RIVADENEIRA GARCÍA, Mgtr

CALCETA, FEBRERO 2023

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Maite Carolina Angulo Alcívar con cédula de ciudadanía 131718069-1, y Josselyn Kerlita Cedeño Rodríguez con cédula de ciudadanía 131211265-7, declaramos bajo juramento que el Trabajo de Integración Curricular titulado: **EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN A PARTIR DE TRES PLANTAS SILVESTRES POR DOS TIPOS DE CROMATOGRAFÍA** es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional y que hemos 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 nuestro 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.



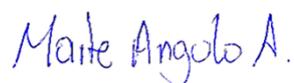
MAITE CAROLINA ANGULO ALCÍVAR
131718069-1



JOSELYN KERLITA CEDEÑO RODRÍGUEZ
131211265-7

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

Maite Carolina Angulo Alcívar, con cédula de ciudadanía 131718069-1 y Josselyn Kerlita Cedeño Rodríguez con cédula de ciudadanía 131211265-7, autorizamos 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: **EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN A PARTIR DE TRES PLANTAS SILVESTRES POR DOS TIPOS DE CROMATOGRFÍA**, cuyo contenido, ideas y criterios son de nuestra exclusiva responsabilidad y total autoría.



MAITE CAROLINA ANGULO ALCÍVAR
131718069-1



JOSSELYN KERLITA CEDEÑO RODRÍGUEZ
131211265-7

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Ramón Tobías Rivadeneira García, certifica haber tutelado el Trabajo de Integración Curricular titulado: **EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN A PARTIR DE TRES PLANTAS POR DOS TIPOS DE CROMATOGRAFÍA**, que ha sido desarrollado por Maite Carolina Angulo Alcívar y Josselyn Kerlita Cedeño Rodríguez, 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. RAMÓN TOBÍAS RIVADENEIRA GARCÍA, Mgtr.
1307433951
TUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del Tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el Trabajo de Integración Curricular titulado: **EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN A PARTIR DE TRES PLANTAS SILVESTRES POR DOS TIPOS DE CROMATOGRAFÍA**, que ha sido desarrollado por Maite Carolina Angulo Alcívar y Josselyn Kerlita Cedeño Rodríguez, 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. DAVID MOREIRA VERA., Ph.D
PRESIDENTE DE TRIBUNAL
1306213750

ING. EDMUNDO MATUTE ZEAS., Mgtr
MIEMBRO DE TRIBUNAL
0101301687

ING. LUISA ZAMBRANO MENDOZA., Mgtr
MIEMBRO DE TRIBUNAL
1314287697

AGRADECIMIENTO

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 Dios por darme fortaleza y sabiduría, por tener a mi familia completa y poder disfrutar cada momento importante en mi vida junto a ellos.

A mis Padres por ser mi guía y por creer en mí y apoyarme en cada uno de mis proyectos, a mis hermanos por estar siempre para mí y ser mi fuente de inspiración, a la familia Moreira Gaón por acogerme en su hogar e integrarme como un miembro más de su familia, a los amigos que me dio la universidad y la vida por mostrarme su apoyo, por darme ánimos y por todos los consejos que me brindaron a lo largo de este camino.

Al tutor, Ing. Ramón Tobías y a los miembros del tribunal por guiarnos y enriquecernos con sus conocimientos y sugerencias en el desarrollo del proyecto de integración.

Todos mis logros se los debo en gran parte a ustedes, pues sin duda su presencia fue fundamental para lograr culminar mis estudios universitarios y siempre estaré eternamente agradecido.

MAITE CAROLINA ANGULO ALCIVAR

AGRADECIMIENTO

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 Dios por darme las fuerzas necesarias y darme sabiduría cada mañana, proveer ese don de ser fortaleza para mi familia.

A mis Padres y a mis segundos Padres, familia, novio y amigos en general que estuvieron siempre conmigo, por ser esa guía y ayuda necesaria en este proceso complejo. No podría sentirme más ameno con la confianza puesta sobre mi persona, especialmente cuando he contado con su mejor apoyo.

Al tutor, Ing. Ramón Tobías, a los miembros del tribunal y a la Ingeniera docente de esta cátedra por guiarnos y engrandecer nuestros conocimientos y agregar sugerencias en el desarrollo del proyecto de integración.

Este nuevo logro es en gran parte gracias a ustedes; he logrado concluir con éxito un proyecto que en un principio podría parecer como interminable. Quisiera agradecer a todas esas personas de bien, seres que ofrecen amor, bienestar y los buenos deleites de la vida.

JOSELYN KERLITA CEDEÑO RODRÍGUEZ

DEDICATORIA

A Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el período de estudio.

A mi mamá por su apoyo incondicional en mi vida, por ser tan buena y preocupada, por sus consejos y valores que hacen de mí una mejor persona, que busca alcanzar sus metas propuestas.

A mi papá por su dedicación y esmero al trabajo, han hecho de ellos el gran ejemplo a seguir y destacar, no solo para mí, sino para mis hermanos y familia en general.

A mis hermanos por ser mi fuente de inspiración y sin duda la mejor compañía a lo largo de estos años, por inspirarme cada día a ser una mejor persona.

A mi familia en general y demás amigos por el apoyo que siempre me brindaron día a día en el transcurso de cada año de mi carrera universitaria.

MAITE CAROLINA ANGULO ALCÍVAR

DEDICATORIA

Dentro de mi recorrido por la vida me pude dar cuenta que hay muchas cosas para lo que soy buena, encontré destreza y habilidades que jamás pensé que se desarrollasen en mí; pero lo realmente importante es que pude descubrir que por más que disfrute trabajar sola, siempre obtendré un mejor resultado si lo realizo con la ayuda y compañía perfecta, que dentro del desarrollo de esta tesis se presentaron muchos momentos en los cuales pareciera que los deberes y compromisos fueran a acabar por completo con mi existencia, pero también entendí que la ayuda idónea siempre llega justo a tiempo.

Por eso mismo quiero dedicar este trabajo a mis padres por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad, a mi estrella y ángel en el cielo que es mi abuela Cruz Espinoza que sin alguna explicación siempre está conmigo dándome esa fuerza que necesito para seguir mi día y por ende cumplirle la promesa que formamos, aunque no esté presente para ser mi madrina como debía, pero sé que estará siempre conmigo.

A ella y a todas las personas mencionadas en este trabajo quiero dedicar mi título forjado con mucho sudor y arduo trabajo.

JOSELYN KERLITA CEDEÑO RODRÍGUEZ

CONTENIDO

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	2
AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN	3
CERTIFICACIÓN DEL TUTOR	4
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL	5
AGRADECIMIENTO	6
AGRADECIMIENTO	7
DEDICATORIA	8
DEDICATORIA	9
CONTENIDO DE TABLA	13
CONTENIDO DE FIGURA	13
CONTENIDO DE FÓRMULAS	13
RESUMEN	14
ABSTRACT	15
KEY WORDS	15
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	16
1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	16
2. JUSTIFICACIÓN	18
3. OBJETIVOS	20
3.1. OBJETIVO GENERAL	20
3.2. OBJETIVO ESPECÍFICO	20
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	21
2.1. EXTRACTOS VEGETALES	21
2.1.1. CARACTERÍSTICA DE LOS EXTRACTOS VEGETALES	21
2.1.2. GRUPOS QUÍMICOS PRESENTE EN LOS EXTRACTOS VEGETALES	

2.1.3. EN QUE ALIMENTOS Y EN QUÉ ÁREAS SE PUEDEN APLICAR LOS EXTRACTOS	23
2.1.4. DIFERENCIA ENTRE UN EXTRACTO Y UN ACEITE	23
2.2. PLANTAS SILVESTRES	24
2.2.1. ORÉGANO FRANCÉS (<i>Plectranthus amboinicus</i>)	24
2.2.2. ZORRILLA (<i>Petiveria alliacea</i>)	25
2.2.3. LLANTÉN (<i>Plantago major</i>)	25
2.3. TIPOS DE MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES	26
2.3.1. EXTRACCIÓN POR PERCOLACIÓN	27
2.4. CROMATOGRAFÍA	28
2.4.1. CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA (TLC)	28
2.4.2. CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)	29
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO	30
3.1. UBICACIÓN	30
3.2. DURACIÓN DEL TRABAJO	30
3.3. MÉTODOS	30
3.3.1. EXPERIMENTAL	30
3.3.2. BIBLIOGRÁFICO.	31
3.3.3. EXTRACCIÓN POR PERCOLACIÓN	31
3.3.4. EXTRACCIÓN POR MACERACIÓN	31
3.4. TÉCNICAS ANALÍTICAS	31
3.5. FACTORES EN ESTUDIO	33
3.6. NIVELES	33
3.7. TRATAMIENTOS	34
3.8. UNIDAD EXPERIMENTAL	34
3.9. VARIABLES POR MEDIR	34

	12
3.10. DISEÑO EXPERIMENTAL	35
3.11. MODELO MATEMÁTICO	36
3.12. MANEJO DEL EXPERIMENTO	36
3.13. DIAGRAMA DE FLUJO DE LA EXTRACCIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES POR EL MÉTODO DE PERCOLACIÓN Y MACERACIÓN	38
3.13.1. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO	39
3.14. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	41
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
4.1. RENDIMIENTO	42
4.2. COMPUESTOS BIOACTIVOS	43
4.3. FLAVONOIDES	45
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	48
5.1. CONCLUSIONES	48
5.2. RECOMENDACIONES	48
BIBLIOGRAFÍA	49
ANEXOS	57

CONTENIDO DE TABLA

Tabla 1. Ventajas y desventajas de la maceración y percolación	27
Tabla 2. Tratamientos	34
Tabla 3. ANOVA para los factores en DCA	35
Tabla 4. ANOVA de un factor para tratamientos	35
Tabla 5. Prueba de hipótesis de Kruskal-wallis para rendimiento	42
Tabla 6. Estadístico de contraste del factor b	42
Tabla 7. Resumen de prueba de hipótesis	44
Tabla 8. Estadístico de contraste del factor tratamientos	44

CONTENIDO DE FIGURA

Figura 1. Ubicación del campus politécnico	30
Figura 2. Ubicación de la UTPL	30
Figura 3. Diagrama de flujo del proceso de extracción	38
Figura 4. Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	43
Figura 5. Perfiles de huellas dactilares de los extractos acuosos	43
Figura 6. Prueba de Kruskal Wallis para muestras independientes	45
Figura 7. Análisis de espectrofotómetro del tratamiento 6	47
Figura 8. Análisis de espectrofotómetro del tratamiento 7	46

CONTENIDO DE FÓRMULAS

Fórmula 1. Porcentaje de rendimiento	31
Fórmula 2. Factor de retención	31
Fórmula 3. Modelo matemático	35

RESUMEN

La investigación tuvo como objetivo evaluar los métodos de extracción (percolación y maceración) mediante el rendimiento de los extractos vegetales obtenidos de los tallos y hojas de tres plantas silvestres (*Petiveria alliacea*, *Plectranthus amboinicus*, *Plantago major*), con la finalidad de identificar los principales compuestos presentes en los extractos obtenidos. Se aplicó un diseño completamente al Azar (DCA) en arreglo factorial de AxByC con tres factores de estudio: Factor A métodos de extracción, factor B tipos de plantas y el factor C partes de las plantas, de la mezcla de dichos factores resultaron 12 tratamientos. De acuerdo con los resultados obtenidos en cuanto a los rendimientos de extractos acuosos, se obtuvo diferencia significativa en el factor b (tipos de plantas) siendo así el nivel b1 zorrilla y b3 orégano francés quienes incidieron en el rendimiento de los extractos. En la cromatografía de capa fina se evidenció que el factor tratamiento presentó diferencia significativa, obteniendo así el tratamiento 6 y el tratamiento 7 la mayor cantidad de compuestos bioactivos, finalmente en la cromatografía líquida de alta eficiencia mediante los espectros de masa se encontró la presencia de flavonoides como es la apigenina, luteolina, flavonas, entre otros.

PALABRAS CLAVES

Cromatografía, percolación, flavonoides, espectros, compuestos bioactivos.

ABSTRACT

The objective of the research was to evaluate the extraction methods (percolation and maceration) through the performance of the plant extracts obtained from the stems and leaves of three wild plants (*Petiveria alliacea*, *Plectranthus amboinicus*, *Plantago major*), in order to identify the main compounds present in the extracts obtained. A completely Random design (DCA) was applied in a factorial arrangement of AxBxC with three study factors: Factor A extraction methods, factor B types of plants and factor C parts of the plants, from the mixture of said factors 12 treatments resulted. According to the results obtained in terms of the yields of aqueous extracts, a significant difference was obtained in factor b (types of plants), thus the level b1 skunk and b3 French oregano who affected the yield of the extracts. In thin layer chromatography it was evidenced that the treatment factor presented a significant difference, thus obtaining treatment 6 and treatment 7 the greatest amount of bioactive compounds, finally in high efficiency liquid chromatography through mass spectra the presence of flavonoids such as apigenin, luteolin, flavones, among others.

KEY WORDS

Chromatography, percolation, flavonoids, spectra, bioactive compounds.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Los grandes avances científicos y tecnológicos han permitido desarrollar sustitutos artificiales de los naturales, sin embargo, en los últimos veinte años se ha verificado una tendencia de volver a los productos naturales, libres de contaminación, al uso de hierbas medicinales, plantas aromáticas y plantas condimentarias (Martinez et al., 2016).

De acuerdo con Chacón (2009), la práctica de recolectar plantas silvestres ha perdido la importancia en la mayoría de los países, los ancestros vegetales silvestres al ser sometidos al proceso de cultivo han ido sufriendo microevoluciones, que han provocado en ellas una serie de cambios morfológicos, fisiológicos y genéticos tan profundo que en muchos casos resulta muy difícil reconocer al progenitor silvestre. La domesticación de un cultivo generalmente implica una pérdida de competitividad en áreas no cultivadas respecto a sus ancestros silvestres, variando en función de la especie.

Cortés et al., (2005) indica que en el Ecuador existen productos naturales los cuales se puede aprovechar al máximo sus componentes, pero la gran mayoría no se ha podido dar a conocer debido a la escasa información de los beneficios nutricionales que estos productos ofrecen, es por lo que existe el desaprovechamiento de las plantas silvestres en el uso agroindustrial.

Cada vez hay más consumidores que demandan productos funcionales y a su vez naturales, estos requieren fórmulas que contengan extractos naturales o vegetales, el uso de extractos vegetales ha sido de gran utilidad a través de la historia, la humanidad ha obtenido enormes beneficios del estudio de las propiedades medicinales de las plantas (Silvia, 2014).

De acuerdo Martínez y Vigano (2015) las técnicas convencionales de extracción tienen inconvenientes en la eficiencia de la extracción, esto ocurre porque no se tienen en cuenta factores como: disolvente, temperatura, tiempo de extracción, tamaño de partícula, etc. Se debe considerar que los métodos convencionales requieren de tiempo de extracción prolongado.

En ese sentido para evitar inconvenientes como altos tiempos de extracción, el uso de grandes cantidades de disolvente, la necesidad de evaporación del disolvente y la descomposición de los compuestos lábiles, que se presentan en los procesos, es necesario profundizar en la búsqueda de condiciones que permitan hacerlos más eficientes o reemplazarlos por otros procesos de extracción más eficientes (Herrero et al., 2015).

Es por lo que se planteó la siguiente interrogante: ¿Cuál de los métodos de extracción (percolación y maceración) tendrá mejor eficiencia para la obtención de compuestos bioactivos a partir de tallos y hojas de tres plantas silvestres (*Petiveria alliacea*, *Plectranthus amboinicus*, *Plantago major*)?

2. JUSTIFICACIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera que el amplio número de plantas todavía no estudiadas representa un valioso recurso potencial que debe ser explorado. El interés por las plantas medicinales ha sido y es permanente, pero su empleo ha tenido un marcado y ascendente auge en el ámbito mundial (Silvia, 2014).

Tech (2020) indica que los extractos vegetales han surgido como una alternativa saludable dentro de las nuevas tendencias en alimentación. Esto surge principalmente de asumir los efectos benéficos de las plantas usadas durante mucho tiempo como remedios naturales por culturas antiguas o medicinas tradicionales. En la industria alimenticia, los extractos son utilizados como saborizantes, colorantes y antioxidantes naturales y como enriquecedores del alimento con activos naturales de plantas, se presentan como excelentes alternativas para agregar valor a los productos de las más diferentes categorías, así como traer nuevas oportunidades de negocios.

De acuerdo con Cevallos (2020), los compuestos activos son retirados de las diferentes partes de una planta, como el tallo, las hojas, las semillas y los frutos, mientras que Silvia (2014) cita en su investigación que se pueden obtener extractos acuosos, polvos o utilizar otros disolventes para extraer diferentes compuestos, según su polaridad.

Nutexa (2017) menciona que, en un extracto, la cantidad del compuesto puede ser miles de veces superior a la que se encuentra originariamente en el vegetal, mientras que Robledo (2010) señala que además resultan compuestos 100% naturales que no ejercen daños sobre los cultivos, el medio ambiente en general o sobre los seres vivos, de igual manera los extractos pueden minimizar los ataques microbianos, retrasar el enranciamiento de un alimento y ralentizar la pérdida de color.

La selección de las plantas es un proceso bastante simple, ya que se puede avanzar con versiones frescas o secas, según lo que se tenga disponible, además que son fáciles de conseguir, pues se tienen en los huertos caseros o en cualquier

tienda de productos agrícolas, asimismo son fáciles de almacenar, permitiendo que se utilicen en los momentos en que hagan falta (Robledo, 2010).

El obtener los extractos de las plantas y estudiar sus partes activas permite conocer aún más los recursos naturales con que se cuenta y así darles un mejor aprovechamiento; proporcionándoles un mayor valor agregado al comercializarlas como productos puros o extractos (Gonzales, 2014).

A nivel de Manabí existe una amplia variedad de plantas silvestres entre ellas las plantas en estudio como son el orégano francés, la zorrilla y el llantén, las cuales se busca que dichas especies sean significativas por su valor económico, cultural o natural, teniendo el potencial de convertirse en especies simbólicas. Esto permitirá favorecer que los pobladores locales tengan más interés en la conservación de las especies y, por lo tanto, de su entorno (Rosete et al., 2018).

Vega (2021) cita que los extractos vegetales pueden aumentar la dosis de un compuesto activo ya presente en un alimento para que sea realmente efectivo en el organismo del consumidor y pueda proporcionarle un beneficio saludable, además puede incorporar un compuesto activo a un alimento para aumentar su vida útil, de igual manera ayuda a brindar sabor y color, a enriquecer al alimento con activos naturales de plantas gracias a su poder antioxidante y por último se le puede agregar valor a los productos.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la eficiencia de dos métodos de extracción (percolación y maceración) para la obtención de compuestos bioactivos a partir de tallos y hojas de tres plantas silvestres (*Petiveria alliacea*, *Plectranthus amboinicus* y *Plantago major*) por dos tipos de cromatografía

3.2. OBJETIVO ESPECÍFICO

- Cuantificar los rendimientos de extractos obtenidos a partir de tallos y hojas de tres plantas silvestres por dos métodos de extracción (percolación y maceración)
- Determinar el mayor contenido de compuestos bioactivos de los extractos vegetales obtenidos a partir de dos métodos de extracción (percolación y maceración) mediante análisis de cromatografía de capa fina.
- Identificar los compuestos bioactivos de los extractos de tallos y hojas de tres plantas silvestres obtenidos a partir de dos métodos de extracción (percolación y maceración) mediante análisis de cromatografía líquida de alta eficiencia

4. HIPÓTESIS

Al menos un método de extracción (percolación y maceración) tendrá mejor eficiencia en la obtención de compuestos bioactivos en tallos y hojas de tres plantas silvestres.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. EXTRACTOS VEGETALES

Son compuestos producidos 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. Los principios activos pueden ser diferentes compuestos, con estructuras químicas casi idénticas, por lo que un extracto puede tener una actividad mayor que el principio activo aislado y purificado. Además, el extracto, como compuesto, suele presentar mayor estabilidad, actividad y tolerancia, careciendo, en la mayoría de los casos de efectos adversos o de generación de residuos (Santamaría et al., 2015).

Revista Eria, 2020 indica que los extractos vegetales son productos extraídos directamente de los frutos, hojas, semillas o raíces de una planta, los cuales contienen componentes que pueden realizar una función beneficiosa en el organismo cuando se ingieren a través de un alimento, un complemento alimenticio, o cuando los aplicamos en la piel mediante un cosmético. Además, actúan como conservantes y antioxidantes de dichos alimentos y cosméticos.

2.1.1. CARACTERÍSTICA DE LOS EXTRACTOS VEGETALES

Espinoza (2021) comenta que un extracto contiene los componentes activos más importantes del vegetal, de manera muy concentrada. De hecho, en un extracto, la cantidad del compuesto puede ser miles de veces superior a la que se encuentra originariamente en el vegetal.

Estas características permiten muchas posibilidades de uso como es:

- Aumentar la dosis de un compuesto activo ya presente en un alimento para que sea realmente efectivo en el organismo del consumidor y pueda proporcionarle un beneficio saludable.
- Incorporar un compuesto activo a un alimento para aumentar su vida útil. Los extractos pueden minimizar los ataques microbianos, retrasar el enranciamiento de un alimento y ralentizar la pérdida de color. Por ejemplo, el romero es un excelente agente antioxidante y antimicrobiano para

alimentos procesados como los embutidos. Antiguamente se utilizaban sus hojas en la elaboración artesanal de estos productos, pero hoy gracias a los extractos se puede potenciar las propiedades de esta planta a nivel industrial, sustituyendo los ingredientes sintéticos.

- Aportar al organismo mediante la ingesta de un suplemento una dosis de un compuesto activo que minimice la aparición de determinadas enfermedades. De no ser así, el organismo debería consumir grandes cantidades de ciertos alimentos para alcanzar ese mismo beneficio (Espinoza, 2021).

2.1.2. GRUPOS QUÍMICOS PRESENTE EN LOS EXTRACTOS VEGETALES

La inhibición del crecimiento micelial exhibida por los extractos vegetales se debe a la presencia de algunos metabolitos secundarios como; alcaloides, taninos, flavonoides, quinonas y lactonas, los cuales son un grupo de compuestos de amplio rango de actividad biológica, que incluye la actividad antimicrobiana, antiviral, repelente y antioxidante, la enorme diversidad de metabolitos secundarios y propiedades biológicas presentes en los vegetales, todavía son materia de estudio sumamente amplia (Ocaña, 2013).

El mismo autor indica que el conocimiento limitado que se tiene actualmente al respecto da lugar a comenzar ensayos con plantas de casi cualquier tipo. Para la producción de principios activos, existen factores que determinan variabilidad cualitativa y cuantitativa de los metabolitos. Una planta puede tener diferente concentración de un químico en sus diferentes partes; raíz, hojas, flores y frutos e inclusive puede estar ausente en una o en varias partes, por lo que al coleccionar es conveniente tomar muestras integrales; así también, conociendo el contenido químico de los vegetales, se les puede dar un amplio uso, ya sea como insecticida, fungicida, entre otros.

2.1.3. EN QUE ALIMENTOS Y EN QUÉ ÁREAS SE PUEDEN APLICAR LOS EXTRACTOS

Se pueden aplicar en alimentos sólidos (preparados cárnicos), líquidos (zumos, leche, bebidas funcionales), cremosos (yogures, salsas), grasos (aceites), acuosos (sopas), etc. Un ejemplo concreto: la incorporación del extracto de olivo en la mayonesa permite potenciar su sabor y realizar un aporte de vitaminas y polifenoles, entre otros (Nutexa, 2017).

El mismo autor cita en su investigación que existen otras áreas en que se pueden aplicar estos extractos como es; en la alimentación animal para elaborar piensos con beneficios saludables para el organismo de los animales. Estos beneficios repercuten además en la salud de las personas que consumen su carne o sus huevos, por otra parte, en la industria farmacéutica, con el uso cada vez más extendido de productos naturales, es otra área para la que están indicados. Los extractos forman parte de la formulación de los suplementos alimenticios, también llamados nutraceuticos y, por último, una gran parte de la actividad de los productos cosméticos recae en los extractos naturales. Las cremas, sérums, lociones y jabones se aprovechan de los beneficios de las plantas gracias a la acción directa de los extractos naturales.

2.1.4. DIFERENCIA ENTRE UN EXTRACTO Y UN ACEITE

Los extractos son productos que proceden de una parte de un vegetal. Estos productos han sido purificados y son ricos en un componente estandarizado en una concentración determinada, mientras que los aceites, por su parte, se caracterizan por el predominio de ácidos grasos entre sus componentes, pudiendo incluir otros en menor cantidad como polifenoles o vitaminas. Se obtienen directamente a través del prensado de los frutos y semillas, un proceso que libera y separa físicamente los aceites del resto de componentes que forman parte del fruto (Nutexa, 2017).

2.2. PLANTAS SILVESTRES

La fauna silvestre en particular constituye un recurso fundamental para la subsistencia de las comunidades indígenas y campesinas de América Latina, suele ser en muchos casos su principal fuente de proteína. Aunque no existe información para la Amazonía ecuatoriana, se puede considerar que al igual que para otros grupos humanos la importancia de la cacería varía según su modo de abastecimiento, creencias mágico-religiosas, grado de culturización y transculturización, y según la región o ecosistema en que se practica (Velasco, 2021).

En la actualidad se ha dado un resurgimiento del interés en las plantas silvestres por su posible valor en la dieta, como consecuencia de algunos estudios epidemiológicos que han demostrado efectividad contra importantes enfermedades. En general, los alimentos de origen vegetal contienen muchos compuestos bioactivos, proteínas, energía, vitaminas y minerales específicos; además, las especies silvestres populares proporcionan fibras, ácidos grasos esenciales y aditivos para mejorar el sabor y color de los alimentos (Florence et al., 2010).

2.2.1. ORÉGANO FRANCÉS (*Plectranthus amboinicus*)

El Oreganón *Plectranthus amboinicus*, es una planta herbácea perenne, como planta medicinal goza de alta estimación, pues es reconocida por su utilidad en casos de tos crónica, bronquitis, asma y otras afecciones respiratorias; protege el hígado y riñones, es antiinflamatoria y sedante (ayuda a tranquilizar los nervios y favorece el sueño) (Chiriboga et al., 2015).

Sobre la composición química del orégano, y sus aceites esenciales se han identificado flavonoides como la apigenina y la luteolina, agliconas, alcoholes alifáticos, compuestos terpénicos y derivados del fenilpropano, también se han encontrado ácidos coumérico, ferúlico, caféico, r-hidroxibenzóico y vainillínico. La subespecie *Oreganum vulgare ssp. Hirtum* es la más estudiada, especialmente en relación con la composición y calidad de su aceite esencial, ya que este último tiene un importante valor comercial. En esta subespecie el rendimiento del aceite esencial en la hoja seca varía entre 2% y 6% (Acevedo et al., 2013).

2.2.2. ZORRILLA (*Petiveria alliacea*)

El anamú (*Petiveria alliacea* L.), es una planta de la familia Phytolaccaceae, entre los usos etnomédicos actuales, se encuentran: antiinflamatorio, antimicrobiano, antiherpético, analgésico, inmunomodulador, anticancerígeno, hipoglucemiante, para las infecciones cutáneas micóticas y psoriásicas (Ochoa, et al., 2013).

Para Sarduy (2016) indica que las diferentes familias de metabolitos secundarios han sido identificadas en *P. alliacea*, se destacan flavonoides, alcaloides, taninos, lactonas, cumarinas, triperpenos y esteroides. Mientras que para Sariego, et al. (2013) se conoce que los precursores de los compuestos con actividad antimicrobiana de *Petiveria alliacea* son algunos aminoácidos que contienen azufre.

De acuerdo con Martínez et al. (2003) la hoja fresca contiene alcaloides, lactonas, triterpenos y/o esteroides, lípidos y/o aceites esenciales, carbohidratos reductores, aminoácidos, saponinas, taninos, flavonoides, glicósidos cardiotónicos y no presenta quinonas y mucílagos. A través de estos resultados se comprueba que dicho órgano presenta la misma composición química que la *Petiveria alliacea* Lin como planta entera por lo que es el órgano vegetativo más rico en metabolitos responsables de las diferentes actividades farmacológicas que presenta el anamú.

2.2.3. LLANTÉN (*Plantago major*)

Es una hierba vivaz perteneciente a la familia de las plantagináceas), por sus propiedades antisépticas, antibióticas y antiinflamatorias, el llantén se utiliza para tratar úlceras. Asimismo, se usa para tratar inflamaciones en los ojos y manchas que salen en la piel (Cajal, 2019).

Además, se conoce de la presencia de otros compuestos, principalmente en órganos aéreos, como es el caso de alcaloides como la plantagonina, flavonoides como luteolinas, hispidulinas, baicaleina, plantaginina y homoplantaginina, algunos de los cuales tienen propiedades antioxidantes; los glicósidos iridoides como la aucubina, se consideran responsables tanto de la capacidad antiinflamatoria como de la acción antiespasmolítica (Jiménez y Monge, 2017).

De acuerdo con Pinto y Bustamante (2008) las hojas de *Plantago major* contienen taninos, sales potasio, cumarinas, enzimas, mucílago, flavonoides, apigenina, glucósidos, ácidos benzoicos, cinámico, fumárico, clorogénico, gentísico, penta cíclico y salicílico, tirosol, plantagonina, planteosa y alcaloides. Posee principios activos antiulcerogénicos como los flavonoides y los taninos que protegen contra el daño mucosal gástrico. El mismo autor nos dice que han reportado que este mecanismo de protección se debe a la presencia en la hoja de llantén de un 0.5 a 4% de taninos y a la presencia de flavonoides como apigenina, luteolina y escutellarina.

2.3. TIPOS DE MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES

Viganó y Martínez (2015), indica que la separación de sustancias a partir de matrices vegetales se clasifica como extracción sólido-líquido y puede llevarse a cabo a través de métodos convencionales o no convencionales, mientras que Nuñez (2008) menciona que la extracción es una de las operaciones básicas del laboratorio. Para ello indica que estas extracciones se definen como la acción de separar con un líquido una fracción específica de una muestra, dejando el resto lo más íntegro posible.

Para obtener principios activos o metabolitos secundarios, aquellos constituyentes que forman parte en la composición química de diversas plantas, se deben realizar métodos de extracción. Estos métodos se realizan con diferentes tipos de disolventes, dependiendo de la solubilidad y estabilidad que tengan estas sustancias características de la planta a tratar, los métodos principales para realizar extractos naturales son la maceración, percolación, digestión, decocción y la infusión (Romero, 2018).

Para Viganó y Martínez (2015) en la búsqueda de nuevas técnicas de extracción, que sean más amigables con el medio ambiente y que no representen riesgos para la salud, mientras facilitan la extracción de compuestos de alta calidad, se han estudiado diferentes tecnologías como las que se presentarán a continuación:

2.3.1. EXTRACCIÓN POR PERCOLACIÓN

La percolación consiste en hacer pasar el disolvente a través de la especie vegetal, hasta su extracción completa, renovando siempre el disolvente, lo que vendría a ser una desventaja por el alto consumo de este. En pequeña escala, se lleva a cabo en percoladores de cuerpo cilíndrico o cónico, provistos de un grifo en la parte inferior, para limitar el flujo del disolvente (Sempértégui, 2019).

2.3.2. EXTRACCIÓN POR MACERACIÓN

El principio de la maceración consiste en la obtención de extractos, gracias al duradero tiempo de contacto que el solvente debe tener con el material vegetal, que debe estar pulverizado o molido para lograr una mayor superficie de contacto con el solvente, este proceso es realizado a temperatura ambiente. Es conveniente realizar agitaciones frecuentes para la homogenización del procedimiento y así tratar de influenciar el rendimiento de la extracción, el poder de extracción del solvente va disminuyendo a medida que pasa el tiempo de contacto con el material vegetal; para la realización de este tipo de extractos es conveniente la protección del recipiente de extracción de la luz solar, ya que esta puede llegar a descomponer sustancias foto lábiles. Después de la realización del extracto por medio de un filtrado es necesario lavar el material vegetal restante con más solvente para la obtención del extracto total (Cargua, 2018).

La tabla 1 nos muestran algunas ventajas y desventajas entre los procedimientos de extracción (percolación y maceración) más utilizados dentro de la Fitoquímica (Carrión y García, 2010):

Tabla 1. Ventajas y desventajas de la Maceración y la Percolación.

	Maceración	Percolación
Ventajas	Sirve para drogas rígidas (tallos, raíces)	Extracción completa de principios activos y es posible conocer la concentración exacta de principios activos.
	Reducción de costos de solventes	No se produce saturación del solvente y se requiere menor tiempo para la extracción comparado con la maceración.
Desventajas	Lentitud del proceso	Alto consumo de solvente
	Extracción incompleta de la droga	
	Saturación del solvente	

Fuente: (Carrión y García, 2010)

2.4. CROMATOGRAFÍA

La cromatografía es una técnica que permite separar los componentes de una mezcla, mediante un sistema bifásico, el que consiste en una fase estacionaria que retiene los compuestos a separar y una fase móvil que desplaza de manera diferencial los compuestos a través de la fase estacionaria (Zamora, 2017).

Entre los métodos cromatográficos más utilizados se encuentran la cromatografía de capa fina, la cromatografía líquida de alto rendimiento, la cromatografía de gases, entre otras. Todas estas técnicas buscan conseguir la separación de los compuestos en base a su diferente afinidad por la fase móvil y la fase estacionaria (Mendoza, 2019).

2.4.1. CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA (TLC)

La cromatografía de capa fina (CCF) es una técnica analítica y tiene como objetivo el análisis de una mezcla de componentes. El proceso es similar a la cromatografía de papel con la ventaja de que se desarrolla más rápidamente, proporciona mejores separaciones y se puede elegir entre diferentes adsorbentes. La CCF es una técnica estándar en el laboratorio de química orgánica. Debido a su simplicidad y velocidad, la CCF se utiliza a menudo para monitorizar las reacciones químicas y también para el análisis cualitativo de los productos de una reacción, puesto que permite conocer de manera rápida y sencilla cuántos componentes hay en una mezcla (Perez, 2016).

2.4.2. CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)

De acuerdo con Ruiz (2020) la cromatografía líquida de alto rendimiento o de resolución HPLC por sus nombres en inglés high-performance liquid chromatography permite la separación de compuestos de una mezcla mediante las interacciones específicas con la fase estacionaria permitiendo el paso, identificación y análisis de los componentes de las sustancias en estudio. Este tipo de cromatografía es indicada para el análisis de compuestos poco volátiles, iónicos y termolábiles. El HPLC se caracteriza por la utilización de presión, ya que ayuda a incrementar la velocidad de los compuestos dentro de la columna y en consecuencia de esto, este equipo tiende a ser sofisticado y caro en comparación con una cromatografía líquida convencional en columna.

El mismo autor indica que dentro de las principales características del HPLC se encuentra su versatilidad ya que este tipo de cromatografía separa macromoléculas, grupos polifuncionales y especies iónicas; también es selectiva y de alto costo, pero efectiva: y dentro de sus aplicaciones se encuentran: el estudio de fármacos (analgésicos, antibióticos, esteroides), estudio de biomoléculas como las proteínas (aminoácidos), carbohidratos, ésteres, estudio de la composición de los productos de alimentación como aditivos, edulcorantes, antioxidantes, estudio de contaminantes como los plaguicidas, estudios de química forense y en la medicina clínica.

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1. UBICACIÓN

La obtención de extractos de plantas silvestre 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°49'37.96" latitud sur, 80°11'14.24" longitud oeste y una altitud de 19 msnm (Google Earth, 2021), mientras que la cromatografía de capa fina y la cromatografía líquida de alta resistencia se la realizaron en la Universidad Técnica Particular de Loja (UTPL) ubicada en la ciudadela San Cayetano Alto y Calle París, en las coordenadas 3°59'18 S, 79°11'53 W, de la ciudad de Loja, a una elevación: 2,855 m Google Earth, 2021).



Figura 1. Ubicación del Campus politécnico



Figura 2. Ubicación de la UTPL

3.2. DURACIÓN DEL TRABAJO

Esta investigación se llevó a cabo en un tiempo aproximado de 68 semanas las cuales comprendieron desde el mes de abril del 2021 hasta el mes de agosto del 2022.

3.3. MÉTODOS

3.3.1. EXPERIMENTAL

Esta investigación constó de tres factores de estudio que se manipularon con la finalidad de alcanzar mayores rendimientos de compuestos vegetales a partir de las plantas *Petiveria alliacea*, *Plectranthus amboinicus*, *Plantago major*.

3.3.2. BIBLIOGRÁFICO.

Se recopiló la información de fuentes de Repositorios digitales de Tesis y Doctorados de diferentes Universidades, Artículos en Portal de revistas científicas como Scielo, Redalyc debido a que sus publicaciones poseen un factor de alto impacto y con la finalidad de realizar un posterior análisis y uso de esta información adecuadamente.

3.3.3. EXTRACCIÓN POR PERCOLACIÓN

Se utilizó un sujetador con un percolador de 1000 ml y dentro de este se colocó doble papel filtro y se adjunta los 10 gramos de la materia prima con 90 ml de agua caliente para lo cual se lo dejo con la llave abierta por un goteo de 1 gota por cada 10 segundo y cada uno de estos tratamientos se colocaron dentro de una estufa grande a una temperatura de 35°C para que este no entrara en una contaminación ya que esto lo dejaba por 24 horas.

3.3.4. EXTRACCIÓN POR MACERACIÓN

Se utilizó un matraz, limpio y esterilizado, y que cierre bien, colocamos la cantidad de agua necesaria (90 ml), pesamos 10gr de la planta y la incorporamos, luego se remueve bien y lo dejamos durante 24 horas en una estufa grande a una temperatura de 35°C para que este no entre en contaminación, pasadas las 24 horas lo filtramos con doble papel filtro, es importante que esté muy bien filtrado para evitar la proliferación de microorganismos. Si no lo vamos a utilizar en el momento, se lo almacenará en la nevera, en un frasco esterilizado y le pondremos conservante.

3.4. TÉCNICAS ANALÍTICAS

Rendimiento: Para esta técnica se utilizó la fórmula [1] utilizada en la investigación de (Maldonado, 2017)

$$Y = \frac{\text{Extracto}}{\text{Muestra}} \times 100 \quad [1]$$

Y= rendimiento de extracción en %

Extracto= cantidad de extracto obtenido en mg

Muestra= cantidad de muestra inicial en mg

Cromatografía de capa fina: Estos análisis se los realizó en la Universidad Técnica Particular de Loja utilizando la técnica de Paltín (2016), la cual consiste en:

- Para las cromatografías de capa fina (CCF) se utilizaron placas pre-recubiertas (20x20cm) en sílice Gel Merck60, con indicador de fluorescencia a 254nm. Las detecciones de los compuestos sobre las placas se realizaron por fluorescencia con luz ultravioleta a 254 y 360mm y como revelador Haso,-Vainillina1%.
- Posteriormente, se calcula el Rf (factor de retención) utilizando la fórmula [2], el RF es la medida de migración de una sustancia determinada en un solvente dado. Este valor del R puede presentar variaciones dependiendo de la temperatura del medio ambiente, el grado de pureza de los disolventes utilizados y las diferencias en la homogeneidad de las placas de capa fina (Sotomayor, 2015)

$$RF = \frac{\text{distancia desde el origen hasta el compuesto}}{\text{distancia desde el origen frente al solvente}} \quad [2]$$

Cromatografía líquida de alta eficiencia: Este estudio se ejecutó en la Universidad técnica particular de Loja utilizando la siguiente técnica:

- Para la identificación de los compuestos del aceite esencial se utilizó Cromatógrafo de Gases Agilent serie 6890N acoplada a en Espectrómetro de masas Agilent serie 5973 inert, dotado con un sistema de datos MSD-Chemstation D.01.00 SP1 con un inyector automático Split/splitless serie 7683.
- Para las corridas cromatográficas se preparó una disolución de 990 ml de diclorometano grado HPLC y 10 ml de aceite esencial, teniendo un total de una concentración de 1 ml.
- De igual forma se prepararon los hidrocarburos de C10 a C25 (TPH-6RPM de CHEM SERVICE) que fueron inyectados en las columnas DB-5MS y HP-INNOWAX en GC-MS, ya que los tiempos de retención de los hidrocarburos nos sirven de base en la determinación de índices de kovats de cada compuesto.

- Se coloca un detector al final de la columna que responde a la concentración del soluto y se registra una señal en función del tiempo, se obtiene una serie de picos que representan un gráfico denominado cromatograma.

3.5. FACTORES EN ESTUDIO

Los factores que se estudiaron en la evaluación de los dos métodos de extracción a partir de tres plantas silvestres (*petiveria alliacea*, *plectranthus amboinicus*, *plantago major*) por cromatografía de capa fina fueron los siguientes:

Factor A: Métodos de extracción

Factor B: Tipos de plantas

Factor C: Partes de las plantas

3.6. NIVELES

El factor A el cual corresponde a los métodos de extracción encontramos 2 niveles los cuales son:

a₁: Percolación

a₂: Maceración

El factor B el cual pertenece a los tipos de plantas tiene 3 niveles que son:

b₁: Zorrilla (*petiveria alliacea*)

b₂: Llantén (*Plantago major*)

b₃: Orégano francés (*plectranthus amboinicus*)

En el factor C se encontró 2 niveles, los mismos que son correspondiente a las partes de las plantas las cuales son:

c₁: Tallo

c₂: hojas

3.7. TRATAMIENTOS

En la presente investigación se manipularon doce tratamientos que resultaron de los factores de estudios propuestos (AxBxC), tal como se demuestra en la tabla 2.

Tabla 2. Tratamientos

CÓDIGO	NOMENCLATURA	DESCRIPCIÓN
T1	a1b1c1	Extracción por percolación del tallo de la zorrilla.
T2	a1b1c2	Extracción por percolación de las hojas de la zorrilla.
T3	a1b2c1	Extracción por percolación del tallo del llantén.
T4	a1b2c2	Extracción por percolación de las hojas del llantén.
T5	a1b3c1	Extracción por percolación del tallo del orégano francés.
T6	a1b3c2	Extracción por percolación de las hojas del orégano francés.
T7	a2b1c1	Extracción por maceración del tallo de la zorrilla.
T8	a2b1c2	Extracción por maceración de las hojas en la zorrilla.
T9	a2b2c1	Extracción por maceración del tallo del llantén.
T10	a2b2c2	Extracción por maceración de las hojas del llantén.
T11	a2b3c1	Extracción por maceración del tallo del orégano francés.
T12	a2b3c2	Extracción por maceración de las hojas del orégano francés.

Fuente. Las autoras.

3.8. UNIDAD EXPERIMENTAL

Para la unidad experimental por cada tratamiento se necesitó 10 g de planta seca, mientras que para los tratamientos juntos con las réplicas se requirió un total de 240 g de planta seca.

3.9. VARIABLES POR MEDIR

Las variables por medir en esta investigación fueron las siguientes:

- Porcentaje de Rendimiento (%)
- Tipos de compuestos bioactivos

3.10. DISEÑO EXPERIMENTAL

En la tabla 3 podemos observar el ANOVA para los factores en DCA y en la tabla 4 se evidencia el ANOVA de un factor para los tratamientos, en esta investigación se utilizó un arreglo factorial de $A \times B \times C$ el cual permite investigar los efectos: A, B, C, AB, AC, BC y ABC en un diseño completamente al azar; dando como resultado 12 tratamientos y 2 repeticiones por cada uno de ellos.

Tabla 3. ANOVA para los factores en DCA

ANOVA	
Fuente de variación	Gl
Total	23
Factor A	1
Factor B	2
Factor C	1
A*B	2
A*C	1
B*C	2
A*B*C	2
Error experimental	12

Fuente. Las autoras.

Tabla 4. ANOVA de un factor para tratamientos

ANOVA	
Fuente de variación	Gl
Total	23
Tratamiento	11
Error experimental	12

Fuente. Las autoras.

3.11. MODELO MATEMÁTICO

La Universidad Tecnológica de Panamá (2017) menciona que el modelo matemático con el cual se puede expresar un arreglo factorial AxBxC en DCA se detalla en la siguiente fórmula [3].

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\alpha\beta\gamma)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl} \quad [3]$$

Donde

μ = es la media general.

α_i = es el efecto del nivel i-ésimo del factor A

β_j = es el efecto del nivel j del factor B

γ_k = es el efecto del nivel k en el factor C

$(\alpha\beta)_{ij}$, $(\alpha\gamma)_{ik}$ y $(\beta\gamma)_{jk}$ = representan efectos de interacción dobles en los niveles ij, ik, jk, respectivamente.

$(\alpha\beta\gamma)_{ijk}$ = es el efecto de interacción triple en la combinación o punto ijk

ε_{ijkl} = representa el error aleatorio en la combinación ijkl, donde l es el número de repeticiones o réplicas del experimento.

3.12. MANEJO DEL EXPERIMENTO

Se inició con la recolección de las plantas silvestres, las cuales se encontraron en las zonas rurales de la provincia de Manabí, luego de esto se llevaron a los laboratorios de bromatología de la ESPAM MFL, se procedió a lavar la materia prima con agua destilada para eliminar impurezas y a separar las partes de las plantas para luego secarlas, molerlas y tamizarlas.

Una vez terminado este proceso se procedió a usar 10 g de cada tratamiento en la extracción por maceración y percolación, obteniendo así los extractos vegetales acuosos.

Luego se procedió a la cuantificación de rendimientos de los compuestos obtenidos utilizando la fórmula [1] detallada en las técnicas analíticas, y así identificar cuál de los tratamientos proporcionó mejor rendimiento de los extractos.

Posteriormente se realizaron los análisis de cromatografía de capa fina y cromatografía líquida de alta eficiencia en los laboratorios de la Universidad Técnica Particular de Loja, para así finalmente poder identificar que tratamiento contiene mayor cantidad de compuestos bioactivos y cuáles son los principales compuestos que encontramos en los extractos y así poder establecer el mejor método utilizado en la investigación.

3.13. DIAGRAMA DE FLUJO DE LA EXTRACCIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES POR EL MÉTODO DE PERCOLACIÓN Y MACERACIÓN

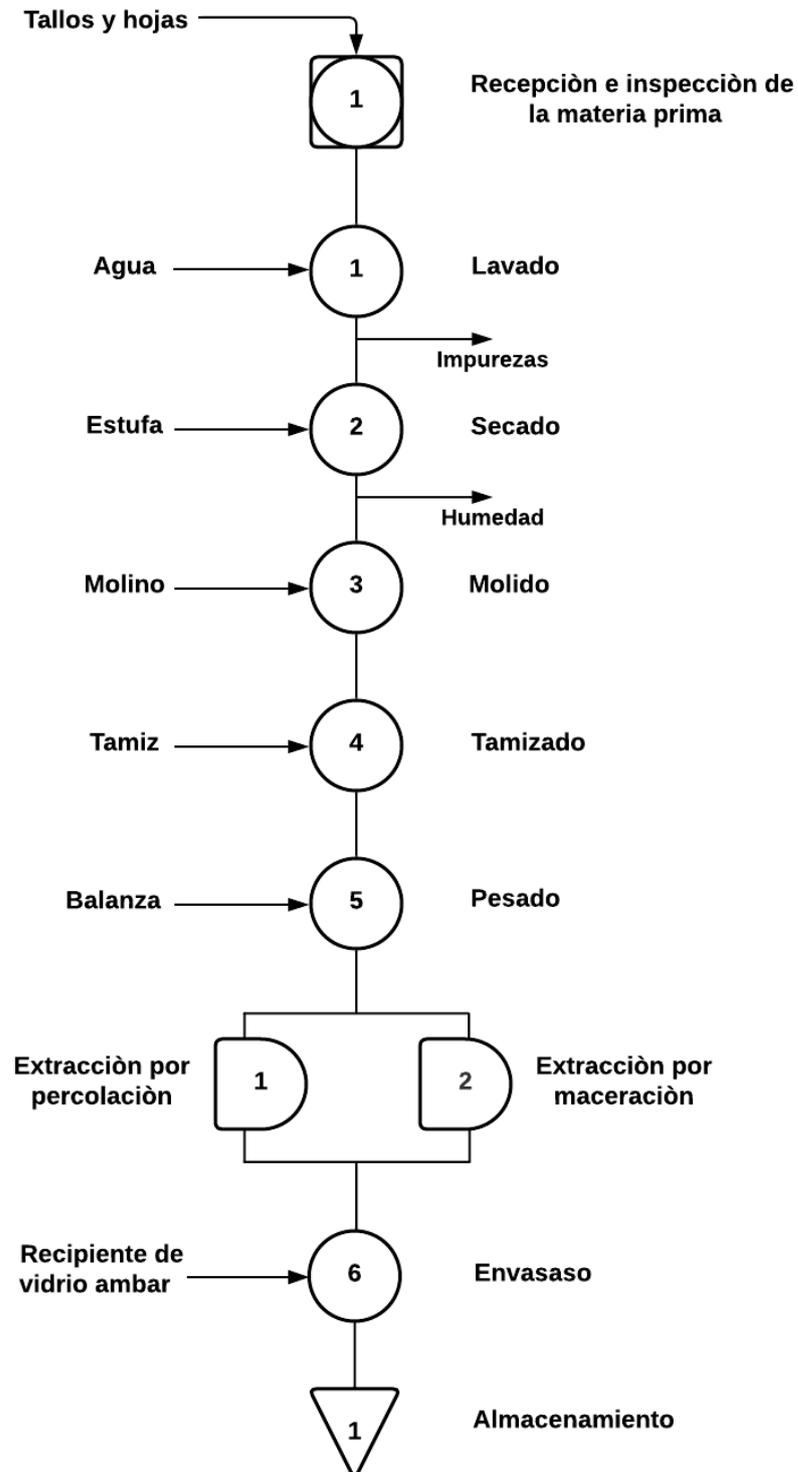


Figura 3. Diagrama de Flujo de Extracción

3.13.1. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

- **RECEPCIÓN DE LA MATERIA PRIMA:**

Al realizar la recolección de las materias primas (hojas y tallos) se tomó en cuenta de que estas se encuentren en un estado idóneo como la hoja o el tallo de color verde, que no estén en otros colores como café o amarillo, caso contrario deberán ser rechazados.

- **LAVADO**

Las hojas y tallos fueron lavadas con agua destilada para eliminar impurezas como tierra que se encuentren en las mismas

- **SECADO**

Se secaron en la estufa de marca memmert a una temperatura de 60°C por un tiempo determinado de 4 horas.

- **MOLIDO**

Se utilizó un molino para obtener partículas pequeñas las cuales puedan pasar por un tamiz.

- **TAMIZADO**

Se utilizó un tamiz número 20 con un tamaño de partícula de 850 UM, se lo realizó con la finalidad de que no haya partículas grandes que puedan dañar el papel filtro.

- **PESADO**

Se pesó en la balanza analítica 10 g de materia prima para luego utilizarlas en cada método.

- **EXTRACCIÓN POR PERCOLACIÓN:**

Se utilizó un sujetador con un percolador de 1000 ml y dentro de este se colocó doble papel filtro y se adjunta los 10 gramos de la materia prima con 90 ml de agua caliente para lo cual se lo dejo con la llave abierta por un goteo de 1 gota por cada 10 segundo y cada uno de estos tratamientos se colocaron dentro de una estufa grande a una temperatura de 35°C para que este no entrara en una contaminación ya que esto lo dejaba por 24 horas.

- **EXTRACCIÓN POR MACERACIÓN:**

Para 100 ml de extracto se pesará 10 g de la planta a utilizar y la pondremos en 90 ml de agua caliente (tiene que ser agua destilada o agua mineral de mineralización débil). Lógicamente la cantidad resultante no serán 100 ml, ya que la planta, al ser seca, absorberá buena parte del agua. Hay que tener esto en cuenta para calcular las cantidades en función de la fórmula a la que vayamos a incorporar el extracto (Sánchez, 2015).

Para su preparación se deben seguir los siguientes pasos

- ✓ En un matraz, limpia y esterilizada, y que cierre bien, colocamos la cantidad de agua necesaria (90 ml), pesamos 10gr de la planta y la incorporamos.
- ✓ Se remueve bien y lo dejamos durante 24 horas en una estufa grande a una temperatura de 35°C para que este no entre en contaminación.
- ✓ Pasadas las 24 horas lo filtramos con doble papel filtro.
- ✓ Es importante que esté muy bien filtrado para evitar la proliferación de microorganismos.
- ✓ Si no lo vamos a utilizar en el momento, se lo almacenará en la nevera, en un frasco esterilizado y le pondremos conservante.

- **ENVASADO**

Se utilizaron envases ambar de 100 ml.

- **ALMACENADO**

Se almacenó en un lugar oscuro y fresco a una temperatura entre 5 a 35 °C.

3.14. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó el test de Shapiro-Wilk (ver anexo 10) para la variable en estudio de rendimiento y compuestos bioactivos donde se pudo evidenciar que la variable de rendimiento no cumple con el supuesto de ANOVA ya que el P_valor ($<0,05$), mientras que para la variable de compuestos bioactivos si cumple con el supuesto de anova debido que el P_valor ($>0,05$), por lo tanto, se procede a realizar la prueba de homogeneidad de Levene para verificar si hay diferencias en las variables en estudio.

En la prueba de homogeneidad de Levene (ver anexo 11) se pudo evidenciar que si hay significancia para las variables de rendimiento y compuestos bioactivos debido que el P_valor ($<0,05$), es por lo que se procede hacer una prueba no paramétrica.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RENDIMIENTO

En la tabla 5 se puede evidenciar la prueba de hipótesis de Kruskal-Wallis para la variable porcentaje de rendimiento donde el factor a (métodos de extracción), el factor c (partes de plantas) y los tratamientos no presentaron diferencias significativas ya que el P_valor ($>0,05$) por lo tanto se retiene la hipótesis nula, mientras que el factor b tipos de plantas presentó diferencia significativa expresando que el P_valor ($<0,05$), esto significa que al menos un tipo de planta influye en el rendimiento de extractos por lo cual se rechaza la hipótesis nula.

Tabla 5. Prueba de hipótesis de Kruskal-Wallis para la variable porcentaje de rendimiento para los métodos de extracción, tipos de plantas, partes de plantas.

Hipótesis nula	Prueba	Sig. Asintóticas	Decisión
La distribución de rendimiento es la misma entre las categorías de factor a (métodos de extracción)	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	,347 ¹ NS	Retener la hipótesis nula
La distribución de rendimiento es la misma entre las categorías de factor b (tipos de plantas)	Prueba de Kruskal – Wallis para muestra independientes	,027	Rechazar la hipótesis nula
La distribución de rendimiento es la misma entre la categoría de factor c (partes de plantas).	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	,799 ¹ NS	Retener la hipótesis nula
La distribución de rendimiento es la misma entre la categoría de tratamientos.	Prueba de Kruskal – Wallis para muestra independientes	,057 ^{NS}	Retener la hipótesis nula

En la tabla 6 se puede apreciar el rechazo de la hipótesis nula (H0) mediante la significancia asintótica. Donde en el estadístico de contraste la media es 7,256.

Tabla 6. Estadístico de contraste del factor b

Factor b	
N total	24
Estadístico de contraste	7,256
Grados de libertad	2
Sig. Asintótica (prueba bilateral)	,027

Las estadísticas de prueba se ajustan para empates

En la figura 4 se puede evidenciar que el factor b (tipos de plantas) influyó en el rendimiento de los extractos obteniendo así en el nivel b2 (llantén) el porcentaje más bajo, mientras que el nivel b1 (zorrilla) y b3 (orégano francés) alcanzaron los porcentajes más altos de rendimiento de extractos vegetales acuosos. Cabe recalcar que no se encontró información suficiente que verifique que son los tipos

de planta las que influye en el rendimiento, es por ello que Jara y Gómez (2010) en su investigación asegura que el rendimiento varía en función de las partes de la planta utilizada, pues algunas tales como hojas y flores al tener mayor esponjamiento por su estructura distinta a la de tallos y raíces, plantas de estructura rígida, retienen mayor cantidad de solvente a pesar de la presión que se ejerza, mientras que Camacho Romero (2018) indica que la diferencia podría estar marcada en el método de extracción utilizado para la elaboración de cada extracto, debido que los ensayos efectuados con percolación muestran mejores resultados que aquellos realizados por maceración, en cuanto al porcentaje de rendimiento.

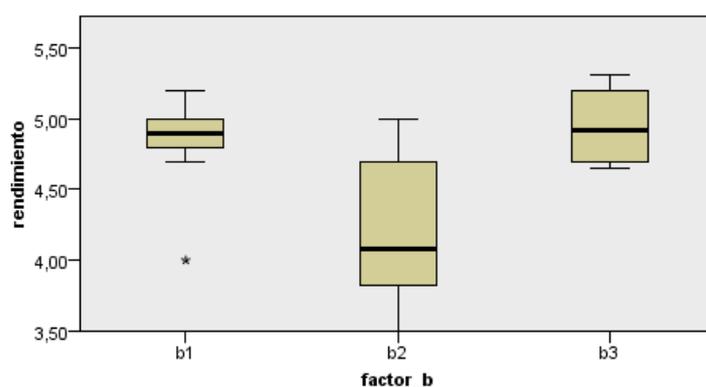


Figura 4. Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes

4.2. COMPUESTOS BIOACTIVOS

La cromatografía se realizó aplicando 1 ml de concentración de la muestra y usando fase móvil una mezcla de Metanol: Agua (9:1). Se reveló a 366 nm y los resultados se muestran en la Figura 5.

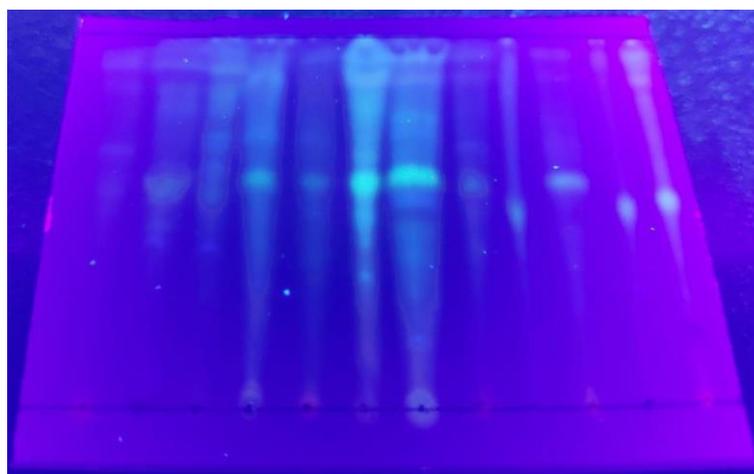


Figura 5. Perfiles de huellas dactilares de los extractos acuosos en placas de HPTLC de sílica de gel 60 F 254 (Merck)

En la tabla 7 se puede evidenciar la prueba de hipótesis de Kruskal-Wallis para la variable compuestos bioactivos donde los factores métodos de extracción, partes de plantas y tipos de plantas no presentaron diferencias significativa ya que el P_valor ($>0,05$) por lo tanto se retiene la hipótesis nula, mientras que el factor tratamiento presentó diferencia significativa expresando que el P_valor ($<0,05$), esto significa que al menos un tratamiento es diferente por lo cual se rechaza la hipótesis nula.

Tabla 7. Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de compuestos bioactivos es la misma entre las categorías del factor a.	Prueba U de Mann Whitney para muestras independiente	,551 ¹	Retener la hipótesis nula.
2	La distribución de compuestos bioactivos es la misma entre las categorías del factor b.	Prueba de kruskal wallis para muestras independientes	,548	Retener la hipótesis nula.
3	La distribución de compuestos bioactivos es la misma entre las categorías del factor c.	Prueba U de Mann Whitney para muestras independiente	,319 ¹	Retener la hipótesis nula.
4	La distribución de compuestos bioactivos no es la misma entre las categorías del tratamiento	Prueba de kruskal wallis para muestras independientes	,024	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de 0,5. Se muestra la significación exacta para estas pruebas.

En la tabla 8 se puede evidenciar el rechazo de la hipótesis nula (H0) mediante la significancia asintótica. Donde en el estadístico de contraste la media es 22,034.

Tabla 8. Estadístico de contraste del factor tratamientos

Tratamientos	
N total	24
Estadístico de contraste	22,034
Grados de libertad	11
Sig. Asintótica (prueba bilateral)	,024

Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.

En la figura 6 se puede apreciar que el tratamiento 7 con un Rf 0,50 en la extracción por maceración del tallo de la zorrilla obtuvo mayor cantidad de compuestos bioactivos, mientras que el tratamiento 1 la extracción por percolación del tallo de la zorrilla obtuvo menor cantidad de compuesto con un Rf 0,04, es por lo que podemos evidenciar que la extracción por maceración es más factible debido que da mejores resultados y mayor cantidad de compuestos bioactivos. Camacho (2014) afirma en su investigación que el método más utilizado es maceración debido a que los extractos obtenidos por maceración a temperatura ambiente

muestran potencial antimicrobiano, debido, que muestra inhibición sobre varias bacterias y hongos; además los estudios realizados en diferente lugar y tiempo coinciden con los resultados obtenidos, donde la *Petiveria alliacea*, presenta en su composición química compuestos fenólicos, flavonoides, taninos y glicósidos en hojas. Por otra parte (Pérez, 2016) citado por (Rodríguez Barriga, 2020) menciona que el máximo valor de Rf puede ser 1 y no debe rebasar este valor debido a que la muestra inyectada no puede recorrer más distancia que la mezcla de solventes y no debe ser cero debido a que el compuesto debió haber recorrido un espacio determinado; lo recomendable es un Rf de 0,5 a 0,7.

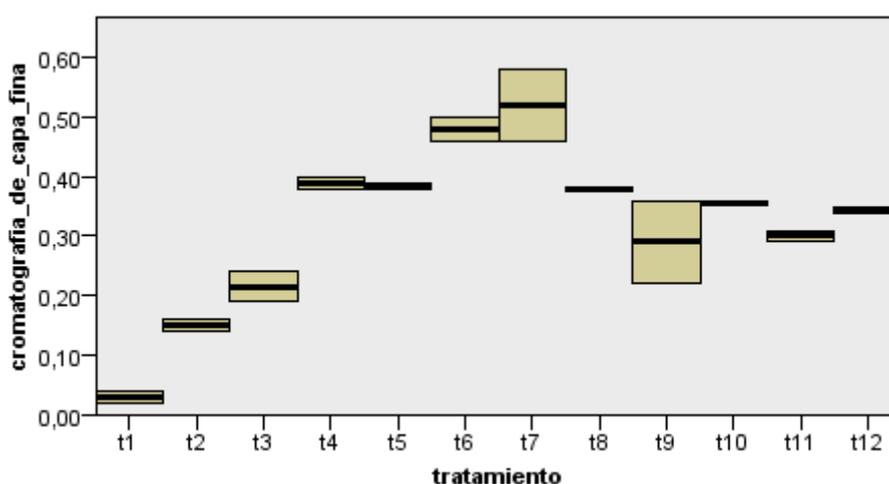


Figura 6. Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes

4.3. FLAVONOIDES

Se realizó la cromatografía líquida de alta resistencia a los tratamientos 6 y 7 debido a que estos obtuvieron mayor cantidad de compuestos bioactivos en la cromatografía de capa fina, identificando algunos de estos compuestos a continuación

El análisis en el espectrofotómetro ultravioleta del tratamiento 6 (extracción por percolación de las hojas del orégano francés) se realizó en el equipo Helios β , utilizando la técnica de barrido las longitudes de onda de 200 a 400 nm. Utilizando reactivos de desplazamiento se obtuvieron siguientes espectros:

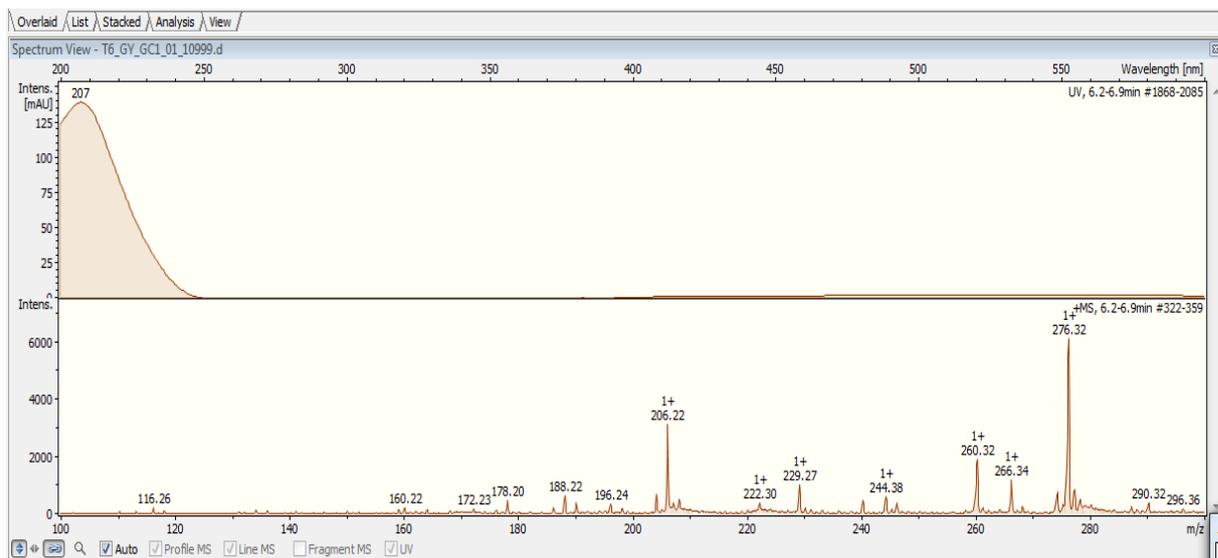


Figura 7. análisis de espectrofotómetro del tratamiento 6

Como se puede observar en figura 7 los picos de absorción más altos contienen una masa molar en un rango entre 276.32 – 206.22 – 260.32 lo cual nos lleva a apreciar la presencia de algunos flavonoides como es el caso de la galangina el cual contiene una masa molar de 276.24, flavonas 205.23, apigenina 260.52. Es por lo que Arcila, et al. (2004) indica en su investigación que existen diversos estudios sobre la composición química del orégano, usando extractos acuosos y sus aceites esenciales, se han identificado flavonoides como la apigenina y la luteolina, agliconas, alcoholes alifáticos, compuestos terpénicos y derivados del fenilpropano. Por otra parte, Menéndez y Pavón (2007) aseguran que el aceite esencial de *Plecthranthus amboinicus* presenta un alto índice de compuestos aromáticos y oxigenados, el componente mayoritario es el carvacrol. Además, se ha detectado que las hojas contienen aceite esencial, azúcares reductores, ácidos triterpénicos, flavonoides y los tallos: aceite esencial, aminas, azúcares reductores, ácidos triterpénicos.

El análisis en el espectrofotómetro ultravioleta del tratamiento 7 (extracción por maceración del tallo de la zorrilla) se obtuvieron siguientes espectros:

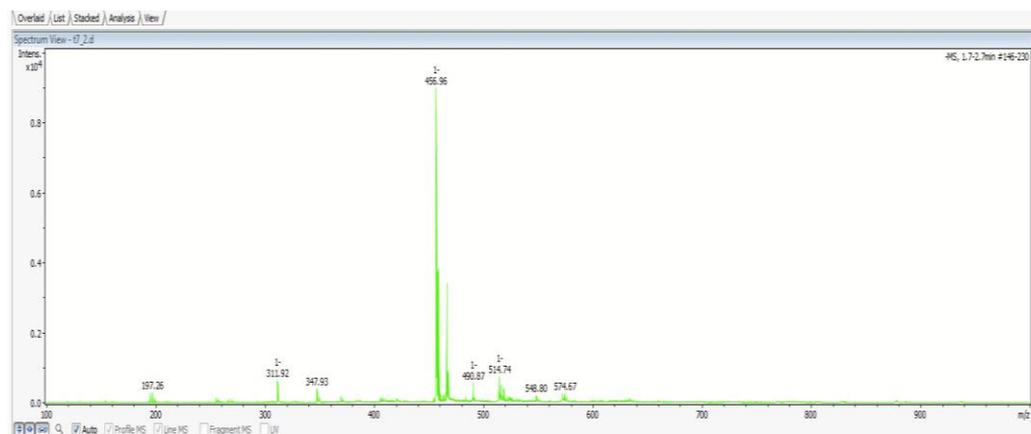


Figura 8. análisis de espectrofotómetro del tratamiento 7

Como se puede observar en figura 8 los picos de absorción más altos contienen una masa molar en un rango entre 456.96 – 311.92 lo cual nos lleva a verificar la presencia de algunos flavonoides como es el caso de la capensinidina con una masa molar de 455.42, petunidina con una masa molar de 311.92. Debido a esto Ochoa, et al. (2012) muestra en su trabajo que la concentración de fenoles totales en la zorrilla es baja; no obstante, indican la posible presencia de compuestos químicos con agrupamientos fenólicos, como flavonoides, taninos, fenoles propiamente dichos (con resultados positivos en el tamizaje); a los cuales se les han reportado acción antimicrobiana. Sin embargo, Hernández (2021) ha dado a conocer que los constituyentes mayoritarios de las partes de esta especie son flavonoides, derivados lipídicos, triterpenos y esteroides, mientras que las cumarinas y derivados de sulfuros principalmente se les encuentra en raíces y tallos, sin embargo, a todos estos grupos de metabolitos se les ha atribuido las propiedades medicinales de la planta en diferentes estudios.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- En los resultados obtenidos del rendimiento de extractos vegetales acuosos se pudo evidenciar que el factor tipos de plantas hubo diferencia significativa, lo que simboliza que el tipo de plantas influyen en los rendimientos, obteniendo así mejores rendimientos en los niveles b1 (zorrilla) y b3 (orégano francés).
- Para la cromatografía de capa fina se pudo evidenciar que el tratamiento 7 con un Rf 0,50 en la extracción por maceración del tallo de la zorrilla obtuvo mayor cantidad de compuestos bioactivos, mientras que el tratamiento 1 la extracción por percolación del tallo de la zorrilla obtuvo menor cantidad de compuesto con un Rf 0,04, por lo que concluimos que el método de extracción por maceración es el mejor para extraer mayor cantidad de compuestos bioactivos.
- Mediante el análisis de cromatografía líquida de alta eficiencia se pudo constatar que en el tratamiento 6 y 7 predomina de compuestos bioactivos como es el caso de flavonoides como capensinidina, petunidina, flavonas, apigenina.

5.2. RECOMENDACIONES

- Por lo estudiado en esta investigación es recomendable utilizar el método de extracción por maceración, debido a que rindió mayor cantidad de compuestos bioactivos en la cromatografía de capa fina.
- Por lo estudiado en el HPLC es recomendable utilizar el orégano francés y la zorrilla en futuras investigaciones debido a su alto contenido de flavonoides.
- Se recomienda realizar más investigaciones acerca de los extractos vegetales acuosos, debido a que existe escasa información acerca de esta.

BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo, D., Navarro, M., y Monroy, L. (2013). Composición Química del Aceite Escencial de Hojas de Orégano (*Origanum vulgare*). *Revista Científica Información tecnológica*, 24(4), 43-48.
https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642013000400005#:~:text=Se%20identific%C3%B3%20como%20compuesto%20mayoritario,%25%2C%20y%201.32%25%20respectivamente.
- Arcila, C., Loarca, G., Lecona, S., y González, E. (2004). El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. *Revista ALAN*, 51, pp 1. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222004000100015#:~:text=Existen%20diversos%20estudios%20sobre%20la,derivados%20del%20fenilpropano%20\(14\).](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222004000100015#:~:text=Existen%20diversos%20estudios%20sobre%20la,derivados%20del%20fenilpropano%20(14).)
- Cajal, A. (2019). *lifeder*. Llantén: Características, Tipos, Origen: <https://www.lifeder.com/llanten/>
- Camacho, O. (2014). *Contribución a la Estandarización del Proceso de Obtención de un Extracto de hojas de Petiveria Alliacea L. (ANAMÚ) a escala de laboratorio*. [Tesis de grado, Universidad Nacional de Colombia]. Repositorio UNAL
<https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/62923/Doc.%20Final%20Msc%20Farmaceutica-%20Oscar%20Camacho.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Cargua, R. (2018). *ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO Y ACEITE*.
<https://dspace.uniandes.edu.ec/bitstream/123456789/8788/1/PIUAMFCH020-2018.pdf>
- CARRIÓN, A., y GARCÍA, C. (2010). *Preparación de Extractos Vegetales: Determinación de Eficiencia de Metódica*. [Tesis de grado Bioquímica y Farmacéutica, Universidad De Cuenca]. Repositorio DSPACE.
<http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2483/1/tq1005.pdf>

- Cevallos, L. (23 de Julio de 2020). *Flavors y botanicals*.
<https://www.duasrodas.com/blog/es/calidad/conozca-los-principales-procesos-de-fabricacion-de-extractos-vegetales-para-la-industria-alimenticia/#:~:text=En%20la%20industria%20alimenticia%2C%20los,agregar%20valor%20a%20los%20productos>.
- Chácon, M. (2009). Domesticación de plantas en las américas. *Revista acta biológica Colombiana* vol. 14, pp. 351-363
<https://www.redalyc.org/pdf/3190/319028030030.pdf>
- Chiriboga, C., Sánche, A., Vargas, O., Hurtado, L., y Quevedo, J.(2015). *Uso de Infusión de oreganón *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng y del vinagre en la crianza de pollos "Acriollados" (*Gallus gallus domesticus*) mejorados*. [Tesis de grado, Universidad Técnica de Machala].
https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/46222/56912
- Cortés, M., Chiralt, A., y Puente, L. (2005). Alimentos Funcionales: Una historia con mucho Presente y Futuro. *Revista de la facultad de química farmacéutica* vol. 12, 5-14. <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v12n1/v12n1a01.pdf>
- Espinoza, O. (2021). *Tech school of nutrition*.
<https://www.techtitute.com/ec/nutricion/blog/nuevos-ingredientes-alimentarios>
- Felix, I. (2018). *Grupo FAGRO*. <https://blogdefagro.com/2018/02/28/extractos-vegetales/>
- Florence, J., Adelou, A., y Afolayan, A. (2010). *Actividades polifenólicas y biológicas de extractos de hojas de *Argemone subfusiformis* y *urtica urens**.
https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?Script=sci_arttext&pid=S0034-77442010000400036
- Google Earth. (2021). *Ubicaciòn ESPAM MFL*. <https://earth.google.com/web/@-0.82640869,-80.18629717,16.15197141a,55.86881522d,35y,0.00000001h,44.99363811t>

,Or/data=clqauhjmciuwedkwmmjhmtu4mja2zjc4ztk6mhgzotg1mme5n2fkywq
Onjm3gurgigtxcuq_IZO-tbjrc1takhfjb3jkzw5hzgfigvzcgftibgbiae

Google Earth. (2021). *Universidad Tecnica Particular de Loja*.
<https://www.google.com/maps/place/Universidad+T%C3%A9cnica+Particular+de+Loja/@-3.9869567,-79.2015254,17z/data=!4m5!3m4!1s0x91cb47fe833955bd:0xfd3e8617b7393995!8m2!3d-3.9869567!4d-79.1993367>

Gonzales, A. (2014). *Obtención de aceites esenciales y extractos etanolicos*.
Artículo científico,
<https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/2800/angelaandregonzalezvilla.2004.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Hernández, J. (2021). *Evaluación de la actividad cit aluación de la actividad citotóxica in vitr xica in vitro del extr o del extracto etanólico o etanólico de Petiveria alliacea L.* [Tesis de grado, Universidad de La Salle].
<https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1143&context=biologia>

Jiménez, K., y Marro, G. (2017). Establecimiento de callogénesis somática en *Plantago major* e identificación de compuestos con actividad biológica. *Revista Tecnologia en Marcha* vol. 30, n. 1
https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0379-39822017000100038

Maldonado, J. (2017). *Extracción supercrítica de componentes bioactivos de la hoja de chaya (Cnidocolus aconitifolius (Mill.) I.M.* [Tesis de grado, Universidad de Juárez Autónoma De Tabasco]. https://doc-0o-1g-apps-viewer.googleusercontent.com/viewer/secure/pdf/555am2ursb6fl7t07oqu5nhfkbbq2e5i/v70urcg12ijqk6c04omr9kvvnfhv8c87/1626379800000/gmail/0117826564669100632/acfrogdhyxn5iotjyjj6velvzkb5cusplyjppnekcf-U9C28Gjz2Gmi02sHMvduxufezB_afojtpu9

Martínez, M., Baracaldo, N., Santos, M., y Nieves, D. (2003). Estudio farmacognóstico, fitoquímico y microbiológico de la *Petiveria alliaceae* Lin 1998. *Revista Gaceta Médica Espirituana* vol. 5, n. 1
<http://revgmespirituana.sld.cu/index.php/gme/article/view/948/913>

- Martinez, Guzman, y Hernandez. (2016). Caracterización físico-química de extracto acuoso. *Revista Redalyc*, vol. XVIII, núm. 1, 2006, pp. 258-268
<https://www.redalyc.org/pdf/4435/443543688088.pdf>
- Martinez, J., y Viganò, J. (2015). Tendencias en la Aplicación de Subproductos Industriales de Maracuyá: Una Revisión sobre la Composición Química y Técnicas de Extracción de Fitoquímicos. *Revista Scientific & Academic Publishing* 5(5), 164-173
<http://article.sapub.org/10.5923.j.fph.20150505.03.html>
- Mendoza, X. (2019). *Caracterización y estudio de actividades biológicas de los extractos obtenidos a partir de Sambuel*. [Tesis de grado Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, Universidad Técnica de Ambato]. Repositorio UTA.
<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/30462/1/AL%20716.pdf>
- Menéndez, R., y Pavón, V. (2007). *Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM) Plecthranthus amboinicus*.
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47961999000300006
- Núñez, C. (2008). *Extracciones con equipo soxhlet*.
<http://cenunez.com.ar/archivos/39-extraccinconequiposoxhlet.pdf>
- Nutexa. (2017). *Extractos Vegetales*. <https://www.nutexa.com/2017/06/13/qa-todo-sobre-los-extractos-vegetales/>
- Ocaña, M. (2013). *Actividad Antifúngica In Vitro de Extractos Vegetales*. [Tesis de grado, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro]. Repositorio UAAAN
<http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/6477/6/2754%20OCA%C3%91A%20LOPEZ%2C%20MARTHA%20EMILIA%20%20TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ocho, A., Marín, J., Rivero, D., y Aguilera, E. (2013). Caracterización física, físico-química y química de extractos totales de hojas frescas de *Petiveria alliacea* L. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 44(1).
<http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcf/v44n1/v44n1a7.pdf>

- Ochoa, A., Marin, J., y Rivero, D. (2012). *Caracterización Física y Química de Extractos totales de Petiveria Alliacea L. con Acción Antimicrobiana*. [Tesis de grado, Universidad de Oriente, Facultad de Ciencias Naturales]. https://files.sld.cu/revfarmacia/files/2012/10/080_extractos_totales_de_petiveria_alliacea_aprobado.pdf
- Paltin, A. (2016). *Aislamiento e identificación de metabolitos secundarios de la especie de la familia Lycopodaceae: Huperzia weberbaueri, Loja – Ecuador*. [Tesis de grado, Universidad Técnica Particular de Loja]. <https://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/13585/3/Jara%20Paltin%20Angel%20Adrian.pdf>
- Perez, W. (2016). *Operaciones básicas*. http://www.ub.edu/oblq/oblq%20castellano/cromatografia_tipus.html
- Pinto, J., y Bustamante, Z. (2008). Evaluación de la actividad gastroprotectora de los extractos de llantén. *Revista BIOFARBO vol, 16* https://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/07/1006607/evaluacion-de-la-actividad-gastroprotectora-de-los-extractos-d_cvQyxne.pdf
- Revista Eria. (2020). *Las aplicaciones y beneficios de los extractos naturales en nuestra vida diaria*. <https://www.revistaeria.es/las-aplicaciones-y-beneficios-de-los-extractos-naturales-en-nuestra-vida-diaria/>
- Ridao, M., y Massa, J. (2017). *Desarrollo y aplicación de técnicas de extracción de información en Data Science*. Instituto de investigación en tecnología informática avanzada: <http://www.intia.exa.unicen.edu.ar/investigacion/grupos/bdyps>
- Robledo, C. (2010). *Extractos vegetales*. <https://www.sembrar100.com/extractos-vegetales/>
- Rodríguez, K. (2020). *Extracción y caracterización de metabolitos secundarios (polifenoles y flavonoides) obtenidos a partir de Pujín (Hesperomeles ferruginea) planta nativa del cerro Teligote*. [Tesis de grado, Universidad Técnica de Ambato]. Repositorio UTA <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/32124/1/AL%20774.pdf>

- Romero, W. (2018). *Estudio comparativo químico de extractos de Corynaea crassa por los métodos de maceración y percolación*. [Tesis de grado, Universidad de Guayaquil]. Repositorio UG <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/39988/1/BCIEQ-T-0380%20Romero%20Hervas%20William%20Alfredo.pdf>
- Rosete, S., Sáenz, R., y Pinargote, H. (2018). *Especies silvestres de interés para el turismo en Manabí y Guayas, Ecuador*. Revista Scielo, ciencias forestales vol.6 no.1 Pinar del Río ene.-abr. 2018 http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2310-34692018000100080
- Ruiz, M. (2020). *Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento (HPLC)*. [Guía de laboratorio, Universidad Simón Bolívar]. <https://bonga.unisimon.edu.co/bitstream/handle/20.500.12442/7985/Gu%C3%ADa%20de%20Cromatograf%C3%ADa%20liquida%20de%20alto%20rendimiento%28HPLC%29%20y%20Cromatograf%C3%ADa%20de%20gases%20%28CG%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Sanchez, L. (2015). *Extractos vegetales*. <https://www.aquiconmiscosas.es/preparacion-de-extractos-vegetales-ii-macerados-acuosos/>
- Santamaría, C., Martín, A., y Astorga, F. (2015). *Extractos vegetales aplicación para la reducción de estrés*. <https://nutricionanimal.info/download/0315-ena-WEB.pdf>
- Sariego, S., Marin, J., Ochoa, A., y Viera, Y. (2013). *Petiveria alliacea L.: distintas condiciones experimentales en la elaboración de extractos con actividad antimicrobiana*. *Revista Química Viva*, vol. 12, núm. 3, pp. 274-287 <https://www.redalyc.org/pdf/863/86329278008.pdf>
- Sempértegui, G. (2019). *Evaluación farmacognóstica y actividad antioxidante de los extractos de Corynaea crassa*. [Tesis de grado, Universidad De Guayaquil]. Repositorio UG <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/43785/1/BCIEQ-T->

0441%20Semp%c3%a9rtegui%20Morocho%20G%c3%a9nesis%20Alexandra.pdf

Silvia, C. (2014). *“Uso de Extractos Vegetales Acuosa como Estrategia Alternativa para el Control Poscosecha de Monilinia Fructicola, Agente Responsable de la Podredumbre Morena de los Frutales de Carozo”* [Tesis de grado, Universidad Nacional de Cuyo].

https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/6465/tesis-licenciaturabromatologia-monardez-2014.pdf

Sotomayor, C. (2015). *Aislamiento e identificación de metabolitos secundarios de dos especies de la familia Lycopodiaceae: Huperzia brevifolia y Lycopodium vestitum*. [Tesis de grado, Universidad Técnica Particular de Loja]

Repositorio DSPACE.

<https://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/11563/1/Sotomayor%20Bastidas%20Cristina%20Nicole.pdf>

tech, T. f. (2020). *Extractos vegetales: la evidencia de su actividad*.

<https://thefoodtech.com/nutricion-y-salud/extractos-vegetales-la-evidencia-de-su-actividad/>

Tituaña, G. (2013). *Estudio del Proceso de Obtención de Extractos de Plantas Medicinales*. [Tesis de grado, Universidad Técnica de Ambato]. Repositorio

UTA

<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/8563/1/MAI%2005.pdf>

Universidad tecnológica de Panamá. (2017). *Diseño de experimentos*.

https://www.academia.utp.ac.pa/sites/default/files/docente/51/2e._ analisis_de_varianza_de_disenos_experimentales-multifactorial.pdf

Vega, G. (2021). *Extractos naturales: ingredientes que atienden las demandas de*

sabor, salud y bienestar. <https://thefoodtech.com/ingredientes-y-aditivos-alimentarios/extractos-naturales-ingredientes-que-atienden-las-demandas-de-sabor-salud-y-bienestar/>

Velasco, A. (2021). *Propuesta de Ecuador para la formulación de la estrategia nacional de biodiversidad: vida silvestre*.
<http://www.comunidadandina.org/bda/docs/CAN-BIO-0007.pdf>

Zamora, F. (2017). *Estandarización de la metodología de la cromatografía de columna para el aislamiento de metabolitos activos a partir de extractos vegetales*. [Tesis de grado, Universidad de Cuenca]. Repositorio DSPACE.
<https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/27901/3/Tesis.pdf>

ANEXOS



Anexo 1: Recolección de la materia prima



Anexo 2: Lavado e inspección



Anexo 3: Secado



Anexo 4: Molido



Anexo 5: Tamizado



Anexo 6: Pesado



Anexo 7: Maceración



Anexo 8: Percolación



Anexo 9: Realización de TLC y HPLC en la Universidad técnica particular de Loja

Anexo 10: Supuestos de ANOVA de normalidad

Variables	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	GI	Sig.
Rendimiento	,889	24	,013
Compuestos bioactivos	,946	24	,216

Anexo 11: Supuestos del ANOVA de Homogeneidad

Variables		Estadístico de levente	gl1	GI2	Sig.
Rendimiento	Se basa en la media	2,568E +29	11	12	,000
Compuestos bioactivos	Se basa en la media	2,244E +30	11	12	,000



Loja, 14 de Octubre del 2022

M.Sc. James Willan Calva Torres

RESPONSABLE LABORATORIO DE QUÍMICA ANALÍTICA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA-UTPL

CERTIFICO

Que las estudiantes Josselyn Kerlita Cedeño Rodríguez y Maite Carolina Angulo Alcívar realizaron los análisis de TLC y HPLC de extractos acuosos de 3 diferentes plantas silvestres a partir de tallos y hojas, en los laboratorios de Fitoquímica y Química Analítica del Departamento de Química de la Universidad Técnica Particular de Loja.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad, dejando a las interesadas hacer uso del presente documento para los fines que crean conveniente.

Atentamente:

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'James Calva Torres', written over a light blue circular stamp.

M.Sc. James Calva Torres

CI: 1104005689



RESPONSABLE LABORATORIO DE QUÍMICA ANALÍTICA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA-UTPL

San Cayetano Alto s/n
Loja-Ecuador
Telf.: (593-7) 370 1444
informacion@utpl.edu.ec
Apartado Postal: 11-01-608
www.utpl.edu.ec

**Anexo 12: Certificado de realización de TLC y HPLC en la
UTPL**