



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS**  
**NATURALES**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**  
**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

**Título:**

**“OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN HIDROALCOHÓLICA  
A PARTIR DEL CEDRÓN (*Aloysia citrodorae Paláu*) EN FUNCIÓN DEL  
CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD  
ANTIOXIDANTE.”**

Proyecto de Investigación previo a la obtención del Título de Ingenieros Agroindustriales

**Autores:**

Maldonado Toapanta Natali Manuela

Reinoso Unaicho Oscar Julio

**Tutor:**

Rojas Molina Jaime Orlando Quím. Mg.

**LATACUNGA – ECUADOR**

**Marzo 2021**

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Maldonado Toapanta Natali Manuela, con cédula de ciudadanía No. 175364917-5; y, Reinoso Unaicho Oscar Julio, con cédula de ciudadanía No. 172767399-6; declaramos ser autores del presente proyecto de investigación “OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN HIDROALCOHÓLICA A PARTIR DEL CEDRÓN (*Aloysia citrodorae Paláu*) EN FUNCIÓN DE POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE”, siendo el Químico Mg. Jaime Orlando Rojas Molina, Tutor del presente trabajo; y, eximimos expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certificamos que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de nuestra exclusiva responsabilidad.

Latacunga 05 de marzo del 2021

Natali Manuela Maldonado Toapanta

Estudiante

CC: 1753649175

Oscar Julio Reinoso Unaicho

Estudiante

CC: 1727673996

Químico Mg. Jaime Orlando Rojas Molina

Docente Tutor

C.I. 0502645435

## **CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR**

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **MALDONADO TOAPANTA NATALI MANUELA**, identificada con cédula de ciudadanía **1753649175** de estado civil soltera, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, el Ph.D. Nelson Rodrigo Chiguano Umajinga, en calidad de Rector Encargado y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

**ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA.- LA CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de **Ingeniería Agroindustrial**, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “**Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir del cedrón (*aloyisia citrodorae paláu*) en función de polifenoles totales y actividad antioxidante**”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, según las características que a continuación se detallan:

Historial académico.- Inicio de la carrera: Abril - Agosto 2016 - Finalización: Octubre 2020 – Marzo 2021

Aprobación en consejo directivo.- 26 de enero del 2021

Tutor: Químico Mg. Jaime Orlando Rojas Molina

Tema: “OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN HIDROALCOHÓLICA A PARTIR DEL CEDRÓN (*Aloysia citrodorae Paláu*) EN FUNCIÓN DE POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE”

**CLÁUSULA SEGUNDA.- LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

**CLÁUSULA TERCERA.-** Por el presente contrato, **LA CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

**CLÁUSULA CUARTA.- OBJETO DEL CONTRATO:** Por el presente contrato **LA CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- e) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

**CLÁUSULA QUINTA.-** El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

**CLÁUSULA SEXTA.-** El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

**CLÁUSULA SÉPTIMA.- CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD.-** Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LA CEDENTE** podrá utilizarla.

**CLÁUSULA OCTAVA.- LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS.-** **LA CESIONARIA** podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA CEDENTE** en forma escrita.

**CLÁUSULA NOVENA.-** El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en las cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

**CLÁUSULA DÉCIMA.-** En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

**CLÁUSULA UNDÉCIMA.-** Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 5 días del mes de marzo del 2021.

Natali Manuela Maldonado Toapanta

Ph.D. Nelson Rodrigo Chiguano Umajinga

**LA CEDENTE**

**EL CESIONARIO**

## **CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR**

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **REINOSO UNAUCHO OSCAR JULIO**, identificado con cédula de ciudadanía **1727673996**, de estado civil soltero, a quien en lo sucesivo se denominará **EL CEDENTE**; y, de otra parte, el Ph.D. Nelson Rodrigo Chiguano Umajinga, en calidad de Rector Encargado y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

**ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA.- EL CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de **Ingeniería Agroindustrial**, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “**Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir del cedrón (*aloyisia citrodorae paláu*) en función de polifenoles totales y actividad antioxidante**”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, según las características que a continuación se detallan:

Historial académico.- Inicio de la carrera: Abril - Agosto 2016 - Finalización: Octubre 2020 – Marzo 2021

Aprobación en consejo directivo.- 26 de enero del 2021

Tutor: Químico Mg. Jaime Orlando Rojas Molina

Tema: “OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN HIDROALCOHÓLICA A PARTIR DEL CEDRÓN (*Aloysia citrodorae Paláu*) EN FUNCIÓN DE POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE”

**CLÁUSULA SEGUNDA.- LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

**CLÁUSULA TERCERA.-** Por el presente contrato, **EL CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

**CLÁUSULA CUARTA.- OBJETO DEL CONTRATO:** Por el presente contrato **EL CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- e) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

**CLÁUSULA QUINTA.-** El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **EL CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

**CLÁUSULA SEXTA.-** El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

**CLÁUSULA SÉPTIMA.- CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD.-** Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **EL CEDENTE** podrá utilizarla.

**CLÁUSULA OCTAVA.- LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS.-** **LA CESIONARIA** podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **EL CEDENTE** en forma escrita.

**CLÁUSULA NOVENA.-** El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en las cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

**CLÁUSULA DÉCIMA.-** En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

**CLÁUSULA UNDÉCIMA.-** Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 5 días del mes de marzo del 2021.

Oscar Julio Reinoso Unaicho

Ph.D. Nelson Rodrigo Chiguano Umajinga

**EL CEDENTE**

**EL CESIONARIO**



## **AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

En calidad de Tutor del Proyecto de Investigación con el título:

“OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN HIDROALCOHÓLICA A PARTIR DEL CEDRÓN (*Aloysia citrodorae Paláu*) EN FUNCIÓN DE POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE”, de Maldonado Toapanta Natali Manuela y Reinoso Unaicho Oscar Julio, de la carrera de ingeniería Agroindustrial, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

Latacunga 05 de marzo del 2021

Quím. Mg. Jaime Orlando Rojas Molina

**DOCENTE TUTOR**

C.I. 0502645435

## AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprueban el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto los postulantes: Maldonado Toapanta Natali Manuela y Reinoso Unaicho Oscar Julio, con el título del Proyecto de Investigación “OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN HIDROALCOHÓLICA A PARTIR DEL CEDRÓN (*Aloysia citrodorae Paláu*) EN FUNCIÓN DE POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE”, ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga 05 de marzo de 2021



Firmado electrónicamente por:

**GUSTAVO JOSE  
SANDOVAL  
CANAS**

Lector 1 (Presidenta)

Ing. MSc. Ana Trávez Castellano

CC: 0502270937

Lector 2

Quím. MSc. Gustavo Sandoval Cañas

CC: 1713697538

Lector 3

Ing. Mg. Pablo Herrera Soria

CC: 0501690259

## AGRADECIMIENTO

*Esta tesis de ingeniería se la debo a mi madre, quien es mi pilar fundamental y razón de ser, gracias por el apoyo incondicional, que con esfuerzo y arduo trabajo ha hecho posible mi formación académica, siendo ejemplo de ser humano.*

*A los distinguidos docentes de la carrera de Ingeniería Agroindustrial, quienes han sido los pilares fundamentales en mi formación como profesional ético y responsable.*

*A mi tutor el Químico Mg. Jaime Orlando Rojas Molina por su guía y tiempo dedicado a esta investigación y por el conocimiento impartido que permitió culminar mi carrera.*

*A mi compañero de tesis Oscar Reinoso, que con quien compartí trabajo, tiempo y momentos de felicidad en el desarrollo de esta investigación.*

*Natali Manuela Maldonado Toapanta*

## AGRADECIMIENTO

*Esta tesis de ingeniería se la debo a la Universidad Técnica de Cotopaxi, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, en especial a mi carrera “Ingeniería Agroindustrial”, a mis docentes por haber compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación de mi profesión, de manera especial al Químico Mg. Jaime Orlando Rojas Molina tutor de mi proyecto de investigación, por brindarme las herramientas que fueron necesarias para llevar a cabo el proceso.*

*A mi familia por darme su ejemplo de trabajo y honradez, por confiar y creer en mis expectativas, por los consejos, valores y principios que me han inculcado, no hubiese podido arribar a estos resultados de no haber sido por su incondicional ayuda.*

*También quiero agradecer a mi novia Joseth Pillaño por su apoyo y paciencia en este proyecto de estudio. A mi compañera de tesis Natali Maldonado que a pesar de todo hemos estado con pie firme en la realización de la presente investigación, gracias a la vida por este nuevo triunfo, gracias a todas las personas que me apoyaron y creyeron en la realización de esta tesis.*

*Oscar Julio Reinoso Unaicho*

**DEDICATORIA**

*Con ahínco y felicidad, dedico este trabajo de titulación a mi familia, quienes a pesar de las adversidades siempre confiaron en mí, en especial a mi madre por creer en mi capacidad, aunque hemos pasado momentos difíciles siempre ha estado brindándome su comprensión, cariño y amor*

*A mis abuelitos por sus sabios consejos en los momentos precisos, estoy donde estoy ahora.*

*Para mí es muy gratificante poder dedicarles a ellos, que con mucha dedicación y trabajo he logrado culminar.*

*Natali Manuela Maldonado Toapanta*

**DEDICATORIA**

*A mi madre Martha Unaicho que ha sabido formarme con buenos sentimientos, hábitos y valores, lo cual me ha ayudado a salir adelante en los momentos más difíciles, por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional sin importar nuestras diferencias de opiniones, A mi padre, a pesar de no convivir conmigo sé que este momento hubiera sido tan especial para ti como lo es para mí.*

*De igual forma, dedico esta tesis a mi hermana Olimpia Reinoso y a mi hermano Ivan Reinoso que siempre han estado junto a mí, brindándome su apoyo, muchas veces poniéndose en el papel de padre.*

*A toda mi familia, porque me han brindado su apoyo incondicional y por depositar toda la confianza en mí, porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona y de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas, siempre los llevo en mi corazón.*

*A mi hija Nina Juliette por ser la última inspiración que me faltaba para completar el trabajo haciendo de esto una de las experiencias más especiales.*

*Oscar Julio Reinoso Unaicho*

## UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

### FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

**TÍTULO: “OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN HIDROALCOHÓLICA A PARTIR DEL CEDRÓN (*Aloysia citrodorae Paláu*) EN FUNCIÓN DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.”**

AUTORES: Maldonado Toapanta Natali Manuela

Reinoso Unaicho Oscar Julio

#### RESUMEN

El presente trabajo de investigación se basó en la optimización del proceso de extracción hidroalcohólica de las hojas de cedrón (*Aloysia citrodora paláu*) en función del contenido de polifenoles totales y actividad antioxidante, analizando sus características fitoquímicas, con el fin de obtener información actualizada y comprobada de sus compuestos bioactivos.

El cedrón fue recolectado antes de su floración, debido a que en su etapa joven existe mayor concentración de compuestos bioactivos. Posteriormente se partió de 1g de droga cruda para la obtención de cada extracto utilizando solventes de diferentes polaridades; a los que se les realizó el tamizaje fitoquímico, con el fin de conocer cualitativamente sus compuestos bioactivos, donde se comprobó la presencia de compuestos grasos, esteroides, catequinas, azúcares reductores, saponinas, compuestos fenólicos, quinonas, flavonoides, mucilagos y principios amargos.

Las corridas experimentales se establecieron a través del programa Design Expert 8.0.6 en el que se determinó 23 corridas con tres factores como; concentración de etanol (60%, 75% y 90%), tiempo (6h, 15h y 24h) y temperatura (30°C y 60°C). Se determinó el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de cada corrida experimental. Al aumentar la concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción se incrementaron el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de la droga cruda de las hojas de cedrón.

El extracto hidroalcohólico optimizado presentó 0,28 mg EAG/g de polifenoles totales y 909,36  $\mu\text{M}$  de  $\text{Fe}^{2+}$ /g de capacidad antioxidante, valor superior al obtenido mediante la optimización numérica.

**Palabras clave:** polifenoles, capacidad antioxidante, extracción, cedrón, optimización.

**TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI****FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES**

**TITLE: OPTIMIZATION OF THE HYDROALCOHOLIC EXTRACTION PROCESS FROM LEMON VERBENA (*Aloysia citrodorae Paláu*) BASED ON THE TOTAL POLYPHENOL CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY."**

**AUTHORS:** Maldonado Toapanta Natali Manuela

Reinoso Unaicho Oscar Julio

**ABSTRACT**

This research study was based on the improvement of the hydroalcoholic extraction process of lemon verbena leaves (*Aloysia citrodora paláu*) depending on the content of total polyphenols and antioxidant activity, analyzing their phytochemical characteristics, in order to obtain updated and verified information on the bioactive compounds.

The lemon verbena was harvested before its flowering, since in its young stage there is a higher concentration of bioactive compounds. Subsequently, 1g of crude drug was used to obtain each extract using solvents of different polarities; Those which underwent phytochemical screening, in order to qualitatively know their bioactive compounds, the presence of fatty compounds, steroids, catechins, reducing sugars, saponins, phenolic compounds, quinones, flavonoids, mucilages and bitter bioactive compounds.

The experimental runs were developed through the Design Expert 8.0.6 program in which 23 runs were carried out with three factors such as ethanol concentration (60%, 75% and 90%), time (6h, 15h and 24h) and temperature (30 °C and 60 °C). The content of total polyphenol and antioxidant capacity of each experimental run were determined. By increasing ethanol concentration, time and extraction temperature, the content of total polyphenols and antioxidant capacity of the hydroalcoholic extracts of the crude drug of lemon verbena leaves were increased.

The optimized hydroalcoholic extract presented 0.28 mg EAG / g of total polyphenols and 909.36 uM of Fe<sup>2+</sup> / g of antioxidant capacity, this being a higher value than that obtained by numerical optimization.

**Keywords:** polyphenols, antioxidant capacity, extraction, lemon verbena, optimization.



## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>DECLARACIÓN DE AUTORÍA .....</b>	<b>i</b>
<b>CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....</b>	<b>ii</b>
<b>CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....</b>	<b>v</b>
<b>AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>viii</b>
<b>AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>ix</b>
<b>AGRADECIMIENTO .....</b>	<b>x</b>
<b>AGRADECIMIENTO .....</b>	<b>xi</b>
<b>DEDICATORIA .....</b>	<b>xii</b>
<b>DEDICATORIA .....</b>	<b>xiii</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>xiv</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xv</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS .....</b>	<b>xix</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS .....</b>	<b>xx</b>
<b>ÍNDICE DE ANEXOS.....</b>	<b>xxi</b>
<b>1. INFORMACIÓN GENERAL .....</b>	<b>1</b>
<b>2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO .....</b>	<b>2</b>
<b>3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>3</b>
3.1. Beneficiarios directos:.....	3
3.2. Beneficiarios Indirectos:.....	3
<b>4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>4</b>
<b>5. OBJETIVOS.....</b>	<b>5</b>
5.1. Objetivos General .....	5
5.2. Objetivos Específicos.....	5
<b>6. ACTIVIDADES Y SISTEMAS DE TAREAS EN RELACIÓN CON LOS OBJETIVOS PLATEADOS .....</b>	<b>6</b>
<b>7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA TÉCNICA .....</b>	<b>7</b>
7.1. ANTECEDENTES.....	7
7.2. MARCO TEÓRICO .....	9
7.2.1. Cedrón. ....	9
7.2.2. Extractos vegetales.....	12
7.2.3. Métodos extractivos.....	13
7.2.4. Tamizaje fitoquímico .....	18
7.2.5. Polifenoles.....	20

7.2.6.	Actividad antioxidante.....	21
7.2.7.	Caracterización físico química del extracto.....	23
7.3.	GLOSARIO .....	24
8.	VALIDACIÓN DE LA PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS.....	25
8.1.	Hipótesis nula .....	25
8.2.	Hipótesis alternativa .....	25
9.	METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL.....	26
9.1.	Tipos de investigación .....	26
9.1.1.	Investigación Cuantitativa .....	26
9.1.2.	Investigación Descriptiva .....	26
9.1.3.	Investigación Experimental .....	26
9.2.	Técnicas de investigación .....	26
9.2.1.	Observación .....	26
9.3.	Instrumento de investigación.....	27
9.3.1.	Ficha de observación .....	27
9.4.	Diseño experimental .....	27
9.4.1.	Factores de estudio .....	27
9.4.2.	Tratamientos.....	28
9.4.3.	Variables e indicadores .....	29
9.5.	Materiales, materias primas, insumos y equipos.....	29
9.5.1.	Materiales .....	29
9.5.2.	Materia prima .....	29
9.5.3.	Insumos.....	29
9.5.4.	Equipos .....	30
9.5.5.	Reactivos Químicos .....	30
9.6.	Metodología.....	31
9.6.1.	Recolección de la muestra.....	32
9.6.2.	Selección y secado de las hojas de cedrón.....	32
9.6.3.	Molido de las hojas de cedrón.....	33
9.6.4.	Tamizaje fitoquímico .....	33
9.6.5.	Determinación del contenido de polifenoles solubles totales .....	39
9.6.6.	Determinación de la actividad antioxidante del extracto seleccionado .....	41

9.6.7.	Caracterización físico química del extracto optimizado .....	44
10.	ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS .....	46
10.1.	Perfil fitoquímico.....	46
10.2.	Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica de la droga cruda. ....	48
10.3.	Determinación de polifenoles totales.....	50
10.4.	Determinación de la actividad antioxidante .....	52
10.5.	Comprobación numérica de la optimización del proceso de extracción hidroalcohólico de la droga cruda. ....	54
10.6.	Caracterización del extracto hidroalcohólico optimizado de la droga cruda. ....	56
11.	IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS).....	58
11.1.	Impacto técnico.....	58
11.2.	Impacto social .....	58
11.3.	Impacto ambiental. ....	58
12.	PRESUPUESTO.....	59
13.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	61
13.1.	Conclusiones .....	61
13.2.	Recomendaciones .....	62
14.	CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES. ....	63
15.	BIBLIOGRAFÍA .....	64
16.	ANEXOS.....	70

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Clasificación taxonómica del Cedrón.....	10
<b>Tabla 2:</b> Condiciones experimentales seleccionadas para el diseño de experimentos. ....	28
<b>Tabla 3:</b> Corridas experimentales para el proceso de maceración .....	28
<b>Tabla 4:</b> Operacionalización de las variables. ....	29
<b>Tabla 5:</b> Concentraciones y absorbancia de la curva de calibración de Folin. ....	40
<b>Tabla 6:</b> Concentraciones y absorbancia de FRAP.....	43
<b>Tabla 7:</b> Tamizaje fitoquímico del extracto etéreo, etanólico y acuoso del cedrón (aloesia citrodora paláu) .....	46
<b>Tabla 8:</b> Matriz experimental de la evaluación del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante en l droga cruda de cedrón.....	49
<b>Tabla 9:</b> Análisis de varianza del contenido de polifenoles totales .....	50
<b>Tabla 10:</b> Análisis de varianza de la capacidad antioxidante.....	52
<b>Tabla 11:</b> Restricciones de la optimización numérica de proceso de extracción hidroalcohólico del cedrón. ....	54
<b>Tabla 12:</b> Solución optimizada que cumple con las restricciones .....	54
<b>Tabla 13:</b> Valores óptimos predichos y experimentales, obtenidos a las condiciones definidas en el proceso de optimización.....	55
<b>Tabla 14:</b> Caracterización físico química del extracto hidroalcohólico del cedrón.....	56
<b>Tabla 15:</b> Características organolépticas del extracto hidroalcohólico del cedrón.....	57
<b>Tabla 16:</b> Presupuesto para la optimización del proceso hidroalcohólico del cedrón.....	59
<b>Tabla 17:</b> Cronograma de trabajo en el plan de investigación .....	63

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Aloysia citrodora Paláu.....	9
<b>Figura 2:</b> Clasificación de los métodos de obtención de extractos vegetales.....	13
<b>Figura 3:</b> Diagrama de flujo del proceso de extracción hidroalcohólica del cedrón. ....	31
<b>Figura 4:</b> Curva de secado en relación tiempo y porcentaje de humedad.....	32
<b>Figura 5:</b> Diagrama del proceso de extracciones para determinar compuestos fitoquímicos.....	33
<b>Figura 6:</b> Curva de calibración para FOLIN .....	40
<b>Figura 7:</b> Curva de calibración para FRAP .....	43
<b>Figura 8:</b> Contenido de polifenoles totales en los extractos hidroalcohólicos del cedrón .....	48
<b>Figura 9:</b> Influencia de la concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción en el contenido de polifenoles totales. ....	51
<b>Figura 10:</b> Influencia de la concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción sobre la capacidad antioxidante.....	53
<b>Figura 11:</b> Relación de la concentración de etanol, tiempo de extracción y temperatura del optimizado .....	55

**ÍNDICE DE ANEXOS**

Anexo 1: Aval de inglés. ....	70
Anexo 2: Datos del tutor. ....	71
Anexo 3: Datos de los estudiantes .....	71
Anexo 4: Recolección de la materia prima cedrón .....	74
Anexo 5: Pesado de la muestra de cedrón.....	74
Anexo 6: Deshidratación de las hojas de cedrón .....	75
Anexo 7: Molido de las hojas de cedrón .....	75
Anexo 8: Muestras de cedrón molido .....	75
Anexo 9: Pesado de cedrón molido para preparación de corridas experimentales .....	76
Anexo 10: Corridas experimentales.....	76
Anexo 11: Lectura de datos para análisis estadísticos.....	76

## **1. INFORMACIÓN GENERAL**

### **Título**

OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN HIDROALCOHÓLICA DEL CEDRÓN (*Aloysia citrodorae Paláu*) EN FUNCIÓN DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.

### **Lugar de ejecución**

Barrio: Salache, Parroquia: Eloy Alfaro, Provincia: Cotopaxi, Cantón: Latacunga, zona 3.

En los laboratorios académicos de la carrera de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Técnica de Cotopaxi en el periodo mayo 2020 – mayo 2021.

### **Institución, Facultad Académica y Carrera que auspicia.**

Universidad Técnica de Cotopaxi, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales y Carrera de Ingeniería Agroindustrial.

### **Equipo de investigación**

#### **Tutor**

Químico Orlando Jaime Rojas Molina. Mg.

**Autores:** - Maldonado Toapanta Natali Manuela.

- Reinoso Unaicho Oscar Julio.

### **Área de conocimiento**

Ingeniería, Industria y Construcción.

### **Línea de investigación**

Desarrollo y seguridad alimentaria.

### **Sublínea de investigación**

Optimización de procesos tecnológicos agroindustriales.

## 2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

Las plantas han sido utilizadas desde tiempos remotos para tratar enfermedades, y que través de tradición oral y conocimiento empírico sus usos han sido transmitidos de generación en generación.

Alrededor de 50.000 y 70.000 plantas se utilizan en el mundo en sistemas de medicina, farmacéutica y alimentos. Ecuador es uno de los países más diversos del mundo que dispone de una importante diversidad genética de plantas, pero no cuenta con un registro exacto del número de éstas, pero hay estudios en zonas específicas que señalan que aproximadamente el 80% se encuentran descritas, y que son comúnmente utilizadas como agentes terapéuticos.

A partir de estudios fitoquímicos se constata que las plantas producen una gran diversidad de metabolitos secundarios, tales como los terpenoides, compuestos fenólicos, flavonoides, cumarinas, quinonas, glicósidos cardiotónicos, alcaloides, saponinas, los cuales son considerados recursos invaluable que son aprovechados en su totalidad en la industria alimentaria, debido a que estos proporcionan beneficios a la salud, prevención y tratamiento de enfermedades.

Cedrón posee utilidades medicinales comprobadas científicamente, y también conocimientos empíricos, por lo cual se debe determinar su verdadero potencial, reconociendo sus principales metabolitos secundarios, en un análisis fitoquímico de la planta en su totalidad

En la actualidad casi el 25 % de los aditivos alimentarios que se conocen contiene uno o más compuestos bioactivos derivados de alguna planta, en especial los polifenoles, cuya clase es más grande y abundante en el mundo vegetal, poseen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antivirales y que mediante la extracción sólido-líquido ha sido posible su aislamiento.

De esta manera, la presente investigación tiene como objetivo optimizar el proceso de extracción hidroalcohólica a partir del cedrón en función del mayor contenido de polifenoles totales y actividad antioxidante como un aporte práctico al conocimiento y estudios posteriores de la planta.



### **3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

#### **3.1. *Beneficiarios directos:***

Autores de la investigación y la carrera de Ingeniería en agroindustria, docentes y estudiantes.

#### **3.2. *Beneficiarios Indirectos:***

Productores y comerciantes de cedrón de la provincia de Cotopaxi y microempresas procesadoras de alimentos que puedan acceder y aprovechar de los beneficios del extracto de cedrón.

#### **4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN**

Los avances tecnológicos y la globalización han impactado considerablemente en la industria alimentaria generando alteraciones sobre la mortalidad, debido a las sustancias adicionadas intencionalmente como los aditivos, cuyo consumo excesivo provoca consecuencias adversas al consumidor.

El creciente interés de los consumidores en utilizar alimentos de alta calidad que permitan satisfacer sus necesidades nutricionales y que no representen un riesgo en su salud, ha generado nuevas oportunidades para el uso de conservantes derivados de plantas.

En Ecuador se comercializan varias plantas medicinales y aromáticas, a las cuales se les da diversos usos, pero aún no existen estudios científicos que cuantifiquen cuan valiosas son en cuanto a las alternativas alimentarias que se les puede dar, este es el caso del cedrón, cuyo procesamiento e industrialización es limitado, debido a que no se han logrado nuevas opciones de producción, que permita aprovechar sus componentes bioactivos en la industria alimentaria, existen aceites esenciales, té aromático y de forma casera se utilizan en infusiones.

En Cotopaxi la producción del cedrón no es conocida, y encontrar productos derivados es escaso, debido al desconocimiento de sus beneficios y al desinterés de la industria en la búsqueda de nuevas alternativas de producción.

Se considera oportuno efectuar el estudio del cedrón mediante el proceso de extracción hidroalcohólica para determinar los compuestos bioactivos y cuantificar los polifenoles totales y la actividad antioxidante, como un principal enfoque para la sustitución de aditivos sintéticos por naturales, cuya aplicación de este tipo de aditivos permitirá mantener los atributos sensoriales, extender los periodos de vida útil y salvaguardar la seguridad del consumidor, marcando así una pauta importante con respecto al reemplazo continuo de aditivos sintéticos por aditivos naturales.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1. *Objetivos General*

- Optimizar el proceso de extracción hidroalcohólica a partir del cedrón (*Aloysia citrodorae Paláu*) en función del contenido de polifenoles totales y actividad antioxidante.

### 5.2. *Objetivos Específicos*

- Determinar el perfil fitoquímico de la planta mediante métodos cualitativos.
- Optimizar la extracción de compuestos bioactivos de la planta de cedrón mediante disolventes hidroalcohólicos.
- Comprobar la optimización numérica del proceso de extracción hidroalcohólico de la droga cruda.
- Caracterizar el extracto hidroalcohólico optimizado de la droga cruda.

**6. ACTIVIDADES Y SISTEMAS DE TAREAS EN RELACIÓN CON LOS  
OBJETIVOS PLANTEADOS**

<b>OBJETIVO</b>	<b>ACTIVIDADES (TAREAS)</b>	<b>RESULTADO DE LA ACTIVIDAD</b>	<b>DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD (TÉCNICAS E INSTRUMENTOS)</b>
<b>OBJETIVO N° 1</b>			
Determinar el perfil fitoquímico de la planta mediante métodos cualitativos.	Recolección de la muestra. Selección, secado y molido de la muestra. Determinar compuestos fitoquímicos de la droga cruda.	Identificar cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en la droga cruda ( <i>Aloysia citrodorae Paláu</i> ).	Expresar los datos cualitativos de los componentes fitoquímicos de la droga cruda ( <i>Aloysia citrodorae Paláu</i> ).
<b>OBJETIVO N° 2</b>			
Optimizar la extracción de compuestos bioactivos de la planta de cedrón mediante disolventes hidroalcohólicos.	Preparar los reactivos folin cicloateu y FRAP. Elaborar de los extractos hidroalcohólicos. Determinar el contenido de polifenoles y actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos.	Encontrar la capacidad antioxidante y polifenoles totales del extracto hidroalcohólico del cedrón ( <i>Aloysia citrodorae Paláu</i> ).	Determinar los valores de las variables respuestas de la extracción hidroalcohólica mediante el espectrofotómetro.
<b>OBJETIVO N° 3</b>			
Comprobar la optimización numérica del proceso de extracción hidroalcohólico de la droga cruda.	Realizar los ensayos experimentales a las condiciones optimizadas.	Verificar la cantidad de polifenoles totales y antioxidantes del extracto hidroalcohólico optimizado del cedrón.	Verificar los valores experimentales del extracto hidroalcohólico optimizado, mediante el espectrofotómetro.
<b>OBJETIVO N° 4</b>			
Caracterizar el extracto hidroalcohólico optimizado de la droga cruda.	Determinar las propiedades físicas y químicas del extracto hidroalcohólico optimizado de la droga cruda.	Evidenciar las características fisicoquímicas del extracto optimizado de la droga cruda.	Registro e interpretación de resultados.

**Elaborado por:** Maldonado, N. & Reinoso, O.

## 7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA TÉCNICA

### 7.1. ANTECEDENTES

- De acuerdo con Bahramsoltani, R., Rostamiasrabadi, P., Shahpiri, Z., Marques, A., Rahimi, R., Farzaei, M., (2018) con el tema “*Aloysia citrodora Paláu* (Lemon verbena): A REVIEW OF PHYTOCHEMISTRY AND PHARMACOLOGY” realizada en *Pharmaceutical Sciences Research Center, Faculty of Pharmacy, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah*, menciona que: A pesar del escaso número de estudios sobre la etnofarmacología de la planta, *A. citrodora* es objeto de una amplia evaluación en lo que respecta a sus actividades fitoquímicas y biológicas. El neral y el geranio son los principales ingredientes del aceite esencial, mientras que el verbascoside es el componente más significativo del extracto. En los cultivos celulares, así como en los estudios realizados en animales, se han demostrado actividades biológicas como los efectos antioxidantes, ansiolíticos, neuroprotectores, anticancerígenos, anestésicos, antimicrobianos y sedantes.
- De acuerdo con Ramírez, J., Jaiméz, J., Añorve, J., Salazar, V., Castañeda, O., González, G. & Contreras, E., (2016) con el tema “DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTOS ACUOSOS DE CEDRÓN (*Aloysia triphylla*)” realizada en la *Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*, menciona que: El tiempo y la temperatura son factores que influyen de manera importante en la extracción de los compuestos responsables de la actividad antioxidante en el cedrón, como es el caso de los polifenoles y terpenos. A 60°C y 10 min de extracción se observó la mayor actividad antioxidante por lo que la temperatura y el tiempo son factores que determinan la extracción de los compuestos responsables de la actividad antioxidante.
- De acuerdo con Sepúlveda, C., Ciro, G. & Zapata, J., (2016) con el tema “OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE FLAVONOIDES DE FLOR DE MANZANILLA (*Matricaria recutita L.*)” realizada en la *Universidad de Antioquia*, menciona que: la cantidad de fenoles totales extraídos de hojas de *B. orellana* dependen de la relación solvente/material vegetal y del tiempo de extracción; asimismo, se encontró que el pH tiene efecto sobre la actividad antioxidante determinada por la reacción con el radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico) y la medida de la capacidad reductora sobre el Fe<sup>+3</sup>.
- De acuerdo con Chamba, Elizabeth., (2016) con el tema “ESTABLECIMIENTO DE UN PROCESO DE OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE FLAVONOIDES PRESENTES

EN ORÉGANO, *ORIGANUM VULGARE*” realizada en *Universidad central del Ecuador*, menciona que: los factores de mayor influencia en el proceso de extracción son la velocidad angular y la relación masa de sólido/volumen de solvente, la temperatura no presenta interferencia al analizar las interacciones entre los tres factores ya que tiene un valor-p de 0,3292, que es mayor a 0,05; es decir, la concentración no se verá afectada por la temperatura.

- De acuerdo con García, Evelyn. (2019), con el tema “EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE CURCUMA LONGA L. (*cúrcuma*) DE TRES REGIONES DEL ECUADOR Y SU POSIBLE USO COMO ANTIOXIDANTE.” Realizada en la *Universidad Central del Ecuador*, menciona que: El rendimiento cuantitativo y cualitativo de los compuestos fenólicos en la extracción depende en gran medida de la polaridad del solvente utilizado. Se ha reportado el uso de etanol, metanol, acetona y sus mezclas con agua en diferentes proporciones como solventes de extracción, pero no existe un método y solvente definido, pues ello dependerá de la composición química de los compuestos a extraer, de la cantidad y posición de sus grupos hidroxilo, del tamaño molecular, así como de factores como la concentración del solvente, temperatura, tiempo de contacto, tamaño de partícula y relación masa-solvente, entre otros.
- De acuerdo con Linares, C., Quiñones, J., Pérez, A., Carvajal, C., Rivas, M., Cid, G., Pérez, L., González, S., Capdesuñer, Y., (2018) con el tema “OBTENCIÓN DE EXTRACTOS FENÓLICOS FOLIARES DE MORINGA (*oleífera lam*) MEDIANTE EL USO DE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRACCIÓN”. Realizado en el *Instituto de Biotecnología de las Plantas. UCLV. MES*, menciona que: Mediante el método de extracción con agitación magnética por 3 h, se obtienen extractos foliares etanólicos crudos de *M. oleifera* con altos rendimientos de extracción y concentración de compuestos fenólicos de variada naturaleza de 24.86 mg g<sup>-1</sup> de masa seca.
- De acuerdo con Fernández, Juan. (2019) con el tema “OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN HIDROALCOHÓLICA Y CARACTERIZACIÓN PRELIMINAR DE UN EXTRACTO DE VALERIANA (*Valeriana pilosa R&P*)”. Realizado en la *Universidad Científica del Sur*, menciona que: Determinó tres variables importantes que interactúan en la extracción hidroalcohólica: el tiempo, la temperatura y el tipo de solvente a utilizar del cual por medio del análisis estadístico chi-cuadrado y post-hoc se logró determinar el tratamiento óptimo para obtener el mayor porcentaje de sólidos totales (% ST). La combinación de una

solución hidroalcohólica al 70 % calentado a 60° C por 30 minutos (H70: 60° C:30') resultó en 1.336 % ST siendo el tratamiento que retuvo más sólidos.

## 7.2. MARCO TEÓRICO

### 7.2.1. Cedrón.

#### 7.2.1.1. Origen y distribución.

El Cedrón es un arbusto autóctono de América del Sur, pero cabe mencionar que su distribución geográfica es amplia hasta el norte de África y el sur de Europa, esto se debe a la agradable fragancia de limón y a su aplicación en las industrias alimentaria y cosmética, así como a su uso como remedio casero para varios problemas de salud, la planta está disponible actualmente también en otras partes del mundo (Carnat et al., 1999)

La planta es un arbusto perenne de hasta 3 m de altura, con ramas estriadas y escabrosas y hojas lanceoladas de 7-10 cm de margen con peciolo cortos. Las diminutas flores son de color blanco o azul claro y aparecen en un cáliz vellososo con cuatro puntas en las espigas en forma de panícula. Los pétalos forman un embudo de 4-5 mm en la base que cubre 2 estambres largos y 2 cortos (PDR, 2007).

En la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética, la esencia se emplea con frecuencia como corrector de sabor y olor.

**Figura 1:** *Aloysia citrodora* Paláu



**Fuente:** (Duhamel, 1809)

### 7.2.1.2. Etimología y taxonomía

- *Aloysia*: nombre genérico que fue otorgado en honor de María Luisa de Parma, 1751-1819, esposa del rey Carlos IV de España.
- *citrodora*; epíteto latino que significa "con aroma a limón"

*A. citrodora* pertenece a la familia de las Verbenáceas y tiene varios otros sinónimos para el nombre científico, entre ellos *A. triphylla* (L'Hér.) Britton, *A. citridora* Paláu, *A. citriodora* Paláu, *Lippia citriodora* Kunth, *L. citrodora* Kunth y *L. triphylla* (L'Hér.) Kuntze. (Troncoso, 1974 a; Troncoso, 1979 b; Toursakissian, 1980)

**Tabla 1:** Clasificación taxonómica del Cedrón.

Taxonomía	
<b>Reino:</b>	Plantae
<b>División:</b>	Magnoliophyta
<b>Clase:</b>	Magnoliopsida
<b>Subclase:</b>	Asteridae
<b>Orden:</b>	Lamiales
<b>Familia:</b>	Verbenaceae
<b>Género:</b>	<i>Aloysia</i>
<b>Especie:</b>	<i>Aloysia citrodora</i>

**Fuente:** [http://es.wikipedia.org/wiki/Aloysia\\_triphylla](http://es.wikipedia.org/wiki/Aloysia_triphylla) (1)

### 7.2.1.3. Composición química del Cedrón

Existen muchos estudios acerca de la composición química del cedrón (*Aloysia citrodora* Paláu) y mediante extractos metanólicos, etanólicos y acuosos, se han identificado varios flavonoides. Además, el aceite esencial está compuesto en su mayor parte por monoterpenos y monoterpenos, sesquiterpenos y sesquiterpenos, así como por algunos alcoholes grasos. (Bahramsoltani et al., 2018)

*Aloysia citrodora* Paláu, contiene principalmente flavonas hidroxiladas en el carbono 6 como el principal constituyente, además de éteres metílicos. El aceite esencial está compuesto principalmente por citral, (-)-limoneno, metilheptona, (-)-carvona, linalol, geraniol, pineno y glicósidos de iridoides. Algunas especies han demostrado ser antipalúdicos, antivirales y citostáticos. (Thormar, H. 2011)



La planta se utiliza ampliamente con fines medicinales y aromáticos en América del Sur. Según los datos de la literatura, los informes sobre el uso tradicional de esta especie se remontan al siglo XVII, lo que demuestra su importancia etnofarmacológica como planta medicinal utilizada por la cultura incaica (Elechosa et al., 2017).

#### **7.2.1.4. Condiciones de Desarrollo**

##### **a) Suelo**

Prospera bien en buenos suelos, de consistencia media, sueltos, permeables, profundos, pH entre 6,5 y 7,2, más bien frescos, pero no húmedos, pues el exceso de agua favorece la podredumbre de raíces. La exposición al norte es más conveniente. (Herbotécnia, 2017)

##### **b) Clima**

Templado-cálido a templado. Con frío riguroso suele perder las hojas. Le favorece una buena iluminación, que tiene influencia en la síntesis y acumulación de aceite esencial y en su porcentaje. El sombreado es causa de hojas más grandes y pobres en principios activos. El viento excesivo es un factor climático desfavorable, su acción incrementa el coeficiente de evaporación de aceites esenciales y baja la producción por unidad de superficie. (MHT, 2010)

##### **c) Propagación**

Se puede propagar por división de matas, acodos, o estacas. La multiplicación por semillas no se realiza debido a su escaso o nulo poder germinativo. En cultivo se realiza por el método de estacas, trozos de ramas del año anterior o del mismo año, de unos 10 a 15 cm. de largo, con 2 ó 3 nudos.

El transplante de estacas enraizadas puede hacerse al comienzo de primavera. Previamente el terreno habrá sido preparado con las aradas y rastreadas correspondientes a sus características fisicoquímicas, complementadas en caso necesario, con la adición de abonos.

#### **7.2.1.5. Principios activos**

Las plantas son fuente de innumerables recursos útiles para el desarrollo de la ciencia, los más importantes son los conocidos principios activos o metabolitos secundarios, que son sustancias que no participan de forma directa en el crecimiento o desarrollo, sino que simplemente aportan al

individuo que las produce ventajas para responder a estímulos del entorno. (DerMerderosian y Beutler, 2002; Dias, Urban, & Roessner, 2012).

Es decir, algunos metabolitos secundarios sólo están presentes en determinadas especies y cumplen una función ecológica específica. (Colegate y Molyneux, 2007).

Los metabolitos secundarios son Terpenoides, Esteroles, Compuestos fenólicos- Flavonoides, Cumarinas, Quinonas, Lignanos, Glicósidos cianógenicos, Glicósidos cardiotónicos, Iridoides, Alcaloides, Saponinas. Sesquiterpenlactonas, principalmente (Valencia-Ortiz, 2008).

La mayoría son utilizados para aliviar dolencias (antipiréticos, analgésicos, antiespasmódicos, báquicos) o curar enfermedades (fitofármacos), para fortalecer las defensas del cuerpo (antiperiódicos, tónicos), para controlar la fisiología (laxantes, vasoconstrictores, colagogos, diuréticos) y hasta las emociones de quienes los consuman (depresores, euforizantes, afrodisíacos, estupefacientes). (Chifa y Ricciardi, 2001; Pascual et al., 2001; Santos-Gomes et al., 2005)

### **7.2.2. Extractos vegetales**

#### **7.2.2.1.Generalidades**

Un extracto vegetal es una mezcla compleja de principios activos. Puede ser líquido, semisólido o en polvo y se puede obtener por procesos físicos, químicos y/o microbiológicos, a partir de una fuente vegetal y utilizable en cualquier campo de la tecnología (UDELER, 2001).

Según (Cubides y González, 2002), al igual que (Villacrés et al, 1995) coinciden que, previa la obtención de un extracto, se debe realizar una identificación taxonómica, con el objeto de no perder tiempo y dinero en extractos de material equivocado. Se recomienda, además realizar una marcha o tamizaje fitoquímico, con el fin de determinar cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en la planta.

#### **7.2.2.2.Clasificación de los extractos**

##### **a) Extractos líquidos o fluidos**

Son preparaciones líquidas de los principios activos contenidos en las drogas ve-getales utilizando etanol principalmente como disolvente, de modo que cada mililitro del extracto contenga los principios activos de 1 gramo de la planta. (Alvarez, 2017)

### b) Extractos sólidos

Son extractos en forma sólida obtenidos por evaporación del solvente, se obtienen mediante una concentración mayor del extracto, utilizando los mecanismos como la evaporación de capa fina.

Un extracto sólido también puede diluirse con alcohol y agua para formar un extracto fluido. (Alvarez, 2017)

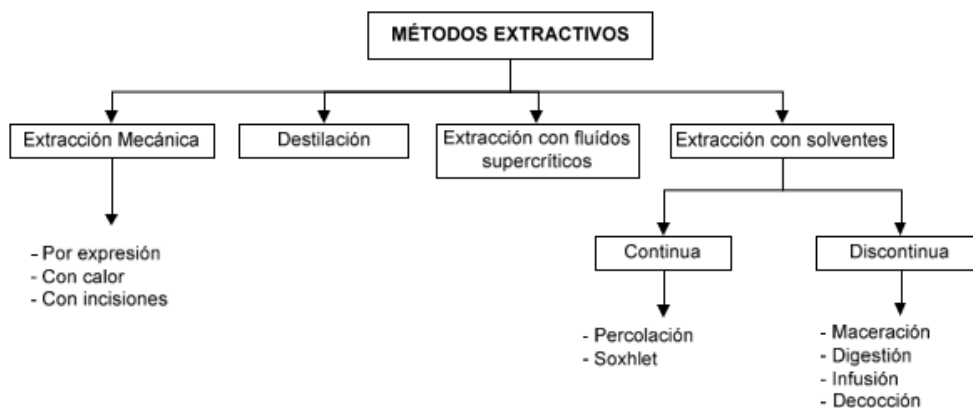
### c) Extractos pulverizados o polvo seco

Se obtienen a partir de los extractos fluidos por procesos de secado por aspersión. Este proceso permite eliminar totalmente el agua del extracto sin modificar sus propiedades. (Alvarez, 2017)

### 7.2.3. Métodos extractivos

En el esquema de la ilustración 1 se muestra la clasificación de los métodos extractivos conocidos, de los cuales, la percolación y la son los más utilizados en la industria química y farmacéutica (UDELER, 2001).

**Figura 2:** Clasificación de los métodos de obtención de extractos vegetales



**Fuente:** Kuklinski (2003)

#### 7.2.3.1. Extracción Mecánica

Esta técnica que permite obtener los principios activos disueltos en los fluidos propios de la planta, los cuales una vez extraídos se denominan jugo. La extracción mecánica se puede realizar: por expresión, la cual consiste en ejercer una presión sobre el material vegetal exprimiéndolo; por calor y mediante incisiones por las que fluyen los exudados de la planta (Kuklinski, 2003).

### 7.2.3.2. Destilación

Es una técnica que se basa en la diferente volatilidad de los principios activos de la planta, lo cual permite la separación de los componentes volátiles, como son los aceites esenciales, por ejemplo, de otros que son menos o nada volátiles (González, 2004).

### 7.2.3.3. Extracción con fluidos supercríticos

El proceso consiste en colocar el material vegetal molido en una cámara de acero inoxidable y hacer circular, a través de la muestra, un fluido en estado supercrítico. Los principios activos son así solubilizados y arrastrados por el mismo, que luego es separado modificando la presión o la temperatura. Finalmente, se obtiene un extracto y un solvente que puede ser reciclado (Sánchez, 2006).

### 7.2.3.4. Extracción con solventes

Consiste en la separación de los principios activos de la planta al ponerla en contacto con un solvente o la mezcla de ellos, capaz de solubilizar dichos principios. Estos deben pasar de la planta al disolvente de manera que se obtenga un extracto líquido y un residuo.

La extracción con solventes es una de las técnicas que se emplea con más frecuencia para la obtención de principios activos. Para que se lleve a cabo correctamente se deben considerar los siguientes factores: las características del material vegetal (secado y tamaño de partícula), la naturaleza del solvente, la temperatura, la agitación, la relación sólido:líquido, el tiempo de extracción y el control de la difusión celular (renovación del solvente) (Pérez, 2009).

Según Vélez (2015), para que la extracción con solventes se lleve a cabo correctamente hay que tener en cuenta diversos factores:

- **Características de la droga:** Se debe de trabajar con drogas desecadas y con un grado de división adecuado (mayor en drogas duras como las cortezas y menor en drogas blandas como flores y hojas) para facilitar el máximo contacto entre los principios activos y el disolvente.
- **Naturaleza del solvente:** Principalmente se utilizan en las extracciones el agua y las mezclas hidroalcohólicas (agua y alcohol etílico) en proporción variable. También es posible utilizar otros solventes orgánicos como acetona, éter etílico, hexano, propilenglicol (muy

usado en cosmética), entre otros. El agua es un buen solvente de muchos principios activos de las drogas, pero por esta misma razón, resulta generalmente poco selectivo. Además, muchos principios activos se hidrolizan en agua. Por otra parte, los extractos acuosos tienen una estabilidad poco duradera una vez preparados y deben de ser obtenidos para su utilización en un periodo de tiempo relativamente corto. La utilización de mezclas variables de agua y alcohol permite seleccionar las sustancias sin interés farmacológico, así como separar los principios activos entre sí.

- **Temperatura:** El aumento de la temperatura favorece la extracción de principios activos de las drogas porque aumenta su solubilidad en los solventes utilizados, pero a su vez, puede favorecer la degradación de dichos compuestos, por lo que es necesario controlarla para obtener una máxima extracción sin consecuencias indeseables. En ningún caso se pueden utilizar temperaturas elevadas para extraer principios activos termolábiles.
- **Tiempo de contacto entre la droga y el disolvente:** Depende de las características de la droga (dureza, grado de división) y de la naturaleza de los principios activos (volátiles, hidrolizables, oxidables, entre otros)
- **Control de la difusión celular:** Una correcta difusión se consigue cuando la droga ofrece un grado de difusión adecuado (mayor superficie de difusión) y cuando se renueva constantemente el solvente utilizado en las extracciones. Al renovar el solvente se mantiene una diferencia de concentración de principios activos entre la droga y el solvente utilizado en la extracción.

Los métodos de extracción con solventes dividirse en dos grupos: las extracciones continuas y las extracciones discontinuas.

#### a) **Extracción continua o progresiva**

En la extracción continua, el solvente se va renovando o recirculando y actúa sobre la planta en una sola dirección. Son métodos que consisten en mantener en todo momento el desequilibrio entre la concentración de principio activo en la planta y en el solvente para que se produzca la difusión celular. Mediante estos procedimientos se puede llegar a la extracción prácticamente completa de los principios activos de las plantas (Sharapin et al., 2000).

La percolación, la repercolación y el soxhlet, son los métodos que pertenecen a este grupo y se describen a continuación.

- **Percolación o Lixiviación**

La percolación comprende una etapa preliminar de humedecimiento, seguida por la extracción exhaustiva de los principios activos de la planta, que consiste en colocar el material vegetal en una columna, con un flujo permanente de solvente, que ingresa por la parte superior y atraviesa la zona donde se encuentra la planta y se mantiene un gradiente de concentración que permite extraer sus principios activos.

La calidad del extracto, obtenido por percolación, depende del grado de finura del material vegetal, de la velocidad de difusión de las sustancias activas desde la planta al disolvente y de la velocidad de flujo del disolvente, que puede ser lenta (1 mL/min), moderada (1-3 mL/min) o rápida (3-5 mL/min) (Pérez, 2009).

- **Repercolación**

La percolación simple presenta, como desventaja, el alto consumo de solvente. Por esta razón, en condiciones industriales, es preferible usar la repercolación que consiste en hacer recircular el mismo solvente a través del material vegetal. Este procedimiento aumenta la eficiencia del proceso.

- **Soxhlet**

Se realiza en un aparato Soxhlet, que consta de un refrigerante, un cuerpo extractor y un balón. En el balón se lleva a ebullición el solvente, sus vapores ascienden hasta el refrigerante, donde condensan. El condensado cae sobre la muestra, generalmente contenida en un cartucho y colocada previamente en el cuerpo extractor, y la macera hasta cuando el cuerpo extractor se llena y el extracto sifonea por el tubo lateral, para desembocar en el balón evaporador. Esta operación se repite sucesivamente, con lo que el solvente se va reciclando y los principios activos se van concentrando en el balón inferior (Kuklinski, 2003).

- b) Extracción discontinua o simultánea**

En la extracción discontinua, la totalidad del material vegetal se sumerge en el solvente y contacta con este, por lo que la difusión de los principios activos se producirá en todas las direcciones hasta

alcanzar el equilibrio entre la concentración del solvente y del residuo. La maceración, la digestión, la infusión y la decocción son los métodos que pertenecen a este grupo y se describen a continuación.

#### • **Maceración**

La maceración simple o estática consiste en poner el material crudo, con el grado de finura prescrito, en contacto con el solvente, en recipientes o equipos cerrados, protegidos de la luz solar, a temperatura ambiente y por un tiempo que puede variar entre horas o varios días en maceración. Se realizan agitaciones ocasionales. La principal desventaja es la lentitud del proceso (Pérez, 2009; UDELER, 2001)

Posteriormente, el extracto es filtrado y la torta lavada con el mismo solvente para luego ser prensada o centrifugada, con el objeto de recuperar la parte del extracto retenido en la misma

Los solventes más utilizados en la maceración son: agua, glicerina o mezclas hidroalcohólicas (Kuklinski, 2003).

Para disminuir el tiempo de operación, el material vegetal y el solvente deben mantenerse en movimiento constante. Este procedimiento es conocido como maceración dinámica.

Los equipos para la maceración estática ya no se usan a escala industrial y han sido sustituidos por los equipos con agitación, la misma que se realiza con un agitador interno o por el giro completo del recipiente.

La maceración depende de factores relacionados con el material vegetal, como, por ejemplo, su naturaleza y la de sus principios activos, el tamaño de partícula, su contenido de humedad y cantidad, y factores que están relacionados con el solvente, como, por ejemplo, la selectividad y la cantidad (Sharapin et al., 2000).

Una desventaja del proceso de maceración corresponde al hecho de que no es posible alcanzar la extracción completa del material crudo. Para mejorar el rendimiento de extracción es habitual realizar otra maceración con la torta de filtración (Kuklinski, 2003).

La maceración es bastante utilizada para las preparaciones en pequeña escala y está recomendada por diferentes farmacopeas para la preparación de tinturas homeopáticas, que son preparaciones

líquidas obtenidas de la acción extractiva de un solvente hidroalcohólico sobre una planta medicinal (UDELAR, 2001).

#### • **Digestión**

Es una forma de maceración, pero en esta se trabaja a temperaturas más elevadas, lo que aumenta el poder disolvente. Si el solvente empieza a volatilizarse, se adapta un condensador al balón donde se efectúa la digestión para que el solvente pueda usarse continuamente (González, 2004).

#### • **Infusión**

Este método se aplica a las partes blandas de la planta (hojas, flores). Consiste en sumergir el material vegetal molido en agua a una temperatura próxima a la de ebullición o menor, durante 1 ó 2 minutos, hasta un tiempo máximo de 30 minutos después de lo cual se filtra. El extracto debe emplearse en un lapso no mayor a un día (Cubides y González, 2002).

#### • **Decocción**

El material vegetal se pone en contacto con agua, y el conjunto se lleva a ebullición, la misma que se mantiene durante 5 a 30 minutos, hasta un máximo de 30 minutos. Generalmente, se aplica este método a partes leñosas de la planta y el tiempo de decocción depende de las características de dichas partes (Endara et al., 2008). Actualmente, un extracto se caracteriza por su contenido de principios activos, contenido alcohólico y determinación del residuo seco (Sharapin et al., 2000).

### **7.2.4. Tamizaje fitoquímico**

#### **7.2.4.1. Generalidades**

El tamizaje fitoquímico tiene como objetivo general la determinación cualitativa de los principales grupos químicos presentes en el material vegetal y que, por lo general, son los grupos responsables de la actividad farmacológica. Estos ensayos son simples y pueden utilizarse de forma general para la caracterización de extractos obtenidos de material vegetal pero no son ensayos cuantitativos, por lo tanto, no indican por sí solos la calidad del material vegetal. (Alvarado, 2005)

#### **7.2.4.2. Metabolitos Secundarios**

Son conocidos por tener actividad farmacológica y, además, son la base para la quimiotaxonomía de las plantas.



Los metabolitos secundarios pueden ser clasificados en diferentes clases químicas, tales como: aminoácidos no protéicos, flavonoides, xantonas, cumarinas, poliacetilenos, policétidos cíclicos, monoterpenos, sesquiterpenos, iridoides, triterpenos, esteroides, terpenos que contienen nitrógeno y alcaloides. (Alonso, 2003)

#### **7.2.4.3.Flavonoides**

Son los pigmentos virtualmente universales en las plantas. Casi siempre solubles en agua y son responsables por el color de flores, frutos y algunas veces las hojas. Pueden ser clasificados de acuerdo con el estado de oxidación del anillo de pirano central en, al menos, 12 grupos, como flavonas, flavonoles, flava-nonas, dihidroflavonoles, flavan-3-oles, flavan-3-dioles, chalconas, auronas y antocianidinas. (Alvarado, 2005)

#### **7.2.4.4.Saponinas**

Los glucósidos saponínicos, también llamados saponinas o sapogeninas, son derivados terpénicos que agitados en el agua producen espuma semejante al jabón, así reducen la tensión superficial del agua. Son unos excelentes emulsivos. Se encuentran frecuentemente en las plantas medicinales.

Algunas plantas con alto contenido de glucósidos saponínicos son: hoja de acacia, hoja de abedul, castaño de indias, ginseng, flor de gordolobo, regalíz, hiedra, primavera, raíz de saponaria o jabonera, violeta y zarzaparrilla. (Alvarado, 2005)

#### **7.2.4.5.Alcaloides**

Son bases orgánicas nitrogenadas, generalmente con un anillo heterocíclico de algún tipo y derivan biogénicamente de aminoácidos. Presentan estructuras muy diversas por lo que no constituyen un grupo homogéneo en términos de su estructura, propiedades y fuentes de obtención. Al utilizarse con propósitos taxonómicos debe considerarse su biogénesis o biosíntesis en las plantas.

#### **7.2.4.6.Taninos**

Son compuestos fenólicos con un peso molecular comprendido entre 500 y 3000 D. Sus principales características son su capacidad antioxidante debido al elevado número de grupos hidroxilo y la capacidad de unirse a proteínas. Por su capacidad astringente las plantas con taninos se utilizan frecuentemente como antidiarreicos y en el tratamiento de heridas y quemaduras, favoreciendo la cicatrización de las mismas. (Montiel M. , 1978)

## **7.2.5. Polifenoles**

### **7.2.5.1.Generalidades**

Los polifenoles son un grupo de sustancias químicas encontradas en plantas caracterizadas por la presencia de más de un grupo fenol por molécula. Los polifenoles son generalmente subdivididos en taninos hidrolizables, que son ésteres de ácido gálico de glucosa y otros azúcares; y fenilpropanoides, como la lignina, flavonoides y taninos condensados (Taiz y Zeiger, 2006).

Los polifenoles son sustancias que se encuentran en las plantas y determinados alimentos como las uvas para dar olor y sabor. Hay dos grupos importantes, los flavonoides y las isoflavonas que aportan muchos beneficios para actuar, especialmente, contra los radicales libres, siendo perfectos antioxidantes naturales.

### **7.2.5.2.Propiedades y aplicaciones de los polifenoles**

Los polifenoles juegan una variedad de roles en la fisiología de las plantas, interviniendo en su morfología (antocianinas dan color y la lignina fortalece tejidos de soporte y conducción), crecimiento (ácidos fenólicos), reproducción (antocianinas atraen polinizadores y dispersadores de semillas) y en la protección contra el ataque de plagas (psoralenos, rotenoídes), virus, bacterias y hongos patógenos (lignina, isoflavonoides, taninos, ácidos fenólicos), herbívoros (taninos) y otros factores de estrés tales como la radiación UV, la misma que es absorbida por los flavonoles y las flavonas en particular, que actúan como una pantalla dentro de la cutícula de la planta (Stalikas, 2007; Machenix et al., 2000)

Los polifenoles presentan varias aplicaciones industriales, como la producción de pinturas, papel, cosméticos, como agentes curtientes de pieles, fármacos y como alelopáticos. La alelopatía, actualmente, es de gran interés debido a sus potenciales aplicaciones agrícolas (Taiz y Zeiger, 2006).

Los polifenoles son parcialmente responsables de la calidad sensorial (contribuyen al sabor, aroma y color) y nutricional de los alimentos que los contienen; es por ello que se usan en la industria alimentaria como colorantes naturales y preservantes. (Bravo, 1998)

En general, una dieta basada en alimentos y bebidas ricos en polifenoles está relacionada con varios efectos benéficos en la salud humana, tales como la reducción del riesgo de desarrollar

enfermedades cardiovasculares (taninos del vino), cáncer, hipertensión, diabetes, alergias, úlceras, diarreas y procesos inflamatorios (fenilpropanoides). (Machenix et al., 2000)

### **7.2.5.3.Método de cuantificación de polifenoles**

El contenido de polifenoles solubles totales se determina por el método Folin & Ciocalteu, cuyo reactivo con el mismo nombre consiste en una mezcla de ácidos fosfomolibdico y fosfotungstico que son reducidos a productos azules por los compuestos fenólicos (Georgé et al., 2005).

Esta reacción es llevada a cabo bajo condiciones alcalinas ( $\text{pH} \approx 10$ ) usando carbonato de sodio y es monitoreada por la coloración azul a 760 nm, la cual es proporcional a la concentración de compuestos fenólicos expresada como equivalentes de ácido gálico (GAE).

Aunque este método es muy popular, conveniente, simple y reproducible, presenta la desventaja de que el reactivo no es específico y puede ser reducido por otros compuestos no fenólicos.

## **7.2.6. Actividad antioxidante**

### **7.2.6.1.Generalidades**

Según Calderón (2007), un antioxidante se define como toda sustancia que hallándose presente a bajas concentraciones respecto a las de un sustrato oxidable (biomoléculas), inhibe, retarda o previene la oxidación de dicho sustrato.

Un radical libre es una molécula altamente reactiva, que en su estructura atómica presenta un electrón no pareado. Bioquímicamente los radicales libres podrían ser responsables de alteraciones de ácidos nucleicos y de mutaciones, del inicio y desarrollo de procesos cancerígenos, así como de degradaciones celulares. (Bruneton, 2001)

La importancia de los antioxidantes radica en las propiedades benéficas que poseen en diferentes campos. En la ciencia de alimentos juegan un rol preventivo en procesos de oxidación lipídica (rancidez) (Huang et al., 2005; Pokorny et al., 2005).

### **7.2.6.2.Capacidad antioxidante de los polifenoles**

El creciente interés en los polifenoles se debe principalmente al descubrimiento de sus propiedades antioxidantes y antimutagénicas y con ello su posible rol en la prevención de varias enfermedades crónicas relacionadas con el estrés oxidativo. (Bravo, 1998)

Se ha observado una correlación negativa entre el consumo de alimentos ricos en antioxidantes polifenólicos (frutas y verduras) y el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares. Esta correlación se explica, en parte, sobre la base de que los polifenoles son potentes inhibidores de la oxidación en las lipoproteínas de baja densidad (LDL) inducida por las especies reactivas de oxígeno (EROs). (Pokorny et al., 2005)

La eficiencia de los polifenoles como antioxidantes depende en gran parte de su afinidad por los radicales y por tanto de su estructura química (Bruneton, 2001). Así, el fenol por sí mismo es inactivo como antioxidante, pero orto- y para- difenoles presentan capacidad antioxidante, la cual incrementa con la sustitución de átomos de hidrógeno por grupos etil- o n-butil (Bravo, 1998).

### **7.2.6.3. Métodos de determinación de la capacidad antioxidante**

En años recientes se han desarrollado varios métodos para evaluar la actividad antioxidante total (AAT) de fluidos corporales, extractos de frutas y plantas y compuestos puros. Cada método involucra la generación de radicales, actuando a través de diversos mecanismos y cuya concentración es monitoreada en un tiempo determinado o sobre un rango, mientras los antioxidantes presentes los capturan (Calderón, 2007).

#### **a) Método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)**

Este método consiste en medir la capacidad de la muestra para reducir el hierro férrico a ferroso. A un pH bajo se coloca en el medio de reacción el complejo  $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ, este complejo en presencia de agentes reductores se reduce a  $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ que desarrolla un color azul intenso con un máximo de absorción a 593 nm.

El reactivo FRAP está compuesto por 0,0078 g de TPTZ [2,4,6-tri (2-piridil)-1,3,5-triazina], al cual se le añade una gota de HCl (1:1), más 2,5 mL de HCl 40 mM y se disuelve totalmente. Luego se adicionarán 25 mL de buffer acetato (pH= 3,6) y 2,5 mL de una disolución 20 mM de  $\text{FeCl}_3$ , dejándose incubar 37 °C durante 15 min.

Para la determinación se tomaron 50  $\mu\text{L}$  del extracto de la muestra y se añadieron en un tubo de ensayo de 10 mL de capacidad. Posteriormente, se adicionaron 1,5 mL del reactivo FRAP. Se atemperó a 37 °C durante 30 minutos y se leyó la absorbancia a 593 nm.

## **b) Otros Métodos**

Además del método nombrado anteriormente, existen otros métodos de determinación de la capacidad antioxidante y se nombran a continuación:

- Método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) (Pokorny et al., 2005)
- Método del radical DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) (Mermelstein, 2008)
- Método TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter) (Mermelstein, 2008)

### **7.2.7. Caracterización físico química del extracto**

En el estudio físico-químico, las variables estudiadas son: pH, sólidos, viscosidad, densidad y propiedades organolépticas, ya que estas son las que más afectan la absorción de los compuestos a nivel de las membranas celulares. (Martínez et al., 2006)

#### **7.2.7.1.pH**

Es una medida de acidez o alcalinidad que indica la cantidad de iones de hidrógeno presentes en una solución o sustancia.

#### **7.2.7.2.Sólidos Totales**

Se definen como la materia que permanece como residuo después de la evaporación y secado a 103 - 105 °C. El valor de los sólidos totales incluye materias disueltas (sólidos disueltos totales: porción que pasa a través del filtro) y no disuelto (sólidos suspendidos totales: porción de sólidos totales retenidos por un filtro). (Carpio, 2007)

#### **7.2.7.3.Viscosidad**

Es una propiedad importante de los líquidos que describe la resistencia del líquido al flujo y está relacionada con la fricción interna en el líquido. (Malvern Panalytical, 2021)

#### **7.2.7.4.Densidad**

Permite medir la cantidad de masa que hay en determinado volumen de una sustancia. De lo cual, se puede deducir que la densidad es inversamente proporcional al volumen: mientras menor sea el volumen ocupado por determinada masa, mayor será la densidad. (TP. Laboratorio Químico, 2017)

### 7.2.7.5. Propiedades organolépticas.

Dentro de los procesos directos de identificación de la materia prima están las características organolépticas, aquellas que pueden ser definidas por los sentidos. Es de importancia el registro de éstas en los tejidos botánicos, así como la presencia o ausencia de olor. La monografía individual puede incluir información botánica sobre posibles especies adulterantes para ayudar a garantizar su ausencia en el material crudo. (Alonso, 2003)

### 7.3. GLOSARIO

**Actividad antioxidante:** Biomoléculas que inhibe, retarda o previene la oxidación de dicho sustrato.

**Cuantificar:** Hace referencia justamente a la idea de cantidad, algo que puede ser contado, medido o medido en términos numéricos y que por tanto puede conocerse de manera exacta y no aproximada o estimativa.

**Ensayo:** Un ensayo o análisis químicos es un procedimiento para medir la concentración o cualquier otra propiedad química de una sustancia o material.

**Extracción:** Operación de Separación de una mezcla de sustancias por disolución de cada componente, sirviéndose de uno o varios disolventes, donde siempre se obtienen por lo menos dos componentes.

**Filtración:** Proceso unitario de separación de sólidos en una suspensión a través de un medio mecánico poroso, también llamados tamiz, criba, cedazo o filtro.

**Flavonoides:** son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la contaminación ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc.

**Maceración:** Es un proceso de extracción sólido-líquido. El producto sólido (materia prima) posee una serie de compuestos solubles en el líquido extractante que son los que se pretende extraer.

**Mezclas hidroalcohólicas:** Principalmente se utilizan el agua y alcohol etílico en proporción variable.

**Metabolito:** Sustancia originada por la transformación metabólica de los alimentos en el interior de las células o de los seres vivos.

**Método:** es un modo, manera o forma de realizar algo de forma sistemática, organizada y/o estructurada. Hace referencia a una técnica o conjunto de tareas para desarrollar una tarea.

**Reactivo:** es una sustancia o compuesto añadido a un sistema para provocar una reacción química, o añadido a probar si se produce una reacción

**Reactivo folin:** Es una solución de color amarillo claro, que está compuesta por 2 % de tungstenato dihidratado de sodio, 12,2 % de sulfato de litio, 9,5 % de ácido clorhídrico (85 %), 6,9 % de ácido fosfórico, 2 % de molibdato dihidratado de sodio y 61,2 % de agua.

**Optimizar:** Es el conjunto específico de parámetros sin violar alguna restricción. Los objetivos comunes son minimizar el costo y maximizar el rendimiento y/o la eficiencia.

**pH:** Valor que representa convencionalmente la concentración de iones hidrógeno de una disolución acuosa.

**Polifenoles:** Son un grupo de sustancias químicas encontradas en plantas caracterizadas por la presencia de más de un grupo fenol por molécula.

**Secado:** Es un método de conservación de alimentos, consistente en extraer el agua de estos, lo que inhibe la proliferación de microorganismos y dificulta la putrefacción.

**Solvente:** Es la sustancia que forma parte en mayor cantidad de una solución.

## 8. VALIDACIÓN DE LA PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS

### 8.1. *Hipótesis nula*

La concentración del disolvente, tiempo de extracción y temperatura de extracción no inciden significativamente en la optimización del proceso de extracción hidroalcohólica de la *Aloysia citrodorae paláu*.

### 8.2. *Hipótesis alternativa*

La concentración del solvente, tiempo de extracción y temperatura de extracción inciden significativamente en la optimización del proceso de extracción hidroalcohólica de la *Aloysia citrodorae paláu*.

## **9. METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL**

### **9.1. Tipos de investigación**

En el proyecto se utilizó la investigación Cuantitativa, Descriptiva y Experimental; puesto que no existe antecedentes sobre las extracciones hidroalcohólicas a base del cedrón en función de su contenido de polifenoles y actividad antioxidante.

#### **9.1.1. Investigación Cuantitativa**

La investigación cuantitativa es aquella en la que se recogen y analizan datos numéricos en relación a determinadas variables previamente establecidas con el fin único de obtener datos confiables de los análisis.

La investigación cuantitativa se empleó en el análisis de los datos numéricos, para conseguir una interpretación precisa de los resultados correspondientes.

#### **9.1.2. Investigación Descriptiva**

La investigación descriptiva describe los datos y características de la población o fenómeno en estudio. Mediante este tipo de investigación se logra categorizar un objeto de estudio, señalar sus características y propiedades.

Esta investigación se empleó en la elaboración del marco teórico y del proceso.

#### **9.1.3. Investigación Experimental**

Investigación experimental tipo de investigación que usa la lógica y los principios encontrados en las ciencias naturales. Los experimentos pueden ser llevados a cabo en el laboratorio o en la vida real.

Esta investigación fue experimental porque se estableció relaciones causa y efecto para confirmar la veracidad o falsedad de las hipótesis que tiene la investigación. Esta investigación se utilizó en la elaboración de variables y del diseño experimental.

### **9.2. Técnicas de investigación**

#### **9.2.1. Observación**

Técnica que consiste en observar directa y atentamente el fenómeno, hecho o caso para tomar información y registrarla para su posterior análisis e interpretación. (Goode. 2015)



Esta técnica fue de gran ayuda durante el desarrollo de la optimización del proceso de extracción hidroalcohólica del cedrón, para evitar errores durante el proceso.

### **9.3. Instrumento de investigación**

#### **9.3.1. Ficha de observación**

Tipo de instrumento para conocer la manera como se desarrollan las actividades y los resultados.

Se utilizó para registrar los datos experimentales obtenidos de los diferentes análisis químicos realizados.

### **9.4. Diseño experimental**

En la presente investigación se empleó el programa Design Expert 8.0.6 (Stad-Ease Inc., Minneapolis, EE.UU.) para el diseño experimental y procesamiento de los extractos hidroalcohólicos del cedrón, de forma tal que el extracto seleccionado presentará el mayor rendimiento de extracción de polifenoles totales y actividad antioxidante. Se utilizó el método de optimización numérica a través de un diseño de superficie respuesta IV Óptimo, generando un modelo matemático que describa las variaciones de las variables en cada extracto.

#### **9.4.1. Factores de estudio**

Los factores evaluados fueron porcentaje de etanol (A), tiempo de extracción (B) y temperatura (C), mientras que el rendimiento de extracción de polifenoles totales y actividad antioxidante fueron las variables de respuesta. El número total de combinaciones definidas por el software fue 23 corridas.

**FACTOR A:** Concentración de etanol %

a1 60

a2 75

a3 90

**FACTOR B:** Tiempo de extracción (h)

b1 6

b2 15

b3 24

**FACTOR C:** Temperatura °C

c1 30

c2 60

**Tabla 2:** *Condiciones experimentales seleccionadas para el diseño de experimentos.*

Factor	Nomenclatura	UM	Tipo	Subtipo	Mínimo	Máximo
Porcentaje de etanol	A	%	Numérica	Discreta	60	90
Tiempo de extracción	B	H	Numérica	Discreta	6	24
Temperatura	C	°C	Categórica	Nominal	30	60

Elaborado por: Maldonado, N. & Reinoso, O.

#### 9.4.2. Tratamientos

Se realizó 23 corridas experimentales que se detallan a continuación.

**Tabla 3:** *Corridas experimentales para el proceso de maceración*

CORRIDAS	VARIABLE DE CONTROL		
	Etanol (%)	Tiempo (h)	Temperatura (°C)
1	60	24	30
2	60	6	60
3	60	6	30
4	75	24	60
5	90	6	30
6	60	15	60
7	90	15	30
8	90	15	30
9	75	24	30
10	75	6	30
11	75	15	60
12	75	6	60
13	90	24	30
14	60	24	60
15	60	15	30
16	90	15	60
17	90	15	60
18	90	24	60
19	90	6	60
20	75	24	60
21	75	24	30
22	75	15	30
23	60	6	30

Elaborado por: Maldonado, N. & Reinoso, O.

### 9.4.3. Variables e indicadores

La operacionalización de las variables se detalla a continuación: Variable dependiente, variable independiente, indicadores y dimensiones.

**Tabla 4:** Operacionalización de las variables.

VARIABLE DEPENDIENTE	VARIABLE INDEPENDIENTE	INDICADORES	DIMENSIONES
Extracción hidroalcohólica de <i>Aloysia citrodorae</i> Paláu	Concentración del solvente.	Pruebas físico químicas	Espectrofotometría
	Tiempo de extracción		Densidad
	Temperatura		Viscosidad
			pH
			Conductividad
			Sólidos totales

**Elaborado por:** Maldonado, N. & Reinoso, O.

## 9.5. Materiales, materias primas, insumos y equipos

### 9.5.1. Materiales

- Matraces Erlenmeyer 100 ml
- Matraces Erlenmeyer 250 ml
- Balones aforados 100 ml
- Balones aforados 50 ml
- Balones aforados 10 ml
- Balones aforados 500 ml
- Micropipetas
- Gradillas
- Tubos de ensayo

### 9.5.2. Materia prima

- Cedrón

### 9.5.3. Insumos

- Etanol
- Agua destilada.

#### **9.5.4. Equipos**

- Espectrofotómetro
- Balanza Analítica
- Bomba de vacío
- Estufas

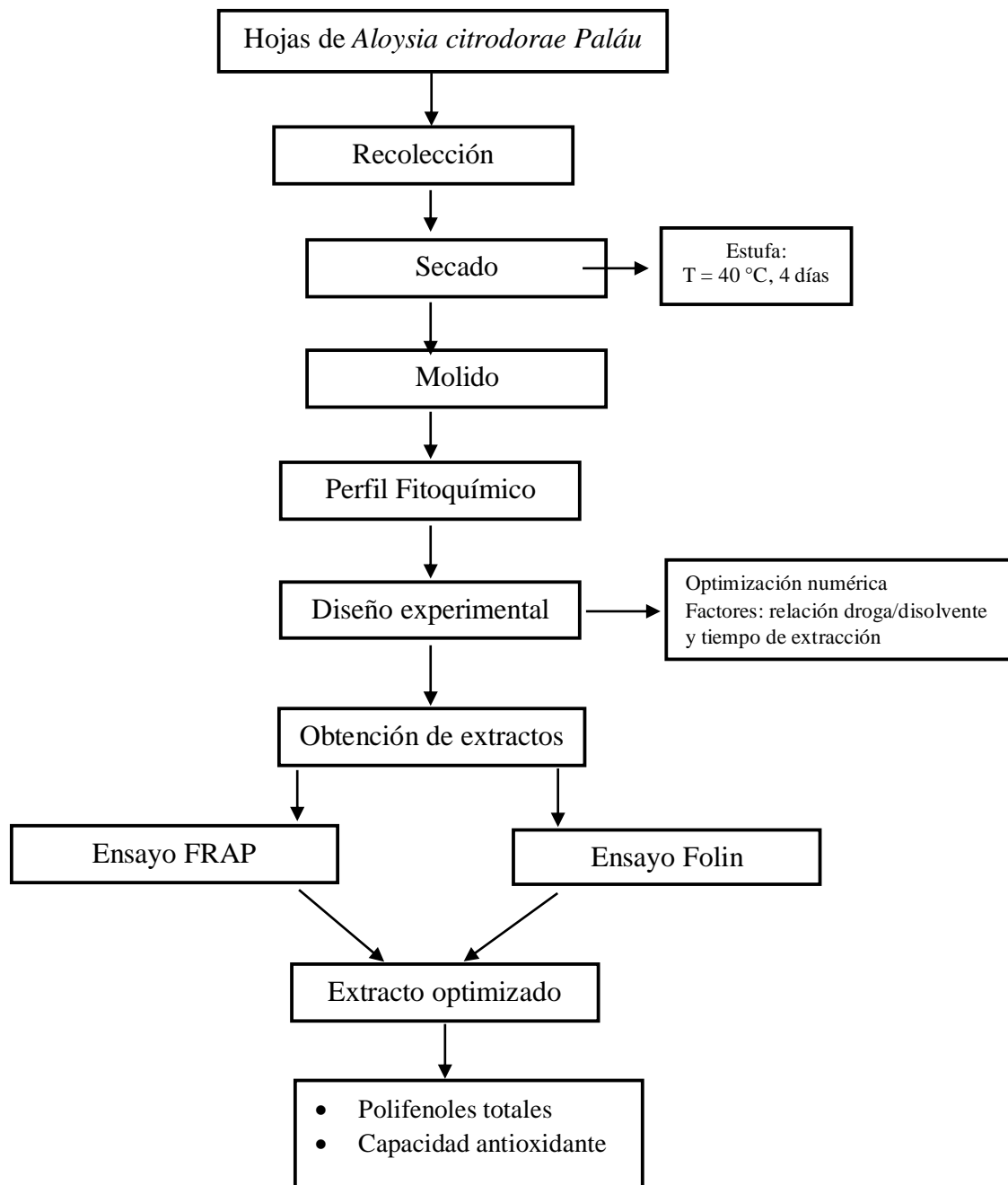
#### **9.5.5. Reactivos Químicos**

- Sudan II
- Baljet
- Lieberman Burchard
- Catequinas
- Fehling
- Cloruro férrico (III)
- Bortranger
- Shinoda
- Ácido clorhídrico
- Folin
- Solución Tampón Acetato 20 mM
- Fosfato disodio
- Carbonato de sodio
- Etanol grado analítico
- Ácido gálico
- Solución Cloruro Férrico
- Hidróxido de Sodio
- Sal de Mohr
- Agua destilada
- Reactivo TP

### 9.6. Metodología

La parte experimental de la investigación se llevó a cabo en las instalaciones de la Universidad Técnica de Cotopaxi en el laboratorio de microbiología.

**Figura 3:** Diagrama de flujo del proceso de extracción hidroalcohólica del cedrón.



Elaborado por: Maldonado, N. & Reinoso, O.

### 9.6.1. Recolección de la muestra

La planta de cedrón (*Aloysia citrodora paláu*) fue adquirida en la zona centro del país Región Sierra, Provincia de Cotopaxi, cantón Latacunga, parroquia Tanicuchi.

#### Procedimiento

En el sector de producción del cedrón se procedió a recolectar las muestras en estado de desarrollo antes de su floración, con un peso aproximado de 10 kg, las cuales estaban en óptimas condiciones, libres de enfermedades o alteraciones morfológicas. Se colocaron en bolsas plásticas para luego ser transportada para sus respectivos análisis.

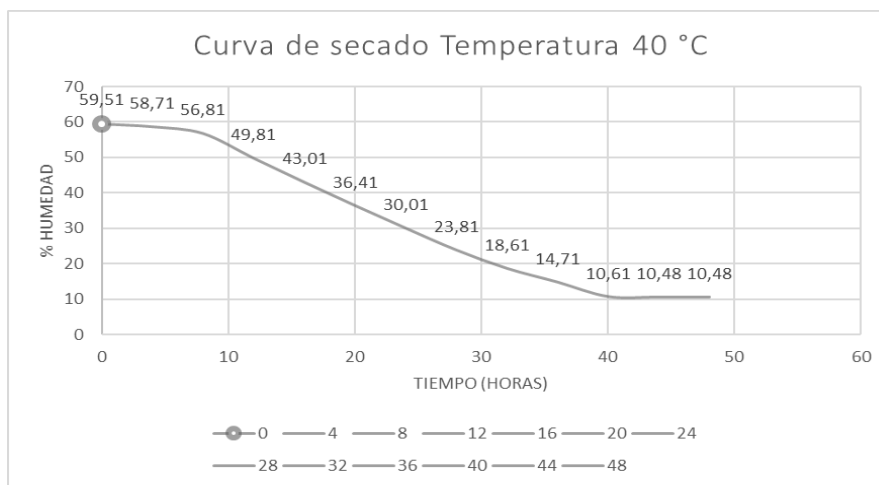
### 9.6.2. Selección y secado de las hojas de cedrón.

Se seleccionó las hojas en las mejores condiciones obteniendo un peso de 4 kg, posteriormente se lavó con agua destilada para retirar impurezas de campo, para luego ser llevado en bandejas de aluminio al deshidratador a una temperatura de 40°C, proceso que evita la volatilización de los metabolitos secundarios y perder el porcentaje de humedad.

Según Panchi y Shulca (2020) para obtener una humedad 10,48% se debe aplicar un proceso de secado a una temperatura de 40 °C, mediante intervalos de 4 horas, durante 48.

A continuación, se muestra en la figura 4. de la curva de secado en relación tiempo y porcentaje de humedad. (Panchi y Shulca, 2020).

**Figura 4:** Curva de secado en relación tiempo y porcentaje de humedad



**Fuente:** Panchi y Shulca, (2020)

### 9.6.3. Molido de las hojas de cedrón

La droga cruda seca se sometió a un molido manual, se acondicionó en bolsas de doble cierre Ziploc (Thai Griptech Co. LTD, Tailandia) y en desecadora hasta su posterior análisis.

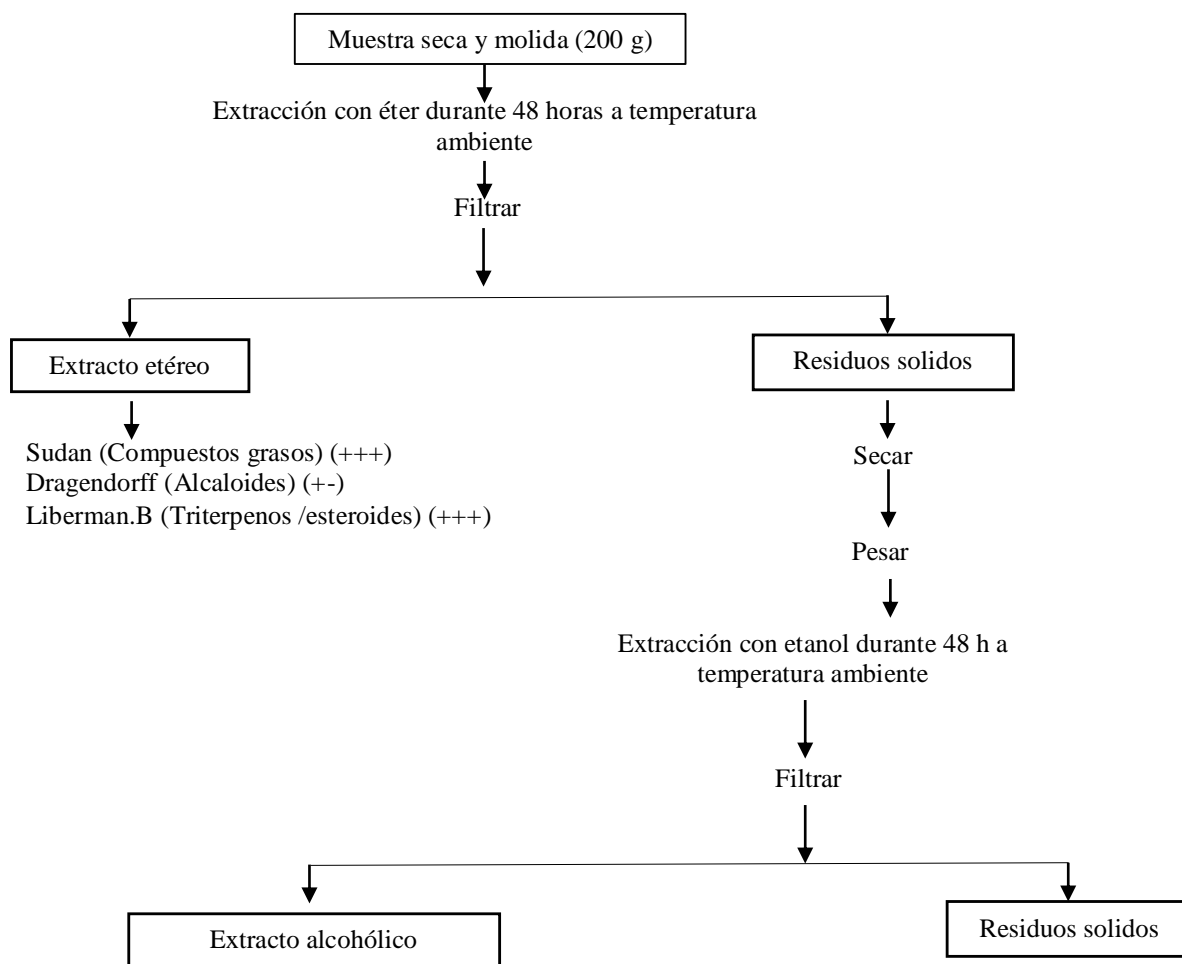
Afirma Sharapin et al. (2000) que para obtener extractos vegetales por maceración se necesitan polvos moderadamente gruesos a semifinos (< 20 mesh).

### 9.6.4. Tamizaje fitoquímico

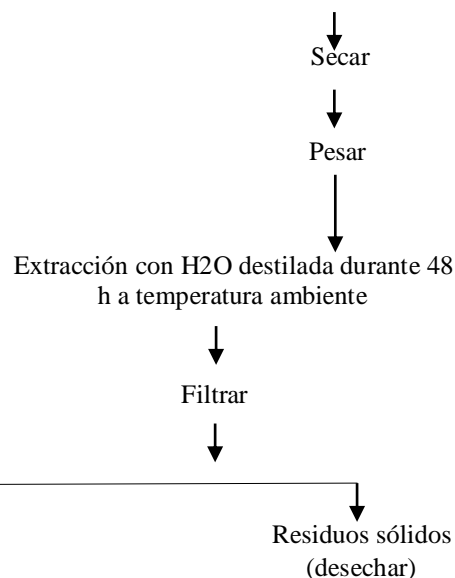
El tamizaje fitoquímico permite determinar la presencia de determinados metabolitos secundarios, en dependencia de sus características estructurales y solubilidad de cada uno de ellos, que permitan su identificación en uno u otro solvente (agua, alcohol y éter) (Pereira et al., 2009)

Se procedió a tomar con una alícuota para someterla a pruebas químicas para la detección e identificación de componentes químicos bioactivos. (Miranda y Cuellar, 2000)

**Figura 5:** Diagrama del proceso de extracciones para determinar compuestos fitoquímicos



Alcaloides (Grangendorff) (+)  
 Agrupamiento lactónico (Balget) (+-)  
 Liberman.B (Triterpenos /esteroides) (+++)  
 Catequinas (catequinas) (+++)  
 Espuma (Saponinas) (+++)  
 Cloruro férrico (Compuestos fenólicos) (+++)  
 Bortranger (Quinonas / benzoquinonas) (+++)



Fehling (Azúcares reductores) (+++)  
 Espumas (saponinas) (+++)  
 Cloruro férrico III (Compuestos fenólicos) (+++)  
 Shinoda (Flavonoides) (+++)  
 Mucflagos (Mucflagos) (+++)  
 Principios amargos (principios amargos) (+++)

#### 9.6.4.1. Ensayos para la identificación de compuestos fitoquímicos

- **Ensayo para la identificación de compuestos grasos**

##### Ensayo de Sudán III

Es un método utilizado generalmente para demostrar la presencia de grasas mediante tinción de triglicéridos, aunque también tiñe otros lípidos, Pertenece al grupo de colorantes indiferentes, que son aquellos que no tienen afinidad por estructuras ácidas o básicas, Son insolubles en el agua y tiñen aquellas sustancias que tienen un poder de disolución superior al del líquido empleado para preparar la solución colorante. (Pereira et al., 2009)

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos grasos, se considera positiva si aparecen gotas o una película coloreada de rojo en el seno del líquido o en las paredes del tubo de ensayos, respectivamente.



- **El ensayo para la identificación de Alcaloide**

#### Prueba de Dragendorff

Utilizado para detectar la presencia de alcaloides se debe tomar en cuenta si el extracto está disuelto en solvente orgánico este debe evaporarse en baño de agua y residuo redisolverse en 1 mL de ácido clorhídrico al 1 % en agua. Si se trata de un extracto acuoso a la alícuota se le añade una gota de ácido clorhídrico concentrado (calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez) Para el ensayo a la solución acuosa ácida se le añade 3 gotas del reactivo de Dragendorff y se observa:

a) Opalescencia: (+)

b) Turbidez definida: (++)

c) Precipitado: (+++)

- **El ensayo para la identificación de compuestos lactónicos**

#### Ensayo de Baljet

Es útil para reconocer la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico en particular cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar resultado positivo. Si la alícuota de la muestra a probar no está en alcohol debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en 1 mL de alcohol. Seguidamente se añade 1 mL de reactivo.

La prueba es positiva cuando aparece una coloración o precipitado de color rojo (++ y +++) respectivamente.

- **El ensayo para la identificación de catequinas**

#### Ensayo de catequinas

Para ello, tomar de la solución alcohólica obtenida, una gota con la ayuda de un capilar y aplique la solución sobre papel filtro. Sobre la mancha aplique solución de carbonato de sodio. La aparición de una mancha verde carmelita a la luz UV indica positiva la prueba.

- **El ensayo para la identificación de triterpenos y esteroides.**

#### Ensayo de Liebermann - Burchard

Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides, ya que ambos tipos de productos poseen un núcleo de androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6. Para ello si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1ml de cloroformo. Se adiciona 1ml de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo se dejan correr 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio de coloración:

1. Rosado- azul, muy rápido.
2. Verde intenso, visible aunque rápido.
3. Verde oscuro- negro, final de la reacción

- **El ensayo para la identificación de resinas.**

Ensayo de resina

Para detectar este tipo de compuesto adicione a 2 mL de la solución alcohólica, 10 mL de agua destilada. La aparición de un precipitado indica un ensayo positivo.

- **El ensayo para la identificación de azúcares reductores**

Ensayo de Fehling

Permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en agua debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1-2 ml de agua. Se adicionan 2 ml del reactivo (recién preparado) y se calienta en baño de agua de 5-10 min. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece un precipitado rojo.

- **El ensayo para la identificación de saponinas**

Ensayo de espuma

Permite reconocer la presencia de saponinas, tanto del tipo esteroidal como triterpénicas. De modo que, si la alícuota se encuentra en etanol, se diluye en 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 min. El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de espesor o altura y persiste por más de 2 min.

- **El ensayo para la identificación de compuestos fenólicos**

#### Ensayo de Cloruro Férrico

Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos. Si el extracto de la planta se realiza con etanol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos; a una alícuota del extracto etanólico se le adicionan 3 gotas de una solución de tricloruro férrico a 5% en solución salina fisiológica. Si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos; a una alícuota del mismo se le añade acetato de sodio para neutralizar y 3 gotas de la solución reactiva. Un ensayo positivo puede dar la siguiente información general:

- Desarrollo de una coloración rojo vino, compuestos fenólicos en general.
- Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.
- Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos.

- **El ensayo para la identificación de aminoácidos libres y aminos.**

#### Ensayo de Ninhidrina

Permite reconocer la presencia de aminoácidos libres o de aminos en general. Se toma una alícuota del extracto en alcohol, o el residuo de la concentración en baño de agua si el extracto se encuentra en otro solvente orgánico, se mezcla con 2ml de la solución de ninhidrina a 2%. La mezcla se calienta durante 10 min. en baño de agua. Este ensayo se considera positivo cuando se desarrolla un color violáceo.

- **El ensayo para la identificación de quinonas y benzoquinonas.**

#### Ensayo de Borntrager

Permite reconocer en un extracto la presencia de quinonas. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1ml de cloroformo. Se adiciona 1ml de NaOH, KOH o NH<sub>4</sub>OH a 5% en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación. Si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado a rojo, el ensayo se considera positivo (+), coloración rosada (++), coloración roja (+++).

- **El ensayo para la identificación de flavonoides**

Ensayo de Shinoda

Permite reconocer la presencia de flavonoides en un extracto vegetal. Si la alícuota del extracto se encuentra en etanol, se diluye con 1ml de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálica. Después de la reacción se esperan 5 min., se añade 1ml de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que las mismas se separen. Si la alícuota del extracto se encuentra en agua, se procede de igual forma a partir de la adición del ácido clorhídrico concentrado. El ensayo se considera positivo cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo, intensos en todos los casos.

- **El ensayo para la identificación de glucósidos cardiotónicos.**

Ensayo de kedde

Permite reconocer en un extracto alcohólico la presencia de glucósidos cardiotónicos, una alícuota del extracto en etanol se mezcló con 1ml del reactivo y se dejó reposar por 10 minutos, en un positivo se desarrolla una coloración violácea, persistente durante 1 o dos horas

- **El ensayo para la identificación de mucilagos**

Ensayo de mucilagos

Permite reconocer en los extractos acuosos de vegetales la presencia de una estructura tipo polisacárido, el cual forma un coloide hidrófilo de alto índice de masa que aumenta la densidad del agua donde se extrae, para ello en una alícuota del extracto se agregó agua de 0 a 5°C, cuando la solución toma una consistencia gelatinosa el ensayo se considera positivo.

- **Ensayo para la identificación de principios amargos**

Prueba de principios amargos.

El extracto acuoso se concentró en baño maría para obtener un extracto seco no volátil.

Los principios amargos tienen diversa naturaleza química que pueden usarse de varias maneras: antiespasmódicas, antiinflamatorias, analgésico. (Valencia, 1995)

### 9.6.5. Determinación del contenido de polifenoles solubles totales

Los compuestos fenólicos se cuantificaron de acuerdo al método descrito por (Slinkard & Singleton , 1997) con el reactivo de Folin-Ciocalteu. La preparación de la muestra consistió en tomar 1 g de cedrón en polvo. Se mezclaron 50  $\mu$ L de la muestra con 2,5 mL de disolución acuosa de Folin-Ciocalteu diluida 1:10. La mezcla se agitó y se dejó en reposo durante 5 min. Se adicionaron 2 mL de una disolución al 7,5 % (m/v) de  $Na^2CO^3$ . Se agitó nuevamente, se dejó reposar durante 2 h y se leyó la absorbancia a 765 nm. Se utilizó ácido gálico como patrón entre 100 y 900 mg/L. El contenido de fenoles totales se expresó como ácido gálico de cedrón, mediante la siguiente ecuación:

$$CF = \frac{(A-a) / b \times V \times fd / 1000}{P.M.} \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde:

CF: Contenido de polifenoles totales.

A: Absorbancia.

a: Intercepto de la curva de calibración.

b: Pendiente de la curva de calibración.

V: Volumen total del extracto (mL).

fd: Factor de dilución de la muestra.

P.M: Masa de la muestra.

#### • Preparación con soluciones Folin Ciocalteu

1. Solución de carbonato de sodio 7,5%: Pesar 75 g de  $Na_2CO_3$  anhidro y disolver en 1L de agua destilada.
2. Solución diluida de Folin – Ciocalteu: Tomar 10 mL del reactivo Folin – Ciocalteu y diluir a 100 mL con agua destilada.

- **Curva de calibración del Folin – Ciocalteu**

Solución madre: Pesar 500 mg de ácido gálico (en balanza analítica) y disolver con unos mL de metanol a temperatura ambiente. Transferir cuantitativamente a un volumétrico de 50 mL y enrasar con agua destilada. Concentración = 10mg/mL

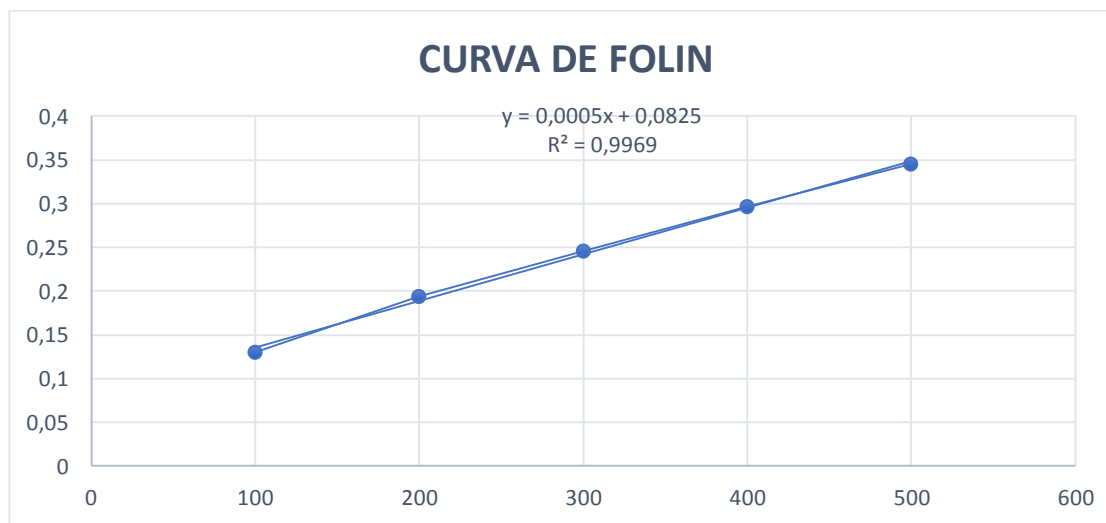
De esta solución concentrada de ácido gálico tomar alícuotas de 1 hasta 5 mL y adicionar en volumétrico de 100mL, enrasar con agua destilada. Estas diluciones corresponden a las concentraciones de 100, 200,... y 500 mg/L de ácido gálico (solución de trabajo).

**Tabla 5:** Concentraciones y absorbancia de la curva de calibración de Folin.

FOLIN	
Concentración (%)	Absorbancia (nm)
100	0,130
200	0,194
300	0,246
400	0,297
500	0,345

**Elaborado por:** Maldonado, N. & Reinoso, O.

**Figura 6:** Curva de calibración para FOLIN



**Elaborado por:** Maldonado, N. & Reinoso, O.

- **Procedimiento para el Método de Folin Ciocalteu**

En un tubo de ensayo de aproximadamente 15 mL de capacidad adicionar:

1. 50 uL de extracto de la muestra o de la solución de trabajo.
2. 2500 uL (2,5mL) de solución diluida de Folin-Ciocalteu (1+9H<sub>2</sub>O)
3. Agitar y esperar cinco minutos
4. Adicionar 2000 uL (2mL) de solución 7,5% de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Agitar nuevamente
5. Dejar en reposo durante 2h
6. Leer la Abs a 765 nm

### 9.6.6. Determinación de la actividad antioxidante del extracto seleccionado

La capacidad antioxidante se cuantificó de acuerdo a lo propuesto por Benzie y Strain (1996) y teniendo en consideración la modificación de tiempo propuesta por Pulido y col. (2000). Este método consiste en medir la capacidad de la muestra para reducir el hierro férrico a ferroso. A un pH bajo se coloca en el medio de reacción el complejo Fe<sup>3+</sup>-TPTZ, este complejo en presencia de agentes reductores se reduce a Fe<sup>2+</sup>-TPTZ que desarrolla un color azul intenso con un máximo de absorción a 593 nm.

El reactivo FRAP está compuesto por 0,0078 g de TPTZ [2,4,6-tri (2-piridil)-1,3,5-triazina], al cual se le añade una gota de HCl (1:1), más 2,5 mL de HCl 40 mM y se disuelve totalmente. Luego se adicionarán 25 mL de buffer acetato (pH= 3,6) y 2,5 mL de una disolución 20 mM de FeCl<sub>3</sub>, dejándose incubar 37 °C durante 15 min.

Para la determinación se tomaron 50 µL del extracto de la muestra y se añadieron en un tubo de ensayo de 10 mL de capacidad. Posteriormente, se adicionaron 1,5 mL del reactivo FRAP. Se atemperó a 37 °C durante 30 minutos y se leyó la absorbancia a 593 nm.

El cálculo de la actividad antioxidante se realizó por medio de una curva de calibración de Fe<sup>2+</sup> empleando la sal de Mohr [Fe(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] como patrón, según la ecuación siguiente:

$$AAT = \frac{(A-a) \times V \times fd}{P.M.} \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde:

AAT: Actividad antioxidante total.

A: Absorbancia del extracto.

a: Intercepto de la curva de calibración.

b: Pendiente de la curva de calibración.

V: Volumen del extracto (mL).

fd: factor de dilución de la muestra.

P.M: Masa de la muestra.

La lectura para los extractos se realizó por triplicado y el resultado final se expresó como  $\text{Fe}^{2+}$  en  $\mu\text{mol/g}$  de fruta.

• **Preparación de soluciones FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)**

1. Solución de HCl 40 mM: Añadir 3,3 mL de HCl (c) a 1 L de agua destilada.
2. Solución de  $\text{FeCl}_3$  20 mM: Pesar 0,81 g de  $\text{FeCl}_3$  anhidro y disolver en 250 mL de agua destilada. Añadir algunas gotas (3) de HCl concentrado.
3. Solución buffer de acetato 300 mM (pH 3,6): Pesar 3,1 g de acetato de sodio trihidratado ( $\text{NaAc} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ), disolver en agua. Adicionar 16 mL de ácido acético glacial. Completar el volumen hasta 1L con agua destilada. Comprobar el pH final con un pHmetro. Ajustar pH si es necesario con NaOH o HAc.
4. Solución TPTZ 10 mM: Pesar 0,0312 g del reactivo TPTZ y disolverlo en un matraz de 10 mL con HCl 40 mM.
5. Reactivo FRAP:
  - Preparar la solución de trabajo a diario FRAP, esta solución de trabajo deberá prepararse a diario. Mezclar 900  $\mu\text{L}$  de solución TPTZ con 2,5 mL de solución  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  20mM y 25 mL de tampón acetato (mantener en baño a  $37^\circ\text{C}$ )
  - Mezclar 1020  $\mu\text{L}$  de solución tampón pH 3,6, 100  $\mu\text{L}$  de TPTZ 10 mM y 100  $\mu\text{L}$  de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  20 mM.



- **Curva de calibración FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)**

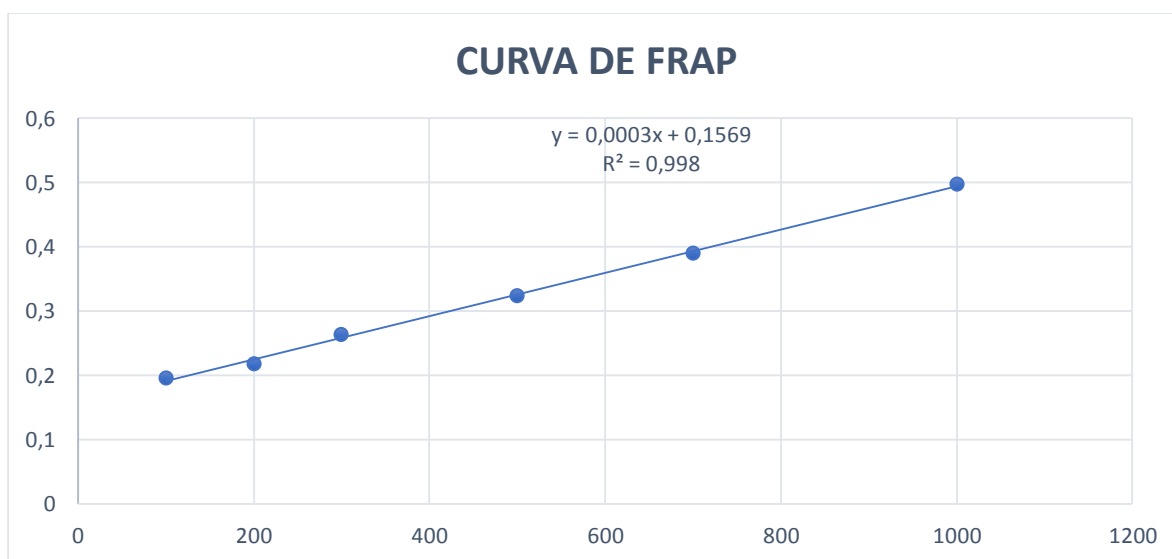
- Pesar en balanza analítica 0,3922 g de sal Mohr  $[\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}]$ . Trasvasar cuantitativamente hacia volumétrico (matraz aforado) de 100mL con agua destilada. Antes de enrasar adicionar 1 mL de HCl (1:1).
- Tomar alícuota de 1,2,3,5,7,10 mL (medidas en bureta) y diluir a 100 mL con agua destilada. Estas diluciones corresponden a las concentraciones de 100, 200, 300 y 1000  $\mu\text{M}$  de  $\text{Fe}^{2+}$  (catión ferroso).

**Tabla 6:** Concentraciones y absorbancia de FRAP

FRAP	
Concentración (%)	Absorbancia (nm)
100	0,196
200	0,217
300	0,263
500	0,324
700	0,39
1000	0,498

**Elaborado por:** Maldonado, N. & Reinoso, O.

**Figura 7:** Curva de calibración para FRAP



**Elaborado por:** Maldonado, N. y Reinoso, O.

- **Procedimiento para la reacción de capacidad antioxidante FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)**

En tubos de ensayo de 10 mL de capacidad adicionar:

- 50 uL de extracto de la muestra (o soluciones patrones Fe<sup>2+</sup>)
- 1,5 mL del Reactivo FRAP.
- Incubar a 37°C durante 30 minutos y leer absorbancia a 593nm.

Nota: En el caso de la curva de calibración no es necesario esperar los 30 minutos para realizar las lecturas de Abs.

### **9.6.7. Caracterización físico química del extracto optimizado**

La caracterización del extracto de *Aloysia citrodora Paláu* se procedió a realizar basándose en el manual de farmacognosia y productos naturales de Miranda. De este modo se realizó los siguientes ensayos.

#### **9.6.7.1. Ensayos Organolépticos**

Se tomó una parte del extracto en tubo y se determinó el color, olor y aspecto del mismo.

#### **9.6.7.2. Medición de pH**

Se calibro el phmetro con una solución tampón, para después medir el pH del extracto hidroalcohólico del cedrón.

#### **9.6.7.3. Densidad Relativa**

El primer paso es pesar el picnómetro seco y vacío, después el picnómetro se llenó con el extracto y de la misma forma que el anterior se pesó, finalmente se procedió hacer lo mismo con agua destilada, de allí se calcula la densidad con la siguiente formula:

$$D_{25} = \frac{M_1 - M}{M_2 - M}$$

Donde;

M1: Peso del picnómetro con la muestra (g)

M2: Peso del picnómetro con el agua (g)

M: Peso del picnómetro vacío (g)

#### **9.6.7.4.Sólidos totales**

De la muestra de ensayo previamente homogenizada se transfirieron 5 mL. a una cápsula de porcelana limpia, seca y previamente tarada; la cápsula se coloca en un baño de agua y se evapora hasta que el residuo este aparentemente seco, posteriormente se pasó a una estufa a una temperatura de 105 +/- 2 °C durante 3 horas. Se retira la cápsula de la estufa, se coloca en una desecadora hasta que alcanzó la temperatura ambiente y se pesa. Se repite el proceso anterior, pero empleando solo 60 minutos de secado, las veces necesarias, hasta obtener una masa constante.

Los sólidos totales (St)(g/100 mL) se calcularon mediante la fórmula siguiente:

$$St = \frac{(Pr - P)}{V * 100}$$

Donde:

Pr: masa de la cápsula más el residuo (g).

P: masa de la cápsula vacía (g).

V: volumen de la porción de ensayo (mL).

100: factor matemático.

## 10. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

### 10.1. Perfil fitoquímico

La droga cruda fue sometida a pruebas químicas para la detección e identificación de metabolitos secundarios como alcaloides, compuestos grasos, triterpenos, glucósidos, saponinas, compuestos fenólicos, aminoácidos y flavonoides.

**Tabla 7:** Tamizaje fitoquímico del extracto etéreo, etanólico y acuoso del cedrón (*aloyisia citrodora paláu*)

Metabolito	Ensayo	Extracto Etéreo	Extracto Etanólico	Extracto Acuoso
Compuestos grasos	Sudan	+++		
Alcaloides	Drangendorff	+-	+	-
Agrupamiento lactónico	Baljet	+-	+-	
Triterpenos / esteroides	Lieberman B.	+++	+++	
Catequinas	Catequinas		+++	
Resinas	Resinas		-	
Azúcares reductores	Fehling		-	+++
Saponina	Espuma		+++	+++
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico (III)		+++	+++
Aminoácidos libres/ aminas	Nihidrina		-	
Quinonas/ benzoquinonas	Bortranger		+++	
Flavonoides	Shinoda		-	+++
Glucósidos cardiotónicos	Kedde		-	
Mucilagos	Mucilagos			+++
Principios amargos	Principios amargos			+++

+: Presencia    + -: Regular    -: Ausencia

**Elaborado por:** Maldonado, N. & Reinoso, O.

En la tabla 7 se muestran los resultados del tamizaje fitoquímico realizado a los extractos etéreo, etanólico y acuoso, donde se muestra la variabilidad de compuestos presentes en (*Aloysia citrodora paláu*); destacándose entre estos: compuestos grasos, esteroides, catequinas, azúcares reductores, saponinas, compuestos fenólicos, quinonas, flavonoides, mucilagos y principios amargos.

De manera similar a lo informado por (Yugán Dayana, 2019); se identificaron compuestos grasos, triterpenos, agrupamiento lactónico y alcaloides en el extracto etéreo, aunque este último grupo no fue encontrado.

Se comprobó la presencia de saponinas, compuestos fenólicos, alcaloides y triterpenos en el extracto etanólico de acuerdo a lo reportado por (Vélez et al., 2019), sin embargo, se evidencio la presencia de quinonas y catequinas contrario a lo informado por el mismo en la hoja de cedrón. Contrario a lo obtenido por (Yugán Dayana, 2019; Vélez et al., 2019) no se encontraron flavonoides en el material vegetal.

Miranda y Cuellar (2000) refirieron que un resultado negativo en los ensayos puede deberse a la ausencia de los compuestos que se buscan, interferencia de sustancias extrañas, concentraciones trazas de estos compuestos, selección errónea del disolvente, una baja concentración durante la época de colecta o sensibilidad de estos ensayos (Kaneira y Chanda, 2011).

En el extracto acuoso los ensayos para azúcares reductores, saponinas, compuestos fenólicos y flavonoides arrojaron resultados positivos identificados por la coloración naranja intenso adquirida por la muestra. De forma general, los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que se encuentran mayoritariamente como glucósidos, los cuales se emplean actualmente como edulcorantes, algunas polihidroxi flavonas en la conservación de grasas y jugos de frutas debido a sus propiedades antioxidantes y las cumarinas como saborizantes (Quiñones et al., 2012; Ojeda et al., 2010).

Cartaya y Reynaldo (2001) señalan que los flavonoides contribuyen a la estabilidad de los alimentos por sus propiedades inhibitoras de enzimas responsables del ablandamiento vegetal, y por su actividad antioxidante.

Del mismo modo, se confirmó la presencia de compuestos fenólicos, que es el principio activo al cual se le atribuye la propiedad biológica como antioxidante que permite retardar la oxidación lipídica, propia de los diferentes alimentos.

Según Ricco et al. (2011) afirmaron que la presencia de compuestos fenólicos en especies vegetales puede variar, dentro de un mismo individuo, en respuesta a factores genéticos, ontogénicos, bióticos y abióticos, afectando de diversa manera a los diferentes órganos de la planta.

Los principales polifenoles presentes en las hojas de “cedrón” son ácidos hidroxicinámicos y flavonoides (flavonas), que presentan la mayor acumulación en las hojas jóvenes, los mismos que decrecen rápidamente con la edad de la hoja. (Valencia-Aviles et al., 2017; Quiñones et al., 2012)

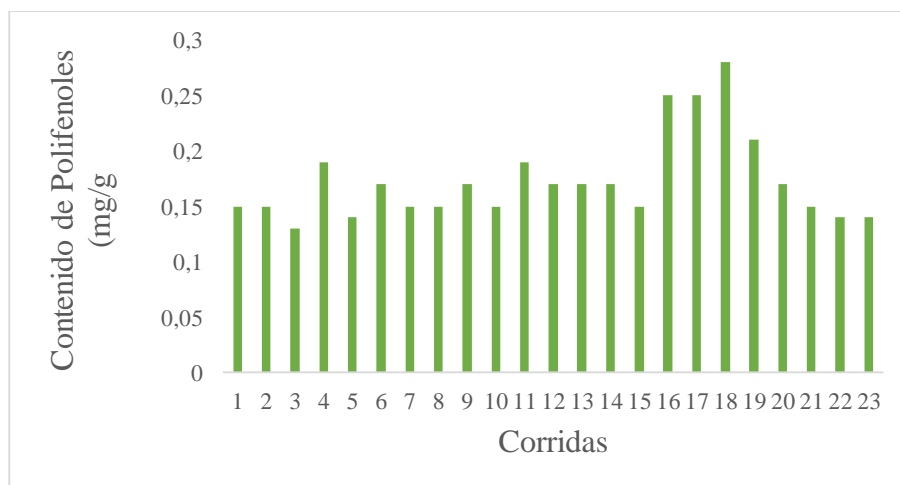
Se puede resumir que se obtuvieron resultados positivos en la diversidad de compuestos bioactivos de la droga cruda, especialmente aquellos de naturaleza fenólica como flavonoides, taninos, saponinas y otros que se encuentran ampliamente difundidos en el reino vegetal, lo que pudiera explicar la alta utilidad a atribuirse a *Aloysia citrodora paláu*.

### 10.2. Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica de la droga cruda.

Al observar la presencia significativa de los compuestos fenólicos en el extracto etanólico y acuoso, se decidió optimizar el proceso de extracción en función del contenido de polifenoles totales en los extractos hidroalcohólicos de la droga cruda del cedrón (Tabla 10).

La optimización se realizó mediante la relación de 3 factores experimentales tales como; concentración de etanol (60%, 75% y 90%), tiempo (6h, 15h,24h) y temperatura de extracción (30°C y 60°C), cuyas variables respuestas fueron el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante.

**Figura 8:** Contenido de polifenoles totales en los extractos hidroalcohólicos del cedrón



**Elaborado por:** Maldonado, N. & Reinoso, O.

Se observa que la corrida 18 presentó el mayor contenido de polifenoles totales, lo cual puede estar dado por el hecho de que esta corrida correspondió con la mayor concentración etanol (90%),

tiempo (24 h) y temperatura (60°C), mientras que la corrida 3 con menor concentración de etanol (60%), tiempo (6h) y temperatura (30°C) presentó el menor contenido de polifenoles totales.

Este comportamiento puede estar dado a una interacción de sinergia que el disolvente hidroalcohólico ejerció, puesto que, la extracción depende en gran medida de la polaridad del disolvente.

A continuación, se presenta el contenido de polifenoles totales en relación a los 3 factores experimentales de las 23 corridas

**Tabla 8:** *Matriz experimental de la evaluación del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante en l droga cruda de cedrón.*

Corridas	Etanol (%)	Tiempo (h)	Temperatura (°C)	Polifenoles Totales (mg EAG/g)	Capacidad Antioxidante (uM de Fe <sup>2+</sup> /g)
1	60	24	30	0,15	612,45
2	60	6	60	0,15	654,34
3	60	6	30	0,13	412,34
4	75	24	60	0,19	850,44
5	90	6	30	0,14	434,54
6	60	15	60	0,17	725,5
7	90	15	30	0,15	600,23
8	90	15	30	0,15	319,44
9	75	24	30	0,17	700,56
10	75	6	30	0,15	625,12
11	75	15	60	0,19	860,5
12	75	6	60	0,17	723,61
13	90	24	30	0,17	770,44
14	60	24	60	0,17	550,11
15	60	15	30	0,15	614,23
16	90	15	60	0,25	920,33
17	90	15	60	0,25	990,28
18	90	24	60	0,28	824,5
19	90	6	60	0,21	890,33
20	75	24	60	0,17	723,22
21	75	24	30	0,15	642,13
22	75	15	30	0,14	434,18
23	60	6	30	0,14	421,4

**Elaborado por:** Maldonado, N. & Reinoso, O.

### 10.3. Determinación de polifenoles totales

#### 10.3.1. Influencia de la concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción sobre el contenido de polifenoles totales.

La Tabla 9 muestra la significación del análisis de varianza y de los coeficientes estimados para la variable respuesta contenido de polifenoles totales. Se observa que el modelo cuadrático resultó significativo con un nivel de confianza del 95,0 %, mostrando que existió una relación estadísticamente significativa en la concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción con la variable dependiente del modelo. El R<sup>2</sup> indicó que el modelo ajustado explica el 91,48 % de la variabilidad del contenido de polifenoles totales.

**Tabla 9:** Análisis de varianza del contenido de polifenoles totales

Indicador	Contenido Polifenoles totales (mg EAG/g)
Intercepto	0,17
X <sub>CPF</sub>	0,023*
X <sub>TIE</sub>	0,013*
X <sub>TEE</sub>	0,023*
X <sub>CPF</sub> X <sub>TIE</sub>	0,0072
X <sub>CPF</sub> X <sub>TEE</sub>	0.019*
X <sub>TIE</sub> X <sub>TEE</sub>	0,0008
X <sup>2</sup> <sub>CPF</sub>	0,013
X <sup>2</sup> <sub>TIE</sub>	0,0004
R <sup>2</sup>	0,9148
R <sup>2</sup> ajustado	0,8662
R <sup>2</sup> predicho	0,7781
F modelo	12,79**
F falta de ajuste	18,80
Precisión adecuada	14,93

**Elaborado por:** Maldonado, N. & Reinoso, O.

CPF: concentración de etanol; TIE: tiempo de extracción; TEE: temperatura de extracción

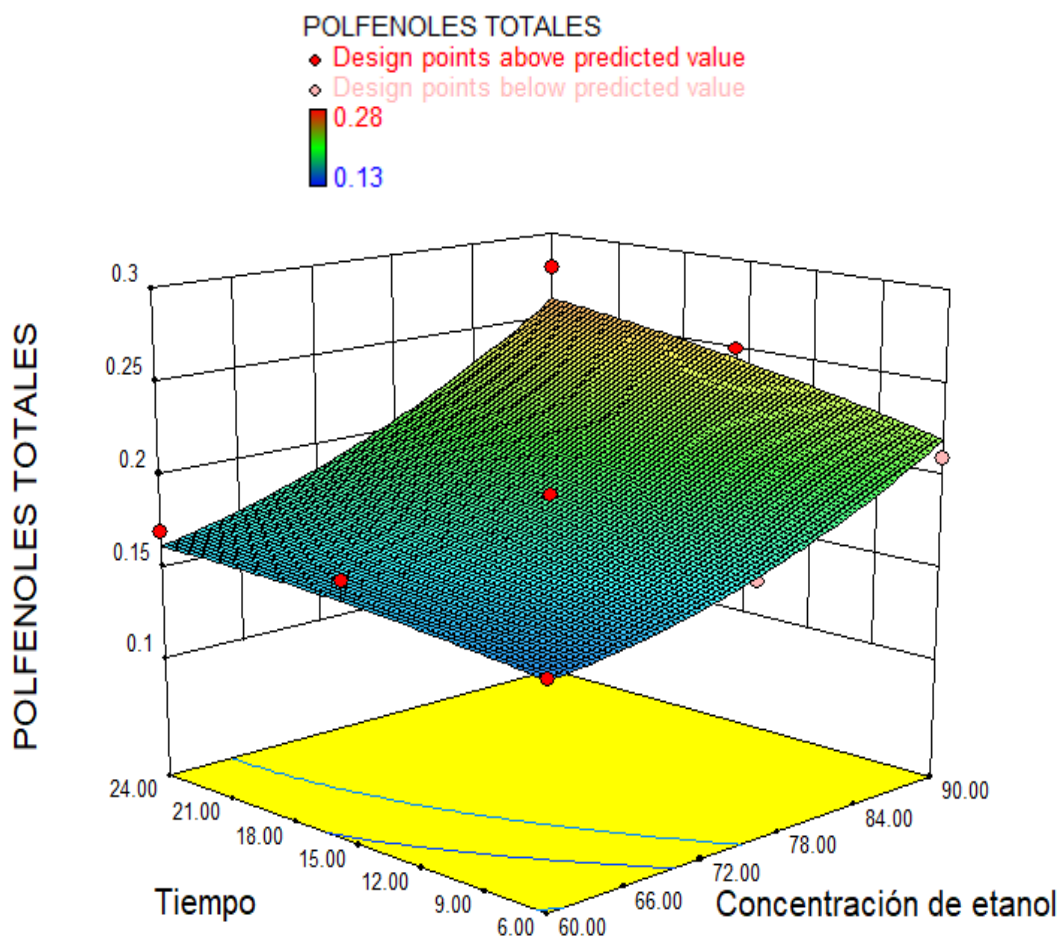
De acuerdo a los resultados mostrados en la Tabla 9, la concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción (X<sub>CPF</sub>, X<sub>TIE</sub> y X<sub>TEE</sub>) y su intersección X<sub>CPF</sub> X<sub>TEE</sub> son factores significativos ( $p \leq 0,05$ ), mientras sus homólogos cuadráticos (X<sup>2</sup><sub>CPF</sub> y X<sup>2</sup><sub>TIE</sub>) resultaron no significativos.



Al analizar los coeficientes se tiene que el término de la concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción tiene mayor influencia sobre la variable dependiente, seguido de su intersección, concentración de etanol y temperatura de extracción.

De acuerdo al signo de los coeficientes, el contenido de polifenoles totales aumenta a medida que aumenta la concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción y viceversa. La influencia de estos factores sobre el contenido de polifenoles totales se observa en la figura 9.

**Figura 9:** *Influencia de la concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción en el contenido de polifenoles totales.*



**Elaborado por:** Maldonado, N. & Reinoso, O.

En la figura 9 de superficie respuesta, se observa que a menor concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción el contenido de polifenoles disminuye significativamente, aproximándose al límite inferior de 0,13 mg EAG/g (color azul oscuro), por lo tanto, el mayor contenido de polifenoles se encuentra a mayor concentración de etanol, tiempo y temperatura de

extracción, de ahí que su tendencia es maximizarse hasta el límite superior de 0,28 mg EAG/g (color rojo).

#### 10.4. *Determinación de la actividad antioxidante*

##### 10.4.1. **Influencia de la concentración de etanol, tiempo de extracción y temperatura de extracción sobre la capacidad antioxidante.**

La Tabla 10 muestra la significación del análisis de varianza y de los coeficientes estimados para la variable respuesta capacidad antioxidante. Se observa que el modelo cuadrático resultó significativo para un nivel de confianza del 95,0 %, mostrando que existe una relación estadísticamente significativa de la interacción de los factores sobre la variable dependiente del modelo. El  $R^2$  indicó que el modelo ajustado explica el 77,19 % de la variabilidad en la capacidad antioxidante.

**Tabla 10:** *Análisis de varianza de la capacidad antioxidante*

Indicador	Poder antioxidante reductor del hierro (uM de Fe <sup>2+</sup> /g)
Intercepto	690,15*
X <sub>CPF</sub>	63,86*
X <sub>TIE</sub>	42,92
X <sub>TEE</sub>	110,47*
X <sub>CPF</sub> X <sub>TIE</sub>	17,85
X <sub>CPF</sub> X <sub>TEE</sub>	67,53*
X <sub>TIE</sub> X <sub>TEE</sub>	59,86
X <sup>2</sup> <sub>CPF</sub>	-31,51
X <sup>2</sup> <sub>TIE</sub>	-8,68
R <sup>2</sup>	0,7719
R <sup>2</sup> ajustado	0,6415
R <sup>2</sup> predicho	0,4305
F modelo	5,92**
F falta de ajuste	1,20
Precisión adecuada	7,359

**Elaborado por:** Maldonado, N. & Reinoso, O.

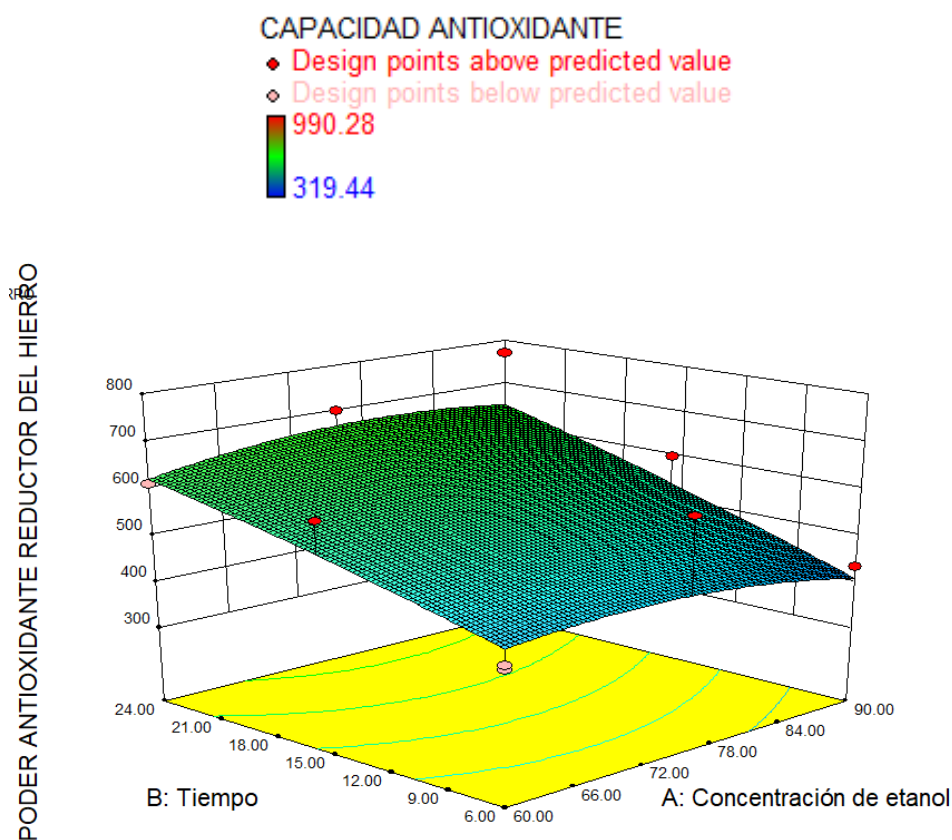
CPF: concentración de etanol; TIE: tiempo de extracción; TEE: temperatura de extracción

De acuerdo a los resultados mostrados en la Tabla 10, la concentración de etanol y temperatura de extracción (X<sub>CPF</sub> y X<sub>TEE</sub>) y su intersección X<sub>CPF</sub> X<sub>TEE</sub> son factores significativos ( $p \leq 0,01$ ), mientras sus homólogos cuadráticos (X<sup>2</sup><sub>CPF</sub> y X<sup>2</sup><sub>TIE</sub>) resultaron no significativos.

Al analizar los coeficientes se tiene que el término de la concentración de etanol y temperatura de extracción tiene mayor influencia sobre la variable dependiente, seguido de su intersección, concentración de etanol y temperatura de extracción.

De acuerdo al signo de los coeficientes, la capacidad antioxidante aumenta a medida que aumenta la concentración de etanol y temperatura de extracción y viceversa. La influencia de estos factores sobre la capacidad antioxidante se observa en la figura 2.

**Figura 10:** *Influencia de la concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción sobre la capacidad antioxidante.*



**Elaborado por:** Maldonado, N. & Reinoso, O.

La figura 10 de superficie respuesta, el poder antioxidante reductor de hierro se maximiza, al límite superior de 990,28  $\mu\text{M}$  de  $\text{Fe}^{2+}/\text{g}$ , a mayor concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción y viceversa.

### 10.5. Comprobación numérica de la optimización del proceso de extracción hidroalcohólico de la droga cruda.

Para la optimización numérica del proceso de extracción se emplearon como restricciones los intervalos, ya evaluados, de las variables independientes (concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción) para lograr los mayores valores de contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante (Tabla 11)

**Tabla 11:** Restricciones de la optimización numérica de proceso de extracción hidroalcohólico del cedrón.

Parámetro	Límite inferior	Límite superior	Criterio
Concentración etanol (%)	60	90	Intervalo
Tiempo de extracción (h)	6	24	Intervalo
Temperatura de extracción (°C)	30	60	Intervalo
Contenido polifenoles (mg EAG/g)	0.13	0.28	Maximizar
Capacidad antioxidante (uM de Fe <sup>2+</sup> /g)	319.44	990.28	Maximizar

Elaborado por: Maldonado, N. & Reinoso, O.

La Tabla 12 muestra la solución numérica optimizada del modelo cuadrático para el proceso de extracción en función de las restricciones anteriores.

**Tabla 12:** Solución optimizada que cumple con las restricciones

Parámetro	Solución
Concentración etanol (%)	90
Tiempo (h)	24
Temperatura (°C)	60
Contenido polifenoles (mg EAG/g)	0.26
Capacidad antioxidante (uM de Fe <sup>2+</sup> /g)	899,38
Conveniencia estadística	0.87

Elaborado por: Maldonado, N. & Reinoso, O.

De acuerdo con la comprobación numérica de la optimización, los valores obtenidos experimentalmente para el contenido de polifenoles fue de 0,28 mg EAG/g y capacidad antioxidante de 909,36 uM de  $\text{Fe}^{2+}$ /g, fueron superiores a los predichos por los modelos matemáticos. (Tabla 13)

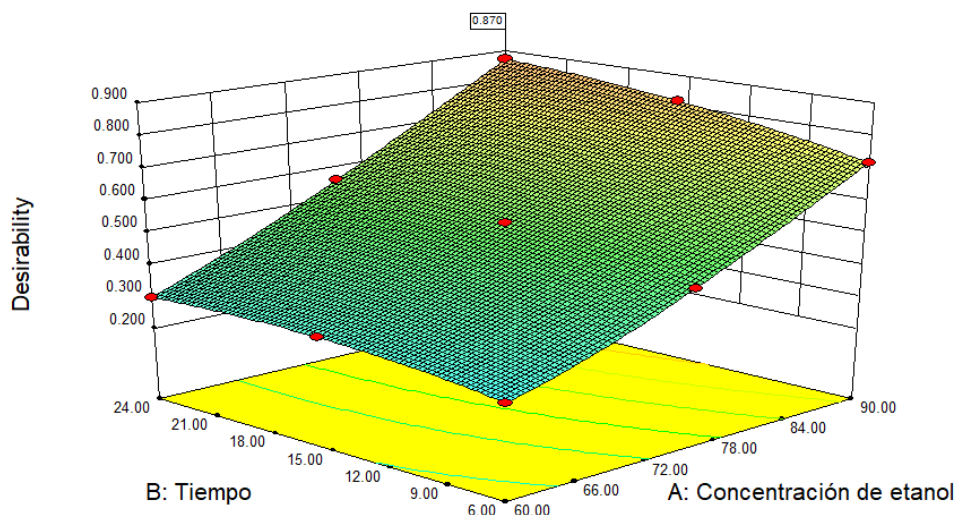
**Tabla 13:** Valores óptimos predichos y experimentales, obtenidos a las condiciones definidas en el proceso de optimización

Parámetro	Valor predicho	Valor experimental
Polifenoles (mg EAG/g)	0.26	0,28
Capacidad antioxidante (uM de $\text{Fe}^{2+}$ /g)	899,38	909,36

**Elaborado por:** Maldonado, N. & Reinoso, O.

Por tanto, se demuestra la eficacia de Design Expert 8.0.6 y el modelo matemático cuadrático como método de optimización, ya que en este caso se buscaba encontrar las condiciones que maximizarán los valores de las variables respuesta de interés.

**Figura 11:** Relación de la concentración de etanol, tiempo de extracción y temperatura del optimizado



**Elaborado por:** Maldonado, N. & Reinoso, O.

En la Figura 11 de superficie respuesta, la condición óptima prevista para las variables independientes fueron; concentración de etanol 90 %, tiempo de extracción 24h y temperatura de extracción 60°C con un contenido de polifenoles 0,26 mg EAG/g y capacidad antioxidante 899,38 uM de  $\text{Fe}^{2+}$ /g, lo que quiere decir, que a mayor concentración de etanol, tiempo y temperatura de

extracción se obtiene mayor contenido de polifenoles y capacidad antioxidante. La deseabilidad de la predicción es 0,87 valor óptimo alcanzado dentro del modelo matemático, cabe recalcar que, entre más el valor se acerque a 1 será más confiable el resultado.

#### **10.6. Caracterización del extracto hidroalcohólico optimizado de la droga cruda.**

Para la caracterización se evaluó el extracto optimizado con las condiciones de concentración de etanol 90 %, tiempo de extracción 24h y temperatura de extracción 60°C con un contenido de polifenoles 0,28 mg EAG/g y capacidad antioxidante 909,36  $\mu\text{M}$  de  $\text{Fe}^{2+}/\text{g}$ .

Se obtuvo una densidad de (0,8445  $\text{g}/\text{cm}^3$ ), viscosidad (1,5513  $\text{mPa}$ ); pH (6,6), conductividad (0,064), sólidos totales (11,75).

A continuación, se muestra la tabla de la caracterización del extracto etanólico del cedrón.

**Tabla 14:** Caracterización físico química del extracto hidroalcohólico del cedrón

<b>Parámetros</b>	<b>Unidades</b>	<b>Extracto hidroalcohólico</b>
<b>Densidad</b>	( $\text{g}/\text{cm}^3$ )	0,8445
<b>Viscosidad relativa</b>	( $\text{mPa}$ )	1,5513
<b>pH</b>	-----	6.6
<b>Conductividad</b>	-----	0,064
<b>Sólidos totales</b>	( $\text{g}/100\text{mL}^{-1}$ )	11,75

**Elaborado por:** Maldonado, N & Reinoso, O.

Con respecto al pH, este expresa la concentración de iones hidronio [ $\text{H}_3\text{O}^+$ ] presentes en determinadas sustancias. El pH del extracto hidroalcohólico de las hojas de cedrón fue de 6,6 el cual posee un carácter relativamente ácido, de forma similar a lo informado por (Yugán Dayana, 2019).

En un estudio realizado por Cebrián J. Diccionario Integral (2012) indica un rango de pH de 5.26 – 6.26 para plantas medicinales, determinando que no se encuentra dentro del rango. Este puede estar dado a que los compuestos presentes en los extractos están en forma disociada y poseen cargas que dificultan los procesos de transporte pasivo en las membranas celulares. (Pérez-Portero et al., 2016)

La densidad relativa de *Aloysia citrodora paláu* (cedrón) es de 0.8445 g/cm<sup>3</sup>; mismo que no se encuentra dentro del rango de 0.9628 – 1.0689 g/cm<sup>3</sup> según un estudio realizado por Cebrián J. Diccionario Integral de plantas medicinales.

En este sentido, Pérez-Portero et al. (2016) refirieron que la conductividad, al ser una medida de la fuerza iónica del medio, está estrechamente relacionada con el pH, los valores de la conductividad en un extracto acuoso son diez veces mayores que los de un extracto hidroalcohólico, lo cual es indicativo de las diferentes proporciones de las sustancias disueltas en dichos extractos.

Según Ochoa et al. (2013) afirman que los valores en sólidos totales, densidad relativa, pH, fenoles totales y flavonoides totales en el extracto, aumentan en medida en que la concentración del disolvente aumenta.

En la tabla 14 se muestra las características organolépticas del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Aloysia citrodora paláu*. (cedrón) mismo que presentó un color verde oscuro, olor característico y aspecto líquido opaco.

**Tabla 15:** *Características organolépticas del extracto hidroalcohólico del cedrón*

<b>Parámetro</b>	<b>Extracto hidroalcohólico</b>
Color	Verde oscuro
Olor	Característico del cedrón
Aspecto	Líquido opaco

**Elaborado por:** Maldonado, N. & Reinoso, O.

Según Paulino Viveros (2011) afirma que los extractos bien preparados deben tener un color gris o café; nunca deben ser negros. En cuanto al sabor y el olor deberían ser igual al de la planta de que proceden. Sin embargo, casi todos poseen un olor característico, olor que se hace más potente por adición de pequeña cantidad de solvente. Su aspecto debe ser liso y homogéneo, excepto aquellos que contienen sales minerales.

## **11. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS)**

### **11.1. *Impacto técnico***

Ofrecer a la industria alimentaria las condiciones óptimas para una mayor extracción de compuestos fenólicos con relación a su actividad antioxidante y posterior aplicación como un ingrediente aditivo o antioxidante natural para generar alimentos más saludables.

### **11.2. *Impacto social***

Se busca que este extracto hidroalcohólico del cedrón, se tome como una iniciativa importante para su producción de forma regular, y con ello mejorar la calidad de los alimentos, y a la vez generar un mejor desarrollo en el ámbito económico.

### **11.3. *Impacto ambiental.***

Al ser este un extracto natural se incentiva a las industrias alimentarias a utilizarlo, ya que permitirá mejorar el impacto ambiental, debido que el uso de ciertos productos químicos llega a afectar la salud de los consumidores.



## 12. PRESUPUESTO

**Tabla 16:** Presupuesto para la optimización del proceso hidroalcohólico del cedrón.

Recursos	Cantidad	Unidad	V. unitario \$	V. total \$
<b>Equipos</b>				
Estufas	1	120	1,344	11,20
Espectrofotómetro	1	120	2,538	21,13
Balanza analítica.	1	120	3,545	30,00
Baño María	1	120	993,83	8,30
Molino manual	1	120	25,00	0,20
Bomba al vacío	1	120	140,00	1,15
<b>SUB-TOTAL</b>			<b>\$ 71,98</b>	
<b>Materiales y suministros</b>				
Frascos de vidrio 250 ml	2	U	1,35	2,70
Papel aluminio	1	U	1,50	1,50
Papel Traza	1	U	6,50	6,50
Pipetas	4	U	3,60	14,40
Micropipeta	1	U	85,00	85,00
Balones aforados de 10 ml	2	U	14,5	29,00
Tubos de ensayo	12	U	1,50	18,00
Matraz Erlenmeyer 250 ml	12	U	3,00	36,00
Matraz Erlenmeyer 100 ml	15	U	2,20	33,00
Balones aforados de 100 ml	3	U	6,05	18,15
Balones aforados de 50 ml	4	U	7,30	29,20
Vasos de precipitación (50 ml).	2	U	4,00	8,00
<b>SUB-TOTAL</b>			<b>\$ 281,45</b>	
<b>Material bibliográfico y fotocopias</b>				
Esferos	4		0,40	1,60
Marcadores	2		0,75	1,50
Adhesivos	2		0,50	1,00
Impresiones	250		0,05	12,50
<b>SUB-TOTAL</b>			<b>\$ 21,60</b>	
<b>Materia prima</b>				
Cedrón	5	Kg	2,00	10,00
<b>SUB-TOTAL</b>			<b>\$ 10,00</b>	

<b>Reactivos</b>				
Reactivo TPTZ	1	mL	800	800,00
Carbonato de sodio	1	mL	65	65,00
Etanol	1	mL	120,00	120,00
Ácido Gálico	1	mL	103,65	103,65
Folin	1	mL	95,85	95,85
<b>SUB-TOTAL</b>			<b>\$ 1184,50</b>	
<b>Análisis</b>				
Tamizaje fitoquímico	3	g	75,00	225,00
<b>SUB-TOTAL</b>				
<b>Gastos varios</b>				
Internet	4	Mes	21,50	86,00
<b>SUB-TOTAL</b>			<b>\$ 86,00</b>	
<b>Sub -Total</b>				<b>1655,53</b>
<b>Imprevistos 12 %</b>				
<b>Total</b>				<b>1880,53</b>

**Elaborado por:** Maldonado, N. & Reinoso, O.

## 13. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 13.1. Conclusiones

- Se identificó los compuestos bioactivos presentes en los extractos etéreo, etanólico y acuoso de las hojas del cedrón, destacándose entre estos: compuestos grasos, esteroides, catequinas, azúcares reductores, saponinas, compuestos fenólicos, quinonas, flavonoides, mucilagos y principios amargos.
- Mediante los datos experimentales se realizó la optimización numérica de proceso de extracción, obteniéndose la solución optimizada de acuerdo a las restricciones establecidas a condiciones de concentración de etanol a 90%, tiempo de 24h y temperatura de 60°C, con una deseabilidad de 0,87.
- Mediante la comprobación numérica de la optimización del proceso de extracción hidroalcohólico del cedrón, los valores obtenidos en laboratorio; contenido de polifenoles 0,28 mg EAG/g y capacidad antioxidante 909,36 uM de Fe<sup>2+</sup>/g, tuvieron similitud a los valores predichos; contenido de polifenoles 0,26 mg EAG/g y capacidad antioxidante 890,10 uM de Fe<sup>2+</sup>/g, por lo que se puede manifestar que existe similitud en los valores.
- La caracterización físico química realizada al extracto optimizado del cedrón obtuvo una densidad de 0,8445 g/cm<sup>3</sup>; viscosidad relativa 1,5513 mPa; pH 6,6 conductividad de 0,064; sólidos totales 11,75 (g/100mL<sup>-1</sup>) y sus características organolépticas fueron: color verde oscuro, olor característico del cedrón y aspecto líquido opaco.

### 13.2. *Recomendaciones*

- El estado de madurez fisiológica de la planta influye directamente en los resultados, debido a que las hojas jóvenes contienen mayor cantidad de componentes bioactivos a diferencia de las hojas adultas, por ello se recomienda trabajar con hojas jóvenes antes de floración.
- El proceso de secado debe ser minucioso en cuanto a la temperatura, esta no debe sobrepasar los 40°C, debido a que los componentes bioactivos de importancia suelen ser volátiles a temperaturas altas.
- La caracterización fitoquímica se debería realizar de forma cuantitativa, mediante la utilización de métodos cromatográficos para una mejor cuantificación de los compuestos bioactivos de interés en la droga cruda.
- Para la extracción se recomienda emplear solventes verdes como una opción ecoamigable y sostenible ante solventes volátiles peligrosos, ya que estos poseen una síntesis muy simple, baja toxicidad y se pueden obtener de fuentes renovables.
- Dar continuidad a la investigación, con una posible microencapsulación del extracto, debido a que se constató que el cedrón posee compuestos fenólicos de interés dentro de la industria alimentaria.

#### 14. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.

**Tabla 17:** Cronograma de trabajo en el plan de investigación

ACTIVIDADES	NOVIEMBRE				DICIEMBRE				ENERO				FEBRERO				MARZO			
	Semanas				Semanas				Semanas				Semanas				Semanas			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
<b>Actividad 1.</b> Designación de tema de Titulación II.		x																		
<b>Actividad 2.</b> Aprobación del tema de proyecto.			x																	
<b>Actividad 3.</b> Designación de tutor.				x																
<b>Actividad 4.</b> Información general.				x																
<b>Actividad 5.</b> Justificación del proyecto.					x															
<b>Actividad 6.</b> Beneficiarios del proyecto					x															
<b>Actividad 7.</b> El problema de investigación.						x														
<b>Actividad 8.</b> Planteamiento de objetivos.						x														
<b>Actividad 9.</b> Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos planteados.						x														
<b>Actividad 10.</b> Fundamentación científica técnica.							x													
<b>Actividad 11.</b> Metodología y diseño experimental.								x	x	x										
<b>Actividad 12.</b> Análisis y discusión de resultados											x	x								
<b>Actividad 13.</b> Presupuesto para la elaboración del Proyecto.													x							
<b>Actividad 14.</b> Revisión de proyecto de investigación por parte del tutor.													x							
<b>Actividad 15.</b> Auditoría académica.													x							
<b>Actividad 16.</b> Aprobación de informe de auditoría.														x	x					
<b>Actividad 17.</b> Entrega de proyecto del trabajo de investigación anillado al tribunal de lectores.																x				
<b>Actividad 18.</b> Sustentación de proyecto de investigación.																	x			
<b>Actividad 19.</b> Informe del resultado final del proyecto de investigación.																		x	x	

## 15. BIBLIOGRAFÍA

- Alonso, J. (2003). Photoprotective properties of a hydrophilic. *Journal of Photochemistry and Photobiology B*, 31-37.
- Alvarado, E. (2005). Obtención, Caracterización y Evaluación de las Propiedades Físico-Químicas de los extractos Fluidos, Blandos y Secos así como las Tinturas Del Rizoma y de la Fronda de Calahuala (*Phlebodium Pseudoaureum*) a nivel de Laboratorio. *Universidad de San Carlos de Guatemala*, 61-70.
- Alvarez, E. (2017). Extractos vegetales. *Alimentos Ciencia e Ingeniería*.
- Bahramsoltani, R., Rostamiasrabadi, P., Shahpiri, Z., Marques, A., Rahimi, R., & Hosein, M. (2018). *Aloysia citrodora* Paláu (Lemon verbena): a review. *Journal of Ethnopharmacology*.
- Bravo, L. (1998). "Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutritio Reviews*, 317.
- Bruneton, J. (2001). *Farmacognosia. 2da Edición*, 227-305.
- Calderón, D. (2007). "Extraction of phenolic compounds from free tomato (*Solanum betaceum* Sent)", . *Tesis previa a la obtención del TTítulo de Master of Science in Food Technology University Gent y Katholieke Universiteit Leuven* , 22-25.
- Carnat A, Carnat A, Fraisse D, & Lamaison J. (1999). The aromatic and polyphenolic composition of lemon verbena tea. *Fitoterapia* , 70, 40-49.
- Carpio, M. (2007). "Sólidos Totales Secados A 103 – 105°C". *IDEAM(Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales)*, 2.
- Cartaya, A., & Reynaldo. (2001). FLAVONOIDES: Características Químicas y Aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 22(2), 15-14.
- Chifa, C., & Ricciardi, A. (2001). Plantas de uso en medicina vernácula del centro del Chaco argentino. *Miscelánea* 117.

- Colegate, S., & Molyneux, R. (2007). *Bioactive Natural Products: Detection, Isolation, and Structural Determination*. Second Edition. *CRC Press*.
- Cubides, A., & González, E. (2002). *Farmacognosia*. 185-192.
- DerMerderosian, A., & Beutler, R. (2002). The review of natural products: the most complete source of natural product information. *Facts and Comparisons*.
- Dias, D., Urban, S., & Roessner, U. (2012). A Historical Overview of Natural Products in Drug Discovery. doi:<http://doi.org/10.3390/metabo>
- Duhamel, H. (1809). *Traité des arbres et arbustes*. 4.
- Elechosa, M., Lira, P., Juárez, M., Carmen, I., Viturro, C., Heit, C., . . . López, S. (2017). Quimiotipos de aceites esenciales de *Aloysia citrodora* (Verbenaceae) en el noroeste de Argentina. *Bioquímica*.
- Endara, L., Soria, S., & Pozo, F. (2008). *Medicina Tradicional Andina y Plantas Curativas, Herbolario de Plantas Curativas y Medicinales*. Quito, Ecuador : Ministerio de Salud Pública, Programa de Apoyo al Sector Salud en el Ecuador.
- Georgé, S., Brat, P., Alter, P., & Amiot, M. (2005). "Rapid Determination of polyphenols and Vitamin C in Plant-Derived Products". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53.
- González, A. (2004). Obtencion de Aceites Esenciales y Extractos Etanólicos de las plantas del Amazona. *Proyecto de titulación previa a la obtencion del título de Ingeniero Químico, Universidad Nacional de Colombia*, 5-15.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. (2005). "The chemistry behind antioxidant capacity assays". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1841-1856.
- Jones, C. G., & Hartley, E. (1999). A protein competition model of phenolic allocation. *OIKOS* 86, 27-44.
- Kaneira, M., & Chanda, K. (2011). Antioxidant and chelating properties of flavonoids. *Adv Pharmacol*.
- Kuklinski, K. (2003). *Farmacognosia*. 32-39.

- Machenix, J., Fleuriot, J., & Billot, J. (2000). Fruit Phenolics. *CRC Press Inc*, 246-275.
- Malvern Panalytical. (2021). Viscosidad y medición de la viscosidad. Recuperado el 12 de Febrero de 2021, de <https://www.malvernpanalytical.com/es/products/measurement-type/viscosity>
- Martínez, H., Guzmán, H., Hernández, E., & Audivert, Y. (2006). CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DEL EXTRACTO ACUOSO DE ZUELANIA SP. *Revista Cubana de Química*, 260-263.
- Matsuki, M. (1996). Regulation of plant phenolic synthesis: from biochemistry to ecology and evolution. *Aust J bot* 44, 613-634.
- Miranda, M., & Cuellar. (2000). Manual de prácticas de laboratorio: Farmacognosia y productos naturales. *Cubana plantas y Medicinas*, 21(4), 95-94.
- Montiel, M. (1978). *La Flora*. Universidad de Costa Rica.
- Ochoa, A., Marin, J., Rivero, D., & Aguilera, E. (2013). Physical, physical-chemical and chemical characterization of total extracts of fresh leaves from *Petiveria alliacea* L. with antimicrobial action. *SCIELO*.
- Ojeda, D., Jiménez-Ferrer, E., Zamilpa, A., Herrera-Arellano, A., Tortoriello, J., & Álvarez, L. (2010). Inhibition of angiotensin convertin enzyme (ACE) activity by the anthocyanins delphinidin- and cyanidin-3-O-sambubiosides from *Hibiscus sabdariffa*. *Journal Ethnopharmacol*, 127, 7-10.
- Padilla, F. C., Rincón, A. M., & Bou-Rached, L. (2008). Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. *ALAN (Archivos Latinoamericanos de Nutrición)*. Obtenido de <https://www.alanrevista.org/ediciones/2008/3/art-14/>
- Panchi, P., & Shulca, C. (2020). ESTUDIO DEL PERFIL FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS, ETÉREO Y ACUOSO DEL CEDRÓN (*Aloysia citrodora paláu*). Recuperado el 10 de Febrero de 2021
- Pascual, M., Slowing, K., Carretero, E., Sánchez, M., & Villar, A. (2001). *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 201-204.
- PDR. (2007). PDR para medicinas herbales. *Thomson Reuters*.



- Pereira, S., Vega, D., Almeida, M., & Morales, G. (2009). Tamizaje fitoquímico de los Extractos Alcohólico, etéreo y acuoso de las hojas de la *Trichilia hirta* L. *Química Viva*, 196-200.
- Pérez, T. (2009). Obtención de Extractos a partir de Plantas Medicinales. Recuperado el 5 de Octubre de 2020, de <http://www.monografias.com/trabajos66/extractos-plantas-medicinales/extractos-plantas-medicinales.shtml>
- Pérez-Portero, Y., Rodríguez-Leblanch, E., Aguilar-Navarro, B., González-Pérez, M., & Hung-Guzmán, B. (2016). Physico-chemical characterization of extracts of *Spondias mombin* L. *SCIELO*. Obtenido de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2224-54212016000100008](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-54212016000100008)
- Piazzon, U., Vrhovsek, D., Masuero, F., Mattivi, F., Mandoj, & Nardini, M. (2012). "Antioxidant activity of phenolic acids and their metabolites: Synthesis and antioxidant properties of the sulfate derivatives of ferulic and caffeic acids and of the acyl glucuronide of ferulic acid,". *J. Agric. Food Chem.* Obtenido de <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/29781/1/2.%201583-4794-2-PB.pdf>
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M. (2005). Antioxidantes de los alimentos: Aplicaciones Prácticas. 87-110, 141-187.
- Quiñones, M., Miguel, M., & Alexandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 78-80.
- Ricco, R. A., Wagner, M. L., & Gurni, A. A. (2011). Dinámica de polifenoles de "Cedrón" (*Aloysia citrodora* Palau -Verbenaceae-) en relación al desarrollo foliar. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 3-9. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/856/85618182008.pdf>
- Ricco, R. A., Wagner, M. L., & Gurni, A. A. (s.f.). Dinámica de polifenoles de "Cedrón" (*Aloysia citrodora* Palau -Verbenaceae-) en relación al desarrollo foliar.
- Sánchez, F. (2006). II Congreso Nacional de Plantas Medicinales y Aromáticas. *Extracción de Aceites Esenciales*. Palmira: Universidad Nacional de Colombia. Obtenido de [http://sisav.valledelcauca.gov.co/CADENAS\\_PDF/AROMATICAS/c05.pdf](http://sisav.valledelcauca.gov.co/CADENAS_PDF/AROMATICAS/c05.pdf)

- Santos-Gomes, P., Fernandes-Ferreira, M., & Vicente, A. (2005). Composition of the essential oils from flowers and leaves of Vervain (*Aloysia triphylla* (L'Herit.) Britton) grown in Portugal. *Journal of Essential Oils Research* , 73-78.
- Sharapin , N., Machado , L., Souza, E., Rocha , E., Valverde , E., Lopes, J., . . . CYTED. (2000). *Fundamentos Tecnológicos de Productos Fitoterapéuticos*. Santafé de Bogotá: Azucena Martínez.
- Slinkard, K., & Singleton , V. (1997). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *Am.J.Enol.Vitic*, 28,49-55.
- Stalikas, C. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids". *Journal of Separation Science*.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). plant physiology. *4ta Edición* , 322-329.
- Thormar, H. (2011). Lipids and Essential Oils as Antimicrobiological Agents. *Chichester* .
- Toursakissian, M. (1980). Plantas Medicinales Argentinas Hemisferio Sur. *1° Edición* , 131-135.
- TP. Laboratorio Químico. (2017). Densidad. *TP. Laboratorio Químico*. Recuperado el 12 de Febrero de 2021, de <https://www.tplaboratorioquimico.com/quimica-general/las-propiedades-de-la-materia/densidad.html>
- Troncoso , N. S. (1974 a). Los géneros de Verbenaceae de Sudamérica extratropical (Argentina, Chile, Bolivia, Paraguay, Uruguay y sur de Brasil). *Darwiniana* 18, 295-412.
- Troncoso, N. S. (1979 b). Verbenaceae. Flora de la provincia de Jujuy. Parte IX Verbenaceae a Caliceraceae. *Burkart A.*, 1-115.
- UDELER. (2001). Preparación de extractos. Recuperado el 15 de 10 de 2020, de <http://mail.fq.edu.uy/~planta/pdf/FarmacognosiaPE80/PREPARACIONEXTRACTOS.pdf>
- Valencia. (1995).
- Valencia-Aviles, E., Figueroa, I., Sosa-Martínez, E., Bartolomé-Camacho, M. C., Martínez-Flores, H. E., & García-Pérez, M. E. (2017). Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas. *Facultad de Químico-Farmacobiología. Universidad Michoacana de San*

- Nicolás de Hidalgo.Tzinzuntzan 173.*, 5-10. Obtenido de <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/29781/1/2.%201583-4794-2-PB.pdf>
- Valencia-Ortiz, C. (1995). Fundamentos de Fitoquímica.
- Vélez , E., Armas , H., Jaramillo , C., Echavarría, A., & Isitua, C. (2019). Fitoquímica De Lippia Citriodora K cultivada en Ecuador y su actividad biológica. *CIENCIA UNEMI* , 9-19.
- Veléz, A. (2015). *Análisis Farmacognóstico de lo Órgans Botánicos Del Cedrón*. MACHALA.
- Villacrés, V., Urgilés , R., Tafur , V., & Suárez, M. (1995). Bioactividad de plantas amazónicas. *Organización de Estados Americanos, Universidad Central del Ecuador*.
- Yugán, D. (2019). “Formulación y Control de Calidad de un Fotoprotector a Base de Cedrón (Aloysa triphylla)”. *Trabajo previo a la obtención de título de Bioquímica Farmacéutica*, 60-65. Obtenido de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/10642/1/56T00863.PDF>

## 16. ANEXOS

Anexo 1: Aval de inglés.



CENTRO DE IDIOMAS

### ***AVAL DE TRADUCCIÓN***

En calidad de Docente del Idioma Inglés del Centro de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi, en forma legal **CERTIFICO** que: La traducción del resumen del proyecto de investigación al Idioma Inglés presentado por los Egresados de la Carrera de INGENIERIA EN AGROINDUSTRIA de la FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES: MALDONADO TOAPANTA NATALI MANUELA y REINOSO UNAUCHO OSCAR JULIO, cuyo título versa "OPTIMIZACION DEL PROCESO DE EXTRACCION HIDROALCOHOLICA A PARTIR DEL CEDRON (*Alouisia citrodoros Palán*) EN FUNCIÓN DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.", lo realizaron bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del idioma.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo a los peticionarios hacer uso del presente certificado de la manera ética que estimaren conveniente.

Latacunga, marzo del 2021

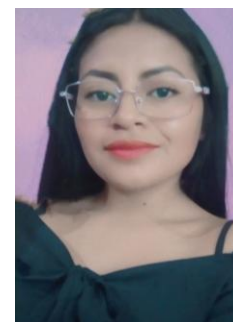
Atentamente,

Mg. Patricia Marcela Chacón Porras  
DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS  
C.C. 0502211196

1803027935  
Firmado digitalmente por  
VICTOR HUGO ROMERO GARCIA  
ROMERO HUGO ROMERO GARCIA  
GARCIA  
Fecha: 2021.03.04  
16:10:31 -05'00'

*Anexo 2: Datos del tutor.*

CÉDULA DE CIUDADANÍA	:	0502645435	
FECHA DE NACIMIENTO	:	15/10/1984	
ESTADO CIVIL	:	Casado	
CIUDAD	:	Latacunga	
DOMICILIO	:	La Merced, Quijano y Ordoñez y Juan Abel Echeverría 7-60	
TELÉFONO	:	032802455/0999084592	
LUGAR/OCUPACIÓN ACTUAL	:	DOCENTE UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI	
TELÉFONO	:	0322253162	
CORREO ELECTRÓNICO	:	rojas_orlando1984@hotmail.com	

*Anexo 3: Datos de los estudiantes***DATOS PERSONALES:****Nombres:** Natali Manuela**Apellidos:** Maldonado Toapanta**Cedula de identidad:** 175364917-5**Fecha de Nacimiento:** 15 de junio de 1996**Edad:** 24 años**Lugar de Nacimiento:** Yaruqui.**Estado Civil:** Soltera**Domicilio:** Barrio La Delicia, Parroquia Checa

**Contactos:** 0969417099/02-2301245

**E-mail:** natali.maldonado9175@utc.edu.ec

---

**ESTUDIOS REALIZADOS:**

**Primaria**

Unidad Educativa "Cristo Rey"

**Secundaria**

Unidad Educativa "Tres de Diciembre"

**Superior**

Universidad Técnica de Cotopaxi

---

**TÍTULOS OBTENIDOS:**

**Secundaria**

Bachiller Figura profesional en Bares y Restaurantes.

**Superior**

Egresada en Ingeniería Agroindustria

---

**CURSOS REALIZADOS:**

- SEMINARIO EN LÍNEA SOBRE LA APLICACIONES DE LOS MUCÍLAGOS EN EL SECTOR AGROALIMENTARIO 2020.
- I SEMINARIO EN BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA 2020.

---

Firma

**DATOS PERSONALES:**

**Nombres:** Oscar Julio

**Apellidos:** Reinoso Unaucho

**Cedula de identidad:** 172767399-6

**Fecha de Nacimiento:** 17 de agosto de 1997

**Edad:** 23 años

**Lugar de Nacimiento:** Tupigachi

**Estado Civil:** Soltero

**Domicilio:** Comunidad Florencia bajo- Via Otavalo

**Contactos:** 0983889891

**E-mail:** oscar.reinoso3996@utc.edu.ec



---

**ESTUDIOS REALIZADOS:****Primaria**

Unidad Educativa "Juan Vicente Morales"

**Secundaria**

Colegio "Técnico Cayambe"

**Superior**

Universidad Técnica de Cotopaxi

---

**TÍTULOS OBTENIDOS:****Secundaria**

Bachiller Explotaciones Agropecuarias.

**Superior**

Egresado en Ingeniería Agroindustria

---

Firma

*Anexo 4: Recolección de la materia prima cedrón*

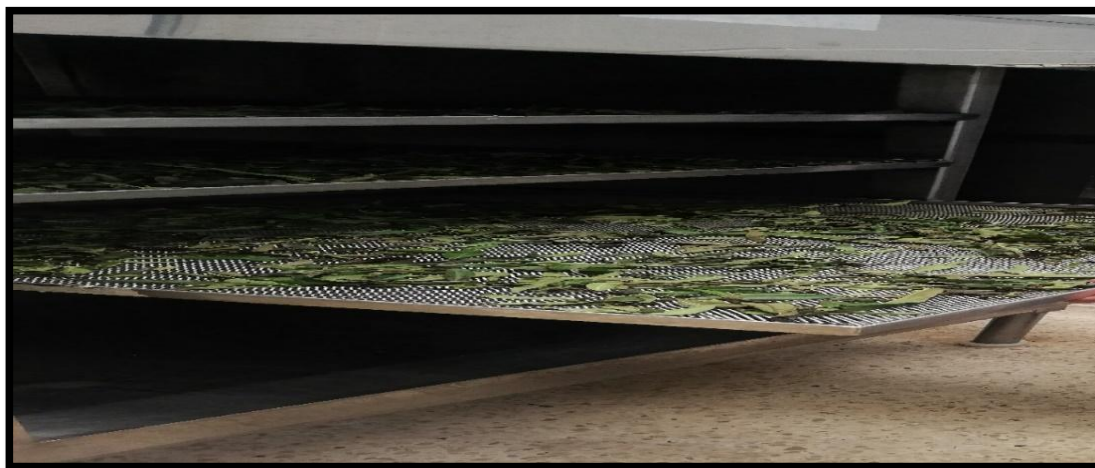


*Anexo 5: Pesado de la muestra de cedrón*





*Anexo 6: Deshidratación de las hojas de cedrón*



*Anexo 7: Molido de las hojas de cedrón*



*Anexo 8: Muestras de cedrón molido*



*Anexo 9: Pesado de cedrón molido para preparación de corridas experimentales*



*Anexo 10: Corridas experimentales*



*Anexo 11: Lectura de datos para análisis estadísticos*

