



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS**  
**NATURALES**  
**CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

---

**“OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN HIDROALCOHÓLICA A PARTIR DEL SUNFO (*Clinopodium nubigenum Kuntze*) EN FUNCIÓN DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE”.**

---

Proyecto de investigación presentado previo a la obtención del Título de Ingenieras Agroindustriales

**Autoras:**

Alvarez Castro Pamela Yessenia

Arcos Yáñez Erika Patricia

**Tutor:**

Rojas Molina Jaime Orlando Mg.

**LATACUNGA – ECUADOR**

**Marzo 2021**

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Pamela Yessenia Alvarez Castro, con cédula de ciudadanía No. 0503408411; y, Erika Patricia Arcos Yáñez, con cédula de ciudadanía No. 1805064712 ; declaramos ser autores del presente proyecto de investigación: “Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir del sunfo (*Clinopodium nubigenum Kuntze*)” en función del contenido 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

Alvarez Castro Pamela Yessenia  
Estudiante  
CC: 0503408411

Arcos Yáñez Erika Patricia  
Estudiante  
CC: 1805064712

Quim. Mg. Jaime Orlando Rojas Molina  
Docente Tutor  
CC: 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 **ALVAREZ CASTRO PAMELA YESSSENIA**, identificada con cédula de ciudadanía **0503408411** 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 Agroindustria**, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado **“Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir del sunfo (*Clinopodium nubigenum Kuntze*)” en función del contenido de polifenoles totales y actividad antioxidante**”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

### **Historial Académico:**

Inicio de la carrera: Abril 2016 – Agosto 2016

Finalización: Octubre 2020 – Marzo 2021

Aprobación en Consejo Directivo. - 26 de enero del 2021

Tutor: Quím. Mg. Jaime Orlando Rojas Molina

Tema: **“Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir del sunfo (*Clinopodium nubigenum Kuntze*) en función del contenido 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 la 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 05 días del mes de marzo del 2021.

Alvarez Castro Pamela Yessenia  
**LA CEDENTE**

Ph.D. Nelson Rodrigo Chiguano Umajinga  
**LA CESIONARIA**

## 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 **ARCOS YÁNEZ ERIKA PATRICIA**, identificada con cédula de ciudadanía 1805064712 de estado civil soltera, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, el Ing. Ph.D. Nelson Rodrigo Chiguanu 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 Agroindustria**, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado **“Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir del sunfo (*Clinopodium nubigenum Kuntze*)” en función del contenido de polifenoles totales y actividad antioxidante**”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

Historial Académico:

Inicio de la carrera: Abril 2016 – Agosto 2016

Finalización: Octubre 2020 – Marzo 2021

Aprobación en Consejo Directivo. - 26 de enero del 2021

Tutor: Químico Jaime Orlando Rojas Molina

Tema: **“Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir del sunfo (*Clinopodium nubigenum Kuntze*) en función del contenido 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 la 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 05 días del mes de marzo del 2021.

Arcos Yáñez Erika Patricia  
**LA CEDENTE**

Ph.D. Nelson Rodrigo Chiguano Umajinga  
**LA CESIONARIA**

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

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

**“OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN HIDROALCOHOLICA A PARTIR DEL SUNFO (*Clinopodium nubigenum Kuntze*) EN FUNCION DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE”** de Alvarez Castro Pamela Yessenia y Arcos Yáñez Erika Patricia, de la Carrera de Agroindustria, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también han incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

Latacunga, 05 de marzo del 2021

Químico Jaime Orlando Rojas Molina  
**DOCENTE TUTOR**  
CC:0502645435

## **AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos 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: Alvarez Castro Pamela Yessenia y Arcos Yáñez Erika Patricia, con el título del Proyecto de Investigación “OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN HIDROALCOHOLICA A PARTIR DEL SUNFO (*Clinopodium nubigenum Kuntze*) EN FUNCION DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE” , han 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 del 2021

### **Lector 1 (presidente)**

Ing. MSc. Gabriela Beatriz Arias Palma  
CC: 1714592746

### **Lector 2**

Ing. Mg. Manuel Enrique Fernández  
Paredes  
CC: 0501511604

### **Lector 3**

Ing. Mg. Edwin Ramiro Cevallos Carvajal  
CC: 0501864854

## **AGRADECIMIENTO**

*A Dios y a la Virgencita, por acompañarme en el día a día, por llenarme de bendiciones, por haberme dado la vida junto a mi familia.*

*A mis abuelitos, por darme lo más valioso del mundo, mis padres. Gracias por el apoyo brindado.*

*A mi padre que siempre ha sido el mejor consejero, que me enseñó valores, que siempre me guio en mis sueños, por ser mi mejor ejemplo de perseverancia y lucha. A mi madre, que todos los días estuvo pendiente, que no se fijó en la hora ni el momento siempre estuvo a mi lado aconsejándome, guiándome, exigiéndome cada día para salir adelante, que veló por mi día y noche. Gracias madre por ser el pilar de nuestra familia.*

*A mis hermanos Carlos y Jonathan por siempre estar pendiente de mí, brindándome su apoyo incondicional y por haberme ayudado en todo lo que estuviese en sus manos.*

*A mi tía Cecilia por haber ocupado el papel de una segunda madre, un papel que lo cumplió con todo el cariño.*

*A July por estar apoyándome siempre, por sus consejos, por sus palabras que siempre estuvo para ayudarme a pesar de estar lejos.*

*A Erika mi amiga y compañera de proyecto de investigación por su dedicación y perseverancia.*

*A una persona especial quien me aconsejo, sin duda me apoyo y me sostuvo cuando más he necesitado*

*Pamela Y. Alvarez C.*

## **AGRADECIMIENTO**

*Agradezco a Dios por ser mi apoyo y fortaleza guiándome en etapas de dificultad y debilidad, bendiciendo mi vida.*

*A mis padres: Rubén y Elvia, por ser los impulsores de mis sueños, por confiar en mí, por los consejos, los valores y principios que me han inculcado.*

*A mis hermanos Christopher, Leonardo y Marilyn por su cariño, apoyo incondicional, por estar conmigo en todo momento.*

*A mis Abuelitos Héctor y María por su amor y apoyo incondicional, pese a las adversidades e inconvenientes que se presentaron.*

*A mis tíos Luis y Digna por todos sus consejos y apoyo incondicional que día a día ayudaron a trazar mi camino.*

*A Pamela por haber sido una excelente compañera de proyecto de investigación y amiga, por todas las experiencias que hemos vivido juntas.*

*A una persona muy especial por confiar, creer en mí y por todo su apoyo incondicional y por soportar mis ratos de histeria.*

*Son muchas las personas que han formado parte de mi vida a las que me gustaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida. Algunas están aquí conmigo, otras en mi memoria y en mi corazón, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.*

Erika P. Arcos Y.

## **DEDICATORIA**

*Se la dedico a las personas que siempre confiaron en mí, que forman parte de mi vida, que han marcado cada uno de mis pasos, que me supieron dar la mano cuando más lo necesitaba, que no pusieron una excusa para ayudarme.*

*Se la dedico a Dios y a mis angelitos en el cielo, que siempre me guiaron y me llenaron de bendiciones.*

*A mis abuelitos quienes me enseñaron que con trabajo y esfuerzo se consiguen grandes cosas.*

*A mis padres que siempre me dedicaron tiempo, por darme lo necesario para poder estudiar, por ser mis amigos, mis compañeros, por estar cada día pendientes de mí, por cuidarme en mis enfermedades por ser mi ejemplo a seguir, por enseñarme que lo más importante en la vida es la familia y el estudio, por ser los mejores padres del mundo.*

*Se la dedico a mis hermanos porque en esta vida todo es posible con esfuerzo y dedicación se consiguen las cosas.*

*A mis tíos y primos, por sus consejos, palabras y su tiempo para enseñarme.*

*A todos mis amigos quienes me brindaron su apoyo, sus consejos, por ser como unos hermanos durante toda mi etapa formativa, gracias por compartir gratos momentos.*

*Pamela Y. Alvarez C.*

## **DEDICATORIA**

*Se la dedico a mis padres, Rubén y Elvia por ser el pilar más importante de mi vida quienes con su esfuerzo y amor, me han apoyado incondicional.*

*A mis abuelitos Héctor y María, por compartir momentos significativos conmigo y por siempre estar dispuestos a escucharme y ayudarme en cualquier momento. Por darme el amor más dulce.*

*A mis hermanos Cristopher, Leonardo y Marilyn. por su cariño, apoyo incondicional, durante todo este proceso, por estar conmigo en todo momento.*

*A mis tíos Luis y Digna por ser incondicionales, por todo el amor y el apoyo que me han dado.*

*A mi bisabuelita, Elena por aconsejarme, por esos abrazos tan cálidos y la sonrisa tan hermosa que la iluminaba cuando planeábamos como festejaríamos, pero desde el cielo bailara.*

*A todas las personas que me han apoyado de manera incondicional en cada sueño y meta ayudándome a ser mejor persona, con todas las experiencias que jamás las olvidare.*

Erika P. Arcos Y.

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

**TÍTULO:** “OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN HIDROALCOHÓLICA A PARTIR DEL SUNFO (*Clinopodium nubigenum Kuntze*) EN FUNCIÓN DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE”

**AUTORAS:** Alvarez Castro Pamela Yessenia

Arcos Yáñez Erika Patricia

**RESUMEN**

El presente trabajo se realizó con el fin de optimizar el proceso de extracción hidroalcohólica de la droga cruda a partir de la planta de “Sunfo”; por tanto, se deshidrató la planta en una estufa por 4 horas a 40°C. Las corridas se establecieron mediante el programa Desig Expert 8.0.6 en el que determino 23 corridas con diferentes las variables como: concentración de etanol (60%, 75%, 90%), tiempo (6h, 15h y 24h) y temperatura (30°C y 60°C) de extracción. El sunfo al ser una planta aromática posee compuestos fenólicos que están conformados por ácidos orgánicos como antioxidantes. Según el análisis del perfil fitoquímico realizado se destaca compuestos químicos como: flavonoides, triterpenos, quinonas, saponinas, alcaloides y azúcares reductores. Al someter la droga cruda a una solución hidroalcohólica se determinó el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de las diferentes corridas experimentales con los distintos factores. Se comprobó el proceso de optimización numérica de la extracción hidroalcohólica, mediante una comparación de los valores experimentales de polifenoles totales (0,23mg/g) y actividad antioxidante (825,3 $\mu$ molFe<sup>2+</sup>/g), con los obtenidos de la optimización polifenoles totales (0,20mg/g) y actividad antioxidante (814,18 $\mu$ molFe<sup>2+</sup>/g). Los valores obtenidos por medio de la experimentación resultaron superiores a los valores de la optimización numérica.

**Palabras claves:** Antioxidante, reductores, optimización, flavonoides, polifenoles.

**TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI**

**FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES**

**Title:** “Optimization of the hydroalcoholic extraction process from sunfo (*Clinopodium nubigenum Kuntze*) depending on the content of total polyphenols and antioxidant activity”

**Authors:** Alvarez Castro Pamela Yessenia

Arcos Yáñez Erika Patricia

**ABSTRACT**

The present work was carried out in order to optimize the hydroalcoholic extraction process of the crude drug from the plant of “Sunfo” therefore, the plant was dehydrated in an oven for 4 hours at 40 ° C. The runs were established using the Desing Expert 8.0.6 program in which I determined 23 runs with different variables such as: ethanol concentration (60%, 75%, 90%), extraction time (6h, 15h and 24h) and temperature (30 ° C and 60 ° C). Sunfo being an aromatic plant has phenolic compounds that are made up of organic acids as antioxidants. According to the analysis of the phytochemical profile carried out, chemical compounds such as: flavonoids, triterpenes, quinones, saponins, alkaloids and reducing sugars stand out. By subjecting the crude drug to a hydroalcoholic solution, the content of total polyphenols and the antioxidant capacity of the different experimental runs with the different factors were determined. The numerical optimization process of the hydroalcoholic extraction was verified, by comparing the experimental values of total polyphenols (0.23mg / g) and antioxidant activity (825.3 $\mu$ molFe<sup>2+</sup> / g), with those obtained from the optimization of total polyphenols (0.20mg / g) and antioxidant activity (814.18 $\mu$ molFe<sup>2+</sup> / g). The values obtained through experimentation were higher than the values of the numerical optimization.

**Keywords:** Antioxidant, reducers, optimization, flavonoids, polyphenols.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN DE AUTORÍA .....	II
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	III
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	VI
AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	IX
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	X
AGRADECIMIENTO .....	XI
AGRADECIMIENTO .....	XII
DEDICATORIA.....	XIII
DEDICATORIA.....	XIV
RESUMEN .....	XV
ABSTRACT .....	XVI
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	XVII
ÍNDICE DE TABLAS.....	XXI
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES .....	XXII
ÍNDICE DE GRÁFICAS .....	XXIII
ÍNDICE DE ANEXOS .....	XXIV
1. INFORMACIÓN GENERAL.....	1
2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO.....	3
3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	5
3.1. <i>Beneficiarios directos:</i> .....	5
3.2. <i>Beneficiarios indirectos:</i> .....	5

4. PROBLEMA.....	6
5. OBJETIVOS .....	8
5.1. <i>Objetivo general:</i> .....	8
5.2. <i>Objetivos específicos</i> .....	8
6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS .....	9
7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA .....	10
7.1. <i>Antecedentes</i> .....	10
7.2. <i>Fundamentación teórica</i> .....	12
7.2.1. Sunfo ( <i>Clinopodium nubigenum Kuntze</i> ) .....	12
7.2.2. Botánica de la planta.....	12
7.2.3. Clasificación taxonómica .....	13
7.2.4. Principios activos del sunfo .....	13
7.2.5. Propiedades Medicinales .....	16
7.2.6. Optimización .....	16
7.2.7. Extracto Hidroalcohólico.....	16
7.2.8. Clasificación de los extractos .....	16
7.2.9. Utilización de extractos vegetales en la industria alimentaria.....	17
7.2.10. Actividad antioxidante.....	18
7.2.11. Clasificación de antioxidantes .....	18
7.2.12. Secado de plantas.....	19
7.2.13. Tamizaje fitoquímico.....	20
7.3. <i>Marco conceptual</i> .....	24
8. VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPOTESIS.....	26
8.1. <i>Hipótesis nula</i> .....	26

8.2. Hipótesis alternativa .....	26
9. METODOLOGÍA / DISEÑO EXPERIMENTAL .....	27
9.1. Tipos de investigación .....	27
9.1.1. Investigación cuantitativa .....	27
9.1.2. Investigación descriptiva .....	27
9.1.3. Investigación experimental.....	27
9.2. Técnicas.....	27
9.2.1. Técnica cualitativa (primaria).....	27
9.3. Materiales y equipos.....	28
9.3.1. Materiales de Laboratorio.....	28
9.3.2. Equipos .....	29
9.3.3. Reactivos .....	29
9.4. Descripción del método de elaboración.....	31
9.4.1. Recolección .....	31
9.4.2. Selección y limpieza de la materia prima.....	31
9.4.3. Secado.....	32
9.4.4. Molido .....	32
9.4.5. Preparación de las muestras.....	32
9.4.6. Obtención del extracto.....	32
9.4.7. Análisis fitoquímico .....	32
9.4.8. Ensayo Frap .....	32
9.4.9. Determinación del contenido de polifenoles totales.....	34
9.5. Diagrama de flujo.....	36
9.6. Diseño experimental.....	37
9.6.1. Factores de estudio .....	37

10. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS .....	39
10.1. Perfil fitoquímico.....	39
10.2. Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica de la droga cruda de sunfo .....	40
10.3. Determinación de polifenoles totales .....	43
10.3.1. Influencia de la concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción sobre el contenido de polifenoles totales .....	43
10.4. Determinación de la actividad antioxidante .....	44
10.4.1. Influencia de la concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción sobre la actividad antioxidante .....	44
10.5. Optimización numérica del proceso de extracción hidroalcohólico de la droga cruda .....	46
10.6. Caracterización del extracto optimizado .....	48
11. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS) .....	50
11.1. Técnicos.....	50
11.2. Sociales.....	50
11.3. Ambientales .....	50
12. PRESUPUESTO.....	51
13. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	53
13.1. Conclusiones.....	53
13.2. Recomendaciones .....	54
14. REFERENCIAS .....	55
15. ANEXOS .....	65

## ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1 Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos planteados.....</i>	<i>9</i>
<i>Tabla 2 Clasificación taxonómica del sunfo (Clinopodium nubigenum Kuntze).....</i>	<i>13</i>
<i>Tabla 3 Descripción del diseño superficie de respuesta .....</i>	<i>37</i>
<i>Tabla 4 Representación de las corridas experimentales.....</i>	<i>38</i>
<i>Tabla 5 Perfil fitoquímico de la droga cruda de sunfo .....</i>	<i>39</i>
<i>Tabla 6 Matriz experimental para la evaluación de polifenoles y actividad antioxidante de la planta de sunfo. ....</i>	<i>42</i>
<i>Tabla 7 Análisis de varianza para el contenido de polifenoles totales.....</i>	<i>43</i>
<i>Tabla 8 Análisis de varianza para la actividad antioxidante.....</i>	<i>45</i>
<i>Tabla 9 Restricciones para la optimización de la extracción .....</i>	<i>46</i>
<i>Tabla 10 Solución optimizada que cumple con las restricciones.....</i>	<i>47</i>
<i>Tabla 11 Valores óptimos predichos y experimentales, obtenidos a las condiciones definidas en el proceso de optimización .....</i>	<i>47</i>
<i>Tabla 12 Caracterización del extracto optimizado .....</i>	<i>48</i>
<i>Tabla 13 Presupuesto .....</i>	<i>51</i>

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

<i>Ilustración 1 Distribución geográfica del sunfo en Ecuador</i> .....	12
<i>Ilustración 2 Planta de sunfo (Clinopodium nubigenum Kuntze)</i> .....	13
<i>Ilustración 3 Lugar de recolección provincia de Tungurahua en el cantón Ambato, parroquia San Fernando.</i> .....	31

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

<i>Grafica 1 Curva patrón para la actividad antioxidante .....</i>	<i>34</i>
<i>Grafica 2 Curva patrón de polifenoles totales Folin-Ciocalteu .....</i>	<i>35</i>
<i>Gráfica 3 Contenido de polifenoles totales .....</i>	<i>41</i>
<i>Gráfica 4 Contenido de polifenoles totales .....</i>	<i>44</i>
<i>Gráfica 5 Contenido de la actividad antioxidante .....</i>	<i>46</i>
<i>Gráfica 6 Relación del optimizado .....</i>	<i>48</i>

## ÍNDICE DE ANEXOS

<i>Anexo 1 Datos informativos del tutor.....</i>	<i>65</i>
<i>Anexo 2 Datos estudiante Alvarez Pamela.....</i>	<i>66</i>
<i>Anexo 3 Datos estudiante Arcos Erika.....</i>	<i>67</i>
<i>Anexo 4 Páramos de la parroquia de San Fernando, cantón Ambato, provincia de Tungurahua. .....</i>	<i>68</i>
<i>Anexo 5 Vegetación de los páramos de San Fernando .....</i>	<i>68</i>
<i>Anexo 6 Recolección de la planta de sunfo .....</i>	<i>69</i>
<i>Anexo 7 Obtención de la droga cruda de sunfo (secado, molido, tamizado, droga) .....</i>	<i>69</i>
<i>Anexo 8 Extractos hidroalcohólicos.....</i>	<i>70</i>
<i>Anexo 9 Extracto optimizado.....</i>	<i>70</i>
<i>Anexo 10 Aval de traducción.....</i>	<i>71</i>

## **1. INFORMACIÓN GENERAL**

### **Título de investigación:**

“Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir del sunfo (*Clinopodium nubigenum* Kuntze) en función del contenido de polifenoles totales y actividad antioxidante”

### **Fecha de inicio:**

Mayo 2020

### **Fecha de finalización:**

Marzo 2021

### **Lugar de ejecución**

Provincia: Cotopaxi – Zona:3

Cantón: Latacunga

Parroquia: Salache Bajo

Barrio: Eloy Alfaro

### **Institución**

Universidad Técnica de Cotopaxi

### **Facultad**

Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

### **Carrera que auspicia:**

Carrera de Agroindustria

### **Nombres de equipo de investigación:**

### **Tutor de investigación:**

- Químico Jaime Orlando Rojas Molina

**Estudiantes:**

- Alvarez Castro Pamela Yessenia
- Arcos Yáñez Erika Patricia

**Área de conocimiento:**

**Área:** Ingeniería, industria y construcción.

**Sub – área:** Industria y producción.

**Línea de investigación**

**Línea:** Desarrollo y seguridad alimentaria.

**Sub – línea:** Optimización de procesos tecnológicos agroindustriales.

## 2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

El origen de las plantas ha formado parte de la crónica del mundo, se entiende que las plantas son organismos capaces de producir su propio alimento. El ser humano a lo largo de la historia ha empleado las plantas para suplir necesidades básicas en calidad de alimento, medicina, vivienda y vestido, incluso en actos rituales. Esta cultura ancestral ha sido adoptada por las siguientes generaciones las mismas que no han considerado los beneficios o problemas relacionados con uso, manipulación o consumo. Es por esta razón que, visualizamos la necesidad de realizar estudios e investigaciones que permitan determinar, conocer e implementar de manera adecuada, este tipo de plantas en tratamientos terapéuticos, farmacológicos, cosmetológicos, agroindustria, entre otras, aprovechando la gran biodiversidad de plantas.

El sunfo (*Clinopodium nubigenum Kuntze*) es una planta de la Sierra Andina, posee un aroma intenso, es utilizada por las personas que viven en los páramos a modo de medicina tradicional para diversas enfermedades por ejemplo los trastornos digestivos, antiinflamatoria, fortificante, expectorante, antioxidante, antimicrobiana, etc. Actualmente no se conoce que existan investigaciones sobre los componentes bioactivos de la planta. Por lo cual es necesario investigar sobre la composición fitoquímica y la optimización de la extracción de compuestos bioactivos que pueden ser usados en la industria, y de esta manera impulsar la economía de los sectores de la agricultura e industrias.

Actualmente el incremento poblacional a nivel mundial se ha acrecentado de forma desmedida, por lo que existe un requerimiento mayor de alimentos procesados. La industria alimentaria busca nuevas tecnologías, nuevos productos, nuevos insumos y nuevos procedimientos que generen bajos costos, asegurándose que sea técnica y económicamente aplicable, con la finalidad de generar estabilidad fisicoquímica, perfeccionar las características sensoriales y prolongar la vida de anaquel de los alimentos.

Los extractos son productos líquidos obtenidos a partir de compuestos vegetales y disolventes líquidos, pueden ser bastante concentrados y por eso son recomendables como antioxidante, antimicrobiano, antiinflamatorios que son utilizados como agentes conservadores en los alimentos.

Este estudio tiene como finalidad la difusión de los resultados de la optimización de la extracción hidroalcohólica del sunfo en base a su contenido de polifenoles totales y actividad antioxidante a la sociedad, con el fin de sustituir a los aditivos sintéticos, para que sean aprovechados en procesos agroindustriales, otorgando un valor agregado a los productos finales para que este satisfaga las necesidades de la población.

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

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

Los docentes y estudiantes de la carrera de agroindustrias que al conocer los potenciales del sunfo podrán realizar investigaciones relacionadas con el uso y aplicación del sunfo (*Clinopodium nubigenum Kuntze*) en procesos agroindustriales.

#### **3.2. *Beneficiarios indirectos:***

Serán los propietarios de terrenos en el páramo lugar en donde crece la planta de sunfo (*Clinopodium nubigenum Kuntze*) con el propósito de aportar un valor agregado a las plantas que generalmente no se utilizan y crecen como maleza. También serán los consumidores al momento de consumir productos saludables.

#### **4. PROBLEMA**

Ecuador es un país megadiverso debido a sus diferentes climas que posee, por esta razón se puede encontrar una gran variedad de vegetación que se extiende a lo largo de todo el territorio. En la Sierra Andina se localizan distintos pisos climáticos (tropical andino, subtropical andino, templado, frío y glacial) esto contribuye al crecimiento de gran variedad de vegetación.

Existen escasos estudios acerca de las plantas, los mismos que no han sido reconocidos y valorados lo que ocasiona que su aporte científico y tecnológico no logre un juicio de valor para una línea de investigación, desencadenando falta de patentes nacionales vigentes en relación con el tema e incluso existe vegetación que no se tiene información por la falta de conocimientos de las plantas, por esto no permite aprovechar las bondades que ofrecen en su composición.

La utilización de aditivos alimentarios favorece a la preservación de los alimentos, manteniendo la inocuidad y las características organolépticas, mejorando el proceso de producción. Los estudios de la toxicidad y carcinogenicidad de los aditivos alimentarios se han debatido con intensidad debido a que la sociedad piensa que la adición de aditivos alimentarios representa un peligro para la salud, hay que destacar que muchos de los aditivos empleados en el sector alimentario pueden causar efectos adversos a la salud en dosis altas. Los aditivos son extraídos de plantas, animales, minerales o se producen sintéticamente.

El análisis del extracto de sunfo, es un punto de partida para caracterizar los compuestos bioactivos dando la posibilidad de aplicarlo en la industria alimentaria, disminuyendo el uso de aditivos químicos, de cierta manera los extractos naturales permiten prevenir las enfermedades que pueden causar los aditivos químicos, este estudio hace énfasis en el proceso de extracción de compuestos bioactivos de la planta de sunfo.

Los polifenoles y los antioxidantes son compuestos bioactivos que forman parte de la composición química de las plantas (polifenoles, flavonoides, terpenos, etc.) son relevantes por su actividad antioxidante frente a la acción de los radicales libres, su función primordial es la protección de los alimentos y productos farmacéuticos del proceso de oxidación, de igual manera protege el cuerpo humano de diversas enfermedades cardiovasculares, cáncer y envejecimiento por la captura de radicales libres.

De esta manera se pretende que la sociedad se beneficie de los compuestos del extracto hidroalcohólico del sunfo (*Clinopodium nubigenum Kuntze*), que pueden ser usados como antioxidantes, antibacterianos, insecticidas, antiinflamatorios, cicatrizantes, aplicaciones en cosméticos, elaboración de fármacos entre otras.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1. *Objetivo general:*

- Optimizar el proceso de extracción hidroalcohólica a partir del sunfo (*Clinopodium nubigenum Kuntze*) en función del contenido de polifenoles y actividad antioxidante.

### 5.2. *Objetivos específicos*

- Determinar el perfil fitoquímico del sunfo mediante ensayos cualitativos.
- Optimizar la extracción de los compuestos bioactivos de la planta de sunfo mediante soluciones hidroalcohólicas.
- Comprobar la optimización numérica del proceso de extracción hidroalcohólica de la droga cruda de sunfo.
- Caracterizar el extracto hidroalcohólico optimizado de la droga cruda.

## 6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS

**Tabla 1**

*Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos planteados*

Objetivos	Actividad (Tareas)	Resultados de la Actividad	Descripción de la actividad (Técnicas e instrumentos)
Objetivo 1			
Determinar el perfil fitoquímico del sunfo mediante ensayos cualitativos.	Recolección de las muestras. Secado de las muestras. Determinación cualitativa de compuestos químicos mediante ensayos de la droga.	Comprobar la existencia de compuestos fitoquímicos presentes en el extracto del sunfo ( <i>Clinopodium nubigenum Kuntze</i> ).	Datos expresados de la composición fitoquímica de la droga cruda del sunfo ( <i>Clinopodium nubigenum Kuntze</i> ).
Objetivo 2			
Optimizar la extracción de los compuestos bioactivos de la planta de sunfo mediante soluciones hidroalcohólicas.	Determinación experimental de la actividad antioxidante y el contenido de polifenoles totales.	Valorar la actividad antioxidante y polifenoles totales del extracto hidroalcohólico del sunfo ( <i>Clinopodium nubigenum Kuntze</i> ).	Determinar los valores de extracción hidroalcohólica mediante el espectrofotómetro.
Objetivo 3			
Comprobar la optimización numérica del proceso de extracción hidroalcohólica de la droga cruda de sunfo.	Realizar los ensayos experimentales a las condiciones optimizadas.	Realizar el análisis del extracto optimizado de la droga cruda.	Verificar los valores del extracto optimizado mediante el espectrofotómetro.
Objetivo 4			
Caracterizar el extracto hidroalcohólico optimizado de la droga cruda.	Realizar los ensayos de laboratorio.	Indicar las características organolépticas y fisicoquímicas extracto optimizado del sunfo ( <i>Clinopodium nubigenum Kuntze</i> )	Registro e interpretación de resultados

*Elaborado por: Autoras (Alvarez, Arcos; 2021)*

## 7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

### 7.1. Antecedentes

(Méndez, 2018) realizó una investigación con el tema optimización de la obtención del extracto hidroalcohólico de las inflorescencias de *Cannabis Sativa L.* «marihuana», el propósito de este trabajo de investigación tuvo como finalidad la optimización del contenido de compuestos fenólicos totales durante la etapa de extracción hidroalcohólica de las inflorescencias de *Cannabis sativa L.* Utilizando un método convencional. Con el análisis de la MSR, las condiciones óptimas para la extracción de fenoles y flavonoides totales. Los valores obtenidos experimentalmente fue 141,108 mg EAG/g y 8,452 mg ER/g, estuvieron de acuerdo con los predichos por el modelo RSM, lo que indica la idoneidad del modelo.

(Gavilanez, 2020) realizó la investigación sobre la optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir del orégano (*Origanum Vulgare L.*), donde el estudio tuvo como finalidad determinar la optimización del proceso de extracción hidroalcohólica para lo cual se utilizó el programa Desig Expert 8.0.6 en el que determino 19 corridas con diferentes factores como: tiempo (6 h, 15 h y 24 h), temperaturas (30 °C y 60°C) y relación masa/disolvente (1:10 y 1:20). Se determinó el contenido de polifenoles totales y la actividad antioxidante de las diferentes corridas experimentales con los distintos factores.

(Castillo, 2020) realizó la caracterización de los compuestos bioactivos del sunfo (*Clinopodium nubigenum Kuntze*), con propósitos agroindustriales, el cual tuvo como finalidad realizar la caracterización de una especie endémica aplicando metodologías de laboratorio para la potencial utilización de las hojas obteniendo resultados variantes en las diferentes provincias que se da este tipo de planta.

(Naveda, 2010) realizó una investigación con el objeto de obtener las mejores situaciones de proceso para obtener un extracto crudo que tenga el mayor contenido de polifenoles para de esa manera determinar la actividad antioxidante. Para lo cual se utilizó

un diseño experimental mixto de 3x2x2, seleccionando las mejores condiciones de maceración de la planta. Mediante la experimentación se determinó la actividad antioxidante del extracto seleccionado como el más rico en polifenoles, la misma que de 5788, 03±78,38 umol eq trolox/100 g de muestra.

(Alvis, Martínez, & Arrazola, 2012) realizaron una investigación que determine la obtención de extractos hidro-alcohólicos de Limoncillo (*Cymbopogon Citratos*) como antioxidante natural. Mediante la utilización de 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico (ABTS); y reductor férrico de poder antioxidante (FRAP), la determinación del contenido de fenoles empleando el reactivo de Folin Ciocalteu, para determinar la efectividad in vivo de dicho extracto se utilizó grasa. De acuerdo con los resultados el extracto de limoncillo exhibe un elevado contenido de compuestos fenólicos anti radicales y un alto poder reductor. En cuanto a la efectividad antioxidante se encontró que el extracto con una concentración de 250 ppm logra duplicar el tiempo de inducción con respecto a la grasa control.

## 7.2. Fundamentación teórica

### 7.2.1. Sunfo (*Clinopodium nubigenum* Kuntze)

Es una planta aromática característica del páramo y la cordillera de los andes, se la puede encontrar en varios países como: Colombia, Perú, Venezuela, Costa Rica, Panamá y Ecuador. En el Ecuador se la puede encontrar en las provincias de: Loja, Azuay, Cañar, Chimborazo, Bolívar, Tungurahua, Cotopaxi, Pichincha, Imbabura y Carchi, “crece en una vegetación tupida con subpares, parejas y pumas, en altitudes de aproximadamente 2500 a 4500 m” (Ladislav, 2017), además se la puede localizar en espacios húmedos cerca de un flujo de agua.

#### Ilustración 1

*Distribución geográfica del sunfo en Ecuador*



*Elaborado por: Autoras (Alvarez, Arcos; 2021)*

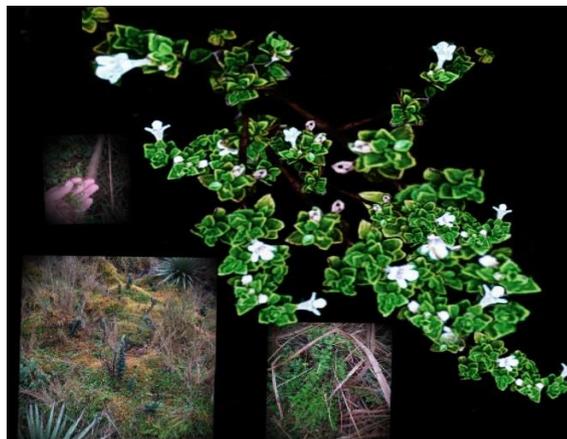
### 7.2.2. Botánica de la planta

El sunfo es un arbusto tapizante perenne con abundantes tricomas, posee una raíz fibrosa y pivotante, es muy aromático, sus tallos son ramificados, de color café rojizo con un largo de “30 – 50cm” (Ladislav, 2017). Sus hojas son ovadas con un tamaño de “3-4 x 2-4 mm” (Melissa, 2015), opuestas y se encuentran acumuladas en los tallos. Las flores son íngrimas se las localiza en las axilas de las hojas, son zigomorfas tiene 5 pétalos desiguales con un

matiz lila blanquecino y en su centro con una pigmentación más oscura y sus frutos son secos.

### ***Ilustración 2***

*Planta de sunfo (Clinopodium nubigenum Kuntze)*



*Elaborado por: Autoras (Alvarez, Arcos; 2021)*

### **7.2.3. Clasificación taxonómica**

**Tabla 2**

*Clasificación taxonómica del sunfo (Clinopodium nubigenum Kuntze)*

<b>Reino</b>	<i>Plantae</i>
<b>Clase</b>	<i>Equisetopsida C. Agardh</i>
<b>Subclase</b>	<i>Magnoliidae Novák ex Takht</i>
<b>Superorden</b>	<i>Asternae Takht</i>
<b>Orden</b>	<i>Lamiales Bromhead</i>
<b>Familia</b>	<i>Lamiaceae Martinov</i>
<b>Género</b>	<i>Clinopodium L.</i>
<b>Especie</b>	<i>C. nubigenum</i>
<b>Nombre científico</b>	<i>Clinopodium nubigenum (Kunth) Kuntze</i>
<b>Nombre común</b>	<i>Sunfo, sunfillo, surumba</i>

*Elaborado por: (Coral, 2018)*

### **7.2.4. Principios activos del sunfo**

Sus principios activos son: alcaloides, almidón, taninos, flavonoides, aceites esenciales, triterpenos y esteroides, contienen propiedades farmacológicas.

Al uso medicinal se le puede atribuir la presencia de flavonoides, los mismos le otorgan a la planta propiedades antioxidantes, antitrombótico, combaten la fragilidad capilar, protegen

al hígado y estómago, le dan a la planta capacidad antibacteriana, antiinflamatoria y analgésica.

El sabor amargo característico de la planta proviene de los terpenos y esteroides conjuntamente con los taninos, los terpenos se utilizan con frecuencia para dar el aroma, fragancia en alimentos, cosmetología y en el campo medicinal tiene propiedades antiulcerosas, anticancerígenas y antimicrobianas. Los alcaloides tienen un efecto sedante y analgésico. (Ginocchio & Pérez, 2019)

- **Alcaloides:** Son metabolitos secundarios sintetizados de las plantas, generalmente, un compuesto químico que posee un nitrógeno heterocíclico procedente del metabolismo de aminoácidos. Son hidrosolubilidad en pH ácido y solubles en pH alcalino (solventes orgánicos) (Escobar, 2014).
- **Taninos:** Son compuestos polifenólicos que se dividen en hidrosolubles y condensados. Son utilizados como defensa por las plantas debido que atacan las bacterias, hongos y virus aglutinando las proteínas de su superficie y evita que se marchite.
- **Componentes grasos:** Constituyentes naturales de las grasas y los aceites. Están clasificados por su estructura química en tres grupos: saturados, monoinsaturados y poliinsaturados. Son altamente volátiles y se los puede desprender físicamente de otros compuestos de la planta o tejido membranoso.
- **Triterpenos / esteroides:** Son terpenos de 30 carbonos. Por lo general se forman por la unión cabeza-cabeza de dos cadenas de 15 carbonos, cada una de ellas está formada por unidades de isopreno unidas cabeza-cola. Otorgan el aroma, sabor a las plantas y componen la base de los aceites esenciales.

- **Catequinas:** Es un metabolito secundario vegetal que forma parte de la familia de los flavonoides. Es considerado un tipo de fenol natural y antioxidante (Iñiguez, 2011).
- **Azúcares reductores:** Son aquellos azúcares que tienen un grupo carbonilo (grupo funcional) intacto, así mismo pueden funcionar como reductores con otras moléculas que ejercerán como oxidantes. Esta particularidad facilita determinar la concentración de una solución de azúcar cuantificando la cantidad de agente oxidante que es reducido para la determinación de diabetes. Su sabor dulce es característico y son solubles en agua, su solubilidad depende de la temperatura.
- **Saponinas:** Son glucósidos de esteroides o de triterpenoides, llamados así por sus propiedades similar a las del jabón. Han sido asociadas con un efecto estimulante, tonificante, anti estrés, así como antimicrobiano, antivírico y antimicótico.
- **Compuestos fenólicos:** Son compuestos orgánicos con uno o más grupos hidroxilo en el anillo aromático. Los compuestos fenólicos a la vez con las vitaminas son importantes antioxidantes en la dieta alimenticia. Están presentes en frutas, hortalizas, raíces y cereales (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos, 2014).
- **Quinonas / benzoquinonas:** Son compuestos orgánicos con una base aromática, como benceno, naftaleno, antraceno y fenantreno, consideradas moléculas cíclicas di cetónicas conjugadas. En la naturaleza se encuentran en forma de pigmentos en plantas.
- **Flavonoides:** Son metabolitos secundarios de polifenoles, comúnmente con un grupo cetona. Tienen un alto contenido de vitamina C, generalmente su pigmentación tiene una coloración amarilla, efecto antioxidante y antiinflamatorio.

- **Mucílagos:** Son polisacáridos (conjunto de monosacáridos o hidratos de carbono simple), análogos, por su composición y sus propiedades, las gomas o dextrinas al tomar contacto con el agua aumenta de volumen obteniendo una solución coloidal (solución acuosa espesa). Es coagulable al alcohol, se la utiliza para suspender sustancias insolubles y para aumentar la viscosidad.
- **Principios amargos:** Están relacionados con procesos de cicatrización y acciones antisépticas. “Propician, además, una acción tónica general y son eficaces para luchar contra diversos estados de debilidad, agotamiento y anemia, por lo que se les considera tónicos, aperitivos o digestivos” (Waizel & Waizel, 2019).

#### **7.2.5. Propiedades Medicinales**

Es una planta alelopática con atributos peculiares, capaz de regular la temperatura corporal de esta manera se previene o se restablece “*el mal del soroche*” en zonas frías, posee un aroma intenso que descongestiona la nariz mejorando las afecciones respiratorias, detiene las hemorragias, tiene poder cicatrizante, antiparasitario, antimicrobiano y un excelente desinflamante.

#### **7.2.6. Optimización**

Es un procedimiento de maximizar o minimizar indicadores resolviendo problemas de forma eficaz, con el fin de reducir o eliminar la pérdida de tiempo, recursos, gastos innecesarios, obstáculos y errores.

#### **7.2.7. Extracto Hidroalcohólico**

Es el resultado de la maceración del polvo seco de la planta con un disolvente (etanol-agua) su rendimiento va a depender de factores como son: el % de disolvente, temperatura y tiempo.

#### **7.2.8. Clasificación de los extractos**

Los extractos de plantas se pueden categorizar dependiendo de su grado de concentración:

### **7.2.8.1. Extracto fluido o líquido**

Son preparaciones de material vegetal utilizando como solvente agua o alcohol, donde cada mililitro contiene los componentes extraídos de 1 g del material crudo que representa. Los extractos fluidos se alteran fácilmente en contacto con la luz y el aire. Debe ser almacenado en un lugar que esté protegido de la luz.

### **7.2.8.2. Extractos semisólidos o blandos**

Son preparaciones extraídas por evaporización parcial del disolvente (agua, mezclas hidroalcohólicas) con un % de principio activo semejante al % de la droga original, son de una consistencia intermedia de los extractos fluidos y pulverizados.

### **7.2.8.3. Extractos pulverizados o secos**

Se obtienen por evaporación total del solvente y tienen una consistencia de polvo. Presentan una concentración muy superior de principio activo que la droga original. Son preparados bastante estables (en ocasiones resultan higroscópicos) y de fácil manipulación. Actualmente es posible obtener extractos secos nebulizados todavía más estables que los extractos secos tradicionales, sobre todo porque son menos higroscópicos.

### **7.2.9. Utilización de extractos vegetales en la industria alimentaria**

Los extractos vegetales y su utilización en la industria alimentaria están sujetos a diferentes estándares ya que el extracto debe cumplir estrictos requisitos para ser aprobado como un aditivo natural por la legislación en la normativa alimentaria. Los extractos se han utilizado en alimentos desde la antigüedad para mejorar las características sensoriales y conservar el alimento por mucho más tiempo. Los estudios realizados a extractos vegetales ha permitido emplearlos en calidad de antioxidantes, antimicrobianos, aromatizantes, saborizantes, colorantes, energizantes y enriquecedores del alimento con activos naturales propios de la planta.

### **7.2.10. Actividad antioxidante**

Los antioxidantes son compuestos químicos con la capacidad de neutralizar los radicales libres retardando o previniendo la oxidación de otras moléculas (Jamanca & Alfaro, 2017). Con frecuencia son agentes reductores tales como tioles o polifenoles, Ayudan a prevenir o combatir la oxidación celular que va ligado al envejecimiento fisiológico en general como varias enfermedades (cardiovasculares, degenerativas, alzheimer, parkinson y el cáncer) (Alvarez, De La Rosa, Gonzáles, & Ayala, 2012).

### **7.2.11. Clasificación de antioxidantes**

#### **7.2.11.1. *Por su naturaleza***

##### **- Antioxidantes naturales**

Se los encuentra de manera natural en los alimentos principalmente de origen vegetal, siendo estos: vitaminas (A, C y E), minerales (selenio, zinc y cobre) y sustancias fotoquímicas (polifenoles).

##### **- Antioxidantes artificiales o sintéticos**

Se los produce por síntesis química y usualmente son codificados para su aplicación principalmente en la industria de los alimentos.

#### **7.2.11.2. *Por su solubilidad***

##### **- Solubles en agua**

Conocidos como hidrofílicos, están en la parte interna de la célula son un fragmento del núcleo central y de los fluidos. Cuidan la parte interna de la célula, ejerce la función de regenerador y protector en la zona del citoplasma celular.

##### **- Solubles en lípidos**

Conocidos como hidrófobos, protegen las membranas de la célula contra los radicales libres y el deterioro oxidativo de los lípidos.

#### **7.2.11.3. *Por su origen***

- **Antioxidantes sintetizados por el organismo**

Este grupo de compuestos son sintetizados por el cuerpo humano. Los diferentes antioxidantes están presentes en una amplia gama de concentraciones en fluidos corporales y tejidos. Entre estas sustancias tenemos al glutatión y la ubiquinona mayormente presente dentro de las células, mientras que otros tales como el ácido úrico se distribuyen más uniformemente a través del cuerpo.

- **Antioxidantes obtenidos de fuentes externas**

Este grupo de antioxidantes son asimilados por el organismo a partir de las dietas alimenticias constituidas por los diversos tipos de alimentos.

**7.2.12. Secado de plantas**

Su finalidad es estabilizar y conservar las propiedades y compuestos bioactivos, eliminando la mayor cantidad posible de agua o humedad de la planta bajo una serie de condiciones controladas (como temperatura, humedad, velocidad y circulación del aire) (Rodés, Peña, & Hermosilla, 2015).

**7.2.12.1. Tipos de secado**

**Secado natural**

**Al sol**

Se pueden secar directamente al sol las cortezas y las raíces cuando el clima sea cálido y muy seco. Nunca se puede secar las flores o plantas destinadas a extraer aceite esencial pues como no es posible controlar la temperatura, ésta puede alcanzar valores superiores a los 45°C y provocar pérdidas en los contenidos de aceite afectando la calidad. El material debe ser volteado para un secado homogéneo (Durán, 2019).

**A la sombra**

Puede durar de 3 a 7 días, según el tipo de la planta y la humedad del aire. Se realiza en un espacio cubierto, amplio, seco y con suficientes aberturas para permitir un buen aireado;

además, debe estar limpio, pulcro y protegido de insectos mediante telas mosquiteras. La planta puede secarse colgándola en ramos o extendiéndola. Se debe ir volteando la planta para que su secado sea homogéneo. (Gualteros & Valle, 2014)

### **Secado forzado**

Se realiza utilizando un flujo de aire caliente que acelera el proceso de deshidratación. Las estufas permiten la obtención de un producto seco de alta calidad y es posible controlar la temperatura, pero resulta costoso por el gasto energético que ocasionan (Durán, 2019).

#### **7.2.13. Tamizaje fitoquímico**

Es un estudio previo para determinar los compuestos químicos que están presentes en la planta de manera cualitativa, orientando la extracción o fraccionamiento de los extractos para aislar del grupo al de mayor interés.

Consiste en la extracción de la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración y precipitación. Permite la evaluación rápida con reacciones sensibles reproducibles y de bajo costo.

##### **7.2.13.1. Determinación de compuestos grasos. Ensayo de Sudan**

Se agregó una alícuota del extracto en el tubo de ensayo para lo cual se le adiciono 1mL del reactivo de Sudan III o rojo escarlata evaporando el solvente por baño maría, una vez evaporado el solvente se observó si existe o no la presencia de compuestos grasos. Si tiene una coloración roja anaranjado (+) o se tinturan en forma de escamas (+-) existen compuestos grasos (Bulgarin & Loor, 2018).

##### **7.2.13.2. Determinación de alcaloides. Ensayo de Dragendorff**

Se agregó una alícuota del extracto en un tubo de ensayo, si la alícuota del extracto está disuelta en un solvente orgánico, este debe evaporarse a baño maría y el enfriar, se añadió 1mL de ácido clorhídrico al 1% en agua se lo agito y posteriormente se adicionó 1mL de Dragendorff la agitamos y dejamos reposar.

A la alícuota del extracto acuoso se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado, se calentó a una temperatura baja y se añadió 3 gotas del reactivo de Dragendorff. Si hay opalescencia se considera (+), turbidez definida (++) , precipitado (+++) (Cruz & Tubay, 2019).

#### **7.2.13.3. Determinación de agrupamiento lactónico. Ensayo de Baljet**

Preparación del reactivo de Baljet:

Solución 1: Hidróxido de sodio al 10% en agua.

Solución 2: Ácido pícrico al 1% en etanol.

Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño maría y re-disolverse en la menor cantidad de alcohol (1mL). En estas condiciones se adiciona 1mL del reactivo, considerándose un ensayo positivo la aparición de coloración o precipitado rojo (++) y (+++) respectivamente (Velásquez & Zaravia, 2014).

#### **7.2.13.4. Determinación de triterpenos y esteroides. Ensayo de Liebermann-Burchard**

Se adicionó 1mL de anhídrido acético y se mezcló bien. Por la pared del tubo de ensayos se dejaron caer 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. El ensayo es positivo si el cambio de coloración es rápido; de rosado a azul muy rápido (+++), a verde intenso visible rápido (++) , a verde oscuro-negro al final de la reacción (+). Este método permite diferenciar las estructuras esteroideas de las triterpenoides, las primeras producen coloraciones azules o azul verdoso, mientras que en las segundas se observa rojo, rosado o púrpura (Cruz & Tubay, 2019).

#### **7.2.13.5. Determinación de catequinas. Ensayo de Catequinas**

Se tomó 1000uL de la solución alcohólica y se la aplicó sobre papel filtro. Encima de la mancha se aplicó la solución de carbonato de sodio. La aparición de una mancha verde carmelita a la luz UV, indica un ensayo positivo (Velásquez & Zaravia, 2014).

#### **7.2.13.6. Determinación de resinas. Ensayo de Resinas**

Se adicionó 2mL de la solución alcohólica, 10mL de agua destilada. La aparición de un precipitado, esto indica la presencia de resinas (Velásquez & Zaravia, 2014).

#### **7.2.13.7. Determinación de azúcares reductores. Ensayo de Fehling**

Si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño maría y el residuo re-disolverse en 1-2mL de agua.

Se adicionó a una alícuota del extracto 2mL de reactivo y se calentó en baño de agua de 5 a 10 minutos. El ensayo se consideró positivo (+++) si la solución tomó coloración roja o apareció un precipitado rojo.

El reactivo debe estar preparado de la siguiente manera:

- Solución A: Pesar 35g de Sulfato Cúprico hidratado cristalizado y disolverlos en agua hasta un volumen total de 1000ml.
- Solución B: Pesar 150g de Tartrato de Sodio, Potasio, 40g de hidróxido de Sodio y disolverlos con agua hasta un volumen total de 1000ml.

Las soluciones se deben mezclar en igual cantidad justo en el momento de realizar el ensayo.

La misma que se adiciona a la alícuota a evaluar (Criollo, 2015).

#### **7.2.13.8. Determinación de saponinas. Ensayo de la Espuma**

Se tomó una alícuota del extracto y se diluyó en 5 veces su volumen en agua, agitándose fuertemente el tubo de ensayo, de 5 a 10 minutos. El ensayo se consideró positivo (+++) si apareció una espuma de 2mm de espesor como mínimo y persistente por más de 2 minutos (Criollo, 2015).

**7.2.13.9. Determinación de compuestos fenólicos y/o taninos. Ensayo del Cloruro Férrico**

Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. A una alícuota del extracto alcohólico se le adicionan 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0.9% en agua).

Si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos. A una alícuota del extracto se añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica. El ensayo se consideró positivo (+++) para compuestos fenólicos en general, al observarse un cambio de coloración a rojo-vino; para taninos del tipo pirocatecólicos una coloración verde intensa y para taninos del tipo pirogalotánicos una coloración azul (Burgos & Coello, 2018).

**7.2.13.10. Determinación de aminoácidos libres o aminas. Ensayo de la Ninhidrina**

Se tomó una alícuota del extracto alcohólico se mezcló con 2mL de solución de Ninhidrina al 2% en agua. La mezcla se calentó 5-10 minutos en baño de agua. Este ensayo se considera positivo cuando se desarrolla una coloración azul violácea (Quezada & Rivera, 2015).

**7.2.13.11. Determinación de quinonas / benzoquinonas. Ensayo de Borntrager**

Si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño maría y el residuo re-disolverse en 1mL de cloroformo. Se adiciona 1mL de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o amonio al 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 o rojo, el ensayo se considera positivo. Coloración rosada (++), coloración roja (+++).

**7.2.13.12. Determinación de quinonas. Ensayo de Borntrager**

Se evaporó el extracto alcohólico en baño de agua y el residuo se re-disolvió en 1mL de cloroformo, luego se adicionó 1mL de hidróxido de sodio al 5% en agua, posteriormente se

agitó mezclando las fases, y se dejó en reposo hasta su separación. El ensayo se considera positivo si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado (++) o rojo (+++).

#### **7.2.13.13. Determinación de flavonoides. Ensayo de Shinoda**

Se tomó una alícuota del extracto y se añadió 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y una pequeña porción de cinta de magnesio metálico. Después de 5 minutos se añadió 1 mL de alcohol amílico. Se consideró un ensayo positivo (+++) cuando el alcohol amílico se coloreó de amarillo, naranja, carmelita o rojo intenso en todos los casos (Bulgarin & Loor, 2018).

#### **7.2.13.14. Determinación de glicósidos cardiotónicos. Ensayo de Kedde**

Una alícuota del extracto en etanol se mezcló con 1 mL del reactivo y se dejó reposar durante 5-10 minutos. Un ensayo positivo es en el que se desarrolla una coloración violácea, persistente durante 1-2 horas.

#### **7.2.13.15. Determinación de estructura tipo polisacárido. Ensayo de mucílagos**

Una alícuota del extracto se enfrió a una temperatura de 0°C a 5°C y se observó si la solución tomó una consistencia gelatinosa. El ensayo se consideró positivo (+++) si la muestra tomó consistencia gelatinosa (Quezada & Rivera, 2015).

#### **7.2.13.16. Determinación de principios amargos. Ensayo de principios amargos**

El ensayo se realiza saboreando 1000µl del extracto acuoso o del vegetal y reconociendo el sabor de cada uno de estos principios, bien diferenciados al paladar. (Criollo, 2015)

### **7.3. Marco conceptual**

- **Crónica:** Narrativa histórica que expone los hechos siguiendo un orden cronológico.
- **Toxicidad:** Es la capacidad de una sustancia química de producir efectos perjudiciales sobre un ser vivo, al entrar en contacto con él.
- **Acrescentado:** Aumentar, hacer crecer la cantidad o la importancia de una cosa.
- **Bioactivos:** Sustancia química que se encuentra en pequeñas cantidades en las plantas y ciertos alimentos (como frutas, verduras, nueces, aceites y granos integrales). Los

compuestos bioactivos cumplen funciones en el cuerpo que pueden promover la buena salud.

- **Pisos climáticos:** diferentes niveles de variación del clima de la región dependiendo de su relieve (altitud).
- **Patentes:** Conjunto de derechos de explotación de una determinada invención, producto o tecnología que concede un Estado para explotar comercialmente de forma exclusiva dicha invención por un periodo limitado de tiempo
- **Radical libre:** Molécula que puede ser tanto orgánica como inorgánica y que en su presentación es generalmente inestable y por lo tanto ostenta un importante poder reactivo.
- **Tupida:** Que está formado por elementos muy juntos y apretados entre sí.
- **Pivotante:** De la raíz que presenta un eje central más grueso que las ramificaciones laterales.
- **Perenne:** que algo o alguien persiste durante mucho tiempo.
- **Tricomas:** Protuberancia de muy diversa morfología, muy variable, que se pueden formar en la epidermis de algunos órganos vegetales. Son tricomas los pelos, papilas, escamas, etc.
- **Alelopática:** Es un fenómeno biológico por el cual un organismo produce uno o más compuestos bioquímicos que influyen en el crecimiento, supervivencia o reproducción de otros organismos.

## 8. VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPOTESIS

### 8.1. *Hipótesis nula*

**Ho:** La concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción no influye en la optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir del sunfo (*Clinopodium nubigenum Kuntze*).

### 8.2. *Hipótesis alternativa*

**H1:** La concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción influye en la optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir del sunfo (*Clinopodium nubigenum Kuntze*).

## **9. METODOLOGÍA / DISEÑO EXPERIMENTAL**

### **9.1. Tipos de investigación**

Para realizar nuestro tema de estudio se empleó diferentes tipos de investigación con el fin de dar solución al problema identificado.

#### **9.1.1. Investigación cuantitativa**

Se utilizó con la finalidad de analizar y procesar los valores de la variable dependiente e independiente, estos resultados pueden ser de carácter numérico y gráfico con la utilización de un modelo matemático. Nos ayudó a dar solución a las hipótesis.

#### **9.1.2. Investigación descriptiva**

Se empleó con la finalidad de distinguir la relación que existe entre las variables, manifestando los acontecimientos más relevantes de nuestra investigación sin influir sobre él.

#### **9.1.3. Investigación experimental**

Se la uso con el propósito de manipular las variables en circunstancias controladas, dicho de otra manera, realizamos una modificación en los factores de estudio (variable independiente), observando el efecto en la variable respuesta (variable dependiente).

### **9.2. Técnicas**

Son el conjunto de herramientas, procedimientos e instrumentos utilizados por el investigador para obtener, conservar, analizar y transmitir los datos de los fenómenos sobre los cuales se investiga para acercarse a los hechos y acceder a su conocimiento. Dependiendo el tipo de investigación las técnicas de información están suscritas a dos formas (Cualitativa y cuantitativa).

#### **9.2.1. Técnica cualitativa (primaria)**

Construimos y recogimos la información a través del contacto directo con el objeto de estudio.

### **9.2.1.1. Observación:**

Nos facilitó la información necesaria para plantearnos el problema, formularnos las hipótesis y su posterior comprobación.

#### **Instrumentos para registrar la investigación**

- **Fichas de observación:** Se utilizó con la finalidad de anotar los datos obtenidos y el cronograma de actividades desarrolladas.
- **Cámara fotográfica:** Nos ayudó a obtener evidencias ante sucesos o problemáticas estudiadas con la intención de conseguir diferentes enfoques de un mismo tema, de este modo nos permitió observar, comprender comportamientos y hechos a los que no podamos acceder, implicando factores ambientales, los cuales pueden interferir en el desarrollo de la investigación.

### **9.3. Materiales y equipos**

Los materiales utilizados para el desarrollo del proyecto de investigación se detallan a continuación para posteriormente describir la metodología del proceso.

#### **9.3.1. Materiales de Laboratorio**

- Matraz Erlenmeyer 100mL vidrio
- Matraz Erlenmeyer 250mL vidrio
- Matraz 100mL aforado t/plástico
- Micropipeta 100-1000µl Microlit volumen variable
- Pipeta de vidrio
- Piseta 500mL plástica
- Punta Microlit 1000µl paquete 1000 unidades
- Punta 10 a 200µl con caja porta puntas amarillas
- Matraz 50mL aforado t/plástico
- Matraz 10mL aforado t/plástico

- Vasos de precipitación (250mL)
- Tubos de ensayo
- Gradillas
- Pinzas
- Goteros de plástico
- Papel filtro

### **9.3.2. Equipos**

- Espectrofotómetro
- Balanza Analítica
- Bomba de vacío
- Estufas
- Hotplate Alton Modelo SB81
- Vortex Mixer Gemmy Modelo VM 300

### **9.3.3. Reactivos**

- Ácido clorhídrico
- Folin
- Solución Tampón Acetato 20mM
- Carbonato de sodio
- Etanol 99,8%
- Ácido gálico
- Solución Cloruro Férrico
- Hidróxido de Sodio
- Sal de Mohr
- Agua destilada
- Reactivo TPTZ

- Colorante Sudan III o IV grado RA
- Cloruro de sodio 99% pureza. Grado RA
- Hidróxido de potasio  $\geq 85\%$  pureza como KOH. Grado ACS
- Cloroformo  $\geq 99,8\%$  pureza. Grado ACS
- Anhídrido acético  $\geq 85\%$  pureza. Grado RA
- Carbonato de sodio  $\geq 99\%$  pureza. Grado RA
- Cloruro férrico  $\geq 98\%$  pureza. Grado RA
- Acetato de sodio  $\geq 99\%$  pureza. Grado RA
- Ninhidrina grado RA
- Cinta de magnesio metálico
- Alcohol amílico  $\geq 98\%$  pureza. Grado ACS
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Baljet
- Reactivo de Kedde
- Reactivo de Fehling
- Solución salina al 0.9%
- Alcohol 96% pureza

## 9.4. Descripción del método de elaboración

### 9.4.1. Recolección

La planta de sunfo fue recolectada en la provincia de Tungurahua en el cantón Ambato, parroquia San Fernando, cerca de la Laguna Mula Corral. “Geográficamente está localizada entre las coordenadas 78° 44' 39" de longitud occidental; y a 1° 15' 43" de latitud sur”. (Gadsanfernando, 2021). GAD San Fernando.

### Ilustración 3

*Lugar de recolección provincia de Tungurahua en el cantón Ambato, parroquia San Fernando.*



*Elaborado por: (CNES, 2021)*

Con la colaboración de una persona aledaña del sector ingresamos a la zona del páramo, sitio nativo de la planta. Con una tijera de podar realizamos el corte en base de la planta evitando estropearla; y, con la finalidad de obtener una materia prima en óptimas condiciones se almacenó y trasladó en un costal de fibra vegetal.

### 9.4.2. Selección y limpieza de la materia prima

Se examinó la planta (tallos, hojas y flores) que esté en óptimas condiciones (ausencia de manchas, grietas, alteraciones morfológicas visibles e infestadas por hongos y parásitos). Posteriormente se eliminaron los residuos de tierra utilizando una solución acuosa de hipoclorito de sodio (0,05%) y agua destilada.

#### **9.4.3. Secado**

La planta fue sometida a 40°C, en una estufa con circulación forzada de aire por 48 horas. Con la finalidad de eliminar la mayor cantidad de agua posible de la planta y obtener una humedad inferior a 6%.

#### **9.4.4. Molido**

El sunfo seco fue pulverizado con el uso de un molino manual (L10000 Corona), se tamizo para eliminar impurezas en el polvo de la droga, seguidamente se las adecuo en bolsas de doble cierre Ziploc y se almacenó en un lugar oscuro para evitar la pérdida de compuestos bioactivos para su posterior análisis.

#### **9.4.5. Preparación de las muestras**

Se desarrollo las muestras con la utilización de 1g la droga cruda, en varias concentraciones de etanol (60%,75%,90%), para la elaboración de las corridas experimentales a diferentes temperaturas (30°C, 60°C) y tiempo (24h, 15h, 6h).

#### **9.4.6. Obtención del extracto**

Se extrajo por maceración con agitación ocasional, al lapso del tiempo de extracción de cada una de las corridas, se filtró con la utilización de una bomba al vacío la mezcla resultante y el residuo sólido se desechó.

#### **9.4.7. Análisis fitoquímico**

La muestra de droga cruda de sunfo fue enviada a realizar con diferentes ensayos en un laboratorio con el fin de determinar los componentes químicos presente en la muestra.

#### **9.4.8. Ensayo Frap**

El ensayo se realizó siguiendo el procedimiento 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  $\text{Fe}^{3+}$ -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 593nm.

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

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

El cálculo de la actividad antioxidante se realizó por medio de una curva de calibración de  $\text{Fe}^{2+}$  empleando la sal de Mohr [ $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ] como patrón, según la ecuación siguiente:

$$AAT = \frac{(A - a)}{\frac{b \times V \times fd}{P.M.}}$$

**Donde:**

AAT: Actividad antioxidante total.

A: Absorbancia del extracto.

a: Intercepto de la curva de calibración.

b: Pendiente de la curva de calibración.

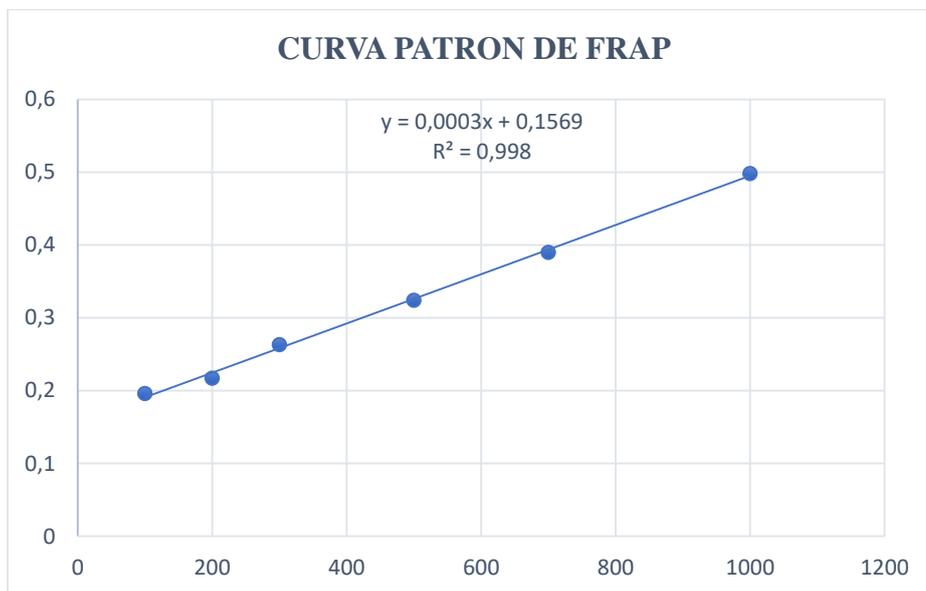
V: Volumen del extracto (mL).

fd: factor de dilución de la muestra.

P.M: Masa de la muestra.

## Grafica 1

*Curva patrón para la actividad antioxidante*



*Elaborado por: Autoras (Alvarez, Arcos; 2021)*

### 9.4.9. Determinación del contenido de polifenoles totales

Los compuestos fenólicos se cuantificaron de acuerdo al método descrito por Slinkard y Singleton (1997) con el reactivo de Folin-Ciocalteu. La preparación de la muestra consistió en tomar 2g de pulpa homogenizada y centrifugarlos (MLW modelo T 52, Alemania) durante 10min a 3500min<sup>-1</sup>. Del sobrenadante obtenido se tomó 1mL y se diluyó convenientemente para la determinación. Se mezclaron 50µl de la muestra con 2,5mL de disolución acuosa de Folin-Ciocalteu diluida 1:10. La mezcla se agitó y se dejó en reposo durante 5min. Se adicionaron 2mL de una disolución al 7,5 %(m/v) de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Se agitó nuevamente, se dejó reposar durante 2h y se leyó la absorbancia a 765nm. Se utilizó ácido gálico como patrón entre 100 y 900mg/L. El contenido de fenoles totales se expresó como ácido gálico en mg/100g de fruto, mediante la siguiente ecuación:

$$CF = \frac{(A - a)}{b \times V \times \frac{fd}{1000}} \times PM.$$

**Donde:**

CF: Contenido de polifenoles totales.

A: Absorbancia.

a: Intercepto de la curva de calibración.

b: Pendiente de la curva de calibración.

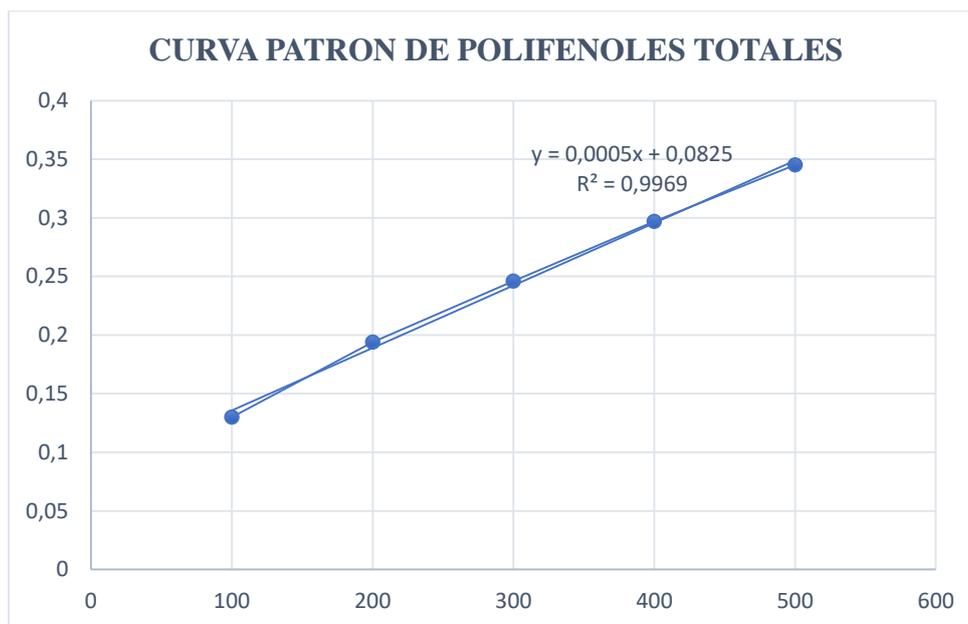
V: Volumen total del extracto (mL).

fd: Factor de dilución de la muestra.

P.M: Masa de la muestra.

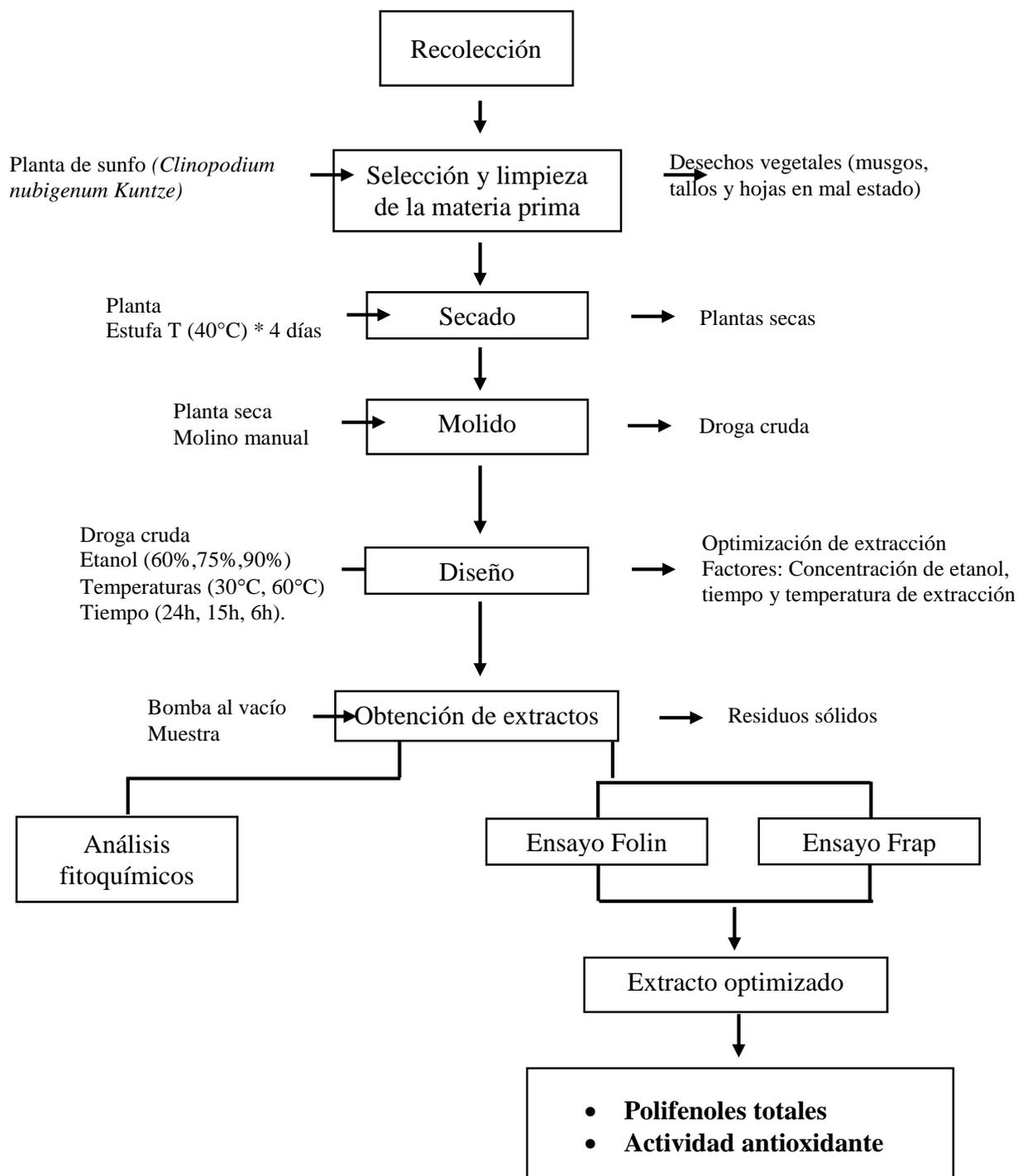
**Grafica 2**

*Curva patrón de polifenoles totales Folin-Ciocalteu*



*Elaborado por: Autoras (Alvarez, Arcos; 2021)*

### 9.5. Diagrama de flujo



## 9.6. Diseño experimental

Para el diseño experimental y el proceso del optimizado del sunfo (*Clinopodium nubigenum Kuntze*) se empleó el programa Design Expert 8.0.6 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, EE.UU.), de tal forma que el extracto escogido posea el mayor rendimiento de polifenoles totales y actividad antioxidante. Se utilizó el método superficie de respuesta para una optimización numérica a través de un diseño cuadrático, generando un modelo matemático que describa las variaciones de las variables en cada extracto.

### 9.6.1. Factores de estudio

Los factores evaluados fueron la concentración de etanol (A), tiempo (B) y temperatura de extracción (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.

**Tabla 3**

*Descripción del diseño superficie de respuesta*

Detalle	UM	TIPO	
Concentración de etanol	%	Numérico	60% Etanol 75% Etanol 90% Etanol
Tiempo (h)	H	Numérico	6 horas 15 horas 24 horas
Temperatura (°C)	°C	Nominal	30°C 60°C

**Elaborado por:** Autoras (Alvarez, Arcos; 2021)

**Tabla 4***Representación de las corridas experimentales*

Corrida	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: Autoras (Alvarez, Arcos; 2021)*

## 10. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

A continuación, se detallan los resultados obtenidos de la investigación realizada sobre la planta del sunfo.

### 10.1. Perfil fitoquímico

La tabla 5 muestra los resultados cualitativos de los componentes de la planta de sunfo por medio de la extracción con tres solventes (éter de petróleo, etanol (v/v) y agua destilada). Se distingue una variación de compuestos presentes en la droga cruda que pueden ser de interés farmacológico, industrial y cosmetológico.

**Tabla 5**

*Perfil fitoquímico de la droga cruda de sunfo*

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

+Presencia    + -: Regular    -: Ausencia

Los resultados que se obtuvieron en la tabla 5 del estudio fitoquímico permite determinar que los extracto de sunfo contiene fitocompuestos, reflejando en el extracto etéreo compuestos grasos, agrupamiento lactónico y triterpenos, en el extracto etanólico

agrupamiento lactónico, catequinas, saponinas y quinonas / benzoquinonas y en el extracto acuoso azúcares reductores, saponinas, compuestos fenólicos, flavonoides, mucilagos y principios amargos. En poca cantidad se encontró los compuestos fenólicos en el extracto etanólico.

Los resultados que se obtuvieron concuerdan con investigaciones similares sobre el estudio del perfil fitoquímico: según (Illescas & Lovato, 2020) el sunfo presenta compuestos bioactivos entre los cuales se puede mencionar: agrupamiento lactónico, saponinas, alcaloides, catequinas, triterpenos, quinonas y mucilagos, etc. En la investigación realizada por (Coral, 2018), determino la presencia de compuestos bioactivos en el sunfo.

Basándonos en los resultados de la investigación fitoquímica realizados, se evidencia que el sunfo es una planta con abundante cantidad de compuestos bioactivos por tal razón se le atribuye un aroma fuerte distintivo.

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

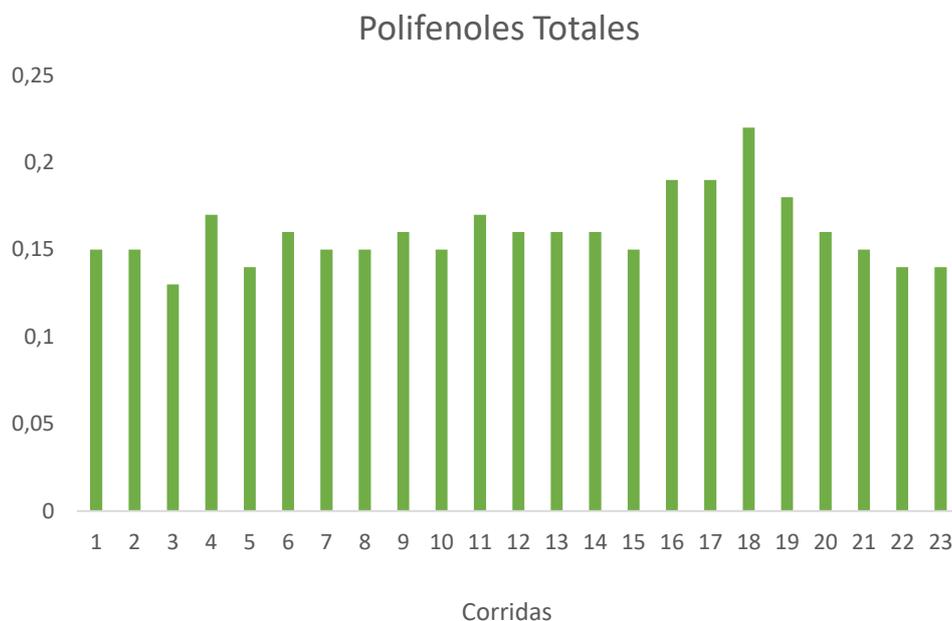
El análisis del perfil fitoquímico se evidencia en la tabla 5, confirmó la existencia de compuestos bioactivos que tiene la planta de sunfo, tomando en cuenta los compuestos fenólicos en el extracto etanólico, se decidió evaluar la optimización del proceso de extracción de la droga cruda, por medio de la experimentación de 23 corridas con el análisis de 3 factores: concentración de etanol (60%, 75% y 90%), tiempo (6h, 15h 24h) y temperatura (30°C y 60°C) de extracción, para evaluar la actividad antioxidante y el contenido de polifenoles totales.

El contenido de polifenoles totales puede relacionarse con las características intrínsecas del material vegetal utilizado para obtener la droga cruda. Se observa que la corrida 18 representa el mayor contenido de polifenoles totales, debido a que esta corrida se realizó con mayor concentración de etanol, tiempo y temperatura, mientras que la corrida 3

tiene la concentración de etanol, tiempo y temperatura más baja por lo que presento menor contenido de polifenoles totales.

### Gráfica 3

*Contenido de polifenoles totales*



**Elaborado por:** Autoras (Alvarez, Arcos; 2021)

En la **gráfica 3** se representa el contenido de polifenoles totales en el extracto hidroalcohólico de las diferentes corridas experimentales

Los polifenoles son compuestos antioxidantes, que capturan los radicales libres en nuestro organismo. Son los principales antioxidantes de la dieta, su ingesta es diez veces superior a la vitamina C y muy superior a la vitamina E (Quiñones, Miguel, & Alexandre, 2012).

**Tabla 6**

*Matriz experimental para la evaluación de polifenoles y actividad antioxidante de la planta de sunfo.*

<b>Corrida</b>	<b>Etanol (%)</b>	<b>Tiempo (h)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Polifenoles (mg/g)</b>	<b>Actividad Antioxidante (<math>\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}</math>)</b>
1	60	24	30	0,15	420,67
2	60	6	60	0,15	412,44
3	60	6	30	0,13	323,89
4	75	24	60	0,17	650,44
5	90	6	30	0,14	375,78
6	60	15	60	0,16	585,5
7	90	15	30	0,15	400,83
8	90	15	30	0,15	319,44
9	75	24	30	0,16	500,56
10	75	6	30	0,15	406,67
11	75	15	60	0,17	660,5
12	75	6	60	0,16	583,61
13	90	24	30	0,16	570,44
14	60	24	60	0,16	550,11
15	60	15	30	0,15	413,44
16	90	15	60	0,19	780,33
17	90	15	60	0,19	790,28
18	90	24	60	0,22	824,5
19	90	6	60	0,18	690,33
20	75	24	60	0,16	555,22
21	75	24	30	0,15	418,67
22	75	15	30	0,14	380,78
23	60	6	30	0,14	378,89

**Elaborado por:** Autoras (Alvarez, Arcos; 2021)

En la tabla 6 se muestran las concentraciones de polifenoles totales y actividad antioxidante presente en los extractos hidroalcohólicos, las corridas fueron sometidas a diferentes tratamientos de tiempo, temperatura y concentración etanólica; y, como podemos observar las corridas con menor concentración, tiempo y temperatura presentaron menor cantidad de polifenoles y actividad antioxidante.

### 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 7 muestra la importancia del análisis de varianza de la regresión y el coeficiente para estimar el contenido de la variable respuesta de polifenoles totales. Se observa que el modelo cuadrático es significativo con una confianza del 95.0%, lo que indica que existe una relación estadísticamente significativa entre la concentración de etanol, tiempo y temperatura con la variable dependiente del modelo. El estadístico  $R^2$  demostró que el modelo ajustado explicaba el 93,1% del cambio en el contenido total de polifenoles.

**Tabla 7**

*Análisis de varianza para el contenido de polifenoles totales*

<b>Fuente</b>	<b>Valor</b>
Intercepto	0,16
A	0,011*
B	0,008*
C	0,012*
AB	0,0081*
$A^2$	0.0056
$B^2$	0,0001
$R^2$	0,931

**Elaborado por:** Autoras (Alvarez, Arcos; 2021)

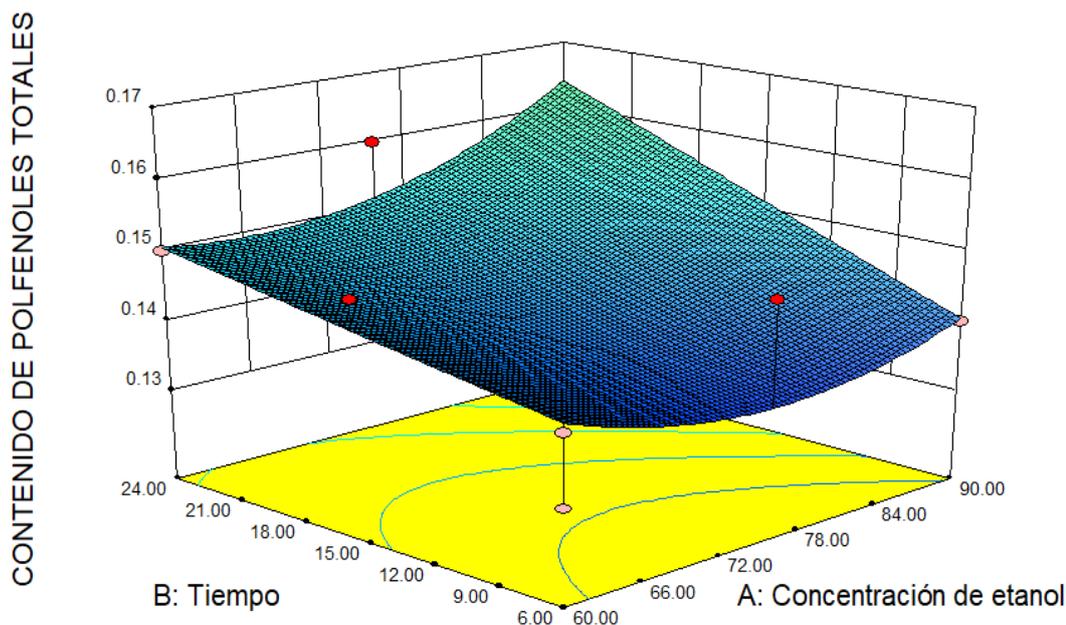
Conforme a los resultados visibles en la tabla 7, la relación de la concentración de etanol, tiempo de extracción y temperatura de extracción (A, B y C), así como la interacción entre ambas son factores significativos ( $< 0.0001$ ), mientras que sus homólogos cuadráticos ( $A^2$  y  $B^2$ ) resultaron no significativos.

Al analizar los factores 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 relación, concentración de etanol y temperatura de extracción. Demostrando de esta manera que la variabilidad de los coeficientes, concentración de etanol, tiempo y

temperatura de extracción, van a tener una relación directa al momento de determinar el contenido de polifenoles.

#### Gráfica 4

*Contenido de polifenoles totales*



Elaborado por: Autoras (Alvarez, Arcos; 2021)

En la gráfica 4 se observa que a mayor concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción será mayor la concentración presente de polifenoles totales en el extracto.

#### 10.4. Determinación de la actividad antioxidante

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

La Tabla 8 muestra la significación del análisis de varianza de la regresión y de los coeficientes estimados para la variable respuesta actividad antioxidante. Se puede observar que el modelo cuadrático es significativo para el nivel de confianza del 95,0%, lo que indica que la interacción entre los valores sobre la variable dependiente del modelo tiene una relación estadísticamente significativa. El estadígrafo R<sup>2</sup> indicó que el modelo ajustado explica el 89,8% de la variabilidad en la actividad antioxidante.

**Tabla 8***Análisis de varianza para la actividad antioxidante*

<b>Fuente</b>	<b>Valor</b>
Intercepto	512,52
A	69,33*
B	47,59*
C	110,47*
AB	59,10*
$A^2$	15,39
$B^2$	-6,48
$R^2$	0,898

**Elaborado por:** Autoras (Alvarez, Arcos; 2021)

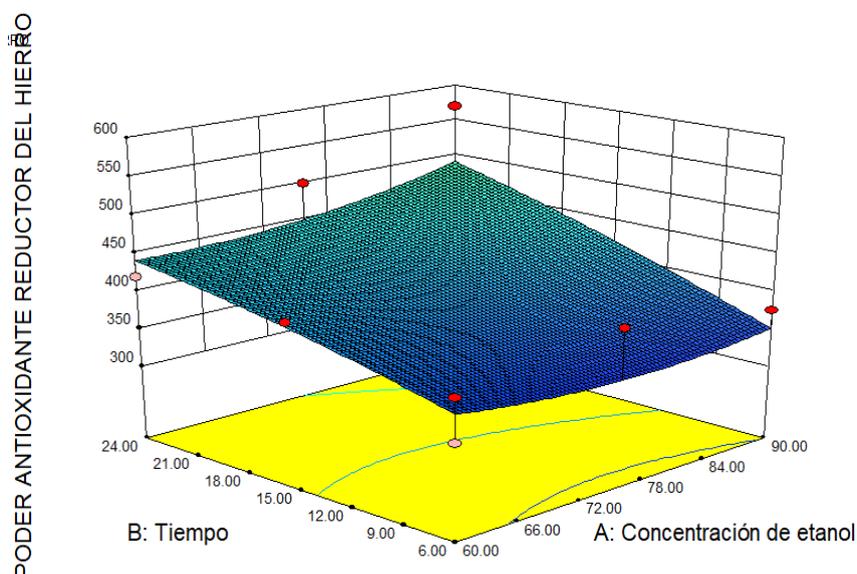
De acuerdo con los resultados que se muestran en la Tabla 8, la relación de la concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción (A, B y C), la interacción entre ambos factores (AB) resultan significativos ( $< 0.0001$ ).

Al examinar los factores se tiene que el término de la concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción tiene mayor predominancia sobre la variable dependiente, seguido de su interacción, concentración de etanol y temperatura de extracción. Evidenciando de esta forma que la variabilidad de los factores va a tener una relación directa al determinar la actividad antioxidante.

En la gráfica 5 se muestra que cuanto mayor es la concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción, mayor es la concentración de actividad antioxidante en el extracto.

## Gráfica 5

Contenido de la actividad antioxidante



Elaborado por: Autoras (Alvarez, Arcos; 2021)

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

La optimización numérica del proceso de extracción se realizó bajo las condiciones de intervalos, ya evaluados, como son las variables independientes de (concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción) y así obtener valores superiores del mejor optimizado en polifenoles totales y la actividad antioxidante presente en la droga cruda de “sunfo” (Tabla 9).

**Tabla 9**

*Restricciones para la optimización de la extracción*

Parámetro	Límite inferior	Límite superior	Criterio
Concentración de etanol	60	90	Intervalo
Tiempo de extracción (h)	6	24	Intervalo
Temperatura de extracción	30	60	Intervalo
Polifenoles totales (mg/g)	0,13	0,22	Maximizar
Actividad antioxidante ( $\mu\text{molFe}^{2+}/\text{g}$ )	319,44	824,5	Maximizar

Elaborado por: Autoras (Alvarez, Arcos; 2021)

La Tabla 10 muestra la optimización del proceso de extracción con la aplicación de las limitaciones anteriores. La solución predice el valor de las variables dependientes, se seleccionó la muestra que mayor provecho o más similitud tiene desde el punto de vista estadístico.

**Tabla 10**

*Solución optimizada que cumple con las restricciones*

<b>Parámetro</b>	<b>Unidades</b>	<b>Solución</b>
Concentración de etanol	%	90
Tiempo de extracción	h	24
Temperatura de extracción	°C	60
Polifenoles totales	mg/g	0,20
Actividad antioxidante	$\mu\text{molFe}^{2+}/\text{g}$	814,18
Conveniencia estadística		0,897

**Elaborado por:** Autoras (Alvarez, Arcos; 2021)

En la tabla 11 se observa la comprobación numérica de la optimización y los valores obtenidos experimentalmente, el contenido de polifenoles totales es de 0,23mg/g y actividad antioxidante de 825,3  $\mu\text{molFe}^{2+}/\text{g}$  estos valores fueron superiores a los predichos obtenidos por el modelo matemático.

**Tabla 11**

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

<b>Parámetro</b>	<b>Valor predicho</b>	<b>Valor experimental</b>
Polifenoles (mg/g)	0,20	0,23
Capacidad antioxidante ( $\mu\text{molFe}^{2+}/\text{g}$ )	814,18	825.3

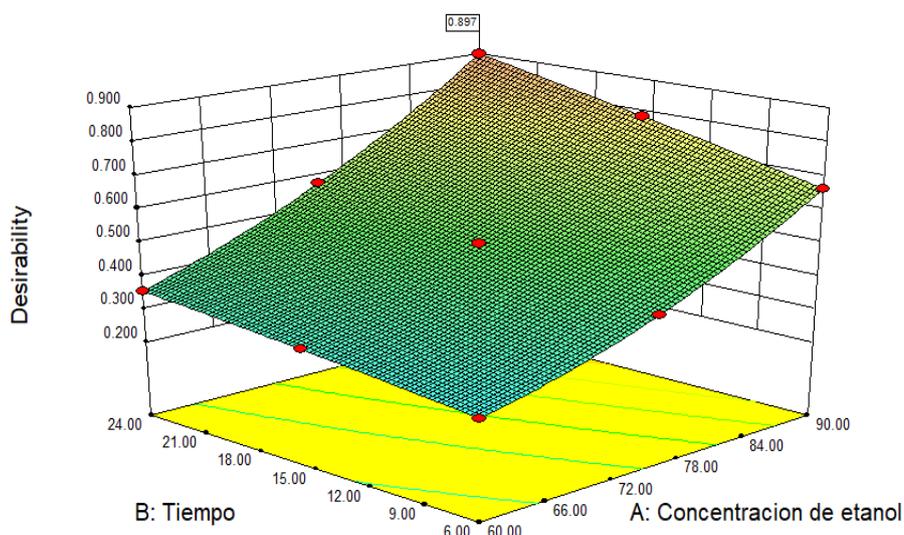
**Elaborado por:** Autoras (Alvarez, Arcos; 2021)

Una vez demostrado el buen ajuste y adecuación del modelo, se optimizaron las tres variables de respuesta. La gráfica 6 muestra la superficie de respuesta obtenida para la optimización de las variables estudiadas. La condición óptima prevista se obtuvo con una concentración de etanol al 90%, tiempo de extracción 24h y una temperatura de 60°C, con

una función de deseabilidad en este punto de 0.897, que se acerca al valor máximo de 1. Mediante esta combinación se encontraron los siguientes valores de resultado: contenido total de polifenoles de 0,20mg/g y la actividad antioxidante de 814,18 $\mu\text{molFe}^{2+}/\text{g}$ , que corresponden a los picos más altos de la gráfica.

### Gráfica 6

#### Relación del optimizado



Elaborado por: Autoras (Alvarez, Arcos; 2021)

## 10.6. Caracterización del extracto optimizado

Tabla 12

#### Caracterización del extracto optimizado

Parámetros	Unidad	Extracto etanólico	
<b>Color</b>	-	Verde oscuro	
<b>Características sensoriales</b>	<b>Olor</b>	-	
	<b>Aspecto</b>	-	
	<b>Homogeneidad</b>	-	
	<b>Actividad antioxidante</b>	$\mu\text{molFe}^{2+}/\text{g}$	825,3
<b>Características fisicoquímicas</b>	<b>Polifenoles</b>	mg/g	0,23
	<b>pH</b>	-	4,9

Elaborado por: Autoras (Alvarez, Arcos; 2021)

Los resultados de la evaluación del extracto optimizado del sunfo en la tabla 11, nos

indicó las características sensoriales que presentó fue un color verde oscuro, lo cual puede

estar atribuido por la solubilidad de las clorofilas en el alcohol. En el extracto se observó homogeneidad, un aspecto opaco y un aroma fragante a la mezcla de sunfo (mentolado) y a etanol.

Las características fisicoquímicas presentes en el extracto optimizado fueron la actividad antioxidante de  $825,3\mu\text{molFe}^{2+}/\text{g}$ , un contenido de polifenoles de  $0,23\text{mg/g}$  y un pH de 4,9. Los datos obtenidos concuerdan o están en un rango de rigor, según la investigación de (Torres, Barbarú, & Lema, 2016).

Según (Heredia, 2006) los extractos de plantas, juntamente con diferentes tipos de antocianinas, dan a cada extracto específico un cambio de color diferente en comparación con el pH. A nivel molecular, la diferencia entre las antocianinas radica en la distribución y el número de los grupos -OH y -OCH<sub>3</sub> de las correspondientes antocianinas y los grupos -OH sustituidos por los grupos -OG1.

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

### **11.1. *Técnicos***

El sunfo es de gran potencial para la industria alimentaria debido a sus compuestos activos, ofrecen una alternativa como aditivo alimentario (colorantes, saborizantes, antioxidantes, antimicrobianos, enriquecedores del alimento...) dando la apertura a mejorar la calidad de los productos en su vida útil, sustituyendo los aditivos químicos o sintetizados.

### **11.2. *Sociales***

Es un impacto positivo para la industria debido a que esta investigación dará a conocer los compuestos bioactivos que tiene la planta de sunfo; por lo cual, permitirá el desarrollo de productos innovadores apuntando a las necesidades de la sociedad, debido a que, en la actualidad el ser humano busca un aporte más natural y saludable.

### **11.3. *Ambientales***

Los extractos contienen principios activos que se pueden sustituir por ciertos productos químicos o sintetizados, los cuales son menos tóxicos para la salud y se degradan con facilidad. Al momento de la producción de los extractos se denota un leve impacto negativo debido a los desechos contaminantes (papel filtro, papel industrial, envases, agua) que pudiese producir.

## 12. PRESUPUESTO

Tabla 13

*Presupuesto*

Cantidad	Recursos	PRESUPUESTO PARA LA ELABORACIÓN DEL PROYECTO		
		Horas de uso	Valor Unitario \$	Valor Total\$ de depreciación de 120 días
<b>Equipos</b>				
1	Estufa	120	0.0934	11.21
1	Balanza analítica	30	0.2461	7.38
1	Espectrofotómetro	30	0.1762	5.29
1	Incubadora	120	0.1370	16.44
1	Baño María	20	0.0695	1.40
				41.72
Cantidad	Descripción	Unidad	Valor Unitario\$	Valor Total\$
<b>Materiales y suministros</b>				
15	Matraz Erlenmeyer 100 ml de vidrio	U	2.20	33.00
12	Matraz Erlenmeyer 250 ml de vidrio	U	2.98	35.76
3	Matraz aforado 100ml t/plástico	U	6.05	18.15
1	Micropipeta Microlit 100-1000 µl volumen variable	U	85.00	85.00
4	Pipeta 10 ml	U	3.57	14.28
1	Piseta plástica 500ml	U	2.55	2.55
1	Punta Microlit 1000 µl paquete	U	20.00	20.00
1	Punta 10 a 200 µl con caja porta puntas amarillas	U	20.50	20.50
4	Matraz aforado 50ml t/plástico	U	7.30	29.2
2	Matraz aforado 10ml t/plástico	U	5.05	10.10
3	Vasos de precipitación 250 ml	U	3.00	9.00
1	Papel aluminio	U	2.25	2.25
1	Limpión industrial	M	3.13	3.13
1	Alcohol antiséptico	L	3.23	3.23
2	Agua destilada	L	1.50	3.00
1	Jabón líquido	L	1.75	1.75
				290.90

Reactivos				
12	Etanol	L	10	120
1	TPTZ 3g	g	450	450
1	Carbonato de sodio	g	65	65
1	Folin-Ciocalteu	ml	147	145
1	Ácido Gálico	g	135	135
				915
Material Bibliográfico y fotocopias.				
2	Esferos.	U	0.45	0.90
150	Impresiones.	U	0.5	7.50
2	Computadora	U	900	1.800
				1,808.40
Gastos varios				
610	Internet	Horas	0.10	61,00
20	Transporte	Días	12.00	240,00
20	Alimentación	Días	5	100
				401,00
Materia prima				
7	Sunfo ( <i>Clinopodium nubigenum</i> <i>Kuntze</i> )	Kg	2.50	17.50
				17.50
<b>TOTAL</b>				3,474.52

Elaborado por: Autoras (Alvarez, Arcos; 2021)

## 13. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 13.1. Conclusiones

- Se detectó la presencia de fitocompuestos en la droga cruda de la planta de sunfo, evidenciando que los extractos de sunfo contienen metabolitos secundarios, mostrando en el extracto etéreo compuestos grasos, agrupamiento lactónico y triterpenos, en el extracto etanólico agrupamiento lactónico, catequinas, saponinas y quinonas / benzoquinonas y en el extracto acuoso azúcares reductores, saponinas, compuestos fenólicos, flavonoides, mucilagos y principios amargos.
- Mediante las corridas experimentales se determinó el mejor proceso optimizado de extracción, teniendo como resultado que a una concentración de etanol de 90%, tiempo de 24h y temperatura de extracción de 60°C, se evidencia un mejor ajuste matemático.
- Se comprobó el proceso de optimización numérica de la extracción hidroalcohólica, mediante una comparación de los valores experimentales de polifenoles totales (0,23mg/g) y actividad antioxidante (825,3 $\mu$ molFe<sup>2+</sup>/g), con los valores obtenidos en los predichos de la optimización de polifenoles totales (0,20mg/g) y actividad antioxidante (814,18 $\mu$ molFe<sup>2+</sup>/g). Los valores obtenidos por medio de la experimentación resultaron superiores a los valores de la optimización numérica.
- Al evaluar el extracto optimizado se obtuvo sensorialmente un color verde oscuro, homogéneo, opaco y un aroma intenso. Mientras tanto en las características fisicoquímicas se evidenció una actividad antioxidante de 825,3 $\mu$ mol Fe<sup>2+</sup>/ g, contenido de polifenoles de 0,23mg/g y un pH de 4,9.

### **13.2. Recomendaciones**

- El secado de la planta está relacionado directamente con la cantidad de fitocompuestos, por lo que se recomienda no exceder los 40 C debido a que los compuestos se destruyen y volatilizan.
- Para identificar y cuantificar compuestos fitoquímicos es necesario utilizar métodos más exactos y precisos como la cromatografía en capa fina, cromatografía de gases, cromatografía líquida de alta eficiencia, con detector de masas, para identificar y cuantificar los compuestos químicos.
- La sustitución de solventes químicos por solventes “verdes” evitaría los problemas de exposición de los operarios en plantas químicas y el riesgo de incendios tanto en plantas de producción como durante su transporte. La utilización de solventes verdes da mejores resultados porque son obtenidos de las mismas plantas.

#### 14. REFERENCIAS

- Agudelo, G., Aigner, M., & Ruiz, J. (2018). EXPERIMENTAL Y NO-EXPERIMENTAL. *CEO*, 1- 46. Obtenido de <https://revistas.udea.edu.co/index.php/ceo/article/view/6545>
- Alvarez, E., De La Rosa, L., Gonzáles, G., & Ayala, J. (2012). *ANTIOXIDANTES EN ALIMENTOS Y SALUD*. México: Clave Editorial. Obtenido de <https://docplayer.es/57194382-Antioxidantes-en-alimentos-y-salud.html>
- Alvis, A., Martínez, W., & Arrazola, G. (2012). Obtención de Extractos Hidro-Alcohólicos de Limoncillo (*Cymbopogon citratus*) como Antioxidante Natural. *SciELO*, 3 - 10. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642012000200002>
- Balcaza, T., Contreras, Á., & Font, V. (2017). Análisis de Libros de Texto sobre la Optimización en el Bachillerato. <https://www.scielo.br/>, 31(59), 1061-1081. doi:<https://doi.org/10.1590/1980-4415v31n59a11>
- Bedini, S., Flamini, G., Cosci, F., Ascrizzi, R., Echeverría, M., Gómez, E., . . . Conti, B. (2019). Toxicidad y disuasión de la oviposición de los aceites esenciales de *Clinopodium nubigenum* y *Lavandula angustifolia* contra la mosca *Lucilia sericata*, inductora de miasis. *Plos One*, 1-13. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212576>
- Bulgarin, L., & Loor, J. (2018). Estudio preliminar fitoquímico y farmacognóstico de la corteza del fruto y del compuesto graso de la semilla amarga de achotillo (*Nephelium lappaceum* L.) [Trabajo de titulación - Químico y Farmacéutico, Universidad de Guayaquil]. *Repositorio*. Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/29792>

- Burgos, O., & Coello, M. (2018). Estudio farmacognóstico, fitoquímico, y microbiológico del *Phlebodium pseudoaureum* (calaguala)[Tesis-Químicos Farmacéuticos, Universidad de Guayaquil]. *Repositorio institucional*. Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/33590>
- Caguana, M., & Quinaluisa, V. (2017). *Diagnóstico del potencial agroindustrial de sunfo (Clinopodium nubigenum) y eneldo (Anethum graveolens)*. [Tesis - Ingeniería Agroindustrial, Universidad Técnica de Cotopaxi]. Repositorio Digital. Obtenido de <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/4190>
- Carrión, A., & García, I. (2010). *Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metódica*. [Tesis - Bioquímica y Farmacéutica, Universidad de Cuenca]. Repositorio Institucional. Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/2483>
- Castaño, H., Ciro, G., Zapata, J., & Jiménez, S. (2010). ACTIVIDAD BACTERICIDA DEL EXTRACTO ETANÓLICO Y DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DE *Rosmarinus officinalis* L. SOBRE ALGUNAS BACTERIAS DE INTERÉS ALIMENTARIO. *https://www.edalyc.org*, 17(2), 149 - 154. Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169815396006>
- Castillo, D. (2020). *Caracterización de los compuestos bioactivos del sunfo (clinopodium nubigenum), con propósitos agroindustriales*. [Tesis - Ingeniería Agroindustrial y de Alimentos, Universidad De Las Américas]. Repositorio Digital Institucional. Obtenido de <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/12187>
- Celis, Á., Mendoza, C., Pachón, M., Cordona, J., Delgado, W., & Cuca, L. (2008). Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperaceae. Una revisión. *Scielo*, 26(1), 97. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/agc/v26n1/v26n1a12.pdf>

- CNES. (2021). *Provincia de Tungurahua, canton Ambato parroquia de San Fernando* .  
Obtenido de Google maps: <https://www.google.com/maps/place/San+Fernando/@-1.267833,-78.7628277,8434m/data=!3m1!1e3!4m5!3m4!1s0x91d37eaacc4e0f93:0xd4af52d49a3de1fb!8m2!3d-1.265506!4d-78.7462038>
- Coral, P. (2018). *Diseño de una planta para la elaboración de un deshidratado para infusiones de Sunfo Clinopodium nubigenum (Kunth) Kuntze*[ Tesis de Ingeniería Agroindustrial, Escuela Politécnica Nacional]. Repositorio Digital Institucional. Obtenido de <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/19876>
- Coronado, M., Vega, S., Vázquez, M., Radilla, C., & Rey, L. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Scielo*, 42(2), 206 - 212. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182015000200014>
- Criollo, A. (2015). Determinación cuantitativa de polifenoles y metabolitos con propiedades antioxidantes en el extracto de altamisa (*Ambrosia artemisiifolia*)[Trabajo de titulación Bioquímica y Farmacia, Universidad Técnica de Machala]. *Repositorio institucional*. Obtenido de <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/3177>
- Cruz, A., & Tubay, D. (2019). Estudio farmacognóstico y fitoquímico preliminar de *Oxalis tuberosa* Molina (OCA)[Tesis-Químicos Farmacéuticos, Universidad De Guayaquil]. *Repositorio institucional*. Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/43535>
- Cruz, P. (2010). *Elaboración y Control de Calidad del Gel Antimicótico de Manzanilla (Matricaria chamomilla), Matico (Aristiguetia glutinosa) y Marco (Ambrosia arborescens) para Neo-Fármaco*. [Tesis - Bioquímico Farmmacéutico, Escuela Superior Politecnica de Chimborazo]. Repositorio Digital. Obtenido de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/218>

- Durán, H. (2019). *Inventario y capacidad de producción de plantas medicinales*. Obtenido de <https://www.ppd-ecuador.org/wp-content/uploads/2019/FondoBecas/SierraCentro-Sur/MANUAL-DE-PLANTAS-MEDICINALES.pdf>
- Escobar, A. (2014). Caracterización química de alcaloides del género [Química Farmaceutica-Tesis, ICESI]. *Biblioteca Digital*. Obtenido de <http://hdl.handle.net/10906/76979>
- Esther, S. (25 de 06 de 2016). *Tipos de antioxidantes según su procedencia, propiedades y clasificación*. Obtenido de Cebanatural: <https://www.cebanatural.com/tipos-antioxidantes-segun-procedencia-propiedades-clasificacion-blog-337.html>
- Flores, H., León, C., Esterrón, M., & Orozco, I. (2016). OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE SUSTANCIAS ANTIOXIDANTES A PARTIR DEL ORÉGANO MEXICANO (*Lippia graveolens* HBK) UTILIZANDO LA METODOLOGÍA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA (MSR). *redalyc.or*, 15(3), 773-785. Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62048168009>
- Gadsanfernando. (2021). *Ubicación Geografica*. Obtenido de <https://www.gadsanfernando.gob.ec/parroquia/ubicacion-geografica.html#:~:text=Geogr%C3%A1ficamente%20est%C3%A1%20localizada%20al%20occidente,%2043%22%20de%20latitud%20sur>
- Gallegos, M. (2016). Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. *Scielo Perú*, 77(4), 327-332. Obtenido de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-55832016000400002&lang=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832016000400002&lang=es)

- García, E., & Fernández, I. (2012). Determinación de la humedad de un alimento por un método gravimétrico indirecto por desecación. *Universitat Politècnica de València*, 1-5. Obtenido de <http://hdl.handle.net/10251/16339>
- Gavilanez, S. (2020). *Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir del orégano (Origanum vulgare L.)*. [ Tesis - Ingeniería Agroindustrial, Universidad Técnica de Cotopaxi]. Repositorio Digital Institucional. Obtenido de <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/6690>
- Ginocchio , G., & Pérez, R. (2019). *Efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de clinopodium nubigenum (kunth) kuntze (pachachamcua) sobre cepas de streptococcus pyogenes ATCC 19615*. [ Tesis - Químico Farmacéutico y Bioquímico, Universidad Inca Garcilaso De La Vega]. Repositorio Institucional. Obtenido de <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/4291>
- Gualteros, T., & Valle, M. (2014). Constitución de una planta deshidratadora de Manzanilla en el Municipio de Fusagasuga con destino a laboratorios cosméticos y farmaceuticos[Proyecto de grado- Especialista en gerencia de proyectos,Corporación Universitaria Minuto de Dios ]. *Sistema Nacional de Bibliotecas Rafael García - Herrerros*. Obtenido de <http://hdl.handle.net/10656/4640>
- Heredia, S. (2006). Experiencias sorprendentes de química con indicadores de pH caseros. *Eureka Sobre Enseñanza Y Divulgación De Las Ciencias*, 3(1), 89-103. Obtenido de <https://revistas.uca.es/index.php/eureka/article/view/3884>
- Hernández, J. (2018). Tipos de Investigación. *Boletín Científico de la Escuela Superior Atotonilco de Tula*, 5(9). doi:<https://doi.org/10.29057/esat.v5i9.2885>
- Hueso, G., & Cascant, J. (2012). *Metodología y técnicas cuantitativas de investigación*. Valencia: Universitat Politècnica de València. Obtenido de <http://hdl.handle.net/10251/17004>

- Illescas, A., & Lovato, C. (2020). *Estudio del Perfil Fitoquímico y posibles aplicaciones de los extractos alcohólicos, etéreo y acuoso del Sunfo (clinopodium nubigenum (kunth) kuntze)*[Tesis - Ingeniería Agroindustrial, Universidad Técnica de Cotopaxi]. Repositorio Institucional. Obtenido de <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/6998>
- Iñiguez, F. (2011). ESTUDIOS DE LA DIFUSIÓN DE CATEQUINA Y EPICATEQUINA EN PELÍCULAS DE ÁCIDO POLILÁCTICO Y SU CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA[Tesis de Maestría en Ciencias,Gobierno de Mexico]. *Repositorio CIAD*. Obtenido de <http://ciad.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1006/341>
- Jamanca, N., & Alfaro, S. (2017). *Antioxidantes en los alimentos*. Lima: UNAB. Obtenido de <http://repositorio.unab.edu.pe/handle/UNAB/17>
- Ladislav, H. (22 de Octubre de 2017). *Clinopodium-Nibigenum*. Obtenido de Botany.cz: <https://botany.cz/cs/clinopodium-nubigenum/>
- Londoño, J. (2012). *Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad [Grupo de Investigación en Ingeniería de Alimentos - GRIAL, Biblioteca Digital Lasallista]*. Repositorio Digital. Obtenido de <http://hdl.handle.net/10567/133>
- Martinez, B., Hung, B., Hernández, E., & Audivert, Y. (2006). CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DEL EXTRACTO ACUOSO DE ZUELANIA SP. *Redalyc.org*, 18(1), 266. Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=443543688088>
- Melissa, H. (2015). *Clinopodium nubigenum (Kunth)*. En B. Cuamacás, D. Fernández Fernández, E. Freire, M. Haro, V. Herrera, B. Obando, . . . A. Yáñez, *PLANTAS DE LOS PÁRAMOS DEL DISTRITO METROPOLITANO DE QUITO, ECUADOR* (pág. 77). Quito: Patrimonio Natural del Ecuado. Obtenido de <http://www.mobot.org/mobot/research/pdf/PlantasParamosDMQ.pdf>

- Méndez, F. (2018). *Optimización de la obtención del extracto hidroalcohólico de las inflorescencias de Cannabis sativaL. "marihuana"*. [Tesis - Químico Farmacéutica, Universidad Nacional San Cristobal De Huamanga]. Repositorio Institucional. Obtenido de <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/3358>
- NATURALES, Á. D. (24 de Julio de 2015). *Listado de Plantas Medicinales del Ecuador*. Obtenido de AGENCIA NACIONAL DE REGULACIÓN, CONTROL Y VIGILANCIA SANITARIA: [https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2015/08/listado-de-plantas-medicinales-del-ecuador-24-07-2015.pdf&ved=2ahUKEwj85qP\\_wrvuAhXBnOAKHQ3yClwQFjAAegQIAxAB&usg=AOvVaw3pW9AuhatuN](https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2015/08/listado-de-plantas-medicinales-del-ecuador-24-07-2015.pdf&ved=2ahUKEwj85qP_wrvuAhXBnOAKHQ3yClwQFjAAegQIAxAB&usg=AOvVaw3pW9AuhatuN)
- Naveda, G. (2010). *Establecimiento de un proceso de obtención de extracto de ruda (Ruda Graveolens), con alto contenido de polifenoles*. [Tesis Agroindustrial, Escuela Politécnica Nacional]. Repositorio Digital Institucional. Obtenido de <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/2295>
- Peñarrieta, M., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila, J., & Bravo, J. (2014). Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Redalyc.org*, 31(2), 68-81. Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=426339682006>
- Peñarrieta, M., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila, J., & Bravo, J. (2014). Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Redalyc*, 31(2), 68-81. Obtenido de [www.redalyc.org/articulo.oa?id=426339682006](http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=426339682006)
- Pérez , Y., Rodríguez, E., Aguilar, B., Gonzáles, M., & Hung, B. (2016). Caracterización físico-química de extractos de Spondias mombin L. *Scielo*, 28(1), 444-449. Obtenido

de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2224-54212016000100008&lang=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-54212016000100008&lang=es)

Portilla, F. (2018). *Agroclimatología del Ecuador*. Quito: Abya - Yala. Obtenido de <https://books.google.es/books?hl=es&lr&id=hy0MEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA4&dq=climas+de+la+sierra+andina+del+ecuador&ots=q7VQ7tcCiI&sig=djrg6TUXWOZwdaH1IZxbyihLV7M&pli=1#v=onepage&q=climas%20de%20la%20sierra%20andina%20del%20ecuador&f=false>

Quezada, M., & Rivera, M. (2015). Determinación de fitoconstituyentes de la raíz y hojas de mimosa albida procedentes de Conache – La Libertad.[Tesis de farmacia, Universidad Nacional De Trujillo]. *Repositorio institucional*. Obtenido de <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/3689>

Quintín, D. (s.f.). *Empleo de extractos naturales obtenidos de subproductos agroalimentarios en productos de V gama*. [Tesis doctoral, Universidad de Murcia]. Tesis Doctorals en Xarxa. Obtenido de <https://www.tesisenred.net/handle/10803/348881#page=6>

Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Scielo*, 27(1), 82. Obtenido de [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-16112012000100009](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112012000100009)

Rodés, S., Peña, D., & Hermosilla, R. (2015). Tamizaje fitoquímico de extractos y tinturas al 20 % de la raíz y corteza de *Dichrostachys cinerea* L. (Marabú). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 19(2), 156 - 166. Obtenido de <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=61754&id2=>

- Salkind, N. (1999). *Métodos de Investigación*. Mexico: Prentice Hall Hispanoamericana. S.A. Obtenido de <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=3uIW0vVD63wC&oi=fnd&pg=PR19&dq=metodos+de+investigacion++descriptiva&ots=aJGzgc-#v=onepage&q=metodos%20de%20investigacion%20%20descriptiva&f=false>
- Salvá, E. (s.f.). *Estabilidad oxidativa y microbiológica de un embutido cocido de vísceras rojas de *Cavia porcellus* con extracto etanólico de *Mentha spicata**. [Tesis- Industria Alimentaria, Universidad Nacional Agraria la Molina]. Repositorio Digital Institucional. Obtenido de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/2607>
- Sánchez, J. (2013). LA QUIMICA DEL COLOR EN LOS ALIMENTOS. *Redalyc.org*, 12(3), 234 - 346. Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86329278005>
- Soria, N., & Ramos, P. (2015). Uso de plantas medicinales en la Atención Primaria de Salud en Paraguay: algunas consideraciones para su uso seguro y eficaz. *Scielo*, 13(2), 9-10. doi:[https://doi.org/10.18004/Mem.iics/1812-9528/2015.013\(02\)08-017](https://doi.org/10.18004/Mem.iics/1812-9528/2015.013(02)08-017)
- Torres, E., Soto, G., Palomino, L., & García, E. (2017). Estudio ab initio de la capacidad antioxidante de una familia de alcaloides imidazólicos versus flavonoides. *Redalyc.org*, 25(72), 30-35. Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=67453654004>
- Torres, S., Barbarú, A., & Lema, M. (2016). ANÁLISIS FITOQUÍMICO DE UN EXTRACTO DE LA ESPECIE FORESTAL NATIVA TARQUI (*HEDYOSMUM SCABRUM*), PERTENECIENTE AL BOSQUE DE JACARÓN, JUAN DE VELASCO, CHIMBORAZO, ECUADOR. *Mikarimin*, 2(3), 80. Obtenido de <http://45.238.216.13/ojs/index.php/mikarimin/article/view/470>
- Valenzuela, C., & Pérez, P. (2016). Actualización en el uso de antioxidantes naturales derivados de frutas y verduras para prolongar la vida útil de la carne y productos

cárneos. *Scielo*, 43(2), 188 - 195. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182016000200012>

Velásquez, S., & Zaravia, L. (2014). Estudio comparativo de la composición química de las partes vegetativa y germinativa del hongo ganoderma lucidum[Tesis de Farmacia,Universidad Nacional de Trujillo]. *Repositorio Institucional*. Obtenido de <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/3769>

Waizel, J., & Waizel, S. (2019). Las plantas con principios amargos y su uso medicinal. ¿Un futuro dulce? *Anales de Otorrinolaringología Mexicana*, 207. Obtenido de <https://otorrino.org.mx/article/las-plantas-con-principios-amargos-y-su-uso-medicinal-un-futuro-dulce/>

## 15. ANEXOS

### Anexo 1

#### *Datos informativos del tutor*

#### **DATOS PERSONALES**

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	:	(03)2802455 / 0999084592	
LUGAR/OCUPACIÓN ACTUAL	:	DOCENTE UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI	
TELÉFONO	:	0322253162	
CORREO ELECTRÓNICO	:	rojas_orlando1984@hotmail.com	

## Anexo 2

### Datos estudiante Alvarez Pamela

Alvarez Castro Pamela Yessenia



#### INFORMACIÓN GENERAL

**Nacionalidad:** ecuatoriana

**Cédula de ciudadanía:**  
0503408411

**Tipo de sangre:** O+

**Fecha de nacimiento:**  
13/09/1997

**Estado civil:** Soltera

 0984195019



pamelayessenia.alvarez@gmail.com

 OE4C S61 -19 calle M y calle B

#### Estudios primarios

Escuela fiscal Juan Pio Montufar Juan de Dios Morales

#### Estudios secundarios

Colegio Nacional Mixto "Tarqui"

Unidad Educativa Nueva Primavera

#### Estudios Universitario

Universidad Técnica de Cotopaxi- Carrera de Agroindustria

#### EXPERIENCIA PRE PROFESIONAL

De: 17/ Febrero /2020 a 15/ Marzo/ 2020  
(Latacunga-Ecuador)

##### Lácteos Abellito S.A.

Pasante

Tareas realizadas:

Laboratorios de análisis de control de materia prima, áreas de producción, sellado y empaçado de producto terminado.

De: 24/ Julio /2020 a 13 /Septiembre / 2019

##### Lácteos San Enrique,

Pasante

Tareas realizadas:

Laboratorios de análisis de control de materia prima, áreas de producción, sellado y empaçado de producto terminado.

(Latacunga-Ecuador)

##### Asociación de Productores de Leche

"Simón

Rodríguez"

Actividades de servicio a la comunidad  
Control de recepción de leche

De: 09/Octubre/2018 a 11 /Febrero/2019  
(Latacunga-Ecuador)

#### CURSOS Y TALLERES

- ✓ Gestión de la Agroindustria UTC como eje de desarrollo en la industria agroalimentaria.
- ✓ Seminario en línea sobre JORNADAS DE CAPACITACIÓN EN AGROINDUSTRIA (Buenas Prácticas de Manufactura en la Industria Alimentaria, Limpieza y Desinfección de la Industria Alimentaria, Microbiología Predictiva y Toxicología Alimentaria)
- ✓ Seminario en línea sobre la aplicación de los mucílagos en el sector Agroalimentario – Difusión de resultados del proyecto mucílagos
- ✓ II CONGRESO DE AGROINDUSTRIA: TENDENCIAS INDUSTRIALES, BIOTECNOLOGÍA Y EMPRENDIMIENTO.
- ✓ II CONGRESO INTERNACIONAL DE AGROINDUSTRIAS, CIENCIA TECNOLOGÍA E INGENIERÍA DE ALIMENTOS.
- ✓ I CONGRESO BINACIONAL ECUADOR - PERÚ "AGROPECUARIA, MEDIO AMBIENTE Y TURISMO 2019"
- ✓ III SEMINARIO INTERNACIONAL DE INOCUIDAD DE ALIMENTOS.

## Anexo 3

### Datos estudiante Arcos Erika

Arcos Yánez Erika Patricia



#### INFORMACIÓN GENERAL

**Nacionalidad:** ecuatoriana

**Cédula de ciudadanía:**  
1805064712

**Fecha de nacimiento:**  
04/04/1997

**Estado civil:** Soltera  
0987865730

patriciarcos1@gmail.com

Tungurahua – Ambato –  
Huachi Grande (Av. Alaska y  
Carolina del Sur)

#### ESTUDIOS

##### Estudios primarios:

Vicente Flor

##### Estudios secundarios:

Unidad Educativa Mario  
Cobo Barona

##### Superior:

Universidad Técnica de  
Cotopaxi – Carrera de  
Agroindustria

#### EXPERIENCIA PRE PROFESIONAL

##### Embutidos la Madrileña

Pasante

De: 15/ Abril/2019  
al 22/ Julio/ 2019  
Latacunga-Ecuador

Tareas realizadas:  
Área de calidad y producción

##### Tierra Linda

Pasante

De:  
07/Agosto/2019 al  
04/Septiembre/2019  
Píllaro- Ecuador

Tareas realizadas:  
Área de calidad, producción, bodega y  
oficina.

De: 01/Junio/2020 a  
06/Agosto/2020  
Píllaro-Ecuador

##### Lácteos la Esencia

Pasante

Tareas realizadas:  
Área de calidad, producción, bodega y  
oficina.

#### CURSOS Y TALLERES

- Seminario internacional de agroindustrias. De la investigación a la comunicación de los resultados
- II Congreso de Agroindustrias: Tendencias industriales, biotecnología y emprendimiento.
- II Congreso internacional de Agroindustrias Gestión de la Calidad e Innovación Auditorio de la Universidad Estatal Amazónica.
- II CONGRESO DE AGROINDUSTRIA: TENDENCIAS INDUSTRIALES, BIOTECNOLOGÍA Y EMPRENDIMIENTO.
- SEMINARIO INTERNACIONAL DE AGROINDUSTRIAS DE LA INVESTIGACIÓN A LA COMUNICACIÓN DE LOS RESULTADOS
- I CONGRESO BINACIONAL ECUADOR - PERÚ "AGROPECUARIA, MEDIO AMBIENTE Y TURISMO 2019"
- Seminario en línea sobre JORNADAS DE CAPACITACIÓN EN AGROINDUSTRIA (Buenas Prácticas de Manufactura en la Industria Alimentaria, Limpieza y Desinfección de la Industria Alimentaria, Microbiología Predictiva y Toxicología Alimentaria)
- Seminario en línea sobre la aplicación de los mucílagos en el sector Agroalimentario – Difusión de resultados del proyecto mucílagos

**Anexo 4**

*Páramos de la parroquia de San Fernando, cantón Ambato, provincia de Tungurahua.*



**Elaborado por:** *Autoras (Alvarez, Arcos; 2021)*

**Anexo 5**

*Vegetación de los páramos de San Fernando*



**Elaborado por:** *Autoras (Alvarez, Arcos; 2021)*

## Anexo 6

### *Recolección de la planta de sunfo*



Elaborado por: Autoras (Alvarez, Arcos; 2021)

## Anexo 7

### *Obtención de la droga cruda de sunfo (secado, molido, tamizado, droga)*



Elaborado por: Autoras (Alvarez, Arcos; 2021)

## Anexo 8

### *Extractos hidroalcohólicos*



Elaborado por: Autoras (Alvarez, Arcos; 2021)

## Anexo 9

### *Extracto optimizado*



Elaborado por: Autoras (Alvarez, Arcos; 2021)

## Anexo 10

### *Aval de traducción*



Universidad  
Técnica de  
Cotopaxi

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 Agroindustria de la **FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES: ALVAREZ CASTRO PAMELA YESSENIA y ARCOS YÁNEZ ERIKA PATRICIA**, cuyo título versa **“OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN HIDROALCOHÓLICA A PARTIR DEL SUNFO (Clinopodium nubigenum Kuntze) 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 las peticionarias hacer uso del presente certificado de la manera ética que estimaren conveniente.

Latacunga, marzo del 2021

Atentamente,

Mg. Lidia Rebeca Yugla Lema  
**DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS**  
**C.C. 0502652340**

1803027935 Firmado digitalmente por  
VICTOR HUGO ROMERO HUGO ROMERO  
ROMERO HUGO ROMERO  
GARCIA CENTRO DE IDIOMAS  
GARCIA Fecha: 2021.03.11  
12:12:09 -05'00'