



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

PORTADA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

EVALUACIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE ALCALOIDES DE LAS HOJAS DEL CHOCHO (*Lupinus mutabilis sweet*) Y SU IMPLEMENTACIÓN PARA LA ELABORACIÓN DE UN GEL ANTIBACTERIANO DE USO ASÉPTICO.

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

Autores:

CRISTIAN ALEXANDER HUERTAS BORJA

GABRIEL FABRICIO SANDOVAL PACHACAMA

Tutor:

Ing. GABRIELA BEATRIZ ARIAS PALMA M.Sc.

Latacunga – Ecuador

Marzo - 2018

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD O AUTORÍA

Nosotros, Cristian Alexander Huertas Borja, Gabriel Fabricio Sandoval Pachacama, declaramos bajo juramento que el presente trabajo es de nuestra autoría; que no ha sido presentado para ningún grado o calificación y que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

Por el cual hacemos constar la investigación de grado titulado:

“Evaluación del método de extracción de alcaloides de las hojas del chocho (*Lupinus mutabilis sweet*) y su implementación para la elaboración de un gel antibacteriano de uso aséptico”.

A través de la presente declaración cedo mis derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo, a la Universidad Técnica de Cotopaxi.

Atentamente



Cristian Alexander Huertas Borja

C.I. 0503147803



Gabriel Fabricio Sandoval Pachacama

C.I. 1722813928

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 Cristian Alexander Huertas Borja, identificado con C.C. N° 0503147803, de estado civil Soltero y con domicilio en Latacunga, Calle Quito -

Gabriela Mistral y Gabriel Fabricio Sandoval Pachacama, identificado con C.C. N° 1722813928, de estado civil Soltero y con domicilio en Sangolqui, Cotogchoa Barrio la Libertad a quienes en lo sucesivo se los denominará **LOS CEDENTES**; y, de otra parte, el Ing. MBA. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector 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/EL CEDENTE es una persona natural estudiante de la carrera de Ingeniería Agroindustrial, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “Evaluación del método de extracción de alcaloides de las hojas del chocho (*Lupinus mutabilis sweet*) y su implementación para la elaboración de un gel antibacteriano de uso aséptico” la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad según las características que a continuación se detallan:

Historial académico. Septiembre 2012 – Febrero 2013

Aprobación HCA. 19 de Julio del 2017

Tutor: Ing. Gabriela Beatriz Arias Palma M.Sc.

Tema: Evaluación del método de extracción de alcaloides de las hojas del chocho (*Lupinus mutabilis sweet*) y su implementación para la elaboración de un gel antibacteriano de uso aséptico

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

iv

investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

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

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

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

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

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

CLÁUSULA SÉPTIMA.- CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD.- Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra

en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LA/EL CEDENTE** podrá utilizarla.

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

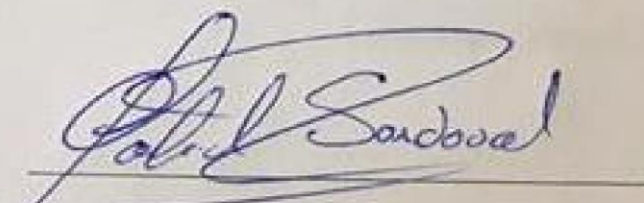
CLÁUSULA UNDÉCIMA.- Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y 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 16 días del mes de Marzo del 2018.



Cristian Alexander Huertas Borja

EL CEDENTE



Gabriel Fabricio Sandoval Pachacama

EL CEDENTE

Ing. MBA. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez

EL CESIONARIO

AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Cumpliendo con el Reglamento del Curso Profesional de la Universidad Técnica de Cotopaxi, en calidad de Directora de Tesis con el Tema "Evaluación del método de extracción de alcaloides de las hojas del chocho (*Lupinus mutabilis sweet*) y su implementación para la elaboración de un gel antibacteriano de uso aséptico", propuesto por los postulantes Cristian Alexander Huertas Borja y Gabriel Fabricio Sandoval Pachacama, como requisito previo a la obtención del título de Ingenieros Agroindustriales, de acuerdo con el reglamento de títulos y grado, considero que el documento mencionado reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación y evaluación por parte del tribunal examinador que se designe.

Particular que pongo en su conocimiento para los fines legales pertinentes.

Latacunga, marzo 2018

Atentamente



Ing. Gabriela Beatriz Arias Palma MSc.

C.I. 1714592746

TUTORA

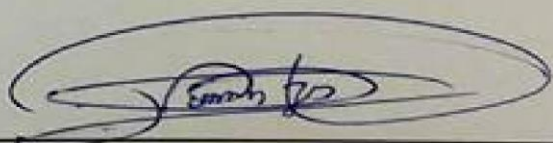
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprueban el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi, y por la Facultad de Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, los postulantes: Cristian Alexander Huertas Borja y Gabriel Fabricio Sandoval Pachacama con el título de Proyecto de Investigación: Evaluación del método de extracción de alcaloides de las hojas del chocho (*Lupinus mutabilis sweet*) y su implementación para la elaboración de un gel antibacteriano de uso aséptico, han considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de Sustentación de Proyecto.

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

Latacunga, marzo 2018

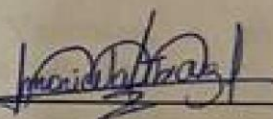
Para constancia firman:



Lector 1 (Presidente)

Quim. Jaime Orlando Rojas Molina Mg

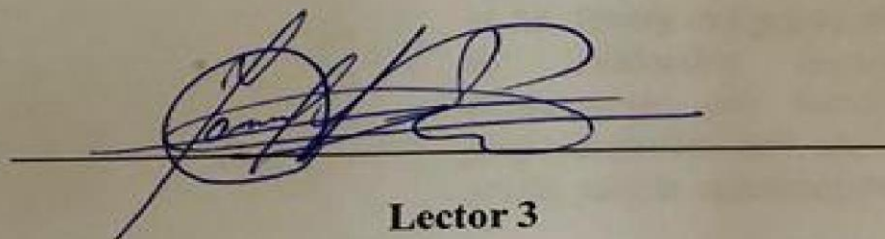
C.C. 0502645435



Lector 2

Ing. Ana Maricela Trávez C. Mg.

C.C. 0502270937



Lector 3

Ing. Manuel Enrique Fernández Paredes M.Sc.

C.C. 0501511604

AGRADECIMIENTO

A mí amada madre Margarita, por su comprensión, aliento, cariño, esfuerzo y sacrificio, por la confianza depositada en mí y sobre todo por su apoyo incondicional.

Mi hermana Verónica, a mis amigos y compañeros de estudio.

Al amor de mi vida por su apoyo incondicional.

A la Universidad Técnica de Cotopaxi a todos los docentes, en especial a los docentes de la carrera de Agroindustrias, que impartieron sus conocimientos durante mi

vida estudiantil. Mi gratitud y sinceridad

agradecimiento a las Ing. Gabriela Arias M.Sc Tutora del proyecto de titulación por su invaluable asesoría y valiosa colaboración por todas las indicaciones proporcionadas que me sirvieron de gran ayuda para la culminación de la Tesis.

AGRADECIMIENTO

A mis padres Edwin y Margoth lo cuales son los pilares que sustentan con su apoyo y confianza depositada en mí. A mi hermano Elvis por todo el apoyo que he recibidos cuales con esfuerzo y sacrificio han sabido apoyarme en todas las metas y propósitos los cuales me eh planteado.

A la Universidad Técnica de Cotopaxi, a toda el personal que conforma esta gran institución, a los profesores de la carrera de Ingeniería Agroindustrial por todos los conocimientos y experiencias impartidas, en especial a la Ing. Gabriela Arias M.Sc. Tutora por la atención y colaboración dada hacia nosotros.

Mis amigos y compañeros con los cuales hemos sabido sobrellevar todas las adversidades durante la carrera.

DEDICATORIA

Dedicado a mi madre, a todos lo que creyeron en mí, a mi querida familia, al amor de mi vida, a mis amados Martin y Julián, a mis compañeros de estudio y a mis profesores.

Cristian Alexander Huertas Borja

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres pilares
fundamentales en mi vida, a mis maestros, a
mis amigos los cuales han sabido apoyarme.

Gabriel Fabricio Sandoval Pachacama

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TITULO: “EVALUACIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE ALCALOIDES DE LAS HOJAS DEL CHOCHO (*LUPINUS MUTABILIS SWEET*) Y SU IMPLEMENTACIÓN PARA LA ELABORACIÓN DE UN GEL ANTIBACTERIANO DE USO ASÉPTICO”

Autores: Cristian Alexander Huertas Borja y Gabriel Fabricio Sandoval Pachacama

RESUMEN

El presente proyecto se enfoca en evaluar la maceración como método de extracción de alcaloides de las hojas del chocho junto con la disolución de sales bases, aplicando temperaturas de deshidratación en las hojas y evaporación en los solventes que permitan la cristalización de la pasta base de alcaloides para su posterior implementación en la elaboración de un gel antibacteriano de uso aséptico. Actualmente existe un gran desaprovechamiento de las hojas en las zonas productivas y el uso inadecuado de los desechos obtenidos del proceso de desamargado de los granos de la planta, estos compuestos antinutricionales se encuentran presentes en toda la fisiología de la planta permitiendo incluso repeler naturalmente la presencia de plagas y enfermedades a las que puede ser susceptible durante su desarrollo, estos compuestos pueden ser empleados para la elaboración de fitomedicamentos, gracias a sus propiedades asépticas, bactericidas y cicatrizantes que contienen estos compuestos. A través de un análisis cualitativo el cual se realizó externamente en un laboratorio acreditado (LABOLAB), se demostró la presencia de alcaloides en los diferentes extractos líquidos obtenidos de la maceración de las hojas, dando como resultado la presencia de estos compuestos en los solventes no polares y ausencia en los solventes polares. Además se pudo constatar que el mejor tratamiento obtenido fue el tratamiento N°4 establecido por (35°C de deshidratación de las hojas durante 10 horas, macerado en Agua y adicionado Sulfato de Magnesio) ya que este presentó el mejor rendimiento obtenido en la extracción para después aplicarlo dentro de la formulación del gel aséptico. Se obtuvo un gel aséptico de coloración amarillenta característica de los alcaloides del chocho y de fácil absorción en la piel según los resultados arrojados en el análisis fisicoquímico, igualmente se aplicó un análisis de validación del producto en el cual se observó que la concentración de alcaloides y la proporción de alcohol influyen en la eliminación de las bacterias en la superficie de las manos.

Palabras clave: Alcaloides, maceración, disolución, cristalización, antinutricionales, Fitomedicamentos, bactericidas, concentración.

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI

FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES

TITLE: “EVALUATION OF THE METHOD FOR EXTRACTION OF ALKALOIDS FROM THE LEAVES OF CHOCHO (*LUPINUS MUTABILIS SWEET*) AND ITS IMPLEMENTATION FOR THE ELABORATION OF AN ANTI-BACTERIAL GEL USE ASEPTIC”

AUTHORS: Cristian Alexander Huertas Borja & Gabriel Fabricio Sandoval Pachacama.

ABSTRACT

This project focuses on evaluating the maceration with three different solvents (Water, 97% Alcohol and Chloroform) as a method of sales bases, by applying temperatures dehydration in sheets and evaporating solvents enabling the crystallization of the pasta base of alkaloids for its subsequent implementation in the preparation of an aseptic use antibacterial gel. There is a great waste of leaves in the production areas and the inappropriate use of waste obtained from the process of “desamargado” of the plant beads, These anti-nutritional compounds are present in all plant physiology allowing even naturally repel the presence of pests and diseases that may be susceptible during their development, these compounds can be used for the development of phytomedicines, thanks to its aseptic, bactericidal and cicatrizant properties containing these compounds. Through a qualitative analysis which was carried out externally in an accredited laboratory (LABOLAB), it showed the presence of alkaloids in different liquid extracts obtained from the maceration of the leaves, resulting in the presence of these compounds in non-polar solvents and absence in polar solvents. In addition it was found that the best retrieved treatment was treatment number four (N°4) established by: (35° C of dehydrating of the leaves for 10 hours, macerated in water and added magnesium sulfate) since this presented the best performance obtained in extraction then apply it within the aseptic gel formulation. We obtained an aseptic characteristic of the alkaloids of “chocho” yellowing gel, and easily absorbed in the skin according to the thrown results in physico-chemical analysis, also applied an analysis of validation of the product in which it was observed that the concentration of alkaloids and the proportion of alcohol influence the elimination of bacteria on the surface of the hands.

Keywords: Alkaloids, maceration, dissolution, crystallization, antinutritional, phytomedicines, bactericides, concentration.

ÍNDICE DE CONTENIDO

PORTADA	1
AGRADECIMIENTO	10
AGRADECIMIENTO	xi
DEDICATORIA	xi
DEDICATORIA	xii
RESUMEN	xiii
ABSTRACT	xiv
ÍNDICE DE CONTENIDO	xv
ÍNDICE DE TABLAS	xx
ÍNDICE DE ANEXOS	xxi

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD O AUTORÍA	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR	iii
AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	vi
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN	vii

1. INFORMACIÓN GENERAL	1
1.1. Título del proyecto	1
1.2. Equipo de trabajo	1
1.3. Área de conocimiento	1
1.4. Líneas de investigación.	2
2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	2
3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO	2

3.1.	Beneficiarios directos.....	2
3.2.	Beneficiarios indirectos	3
4.	PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN	3
5.	OBJETIVOS	4
5.1.	Objetivos General	4
5.2.	Objetivos Específicos.....	5
6.	ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS	5
7.	FUNDAMENTACIÓN TEÓRICO	6
7.1.	Antecedentes bibliográficos de la investigación	6
7.2.	Historia del chocho	7
7.3.	Descripción botánica	7
7.3.1.	Hojas.	7
7.3.2.	Raíces y nódulos.	7
7.3.3.	Sustancias anti-nutricionales	8
7.4.	Elementos tóxicos del chocho	8
7.5.	Alcaloides	9
7.5.1.	Generalidades.	9
7.6.	Clasificación de los alcaloides	10
7.6.1.	Alcaloides Verdaderos.	10
7.6.2.	Protoalcaloides.	10
7.6.3.	Pseudoalcaloides	10
7.6.4.	Alcaloides imperfectos.....	10

7.7.	Función de los alcaloides en las plantas	10
7.8.	Propiedades físico-químicas de los alcaloides	11
7.9.	Alcaloides presentes en el chocho	12
7.9.1.	Lupanina.	12
7.10.	Actividad antibacteriana	13
7.11.	Obtención de extractos de alcaloides crudos	13
7.12.	Geles antisépticos.....	13
7.12.1.	Generalidades.	13
7.12.2.	Acción farmacológica.	14
7.12.3.	Indicaciones y usos.	14
7.13.	Componentes del gel antibacterial	14
7.13.1.	Carbopol.	14
7.13.2.	Trietanolamina.	15
7.13.3.	Glicerina o glicerol.	15
7.13.4.	Alcohol 96%.	15
7.14.	Método de obtención de extractos	15
7.14.1.	Obtención del extracto alcohólico de las hojas de chocho (<i>Lupinus mutabilis Sweet</i>).....	15
7.15.	Glosario de términos	16
7.15.1.	Alcaloides.	16
7.15.2.	Esparteína.	16
7.15.3.	Lupina.	16
7.15.4.	Alcaloides verdaderos.	16

7.15.5. Actividad nematicida.	17
7.15.6. Fitomedicamentos.	17
7.15.7. Liofilización.	17
7.15.8. Asepsia.	17
7.15.9. Producto séptico.	17
7.15.10. Sepsis.	17
7.15.11. Toxicidad.	18
7.15.12. Microquímica.	18
7.15.13. INIAP.	18
7.15.14. Higroscópico.	18
8. HIPÓTESIS.....	18
9. METODOLOGÍAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL.....	20
9.1. Metodología	20
9.1.1. Ubicación de la investigación.	20
9.1.2. Tipos de Investigación.	20
9.2. Diagrama de flujo	21
9.3. Metodología de extracción de alcaloides	22
9.3.1. Pesaje de Hojas de chocho.	22
9.3.2. Deshidratación de las hojas	22
9.3.3. Troceado o molido.	23
9.3.4. Maceración.	23
9.3.5. Filtración.	23
9.3.6. Evaporación.	23
9.3.7. Pesaje (Alcaloides Totales).	23

9.4.	Metodología de elaboración de gel	23
9.4.1.	Pesado de Materias primas.....	24
9.4.2.	Mezclado.	24
9.4.3.	Envasado.	24
9.5.	Materiales y equipos	24
9.5.1.	Materiales.	24
9.5.2.	Equipos.	25
9.6.	Diseño experimental	26
9.6.1.	Variables y factores.....	26
10.	CÁLCULOS Y RESULTADOS.....	28
10.1.	Porcentaje de agua pérdida de las hojas	28
10.1.1.	Datos y Cálculos obtenidos	29
10.2.	Rendimiento obtenido de sales totales	29
10.2.1.	Rendimiento teórico.	29
10.2.2.	Datos y resultados obtenidos.	31
10.3.	Análisis estadístico ANOVA	31
10.4.	Balance de materiales extracción de alcaloides	36
10.4.1.	Secado de las hojas.	36
10.4.2.	Maceración de hojas.	36
10.4.3.	Filtración del macerado.....	37
10.4.4.	Extracción de la base de alcaloides.	37
10.5.	Prueba de presencia de alcaloides.	38
10.5.1.	Resultados Obtenidos.....	38

10.6.	Análisis físico químico del producto (gel antiséptico)	39
10.7.	Prueba de validación del producto terminado (GEL ASEPTICO)	39
10.7.1.	Resultados obtenidos	40
10.8.	Cálculo de precios y formulación del producto	41
10.8.1.	Costo de extracción de base de alcaloides	41
10.8.2.	Costos de elaboración de gel aséptico	41
11.	IMPACTOS DEL PROYECTO	42
11.1.	Impactos Técnicos	42
11.2.	Impactos Sociales.....	42
11.3.	Impactos Ambientales	42
11.4.	Impactos Económicos	42
12.	CONCLUSIONES	43
13.	RECOMENDACIONES	45
14.	BIBLIOGRAFÍA	46
15.	ANEXOS	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Actividades y resultados en relación de los objetivos	5
Tabla 2	Principales alcaloides presentes en la planta del chocho	12
Tabla 3	Rendimiento de extracción según el solvente	13
Tabla 4	Formulación del gel aséptico	24
Tabla 5	Cuadro de diseño experimental	27
Tabla 6	ADEVA planteado	27
Tabla 7	Variables e indicadores	28

Tabla 8	Porcentaje de humedad de cada uno de los tratamientos y agua perdida por las hojas a diferentes temperaturas.	29
Tabla 9	Rendimiento obtenido por tratamiento	31
Tabla 10.	Resultados de ANOVA del rendimiento	32
Tabla 11.	Resultados de la prueba de TUKEY RENDIMIENTO VS BASES	33
Tabla 12.	Resultados de la prueba de TUKEY RENDIMIENTO VS TEMPERATURAS x SOLVENTES x BASES	34
Tabla 13	Presencia de alcaloides en extracto liquido	38
Tabla 14	Análisis físico químico del producto terminado (Anexo 9)	39
Tabla 15	Resultados de validación.....	40
Tabla 16	Cálculo del precio de la extracción de base de alcaloides	41
Tabla 17	Cálculo del precio de la extracción de base de alcaloides	41

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1	Norma técnica NTE INEN 2867 “productos cosmeticos.	48
Anexo 2	Deshidratación de las hojas del chocho	55
Anexo 3	TRATAMIENTOS EN MACERACIÓN	56
Anexo 4	Evaporación y pesaje del extracto sólido	56
Anexo 5	Aplicación de alcaloides y obtención del gel aséptico.....	58
Anexo 6	Resultado de presencia de Alcaloides + Agua “LABOLAB”	60
Anexo 7	Resultado de presencia de Alcaloides + Cloroformo “LABOLAB”	61
Anexo 8	Resultado análisis físico – químico.....	62
Anexo 9	Resultado validación del producto	63

Anexo 10 Tabla de cálculo de % de Humedad Replica I	64
Anexo 11 Tabla de cálculo de % de Humedad Replica II	65
Anexo 12 Aval de traducción	66
Anexo 13 Hoja de vida Docente Tutora	67
Anexo 14 Hoja de vida investigador (Cristian Huertas)	68
Anexo 15 Hoja de vida investigador (Gabriel Sandoval)	70

1. INFORMACIÓN GENERAL

1.1. Título del proyecto

Evaluación del método de extracción de alcaloides de las hojas del chocho (*Lupinus mutabilis sweet*) y su implementación para la elaboración de un gel antibacteriano de uso aséptico.

Fecha de inicio: Noviembre de 2017

Fecha de finalización: Febrero de 2018

Lugar de ejecución: Universidad Técnica de Cotopaxi, Campus Salache; Latacunga Parroquia Eloy Alfaro, Salache Bajo, a realizarse la presente investigación en los laboratorios de la carrera de Ingeniería agroindustrial “Microbiología”, con longitud 78°37’19,16”E y latitud 00°59’47,68”N.

Facultad que auspicia: Facultad Ciencia Agropecuarias y Recursos Naturales.

Carrera que auspicia: Ingeniería Agroindustrial.

Proyectos de investigación vinculados: No existen en los archivos de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

1.2. Equipo de trabajo

Tutor de Tesis.

Ing. Gabriela Beatriz Arias Palma MSc.

Responsables del Proyecto.

Cristian Alexander Huertas Borja

Gabriel Fabricio Sandoval Pachacama

1.3. Área de conocimiento

Área del conocimiento

- Ingeniería, Industria y Construcción □

1.4. Líneas de investigación.

- Desarrollo y seguridad alimentaria. □
- Procesos industriales. □

2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

En la actualidad se busca más aplicaciones para las plantas andinas en el Ecuador y en el resto del mundo, con lo cual con este proyecto impulsamos y brindamos de aporte las ideas necesarias para el uso integral de la planta del chocho. Existiendo un gran desconocimiento y desaprovechamiento del uso de resto de las partes funcionales (Hojas y Ramas) de esta planta, desechos que no se usan en la producción de chocho para su consumo en grano. En edad pre-adulta, justo antes del estado de cosecha del chocho el nivel de alcaloides y flavonoides presentes en la planta, (hojas principalmente) es muy elevado, tanto q antiguamente se cultivaban plantas de chocho como herbicidas naturales para controlar el crecimiento y desarrollo de los sembríos. Dichos alcaloides y flavonoides que son compuestos nitrogenados sin forma, los cuales según estudios previos sobre su principio activo se ha llegado a demostrar que estos compuestos puede provocar la reducción, eliminación e inhibición de microorganismos patógenos o agentes que provoquen algún daño al organismo, por lo tanto el uso de estas sustancias puede llegar a ser variado, siempre y cuando no se use dosis muy altas de estas sustancias ya que estas podrían llegar a ser toxicas para los individuos. Es por esto que en la presente investigación se plantea usar la hoja del chocho como fuente de obtención de alcaloides, para después aplicarlos en la formulación de un gel aséptico de uso externo, por el hecho de que, en esta planta se produce de manera natural gran cantidad de los mismos.

3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

3.1. Beneficiarios directos

- Sectores rurales que se dedican al cultivo y producción de chocho, ubicados en la provincia de Cotopaxi (Guyatacama, Joseguango, Alaquez y Tanicuchi). □

- Medianos y pequeños productores pertenecientes a la Provincia de Cotopaxi, 60 personas aproximadamente dentro de las zonas de Pujili, Zumbahua, Mulillo y Sigchos.□

3.2. Beneficiarios indirectos



Universidad Técnica de Cotopaxi junto con los postulantes, fortaleciendo la innovación y desarrollo de proyectos innovadores relacionados con la implementación de plantas y granos andinos en la producción agroindustrial.



Reutilización de los desechos de plantas de cultivos y su transformación en productos de consumo mayor, incentivando el desarrollo socioeconómico de distintos sectores.

4. PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

El uso de plantas andinas como el Chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*) en la alimentación es uno de los principales factores que influyen en la producción de este grano andino ya hasta la actualidad su consumo es evidente, el cual en algunas zonas de producción agrícola en el Ecuador se lo emplea como medida de prevención contra las plagas, además en estudios posteriores se ha llegado a comprobar que el uso del agua obtenida en el proceso de desamargado se puede usar en el tratamiento de heridas superficiales ya que esta solución contienen varias sustancias inorgánicas producidas naturalmente por la planta del chocho, el proceso de desamargado es uno de los procesos básicos para la eliminación del sabor amargo presente en el grano del chocho, el amargor presente en el chocho es causado por la presencia de Alcaloides que constituye el principal obstáculo para la utilización directa, ya que su alto contenido determina que los granos sean tóxicos y amargos.

En la actualidad se cultiva con fines comerciales en pequeñas parcelas, su producción y consumo se concentra en las provincias centrales y del norte, especialmente en Chimborazo y Cotopaxi, según el INIAP, el cultivo de este grano se ha incrementado en el 2001, alcanzaba 1200 hectáreas, ya para el 2009 esa cifra ha crecido hasta llegar a las 5000 hectáreas, se obtiene 2000 toneladas, desde el 2004 ha empezado a venderse en los mercados del Austro y de la costa. (Cita: Gross, Dr. El cultivo y la utilización del tarwi. Roma-Italia, 1982. pp 114-115).

La hoja de la planta del chocho, presenta una gran cantidad de estos componentes anti nutricionales durante todo su ciclo de crecimiento hasta la maduración de la vaina del chocho motivo por el que no es apetecido por aves, rumiantes ni insectos; por ello para consumir los granos de chocho el primer paso es el desamarrado. Como en todas las semillas leguminosas, también en el grano de chocho se halla algunas sustancias antinutritivas, que limitan el uso directo de grano crudo en alimentación humana y animal. Por lo cual el aprovechamiento de estos compuestos en la actualidad no es tan estudiado y se desaprovecha las grandes propiedades que posee esta planta en la producción de productos Fitomedicamentos, uno de esto productos son los geles que en su composición este presente sustancias extraídas de plantas. Por lo tanto este trabajo investigativo se enfoca en la extracción de estos compuestos presentes en la planta de chocho y con la finalidad de dar un uso adecuado de estas sustancias se piensa en la formulación de un gel de uso aséptico.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivos General

- Evaluar el método de extracción de alcaloides de las hojas del chocho (*lupinus mutabilis sweet*) y su implementación para la elaboración de un gel antibacteriano de uso aséptico.□

5.2. Objetivos Específicos

- Extraer los alcaloides de las hojas de chocho mediante el procedimiento de maceración.□

-
- Determinar el mejor tratamiento en función del rendimiento obtenido de cada ensayo.□
-
- Elaborar un gel antibacteriano con el mejor tratamiento.□
-
- Realizar análisis-físico químicos y validación del producto obtenido.□

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

Tabla 1. Actividades y resultados en relación de los objetivos

OBJETIVOS	ACTIVIDAD	RESULTADO DE LA ACTIVIDAD	DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD
Evaluar el método de extracción de Alcaloides del Chocho (<i>Lupinus mutabilis</i> Sweet), para su implementación en la formulación de un gel antibacteriano de uso aséptico.	Evaluación del método de extracción	Formular nuestro producto aplicando nuestro mejor tratamiento y método de extracción.	<ul style="list-style-type: none"> □□ Empleando diferentes métodos de extracción. □□ Aplicando distintos tratamientos en concentraciones de _____ alcaloides.
Extraer los alcaloides de las hojas de chocho mediante el procedimiento de maceración.	Extracción de alcaloides	Obtención de alcaloides presentes en la hoja del chocho.	<ul style="list-style-type: none"> □□ Utilizando diferentes solventes y temperaturas de desecación. □□ Empleando como fuente principal las hojas del chocho.
Determinar el mejor tratamiento en función de	Medición del	Rendimiento obtenido	<ul style="list-style-type: none"> □□ Métodos de medición instrumental.

rendimiento obtenido de cada proceso de extracción.	cantidad de extracto	de cada uno de los tratamientos	<input type="checkbox"/> Tablas de comparación de resultados.
Elaborar un gel antibacteriano con el mejor tratamiento	Elaborar un gel aséptico	Obtención de producto final	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Formulación del producto <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Aplicación de procesos agroindustriales
Realizar análisis químicos y físicos del producto y validación del producto obtenido	Análisis físico - químico y validación del producto	Validar nuestro producto para el consumo.	<input type="checkbox"/> Utilizando instrumentos de medición de laboratorio. <input type="checkbox"/> Pruebas de efectividad del producto.

Fuente. Los autores (Gabriel S. y Cristian H; 2018)

7. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICO

7.1. Antecedentes bibliográficos de la investigación

(Méndez Lema, 2011) Menciona que:

Utilizando el agua de desamargado del chocho que es un subproducto de desecho, se puede obtener el extracto alcohólico de las hojas de chocho obtenido por maceración y etéreo de los alcaloides totales del grano de chocho obtenido por extracción líquido-líquido con éter.

(Haro Barroso, 2011) Menciona que:

Las condiciones obtenidas son aplicadas a una muestra de agua de formación de petróleo reduciéndose el Plomo en un 17%, demostrándose que los alcaloides precipitan metales pesados, además de que existen interferencias que dificultan el tratamiento de metales en la muestra de agua de formación.

(Rodríguez, 20011) Menciona que:

En el proceso hídrico de desarmagdo se elimina el 99.92% de alcaloides, siendo su contenido más alto en el agua de cocción, por lo que al ser eliminadas estas sustancias indiscriminadamente en los distintos cuerpos acuíferos, contribuye al proceso de contaminación ambiental, volviendo muy complicado y costoso el proceso de recuperación de esta agua.

(Castillo Moreno, 2015) Menciona que:

Su gel cicatrizante con extracto alcaloidal de chocho criollo al 1%, posee actividad cicatrizante con una medida de la herida de 0.1000 cm², comparado con la medida del control positivo Trolamina igual a 0.1567 cm². Por lo que recomienda continuar el estudio experimental pre clínico realizado y proceder a realizar el estudio clínico en personas con distintos tipos de heridas.

7.2. Historia del chocho

(Guato, 2012) Menciona que:

Dentro de los cultivos que manejan los agricultores, se encuentran los granos andinos que tienen un gran potencial nutricional y económico, entre ellos: el Chocho, fréjol, quinua etc. son cultivos de origen andino, cuyo uso en la alimentación de las antiguas civilizaciones Inca, Maya o Azteca, se remonta a 4.000 o 5.000 años.

Después de la conquista española a América, estos granos andinos fueron desplazados por otros introducidos desde el viejo mundo y calificados de mal sabor, mala presentación, de difícil cultivo, que fomentaban la poligamia, etc.

(José, 2012) Menciona que:

El Chocho es un alimento de alto valor nutritivo que contiene más del 51% de proteína, calcio y hierro, ácidos grasos insaturados, fibra dietética, fósforo y niacina; al igual que el fréjol y las habas, son fuente de proteína barata y contribuyen a mejorar la alimentación de la población rural y urbana.

7.3. Descripción botánica

7.3.1. Hojas.

(Villacres, et al., 2010) Menciona que:

La hoja de Lupinus es de forma digitada, generalmente compuesta por ocho folíolos que varían entre ovalados a lanceolados. En la base del pecíolo existen pequeñas hojas estipulares, muchas veces rudimentarias, se diferencia de otras especies de Lupinus en que las hojas tienen menos vellosidades.

7.3.2. Raíces y nódulos.

(Alvarez, 2012) “Posee una raíz pivotante vigorosa y profunda que puede extenderse hasta 3 metros de profundidad. En la raíz se desarrolla un proceso de simbiosis con bacterias nitrificantes que forman nódulos de variados tamaños (1 a 3 cm)”. En suelos con presencia de bacterias, la formación de nódulos se inicia a partir del quinto día después de la germinación. Los nódulos pueden alcanzar un diámetro hasta de 3 cm; se localizan principalmente en la raíz primaria, por encima de la ramificación radicular, e incluso en las raíces secundarias. Composición química

7.3.3. Sustancias anti-nutricionales

(Villacres, et al., 2010) Menciona que:

Como en todas las semillas leguminosas, también en la planta del chocho se hallan algunas sustancias anti-nutritivas, que limitan el uso directo de grano crudo en alimentación humana y animal. Inhibidores de proteasas, que tienen la propiedad de inhibir la actividad proteolítica de ciertas enzimas.

Entre las sustancias anti-nutritivas del chocho se citan:

- **Hemaglutininas**, que son proteínas que coagulan o aglutinan los glóbulos rojos y reaccionan como una especie de anticuerpo. □
-
- **Glucósidos cianogénicos**, que liberan ácido cianhídrico por acción enzimática, sin embargo su concentración en el chocho no tiene importancia desde el punto de vista toxicológico. □
-
- **Alcaloides**, que constituye el principal obstáculo para la utilización directa, ya que su alto contenido determina que los granos sean tóxicos y amargos. □

7.4. Elementos tóxicos del chocho

(César Ruitón, 1998) Menciona que:

Los alcaloides, en su mayoría son de origen vegetal, son sustancias orgánicas nitrogenadas cuya acción puede ser medicinal o venenosa; su uso inadecuado puede causar intoxicaciones graves, el principal alcaloide presente en mayor proporción en casi todas las especies es la lupina.

Estos problemas de toxicidad han quedado ampliamente superados con el mejoramiento genético que desarrolló las variedades “dulces” sin alcaloides o con porcentajes muy pequeños a niveles no tóxicos.

No se conoce con exactitud la función de estos compuestos en la planta, parece que el principal propósito es la defensa del vegetal contra insectos, animales herbívoros y patógenos microbianos. Ocasionalmente los agricultores utilizan esta propiedad para el control de plagas.

7.5. Alcaloides

Los alcaloides forman un grupo heterogéneo de principios activos de origen natural que se encuentran fundamentalmente en drogas vegetales. Son sustancias básicas que presentan nitrógeno en su estructura, generalmente formando parte de un anillo heterocíclico.

(Guillermina Brambilla, 2015) Menciona que: “En la naturaleza, suelen encontrarse formando sales y su biosíntesis generalmente es a partir de aminoácidos. Son de gran interés terapéutico puesto que frecuentemente están provistos de actividad farmacológica a baja dosis”.

7.5.1. Generalidades.

En el siglo XIX se lograron verdaderos adelantos en la farmacología, con el sucesivo aporte de remedios procedentes de plantas, este avance había sido precedido por los trabajos del sueco Carl Scheele, quien logró aislar los ácidos orgánicos de las plantas, y del joven boticario Friedrich Wilhelm Sertürner (1783-1841) que con sus audaces y llamativos experimentos descubrió en 1816 el principio activo más importante del opio de la amapola, la morfina cuyos cristales dieron lugar al “principium somniferum” que Osler llamó “La medicina de Dios”.

De acuerdo a las características de esta definición, algunos autores han dividido a los alcaloides en cuatro clases:

- • Alcaloides verdaderos□
- • Protoalcaloides□
- • Pseudoalcaloides□
- • Alcaloides imperfectos□

7.6. Clasificación de los alcaloides

7.6.1. Alcaloides Verdaderos

Cumplen estrictamente con las características de la definición de alcaloide: son formados a partir de aminoácidos, tienen siempre un nitrógeno intracíclico, son de carácter básico y existen en la naturaleza normalmente en estado de sal.

7.6.2. Protoalcaloides

Son aminas simples con nitrógeno extracíclico, de carácter básico y son productos del metabolismo de los aminoácidos.

7.6.3. Pseudoalcaloides

Presentan algunas de las características de la definición de alcaloide, pero no son derivados de aminoácidos.

7.6.4. Alcaloides imperfectos

Son derivados de bases púricas, no precipitan con los reactivos específicos para alcaloides.

En cuanto a su estado natural, los alcaloides son esencialmente sustancias presentes en todos los órganos de la planta, pueden encontrarse mayoritariamente en hojas (cocaína, nicotina, pilocarpina), en flores (escopolamina, atropina), en frutos (alcaloides del opio, peletiarina, coniina), en semilla (piperina, arecolina), en corteza (quinina, tubocurarina), en la raíz (emetina y cefalina)

7.7. Función de los alcaloides en las plantas

La función de los alcaloides en las plantas no es aun clara, existen algunas sugerencias sobre el “rol” que juegan estas sustancias en los vegetales como:

Sirven como productos de desecho o almacenamiento del nitrógeno sobrante, esta función es equivalente a la del ácido úrico o de la urea en los animales.

Debido a que en su mayoría, los alcaloides son asociados con ácidos orgánicos que le facilita el transporte en la planta, pueden servir como productos de almacenamiento del nitrógeno no metabolizado o para transporte del mismo; en el caso de las Solanaceas midriáticas, los ésteres del tropano se forman en las raíces y son transportados a las partes aéreas donde pueden ser hidrolizados.

- La microquímica ha permitido mostrar en forma general, que los alcaloides son localizados en los tejidos periféricos de los diferentes órganos de la planta, es decir en el recubrimiento de las semillas, corteza del tallo, raíz o fruto y en la epidermis de la hoja; esto nos permite pensar que los alcaloides cumplen una importante función como es la de proteger a la planta, por su sabor amargo de estos, del ataque de insectos.□

□

- Los alcaloides pueden servir de reguladores del crecimiento, se ha demostrado que los alcaloides derivados de la putrescina se incrementan notablemente. □

7.8. Propiedades físico-químicas de los alcaloides

(Jarrín, 2003) Menciona que:

Algunas bases no oxigenadas son líquidas a temperatura ambiente, los alcaloides bases son normalmente sólidos cristalizables, raramente coloreados, casi siempre están dotados de poder rotatorio específico y las bases cristalizadas tienen puntos de fusión netos, sin descomposición por debajo de 200 °C.

Por regla general, los alcaloides bases son muy poco solubles en agua, solubles en disolventes orgánicos apolares o poco polares y solubles en alcoholes de más elevada graduación. El carácter básico de los alcaloides es muy variable, dependiendo esta propiedad de la disponibilidad del doblete libre del nitrógeno.

7.9. Alcaloides presentes en el chocho

La identificación y cuantificación de los alcaloides presentes en el chocho, es de gran importancia ya que la toxicidad y el sabor amargo del grano dependen del tipo y proporción de estos componentes. Dentro de esto en los alcaloides del chocho la lupanina es el mayor constituyente ya que en el chocho se puede encontrar hasta un 2,5% de este en granos crudos al momento de extraer lo se puede hallar hasta el 11,5% en un extracto.

Tabla 2. Principales alcaloides presentes en la planta del chocho

ALCALOIDES	PORCENTAJE %
Lupanina	60
13-Hidroxylyupanina	15
Esparteina	7,5
4-Hidroxylyupanina	9
Isolupanina	3

Fuente: (Jarrín, 2003)

Estos compuestos poseen propiedades alcalinas debido a la presencia de nitrógeno básico formando por lo general núcleos heterocíclicos. Estos en forma libre son insolubles en agua, poco solubles en alcohol y solubles en éter y cloroformo, la mayoría poseen oxígeno en su estructura y son sólidos no volátiles, sin embargo algunos no contienen oxígeno como la esparteína, siendo esta líquida a temperatura ambiente.

7.9.1. Lupanina.

La Lupanina es el alcaloide que se encuentra en mayor concentración en el Chocho, su fórmula estructural $C_{15}H_{24}$, tiene un peso molecular de 248,36 g/mol, es soluble en agua, cloroformo, éter y alcohol. Actuando principalmente en la actividad antibacteriana, nematocida dentro del gel, puede utilizarse como insecticida contra lepidópteros y coleópteros, también produce inhibición de las actividades moduladoras, inhibe la síntesis de proteínas, inhibe la fase de elongación de PhetRNA, además posee actividad antiarrítmica, hipotensora.

7.10. Actividad antibacteriana

Un agente antimicrobiano, es un compuesto químico que inhibe el crecimiento o mata a los microorganismos. La contribución de nuevos estudios acerca de sustancias que posean actividad antimicrobiana es muy importante dado que en la actualidad se ha creado resistencia a muchos compuestos y productos químicos conocidos como antibacterianos, además éstos agentes terapéuticos son en su mayoría responsables de efectos colaterales indeseables para el ser humano.

7.11. Obtención de extractos de alcaloides crudos

Para la obtención de alcaloides se lo puede realizar por medio de maceración de los granos crudos o por extracto líquido del macerado de las hojas y tallos de la planta, para lo cual en la siguiente cuadro se muestra el rendimiento de este con diferentes solvente.

Tabla 3. Rendimiento de extracción según el solvente

SOLVENTES	CONCENTRACIÓN ALCALOIDES (%)	RENDIMIENTO (%)
-----------	---------------------------------	-----------------

AGUA (Maceración)	12,75	15
ALCOHOL ISOPROPÍLICO	2,78	3,1
HEXANO	0,4	0,8
AGUA (Cocción)	7,4	8,4

Fuente: (Villacres, et al., 2010)

7.12. Geles antisépticos

7.12.1. Generalidades.

El gel antiséptico es un producto que limpia tus manos sin necesidad de usar agua y, desinfecta las manos sin necesidad de usar toallas o jabón, elimina gran parte de la carga microbiana de las superficies, por lo cual es uno de los principales productos de uso aséptico implementado en la como alternativa para la limpieza y desinfección de manos, dentro de los principios activos en la mayoría de los geles sanitizantes son alcohol isopropílico, etílico o propílico. Sin embargo, también existen geles desinfectantes sin alcohol, con cloruro de benzalconio y triclosán.

7.12.2. Acción farmacológica.

Los antisépticos son biosidas o sustancias químicas que se aplican sobre los tejidos vivos, con la finalidad de destruir o inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos. No tienen actividad selectiva ya que eliminan todo tipo de gérmenes. A altas concentraciones pueden ser tóxicos para los tejidos vivos.

7.12.3. Indicaciones y usos.

Recomendado como auxiliar para limpieza de manos y áreas de la piel con acción antiséptica. En general los antisépticos están destinados para, prevenir las infecciones intrahospitalarias (IIH). Disminuir el impacto económico de las IIH por el uso de productos de alto costo. Prevenir efectos adversos.

Un antiséptico está recomendado para: Disminuir la colonización por gérmenes. Preparación de la piel para procedimientos invasivos. Para la atención de pacientes inmunosuprimidos o con muchos factores de riesgo de Posterior a la manipulación de material contaminado. Lavado quirúrgico de las manos. Preparación preoperatoria de la piel. Los agentes antisépticos rápidamente desinfectan superficies por disminución de la cantidad de bacterias sobre la piel intacta. Cuando se usan pre quirúrgicamente, los antisépticos sirven como profilácticos para la prevención de la infección.

7.13. Componentes del gel antibacterial

7.13.1. Carbopol.

El carbopol (también denominado carbomer) es un polímero reticulado del ácido acrílico. Se trata de un polímero hidrofílico y, por lo tanto, no repele el agua. En su estructura molecular cuenta con gran cantidad de grupos carboxilo, propiedad que le permite aumentar su volumen en presencia de agua. Al disolverse en el agua, las moléculas de carbopol cambian su configuración e incrementan la viscosidad del líquido, dando lugar a la formación de un gel. Las reacciones de neutralización en medios acuosos permiten que el carbopol se hinche incrementando su volumen, simultáneamente que su viscosidad.

7.13.2. Trietanolamina.

La trietanolamina, (frecuentemente abreviada como TEA o trieta en el mercado de productos químicos) es un compuesto químico orgánico formado, principalmente, por una amina terciaria y tres grupos hidróxilos. Este producto químico se utiliza para ajustar el pH en preparaciones cosméticas, de higiene y en productos de limpieza. Entre los productos cosméticos y de higiene en el cual es usado con este fin se incluyen lociones para la piel, geles para los ojos, hidratantes, champús, espumas para afeitarse, etc.

7.13.3. Glicerina o glicerol.

Es un alcohol con tres grupos hidroxilos ($-OH$). Se presenta en forma de líquido a una temperatura ambiental de $25^{\circ}C$ y es higroscópico e incoloro. Posee un coeficiente de viscosidad alto y tiene un sabor dulce como otros polialcoholes.

7.13.4. Alcohol 96%.

El etanol se utiliza industrialmente para la obtención de acetaldehído, vinagre, butadieno, cloruro de etilo y nitrocelulosa, entre otros. Es muy utilizado como disolvente en síntesis de fármacos, plásticos, lacas, perfumes, cosméticos, etc. También se utiliza en mezclas anticongelantes, como combustible, como antiséptico en cirugía, como materia prima en síntesis y en la preservación de especímenes fisiológicos y patológicos.

7.14. Método de obtención de extractos

7.14.1. Obtención del extracto alcohólico de las hojas de chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*).

PROCEDIMIENTO:

- Someter a un proceso de secado en una estufa con circulación de aire a 35 ± 2 °C, durante varios días. □
-
- Pulverizar la muestra seca. □
-
- Colocar las hojas en un recipiente herméticamente cerrado y se adiciona una cierta cantidad de alcohol potable al 96 % hasta que cubra completamente. □
- Colocar el recipiente en el equipo de ultrasonido. □
-
- Una vez transcurrido este tiempo adicionar al extracto alcohólico sulfato de sodio. □
-
- Dejar macerar 24 horas. □
-
- Filtrar el extracto obtenido. □
-
- Concentrar hasta sequedad el extracto alcohólico en el rotavapor a una temperatura de 85°C. □
-
- Pesarse la cantidad obtenida de extracto. □

7.15. Glosario de términos

7.15.1. Alcaloides.

Un alcaloide es un compuesto orgánico de tipo nitrogenado que producen ciertas plantas. Los alcaloides son metabolitos secundarios de vegetales que se sintetizan mediante aminoácidos.

7.15.2. Esparteína.

La esparteína es un alcaloide aislado de varias plantas, producido naturalmente por la planta del chocho, que se emplea para controlar ectoparásitos y parásitos intestinales de los animales.

7.15.3. Lupina.

La lupina también es un alcaloide que está presente en el chocho empleado para fines antibacteriales.

7.15.4. Alcaloides verdaderos.

Los alcaloides verdaderos derivan de un aminoácido; por lo tanto, son nitrogenados. Todos los que presentan el grupo funcional amina o imina son básicos. Cumplen estrictamente con las características de la definición de alcaloide.

7.15.5. Actividad nematicida.

Es el efecto de un tipo de plaguicida químico o natural usado para matar nematodos que parasitan a las plantas. Los nematicidas suelen ser tóxicos.

7.15.6. Fitomedicamentos.

También llamados fitofármacos o medicamentos herbolarios. Son productos elaborados con material vegetal o sus derivados, “presentados en forma farmacéutica, y cuya eficacia terapéutica y seguridad ha sido confirmada científicamente en la literatura nacional o internacional”.

7.15.7. Liofilización.

Deshidrocongelación o criodesecación, es un proceso de deshidratación usado generalmente para conservar un alimento perecedero o hacer el material más conveniente para el transporte.

7.15.8. Asepsia.

Es un término médico que define al conjunto de métodos aplicados para la conservación de la esterilidad. La presentación y uso correcto de indumentaria, materiales y equipos estériles, sin contaminarlos en todo procedimiento se conoce como asepsia. O a la ausencia de gérmenes que puedan provocar una infección.

7.15.9. Producto séptico.

Es aquel producto elaborado o terminado que en su composición contiene gérmenes patógenos. Proviene del término “Sepsis”. En otros casos este término indica “que produce putrefacción”.

7.15.10. Sepsis.

Es un síndrome de anormalidades fisiológicas, patológicas y bioquímicas potencialmente asociadas a una infección. Estas anormalidades son secundarias a una respuesta inmunitaria desbalanceada frente a la infección, que termina dañando los tejidos y órganos conduciendo a una disfunción multiorgánica.

7.15.11. Toxicidad.

Es la capacidad de alguna sustancia química para producir efectos perjudiciales sobre un ser vivo, al entrar en contacto con él. Tóxico es cualquier sustancia, artificial o natural, que posea toxicidad.

7.15.12. Microquímica.

Desarrollo y utilización de Técnicas y equipos para el estudio o la realización de Reacciones Químicas, que requiere pequeñas cantidades de Materiales, frecuentemente Menores a 5 milígramo o 5 milímetro.

7.15.13. INIAP.

Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias.

7.15.14. Higroscópico.

“Higroscópico” es un término químico que describe un comportamiento de algunos compuestos químicos. Los compuestos químicos higroscópicos atraen el agua; adoran el agua. Atraen las moléculas de agua del ambiente en cuanto pueden. El inconveniente de este fenómeno es que cuando se añade agua al producto de limpieza, se suele diluir y debilita el líquido, lo que le resta eficacia limpiadora.

8. HIPÓTESIS

Hipótesis Nula (H₀). La aplicación de diferentes temperaturas, solventes y bases no influyen en el rendimiento final obtenido de base de alcaloides, para la elaboración de un gel antibacteriano aséptico.

Hipótesis Alternativa (H_a): La aplicación de diferentes temperaturas, solventes y bases influirán en el rendimiento final obtenido de base de alcaloides, para la elaboración de un gel antibacteriano aséptico.

Conclusión.

Luego de la investigación realizada y la aplicación de un análisis estadístico (ANOVA) se constató la aceptabilidad de la hipótesis alternativa y rechazamos la hipótesis nula, lo que quiere decir que la aplicación de diferentes temperaturas, solventes y bases influyen en el rendimiento final obtenido de base de alcaloides, para la elaboración de un gel antibacteriano aséptico

9. METODOLOGÍAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

9.1. Metodología

9.1.1. Ubicación de la investigación.

Universidad Técnica de Cotopaxi, Campus Salache; Latacunga Parroquia Eloy Alfaro, Salache Bajo, a realizarse la presente investigación en los laboratorios de la carrera de Ingeniería agroindustrial “Microbiología”, con longitud $78^{\circ}37'19,16''\text{E}$ y latitud $00^{\circ}59'47,68''\text{N}$.

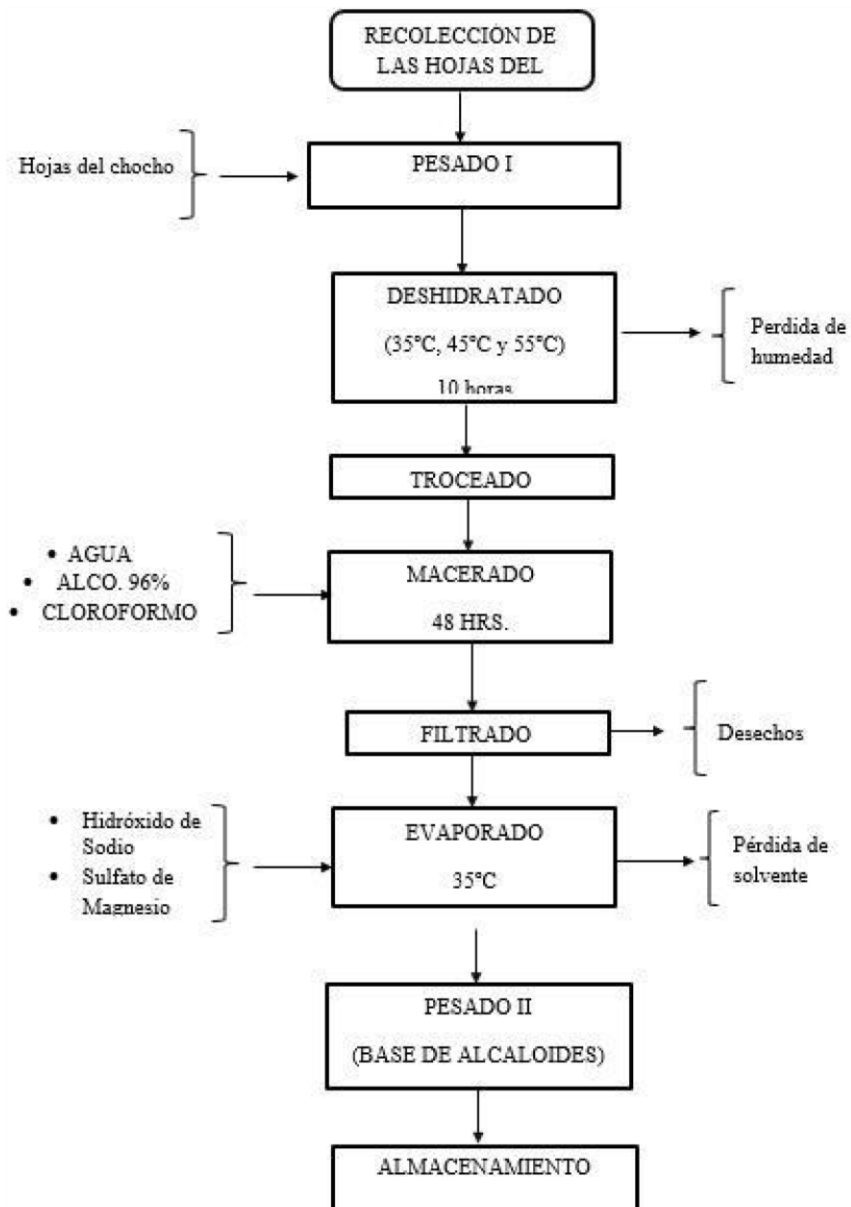
9.1.2. Tipos de Investigación.

El presente estudio se enmarco con los siguientes tipos de investigación:

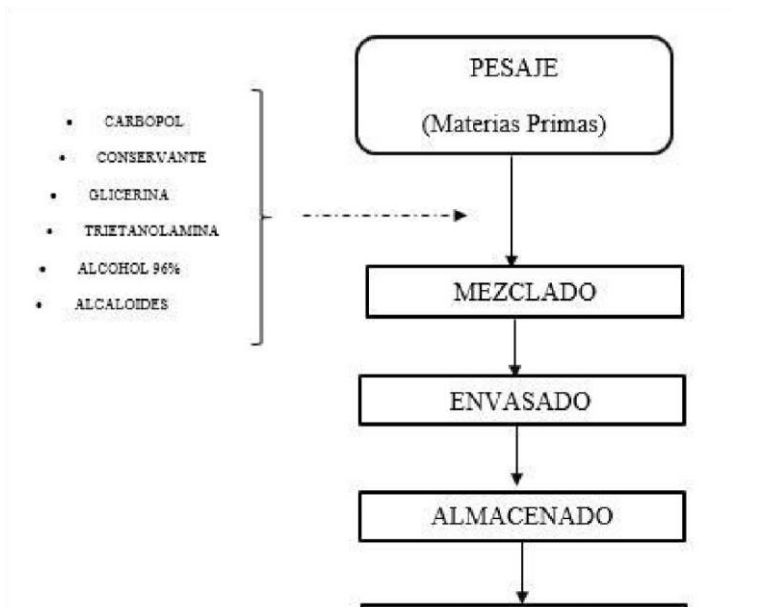
- **Descriptiva.** La investigación, se circunscribe a un estudio descriptivo, la recolección de datos sobre la base de una teoría, ha permitido encontrar la mejor alternativa para la extracción de alcaloides.□
□
- **Documental.** La investigación se basó en las investigaciones previas referentes a la extracción de alcaloides y su aplicabilidad, para sustentación de la investigación.□
□
- **Experimental.** Nos guiamos del uso de análisis estadístico para la identificación del mejor tratamiento de extracción de alcaloides.□

9.2. Diagrama de flujo

Figura 1. Extracción de alcaloides



Fuente. Los autores (Gabriel S. y Cristian H; 2018)
Figura 2. Elaboración de gel aséptico



Fuente. Los autores (Gabriel S. y Cristian H; 2018)

9.3. Metodología de extracción de alcaloides

El extracto alcohólico de las hojas secas de chocho fue obtenido por el método de maceración y la aplicación de diferentes solventes, para la elaboración de la base se emplearon Sulfato de Magnesio e Hidróxido de Sodio.

PROCEDIMIENTO:

9.3.1. Pesaje de Hojas de chocho.

Unas ves recolectadas las hojas del chocho antes de la cosecha ya que estas presentan mayor cantidad de alcaloides en esta etapa se procede a pesar la cantidad determinada para cada muestra, 80 g de hojas de chocho frescas.

9.3.2. Deshidratación de las hojas

Procedemos a someter las muestras pesadas previamente a un proceso de secado en una estufa con circulación de aire a diferentes temperaturas (35°C, 45°C y 55°C) por 10 horas,

cada temperatura, con la finalidad de facilitar la extracción de los alcaloides de las paredes externas de las hojas y tallos.

9.3.3. Troceado o molido.

Con la ayuda de un mortero, pulverizar cada una de las muestras secas; tomando los pesos de cada uno de los tratamientos con la finalidad de verificar la pérdida del % de agua en las hojas.

9.3.4. Maceración.

Colocar las hojas en un recipiente herméticamente cerrado y se adiciona 80 ml de solvente (Alcohol, agua y Cloroformo) y macerar por 2 días.

9.3.5. Filtración.

Colar el extracto total separando las fases sólidas y líquidas, se adiciona una cantidad de sales o bases (10% Sulfato de Magnesio y 0.2% de Hidróxido de Sodio), dejar reposar por 48 horas.

9.3.6. Evaporación.

Concentrar hasta obtener la cristalización del extracto líquido obtenido de la maceración de las hojas, empleando una estufa de inducción a una temperatura de 35 a 45°C.

9.3.7. Pesaje (Alcaloides Totales).

Pesar la cantidad obtenida de base de alcaloides obtenidos de la extracción y cristalización de la pasta base de alcaloides.

9.4. Metodología de elaboración de gel

Obteniendo el mejor tratamiento se planteó la siguiente formulación de gel aséptico:
Tabla 4. Formulación del gel aséptico

Materias Primas	Porcentaje (1 Litro)
Alcohol 97%	20
Agua	77,5
Carbopol	0,5
Glicerina	0,5
Ácido Ascórbico	0,3
Tretanolamina	0,5
Alcaloides	0,5
Aroma	0,1

Fuente. Los autores (Gabriel S. y Cristian H; 2018)

9.4.1. Pesado de Materias primas.

Se pesan las cantidades de acuerdo a la formulación establecida en la Tabla 4, con lo cual se asegura la obtención de un producto estable.

9.4.2. Mezclado.

Con la ayuda de una licuadora se mezclan uniformemente todos los componentes excepto la tretanolamina ya que este se agrega cuando estén bien disueltos todos los componentes del gel.

9.4.3. Envasado.

Se envasan en los respectivos envases plásticos para su posterior almacenamiento.

9.5. Materiales y equipos

9.5.1. Materiales.

Extracción de base de alcaloides

- • Hojas de Chocho (1,5 kg)□
- • Solventes (Agua, Alcohol y Cloroformo)□
- • Bases o Sales (Sulfato de Magnesio y Hidróxido de sodio)□
- • 1 paquete de fundas de papel□
- • 9 Frascos plásticos de orina□
- • 3 Botellas de vidrio templado□
- • 6 frascos de cristal□
- • Cuaderno académico□
- • Tela Lienzo□
- • Vasos de Precipitación□
- • Cajas Petri□
- • Varilla de agitación□

Elaboración del gel aséptico

- • Carbopol□
- • Alcohol□
- • Agua destilada□
- • Frascos□
- • Conservante (Ac. Ascorbico)□

-
- Glicerina□
-
- Aroma□
-
- Base de alcaloides□
-
- Vasos de precipitación 500ml□
-
- Frascos plásticos (500 ml y 250 ml)□
-
- Jarra Graduada□

9.5.2. Equipos.

-
-
- Balanza□
-
- Agitador magnético de inducción□
-
- Licuadora□

9.6. Diseño experimental

9.6.1. Variables y factores

TEMPERATURAS - DESHIDRATADO (A)

a1 = 35°C

a2 = 45°C

a3 = 55°C

SOLVENTES - MACERACIÓN (B)

b1 = Agua

b2 = Alcohol

b3 = Formol

SAL BASE (C)

c1 = Hidróxido de sodio

c2 = Sulfato de Magnesio

Tabla 5. Cuadro de diseño experimental

TRATAMIENTOS	SIMBOLOGÍA	COMBINACIONES
t1	a1b1c1	35° C + 80 ml agua + 2,5 g H. Sodio
t2	a1b2c1	35°C + 80 ml alcohol + 10 g S. Magnesio
t3	a1b3c1	35°C + 80 ml formol + 2,5 g H. Sodio
t4	a1b1c2	35° C + 80 ml agua + 10 g S. Magnesio
t5	a1b2c2	35°C + 80 ml alcohol + 2,5 g H. Sodio
t6	a1b3c2	35°C + 80 ml formol + 10 g S. Magnesio
t7	a2b1c1	45° C + 80 ml agua + 2,5 g H. Sodio
t8	a2b2c1	45°C + 80 ml alcohol + 10 g S. Magnesio
t9	a2b3c1	45°C + 80 ml formol + 2,5 g H. Sodio
t10	a2b1c2	45° C + 80 ml agua + 10 g S. Magnesio
t11	a2b2c2	45°C + 80 ml alcohol + 2,5 g H. Sodio
t12	a2b3c2	45°C + 250 ml formol + 10 g S. Magnesio
t13	a3b1c1	55° C + 250 ml agua + 2,5 g H. Sodio
t14	a3b1c1	55°C + 250 ml alcohol + 10 g S. Magnesio
t15	a3b1c1	55°C + 250 ml formol + 2,5 g H. Sodio
t16	a3b1c2	55° C + 250 ml agua + 10 g S. Magnesio
t17	a3b2c2	55°C + 250 ml alcohol + 2,5 g H. Sodio
t18	a3b3c2	55°C + 250 ml formol + 10 g S. Magnesio

Fuente. Los autores (Gabriel S. y Cristian H; 2018)

Para la presente investigación se plantea un diseño con arreglo factorial A x B x C con diferentes niveles, aplicando dos replicas para su análisis, con un nivel de confianza del 95%. Se tiene el siguiente cuadro de ADEVA.

Tabla 6. ADEVA planteado

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	FORMULA
Temperaturas	2	a-1
Solventes	2	b-1
Bases	1	c-1

Temperaturas y Solventes	4	(a-1)(b-1)
Temperaturas y Bases	2	(a-1)(c-1)
Solventes y Bases	2	(b-1)(c-1)
Temperatura, Solventes Bases	4	(a-1)(b-1)(c-1)
Error	18	abc(n-1)
Total	35	abcn-1

Fuente. Los autores (Gabriel S. y Cristian H; 2018)

Tabla 7. Variables e indicadores

VARIABLE INDEPENDIENTE	VARIABLE DEPENDIENTE	INDICADORES	
Temperatura de deshidratación □□ 35°C • 45°C • 55°C	Obtención de alcaloides	Rendimiento de base de alcaloides	Porcentaje
Tipo de Solvente □□ Agua □□ Alcohol □□ Cloroformo		Presencia de Alcaloides en solvente del mejor tratamiento	<ul style="list-style-type: none"> • Presencia • Ausencia
Tipo de Sales • Hidróxido de Sodio • Sulfato de Magnesio			

Fuente. Los autores (Gabriel S. y Cristian H; 2018)

10. CÁLCULOS Y RESULTADOS

10.1. Porcentaje de agua pérdida de las hojas

Se determina la humedad mediante la elimina del agua lida de las hojas y tallos de la planta del chocho, junto con la medición de los pesos antes y después de someter las hojas y tallo a un proceso de desecación.

El contenido en agua de la muestra se calcula por diferencia de peso y se expresa en % de humedad (g de H₂O/100 g de muestra):

10.1.1. Datos y Cálculos obtenidos

Tabla 8. Porcentaje de humedad de cada uno de los tratamientos y agua perdida por las hojas a diferentes temperaturas.

Tratamiento	Temperatura	% Humedad Replica I	% Humedad Replica II
T1	35	28,45	28,45
T2	35	28,79	28,79
T3	35	28,68	28,68
T4	35	28,53	28,53
T5	35	28,83	28,83
T6	35	26,19	26,19
T7	45	26,39	26,39
T8	45	27,84	27,84
T9	45	26,19	26,19
T10	45	27,60	27,60
T11	45	27,60	27,60
T12	45	26,15	26,15

T13	55	25,57	25,57
T14	55	26,33	26,33
T15	55	25,11	25,11
T16	55	25,46	25,46
T17	55	26,36	26,36
T18	55	26,20	26,20

Fuente. Los autores (Gabriel S. y Cristian H; 2018)

Observación. Como se puede apreciar las hojas de chocho son muy susceptibles a la temperatura ya que para su completa desecación no se emplean temperaturas elevadas y el tiempo requerido es de 10 horas.

10.2. Rendimiento obtenido de sales totales

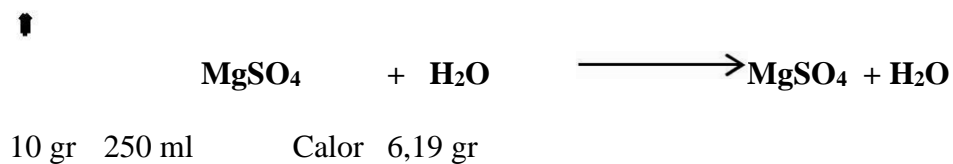
La cantidad real obtenida del producto se divide por la cantidad teórica máxima que puede obtenerse (100%) se llama rendimiento.

10.2.1. Rendimiento teórico.

La cantidad de producto que debiera formarse si todo el reactivo limitante se consumiera en la reacción, se conoce con el nombre de rendimiento teórico.

A la cantidad de producto realmente formado se le llama simplemente rendimiento o rendimiento de la reacción. Es claro que siempre se cumplirá la siguiente desigualdad:

Rendimiento de la reacción \leq rendimiento teórico



En este caso el rendimiento teórico alcanzado en esta reacción es del 10 g ya que se aplica calor para eliminar en su totalidad el solvente y obtener la sal. Esto aplica tanto al Sulfato de Magnesio (10%) y el Hidróxido de sodio (0,2%) se debería obtener la misma cantidad de sal empleada inicialmente. El rendimiento real es la cantidad obtenida en la reacción en este caso es 6,19g.

Para el calcular el rendimiento porcentual de la reacción se emplea la siguiente formula:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{6,19}{10} \times 100$$

10.2.2. Datos y resultados obtenidos.

Tabla 9. Rendimiento obtenido por tratamiento

Tratamiento	Replica I	Replica II
t1	67,20	66,80
t2	65,20	59,20
t3	58,00	49,20
t4	76,80	67,60
t5	65,50	64,30
t6	78,40	64,50
t7	63,20	53,60
t8	66,80	49,60
t9	62,40	57,20
t10	74,80	62,30
t11	64,50	62,30
t12	63,40	65,50
t13	58,00	55,20
t14	66,80	62,00
t15	53,60	53,60
t16	65,80	54,50
t17	66,80	63,40
t18	65,80	64,50

Fuente. Los autores (Gabriel S. y Cristian H; 2018)

10.3. Análisis estadístico ANOVA

Se plantea el uso de un diseño experimental de completamente al azar A x B x C, con un nivel de confianza de 95%, para lo cual se toma en cuenta el rendimiento obtenido de la extracción, a más se aplicara pruebas de análisis de medias para la elección del mejora tratamiento según las variables obtenidas en la investigación.

Utilizando los valores del rendimiento de la Tabla 9 se aplica el análisis estadístico, obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 10. Resultados de ANOVA del rendimiento

F.V.	SC	GI	CM	F-calculado	F crítico	p-valor
VT	122,14	2	61,07	1,92	3,55	0,1755
VS	38,4	2	19,2	0,6	3,55	0,5575
VB	420,93	1	420,93	13,23	4,41	0,0019*
VT*VS	186,89	4	46,72	1,47	2,93	0,253
VT*VB	46,63	2	8,32	0,26	3,55	0,7728
VS*VT	109,26	2	54,63	1,72	3,55	0,2077
VT*VS*VB	104,31	4	26,08	0,82	0,82	0,5293
Error	572,63	18	31,81			
Total	1571,2	35				
C.V. (%)	8,99					
D.E. (%)	91,01					

Fuente. Los autores (Gabriel S. y Cristian H; 2018)

VT: variedades de Temperatura ** : altamente significativo ns : no significativo
 VS: variación de Solventes * : significativo C.V. (%): Coeficiente de variación
 VB: variación de Bases D.E: Diferencia estadística

Análisis e Interpretación.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos del análisis de la Tabla 9 en relación al rendimiento se puede apreciar que en el caso del VB (BASES) si existe una diferencia estadística significativa en el rendimiento obtenido de la extracción ya que el F calculado es mayor que el F crítico, a más que el valor de la probabilidad de es menor a 0,05 podemos considerar la H_a como válida la cual indica que la aplicación de diferentes temperaturas, solventes y bases si influyen en el rendimiento de la extracción de pasta base de alcaloides

y se rechaza la H_0 . Para lo cual se aplicó una prueba de Tukey al 5% para el análisis de los tratamientos en relación a las bases empleadas en la experimentación. Se observa que el coeficiente de variación es confiable ya que de las 100 muestras, el 8.99 % de ellas son diferentes y el 91.01% de las muestras no presentan diferencias y son confiables, lo que indica que estos son iguales para todos los tratamientos de acuerdo al rendimiento porcentual de base de alcaloides obtenidos en la experimentación, con lo cual podemos ver la precisión con la que se desarrolló cada uno de los ensayos.

En conclusión tenemos que las temperaturas de deshidratación (35,45 y 55°C), los solventes (Agua, Alcohol y Cloroformo) y las bases (Sulfato de Magnesio e hidróxido de Sodio), si influyen sobre la variable rendimiento porcentual en la obtención de los alcaloides presentado diferencia entre los tratamientos de la investigación.

Aplicando un análisis de medias estadístico tenemos los siguientes resultados.

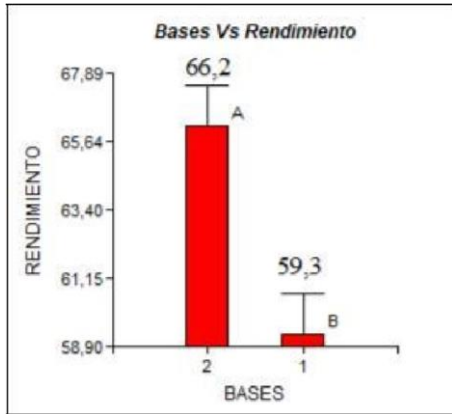
Tabla 11. Resultados de la prueba de TUKEY RENDIMIENTO VS BASES

VB	Medias	Agrupación
SMG	66,2	A
HS	59,3	B

Fuente. Los autores (Gabriel S. y Cristian H; 2018)

SMG = Sulfato de Magnesio HS = Hidróxido de Sodio

Grafica 2. Resultados de la prueba de TUKEY RENDIMIENTO VS BASES



Fuente. Los autores (Gabriel S. y Cristian H; 2018)

Interpretación.

Aplicando la prueba de Tukey al 5% entre las medias de los tratamiento en función de Bases vs Rendimiento tenemos que la aplicación de Sulfato de Magnesio se obtiene una mayor capacidad de recuperación de la base de alcaloides en proceso de extracción de los alcaloides en forma de cristales.

Para la elección del mejor tratamiento se aplica la el análisis de medias Tukey al 5% entre las combinaciones en relación al RENDIMIENTO VS TEMPERATURAS x

SOLVENTES x BASES. En la cual se obtuvieron los siguientes resultados.

Tabla 12. Resultados de la prueba de TUKEY RENDIMIENTO VS TEMPERATURAS x SOLVENTES x BASES

Combinaciones			Medias	Tratamiento
Temperaturas	Solventes	Bases		
1	1	2	72,20	t4
1	3	2	71,45	t6

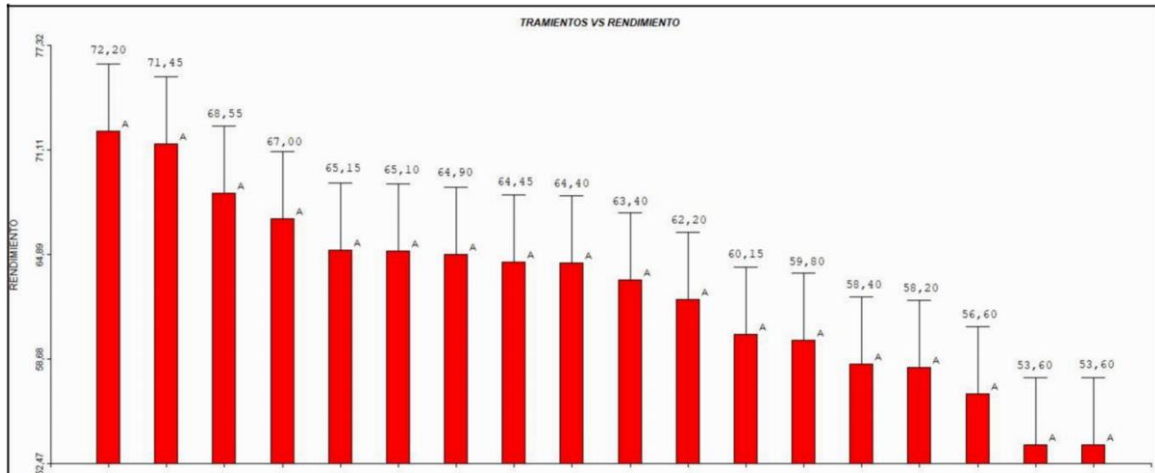
2	1	2	68,55	t10
1	1	1	67,00	t1
3	3	2	65,15	t18
3	2	2	65,10	t17
1	2	2	64,90	t5
2	3	2	64,45	t12
3	2	1	64,40	t14
2	2	2	63,40	t11
1	2	1	62,20	t2
3	1	2	60,15	t16
2	3	1	59,80	t9
2	1	1	58,40	t7
2	2	1	58,20	t8
3	1	1	56,60	t13
1	3	1	53,60	t3
3	3	1	53,60	t15

Fuente. Los autores (Gabriel S. y Cristian H; 2018)

De acuerdo al análisis de medias Tukey encontramos que el tratamiento con el mayor rendimiento de recuperación y formación de cristales de base de alcaloides es el Tratamiento T4 (a1b1c2) el cual está conformado por una desecación de las hojas a 35°C, la aplicación de agua como solvente para la liberación de los alcaloides en el extracto líquido junto con Sulfato de Magnesio el cual dará cuerpo a las los alcaloides al formar un base de alcaloides de coloración amarillenta, el cual se empleara en la elaboración del

gel antibacteriano. Para resumir se realiza una gráfica para apreciar de mejor manera la diferencia entre tratamientos.

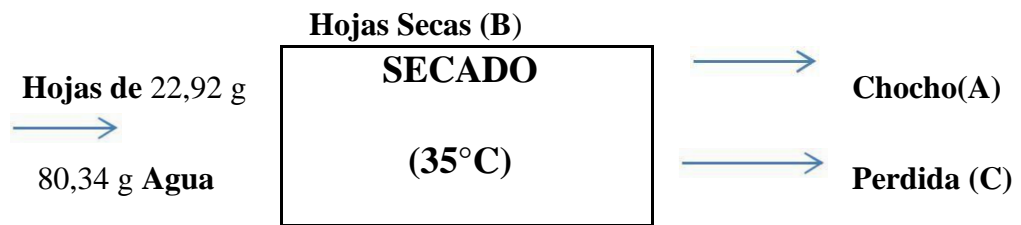
Grafica 3. Resultados de la prueba de TUKEY RENDIMIENTO VS TEMPERATURAS x SOLVENTES x BASES



Fuente. Los autores (Gabriel S. y Cristian H; 2018)

10.4. Balance de materiales extracción de alcaloides

10.4.1. Secado de las hojas.



Balance General

$$A = B + C$$

$$C = A - B$$


$$C = 80,34g - 22,92g$$

$$C = 57,31 \text{ g agua perdida}$$

MACERADO

10.4.2. Maceración de hojas.
Hojas de Secas (A)

 22,92 g
 
Solventes (B)

 22,92 g
 

Macerado Total (C)
Balance General

$$A + B = C$$

$$C = A + B$$

$$C = 80 + 22,92$$

$$C = 102,92 \text{ g}$$

10.4.3. Filtración del macerado
Macerado Total (A)


FILTRADO

Solvente (B)

Desecho (C)

24,23 g

Balance General

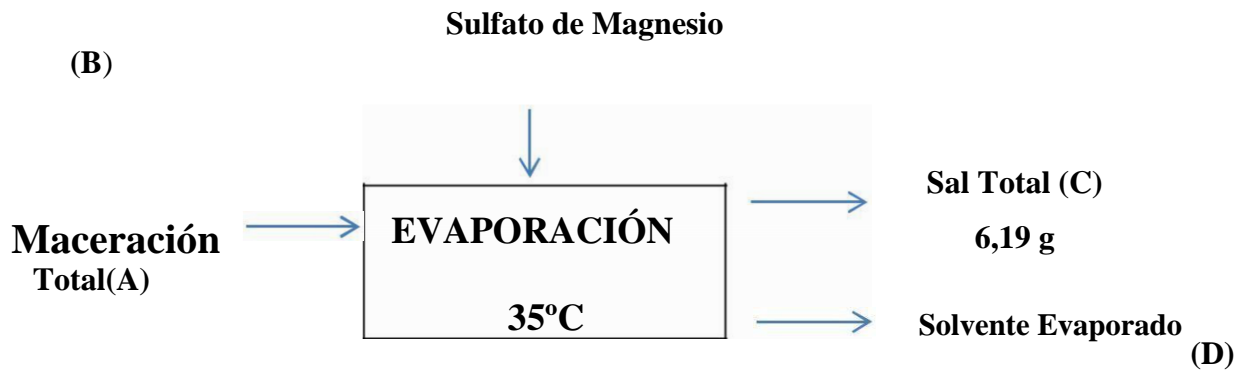
$$A = B + C$$

$$B = A - C$$

$$B = 102,92 + 24,23$$

$$B = 78,69 \text{ g}$$

10.4.4. Extracción de la base de alcaloides.



Balance General

$$A + B = C + D$$

$$D = A + B - C$$

$$D = 78,69\text{g} + 10\text{g} - 6,19\text{g}$$

$$D = 88,69 \text{ g}$$

10.5. Prueba de presencia de alcaloides.

Dentro de la identificación de presencia de alcaloides en los extractos líquidos obtenidos en la maceración, se emplean reactivos los cuales reaccionan con la presencia de alcaloides formando precipitados, para este análisis se emplearon los siguientes reactivos:

- **Reactivo de Dragendorff.** Es una solución de potasio yoduro de bismuto “ $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ ” que se utiliza para determinar la presencia de alcaloides, es una prueba cualitativa la cual al reaccionar presenta precipitados de color anaranjado o naranja. □

□

- **Reactivo de Mayer.** Es una sal de Cloruro de Mercurio (HgCl), empleada principalmente en la identificación de alcaloides en su aplicación se forman precipitados de color blanco amarillento. □

□

10.5.1. Resultados Obtenidos.

Tabla 13. Presencia de alcaloides en extracto liquido

Extracto liquido	R. Dragendorff	R. Mayer
Alcaloides + Agua	PRESENCIA	PRESENCIA
Alcaloides + Alcohol	AUSENCIA	AUSENCIA
Alcaloides + Cloroformo	PRESENCIA	PRESENCIA

Fuente. Los autores (Gabriel S. y Cristian H; 2018)

Observación. La Tabla 11 está basada en los resultados obtenidos de un laboratorio particular Anexos 7 y 8, por recomendación del laboratorista el extracto liquido del extracto de alcaloides + alcohol no se realizó este análisis ya que no existe presencia en este extracto.

Este tipo de componentes se dispersan en solventes no polares como el agua y cloroformo dando una coloración característica de color amarillento (Johana, 2009)

10.6. Análisis físico químico del producto (gel antiséptico)

Los parámetros se compararan con la NTE INEN 093 “PRODUCTOS COSMÉTICOS”:

Tabla 14. Análisis físico químico del producto terminado (Anexo 9)

PARÁMETRO	MEDICIÓN	NTE INEN 2867
Viscosidad (Cp)	8388	-
Densidad (g/ml)	0,98	-
pH	7	3 – 10
Sólidos Totales	2,30	-

Fuente. Los autores (Gabriel S. y Cristian H; 2018)

Observación. Ya que el producto es empleado para desinfección, se realiza el análisis de las condiciones del gel en especial de la viscosidad y pH del producto para comprobar su capacidad de formación para su fácil aplicación en las manos, como se puede apreciar en la Tabla 14, ya que uso bases neutras el pH se mantiene neutro.

10.7. Prueba de validación del producto terminado (GEL ASEPTICO)

Para este análisis al producto se lo somete a pruebas de efectividad de este en la eliminación de microorganismos durante el tiempo de acción del producto, los microorganismos empleados para la comprobación de la efectividad del producto son:

- • *Escherichia coli* □
- • *Staphylococcus aureus* □
- • *Candida albicans* □
- • *Proteus mirabilis* □
- • *Salmonella typhimurium* □

Los cuales son las más comunes en la supervisa de las manos, el tiempo estimado de acción empleada en el análisis es de 10 minutos.

10.7.1. Resultados obtenidos

Tabla 15. Resultados de validación

Cepas ATCC	Tiempos de acción				Resultados
	1 min	2 min	5 min	10 min	
<i>Escherichia coli</i>	NC	NC	NC	N	Cumple
<i>Staphylococcus aureus</i>	C	C	C	C	No Cumple

<i>Candida albicans</i>	C	C	NC	C N	Cumple a los 5 min
<i>Proteus mirabilis</i>	C	NC	NC	C N	Cumple a los 2 min
<i>Salmonella typhimurium</i>	C	C	NC	C N	Cumple a los 5 min

Fuente. Los autores (Gabriel S. y Cristian H; 2018)

Discusión.

De acuerdo a la TABLA 15 se pudo apreciar que la acción desinfectante en la formulación planteada de gel aséptico es un tanto baja ante la presencia del *Staphylococcus aureus*, incluso el tiempo de acción del producto no es el deseado; esto debido a que el porcentaje de base de alcaloides empleado, no fue la cantidad suficiente para cumplir con toda la acción bactericida esperada. Cabe recalcar que la acción bactericida de estos compuestos en el caso del *Staphylococcus aureus* requiere de concentraciones más elevadas de alcaloides para asegurar la acción bactericida del producto, debido a que en investigaciones previas se aprecia que la concentración mínima de concentrados inhibitorio de amina (Alcaloides) del extracto de hojas del chocho es de 10 µg/ml de solución (Villacres, E; Peralta, E; Cuadrado; L; Revelo, J; Addo, S y Aldaz. 2009).

Con el aumento del porcentaje adicionado de base de alcaloides en la formulación de nuestro gel, se asegura la acción bactericida del producto, logrando incluso la disminución parcial de la cantidad de alcohol empleado al 20% frente a geles antibacteriales que encontramos comercialmente que son de un 40% en su concocción alcohólica.

10.8. Cálculo de precios y formulación del producto

10.8.1. Costo de extracción de base de alcaloides

Tabla 16. Cálculo del precio de la extracción de base de alcaloides

Materias Primas	Cantidades	Unidades	Precio Unitario	Total
Hojas de Chocho	0,435	Kg	0,30	0,13
Sal de Epson	10	G	0,08	0,80
Agua	0,08	L	1,20	0,10
Precio Total				1,03
Mano de Obra 8%				0,08
Servicios Básicos 5%				0,05
Precio Total (6,5g)				1,16
Precio/g				0,18

Fuente. Los autores (Gabriel S. y Cristian H; 2018)

El precio por gramo de base de alcaloide es de 0,18 \$ lo cual es un precio relativamente bajo esto en relación al tratamiento obtenido como el mejor.

10.8.2. Costos de elaboración de gel aséptico

Tabla 17. Cálculo del precio de la extracción de base de alcaloides

Materias Primas	Porcentaje %	Cantidades	Unidades	Precio Unitario	Total
Alcohol 97%	20	200	ml	0,002	0,40
Agua	77,5	775	Ml	0,0003	0,23
Carbopol	0,5	5	G	0,002	0,01
Glicerina	0,5	5	Ml	0,01	0,05
Ácido Ascórbico	0,3	3	G	0,02	0,06
Tretanolamina	0,5	5	G	0,02	0,10
Alcaloides	0,6	6	G	0,18	1,08
Aroma	0,1	1	Ml	0,01	0,01
Envase	-	1	Uni	0,5	0,50
Total	100	1000	-	-	2,44
Mano de Obra 8%					0,20
Servicios Básicos 5%					0,12
Total/Litro					2,76

Fuente. Los autores (Gabriel S. y Cristian H; 2018)

El valor por litro de gel aséptico base de alcaloides de las hojas de chocho tenemos que es de 2,76\$, el cual podría ser el valor de venta al público.

11. IMPACTOS DEL PROYECTO

11.1. Impactos Técnicos

El desarrollo de sistemas de extracción de alcaloides de la hoja del chocho eficientes mediante la implantación de solventes y sales no corrosivos para la salud permite el desarrollo de nuevos productos que aprovechen del principio activo bactericida y plaguicida de estos alcaloides.

11.2. Impactos Sociales

El desarrollo de productos naturales o naturistas en los últimos años ha tenido un gran impacto en la sociedad debido a que las personas tienden a consumir estos productos ya que son menos dañinos que los productos que poseen gran cantidad de químicos, con lo cual la implementación de alcaloides de chocho cuya acción bactericida y cicatrizante permitirá la reducción de la cantidad de alcohol empleada normalmente en un gel aséptico, ya que este es uno de los principales componentes dañinos para la piel.

11.3. Impactos Ambientales

El aprovechamiento de los desechos de la cosecha del chocho permitirá obtener una reducción significativa de estos desechos ya que se emplearían como fuente principal de materia prima para la extracción de alcaloides de las hojas del chocho. Permitiendo la obtención de alcaloides y materia orgánica aprovechable como abono para los cultivos.

11.4. Impactos Económicos

La extracción de estos alcaloides es relativamente económica ya que para su extracción requiere de implementos básicos y materias primas accesibles ya que estas plantas se producen con abundancia en las regiones del Sur – Centro del Ecuador.

12. CONCLUSIONES

- Dentro del método empleado para la extracción de la base de alcaloides se ve que el uso de temperaturas de desecación para la minimización del contenido de agua, junto con el uso de solventes no polares como Agua y Cloroformo, los cuales extraen estos compuestos y la utilización de temperaturas para la evaporación del solvente y la disolución de sales base, lo que permite la formación del cuerpo de los alcaloides presentes en el solvente de la maceración de las hojas del chocho, permitiendo obtener

cristales de alcaloides concentrados, demostrando que este método se puede aplicar para este tipo de extracción.□

□

- Eliminado la cantidad de agua de las hojas y realizando un cálculo del porcentaje de agua de la muestra y de agua perdida en las TABLAS 7 y 8 podemos observar que las hojas de chocho son muy susceptibles a las temperaturas ya que esta se elimina rápidamente a temperatura bajas de desecación durante un tiempo de 10 horas en la cual se redujo más del 70% del agua contenía en las hojas.□

□

- La manera más eficaz de extraer estos compuestos es a través de la maceración implementando solventes no polares los cuales son capaces de extraer estos compuestos de la superficie de la planta, para este proceso el tiempo estimado para la completa extracción de estos compuestos en los solventes es de 48 horas.□

□

- De acuerdo al análisis estadístico realizado del rendimiento obtenido de bases de alcaloides de cada uno de los tratamientos, tenemos que la implementación de Sulfato de Magnesio como bases si influye en el rendimiento de la reacción de las sales y los alcaloides a comparación del hidróxido de sodio, dando como resultado que método más eficaz es la implementación de 35°C para la desecación, agua como solvente no polar y la disolución de Sulfato de Magnesio esto perteneciente al TRATAMIENTO 4 (a1b1c2), el cual será empleado para la formulación del gel aséptico.□

□

- Basándonos en los análisis físico – químicos del gel aséptico tenemos que éste presenta una viscosidad bastante baja lo que indica que su grado de deformación es muy alta, lo que es ideal para su aplicación ya que es de fácil dispersión y absorción en la piel, a más que el pH que tenemos no es ácido o básico sino que mantiene un pH neutro.□
- El porcentaje de base de alcaloides en la formulación del gel aséptico es una cantidad que requiere de mucho control, ya que la acción bactericida dependerá netamente de la cantidad de alcaloides empleados siendo este en caso de geles con extracto de hojas la cantidad mínima de concentrado es 10µg/ml de solución para garantizar la acción bactericida, por lo cual excesivo concentrado de estos compuestos aumentará el grado toxicológico del producto final.□

□

- Con la suplementación del alcohol por las bases de alcaloides adicionadas, redujimos en gran proporción el nivel alcohólico presente en nuestro gel aséptico, ya que altas concentraciones de alcohol afectan al consumidor, causando resequedad en la superficie de las manos. Motivo por el cual optamos por la implementación de bases de alcaloides como sustituto parcial del alcohol.□

13. RECOMENDACIONES

- Las hojas o tallos del chocho deben ser recolectados antes de la cosecha de las vainas de la planta.□
-
- Emplear frascos de cristal ya que algunos solventes afectan al plástico.□
-
- Mejorar los tiempos de desecación para minimizar el contenido de humedad de las muestras.□
-
- Usar fundas de papel para almacenar las muestra para evitar la ganancia de humedad de la base de alcaloides.□
-
- Realizar pruebas con el uso de otros solventes no polares y bases para obtener un mejor rendimiento de la extracción de la base de alcaloides.□
-
- Controlar las temperaturas de evaporación ya que esto afecta a la coloración de la base de alcaloides.□
-
- Adicionar el coagulante al final, en cuanto todos los componentes estén completamente disueltos en el gel para garantizar la completa incorporación de estos elementos en el gel.□
-
- La cantidad necesaria de base de alcaloides para la formulación de 1L del gel aséptico podría ser del (0.5 al 1.0 %) del porcentaje total de la fórmula, así garantizamos la acción bactericida, y evitamos la toxicidad del producto elaborado.□
-
- Para posteriores y futuras investigaciones encontrar diferentes aplicabilidades que pueden tener los alcaloides del chocho para la elaboración de subproductos.□

14. BIBLIOGRAFÍA

Alvarez, C. (17 de Septiembre de 2012). Tarwi Descripción botánica. Obtenido de

Cultivos Andinos:

http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:s8ITf_kkDYkJ:granoandino.blogspot.com/2013/09/tarwi-descripcionbotanica.html+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=ec

Castillo Moreno, S. L. (02 de Julio de 2015). Evaluación de la Actividad Cicatrizante de geles elaborados a partir de extractos Etanólicos, Alcaloidales y Lipídicos de dos variedades de chocho (*Lupinus mutabilis* sweet): 450 andino y criollo, sobre heridas producidas en ratones. Obtenido de Repositorio Institucional de la Escuela

Superior Politécnica de Chimborazo:
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/3891>

César Ruitón, M. R. (02 de Diciembre de 1998). FLAVONOIDES Y ALCALOIDES DE *LUPINUS BALLIANUS* C.P. Obtenido de Ciencia e Investigación:
http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v01_n2/flavonoides.htm

Guato, F. P. (25 de Marzo de 2012). COMPARACIÓN DE LAS MEZCLAS DE HARINA DE TRIGO (*Triticum*). Obtenido de Reposito Académico Universidad

Técnica de Ambato:
<http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3055/1/AL479.pdf>

Guillermina Brambilla, M. E. (02 de Febrero de 2015). Alcaloides en alimentos. Obtenido de Revistas Digitales :
http://v.ub.edu.ar/revistas_digitaless/Ciencias/A2Num5/articulos.htm

Haro Barroso, C. P. (01 de Mayo de 2011). Implementación de una Técnica para el Aprovechamiento de los Alcaloides de Chocho y Posterior Complejión de Metales Pesados. Obtenido de Repositorio Institucional de la Escuela Superior

Politécnica de Chimborazo: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/224>

Jarrín, P. (2003). Caracterización y tratamiento del agua del desamargado del chocho, proveniente de la planta piloto de la Estación Santa Catalina. Riobamba: Tesis.

Obtenido de file:///C:/Users/MS-9/Downloads/oaci%20(1).pdf

José, L. (29 de Junio de 2012). Propiedades de los chochos. Obtenido de Blogspot:
<http://josleonel.blogspot.com/2012/06/los-chochos-los-chochos.html>

Méndez Lema, E. E. (29 de Abril de 2011). Elaboracion de medicamentos;control de calidad de medicamentos;actividad antimicrobiana;investigacion in vivo;gel de chocho;extracto coloidal de chocho. Obtenido de Repositorio Institucional de la

Escuela Superior Politécnica de Chimborazo:
<http://dspace.esoch.edu.ec/handle/123456789/208>

Rodríguez, A. (14 de Abril de 20011). Evaluación in vitro de la Actividad Antimicrobiana de los Alcaloides del Agua de Cocción del Proceso de Desamargado del Chocho

(Lupinus mutabilis Sweet). Obtenido de Repositorio Institucional de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo:
<http://dspace.esoch.edu.ec/bitstream/123456789/219/1/56T00193.pdf>

Villacres, E., Peralta, E., Cuadrado, L, Revelo, J., & Addo, S. y. (15 de Enero de 2010).

Propiedades y aplicaciones de los alcaloides del chocho. Obtenido de Deposito

Bibliografico Politecnica de Chimborazo:

<http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/ALCALOIDES%20DEL%20CHOCHO.pdf>

15. ANEXOS

Anexo 1 Norma técnica NTE INEN 2867 “productos cosmeticos.



Quito – Ecuador

**NORMA
TÉCNICA
ECUATORIANA**

NTE INEN 2867
2015-03

PRODUCTOS COSMÉTICOS. REQUISITOS

COSMETIC PRODUCTS. REQUIREMENTS

DESCRIPTORES: Cosméticos, artículos de tocador
ICS: 71.100.70

5
Páginas

Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria	PRODUCTOS COSMÉTICOS REQUISITOS	NTE INEN 2867:2015 2015-03
---	------------------------------------	----------------------------------

1. OBJETO

Esta norma establece los requisitos que deben cumplir los productos cosméticos de uso humano.

2. REFERENCIAS NORMATIVAS

Los siguientes documentos, en su totalidad o en parte, son referidos y son indispensables para su aplicación. Para referencias fechadas, solamente aplica la edición citada. Para referencias sin fecha, aplica la última edición del documento de referencia (incluyendo cualquier enmienda).

NTE INEN-ISO 22717, *Cosméticos. Microbiología. Detección de pseudomonas aeruginosa*

NTE INEN-ISO 22718, *Cosméticos. Microbiología. Detección de staphylococcus aureus*

NTE INEN-ISO 21150, *Cosméticos. Microbiología. Detección de Escherichia coli*

NTE INEN-ISO 21149, *Cosméticos. Microbiología. Detección y recuento de bacterias aerobias mesófilas*

NTE INEN-ISO 18416, *Cosméticos. Microbiología. Detección de candida albicans*

NTE INEN-ISO 22716, *Productos cosméticos. Buenas prácticas de fabricación (BPF). Guía de buenas prácticas de fabricación*

3. DEFINICIONES

Para los efectos de esta norma, se adoptan las siguientes definiciones:

3.1 Cosmético o producto cosmético. Toda sustancia o formulación de aplicación local a ser usada en las diversas partes superficiales del cuerpo humano: epidermis, sistema piloso y capilar, uñas, labios y órganos genitales externos o en los dientes y las mucosas bucales, con el fin de limpiarlos, perfumarlos, modificar su aspecto y protegerlos o mantenerlos en buen estado y prevenir o corregir los olores corporales.

3.2 Forma cosmética. Ingrediente o combinación de ingredientes que da como resultado un producto con ciertas características físicas para su adecuado uso, aplicación y conservación.

3.3 Grupo cosmético. Productos cosméticos con la misma composición básica cualicuantitativa, uso y denominación genérica, que poseen diferentes propiedades organolépticas (color, olor y sabor). También se consideran grupos cosméticos, los tintes con la misma composición cualitativa de sus colorantes, los cosméticos de perfumería con la misma fragancia y los productos cosméticos para maquillaje de la misma composición básica y diferente tonalidad.

3.4 Ingrediente. Toda sustancia que interviene en la formulación de un producto cosmético.

4. CLASIFICACIÓN

Los productos cosméticos se clasifican en:

- 4.1 Cosméticos para niños,
- 4.2 Cosméticos para el área de los ojos,
- 4.3 Cosméticos para la piel,
- 4.4 Cosméticos para los labios,
- 4.5 Cosméticos para el aseo e higiene corporal,
- 4.6 Productos desodorantes y antitranspirantes,
- 4.7 Cosméticos capilares,
- 4.8 Cosméticos para las uñas,
- 4.9 Cosméticos de perfumería,
- 4.10 Cosméticos para higiene bucal y dental,
- 4.11 Productos para y después del afeitado,
- 4.12 Productos para el bronceado, protección solar y autobronceadores,
- 4.13 Depilatorios,
- 4.14 Productos para el blanqueo de la piel.

5. REQUISITOS

5.1 Generalidades

5.1.1 La fabricación de los productos cosméticos se debe efectuar de conformidad con las Buenas prácticas de manufactura.

5.2 Requisitos microbiológicos

5.2.1 Los productos cosméticos que cumplan las condiciones fisico-químicas establecidas en la tabla 1 estarán exentos de ensayo microbiológicos.

TABLA 1. Condiciones fisico químicas que exceptúan los análisis microbiológicos

CONDICIÓN	RANGO
pH ácido	≤ 3
pH alcalino	≥ 10
Soluciones Hidroalcohólicas	$\geq 20 \%$
Temperatura de llenado	$\geq 65,0 \text{ } ^\circ\text{C}$
Actividad del agua (a_w)	$\leq 0,75$
Productos de base solventes	Sin límite
Productos oxidantes	Sin límite
Clorhidrato de aluminio y sales relacionadas	del 15 % al $\geq 25 \%$

5.2.2 Los métodos de ensayo necesarios para la evaluación microbiológica se detalla en la tabla 2.

TABLA 2. Requisitos microbiológicos de los productos cosméticos

Área de aplicación y fase Etaria	Requisito	Límites de aceptabilidad	Método de ensayo de referencia
<ul style="list-style-type: none"> • Cosméticos para niños (hasta 3 años) • Cosméticos para el área de los ojos • Cosméticos que entran en contacto con las membranas mucosas 	Microorganismos mesófilos aerobios totales	Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales. Límite máximo 5×10^2 ufc*/g o ml	NTE INEN-ISO 21149
	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia de <i>Pseudomona aeruginosa</i> en 1 g ó ml	NTE INEN-ISO 22717
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1 g o ml	NTE INEN ISO 22718
	<i>Escherichia coli</i>	Ausencia de <i>Escherichia coli</i> en 1 g o ml	NTE INEN-ISO 21150
Demás productos cosméticos susceptibles a contaminación microbiológica	Microorganismos mesófilos aerobios totales	Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales. Límite máximo 5×10^3 ufc*/g o ml	NTE INEN-ISO 21149
	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia de <i>Pseudomona aeruginosa</i> en 1 g o ml.	NTE INEN-ISO 22717
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1 g o ml.	NTE INEN-ISO 22718
	<i>Escherichia coli</i>	Ausencia de <i>Escherichia coli</i> en 1 g o ml.	NTE INEN-ISO 21150
Productos cosméticos a ser utilizados en los órganos genitales externos	<i>Candida albicans</i> .	Ausencia	NTE INEN-ISO 18416
*ufc = unidades formadoras de colonias			
NOTA. En el caso de que sean usados otros métodos alternativos a los considerados en la tabla 2, estos deben ser oficiales. En el caso de no ser un método oficial, este debe ser documentadamente validado.			

5.3 Requisitos complementarios

5.3.1 Para efectos de esta norma se deben aplicar los listados internacionales sobre ingredientes que pueden incorporarse o no a los cosméticos y sus correspondientes restricciones de uso.

5.3.2 Se reconocen para este efecto la lista de aditivos de colores permitidos por la Food & Drug Administration de los Estados Unidos de Norte América (FDA), los listados de ingredientes de The Personal Care Products Council y de Cosmetics Europe – The Personal Care Association, así como las Directivas de la Unión Europea.

6. ETIQUETADO

6.1 El envase o en el empaque de los productos cosméticos debe figurar con caracteres indelebles, fácilmente legibles y visibles, y debe contener:

a) Nombre y marca del producto,

5.2.2 Los métodos de ensayo necesarios para la evaluación microbiológica se detalla en la tabla 2.

TABLA 2. Requisitos microbiológicos de los productos cosméticos

Área de aplicación y fase Etaria	Requisito	Límites de aceptabilidad	Método de ensayo de referencia
<ul style="list-style-type: none"> • Cosméticos para niños (hasta 3 años) • Cosméticos para el área de los ojos • Cosméticos que entran en contacto con las membranas mucosas 	Microorganismos mesófilos aerobios totales	Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales. Límite máximo 5×10^2 ufc*/g o ml	NTE INEN-ISO 21149
	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia de <i>Pseudomona aeruginosa</i> en 1 g ó ml	NTE INEN-ISO 22717
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1 g o ml	NTE INEN ISO 22718
	<i>Escherichia coli</i>	Ausencia de <i>Escherichia coli</i> en 1 g o ml	NTE INEN-ISO 21150
Demás productos cosméticos susceptibles a contaminación microbiológica	Microorganismos mesófilos aerobios totales	Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales. Límite máximo 5×10^3 ufc*/g o ml	NTE INEN-ISO 21149
	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia de <i>Pseudomona aeruginosa</i> en 1 g o ml.	NTE INEN-ISO 22717
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1 g o ml.	NTE INEN-ISO 22718
	<i>Escherichia coli</i>	Ausencia de <i>Escherichia coli</i> en 1 g o ml.	NTE INEN-ISO 21150
Productos cosméticos a ser utilizados en los órganos genitales externos	<i>Candida albicans</i> .	Ausencia	NTE INEN-ISO 18416
*ufc = unidades formadoras de colonias			
NOTA. En el caso de que sean usados otros métodos alternativos a los considerados en la tabla 2, estos deben ser oficiales. En el caso de no ser un método oficial, este debe ser documentadamente validado.			

5.3 Requisitos complementarios

5.3.1 Para efectos de esta norma se deben aplicar los listados internacionales sobre ingredientes que pueden incorporarse o no a los cosméticos y sus correspondientes restricciones de uso.

5.3.2 Se reconocen para este efecto la lista de aditivos de colores permitidos por la Food & Drug Administration de los Estados Unidos de Norte América (FDA), los listados de ingredientes de The Personal Care Products Council y de Cosmetics Europe – The Personal Care Association, así como las Directivas de la Unión Europea.

6. ETIQUETADO

6.1 El envase o en el empaque de los productos cosméticos debe figurar con caracteres indelebles, fácilmente legibles y visibles, y debe contener:

a) Nombre y marca del producto,

APÉNDICE Z**BIBLIOGRAFÍA**

Comunidad Andina de Naciones, *Legislación en materia de productos cosméticos*, Decisión 516:2002, Marzo 2002

Comunidad Andina de Naciones, *Modificación de la Decisión 516: "Armonización de legislaciones en materia de productos cosméticos"*, Decisión 777, Noviembre 2012

Comunidad Andina de Naciones, *Modificación de la Resolución 1418: Límites de contenido microbiológico de productos cosméticos*, Resolución 1482, Julio 2012

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Documento: NTE INEN 2867	TÍTULO: PRODUCTOS COSMÉTICOS. REQUISITOS	Código ICS: 71.100.70
ORIGINAL: Fecha de iniciación del estudio: 2014-05-01	REVISIÓN: La Subsecretaría de la Calidad del Ministerio de Industrias y Productividad aprobó este proyecto de norma Oficialización con el Carácter de por Resolución No. publicado en el Registro Oficial No. Fecha de iniciación del estudio:	
Fechas de consulta pública: desde 2014-06-19 hasta 2014-08-18		
Comité Técnico de: Productos Cosméticos Fecha de iniciación: 2014-08-28 Integrantes del Comité:		
NOMBRES: Luz Marina Rivera Patricia Jarrín Wilma Gallegos Emilia Loayza Katia Salas Daniel Díaz David Chuquer Alexandra Calispa Diego Zárate Tania Montenegro María Gloria Guzmán Marco Padilla Patricia Flores Ricardo Escobar Zoila Monroy Barros Elizabeth Machado Paúl Chávez Mauricio Martínez Zoila Navarrete Linley Lara Montes Esther B. López Alberto Muriel Cobo Paola Ron Silvana Guadalupe Dávila Luis Contreras Adriana Pontón Anita Salazar Miriam Romo Libia Garrido Byron Ortega Verónica Ortega Rodrigo Bastidas Janet Córdova María Teresa Donoso (Presidente) Ximena Baldeón (Secretaría Técnico)	INSTITUCIÓN REPRESENTADA: YANBAL ECUADOR S.A YANBAL ECUADOR S.A ORIFLAME DEL ECUADOR S.A BFS ECUADOR S.A CASA MOELLER MARTINEZ OTELLO & FABELL DIRECCIÓN DE CERTIFICACIÓN INEN JABONERÍA WILSON S.A JABONERÍA WILSON S.A. 4 LIFE RESEARCH EC QVALA ECUADOR S.A AVON ECUADOR S.A. AVON ECUADOR S.A. PROCOSMÉTICOS JOHNSON & JOHNSON DEL ECUADOR S.A LABORATORIO RENÉ CHARDON LABORATORIO RENE CHARDON MCPEC MSP/DNS MSP/DNCS LATECNA S.A / MERCANTIL GARZOZI ECUASABIA S.A. MIPRO PRODUCTOS FAMILIA SANCELA DEL ECUADOR S.A ARCSA ARCSA ARCSA SAE SENESCYT BLENASTOR C.A BLENASTOR C.A QUALIPHARM LAB. HERBALIFE EC. BEIERSDORF S.A DIRECCIÓN DE NORMALIZACIÓN- INEN)	Fecha de aprobación: 2014-12-04
Otros trámites: La Subsecretaría de la Calidad del Ministerio de Industrias y Productividad aprobó este proyecto de norma Oficializada como: Voluntaria Registro Oficial No. 451 de 2015-03-04		
		Por Resolución No. 15057 de 2015-02-12

Anexo 2 Deshidratación de las hojas del chocho

CONDICIONES	IMAGEN
<ul style="list-style-type: none">• Tiempo deshidratado: 10 horas• Temperatura deshidratado: 35°C	

- Tiempo deshidratado: **10 horas**
- Temperatura deshidratado: **45°C**



<ul style="list-style-type: none">• Tiempo deshidratado: 10 horas• Temperatura deshidratado: 55°C	
--	--



Fuente. Los autores (Gabriel S. y Cristian H; 2018)

Anexo 3 TRATAMIENTOS EN MACERACIÓN



Fuente. Los autores (Gabriel S. y Cristian H; 2018)

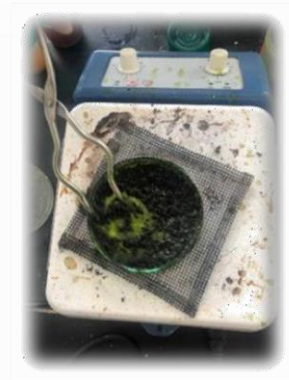
Anexo 4 Evaporación y pesaje del extracto sólido

CONDICIONES	IMAGEN
<p data-bbox="327 562 799 607">□ Temperatura evaporación 35°C</p>	 A photograph showing three glass petri dishes containing a yellowish, semi-transparent substance. They are placed on a blue hot plate. The dishes are arranged in a triangular pattern, with one in the foreground and two behind it. The hot plate has a metal mesh on top.
<p data-bbox="327 1021 799 1066">□ Temperatura evaporación 35°C</p>	 A photograph showing a person in a white lab coat and glasses using a pipette to transfer liquid into petri dishes. The person is leaning over a hot plate with several petri dishes on it. The person's hands are visible, one holding the pipette and the other holding a petri dish. The hot plate is blue and has a metal mesh on top.

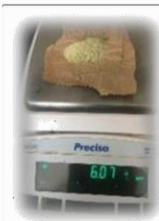
□ Temperatura evaporación 35°C



□ Extracto sólido del alcaloide



□ Pesaje extractos







Fuente. Los autores (Gabriel S. y Cristian H; 2018)

Anexo 5 Aplicación de alcaloides y obtención del gel aséptico

CONDICIONES	IMAGEN
<p>□ Disolución del CARBOPO L.</p>	

<p>[</p> <p>□ Pulverizado de los cristales [obtenidos de alcaloides.</p>	
<p>[</p> <p>□ Adición del restante de [insumos y materias primas.</p>	

Fuente. Los autores (Gabriel S. y Cristian H; 2018)

Anexo 6 Resultado de presencia de Alcaloides + Agua “LABOLAB”

LABOLAB

ANÁLISIS DE ALIMENTOS, AGUAS Y AFINES
INFORME DE RESULTADOS

Orden de trabajo N° 181188
 Hoja 1 de 1

NOMBRE DEL CLIENTE: Cristian Huertas
DIRECCIÓN: Latacunga
FECHA DE RECEPCION: 23 de febrero del 2018
MUESTRA: Maceración de hojas de chocho con agua
DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Líquido color verdoso
ENVASE: Frasco estéril
FECHA ELABORACION: 19 de febrero del 2018
FECHA VENCIMIENTO: ---
LOTE: ---
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 23 – 27 de febrero del 2018
REFERENCIA: 181188
MUESTREO: Por cliente
CONDICIONES AMBIENTALES: 22.5°C 45%HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	METODO	RESULTADO
Alcaloides cualitativo	Reacción de Dragendorff y Meyer	Presencia

Cecilia Luzuriaga
 Dra. Cecilia Luzuriaga
 GERENTE GENERAL

El presente informe es válido sólo para la muestra analizada.

Este informe no debe reproducirse más que en su totalidad previa autorización escrita de LABOLAB.

LABOLAB
 ANÁLISIS DE ALIMENTOS, AGUAS Y AFINES

INFORME TÉCNICO, FICHA DE ESTABILIDAD, INFORMACIÓN NUTRICIONAL PARA NOTIFICACION SANITARIA

Análisis físico, químico, microbiológico, entomológico de: alimentos, aguas, bebidas, materias primas, balanceados, cosméticos, pesticidas, suelos, metales pesados y otros
 Fco. Andrade Marín E7-29 y Diego de Almagro Telf.: 2563-225 / 2561-350 / 3238-503/ 3238-504 Cel.: 099 959 0412 / 099 944 2153 / 098 700 1591
 E-mails: secretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec / cecilia.luzuriaga@labolab.com.ec / informes@labolab.com.ec

www.labolab.com.ec

Quito - Ecuador

Anexo 7 Resultado de presencia de Alcaloides + Cloroformo “LABOLAB”

LABOLAB

ANÁLISIS DE ALIMENTOS, AGUAS Y AFINES
INFORME DE RESULTADOS

Orden de trabajo N° 181189
Hoja 1 de 1

NOMBRE DEL CLIENTE: Cristian Huertas
DIRECCIÓN: Latacunga
FECHA DE RECEPCION: 23 de febrero del 2018
MUESTRA: Maceración de hojas de chocho con cloroformo
DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Líquido color café
ENVASE: Frasco estéril
FECHA ELABORACION: 19 de febrero del 2018
FECHA VENCIMIENTO: ---
LOTE: ---
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 23 – 27 de febrero del 2018
REFERENCIA: 181189
MUESTREO: Por cliente
CONDICIONES AMBIENTALES: 22.5°C 45%HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	METODO	RESULTADO
Alcaloides cualitativo	Reacción de Dragendorff y Meyer	Presencia

Cecilia Luzuriaga
 Dra. Cecilia Luzuriaga
 GERENTE GENERAL

El presente informe es válido sólo para la muestra analizada.
 Este informe no debe reproducirse más que en su totalidad previa autorización escrita de LABOLAB.

INFORME TÉCNICO, FICHA DE ESTABILIDAD, INFORMACIÓN NUTRICIONAL PARA NOTIFICACION SANITARIA

Análisis físico, químico, microbiológico, entomológico de: alimentos, aguas, bebidas, materias primas, balanceados, cosméticos, pesticidas, suelos, metales pesados y otros
 Fco. Andrade Marín E7-29 y Diego de Almagro Telf.: 2563-225 / 2561-350 / 3238-503/ 3238-504 Cel.: 099 959 0412 / 099 944 2153 / 098 700 1591
 E-mails: secretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec / cecillaluzuriaga@labolab.com.ec / informes@labolab.com.ec

www.labolab.com.ec

Quito - Ecuador

Anexo 8 Resultado análisis físico – químico

LABOLAB

ANÁLISIS DE ALIMENTOS, AGUAS Y AFINES
INFORME DE RESULTADOS

Orden de trabajo N° 181123
Hoja 1 de 2

NOMBRE DEL CLIENTE: Cristian Huertas
DIRECCIÓN: Latacunga
FECHA DE RECEPCION: 20 de febrero del 2018
MUESTRA: Gel antibacterial
DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Gel turbio
ENVASE: Polietileno
FECHA ELABORACION: 19 de febrero del 2018
FECHA VENCIMIENTO: 19 de febrero del 2020
LOTE: ---
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 20 - 27 de febrero del 2018
REFERENCIA: 181123
MUESTREADO: Por cliente
CONDICIONES AMBIENTALES: 22.3°C 46%HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	METODO	RESULTADO
Viscosidad (cP)	Brookfield	8388
Densidad (g/cm ³)	Picnómetro	0.9721
pH (20°C)	PEE/LA/10 INEN ISO 4316	7.01
Sólidos (%)	PEE/LA/07 INEN 382	2.30

Cecilia Luzuriaga
 Dra. Cecilia Luzuriaga
 GERENTE GENERAL

El presente informe es válido sólo para la muestra analizada.
 Este informe no debe reproducirse más que en su totalidad previa autorización escrita de LABOLAB.

LABOLAB
 ANÁLISIS DE ALIMENTOS, AGUAS Y AFINES

INFORME TÉCNICO, FICHA DE ESTABILIDAD, INFORMACIÓN NUTRICIONAL PARA NOTIFICACION SANITARIA

Análisis físico, químico, microbiológico, entomológico de: alimentos, aguas, bebidas, materias primas, balanceados, cosméticos, pesticidas, suelos, metales pesados y otros
 Fco. Andrade Marín E7-29 y Diego de Almagro Telf.: 2563-225 / 2561-350 / 3238-503/ 3238-504 Cel.: 099 959 0412 / 099 944 2153 / 098 700 1591
 E-mails: secretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec / cecilia.luzuriaga@labolab.com.ec / informes@labolab.com.ec

www.labolab.com.ec

Quito - Ecuador

Anexo 9 Resultado validación del producto

LABOLAB

ANÁLISIS DE ALIMENTOS, AGUAS Y AFINES
INFORME DE RESULTADOS

Orden de trabajo N° 181123
Hoja 2 de 2

NOMBRE DEL CLIENTE: Cristian Huertas
DIRECCIÓN: Latacunga
FECHA DE RECEPCION: 20 de febrero del 2018
MUESTRA: Gel antibacterial
DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Gel turbio
ENVASE: Polietileno
FECHA ELABORACION: 19 de febrero del 2018
FECHA VENCIMIENTO: 19 de febrero del 2020
LOTE: ---
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 21- 27 de febrero del 2018
REFERENCIA: 181123
MUESTREADO: Por cliente
CONDICIONES AMBIENTALES: 23.5C 48HR

VALIDACIÓN:

DOSIS		Directo					
		TIEMPO / min				RESULTADO	
		1	2	5	10		
CEPAS ATCC	<i>Escherichia coli</i>	25922	NC	NC	NC	NC	Cumple
	<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	C	C	C	C	No cumple
	<i>Candida albicans</i>	10231	C	C	NC	NC	Cumple a partir de los 5 min
	<i>Proteus mirabilis</i>	12453	C	NC	NC	NC	Cumple a partir de los 2 min
	<i>Salmonella typhimurium</i>	14028	C	C	NC	NC	Cumple a partir de los 5 min

NC: NO Crecimiento C: Crecimiento

Cecilia Luzuriaga S
Dra. Cecilia Luzuriaga
 GERENTE GENERAL

El presente informe es válido sólo para la muestra analizada.
 Este informe no debe reproducirse más que en su totalidad previa autorización escrita de LABOLAB.

INFORME TÉCNICO, FICHA DE ESTABILIDAD, INFORMACIÓN NUTRICIONAL PARA NOTIFICACION SANITARIA

Análisis físico, químico, microbiológico, entomológico de: alimentos, aguas, bebidas, materias primas, balanceados, cosméticos, pesticidas, suelos, metales pesados y otros
 Fco. Andrade Marín E7-29 y Diego de Almagro Telf.: 2563-225 / 2561-350 / 3238-503/ 3238-504 Cel.: 099 959 0412 / 099 944 2153 / 098 700 1591
 E-mails: sucretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec / ceciliacruzuriaga@labolab.com.ec / informes@labolab.com.ec

www.labolab.com.ec

Quito - Ecuador

Anexo 10 Tabla de cálculo de % de Humedad Replica I

Peso Peso

Tratamiento	Temperatura	Inicial (g)	Final (g)	% Humedad	% Perdida	Agua
T1	35	80,56	22,92	28,45	71,55	
T2	35	80,34	23,13	28,79	71,21	
T3	35	80,23	23,01	28,68	71,32	
T4	35	80,34	22,92	28,53	71,47	
T5	35	80,22	23,13	28,83	71,17	
T6	35	80,23	21,01	26,19	73,81	
T7	45	80,45	21,23	26,39	73,61	
T8	45	80,23	22,34	27,84	72,16	
T9	45	80,34	21,04	26,19	73,81	
T10	45	80,53	22,23	27,60	72,40	
T11	45	80,23	22,14	27,60	72,40	
T12	45	80,45	21,04	26,15	73,85	
T13	55	80,32	20,54	25,57	74,43	
T14	55	80,22	21,12	26,33	73,67	
T15	55	80,55	20,23	25,11	74,89	
T16	55	80,67	20,54	25,46	74,54	
T17	55	80,12	21,12	26,36	73,64	
T18	55	80,23	21,02	26,20	73,80	

Fuente. Los autores (Gabriel S. y Cristian H; 2018)

Anexo 11 Tabla de cálculo de % de Humedad Replica II

Tratamiento	Temperatura	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	% Humedad	% Perdida	Agua
T1	35	80,56	22,23	27,59	72,41	
T2	35	80,34	22,22	27,66	72,34	
T3	35	80,23	22,02	27,45	72,55	
T4	35	80,34	22,45	27,94	72,06	
T5	35	80,22	22,24	27,72	72,28	
T6	35	80,23	22,89	28,53	71,47	
T7	45	80,45	21,02	26,13	73,87	
T8	45	80,23	21,45	26,74	73,26	
T9	45	80,34	22,98	28,60	71,40	
T10	45	80,53	22,45	27,88	72,12	
T11	45	80,23	22,32	27,82	72,18	
T12	45	80,45	21,22	26,38	73,62	
T13	55	80,32	21,34	26,57	73,43	
T14	55	80,22	20,02	24,96	75,04	
T15	55	80,55	20,34	25,25	74,75	
T16	55	80,67	20,23	25,08	74,92	
T17	55	80,12	20,34	25,39	74,61	
T18	55	80,23	20,34	25,35	74,65	

Fuente. Los autores (Gabriel S. y Cristian H; 2018)

Anexo 12 Aval de traducción

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 de proyecto de investigación al Idioma Inglés presentado por los Señores de la Carrera de Ingeniería Agroindustrial **Cristian Alexander Huertas Borja y Gabriel Fabricio Sandoval Pachacama**, cuyo título versa **"EVALUACIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE ALCALOIDES DE LAS HOJAS DEL CHOCHO (*LUPINUS MUTABILIS SWEET*) Y SU IMPLEMENTACIÓN PARA LA ELABORACIÓN DE UN GEL ANTIBACTERIANO DE USO ASÉPTICO"**, lo realizó bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical.

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

Latacunga, Marzo del 2018.



.....
Lic. Bolívar Maximiliano Cevallos Galarza

C.I. 0910821669

DOCENTE C.I. U.T.C.

Anexo 13 Hoja de vida Docente Tutora

DATOS PERSONALES

APELLIDOS: Arias Palma

NOMBRES: Gabriela Beatriz

ESTADO CIVIL: Casada

CEBULA DE CIUDADANIA: 1714592746

LUGAR Y FECHA DE NACIMIENTO: Quito, 3 de Junio de 1983

DIRECCION DOMICILIARIA: Cda. Tiobamba, Pansericoma sur km 3,3

TELEFONO CELULAR: 094709462

CORREO ELECTRONICO: gabriela.arias@utec.edu.ec



ESTUDIOS REALIZADOS Y TITULOS OBTENIDOS

NIVEL	TITULO OBTENIDO	FECHA DE REGISTRO EN EL SENESCYT	CODIGO DEL REGISTRO SENESCYT
TERCER	INGENIERA AGROINDUSTRIAL	26-05-2009	1001-09-919392
CUARTO	DIPLOMADO SUPERIOR EN GESTIÓN PARA EL APRENDIZAJE UNIVERSITARIO	31-05-2012	1004-12-750086
CUARTO	MAESTRÍA EN INGENIERÍA INDUSTRIAL Y PRODUCTIVIDAD	31-10-2016	1001-2016-1756024

HISTORIAL PROFESIONAL

FACULTAD EN LA QUE LABORA: Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

CARRERA A LA QUE PERTENECE: Ingeniería Agroindustrial

AREA DEL CONOCIMIENTO EN LA CUAL SE DESEMPEÑA: Ingeniería, industria y construcción; industria y producción.

PERIODO ACADÉMICO DE INGRESO A LA UIC: Octubre 2009 - Marzo 2010

Firma: _____

C.I. 171459274-6

Anexo 14 Hoja de vida investigador (Cristian Huertas)

DATOS PERSONALES

APELLIDOS: Huertas Borja

NOMBRES: Cristian Huertas

ESTADO CIVIL: Soltero

CEDULA DE CIUDADANIA: 0503147803

LUGAR Y FECHA DE NACIMIENTO: Latacunga, 07 de Diciembre de 1993

DIRECCIÓN DOMICILIARIA: Calle Quito y Gabriela Mistral Casa N°21

TELEFONO CELULAR: 0997679406

CORREO ELECTRÓNICO: crishuertas2011@hotmail.com



ESTUDIOS REALIZADOS

Año: 1999-2006	Título de Educación Primaria
Latacunga-Ecuador	Unidad Educativa FAE N°5
Inicio Año: 2006-2012	Título "Químico Biólogo"
Latacunga-Ecuador	Unidad Educativa "Jean Piaget"
Inicio Año: 2012-actual	Título "Ingeniería Agroindustrial" (9 ^{mo} Ciclo)
Latacunga-Ecuador	Universidad Técnica de Cotopaxi
Programas manejados: Word, Excel, Power Point, Mítad, Photoshop Editor CS6	

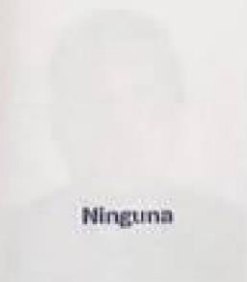
IDIOMAS

Español: Natal

Inglés: Medio

EXPERIENCIA LABORAL

Ninguna



Ninguna

REFERENCIAS LABORALES

FORMACIONES ADICIONALES

- Reología Aplicada al Ámbito Alimentario
- I Seminario Internacional de Elaboración de Cerveza Artesanal 2016
- I Seminario de Inocuidad de Alimentos Agroindustriales 2017

Cristian Alexander Huertas Boja

C.I. 0503147803

Anexo 15 Hoja de vida investigador (Gabriel Sandoval)



Gabriel Fabricio Sandoval Pachacama
 22 años
 Cotacachi "La Libertad", Calle Calacuchima, Sangolquí - Ecuador
 CI: 172281302-8
 Tel: 0987513888
 E-mail: gabriel.sandoval@ulb.edu.ec

ESTUDIOS

Año: 2000
 Sangolquí-Ecuador

Título de Educación Primaria
 Escuela Fiscal Mista Carlos Larco

Año: 2006
 Sangolquí-Ecuador

Título "Técnico en Agropecuaria"
 Escuela Fiscal Mista Carlos Larco

Año: 2012
 Sangolquí-Ecuador

Título "Ingeniería Agroindustrial" (Cursando 9^º Ciclo)
 Escuela Fiscal Mista Carlos Larco

Programas manejados: Word, Excel, Power Point, Matlab, Photoshop Editor CS6, Adobe Audition CS6.

IDIOMAS

Español: Natal
 Inglés: Medio

EXPERIENCIA LABORAL

Ninguna

REFERENCIAS LABORALES

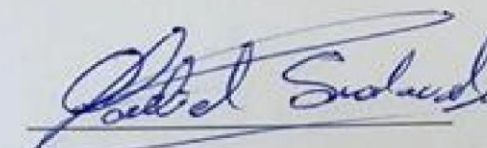
REFERENCIAS PERSONALES

Edwin Víctor Sandoval Checa
 Padre (Sangolquí-Ecuador)
 Chofer Profesional
 0987883417

Edison Martín Sandoval Checa
Tío (Conocoto-Ecuador)
Comunicador Social
0998960785

FORMACIONES ADICIONALES

- Beca Al Mérito Académico
- Reología Aplicada al Ámbito Alimentario
- I Seminario de Inocuidad de Alimentos Agroindustriales 2017



Gabriel Fabricio Sandoval Pachacama

C.I. 1722813928