



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE CUENCA
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS
RECURSOS NATURALES

“EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS
ALCOHÓLICO Y ACUOSO DEL SHILPALPAL (*Valeriana tomentosa* Kunth) FRENTE
AL ÁCIDO ASCÓRBICO MEDIANTE TÉCNICAS DE LABORATORIO PARA SU
RECOMENDACIÓN COMO USO MEDICINAL”

Trabajo de titulación previo a la obtención del
título de Ingeniera en Biotecnología de los Recursos Naturales

AUTORA: ARACELY ROSARIO CABRERA BARZALLO

TUTORA: DRA. MYRIAM XIMENA MANCHENO CÁRDENAS, MGTR.

Cuenca - Ecuador

2022

CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Aracely Rosario Cabrera Barzallo con documento de identificación N° 1104999428, manifiesto que:

Soy la autora del presente trabajo; y, autorizo a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Cuenca, 28 de octubre del 2022.

Atentamente,



Aracely Rosario Cabrera Barzallo
1104999428

CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

Yo, Aracely Rosario Cabrera Barzallo con documento de identificación N° 1104999428, expreso mi voluntad y por medio del presente documento cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del Trabajo experimental: “Evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos alcohólico y acuoso del Shilpalpal (*Valeriana tomentosa* Kunth) frente al ácido ascórbico mediante técnicas de laboratorio para su recomendación como uso medicinal”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribo este documento en el momento que hago la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 28 de octubre del 2022.

Atentamente,



Aracely Rosario Cabrera Barzallo

1104999428

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Myriam Ximena Mancheno Cárdenas con documento de identificación N° 0602018160, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: “EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICO Y ACUOSO DEL SHILPALPAL (*Valeriana tomentosa* Kunth) FRENTE AL ÁCIDO ASCÓRBICO MEDIANTE TÉCNICAS DE LABORATORIO PARA SU RECOMENDACIÓN COMO USO MEDICINAL”, realizado por Aracely Rosario Cabrera Barzallo con documento de identificación N° 1104999428, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 28 de octubre del 2022

Atentamente,



Dra. Myriam Ximena Mancheno Cárdenas, Mgtr.

0602018160

DEDICATORIA

Primeramente quiero dedicarle este trabajo a Dios quien ha sido mi guía, apoyo y pilar fundamental para seguir adelante con empeño y valor.

A mis padres Segundo Cabrera y Gloria Barzallo por su apoyo y amor incondicional, quienes no dudaron ni un instante en brindarme sus palabras de aliento y motivación para alcanzar mis metas. Son mi fortaleza, mi roca para avanzar día a día ya que gracias a los valores y enseñanzas de vida que me han dado puedo seguir avanzando hacia mis sueños.

A mis hermanos Edmita, Hernán, Diana y Guisella que con sus bromas y abrazos de aliento alegraron mis días y nunca me han abandonado en los momentos más difíciles, enseñándome que cuando estamos juntos es cuando más brilla el sol.

A mis sobrinos Francisco, Ángela, Emily y Tabita que llegaron alegrar mi vida pintando sonrisas todos los días.

A mi mejor amiga Yeimi Lituma que con su apoyo y palabras de aliento me ayudo a seguir adelante, quien no dudó ni un instante en brindarme su amistad en los momentos difíciles, permitiéndome ser cada vez más fuerte.

A todos ustedes les dedico este gran logro y los amo mucho.

Aracely Rosario Cabrera Barzallo

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a Dios por acompañarme en el camino de esta meta cumplida.

A mis padres que me guiaron por el camino correcto para que este sueño se haga realidad, porque nunca me abandonaron y alentaron a seguir adelante.

A mis hermanos, sobrinos y cuñados por alegrar mis días haciendo que los problemas se minimicen tanto que ya no eran un obstáculo, por su apoyo en todo momento y ser parte de este gran logro en mi vida.

A todos los docentes de la carrera pero en especial a la Dra. Inés Malo, Dra. Myriam Mancheno, Ing. Jhison Romero y al Ing. Hernán Avilés que me guiaron, dedicaron su tiempo en mi enseñanza, perfeccionando mis conocimientos y mi formación como persona, inspirándome a llegar cada vez más alto, agradezco a Dios porque los hizo formar parte de mi vida.

A la Bqf. Silvia por su guía y por toda la paciencia que tuvo conmigo, gracias por la perseverancia para culminar la investigación, alentándome a no rendirme.

A mis amigas Yiemi y Jessica que nunca me dejaron sola, brindándome su apoyo en todo momento de dificultad, enseñándome a ser mejor persona y motivándome a seguir mis sueños.

A mi amigo Pablo Buele con el que compartí muchas risas alegrando mi vida, por escucharme y tener las palabras exactas en momentos que lo necesitaba.

A mi amigo Pablo Orellana quien siempre estuvo a mi lado haciéndome sonreír, buscando lo agradable de todo, por su apoyo y por cuidarme.

¡A todos ustedes gracias!

Aracely Rosario Cabrera Barzallo

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	V
AGRADECIMIENTOS	VI
RESUMEN	16
ABSTRACT	17
CAPÍTULO I	
1.1 INTRODUCCIÓN	18
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	20
1.3 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	21
1.4 JUSTIFICACIÓN	21
1.5 LIMITACIONES	22
1.6 OBJETIVOS	22
1.6.1 Objetivo general	22
1.6.2 Objetivos específicos.....	22
1.7 HIPÓTESIS	22
CAPÍTULO II	
2 MARCO TEÓRICO	23
2.2 Shilpalpal o Chilpalpal (<i>Valeriana tomentosa</i> Kunth)	25
2.2.1 Características Internas del Shilpalpal (<i>Valeriana tomentosa</i> Kunth)	325
2.2.1.1 Identificación Microscópica	325
2.2.1.2 Cenizas totales	326
2.2.1.3 Cenizas insolubles en Ácido Clorhídrico	326
2.2.1.4 Humedad	327
2.2.1.5 Mohos y levaduras.....	327
2.2.1.6 Determinación de Coliformes Totales.....	328
2.2.1.7 Bacterias Aeróbicas Mesófilas	329
2.2.2 Características Etnomédicas	329
2.2.3 Taxonomía del Shilpalpal (<i>Valeriana tomentosa</i> Kunth)	32
2.3 Familia <i>Caprifoliaceae</i>	32
2.4 Género <i>Valeriana</i> L.	32
2.5 Marcha Fitoquímica	32
2.6 Extracción de Metabolitos	32

2.7 Maceración.....	33
2.8 Metabolitos Secundarios	33
2.8.1 Los Terpenos	34
2.8.2 Compuestos Fenólicos.....	34
2.8.3 Compuestos Nitrogenados.....	33
2.9 Radicales Libres	33
2.10 Capacidad Antioxidante	36
2.11 Folin-Ciocalteu.....	36
2.12 Actividad antioxidante del género <i>Valeriana</i> L.	33
2.13 Actividad antioxidante del Sauco.....	33

CAPÍTULO III

3.1 NIVEL DE INVESTIGACIÓN.....	38
3.2 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	38
3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA.....	38
3.4 VARIABLES.....	38
3.5 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	38
3.6 TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS.....	39
3.7 PROCEDIMIENTO.....	39
3.7.1 Fase 1: Recolección de la materia prima.....	39
3.7.1.1 Toma de la muestra de Shilpalpal (<i>Valeriana tomentosa</i> Kunth)	39
3.7.1.2 Tratamiento de la muestra vegetal.....	39
3.7.2 Fase 2: Pretratamiento de la muestra vegetal	44
3.7.2.1 Acondicionamiento de la muestra vegetal.....	44
3.7.2.2 Preparación de los extractos	44
3.7.3 Fase 3: Caracterización.....	44
3.7.4 Fase 4: Cuantificación de Fenoles	44
3.7.4.1 Curva de Calibración.....	44
3.7.4.2 Folin-Ciocalteu	45
3.7.4.3 Carbonato de Sodio al 20%.....	45
3.7.4.4 Preparación de viales Curva de calibración.....	46
3.7.4.5 Análisis de los extractos	46
3.7.4.6 Preparación de viales Extractos.....	47

3.7.5 Fase 5: Capacidad Antioxidante	47
3.7.5.1 Curva de Calibración.....	44
3.7.5.2 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)	44
3.7.5.3 Ácido Ascórbico	44
3.7.5.4 Preparación de las soluciones para la curva de calibración.....	44
3.7.5.5 Análisis de los Extractos	48
3.7.5.6 Fase 6: Humedad	44
 CAPÍTULO IV	
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	51
4.1 Caracterización cualitativa del Shilpalpal	51
4.2 Comparación de metabolitos secundarios	51
4.3 Determinación Humedad.....	51
4.4 Cuantificación de Fenoles	51
4.5 Capacidad Antioxidante	51
 CAPÍTULO V	
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	62
5.1 Conclusiones	62
5.2 Recomendaciones	63
REFERENCIAS	64
ANEXOS	70

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cenizas totales en el Shilpalpal.....	26
Tabla 2. Cenizas insolubles en Ácido Clorhídrico del Shilpalpal.....	26
Tabla 3. Humedad del Shilpalpal.....	27
Tabla 4. Mohos y levaduras.....	28
Tabla 5. Coliformes totales.....	28
Tabla 6. Bacterias Aeróbicas Mesófilas.....	29
Tabla 7. Clasificación taxonómica del Shilpalpal (<i>Valeriana tomentosa</i> Kunth).....	30
Tabla 8. Metabolitos secundarios del Sauco (<i>Sambucus nigra</i>).....	31
Tabla 9. Metabolitos secundarios de la <i>Valeriana</i> L.....	32
Tabla 10. Actividad antioxidante de la <i>Valeriana</i> L.....	37
Tabla 11. Actividad antioxidante del Sauco (<i>Sambucus nigra</i>).....	37
Tabla 12. Dilución de Folin-Ciocalteu.....	45
Tabla 13. Solución de Carbonato de Sodio al 20%.....	45
Tabla 14. Solución madre del Ácido Gálico 1000 ppm.....	45
Tabla 15. Diluciones del Ácido Gálico.....	46
Tabla 16. Preparación de viales.....	46
Tabla 17. Preparación de viales con los extractos.....	47
Tabla18. Preparación del DPPH.....	48
Tabla 19. Solución del Ácido Ascórbico a 1000 ppm.....	48
Tabla 20. Preparación de viales para la curva de calibración.....	48
Tabla 21. Capacidad antioxidante del extracto acuoso.....	49
Tabla 22. Capacidad antioxidante del extracto alcohólico.....	49
Tabla 23. Marcha fitoquímica del extracto acuoso del Shilpalpal.....	51

Tabla 24. Marcha fitoquímica del extracto alcohólico con materia prima no procesada.....	52
Tabla 25. Marcha fitoquímica del extracto alcohólico con materia prima procesada.....	53
Tabla 26. Comparación de los metabolitos secundarios del Shilpalpal contra el Sauco y la Valeriana.....	54
Tabla 27. Comparación de la Humedad del Shilpalpal.....	55
Tabla 28. Cuantificación de fenoles del extracto acuoso macerado concentrado.....	56
Tabla 29. Cuantificación de fenoles del extracto alcohólico macerado concentrado.....	57
Tabla 30. Cuantificación de fenoles del extracto acuoso con HCl al 0,01% diluido.....	57
Tabla 31. Cuantificación de fenoles del extracto hidroalcohólico diluido.....	57
Tabla 32. Capacidad antioxidante del Ácido Ascórbico.....	58
Tabla 33. Capacidad antioxidante del extracto acuoso con Ácido Clorhídrico al 0,01% diluido.....	59
Tabla 34. Capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico diluido.....	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Pelos estrellados, simples secretores unicelulares y estomas anisocíticos	25
Figura 2. Shilpalpal (<i>Valeriana tomentosa</i> Kunth).....	39
Figura 3. Materia vegetal seca y triturada	40
Figura 4. Extracto alcohólico en el rotavapor.....	41
Figura 5. Extractos alcohólicos (materia vegetal procesada y no procesada) y acuoso.....	41
Figura 6. Extracto hidroalcohólico luego de la centrifuga.....	42
Figura 7. Extracto acuoso después de la centrifuga.....	42
Figura 8. Diluciones para la curva de calibración.....	44
Figura 9. Capacidad antioxidante.....	47
Figura 10. Recolección de materia prima.....	72
Figura 11. Selección de la materia prima.....	73
Figura 12. Lavado y secado de la materia prima.....	73
Figura 13. Colocar en bandejas de aluminio la materia prima y llevarlas a la estufa.....	74
Figura 14. Colocar la materia prima en bandejas de aluminio para llevarlas a la estufa a una temperatura de 40 °C.....	74
Figura 15. Materia prima seca, una vez haya transcurrido el tiempo de secado.....	75
Figura 16. Triturado de las hojas para realizar los extractos acuoso y alcohólico.....	75
Figura 17. Picado de las hojas frescas para el extracto.....	76
Figura 18. Extracto alcohólico de materia prima no procesada.....	76
Figura 19. Extracto alcohólico con materia prima procesada.....	77
Figura 20. Extracto acuoso con materia prima procesada.....	77
Figura 21. En tubos Falcon preparar las soluciones hidroalcohólicas y el acuoso con HCl al 0,01%.....	78
Figura 22. Filtrado de los extractos alcohólicos y acuoso.....	78

Figura 23. Extracción de alcohol en el rotavapor.....	79
Figura 24. Extracto acuoso, alcohólico de materia prima procesada y no procesada.....	80
Figura 25. Llevar los tubos Falcon a la centrifuga a 7500 rpm por 30 minutos.....	80
Figura 26. Filtrar el sobrenadante de los extractos y colocarlos en un frasco ámbar.....	81
Figura 27. Preparación de las diluciones del Ácido Gálico.....	81
Figura 28. Colocar las diluciones en viales ámbar y dejar en el roto mix por 30 minutos.....	82
Figura 29. Diluciones de los extractos.....	82
Figura 30. Preparación de la solución de DPPH.....	83
Figura 31. Corrida de las muestras del Ácido Gálico.....	83
Figura 32. Corrida de los extractos.....	84
Figura 33. Colocar las hojas de Shilpalpal en el halógeno.....	84
Figura 34. Dejar las hojas en el halógeno por 30 min.....	85
Figura 35. Azúcares.....	85
Figura 36. Carbohidratos.....	86
Figura 37. Cumarinas.....	86
Figura 38. Taninos.....	87
Figura 39. Saponinas.....	87
Figura 40. Flavonoides.....	88
Figura 41. Alcaloides Dragendorf / Mayer.....	88
Figura 42. Lípidos.....	89
Figura 43. Almidón.....	89

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfica 1: Capacidad Antioxidante del Ácido Ascórbico y los extractos acuoso e hidroalcohólico.....	61
Gráfica 2: Comparación de metabolitos secundarios presentes en el Shilpalpal contra el Sauco (<i>Caprifoliaceae</i>) y Valeriana (<i>Valeriana L.</i>).....	70
Gráfica 3: Comparación de la humedad obtenida (Autora) contra la humedad obtenida por Guillen y Sarmiento.....	70
Gráfica 4: Comparación de las cantidades de fenoles obtenidos en los diferentes extractos.....	71
Gráfica 5: Comparación de los resultados de la capacidad antioxidante contra el Sauco y Valeriana.....	71

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Metabolitos secundarios del Shilpalpal.....	70
Anexo 2. Humedad del Shilpalpal.....	70
Anexo 3. Fenoles del Shilpalpal.....	71
Anexo 4. Capacidad antioxidante.....	71
Anexo 5. Selección y secado de la materia prima.....	72
Anexo 6. Secado en la estufa y triturado de las hojas de Shilpalpal.....	74
Anexo 7. Preparación de los extractos acuoso y alcohólico.....	75
Anexo 8. Purificación de los extractos alcohólicos y acuoso.....	78
Anexo 9. Cuantificación de fenoles.....	81
Anexo 10. Capacidad antioxidante.....	83
Anexo 11. Humedad.....	84
Anexo 12. Marcha Fitoquímica.....	85

RESUMEN

La medicina ancestral en los países Sudamericanos es muy utilizada por su población tanto urbana como rural, ya sea para tratar enfermedades leves «dolor de estómago, indigestión, inflamaciones, problemas en la piel, etc.» como enfermedades con un grado más de complejidad «torceduras, fracturas, infecciones», a lo largo de los años el uso de estas plantas ha aumentado es por esto que se ve la necesidad de estudiar con más profundidad las plantas en el Ecuador, ya que al ser un país mega diverso no cuenta con los estudios necesarios a todas las especies en el país siendo esta una desventaja para el descubrimiento de nuevas especies y para la elaboración de nuevos usos en la industria. Debido a esto el objetivo de esta investigación es la de indagar que metabolitos secundarios están presentes en la especie y la capacidad antioxidante de la planta de Shilpalpal «*Valeriana tomentosa* Kunth» envista de que carece de estudios fitoquímicos, por esto se realizó extractos acuosos y alcohólicos para realizar las pruebas pertinentes de metabolitos secundarios y capacidad antioxidante. Los principios activos encontrados en los extractos son: carbohidratos, azúcares, cumarinas, taninos, saponinas, alcaloides, lípidos, almidón, flavonoides y fenoles, en el extracto alcohólico hay mayor concentración de metabolitos secundarios por el contrario en el acuoso hay ausencia de alcaloides. En cuanto a la capacidad antioxidante presentó un alto porcentaje el extracto alcohólico con un 71,74% y en el acuoso el 35,55%, obteniendo como resultado que se recomienda al Shilpalpal «*Valeriana tomentosa* Kunth» como un posible uso en la industria por su alto porcentaje de actividad antioxidante y por su elevado contenido de fenoles.

Palabras clave: *Valeriana tomentosa* Kunth, marcha fitoquímica, metabolitos secundarios, capacidad antioxidante.

ABSTRACT

Ancestral medicine in South American countries is widely used by its urban and rural population, whether to treat minor illnesses "stomach pain, indigestion, inflammation, skin problems, etc." as diseases with a higher degree of complexity «sprains, fractures, infections», over the years the use of these plants has increased, which is why there is a need to study the plants in Ecuador in greater depth, since Being a mega-diverse country, it does not have the necessary studies for all the species in the country, this being a disadvantage for the discovery of new species and for the development of new uses in the industry. Due to this, the objective of this research is to investigate which secondary metabolites are present in the species and the antioxidant capacity of the Shilpalpal plant «*Valeriana tomentosa* Kunth» in view of the lack of phytochemical studies, for this reason aqueous and alcoholic extracts were made. to carry out the pertinent tests of secondary metabolites and antioxidant capacity. The active principles found in the extracts are: carbohydrates, sugars, coumarins, tannins, saponins, alkaloids, lipids, starch, flavonoids and phenols, in the alcoholic extract there is a higher concentration of secondary metabolites, on the contrary in the aqueous one there is an absence of alkaloids. Regarding the antioxidant capacity, the alcoholic extract presented a high percentage with 71,74% and the aqueous extract with 35,55%, obtaining as a result that the Shilpalpal «*Valeriana tomentosa* Kunth» is recommended as a possible use in the industry due to its high percentage of antioxidant activity and its high content of phenols.

Keywords: *Valeriana tomentosa* Kunth, phytochemical march, secondary metabolites, antioxidant capacity.

CAPÍTULO I

1.1 INTRODUCCIÓN

Desde hace décadas el Ecuador se vio en la necesidad de estudiar con profundidad la biodiversidad de su flora para explotarla en beneficio de la comunidad, mejorando su salud, ya que cuenta con el 10% de las especies de plantas en el mundo. Al sur de Ecuador en las regiones de la Amazonía, Andes y bosque seco abarca una de las vegetaciones más ricas y diversas del país gracias a los factores geológicos y ambientales, por todo lo mencionado anteriormente se incrementó el interés de investigar las plantas medicinales existentes en el Ecuador para descubrir y aislar sustancias nuevas direccionadas hacia el tratamiento de enfermedades con la finalidad de mejorar la calidad de vida de las poblaciones. En los países subdesarrollados el uso terapéutico de plantas medicinales por la sociedad es del 80%, teniendo como objetivos fundamentales el descubrir los principios activos y la comprobación terapéutica para su empleo (Mendoza, 2015).

La medicina alternativa es un conglomerado de aptitudes, competencia y experiencias ancestrales utilizadas para procurar una amplia variedad de enfermedades y dolencias mentales y físicas, pero después de la llegada de los fármacos esta medicina estuvo en riesgo, sin embargo; es deber de la sociedad que sepa complementar la medicina ancestral con la convencional (Porrás, 2022).

Esta medicina examina a la persona como un todo fusionado por lo espiritual, emocional y físico, por lo que se considera a la enfermedad como un desequilibrio en la integridad del individuo, basándose en la bioindividualidad (Raele, 2019).

La fitoquímica estudia los metabolitos secundarios, compuestos químicos, presentes en las plantas de forma natural, estas van a varias según su familia, género y especie, la

metodología a utilizar dependerá de los estudios a los que se someta la planta (Hernández *et al.*; Marcano y Hasegawa, 2002).

La medicina convencional es de altos costos y es por esta razón que las poblaciones recurren a plantas medicinales para aliviar cualquier tipo de dolencias presentes en la persona, debido a ello se abordan investigaciones de las diferentes especies con el fin de conglomerar conocimientos acerca de los compuestos presentes en la diversidad de la flora del Ecuador, ya que hay muchas especies que cuentan con principios activos potenciales para la elaboración de productos medicinales. Debido a ello el objetivo de la presente investigación radica en la sustentación científica de las propiedades medicinales atribuidas a los metabolitos secundarios y capacidad antioxidante del Shilpalpal «*Valeriana tomentosa* Kunth» desconocidos actualmente, para recomendaciones medicinales.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

La eficiencia farmacológica de una planta se debe a la presencia de uno o más componentes químicos activos que se localizan en el tejido de ésta, los metabolitos secundarios son elementos que desempeñan un papel importante en la subsistencia de la planta ya que actúan como instrumentos de defensa contra insectos depredadores.

El análisis de la capacidad antioxidante en las plantas alimenticias y medicinales ha aumentado en los últimos años puesto que se extraen productos tales como alcaloides, aceites esenciales y polifenoles los cuales son comprobados por medio de diversos ensayos *in vitro* e *in vivo*. Su valor investigativo es debido a los antioxidantes que la componen puesto que postergan o inhiben la propagación de las reacciones en cadena de radicales libres (Rivaz *et al.*, 2016).

En investigaciones anteriores destacan las propiedades medicinales ancestrales del Shilpalpal «*Valeriana tomentosa* Kunth» las cuales son benéficas contra la gastritis, úlceras, relajante, analgésico «dolor de garganta», parásitos, dolor de estómago, infecciones y cicatrizante (Vega, 2014; Sánchez y Torres, 2020; Andrade *et al.*, 2014; Cerón, 2006).

Según Guillen y Sarmiento (2011), en previas investigaciones del Shilpalpal «*Valeriana tomentosa* Kunth» radican con respecto a su examinación macroscópica y microscópica, cenizas totales, cenizas insolubles en Ácido Clorhídrico, determinación de humedad y microbiológica «Mohos, levaduras, coliformes totales, bacterias aerobias mesófilas».

Evidenciando su carencia de indagación con respecto a sus metabolitos secundarios y comparación de la capacidad antioxidante de los extractos alcohólicos y acuoso contra el ácido ascórbico, para corroborar mediante estudios el uso empírico del Shilpalpal «*Valeriana tomentosa* Kunth» en las comunidades.

1.3 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál de los dos extractos alcohólico y acuoso del Shilpalpal «*Valeriana tomentosa* Kunth» posee mayor capacidad antioxidante frente al ácido ascórbico?

1.4 JUSTIFICACIÓN

La indagación de nuevas plantas con propiedades antioxidantes ha aumentado formidablemente en el transcurso de los últimos cinco años, debido a que los antioxidantes tienen la posibilidad de neutralizar los radicales libres contribuyendo a evitar enfermedades cerebrovasculares, cardiovasculares, cáncer, aterosclerosis, artritis, diabetes y demás enfermedades. En la industria alimenticia se utilizan los antioxidantes para aminorar la tasa de oxidación de los productos, prolongando su vida de anaquel (Behar *et al.*, 2021).

La migración de las zonas rurales a la ciudad, la falta de estudios a gran escala y la escasa documentación disponible pone en peligro los saberes ancestrales acerca del uso potencial de las especies vegetales que están en la región Andina. Al norte de Sudamérica hay escasez de documentos que respalden el óptimo uso de plantas medicinales, a gran escala no hay estudios que indiquen patrones, los proyectos locales ocasionalmente son fragmentados y con cortos periodos de tiempo, confirmando que este fenómeno de la migración de las comunidades rurales hacia las zonas urbanas podría generar alteraciones en el uso de plantas medicinales y con ello disipar la posibilidad de estudios más profundos de la flora ecuatoriana (UNAL, 2021).

Por ello esta investigación radica en la importancia del estudio a profundidad de la biodiversidad que existe en el país mediante un análisis de los metabolitos secundarios y la evaluación antioxidante del Shilpalpal «*Valeriana tomentosa* Kunth» a través de la comparación con un compuesto sintético, ya que es una planta endémica de la región Andina.

1.5 LIMITACIONES

Las limitaciones del presente trabajo de investigación fueron el tiempo, disponibilidad de los laboratorios y equipos de la Universidad Politécnica Salesiana.

1.6 OBJETIVOS

1.6.1 Objetivo general

Evaluar la capacidad antioxidante de los extractos alcohólico y acuoso del Shilpalpal «*Valeriana tomentosa* Kunth» frente al ácido ascórbico mediante técnicas de laboratorio para su recomendación como uso medicinal.

1.6.2 Objetivos específicos

- Caracterizar de manera cualitativa los extractos acuoso y alcohólico del Shilpalpal «*Valeriana tomentosa* Kunth» para la identificación de los metabolitos presentes mediante pruebas fisicoquímicas.
- Determinar la capacidad antioxidante de los extractos alcohólico y acuoso del Shilpalpal «*Valeriana tomentosa* Kunth» y del ácido ascórbico mediante metodología DPPH-2,2-difenil-1-picril hidrazilo-, para un posible uso de los extractos como materia prima en la industria.
- Evaluar el nivel de la capacidad antioxidante de los extractos alcohólico y acuoso del Shilpalpal «*Valeriana tomentosa* Kunth» en relación al ácido ascórbico a través de un análisis estadístico para determinar los niveles de capacidad antioxidante de la planta.

1.7 HIPÓTESIS

Si uno de los extractos alcohólico y acuoso del Shilpalpal «*Valeriana tomentosa* Kunth» poseen mayor capacidad antioxidante que el ácido ascórbico se recomendaría como uso medicinal.

CAPÍTULO II

2 MARCO TEÓRICO

Los Andes se localiza en la zona neotropical, distinguida por su variedad de hábitats, destacando por su diversidad de medios naturales con exuberantes climas, haciendo de América del Sur un lugar megadiverso y predilecto por diferentes especies de animales y plantas. En el Ecuador son escasas las investigaciones realizadas a especies vegetales comercializadas en los mercados ecuatorianos con propiedades medicinales, en Quito se publicaron las investigaciones de Ortega (1988), fundamentado en encuestas y no con muestras botánicas herborizadas y plantas medicinales expandidas en mercados, White (1982), sin la imprescindible colección de plantas con su consecuente herborización, Cerón y Montalvo (1994) Jornadas Ecuatorianas de Biología en el mercado de Riobamba Cerón y Reina (1996) plantas medicinales del mercado de Ibarra, (Naranjo, 2003). Sin embargo, se desconoce la existencia de estudios realizados a las plantas medicinales a profundidad (Sillo, 2010). El empleo de las diferentes especies depende de la costumbre familiar, saber ancestral, la disponibilidad de recursos económicos y el lugar en el que se desarrolle por la variabilidad de flora existente. Las plantas son utilizadas en infusión para beber, baños, fomentos, lavados oculares y para lavar heridas (Inga y Zavala, 2020).

La Organización Mundial de la Salud ha determinado que entre 2014 y 2023, la medicina tradicional se enfocará en explorar medicinas complementarias y alternativas en el cuidado de la salud y procurar el uso seguro y efectivo, con el propósito de satisfacer o complementar las exigencias médicas, por lo que se aprueba el uso de plantas étnicas como medicina alternativa en el periodo de embarazo y lactancia (Inga y Zavala, 2020).

Cerca de 30000 variedades de plantas han sido utilizadas con fines medicinales en diferentes culturas alrededor del mundo, desde hace mucho tiempo en casi todas las culturas

estas hierbas han sido una fuente medicinal, ya que es tan arcaico como la humanidad obsoleto, el uso de medicamentos a base de hierbas como antídotos para procurar una buena salud se encuentra en libros tan antiguos como la Biblia y Veda, mismos que contienen los años de experiencia en pruebas y error de las propiedades medicinales de las plantas, pero con el progreso de la ciencia han retrocedido, pero en varios países sigue siendo la medicina más asequible (Inga y Zavala, 2020).

Según Abaúnza (2021), existen notables diferencias con respecto al uso de estas plantas entre campesinos, indígena y población urbana, los ciudadanos de las poblaciones urbanas utilizan las plantas medicinales para enfermedades infecciosas y parasitarias, mientras que los indígenas de acuerdo con sus saberes ancestrales lo emplean para casos de traumatismo y envenenamiento (UNAL, 2021).

A pesar de que la mayoría de los medicamentos se consiguen mediante síntesis química, gran parte de las principales formulaciones se basan en productos naturales, a nivel mundial el 44% de los medicamentos modernos se derivan de la naturaleza y en países industrializados el 25% de los fármacos provienen de plantas, en la producción farmacéutica el 11% son extractos naturales, el 24% son productos de procedencia natural, es decir, para sintetizar componentes usan precursores de origen natural y solamente el 9% son réplicas de estos elementos naturales (Espadero, 2018).

Los medicamentos compuestos a base de hierbas están hechos con insumos de origen vegetal, mismos que se exponen al desgaste y contaminación. Para el procesamiento y almacenaje de la materia prima se debe tener un control de calidad debido a la naturaleza y diversidad de los productos. En varios países han desarrollado regulaciones para determinar la calidad, seguridad y eficiencia de las plantas medicinales y por ello la Organización Mundial de la Salud «OMS» está trabajando para apoyar el desarrollo de prototipos de reglas en esta

área, lo que ha ayudado a aumentar el reconocimiento de su papel en la salud, la OMS ha incurrido en la rama de la calidad estableciendo los siguientes parámetros: propiedades botánicas, propiedades fitoquímicas, propiedades organolépticas, impurezas, caracterización microscópicas, extractos hidrosolubles, cenizas totales, metales pesados, materia extraíble, micotoxinas y plaguicidas (Lara *et al.*, 2020).

2.2 Shilpalpal o Chilpalpal (*Valeriana tomentosa* Kunth)

Es una planta medicinal de hábitat terrestre, flora de jalca con monte perenne bajo, es una hierba anual, flores blancas, arbusto leñoso que mide cerca de 1,5 a 2 m de largo, tallo de color café y liso, las hojas son simples y opuestas, el haz es de color verde oscuro y el envés verde claro, lanceolada de 4 a 5 cm de largo por 2 cm de ancho, peciolada con ápice en punta (Guillen y Sarmiento, 2011; *Field Museum of Natural History*, 1994).

2.2.1 Características Internas del Shilpalpal (*Valeriana tomentosa* Kunth)

2.2.1.1 Identificación Microscópica

Posee dos tipos de pelos que son: estrellados con varios brazos y secretores unicelulares simples, y estomas anisocíticos (Guillen y Sarmiento, 2011).

Figura 1: Pelos estrellados, simples secretores unicelulares y estomas anisocíticos



Fuente: Guillen y Sarmiento, (2011)

2.2.1.2 Cenizas totales

Depende de la diferencia de peso obtenida luego de la calcinación de la materia prima «planta» por esta razón la determinación de cenizas totales es un sustituto de este (Lara *et al.*, 2020).

Según Guillen y Sarmiento (2011), las cenizas totales encontradas en la planta de Shilpalpal están dentro de los parámetros establecidos por la Organización Mundial de la Salud,

Tabla 1.

Tabla 1: Cenizas totales en el Shilpalpal

Lugar de recolección	Promedio (%)	Límites Permitidos (%)
San Bartolomé	5,54	14
San Roque	7,18	14
Callasay	5,39	14
Checa	6,79	14
Chica Despensa	5,45	14
Total	6,07	14

Fuente: Elaborada por el Autor a partir de Guillen y Sarmiento, (2011)

2.2.1.3 Cenizas insolubles en Ácido Clorhídrico

Los porcentajes de cenizas insolubles en ácido clorhídrico están dentro de los parámetros establecidos por la OMS (Guillen y Sarmiento, 2011).

Tabla 2: Cenizas insolubles en ácido clorhídrico del Shilpalpal

Lugar de recolección	Promedio (%)	Límites Permitidos (%)
San Roque	0,90	2
Checa	0,71	2
Chica Despensa	0,58	2
San Bartolomé	0,57	2
Callasay	0,61	2
Total	0,67	2

Fuente: Elaborada por el Autor a partir de Guillen y Sarmiento, (2011)

2.2.1.4 Humedad

Es la diferencia de peso obtenida luego de elevar la temperatura de la estufa al colocar la muestra dejándola en un estado de desecación, el agua presente en las plantas crea condiciones para el acelerado desarrollo de hongos y microorganismos, que proliferan sustancias nocivas que contaminan y dañan a la planta (Lara *et al.*, 2020).

Ecuación

- Peso de la materia prima antes de la desecación (PMPAD)
- Peso de la materia prima después de la desecación (PMPDD)

$$H = \frac{PMDD \times 100}{PMAD}$$

(Lara *et al.*, 2020)

El porcentaje que se obtuvo está dentro de los estándares indicados por la OMS, esto implica que en el procedimiento de almacenado y secado de la materia prima «hojas de Shilpalpal» se realizó de forma correcta y con la asepsia adecuada (Guillen y Sarmiento, 2011).

Tabla 3: Humedad del Shilpalpal

Lugar de recolección	Promedio (%)	Límites Permitidos (%)
San Roque	6,60	12
Checa	7,15	12
Chica Despensa	6,81	12
San Bartolomé	6,63	12
Callasay	6,71	12
Total	6,78	12

Fuente: Elaborada por el Autor a partir de Guillen y Sarmiento, (2011)

2.2.1.5 Mohos y levaduras

Los valores obtenidos se encuentran en los límites estipulados por la Organización Mundial de la Salud, sirviendo de referencia de que las hojas de Shilpalpal están bien

seleccionadas, lavadas, secadas, almacenadas y que no se han expuesto a fuentes significativas de contaminación (Guillen y Sarmiento, 2011).

Tabla 4: Mohos y levaduras

Lugar de recolección	Promedio (UPC/g)	Límites Permitidos (UPC/g)
San Roque	92,5	<100
Checa	0	<100
Chica Despensa	0	<100
San Bartolomé	10	<100
Callasay	90	<100
Total	38,5	<100

Fuente: Elaborada por el Autor a partir de Guillen y Sarmiento, (2011)

2.2.1.6 Determinación de Coliformes Totales

En la determinación de coliformes totales los valores que arrojó el estudio de Guillen y Sarmiento están dentro de los estándares que establece la OMS, siendo nuevamente un indicativo de que la selección de materia prima, lavado, secado y almacenamiento de la materia prima es adecuada (Guillen y Sarmiento, 2011).

Tabla 5: Coliformes Totales

Lugar de recolección	Promedio (NMP/g)	Límites Permitidos (NMP/g)
San Roque	< 3	<100
Checa	< 3	<100
Chica Despensa	< 3	<100
San Bartolomé	< 3	<100
Callasay	< 3	<100
Total	< 3	<100

Fuente: Elaborada por el Autor a partir de Guillen y Sarmiento, (2011)

2.2.1.7 Bacterias Aeróbicas Mesófilas

Los valores otorgados por la investigación de Guillen y Sarmiento demuestran que las bacterias aeróbicas mesófilas se encuentran en los límites tolerados por la OMS, sirviendo de referencia de que los procedimientos de la materia prima está bien seleccionada, lavada, secada y almacenada, para garantizar la seguridad de los extractos obtenidos en el laboratorio (Guillen y Sarmiento, 2011).

Tabla 6: Bacterias Aeróbicas Mesófilas.

Lugar de recolección	Promedio (UFC/g)	Límites Permitidos (UFC/g)
San Roque	25	10000
Checa	0	10000
Chica Despensa	0	10000
San Bartolomé	0	10000
Callasay	25	10000

Fuente: Elaborada por el Autor a partir de Guillen y Sarmiento, (2011)

2.2.2 Características Etnomédicas

El conocimiento ancestral acerca de su uso se extiende más allá de las comunidades locales porque la especie es conocida y comercializada en los mercados de las ciudades de Azogues, Cuenca y Gualaceo, esta planta tiene usos medicinales y veterinarios, esta planta cuenta con una mención de 39 usos «38 de uso medicinal y 1 de uso veterinario» en los mercados que la comercializan (Minga, 2014).

El Shilpalpal «*Valeriana tomentosa* Kunth» posee varios beneficios para la salud, de las cuales se usa la flor y las hojas para elaborar un zumo, con el cual se tratan las úlceras estomacales, infecciones, erupciones de la piel, resfrío de mujeres luego del alumbramiento, desinflamante, espanto e hígado; las raíces tienen propiedades antisépticas y antiespasmódicas;

y la infusión de las hojas y flores alivia la gastritis, tomándola en ayunas; se realizan emplastos para los huesos, también tiene uso veterinario para los cuyes y ganado para reducir las dolencias estomacales (Guillen y Sarmiento, 2011; Minga, 2014; Jijón, 2015).

2.2.3 Taxonomía del Shilpalpal (*Valeriana tomentosa* Kunth)

Tabla 7: Clasificación taxonómica del Shilpalpal (Valeriana tomentosa Kunth)

Reino	<i>Plantae</i>
Clase:	<i>Equisetaceae</i>
Subclase:	<i>Magnoliidae</i>
Orden:	<i>Dipsacales</i>
Familia:	<i>Caprifoliaceae</i>
Género:	<i>Valeriana</i> L.
Especie:	<i>Valeriana tomentosa</i> Kunth
Habito:	<i>Subarbusto o hierba</i>
Estatus:	<i>Nativa</i>

Fuente: Elaborada por el Autor a partir de Minga, (2014); Trópicos Jardín botánico de Misuri, (1994); Trópicos Jardín botánico de Misuri, s/f; Plantas del mundo en línea, s/f; WFO, (2022)

2.3 Familia *Caprifoliaceae*

La familia de las *Caprifoliaceae* tiene alrededor de unas 450 especies, la mayoría de ellas son arbustos o enredaderas leñosas y rara vez son plantas herbáceas, estas especies se distinguen por poseer hojas simples, opuestas, la mayoría de veces sin estípula, su inflorescencia es cimosa, umbeliformes o corimbiformes, las flores son actinomorfas, epíginas y pentaneras, de reducido cáliz, gamosépalo, la corola es gamopétala o tubulosa irregular, fruto en cápsula, drupa, baya y ovario ínfero (Rojas y Amaro, 2015).

La especie que más destaca es el Sauco «*Sambucus nigra*» un arbusto originario de Europa, la corteza, raíces, hojas y frutos son utilizados en la medicina ancestral por sus propiedades medicinales, mismos que se evidenciaron los metabolitos secundarios presentes en la planta por medio de un análisis fitoquímico, a continuación, se indica los metabolitos del sauco en la Tabla 8 (Rodríguez *et al.*, 2017).

Tabla 8: Metabolitos secundarios del sauco (*Sambucus nigra*)

Metabolitos secundarios	Control (aceites esenciales)	Sauco (<i>Sambucus nigra</i>)
Quinonas	+++	++
Flavonoides	+++	+++
Alcaloides	+++	+++
Saponinas	+++	++
Triterpenos	+++	+++
Fenoles	+++	+++

Fuente: Elaborada por el Autor a partir de Rodríguez *et al.*, (2017)

2.4 Género *Valeriana* L.

El género *Valeriana* L. «*Caprifoliaceae*» consta de aproximadamente 281 especies distribuidas en todo el mundo, catalogada como uno de los géneros más representativos de los Andes sudamericanos, puesto que es una de las formas farmacéuticas que más se comercializan, los que están hechos a base de *Valeriana officinalis* L., es por ello que se realizó el análisis fitoquímico de cuatro especies de *Valeriana* L. (Rondón *et al.*, 2018).

Tabla 9: Metabolitos secundarios de la Valeriana L.

Metabolitos secundarios	<i>V. parviflora</i>	<i>V. rosalia</i>	<i>V. triplinervis</i>	<i>V. filicoide</i>	
Alcaloides	DR	+++	+++	+++	+++
	WR	++	++	++	++
	MR	++	++	++	++
	NaOH	+++	++	+++	++
Flavonoides	+++	++	++	+++	
KR	++	++	++	+	
Esteroles y triterpenos	LB	+++	+++	+++	+++
	RS	+++	+++	+++	+++
	FR	+++	+	+	+
Saponinas	+++	+++	+++	+++	

Fuente: Elaborada por el Autor a partir de Rondón et al., (2018)

Nota: **DR:** reactivo de Dragendorf, **WR:** reactivo de Wagner, **MR:** reactivo de Mayer, **KR:** Reactivo de Komarovsky, **LB:** Reactivo de Liberman – Bouchard, **RS:** Reactivo de Salkowky, **FR:** reactivo de espuma.

2.5 Marcha Fitoquímica

La marcha fitoquímica es uno de los primeros pasos a seguir en una investigación fitoquímica que permite la identificación cualitativa de los componentes químicos principales en una planta, lo que permite la extracción o fraccionamiento del grupo más importante o el grupo de interés para el investigador. Estos componentes se extraen con diversos tipos de solventes, luego se someten a diferentes pruebas químicas que al reaccionar son valoradas por su colorimetría generando resultados positivos o negativos al metabolito (Mendoza, 2015).

2.6 Extracción de Metabolitos

La fase de extracción comienza cuando la materia vegetal recolectada pasa por un cuidadoso procedimiento de selección, secado y estabilización, este proceso comienza triturando la planta en pequeñas partículas que faciliten la penetración del disolvente en el tejido celular, después se pone la mezcla en agitación para que el solvente entre en contacto con la

materia prima «sólido» y se alcance un nuevo punto de equilibrio de saturación (Mendoza, 2015).

2.7 Maceración

La maceración, la extracción Soxhlet y la hidrodestilación son métodos tradicionales de extracción de sustancias biológicamente activas, las cuales consisten en propiciar el contacto del sustrato sólido con un solvente por un periodo de tiempo determinado, el sustrato sólido es un material biológico en forma de polvo seco. El menstruo conocido comúnmente como solvente es un líquido con propiedades generales como el agua, alcoholes alifáticos de hasta tres átomos de carbono, generalmente etanol, o una mezcla de los dos, una mezcla de un sustrato sólido con un solvente se le conoce como tintura. La efectividad del método depende principalmente de los parámetros operativos, controlables y no controlables, la naturaleza del sustrato sólido, las propiedades químicas de los compuestos de interés que son biológicamente activos, el conocimiento científico, la habilidad del experimentador y los parámetros operativos son factores elementales (Duarte *et al.*, 2020).

Durante el proceso de maceración las propiedades antioxidantes mejoran con el tiempo de contacto entre el sustratos y el solvente, sin embargo la temperatura óptima para la extracción de metabolitos también juega un papel muy importante, por ejemplo la aplicación de una temperatura de 70 °C es favorable para la extracción de metabolitos, por el contrario la temperatura de 80 °C provocó el decrecimiento de algunos metabolitos, como es el caso de las antocianinas y fenoles totales que alcanzaron valores máximos en 20 minutos sometidas a una temperatura de extracción de 70 °C, los metabolitos aumentaron (Flores, 2017).

2.8 Metabolitos secundarios

Los vegetales producen centenares de sustancias orgánicas llamadas metabolitos, estas sustancias son el resultado de una serie de reacciones complejas que ocurren durante la fotosíntesis, los metabolitos secundarios no tienen una función específica en la planta, es por

ello que se sintetizan cantidades pequeñas y su producción se limita a unas pocas especies o familias (Ruiz y Mejía, 2020).

Los principios activos o metabolitos secundarios son sustancias que tienen un efecto farmacológico beneficioso o nocivo sobre los organismos vivos, puesto que su utilidad radica en su administración como medicamento o medicina para mitigar enfermedades o restaurar la salud perdida (Hidalgo, 2019).

Los principios activos de plantas con interés comercial se clasifican en tres principales clases de acuerdo con las rutas biosintéticas, estas son: compuestos fenólicos, terpenos y compuestos nitrogenados (Espadero, 2018).

2.8.1 Los Terpenos

Los terpenos y sus formas oxidadas «terpenoides» son compuestos aromáticos producidos por todas las plantas, estos compuestos son formados por la polimerización de unidades de isopreno y esteroides dividiéndose en seis grupos que son: diterpenos, monoterpenos, triterpenos, sesquiterpenos, esteroides y tetraterpenos, entre los que se encuentran los carotenoides, cardiotónicos, glicósidos, taxol y otros, que dependiendo de las modificaciones de los terpenos tienen diversas funciones como: antiinflamatoria, ansiolítica, somníferos, para la concentración y antibacteriana (Lowenfels, 2020).

2.8.2 Compuestos Fenólicos

Las plantas son fuentes importantes de metabolitos, particularmente fenoles, estos metabolitos secundarios las plantas los fabrican como mecanismo de defensa ante la posibilidad de un ataque a los tejidos vegetales, daños provocados por patógenos, estrés ambiental «condiciones adversas de luz, pH, temperatura, etc.», en general estas concentraciones dependen del estado de los cultivos y crecimiento de las plantas, es por esto que son

responsables de las propiedades organolépticas de las frutas y hortalizas, se ha comprobado que los metabolitos fenólicos tienen propiedades descongestionantes, antitumorales, antiinflamatorias, anticoagulantes y antioxidantes, por lo tanto los fenoles la extracción de estos metabolitos de los tejidos de la planta podrían generar agentes terapéuticos con aplicaciones potenciales para el diseño de alimentos, cosmética y medicina botánica (Parola *et al.*, 2020).

En el caso de las frutas la maduración afecta directamente a los compuestos biológicamente activos ya que se producen durante la biosíntesis, lo que conduce a un alto contenido de fenoles. En otras investigaciones afirmaron que la especie, clima, la disponibilidad de nutrientes en el suelo, los cambios de temperatura, procesamiento de cultivos, la ubicación geográfica, el uso de pesticidas, almacenaje, manejo post cosecha y la genética, influyen en la aparición de diferentes metabolitos. Los componentes fenólicos intervienen en la capacidad antioxidante debido a que mayor contenido de componentes fenólicos es mayor la capacidad antioxidante, estos polifenoles se los puede hallar junto a azúcares, aminos, ácidos orgánicos, otros compuestos fenólicos y lípidos (Jorge y Segura, 2011).

2.8.3 Compuestos Nitrogenados

Los compuestos nitrogenados se clasifican en proteínas y aminoácidos, reaccionan con virajes de color de Maillard, al igual que los fosfolípidos, con radicales etanolamina y colina, y sus productos refractarios, clorofila, riovflavinas, ácido úrico, porfirinas y sus derivados (Shahidi y Zhong, 2010).

2.9 Radicales Libres

Los radicales libres son los responsables de la oxidación, proceso que puede ser inhibido por antioxidantes internos de los organismos que, junto con los antioxidantes externos obtenidos en la ingesta adecuada de alimentos, habitualmente son generados en el metabolismo aeróbico, es muy utilizado en varios mecanismos de defensa contra agentes infecciosos. Pero

estas moléculas son sumamente reactivas y pueden destruir algunas biomoléculas de las células (Aguilar *et al.*, 2018).

El estrés oxidativo un procedimiento que resulta de la inestabilidad entre la capacidad antioxidante y los radicales libres, por lo tanto, se produce un estrés oxidativo que conduce al daño celular y provoca cambios fisiológicos relacionados con procesos patológicos tales como el envejecimiento, la carcinogénesis, la inflamación, la diabetes, la neurodegeneración, enfermedades autoinmunes entre otras. Cuando el antioxidante interno es incapaz de inhibir daños al organismo por los radicales libres, se necesita la contribución externa de antioxidantes, por lo tanto, la ingesta de antioxidantes naturales puede prevenir diversas enfermedades y ser utilizados como prometedores agentes terapéuticos (Parola *et al.*, 2020).

2.10 Capacidad Antioxidante

La capacidad antioxidante de diversos compuestos sintéticos y naturales incluyen procesos de Redox, en la que una molécula antioxidante cede un átomo de hidrógeno o un electrón para el radical libre «R». Los métodos para evaluar la capacidad antioxidante se fundamentan en investigar como un agente antioxidante causa daño oxidativo a un sustrato fácilmente oxidable, mismo que se puede prevenir o reducir con la presencia de antioxidantes, este mecanismo va en proporción a la capacidad antioxidante de la muestra. La capacidad antioxidante es un indicador que define qué cantidad del compuesto antioxidante previene la oxidación del sustrato, si este resultado es cercano a cien la actividad antioxidante es alta (Jorge y Segura, 2011).

2.11 Folin-Ciocalteu

Es un método cuantitativo y colorimétrico que aprovecha las propiedades reductoras de estos compuestos, considerado como una técnica oficial para la cuantificación de polifenoles midiendo el contenido de estos compuestos en productos naturales, el reactivo de Folin-

Ciocalteu está formado por la mezcla de $H_3PW_{12}O_{40}$ «ácido fosfotúngstico» y $H_3PMo_{12}O_{14}$ «ácido fosfomolibdico» convirtiéndolo en un agente oxidante (Lluva, 2019).

Es una forma muy rápida de evaluar la capacidad antioxidante de sustancias frente a radicales libres estables 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo «DPPH», se puede determinar la capacidad antiradical de un antioxidante evaluando la disminución de la absorbancia de la solución alcohólica de DPPH a 515-520 nm, en presencia de una solución antioxidante donadora de hidrógeno. A medida que el color cambia progresivamente de púrpura a amarillo el electrón desapareado en el radical DPPH permite la máxima absorción dará un color púrpura y se volverá amarillo conforme va reaccionando. Cuando el electrón separado del radical DPPH se empareja con un hidrógeno «H⁺» de un antioxidante para formar el DPPH-H o molécula DPPH estable (San Martin, 2020; Jorge y Segura, 2011).

Cuanto menor sea el IC₅₀ mayor será la actividad de los extractos como eliminadores de radicales de DPPH, estos valores pueden deberse a la presencia de compuestos polifenólicos y flavonoides presentes en los extractos (San Martin, 2020).

2.12 Actividad antioxidante del género *Valeriana* L.

Tabla 10: Actividad antioxidante de la Valeriana L.

Planta	Actividad antioxidante
<i>Valeriana</i> L.	45,70 % 3,46 mg/mL

Fuente: Elaborada por el Autor a partir de Orbergozo, (2018); Geronimo, (2014)

2.13 Actividad antioxidante del Sauco

*Tabla 11: Actividad antioxidante del Sauco (*Sambucus nigra*)*

Planta	Actividad antioxidante
Sauco (<i>Sambucus nigra</i>)	44,19% 45,65% 50,06%

Fuente: Elaborada por el Autor a partir de Jorge y Segura, (2011); Aliaga, (2019)

CAPÍTULO III

3.1 NIVEL DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación es de nivel Experimental cuantitativo, debido a que se manipularán las variables independientes para la recolección de datos y de esta manera analizar el efecto antioxidante del Shilpalpal «*Valeriana tomentosa* Kunth» frente al ácido ascórbico. De igual forma esta investigación tiene un nivel exploratorio ya que es poco conocido y con escasa información del tema, la cual otorgará una visión superficial de conocimientos para su continua investigación.

3.2 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Se desarrollará una investigación con diseño Cuasi-experimento en donde se manipulan las variables, pero no llega al experimento total.

3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

Se procederá a tomar la materia prima del centro Comercial “El Arenal” de la ciudad de Cuenca, del cual se obtendrá una muestra de un kilogramo de Shilpalpal aproximadamente. Esta población viene a ser finita y accesible para realizar las pruebas de laboratorio.

3.4 VARIABLES

Dependiente: Capacidad antioxidante y metabolitos secundarios de los extractos.

Independiente: Solvente utilizado en los extractos.

Interviniente: Temperatura, humedad, equipos y tiempo.

3.5 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

En las técnicas de recolección de datos está el análisis documental con el apoyo de tablas estadísticas, artículos científicos, revistas científicas, libros, tesis, manuales y en el caso de los

instrumentos se utilizó la observación no estructurada dado que se utilizó diario de campo, cámara fotográfica, instrumentos y equipos de laboratorio.

3.6 TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

Se aplicará un método completamente al azar para la interpretación de los datos obtenidos en las pruebas de laboratorio, para lo cual se va a utilizar la técnica gráfica de barras y tablas.

3.7 PROCEDIMIENTO

3.7.1 Fase 1: Recolección de la materia prima.

3.7.1.1 Toma de la muestra de Shilpalpal (*Valeriana tomentosa* Kunth)

La muestra se recolectó en el centro Comercial “El Arenal” de la ciudad de Cuenca, del cual se obtuvo aproximadamente un kilogramo de Shilpalpal «*Valeriana tomentosa* Kunth», el mismo que se considerará solamente las hojas y flores de la planta.

3.7.1.2 Tratamiento de la muestra vegetal

Seleccionar las hojas y flores con las mejores características externas, eliminar materias extrañas, lavar tres veces con agua pura, extender las hojas y flores en un área estéril para eliminar el exceso de agua.



Figura 2: *Shilpalpal (Valeriana tomentosa* Kunth)

Fuente: *Autora*

3.7.2 Fase 2: Pretratamiento de la muestra vegetal

3.7.2.1 Acondicionamiento de la muestra vegetal

Una vez que esté seca la materia prima colocar las hojas y flores en bandejas de aluminio para llevarlas a la estufa a una temperatura de 40°C durante 24 horas. Transcurrido este tiempo se procede a triturar la materia vegetal en un mortero.



Figura 3: Materia vegetal seca y triturada

Fuente: Autora

3.7.2.2 Preparación de los extractos

Extracto Alcohólico (materia vegetal procesada)

Agregar 23 g de soluto en 300 mL de etanol al 96% y dejar reposar la mezcla por 48 horas en un lugar seco, temperatura ambiente y en ausencia de luz. Filtrar el extracto en papel filtro, purificar la solución en el rotavapor a una temperatura de 75°C para extraer el alcohol y obtener un extracto concentrado. Verter la solución en un frasco ámbar.

Extracto Alcohólico (materia vegetal no procesada)

Colocar 23 g de materia vegetal picada en 300 mL de etanol al 96% durante 48 horas a temperatura ambiente, en un lugar seco y en ausencia de luz. Purificar el extracto filtrado en el rotavapor y colocar en un frasco ámbar.



Figura 4: Extracto alcohólico en el rotavapor.

Fuente: Autora

Extracto Acuoso

Se preparó utilizando 23 g de materia vegetal seca y triturada previamente en 300 mL de agua destilada por 48 horas, destinar el extracto a un lugar seco a temperatura ambiente y en ausencia de luz, cubrir con una funda negra de preferencia. Filtrar la solución para purificarlo y colocar lo obtenido en un frasco ámbar.



Figura 5: Extractos alcohólicos (materia vegetal seca y cruda) y acuoso.

Fuente: Autora

Extracto Hidroalcohólico

Para el extracto hidroalcohólico se necesitará una solución de alcohol al 96% y agua destilada en una proporción 1:1, en un gramo de materia vegetal seca agregar 9 mL de la solución preparada previamente y trasladar la mezcla a un tubo de Falcon para llevarlo al

ultrasonido a una temperatura de 40°C por dos horas, centrifugar a 7500 rpm por 30 minutos, filtrar el sobrenadante y colocar en un frasco ámbar cubierto con aluminio y refrigerar hasta su uso.



Figura 6: Extracto hidroalcohólico, luego de la centrifuga

Fuente: Autora

Extracto Acuoso

Para este extracto se utilizó cuatro gramos de muestra vegetal en 80 mL de solvente con una composición de agua destilada y ácido clorhídrico al 0,01%, calentar a 65°C durante 30 minutos con agitación de 95 rpm en el agitador orbital de sobremesa, centrifugar a 7500 rpm por 30 minutos, filtrar el sobrenadante y envasar en frascos ámbar cubierto con aluminio y refrigerar hasta su análisis.



Figura 7: Extractos acuoso, después de la centrifuga

Fuente: Autora

3.7.3 Fase 3: Caracterización cualitativa

Ensayo de Molish (Carbohidratos)

Para la identificación de carbohidratos se coloca 2 mL de extracto con 5 gotas del reactivo de Molish, 10 gotas de ácido sulfúrico concentrado en el tubo de ensayo, dejar reposar y se observará un anillo violáceo en caso de ser positiva a carbohidratos.

Ensayo de Fehling (Azúcares)

En un tubo de ensayo agregar 2 mL de extracto con 5 gotas de Fehling A, 5 gotas de Fehling B, agitar el tubo y llevarlo a baño maría por 10 minutos, si se observa un precipitado amarillo es positivo.

Cumarinas

En el tubo de ensayo colocar 2 mL de extracto con 2 gotas de hipoclorito de sodio al 10% y se observará un cambio de color a amarillo intenso, la reacción es positiva.

Taninos

Colocar 2 mL de extracto en el tubo de ensayo con 5 gotas del reactivo de gelatina, 3 gotas de cloruro de sodio al 10% y se formara un coloide en caso de ser positiva la reacción.

Prueba de Espuma (Saponinas)

Añadir 2 mL de extracto en el tubo de ensayo con un mL de agua destilada, agitar por 2 minutos y si se forma espuma es positivo a saponinas.

Ensayo de Shidona (Flavonoides)

En el tubo de ensayo adicionar 2 mL de extracto con trozos de limadura de magnesio, agitar y agregar 5 gotas de ácido clorhídrico concentrado en zona y se observará un viraje de color a un tono rojo.

Alcaloides

Ensayo de Dragendorff

En el tubo de ensayo colocar 2 mL de extracto e incorporar 3 gotas del reactivo de Dragendorff en zona y se formara un precipitado anaranjado.

Ensayo de Mayer

Adicionar 2 mL de extracto a un tubo de ensayo con 3 gotas del reactivo de Mayer y se realizará un precipitado amarillo y en caso contrario la reacción sería negativa.

3.7.4 Fase 4: Cuantificación de Fenoles



Figura 8: Diluciones para la curva de calibración

Fuente: Autora

3.7.4.1 Curva de Calibración

Para la curva de calibración se prepara una solución madre de ácido gálico de 1000 ppm, carbonato de sodio al 20%, Folin-Ciocalteu y agua desionizada. En los viales se coloca 0,05 mL de las diluciones de ácido gálico «diluciones de 0, 100, 200, 300, 400, 500, 700, 1000 ppm» a ello adicionar 2,5 mL de Folin-Ciocalteu, esperar dos minutos y colocar dos mL de la solución de carbonato de sodio, colocar 0,45 mL de agua desionizada, envolver en aluminio los viales, llevarlos al agitador orbital por 30 minutos y correr las soluciones en celdas en el espectrofotómetro a 765 nm.

3.7.4.2 Folin-Ciocalteu

Preparar una dilución 1N en una proporción 1:1 ya que el reactivo comercial es de 2N, refrigerar hasta su uso, a continuación, en la tabla se detalla el procedimiento:

Tabla 12: Dilución de Folin-Ciocalteu

Folin-Ciocalteu	Agua Desionizada
2,5 mL	2,5 mL

Fuente: Autora

Nota: proteger la solución de la luz colocando en un frasco ámbar y recubriendo el frasco con aluminio.

3.7.4.3 Carbonato de Sodio al 20%

Tabla 13: Solución de carbonato de sodio al 20%

Carbonato de Sodio	Agua Desionizada	Material
5 g	25 mL (aforar)	Balón de 25 mL

Fuente: Autora

Ácido Gálico

Tabla 14: Solución madre del Ácido Gálico 1000 ppm

Ácido Gálico	Agua Desionizada	Material
100 mg	100 mL (aforar)	Balón de 100 mL

Fuente: Autora

Tabla 15: Diluciones del Ácido Gálico

Viales	Concentración ppm	Ácido Gálico mL	Agua Desionizada mL
Blanco	0	-	10
1	100	1	9
2	200	2	8
3	300	3	7
4	400	4	6
5	500	5	5
6	700	7	3
7	1000	10	-

Fuente: Autora

3.7.4.4 Preparación de viales Curva de calibración

Tabla 16: Preparación de viales

Viales	Procedimiento
Blanco	
1	50 µL GAE (100) + 2500 µL Folin + 2 min + 2000 µL Na ₂ CO ₃ + 450 µL H ₂ O DI + 30 min
2	50 µL GAE (200) + 2500 µL Folin + 2 min + 2000 µL Na ₂ CO ₃ + 450 µL H ₂ O DI + 30 min
3	50 µL GAE (300) + 2500 µL Folin + 2 min + 2000 µL Na ₂ CO ₃ + 450 µL H ₂ O DI + 30 min
4	50 µL GAE (400) + 2500 µL Folin + 2 min + 2000 µL Na ₂ CO ₃ + 450 µL H ₂ O DI + 30 min
5	50 µL GAE (500) + 2500 µL Folin + 2 min + 2000 µL Na ₂ CO ₃ + 450 µL H ₂ O DI + 30 min
6	50 µL GAE (700) + 2500 µL Folin + 2 min + 2000 µL Na ₂ CO ₃ + 450 µL H ₂ O DI + 30 min
7	50 µL GAE (1000) + 2500 µL Folin + 2 min + 2000 µL Na ₂ CO ₃ + 450 µL H ₂ O DI + 30 min

Fuente: Autora

Nota: GAE: Ácido Gálico Equivalente, DI: Agua Desionizada.

3.7.4.5 Análisis de los extractos

Se realizó una dilución de los extractos en una proporción 1:25 tanto para el extracto acuoso como alcohólico, luego en un vial colocar 0,05 mL del extracto, 2,5 mL de Folin, dejar reposar por 2 minutos, 2 mL de carbonato de sodio, 0,45 mL de agua desionizada y dejar en el

agitador orbital por 30 minutos para proceder al análisis correspondiente en el espectrofotómetro a 765 nm.

3.7.4.6 Preparación de viales Extractos

Tabla 17: Preparación de viales con los extractos

Viales	Procedimiento
Blanco	
1	50 μ L extracto H ₂ O + 2500 μ L Folin + 2 min + 2000 μ L Na ₂ CO ₃ + 450 μ L H ₂ O DI + 30 min
2	50 μ L extracto alc 96 + 2500 μ L Folin + 2 min + 2000 μ L Na ₂ CO ₃ + 450 μ L H ₂ O DI + 30 min

Fuente: Autora

Nota: Realizar el procedimiento por triplicado, Alc: Alcohol, DI: Agua desionizada.

3.7.5 Fase 5: Capacidad Antioxidante



Figura 9: Capacidad antioxidante

Fuente: Autora

3.7.5.1 Curva de Calibración

Para la curva de calibración de la capacidad antioxidante se necesita DPPH, ácido ascórbico a 1000 ppm y etanol al 96 %. En los se viales coloca 0,01; 0,03; 0,04; 0,06; 0,08; 0,1 mL de ácido ascórbico, 2,9 mL de DPPH y alcohol respectivamente, cubrir los viales con aluminio, colocar los viales en el agitador orbital durante 30 minutos y correr las muestras en el GENESYS 20 a 517 nm.

3.7.5.2 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)

Para preparar el DPPH se realizará una dilución de 4 mg en 100 mL de etanol al 96%, cubrir el balón con aluminio para evitar el contacto con la luz, agitar hasta homogenizar la solución y refrigerar hasta su uso.

Tabla 18: Preparación del DPPH

DPPH	Alcohol al 96%	Material
4 mg	100 mL (aforar)	Balón de 100 mL

Fuente: Autora

3.7.5.3 Ácido Ascórbico

Tabla 19: Solución madre del Ácido Ascórbico a 1000 ppm

Ácido Ascórbico	Alcohol al 96%	Material
100 mg	100 mL (aforar)	Balón de 100 mL

Fuente: Autora

3.7.5.4 Preparación de las soluciones para la curva de calibración

Tabla 20: Preparación de viales para la curva de calibración

Viales	Procedimiento
Blanco	0 μ L A. ascórbico+ 2900 DPPH+ 100 μ L alc 96% + 30 min
1	10 μ L A. ascórbico + 2900 μ L DPPH + 90 μ L alc 96% + 30 min
2	30 μ L A. ascórbico + 2900 μ L DPPH + 70 μ L alc 96% + 30 min
3	40 μ L A. ascórbico + 2900 μ L DPPH + 60 μ L alc 96% + 30 min
4	60 μ L A. ascórbico + 2900 μ L DPPH + 40 μ L alc 96% + 30 min
5	80 μ L A. ascórbico + 2900 μ L DPPH + 20 μ L alc 96% + 30 min
6	100 μ L A. ascórbico + 2900 μ L DPPH + 0 μ L alc 96% + 30 min

Fuente: Autora

3.7.5.5 Análisis de los Extractos

Para el análisis de los extractos se realiza una dilución en etanol al 96% en una proporción de 1:10 tanto del extracto acuoso como alcohólico. En los viales colocar 0; 0,01,

0,03; 0,04; 0,06; 0,08; 0,1 mL de la dilución respectivamente con 2,9 mL de DPPH y 100, 90, 70, 60, 40, 20, 0 mL de alcohol al 96%, llevar al equipo GENESYS 20 para correr las muestras a 517 nm.

Extracto Acuoso

Tabla 21: Capacidad antioxidante del extracto acuoso

Viales	Procedimiento
Blanco	0 μ L extracto H ₂ O + 2900 DPPH+ 100 μ L alc 96% + 30 min
1	10 μ L extracto H ₂ O + 2900 μ L DPPH + 90 μ L alc 96% + 30 min
2	30 μ L extracto H ₂ O + 2900 μ L DPPH + 70 μ L alc 96% + 30 min
3	40 μ L extracto H ₂ O + 2900 μ L DPPH + 60 μ L alc 96% + 30 min
4	60 μ L extracto H ₂ O + 2900 μ L DPPH + 40 μ L alc 96% + 30 min
5	80 μ L extracto H ₂ O + 2900 μ L DPPH + 20 μ L alc 96% + 30 min
6	100 μ L extracto H ₂ O + 2900 μ L DPPH + 0 μ L alc 96% + 30 min

Fuente: Autora

Extracto Alcohólico

Tabla 22: Capacidad antioxidante del extracto alcohólico

Viales	Procedimiento
Blanco	0 μ L extracto alc + 2900 DPPH+ 100 μ L alc 96% + 30 min
1	10 μ L extracto alc + 2900 μ L DPPH + 90 μ L alc 96% + 30 min
2	30 μ L extracto alc + 2900 μ L DPPH + 70 μ L alc 96% + 30 min
3	40 μ L extracto alc + 2900 μ L DPPH + 60 μ L alc 96% + 30 min
4	60 μ L extracto alc + 2900 μ L DPPH + 40 μ L alc 96% + 30 min
5	80 μ L extracto alc + 2900 μ L DPPH + 20 μ L alc 96% + 30 min
6	100 μ L extracto alc + 2900 μ L DPPH + 0 μ L alc 96% + 30 min

Fuente: Autora

3.7.6 Fase 6: Humedad

Para calcular la humedad de la planta se procedió a colocar en el halógeno «HB43-S HALOGEN» hojas de Shilpalpal seleccionadas previamente para obtener óptimos resultados, se colocó 3,66 g de la planta en estudio y se esperó 25 minutos para que el halógeno extrajera toda la humedad de las hojas, para luego realizar los cálculos pertinentes.

CAPÍTULO IV

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Caracterización cualitativa del Shilpalpal

Luego de la purificación de los extractos se realizará la marcha fitoquímica para la determinación de los metabolitos secundarios presentes en los extractos acuoso y alcohólico del Shilpalpal «*Valeriana tomentosa* Kunth».

Tabla 23: Marcha fitoquímica del extracto acuoso del Shilpalpal

Metabolitos Secundarios	Extracto Acuoso del Shilpalpal
Carbohidratos	+++
Azúcares	+++
Cumarinas	+++
Taninos	+++
Saponinas	+++
Dragendorf/alcaloides	-
Mayer/alcaloides	-
Lípidos	-
Almidón	+
Flavonoides	+++

Fuente: Autora

Nota: Alto contenido de metabolito (+++); Moderado contenido de metabolito (++); Poco contenido de metabolito (+); Ausencia del metabolito (-)

En el análisis fitoquímico mediante identificaciones cualitativas de reacción con parámetros de color y precipitados generados, se observó en el extracto acuoso la ausencia y la

existencia alta media o baja de los metabolitos secundarios, en la identificación de carbohidratos se denota su alto contenido de metabolito en el extracto ya que se formó un anillo violáceo, en los azúcares se observa una gran cantidad de ellos por su proporción de precipitado amarillo, de igual manera en las cumarinas el precipitado es abundante por ello su contenido es alto, comprendido de una gran cantidad de taninos por la formación de coloide, con respecto a las saponinas su contenido es alto por su formación de espuma al agitarla enérgicamente, ausencia de alcaloides «Dragendorf/Mayer», no hay precipitado de color anaranjado o amarillo, ausencia de lípidos ya que no presentó precipitado amarillo, carencia de precipitado azul obteniendo poco contenido de metabolito de almidón y la presencia de flavonoides es alto en la planta debido al viraje de color rojo que presentó la reacción.

Tabla 24: *Marcha fitoquímica del extracto alcohólico con materia prima no procesada*

Metabolitos Secundarios	Extracto alcohólico / materia prima no procesada
Carbohidratos	+
Azúcares	-
Cumarinas	++
Taninos	-
Saponinas	++
Dragendorf/alcaloides	++
Mayer/alcaloides	+++
Lípidos	++
Almidón	+
Flavonoides	++

Fuente: *Autora*

Nota: *Alto contenido de metabolito (+++); Moderado contenido de metabolito (++); Poco contenido de metabolito (+); Ausencia del metabolito (-)*

En el análisis fitoquímico del extracto alcohólico con la materia prima «Shilpalpal» no procesada se obtuvo un aumento de metabolitos secundarios y una ausencia de azúcares y taninos, con respecto a la existencia de los otros metabolitos como los carbohidratos con poco contenido, cumarinas, saponinas, alcaloides «Dragendorf» y flavonoides la cantidad es moderada, en los alcaloides con el reactivo de Mayer aumenta en dosis con un alto contenido de metabolitos y el almidón con poco contenido.

Tabla 25: *Marcha fitoquímica del extracto alcohólico con materia prima procesada.*

Metabolitos Secundarios	Extracto alcohólico / materia prima procesada
Carbohidratos	++
Azúcares	-
Cumarinas	++
Taninos	-
Saponinas	++
Dragendorf/alcaloides	++
Mayer/alcaloides	+++
Lípidos	++
Almidón	+
Flavonoides	+++

Fuente: *Autora*

Nota: *Alto contenido de metabolito (+++); Moderado contenido de metabolito (++); Poco contenido de metabolito (+); Ausencia del metabolito (-)*

En la caracterización cualitativa del extracto alcohólico con materia prima procesada se registra un aumento en algunos metabolitos secundarios y al igual que en el extracto alcohólico con materia prima no procesada se manifiesta la ausencia de azúcares y taninos, poco contenido

de almidón en el extracto, en los metabolitos como alcaloides «Mayer» y flavonoides su contenido es alto; en las cumarinas, carbohidratos, saponinas y alcaloides «Dragendorf» la planta está comprendida por ellos de forma moderada.

4.2 Comparación de metabolitos secundarios

En la Tabla 26 se comparan los metabolitos presentes en la familia de las *Caprifoliaceae*, representándola con su especie más relevante que es el sauco y en el género *Valeriana* L. los metabolitos que se toman a consideración es de la especie valeriana. Y al pertenecer a esta familia y género se tomaron los metabolitos presentes en las *Caprifoliaceae* y de la *Valeriana* L. debido a que no hay investigaciones previas de los metabolitos presentes en la planta de Shilpalpal «*Valeriana tomentosa* Kunth».

Tabla 26: Comparación de los metabolitos secundarios del Shilpalpal contra el sauco y la valeriana

Metabolitos Secundarios	Metabolitos Sauco	Metabolitos Valeriana	Extracto Acuoso	Extracto AMPNP	Extracto AMPP
Taninos	+	++	+++	-	-
Saponinas	++	+++	+++	++	++
Dragendorf/alcaloides	+++	+++	-	++	++
Mayer/alcaloides	+++	++	-	+++	+++
Flavonoides	+++	+++	+++	++	+++

Fuente: Autora

Según Rodríguez *et al.* (2017), en los metabolitos secundarios del Sauco, que es la especie más reconocida de la familia de las *Caprifoliaceae*, los metabolitos que van acorde con la investigación realizada al Shilpalpal son los taninos, saponinas, alcaloides y flavonoides. En el cual los extractos alcohólicos cuentan con todos estos metabolitos con una ligera deficiencia

en ciertos metabolitos secundarios, mientras que en el acuoso solamente se encontró saponinas que tienen un alto contenido y flavonoides.

De acuerdo con Rondón *et al.* (2018), los metabolitos presentes en la Valeriana, representante del género *Valeriana* L., los extractos alcohólicos tienen taninos, saponinas, flavonoides, alcaloides con discrepancias entre el reactivo de Dragendorf y Mayer, de igual manera con pequeñas deficiencias en ciertos metabolitos, caso contrario en el extracto acuoso las saponinas y flavonoides tienen un alto contenido tanto en la Valeriana como en el Shilpalpal, Gráfico 1.

4.3 Determinación de Humedad

Para calcular la humedad se colocó en el halógeno 3,66 g de las hojas de Shilpalpal y una vez transcurrido el tiempo de 25 minutos se obtiene un resultado de 0,29 g con un porcentaje de desecación del -84,88 %.

Ecuación

- Peso de la materia prima antes de la desecación (PMPAD)
- Peso de la materia prima después de la desecación (PMPDD)

$$H = \frac{PMPDD \times 100}{PMPAD}$$

(Lara *et al.*, 2020)

$$H = \frac{0,40 \times 100}{3,66} = 10,92 \%$$

Tabla 27: Comparación de la humedad del Shilpalpal

Humedad comparativa (%)	Humedad obtenida (%)	Límites Permitidos (%)
6,78	10,92	12

Fuente: Autora

La Humedad Obtenida en los laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana es del 10,92% la cual se encuentra dentro de los Límites Permitidos por la OMS para las plantas medicinales que es del 12%, siendo un indicador del adecuado uso de las normas de sepsia de la materia prima. La Humedad comparativa obtenida por Guillen y Sarmiento (2011), la cual es de 6,78% con la Humedad Obtenida 10,92% distan de una diferencia correspondiente al 4,14% entre estas humedades, esto puede deberse a las condiciones climáticas y la ubicación geográfica en la que fue recolectada la planta de Shilpalpal.

4.4 Cuantificación de Fenoles

Para la determinación de fenoles se utilizaron los cuatro extractos realizados anteriormente, el acuoso macerado, alcohólico macerado, acuoso con ácido clorhídrico al 0,01% y el hidroalcohólico, para realizar esta cuantificación se utilizó el Ácido Gálico como agente de calibración «curva de calibración», a continuación, se detallan los resultados obtenidos en cada uno de los extractos en las tablas 28, 29, 30, 31 y la gráfica 3.

Tabla 28: Cuantificación de fenoles del extracto acuoso macerado concentrado.

Muestra	Conc (ppm)	765 nm	mg GAE/g
Blanco	0	0	
Repetición 1	6866,5	2,802	6368,75
Repetición 2	6866,2	2,8008	6365,75
Repetición 3	6866,5	2,8022	6369,25
		Promedio	6367,91667
		Desviación E.	7,16666667
		mg GAE/g	6367,9167±7,1667

Fuente: Autora

Tabla 29: Cuantificación de fenoles del extracto alcohólico macerado concentrado.

Muestra	Conc (ppm)	765 nm	mg GAE/g
Blanco	0	0	
Repetición 1	7216,2	2,9422	6719,25
Repetición 2	7216	2,9428	6720,75
Repetición 3	7216,2	2,9434	6722,25
	Promedio		6720,75
	Desviación E.		4,5
	mg GAE/g		6720,75±4,5

Fuente: Autora

Tabla 30: Cuantificación de fenoles del extracto acuoso con HCl al 0,01% diluido

Muestra	Conc (ppm)	765	mg GAE/g
Blanco	0	0	
Repetición 1	79,614	0,0815	79,75
Repetición 2	79,3562	0,0812	79
Repetición 3	79,6695	0,0817	80,25
	Promedio		79,6666667
	Desviación E.		0,79166667
	mg GAE/g		79,6667±0,7917

Fuente: Autora

Tabla 31: Cuantificación de fenoles del extracto hidroalcohólico diluido.

Muestra	Conc (ppm)	765	mg GAE/g
Blanco			
Repetición 1	324,752	0,1798	325,5
Repetición 2	324,886	0,1792	324
Repetición 3	324,934	0,1797	325,25
	Promedio		324,916667
	Desviación E.		1,29166667
	mg GAE/g		324,9167±1,2917

Fuente: Autora

Según Rodríguez *et al.* (2017), el Sauco tiene un alto contenido de fenoles, obtenidos mediante el método de *Screening* fitoquímico, al igual que el extracto del Shilpalpal en el cual se realizó el método de Folin-Ciocalteu. En los extractos macerados tanto alcohólico como acuoso hay un notable aumento de fenoles en comparación de los extractos acuoso con ácido clorhídrico e hidroalcohólico, este aumento se debe al método de extracción de metabolitos secundarios, con ello se verifica que el método óptimo es el de la maceración, mismo que aumenta con mayor tiempo de reposo del soluto con el solvente «alcohol al 96%». Sin embargo, los extractos alcohólicos en los dos métodos tienen mayor contenido de fenoles, en este caso es debido al solvente utilizado para su extracción.

4.5 Capacidad Antioxidante

En la tabla 32 y 33 se muestra los resultados de la capacidad antioxidante del Shilpalpal utilizando el extracto acuoso con ácido clorhídrico al 0,01% y el extracto hidroalcohólico ya que están dentro de los parámetros de la curva de calibración, y a continuación en la gráfica 5 se compararán los resultados con la capacidad antioxidante de la familia de las *Caprifoliaceae* y el género *Valeriana* L.

Tabla 32: Capacidad antioxidante del ácido ascórbico

µl de Extracto	mg/ml	Absorbancia 517			Promedio	% de Inhibición
0		1,12	1,124	1,12	1,12133333	0
10	3,333	0,509	0,516	0,512	0,51233333	54,31034483
30	9,999	0,263	0,271	0,263	0,26566667	76,30796671
40	13,334	0,079	0,078	0,079	0,07866667	92,98454221
60	20,001	0,067	0,07	0,067	0,068	93,93579073
80	26,667	0,068	0,064	0,068	0,06666667	94,05469679
100	33,333	0,066	0,06	0,067	0,06433333	94,2627824
					Promedio	84,30935394

Fuente: Autora

Tabla 33: Capacidad antioxidante del extracto acuoso con ácido clorhídrico al 0,01% diluido.

µl de Extracto	mg/ml	Absorbancia 517			Promedio	% de Inhibición
0		1,086	1,087	1,085	1,086	0
10	3,333	0,883	0,867	0,885	0,87833333	19,12216083
30	9,999	0,776	0,77	0,775	0,77366667	28,75997545
40	13,334	0,66	0,662	0,661	0,661	39,13443831
60	20,001	0,654	0,657	0,653	0,65466667	39,71761817
80	26,667	0,646	0,641	0,645	0,644	40,69981584
100	33,333	0,588	0,588	0,587	0,58766667	45,88704727
					Promedio	35,55350931

Fuente: Autora

Tabla 34: Capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico diluido

µl de Extracto	mg/ml	Absorbancia 517			Promedio	% de Inhibición
0		1,086	1,087	1,085	1,086	0
10	3,333	0,552	0,564	0,552	0,556	48,80294659
30	9,999	0,409	0,423	0,408	0,41333333	61,93984039
40	13,334	0,356	0,354	0,355	0,355	67,31123389
60	20,001	0,231	0,235	0,23	0,232	78,63720074
80	26,667	0,202	0,202	0,201	0,20166667	81,43032535
100	33,333	0,084	0,085	0,081	0,08333333	92,32658072
					Promedio	71,74135461

Fuente: Autora

El porcentaje de la capacidad antioxidante del ácido ascórbico es del 84,31% y en los extractos se obtuvo en el acuoso un porcentaje de 35,55% y en el hidroalcohólico se obtuvo el 71,74%, de esta manera al realizar un análisis entre los extractos el que contiene mayor capacidad antioxidante es el extracto hidroalcohólico.

De acuerdo con Orbergozo (2018) y Geronimo (2014), la Valeriana tiene un 45,70% de capacidad antioxidante. Jorge y Segura (2011); Aliaga (2019), el Sauco tiene una capacidad antioxidante del 50,06%, el porcentaje de capacidad antioxidante en estas especies es menor que la obtenida en el extracto hidroalcohólico que es del 71,74% y con respecto al porcentaje obtenido en el extracto acuoso la diferencia no es muy notoria ya que tiene un 35,55% , acercándose más a los valores de la Valeriana y Sauco, en consecuencia, la planta de Shilpalpal tiene un alto porcentaje de actividad antioxidante con mayor concentración en el hidroalcohólico que en el acuoso con HCl al 0,01%.

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	1,028010034	2	0,514005017	17,1259498	0,00013413	3,68232034
Dentro de los grupos	0,450198404	15	0,030013227			
Total	1,478208438	17				

Las hipótesis son:

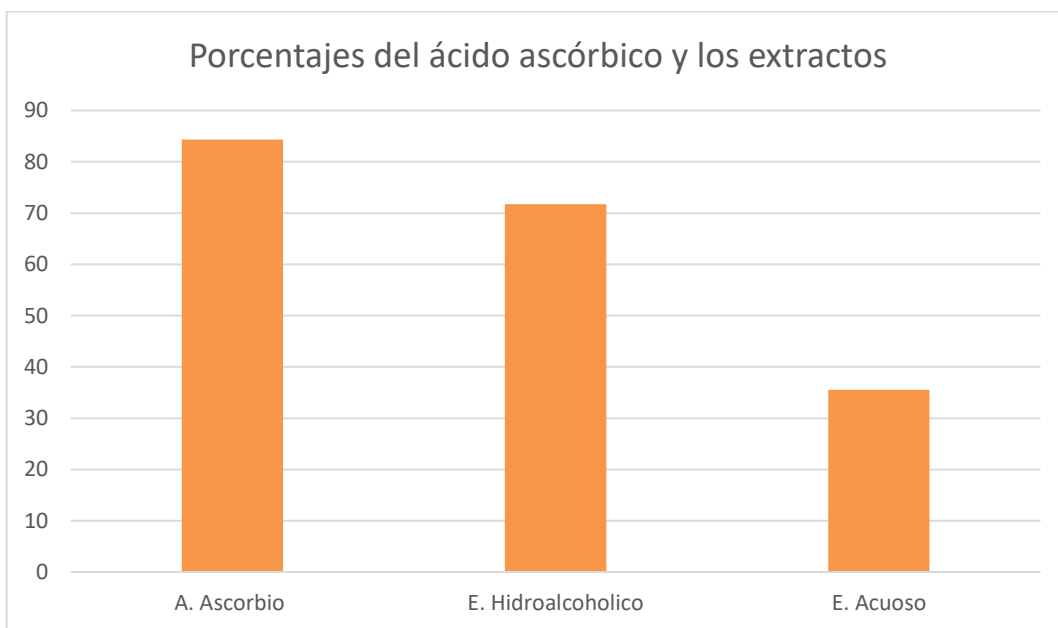
$$H_0 = u_1 = u_2 = u_3$$

$$H_1 = u_1 \neq u_2 \neq u_3$$

Se acepta la H_1 debido a que F calculada es mayor a F de tablas, llegando a la conclusión de que hay diferencias significativas entre las capacidades antioxidantes del extracto de Shilpalpal frente al Ácido Ascórbico.

Gráfica 1: Capacidad antioxidante del ácido ascórbico y los extractos acuoso e hidroalcohólico.

Fuente: Autora



CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

De acuerdo con los valores obtenidos en la marcha fitoquímica y en la capacidad antioxidante se concluye que:

- En la caracterización cualitativa de los extractos de Shilpalpal «*Valeriana tomentosa* Kunth» se tomaron en cuenta los extractos acuoso, alcohólico con materia prima procesada y alcohólico con materia prima no procesada, al momento de realizar la comparación de estos tres extractos se denotó la diferencia de metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso ya que es menor que en los extractos alcohólicos.
- Se reportó la ausencia de lípidos y alcaloides en el extracto acuoso, mientras que en los extractos alcohólicos se evidenció la ausencia de azúcares y taninos.
- Los extractos alcohólicos presentaron ausencia de taninos y en el resto de metabolitos secundarios mostraron diferencias de concentraciones, siendo el extracto alcohólico con materia prima procesada el que tiene mayor concentración de metabolitos secundarios y por el contrario en el extracto acuoso solamente se tuvo ausencia de alcaloides, en comparación con el Sauco y Valeriana.
- La humedad que se obtuvo como resultado que está dentro de los parámetros establecidos por la OMS y mayor en cuanto a la humedad obtenida por Guillen y Sarmiento.
- En la cuantificación de fenoles los extractos macerados tienen un alto contenido de polifenoles, con mayor concentración en los alcohólicos, que en los extractos acuoso con materia prima procesada y con HCl al 0,01% y el extracto hidroalcohólico.

- La capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico es del 71,74% y en el extracto acuoso su capacidad antioxidante es del 35,55% en relación con el ácido ascórbico que tiene el 84,31% de capacidad antioxidante.

- El extracto recomendado para un posible uso medicinal son los extractos alcohólicos ya que poseen altos contenidos de fenoles y su actividad antioxidante es elevada con un 71,74%.

5.2 Recomendaciones

- Aumentar técnicas en la marcha fitoquímica para la detección de otros metabolitos secundarios profundizando de esta manera el estudio del Shilpalpal.

- Experimentar con el extracto de Shilpalpal, cuanto decae su capacidad antioxidante conforme pasa el tiempo para la elaboración de un jarabe, ya que los resultados varían de forma significativa.

- Realizar pruebas *in vitro* del extracto de Shilpalpal contra la bacteria *Helicobacter pylori* para determinar los halos de inhibición, comprobando su efectividad y recomendarlo para posibles usos en la industria.

- Profundizar la investigación con pruebas de Cromatografía para la detección y caracterización de polifenoles presentes en la planta capaz de inhibir la ureasa.

- Se recomienda que al momento de obtener la humedad se tome en cuenta las condiciones climáticas de recolección ya que este resultado presentó una diferencia de un 37,91%.

REFERENCIAS

Aguilar Paredes, O., Castillo Guevara, C., Díaz Godínez, R., Nieto Camacho, A. y Méndez Iturbide, D. (2018). Antioxidantes e inhibición de radicales libres lipoperoxidación y carbonilación. *Revista mexicana de biotecnología*. 3(1), 60-72. <https://bit.ly/3CqGvI8>

Aliaga, B. T. (2019). *Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la estabilidad del extracto acuoso de antocianina obtenida por extracción asistida por microondas a partir de la cáscara de Sauco (Sambucus peruviana H.B.K.)*[Tesis de pregrado, Universidad Peruana Unión]. <https://bit.ly/3niTx4d>

Andrade, L., Tamariz, F., Peñaherrera, E., Cuzco, N., Tobar, V., Ansaloni, R., Maes, L. y Wilches, I. (3 diciembre, 2014). Medicinal plants used in South Ecuador for gastrointestinal problems: an evaluation of their antibacterial potencial. *Medicinal Plants Research*. <https://bit.ly/3Cd8Tx4>

Behar Montes, H., Reategui, O., Liviach Muñoz, D., Arcos Pineda, J. y Best Cuba, I. (2021). Phenolic compounds and in vitro antioxidant activity of six accessions of mashua (*Tropaeolum tuberosum* R. y P.) *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 74(3), 9707-9714. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v74n3.93020>

Cerón Martínez, C. E. (2006). *Plantas medicinales de los andes ecuatorianos* [Escuela de Biología de la Universidad Central el Ecuador]. <https://bit.ly/3DDbfWz>

Duarte Trujillo, A., Jiménez Forero, J., Pineda Insuasti, J., González Trujillo, C. y García Juárez, M. (2020). Extracción de sustancias bioactivas de pleurotus ostrearius (Pleurotaceae) por maceración dinámica. *Acta biológica colombiana*. 25(1), 61-74. <https://bit.ly/3bgeYx2>

Espadero Bermeo, S. G., (2018). *Comparación de la capacidad antioxidante de cuatro metabolitos secundarios presentes en Taraxacum officinale (diente de león) frente a N-Acetil*

cisteína un antioxidante comercial [Tesis de pregrado, Universidad Politécnica Salesiana].

<https://bit.ly/3mieNaw>

Field Museum of Natural History. (23 Enero, 1994). *Flora peruana*.

<https://bit.ly/3oLmh7W>

Flores, E. (2017). Extracción de Antioxidantes de las Bayas del Sauco (*Sambucus nigra* L. subsp. *peruviana*) con Ultrasonido, Microondas, Enzimas y Maceración para la obtención de Zumos Funcionales. *Información tecnológica*, 28(1), 121-132. <https://bit.ly/3OsGWrd>

Geronimo Bach, H. (2014). *Estudio anatómico, fitoquímico y actividad antioxidante de dos especies del género valeriana conocidas con el nombre de “ñancolahuen”* [Tesis de posgrado, Universidad de Buenos Aires]. <https://bit.ly/3xYe8je>

Guillen Mena, P. y Sarmiento Berrezueta, G. (2011). *Validación de las metodicas aplicadas a los procesos de selección, lavado, secado y almacenamiento para plantas medicinales a través de aplicación de técnicas oficiales basadas en la farmacopea de la organización mundial de la salud* [Tesis de pregrado, Universidad de Cuenca]. <https://bit.ly/3FunSos>

Hernández Medel, M., Aguilar Tirado, A., Velasquez Melgarejo, V. y Mendez Ventura, L. (s/f). *Guia de fitoquímica (Laboratorio)*. <https://bit.ly/3HUdRm7>

Hidalgo Trelles, V. (2019). *Uso de plantas medicinales como analgésico-antiinflamatorio en el Cantón Palora* [Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Ambato]. <https://bit.ly/3AoAhqf>

Inga, S. y Zavala, A., (2020). Uso de plantas medicinales en las mujeres de la sierra centro, Ecuador durante el postparto. *Vive Revista Salud*, 3(9), 198-212. <https://bit.ly/3mdBih1>

Jerves Andrade, L., León Tamariz, F., Peña Herrera, E., Cuzco, N., Tobar, V., Ansaloni, R., Maes, L. y Wilches, I. (2014). *Plantas medicinales utilizadas en el sur de Ecuador para*

problemas gastrointestinales: una evaluación de su potencial antibacteriano. Revista de Investigación de Plantas Medicinales. <https://bit.ly/3Cd8Tx4>

Jijón Moreira, A. P. (2015). *Conocimiento tradicional etnobotánico del área de influencia del Bosque Protector Aguarongo, Azuay, Ecuador* [Tesis de pregrado, Universidad del Azuay]. <https://bit.ly/3ymmeUv>

Jorge Meza, E. y Segura Alania, E. S. (2011). *Evaluación de la capacidad antioxidante y la concentración de polifenoles totales en el fruto de sauco (sambucus peruviana HBK) provenientes de la provincia de Tarma y Huancayo* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Centro del Perú]. <https://bit.ly/3OKVYIO>

Lara Flores, E., Castros Alcantara, L. y Camones Maldonado, R. (2020). Control de calidad de las plantas medicinales de la farmacia natural del CAMEC-Hospital III Chimbote. *Perú Medicina Integrativa.*, 5(2), 68-75. <https://bit.ly/3dMsdKK>

Lowenfels, J. (2020). *Iniciación al cultivo del cánnabis autoflorecente.* (1ª ed). Editorial Melusina, S.L. <https://bit.ly/3BkKODc>

Lluva Llord, M. (2019). *Métodos analíticos para la determinación de antioxidantes en el vino* [Tesis de pregrado, Universidad Complutense]. <https://bit.ly/3109Cnz>

Marcano, D. y Hasegawa, M. (2002). *Fitoquímica Orgánica* (2ª ed.). Universidad Central de Venezuela. <https://bit.ly/3xT4ezq>

Márquez, C. J., Otero, C. M., Rojano, B. A. y Osorio, J. A. (2014), Actividad antioxidante y concentración de compuestos fenólicos del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* S.) en poscochea. *Temas Agrarios*, 19(2), 173-184. <https://doi.org/10.21897/rta.v19i2.732>

Mendoza Abarca, A. V. (2015). *Estudio de los Recursos Fitoterapéuticos Ancestrales para su conservación y aprovechamiento sostenible. Aislamiento e identificación de*

metabolitos secundarios de la especie vegetal Iresine herbstii Hook [Tesis de pregrado, Universidad Técnica Particular de Loja]. <https://bit.ly/3u4Cw1v>

Minga Ochoa, D. A. (2014). *Relación entre conocimiento tradicional y diversidad de plantas en el bosque protector Aguarongo Azuay Ecuador*. [Tesis de posgrado, Universidad Politécnica Salesiana]. <https://bit.ly/3OpyMQj>

Orbergozo Chavez, N. (2018). *Determinación de polifenoles totales y evaluación de la actividad antioxidante in vitro, del extracto seco de los rizomas y hojas de Valeriana isoetifolia killip* [Tesis de pregrado, Universidad Católica los Ángeles Chimbote]. <https://bit.ly/3QMtlqW>

Parola Contreras, I., Guevara González, R., Feregrino Pérez, A., Reynoso Camacho, R., Pérez Ramírez, I., Ocampo Velázquez, R., Rojas Molina, A., Luna Vazquez, F. y Tovar Pérez, E. (2020). Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos metanólicos de hojas y flores de chilcuague (*Heliopsis longipes*, Asteraceae). *Ciencias botánicas*, 99 (1), 149-160. <https://doi.org/10.17129/botsci.2671>

Plantas del mundo en línea. Valeriana tomentosa Kunth. <https://bit.ly/3HS3ZsS>

Porras, K. (2022). *Re: Medicina ancestral* [Comentario en el foro Observatorio de los Derechos de los Pueblos Indígenas y campesinos]. UNICEN. <https://bit.ly/3bxu1pz>

Raele, F. (2019). *Medicina Ancestral y epigenética* (1ª ed.). Planeta S.A.I.C. <https://bit.ly/3bsjBHw>

Rivas Morales, C., Oranday Cárdenas, M. y Verde Star, M. (2016). *Investigación en plantas de importancia médica*. Editorial OmniaScience. <https://bit.ly/2Zl92A0>

Rodríguez Pava, C. N., Zárate Sanabria, A. G., & Sánchez Leal, L. C. (2017). Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas frente a patógeno de importancia clínica en Colombia. *Nova*, 15(27), 119-129. <https://bit.ly/3NmjQkE>

Rojas Márquez, F. A. & Amaro Luis, J. M. (2015). Aportes quimiotaxonomicos al estatus actual de la familia *Caprifoliaceae*. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 6 (3), 25-44. <https://bit.ly/3nia74h>

Rondón, M., Velasco, J., Rojas, J., Gámez, L., León, G., Entralgo, E. y Morales, A. (2018). Actividad antimicrobiana de cuatro especies de Valeriana (*Caprifoliaceae*) endémicas de los Andes venezolanos. *Revista de Biología Tropical*, 66 (3), 1282-1289. <https://bit.ly/3NoeoxR>

Ruiz Santillan, M. P. y Mejia Coico, F. R. (2020). Plantas utilizadas en medicina tradicional para afecciones respiratorias virales. *REBIOL*, 40 (1), 109-130. <http://dx.doi.org/10.17268/rebiol.2020.40.01.12>

San Martin, E. (2020). Avances de investigación en nanociencia, micro y nanotecnologías. (Vol. 2). Editorial OmniaScience. <https://bit.ly/3vOWm0j>

Sánchez Robles, J. y Torres Muros, L. (2020). Educación, etnobotánica y rescate de saberes ancestrales en el Ecuador. *Revista Espacios*. 41(23), 165. <https://bit.ly/3nyeA2n>

Shahidi, F. y Zhong, Y. (2010). Nuevos antioxidanes en la preservación de la calidad de los alimentos y la promoción de la salud. *Revista europea de ciencia y tecnología de los lípidos*. 112(9), 930-940. <https://bit.ly/3mi5XcX>

Sillo Marcalla, Á. (2010). *Estudio del Uso de las Plantas Medicinales y su Conservación en la Cooperatativa Cotopilaló, Razuyacu-Corazón y la interacción con los Shamanes de la Unión de Organizaciones Campesinas del Norte de Cotopaxi "UNOCANC"* [Tesis de pregrado, Universidad de San Francisco de Quito]. <https://bit.ly/3GoYeSw>

Taiz, L. y Zeiger, E. (2006). *Fisiología vegetal*. (Vol. 1). Editorial Universitat Jaume. <https://bit.ly/3CjanGc>

Tropicos.org. Jardín Botánico de Misuri. (1994). *Plantas con semillas de los Andes altos de Ecuador*. <https://bit.ly/3yj4TeS>

Tropicos.org. Jardín Botánico de Misuri. *Valeriana tomentosa Kunth*. <https://bit.ly/3bnM9C1>

UNAL. (29 enero, 2021). *Uso de plantas medicinales se perdería por falta de estudios*. Colombia. <https://bit.ly/3nyjcpd>

USIL. (2018). *Aguaje, fruto de la vida*. Editorial USIL. <https://bit.ly/3BidsVq>

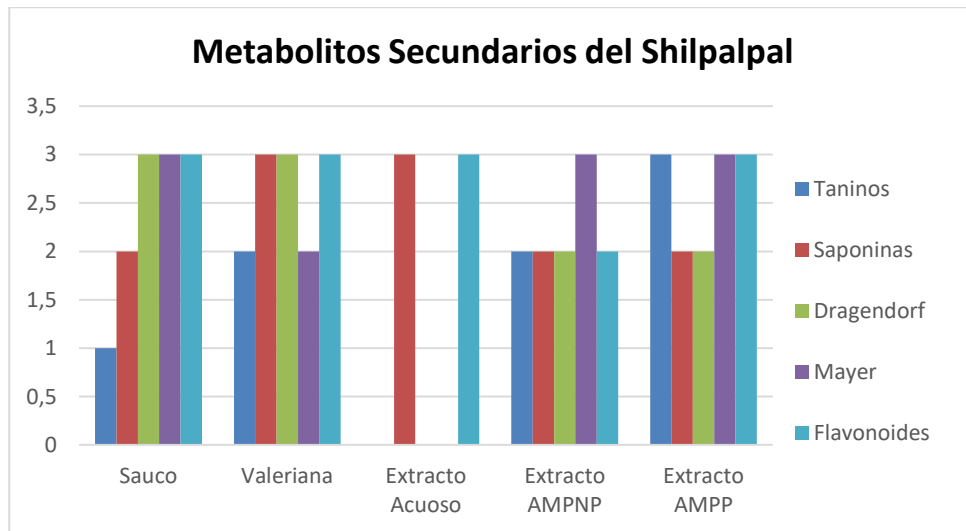
Vega, Ñ., (2014). *Jardín artístico y medicinal en la esfera pública de la ciudad de Quito [Tesis de pregrado, Universidad central del Ecuador]*. <https://bit.ly/3jCB2pV>

WFO. (2022). *Dipsacales Juss. ex Bercht. & J. Presl*. <https://bit.ly/3OpMLWv>

ANEXOS

Anexo 1: Metabolitos Secundarios del Shilpalpal

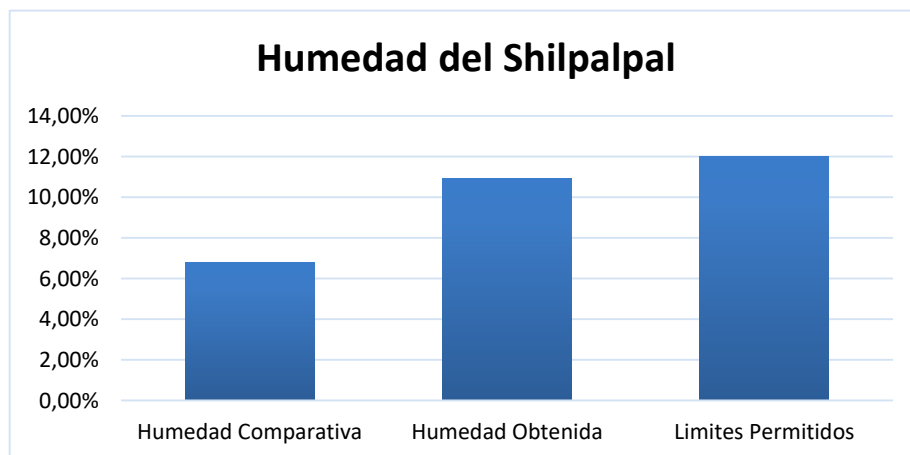
Gráfica 2: Comparación de metabolitos secundarios presentes en el Shilpalpal contra el Sauco «*Caprifoliaceae*» y la Valeriana «*Valeriana L.*»



Fuente: Autora

Anexo 2: Humedad del Shilpalpal

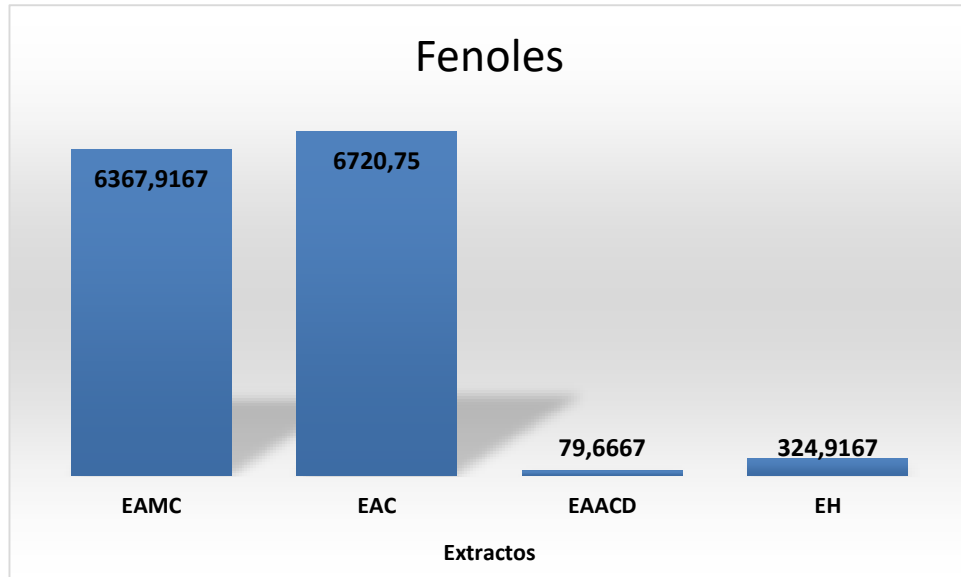
Gráfica 3: Comparación de la humedad obtenida «Autora» contra la humedad obtenida por Guillen y Sarmiento «humedad comparativa».



Fuente: Autora

Anexo 3: Fenoles del Shilpalpal

Gráfica 4: Comparación de las cantidades de fenoles obtenidas en los diferentes extractos



Fuente: Autora

EAMC: Extracto acuoso macerado concentrado

EAC: Extracto alcohólico concentrado

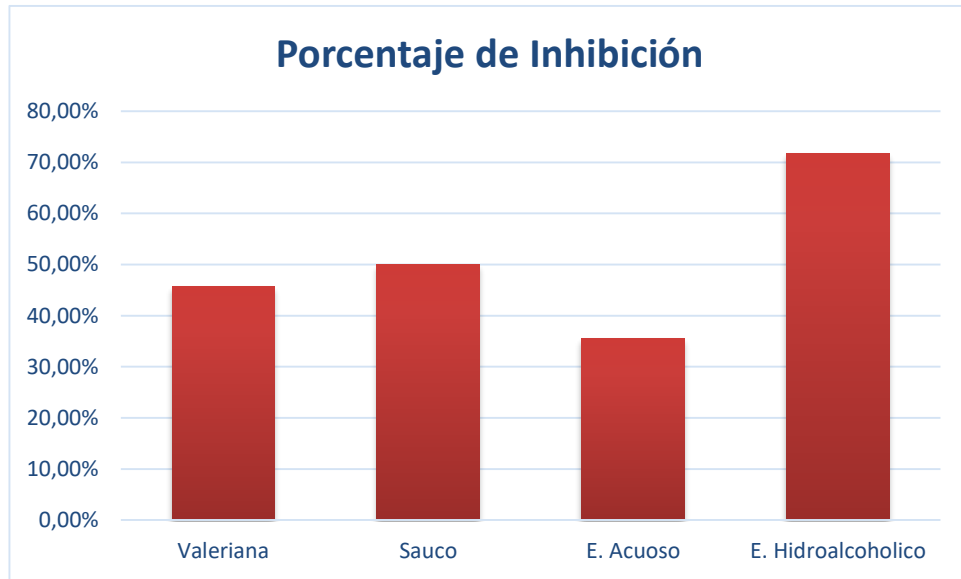
EAACD: Extracto acuoso con ácido clorhídrico diluido

EH: Extracto hidroalcohólico

Anexo 4: Capacidad antioxidante

Fuente: Autora

Gráfica 5: Comparación de los resultados de la capacidad antioxidante contra el sauco y valeriana.



Anexo 5: Selección y secado de la materia prima

Fuente: Autora

Figura 10. Recolección de materia prima



Figura 11. Selección de la materia prima



Figura 12. Lavado y secado de la materia prima.



Anexo 6. Secado en la estufa y triturado de las hojas de shilpalpal.

Fuente: Autora

Figura 13. Colocar en bandejas de aluminio la materia prima y llevarlos a la estufa.



Figura 14. Colocar la materia prima en bandejas de aluminio para llevarlas a la estufa a una temperatura de 40 °C.



Figura 15. Materia prima seca, una vez haya transcurrido el tiempo de secado.



Figura 16. Triturado de las hojas para realizar los extractos acuoso y alcohólico.



Anexo 7. Preparación de los extractos acuoso y alcohólico.

Fuente: Autora

Figura 17. Picado de las hojas frescas para el extracto.



Figura 18. Extracto alcohólico de materia prima no procesada.



Figura 19. Extracto alcohólico con materia prima procesada.

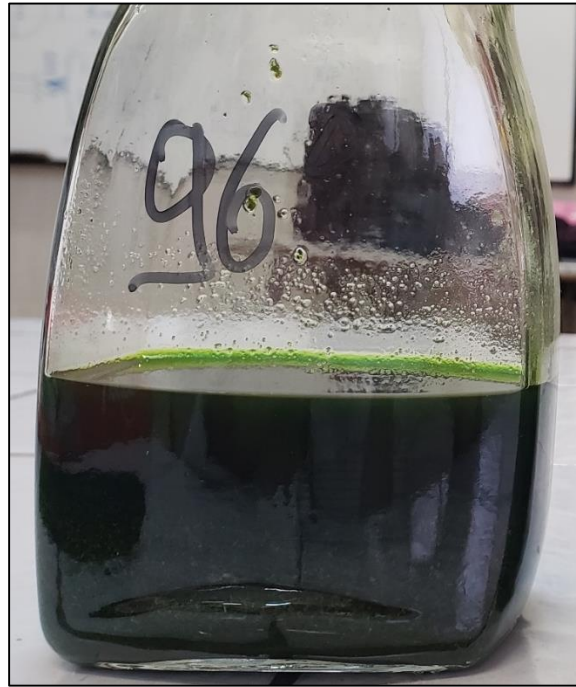


Figura 20. Extracto acuoso con materia prima procesada.

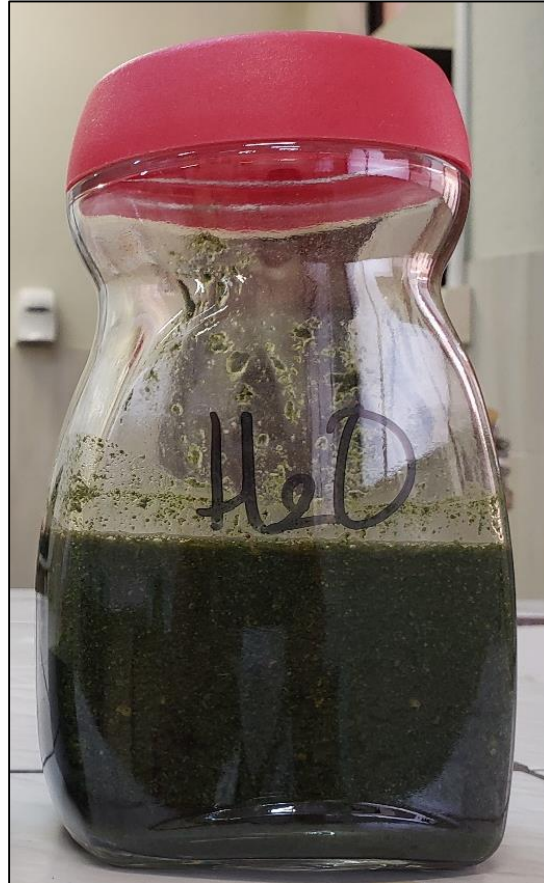


Figura 21. En tubos Falcon preparar las soluciones hidroalcohólicas y el acuoso con HCl al 0,01%.



Anexo 8. Purificación de los extractos alcohólicos y acuoso.

Fuente: Autora

Figura 22. Filtrado de los extractos alcohólicos y acuoso





Figura 23. Extracción de alcohol en el rotavapor.



Figura 24. Extracto acuoso, alcohólico de materia prima procesada y no procesada.

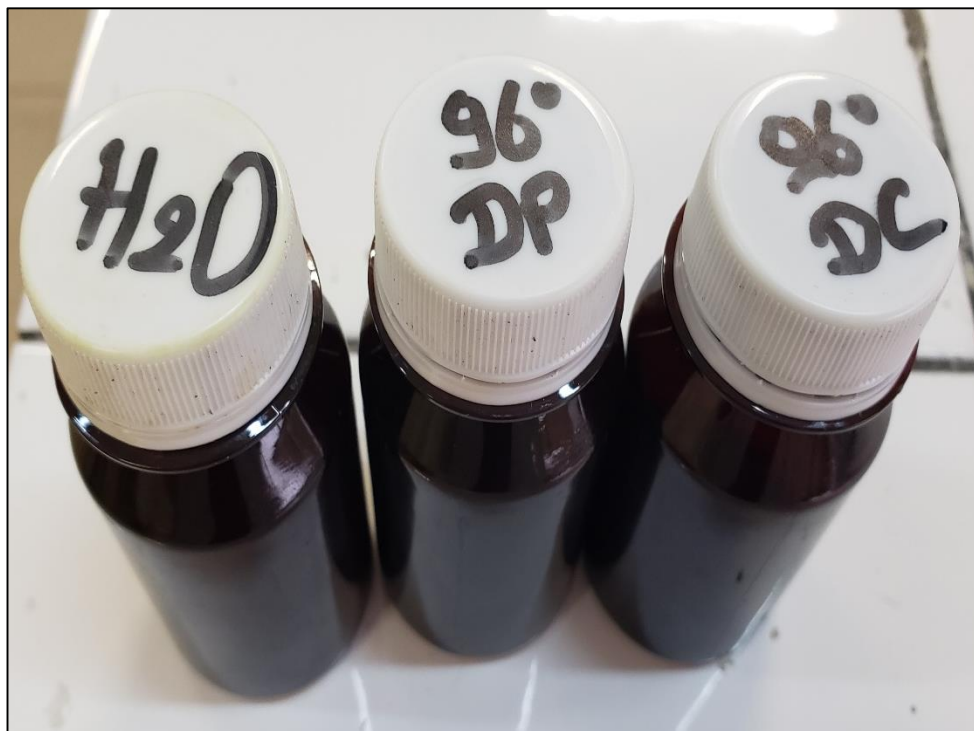


Figura 25. Llevar los tubos Falcon a la centrífuga a 7500 rpm por 30 minutos.



Figura 26. Filtrar el sobrenadante de los extractos y colocarlos en un frasco ámbar.



Anexo 9. Cuantificación de fenoles.

Fuente: Autora

Figura 27. Preparación de las diluciones del ácido gálico.



Figura 28. Colocar las diluciones en viales ámbar y dejar en el roto mix por 30 min.



Figura 29. Diluciones de los extractos.



Anexo 10. Capacidad Antioxidante

Fuente: Autora

Figura 30. Preparación de la solución de DPPH

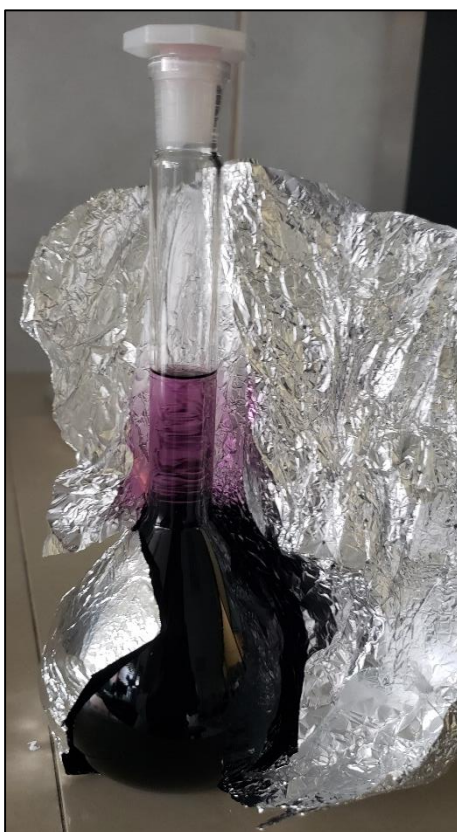


Figura 31. Corrida de las muestras del ácido gálico



Figura 32. Corrida de los extractos.



Anexo 11. Humedad

Fuente: Autora

Figura 33. Colocar las hojas de Shilpalpal en el halógeno.

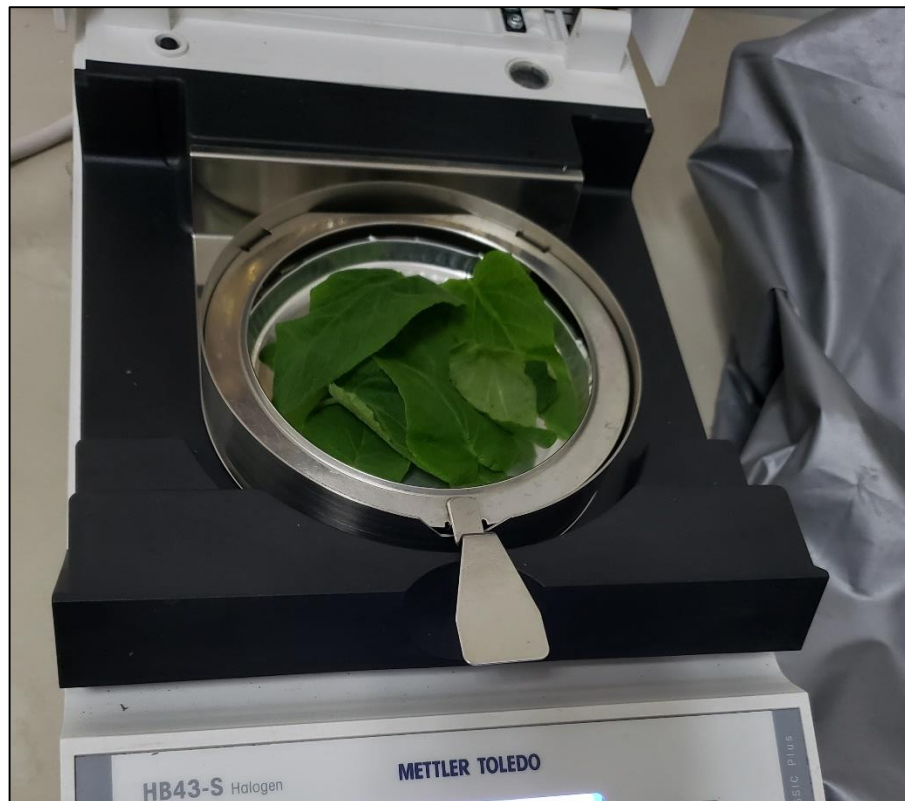


Figura 34. Dejar las hojas en el halógeno por 30 min.



Anexo 12. Marcha Fitoquímica

Fuente: Autora

Figura 35. Azúcares



Figura 36. Carbohidratos

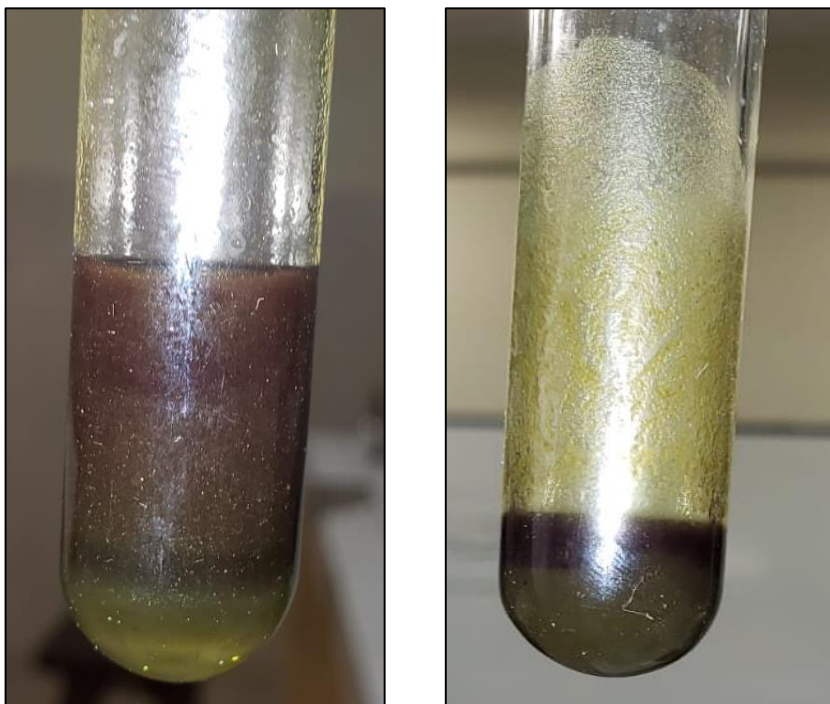


Figura 37. Cumarinas

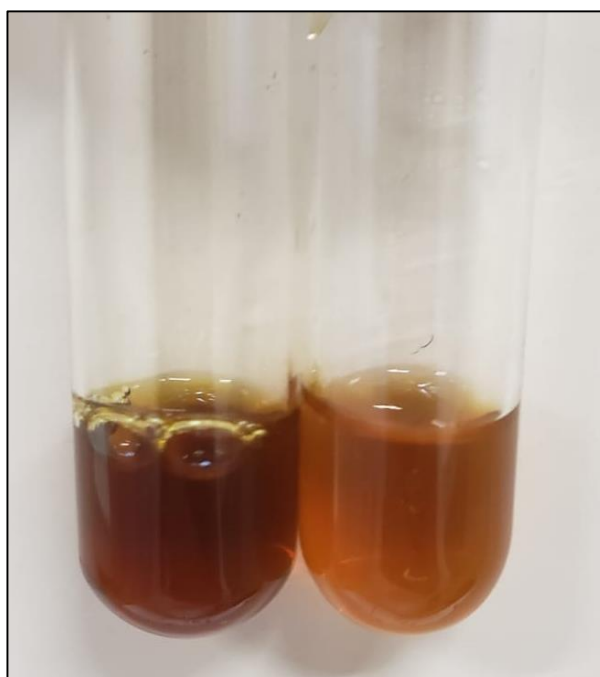


Figura 38. Taninos

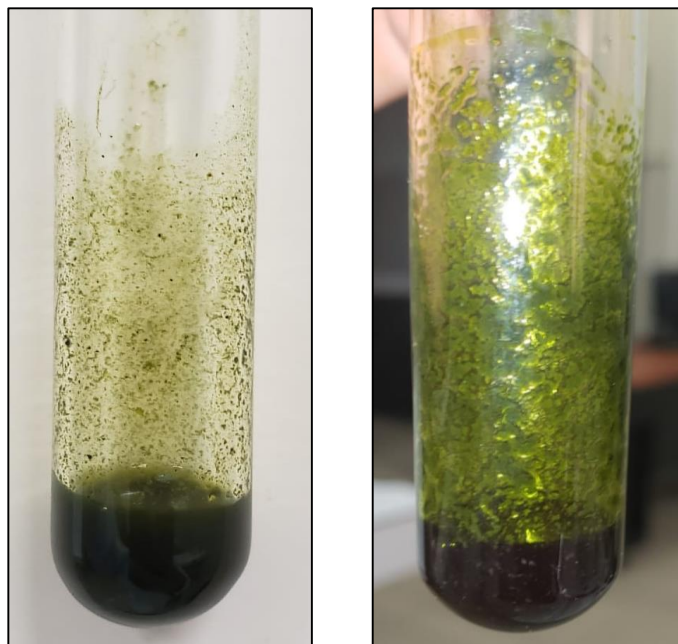


Figura 39. Saponinas



Figura 40. Flavonoides



Figura 41. Alcaloides Dragendorf / Mayer

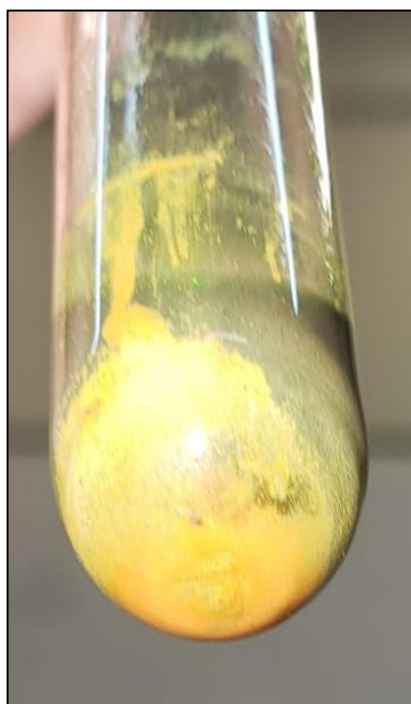


Figura 42. Lípidos



Figura 43. Almidón

