



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE GUAYAQUIL

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

**REVISIÓN SISTEMÁTICA DE MÉTODOS DE EXTRACCIÓN Y TÉCNICAS
DE TAMIZAJE FITOQUÍMICO PARA CINCO METABOLITOS SECUNDARIOS
DE ESPECIES VEGETALES**

Trabajo de titulación previo a la obtención del
Título de Ingeniera en Biotecnología

AUTORES:

CAMILA ANGELINA CÁRDENAS CHUMO

MADELINE DOMÉNICA ESPINOZA GALLEGOS

TUTOR:

MSc. ANGELA PACHECO FLORES DE VALGAZ

GUAYAQUIL - ECUADOR

2024

CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

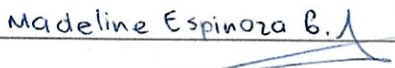
Nosotros, **Camila Angelina Cárdenas Chumo** con documento de identificación N° 0950017640 y **Madeline Doménica Espinoza Gallegos** con documento de identificación N° 0950365379; manifestamos que:

Somos los autores y responsables del presente trabajo; y, autorizamos a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Guayaquil, 21 de agosto del año 2024

Atentamente,


Camila Angelina Cárdenas Chumo
CI: 0950017640


Madeline Doménica Espinoza Gallegos
CI: 0950365379

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

Nosotros, **Camila Angelina Cárdenas Chumo** con documento de identificación N° 0950017640 y **Madeline Doménica Espinoza Gallegos** con documento de identificación N° 0950365379, expresamos nuestra voluntad y por medio del presente documento cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autores del trabajo experimental: **REVISIÓN SISTEMÁTICA DE MÉTODOS DE EXTRACCIÓN Y TÉCNICAS DE TAMIZAJE FITOQUÍMICO PARA CINCO METABOLITOS SECUNDARIOS DE ESPECIES VEGETALES**, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: *Ingeniero/a en Biotecnología*, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

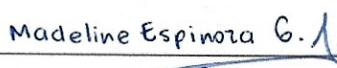
En concordancia con lo manifestado, suscribimos este documento en el momento que hacemos la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Guayaquil, 21 de agosto del año 2024

Atentamente,



Camila Angelina Cárdenas Chumo
CI: 0950017640



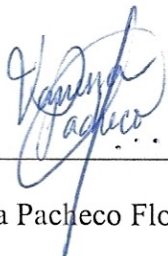
Madeline Doménica Espinoza Gallegos
CI: 0950365379

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, **Ángela Pacheco Flores De Valgaz** con documento de identificación N° 0930726112, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **REVISIÓN SISTEMÁTICA DE MÉTODOS DE EXTRACCIÓN Y TÉCNICAS DE TAMIZAJE FITOQUÍMICO PARA CINCO METABOLITOS SECUNDARIOS DE ESPECIES VEGETALES**, realizado por **Camila Angelina Cárdenas Chumo** con documento de identificación N° 0950017640 y **Madeline Doménica Espinoza Gallegos** con documento de identificación N° 0950365379, 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.

Guayaquil, 21 de agosto del año 2024

Atentamente,



Ángela Pacheco Flores De Valgaz

CI: 0930726112

Dedicatoria Camila Cárdenas

En primer lugar, dirijo esta tesis a Dios, quien ha sido mi luz en pequeños momentos de incertidumbre y debilidad, por haberme brindado salud, sabiduría y paciencia necesaria para llegar hasta aquí.

A mi familia, que fueron mi pilar a lo largo de toda esta travesía. A mi tío Ricardo, por su amor incondicional, por enseñarme el valor del esfuerzo y la perseverancia, por creer en mí incluso en momentos en que dudaba de mí misma. A mi mamá Karyn, por sus sacrificios, por enseñarme el valor de la dedicación, por ser ese ejemplo constante de trabajo duro, integridad y paciencia. A mis abuelos Mariana y Selio, por las lecciones de vida que me han inculcado desde pequeña. A mis hermanos y sobrinos, por su compañía y por ser fuente constante de alegría, motivación y comprensión. A mis tíos, primos, por estar presente para ofrecerme su apoyo. Cada uno de ustedes ha jugado un papel esencial en mi vida.

A mis amigos, gracias por estar a mi lado y recordarme que la vida es más que solo estudio y trabajo, por sus risas compartidas, por los consejos y su amistad que ha sido un tesoro valioso en este proceso. No puedo dejar de mencionar a mi fiel compañera Mila, por su compañía silenciosa pero constante, por su inagotable energía que me recordaban la importancia de tomar pausas y disfrutar los pequeños momentos de la vida, haciendo que las largas jornadas de estudio fueran más llevaderas con su amor incondicional. Sin más que decir, dedico este logro a todos aquellos que, de una manera u otra, han dejado una marca en mi vida durante este proceso. A quienes, con sonrisas, palabras de aliento o los pequeños gestos, me han ayudado a seguir adelante. Esto también es un recordatorio para mí, de que con esfuerzo, dedicación y pasión todo es posible.

Con mucho amor, Camila

Dedicatoria Madeline Espinoza

A Dios Todopoderoso, fuente infinita de sabiduría y conocimiento, porque su infinita misericordia y gracia que me han permitido alcanzar esta meta.

A mis padres, quienes han forjado mi camino educacional brindándome todas las herramientas necesarias y siendo un fuerte apoyo cuando algún inconveniente se presenta.

A mi hermana, por enseñarme otras aristas de la vida y permitirme disfrutar un poco más de mi último semestre universitario.

A mi abuelito, quien con su amor me enseñó a disfrutar cada una de las etapas de mi vida.

A mis abuelitas, quienes me han enseñado a tomarme con calma la vida y quienes constantemente me hacen llegar su amor con comida recién hecha.

A mis amigos y compañeros de universidad, con quienes he compartido y disfrutado de este proceso.

A mi compañera de tesis, Camila, con quien hemos compartido este emocionante proceso para nuestra titulación.

A nuestra tutora de tesis, Ángela Pacheco, quien confió en nosotras y nos brindó su guía de inicio a fin.

A todos ustedes, gracias por ser parte fundamental de este trabajo de titulación.

Con amor, Madeline.

Agradecimientos Camila Cárdenas

Quiero expresar mi sincero agradecimiento a la Universidad Politécnica Salesiana, por proporcionarme los recursos, las herramientas y el entorno necesario para lograr este trabajo. La disponibilidad del acceso a la biblioteca y laboratorios, y el apoyo de nuestros docentes que hicieron posible que este proceso se materializara.

Así mismo, quiero agradecerle de manera especial a mi compañera de tesis Madeline. Tu dedicación, esfuerzo y compromiso han sido indispensable a lo largo de este tiempo. La comunicación que hemos compartido y tu capacidad para trabajar en equipo hicieron esta experiencia valiosa y agradable.

A nuestra tutora Ángela Pacheco, por brindarnos su apoyo y confianza en este trayecto, ayudándonos a perfeccionar nuestro trabajo, compartiendo su tiempo y ofreciéndonos sugerencias valiosas en todo este tiempo.

A todos los que hicieron parte de este logro, mi más sincero agradecimiento.

Agradecimientos Madeline Espinoza

Agradezco a Dios y a Don Bosco. A Dios, por guiarme a través de este proceso y darme la fortaleza para superar los obstáculos. A Don Bosco, de quien he aprendido que el conocimiento es un don que debe ser compartido. Gracias a sus enseñanzas, hemos podido realizar esta investigación y contribuir al desarrollo de esta comunidad universitaria.

Agradezco a la Universidad Politécnica Salesiana por brindarnos una educación de calidad de la mano de profesionales comprometidos con nuestro bienestar, aprendizaje y desarrollo personal, académico, mental y profesional.

A mis padres, por motivarme a superarme día a día, por brindarme las herramientas necesarias y por enseñarme a ser resiliente y disfrutar día a día de este proceso formativo. A mi hermana, por su compañía durante largas noches.

A nuestra tutora, por su inquebrantable apoyo y orientación durante todo el proceso de elaboración de la tesis. Su experiencia y paciencia han sido invaluable. Su mentoría no solo nos ha ayudado a desarrollar nuestras habilidades académicas, sino que también nos ha inspirado a continuar desarrollándonos en esta área temática.

Resumen

La incorporación de conocimientos ancestrales sobre la utilización de las plantas con la Biotecnología moderna es crucial para el avance en la investigación y validación de compuestos bioactivos. La estandarización de métodos de extracción y técnicas de tamizaje fitoquímico es un beneficio para los investigadores debido a la carencia de manuales actualizados y accesibles en español, que den paso necesario a fomentar el desarrollo de nuevas investigaciones. La importancia de los metabolitos secundarios en las plantas cumple funciones claves en la interacción de la planta con su entorno. Estos compuestos, como alcaloides, flavonoides, fenoles, saponinas y cumarinas, poseen diversas actividades biológicas que los hacen valiosos en la medicina y otras aplicaciones. La elección del método de extracción y solvente, dependerá del tipo de metabolito a extraer. Los métodos con mayor implementación son la maceración y la extracción Soxhlet. A su vez, la ciencia continúa avanzando y desarrollando técnicas más modernas como la extracción asistida por ultrasonido y la extracción asistida por microondas, que ofrecen ventajas en términos de eficiencia y selectividad. Cada una de las técnicas de tamizaje fitoquímico emplea reactivos específicos que interactúan con los metabolitos para producir cambios visibles, o cambios de color, lo que permite inferir la presencia de ciertos compuestos en el extracto vegetal. Estas técnicas, aunque cualitativas, proporcionan una primera aproximación esencial para el análisis más detallado de los metabolitos secundarios presentes en las plantas. El creciente interés en la investigación de especies vegetales en Ecuador subraya la importancia de recopilar y sintetizar esta información, que facilitará la investigación y el desarrollo de nuevos productos basados en metabolitos secundarios, beneficiando tanto a la ciencia como a la sociedad.

Palabras clave: Métodos de extracción; Tamizaje fitoquímico; Metabolitos secundarios; Solventes.

Abstract

The incorporation of ancestral knowledge about the use of plants with modern Biotechnology is crucial for the advancement in the research and validation of bioactive compounds. The standardization of extraction methods and phytochemical screening techniques is a benefit for researchers due to the lack of updated and accessible manuals in Spanish, which give a necessary step to promote the development of new research. The importance of secondary metabolites in plants fulfills key functions in the interaction of the plant with its environment. These compounds, such as alkaloids, flavonoids, phenols, saponins and coumarins, possess diverse biological activities that make them valuable in medicine and other applications. The choice of extraction method and solvent will depend on the type of metabolite to be extracted. The most widely implemented methods are maceration and Soxhlet extraction. At the same time, science continues to advance and develop more modern techniques such as ultrasound-assisted extraction and microwave-assisted extraction, which offer advantages in terms of efficiency and selectivity. Each of the phytochemical screening techniques employs specific reagents that interact with the metabolites to produce visible changes, or color changes, which allows the presence of certain compounds in the plant extract to be inferred. These techniques, although qualitative, provide an essential first approximation for the more detailed analysis of the secondary metabolites present in plants. The growing interest in plant species research in Ecuador underlines the importance of collecting and synthesizing this information, which will facilitate the research and development of new products based on secondary metabolites, benefiting both science and society.

Keywords: Extraction methods; Phytochemical screening; Secondary metabolites; Solvents.

Índice de Contenido

Capítulo 1	1
Antecedentes	1
1.1. Introducción	1
1.2. Planteamiento del problema	3
1.3. Justificación.....	3
1.4. Objetivos	6
1.4.1. Objetivo General	6
1.4.2. Objetivos Específicos	6
Capítulo 2.....	7
Marco Teórico	7
2.1. Diversidad biológica de Ecuador	7
2.2. Metabolitos secundarios	7
2.2.1. Fenoles	8
2.2.2. Alcaloides.....	8
2.2.3. Flavonoides	9
2.2.3. Cumarinas.....	11
2.2.3. Saponinas	13
2.3. Métodos de extracción	13
2.4. Extracción por métodos convencionales	14
2.4.1. Maceración	14
2.4.2. Percolación	15

2.4.3. Decocción.....	15
2.4.4. Extracción por Soxhlet	16
2.4.5. Selección del solvente	16
2.5. Extracción por métodos no convencionales	19
2.5.1. Extracción asistida por ultrasonido (UAE)	19
2.5.2. Extracción con fluidos supercríticos (SFE).....	20
2.5.3. Extracción asistida por microondas (MAE)	21
2.6. Técnicas cualitativas de tamizaje fitoquímico	21
2.6.1. Técnicas cualitativas de tamizaje fitoquímico: fenoles.....	22
2.6.2. Técnicas de tamizaje fitoquímico: alcaloides.....	23
2.6.3. Técnicas de tamizaje fitoquímico: flavonoides	25
2.6.4. Técnicas de tamizaje fitoquímico: cumarinas	26
2.6.5. Técnicas de tamizaje fitoquímico: saponinas.....	27
2.7. Estrategia metodológica	28
2.7.1. Definición del problema.....	28
2.7.2. Búsqueda sistemática	28
2.7.3. Organización de la información	31
2.7.4. Análisis de la información.....	31
2.7.5. Aplicación biotecnológica.....	32
2.8. Bases de datos	32
Capítulo 3.....	34

Metodología.....	34
3.1. Búsqueda de literatura	34
Capítulo 4.....	35
Resultados y Discusiones	35
4.1. Características de los estudios.....	35
4.2. Resultados de la revisión.....	36
4.3. Discusiones de los resultados	43
Capítulo 5.....	48
Conclusiones y Recomendaciones	48
5.1. Conclusiones	48
5.2. Recomendaciones.....	49
Referencias Bibliográficas	51

Abreviaturas

a.C.	Antes de Cristo
NCBI	National Center for Biotechnology Information
UAE	Extracción asistida por ultrasonido
SFE	Extracción con fluidos supercríticos
MAE	Extracción asistida por microondas
GC	Cromatografía de gases
LC	Cromatografía líquida
HPLC	Cromatografía líquida de alto rendimiento
HPTLC	Cromatografía de capa fina de alto rendimiento
NIH	Institutos Nacionales de Salud

Simbología

°C	grados Celsius
g	gramo
%	porcentaje
EtOH	Etanol
MeOH	Metanol
CO ₂	Dióxido de carbono
FeCl ₃	Cloruro de hierro (III)
HCl	Ácido clorhídrico
NaOH	Hidróxido de Sodio
MPa	Mega pascal
Bi ³⁺	Ion Bismuto

Índice de figuras

Figura 1. <i>Ejemplos de flavonoides según su estructura.</i>	10
Figura 2. <i>Ejemplos de estructuras cumarínicas.</i>	12
Figura 3. <i>Reacción del fenol con FeCl₃.</i>	23
Figura 4. <i>Reacción de la prueba de Mayer.</i>	24
Figura 5. <i>Reacción del reactivo de Wagner.</i>	24
Figura 6. <i>Reacción del reactivo de Draggendorff.</i>	25
Figura 7. <i>Reacción de hidrólisis de saponinas en agua.</i>	27

Índice de tablas

Tabla 1. <i>Selección de solventes para la extracción de los metabolitos de estudio.</i>	18
Tabla 2. <i>Número de resultados por base de datos y palabras de búsqueda categorizados entre sin filtros y con los criterios de exclusión de los últimos cinco años.</i>	35
Tabla 3. <i>Comparativa de los métodos de extracción convencionales y no convencionales.</i>	36
Tabla 4. <i>Solventes preferidos por los métodos de extracción convencionales y no convencionales.</i>	39
Tabla 5. <i>Procedimiento, especificidad, sensibilidad e inferencia de técnicas cualitativas de tamizaje fitoquímico para cinco metabolitos.</i>	40

Capítulo 1

Antecedentes

1.1. Introducción

El Ecuador se distingue por su riqueza biológica (Morillo, 2023), por lo que el estudio de sus especies vegetales es imprescindible para reconocer sus servicios ecosistémicos. En la medicina tradicional ancestral el uso de recursos vegetales ha sido fundamental para las diferentes civilizaciones. Sus saberes ancestrales en el uso de las plantas se han transmitido de generación en generación y continúan en la memoria colectiva local de diversos pueblos ecuatorianos. Este conocimiento se ha adaptado a la mezcla única de cultura y entorno de cada comunidad. Dado que los seres humanos y su entorno están fundamentalmente entrelazados, la ciencia moderna busca encontrar más formas de integrar y validar este conocimiento tradicional (Rivero-Guerra, 2021).

Las plantas sintetizan una gran colección de productos naturales llamados metabolitos secundarios. Estos compuestos cumplen importantes funciones ecológicas (Sharifi-Rad et al., 2021). El uso de metabolitos vegetales comenzó en el año 2600 a. C., y en los 4000 años siguientes, los metabolitos secundarios procedentes de plantas se utilizaron principalmente con fines medicinales y venenosos, así como alimenticios (Twaij & Hasan, 2022). Actualmente, los metabolitos secundarios presentes en las plantas se aprovechan en áreas como la tecnología alimentaria, el desarrollo de productos farmacéuticos y biomateriales, y en múltiples procesos industriales (Tewari et al., 2020).

Durante los últimos cinco años se ha despertado un interés por el estudio fitoquímico de las especies vegetales presentes en la región, esto se evidencia en los trabajos de titulación publicados en las bases de datos de diversas universidades del país y en los artículos publicados en múltiples bases de datos como PubMed, NCBI, Springer y Google Scholar. Estas

investigaciones están impulsadas por la premisa de profundizar en el conocimiento de las propiedades antioxidantes, astringentes, antiinflamatorias, antibacterianas de estos compuestos, sentando las bases para la creación de nuevos productos que puedan beneficiar a los sectores alimentario, nutracéutico y farmacéutico (Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación, 2016).

El estudio de los metabolitos secundarios de las especies vegetales, en base a la variedad de pruebas fitoquímicas, busca hallar los compuestos activos que contribuyan con un amplio espectro de actividades biológicas, incluyendo propiedades antioxidantes, antimicrobianas, anticancerígenas y antiinflamatorias (Quiroz Tapia, 2021). Las plantas presentan varios tipos de constituyentes químicos que se pueden clasificar según su composición química; ejemplos de estos constituyentes son los fenoles, los flavonoides, los alcaloides, las cumarinas, las saponinas, entre otros (Lustre Sánchez, 2022).

Los fenoles son los metabolitos secundarios más pronunciados que se encuentran en las plantas (Alara et al., 2021), las actividades naturales antioxidantes, antimicrobianas, anticancerígenas y antiinflamatorias de los compuestos fenólicos se han convertido en un punto importante en términos de investigación y utilización en la actualidad (Zhang et al., 2022). Su clasificación según su estructura biosintética son dos clases principales, flavonoides y no flavonoides (Cosme et al., 2020).

Dentro de esta amplia familia, los flavonoides son metabolitos secundarios y bioestimulantes, que desempeñan un papel clave en el crecimiento de las plantas al inducir resistencia contra ciertos estreses bióticos y abióticos (Shah & Smith, 2020). Otros grupos de metabolitos secundarios como los alcaloides son moléculas bioactivas estructuralmente únicas con una capacidad terapéutica eficaz (Dey et al., 2020). Las cumarinas son un grupo de metabolitos secundarios con actividades potenciales, las cuales abundan en la naturaleza y sus

fuentes incluyen raíces de plantas, rizomas, hojas y cortezas, además de varias plantas marinas (Sharifi-Rad et al., 2021). Las plantas ricas en saponinas son fuentes importantes de tensioactivos naturales debido a sus excelentes propiedades fisicoquímicas y biológicas, tanto para investigación como para fines comerciales (Rai et al., 2021).

1.2. Planteamiento del problema

El estudio de los componentes bioactivos de las plantas ha sido una tarea desafiante para los investigadores (Shaikh & Patil, 2020). El limitado contenido de publicaciones de protocolos estandarizados de libre acceso con métodos sobre tamizaje fitoquímico genera una cadena de complicaciones, como la dificultad para contrastar diversos estudios realizados, lo que resulta en una falta de reproducibilidad de los resultados (Swamy, 2020).

1.3. Justificación

La carrera de Biotecnología, durante tres semestres consecutivos, en conjunto con los alumnos de la materia de integración curricular, han trabajado en proyectos de titulación a favor de la investigación de los recursos naturales que la región ofrece, en los que se han requerido ensayos cualitativos de tamizaje fitoquímico como lo son el ensayo de Mayer, Wagner, Dragendorff, la prueba de Fehling y la reacción de Benedict. Los fenoles, alcaloides, flavonoides, cumarinas y saponinas constituyen los cinco grupos más grandes y comunes de componentes bioactivos de origen vegetal (Twaij & Hasan, 2022).

La selección del método de extracción adecuado es un paso crítico para los estudios cualitativos y cuantitativos de compuestos bioactivos de especies vegetales. El punto inicial para el estudio de las especies vegetales es la extracción, este procedimiento tiene un alto impacto en el resultado a obtener (Faboro et al., 2023). La consecución del análisis de los

compuestos bioactivos depende del rendimiento de los métodos de extracción, el tipo de solvente y las características de la especie vegetal (Vargas-Madriz et al., 2024).

La extracción de fitoquímicos de las plantas se realiza, en su mayoría, empleando plantas secas como material de partida para inhibir los procesos metabólicos que pueden causar la degradación de los compuestos activos (Fongang Fotsing et al., 2021). Tradicionalmente, los fitoquímicos se han extraído de las plantas mediante técnicas de extracción sólido-líquido, extracción Soxhlet, maceración, lixiviación, percolación, entre otras (Zhang et al., 2023).

Los tipos de solventes más utilizados son los solventes no polares; como, el hexano y el diclorometano, y los solventes polares; como, el agua, metanol y etanol (Abubakar & Haque, 2020). En la actualidad, la extracción por solventes es uno de los procedimientos que más se estudia y se utiliza, dado por su bajo costo en su realización, la facilidad al implementarlo y su amplio rango de aplicabilidad (Salas-Pérez et al., 2022).

Posterior a la extracción de los compuestos de las especies vegetales se realizan pruebas fitoquímicas preliminares en análisis cualitativo, lo cual implica la detección de grupos químicos específicos en extractos de plantas. Pruebas basadas en reacciones de color o precipitación son utilizadas para identificar la presencia de los metabolitos secundarios, como el reactivo de Dragendorff modificado para alcaloides, el ensayo de Shinoda para flavonoides, el reactivo de Fehling para azúcares reductores y la solución de cloruro férrico para fenoles (Evans, 2009).

Springer Link, Powell's Books y RJ Julia Booksellers expenden libros en formato digital y/o físico como "Fundamentals of Phytochemical Analysis", "Phytochemical Analysis and in Vitro Studies" y "Phytochemical Methods A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis" los cuales exploran detalladamente el amplio y fascinante mundo del análisis

fitoquímico. Sin embargo, al no contarse con un manual estandarizado actualizado y de libre acceso en español, el tiempo de investigación y recopilación de información para cada caso en particular es extenso. Además, la amplia variedad de métodos disponibles en diferentes trabajos de investigación dificulta la selección y aplicación de los métodos de extracción y técnicas para análisis fitoquímico (Ponphaiboon et al., 2023).

Tomando en consideración la amplia gama de métodos de extracción y técnicas para tamizaje fitoquímico disponibles destaca la necesidad de recopilar, documentar y sintetizar esta información en un solo documento de libre acceso para la comunidad científica y en idioma español.

1.4. Objetivos

1.4.1. *Objetivo General*

Evaluar la aplicación y eficacia de los métodos de extracción y técnicas cualitativas de tamizaje fitoquímico en la identificación de compuestos bioactivos en especies vegetales, a partir de un análisis sistemático de la literatura científica.

1.4.2. *Objetivos Específicos*

Identificar los métodos de extracción fitoquímica más utilizados en los últimos cinco años, describiendo sus principios fundamentales, evaluando la influencia del solvente y método de extracción seleccionado, y comparando su eficacia en términos de rendimiento, tiempo, consumo de solvente, escalabilidad y reproducibilidad.

Evaluar críticamente las características, aplicabilidad y selectividad de técnicas cualitativas de tamizaje fitoquímico a partir de la literatura científica existente, centrándose en artículos reportados sobre fenoles, alcaloides, flavonoides, cumarinas y saponinas.

Capítulo 2

Marco Teórico

2.1. Diversidad biológica de Ecuador

La diversidad biológica única de Ecuador, con sus múltiples ecosistemas y una riqueza incalculable de especies vegetales con propiedades bioactivas aún por descubrir y aprovechar, lo convierte en un país megadiverso de gran relevancia global (Bravo Velásquez, 2014). Este potencial biológico no solo representa una oportunidad única para el desarrollo de nuevas investigaciones y aplicaciones, sino también una responsabilidad para su conservación y uso sostenible, garantizando así el bienestar de las comunidades locales y el desarrollo económico del país. En este contexto, se la investigación relacionada a la obtención de compuestos bioactivos requiere ser actualizada constantemente, ya que las técnicas pueden ser modificadas y adaptadas para obtener extractos con índices de calidad más altos (Apolo Cumbicos, 2021).

Un análisis de 1426 productos naturales realizado por Armijos Riofrio et al. (2022) pone de manifiesto la subutilización de la biodiversidad nativa en el sector de productos naturales. El 26% representa productos nacionales y de las 273 especies identificadas, solo 178 son nativas, 83 son introducidas y 12 son endémicas. Estos resultados dan a conocer que existe un porcentaje bajo de especies utilizadas, por lo que, es necesaria mayor investigación de especies nativas que fortalezcan el creciente mercado en este tipo de productos naturales (Armijos Riofrio et al., 2022).

2.2. Metabolitos secundarios

La fitoquímica revela una rica diversidad de metabolitos secundarios sintetizados por las plantas, cuya combinación confiere propiedades únicas a cada (Anjali et al., 2023). El creciente interés en estos compuestos se debe a sus múltiples funciones biológicas, su relevancia ecológica y su potencial en diversas industrias (Twaij & Hasan, 2022). El análisis fitoquímico

es esencial para descubrir el perfil bioactivo de las plantas (Gedlu Agidew, 2022). Twaij y Hasan (2022) señalan que los fenoles, alcaloides, flavonoides, cumarinas y saponinas son los cinco grupos más habituales de metabolitos secundarios.

2.2.1. Fenoles

Los compuestos fenólicos abarcan una amplia gama de sustancias vegetales caracterizados por la presencia de uno o más grupos hidroxilo unidos a un anillo (Kumar et al., 2023). Estos compuestos pueden clasificarse en moléculas fenólicas simples y compuestos extremadamente polimerizados. Los componentes fenólicos se derivan de las vías del Shikimato, pentosa fosfato y fenilpropanoides en las plantas (Rabizadeh et al., 2022). Las sustancias fenólicas tienden a ser solubles en agua, ya que se presentan con mayor frecuencia combinadas con azúcares en forma de glucósidos y suelen localizarse en la vacuola celular (Badamtsetseg et al., 2006).

Para los fenoles, las extracciones generalmente se llevan a cabo en condiciones ácidas porque estos compuestos son más estables a pH bajo, y las condiciones ácidas les ayudan a permanecer neutrales al protonar sus estructuras moleculares; esto puede estar relacionado con el aumento de la capacidad de donación de electrones después de la desprotonación de la estructura molecular (Zbik et al., 2023). Aunque el uso de temperaturas elevadas promueve una mayor recuperación de compuestos fenólicos, el uso de temperaturas de extracción excesivas puede degradar los compuestos fenólicos (Supasatyankul et al., 2022).

2.2.2. Alcaloides

Los alcaloides son metabolitos secundarios de origen vegetal, compuestos orgánicos nitrogenados con una estructura química compleja que incluye un anillo de nitrógeno heterocíclico. Su nombre proviene del término "alcalino", ya que muchas de estas sustancias

presentan un carácter básico y forman sales con ácidos (Sharma et al., 2023). La diversidad estructural de los alcaloides es enorme, lo que se traduce en una amplia gama de propiedades biológicas y farmacológicas (Yan et al., 2021).

Terapéuticamente, los alcaloides son conocidos como agentes anestésicos, cardioprotectores y antiinflamatorios (Heinrich et al., 2021). Estos metabolitos secundarios son estructuras de bajo peso molecular y forman aproximadamente el 20% de los metabolitos secundarios de origen vegetal (Pratheeksha et al., 2022). Sobre la base de su precursor biosintético y su sistema de anillos heterocíclicos, los compuestos se han clasificado en varias categorías que incluyen alcaloides indol, piperidina, tropano, purina, pirrolizidina, imidazol, quinolizidina, isoquinolina y pirrolidina (Gavhale et al., 2023).

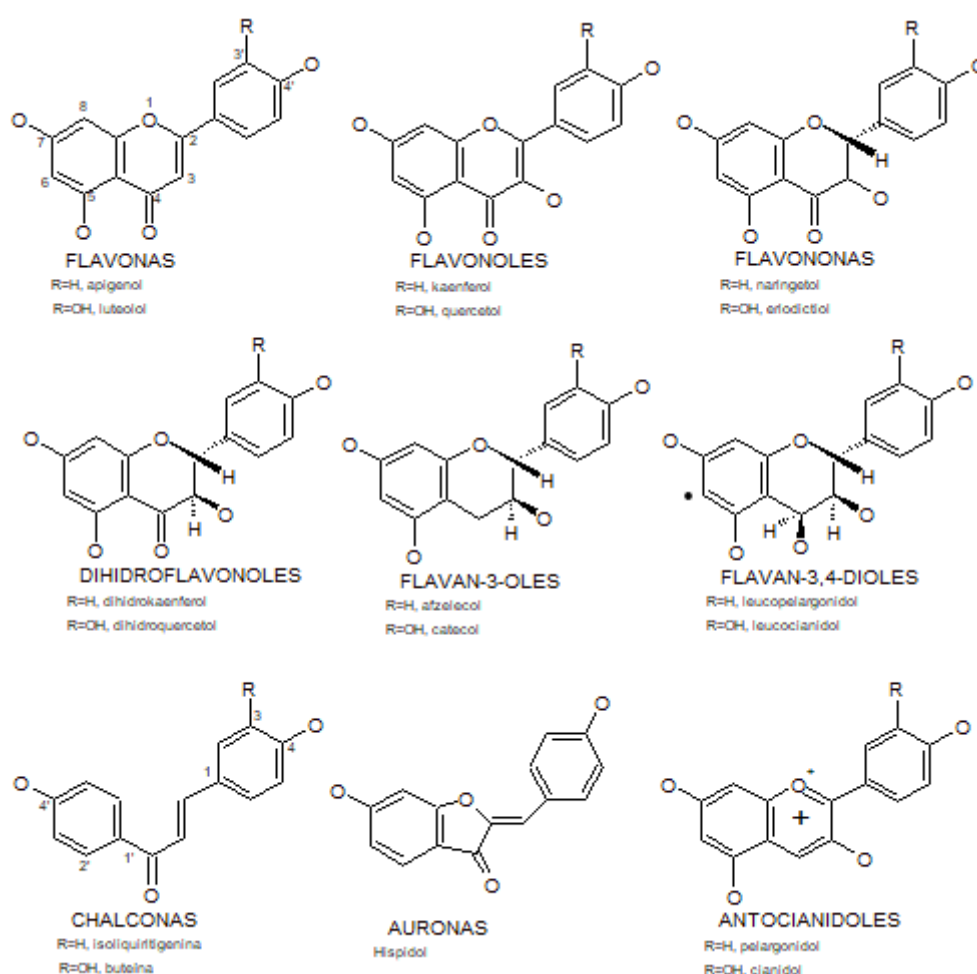
La mayoría de los alcaloides son bases débiles, debido a la presencia de un átomo de nitrógeno con un par solitario de electrones. Muchos de estos metabolitos se diluyen mal en agua, pero se disuelven fácilmente en disolventes orgánicos como el éter, el isopropanol y el etanol (Wilson, 2022). Varios de estos metabolitos se clasifican como termolábiles, lo que implica su susceptibilidad a la degradación cuando se exponen a temperaturas elevadas (Dey et al., 2020). El calor excesivo puede inducir la descomposición, rompiendo la compleja estructura molecular del alcaloide en compuestos más simples y menos potentes, lo cual conduce a una reducción en el rendimiento, disminuyendo la eficiencia general del proceso de extracción (González-Gómez et al., 2023).

2.2.3. Flavonoides

Los flavonoides, pigmentos casi universales en el reino vegetal (Bruneton, 2001), representan una de las clases más antiguas y conservadas de metabolitos secundarios. Su evolución deriva al surgimiento de muchas innovaciones en el metabolismo primario de las plantas, por ejemplo, la fotosíntesis de C4 (Erb & Kliebenstein, 2020). Los flavonoides se

encuentran involucrados en la regulación del crecimiento, desarrollo y de las respuestas ambientales de las plantas (Erb & Kliebenstein, 2020). Estos compuestos, frecuentemente encontrados en su forma glicosilada, son ampliamente conocidos por su potencial antioxidante y como inhibidores de enzimas digestivas (Dini de Franco et al., 2020). Todos los flavonoides poseen un origen biosintético común y, por este motivo, un mismo elemento estructural básico, a saber, un encadenamiento 2-fenilcromano (Bruneton, 2001).

Figura 1. Ejemplos de flavonoides según su estructura.



Nota. Ilustración creada con Chems sketch, por las autoras.

La estabilidad y solubilidad de los flavonoides dependen del pH. En general, se recomienda un pH ligeramente ácido a neutro (pH 3-7) para la extracción de flavonoides a fin de garantizar su estabilidad y maximizar la eficiencia de la extracción (Oliveira Chaves et al.,

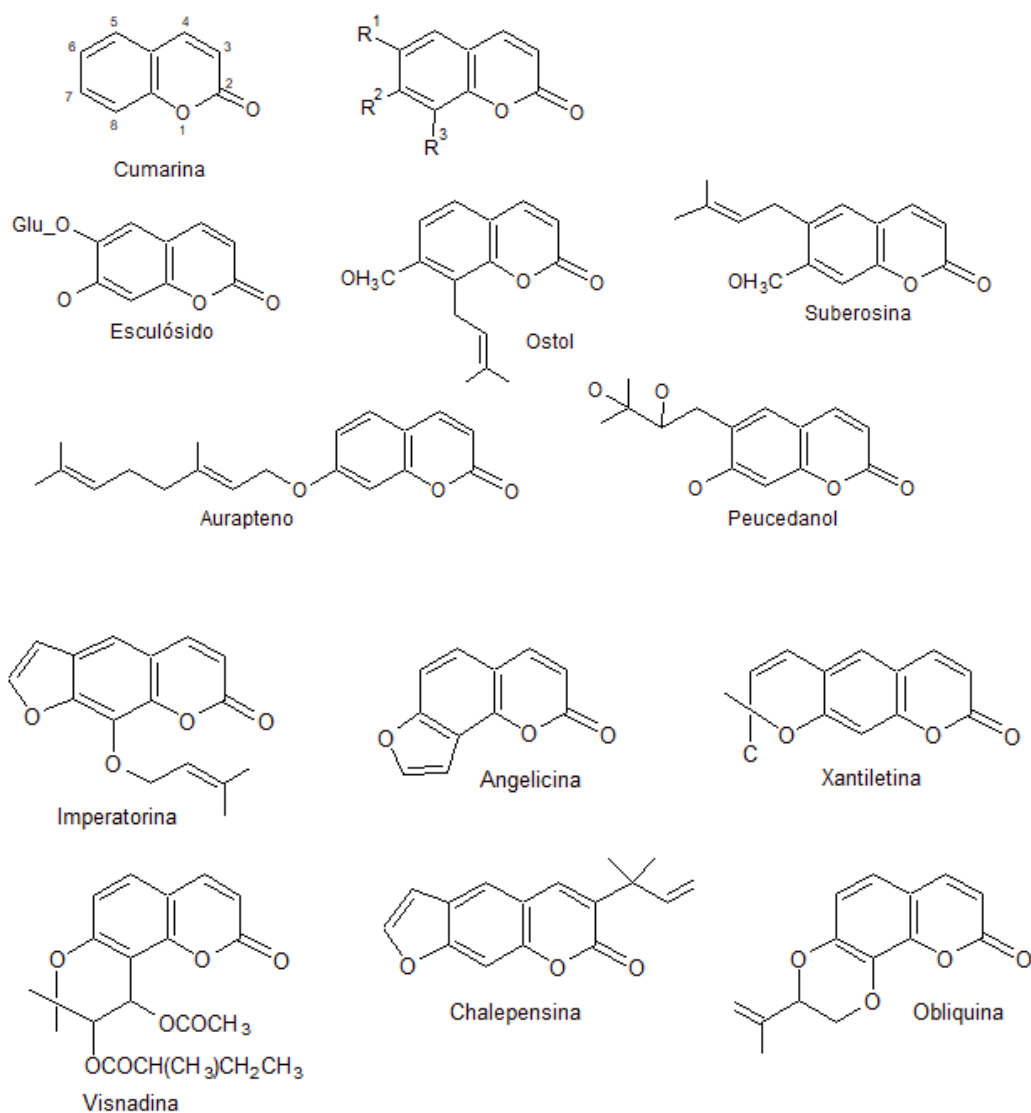
2020). La extracción de flavonoides se ve influenciada principalmente en función de la temperatura del disolvente. Las temperaturas superiores a 80 °C afectan negativamente a la extracción debido a la degradación (Rodríguez De Luna et al., 2020). Por lo tanto, se ha observado que los rendimientos de extracción disminuyen al aumentar las temperaturas (Rodríguez De Luna et al., 2020).

2.2.3. *Cumarinas*

Las cumarinas, lactonas que combinan un anillo de benceno con un anillo de α -pirona, poseen un sistema conjugado extenso que les confiere propiedades ópticas y electrónicas excepcionales. Esta estructura molecular, rica en enlaces dobles conjugados, les permite absorber eficientemente la luz y garantiza una notable estabilidad (Rao & Rao, 2015). En el campo de la medicina, las cumarinas han demostrado una amplia gama de actividades biológicas, incluyendo propiedades antiinflamatorias, anticoagulantes, antioxidantes y neuroprotectoras (Flores-Morales et al., 2023).

Existen diferentes clasificaciones para los derivados cumarínicos. Generalmente, se pueden clasificar según su diversidad y complejidad química: cumarinas simples, isocomarinas, furanocumarinas y piranocumarinas (tanto angulares como lineales), bicumarinas y otras cumarinas como las fenilcumarinas (Annunziata et al., 2020).

Figura 2. Ejemplos de estructuras cumarínicas.



Nota. Ilustración creada con Chemscketch, por las autoras.

Estos metabolitos secundarios se encuentran distribuidos en diversas partes de las plantas, con concentraciones significativas en frutas, raíces, tallos y hojas (Rodriguez-Amaya & Amaya-Farfan, 2021). La biosíntesis de cumarinas es un proceso común en numerosas familias botánicas, incluyendo angiospermas, monocotiledóneas y dicotiledóneas (Amit K. Jaiswal and Shiv Shankar, 2023).

2.2.3. Saponinas

Las saponinas, glucósidos caracterizados por agliconas triterpénicas o esteroideas helicoidales (Zhang et al., 2023). Las saponinas tienen alta solubilidad en solventes polares, tales como agua, metanol, etanol, entre otros disolventes orgánicos, por lo que son los más utilizados para la extracción de saponinas (Nguyen et al., 2020).

Las saponinas se clasifican según sus contrapartes de aglicona como saponinas esteroidales y saponinas triterpenoides (Rai et al., 2021). La diferencia entre estas dos clases es que las saponinas esteroidales son moléculas con 27 átomos de C, mientras que las saponinas triterpenoides son moléculas con 30 átomos de C (Rai et al., 2021).

Estos metabolitos secundarios están distribuidos predominantemente en más de 100 familias de plantas vasculares, así como en algunas fuentes marinas. Las plantas dicotiledóneas son las principales fuentes de saponinas triterpenoides (familias como Fabaceae, Araliaceae y Caryophyllaceae), mientras que las plantas monocotiledóneas (familias como Liliaceae, Dioscoreaceae y Agavaceae) son las principales fuentes de saponinas esteroidales (Majnooni et al., 2023).

2.3. Métodos de extracción

Existe una amplia gama de métodos de extracción convencionales, desde métodos que utilizan solventes hasta métodos modernos que aprovechan el ultrasonido, las microondas y otras tecnologías. Todos estos métodos comparten un objetivo común: maximizar la extracción de productos naturales valiosos a partir de sus materiales de origen y mejorar e incrementar sus bioactividades como la capacidad antioxidante y la inactividad microbiana, que sean aplicables en varios sectores industriales como alimentario, farmacéutico, cosmético y agrícola (Fajardo Contreras et al., 2022).

La extracción de metabolitos fitoquímicos es el primer paso crucial en el proceso de cualquier estudio fitoquímico, ya que permite la obtención de los compuestos de interés a partir de la compleja matriz vegetal (Pozo, 2020). La elección de solventes para determinar los compuestos bioactivos de las plantas utilizadas para las extracciones depende de la tasa de extracción, la diversidad de compuestos extraídos, la facilidad de manejo de los extractos, la seguridad, la rentabilidad de los solventes de extracción y los compuestos objetivo (E. Nortjie et al., 2022). Los alcoholes como el EtOH y el MeOH son disolventes universales empleados en la extracción con disolventes para la investigación fitoquímica (Hidayat & Wulandari, 2021). En los últimos años, se han desarrollado y optimizado diversas técnicas de extracción para mejorar la eficiencia y selectividad en la recuperación de metabolitos.

2.4. Extracción por métodos convencionales

Los protocolos de extracción convencionales siguen siendo ampliamente utilizados por la industria y los investigadores que buscan lograr altos rendimientos de compuestos mediante la operación de equipos relativamente simples y asequibles. Los métodos de extracción convencionales, que incluyen maceración, percolación, decocción y extracción Soxhlet, generalmente utilizan solventes orgánicos o agua, y requieren un gran volumen de solventes y un tiempo de extracción prolongado (Chavez-Gonzalez et al., 2020).

2.4.1. Maceración

La maceración es un método de extracción simple en el que el material vegetal se empapa en un solvente dentro de un recipiente cerrado. Agitar la mezcla con frecuencia durante la maceración ayuda a extraer más compuestos de dos maneras: en primer lugar, fomenta el movimiento (difusión) de las moléculas deseadas desde el material vegetal hacia el disolvente; en segundo lugar, reemplaza el solvente usado cerca de la superficie de la planta con solvente

nuevo, lo que permite una extracción más eficiente y, en última instancia, un mayor rendimiento (Rajeshwar P. Sinha & Häder, 2020).

Este es un método de extracción muy simple y de bajo coste debido a que requiere mínimo equipamiento y se puede realizar a temperatura ambiente. Además, la maceración es un proceso que se puede ampliar para volúmenes más grandes o reducir para lotes más pequeños, lo que lo hace adaptable a diferentes necesidades (Kumar et al., 2023). No obstante, presenta inconvenientes como un tiempo de extracción prolongado (a veces lleva horas o incluso días para lograr una extracción óptima), y una baja eficacia de extracción a comparación de otros métodos (Bitwell et al., 2023).

2.4.2. Percolación

La percolación es un proceso continuo en el que el disolvente saturado se reemplaza constantemente por disolvente nuevo para lograr la extracción de las sustancias deseadas (Hidayat & Wulandari, 2021). Dado que el proceso es continuo y el solvente saturado en el proceso se reemplaza de forma independiente por solvente nuevo, este método es más eficiente que el método de maceración (Jha & Sit, 2022). Sin embargo, cabe señalar que durante la extracción se requieren altas concentraciones de solvente y largos tiempos de extracción (Satrianegara et al., 2024).

2.4.3. Decocción

La decocción es un método adecuado para extraer los constituyentes solubles en agua que no pueden destruirse por el efecto del calor (Abubakar & Haque, 2020). La decocción es una preparación a base de agua para extraer compuestos activos de materiales vegetales medicinales (Fongang Fotsing et al., 2021). En este proceso, la preparación líquida se elabora hirviendo el material vegetal con agua (Fongang Fotsing et al., 2021).

2.4.4. Extracción por Soxhlet

La extracción por Soxhlet es el mejor método para la extracción continua de un componente activo de un sólido mediante un disolvente caliente (Rushikesh & Rushikesh, 2023). Es uno de los procedimientos que más se estudia y se utiliza, dado por su bajo costo en su realización, la facilidad al implementarlo y su amplio rango de aplicabilidad (Salas-Pérez et al., 2022). El objetivo principal es elegir el disolvente adecuado para extraer eficazmente los materiales vegetales deseados. Durante el proceso de extracción, el disolvente primero debe penetrar la membrana celular y luego disolver los solutos; a continuación, se produce un gradiente de concentración entre el interior y el exterior de las células y; finalmente, el disolvente, ahora enriquecido con los solutos extraídos, debe difundirse fuera de las células (Rushikesh & Rushikesh, 2023). Los solventes se usan comúnmente para extraer componentes químicos de las plantas y varían en polaridad de débil a fuerte en el siguiente orden: éter de petróleo < tetracloruro de carbono < benceno < diclorometano < cloroformo < éter < acetato de etilo < n-butanol < acetona < etanol < metanol < agua (Kumar et al., 2023).

Debido a que se utiliza mucho solvente, la eliminación de los residuos de estos químicos después de su uso plantea preocupaciones medioambientales. Las altas temperaturas y los largos periodos de extracción de extracción también pueden provocar una ruptura térmica de la molécula objetivo (Satrianegara et al., 2024).

2.4.5. Selección del solvente

La elección de solventes para determinar los compuestos bioactivos de las plantas utilizadas para las extracciones depende de la tasa de extracción, la diversidad de compuestos extraídos, la facilidad de manejo de los extractos, la seguridad, la rentabilidad de los solventes de extracción y los compuestos objetivo (E. Nortjie et al., 2022). Los alcoholes como el EtOH

y el MeOH son disolventes universales empleados en la extracción con disolventes para la investigación fitoquímica (Hidayat & Wulandari, 2021).

Cualquiera que sea el método de extracción empleado, la naturaleza química del disolvente de extracción es de primordial importancia para favorecer la solubilidad del compuesto, es decir, la recuperación y la selectividad de la extracción (Vega Oliveros, 2021). Las propiedades ideales de los solventes utilizados en la extracción de compuestos bioactivos incluyen baja toxicidad, evaporación fácil a bajas temperaturas, buena solubilidad del compuesto objetivo y ser suficientemente volátil (Nortjie et al., 2022).

Los solventes utilizados para la extracción de fitoquímicos se pueden dividir en solventes verdes como agua, etanol, glicerol, aceites grasos, líquidos iónicos, ácido acético, isopropanol, CO₂ supercríticos, etc., y solventes orgánicos como acetona, cloroformo, butanol, metanol, acetato de etilo, acetato de metilo, benceno, hexano, ciclohexano, etc. Los solventes verdes se denominan así debido a su naturaleza no tóxica, biodegradable, reciclable y renovable (Kumar et al., 2023).

Entre los solventes verdes, el agua es el más utilizado y universal. Es un solvente no selectivo y puede separar todas las sustancias hidrófilas como saponinas, los compuestos fenólicos, polisacáridos, etc. (Quitério et al., 2022). La eficiencia de extracción del agua se puede mejorar mediante sobrecalentamiento, ya que el sobrecalentamiento disminuye la constante dieléctrica del agua y proporciona una mejor penetración (Kumar et al., 2023).

El etanol tiene acción selectiva y se utiliza para la extracción de fenoles y flavonoides (Satrianegara et al., 2024). La eficiencia de extracción del etanol se puede modificar utilizando agua y ácido (Nortjie et al., 2022). Por otro lado, el isopropanol es una alternativa ecológica al n-hexano y puede utilizarse para la extracción de aceites, alcaloides, gomas y resinas naturales.

Entre los solventes orgánicos, la acetona tiene un bajo potencial tóxico y es un disolvente adecuado para la extracción de alcaloides, fenoles y saponinas (Kumar et al., 2023).

El metanol y el cloroformo tienen propiedades tóxicas inherentes; el primero, se utiliza para la extracción de flavonoides, saponinas y fenoles (Satrianegara et al., 2024); el segundo, se utiliza para la extracción de flavonoides y saponinas (Kumar et al., 2023). El butanol se puede utilizar para la extracción de saponinas y flavonoides; sin embargo, se utiliza principalmente para la purificación de fracciones de compuestos individuales (Mukherjee, 2022). El benceno puede utilizarse para la extracción de flavonoides y alcaloides, no obstante, es una sustancia química potencialmente peligrosa (Kumar et al., 2023).

Tabla 1. Selección de solventes para la extracción de los metabolitos de estudio.

Solventes	Metabolitos secundarios	Referencias
Benceno	Flavonoides, Alcaloides	(Kumar et al., 2023)
Éter	Cumarinas, Alcaloides	(Nortjie et al., 2022)
Cloroformo	Flavonoides, Saponinas	(Kumar et al., 2023) (Nortjie et al., 2022)
Acetona	Alcaloides, Fenoles, Saponinas	(Kumar et al., 2023) (Nortjie et al., 2022)
Isopropanol	Alcaloides	(Kumar et al., 2023)
Etanol	Fenoles, Flavonoides, Alcaloides	(Alwazeer, 2024) (Quitério et al., 2022) (Nortjie et al., 2022) (Satrianegara et al., 2024)
Metanol	Fenoles, Flavonoides, Saponinas	(Alwazeer, 2024) (Kumar et al., 2023) (Satrianegara et al., 2024) (Özmatara, 2021)
Butanol	Saponinas, Flavonoides	(Reetz & König, 2021)

Agua	Saponinas, Fenoles	(Alwazeer, 2024) (Kumar et al., 2023) (Quitério et al., 2022)
------	--------------------	---

Nota. Elaborado por las autoras (2024).

2.5. Extracción por métodos no convencionales

Las técnicas modernas como la extracción asistida por microondas y la extracción de fluidos supercríticos ofrecen muchas ventajas como reducción del tiempo requerido, menor demanda de solventes, mejor preservación de las actividades biológicas, mejores rendimientos y menor demanda de energía (Bitwell et al., 2023).

2.5.1. Extracción asistida por ultrasonido (UAE)

Este método de extracción que utiliza las propiedades térmicas, de cavitación y mecánicas del ultrasonido se ha vuelto más popular debido a sus diversas ventajas (Horablaga et al., 2023); como, el corto tiempo de extracción, menor consumo de solvente, menos daño al compuesto activo y alta eficiencia de extracción en comparación con los métodos de extracción tradicionales (Aguilar-Villalva et al., 2021). Este método es muy rápido y eficaz, porque la pared celular se rompe como resultado de la acción del ultrasonido (Habibzade et al., 2021). Si bien este método tiene un enfoque más ecológico, cabe destacar que, ocupa un alto consumo de energía cuando se requieren tiempos de procesamiento prolongados o de alta intensidad (Mehta et al., 2022).

Actualmente, los beneficios obtenidos con el método de extracción asistida por ultrasonido lo convierten en uno de los más eficaces, porque con este método se obtienen altos rendimientos de extracción y biodisponibilidad de los compuestos bioactivos presentes en las especies vegetales.

2.5.2. Extracción con fluidos supercríticos (SFE)

En la extracción con fluidos supercríticos, se aplican al material de extracción fluidos supercríticos a altas temperaturas y presiones por encima de los valores críticos, se ajusta la presión y los fluidos supercríticos vuelven a su fase gaseosa, y se evaporan sin dejar residuos de disolvente (Fink, 2021). Los fluidos supercríticos tienen alta difusividad, baja viscosidad y alta densidad, lo que les permite penetrar materiales más profundamente y extraer más compuestos que los solventes tradicionales (Györi et al., 2019).

Es un método de extracción más respetuoso con el medio ambiente, no son tóxicos, no son inflamables y no dejan residuos nocivos (Muchahary & Deka, 2021). La extracción con fluidos supercríticos permite un control más preciso sobre el proceso de extracción, la temperatura y presión del fluido supercrítico se pueden ajustar para optimizar la extracción de compuestos específicos (Uwineza & Waśkiewicz, 2020). Esto permite un proceso de extracción más específico y eficiente, lo que da como resultado mayores rendimientos de los compuestos deseados (Uwineza & Waśkiewicz, 2020). No obstante, el equipo necesario para la extracción con fluidos supercríticos es más complejo y costoso que los sistemas tradicionales de extracción con solventes (Baião Dias et al., 2021).

SFE es una técnica importante para la extracción selectiva, debido al comportamiento del Sc-CO₂, es posible modular su densidad con la presión y la temperatura, y así favorecer o desfavorecer la extracción de compuestos. La baja densidad (con una presión inferior a 15 MPa y una temperatura inferior a 40 °C) ayuda a recuperar compuestos volátiles, mientras que las densidades más altas (con presiones superiores a 25 MPa y temperaturas inferiores a 40 °C) extraen compuestos no volátiles y no polares de manera más eficiente, y para compuestos más polares, como los fenoles, la introducción de un disolvente polar como modificador mejora sus rendimientos (Lefebvre et al., 2021).

2.5.3. Extracción asistida por microondas (MAE)

MAE radica en la capacidad de las microondas de penetrar la muestra y excitar las moléculas polares, generando calor interno de manera rápida y uniforme. Este efecto de radiación dirigido rompe las paredes celulares y mejora la liberación de los compuestos objetivo en el solvente (Xu et al., 2021). La extracción asistida por microondas ofrece beneficios ambientales al reducir significativamente el volumen de solventes orgánicos requeridos en comparación con los métodos tradicionales. Esto minimiza la huella ambiental asociada con la eliminación de solventes.

A pesar de sus numerosas ventajas, la adopción de la MAE no está exenta de desafíos. Optimizar los parámetros de extracción, como la potencia de las microondas, la temperatura y la composición del solvente, requiere una calibración cuidadosa para maximizar el rendimiento y minimizar la degradación térmica. Además, la inversión inicial en equipos especializados es alta (López-Salazar et al., 2023).

2.6. Técnicas cualitativas de tamizaje fitoquímico

Una vez obtenido el extracto vegetal se procede con el tamizaje fitoquímico, el cual es un método de identificación de compuestos bioactivos desconocidos en extractos de plantas mediante análisis cualitativo. Este análisis es una etapa preliminar en el estudio fitoquímico que tiene como objetivo proporcionar una visión general de la clase de compuestos contenidos en las plantas que se están estudiando. Dentro de las principales técnicas cualitativas se pueden emplear reacciones de coloración y cromatografía de capa fina, que pueden ser complementadas con pruebas de solubilidad.

Es importante considerar ciertas limitaciones al realizar un tamizaje fitoquímico cualitativo. Las reacciones de coloración, aunque útiles, pueden arrojar resultados falsos

positivos o negativos debido a la presencia de otros compuestos en la muestra que interfieren con la prueba. Por otro lado, la cromatografía en capa fina, si bien es una técnica valiosa para la separación y visualización de compuestos, es semicuantitativa y no siempre permite una identificación definitiva de los compuestos presentes. Además, la complejidad de las matrices vegetales, con su gran diversidad de compuestos químicos, puede dificultar la interpretación de los resultados y requerir de técnicas analíticas más sofisticadas para una identificación precisa.

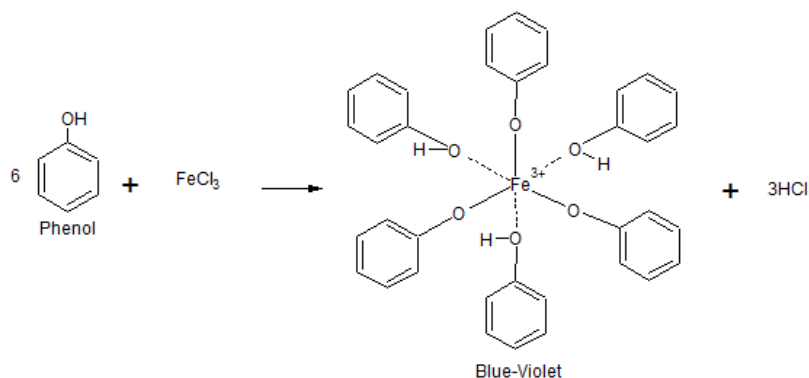
A pesar de estas limitaciones, el tamizaje fitoquímico cualitativo ofrece una visión preliminar valiosa sobre la composición de los metabolitos secundarios en las plantas, lo que puede guiar investigaciones posteriores. La combinación de técnicas analíticas puede enriquecer la comprensión de la química de las plantas y su potencial aplicación en el desarrollo de nuevos productos naturales.

Es relevante considerar que la variabilidad en la composición química de las plantas puede ser influenciada por factores ambientales, como el clima y el tipo de suelo, lo que subraya la importancia de realizar estudios en diferentes condiciones para obtener un perfil más completo de los metabolitos presentes.

2.6.1. Técnicas cualitativas de tamizaje fitoquímico: fenoles

Para identificar fenoles se utilizan los extractos vegetales mediante la adición de reactivos FeCl_3 . La formación de una solución verde-negra es un resultado positivo de esta prueba porque los compuestos fenólicos de la muestra reaccionan con los iones Fe^{3+} en el reactivo FeCl_3 para formar un compuesto complejo azul-negro, como se muestra en la Figura (3).

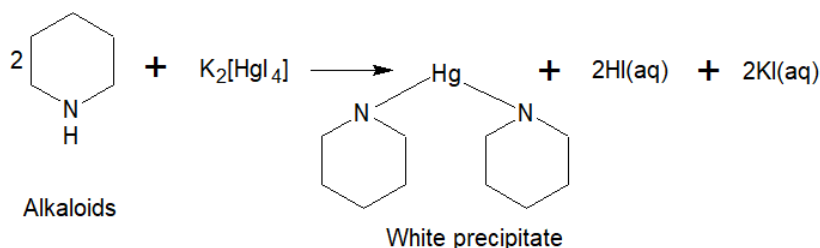
Figura 3. *Reacción del fenol con FeCl₃.*



Nota. Ilustración creada con Chemskech, por las autoras. Adaptada de Pereira et al., (2020).

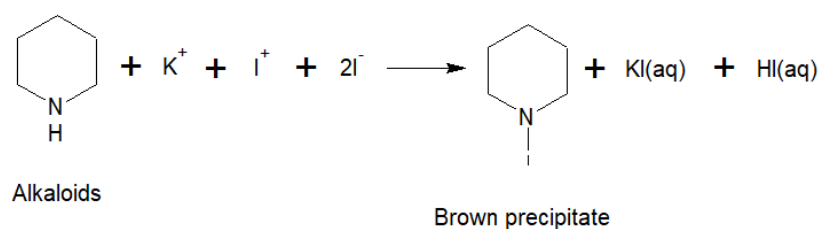
2.6.2. Técnicas de tamizaje fitoquímico: alcaloides

El reactivo de Mayer está hecho de cloruro de mercurio (II), que se hace reaccionar con yoduro de potasio para producir yoduro de mercurio (II), que en exceso tendrá tetrayodomercurato de potasio (II) (Mahani et al., 2022). La reacción entre el reactivo de Mayer y el componente alcaloide hace que el átomo de nitrógeno del alcaloide forme un enlace covalente con el ion metálico K^+ del complejo de tetrayodomercurato (II) de potasio (Sabdoningrum et al., 2021). Esta reacción puede ocurrir porque el átomo de nitrógeno en el alcaloide tiene un par de electrones solitarios para que pueda formar enlaces covalentes coordinados con iones metálicos. La reacción entre los átomos de nitrógeno y los iones metálicos K^+ produce un precipitado blanco de alcaloide de potasio, lo que indica que los resultados del análisis cualitativo de los alcaloides pueden ser declarados positivos.

Figura 4. *Reacción de la prueba de Mayer.*

Nota. Ilustración creada con Chems sketch, por las autoras (2024).

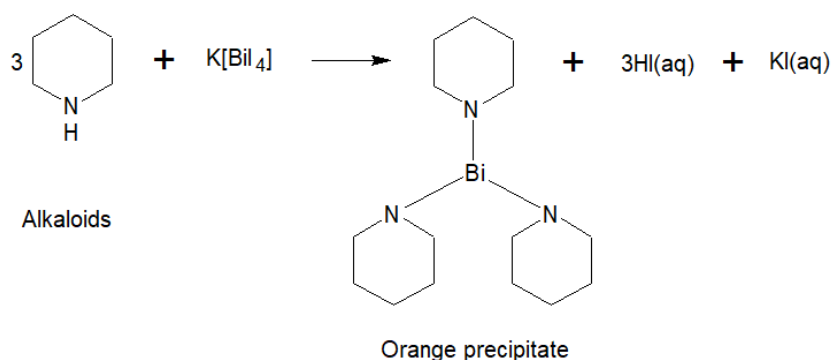
En la preparación del reactivo de Wagner, el yodo reacciona con el ion I^- del yoduro de potasio produciendo el ion I_3^- (solución marrón). En la prueba de Wagner, el ion metálico de K^+ se une como enlace coordinado covalente con nitrógeno al alcaloide produciendo un precipitado complejo de alcaloide de potasio (Sabdoningrum et al., 2021).

Figura 5. *Reacción del reactivo de Wagner.*

Nota. Ilustración creada con Chems sketch, por las autoras (2024).

El reactivo de Dragendorff se elabora disolviendo nitrato de bismuto con yoduro de potasio para evitar la hidrólisis. Las reacciones de hidrólisis ocurren porque las sales de bismuto forman rápidamente iones de bismutilo (BiO^+). Agregar HCl al nitrato de bismuto tiene como objetivo hacer que el equilibrio se mueva hacia la izquierda para que se puedan mantener los iones Bi^{3+} . Después de disolverse en HCl, el Bi^{3+} del nitrato de bismuto reacciona con el exceso de yoduro de potasio para formar un complejo de tetrayodobismutato de potasio (G H Jeffery et al., 1989). La formación de un precipitado naranja indica un resultado positivo.

Figura 6. *Reacción del reactivo de Dragendorff.*



Nota. Ilustración creada con Chems sketch, por las autoras (2024).

2.6.3. Técnicas de tamizaje fitoquímico: flavonoides

Se utiliza la prueba de Shinoda para identificar metabolitos secundarios pertenecientes al grupo de los flavonoides. En esta prueba, los extractos de las especies vegetales se tratan con HCl y Mg concentrados, lo que da como resultado la generación de burbujas de gas dihidrógeno (H_2). El HCl concentrado tiene como objetivo hidrolizar la O-glucosa de los flavonoides, convirtiéndolos en sus agliconas. La naturaleza electrofílica del ácido provoca que el grupo glucosa sea reemplazado por iones H^+ . La reducción posterior con Mg y HCl concentrados conduce a la formación de un complejo coloreado. Los colores observados en el complejo indican diferentes tipos de flavonoides: de naranja a rojo para las flavonas, de rojo a rojo oscuro para los flavonoles y de rojo oscuro a rojo púrpura para las flavononas (Godlewska et al., 2023).

La prueba del zinc es una técnica analítica cualitativa empleada para detectar la presencia de flavonoides. Este método implica una serie de reacciones químicas que dan como resultado la formación de productos coloreados, lo que proporciona evidencia visual de la existencia de flavonoides (Godlewska et al., 2023). El proceso comienza introduciendo polvo o gránulos de zinc en una muestra, luego, se agrega ácido clorhídrico concentrado. Esto produce una reacción redox, en la que el zinc reacciona con el ácido clorhídrico para producir cloruro

de zinc e hidrógeno atómico. Este hidrógeno atómico actúa como un agente reductor, capaz de alterar la estructura de ciertos flavonoides (Rao et al., 2023). Los flavonoides que poseen un doble enlace entre los carbonos 2 y 3 dentro del anillo C experimentan un proceso de reducción. Esta modificación estructural conduce a la apertura temporal del anillo C, seguida de un cierre y reordenamiento posterior, que culmina en la formación de un compuesto parecido a la antocianina (Rao et al., 2023). Los compuestos recién formados exhiben colores característicos, que varían según la clase de flavonoide. Es importante tener en cuenta que la prueba de zinc no es exclusivamente específica de los flavonoides (Antoniadou et al., 2024).

La prueba del ácido sulfúrico se basa en un cambio de color que se produce cuando los flavonoides interactúan con ácido sulfúrico concentrado. Cuando el ácido se introduce en una muestra que contiene flavonoides, inicia una cascada de reacciones químicas. Las moléculas de flavonoides sufren protonación, deshidratación y oxidación, lo que da lugar a importantes reorganizaciones estructurales (Doloking et al., 2022). A medida que se producen estos cambios, se forman nuevos sistemas conjugados dentro de la estructura de los flavonoides. Estos sistemas absorben la luz en el espectro visible y se manifiestan como colores vibrantes que van del amarillo al rojo o al naranja (Doloking et al., 2022). El tono específico producido depende del tipo de flavonoide presente, lo que permite una identificación rudimentaria del compuesto.

2.6.4. Técnicas de tamizaje fitoquímico: cumarinas

Para la detección de cumarinas se utiliza el test de NaOH. La reacción de la cumarina con el hidróxido de sodio (NaOH) es una reacción de hidrólisis. El ion hidróxido del NaOH ataca el carbono carbonílico del anillo de lactona, rompiendo el enlace éster. Esto da como resultado la apertura del anillo y la formación del ion carboxilato (Annunziata et al., 2020).

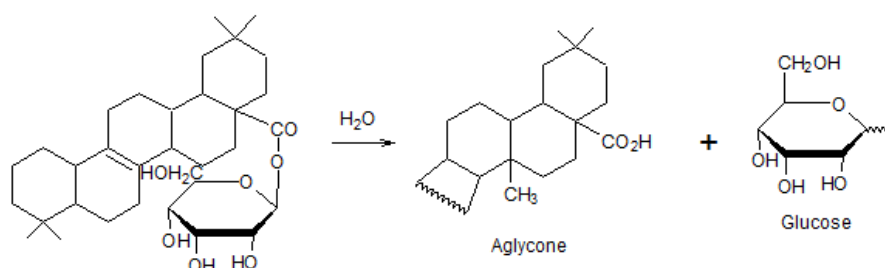
Cuando las cumarinas se hacen reaccionar con una solución acuosa de KOH, el ambiente fuertemente alcalino induce la hidrólisis del anillo de lactona (el grupo éster cíclico

de la cumarina). Esta hidrólisis abre el anillo de lactona, convirtiendo la cumarina en ácido o-hidroxicinámico (Supuran, 2020). La transformación de la cumarina en ácido o-hidroxicinámico, por lo general, da como resultado un color amarillo. Esto se debe a la conjugación extendida en la estructura del ácido o-hidroxicinámico, que altera sus propiedades de absorción de la luz.

2.6.5. Técnicas de tamizaje fitoquímico: saponinas

Las saponinas se pueden detectar en extractos de plantas añadiendo agua caliente, ya que las saponinas se disuelven en sustancias polares como el agua. Un resultado positivo de este ensayo es la formación de espuma estable (Rai et al., 2023). La apariencia de la espuma indica la presencia de glucósidos que, tras la hidrólisis, liberan glucosa y otras sustancias que pueden generar espuma en el agua, como se muestra en la Figura (7).

Figura 7. Reacción de hidrólisis de saponinas en agua.



Nota. Ilustración creada con Chems sketch, por las autoras. Adaptada de Sinaga et al., (2023).

Cuando la cumarina se trata con peróxido de hidrógeno, especialmente en presencia de un catalizador como iones de hierro (Fe^{2+}/Fe^{3+}) o cobre, sufre una reacción de oxidación. El peróxido de hidrógeno actúa como un agente oxidante y provoca la apertura del anillo de lactona en la cumarina, lo que lleva a la formación de productos hidroxilados (Shen et al., 2023).

2.7. Estrategia metodológica

Una revisión de la literatura es una evaluación crítica y sistemática de la investigación existente. Al proporcionar una visión general del estado actual del conocimiento en un campo en particular resulta un componente esencial del trabajo académico y de investigación. La revisión sistemática es una evaluación y síntesis de la literatura especializada que intenta identificar, evaluar, seleccionar y sintetizar toda la evidencia de investigación de alta calidad relevante para una pregunta de investigación (Russell et al., 2009).

Tomando en consideración la amplia gama de métodos de extracción y técnicas para tamizaje fitoquímico disponibles destaca la necesidad de recopilar, documentar y sintetizar esta información en un solo documento de libre acceso para la comunidad científica y en idioma español.

2.7.1. Definición del problema

El primer paso para realizar una revisión sistemática es definir la pregunta de investigación, para lo cual primero se establece el objetivo general y los objetivos específicos del estudio (incluidos los posibles modificadores del efecto). Cuanto más claramente una pregunta de investigación resume el objetivo del proyecto de investigación, más facilitará la construcción de la estrategia de búsqueda y la realización de la revisión sistemática (Ramos-Galarza & García-Cruz, 2024). Para la correcta consecución de esto se requiere examinar la literatura para identificar lagunas en el campo.

2.7.2. Búsqueda sistemática

Una búsqueda exhaustiva constituye la base de toda revisión sistemática y consiste en escribir estrategias de búsqueda específicas en diferentes bases de datos en línea para recuperar estudios elegibles (Rossi, 2023). Actualmente existen numerosas bases de datos en línea, no es

imprescindible buscar en todas; sin embargo, una sola no puede abarcar toda la literatura. Las bases de datos deben contar con motores de búsqueda avanzada y permitir acceder a versiones digitales de artículos científicos, libros y tesis en idioma español e inglés. Scopus, Web of Science, PubMed y SciELO son las bases de datos seleccionadas.

Para convertir una pregunta de investigación en una cadena de búsqueda se divide la pregunta de investigación en conceptos que se puedan buscar, para cada concepto se escribe una lista de palabras claves y sinónimo, por último, se asigna a cada concepto vocabularios controlados relevantes para cada base de datos (Københavns Universitetsbibliotek, 2024). Al adaptar la cadena para cada una de las bases de datos seleccionadas, se desea que las cadenas funcionen de la manera más similar posible.

Las palabras clave, traducidas a idioma inglés, métodos de extracción, tamizaje fitoquímico, fenoles, alcaloides, flavonoides, cumarinas y saponinas se utilizan en la búsqueda realizada en las bases de datos previamente mencionadas, con un rango de tiempo de cinco años (2020 a 2024) y escritos en español y/o inglés. Se utilizan los operadores booleanos “AND” y “OR”, además de la adición de filtros en las respectivas bases de datos considerando los criterios de inclusión y exclusión que se detallan en el siguiente apartado.

Para identificar la literatura relevante durante el proceso de selección se utilizan criterios de selección los cuales ahorran tiempo, minimizan errores, y garantizan transparencia y reproducibilidad (Quispe et al., 2021). Los criterios de selección escogidos dependen de la pregunta de investigación e incorporan características del estudio como el diseño del estudio, la fecha de publicación; características de la exposición y resultado medido; y características de los métodos utilizados, como tipo de análisis, factores a considerar, etc. (Quispe et al., 2021).

Criterios de inclusión:

❖ Tipo de estudio

Artículos de investigación, artículos experimentales y libros que evalúen métodos de extracción y técnicas de tamizaje fitoquímico para por lo menos uno de los metabolitos secundarios de interés.

Artículos de investigación, artículos experimentales y libros que evalúen la influencia de diferentes variables (condiciones de la extracción, el tipo de solvente, el tiempo de extracción, etc.) en la recuperación de por lo menos uno de los metabolitos secundarios de interés.

❖ Participantes

Especies vegetales pertenecientes a cualquier familia botánica.

❖ Intervenciones

Métodos de extracción tradicionales y novedosos utilizados para el aislamiento de metabolitos secundarios de la materia vegetal.

Técnicas de tamizaje fitoquímico validadas utilizadas para la identificación de los metabolitos secundarios presentes en los extractos vegetales.

❖ Medidas de resultado

Rendimiento de la extracción.

Perfil fitoquímico.

Calidad de los datos.

Actividad biológica.

Criterios de exclusión:

Estudios que evalúan métodos de extracción y/o técnicas de tamizaje fitoquímico para metabolitos secundarios que no sean de interés para la revisión.

Estudios que no proporcionan información suficiente respecto a la metodología empleada y/o los resultados obtenidos.

2.7.3. Organización de la información

La búsqueda de estudios relevantes en diferentes bases de datos suele arrojar los mismos artículos más de una vez. Identificar estos duplicados facilita la visualización de títulos y revisión de los resúmenes porque no se tiene que leer el mismo artículo repetidamente. Una vez iniciada la búsqueda de la literatura, los títulos y/o resúmenes de cada referencia son examinados para determinar su relevancia (McKeown & Mir, 2021). Los títulos y resúmenes se pueden examinar simultáneamente, juzgando el alcance del resumen si se considera que el título es relevante. Si una referencia carece de resumen, y tiene sólo el título, la referencia se incluye para el siguiente paso.

2.7.4. Análisis de la información

Después de la revisión de títulos y resúmenes, se recopilan y comparan las referencias examinadas para el siguiente paso que corresponde a examinar el texto completo. (Ramos-Galarza & García-Cruz, 2024). Una vez descargados los artículos seleccionados según sus títulos y resúmenes, se examinan los artículos usando los criterios de selección para escoger los que se incluyen en la revisión sistemática.

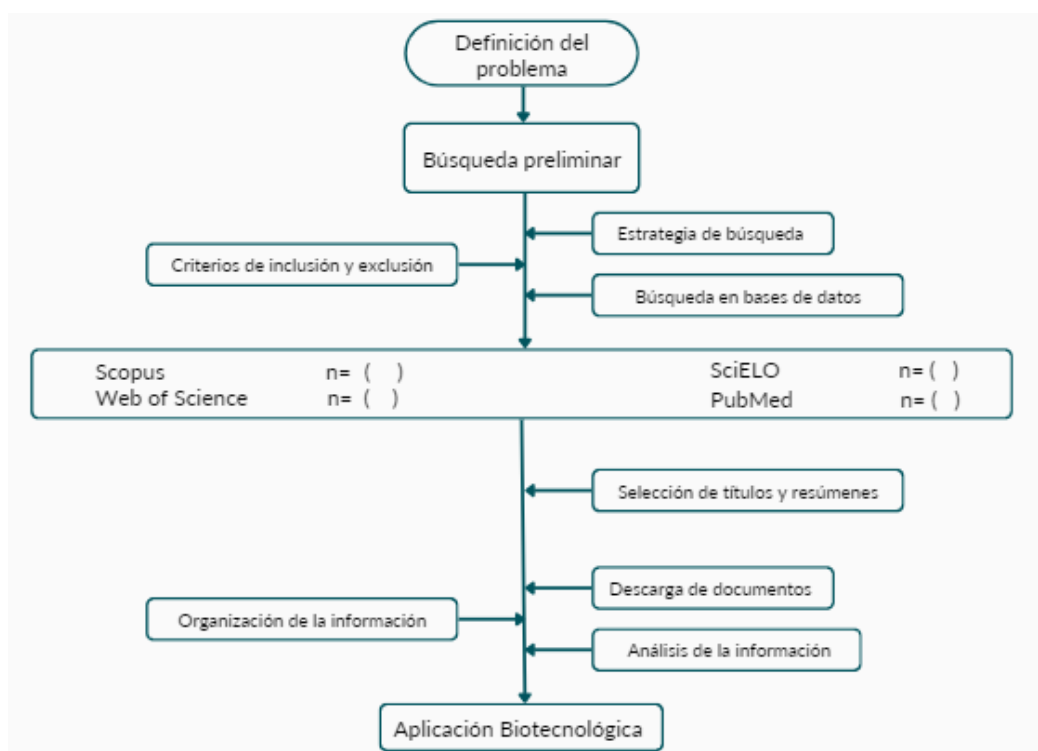
Por último, se realiza un diagrama de flujo con información sobre el número de citas relevantes identificadas mediante búsquedas en bases de datos; el número de estudios excluidos según la búsqueda de títulos y resúmenes; el número de textos completos examinados; el número de estudios excluidos después de la evaluación del texto completo con los motivos de

la exclusión citando el número de estudios excluidos por cada motivo; y el número de estudios incluidos en la revisión sistemática (Red para la Lectoescritura Inicial de Centroamérica y el Caribe (RedLEI)., 2021).

2.7.5. Aplicación biotecnológica

Contribuir a la simplificación de procesos de extracción y análisis de compuestos bioactivos de material vegetal, lo que podría reducir costos y aumentar la eficiencia de extracción y análisis de metabolitos secundarios.

Figura 8. Diagrama sobre cómo realizar una revisión sistemática.



Nota. Ilustración creada con Canva, por las autoras. Adaptada de Gehad Mohamed Tawfik et al., (2019).

2.8. Bases de datos

Las bases de datos bibliográficas se han convertido en herramientas esenciales, son la fuente de información para evaluar investigaciones. SCOPUS es una de las bases de datos de

indexación más grandes de revistas y libros en el campo de las ciencias médicas y biológicas (Baas et al., 2020). Web of Science es una base de datos selectiva, estructurada y equilibrada con enlaces de citas completos y metadatos mejorados que respaldan una amplia gama de propósitos informativos (Birkle et al., 2020).

PubMed es un repositorio de artículos de acceso abierto de las revistas que cumplen con sus estándares de calidad, así como artículos financiados por los Institutos Nacionales de Salud (NIH), una característica importante de PubMed es la capacidad de realizar búsquedas truncadas, exportar citas de artículos relevantes o listas de artículos (Misra & Ravindran, 2022). SciELO brinda acceso a una vasta colección de revistas científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal, lo cual permite la inclusión de trabajos de investigación de diversos contextos culturales y geográficos (SciELO, 2023).

Capítulo 3

Metodología

3.1. Búsqueda de literatura

Se realizaron las búsquedas de literatura en las bases de datos Scopus, Web of Science, PubMed y SciELO, consecutivamente, utilizando las palabras claves, los operadores booleanos y los filtros previamente detallados. Las búsquedas en las cuatro bases de datos para las técnicas de tamizaje fitoquímico arrojaron una cantidad de resultados significativamente mayor, a comparación de las búsquedas para los métodos de extracción.

Para determinar la cantidad de artículos disponibles se utilizó el gestor de referencias bibliográficas Zotero. Los resultados de cada base de datos consultada se exportan en tipo de archivo RIS (Scopus, SciELO y Web of Science) y NBIB (PubMed) para luego ser abiertos en el gestor de referencias Zotero. A posteriori, se realizó un proceso de deduplicación manual por cada base para eliminar registros duplicados, obteniendo un total de 3088 artículos disponibles.

Una vez completada la deduplicación manual se examinan los títulos y resúmenes para identificar el alcance de los artículos recopilados. Luego, se descargaron los respectivos PDF para facilitar la lectura y se realizó una exhaustiva examinación considerando los criterios de inclusión y exclusión, lo cual permitió identificar los trabajos científicos pertinentes al tema. Aquellos artículos que cumplen con los criterios de selección se incluyen en una nueva colección del gestor de referencias Zotero y se recopila la información relevante de cada trabajo de investigación para su posterior uso.

Capítulo 4

Resultados y Discusiones

4.1. Características de los estudios

Tras realizar dos búsquedas exhaustivas en las cuatro bases de datos previamente seleccionadas, y aplicando los filtros respectivos considerando los criterios de exclusión definidos, se obtuvieron un total de 3210 resultados. Para la primera búsqueda se obtuvieron un total de 3151 resultados; siendo, 683 pertenecientes a la base de datos Scopus, 59 a SciELO, 2329 a Web of Science y 80 a PubMed. Para la segunda búsqueda se obtuvieron un total de 59 resultados; siendo, 31 pertenecientes a la base de datos Scopus, 1 a SciELO, 25 a Web of Science y 2 a PubMed.

Tabla 2. Número de resultados por base de datos y palabras de búsqueda categorizados entre sin filtros y con los criterios de exclusión de los últimos cinco años.

Búsqueda	Bases de datos	SCOPUS		WEB OF SCIENCE		PUBMED		SCIELO	
	Criterio	Sin filtro	Con filtro	Sin filtro	Con filtro	Sin filtro	Con filtro	Sin filtro	Con filtro
phytochemical AND screening AND phenols OR alkaloids OR flavonoids OR coumarins OR saponins		96476	683	157975	2329	193598	80	265	59
extraction AND methods AND phytochemicals		114701	31	2410	25	4765	2	5	1

Nota. Elaborado por las autoras (2024).

Después de la realizar la deduplicación manual general se obtuvieron 3088 artículos disponibles para revisión. Se seleccionaron 113 artículos de revisión y experimentales publicados en las cuatro bases de datos (Scopus, Web of Science, SciELO y PubMed), y se adicionaron 37 artículos de

fuentes externas (tesis de repositorio de fuentes externas, artículos de investigación de otras bases de datos y libros).

4.2. Resultados de la revisión

El tipo y nivel de principios activos en los extractos analizados difieren según la especie, el método de procesamiento del material vegetal y el proceso de extracción (Horablaga et al., 2023). Dependiendo del principio de extracción, existen varios métodos convencionales y no convencionales como la extracción con disolventes, el macerado, la extracción por ultrasonidos, entre otras.

El análisis de la literatura correspondiente a los últimos cinco años revela que, si bien las técnicas convencionales como la maceración, la decocción, la extracción por Soxhlet y la percolación siguen prevaleciendo, existe un interés hacia el uso de métodos no convencionales como la extracción asistida por ultrasonidos, la extracción asistida por microondas y la extracción con fluidos supercríticos. Estas técnicas modernas ofrecen una rentabilidad superior en términos de rendimiento, tiempo de extracción y consumo de solvente. Sin embargo, su escalabilidad y reproducibilidad pueden variar según la naturaleza de la matriz vegetal.

Tabla 3. Comparativa de los métodos de extracción convencionales y no convencionales.

Métodos de extracción		Descripción	Ventajas	Desventajas	Tiempo de extracción	Referencias
CONVENCIONALES	Maceración	Transferencia de masa del compuesto y su solubilidad en solventes adecuados combinados con calor y/o agitación	Bajo coste, es un método de extracción simple	Largo tiempo de extracción y baja eficiencia de extracción	24 horas a varios días	(Aćimović et al., 2022) (Bitwell et al., 2023) (Kassymova et al., 2023) (Kumar et al., 2023)

	Decocción	Implica una extracción continua en caliente utilizando un volumen específico de agua como disolvente	Método de extracción simple, requiere equipo básico y no requiere solventes costosos ni aparatos especializados	El extracto contiene una gran cantidad de impurezas solubles en agua y no se puede utilizar para la extracción de componentes sensibles al calor	30 minutos a una hora	(Bhatt & Deshpande, 2020)
	Extracción por Soxhlet	Implica la extracción de un componente activo de una mezcla sólida de forma continua utilizando calor y solventes	Simplicidad, aplicabilidad a altas temperaturas, bajos costes, no requiere filtrado	Requiere de equipo especializado, utiliza mucho solvente, tarda mucho en procesarse e incluso requiere calentamiento durante el reflujo	6 a 24 horas	(Ervina et al., 2023) (Jha & Sit, 2022) (Satrianegara et al., 2024) (Raghu & Velayudhanair, 2023)
	Percolación	Proceso continuo en el que el disolvente saturado se reemplaza constantemente por disolvente nuevo	Aumenta el rendimiento de la extracción al proporcionar un mejor tiempo de contacto entre el solvente y el material herbario	Requiere un volumen sustancial de solvente, período de extracción prolongado	24 a 48 horas	(Hidayat & Wulandari, 2021) (Jha & Sit, 2022) (Satrianegara et al., 2024)

NO CONVENCIONALES	Extracción asistida por ultrasonidos	Utiliza las propiedades térmicas, de cavitación y mecánicas del ultrasonido y produce la ruptura de la pared celular de la matriz vegetal para liberar los principios activos	Fuerte penetrabilidad y buena directividad, significativamente más rápido y simple, la extracción se realiza sin cambios de fase, tiene un menor consumo de solventes y un enfoque más ecológico	La aplicación controlada y optimizada requiere frecuencias y tiempos de tratamiento específicos para evitar efectos secundarios negativos	15 minutos a una hora	(Aguilar-Villalva et al., 2021) (Chavez-Gonzalez et al., 2020) (Habibzade et al., 2021) (He et al., 2023) (Horablaga et al., 2023) (Kassymova et al., 2023) (Mehta et al., 2022) (Zain et al., 2020)
	Extracción con fluidos supercríticos	Método basado en un fluido supercrítico como solvente de extracción	Residuo mínimo, no tóxico y respetuoso con el medio ambiente, control más preciso sobre el proceso de extracción, eficiencia de alto rendimiento	Técnica compleja y desafiante (difícil equilibrio entre soluto y solvente), altos costos operativos y de mantenimiento	una hora a tres horas	(Baião Dias et al., 2021) (Muchahary & Deka, 2021) (Uwineza & Waśkiewicz, 2020)
	Extracción por microondas	Proceso que utiliza energía de microondas para calentar solventes en contacto con una muestra con el fin de dividir los analitos de la matriz de la muestra en el solvente	Amigable con el medio ambiente, pequeñas cantidades de solvente, corto tiempo de extracción, control de temperatura, ahorro de energía	Las altas temperaturas generadas pueden provocar la degradación de compuestos sensibles al calor, no apto para todo tipo de compuestos y matrices, y altos costos operativos	cinco a 30 minutos	(Floares et al., 2023) (Horablaga et al., 2023) (Jaisamut et al., 2021) (López-Salazar et al., 2023) (Nguyen et al., 2021)

Nota. Información obtenida de la literatura consultada en las bases de datos Scopus, Web of Science, SciELO y PubMed, y la base de datos de la Universidad Politécnica Salesiana. Elaborado por las autoras (2024).

Tabla 4. *Solventes preferidos por los métodos de extracción convencionales y no convencionales.*

Solventes	Métodos de extracción						
	Maceración	Percolación	Decocción	Extracción por Soxhlet	Extracción asistida por ultrasonidos	Extracción con fluidos supercríticos	Extracción por microondas
Benceno							
Éter				X			
Clorofor mo				X			
Acetona				X	X		
Isopropa nol					X		
Etanol	X	X	X	X	X		X
Metanol	X	X		X	X		X
Butanol	X	X					
Agua	X	X	X		X		X
Dióxido de carbono						X	
Referenci as	(Alwazee r, 2024) (Kumar et al., 2023) (Lavenbu rg et al., 2021) (Quitério et al., 2022)	(Alwazee r, 2024) (Kumar et al., 2023) (Nguyen et al., 2022) (Quitério et al., 2022)	(Alwaze er, 2024) (Quitéri o et al., 2022) (Nortjie et al., 2022) (Oliveir a-Alves et al., 2024)	(Jha & Sit, 2022) (León et al., 2021) (Nortjie et al., 2022) (Oliveira- Alves et al., 2024) (Satrianeg ara et al., 2024)	(Firdhauzi et al., 2024) (Habibzad e et al., 2021) (He et al., 2023) (Wang et al., 2022)	(Duong et al., 2022) (Pino et al., 2023)	(Floares et al., 2023) (Horablag a et al., 2023) (López- Salazar et al., 2023)(Floa res et al., 2023) (Horablag a et al., 2023) (López- Salazar et al., 2023)

Nota. Elaborado por las autoras (2024).

Los artículos seleccionados en base a los criterios de inclusión y exclusión proporcionan información detallada correspondiente a las técnicas de screening fitoquímico. En la tabla (5) se han resumido y estandarizado las pruebas fitoquímicas cualitativas preliminares más utilizadas para la detección de los cinco fitoconstituyentes previamente descritos.

Tabla 5. Procedimiento, especificidad, sensibilidad e inferencia de técnicas cualitativas de tamizaje fitoquímico para cinco metabolitos.

Técnicas de tamizaje fitoquímico		Procedimiento	Especificidad	Sensibilidad	Inferencia (prueba +)	Referencias artículos y/o tesis (ups)
FENOLES	Prueba del Cloruro Férrico	1 ml del extracto se combinan con tres gotas de FeCl ₃ y 1 ml de K ₂ Fe (CN) ₆	Moderado (algunos compuestos que no son fenólicos también pueden reaccionar con el cloruro férrico)	Alta (puede detectar concentraciones bajas de fenoles)	Precipitado de color azul verdoso	(Dubale et al., 2023) (Gindaba et al., 2024) (Jabeen et al., 2023) (Mera et al., 2020) (Zelege et al., 2024)
	Reactivo de Mayer	3 gotas del extracto y 3 gotas del reactivo de Mayer se combinan en un tubo de ensayo	Alta	Alta (puede detectar concentraciones bajas de alcaloides)	Precipitado de color crema o marrón-rojo	(Dubale et al., 2023) (Jabeen et al., 2023) (Salim et al., 2024)
	Reactivo de Wagner	3 gotas del extracto y 3 gotas del reactivo de Wagner se colocan en un tubo de ensayo	Moderada (puede dar falsos positivos con otros compuestos que contienen nitrógeno)	Moderada (puede variar dependiendo del alcaloide)	Precipitado de color rojo o marrón	(Silva et al., 2023) (Zelege et al., 2024) (Zhang et al., 2021)
ALCALOIDES	Reactivo de Dragendorff	3 gotas del extracto y 3 gotas del reactivo de	Alta	Alta (puede detectar concentraciones	Precipitado de color rojo o naranja	(Mehmood et al., 2022) (Salazar et al., 2021)

		Draggendorff se colocan en un tubo de ensayo		s bajas de alcaloides)		(Tanzey et al., 2020)
FLAVONOIDES	Prueba de Shinoda	En un tubo de ensayo, se adicionan 3 gotas del extracto, 2 cm de cinta de magnesio y 4 gotas de HCl concentrado. Este procedimiento se realiza en una campana de extracción	Alta	Alta (puede detectar concentraciones bajas de flavonoides)	Precipitado de color rojo	(Armenta Roncancio et al., 2020) (Dubale et al., 2023) (Moncayo et al., 2021)
	Prueba del Zinc	En un tubo de ensayo se adicionan 3 gotas del extracto, 0,5 gramos de zinc en granalla o polvo y 4 gotas de HCl concentrado	Moderada	Moderada	Precipitado de color rojo o café amarillento	(Ganchozo Arévalo, 2023) (Silva et al., 2023) (Silva Guaranda & Villegas Cárdenas, 2023)
	Prueba del Ácido Sulfúrico	3 gotas de extracto y 3 gotas de ácido sulfúrico grado reactivo (concentración > 98%)	Baja (detecta una amplia gama de compuestos fenólicos)	Moderada (puede detectar concentraciones bajas de compuestos fenólicos)	Precipitado de color rojo o amarillo o naranja	(Ganchozo Arévalo, 2023) (Ocampo et al., 2020) (Silva Guaranda & Villegas Cárdenas, 2023)
CUMARINAS	Prueba de KOH	3 gotas del extracto y 3 gotas del KOH al 5%	Baja (otros compuestos fenólicos también podrían reaccionar)	Alta (puede detectar pequeñas cantidades del metabolito)	Precipitado de color rojo o amarillo	(Ganchozo Arévalo, 2023) (Helou Martínez & Espín Bayona, 2023) (Salazar et al., 2021)

SAPONINAS						(Silva Guaranda & Villegas Cárdenas, 2023)
	Test de Hidróxido de Sodio (Vijaya)	2 ml del extracto con 3 ml de una solución acuosa de hidróxido de sodio al 10%	Baja (otros compuestos fenólicos también podrían reaccionar)	Alta (puede detectar pequeñas cantidades del metabolito)	Precipitado de color amarillo	(Jabeen et al., 2023) (Moncayo et al., 2021)
	Ensayo de espuma	Agregar 1 gramo de la especie vegetal y adicionar 5 mL de agua destilada en un tubo de ensayo, calentar en baño a ebullición durante 2 minutos y agitar	Alta	Moderada-alta (menos confiable para niveles muy bajos del metabolito)	Presencia de espuma	(Dubale et al., 2023) (Jabeen et al., 2023) (Moncayo et al., 2021) (Salim et al., 2024)
	Prueba del Peróxido de Hidrógeno	En un tubo de ensayo, agregar 3 gotas del extracto con 2 gotas de peróxido de hidrógeno. Agitar constantemente e mientras se calienta a 40 C	Baja (puede reaccionar con una variedad de compuestos)	Baja	Presencia de espuma	(Chikara et al., 2023) (Ganchozo Arévalo, 2023) (Helou Martínez & Espín Bayona, 2023) (Silva et al., 2023) (Silva Guaranda & Villegas Cárdenas, 2023)

Nota. Elaborado por las autoras (2024).

4.3. Discusiones de los resultados

La creciente necesidad de extraer componentes bioactivos de las plantas incentiva la investigación de métodos de extracción convenientes a cada caso en particular (Azmir et al., 2023). El tipo de solvente utilizado afecta significativamente la calidad del fitoquímico extraído y su idoneidad para aplicaciones biotecnológicas. La selección del solvente depende de la polaridad tanto del solvente como del compuesto (Zombe et al., 2022). En términos generales, los solventes se dividen en dos categorías: opciones "verdes" (como agua, etanol y disolventes eutécticos profundos naturales) y disolventes convencionales (como acetona, cloroformo, metanol, etc.) (Kumar et al., 2023). El uso de solventes incompatibles o la exposición del extracto a temperaturas extremas pueden dañar las propiedades deseadas del fitoquímico.

Si bien las altas temperaturas generalmente mejoran tanto la cantidad de material que se disuelve (solubilidad) como la rapidez con la que se mueve (difusión), las temperaturas excesivamente altas pueden ser contraproducentes. Esto se debe a que puede provocar la evaporación del solvente, lo que da como resultado extractos con impurezas no deseadas y la descomposición de componentes sensibles al calor (Hidayat & Wulandari, 2021).

Los tamaños de partículas más pequeños suelen conducir a mejores resultados de extracción. Esto se debe a que el aumento de la superficie permite una mejor penetración de los solventes y una difusión más fácil de los solutos objetivo (Hidayat & Wulandari, 2021). Sin embargo, las partículas demasiado finas pueden saturarse excesivamente con el soluto, dificultando la filtración posterior.

Además de los solventes, las metodologías también son críticas. Se proponen métodos de extracción convencionales y emergentes para la separación de fitoquímicos, algunos de estos métodos requieren equipos específicos y costosos, mantenimiento y servicios laboriosos, pasos de filtración y limpieza, reactivos costosos y procesos adicionales (Jha & Sit, 2022). Los

métodos convencionales, aunque menos ecológicos, todavía se utilizan principalmente porque emplean equipos de bajo coste. A partir de estos, la maceración sigue siendo el método más utilizado para extraer fitoquímicos de materiales vegetales, a pesar de su baja eficiencia (Alwazeer, 2024). Las técnicas emergentes comúnmente utilizados para extraer fitoquímicos de materiales vegetales son la extracción con fluidos supercríticos, extracción asistida por microondas y extracción asistida por ultrasonidos (Manzoor et al., 2021). Los métodos no convencionales han surgido como alternativas prometedoras, ofreciendo ventajas como mayor eficiencia, menor consumo de solvente y menor impacto ambiental (Chavez-Gonzalez et al., 2020). No obstante, estos métodos siguen procedimientos complejos con un alto costo operativo, y requieren más parámetros para optimizar.

Los alcaloides son compuestos que contienen nitrógeno, debido a su diversidad estructural y a los distintos grados de polaridad, la extracción de alcaloides requiere una consideración cuidadosa tanto del disolvente como del método de extracción. La extracción Soxhlet destaca como uno de los métodos más eficaces, proporciona una extracción exhaustiva mediante la recirculación continua del solvente a través del material vegetal, lo que garantiza que todos los alcaloides se extraigan por completo (Jha & Sit, 2022). Los disolventes polares como el etanol o el metanol se utilizan normalmente en la extracción Soxhlet, ya que pueden disolver eficazmente una amplia gama de alcaloides (Nortjie et al., 2022). UAE y MAE ofrecen una mayor eficiencia y tiempos de extracción reducidos; además, ambos métodos son especialmente beneficiosos cuando se trata de alcaloides sensibles al calor, ya que minimizan la degradación de estos compuestos (Nguyen et al., 2022).

La naturaleza polar de los compuestos fenólicos los hace altamente solubles en solventes polares como el agua, el etanol y el metanol (Alwazeer, 2024). La maceración es un método simple y eficaz para extraer fenoles, especialmente en entornos tradicionales y de

pequeña escala (Bitwell et al., 2023). Si bien la maceración es fácil de realizar, puede requerir mucho tiempo y no ser tan eficaz como otros métodos. Para una extracción más completa, se prefieren la extracción Soxhlet y la extracción asistida por ultrasonido (Horablaga et al., 2023). La extracción Soxhlet garantiza que todos los fenoles se extraigan a través de la recirculación continua del solvente, mientras que la UAE ofrece la ventaja de reducción de los tiempos de extracción y aumenta el rendimiento de compuestos (Chavez-Gonzalez et al., 2020). El calentamiento rápido proporcionado por las microondas en la MAE mejora la eficiencia de la extracción, lo que la hace ideal para los compuestos fenólicos.

Los flavonoides, al igual que los fenoles, son polares y se extraen mejor utilizando disolventes polares. La maceración con butanol, metanol o etanol (Wang et al., 2022), y la percolación son los métodos tradicionales más empleados para su extracción (Ahmad & Shehta, 2020). La maceración evita la exposición a temperaturas adversas, previniendo la degradación del metabolito por condiciones adversas. La extracción Soxhlet es otro método muy eficaz para la extracción de flavonoides (Chavez-Gonzalez et al., 2020), asegura una extracción exhaustiva y es particularmente útil cuando se trata de materiales vegetales duros (Gómez-Patiño et al., 2023). La extracción asistida por ultrasonidos puede mejorar aún más el proceso de extracción al reducir el tiempo necesario para su obtención y aumentar el rendimiento de los flavonoides (Chavez-Gonzalez et al., 2020; Xiang et al., 2020).

Las saponinas son glicósidos complejos, debido a su naturaleza polar, las saponinas se extraen normalmente utilizando agua, etanol o metanol (Yang et al., 2020). La maceración y la percolación son los métodos más comunes para extraer saponinas. Estos métodos son eficaces para extraer saponinas de materiales vegetales blandos (Wang et al., 2022). Sin embargo, cuando se trata de materiales más resistentes, se prefiere la extracción Soxhlet. La recirculación continua del disolvente en la extracción Soxhlet garantiza que todas las saponinas se extraigan

por completo, lo que lo convierte en el método de elección para una extracción exhaustiva (Shin et al., 2021).

Las cumarinas son una clase de compuestos aromáticos con una polaridad relativamente baja. La extracción Soxhlet es muy eficaz para la extracción de cumarinas, en particular cuando se utilizan solventes no polares como el cloroformo, éter y acetona (Hapsari et al., 2023). La naturaleza exhaustiva de la extracción Soxhlet garantiza que incluso las concentraciones bajas de cumarinas se extraigan de forma eficaz (Ali et al., 2023). La percolación también es un método viable para extraer cumarinas, especialmente cuando se trata de grandes cantidades de material vegetal (Satrianegara et al., 2024).

La caracterización y evaluación de las plantas y sus fitoconstituyentes proporciona evidencia que respalda las afirmaciones terapéuticas hechas sobre las especies vegetales. Técnicas avanzadas como la cromatografía de gases (GC), la cromatografía líquida (LC), la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y la cromatografía de capa fina de alto rendimiento (HPTLC) son muy útiles para la detección cualitativa y cuantitativa de fitoconstituyentes. Sin embargo, cuando estas técnicas no están disponibles o son demasiado costosas, las pruebas fitoquímicas tradicionales, que son económicas, simples y requieren menos recursos, siguen siendo una opción adecuada para la detección fitoquímica preliminar.

La selección de las técnicas preliminares de tamizaje fitoquímico y la consiguiente estandarización de los procedimientos empezó con la revisión exhaustiva de la literatura, los artículos seleccionados para la estandarización contienen una descripción detallada de los procedimientos utilizados y los resultados obtenidos en su componente experimental. A la par, se consideraron factores como la disponibilidad de insumos, reactivos, espacios, tiempo y la gestión de residuos en la Universidad Politécnica Salesiana.

El análisis cualitativo fitoquímico proporciona una visión preliminar de la composición química de una planta. Su aplicación es fundamental en momentos específicos del proceso de investigación. La fase inicial de la investigación es el momento ideal para emplear el screening fitoquímico cualitativo. Cuando se tiene una nueva especie o variedad de planta con posibles propiedades terapéuticas, estas técnicas ofrecen un enfoque rápido y rentable para identificar la presencia de varias clases fitoquímicas. Además, el screening cualitativo es fundamental para validar las afirmaciones medicinales tradicionales. Al correlacionar el uso de la planta con su perfil fitoquímico, los investigadores pueden establecer una base científica para el conocimiento etnobotánico.

Capítulo 5

Conclusiones y Recomendaciones

5.1. Conclusiones

Para los fenoles, la extracción Soxhlet con metanol, etanol o acetona y la extracción asistida por microondas con metanol, etanol o agua son los métodos de extracción de preferencia. La prueba de cloruro férrico es eficaz para detectar compuestos fenólicos con una especificidad moderada y una sensibilidad relativamente alta. Es adecuada para pruebas iniciales del contenido fenólico, pero requiere pruebas complementarias para la identificación y cuantificación detallada de compuestos fenólicos específicos.

La extracción Soxhlet con disolventes polares como el etanol o etanol destaca como el método de extracción convencional más eficaz para la obtención de alcaloides. El reactivo de Dragendorff suele ser la opción más eficaz y confiable para la investigación académica porque ofrece una sólida combinación de alta especificidad y sensibilidad. El reactivo de Mayer ocupa el segundo lugar cuando se requiere la máxima especificidad, mientras que el reactivo de Wagner es más adecuado para la detección inicial o de amplio espectro.

Para la obtención de flavonoides sobresale la maceración como método de extracción convencional empleando etanol, metanol o butanol, y como método no convencional destaca la UAE. La prueba de Shinoda ofrece el mejor equilibrio entre especificidad y sensibilidad para la detección de flavonoides, proporciona resultados claros y reproducibles. Mientras que la de ácido sulfúrico, aunque muy sensible, es menos específica y podría requerir pruebas adicionales para confirmar la presencia de flavonoides, por lo que, es útil como prueba complementaria. La prueba de zinc es útil, pero algo menos sensible y específica, por lo que es más adecuada para detectar flavonoles específicamente.

La extracción Soxhlet y la percolación son muy eficaces para la extracción de cumarinas, en particular cuando se utilizan solventes no polares como el cloroformo, éter y acetona. Para el tamizaje fitoquímico cualitativo, tanto el test de KOH como el de NaOH pueden reaccionar con otros compuestos fenólicos, lo que podría dar lugar a falsos positivos. La especificidad es en gran medida similar entre las dos pruebas, ya que ambas dependen de la naturaleza básica de los reactivos. La sensibilidad de las pruebas de KOH y NaOH también es comparable, ambas son capaces de detectar bajas concentraciones de cumarinas a través de la inducción de fluorescencia o un cambio de color. La diferencia de sensibilidad entre las dos pruebas es generalmente mínima, aunque algunos investigadores pueden preferir una sobre la otra en función del tipo específico de cumarina que se esté analizando.

La extracción por Soxhlet resalta como el método convencional que permite una extracción completa de saponinas empleando como solvente el metanol, etanol o agua. La prueba de espuma es la más adecuada para detectar saponinas debido a su alta especificidad y sensibilidad relativamente buena. Es el método preferido cuando el objetivo es identificar específicamente la presencia de saponinas en una muestra. La prueba de peróxido de hidrógeno es menos ideal para la detección exclusiva de saponinas. Se puede utilizar junto con otras pruebas o en situaciones en las que es aceptable una detección más amplia, pero no proporciona el mismo nivel de especificidad para las saponinas que la prueba de espuma.

5.2. Recomendaciones

Con base a los hallazgos obtenidos, se proponen las siguientes recomendaciones para una segunda fase de estudio de la presente revisión:

Durante la evaluación y análisis de la literatura científica, se evidenció la relevancia de tres factores, por lo que, se recomienda evaluar la influencia del tipo, parte y cantidad de la planta en la eficiencia de los métodos extracción y su consecuente screening fitoquímico.

Se constató también que una gran cantidad de los trabajos científicos publicados de 2020 a 2024 no detallan sus metodologías y su influencia en el rendimiento de los resultados obtenidos, por esta razón, es recomendable precisar paso a paso la metodología seleccionada por los autores.

Las cuatro bases de datos consultadas evidenciaron que en un rango de tiempo de cinco años se han realizado una menor cantidad de estudios que evalúen la repercusión de los solventes y los métodos de extracción seleccionados en la obtención de cumarinas y saponinas, por lo que, se recomienda promover el estudio del impacto de los tipos de disolventes y los métodos de extracción convencionales y no convencionales en la extracción de saponinas y cumarinas.

Se recomienda validar experimentalmente los resultados y conclusiones obtenidos de la revisión sistemática de la literatura correspondiente a los últimos cinco años. Además, se recomienda revisar exhaustivamente la literatura publicada en un rango de tiempo mayor (diez años).

Referencias Bibliográficas

Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020). Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *Journal of Pharmacy & BioAllied Sciences*, 12(1), 1-10. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19

Aćimović, M., Šovljanski, O., Pezo, L., Travičić, V., Tomić, A., Zheljaskov, V. D., Četković, G., Švarc-Gajić, J., Brezo-Borjan, T., & Sofrenić, I. (2022). Variability in Biological Activities of *Satureja montana* Subsp. *Montana* and Subsp. *Variegata* Based on Different Extraction Methods. *Antibiotics*, 11(9). <https://doi.org/10.3390/antibiotics11091235>

Aguilar-Villalva, R., Molina, G. A., España-Sánchez, B. L., Díaz-Peña, L. F., Elizalde-Mata, A., Valerio, E., Azanza-Ricardo, C., & Estevez, M. (2021). Antioxidant capacity and antibacterial activity from *Annona cherimola* phytochemicals by ultrasound-assisted extraction and its comparison to conventional methods. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(7). <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103239>

Ahmad, A. F., & Shehta, H. A. (2020). Assessment of the effects of different extraction methods on the phytochemicals, antimicrobial and anticancer activities of *Eruca sativa* extracts. *Novel Research in Microbiology Journal*, 4(3), 825-844. <https://doi.org/10.21608/nrmj.2020.95325>

Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *ELSEVIER*, 4, 200-214. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011>

Ali, Z., Saleh, I., & Alani, W. (2023). Detection of Coumarin Derivatives of *Viola odorata* Cultivated in Iraq. *JOURNAL OF PHARMACY AND BIOALLIED SCIENCES*, 15, S948-S951. https://doi.org/10.4103/jpbs.jpbs_270_23

Alwazeer, D. (2024). Hydrogen-rich solvent method in phytochemical extraction: Potential mechanisms and perspectives. *PHYTOCHEMICAL ANALYSIS*, 35(2), 203-219. <https://doi.org/10.1002/pca.3304>

Amit K. Jaiswal and Shiv Shankar. (2023). *Food Packaging and Preservation Antimicrobial Materials and Technologies* (1.^a ed.).

Anjali, Kumar, S., Korra, T., Thakur, R., Arutselvan, R., Abhijeet Shankar Kashyap, Yasser Nehela, Victor Chaplygin, Tatiana Minkina, & Chetan Keswani. (2023). Role of plant secondary metabolites in defence and transcriptional regulation in response to biotic stress. *ELSEVIER*, 8. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100154>

Annunziata, F., Pinna, C., Dallavalle, S., Tamborini, L., & Pinto, A. (2020). An Overview of Coumarin as a Versatile and Readily Accessible Scaffold with Broad-Ranging Biological Activities. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(13). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7370201/>

Antoniadou, M., Rozos, G., Vaou, N., Zaralis, K., Ersanli, C., Alexopoulos, A., Dadamogia, A., Varzakas, T., Tzora, A., & Voidarou, C. (Chrysa). (2024). Comprehensive Bio-Screening of Phytochemistry and Biological Capacity of Oregano (*Origanum vulgare*) and *Salvia triloba* Extracts against Oral Cariogenic and Food-Origin Pathogenic Bacteria. *Biomolecules*, 14(6), 619. <https://doi.org/10.3390/biom14060619>

Apolo Cumbicos, L. S. (2021). Análisis comparativo de métodos de extracción de metabolitos secundarios producidos por tres especies de plantas medicinales nativas del ecuador [Universidad Técnica de Ambato]. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/33653/1/BQ%20275.pdf>

Armenta Roncancio, J. E., Bejarano Navas, D. A., Cruz Domínguez, M. A., & López Muñoz, L. G. (2020). Evaluación cualitativa de extractos macerados con diferentes solventes para la extracción de glicoalcaloides y flavonoides de *Dioscorea bulbifera* en condiciones estándar obtenidos en los llanos orientales de Colombia. *Entre Ciencia e Ingeniería*, 14(28), 59-65. <https://doi.org/10.31908/19098367.2017>

Armijos Riofrio, C., Vita Finzi, P., Gilardoni, G., Vidarii, G., Borja Espín, D., Goetschel Gómez, M. L., Viteri Poveda, C. E., Mangas Marín, R., Chóez Guaranda, I. A., Miranda Martínez, M., Radice, M., Guerrini, A., Scalvenzi, L., Terán Soto, R., Santamaría Aguirre, J., Tello León, C. G., Mosquera Tayupanta, T., Noriega Rivera, P. F., Calderón Maldonado, L. C., ... Mosquera Tayupanta, T. (2022). *Productos naturales: Investigación y perspectivas en Ecuador*. Editorial Universitaria Abya-Yala. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/21673/4/Productos%20naturales%202022.pdf>

Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. K. M. (2023). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426-436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>

Baas, J., Schotten, M., Plume, A., Côté, G., & Karimi, R. (2020). Scopus as a curated, high-quality bibliometric data source for academic research in quantitative science studies. *Quantitative Science Studies*, 1(1), 377-386. https://doi.org/10.1162/qss_a_00019

Badamtsetseg, S., Badamkhand, D., Sukhdolgor, J., & Baigalmaa, Ts. (2006). Biologically Active Substances in Buckwheat (*Fagopyrum tataricum* L.) Cultivated in Mongolia. *Mongolian Journal of Biological Sciences*, 4(1).

Baião Dias, A. L., de Aguiar, A. C., & Rostagno, M. A. (2021). Extraction of natural products using supercritical fluids and pressurized liquids assisted by ultrasound: Current status and trends. *Ultrasonics Sonochemistry*, 74. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1350417721001267>

Bhatt, N. S., & Deshpande, M. (2020). A Critical Review and Significance of Ayurvedic preparation Kwatha—Herbal decoction. *International Journal of Ayurvedic Medicine*, 11(2), 155-164.

Birkle, C., Pendlebury, D. A., Schnell, J., & Adams, J. (2020). Web of Science as a data source for research on scientific and scholarly activity. *Quantitative Science Studies*, 1(1), 363-376. https://doi.org/10.1162/qss_a_00018

Bitwell, C., Indra, S. S., Luke, C., & Kakoma, M. K. (2023). A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting phytochemicals from plants. *Scientific African*, 19. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2023.e01585>

Bravo Velásquez, E. (2014). La biodiversidad en el Ecuador. Editorial Universitaria Abya-Yala. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/6788/1/La%20Biodiversidad.pdf>

Bruneton, J. (2001). Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales (2.^a ed.). ACRIBIA, S.A.

Chavez-Gonzalez, M., Sepúlveda, L., Verma, D., Luna-García, H., Rodríguez-Duran, L., Ilina, A., & Aguilar, C. (2020). Conventional and Emerging Extraction Processes of Flavonoids. *PROCESSES*, 8(4). <https://doi.org/10.3390/pr8040434>

Chikara, P., Deep, A., Bansal, N., Kumar, S., Bansal, S., Sharma, A. K., Singh, I., & Marwaha, R. K. (2023). Phytochemical Screening and Biological Potential of Agave

angustifolia Haw. Leaves Extract as Antioxidant and Anticancer Agents. *Current Cancer Therapy Reviews*, 19(1), 58-66. <https://doi.org/10.2174/1573394718666220826153144>

Cosme, P., Rodríguez, A. B., Espino, J., & Garrido, M. (2020). Plant Phenolics: Bioavailability as a Key Determinant of Their Potential Health-Promoting Applications. *MDPI*, 9(12). <https://doi.org/10.3390/antiox9121263>

Dey, P., Kundu, A., Kumar, A., Gupta, M., Lee, B. M., Bhakta, T., Dash, S., & Kim, H. S. (2020). Analysis of alkaloids (indole alkaloids, isoquinoline alkaloids, tropane alkaloids). 505-567. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816455-6.00015-9>

Dini de Franco, E. P., Contesini, F. J., Lima da Silva, B., Alves de Piloto Fernandes, A. M., Wielewski Leme, C., Gonçalves Cirino, J. P., Bueno Campos, P. R., & de Oliveira Carvalho, P. (2020). Enzyme-assisted modification of flavonoids from *Matricaria chamomilla*: Antioxidant activity and inhibitory effect on digestive enzymes. *JOURNAL OF ENZYME INHIBITION AND MEDICINAL CHEMISTRY*, 35(1), 42-49. <https://doi.org/10.1080/14756366.2019.1681989>

Dixon, R. A., & Dickinson, A. J. (2024). A century of studying plant secondary metabolism—From “what?” to “where, how, and why?” 195, 48-66. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiad596>

Doloking, H., Ningsi, S., & Tahar, N. (2022). Flavonoids: A Review on Extraction, Identification, Quantification, and Antioxidant Activity. 5(1), 1-26. <https://doi.org/10.24252/djps.v5i1.29329>

Dubale, S., Kebebe, D., Zeynudin, A., Abdissa, N., & Suleman, S. (2023). Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity Evaluation of Selected Medicinal Plants

in Ethiopia. Journal of Experimental Pharmacology, 15, 51-62.
<https://doi.org/10.2147/JEP.S379805>

Duong, H., Trieu, L., Linh, D., Duy, L., Thao, L., Minh, L., Hiep, N., & Khoi, N. (2022). Optimization of Subcritical Fluid Extraction for Total Saponins from *Hedera nepalensis* Leaves Using Response Surface Methodology and Evaluation of Its Potential Antimicrobial Activity. PROCESSES, 10(7). <https://doi.org/10.3390/pr10071268>

Erb, M., & Kliebenstein, D. J. (2020). Plant Secondary Metabolites as Defenses, Regulators, and Primary Metabolites: The Blurred Functional Trichotomy. Plant Physiology, 184(1), 39-52. <https://doi.org/10.1104/pp.20.00433>

Ervina, M., Wea, V., Oktaviani, A., Hartanti, L., Sinansari, R., Wilianto, Y., Steven, & Caroline. (2023). Solvent preextraction influenced to coumarin and glucose binding capacity of cinnamomi's extracts. JOURNAL OF ADVANCED PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY & RESEARCH, 14(2), 69-74. https://doi.org/10.4103/japtr.japtr_671_22

Evans, W. C. (2009). Trease and Evans' Pharmacognosy (16va ed.). Saunders Elsevier.

Faboro, E. O., Adekunle, D. O., Obisesan, I. A., & Oyinlola, T. A. (2023). Optimization of extraction conditions for phytochemicals from *Senna fistula* using cheminformatics. SN Applied Sciences, 5(209). <https://doi.org/10.1007/s42452-023-05421-9>

Fajardo Contreras, J. D., Sánchez Plaza, F. A., Dueñas Rivadeneira, J. P., & Dueñas Rivadeneira, A. A. (2022). Extracción asistida por ultrasonido y su aplicación en la obtención de aceites vegetales. Centro Azúcar, 49(4).
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2223-48612022000400125

Fink, J. (2021). *Petroleum Engineer's Guide to Oil Field Chemicals and Fluids* (3.^a ed.). ELSEVIER.

Firdhauzi, A., Yupanqui, C., Setyaningsih, W., & Seechamnaturakit, V. (2024). Optimization of ultrasound-assisted extraction using box-Behnken design, method validation, and analysis of phytochemicals from drying treatments in the application of *Etligeria elatior* inflorescence. *FUNCTIONAL FOODS IN HEALTH AND DISEASE*, 14(5), 311-333. <https://doi.org/10.31989/ffhd.v14i5.1355>

Floares, D., Cocan, I., Alexa, E., Poiana, M.-A., Berbecea, A., Boldea, M. V., Negrea, M., Obistoiu, D., & Radulov, I. (2023). Influence of Extraction Methods on the Phytochemical Profile of *Sambucus nigra* L. *Agronomy*, 13(12). <https://doi.org/10.3390/agronomy13123061>

Flores-Morales, V., Villasana-Ruiz, A., Garza-Veloz, I., González-Delgado, S., & Martinez-Fierro, M. (2023). Therapeutic Effects of Coumarins with Different Substitution Patterns. *MOLECULES*, 28(5). <https://doi.org/10.3390/molecules28052413>

Fongang Fotsing, Y. S., Bankeu Kezetas, J. J., Gaber El-Saber, B., Iftikhar, A., & Lenta Ndjakou, B. (2021). Extraction of Bioactive Compounds from Medicinal Plants and Herbs. IntechOpen. <https://www.intechopen.com/chapters/77433>

G H Jeffery, J Bassett, J Mendham, & R C Denney. (1989). *Vogel's Textbook of Quantitative Chemical Analysis* (5.^a ed.). Longman Scientific & Technical.

Ganchozo Arévalo, D. M. (2023). Tamizaje fitoquímico y actividad antimicrobiana de los extractos acuoso y alcohólico de las raíces de almacenamiento de *Eriotheca Ruizii* [Universidad Politécnica Salesiana]. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/26272/1/UPS-GT004720.pdf>

Gavhale, S. S., Waghmare, S. A., & Kamble, H. V. (2023). A review on: Alkaloids important therapeutic compound. 12(5), 741-752.

Gedlu Agidew, M. (2022). Phytochemical analysis of some selected traditional medicinal plants in Ethiopia. Bulletin of the National Research Centre, 46(87). <https://doi.org/10.1186/s42269-022-00770-8>

Gindaba, A., Negeri, M., Abdisa, B., Nemo, R., & Kitila, C. (2024). Phytochemical screening and insecticidal activities of some medicinal plants against the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae). Scientific Reports, 14(8678). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-59207-z>

Godlewska, K., Pacyga, P., Najda, A., & Michalak, I. (2023). Investigation of Chemical Constituents and Antioxidant Activity of Biologically Active Plant-Derived Natural Products. Molecules, 28(14), 5572. <https://doi.org/10.3390/molecules28145572>

Gómez-Patiño, M., Pérez, J., Muñoz, M., Arzate-Vázquez, I., & Arrieta-Baez, D. (2023). Rapid and Simultaneous Extraction of Bisabolol and Flavonoids from *Gymnosperma glutinosum* and Their Potential Use as Cosmetic Ingredients. SEPARATIONS, 10(7). <https://doi.org/10.3390/separations10070406>

González-Gómez, L., Morante-Zarcero, S., Pereira, J. A. M., Câmara, J. S., & Sierra, I. (2023). Evaluation of Tropane Alkaloids in Teas and Herbal Infusions: Effect of Brewing Time and Temperature on Atropine and Scopolamine Content. Toxins, 15(6). <https://doi.org/10.3390/toxins15060362>

Gyóri, E., Varga, A., Fábán, I., & Lázár, I. (2019). Supercritical CO₂ extraction and selective adsorption of aroma materials of selected spice plants in functionalized silica aerogels. *The Journal of Supercritical Fluids*, 148, 16-23. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.02.025>

Habibzade, A. R., Mostaghi, N., & Shafaroudi, S. M. (2021). Phytochemical investigation among different populations of *Papaver bracteatum* Lindl. Using ultrasonic—Assisted extraction method followed by HPLC analysis. *Journal of Medicinal Plants*, 21(81), 23-33. <https://doi.org/10.52547/jmp.20.80.23>

Hapsari, S., Jadid, N., Apamarta, H., & Gunawan, S. (2023). Impact of solvent type, solvent-water concentration, and number of stages on the extraction of coumarin mixture from tamanu (*Calophyllum inophyllum*) oil and its antioxidant activity. *ARABIAN JOURNAL OF CHEMISTRY*, 16(2). <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.104449>

He, N., Wang, Q., Huang, H., Chen, J., Wu, G., Zhu, M., Shao, F., Yan, Z., Sang, Z., Cao, L., Wei, R., & Ma, Q. (2023). A Comprehensive Review on Extraction, Structure, Detection, Bioactivity, and Metabolism of Flavonoids from Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). *JOURNAL OF FOOD BIOCHEMISTRY*, 2023. <https://doi.org/10.1155/2023/4839124>

Heinrich, M., Mah, J., & Amirkia, V. (2021). Alkaloids Used as Medicines: Structural Phytochemistry Meets Biodiversity-An Update and Forward Look. *MOLECULES*, 26(7). <https://doi.org/10.3390/molecules26071836>

Helou Martínez, A. N., & Espín Bayona, D. A. (2023). Herborización de especies vegetales del Campus María Auxiliadora de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Guayaquil y validación medicinal de una especie representativa del bosque seco tropical

<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/26273/1/UPS-GT004721.pdf>

Hidayat, R., & Wulandari, P. (2021). Methods of Extraction: Maceration, Percolation and Decoction. *Eureka Herba Indonesia*, 2(1), 68-74. <https://doi.org/10.37275/ehi.v2i1.15>

Horablaga, N. M., Cozma, A., Alexa, E., Obistioiu, D., Cocan, I., Poiana, M.-A., Lalescu, D., Pop, G., Imbrea, I. M., & Buzna, C. (2023). Influence of Sample Preparation/Extraction Method on the Phytochemical Profile and Antimicrobial Activities of 12 Commonly Consumed Medicinal Plants in Romania. *Applied Sciences (Switzerland)*, 13(4). <https://doi.org/10.3390/app13042530>

Jabeen, S., Ali, M. F., Mohi Ud Din, A., Javed, T., Mohammed, N. S., Chaudhari, S. K., Javed, M. A., Ali, B., Zhang, L., & Rahimi, M. (2023). Phytochemical screening and allelopathic potential of phytoextracts of three invasive grass species. *Scientific Reports*, 13(1), 8080. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-35253-x>

Jaisamut, P., Wanna, S., Thanakoon, A., Saejew, S., Saowapark, N., Suchato, W., Chumvong, P., Kosawiwat, T., Momaklua, P., & Chusri, S. (2021). Evaluation of Microwave-Assisted Extraction Method for Preparation and Assessment of Thai Herbal Medicine Oral Tablets With Enriched Phytochemical Compounds. *AAPS PHARMSCITECH*, 22(5). <https://doi.org/10.1208/s12249-021-02052-4>

Jeyaraj, E. J., Lim, Y. Y., & Choo, W. S. (2021). Extraction methods of butterfly pea (*Clitoria ternatea*) flower and biological activities of its phytochemicals. *Journal of Food Science and Technology*, 58(6), 2054-2067. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04745-3>

Jha, A. K., & Sit, N. (2022). Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 119, 579-591. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.019>

Kassymova, D., Zhusupova, G., Ogay, V., Zhussupova, A., Katragunta, K., Avula, B., Khan, I., & Lamponi, S. (2023). Phytochemical Profiles and In Vitro Immunomodulatory Activities of Extracts Obtained from *Limonium gmelinii* Using Different Extraction Methods. *PLANTS-BASEL*, 12(23). <https://doi.org/10.3390/plants12234019>

Københavns Universitetsbibliotek. (2024, mayo 14). Systematic reviews: Search strategy. Københavns Universitetsbibliotek. <https://kub.kb.dk/c.php?g=688901&p=4962390>

Kumar, A., Nirmal, P., Kumar, M., Jose, A., Tomer, V., Oz, E., Proestos, C., Zeng, M., Elobeid, T., Sneha, K., & Oz, F. (2023). Major Phytochemicals: Recent Advances in Health Benefits and Extraction Method. *MOLECULES*, 28(2). <https://doi.org/10.3390/molecules28020887>

Kumar, K., Debnath, P., Singh, S., & Kumar, N. (2023). An Overview of Plant Phenolics and Their Involvement in Abiotic Stress Tolerance. *Stresses*, 3(3). <https://doi.org/10.3390/stresses3030040>

Kumar, V., Joshi, H., Pandey, I., & Kumar, S. (2023). Coumarins as anti-HIV agent and correlation with COVID-19: An overview. *HIV & AIDS REVIEW*, 22(2), 87-98. <https://doi.org/10.5114/hivar.2023.127276>

Lavenburg, V. M., Rosentrater, K. A., & Jung, S. (2021). Extraction methods of oils and phytochemicals from seeds and their environmental and economic impacts. *Processes*, 9(10). <https://doi.org/10.3390/pr9101839>

Lefebvre, T., Destandau, E., & Lesellier, E. (2021). Selective extraction of bioactive compounds from plants using recent extraction techniques: A review. *Journal of Chromatography A*, 1635. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461770>

León, K., Inca, A., Tallini, L., Osorio, E., Robles, J., Bastida, J., & Oleas, N. (2021). Alkaloids of *Phaedranassa dubia* (Kunth) JF Macbr. And *Phaedranassa brevifolia* Meerow (Amaryllidaceae) from Ecuador and its cholinesterase-inhibitory activity. *SOUTH AFRICAN JOURNAL OF BOTANY*, 136, 91-99. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.09.007>

López-Salazar, H., Camacho-Díaz, B. H., Arenas Ocampo, M. L., & Jiménez-Aparicio, A. R. (2023). Microwave-assisted Extraction of Functional Compounds from Plants: A Review. *BioResources*, 18(3). <https://ojs.cnr.ncsu.edu/index.php/BRJ/article/view/22613>

Lustre Sánchez, H. (2022). Los superpoderes de las plantas: Los metabolitos secundarios en su adaptación y defensa. *Revista Digital Universitaria*, 23(2). <https://doi.org/10.22201/cuaieed.16076079e.2022.23.2.10>

Mahani, M., Wulandari, E., Lembong, E., & Adela, L. H. R. (2022). CORRELATION OF ALKALOID CONTENT AND TASTE OF HONEY FROM VARIOUS PROVINCES IN INDONESIA. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 14(12). <https://dx.doi.org/10.22159/ijpps.2022v14i12.46169>

Majnooni, M., Fakhri, S., Ghanadian, S., Bahrami, G., Mansouri, K., Iranpanah, A., Farzaei, M., & Mojarrah, M. (2023). Inhibiting Angiogenesis by Anti-Cancer Saponins: From Phytochemistry to Cellular Signaling Pathways. *METABOLITES*, 13(3). <https://doi.org/10.3390/metabo13030323>

Manzoor, M., Singh, J., Gani, A., & Noor, N. (2021). Valorization of natural colors as health-promoting bioactive compounds: Phytochemical profile, extraction techniques, and pharmacological perspectives. *Food Chemistry*, 362. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130141>

McKeown, S., & Mir, Z. M. (2021). Considerations for conducting systematic reviews: Evaluating the performance of different methods for de-duplicating references. *Systematic Reviews*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/s13643-021-01583-y>

Mehmood, S., Syed, F., Khan, M. I., & Aadil, R. M. (2022). Bioactivity evaluation and phytochemical screening of *Euphorbia helioscopia* and *Rumex dentatus*. *Food Science and Technology*, 42. <https://doi.org/10.1590/fst.66721>

Mehta, N., S., Jeyapriya., Kumar, P., Verma, A. K., Pramila Umaraw, Khatkar, S. K., Khatkar, A. B., Pathak, D., Kaka, U., & Sazili, A. Q. (2022). Ultrasound-Assisted Extraction and the Encapsulation of Bioactive Components for Food Applications. *Foods*, 11(19). <https://doi.org/10.3390/foods11192973>

Mera, I. F. G., Hernández, O. D. L., & Córdova, V. M. (2020). Phytochemical screening and in vitro anti-inflammatory activity of ethanolic extract of *Epidendrum coryophorum* leaves. *Bionatura*, 5(4), 1387-1393. <https://doi.org/10.21931/RB/2020.05.04.18>

Misra, D. P., & Ravindran, V. (2022). An overview of the functionalities of PubMed. *Journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh*, 52(1), 8-9. <https://doi.org/10.1177/14782715221088906>

Moncayo, S., Cornejo, X., Castillo, J., & Valdez, V. (2021). Preliminary phytochemical screening for antioxidant activity and content of phenols and flavonoids of 18 species of plants

native to western ecuador. Trends in Phytochemical Research, 5(2), 92-104.
<https://doi.org/10.30495/TPR.2021.1922658.1196>

Morillo, C. (2023, agosto 24). La riqueza natural y sus problemáticas. Rupturas.
<https://revistarupturas.com/la-riqueza-natural-y-sus-problematicas/>

Muchahary, S., & Deka, S. (2021). Impact of supercritical fluid extraction, ultrasound-assisted extraction, and conventional method on the phytochemicals and antioxidant activity of bhimkol (*Musa balbisiana*) banana blossom. JOURNAL OF FOOD PROCESSING AND PRESERVATION, 45(7). <https://doi.org/10.1111/jfpp.15639>

Mukherjee, P. K. (2022). Evidence-Based Validation of Herbal Medicine Translational Research on Botanicals (2.^a ed.). ELSEVIER.

Nguyen, L. T., Fărcaș, A. C., Socaci, S. A., Tofana, M., Diaconeasa, Z. M., Pop, O. L., & Salanță, L. C. (2020). An Overview of Saponins – A Bioactive Group. Bulletin UASVM Food Science and Technology, 77(1). <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-fst:2019.0036>

Nguyen, V., Le, M., Nguyen, T., Khong, T., Nguyen, V., Nguyen, H., Huynh, B., Tran, H., & Trang, T. (2021). Microwave-assisted extraction for optimizing saponin yield and antioxidant capacity from cacao pod husk (*Theobroma cacao* L.). JOURNAL OF FOOD PROCESSING AND PRESERVATION, 45(2). <https://doi.org/10.1111/jfpp.15134>

Nguyen, V., Tran, N., & Tran, T. (2022). Central composite experimental design for ultrasound-assisted extraction optimization of alkaloid compounds and antioxidant properties from cocoa pod husk (*Theobroma cacao* L.). JOURNAL OF FOOD PROCESSING AND PRESERVATION, 46(11). <https://doi.org/10.1111/jfpp.17084>

Nortjie, E., Basitere, M., Moyo, D., & Nyamukamba, P. (2022). Extraction Methods, Quantitative and Qualitative Phytochemical Screening of Medicinal Plants for Antimicrobial Textiles: A Review. *PLANTS-BASEL*, 11(15). <https://doi.org/10.3390/plants11152011>

Ocampo, E. T. M., Libron, J. A. M. A., Guevarra, M. L. D., & Mateo, J. M. C. (2020). Phytochemical screening, phenolic acid profiling and antioxidant activity analysis of peels from selected mango (*mangifera* spp.) genotypes in the Philippines. *Food Research*, 4(4), 1116-1124. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.4\(4\).025](https://doi.org/10.26656/fr.2017.4(4).025)

Oliveira Chaves, J., Corrêa de Souza, M., Capelasso da Silva, L., Lachos-Perez, D., Torres-Mayanga, P. C., da Fonseca Machado, A. P., Forster-Carneiro, T., Vázquez-Espinosa, M., González-de-Peredo, A. V., Fernández Barbero, G., & Rostagno, M. A. (2020). Extraction of Flavonoids From Natural Sources Using Modern Techniques. *Frontiers in Chemistry*, 8. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.507887>

Pereira, J. P. de J., Moura, C. de S., Ayres, C., & Stávale, L. M. (2020). An Innovative and Accessible Chemical Approach to Bisphenol Identification on Plastic Surfaces. 13(1). <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20200146>

Pino, S., Espinoza, L., Jara-Gutiérrez, C., Villena, J., Olea, A. F., & Díaz, K. (2023). Study of Cannabis Oils Obtained from Three Varieties of *C. sativa* and by Two Different Extraction Methods: Phytochemical Characterization and Biological Activities. *Plants*, 12(9). <https://doi.org/10.3390/plants12091772>

Ponphaiboon, J., Krongrawa, W., Aung, W. W., Chinatangkul, N., Limmatvapirat, S., & Limmatvapirat, C. (2023). Advances in Natural Product Extraction Techniques, Electrospun Fiber Fabrication, and the Integration of Experimental Design: A Comprehensive Review. *MDPI*, 28(13). <https://doi.org/10.3390/molecules28135163>

Pozo, L. M. (2020). Estudios de caracterización y actividad biológica de extractos de *Phlebodium decumanum* [Universidad de Granada].
<https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://digibug.ugr.es/bitstream/handle/10481/63915/63807.pdf%3Fsequence%3D4%26isAllowed%3Dy&ved=2ahUKEwiD093P5q6GAxV8soQIHRCADdMQFnoECBwQAQ&usg=AOvVaw0jIsH7fnTtC3u9OK-J3F5L>

Pratheeksha, G., Agrawal, P., & Chandran, T. (2022). Chemistry and synthesis of Chippiine-Dippinine group of alkaloids found in *Tabernaemontana* species. *World Journal of Pharmaceutical and Life Sciences WJPLS*, 8(8), 45-48.

Quiroz Tapia, N. V. (2021). Estudio fitoquímico y espectroscópico preliminar de cinco especies vegetales de la región norte del Salar de Uyuni [Universidad Mayor de San Andrés].
<https://dipgis.umsa.bo/wp-content/uploads/2023/10/Tesis-Noemi-Quiroz.pdf>

Quispe, A. M., Hinojosa-Ticona, Y., Miranda, H. A., & Sedano, C. A. (2021). Serie de Redacción Científica: Revisiones Sistemáticas. *Revista del Cuerpo Médico del HNAAA*, 14(1).
<https://doi.org/10.35434/rcmhnaaa.2021.141.906>

Quitério, E., Grosso, C., Ferraz, R., Delerue-Matos, C., & Soares, C. (2022). A Critical Comparison of the Advanced Extraction Techniques Applied to Obtain Health-Promoting Compounds from Seaweeds. *Marine Drugs*, 20(11). <https://doi.org/10.3390/md20110677>

Rabizadeh, F., Sadat Mirian, M., Doosti, R., Kiani-Anbouhi, R., & Eftekhari, E. (2022). Phytochemical Classification of Medicinal Plants Used in the Treatment of Kidney Disease Based on Traditional Persian Medicine. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* : <https://doi.org/10.1155/2022/8022599>

Raghu, A., & Velayudhannair, K. (2023). Phytochemical Analysis and Antibacterial Potential of *Stevia rebaudiana* (Bertoni, 1899) Leaf Extracts against *Aeromonas* Species: Influence of Extraction Methods and Solvents in Aquaculture Applications. *JOURNAL OF PURE AND APPLIED MICROBIOLOGY*, 17(4), 2352-2366. <https://doi.org/10.22207/JPAM.17.4.31>

Rai, S., Kafle, A., Devkota, H. P., & Bhattarai, A. (2023). Characterization of saponins from the leaves and stem bark of *Jatropha curcas* L. for surface-active properties. *Heliyon*, 9(5), e15807. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e15807>

Rai, S., Siwakoti, E. A., Kafle, A., Devkota, H. P., & Bhattarai, A. (2021). Plant-Derived Saponins: A Review of Their Surfactant Properties and Applications. 3(44). <https://doi.org/10.3390/sci3040044>

Rajeshwar P. Sinha, & Häder, D.-P. (2020). Natural Bioactive Compounds Technological Advancements. ELSEVIER.

Ramos-Galarza, C., & García-Cruz, P. (2024). Guía para realizar estudios de revisión sistemática cuantitativa. *CienciAmérica*, 13(1). <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/9258000.pdf>

Rao, A., Kumari, S., Laura, J. S., & Dhanias, G. (2023). Qualitative Phytochemical Screening of Medicinal Plants Using Different Solvent Extracts. *Oriental Journal Of Chemistry*, 39(3), 621-626. <https://doi.org/10.13005/ojc/390312>

Rao, A. V., & Rao, L. (2015). Phytochemicals—Isolation, Characterisation and Role in Human Health. <https://www.intechopen.com/books/4528>

Red para la Lectoescritura Inicial de Centroamérica y el Caribe (RedLEI). (2021). Diseño y realización de revisiones sistemáticas: Una guía de formación para investigadores de Lectoescritura Inicial (LEI). <https://red-lei.org/wp-content/uploads/2021/03/Directrices-de-Revisiones-Sistematicas.pdf>

Rivero-Guerra, A. O. (2021). Uso tradicional de especies de plantas en trece provincias de Ecuador. *Collectanea Botanica*. <https://collectaneabotanica.revistas.csic.es/index.php/collectaneabotanica/article/download/304/456/1212>

Rodríguez De Luna, S. L., Ramírez-Garza, R. E., & Serna Saldívar, S. O. (2020). Environmentally Friendly Methods for Flavonoid Extraction from Plant Material: Impact of Their Operating Conditions on Yield and Antioxidant Properties. *The Scientific World Journal*. <https://doi.org/10.1155/2020/6792069>

Rodriguez-Amaya, D. B., & Amaya-Farfan, J. (2021). Chemical Changes During Processing and Storage of Foods Implications for Food Quality and Human Health. Elsevier.

Rossi, E. (2023). Introducción a las revisiones sistemáticas y metaanálisis. *Acta Gastroenterológica Latinoamericana*, 53(1). <https://doi.org/10.52787/agl.v53i1.291>

Rushikesh, A., & Rushikesh, J. (2023). A Review on: Advanced herbal Drug Technology. *International Journal of Pharmaceutical Research and Applications*, 8(6). https://ijprajournal.com/issue_dcp/A%20Review%20on%20Advanced%20herbal%20Drug%20Technology.pdf

Russell, R., Chung, M., Balk, E. M., Atkinson, S., Giovannucci, E. L., Ip, S., Taylor Mayne, S., Raman, G., Ross, A. C., Trikalinos, T., West, K. P., & Lau, J. (2009). Issues and

Challenges in Conducting Systematic Reviews to Support Development of Nutrient Reference Values: Workshop Summary: Nutrition Research Series, Vol. 2. Agency for Healthcare Research and Quality (US). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK44081/>

Sabdoningrum, E. K., Hidanah, S., & Chusniati, S. (2021). Characterization and Phytochemical Screening of Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn) Extract's Nanoparticles Used Ball Mill Method. *Pharmacognosy Journal*, 13(6), 1568-1572. <https://doi.org/10.5530/pj.2021.13.200>

Salas-Pérez, L., Moncayo-Lujan, M. del R., Borroel-García, V. J., Guzmán-Silos, T. L., & Ramírez-Aragón, M. G. (2022). Composición fitoquímica y actividad antioxidante en tres variedades de albahaca por efecto de distintos solventes. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 13(28). <https://doi.org/10.29312/remexca.v13i28.3267>

Salazar, I., Rodríguez, R., Aroche, R., Valdivié, M., & Martínez, Y. (2021). Phytobiotic effect of *Jatropha curcas* leaf powder on productivity, egg quality and blood biochemistry of laying quails. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 55(3), 315-326.

Salim, M., Saeed, A., Iqbal, M., Khan, B. A., Khan, N., Rabbani, I., Alsenani, F., & Rasul, A. (2024). Phytochemical screening and evaluation of antioxidant, total phenolic and flavonoid contents in various weed plants associated with wheat crops. *Brazilian Journal of Biology*, 84. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.256486>

Satrianegara, F., Tahar, N., Rukmana, R., Rauf, A., Putri, S. S., & Hamzah, N. (2024). The Effect of Various Extraction Methods and Solvents on the Phytochemical Contents and Antioxidant Capacities of Safflower Florets (*Carthamus Tinctorius* L.) from South Sulawesi. *Trends in Sciences*, 21(7). <https://doi.org/10.48048/tis.2024.7576>

SciELO. (2023, agosto 14). Programa, Modelo de Publicación y Red SciELO. SciELO Scientific Electronic Library Online. <https://scielo.org/es/sobre-el-scielo/programa-modelo-de-publicacion-y-red-scielo/>

Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación. (2016, junio 6). Científica ecuatoriana rescata la medicina ancestral. Senescyt - Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación. <https://www.educacionsuperior.gob.ec/cientifica-ecuatoriana-rescata-la-medicina-ancestral/>

Shah, A., & Smith, D. L. (2020). Flavonoids in Agriculture: Chemistry and Roles in, Biotic and Abiotic Stress Responses, and Microbial Associations. *Agronomy*, 10(8). <https://doi.org/10.3390/agronomy10081209>

Shaikh, J. R., & Patil, M. (2020). Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. 8(2), 10.22271/chemi.2020.v8.i2i.8834. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i2i.8834>

Sharifi-Rad, J., Cruz-Martins, N., López-Jornet, P., Lopez, E., Harun, N., Yeskaliyeva, B., Beyatli, A., Sytar, O., Shaheen, S., Sharopov, F., Taheri, Y., Docea, A., Calina, D., & Cho, W. (2021). Natural Coumarins: Exploring the Pharmacological Complexity and Underlying Molecular Mechanisms. *OXIDATIVE MEDICINE AND CELLULAR LONGEVITY*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/6492346>

Sharma, D., Sharma, N., Manchanda, N., Prasad, S., Sharma, P., Thakur, V., Rahman, M., & Dhobi, M. (2023). Bioactivity and In Silico Studies of Isoquinoline and Related Alkaloids as Promising Antiviral Agents: An Insight. *BIOMOLECULES*, 13(1). <https://doi.org/10.3390/biom13010017>

Shen, L., Luo, H., Fan, L., Tian, X., Tang, A., Wu, X., Dong, K., & Su, Z. (2023). Potential Immunoregulatory Mechanism of Plant Saponins: A Review. *Molecules* (Basel, Switzerland), 29(1), 113. <https://doi.org/10.3390/molecules29010113>

Shin, K., Kim, D., Oh, Y., Seo, M., Na, C., & Kim, Y. (2021). Improved production of deglucosylated platycodin D from saponins from balloon flower leaf by a food-grade enzyme using high hydrostatic pressure. *HELIYON*, 7(10). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08104>

Silva, K. B. da, Silva, D. S. da, Rêgo, M. M. do, Andrade, A. P. de, & Bezerra, J. D. C. de. (2023). Histo-anatomical pattern, degradability and secondary compounds in different accessions of maniçoba (*Manihot* spp.) and different stages of maturation. *Rev. Caatinga*, 36(4), 952-961. <https://doi.org/10.1590/1983-21252023v36n422rc>

Silva Guaranda, N. K., & Villegas Cárdenas, E. A. (2023). Regeneración natural, diversidad y estructura de la vegetación de área disturbada del campus María Auxiliadora de la Universidad Politécnica Salesiana Guayaquil, Ecuador [Universidad Politécnica Salesiana]. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/26280/1/UPS-GT004728.pdf>

Supasatyankul, B., Saisriyoot, M., Klinkesorn, U., Rattanaporn, K., & Sae-Tan, S. (2022). Extraction of Phenolic and Flavonoid Compounds from Mung Bean (*Vigna radiata* L.) Seed Coat by Pressurized Liquid Extraction. *MOLECULES*, 27(7). <https://doi.org/10.3390/molecules27072085>

Supuran, C. T. (2020). Coumarin carbonic anhydrase inhibitors from natural sources. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 35(1), 1462-1470. <https://doi.org/10.1080/14756366.2020.1788009>

Swamy, M. K. (2020). Plant-derived Bioactives Chemistry and Mode of Action. Springer.

https://www.researchgate.net/publication/342496084_Coumarins_An_Important_Phytochemical_with_Therapeutic_Potential

Tanzey, S. S., Mossine, A. V., Sowa, A. R., Torres, J., Brooks, A. F., Sanford, M. S., & Scott, P. J. H. (2020). A spot test for determination of residual TBA levels in 18F-radiotracers for human use using Dragendorff reagent. 12(41), 5004-5009. <https://doi.org/10.1039/d0ay01565b>

Tawfik, G. M., Dila, K. A. S., Mohamed, M. Y. F., Kien, N. D., Ahmed, A. M., & Huy, N. T. (2019). A step by step guide for conducting a systematic review and meta-analysis with simulation data. Trop Med Health, 47(46). <https://doi.org/10.1186/s41182-019-0165-6>

Tewari, L. M., Tewari, G., Chopra, N., Tewari, A., Pandey, N. C., & Kumar, M. (2020). Phytochemical screening and antioxidant potential of some selected wild edible plants of nainital district, uttarakhand. En Nat. Products and Their Utilization Pattern (pp. 71-97). Nova Science Publishers, Inc. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85128452143&partnerID=40&md5=3f088612d00ed4465e1305de559d2e00>

Twaij, B. M., & Hasan, Md. N. (2022). Bioactive Secondary Metabolites from Plant Sources: Types, Synthesis, and Their Therapeutic Uses. International Journal of Plant Biology, 13(1), 4-14. <https://doi.org/10.3390/ijpb13010003>

Uwineza, P. A., & Waśkiewicz, A. (2020). Recent Advances in Supercritical Fluid Extraction of Natural Bioactive Compounds from Natural Plant Materials. Molecules, 25(17). <https://doi.org/10.3390/molecules25173847>

Vargas-Madriz, Á. F., Chávez-Servín, J. L., & Kuri-García, A. (2024). Procedimientos para la obtención de compuestos fenólicos de quelites mexicanos. 31, 1-12. <https://doi.org/10.30878/ces.v31n0a23>

Vega Oliveros, C. (2021). Estudio de la composición del hongo *Lentinula edodes* usando herramientas ómicas y su potencial en la producción de un alimento funcional [Universidad Nacional de Colombia]. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/81964/52888760.2022.pdf?isAllowed=y&sequence=3>

Wang, H., Chen, W., Lin, F., Feng, J., & Chen, L. (2022). Preparation of total saponins from *Panax japonicus* and their protective effects on learning and memory ability of aging mice. *FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY*, 42. <https://doi.org/10.1590/fst.51521>

Wang, Y., Zhao, W., Li, Y., Zhao, H., Ye, X., Li, T., Wang, Z., & Huang, L. (2022). Optimization of ultrasound-assisted extraction method for phytochemical compounds and antioxidant activities of sour jujube extracts. *FOOD SCIENCE & NUTRITION*, 10(11), 3736-3748. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2971>

Xiang, Z., Wu, X., & Zhong, X. (2020). Ultrasonication assisted extraction of total flavonoids from *Kaempferia galanga* L. and its antioxidant activity. *BANGLADESH JOURNAL OF BOTANY*, 49(3), 601-609.

Xu, J., Wu, J., Qi, J., Li, J., Liu, Y., Miao, Z., Qiu, G., & Jia, W. (2021). Microwave-assisted Extraction of Flavonoids from *Phyllostachys heterocycla* Leaves: Optimization, Mechanism, and Antioxidant Activity in vitro. *BIORESOURCES*, 16(4), 8060-8081. <https://doi.org/10.15376/biores.16.4.8060-8081>

Yan, Y., Li, X., Zhang, C., Lv, L., Gao, B., & Li, M. (2021). Research Progress on Antibacterial Activities and Mechanisms of Natural Alkaloids: A Review. *ANTIBIOTICS-BASEL*, 10(3). <https://doi.org/10.3390/antibiotics10030318>

Yang, C., Zhao, Y., Ren, D., & Yang, X. (2020). Protective Effect of Saponins-Enriched Fraction of *Gynostemma pentaphyllum* against High Choline-Induced Vascular Endothelial Dysfunction and Hepatic Damage in Mice. *BIOLOGICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN*, 43(3), 463-473.

Zain, M., Jakariah, N., Yeoh, J., Lee, S., & Shaari, K. (2020). Ultrasound-Assisted Extraction of Polyphenolic Contents and Acid Hydrolysis of Flavonoid Glycosides from Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Leaf: Optimization and Correlation with Free Radical Scavenging Activity. *PROCESSES*, 8(12). <https://doi.org/10.3390/pr8121540>

Zbik, K., Onopiuk, A., Szpicer, A., & Kurek, M. (2023). Comparison of the effects of extraction method and solvents on biological activities of phytochemicals from selected violet and blue pigmented flowers. *JOURNAL OF FOOD MEASUREMENT AND CHARACTERIZATION*, 17(6), 6600-6608. <https://doi.org/10.1007/s11694-023-02158-2>

Zelege, B., Mekonnen, Z., Bireda, M., Yitbarek, M., & Dendir, A. (2024). Phytochemical screening and antimicrobial activity of *Polygala sadebeckiana* Gürke extracts on bacterial isolates from Wound samples of patients with “Shimetre”. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 24(72). <https://doi.org/10.1186/s12906-024-04371-y>

Zhang, M., Zhao, J., Dai, X., & Li, X. (2023). Extraction and Analysis of Chemical Compositions of Natural Products and Plants. *Separations*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/separations10120598>

Zhang, N., Wang, M., Li, Y., Zhou, M., Wu, T., & Cheng, Z. (2021). TLC-MS identification of alkaloids in Leonuri Herba and Leonuri Fructus aided by a newly developed universal derivatisation reagent optimised by the response surface method. 32(3), 242-251. <https://doi.org/10.1002/pca.2970>

Zhang, Y., Cai, P., Cheng, G., & Zhang, Y. (2022). A Brief Review of Phenolic Compounds Identified from Plants: Their Extraction, Analysis, and Biological Activity. *Natural Product Communications*, 17(1), 1-14. <https://doi.org/10.1177/1934578X211069721>

Zombe, K., Nyirenda, J., Lumai, A., & Phiri, H. (2022). Impact of Solvent Type on Total Phenol and Flavonoid Content and Sun Protection Factor of Crude Cashew Nutshell Liquid. *SUSTAINABLE CHEMISTRY*, 3(3), 334-344. <https://doi.org/10.3390/suschem3030021>