



UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA
DECANATO DE POSTGRADOS

MAESTRÍA EN AGROINDUSTRIAS.
MENCIÓN SISTEMAS AGROINDUSTRIALES.

**Proyecto de titulación con componentes de investigación y/o desarrollo
previo a la obtención del título de: MAGISTER EN
AGROINDUSTRIA**

TEMA:

**“DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES EN EL
EXTRACTO DE UNA PLANTA MEDICINAL PARA LA
ELABORACIÓN INDUSTRIAL DE UNA BEBIDA FUNCIONAL”.**

AUTOR:

MARÍA DEL CISNE LÓPEZ ACUÑA

DIRECTOR DE PROYECTO:

DR. ABDEL BERMÚDEZ DEL SOL, PhD

Puyo-Ecuador

2022

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **María del Cisne López Acuña**, con cédula de identidad **1803587557**, declaro ante las autoridades educativas de la Universidad Estatal Amazónica, que el contenido del Proyecto de titulación con componentes de investigación aplicada y/o desarrollo titulado **“Determinación de compuestos antioxidantes en el extracto de una planta medicinal para la elaboración industrial de una bebida funcional”**, es absolutamente original, auténtico y personal.

En tal virtud y según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente, certifico libremente que los criterios y opiniones que constan en el Proyecto de titulación son de exclusiva responsabilidad de la autora; y que los resultados expuestos pertenecen a la Universidad Estatal Amazónica.

María del Cisne López Acuña

CI. 1803587557

EL TRIBUNAL DE EVALUACIÓN DEL TRABAJO FINAL DE TITULACIÓN

CERTIFICA QUE:

El presente trabajo “**Determinación de compuestos antioxidantes en el extracto de una planta medicinal para la elaboración industrial de una bebida funcional**”, bajo la responsabilidad de la maestrante María del Cisne López Acuña, ha sido meticulosamente revisado, autorizando su presentación:

MIEMBROS DEL TRIBUNAL

Dr. MANUEL LÁZARO PÉREZ QUINTANA, Phd.

PRESIDENTE DE TRIBUNAL EVALUADOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Dr. RENIER ABREU NARANJO, Phd.

MIEMBRO 1

Dr. AMAURY PÉREZ MARTÍNEZ, Phd.

MIEMBRO 2



UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA
DECANATO DE POSGRADO
FORMATO DP-UT-011

FORMATO DP-UT-011: AVAL DEL DIRECTOR DE TRABAJO TITULACIÓN

MAESTRÍA EN AGROINDUSTRIA MENCIÓN SISTEMAS AGROINDUSTRIALES	
COHORTE: III	FECHA ELABORACIÓN: 13/07/2022
INFORME FINAL Y AVAL	
<p>Quien suscribe, Abdel Bermúdez del Sol, portador de la cédula de identidad número: 1758013765, en calidad de Director del trabajo de titulación denominado: "DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES EN EL EXTRACTO DE UNA PLANTA MEDICINAL PARA LA ELABORACIÓN INDUSTRIAL DE UNA BEBIDA FUNCIONAL", opción Proyecto de trabajo de titulación con componentes de investigación aplicada y/o desarrollo, a cargo de la maestrante MARÍA DEL CISNE LÓPEZ ACUÑA, portadora del número de cédula de identidad 1803587557, certifico haber acompañado y revisado el documento entregado a mi persona, considero que cumple con los objetivos planteados, los lineamientos y orientaciones establecidas en la normativa vigente de la institución.</p> <p>Por lo antes expuesto se avala el trabajo de titulación para que sea presentado para la sustentación correspondiente.</p>	

ELABORADO POR:
 ABDEL BERMÚDEZ
Abdel Bermúdez del Sol, PhD CI: 1758013765 DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN



UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA
DECANATO DE POSGRADO
FORMATO DP-UT-013C

FORMATO DP-UT-013C: CERTIFICADO DE PORCENTAJE DE SIMILITUD EN EL SISTEMA ANTIPLAGIO.

Quien suscribe el presente Dr. Abdel Bermúdez del Sol, con CI: 1758013765, certifica que el Proyecto final de titulación con componentes de investigación aplicada y/o de desarrollo titulado: "DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES EN EL EXTRACTO DE UNA PLANTA MEDICINAL PARA LA ELABORACIÓN INDUSTRIAL DE UNA BEBIDA FUNCIONAL", a cargo de la maestrante MARÍA DEL CISNE LÓPEZ ACUÑA, ha sido examinado a través del sistema Antiplagio **Original** y presenta un porcentaje de similitud del 6 %.

En el cantón Pastaza, a los 13 días del mes de julio del 2022.



ABDEL
BERMUDEZ

Abdel Bermúdez del Sol, PhD

DIRECTOR DEL PROYECTO DE TITULACIÓN

Document Information

Analyzed document	PROYECTO DE TITULACIÓN_López Acuña María_Original.pdf (D142014280)
Submitted	2022-07-13 17:34:00
Submitted by	Abdel Bermúdez del Sol
Submitter email	ua.abdelbermudez@uniandes.edu.ec
Similarity	6%
Analysis address	ua.abdelbermudez.uniaganalysis.urfund.com



ABDEL
BERMÚDEZ

Sources included in the report

SA López Acuña, Proyecto final.docx
Document López Acuña, Proyecto final.docx (D138409860)

2

Entire Document

UNIVERSIDAD

ESTATAL AMAZÓNICA DECANATO DE POSTGRADOS MAESTRÍA EN AGROINDUSTRIAS. MENCIÓN SISTEMAS AGROINDUSTRIALES. Proyecto de titulación con componentes de investigación y/o desarrollo previo a la obtención del título de: MAGISTER EN AGROINDUSTRIA TEMA: "DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES EN EL EXTRACTO DE UNA PLANTA MEDICINAL PARA LA ELABORACIÓN INDUSTRIAL DE UNA BEBIDA FUNCIONAL". AUTORA: MARÍA DEL CISNE LÓPEZ ACUÑA DIRECTOR DE PROYECTO:

DR.

ABDEL BERMÚDEZ DEL SOL, PhD Puyo-Ecuador 2022

RESUMEN EJECUTIVO Y PALABRAS CLAVES La presente investigación tuvo como objetivo identificar la presencia de compuestos antioxidantes en el extracto de una planta medicinal para elaborar una bebida funcional. Se identificaron siete plantas medicinales con NUS mayor o igual al 20 % de las cuales según investigaciones realizadas por diferentes autores el matico, guayusa y el ajo de monte presentan propiedades antioxidantes. Se escogió al matico para la obtención de un extracto acuoso rico en compuestos polifenólicos y alto potencial antioxidante. Las mejores condiciones para obtener un extracto acuoso con la mayor cantidad de polifenoles totales y actividad antioxidante fueron 15 g de droga vegetal/100 ml de agua desmineralizada llevadas a decocción por 30 min. Se identificaron la presencia de saponinas, fenoles, flavonoides, alcaloides y compuestos grasos en el extracto acuoso. Se utilizó la técnica de Folin Ciocalteu para la determinación de compuestos polifenólicos en las bebidas formuladas cuyos resultados variaron entre 215,708-467,166 mg equivalentes al ácido gálico por cada 100 ml de extracto, así mismo, se aplicaron las técnicas de FRAP y ABTS para la medición de la capacidad antioxidante, los resultados conseguidos variaron entre 251,84-267,16 mg equivalentes de Trólox para las muestras de analizadas por FRAP y 195,99-242,44 mg equivalentes de Trólox para las muestras analizadas por ABTS. Los valores de pH fueron 3- 3,5; grados brix 1,3-15,1 y densidad a 25 °C, 1,004-1,06 g/ml. La evaluación sensorial de las bebidas formuladas se realizó con un panel no entrenado de 30 de personas obteniendo como la bebida más aceptada aquella compuesta por 35 % de extracto de matico y 65 % agua potable. Palabras claves: ABTS, FRAP, Polifenoles totales, Extracto acuoso, Actividad antioxidante, Piper aduncum.

AGRADECIMIENTO

“Agradezco por la vida y familia que tengo la dicha de disfrutar todos los días.”

Gracias.

DEDICATORIA.

Este proyecto de Titulación lo dedico a mi madre, mi pilar fundamental, ella está ahí cuando el mundo se pone de cabeza, acogiéndome con los brazos abiertos, sin esperar nada a cambio, más que el amor que yo le pueda dar.

Éste y todos los logros son para ti MAMÁ.

RESUMEN EJECUTIVO Y PALABRAS CLAVES

La presente investigación tuvo como objetivo identificar la presencia de compuestos antioxidantes en el extracto de una planta medicinal para elaborar una bebida funcional. Se identificaron siete plantas medicinales con NUS mayor o igual al 20 % de las cuales según investigaciones realizadas por diferentes autores el matico, guayusa y el ajo de monte presentan propiedades antioxidantes. Se escogió al matico para la obtención de un extracto acuoso rico en compuestos polifenólicos y alto potencial antioxidante. Las mejores condiciones para obtener un extracto acuoso con la mayor cantidad de polifenoles totales y actividad antioxidante fueron 15 g de droga vegetal/100 ml de agua desmineralizada llevadas a decocción por 30 min. Se identificaron la presencia de saponinas, fenoles, flavonoides, alcaloides y compuestos grasos en el extracto acuoso. Se utilizó la técnica de *Folin Ciocalteo* para la determinación de compuestos polifenólicos en las bebidas formuladas cuyos resultados variaron entre 215.708-467.166 mg equivalentes al ácido gálico por cada 100 ml de extracto, así mismo, se aplicaron las técnicas de FRAP y ABTS para la medición de la capacidad antioxidante, los resultados conseguidos variaron entre 251,84-267,16 mg equivalentes de Trólox para las muestras de analizadas por FRAP y 195,99-242,44 mg equivalentes de Trólox para las muestras analizadas por ABTS. Lo valores de pH fueron 3-3,5; grados brix 1,3-15,1 y densidad a 25 °C, 1,004-1,06 g/ml. La evaluación sensorial de las bebidas formuladas se realizó con un panel no entrenado de 30 de personas obteniendo como la bebida más aceptada aquella compuesta por 35 % de extracto de matico y 65 % aguapotable.

Palabras claves: ABTS, FRAP, Polifenoles totales, Extracto acuoso, Actividad antioxidante, Piper adumcun.

ABSTRACT AND KEY WORD

The objective of this research was to identify the presence of antioxidant compounds in the extract of a medicinal plant to produce a functional beverage. Seven medicinal plants with NUS greater than or equal to 20% were identified, of which, according to research carried out by different authors, matico, guayusa and garlic have antioxidant properties. Al matico was chosen to obtain an aqueous extract rich in polyphenolic compounds and high antioxidant potential. The best conditions to obtain an aqueous extract with the highest amount of total polyphenols and antioxidant activity were 15 g of plant drug/100 ml of demineralized water decocted for 30 min. The presence of saponins, phenols, flavonoids, alkaloids and fatty compounds in the aqueous extract were identified. The folin ciocalteo technique was used for the determination of polyphenolic compounds in the formulated beverages, the results of which varied between 215,708-467,166 mg equivalent to gallic acid per 100 ml of extract, likewise, the FRAP and ABTS techniques were applied for the measurement of the antioxidant capacity, the results obtained varied between 251.84-267.16 mg equivalents of Trólox for the samples analyzed by FRAP and 195.99-242.44 mg equivalents of Trólox for the samples analyzed by ABTS. The pH values were 3-3.5; brix degrees 1.3-15.1 and density at 25 °C, 1.004-1.06 g/ml. The sensory evaluation of the formulated beverages was carried out with an untrained panel of 30 people, obtaining as the most accepted beverage that composed of 35% matico extract and 65% drinking water.

Keywords: ABTS, FRAP, Total polyphenols, Aqueous extract, Antioxidant activity, *Piper adumcun*.

ÍNDICE

CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN	1
PROBLEMA CIENTÍFICO	3
FORMULACIÓN DE LA PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	3
HIPOTESIS DE LA INVESTIGACIÓN	3
OBJETIVOS.....	4
Objetivo General.....	4
Objetivos Específicos	4
CAPÍTULO II.....	5
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	5
Inventario Etnobotánico.....	5
PLANTAS MEDICINALES	5
<i>Piper aduncum</i>	5
PROPIEDADES medicinales DEL matico	6
COMPUESTOS BIOACTIVOS en las especies vegetales	6
EXTRACTO VEGETAL	6
DECOCCIÓN.....	7
Equipo de Reflujo.....	7
Extracto acuoso.....	7
Estabilidad	8
ANTIOXIDANTES	8
IMPORTANCIA DE LOS ANTIOXIDANTES	8
COMPUESTOS FENOLICOS COMO ANTIOXIDANTES	9
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE.....	9
COMPUESTOS POLI FENÓLICOS	10
CLASIFICACION DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS.....	10
ACIDOS FENOLICOS	10
FLAVONOIDES	10
TANINOS.....	11
BEBIDA FUNCIONAL	11
CONTROL DE CALIDAD	11
CAPÍTULO III	13
MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
TIPO DE INVESTIGACIÓN	13

ENFOQUE DE LA INVESTIGACIÓN	13
MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN.....	13
Recolección de la información	13
Localización del área de estudio.....	14
Evaluación de la calidad del extracto de <i>piper aduncum</i> (matico).....	18
PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS	18
Características organolépticas	18
Determinación de pH.....	19
Determinación de grados Brix	19
Determinación de Densidad Relativa	19
ENSAYO DE ESPUMA PARA IDENTIFICAR SAPONINAS	20
ENSAYO DE CLORURO FÉRRICO PARA IDENTIFICAR TANINOS.....	20
ENSAYO DE BORNTRAGER PARA IDENTIFICAR QUINONAS	20
ENSAYO DE SHINODA PARA IDENTIFICAR FLAVONOIDES	20
MÉTODO PARA EL ANÁLISIS SENSORIAL.....	21
Determinación de polifenoles en el extracto.....	22
FORMULACIÓN DE LA BEBIDA	22
EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	23
MÉTODO FRAP (FERRIC ION REDUCING ANTIOXIDANT POWER).....	23
MÉTODO DEL RADICAL ABTS	24
TRATAMIENTO DE DATOS	25
RECURSOS HUMANOS Y MATERIALES	25
CAPÍTULO IV	27
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS DE LAS BEBIDAS FORMULADAS.....	36
CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA del extracto de PIPER ADUNCUM	38
IDENTIFICACIÓN DE LA PRESENCIA DE COMPUESTOS POLIFENÓLICOS EN EL EXTRACTO	40
FACTORES QUE INFLUYEN EN LA CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS POLIFENÓLICOS TOTALES.....	40
PARÁMETROS ORGANOLÉPTICOS de las bebidas formuladas	48
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS BEBIDAS FORMULADAS.....	56
CONCLUSIONES.....	58
RECOMENDACIONES	59
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
ANEXOS	65

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

Ecuador es considerado como uno de los países con mayor índice de biodiversidad en el planeta lo que le otorga un enorme potencial en el uso de especies de plantas como fuente de medicina tradicional (Paredes, Buenaño, & Mancera, 2015). Las plantas medicinales han cobrado mucho auge en los últimos años por su trascendental contribución en el sistema de la salud de comunidades locales debido a que son utilizadas de manera frecuente por la mayoría de las poblaciones rurales (Almajano, 2016).

El desarrollo de nuevos productos alimenticios no sería posible sin la materia prima que se obtienen de las especies vegetales, los componentes químicos que tienen una influencia fisiológica en el organismo son los responsables de sus propiedades preventivas o curativas. El metabolismo secundario de la planta produce estos compuestos, que se denominan componentes activos. Por ejemplo, los principios activos de las plantas pueden emplearse como tratamiento preventivo o curativo para mejorar la salud y el bienestar de las personas.

Más del 70% de la población mundial utiliza las plantas medicinales como una solución para tratar problemas básicos de salud, actualmente casi el 30% de los productos farmacéuticos son obtenidos a partir de la materia prima de reino vegetal, lo que permite revalorar la variada flora que existe y el fomentar la investigación de las bondades terapéuticas que nace desde la medicina tradicional (Portal, Proaño, & Villacis, 2013).

Una de las plantas más utilizadas en Ecuador es el *Piper aduncum* (matico), siendo esta una especie que se distribuye en la amazonia llegando a medir aproximadamente hasta siete metros de altura, es utilizada por las comunidades para curaciones, considerándose como un buen antioxidante, antiparasitario y cicatrizante por sus componentes derivados del ácido benzoico y su alto contenido de taninos (Correa, Díaz, & Símpalo, 2020).

El estudio científico moderno de las propiedades curativas de las plantas promete descubrir propiedades que incluso van más allá de los usos tradicionales. Por tal motivo en la actualidad la innovación y creación de bebidas saludables está teniendo mayor relevancia en parte de la población por su importante rol en la prevención de enfermedades (Portal, Proaño, & Villacis, 2013).

1.2. JUSTIFICACIÓN

Las bebidas funcionales no tienen una definición establecida, sin embargo, varios expertos coinciden en que son aquellas que ofrecen un beneficio para la salud más allá de la

nutrición básica, las que podrían contribuir a la mejora de la hidratación de un individuo ya que esto son un alimento integral, reduciendo así el riesgo de determinadas enfermedades (Fernández, 2018).

Un estudio realizado por Holguín en el año 2014 indica que el 97% de la población desea consumir una bebida a base plantas medicinales debido a los beneficios que poseen; otra investigación realizada por Pérez en el 2013 indica que el consumo de una bebida elaborada a base de plantas medicinales brinda a los consumidores una alternativa saludable en comparación con otras bebidas puestas a la venta en el mercado.

En los últimos años el interés por parte de los consumidores ha incrementado respecto al consumo de productos saludables que pueden ofrecerles diversos beneficios nutricionales y fisiológicos; como resultando de esto se ha producido una mayor comercialización de productos denominados funcionales y un decreciente consumo de bebidas con alto contenido de azúcares y preservantes químicos (Díaz & Verejano, 2020).

Por todo lo anterior, la presente investigación se realizó con la finalidad de proporcionar nuevas alternativas al sector de la industria, para la elaboración de productos derivados de las plantas medicinales como es el matico debido a que esta planta es identificada, con el de mayor índice de valor de uso, por la población de Pastaza, con miras de encontrar diversas posibilidades de mejoramiento u optimización en el uso del recurso (matico) llegando a la mejor formulación rica en antioxidantes con propiedades funcionales en la bebida.

PROBLEMA CIENTÍFICO

FORMULACIÓN DE LA PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cómo elaborar una bebida funcional rica en compuestos antioxidantes a partir de una especie vegetal?

HIPOTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

Es posible elaborar una bebida funcional con una elevada capacidad antioxidantes a partir de un extracto acuoso de una especie vegetal amazónica.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Identificar la presencia de compuestos antioxidantes totales en el extracto de una planta medicinal para la elaboración de una bebida funcional.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Identificar las plantas con posibles propiedades antioxidantes utilizadas por la población del cantón Pastaza en la provincia de Pastaza, a través de un estudio etnobotánico y seleccionar la de mayor nivel de uso significativo para su caracterización fitoquímica y funcional.
2. Obtener el extracto vegetal a partir de la planta seleccionada, evaluar su calidad e identificar la presencia de compuestos poli fenólicos.
3. Elaborar una bebida funcional a base del extracto de la planta seleccionada para determinar su funcionalidad a través de la evaluación de la actividad antioxidante total.

CAPÍTULO II

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. ESTUDIO ETNOBOTÁNICO

El estudio de la etnobotánica, a menudo conocida como etnobotánica, es un subcampo de la antropología que se centra en la investigación de la relación que existe entre los seres humanos y el mundo natural que los rodea, es decir, su vegetación (Ríos, Alanís y Favela, 2017).

2.2. INVENTARIO ETNOBOTÁNICO

Para comprender la importancia de la flora en un área determinada y utilizar ese conocimiento en la planificación e implementación de varios proyectos en esa tierra, se crea un inventario etnobotánico compilando un catálogo de las diversas especies de plantas que se encuentran actualmente en esa área. Esto también permite la identificación de puntos críticos de vegetación y permite la planificación de proyectos (Benítez, y otros, 2006).

Según Gonzales et al. (2017), los protocolos estándar y los enfoques cuantitativos para el inventario etnobotánico continúan siendo esenciales para obtener información actualizada que guíe las estrategias de manejo y uso sostenible de la biodiversidad vegetal; la información recopilada durante un inventario también puede servir como línea de base o como primer dato durante un estudio de monitoreo; en este sentido, sus resultados podrían ser utilizados para evaluar los efectos de catástrofes como huracanes o incendios, cambios en el medio ambiente y otros factores.

2.3. PLANTAS MEDICINALES

De acuerdo con la OMS (1979) citado en (Holguín, 2014) una planta medicinal es aquella que es de cualquier especie vegetal que contiene sustancias que pueden ser empleadas para propósitos terapéuticos o cuyos principios activos pueden ser base para la síntesis de nuevos fármacos.

Según Gallardo (2011) las plantas medicinales son los remedios más antiguos de la humanidad, son aquellos vegetales que elaboran principios activos y ejercen una acción farmacológica sea beneficiosa o perjudicial sobre un organismo vivo, tienden a disminuir o neutralizar el desequilibrio orgánico.

2.4. *Piper aduncum*

El matico es una planta que se distribuye en la Amazonia y que por conocimiento ancestral es una de las plantas medicinales más utilizadas en su área local, es una planta de la familia Piperaceae y especie *aduncum*, conocida como Matico o hierba del soldado (Instituto Nacional de Salud, 2016).

2.4.1. PROPIEDADES MEDICINALES DEL MATICO

Según Villafane y otros (2020) dentro de las principales propiedades del matico destacan los de uso interno y uso externo. El matico es un antibiótico eficaz para tratar las infecciones por hongos e infecciones urinarias. Por los alcaloides que contiene el matico, produce efectos de analgésicos, además aporta para el alivio de resfríos, bronquitis y demás problemas respiratorios.

El extracto hidroetanólico del *Piper aduncum* (matico) posee un efecto cicatrizante sobre las heridas, el extracto etanólico aumenta la proliferación, migración de fibroblastos humanos hacia la herida, el estudio realizado respalda que el matico puede tener efectos beneficiosos para la cicatrización y que son la calve del diseño de nuevas terapias.

2.5. COMPUESTOS BIOACTIVOS EN LAS ESPECIES VEGETALES

Los compuestos bioactivos es un tipo de sustancia que se encuentra en pequeñas cantidades en las plantas, frutas, verduras y granos. Son definidos como componentes de los alimentos que influyen en la actividad fisiológica dando como resultado un efecto positivo sobre la salud y su contribución para reducir el riesgo de enfermedades. Diversas investigaciones demuestran que los alimentos derivados de las plantas con ricos en los compuestos bioactivos (Ramírez, 2018).

2.6. EXTRACTO VEGETAL

Extracto vegetal hace referencia a un producto obtenido a partir de una combinación de varios componentes que contienen porciones de compuestos químicos, el cual se adquiere mediante métodos físicos, químicos y microbiológicos utilizando partes u órganos de especies vegetales (Irigaray *et al.*, 2020).

Las plantas permiten obtener diversas sustancias útiles: medicinas, nutrición, control de plagas y control de hongos fito-patógenos (Cano, 2016). Para la obtención de extractos vegetales existen las siguientes técnicas (Domínguez, 2016).

- **Maceración:** Consiste en remojar el material vegetal, fragmentado en un solvente (agua, etanol o glicerina, en reposo durante 2 a 14 días con agitación esporádica, no permitiendo que se fermente. Luego filtrar la solución.
- **Extracción mecánica:** Esta técnica consiste en hacer presión sobre el material extractante mediante remojo y machacado.
- **Decocción:** El material vegetal es hervido a 100 °C en agua durante 20 min, en un recipiente con cierre bien ajustado para evitar pérdidas de principios aditivos.
- **Infusión:** Se vierte agua hirviendo sobre la planta colocada en un recipiente bien cerrado. Dejar en reposo durante 5 a 15 min.

2.6.1. DECOCCIÓN

La decocción es el proceso de cocimiento, hervir la combinación de droga vegetal a la temperatura de ebullición del agua, este método consiste en llevar la mezcla a ebullición y luego mantenerla allí durante un período de tiempo que oscila entre 15 y 30 min (Selles, 1992 citado en Carrión & García, 2010).

Hervir la planta durante cinco a veinte min a una temperatura superior al punto de ebullición, en un recipiente sellado evita que se evapore durante este proceso. En este producto se puede encontrar una variedad de raíces, tallos y cortezas (Guerra, 2005).

2.7. EQUIPO DE REFLUJO

Es posible realizar procesos químicos a temperaturas muy por encima de la temperatura ambiente, como las reacciones de recristalización, mediante el uso de equipos de reflujo, que evitan la pérdida de disolvente en una reacción química calentada. Esto también asegura una temperatura constante, ya que el solvente elegido tendrá un punto de ebullición conocido, y por lo tanto nos permite llevar a cabo procesos químicos como estos a temperaturas muy por encima de la temperatura ambiente. El equipo de reflujo se usa comúnmente en química orgánica para evitar la pérdida de solvente en reacciones químicas o reactivos calentados (Mendez, 2014).

2.8. EXTRACTO ACUOSO

Según Soto et al. (2012), el extracto acuoso es un proceso por el cual se extraen metabolitos solubles en agua, el cual no requiere de mayor tecnificación para ser aplicado, principalmente empieza con la recolección de las hojas de plantas, las cuales se secan a la

sobra y luego son trituradas y molidas, el polvo resultante se mezcla con agua y luego se deja reposar para días después ser separada la parte sólida del agua, el cual es secado y mantenido a temperatura ambiente. Según Rodríguez et al. (2006), los extractos naturales se clasifican en acuoso, glicólicos, hidroalcohólicos, oleosos.

2.9. ESTABILIDAD

Según Martín et al. (2007), la estabilidad, definiéndola desde un punto de vista general, hace referencia al estado de pasividad que se prolonga por un tiempo determinado, sin sufrir alteraciones o modificaciones de su estado original. Sin embargo, cuando hablamos de estabilidad dentro del campo del tratamiento y extracción de compuestos orgánicos a partir de materia vegetal, se hace referencia a que el extracto obtenido no muestre modificaciones en su compostura química y física a lo largo del tiempo, lo cual es esencial para su conservación en tiempos posteriores (Padró & Marín, 2008).

2.10. ANTIOXIDANTES

Son compuestos que impiden la oxidación de los alimentos, impiden el envejecimiento y la aparición de enfermedades. Los antioxidantes se encuentran mayormente en las frutas, hortalizas, legumbres por lo que es recomendable ingerir estos alimentos diariamente para la prevención de afecciones a la salud. Dentro de la clasificación de los antioxidantes tenemos a los endógenos o enzimáticos y también se puede clasificar en si son solubles o lípidos. Existen antioxidantes naturales que se encuentran casi en todas las partes de las plantas (Aillón , 2014).

En concordancia con el autor Coronado y otros (2015) también menciona que el antioxidante no solo debe estudiarse por sus interacciones químico-biológicos además su función de deterioro oxidativo.

2.10.1. IMPORTANCIA DE LOS ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes actúan como donadores de hidrogeno y son importantes porque inhiben la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad. Algunos estudios realizados in vitro llegaron a la conclusión que algunos tipos de antioxidantes poseen un papel protector de algunos canceres. Las principales características de un sistema antioxidante son, la prevención o detección de una cadena de propagación oxidativa, mediante la estabilización del radical generado entre los principales antioxidantes son los flavonoides (Rojas , 2018).

2.10.2. COMPUESTOS FENOLICOS COMO ANTIOXIDANTES

Los fenoles son compuestos químicos ampliamente distribuidos en las plantas como producto de su metabolismo secundario. Dentro de los compuestos de origen vegetal con acción antioxidantes es posible encontrar una variada gama de grupos como los compuestos fenólicos o polifenoles, siendo el mayor espectro en cuanto a su actividad antioxidante, además de tener un efecto bioactivo sobre determinadas patologías en los seres humanos. Los fenoles son metabolitos secundarios que están distribuidos ampliamente en el reino vegetal.

Las plantas a lo largo de toda su vida tienen la capacidad de producir una gran cantidad de compuestos que proviene del metabolismo secundario, los fenoles son quienes dan las características de la planta en cuanto al sabor, olor y dureza (Maestro & Borja, 1993).

De igual manera Martínez y otros (2000) menciona que el comportamiento de los compuestos fenólicos parece estar relacionado con su capacidad para quelar metales, inhibir la lipoxigenasa y captar radicales libres. Además, menciona que para que un compuesto fenólico sea clasificado como antioxidante este debe cumplir dos condiciones la primera que se encuentre en una concentración baja con la relación al sustrato que va ser oxidado y la segunda que el radical formado sea estable y no pueda actuar en oxidaciones posteriores.

2.10.3. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

La capacidad antioxidante permite medir la cantidad de antioxidantes de un sistema, el cual consiste en inhibir o dificultar la oxidación de un sustrato hasta en cantidades muy pequeñas. Es útil para valorar la calidad de los alimentos (Benítez *et al.*, 2021).

Según Breña (2017) existen diversas formas para medir la capacidad antioxidante de muestras biológicas, de las cuales dos sobresalen: para la capacidad total de muestras. capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC), Poder de captación de radicales totales (TRAP), capacidad antioxidante equivalente de trolox (TEAC), capacidad antioxidante para reducir el ion férrico (RAP), capacidad antioxidante de pigmentos catiónicos (ABTS), método radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) y el método por peroxidación lipídica (DDL).

De igual manera Preciado (2016) menciona que los beneficios a la salud de compuestos fenólicos en bebidas funcionales no solo son consumidos por su valor nutritivo, sino por los efectos positivos que pueden producir en el metabolismo, los efectos positivos

a la salud han permitido que las infusiones sean incluidas dentro de la categoría de bebidas funcionales.

2.11. COMPUESTOS POLI FENÓLICOS

Los compuestos polifenólicos son metabolitos secundarios que se encuentran en los tejidos de las plantas, con mayor énfasis en frutos con concentraciones más o menos elevadas, estas se encuentran en formas simples solubles como los antocianos, formas totalmente insolubles como la lignina y formas de polimerasa con solubilidad variable como los taninos (Chávez, 2019).

Los compuestos fenólicos están relacionados con la calidad sensorial de los alimentos de origen vegetal como agente protector frente a la acción de patógenos, los fenoles son además responsables de la pigmentación de los alimentos vegetales (Castromonte, Wacyk y Valenzuela, 2020).

Los polifenoles son compuestos que tienen propiedades antioxidantes que impiden el daño oxidativo en las personas, los cuales permiten tener una optima salud y disminuir la incidencia de enfermedades (García *et al.*,2020).

2.11.1. CLASIFICACION DE LOS COMPUESTOS

2.11.1.1. FENÓLICOSACIDOS FENOLICOS

Los acido fenólicos se clasifican en derivados del ácido benzoico que son compuestos frecuentes al estado de esteres o del ácido cinámico son ampliamente distribuidos normalmente esterificados (Paladino, 2008).

2.11.1.2. FLAVONOIDES

Los flavonoides son compuestos fenólicos que en su estructura están formados por los grupos fenilo A y B. A estos compuestos se les atribuye la propiedad de ser antioxidantes y capacidad de capturar radicales. Estos compuestos son casi siempre hidrosolubles y son los responsables de la coloración de las flores, frutos y hojas.

Las plantas que son crecidas a pleno sol contienen más flavonoides a diferencias de las que son crecidas a la sombra (Maestro & Borja, 1993).

2.11.1.3.TANINOS

Los taninos son compuestos polifenólicos y son solubles en agua, alcohol y acetona. La estructura que posee los taninos se basa en plómeros y tiene una masa molecular comprendida entre 500 y 3000. Además, estas se clasifican en taninos hidrolizables y condensados (Martínez, Periago, & Ros, 2000).

2.12. BEBIDA FUNCIONAL

Se considera una bebida funcional a aquellas que por sus características ofrecen beneficios para la salud y el autocuidado, puede ser funcionales naturalmente, por adición de nutraceuticos, probióticos, vitaminas u otros ingredientes, cuyas características a través de parámetros fisicoquímicos presentan capacidad antioxidante y optima cantidad de polifenoles totales (Fernandez, 2018).

Las bebidas además de contribuir con la hidratación proporcionan nutrientes importantes es decir ingredientes funcionales que favorecen la salud o en algunos casos, si se incorpora como parte de una dieta saludable, reducen el riesgo de padecer determinadas enfermedades (Flores, 2019).

Según Correa & Díaz (2021) menciona que en la actualidad las bebidas funcionales tienen propiedades beneficiosas para la salud debido a su composición de nutrientes, que ayudan a mejorar la hidratación y a favorecer en su salud por lo compuestos que contiene las bebidas funcionales. Estos tipos de bebidas se convirtiéndose en un alimento fundamental.

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

El diseño investigativo tomado en cuenta para desarrollar este estudio, en su primera etapa fue observacional de corte transversal y alcance descriptivo; en su segunda etapa se llevó a cabo un diseño experimental.

3.2. ENFOQUE DE LA INVESTIGACIÓN

El estudio tuvo con enfoque mixto, es decir implicó combinar los enfoques cualitativo y cuantitativo en un mismo estudio, esto implica la recolección, análisis e interpretación de los datos cualitativos y cuantitativos, por lo que genera inferencias de ambos tipos.

3.3. MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN

La investigación se desarrolló en cinco etapas:

Etapa 1: Identificación de las plantas con posibles propiedades antioxidantes utilizadas por la población del cantón Pastaza en la provincia de Pastaza.

Se llevó a cabo mediante un estudio etnobotánico, con un diseño observacional de corte transversal y alcance descriptivo. diseñó un cuestionario estructurado para proporcionar un rango aceptable de flexibilidad con suficiente igualdad para obtener interpretaciones apropiadas para los propósitos de este estudio; se realizaron 130 entrevistas en diferentes puntos del cantón Pastaza, la selección de las personas a ser entrevistadas (informantes clave) se realizó con la ayuda de un guía comunitario. En esta entrevista se identificaron: el nombre común de la especie, su uso, formas de preparación, partes utilizadas y dosis, todos los datos fueron registrados por escrito durante cada entrevista.

3.3.1. RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN:

Se realizó un muestreo intencional no probabilística que estuvo conformada por 130 informantes clave, como criterios de inclusión se estableció que los informantes claves

debían ser mayores de 30 años y naturales de la zona de estudio o con una permanencia en el lugar superior a los 20 años; garantizando así que los conocimientos de las diferentes plantas medicinales y sus variados usos terapéuticos fueran originarios de dicha zona.

Se solicitó información sobre los nombres comunes de las plantas medicinales, sus usos, las partes empleadas, formas de preparación, la cantidad utilizada, la frecuencia y duración del tratamiento, resultados del tratamiento, producción de efectos adversos, precauciones o contradicción, los posibles lugares donde obtener las plantas.

3.3.2. LOCALIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

El trabajo de campo (estudio etnobotánico) se desarrolló en el cantón Pastaza y abarcó su única parroquia urbana (Puyo) y tres parroquias rurales (Fátima, Tarqui y Veracruz). Pastaza, que es la capital de la provincia de Pastaza, se extiende hacia el Oriente de la región de Baños de Agua Santa, se conocía, en la época colonial, como la provincia de “ La Canela”. Limita al norte con las provincias de Napo y Orellana, al sur con Morona Santiago, al este con el Perú (departamento de Loreto) y al oeste con la provincia de Tungurahua. Está dividida en cuatro cantones: Arajuno, Mera, Pastaza y Santa Clara. El cantón Pastaza, posee un clima esmuy húmedo y tropical, la temperatura inedia es de 25 grados centígrados, siendo una zonade gran precipitación fluvial presente a lo largo de todo el año.

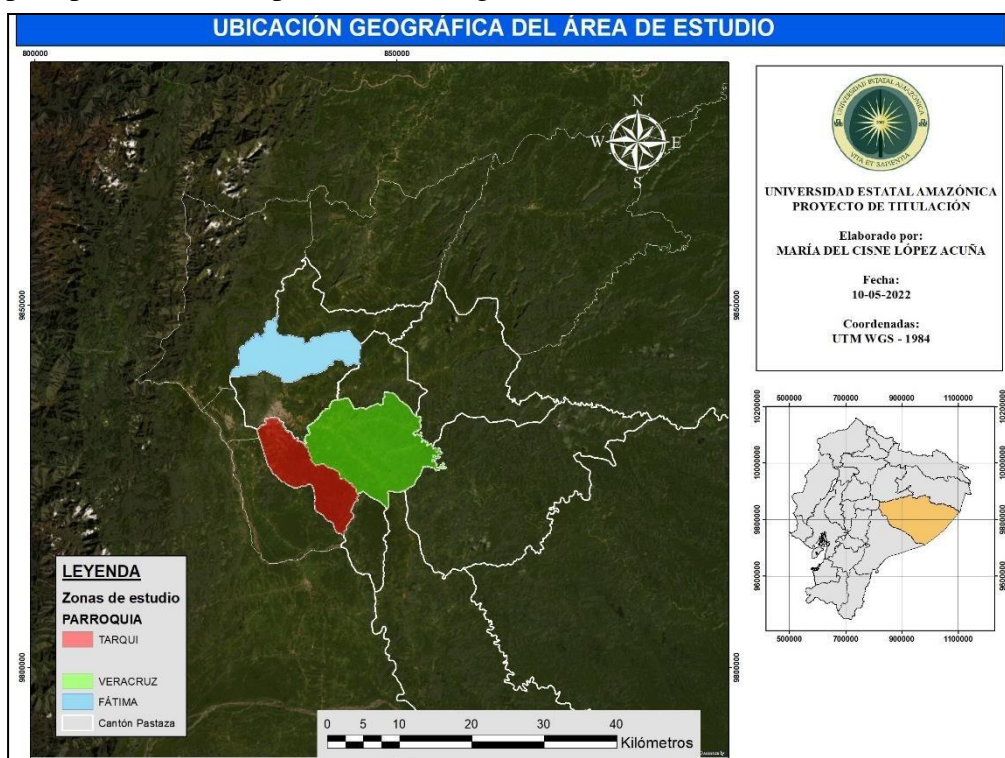


Figura 1: Ubicación geográfica del área de estudio.

Fuente: Elaborado por: María del Cisne López, 2022.

Etapa 2: Determinación del nivel de uso significativo de las especies con potencial actividad antioxidante y selección de la planta con mayor NUS para su caracterización fitoquímica y evaluación de su actividad antioxidante.

A partir de los datos recopilados sobre el uso de especies vegetales citadas por los informantes clave, se calcularon los índices cuantitativos para cada especie, es decir, el Índice de Valor de Uso (IVU) y el Nivel de Uso Significativo (NUS). El IVU se usó para evaluar la predilección de la población por determinada especie vegetal. Este cálculo muestra la cantidad de usos que se le confiere a una especie en concreto (Rivera, 2018). Para el cálculo del índice de valor de uso se utilizó la siguiente fórmula:

$$IVU = \sum VUis/ns \quad (1)$$

Donde:

VUis: valor de uso designado a una especie particular (s) por un informante (i).

ns: número total de informantes entrevistados acerca de una especie particular (s).

El NUS se utilizó para calcular el valor dado para cada especie y analizar su aprobación y aceptación, los usos citados con una frecuencia mayor o igual del 20% deben ser considerados para una evaluación y validación científica (Toscano, 2006). Se utilizó la fórmula:

$$NUS = \frac{UE}{Ni} \times 100 \quad (2)$$

Donde:

UE: número de citas de uso para cada especie.

Ni: número total de informantes entrevistados.

En esta sección del trabajo se logró obtener el reporte sobre el uso de especies vegetales (estudio etnobotánico), especies vegetales con NUS igual o superior al 20%.

3.3.3. SELECCIÓN DE LA ESPECIE VEGETAL:

Los datos cuantitativos del NUS contribuyeron a la clasificación de las especies vegetales con un valor igual o superior al 20% de nivel de uso, consecutivamente se aplicaron criterios de selección de especies vegetales con posible contenido de compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante para, posteriormente realizar el proceso de obtención del extracto acuoso.

Se consideraron criterios de selección como: la disponibilidad de la especie, su factibilidad de cultivo, los reportes documentados de estudios previos, partes usadas de la planta, formas de recolección de las partes usadas y aportes en la industria alimentaria.

Etapa 3: Obtención el extracto vegetal a partir de la planta seleccionada, evaluación de su calidad e identificación de la presencia de compuestos polifenólicos en el extracto.

Al obtener la especie con mayor NUS y posible actividad antioxidante se procedió en primer lugar a su acondicionamiento para el proceso de extracción.

3.3.4. ACONDICIONAMIENTO DE LA MUESTRA

La muestra se seleccionó de acuerdo con el grado de madures de la planta, es decir en la época en la cual posee el máximo de sus principios activos. Se utilizaron las hojas, que fueron recomendadas por la población en el estudio etnobotánico, teniendo en cuenta lo dictado por diversa bibliografía. Las muestras (hojas) fueron adquiridas en el “mercado de los plátanos, sección: medicina natural”.

Para el acondicionamiento de la materia prima vegetal se realizó el siguiente proceso:

- Seleccionar las hojas en mejor estado de conservación, es decir, hojas sin ninguna afectación importante (hojas con manchas negras).
- Las hojas seleccionadas fueron llevadas al proceso de deshidratación en la estufa
- Luego de que las hojas hayan sido deshidratadas, fueron triturados para poder introducirlos en los balones aforados.

3.3.5. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO

El extracto acuoso de la planta seleccionada se obtuvo por decocción. Esta fase del

trabajo enmarcó un diseño experimental de las muestras de decocción a realizar donde posteriormente se evaluó el contenido de polifenoles. A continuación, se plantea el siguiente diseño experimental obtenido del software estadístico Design-Expert, el cual consta de dos factores y una respuesta experimental:

Factor “A”: Relación Sólido Líquido

A0: 5g de droga vegetal en 100mL de agua

A1: 10 g de droga vegetal en 100mL de agua

A2: 15g de droga vegetal en 100mL de agua

Factor “B”: Tiempo

B0: 15 min

B1: 22,5 min

B2: 30 min

Se realizó la decocción a partir de las hojas de especie seleccionada a través de la tabulación de la entrevista etnobotánica de plantas medicinales en el cantón Pastaza y los criterios de selección.

En el proceso de decocción se controlaron los siguientes parámetros: Tiempo de decocción, temperatura, relación sólido líquido.

Para la obtención del extracto acuoso se utilizó un equipo de decocción con reflujo donde se situó la droga vegetal en las diferentes relaciones Sólido-líquido/tiempo, estas fueron llevadas a ebullición, luego de ello se procedió al filtrado. En la figura 2 se diagrama el proceso de decocción.

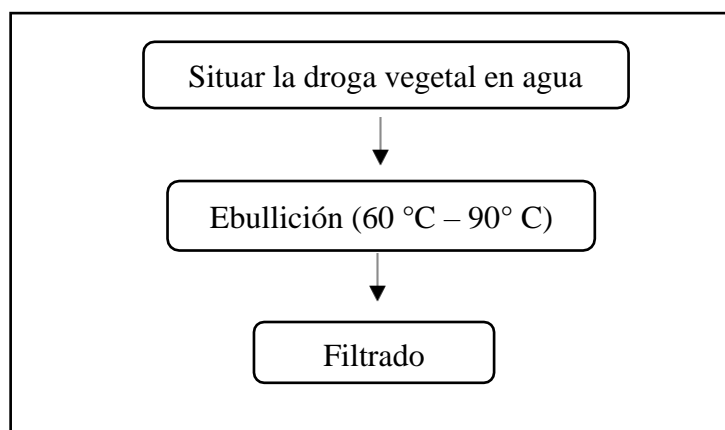


Figura 2: Proceso de la obtención del extracto acuoso

Elaborado por: López Acuña, María del Cisne.

3.3.6. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL EXTRACTO DE *PIPER ADUNCUM* (MÁTICO)

3.3.6.1. PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS

Se realizarán las siguientes determinaciones fisicoquímicas:

3.3.6.1.1. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS

El análisis sensorial se refiere a la medición y cuantificación de las características de los productos evaluables por los sentidos humanos. En este contexto, el control de calidad del extracto se realiza considerando los atributos de color, olor y sabor (Piaña, y otros, 2004).

3.3.6.1.2. DETERMINACIÓN DE PH

Se determinó utilizando las bandas de pH. Se sumergió la banda en una muestra de 10 ml por 3 segundos, seguidamente se escurrió y se esperó 10 segundos para comparar el color obtenido con la escala de colores de pH, finalmente se anotó el valor aproximado de pH obtenido en la muestra analizada.

3.3.6.1.3. DETERMINACIÓN DE GRADOS BRUX

La lectura de los grados brix se llevó a cabo en un refractómetro digital calibrado a 20°C. primero se calibró el refractómetro agregando agua destilada en el lente del equipo para que la lectura inicial sea cero, luego con ayuda de papel absorbente se quitó el agua para finalmente con una pipeta Pasteur colocar 2 gotas de la muestra en el prisma inferior del refractómetro digital para después realizar la lectura de los grados brix.

3.3.6.1.4. DETERMINACIÓN DE DENSIDAD RELATIVA

La densidad relativa se midió con la ayuda de un picnómetro de 50 ml. Primero se lavó con abundante agua y se llevó a la estufa a 65°C por 3 horas con el fin de eliminar el agua interna y externa del picnómetro, seguidamente se retiró de la estufa haciendo uso de unas pinzas metálicas y se colocó en un desecador para dejar enfriar por 15 min, luego se pesó en una balanza analítica, así mismo se pesó el picnómetro lleno de agua (líquido con densidad conocida) y finalmente se pesó el picnómetro con la muestra. El cálculo de densidad se realizó utilizando la siguiente ecuación:

$$d = \frac{m_2 - m_1}{m_3 - m_1} * d_w$$

donde: (3)

d: densidad relativa a 25 °C

dw: densidad del agua.

m₁: masa en gramos del picnómetro.

m₂: masa en gramos del picnómetro más la muestra.

m₃: masa en gramos del picnómetro más el agua destilada.

3.3.6.2. TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Se realizaron los siguientes ensayos:

3.3.6.2.1. ENSAYO DE ESPUMA PARA IDENTIFICAR SAPONINAS

En este ensayo se tomó una muestra de 5 ml y se colocó en un tubo de ensayo con tapa para agitarlo por 1 minuto, seguidamente se esperó 1 minuto y se procedió a medir la altura de la espuma. El ensayo se considera positivo si la altura de la espuma es mayor o igual a 2 mm y permanece por un tiempo mínimo de 2 min (Quispillo,2013).

3.3.6.2.2. ENSAYO DE CLORURO FÉRRICO PARA IDENTIFICAR TANINOS

Para la realización de este ensayo se tomó una muestra de 2 ml de extracto acuoso y se neutralizó agregando acetato de sodio, seguidamente se adicionó 4 gotas de una disolución de tricloruro férrico a una concentración del 5 % en una solución de cloruro de sodio al 0,9 %. El ensayo se considera positivo si se produce una variación en el color e indica la presencia de los siguientes compuestos:

- Color verde intenso, indica presencia de taninos del tipo pirocatecólicos
- Color azul, indica la presencia de taninos tipo pirogalotánicos
- Color rojo vino, muestra la presencia de compuestos fenólicos.

3.3.6.2.3. ENSAYO DE BORTRAGER PARA IDENTIFICAR QUINONAS

Ensayo de Borntrager: Se tomó 1 ml de muestra en un tubo de ensayo y se concentró en baño maría hasta la tercera parte del volumen inicial, luego se adicionó 1 ml de cloroformo para reconstituir el residuo, seguidamente se añadió una solución en agua hidróxido de sodio al 5 %, se agitó y se dejó reposar hasta que se forme la separación de las fases. El ensayo se considera positivo si la fase alcalina (fase superior) adquiere un color rosado o rojo.

3.3.6.2.4. ENSAYO DE SHINODA PARA IDENTIFICAR FLAVONOIDES

Ensayo de Shinoda: Se tomó una muestra de 2 ml en un tubo de ensayo y se adicionó 1 ml de ácido clorhídrico concentrado y un pedazo de cinta metálica de magnesio, luego se esperó 5 min para que la reacción llegue a su fin, finalmente se añadió 1 ml de alcohol amílico, se agitó y se dejó en reposo hasta que las fases se separen.

El ensayo se considera positivo si el alcohol amílico agregado al tubo de ensayo toma una coloración naranja, amarillo, carmelita o rojo.

3.3.6.2.5. ENSAYO DE DRAGENDORFF

Se tomó una alícuota de 2 ml de extracto acuoso en un tubo de ensayo y se le añadió 1 gota de ácido clorhídrico concentrado, seguidamente se le añadió 3 gotas del reactivo dragendorff. El ensayo se considera positivo si existe opulencia, turbidez definida o precipitado.

3.3.6.2.6. ENSAYO SUDÁN III PARA IDENTIFICAR COMPUESTOS GRASOS

Se tomó una muestra de extracto de 2 ml y se le añadió 1 ml de la solución disuelta en agua del colorante Sudán III, seguidamente se calentó en baño maría hasta que se produzca el cambio en la textura del extracto analizado. El ensayo se considera positivo si existe la aparición de gotas o una película de color rojo en las paredes del tubo de ensayo.

3.3.7. ANÁLISIS SENSORIAL

El análisis sensorial se realizó según el método propuesto por Severiano-Pérez (2019), mediante la utilización de la prueba hedónica con un panel no entrenado de 30 personas, los datos obtenidos de las bebidas formuladas fueron sometidos a un análisis de prueba no paramétrica de Kruskal- Wallis en el programa estadístico SPSS.

Para las comparaciones del rango promedio de los tratamientos seleccionados se empleó la prueba no paramétrica de Kruskal- Wallis al 99 % de confianza.

La evaluación hedónica cuenta con una escala de 1 a 5 cada número tiene su significado. Esto se hace para facilitar al momento de tabular los datos obtenidos por los

panelistas y poder obtener resultados exactos. A continuación, se presenta la tabla 2 donde se muestra la escala que se utilizó en esta investigación (Ríos y Peña, 2020).

Tabla 2

Escala hedónica.

Categoría	Puntaje
Me gusta mucho	1
Me gusta	2
Ni me gusta ni me disgusta	3
Me disgusta	4
Me disgusta mucho	5

Fuente: (Ríos y Peña, 2020).

Elaborado por: López Acuña, María del Cisne.

3.3.8. DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES EN EL EXTRACTO

Siguiendo la metodología utilizada por Luna & Álvarez (2020), se tomó 1 ml del extracto realizado con la especie de mayor NUS identificada a través de las encuestas etnobotánicas en un matraz aforado y se agregó el reactivo *Folin-Ciocalteu* al 50%, seguidamente se dejó en reposo, posteriormente se adicionó carbonato de sodio al 20% y se niveló con agua destilada, posteriormente se agitó y se colocó a temperatura ambiente y protegida de la luz; para finalizar, la absorbancia se midió a 765 nm en el espectrofotómetro.

El contenido total de polifenoles se estimó utilizando una curva de calibración del ácido gálico; para ello se usó la siguiente ecuación:

$$A = 0.0734C - 0.0028 \quad (4)$$

A: Absorbancia de la muestra

C: Concentración de la muestra

Etapa 4: Elaboración de una bebida funcional a base del extracto de la planta medicinal seleccionada.

3.3.9. FORMULACIÓN DE LA BEBIDA

Se realizaron 6 formulaciones de bebidas utilizando diferentes concentraciones de estevia y panela en polvo como endulzantes; seguidamente se muestra la tabla 3, con las

diferentes formulaciones elaboradas.

Tabla 3

Formulación de la bebida funcional

Número	Formulación	Extracto de matico	Agua potable	Endulzante	Ácido cítrico
1	BS1-1	20 %	80 %	0,3 % estevia	0,1 %
2	BS2-1	35 %	65 %	0,4 % estevia	0,15 %
3	BS3-1	50 %	50 %	0,5 % estevia	0,3 %
4	BP1-2	20 %	80 %	5 % panela	0,3 %
5	BP2-2	35 %	65 %	10 % panela	0,3 %
6	BP3-2	50 %	50 %	15 % panela	0,3 %

Elaborado por: López Acuña, María del Cisne.

La cantidad de endulzante y ácido cítrico se calculó sobre la base de la bebida compuesta por extracto y agua. Para la preparación de la bebida funcional se mezcló en un vaso de precipitado los ingredientes según las cantidades mencionadas en la tabla anterior, y posterior a ello se pasteurizó a 80 °C por 3 min.

La presencia de ácido cítrico en las bebidas formuladas ayudó a prevenir la turbidez, a regular el pH y a disminuir los cambios en el color realzando y potenciando el aroma y sabor de las bebidas. Según ALIMENTARIUS, (2017), la cantidad máxima de ácido cítrico que se puede agregar a una bebida es del 0,3 %.

Etapas 5: Determinación de la funcionalidad de la bebida a través de la evaluación de la actividad antioxidante.

3.3.10. EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.

3.3.10.1. MÉTODO FRAP (FERRIC ION REDUCING ANTIOXIDANTPOWER).

Este método se basa en la capacidad que tiene la sustancia antioxidante para reducir Fe^{3+} a Fe^{2+} . El complejo férrico: 2,4,6 – tripiridil-s-triazina (TPTZ) incoloro es reducido a complejo ferroso coloreado. Se empleó una curva de calibración confeccionada con patrón de TROLOX.

El reactivo FRAP se preparó de la siguiente manera:

- Primero, se preparó el buffer de acetato 0,3 mM a pH 3,6, para lo cual se pesó 6,1 mg de acetato de sodio trihidratado, se disolvió en 200 mL de agua, se ajustó el pH con una disolución de ácido clorhídrico 40 mM y finalmente se aforó a 250 mL con agua destilada.

Para preparar la disolución de 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ)

- Se pesó 31,2 mg y se disolvió en ácido clorhídrico 40 mM hasta aforar en 10 mL.
- Luego se preparó una disolución 20 mM de cloruro de hierro III, a partir de la sal hexahidratada, para lo cual se pesó 135,2 mg y se disolvió en agua destilada hasta aforar en 25 mL.
- Finalmente, cada disolución se mezcló en proporción 1:1:10 de TPTZ: cloruro de hierro III: buffer acetato para obtener el reactivo FRAP (Leos-Rivas et al., 2016).

Las muestras se prepararon mediante dilución 1:1000 v/v con metanol y se analizaron inmediatamente. Luego se colocaron 40 μ L de esta disolución de muestra en un matraz de 10 mL y se adicionaron 5 mL de disolución de FRAP. Se enrasó con agua destilada. Se dejó reposar en una estufa a 37°C por 30 min. Se registraron las absorbancias a una longitud de onda de 593 nm.

Los cálculos se realizaron empleando el modelo matemático de la curva de calibración de TROLOX (patrón de antioxidantes):

$$C = \frac{A}{0,1879} \quad (5)$$

A – valor de absorbancia de las muestras.

3.3.10.2. MÉTODO DEL RADICAL ABTS.

El radical ABTS^{•+} se generó a partir de su precursor el ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS); es un compuesto de color verdeazulado, estable.

Métodos de generación del radical ABTS^{•+}:

- Disolución de ABTS 7mM. Se disolvieron 0,0384 g de sal amónica cristalizada de ABTS en 10 mL de agua destilada.
- Disolución de persulfato de potasio 2,45mM. Se disolvieron 0,0662 g del reactivo en 100 mL de agua destilada.
- Etanol al 96 % v/v.

Preparación radical ABTS^{•+}.

- Se mezcló a partes iguales la disolución de ABTS 7mM y la de persulfato de potasio 2,45mM. Se mantuvo en la oscuridad a temperatura ambiente durante 16 horas para la formación del radical. Se diluyó con etanol para obtener una absorbancia de 0,8730 (absorbancia inicial) a 730 nm.

Preparación de las muestras de ensayo.

- En la cubeta del espectrofotómetro se colocaron 20 µL de las diferentes mezclas, diluidas 1:1000 v/v en metanol y se adicionaron 3 mL de la disolución del radical ABTS^{•+}. Se esperó 7 min hasta estabilización de la absorbancia y se realizó la lectura a 730 nm.

Los cálculos se realizaron empleando el modelo matemático de la curva de calibración de TROLOX (patrón de antioxidantes):

$$C = \frac{A - 0,7252}{-0,1304} \quad (6)$$

A – valor de absorbancia de las muestras.

3.3.11. TRATAMIENTO DE DATOS

Los datos de la encuesta botánica fueron tabulados manualmente en el software de Microsoft Office: Excel 2019, posteriormente fueron procesados en el programa estadístico de escritorio SPSS, versión 25.0 (IBM Corporation, 2019) y Design Expert (Stat-Ease Inc).

3.3.12. RECURSOS HUMANOS Y MATERIALES

Tabla 3: Recursos Materiales.

Materiales	Equipos	Reactivos
Bata	Balanza Analítica	Agua potable
Mascarilla	Estufa Marcas	Agua destilada
Tubos de ensayos	Cromatógrafo de gases	Reactivo FRAP
Pipetas	Espectrofotómetro	Folin Ciocalteu
Embudos	Equipo de reflujo	Reactivo ABTS

Matraz de Erlenmeyer	Equipo baño maría
Marcador	pH-metro
Decantadores	Bomba de vacío
Pipetas Pasteur	

Elaborado por: López Acuña, María del Cisne.

Tabla 4: Recursos humanos.

Recursos Humano	Descripción
	Tesista.
Ing. María del Cisne López Acuña	Encargada de realizar el trabajo de investigación en todas sus etapas, desde la revisión bibliográfica, trabajo de campo y análisis de laboratorio.
Dr. Abdel Bermúdez del Sol	Tutor. Acompañamiento y guía en las etapas de la investigación, sirviendo de revisor y prestando sus comentarios en beneficio del presente trabajo de investigación.
Q. F. Andrea Tapuy	Encargada de laboratorio de Química de la Universidad Estatal Amazónica, prestó un importante apoyo en la metodología aplicada para la determinación de los diferentes análisis de laboratorio, así mismo brindando la guía necesaria en el manejo de los equipos del mismo.

Elaborado por: López Acuña, María del Cisne.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Etapa 1: Identificación de las plantas con posibles propiedades antioxidantes utilizadas por la población del cantón Pastaza en la provincia de Pastaza.

Durante el trabajo de campo para el estudio etnobotánico se entrevistaron 130 informantes clave, de las cuales se obtuvo un reporte de 52 especies de plantas medicinales utilizadas por los habitantes del mencionado cantón Pastaza, pertenecientes a 38 familias de plantas; estas se las clasificó por especie, nombre común de la planta, uso medicinal, parte utilizada, método de preparación, frecuencia de uso, índice de valor de uso y el nivel de uso significativo, tal como se muestra en el anexo 2.

Dentro de las especies reportadas en la encuesta etnobotánica se encuentran principalmente las familias de Rubiaceae (8%), Verbenaceae (6%), Piperaceae (4%), Asteraceae (4%), Elacoutiaceae (4%), Lamiaceae (4%), Solanaceae (4%) y Malvaceae (4%); tal como se muestra en la Figura 3.

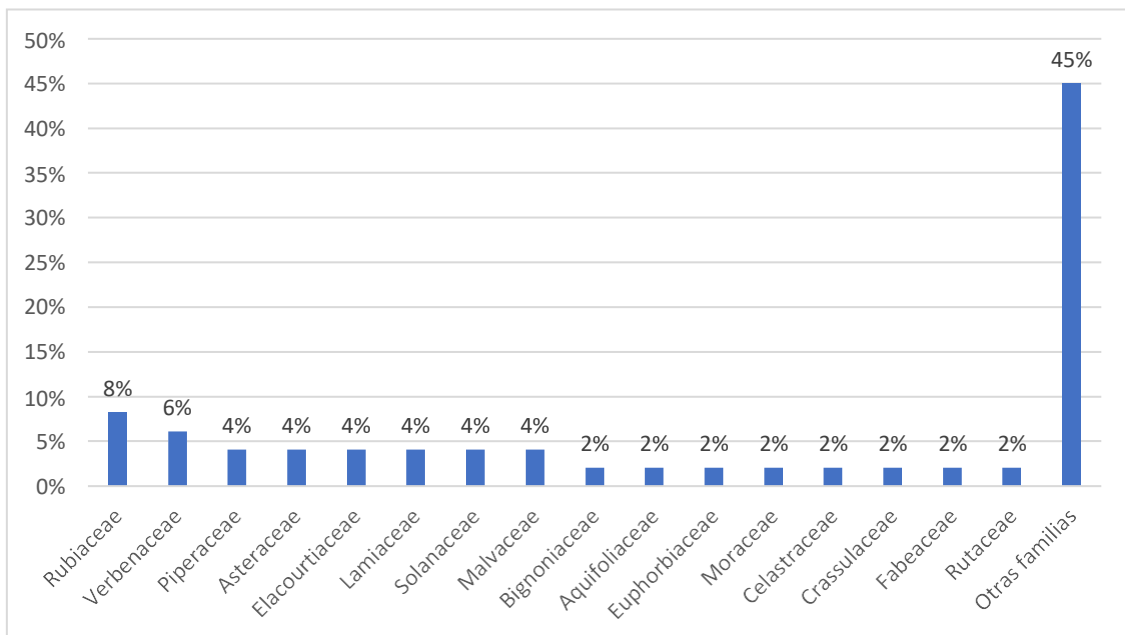


Figura 3: Familias citadas por los informantes clave.

Respecto a las formas de uso, la encuesta etnobotánica reportó un 56% de uso a las hojas de las diferentes especies reportadas, seguidamente con un 17% se identificó a las flores, seguido de las raíces con un 5% de uso, la corteza representa a 5% de uso, los tallos al 3% junto con la savia, fruta, y semillas; tal como se expresa en la figura 4.

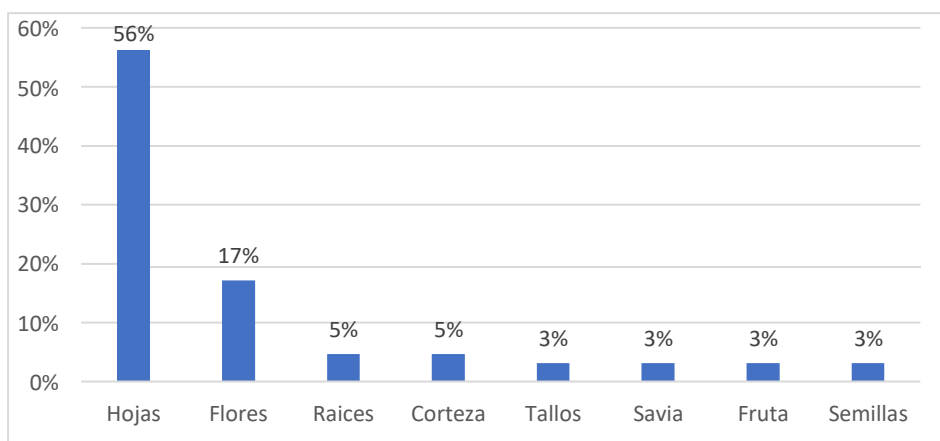


Figura 4: Partes más utilizadas de las especies citadas por los informantes clave.

La forma de preparación de las especies reportadas en la encuesta etnobotánica indica ocho formas en la que los pobladores preparan las especies vegetales como medicina tradicional, de esta manera, las infusiones representan el 54%, emplastos 13%, Cocimiento 13%, jarabe 5%, vaporización 4%, tintura 4% y como crema el 2%, tal como se expresa en la figura 5.

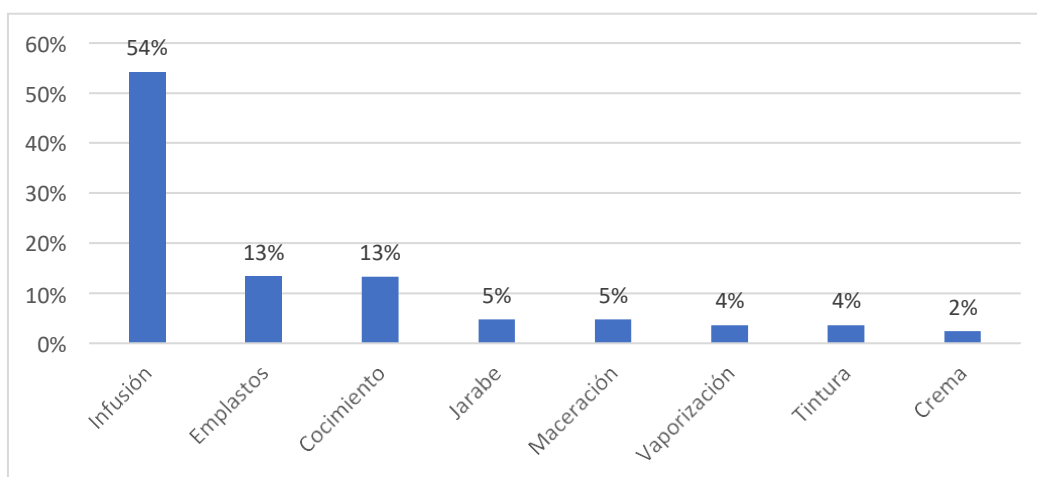


Figura 5: Formas de uso más citadas por los informantes clave.

4.2. Etapa 2: Determinación del nivel de uso significativo de las especies con potencial actividad antioxidante y selección de la planta con mayor NUS para su caracterización fitoquímica y evaluación de su actividad antioxidante.

En cuanto al análisis cuantitativo, se calculó el índice de valor de uso (IVU) y el nivel de uso significativo (NUS) de las 52 especies de plantas obtenidas en la encuesta aplicada.

En la Tabla 5, se demuestran los IVU y el NUS de todas las especies, además se diferencian aquellas especies con el NUS superior al 20%, que según refiere la literatura especializada, son las que deben ser consideradas para una evaluación y validación científica (Toscano, 2006).

Tabla 5

Índices cuantitativos de la encuesta etnobotánica aplicada en la ciudad del Puyo.

Nombre común	Familia	Nombre científico	Citas	Usos	IVU	NUS
Ajo de monte	Bignoniaceae	<i>Mansoa Alliacea</i>	32	5	0,038	25
Guayusa	Aquifoliaceae	<i>Ilex guayusa Loes</i>	28	7	0,054	22
Matico	Piperaceae	<i>Piper aduncum</i>	27	4	0,031	21
Manzanilla	Asteraceae	<i>Chamaemelum nobile</i>	27	3	0,023	21
María panga	Piperaceae.	<i>Piper umbellatum L.</i>	26	6	0,046	20
Sangre de drago	Euphorbiaceae	<i>Croton urucurana Baillon</i>	26	5	0,038	20
Uña de gato	Rubiaceae	<i>Uncaria tomentosa</i>	26	3	0,023	20
Leche de sandi	Moraceae	<i>Brosimum Utile</i>	24	1	0,008	18
Combretaceae	Combretaceae	<i>Conocarpus erectus</i>	20	2	0,015	15
Chuchuguaso	Celastraceae	<i>Monteverdia laevis</i>	18	5	0,038	14
Guambula Negra	Elacourtiaceae	<i>Carpotroche Sp</i>	18	3	0,023	14
Cúrcuma	Zingiberaceae	<i>Curcuma Longa L.</i>	16	4	0,031	12
Guanábana	Crassulaceae	<i>Bryophyllum pinnatum</i>	14	2	0,015	11
Pata de vaca	Fabeaceae	<i>Bauhinia forficata</i>	14	3	0,023	11
Sidra	Rutaceae	<i>Citrus medica</i>	14	1	0,008	11
Orégano	Lamiaceae	<i>Origanum vulgare</i>	12	2	0,015	9
Sansa parilla	Esmilacaceae	<i>Smilax aspera</i>	12	1	0,008	9
Pata de gallina	Poaceae	<i>Eleusine indica</i>	12	3	0,023	9
Escobilla	Asteraceae	<i>Sida rhombifolia</i>	10	3	0,023	8
Guayaba	mirtáceas	<i>Psidium guajava</i>	10	7	0,054	8
Hierba Luisa	Aloysia citrodora	<i>Verbenaceae</i>	10	6	0,046	8
Lengua de vaca	Polygonaceae	<i>Dracaena trifasciata</i>	10	3	0,023	8
Munchi	Passifloraceae	<i>Passiflora pergrandis</i>	10	2	0,015	8
Ortiga	urticaceas	<i>Urtica dioica</i>	10	6	0,046	8
Sábila	Asphodelaceae	<i>Aloe vera</i>	10	7	0,054	8
Guambula blanca	Elacourtiaceae	<i>Carpotroche Sp</i>	8	1	0,008	6
Jengibre	Zingiberáceas	<i>Zingiber officinale</i>	8	5	0,038	6
Dulcamara	Solanaceae	<i>Solanum dulcamara</i>	6	4	0,031	5

Menta	Lamiaceae	<i>Mentha piperita L</i>	6	1	0,008	5
Ají	Solanaceae	<i>Capsicum annuum</i>	4	1	0,008	3
Ayahuasca	Malpighiaceae	<i>Banisteriopsis caapi</i>	4	2	0,015	3
Cedrón	Verbenaceae	<i>Aloysia citrodora</i>	4	1	0,008	3
Llantén	Plantaginaceae	<i>Plantago major</i>	4	2	0,015	3
Noni	Rubiaceae	<i>Morinda citrifolia</i>	4	1	0,008	3
Orito	Musaceae	<i>Musa acuminata AA</i>	4	1	0,008	3
Toronjil	lamiáceas	<i>Melissa officinalis</i>	4	2	0,015	3
Aguacate	Lauraceae	<i>Persea americana</i>	2	1	0,008	2
Anís de flor	Apiaceae	<i>Pimpinella anisum</i>	2	1	0,008	2
Borojó	Rubiaceae	<i>Alibertia patinoi</i>	2	1	0,008	2
Chiriyuyo	Verbenaceae	<i>Aloysia citrodora</i>	2	2	0,015	2
Eucalipto	Myrtaceae	<i>Eucalyptus</i>	2	1	0,008	2
Jamaica	Malvaceae	<i>Hibiscus sabdariffa</i>	2	1	0,008	2
Malva Blanca	Malvaceae	<i>Sphaeralcea bonariensis</i>	2	2	0,015	2
Pitahaya	Cactaceae	<i>Selenicereus undatus</i>	2	1	0,008	2
Palo santo	Burseraceae	<i>Bursera graveolens</i>	2	1	0,008	2
Papa china	Araceae	<i>Colocasia esculenta</i>	2	1	0,008	2
Planta de aire	Bromeliaceae	<i>Tillandsia aeranthos</i>	2	1	0,008	2
Caballo de chupa	Equisetaceae	<i>Equisetum myriochaetum</i>	2	1	0,008	2
Flor blanca	Zingiberaceas	<i>Hedychium coronarium</i>	2	1	0,008	2
Ixora	Rubiaceae	<i>Ixora coccinea</i>	2	1	0,008	2
Ruda	Rutoidae	<i>Ruta graveolens</i>	2	2	0,015	2
Achiote	Bixaceae	<i>Bixa orellana</i>	1	1	0,008	1

Elaborado por: López Acuña María del Cisne.

Se identificaron siete especies de plantas medicinales con un NUS igual o superior al 20% (tabla 5) y por tanto con posibilidades de ser consideradas para la presente investigación, de ellas la *Mansoa Aliácea* (Ajo de monte) con un IVU de 0,038 y un NUS de 25%, *Ilex guayusa Loes* (Guayusa) con IVU 0.054 y NUS de 22%: *Piper aduncum* (Matico amazónico) con IVU 0.031 y NUS de 21%; *Chamaemelum nobile* (Manzanilla), con IVU 0.023 y un NUS de 21%; *Piper umbellatumL.* (María panga) con IVU 0.046 y un NUS del 20%; *Croton urucurana Baillon* (Sangre de drago) con un IVU de 0.028 y un NUSde 20 y la *Uncaria tomentosa* (Uña de gato) con un IVS de 0,023 y un NUS de 20%.

De estas siete plantas existen reportes bibliográficos de propiedades antioxidantes para 4 especies: *Piper aduncum* (Matico), *Ilex guayusa* Loes (Guayusa), *Mansoa Alliacea* (Ajo de monte) (Arteaga, Franco, Silva, & Terán, 2018; Quiroga, 2021; Morales, 2018; Melo-Guerrero, Ortíz, & Hurtado, 2020; Fonseca, 2017), dichas propiedades son derivadas de su composición química (Arteaga, Franco, Silva, & Terán, 2018).

De todas ellas son consideradas plantas amazónicas: *piper aduncum*, *Ilex guayusa* Loes y *Mansoa Alliacea*; de estas la de mayor NUS resultó ser *Mansoa alliacea*, no obstante, la especie seleccionada para obtener el extracto acuoso y posteriormente realizar la bebida funcional, fue el *Piper aduncum* por ser una especie poco estudiada en comparación de la *Ilex guayusa*, a conveniencia de la investigación y para la elaboración de la bebida funcional, por contener en su composición química compuestos antioxidantes (Cruz et al., 2020).

4.3. Etapa 3: Obtención el extracto vegetal a partir de la planta medicinal seleccionada, evaluación de su calidad e identificación de la presencia de compuestos poli fenólicos en el extracto.

4.3.1. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO

Para obtener el extracto se siguió la metodología utilizada por Luna, (2020). Para este proceso se utilizó las hojas secas de *Piper aduncum* que como ya se ha mencionado resultó ser la especie vegetal seleccionada. Se lavaron con agua potable y posteriormente se colocaron en la estufa, durante 48 horas a una temperatura de 40°C.

Para la obtención del extracto se utilizó un equipo de reflujo, el extracto fue filtrado utilizando tela tocuvo, así como un colador de acero inoxidable y papel filtro adaptado a una bomba de vacío, el extracto fue almacenado a una temperatura de 4 a 8 °C.

4.3.2. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL EXTRACTO

4.3.2.1. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS DE LAS BEBIDAS FORMULADAS

Dentro de los parámetros fisicoquímicos, se analizó grados Brix, pH y densidad, cuyos

resultados se presentan a continuación en las tablas 6, 7 y 8.

Tabla 6

Resultados de pH en las bebidas formuladas.

Formulación	pH
B1-1	3
B2-1	3,5
B3-1	3
B1-2	3,5
B2-2	3,5
B3-2	3

Elaborado por: López Acuña María del Cisne.

El pH más alto fue de 3,5 pertenecientes a las formulaciones B2-1, B1-2, y B2-2; y el más bajo fue de 3 obtenidos en B1-1, B3-1 y B3-2. Según la normativa NTE INEN 2304, el pH de una bebida formulada debe encontrarse entre 2 y 4,5, lo cual revela que los valores obtenidos en la presente investigación se encuentran dentro de los límites permisibles propuestos por la normativa mencionada anteriormente.

Según Velázquez-López et al., (2018), los niveles bajos de pH ayudan en la conservación de las bebidas, esto debido a que inhibe el crecimiento de microorganismos con potencial de degradar un alimento.

Seguidamente, se presenta la tabla 7 con los resultados obtenidos de grados brix.

Tabla 7

Resultados de grados brix en las bebidas formuladas.

Formulación	°Brix
B1-1	1,3
B2-1	5,4
B3-1	2,3
B1-2	15,1
B2-2	9,8
B3-2	7

Elaborado por: López Acuña María del Cisne.

Los resultados obtenidos de grados brix en las bebidas formuladas variaron entre 1,3-15,1; esto es debido a que se utilizó dos edulcorantes en concentraciones diferentes. Los

valores más altos corresponden a las formulaciones que poseen panela en su composición.

Según la normativa INEN, (2017), los grados brix en una bebida pueden variar en función del público al cual está dirigido, las bebidas energizantes poseen valores altos de grados brix, las bebidas alcohólicas entre 12,1-45, las bebidas carbonatadas 6-11 y las bebidas funcionales 2-7 °brix.

La tabla 8 muestra los resultados obtenidos de densidad en las diferentes formulaciones realizadas.

Tabla 8

Resultados de densidad en las bebidas formuladas.

Formulación	Densidad a 25°C (g/ml)
B1-1	1,007
B2-1	1,02
B3-1	1,01
B1-2	1,06
B2-2	1,043
B3-2	1,004

Elaborado por: López Acuña María del Cisne.

La densidad fue medida a 25°C con la ayuda de un picnómetro, y los resultados variaron entre 1,004-1,06 g/ml.

Según la INEN 349, (2017), la densidad relativa de una bebida puede variar entre 0,9880-1,1550 g/ml. El valor más alto de densidad fue para la formulación B1-2, y el más bajo para B3-2, estos resultados se encuentran dentro los rangos permisibles propuestos por la normativa mencionada anteriormente.

4.3.3. RESULTADOS DEL TAMIZAJE FITOQUÍMICO

4.3.3.1. CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA DEL EXTRACTO DE PIPERADUNCUM

Para identificar la presencia de metabolitos secundarios, se realizó algunos ensayos cuyos resultados se muestran a continuación en la tabla 9.

Tabla 9

Resultados de los ensayos para la identificación de metabolitos secundarios en el extracto acuoso de piper aduncum.

ENSAYO	RESULTADO
Ensayo de espuma para identificar saponinas	3 cm de altura de la espuma
Ensayo de cloruro férrico para identificar fenoles	Positivo
Ensayo de Shinoda para identificar flavonoides	Positivo
Ensayo de Borntrager para identificar quinonas	Negativo
Ensayo de Dragendorff para alcaloides	Positivo
Ensayo Sudán III para identificar compuestos grasos	Positivo

Elaborado por: López Acuña María del Cisne.

El análisis fitoquímico realizado (tabla 9) en el extracto acuoso de *piper aduncum* permitió la identificación de distintos grupos de metabolitos secundarios. Según Hernández y Arambarri (2019), el ensayo de espuma se considera positivo cuando, la altura de la espuma del líquido es mayor a 2 mm, en este caso el ensayo realizado en el extracto acuoso obtuvo una altura de 3 cm, considerándose, por lo tanto, positivo. Se identificó la presencia de fenoles, dando positivo al ensayo de cloruro férrico, generando un cambio de coloración (azul intenso) en la muestra seleccionada, de igual manera, el extracto reportó la presencia de flavonoides reaccionando de manera positiva al ensayo de Shinoda. Así mismo, se comprobó la presencia de alcaloides y compuestos grasos en el extracto de *piper aduncum* dando positivo a los ensayos de Dragendorff y Sudan II respectivamente. Finalmente, no se demostró la existencia de quinonas dando negativo al cambio de coloración al realizar el ensayo de Borntrager.

Una investigación realizada por Chávez & Shuan, (2021), en la que estudió el efecto mucolítico de extractos hidroalcohólicos de hojas de *piper aduncum* identificó la presencia de saponinas en esta planta, mediante el ensayo de espuma; así mismo, Cervera, (2022); donde evaluó el efecto inhibitorio de extractos acuosos y etanólicos obtenidos de la planta *Piper aduncum* frente a *Staphylococcus aureus* identificó la presencia de 12 metabolitos secundarios dentro de los cuales se encontró las saponinas.

En la investigación realizada por Delgado, (2018), donde investigó la actividad diurética de extractos etanolitos de *Piper aduncum*, encontró la presencia de flavonoides, fenoles y alcaloides, la misma investigación detectó la presencia de metabolitos primarios donde los más representativos fueron los glúcidos. Por otro lado, Rabanal & Salcedo, (2019); en su investigación sobre la capacidad antioxidante y fitoprotectora de una crema formulada a base de *Piper aduncum*. encontró metabolitos secundarios tales como: Fenoles, flavonoides, alcaloides, y quinonas (en menor presencia).

Andrade et al., (2019); en su estudio donde evaluó la actividad antiinflamatoria de la

planta *Piper aduncum* en animales de la especie *Mus musculus* (ratones), determinó mediante el ensayo Sudan III la presencia de compuestos grasos en cuatro extractos diferentes de *Piper aduncum*, en los cuales para los extractos: hexánico, Diclorometano-metano y acuoso se evidenció la presencia de compuestos grasos, sin embargo, el extracto etanólico no mostró la existencia de estos compuestos.

4.3.4. IDENTIFICACIÓN DE LA PRESENCIA DE COMPUESTOS POLIFENÓLICOS EN EL EXTRACTO.

En la presente investigación, se ha analizado la influencia de dos factores: tiempo y cantidad de droga vegetal en el rendimiento de polifenoles.

Los polifenoles totales fueron cuantificados en extractos líquidos obtenidos por decocción en la especie *Piper aduncum*, los valores obtenidos variaron entre 215,708-467,166 y se expresaron mg de equivalentes del ácido gálico. Seguidamente se presenta la tabla 10 con los resultados conseguidos en los distintos experimentos.

Tabla 10

Resultados de polifenoles totales en los diferentes tratamientos.

Experimento	Factor A	Factor B	Polifenoles
	Tiempo (min)	Droga/100 ml	mg eq ac. gálico/100 ml
1	15.00	5.0	215.708
2	15.00	5.0	259.646
3	15.00	5.0	271.771
4	15.00	15.0	283.488
5	15.00	15.0	339.482
6	22.50	10.0	356.104
7	15.00	15.0	395.477
8	30.00	5.0	399.564
9	30.00	5.0	406.376
10	30.00	5.0	413.188
11	22.50	10.0	421.635
12	30.00	15.0	444.523
13	30.00	15.0	453.379
14	30.00	15.0	462.234
15	22.50	10.0	467.166

Elaborado por: López Acuña María del Cisne.

A continuación, se presenta la figura 6 “Half-Normal Plot” donde se observan los factores de estudio con los efectos positivos y negativos que producen sobre la respuesta experimental a través de una línea de tendencia. Los factores que muestran significancia para $p \leq 0,05$, son aquellos cuyos resultados se ubican en una posición alejada de la línea de normalidad, y aquellos no significativos poseen una distribución normal cuya varianza es constante y tienden a formar una línea recta.

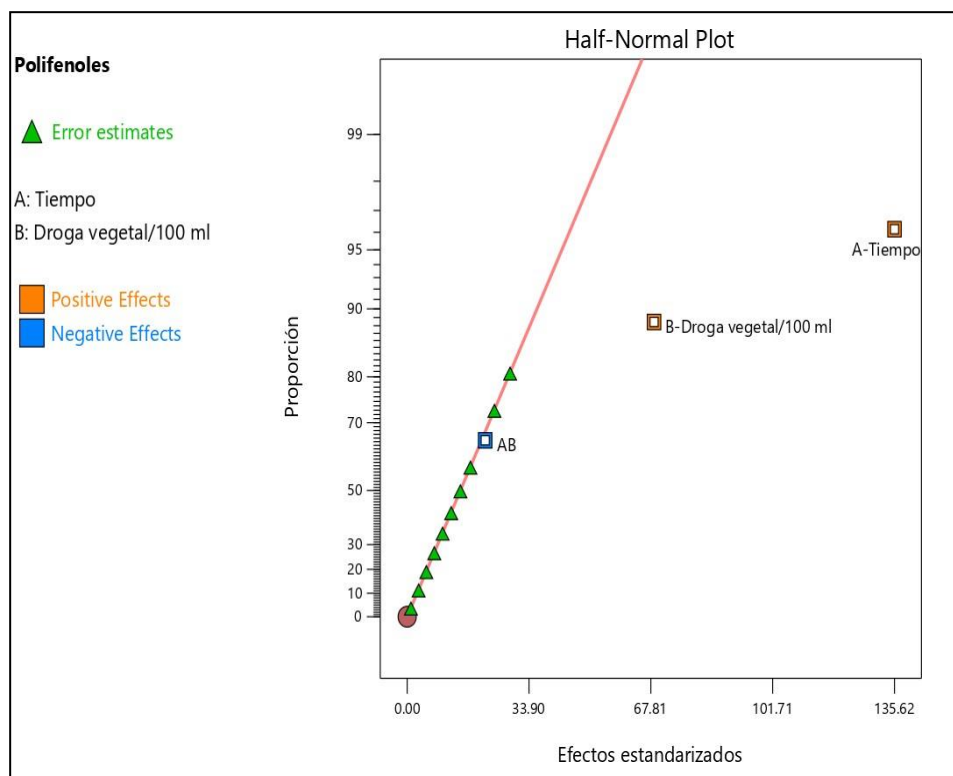


Figura 6: Efectos positivos y negativos de los factores sobre la cantidad de polifenoles totales.

La figura 6 indica que los factores A y B se presentan como efectos positivos en la concentración de polifenoles, sin embargo, la interacción de ambos factores brindó un efecto negativo. La relación que existe entre los efectos positivos y la variable de respuesta es proporcional, es decir, en la medida que se incrementa los niveles de cada factor se aumenta también la concentración de polifenoles. Por otro lado, el comportamiento de los efectos negativos frente a la variable de respuesta es inverso, la variable de respuesta disminuye cada vez que se aumenta el nivel del factor con efecto negativo.

Posteriormente, se muestra la tabla 11 con el ANOVA seleccionado en la presente investigación.

Tabla 11*Modelo factorial seleccionado (ANOVA).*

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Cuadrados medios	Valor F	p-valor	
Modelo	70757.71	3	23585.90	12.23	0.0008	significativo
A-Tiempo	55174.59	1	55174.59	28.61	0.0002	
B-Droga vegetal/100 ml	14167.99	1	14167.99	7.35	0.0203	
AB	1415.13	1	1415.13	0.7339	0.4099	
Residual	21210.48	11	1928.23			
Falta de ajuste	6715.83	1	6715.83	4.63	0.063	no significativo
Error puro	14494.65	10	1449.47			
Total, corregido	91968.19	14				

Elaborado por: López Acuña María del Cisne.

La tabla 11 indica el análisis de varianza escogido en la cual se evidencia la significancia ($p \leq 0,05$) del modelo seleccionado con un p-valor de 0,0008, así mismo, se muestra que los factores A y B tienen diferencia estadística demostrando el impacto positivo sobre la cantidad de polifenoles totales. La interacción de ambos factores presentó un p-valor de 0,4099, superando el error permitido lo cual muestra la falta de significancia.

Seguidamente, la figura 7 presenta el gráfico de Pareto donde se incluye el límite de Bonferroni, lo cual ayuda a comparar los efectos originados por los factores sobre la variable de respuesta con la finalidad de saber cuál es significativo o no significativo.

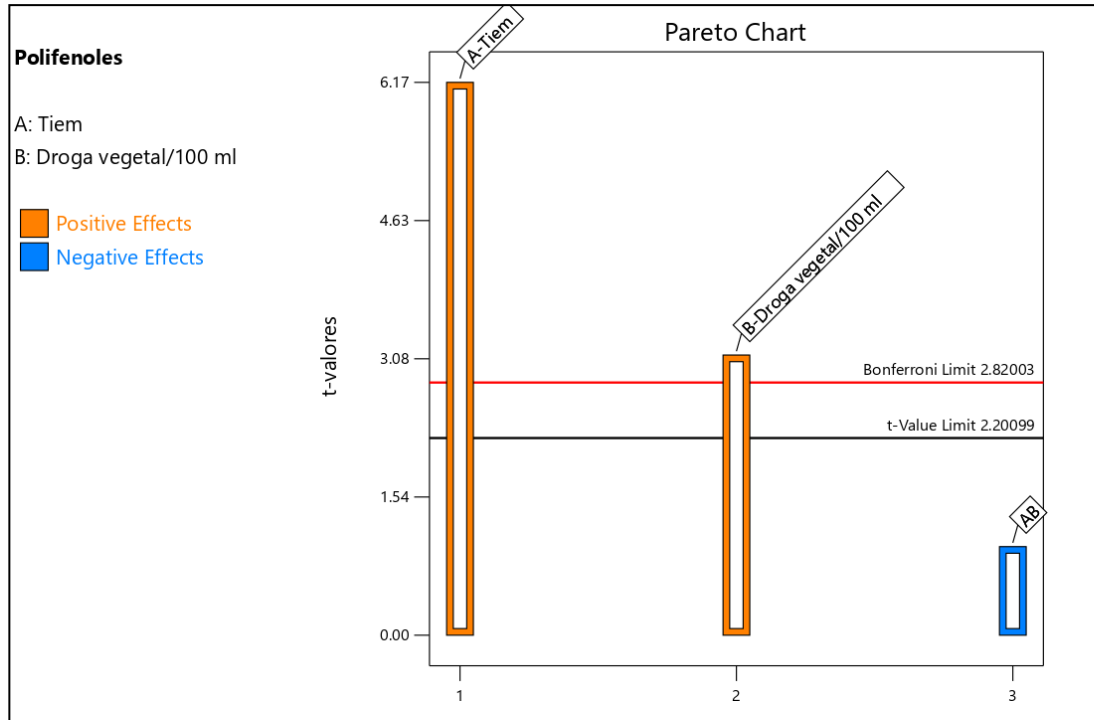


Figura 7: Gráfico de Pareto para los efectos de los factores sobre la cantidad de polifenoles totales.

Esta gráfica presenta las barras que corresponden a los efectos producidos por los factores, también indica dos líneas horizontales de corte donde la línea que representa el límite de Bonferroni es la más medida. Los factores, de manera individual poseen un signo que constituye a la pendiente de la curva que se forma por el efecto producido el cual se revela en el color de la barra. Si el efecto es positivo, entonces la variable de respuesta se incrementa cada vez que aumentamos el nivel del factor. En este sentido, todos los factores que superen el límite de Bonferroni son significativos ($p \leq 0,05$).

En la figura anterior se puede apreciar que los factores A y B se encuentran por encima de la línea de Bonferroni indicando su impacto positivo y significancia para $p \leq 0,05$; no obstante, la relación de ambos factores se encuentra por debajo del límite de Bonferroni siendo por lo tanto no significativo.

La relación de cada factor frente a la extracción de polifenoles totales se detalla en las figuras 8 y 9, donde se pone en evidencia una vez más la significancia de los factores de estudio.

Las figuras 8 y 9 muestran nuevamente que, el incremento de los niveles de cada factor, producen un aumento en la concentración de polifenoles, en este sentido, se puede establecer que el extracto con más concentración de polifenoles totales es aquel que se ha obtenido con 15 g de droga vegetal en 100 ml de agua desmineralizada por 30 min.

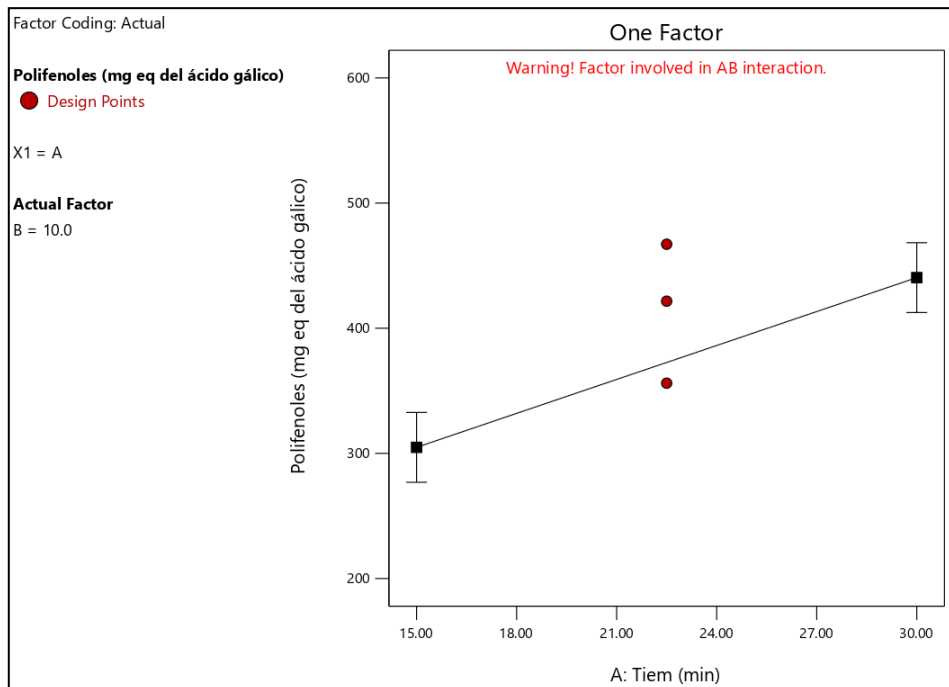


Figura 8: Relación del factor tiempo y polifenoles totales.

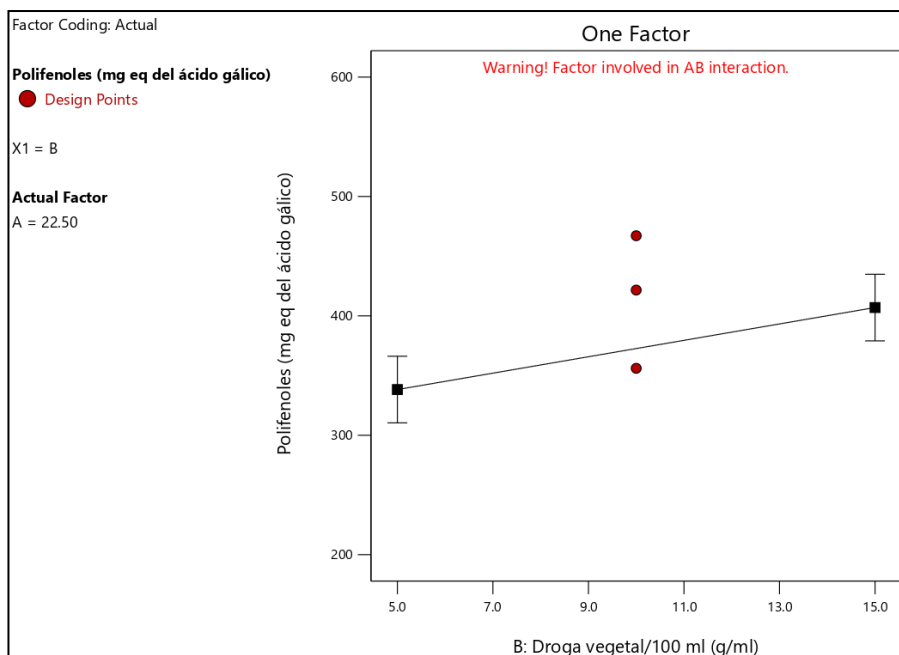


Figura 9: Relación del factor Droga vegetal/100 ml y polifenoles totales.

Cuando la diferencia entre el R-predicho y R-ajustado es inferior a 0,2, entonces estos se consideran apropiados. En la presente investigación el modelo factorial adquirido posee ajuste bueno con un R-ajustado de 0,7065, R-predicho de 0,6315 y $R^2=0,7694$, estos resultados cumplen con el requerimiento de tener una diferencia por debajo a 0,2. Posteriormente se presenta la figura 10 mostrando los valores predichos de polifenoles.

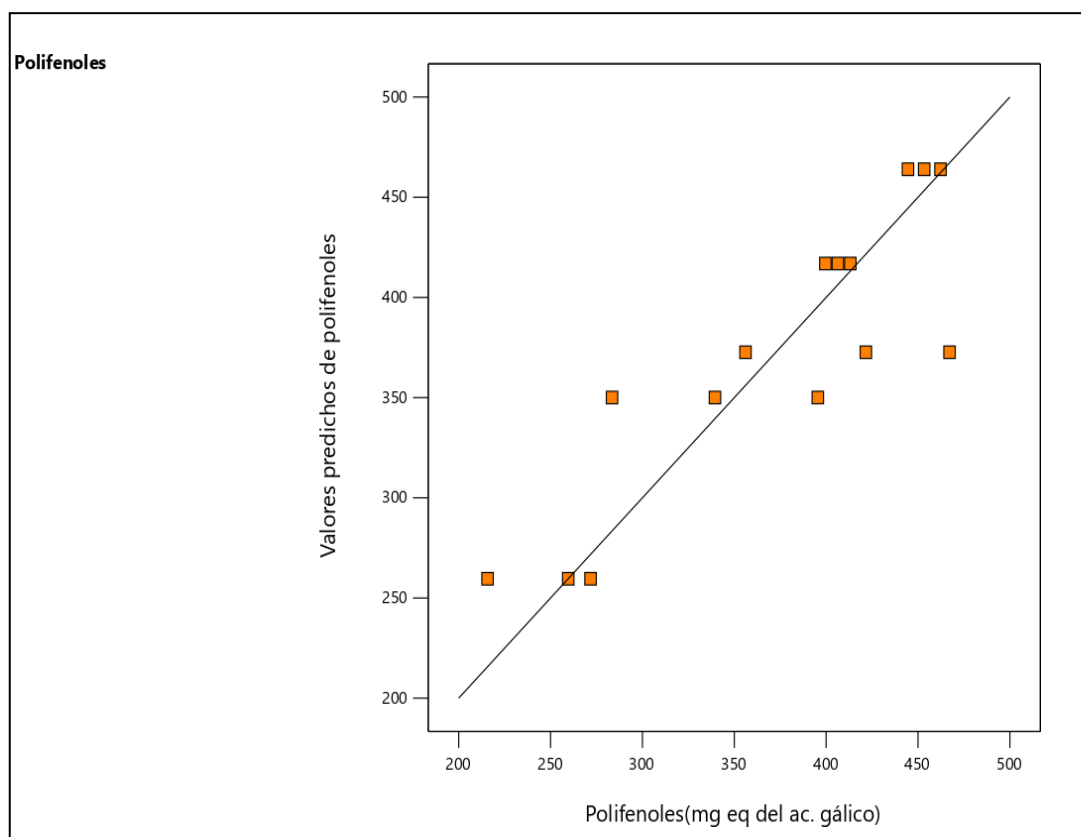


Figura 10: Interacción de los resultados experimentales y predichos en la cantidad de polifenoles totales.

A partir de los resultados experimentales que se evidencian en la gráfica anterior, se ha generado la siguiente ecuación:

$$\text{Polifenoles} = 35.348 + 11.9369 * A + 13.3878 * B - 0.289585 * AB$$

Donde A y B representan los factores tiempo y droga vegetal/100 ml de extracto respectivamente. La ecuación es útil para realizar predicciones de respuestas para distintos niveles dados en cada factor.

Las figuras 11 y 12 muestran respectivamente un gráfico bidimensional y tridimensional donde se evidencia el comportamiento directamente proporcional de los factores de estudio frente a la respuesta experimental, indicando el impacto significativo del tiempo y de la droga vegetal/100 ml de extracto en la determinación de los polifenoles totales.

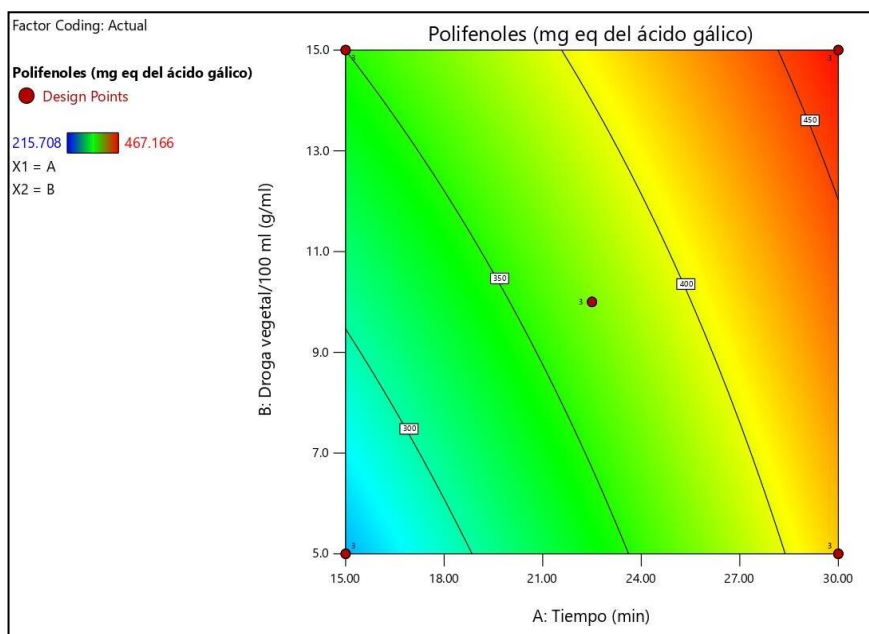


Figura 11: Relación de los factores tiempo y droga vegetal/100 ml.

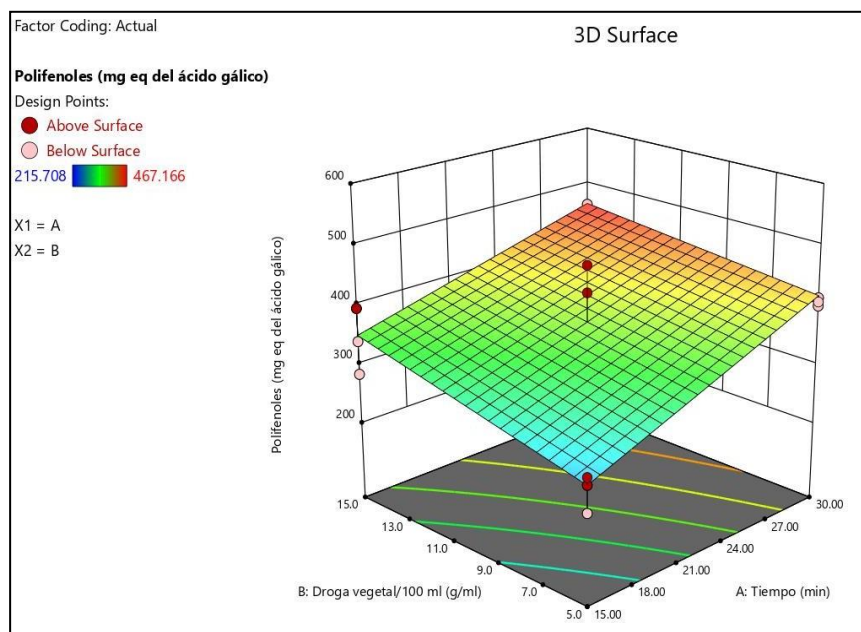


Figura 12: Relación de los factores tiempo y droga vegetal/100 ml frente a la concentración de polifenoles totales.

Una investigación llevada a cabo por Rojas, (2019); donde evaluó la concentración de polifenoles totales por el método de *Folin-Ciocalteu* en extractos hidroalcohólicos de *Piper aduncum*, a cuatro temperaturas diferentes encontró una concentración de 72,4; 202,7; 192,7 y 184,9 mg equivalentes al ácido gálico por cada 100 ml de extracto, correspondientes a las temperaturas de 32, 40, 50 y 60 °C respectivamente.

Por otro lado, Gil, (2019); determinó el contenido de polifenoles totales mediante la técnica de *Folin-Ciocalteu* en extractos acuosos de *Piper aduncum*, reportando datos de 31.94 ± 1.18 mg de catequina por cada gramo de muestra seca.

Monroy & Ordoñez, (2020); investigó la influencia del tiempo de macerado sobre el contenido de polifenoles totales por la técnica *Folin-Ciocalteu* en extractos hidroalcohólicos y etanólicos de la planta *Piper aduncum*, donde consiguió los siguientes resultados: a los 7, 14, 21, y 28 días obtuvo 20,75; 33,09; 41,05 y 43,62 mg equivalentes al ácido gálico por cada 100 ml de extracto etanólico respectivamente y 137,23; 158,43; 165,60 y 181,49 mg equivalentes al ácido gálico por cada 100 ml de extracto hidroalcohólico respectivamente.

La investigación realizada por Załuski et al., (2015); en la cual se investigó la composición química de la planta *Piper aduncum*, encontraron la presencia de 35 compuestos polifenólicos donde ocho constituyen el 76,53 %. Los principales compuestos identificados fueron: 1-propenil-benceno, biciclogermacreno, germacreno D, heptan-3-ona, β -cariofileno, β -ocimeno, δ -cadineno y metileugenol.

Los resultados obtenidos en la presente investigación fueron superiores a los reportados en las bibliografías citadas anteriormente, estas variaciones en las concentraciones de polifenoles totales pueden deberse a una serie de factores que inciden de manera directa en la respuesta experimental; dentro de estos factores se pueden mencionar a los factores genéticos, tiempo en que se recolectan las hojas de la planta, métodos de extracción, condiciones ambientales, entre otros.

4.4. Etapa 4: Elaboración de una bebida funcional a base del extracto de la planta medicinal seleccionada.

4.4.1. PARÁMETROS ORGANOLÉPTICOS DE LAS BEBIDAS FORMULADAS

La evaluación de los parámetros organolépticos se realizó en la ciudad del Puyo con

un panel no entrenado de 30 personas, donde se presentaron las seis bebidas formuladas, las cuales se detallan en la tabla 3.

Los resultados del análisis sensorial se obtuvieron procesando los valores obtenidos en el programa estadístico SPSS aplicando la prueba no paramétrica de Kruskal- Wallis, se planteó dos hipótesis:

Ho: las medias de la población son iguales.

Hi: las medias de la población no son iguales.

4.4.1.1. OLOR

Como se puede apreciar en la Tabla 12 los resultados obtenidos de la prueba no paramétrica Kruskal- Wallis dan como resultado el rango promedio de los tratamientos.

Tabla 12

Resultados de la prueba Kruskal Wallis aplicada al olor.

		Rangos	
	Bebida	N	Rango promedio
Olor	BS1-1	30	113,24
	BS2-1	30	112,03
	BS3-1	30	105,50
	BP1-2	30	55,24
	BP2-2	30	48,38
	BP3-2	30	72,23
	Total		180

Elaborado por: López Acuña María del Cisne.

Los rangos promedios del tratamiento presentaron diferencia, obteniendo con mayor aceptabilidad en respecto al olor a la bebida BP2-2, debido a que los valores de la escala hedónica de 5 puntos utilizada presentan los valores de forma descendente, es decir, mientras más cerca de la unidad, más aceptabilidad por la bebida tuvieron. Tal como se muestra en la figura 13.

Sotelo y Perea (2016) indican que el olor es una de las propiedades más relevantes al momento de elegir un producto por parte del consumidor. En esta investigación, mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, se obtuvo el nivel significancia asintótica para el olor de 0,000; lo cual indica que existió diferencia estadística ($p \leq 0,01$) en las bebidas

formuladas, esto se evidencia en la tabla 13.

Tabla 13

Estadísticos de la prueba Kruskal Wallis para el olor.

Estadísticos de prueba^{a,b}	
Olor	
H de Kruskal-Wallis	54,899
gl	5
Sig. asintótica	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Bebida

Elaborado por: López Acuña María del Cisne.

4.4.1.2. SABOR

Como se puede apreciar en la Tabla 14 los resultados obtenidos de la prueba no paramétrica Kruskal- Wallis dan como resultado el rango promedio de los tratamientos.

Tabla 14

Resultados de la prueba Kruskal Wallis aplicada al sabor.

	Rangos		
	Bebida	N	Rango promedio
Sabor	BS1-1	30	119,80
	BS2-1	30	120,88
	BS3-1	30	95,30
	BP1-2	30	62,90
	BP2-2	30	38,50
	BP3-2	30	71,58
	Total	180	

Elaborado por: López Acuña María del Cisne.

Los rangos promedios del tratamiento presentaron diferencia, obteniendo con mayor aceptabilidad en respecto al sabor a la bebida BP2-2, debido a que los valores de la escala hedónica de 5 puntos utilizada presentan los valores de forma descendente, es decir, mientras más cerca de la unidad, más aceptabilidad por la bebida tuvieron.

En la tabla 15 se muestra los resultados de los estadísticos realizados con respecto al sabor, mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, se obtuvo el nivel significancia

asintótica para el sabor de 0,000; lo cual indica que existió diferencia estadística ($p \leq 0,01$) en las bebidas formuladas.

Tabla 15

Estadísticos de la prueba Kruskal Wallis para el olor.

Estadísticos de prueba^{a,b}	
Sabor	
H de Kruskal-Wallis	70,488
gl	5
Sig. asintótica	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Bebida

Elaborado por: López Acuña María del Cisne.

4.4.1.3. DULZOR

Los rangos promedios del tratamiento presentaron diferencia, obteniendo con mayor aceptabilidad en respecto al dulzor a la bebida **BP2-2**, debido a que los valores de la escala hedónica de 5 puntos utilizada presentan los valores de forma descendente, es decir, mientras más cerca de la unidad, más aceptabilidad por la bebida tuvieron. Tal como se muestra en la tabla 16.

Tabla 16

Resultados de la prueba Kruskal Wallis aplicada al dulzor.

Rangos			
	Bebida	N	Rango promedio
Dulzor	1,00	30	117,70
	2,00	30	120,41
	3,00	30	99,60
	4,00	30	59,86
	5,00	30	40,28
	6,00	30	70,30
	<u>Total</u>	<u>180</u>	

Elaborado por: López Acuña María del Cisne.

En la tabla 17 se muestra los resultados de los estadísticos realizados con respecto al dulzor, mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, se obtuvo el nivel significancia asintótica para el dulzor de 0,000; lo cual indica que existió diferencia estadística ($p \leq 0,01$)

en las bebidas formuladas.

Tabla 17

Estadísticos de la prueba Kruskal Wallis para el dulzor.

Estadísticos de prueba^{a,b}	
Dulzor	
H de Kruskal-Wallis	68,665
gl	5
Sig. asintótica	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Bebida

Elaborado por: López Acuña María del Cisne.

4.4.1.4. ACIDEZ

Los rangos promedios del tratamiento presentaron diferencia, obteniendo con mayor aceptabilidad en respecto al dulzor a la bebida **BP2-2**, debido a que los valores de la escala hedónica de 5 puntos utilizada presentan los valores de forma descendente, es decir, mientras más cerca de la unidad, más aceptabilidad por la bebida tuvieron. Tal como se muestra en la tabla 18 y la figura 13.

Tabla 18

Resultados de la prueba Kruskal Wallis aplicada a la acidez.

Rangos			
	Bebida	N	Rango promedio
Acidez	BS1-1	30	117,04
	BS2-1	30	99,41
	BS3-1	30	79,78
	BP1-2	30	72,02
	BP2-2	30	56,72
	BP3-2	30	84,93
	Total		180

Elaborado por: López Acuña María del Cisne.

En la tabla 19 se muestra los resultados de los estadísticos realizados con respecto al dulzor, mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, se obtuvo el nivel significancia asintótica para la acidez de 0,000; lo cual indica que existió diferencia estadística ($p \leq 0,01$) en las bebidas formuladas.

Tabla 19*Estadísticos de la prueba Kruskal Wallis para la acidez.*

Estadísticos de prueba^{a,b}	
	Acidez
H de Kruskal-Wallis	27,610
gl	5
Sig. asintótica	,000
a. Prueba de Kruskal Wallis	
b. Variable de agrupación: Bebida	

Elaborado por: López Acuña María del Cisne.**4.4.1.5. COLOR**

Los rangos promedios del tratamiento presentaron diferencia, obteniendo con mayor aceptabilidad en respecto al dulzor a la bebida **BP2-2**, debido a que los valores de la escala hedónica de 5 puntos utilizada presentan los valores de forma descendente, es decir, mientras más cerca de la unidad, más aceptabilidad por la bebida tuvieron. Tal como se muestra en la tabla 20.

Tabla 20*Resultados de la prueba Kruskal Wallis aplicada al color.*

Rangos			
	Bebida	N	Rango promedio
Color	1,00	30	114,28
	2,00	30	105,36
	3,00	30	94,12
	4,00	30	59,52
	5,00	30	50,40
	6,00	30	83,68
	Total	180	

Elaborado por: López Acuña María del Cisne.

En la tabla 21 se muestra los resultados de los estadísticos realizados con respecto al dulzor, mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, se obtuvo el nivel significancia asintótica para la acidez de 0,000; lo cual indica que existió diferencia estadística ($p \leq 0,01$)

en las bebidas formuladas.

Tabla 21

Estadísticos de la prueba Kruskal Wallis para el color.

Estadísticos de prueba ^{a,b}	
	Color
H de Kruskal-Wallis	40,979
gl	5
Sig. asintótica	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: Bebida

Elaborado por: López Acuña María del Cisne.

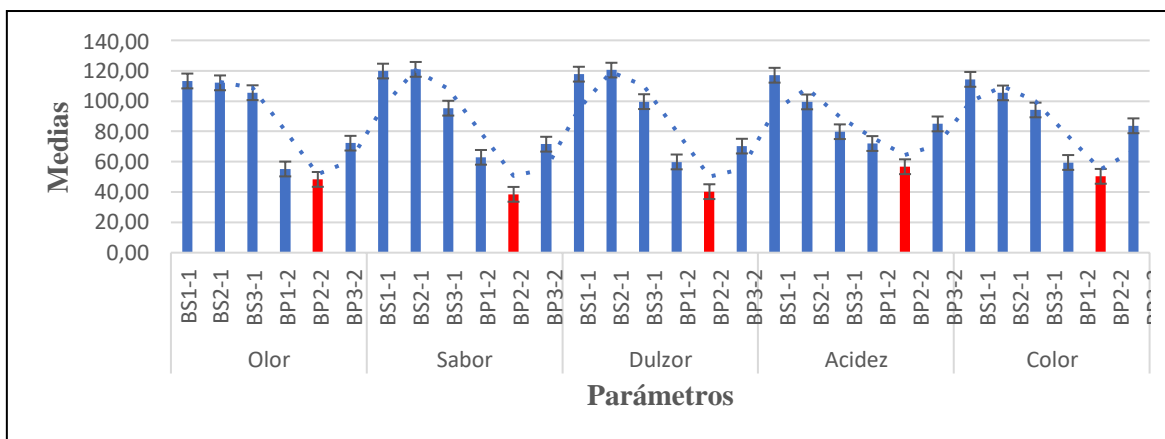


Figura 13: Resultados generales de los parámetros organolépticos

Nota: La barra de color rojo es la que los panelistas eligieron como la mejor en cada factor evaluado.

4.5. Etapa 5: Determinación de la funcionalidad de la bebida a través de la evaluación de la actividad antioxidante.

4.5.1. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS BEBIDAS FORMULADAS.

La actividad antioxidante se determinó aplicando las técnicas de FRAP y ABTS, los resultados se muestran a continuación en la tabla 22.

Tabla 22

Resultados de capacidad antioxidante en las bebidas formuladas.

Formulación	FRAP	ABTS
B1-1	260,03	238,45
B2-1	251,84	195,99
B3-1	264,29	233,73
B1-2	267,16	242,44
B2-2	263,44	243,25
B3-2	256,09	224,29

Según Benítez et al., (2020), la determinación de la capacidad antioxidante es importante para conocer la calidad del producto y saber el potencial que posee para poder inhibir la degradación oxidativa generada por los radicales libres.

Los valores obtenidos de capacidad antioxidante en la presente investigación variaron entre 251,84-267,16 y 195,99-242,44 para FRAP y ABTS respectivamente, y fueron expresados en mg de equivalente de Trólox en base seca.

Una investigación realizada por Ingaroca et al., (2019) donde estudió la composición química del *Piper aduncum*, demostró por dos métodos, DPPH y ABTS, extracto etanólico la baja actividad antioxidante que posee esta planta. Así mismo, (Cruz et al., 2020) en su investigación donde determinó la actividad antioxidante del *Piper aduncum*, el extracto etanólico obtuvo valores que variaron entre 16,95-31,67 mg de equivalentes de Trólox en base seca estos valores representan una capacidad antioxidante baja.

Una investigación realizada por Monroy & Ordoñez, (2020); estudiaron la influencia del tiempo de maceración sobre la capacidad antioxidante por el método DPPH en dos extractos, hidroalcohólico y etanólico, de las hojas de *Piper aduncum*, los cuales obtuvieron los siguientes resultados: a los 7, 14, 21 y 280 días obtuvieron 13,322; 24, 836; 34,211 y 38, 980 mg equivalentes a Trólox por cada mL de extracto etanólico respectivamente y 63, 158; 63,816; 85, 855 y 90,789 mg equivalentes a Trólox por cada mL de extracto hidroalcohólico, estos resultados son inferiores a los obtenidos en el presente estudio, la variación de estos resultados pueden justificarse con la forma de obtención del extracto.

CONCLUSIONES

- Se identificaron siete especies vegetales con nivel de uso significativo igual o mayor al 20% y con posibles propiedades antioxidantes: *Mansoa Alliacea*, *Ilex guayusa Loes*, *Piper aduncum*, *Chamaemelum nobile*, *Piper umbellatum L*, *Croton urucurana Baillon*, *Uncaria tomentosa*; lo cual permitió, en conjunto con el resto de los criterios de selección, escoger a *Piper aduncum* (Matico) como la especie vegetal a investigar.
- El extracto acuoso obtenido a partir de las hojas de *Piper aduncum* (Matico), mostró parámetros de calidad adecuados, según la Norma Técnica Ecuatoriana INEN-ISO 3524 de 2014 y con valores máximos de compuestos antioxidantes expresados en mg de TROLOX fueron 267,16 y 243,25 para FRAP y ABTS respectivamente.
- La bebida funcional elaborada a partir del extracto acuoso de las hojas de *Piper aduncum* (Matico) con mayor aceptación por parte de los panelistas fue aquella conformada por un 35% de extracto, un 65% de agua, un 10% de panela y un 0.3% de ácido cítrico.

RECOMENDACIONES

- Profundizar investigaciones sobre las concentraciones de polifenoles y capacidad antioxidante de la especie *Piper aduncum* prestando atención a distintos factores relacionados con la botánica de la especie (situación geográfica, altitud, época de recolección, etc.).
- Realizar estudios de costos de producción de la bebida funcional para su posible comercialización.
- Realizar un estudio para comparar los compuestos polifenólicos y actividad antioxidante mediante diferentes métodos de extracción.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- García, L., Rojo, D., García, L., & Hernández, M. (2015). Plantas cubanas con efecto antiinflamatorio. *Revista Cubana de Farmacia*, 49(1), 156-164.
- Aillón, C. (2014). Estudios de actividad antioxidante en fracciones provenientes de dos plantas medicinales ecuatorianas: Extractos hidroalcohólicos de Mashua (Trabajo de grado, Universidad Politécnica Salesiana). Repositorio Institucional Digital.
- Almajano, M. (2016). Estudio de la actividad antioxidante de diversas plantas aromáticas y/o comestibles (Tesis Doctoral, Universitat Politècnica de Catalunya Barcelonatech).
- Arboleda, C., Jaramillo, F., & Herman, P. (2012). Determinación del potencial antioxidante en extractos de vinagre *Guadua angustifolia* Kunth para aplicaciones alimenticias. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 17(4), 330-342. Obtenido de <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v17n4/pla05412.pdf>
- Arteaga, C., Franco, C., Silva, J., & Terán, D. (2018). 1° International Congress of Food Science and Biotechnology. CICABI, Ambato.
- Benítez, C., Cardoz, A., Hernández, L., Lapp, M., Rodríguez, H., & Torrecilla, P. (2006). Botánica sistemática. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Maracay.
- Bernejo de Zaa, Á., Pereira Cabrera, S., Cintra Jorge, M., & Morales Torres, G. (2014). Determinación de parámetros químico-física de las tinturas al 20% obtenidas de las hijas, tallos y frutos de *Melia azedarach* L (Pursiona). *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 13(5), 670-680. Obtenido de <http://scielo.sld.cu/pdf/rhcm/v13n5/rhcm04514.pdf>
- Bernal, C., & Díaz, C. (2017). Probióticos y prebióticos en matrices de origen vegetal: Avances en el desarrollo de bebidas de frutas. *Revista chilena de nutrición*, 10.
- Campos, A., & Francisco, J. (2018). Uso De Plantas Medicinales Como Analgésico Antiinflamatorio En La Parroquia Salasaca-Ecuador. *Salud, Arte y Cuidado*, 11(2), 83-90.
- Cano, G. (2016). Evaluación de tres extractos vegetales para el control de plagas en el cultivo de frijol arbustivo *Phaseolus Vulgaris* L. Obtenido de repositorio.uta.edu.ec: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/32426/1/Tesis->

271%20%20Ingenier%c3%ada%20Agron%c3%b3mica%20-
%20Manobanda%20Gallo%20Jos%c3%a9%20Enrique.pdf

- Coronado, M., Vega, S., Gutiérrez, L., Vásquez, M., & Radilla, C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista chilena de nutrición*, 42(2), 206-212. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182015000200014>
- Correa, K., & Díaz, S. (2021). Evaluación de la aceptabilidad de una bebida a base de matico (*Piper aduncum*) y manzanilla (*Chamaemelum nobile*), Chimbote-2021 (Trabajo de grado, Universidad de César Vallejo). Repositorio Digital. Obtenido de file:///C:/Users/USER/Downloads/Correa_PKG-D%C3%ADaz_MSD-SD.pdf
- Correa, K., Díaz, S., & Símpalo, W. (2020). Evaluación de la aceptabilidad de una bebida de matico (*Piper aduncum*) y manzanilla (*Chamaemelum nobile*). *INGnosis*, 6(2), 79-93. Obtenido de [file:///C:/Users/USER/Downloads/8+INT++ARTICULO+\(CORREA-DIAZ-SIMPALO\).pdf](file:///C:/Users/USER/Downloads/8+INT++ARTICULO+(CORREA-DIAZ-SIMPALO).pdf)
- Díaz, V., & Verejano, R. (2020). Nueva bebida análoga a la kombucha hecha de molle, matico y cedron: perfiles bioactivo y sensorial. *Hemispheric Cooperation for Competitiveness and Prosperity on a Knowledge-Based Economy*, 27-31, 1-7. doi:<http://dx.doi.org/10.18687/LACCEI2020.1.1.107>
- Domínguez, G. (2016). *Etnobotánica aplicada: extractos naturales utilizados en agricultura ecológica*. ALCOI, pp1-17.
- Fernández, F. (2018). *Formulación de una bebida funcional a base de Beta vulgaris. Y Equisetum arvense L. Para su evaluación de la capacidad antioxidante y polifenoles totales* (Tesis de posgrado, Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión).
- Flores, C. (2019). *Efecto de la concentración de extracto de hojas de Moringa (Moringa oleífera) y Chía (Salvia hispánica L.) sobre las características fisicoquímicas y sensoriales de una bebida funcional*. Trujillo, Peru: Universidad Privada Antenor Orrego.
- Fonseca, R. (2017). *Tesis de grado. Flavonoides y actividad antioxidante en la especie Ilex Guayusa Loes*. Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito, Quito.
- Gallardo, S. (2011). *Evaluación de tres tipos de sustratos en la multiplicación de plantas endémicas con fines medicinales y el procesamiento en sobres para infusión* (Trabajo de grado, Universidad Politécnica Salesiana). Repositorio Digital. Obtenido de

<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/1821/13/UPS-YT00083.pdf>

Gonzales, L., Rodríguez, D., Ferro, J., & Bezarain, R. (2017). Diversidad biológica de Cuba: métodos de inventario, monitoreo y colecciones biológicas. La Habana: AMA.

Guerra, A. (2005). Obtención, caracterización y evaluación de las propiedades físicoquímicas de los extractos fluidos, blandos y secos así como de las tinturas del rizoma y de la fronda de calahua (*phlebodium pseudoaureum*) a nivel de laboratorio. Guatemala. Obtenido de http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_0951_Q.pdf

Holguín, V. (2014). Estudio de factibilidad para la creación de una planta productora y distribuidora de una bebida orgánica a base de hierbas medicinales en la ciudad de Guayaquil (Trabajo de grado, Universidad Católica de Santiago de Guayaquil). Repositorio Institucional Digital.

Instituto Nacional de Salud. (5 de Septiembre de 2016). Efecto cicatrizante del Matico. Lima, Perú. Obtenido de <https://web.ins.gob.pe/es/prensa/noticia/efecto-cicatrizante-del-matico>

Maestro, R., & Borja, R. (1993). Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. Revista Consejo Superior de Investigaciones Científicas (C.S.I.S), 44(2), 101-106. Obtenido de <https://pdfs.semanticscholar.org/df19/125e7dec3bd08e23690c3ac7f298cf8b7a6e.pdf>

Martín, N., Gastón, I., & Torre, L. (2007). Desarrollo tecnológico y estudio de estabilidad de un medicamento antiulceroso de origen natural. Revista Cubana de Plantas Medicinales, 1-7.

Martínez, I., Periago, M., & Ros, G. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 50(1). Obtenido de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222000000100001

Melo-Guerrero, M., Ortíz, D., & Hurtado, A. (2020). Comparación de la composición y de la actividad antioxidante del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) obtenido mediante extracción con fluidos supercríticos y otras técnicas verdes. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat, 44(172), 845-856. doi:<https://doi.org/10.18257/raccefyn.862>

Mendez, A. (2014). Técnica de reflujo. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

- Milán-Carrillo, J. (2017). Bebida funcional con potencial antidiabético y antihipertensivo elaborada con maíz azul y frijol negro Bioprocesados. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 17.
- Morales, A. (2018). Tesis de grado. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD INHIBITORIA DELA HIALURONIDASA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Piper umbellatum* L. ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO, Riobamba.
- Padró, L., & Marín, J. (2008). Evaluación Preliminar De La Estabilidad Física, Físico-Química Y Microbiología De La Tintura De Itamo Real 20 %. *Revista Cubana de Química*, 10(1), 24-30.
- Paladino, S. (2008). Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenido en las semillas de la VID (*Vitis vinifera* L.) (Tesis de maestria, Universidades Nacionales de Cuyo, La Rioja, San Juan y San Luis). Biblioteca Digital/Uncuyo.
- Paredes, D., Buenaño, M., & Mancera, N. (2015). Uso de plantas medicinales en la comunidad San Jacinto del cantón Ventanas, Los Ríos-Ecuador. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 18(1), 39-50. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v18n1/v18n1a06.pdf>
- Pérez, B. (2013). Elaboración de una bebida funcional a base de hierba luisa, manzanilla y toronjil (Trabajo de grado, Universidad Católica de Santa María). Repositorio Digital.
- Portal , J., Proaño, R., & Villacis, S. (2013). Experiencia comunitaria con el uso de la planta medicinal conocida como "Matico", en el cantón Ambato, en el periodo Marzo-Julio del 2012. *Revista Científica Investigación y Desarrollo*, 7-12. Obtenido de <https://core.ac.uk/reader/236655740>
- Preciado, A. (2016). Desarrollo, caracterización y evaluación in vitro de una bebida funcional a base de extractos optimizados de jamaica y té verde (Tesis de maestría, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Repositorio Institucional Digital.
- Quiroga, J. (2021). Tesis de grado. Compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en los extractos de hojas y tallo de ajos sacha (*Mansoa alliacea*), efecto de la temperatura y ph en su estabilidad. Universidad nacional agraria de la selva, Tingo María.

- Quispillo, J. (2013). Separación, purificación y posible identificación de metabolitos secundarios del Escobillón (*Callistemon speciosus*) (Tesis de grado, Escuela Politécnica de Chimborazo. Repositorio Institucional Digital.
- Ramírez, E. (2018). Evaluación de la bioaccesibilidad de compuestos antioxidantes de la planta aromática (Universidad Nacional de Itapúa). Biblioteca Digital/Uncuyo. Obtenido de https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/12805/20-productos-naturales-bioactivo-ramirez-elba-uni.pdf
- Rankin, R. (2017). Código internacional de nomenclatura bótanic para algas, hongos y plantas ((Código de Shenzhen). China: Wener Greuter.
- Rivera, F. (2018). Evaluación de la actividad antimicrobiana “in vitro” del extracto hidroetanólico de hojas de *Vernonanthura patens*(Laritaco) SOBRE *Escherichia coli*. Tesis de maestría, Ambato. Obtenido de <https://dspace.uniandes.edu.ec/bitstream/123456789/8935/1/PIUAMFCH042-2018.pdf>
- Rodríguez, D., Sanabria, M., & Rodríguez, J. (2006). Comparación Del Efecto De Los Extractos Acuoso Y Etanólico De *Phyllanthus Niruri* Ante *Phytophthora Infestans*. VII Congreso SEAE Zaragoza, 83, 1-5.
- Rojas , M. (2018). Evaluación de la actividad antioxidante y polifenoles totales en extractos de las hojas de tres especies de plantas medicinales de Campo Verde, Ucayali-2018 (Trabajo de grado, Universidad Nacional Intercultural de la Amazonía). Repositorio Institucional Digital.
- Solís, D., & García , M. (2017). Perfil Fitoquímico de compuestos bioactivos y determinación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales. *Revista de Divulgación Científica*, 3(2), 27-32. Obtenido de <https://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/1667/1174>
- Soto, A., García, R., Ramírez, Y., Morán, J., & Serrano, L. (2012). El Extracto Acuoso de Orégano (*Lippia graveolens* HBK) del Norte de México Tiene Actividad Antioxidante sin Mostrar un Efecto Tóxico in vitro e in vivo. *Int. J. Morphol*, 30(3), 937-944. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022012000300029>
- Torres , S. (2019). Determinación de los principios activos de valor real y/o potencial de la

especie nativa tarqui (*Hedyosmum luteynii* Todzia); bosque de Jacarón, Juan de Velasco, Chimborazo, Ecuador (Tesis de Posgrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos). Repositorio Digital.

Toscano, J. (Julio de 2006). Uso Tradicional de Plantas Medicinales en la Vereda San Isidro, Municipio de San José de Paré-Boyacá: Un Estudio Preliminar usando Técnicas Cuantitativas. 4-8.

Toscano, J. (2006). Uso tradicional de plantas medicinales en la Vereda San Isidro, Municipio José de Pare-Boyacá: Un estudio preliminar usasndo técnicas cuantitativas. *Acta Biológica Colombiana*, 11(2), 137-146.
doi:<https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/63344/pdf>

Villafane, J., Maguiña, R., Muñoz, R., Huaraca, S., & Porras , M. (2020). Bebida funcional a base de matico y eucalipto con estevia (Grado Bachiller, Universidad San Ignacio de Loyola). Repositorio digital.

ANEXOS

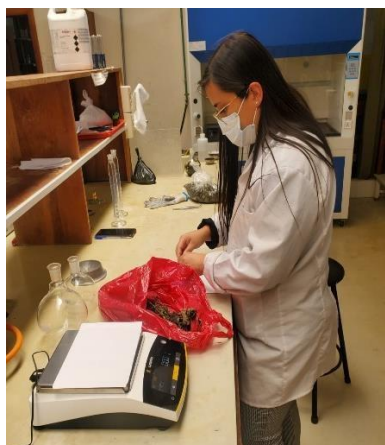


Figura 14: Acondicionamiento de la materia prima.



Figura 15: Acondicionamiento del equipo de reflujo.

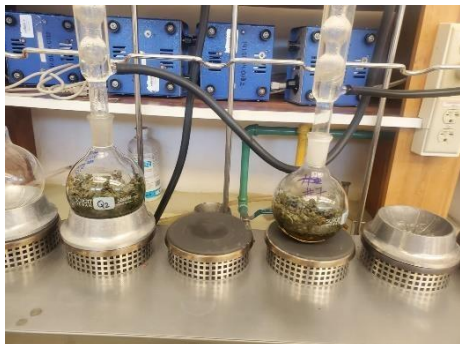


Figura 16: Proceso de obtención del extracto acuoso.



Figura 17: Salida del extracto acuoso del equipo de reflujo.



Figura 18: Elaboración del reactivo ABTS.



Figura 19: Preparación del reactivo Folin Ciocalteu.



Figura 20: Proceso de estabilidad de las bebidas funcionales.



Figura 21: Bebidas funcionales estabilizadas.



Figura 22: Medición de la actividad antioxidante.

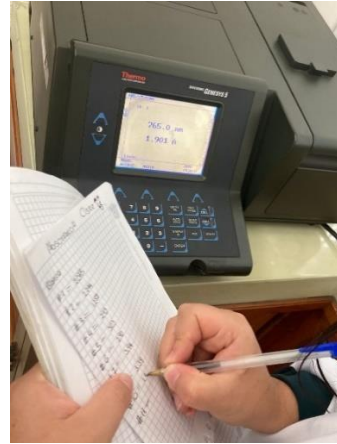


Figura 23: Espectrofotometría para determinación de polifenoles.



Figura 24: Proceso para la realización de las pruebas hedónicas.



Figura 25: Catación de las bebidas funcionales.



Figura 26: Determinación de los parámetros organolépticos.



Figura 27: Prueba de shinoda.

ANEXO 02: Resultados de la encuesta etnobotánica.

Nombre común	Familia	Nombre científico	Intención de uso	Forma de usos	Parte usada	Dosis
Ajo de monte	Bignoniaceae	<i>Mansoa Aliácea</i>	Analgésico, antiinflamatorio, endocrino metabólico, oncológico, respiratorio.	Infusión	Hojas	Cada 24h
Guayusa	Aquifoliaceae	<i>Ilex guayusa Loes</i>	Endocrino metabólico, energizante, analgésico, fertilidad, sistema nervioso.	Cocimiento, infusión	hojas	8h/12h
Matico	Piperaceae	<i>Piper aduncum</i>	Analgésico, Antiinflamatorio, gastrointestinal, cicatrizante, antioxidante	Infusión, cocimiento, emplastos	hojas	12h/24h
Manzanilla	Asteraceae	<i>Chamaemelum nobile</i>	Gastrointestinal, Antiinfeccioso, analgésico, antiinflamatorio.	Infusión, emplastos	ramas, hojas	3h/5h
María panga	Piperaceae.	<i>PiperumbellatumL.</i>	Analgésico, antiinflamatorio, gastrointestinal, dermatológico, sistema nervioso, antiinfeccioso.	Infusión, emplastos, cocimiento	hojas	8h/24h
Sangre de drago	Euphorbiaceae	<i>Croton urucurana Baillon</i>	Dermatológico, antiinfeccioso, analgésico, antiinflamatorio, gastrointestinal.	Infusión, tintura, jarabe, maceración, emplastos	savia, corteza	8h/12h
Uña de gato	Rubiaceae	<i>Uncaria tomentosa</i>	Gastrointestinal, analgésico, antiinflamatorio.	Infusión	hojas	8h

Leche de sandi	Moraceae	<i>Brosimum Utile</i>	Gastrointestinal	Jarabe	savia, fruta, flores	5h/12h/24h
Saragoza	Combretaceae	<i>Conocarpus erectus</i>	Oncológico, antiinflamatorio	Cocimiento, infusión	tallo, cáscara	8h/12h
Chuchuguaso	Celastraceae	<i>Monteverdia laevis</i>	Analgésicos, antiinflamatorio, atiinfeccioso, gastrointestinal, dermatológico	Infusión, emplastos, crema, cocimiento, tintura, maceración	hojas, corteza	8h/12h/24h
Guambula Negra	Elacourtiaceae	<i>Carpotroche Sp</i>	oncológico, dermatológico, endocrino metabólico.	Cocimiento, infusión	cocimiento, fruto, hojas	12h/24h
Cúrcuma	Zingiberaceae	<i>Curcuma Longa L.</i>	Sistema nervioso, hematopoyético, músculos, endocrino metabólico.	Infusión, cocimiento	raíces	12h/24h
Guanábana	Crassulaceae	<i>Bryophyllum pinnatum</i>	Oncológico	Infusión, emplastos	tallos	8h/24h/12h
Pata de vaca	Fabeaceae	<i>Bauhinia forficata</i>	Analgésico, antiinflamatorio, gastro intestinal.	Infusión	hojas, tallos	12h/24h
Sidra	Rutaceae	<i>Citrus medica</i>	Sistema nervioso.	Infusión, tintura	tallos	12
Orégano	Lamiaceae	<i>Origanum vulgare</i>	Gastrointestinal, sistema nervioso.	Infusión	hojas, ramas	8h
Sansa parilla	Esmilacaceae	<i>Smilax aspera</i>	Genitourinario	Cocimiento	hojas, tallos, raíces	12h/24h
Pata de gallina	Poaceae	<i>Eleusine indica</i>	Diabetes, hematopoyético, endocrino metabólico	Infusión	hojas	8h/12h
Escobilla	Asteraceae	<i>Sida rhombifolia</i>	Analgésico, antiinflamatorio, antipirético.	Infusión	hojas	8h/12h

Guayaba	mirtáceas	<i>Psidium guajava</i>	Gastrointestinal, antifeccioso, antiinflamatorio, atipirético, analgésico, hematopoyético, génito-urinario.	Infusión	hojas, fruto	8h/24h
Hierba Luisa	Aloysia citrodora	<i>Verbenaceae</i>	Gastrointestinal, antiifeccioso, analgésico, antiinflamatorio,génito- urinario, respiratorio.	Infusión, emplastos	hojas	8h/12h/24h
Lengua de vaca	Polygonaceae	<i>Dracaena trifasciata</i>	Analgésico, antiinflamatorio, dermatológico	Emplastos	hojas	12h/24h
Munchi	Passifloraceae	<i>Passiflora pergrandis</i>	Analgésico, antiinflamatorio	Infusión	hojas, tallos	8h/12h
Ortiga	Urticaceae	<i>Urtica dioica</i>	Antiifeccioso, analgésico, antiinflamatorio, dermatológico, génito-urinario, sistema nervioso, cardiovascular, endocrino metabólico	Infusión	hojas, tallos	8h/24h
Sábila	Asphodelaceae	<i>Aloe vera</i>	Gastrointestinal, antiifeccioso,analgésico, antiinflamatorio, dermatológico, génito- urinario, cabello	Infusión, batido	cristal	8h/12h/24h

Guambula blanca	Elacourtiaceae	<i>Carpotroche Sp</i>	Oncológico	Cocimiento, infusión	fruto, tallos	8h/12h/24h
Jengibre	Zingiberáceas	<i>Zingiber officinale</i>	Analgésico, antiinflamatorio, antipirético	Maceración	semillas, raíces, fruto	12h/24h
Dulcamara	Solanaceae	<i>Solanum dulcamara</i>	Analgésico, antiinflamatorio, endocrino metabólico, oncológico	Jarabe, infusión	hojas	8h/21h
Menta	Lamiaceae	<i>Mentha piperita L</i>	Gastrointestinal	Infusión	hojas	24h
Ají	Solanaceae	<i>Capsicum annuum</i>	Antimicótico	Infusión, cocimiento, maceración	hojas, tallos, frutas	8h/24h
Ayahuasca	Malpighiaceae	<i>Banisteriopsis caapi</i>	Analgésico, antiinflamatorio	Infusión	hojas	24h
Cedrón	Verbenaceae	<i>Aloysia citrodora</i>	Gastrointestinal	Infusión	hojas	8h/12h/24h
Llantén	Plantaginaceae	<i>Plantago major</i>	Respiratorio, antiinflamatorio	Infusión	hojas	24h
Noni	Rubiaceae	<i>Morinda citrifolia</i>	Endocrino metabólico	Infusión, jarabe	fruto	6h/8h
Orito	Musaceae	<i>Musa acuminata AA</i>	Gastrointestinal	Cocimiento, infusión	fruto, hojas	8h/12h
Toronjil	lamiáceas	<i>Melissa officinalis</i>	Sistema nervioso, gastrointestinal	Infusión, emplastos	hojas	8h/12h
Aguacate	Lauraceae	<i>Persea americana</i>	Endocrino metabólico	Infusión	hojas	24h
Anís de flor	Apiaceae	<i>Pimpinella anisum</i>	Gastrointestinal	Infusión	semillas	12
Borojón	Rubiaceae	<i>Alibertia patinoi</i>	Respiratorio.	Infusión	hojas, flores	12
Chiriyuyo	Verbenaceae	<i>Aloysia citrodora</i>	Antiinfeccioso, analgésico.	Infusión	hojas	12h/24h

Eucalipto	Myrtaceae	<i>Eucalyptus</i>	Respiratorio	Infusión, vaporización	ramas, hojas	24h
Jamaica	Malvaceae	<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Gastrointestinal	Infusión	frutos	4h
Malva Blanca	Malvaceae	<i>Sphaeralcea bonariensis</i>	Analgésico, antiinflamatorio	Infusión	hojas, tallos, flores	12h/24h
Pitahaya	Cactaceae	<i>Selenicereus undatus</i>	Gastrointestinal	Infusión, cocimiento	fruto	12h/24h
Palo santo	Burseraceae	<i>Bursera graveolens</i>	Dermatológico	Vaporización	tallo	12h/24h
Papa china	Araceae	<i>Colocasia esculenta</i>	Dermatológico	Emplasto	fruto	12h/24h
Planta de aire	Bromeliaceae	<i>Tillandsia aeranthos</i>	Respiratorio.	Infusión	hojas	8h
Caballo de chupa	Equisetaceae	<i>Equisetum myriochaetum</i>	Antipirético.	Infusión, emplastos	hojas	8h/24h
Flor blanca	Zingiberaceae	<i>Hedychium coronarium</i>	Respiratorio	Infusión	flor	24h
Ixora	Rubiaceae	<i>Ixora coccinea</i>	Sistema nervioso	Infusión	hojas, tallos	12h
Ruda	Rutoidae	<i>Ruta graveolens</i>	Analgésico, antiinflamatorio	Infusión	tallos, hojas	12h
Achiote	Bixaceae	<i>Bixa orellana</i>	Sistema nervioso	Emplastos, cocimientos	hojas	24h

Elaborado por: María del Cisne López Acuña