



Universidad de Guayaquil

UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA



TRABAJO DE TITULACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO PREVIO PARA
OPTAR POR EL GRADO DE QUÍMICAS Y FARMACEÚTICAS

MODALIDAD:

TESIS/INVESTIGACIÓN

TEMA:

POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTO ACUOSO Y
ETANÓLICO DE LA RAÍZ DEL churco *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don.

AUTORES:

MARITZA MAGALY GUERRERO ACOSTA
KATHERINE JOHANNA PICO BADILLO

TUTORA:

Q.F. SORAYA GARCIA LARRETA MSc

GUAYAQUIL – ECUADOR

2020



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA			
FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE GRADUACIÓN			
TÍTULO Y SUBTÍTULO:	"POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTO ACUOSO Y ETANÓLICO DE LA RAÍZ DEL CHURCO <i>Arthrostemma ciliatum</i> Pav. ex D. Don. "		
AUTOR (ES)	GUERRERO ACOSTA MARITZA MAGALY PICO BADILLO KATHERINE JOHANNA		
DOCENTE TUTOR DOCENTE REVISOR	Q.F. FRELLA SORAYA GARCÍA LARRETA Mgs Q.F. MARÍA ELENA JIMENEZ HEINERT MSc		
INSTITUCIÓN:	UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL		
UNIDAD/FACULTAD:	FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS		
MAESTRÍA/ESPECIALIDAD:			
GRADO OBTENIDO:	TERCER NIVEL - QUÍMICAS FARMACÉUTICAS		
FECHA DE PUBLICACIÓN:	JUNIO - 2020	No. DE PÁGINAS:	81
ÁREAS TEMÁTICAS:	INVESTIGACIÓN		
PALABRAS CLAVES/ KEYWORDS:	<i>Arthrostemma ciliatum</i> Pav. ex D. Don, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, POLIFENOLES TOTALES, TAMIZAJE FITOQUÍMICO PRELIMINAR.		
RESUMEN/ABSTRACT			
<p>Los radicales libres son sustancias de origen endógeno y/o exógeno que producen estrés oxidativo y daño celular. Muchas plantas son utilizadas ancestralmente para combatir dolencias atribuidas al estrés oxidativo. El <i>Arthrostemma ciliatum</i> Pav. ex D. Don., cuyo nombre vulgar es churco, es utilizada por la población para mitigar la sed absorbiendo el agua y nutrientes del tallo, pero no otros órganos de la planta, como el caso de la raíz que es desechada. Por lo cual es necesario evaluar la concentración de Polifenoles totales en los Extractos Acuoso y Etanólico de la raíz de <i>Arthrostemma ciliatum</i> Pav. ex D. Don. y su actividad antioxidante. Se realizó un Tamizaje Fitoquímico preliminar presentando los metabolitos secundarios: fenoles y taninos, flavonoides, quinonas, cumarinas, terpenos, esteroides, saponinas y azúcares reductores. Además, se determinó la concentración de polifenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu y se obtuvo como resultado en extracto etanólico 728.05mgEAG/kg y en extracto acuoso 284.55mgEAG/kg. La actividad antioxidante se determinó mediante el método de DPPH y los resultados en extracto etanólico fueron de 5.76µgEAG/mL y en extracto acuoso de 10.27 µgEAG/mL, presentando mejor IC50 el extracto etanólico.</p>			
ADJUNTO PDF:	<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	
CONTACTO CON AUTOR/ES:	Teléfono: 0993089638 0939512154	E-mail: Katherine.picob@ug.edu.ec Maritza.guerreroa@ug.edu.ec	
CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN:	Nombre: FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS		
	Teléfono: (04) 2293680		
	E-mail: www.fcq.ug.edu.ec		



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



Guayaquil, 03 de marzo de 2020

Q.F MARIANITA RENDÓN MARISCAL MSc.
VICEDEACANA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
Ciudad.-

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el Informe correspondiente a la tutoría realizada al Trabajo de Titulación **POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTO ACUOSO Y ETANÓLICO DE LA RAÍZ DEL CHURCO *Arthrostemma Ciliatum* Pav. ex D. Don** de las estudiantes **MARITZA MAGALY GUERRERO ACOSTA Y KATHERINE JOHANNA PICO BADILLO**, indicando que han cumplido con todos los parámetros establecidos en la normativa vigente:

- El trabajo es el resultado de una investigación.
- El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se adjunta el certificado de porcentaje de similitud y la valoración del trabajo de titulación con la respectiva calificación.

Dando por concluida esta tutoría de trabajo de titulación, **CERTIFICO**, para los fines pertinentes, que las estudiantes estén aptas para continuar con el proceso de revisión final.

Atentamente,

Q.F. Soraya García Larreta MSc
TUTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN
No. C.I. 0911422178



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



Guayaquil, 6 abril 2020

SRA. ZOLA B. LUNA ESTRELLA
VICEDECANA
FACULTAD CIENCIAS QUÍMICAS
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
Ciudad.-

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el Informe correspondiente a la **REVISIÓN FINAL** del Trabajo de Titulación **POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTO ACUOSO Y ETANÓLICO DE LA RAÍZ DEL churco *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don.**, de las estudiantes **MARITZA MAGALY GUERRERO ACOSTA**, y **KATHERINE JOHANNA PICO BADILLO**. Las gestiones realizadas me permiten indicar que el trabajo fue revisado considerando todos los parámetros establecidos en las normativas vigentes, en el cumplimiento de los siguientes aspectos:

Cumplimiento de requisitos de forma:

- El título tiene un máximo de 21 palabras.
- La memoria escrita se ajusta a la estructura establecida.
- El documento se ajusta a las normas de escritura científica seleccionadas por la Facultad.
- La investigación es pertinente con la línea y sublíneas de investigación de la carrera.
- Los soportes teóricos son de máximo 6 años.
- La propuesta presentada es pertinente.

Cumplimiento con el Reglamento de Régimen Académico:

- El trabajo es el resultado de una investigación.
- El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se indica que fue revisado, el certificado de porcentaje de similitud, la valoración del tutor, así como de las páginas preliminares solicitadas, lo cual indica que el trabajo de investigación cumple con los requisitos exigidos.

Una vez concluida esta revisión, considero que el (los) estudiante (s) **MARITZA MAGALY GUERRERO ACOSTA**, **KATHERINE JOHANNA PICO BADILLO**, está (n) apto (s) para continuar el proceso de titulación. Particular que comunicamos a usted para los fines pertinentes.

Atentamente,

DOCENTE TUTOR REVISOR

C.I. No.: 0905366985



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



CERTIFICADO PORCENTAJE DE SIMILITUD

Habiendo sido nombrada **Q.F. SORAYA GARCÍA LARRETA MSC**, tutor del trabajo de titulación certifico que el presente trabajo de titulación ha sido elaborado por **MARITZA MAGALY GUERRERO ACOSTA** con **Ci: 1750015057** y **KATHERINE JOHANNA PICO BADILLO** con **Ci: 0953285681**, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de Químicas y Farmacéuticas.

Se informa que el trabajo de titulación: **POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTO ACUOSO Y ETANÓLICO DE LA RAÍZ DEL CHURCO *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don** ha sido orientado durante todo el periodo de ejecución en el programa antiplagio (URKUND) quedando el 4 % de coincidencia.

Documento: <https://secure.orkund.com/old/view/62586161-698789-857956#q1bKLvayijY00jE01zG01DEy1TEy07GM1VEgqzkzPy0zLTE7MS05VsjLQMzA2tjA1sbCOMDM1tjQyMTI2qWUA>

Presentado: 2023-05-27 11:11 -05:00

Presentado por: Soraya Garcia Larreta MSC

Recibido: carpi@urkund.com

Mensaje: Texto Similares - Pico: <https://secure.orkund.com/old/view/62586161-698789-857956#q1bKLvayijY00jE01zG01DEy1TEy07GM1VEgqzkzPy0zLTE7MS05VsjLQMzA2tjA1sbCOMDM1tjQyMTI2qWUA>

4% de estas páginas se comparan contra presente en 1 fuente

Lista de fuentes: Bloques

Categoría	Enlace/nombre de archivo
Referencia	https://secure.orkund.com/old/view/62586161-698789-857956#q1bKLvayijY00jE01zG01DEy1TEy07GM1VEgqzkzPy0zLTE7MS05VsjLQMzA2tjA1sbCOMDM1tjQyMTI2qWUA
Fuentes alternativas	https://secure.orkund.com/old/view/62586161-698789-857956#q1bKLvayijY00jE01zG01DEy1TEy07GM1VEgqzkzPy0zLTE7MS05VsjLQMzA2tjA1sbCOMDM1tjQyMTI2qWUA
Fuentes no usadas	

QUANTIFICACION DE POLIFENOL TOTALES

1.1. ANTECEDENTES Las investigaciones realizadas por CITATION (2023) (Denise, 2023), concluyen, a su vez, sobre el contenido de polifenoles totales y la actividad de la actividad oxidativa en extractos con DOPM en los extractos Metanólico y Etanólico obtenidos como

53% los valores totales de fenoles en cada contenido

para la especie se encontró en los extractos metanólico y acuoso de raíz con valores de 0.40 ± 0.08 mg EG AG/g respectivamente

y para la especie se encontró el extracto de fenoles de extracto metanólico de 0.40 mg EG AG

Fig. Los resultados obtenidos de la Actividad Antioxidante determinar que el extracto etanólico de la especie se presentó valores de 0.40 mg EG AG, mientras que para la especie se presentó en los extractos de raíz con valores de 0.40 y 0.08 mg EG AG

Según CITATION (2023):

Archivo de registro Unwind: UNIVERSIDAD DE CUENCA/QUÍMICA/ARROSTEMMA CILIATUM CHURCO 53% los valores totales de fenoles se encontró en los extractos con un alto contenido de para la especie se encontró en los extractos metanólico, acuoso, con valores de 0.40 ± 0.08 y 0.08 mg EG AG respectivamente.

para la especie se encontró el extracto de fenoles de raíz metanólico, con valores de 0.40 ± 0.08 mg EG AG

<https://secure.orkund.com/old/view/62586161-698789-857956#q1bKLvayijY00jE01zG01DEy1TEy07GM1VEgqzkzPy0zLTE7MS05VsjLQMzA2tjA1sbCOMDM1tjQyMTI2qWUA>


Q.F. Soraya García Larreta MSC
No. C.I. 0911422178


CI: 0953285681

Urkund Analysis Result

Analysed Document: RAIZ ARTHROSTEMMA CILIATUM GUERRERO PICO.docx
(D64546509)
Submitted: 2/27/2020 6:11:00 PM
Submitted By: soraya.garcial@ug.edu.ec
Significance: 4 %

Sources included in the report:

CHURCO- CASTILLO Y VINUEZA.docx (D54748819)
HOJAS ARTHROSTEMMA CILIATUM CHIQUITO.LAINEZ.docx (D64500154)

Instances where selected sources appear:

6



CI: 0959504481.





**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN**



Guayaquil, 03 de Marzo del 2020

APROBACIÓN DEL TUTOR

En calidad de tutora del Trabajo de Titulación, Certifico: Que he asesorado, guiado y revisado el trabajo de titulación en la modalidad de investigación, cuyo título es:

“POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTO ACUOSO Y ETANÓLICO DE LA RAÍZ DEL churco *Arthrostemma ciliatum Pav. ex D. Don.*”, presentado por **MARITZA MAGALY GUERRERO ACOSTA** con C.I. No 1750015057 y **KATHERINE JOHANNA PICO BADILLO** con C.I. No 0953285681, previo a la obtención del título de Químicas y Farmacéuticas.

Este Trabajo ha sido aprobado en su totalidad y se adjunta el informe de Antiplagio del programa URKUND, quedando el 4% de coincidencia. Lo Certifico:

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Soraya García Larreta", written over a horizontal line.

Q.F. SORAYA GARCÍA LARRETA MSc.

C.I.No. 0911422178



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



Guayaquil, 10 de Junio del 2020

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR REVISOR

Habiendo sido nombrada **Q.F. MARÍA ELENA JIMENEZ HEINERT M.Sc**, tutor del trabajo de titulación "**POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTO ACUOSO Y ETANÓLICO DE LA RAÍZ DEL churco *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D.**" certifico que el presente trabajo de titulación, elaborado por **MARITZA MAGALY GUERRERO ACOSTA** con C.I No. 1750015057 y **KATHERINE JOHANNA PICO BADILLO**, con C.I. No. 0953285681, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de **QUÍMICA Y FARMACÉUTICA**, en la Carrera Química y Farmacia de la Facultad de Ciencias Químicas, ha sido **REVISADO Y APROBADO** en todas sus partes, encontrándose apto para su sustentación.

A handwritten signature in blue ink, which appears to read "M.ª Elena Jiménez Heinert".

Q.F. María Elena Jiménez Heinert M.Sc

C.I. No. 0905366985



**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN**



CERTIFICADO DEL TRIBUNAL

Acta de Registro de la Sustentación Final

El tribunal de Sustentación del Trabajo de Titulación de las Señoritas **MARITZA MAGALY GUERRERO ACOSTA** y **KATHERINE JOHANNA PICO BADILLO**, después de ser examinadas en la presentación, memoria científica y defensa oral, da por aprobado el Trabajo de Titulación.

**Q.F. MARÍA ELENA JIMENEZ HEINERT MSc.
PRESIDENTE - MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

**DRA. Q.F. ZOILA BELLA LUNA ESTRELLA MSc.
DOCENTE - MIEMBRO 1 DEL TRIBUNAL**

**Q.F. HAYDEE ALVARADO ALVARADO
DOCENTE - MIEMBRO 2 DEL TRIBUNAL**

**Ab. FRANCISCO PALOMEQUE ROMERO Mg.
SECRETARIO GENERAL
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**



**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN**



**LICENCIA GRATUITA INTRANSFERIBLE Y NO COMERCIAL DE LA OBRA
CON FINES NO ACADÉMICOS**

Nosotros, **MARITZA MAGALY GUERRRO ACOSTA** con C.I. No. **1750015057** y **KATHERINE JOHANNA PICO BADILLO** con C.I. No. **0953285681** certificamos que los contenidos desarrollados en este trabajo de titulación, cuyo título es **“POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTOS ACUOSO Y ETANÓLICO DE LA RAÍZ DEL churco *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don.”** son de nuestra absoluta propiedad y responsabilidad, en conformidad al Artículo 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN*, autorizamos la utilización de una licencia gratuita intransferible, para el uso no comercial de la presente obra a favor de la Universidad de Guayaquil.

MARITZA MAGALY GUERRERO ACOSTA
C.I.No. **1750015057**

KATHERINE JOHANNA PICO BADILLO
C.I.No. **0953285681**

*CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN (Registro Oficial n. 899 - Díc./2016) Artículo 114.- De los titulares de derechos de obras creadas en las instituciones de educación superior y centros educativos.- En el caso de las obras creadas en centros educativos, universidades, escuelas politécnicas, institutos superiores técnicos, tecnológicos, pedagógicos, de artes y los conservatorios superiores, e institutos públicos de investigación como resultado de su actividad académica o de investigación tales como trabajos de titulación, proyectos de investigación o innovación, artículos académicos, u otros análogos, sin perjuicio de que pueda existir relación de dependencia, la titularidad de los derechos patrimoniales corresponderá a los autores. Sin embargo, el establecimiento tendrá una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra con fines académicos.



**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN**



CARTA DE AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

**POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTO ACUOSO Y
ETANÓLICO DE LA RAÍZ DEL churco *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don.**

Yo, **MARITZA MAGALY GUERRERO ACOSTA** con cédula de ciudadanía **1750015057**, autor de este trabajo declaro ante las autoridades de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil, que la responsabilidad del contenido de este TRABAJO DE TITULACIÓN, me corresponde a mi exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil.

Declaro también es de mi autoría, que todo el material escrito, salvo el que está debidamente referenciado en el texto. Además que este trabajo no ha sido parcial ni totalmente presentado para la obtención de un título, ni en una Universidad nacional, ni una extranjera.

MARITZA MAGALY GUERRERO ACOSTA

C.I. No. **1750015057**



**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN**



CARTA DE AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

**POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTO ACUOSO Y
ETANÓLICO DE LA RAÍZ DEL churco *Arthrostemma ciliatum Pav. ex D. Don.***

Yo, **KATHERINE JOHANNA PICO BADILLO** con cédula de ciudadanía **0953285681**, autor de este trabajo declaro ante las autoridades de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil, que la responsabilidad del contenido de este TRABAJO DE TITULACIÓN, me corresponde a mi exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil.

Declaro también es de mi autoría, que todo el material escrito, salvo el que está debidamente referenciado en el texto. Además que este trabajo no ha sido parcial ni totalmente presentado para la obtención de un título, ni en una Universidad nacional, ni una extranjera.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Katherine Pico", written over a horizontal line.

KATHERINE JOHANNA PICO BADILLO

C.I. No. **0953285681**

DEDICATORIA

DEDICO ESTE TRABAJO DE TESIS A:

Este trabajo lo dedico a mis padres Pedro Guerrero y Maritza Acosta por siempre confiar en mí y darme su apoyo incondicional, a mis hermanos, mi esposo, mis amigos y principalmente a mi hija, a todos por ser un pilar fundamental en cada uno de los pasos que doy en mi vida y siempre tener fe que en cada una de las metas anheladas.

MARITZA MAGALY GUERRERO ACOSTA

DEDICATORIA

DEDICO ESTE TRABAJO DE TESIS A:

Mis padres Meliton Pico y Marjorie Badillo por brindarme su cariño y ejemplo de perseverancia y esfuerzo para alcanzar este logro y a mis hermanas por la confianza y el apoyo incondicional.

KATHERINE JOHANNA PICO BADILLO

AGRADECIMIENTO

Agradezco principalmente a Dios por brindarme la fortaleza, sabiduría y perseverancia lo cual me llevo a alcanzar una meta más, a mis padres Pedro Evangelino Guerrero Rosado y Maritza Magaly Acosta Rosado por siempre creer en mí y apoyarme incondicionalmente, siendo la parte fundamental en mi vida llenándome de valores y enseñando a valorarme.

A mis hermanos Pedro, Diego, Andrea, Ayme, Melanie por siempre estar conmigo y darme su apoyo, a mi esposo Daniel Saltos por apoyarme en cada paso que he dado en mi carrera universitaria, a mi hija Natasha Saltos, que ha sido mi pilar de fuerza y dedicación para poder culminar un escalón más de mis anheladas metas, a cada uno de mis amigos con los cuales siempre pude contar, a las familias Acosta Chacón.

Mis más sentidos agradecimientos a la Dra. Soraya García Larreta MSc por guiarnos en el trascurso de este trabajo de titulación con mucha paciencia y entrega completa a brindar su apoyo y enseñanza.

MARITZA MAGALY GUERRERO ACOSTA

AGRADECIMIENTO

Agradezco principalmente a Dios por darme la sabiduría y fortaleza que me llevo a alcanzar esta meta anhelada. A mis padres por haberme forjado a lo largo de todos estos años por su dedicación y valores inculcados.

A mis formadores que contribuyeron con sus enseñanzas en especial a la Dra. Soraya García Larreta MSc en su labor de tutora académica por brindarnos su ayuda, disposición y orientación al realizar este trabajo de investigación y a mis amigos que fueron parte fundamental para que pueda terminar mi carrera universitaria.

KATHERINE JOHANNA PICO BADILLO

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	xxiii
SUMMARY	xxiv
INTRODUCCIÓN.....	1
I.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
I.1.1.FORMULACION DEL PROBLEMA	6
I.2. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.....	6
I.3.HIPÓTESIS	8
I.4.OBJETIVOS	8
I.4.1.OBJETIVO GENERAL	8
I.4.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	8
1.5 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES.....	9
CAPITULO II: MARCO TEÓRICO	10
II.1. ANTECEDENTES.....	10
II.2. POLIFENOLES	15
II.2.1. Definición	20
II.2.2. Biodisponibilidad de los polifenoles	21
II.2.3. Clasificación según su Estructura.....	22
II.2.4. Clasificación de los polifenoles	22
II.5. MÉTODOS PARA DETERMINACION DE POLIFENOLES TOTALES.....	23
II.5.1. Método Folin Ciocalteu	23
II.6. RADICALES LIBRES	23
II.6.1. Biomecanismos de formación de radicales libres	24

II.7. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	25
II.7.1. Mecanismo de acción de la Actividad Antioxidante	26
II.8. MÉTODOS PARA DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	27
II.8.1. Método DMPD (N, N' - dimetil -p-fenilendiamina)	27
II.8.2. Método ABTS (azinobis 3-etilbenzotiazolina -6- ácido sulfónico).....	28
II.8.3. Método Voltametría Cíclica	28
II.8.4. Método DPPH (2,2 Difenil Picril Hidrazilo)	28
II.9.TAMIZAJE FITOQUIMICO	30
II.10. PRINCIPALES ANÁLISIS DE UN TAMIZAJE FITOQUÍMICO	30
II.10.1. Fundamento Teórico.....	30
II.10.2. Ensayo de Fehling.....	30
II.10.3. Ensayo de Baljet.....	31
II.10.4. Ensayo de Cloruro Férrico	31
II.10.5. Ensayo de Shinoda.....	32
II.10.6. Ensayo de Bortrager.....	33
II.10.7. Ensayo de Lieberman – Buchard	33
II.10.8. Ensayo de Mucílagos	34
II.10.9. Ensayo de Cumarinas	34
II.10.10. Ensayo de Resinas.....	35
II.10.11. Ensayo de Vapores de Amoniacó	35
II.10.12. Ensayo de Espuma.....	36
II.10.13. Ensayo de Formaldehído.....	37
II.10.14. Ensayo de Dragendorff	38
II.10.15. Ensayo de Mayer	38
II.10.16. Ensayo de Wagner	39

II.10.17. Ensayo de Leucoantocianinas	39
II.10.18. Ensayo de Hidróxido de Sodio.....	40
II.10.19. Test de Zinc	41
II.11. CHURCO O CAÑA AGRIA	41
II.11.1. TAXONOMÍA.....	16
II.11.2. CARACTERES BOTÁNICOS.....	41
II.11.2. DESCRIPCIÓN BOTANICA.....	43
II.11.4. ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.....	19
II.11.5. USOS	20
CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS.....	42
III.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	42
III.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	42
III.3. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS	42
III.3.1. Equipos	42
III.3.2. Material vegetal.....	42
III.3.3. Materiales	43
III.3.4. Reactivos	43
III.4. RECOLECCION DE LA MUESTRA.....	44
III.5. CRITERIO DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.....	45
III.6. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	46
III.6.1 PREPARACIÓN DE EXTRACTOS ACUOSO Y ETANÓLICO	46
III.6.2 TAMIZAJE FITOQUÍMICO PRELIMINAR ORIENTADO A COMPUESTOS FENÓLICOS.	47
III.6.2.1 Ensayo de Fehling	47
III.6.2.2 Ensayo de Baljet.....	47

III.6.2.3 Ensayo de Cloruro Férrico	48
III.6.2.4 Ensayo de Shinoda	48
III.6.2.5 Ensayo de Borntrager	48
III.6.2.6 Ensayo de Lieberman - Buchard	49
III.6.2.7 Ensayo de Mucílagos	49
III.6.2.9 Ensayo de Resinas	50
III.6.2.10 Ensayo con Vapores de Amoniaco	50
III.6.2.11 Ensayo de Espuma.....	51
III.6.2.12 Ensayo de Formaldehido	51
III.6.2.13 Ensayo de Dragendorff	51
III.6.2.14 Ensayo de Mayer	51
III.6.2.15 Ensayo de Wagner	52
III.6.2.16 Ensayo de Leucoantocianinas	52
III.6.2.17 Ensayo de Hidróxido de Sodio.....	52
III.6.2.18 Test de Zinc	52
III.6.3 DETERMINAR POLIFENOLES TOTALES POR MÉTODO DE FOLIN-CIOCALTE	53
III.6.3.1 Preparación de los reactivos	53
III.6.4 DETERMINAR ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO DE DPPH	53
III.6.4.1 Procedimiento	53
CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIONES	55
IV.1. CERTIFICACIÓN DE LA PLANTA	55
IV.2. TAMIZAJE FITOQUIMICO PRELIMINAR ORIENTADO A COMPUESTOS FENÓLICOS	56
IV.3. Determinación de Polifenoles Totales de <i>Arthrostemma ciliatum</i> Pav. Ex. D Don.....	57
IV.4 Determinación de Actividad Antioxidante de <i>Arthrostemma ciliatum</i> Pav. Ex. D Don	58

IV.5 DISCUSIÓN	60
V.I.6 CONCLUSIONES.....	63
V.I.8 RECOMENDACIONES	64
BIBLIOGRAFÍA	65
GLOSARIO	73

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Operacionalización de las variables	9
Tabla II. Cuantificación de fenoles totales en los extractos de hojas y frutos de tres especies del género Miconia.....	11
Tabla III. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de Colca (<i>Miconia pseudocentrophora</i>)...	12
Tabla IV. Tamizaje Fitoquímico del extracto etanólico de la raíz de <i>Rumex crispus</i> L.....	13
Tabla V. Tamizaje fitoquímico preliminar de los extractos etanólicos de tres especies del género Miconia	14
Tabla VI. Taxonomía del <i>Arthrostemma ciliatum</i> Pav.ex D. Don	16
Tabla VII. Descripción botánica y morfológica de <i>Arthrostemma ciliatum</i> Pav. ex D. Don.	18
Tabla VIII. Clasificación de los polifenoles y ejemplos de ellos.....	22
Tabla IX. <i>Certificación de la planta</i>	55
Tabla X. Tamizaje Fitoquímico Preliminar.....	56
Tabla XI. Extracto Etanólico de Folin-Ciocalteu.....	57
Tabla XII. Extracto Acuoso de Folin-Ciocalteu.....	57
Tabla XIII. Extracto Etanólico DDPH.....	58
Tabla XIV. Extracto Acuoso DDPH	59

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. <i>Arthrostemma ciliatum</i> Pav. ex D. Don. A. rama; B. botón; C. hipantio fructífero; D, pétalo; E. estambre; F. semilla	17
Ilustración 2. Ubicación geográfica Cantón Camilo Ponce Enríquez provincia de Azuay-Ecuador	19

Ilustración 3. Estructura química básica de las principales clases de polifenoles	21
Ilustración 4. Mecanismo Químico de los polifenoles	26
Ilustración 5. Estructura química del radical libre metaestable DPPH	29
Ilustración 6. Reacción de Fehling	31
Ilustración 7. Núcleo Químico de Cumarinas	31
Ilustración 8. Reacción de Cloruro Férrico	32
Ilustración 9. Reacción de Shinoda	33
Ilustración 10. Reacción de la prueba de Borntrager	33
Ilustración 11. Núcleo Químico de Esteroides y/o Triterpenoides	34
Ilustración 12. Estructura de los mucílagos	34
Ilustración 13. Reacción de Cumarinas	35
Ilustración 14. Estructura Química de los compuestos	35
Ilustración 15. Familia de Flavonoides	36
Ilustración 16. Estructura de Saponina alcaloidea	36
Ilustración 17. Estructura de Saponina Digitonina	37
Ilustración 18. Unidades monoméricas de taninos condensados (catequina y galocatequina) y taninos hidrolizables (ácido gálico y elágico)	37
Ilustración 19. Reacción de Dragendorff	38
Ilustración 20. Reactivo de Mayer	38
Ilustración 21. Reacción de Wagner	39
Ilustración 22. Estructuras de Leucoatocianinas	39
Ilustración 23. Principales familias de compuestos fenólicos	40
Ilustración 24. Estructura de Flavononas y flavonoles	41
Ilustración 25. <i>Arthrostemma ciliatum</i> Pav.ex D. Don	44
Ilustración 26. Sitio de recolección	44
Ilustración 27. Raíz de la planta <i>Arthrostemma</i>	45
Ilustración 28. Herbario Guay 2019	55

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Comparación de los Polifenoles Totales en Extractos Acuoso y Etanólico de <i>Arthrostemma ciliatum</i> Pav. ex D. Don	58
Gráfico 2. Comparación de Actividad Antioxidante en Extracto Acuoso y Etanólico de <i>Arthrostemma ciliatum</i> Pav. ex D. Don	59

INDICE DE ANEXOS

Anexo A. Muestra Recolectada de <i>Arthrostemma ciliatum</i> Pav. ex D. Don	755
Anexo B. Peso de la muestra para extracto Acuoso y Etanólico.....	755
Anexo C. Extractos Acuoso y Etanólico de <i>Arthrostemma ciliatum</i> Pav. ex D. Don	766
Anexo D. Identificación de metabolitos secundarios mediante Tamizaje Fitoquímico Preliminar	766
Anexo E. Ensayo de Dragendorff, Meyer y Wagne en Extracto Etanólico.....	777
Anexo F. Ensayo de Dragendorff, Meyer y Wagner en Extracto Acuoso.....	777
Anexo G. Ensayo de Baljet en Extracto Acuoso	777
Anexo H. Ensayo de Borntreger en Extracto Acuoso y Etanólico	777
Anexo I. Ensayo de Lieberman – Buchard en Extracto Acuoso y Etanólico.....	788
Anexo J. Ensayo de Fehling en Extracto.....	788
Anexo K. Ensayo de Leucoantocianidinas en Extracto Acuoso.....	788
Anexo L. Test de Zinc en Extracto Acuoso y Etanólico.....	788
Anexo M. Ensayo de Salkowski en Extracto Etanólico.....	799
Anexo N. Ensayo de Shinoda en Extracto Acuoso y Etanólico.....	799
Anexo O. Ensayo de Cloruro Férrico en Extracto Acuoso y Etanólico	799
Anexo P. Certificación Taxonómica.....	800



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTO ACUOSO Y ETANÓLICO DE LA RAÍZ DEL CHURCO *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don.

Autores: Maritza Magaly Guerrero Acosta

Katherine Johanna Pico Badillo

Tutor: Q.F. Soraya García Larreta MSc.

RESUMEN

Los radicales libres son sustancias de origen endógeno y/o exógeno que producen estrés oxidativo y daño celular. Muchas plantas son utilizadas ancestralmente para combatir dolencias atribuidas al estrés oxidativo. El *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don., cuyo nombre vulgar es churco, es utilizada por la población para mitigar la sed absorbiendo el agua y nutrientes del tallo, pero no otros órganos de la planta, como el caso de la raíz que es desechada. Por lo cual es necesario evaluar la concentración de Polifenoles totales en los Extractos Acuoso y Etanólico de la raíz de *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don. y su actividad antioxidante. Se realizó un Tamizaje Fitoquímico preliminar presentando los metabolitos secundarios: fenoles y taninos, flavonoides, quinonas, cumarinas, terpenos, esteroides, saponinas y azúcares reductores. Además, se determinó la concentración de polifenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu y se obtuvo como resultado en extracto etanólico 728.05mgEAG/kg y en extracto acuoso 284.55mgEAG/kg. La actividad antioxidante se determinó mediante el método de DPPH y los resultados en extracto etanólico fueron de 5.76µgEAG/mL y en extracto acuoso de 10.27 µgEAG/mL, presentando mejor IC50 el extracto etanólico.

Palabras claves: *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don, actividad antioxidante, polifenoles totales, tamizaje fitoquímico preliminar.



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



TOTAL POLYPHENOLS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY IN AQUATIC AND ETHANOLIC
EXTRACT FROM THE ROOT OF CHURCO *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don.

Authors: Maritza Magaly Guerrero Acosta

Katherine Johanna Pico Badillo

Tutor: Q.F. Soraya García Larreta MSc.

SUMMARY

Free radicals are substances of endogenous and / or exogenous origin that produce oxidative stress and cellular damage. Many plants are used ancestral to fight ailments attributed to oxidative stress. The *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don., whose vulgar name is churco, is used by the population to mitigate thirst by absorbing water and nutrients from the stem, but not other organs of the plant, such as the root of the root that is discarded. Therefore, it is necessary to evaluate the concentration of total polyphenols in the aqueous and ethanolic extracts of the root of *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don. and its antioxidant activity. A preliminary phytochemical screening was performed presenting the secondary metabolites: phenols and tannins, flavonoids, quinones, coumarins, terpenes, steroids, saponins and reducing sugars. In addition, the concentration of total polyphenols was determined by the Folin-Ciocalteu method and was obtained as a result in ethanol extract 728.05mgEAG / kg and in aqueous extract 284.55mgEAG / kg. The antioxidant activity was determined by the DPPH method and the results in ethanolic extract were 5.76 μ gEAG / mL and in aqueous extract of 10.27 μ gEAG / mL, the ethanol extract presenting IC50 better.

Keywords: *Arthrostemma ciliatum* Pav. Ex D. Don, Antioxidant Activity, Total Polyphenols, Preliminary Phytochemical Screening

INTRODUCCIÓN

El churco o caña agria es una planta que crece en la maleza o en bosques mixtos, frecuentes en bosques de pino con maleza de crecimiento secundario a una altura de 1500 metros sobre el nivel del mar o menos. Es originaria de las ciudades de México como Alta Verapaz, Izabal, Jutiapa; Santa Rosa, Quetzaltenango, San Marcos, Huehuetenango, Zacapa. También se ha descrito en Belice y Panamá. Esta planta es utilizada comúnmente por las personas que habitan en la provincia del Azuay, crece en las regiones Andinas en la cordillera cerca de los ríos.

Por otra parte, tenemos que el *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don fue recolectada en el cantón Ponce Enríquez, ubicado en el flanco occidental de la cordillera de Mollepongo. Su tallo se lo utiliza comúnmente para mitigar la sed, sus hojas poseen actividad antimicrobiana, sus flores pueden ser utilizadas de forma ornamental. Sin embargo, su raíz es desechada, es por ello que esta parte de la planta es el objeto de estudio del presente trabajo de investigación. En cuanto a los datos obtenidos de la muestra recolectada se obtuvo un peso promedio de la planta de 104.7g y su raíz de 10g, lo cual representa un 9.55% de su peso total, florece y fructifica durante todo el año, presenta de 1-2 m erecta, arqueada o ascendente.

Con respecto a los objetivos establecidos tenemos el evaluar la concentración de polifenoles totales en los extractos acuoso y etanólico de la raíz de *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don. y su actividad antioxidante, esto se logra mediante la certificación de la planta churco en el Herbario GUAY de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil, asimismo identificar de manera cualitativa los tipos de compuestos presentes en los extractos acuoso y etanólico de la raíz del *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don realizando un tamizaje fitoquímico preliminar orientado a compuestos fenólicos, por último tenemos la determinación de la concentración de polifenoles totales en los extractos acuoso y etanólico por el método de Folin-Ciocalteau

y evaluar la actividad antioxidante en los extractos acuoso y etanólico por el método de DPPH.

La raíz del *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don no ha sido estudiada en lo que concierne a su contenido de polifenoles totales y su efecto en la actividad Antioxidante, el presente trabajo es precursor. Cabe recalcar que el estudio realizado por (Moscoso, Santiana, Vacas-Cruz, Báez, & Sánchez, 2018) indica que se ha utilizado esta planta para tratar trastornos medicinales como temperaturas altas e infecciones bacterianas. La limitada información de esta planta induce a que se comparen los resultados con estudios realizados a su taxonomía.

Por otra parte tenemos que en la falda de la cordillera de los Andes esta planta es utilizada por su sabor, trituran el tallo para poder extraer la sabia y la ingieren directamente o la mezclan con agua para tratar diversas molestias o afecciones en la garganta, también es utilizada en decocción como diurético, es por ello que debe realizarse el estudio de esta planta perteneciente a la familia de las Melastomataceae, familia la cual es ampliamente distribuida por Latino América en ciertas partes de Asia y Europa.

Acerca de los polifenoles, son metabolitos secundarios de algunas especies vegetales, pueden ser divididos en varios subgrupos atendiendo a su estructura básica, desde el punto de vista de su actividad biológica muchos polifenoles tienen propiedades captadoras de radicales libres, por lo que le atribuye actividad antioxidante, que puede estar enlazada con la prevención de enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer. Particularmente los polifenoles tienen el poder de proteger las células contra el daño oxidativo y por lo tanto disminuir el riesgo de varias enfermedades degenerativas que se encuentran asociadas al estrés oxidativo provocado por los radicales libres, el

estrés oxidativo se define como el desequilibrio entre especies oxidantes y reductoras a nivel celular

Particularmente los alimentos de origen vegetal contienen antioxidantes, unos en menor y unos en mayor concentración, la planta en estudio *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don no es la excepción debido al uso ancestral que ha tenido, se ha permitido su evaluación en diversas afectaciones como hipertermia o infecciones bacterianas. Sin embargo, la escasa información química y farmacognosia de este género evidencia la necesidad de complementar los estudios de su composición química determinando su contenido de polifenoles totales y su actividad antioxidante

En cuanto a la recolección de la muestra la raíz de *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. se realizó al pie de una de las montañas que se encuentran en el área limítrofe entre cantón Balao y cantón Ponce Enríquez cerca del rio balao, se certificó la planta en el Herbario Guay de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil, posteriormente fueron preparados los extractos acuosos y etanólico y se determinó polifenoles totales por el método de Folin Ciocalteu y la actividad Antioxidante por DPPH, por último se determinó los metabolitos presentes en nuestra muestra mediante en tamizaje fitoquímico.

I.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El estilo de vida actual puede suscitar inadecuados hábitos alimenticios, ingiriendo alimentos con baja calidad nutricional, lastimosamente en las dietas se incluye comida rápida con un alto contenido de grasa, alimentos chatarra, enlatados que poseen conservadores. Esto ha ocasionado graves problemas de salud en la sociedad como son la desnutrición y obesidad, así como el incremento de enfermedades crónicas degenerativas como consecuencias del estrés oxidativo (Delgado Olivares, Betanzos Cabrera, & Sumaya Martínez, 2010).

En este sentido la Organización Mundial de la Salud (OMS) indica que la dieta es un factor principal de riesgo de enfermedades crónicas como las cardiovasculares, el cáncer y diabetes, por ende, una mala alimentación es una causa primordial a escala mundial de estas afecciones (OMS, 2019). Las Enfermedades No Transmisibles (ENT) como cardiopatía isquémica, obesidad, infarto agudo de miocardio, envejecimiento prematuro, son la manifestación de un proceso que comienza con un exceso de radicales libres, la cual inicia con un evento aterosclerótico cuando un radical libre sustrae en el lumen un electrón a la grasa poliinsaturada del colesterol (Maldonado, Jiménez, Guapillo, Ceballos, & Méndez, 2010).

Por otra parte, el denominado estrés oxidativo provoca un daño celular desencadenado por radicales libres afectando uno o varios componentes primordiales de la célula, oxidándolos y alterando sus funciones, estos se asocian a los organismos patogénicos de diferentes enfermedades (Maldonado, Jiménez, Guapillo, Ceballos, & Méndez, 2010).

En relación a los daños generados por oxidación que conllevan a un envejecimiento prematuro, cataratas, carcinogénesis y arterosclerosis que aumenta en concordancia con

los niveles de antioxidantes en la dieta y con una reducción calórica, resulta beneficioso el consumo de alimentos con antioxidantes sobre todo vegetales, frutas y vitaminas y la protección que pueden proporcionar para prevenir riesgos de padecimientos (OPS, 2012) (Coronado, Vega, León, Vásquez, & Radilla, 2015).

Con respecto al *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don. , cuyo nombre vulgar es churco, es una especie vegetal utilizada para tratar trastornos medicinales como temperaturas altas e infecciones bacterianas (Moscoso, Santiana, Vacas-Cruz, Báez, & Sánchez, 2018). Las personas que la consumen desechan su raíz lo que genera contaminación. Sin embargo, no se logra entender por qué el estudio de su composición química como presencia de polifenoles y actividad antioxidante, es insuficiente si esta planta ha sido utilizada ancestralmente en las faldas de la Cordillera de los Andes.

I.1.1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿De qué manera incide la concentración de los polifenoles totales de los extractos acuoso y etanólico de la raíz de *Arthrostemma ciliatum* Pav? ex D. Don. en la actividad antioxidante?

I.2. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

Los alimentos constituyen una parte importante en el mantenimiento de la salud no solo por que abastecen de metabolitos primarios, minerales y vitaminas indispensables para las funciones del organismo sino que gran parte de los metabolitos secundarios proveen actividad antiinflamatoria lo que favorece a la homeostasis para mantener un equilibrio entre la inflamación y la anti inflamación y así mismo sirve de complemento en el tratamiento de enfermedades inflamatorias y enfermedades no transmisibles (Caballero & Gonzáles, 2016).

Con respecto a un antioxidante dietético, son sustancias que forman parte de los alimentos de la ingesta cotidiana que pueden prevenir los efectos adversos de especies reactivas sobre las funciones fisiológicas normales de los seres humanos. Las propiedades antioxidantes no solo deben estudiarse por sus interacciones químico - biológicos, sino familias de principios activos como los polifenoles y los fitoestrógenos. Los compuestos antioxidantes tienen la capacidad de inhibir o interrumpir las reacciones de oxidación que causan daño a diferentes moléculas. (Delgado Olivares, Betanzos Cabrera, & Sumaya Martínez, 2010).

En cuanto a los polifenoles son los principales antioxidantes de la dieta y su ingesta es 10 veces mayor a la del ácido ascórbico y 100 veces superior a la vitamina E o los

carotenoides. Los polifenoles contenidos en los alimentos son altamente efectivos como defensa antioxidante. Unas de las propiedades beneficiosas más estudiadas de los polifenoles es su capacidad para mejorar el perfil lipídico, de este modo pueden prevenir el desarrollo y aparición de aterosclerosis (Quiñones, Miguel, & Aleixandre, 2012).

Según los registros de los herbarios QCNE (El Herbario Nacional del Ecuador) y QCA (Química Clínica Aplicada) las especies ecuatorianas de las *Melastomatoceae* son utilizadas principalmente para tratar heridas, picaduras de culebras y contusiones. De las 124 especies útiles el 21.8% son alimenticias, especialmente debido a los frutos dulces y tallos agrios usados para calmar la sed, el 25,8% son utilizadas para tablas y construcción, el 47.6 % son medicinales, el 6.4% son utilizadas por shamanes para ayudar a aliviar algunas enfermedades físicas y espirituosas (Freire, Fernández, & Quintana, 2011).

El presente trabajo busca determinar la presencia de Polifenoles para contribuir con el estudio de la actividad antioxidante que posee la raíz del *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don. y así complementar los estudios iniciales realizados a esta planta en Ecuador.

I.3.HIPÓTESIS

- Los polifenoles totales presentes en extractos acuoso y etanólico de la raíz de *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don. Presentan actividad antioxidante.

I.4.OBJETIVOS

I.4.1. OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la concentración de polifenoles totales en los extractos acuoso y etanólico de la raíz de *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don. y su actividad antioxidante.

I.4.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Certificar la planta churco en el Herbario GUAY en la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil.
- Identificar de manera cualitativa los tipos de compuestos presentes en los extractos acuoso y etanólico de la raíz del *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don realizando un Tamizaje Fitoquímico preliminar orientado a compuestos fenólicos.
- Determinar la concentración de polifenoles totales en los extractos y etanólico por el método de Folin-Ciocalteu.
- Evaluar la Actividad antioxidante en los extractos acuosos y etanólico por el método de DPPH.

1.5 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Tabla I. Operacionalización de las variables

VARIABLE	CONCEPTUALIZACIÓN	INSTRUMENTO	UNIDAD DE MEDIDA
POLIFENOLES	Los compuestos fenólicos presentan en su estructura química uno o más anillos de benceno y uno o más grupos hidroxilados con algún elemento común. Se trata de moléculas muy reactivas que se encuentran combinadas con azúcares. (García, Fernández, & Fuentes, 2015)	MÉTODO: FOLIN- CIOCALTEAU	mg/kg
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	La actividad antioxidante es la capacidad de una sustancia de inhibir la degradación oxidativa, de tal forma que un antioxidante procede principalmente gracias a su capacidad de responder hacia los radicales libres. (Londoño, 2012)	MÉTODO DPPH	µg/ml

Fuente: Maritza Guerrero; Katherine Pico 2019

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

II.1. ANTECEDENTES

El objeto de estudio pertenece a la familia de las Melastomataceae, por lo cual investigaciones realizadas por (Ocampo, Valverde, Colmenares, & Isaza, 2014) exponen el contenido de polifenoles totales y la evaluación de la actividad captadora de radicales con DDPH en las especies *Meriania speciosa* y *Meriania nobilis* obteniendo como resultado para los valores totales de fenoles un alto contenido para la especie *M. speciosa* en los extractos metanólico y acuoso de las hojas con valores de 0,47; 016mg Eq AG/g respectivamente y para la especie *M. nobilis* el extracto de fenoles de extracto metanólico fue de 0,40mg Eq AG/kg. Los resultados obtenidos de la Actividad Antioxidante determinan que el extracto metanólico de la especie *M. speciosa* presentó valores de 64,6 mg/L, mientras que para la especie *M. nobilis* en los extractos acuoso-hexano valores de 18,2 y 63,0 mg/L.

Según (Castillo & Vinuesa, 2019) la presencia de polifenoles totales por el método Folin-Ciocalteu realizado en el tallo de la planta *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don. se obtuvo como resultados en el extracto acuoso un 0.65% y en extracto etanólico un 0.163% respectivamente, mientras que la determinación de actividad antioxidante por el método DDPH en el extracto acuoso se observó valores de 1136.50% y en extracto etanólico un 1666.80%, determinando así una mayor actividad antioxidante en el extracto acuoso.

Las aportaciones dadas por (Plaza, 2016) en la determinación del contenido de compuestos fenólicos por el método Folin- Ciocalteu a partir de una solución stock de

ácido gálico a 200mg/L (reactivo analítico) en las hojas y los frutos de las especies *Miconia summa*, *Miconia elaeoides*, *Miconia sp* de la familia de Melastomataceae.

Tabla II. Cuantificación de fenoles totales en los extractos de hojas y frutos de tres especies del género *Miconia*

ESPECIE	ÓRGANO	Concentración de Fenoles mg de AG/g
<i>M. elaeoides</i>	Hojas	852,2 ± 20,1
	Frutos verdes	685,8 ± 15,1
	Frutos maduros	659,4 ± 10,7
<i>M. summa</i>	Hojas	614,0 ± 12,5
	Frutos verdes	880,4 ± 25,4
	Frutos maduros	755,5 ± 1,2
<i>Miconia sp</i>	Hojas	908,3 ± 8,4
	Frutos verdes	772,9 ± 18,4
	Frutos maduros	647,7 ± 22,5

Fuente: (Plaza, 2016).

Se observaron altas concentraciones con valores superiores a 600 mg de AG por kilogramo de extracto para todas las especies en estudio, los resultados sugieren un alto porcentaje de los compuestos fenólicos presentes (Plaza, 2016).

Otro de los estudios realizados de la familia Melastomatacea en la especie *Melastoma malabathricum* demostró tener una alta actividad antioxidante empleando el método 2,2 Difenil Picril Hidrazilo a partir de una solución de DDPH que se obtuvo como resultado en las hojas de *Melastoma malabathricum* concentraciones de 200ppm con un valor de porcentaje de inhibición de 99.1 ± 0,5% (Luliana, Purwanti, & Kris, 2016).

(Nunes, 2018) realizó un estudio para la determinación de polifenoles totales aplicando la reacción de Folin-Ciocalteu en la fruta liofilizada (FLLA) *L. australis* donde se presentó un contenido 44.2 mg/g expresado en miligramos de ácido gálico por gramo.

De acuerdo a los resultados obtenidos por (Mencias, 2015) en el Tamizaje Fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de colca (*Miconia pseudocentrophora*) que es un género que forma parte de la familia de las Melastomataceae, se identificó diversos metabolitos como fenoles, flavonoides, alcaloides, compuestos lactónicos, quinonas, esteroides, triterpenos y azúcares reductores respectivamente.

Metabolito	Ensayo	Resultado
Fenoles	Cloruro Férrico	Azul
Flavonoides	Shinoda	Amarillo
Alcaloides	Dragendorff	Precipitado naranja (+++)
Compuestos con agrupamiento lactónico	Baljet	Café precipitado (+++)
Quinonas	Borntrager	Rojo
Triterpenos y/o esteroides	Lieberman – Burchard	Anillo celeste
Triterpenos y/o esteroides	Saponinas	Persistente por 3 min
Azucars reductores	Fehling	Color rojo (+)

Tabla III. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de Colca (*Miconia pseudocentrophora*)

Fuente: (Mencias, 2015)

Por otra parte los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico de la raíz de *Rumex crispus L.* se determinó diversos metabolitos considerando dos patrones identificación e intensidad mediante los ensayos catequinas, bajlet, lieberman-burchard, espuma, cloruro férrico, gelatina, borntrager, shinoda, kedde, rosemhein, dragendorff, mayer, wagner (Soto, Soto, Santos, & Moncayo, 2015).

Tabla IV. Tamizaje Fitoquímico del extracto etanólico de la raíz de *Rumex crispus L.*

Metabolito secundario	Ensayos	Resultado
Catequinas	Catequinas	+
Lactonas	Baljet	+
Triterpenos y esteroides	Lieberman – Burchard	-
Saponinas	Espuma	+++
Compuestos fenólicos	Cloruro Férrico	+++
Taninos	Gelatina	+++
Quinonas	Borntrager	+++
Flavonoides	Shinoda	+
Cardenólidos	Kedde	-
Leucoantocianidinas	Rosemhein	+
Alcaloides	Dragendorff	-
	Mayer	-
	Wagner	-

Fuente: (Soto, Soto, Santos, & Moncayo, 2015).

Intensidad: (+): poca (++) : moderada (+++) : alta.

Identificación: (+): presencia (-): ausencia

Según (Plaza, 2016) los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico preliminar de los extractos etanólicos de las hojas y frutos de tres especies del género *Miconia* donde se observó la variabilidad en cantidades y presencia de diferentes grupos de metabolitos, en el ensayo de flavonoides se determinó una alta presencia en los frutos maduros de *M summa*, bajas cantidades de los frutos verdes y ausencia en los frutos verdes y maduros de *M elaioides* y en las hojas de las tres especies.

Tabla V. Tamizaje fitoquímico preliminar de los extractos etanólicos de tres especies del género *Miconia*

Metabolito	Prueba	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Alcaloides	Dragendorff	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Valser	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mayer	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Wagner	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Terpenos y Esteroides	Salkowski	+	+	+	+	+	-	+	+	-
	Lieberman-	++	++	++	+++	+	+	++	++	+
	Burchard	++	+	+	++	+	+	+	+	+
	VAO									
Fenoles y Taninos	FeCl3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Gelatina-sal	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Flavonoides	Shinoda	+	++	+++	+	-	-	+	+	++
	Leucoantocianidinas	-	-	+++	-	-	-	-	++	+++
	Rosenhein	-	-	+++	-	-	-	-	++	++
Quinonas	Zn/HCl	++	++	-	-	-	+	-	-	-
	Zn/NaOH	++	++	+	+	-	+	+	+	+
	Hidrosulfito	+	+	-	+	-	+	+	+	+
	Rodamina	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cumarinas	Hidroxamato férrico	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Erlich	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Fluorescencia	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Cardiotónicos y Saponinas	Espuma	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Antrona	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Molish	++	++	++	++	++	++	++	++	++

Fuente: (Plaza, 2016)

Convenciones: (-) no reacción, (+) tenue, (++) observable, (+++) abundante

M. summa. 1. Hojas 2. Frutos verdes 3. Frutos maduros

M. elaeoides. 4. Hojas 5. Frutos verdes 6. Frutos maduros

Miconia sp. 7. Hojas 8. Frutos verdes 9. Frutos maduros

II.2. CHURCO O CAÑA AGRIA

El *Antrosthemma ciliatum* es un género de plantas herbáceas que pertenecen a la familia de las Melastomataceae, es originario de América Tropical que cuentan con 4 especies distribuidas a lo largo de México hasta Bolivia, comprende 43 especies descritas de las cuales solo son 6 aceptadas (Montalvo, 2011).

El churco o caña agria es una planta herbácea que florece y fructifica durante todo el año, de 1-2 m erecta a arqueada o ascendente; tallos con los entrenudos cuadrados y semisuculentos, hojas ovadas a ovado-lanceoladas, flores con los lóbulos del cáliz que no alteran con apéndices obtusos, pétalos oblicuamente apiculados en el ápice; estambres ligera a notablemente desiguales, diformos, anteras más grandes de aproximadamente 6 mm, el conectivo prolongado hasta 7 mm, el espolón hasta 5 mm bifurcado (Martínez & Serracín, 2015).

Los frutos de la familia Melastomataceae son consumidos en crudo. Esta familia es abundante en la Sierra, Costa y Amazonía, pero existe un mayor consumo de los frutos silvestres en la región Amazónica. De la planta *Antrosthemma ciliatum* se consume el tallo, hojas, raíz y la flor en crudo (Eynden & Cueva, 2008).

II.2.1. TAXONOMÍA

Tabla VI. Taxonomía del Arthrostemma ciliatum Pav.ex D. Don

Familia	Melastomataceae
Género	<i>Arthrostemma</i>
Especie	<i>Ciliatum</i>
Autor	Pav. ex D. Don
Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
Superdivisión	Agnoliophyta
Clase	MagnoliopsidaDicotyledons
Subclase	Rosidae
Orden	Myrtales
Nombre Común	Churco, Caña Agria, Caña de Cristo, Churunch, No me toques.

Fuente: (Montalvo, 2011)

II.2.2. CARÁCTERES BOTÁNICOS

Planta herbácea perenne con ramas suculentas, quebradizas de 2 a 4 mm de grosor, hojas con peciolo glabros, el tallo mide hasta 1 metro de altura y tiene forma cuadrangular, sus hojas son suculentas de forma ovalada. Base subcordada y por sus nervaduras es pentanervada. Presenta flores con pétalos de 2.5 cm de largo, rosado oscuro, rojo encendido, los estambres subisomórficos a notablemente dimórficos. Las flores largas son bastante atractivas, en el Salvador la llaman comúnmente "Jazmín montés", en Guatemala es la nombran nitro debido a que su savia tiene sabor ácido (Montalvo, 2011).

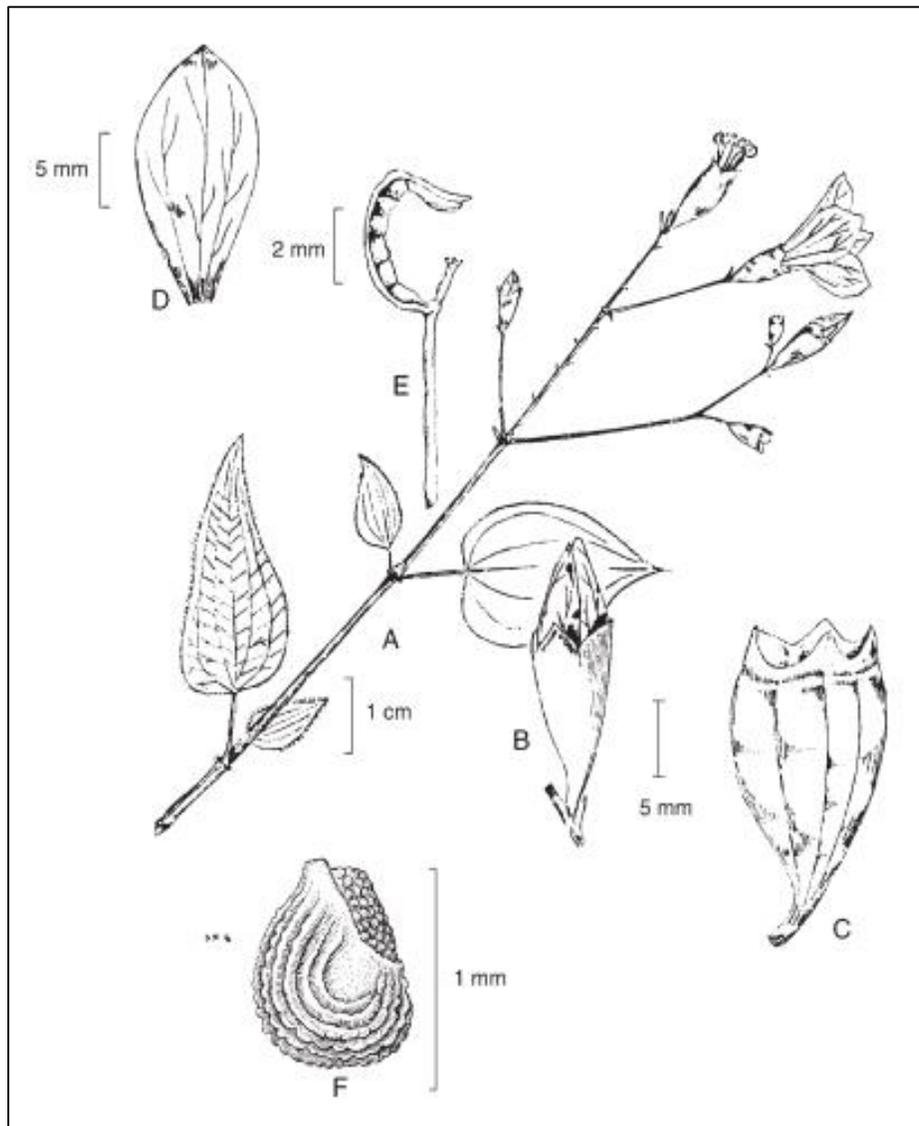


Ilustración 1. *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don. A. rama; B. botón; C. hipantio fructífero; D, pétalo; E. estambre; F. semilla

Fuente: (Martínez, 2012)

Tabla VII. Descripción botánica y morfológica de *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don.

CARÁCTER	DESCRIPCIÓN
Hábito	Hierba erecta, arqueada o escandente, de 1-2(-3) m.
Hojas	Hojas de 2.5-9.5 x 1.5-5 cm, ovadas a ovado-lanceoladas, 5-7-nervadas.
Flores	Hipanto de ca. 7 mm, obcónico; pétalos de 20-30 mm, rosados.
Frutos	Frutos no observados en LS.
Diagnóstico	Hierbas endebles, erectas o incluso escandentes; los tallos cuadrados, suculentos; hojas 7-nervadas, glandular-setosas por el envés; inflorescencias terminales, dicasios; flores 4-meras, los estambres con los poros ventralmente inclinados (los conectivos con apéndices ventrales); frutos capsulares, con las semillas acostillado-tuberculadas.
Hábitat	Bosque húmedo, muy húmedo y pluvial.
Fenología	Flores observadas todo el año. Frutos observados de Mayo a Noviembre.

Fuente: (Castro, González, Luna, & Vargas, 2014)

II.2.3. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

II.2.4. ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Crece en la maleza o en bosques mixtos, frecuentes en bosques de pino con maleza de crecimiento secundario a una altura de 1500 metros sobre el nivel del mar o menos. Es originaria de las ciudades de Alta Verapaz, Izabal, Jutiapa; Santa Rosa, Quetzaltenango, San Marcos, Huehuetenango, Zacapa. También se ha descrito en Belice y Panamá (Montalvo, 2011).

La familia Melastomataceae consta de aproximadamente 4500 especies distribuidas en los trópicos y subtropical, principalmente en América del Sur se han registrado 43 géneros y 553 especies de los cuales 24 géneros y 124 especies repostan algún uso para el ser humano. Según los registros del Herbario Nacional del Ecuador QCNE y el Herbario de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador QCA y la literatura, las especies de Melastomataceae ecuatorianas son utilizadas para tratar heridas, picaduras de culebras y para construcciones (Fierro, Fernández, & Quintana, 2002).

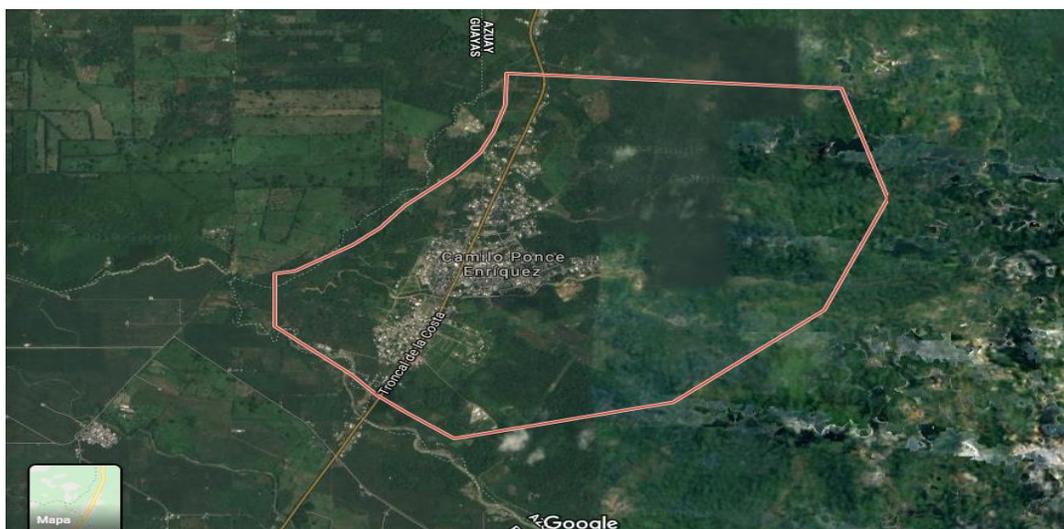


Ilustración 2. Ubicación geográfica Cantón Camilo Ponce Enríquez provincia de Azuay-Ecuador

Fuente: Google Maps

II.2.5. USOS

En Chiapas sus hojas se describen como comestibles, los tallos y las hojas se mastican también para estimular la secreción de la saliva y para mitigar la sed, posee un sabor ácido. En ciertos lugares de Centroamérica la decocción de esta planta se la usa como diurético, depurativo y a manera de refresco, en otros países se la considera para bajar la temperatura. En Honduras esta planta machacada se la utiliza como descongestionante, se la considera fría en la clasificación etnofarmacología, y en ciertos casos se la considera como una planta ornamental. En el Ecuador esta planta se la utiliza al igual que en Chiapas para mitigar la sed, estimular la secreción de saliva, se ha llegado a describir a esta planta como antibacteriana y antifúngica, sin embargo el uso de su raíz aún está en estudio (Rojas & Vibrans, 2011).

II.3. POLIFENOLES

II.3.1. Definición

Los polifenoles pueden ser divididos en varios subgrupos atendiendo a su estructura básica, desde su punto de vista de su actividad biológica muchos polifenoles tienen propiedades captadoras de radicales libres, por lo que le confiere actividad antioxidante, que podría estar enlazada con la prevención de enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer (Barberán, 2010)

Particularmente los polifenoles tienen el poder de proteger las células contra el daño oxidativo y por lo tanto disminuir el riesgo de varias enfermedades degenerativas que se encuentran asociadas al estrés oxidativo provocado por los radicales libres, el estrés oxidativo se define como el desequilibrio entre especies oxidantes y reductoras a nivel celular (Gutiérrez, Ortiz, & Mendoza, 2008).

Los compuestos fenólicos presentan en su estructura química uno o más anillos de benceno y uno o más grupos hidroxilados con algún elemento común, como los grupos

II.3.3. Clasificación según su Estructura

Los compuestos fenólicos son un grupo cercano a 8.000 sustancias que pueden ser clasificados de acuerdo a su estructura. Entre los más destacados se encuentran los flavonoides disponiendo de una estructura básica de C₆-C₃-C₆, como son las antocianinas, catequinas, entre otras (Zapata, Piedrahita, & Rojano, 2014).

II.3.4. Clasificación de los polifenoles

Tabla VIII. Clasificación de los polifenoles y ejemplos de ellos

Estructura Química	Tipo	Ejemplo de Polifenol
C_6	Fenol simple	Eugenol
$C_6 C_1$	Ácido fenólico Ácido benzoico	Ácido gálico Ácido elágico
$(C_6 C_1)n$	Taninos hidrozilados	
$C_6 C_2$	Ácido fenal acético	
$C_6 C_3$	Ácido hidroxicinámico Cumarinas	Ácido cafeico Ácido ferúlico
$(C_6 C_3)2$	Lignanós	
$C_6 C_1 C_6$	Benzofenonas Xantonas	
$C_6 C_2 C_6$	Estilbenos	Resveratrol
$C_6 C_3 C_6$	Flavonoides Chalconas	Antocianinas Flavonoides Flavonas Isoflavonas Flavonoles
$(C_6 C_3 C_6)n$	Proantocianinas (taninos $4 \leq n \leq 11$)	

Fuente: (García, Fernández, & Fuentes, 2015).

II.4. MÉTODOS PARA DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES.

II.4.1. Método Folin Ciocalteu

El ensayo Folin-Ciocalteu se utiliza como medida del contenido de compuestos fenólicos en productos vegetales. Se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu a un pH básico dando lugar a una coloración azul al ser determinada mediante espectrofotometría a 765nm, este reactivo contiene una mezcla de wolframio sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos que se encuentran presentes en la muestra, el ácido fosfomolibdotúngstico de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la que se mide para evaluar el contenido de fenoles, se trata de un método preciso y sensible que puede tener algunas variaciones en lo relativo a los volúmenes utilizados en la muestra a analizar, concentración de reactivos y tiempo de reacción (García, Fernández, & Fuentes, 2015).

El patrón recomendado es el ácido gálico, este ensayo de análisis de polifenoles totales se suele utilizar con frecuencia en el estudio de las propiedades antioxidantes de alimentos vegetales como zumo de frutas al tratarse de un parámetro que muestra una estrecha correlación con los diferentes métodos de medición de actividad antioxidante (García, Fernández, & Fuentes, 2015).

II.5. RADICALES LIBRES

Los radicales libres han revolucionado la química estableciéndose como los manipuladores de la misma, en vista de que son átomos o grupos de átomos que poseen un electrón desapareado por lo que se tornan muy reactivos, debido a que se inclinan a captar un electrón de otros átomos con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica (Ocampo, Valverde, Colmenares, & Isaza, 2014).

Por lo tanto, si la molécula logra captar un electrón de otra molécula, esta a su vez quedará inestable y se convertirá en un radical libre también, de esta forma se realiza una reacción en cadena ocasionando daño a macromoléculas y al ADN celular (Jeton, 2014).

Estas reacciones se producen a menudo en nuestro organismo, generando un desbalance entre oxidantes y antioxidantes, siendo necesario una dieta rica en antioxidantes, la cual ayude a regular el desbalance y así brindar al organismo una adecuada protección antioxidante (Jeton, 2014).

II.5.1. Biomecanismos de formación de radicales libres

Los radicales libres se producen generalmente en la célula a través de reacciones de transferencia de electrones con o sin participación enzimática, pero mediada por iones metálicos de transición, tal es el caso del radical *OH que es generado siempre que el H_2O_2 entra en contacto con iones cobre (Cu^{+2}) o iones hierro (Fe^{+2}); ya que el H_2O_2 y los complejos metálicos están presentes en los humanos, es lógico asumir que el *OH puede ser formado in vivo (Maldonado, Jiménez, Bernabé, Ceballos, & Méndez, 2010).

Los mecanismos de formación de los radicales libres son:

1. Tránsito electrónico, en la que produce la cesión de un electrón a la molécula.
2. Pérdida de un protón de una molécula.
3. Ruptura homolítica de un enlace covalente de cualquier molécula de manera que cada fragmento obtenido conserva uno de los electrones apareados del enlace.

II.6. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

La actividad antioxidante es la capacidad de una sustancia para inhibir la degradación oxidativa, de tal forma que un antioxidante procede principalmente gracias a su capacidad de responder hacia los radicales libres por lo cual recibe el nombre de antioxidante terminador de cadena (Londoño, 2012).

En cuanto a el estrés oxidativo se produce cuando la defensa de un antioxidante no es del todo eficiente ocasionando el incremento de la formación de radicales libres en el organismo, que puede ser detectado en la célula a través de la medición de los productos de las reacciones oxidativas que poseen los radicales, con las macromoléculas (peroxidación lipídica, oxidación de ADN, oxidación de proteínas, etc.), es por ello que se dice que existe un daño oxidativo cuando el exceso de radicales libres ocasiona daño celular. Ante el estrés oxidativo el organismo debe reaccionar con una defensa antioxidante extra para evitar la muerte de la célula, por tanto una terapia antioxidante genera una alternativa como tratamiento contra las diversas enfermedades que provoca el estrés oxidativo debido a que se han realizado estudios manifestando el efecto antioxidante que proviene de plantas (Maldonado, Jiménez, Bernabé, Ceballos, & Méndez, 2010) (Gutierrez, y otros, 2014).

La teoría del envejecimiento señala a la programación genética como una respuesta predeterminada de cada organismo, por otra parte está un proceso no genético que abarca a los radicales libres y al estrés oxidativo. Durante este envejecimiento también disminuye la protección antioxidante y puede haber mayor ataque a las llamadas moléculas blanco, sin embargo ciertas moléculas como carbohidratos, lípidos y proteínas pueden poseer un efecto en particular. Se ha estudiado alrededor de 100 enfermedades y su conexión con el desequilibrio del sistema oxidativo como: cardiovasculares, gástricas, cáncer, gástricas, respiratorias, neurológicas y del sistema endócrino (Coronado, Vega, León, Vásquez, & Radilla, 2015).

II.6.1. Mecanismo de acción de la Actividad Antioxidante

Un electrón desapareado que presenta un radical libre le otorga un alto poder antioxidante o reductor produciendo que reaccionen de inmediato para obtener mayor estabilidad química que se logra por los diversos mecanismos, en el robo de hidrógeno el radical libre interactúa con otra molécula que sirve como un donador de hidrógeno, como resultado el radical libre se une a un átomo de hidrógeno y se hace más estable mientras que la donante del hidrógeno se convierte en un radical libre, en la adición el radical libre se une a molécula más estable, lo que transforma a la molécula receptora en un radical libre, en la terminación dos radicales libres reaccionan entre sí para formar un compuesto más estable y en la desproporción conlleva dos radicales libres idénticos que reaccionan entre ellos mismos, el primero actuando como donador y el otro como receptor de electrones, formándose dos moléculas más estables (Gutierrez, y otros, 2014).

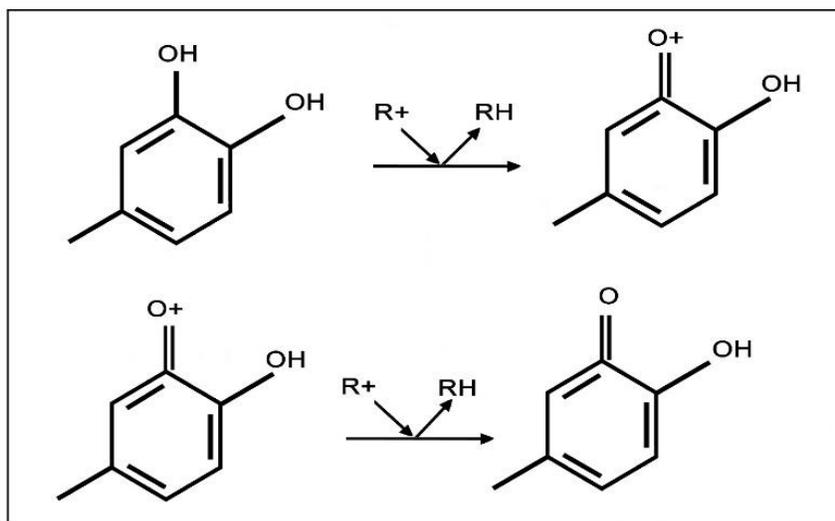


Ilustración 4. Mecanismo Químico de los polifenoles

Fuente: (Quiñones, Miguel, & Aleixandre, 2012)

II.7. MÉTODOS PARA DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Los métodos de medición de la actividad antioxidante muestran extrema diversidad, muchos de los procedimientos emplean una acelerada oxidación involucrando un iniciador para manipular una o más variables en el sistema de prueba. La evaluación de la actividad antioxidante a través de fuentes generadoras de radicales libres; asume que la oxidación es inhibida en un mayor porcentaje por la captura de estos, enfocándose en controlar la capacidad de aditivos y extractos para la captura de radicales o la inhibición de su formación (Villacorta & Perez, 2011).

Siguiendo este principio, los métodos de ensayo más modernos para medir la actividad antioxidante a través de secuestro de radicales libres, son los ensayos de ATBS (ácido 2, 2'azino-bis-(3-etilbenzotiazolona)-6-sulfónico), DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo), son los más conocidos y utilizados por su relativa facilidad de desarrollo (Villacorta & Perez, 2011).

II.7.1. Método DMPD (N, N' - dimetil -p-fenilendiamina)

Se trata de un mecanismo SET donde el radical libre se produce a partir de DMPD (N, N'-dimetil-p-fenilendiamina) que al encontrarse presente a una solución oxidante de cloruro férrico, y a pH ácido se convierte a un radical catiónico coloreado y estable, que expresa una absorbancia a 505nm. Los compuestos antioxidantes son capaz de reaccionar con este compuesto ocasionando un descenso de absorbancia, tras añadir la muestra con antioxidantes a la solución del radical, la absorbancia es monitorizada aproximadamente durante 10 minutos y luego comparada con la del blanco, finalmente los resultados se expresan en equivalentes de Trolox (Jara, 2007).

II.7.2. Método ABTS (azinobis 3-etilbenzotiazolina -6- ácido sulfónico)

Este método se fundamenta en la capacidad de un antioxidante para estabilizar el radical catión coloreado ABTS, el cual previamente fue formado por la oxidación ATBS (ácido 2, 2'azinobis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico) por metamioglobina y peróxido de hidrógeno. Finalmente los resultados son expresados como equivalentes Trolox y TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) (Londoño, 2012).

II.7.3. Método Voltametría Cíclica

Es un procedimiento generado recientemente como una herramienta promisorio para evaluar la actividad antioxidante, mediante esta técnica es posible la evaluación del potencial redox de los compuestos electroactivos mediante un barrido del potencial en un rango previamente establecido. La ventaja de la voltametría de redisolución catódica y preconcentración adsorptiva con diferencial de pulso en medio de ácido oxálico y azul de metileno, a vapores de pH entre 1.5 y 2.2 es de contar con un pico de preconcentración de 30 segundos, lo cual disminuye el tiempo de análisis (Toro, Vigo, & Muedas, 2011).

II.7.4. Método DPPH (2,2 Difenil Picril Hidrazilo)

El método α , α -difenil- β -picrilhidrazilo (DPPH) ofrece el primer enfoque para evaluar el potencial antioxidante de un compuesto, extracto u otras fuentes biológicas, este método es el más simple en el que el compuesto o extracto prospectivo se mezcla con una solución de DDPH y la absorbancia se registra después de un periodo definitivo (Sagar & R.P, 2011).

Este ensayo fue propuesto originalmente por Brand-Williams. El DDPH es uno de los pocos radicales orgánicos estables, el fundamento de esta técnica se basa en la medición de la capacidad antioxidante para estabilizar el radical libre estable 1,1-difenil-2-picril hidrazilo DDPH, esta medición se puede hacer por espectrometría siguiendo el

decaimiento de la absorbancia a 517nm que posee un color violeta intenso que disminuye con presencia de un antioxidante u otro radical, es posible por tanto cuantificar la capacidad captadora de radicales libres que poseen compuestos mediante la determinación de grado de decoloración que produce a una solución metanólica de DDPH (Jeton, 2014).

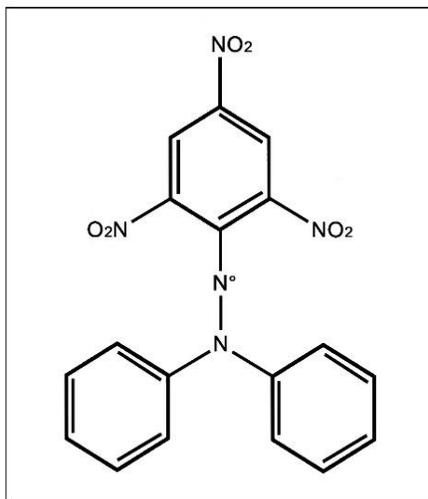


Ilustración 5. Estructura química del radical libre metaestable DPPH

Fuente: (Londoño, 2012)

Por otra parte tenemos al IC50 que se calcula como una reducción del 50% en la absorbancia que se genera por la muestra en comparación con el blanco, es decir la capacidad que tiene la muestra para inhibir el 50% de los radicales libres de la solución DDPH (Jeton, 2014).

Además entre las ventajas de este método están su simplicidad y el bajo requerimiento de instrumentación; sin embargo entre las desventajas están la dificultad de interpretar resultados cuando se tienen sustancias cuyo espectro de absorción se solapa con el del radical (Londoño, 2012).

II.8. TAMIZAJE FITOQUÍMICO

El tamizaje fitoquímico o screening fitoquímico es una de las etapas principales de la investigación fitoquímica la cual permite determinar cualitativamente los principales grupos que se encuentran presentes en una planta, y a partir de allí orientar la extracción o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés (Castillo, Zavala, & Carrillo, 2017).

Así mismo este método consiste en la extracción de la planta con solventes adecuados y la aplicación de reacción de color y precipitación, este debe permitir la evaluación rápida con reacciones sensible, reproducibles y de bajo costo. Los resultados que se obtienen constituyen únicamente para la orientación y debe de interpretarse en conjunto con resultados de tamizaje farmacológico (Castillo, Zavala, & Carrillo, 2017).

Al mismo tiempo el tamizaje fitoquímico permite reconocer metabolitos secundarios presentes en especies vegetales las cuales pueden ser polifenoles y fenoles, quinonas, flavonas y flavonoides, taninos, cumarinas, terpenoides y aceites esenciales, alcaloides, leptinas, lecninas y polipéptidos, glucósidos y saponinas, así como esteroides y xantonas (Castillo, Zavala, & Carrillo, 2017).

II.9. PRINCIPALES ANÁLISIS DE UN TAMIZAJE FITOQUÍMICO

II.9.1. Fundamento Teórico

II.9.2. Ensayo de Fehling

Se basa principalmente en que el grupo carbonilo de los aldehídos el cual se oxida a ácido y se reduce a sal en medio alcalino a óxido de cobre, formando una tonalidad rojo ladrillo por el óxido cuproso (Reyes, 2017).

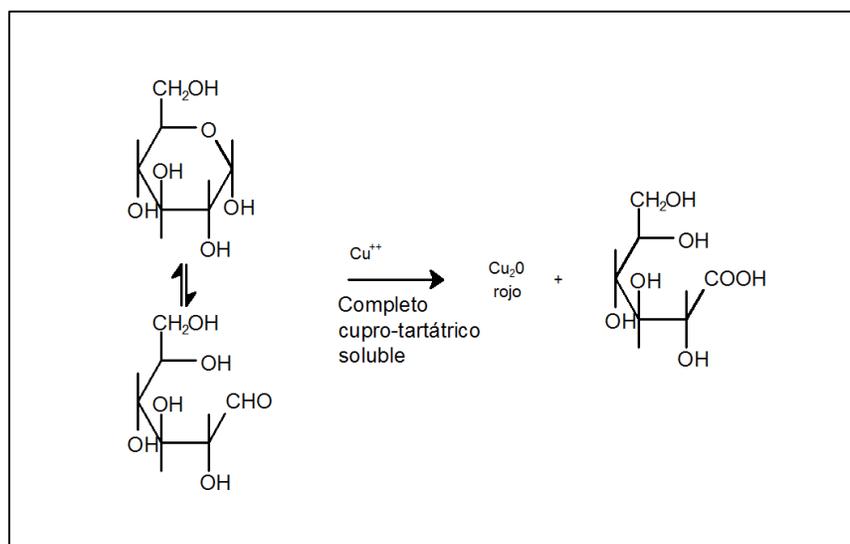


Ilustración 6. Reacción de Fehling

Fuente: (Jaime, 2015)

II.9.3. Ensayo de Baljet

Se basa en la unión del ácido pícrico con las lactonas (α β γ) formando un compuesto al originarse la presencia de cumarinas se torna una coloración rojiza clara u oscura (Reyes, 2017).

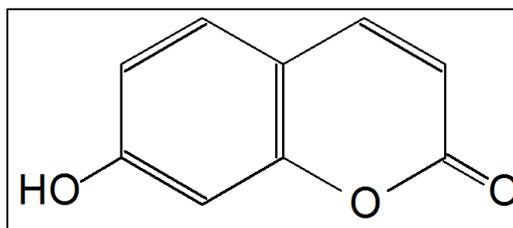


Ilustración 7. Núcleo Químico de Cumarinas

Fuente: (Martinez, 2012)

II.9.4. Ensayo de Cloruro Férrico

La reacción con tricloruro férrico FeCl_3 nos permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos ya que están frente a unas gotas de solución acuosa de cloruro

férrico. Cuando un extracto de la planta se realiza en alcohol, el ensayo va a determinar tanto fenoles como taninos (Gaspar & Jimenéz, 2015).

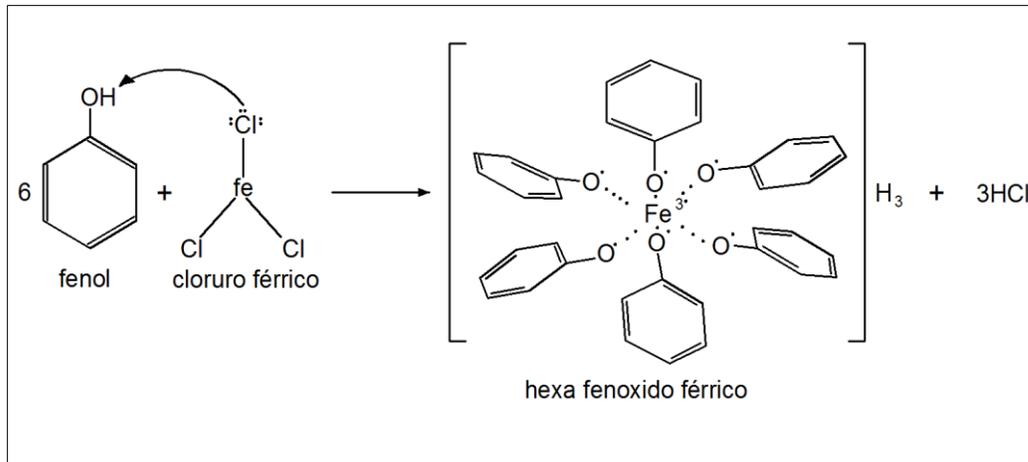


Ilustración 8. Reacción de Cloruro Férrico

Fuente: (Chavez, 2018)

II.9.5. Ensayo de Shinoda

Los flavonoides al ser tratados con Mg y HCl dan complejos coloreados, dando lugar a diferentes coloraciones que dependen de la estructura del flavonoide presente. En la reacción de Shinoda, el Mg metálico es oxidado por el HCl (cc), dando como productos H₂ que es eliminado en forma de gas y MgCl₂ que es el que forma complejos con los flavonoides resultando coloraciones características (Chavez, 2018).

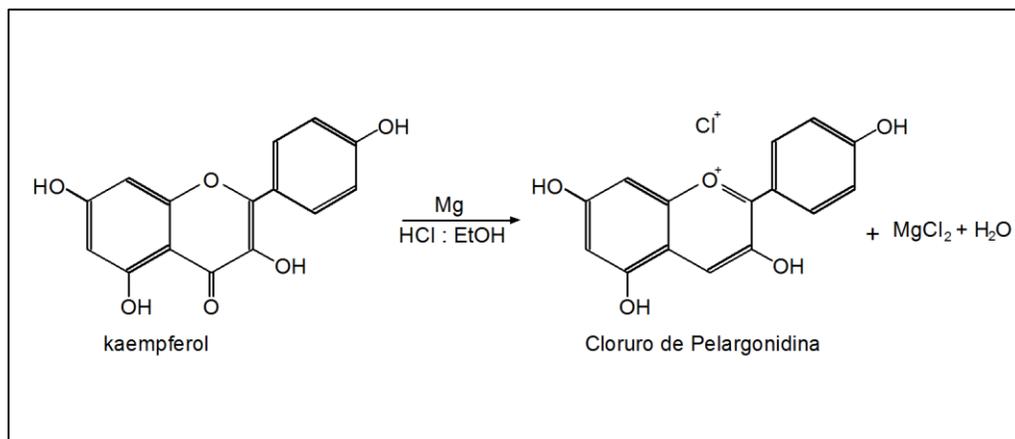


Ilustración 9. Reacción de Shinoda

Fuente: (Chavez, 2018)

II.9.6. Ensayo de Borntrager

Es un ensayo colorimétrico en el que se mezcla un reactivo alcalino con una solución de hidróxido al extracto y se basa principalmente en la coloración que resulta de los antraquinónicos en un medio alcalino (Reyes, 2017).

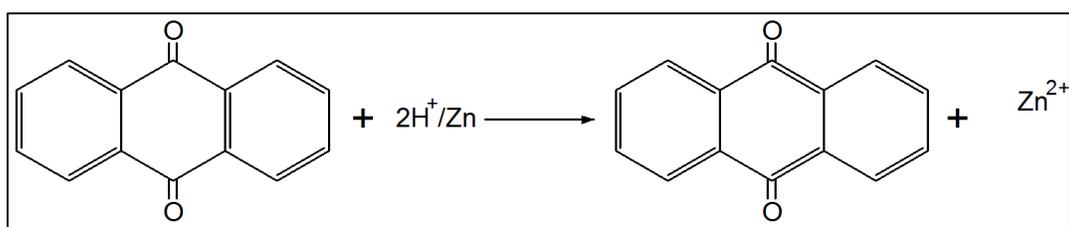


Ilustración 10. Reacción de la prueba de Borntrager

Fuente: (Ochoa & Sarmiento, 2018)

II.9.7. Ensayo de Lieberman – Buchard

Es aquel que permite reconocer en los extractos la presencia de triterpenos y/o esteroides, por ambos tipos de productos poseen un grupo del androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5 – 6²⁶ (Gaspar & Jimenéz, 2015).

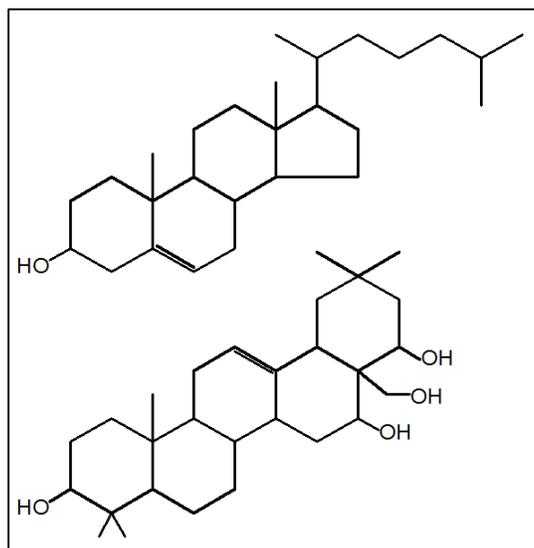


Ilustración 11. Núcleo Químico de Esteroides y/o Triterpenoides

Fuente: (Martinez, 2012)

II.9.8. Ensayo de Mucílagos

Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de una estructura tipo polisacárido, que forma un coloide hidrófilo de alto índice de masa que aumenta la densidad del agua donde se extrae (Pérez, 2014).

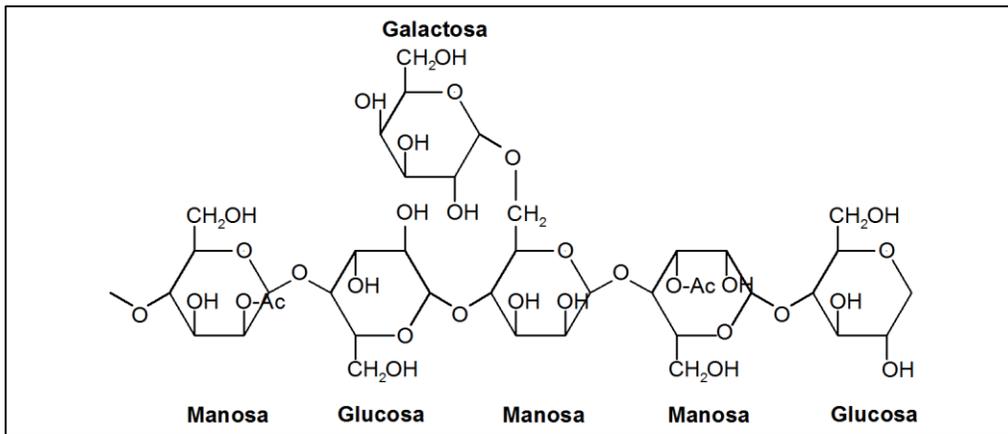


Ilustración 12. Estructura de los mucílagos

Fuente: (Serván, 2012)

II.9.9. Ensayo de Cumarinas

Se basa en la unión del ácido pícrico con las lactonas (α β y γ) formando un complejo al darse la presencia de cumarinas se torna una coloración rojiza, clara u oscura (Reyes, 2017).

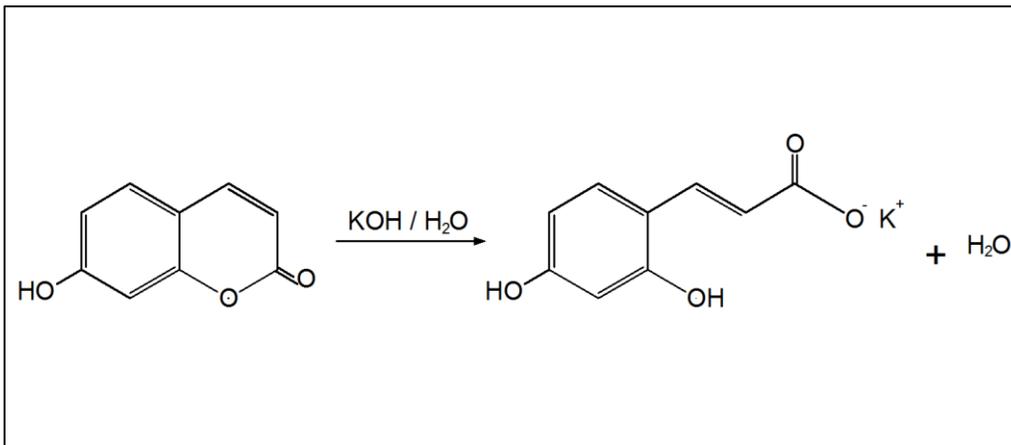


Ilustración 13. Reacción de Cumarinas

Fuente: (Ochoa L. , 2018)

II.9.10. Ensayo de Resinas

Permite identificar tipos de compuestos de resinas y se considera positivo cuando aparece un precipitado (Pereira, Vega, & Almeida, 2010).

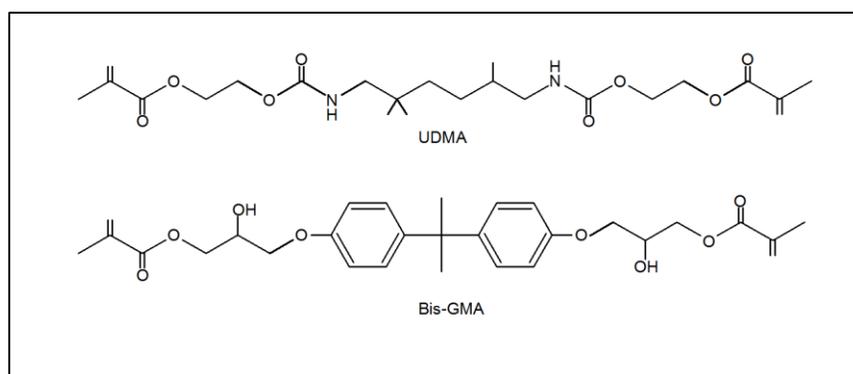


Ilustración 14. Estructura Química de los compuestos de la matriz de resina

Fuente: (Martinez, 2012)

II.9.11. Ensayo de Vapores de Amoniac

La rutina de un flavonoide que tiene mejor solubilidad en medio alcohólico, se determina mediante el ensayo de vapores de amoniac que se caracteriza por dar positiva con una variación de color amarillo ocre que depende del tipo de estructura (Palacios, 2014).

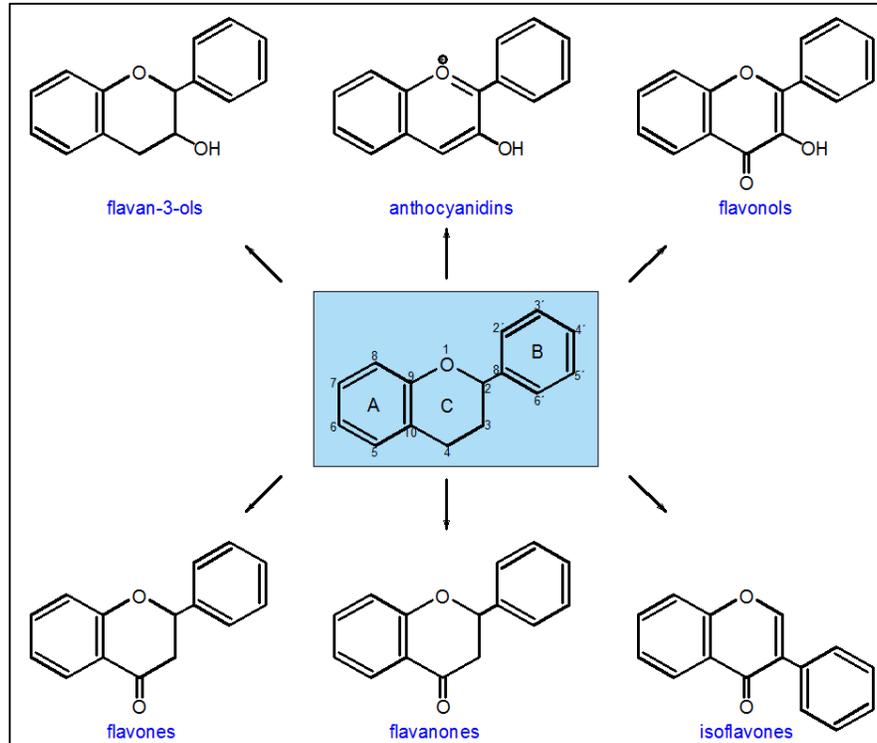


Ilustración 15. Familia de Flavonoides

Fuente: (Robert, 2018)

II.9.12. Ensayo de Salkowski

La Reacción de Salkowski se realiza para determinar saponinas triterpénicas que pertenecen al grupo de las geninas, están constituidas por tres terpenos y saponinas esteroidales que poseen una estructura compleja con un esqueleto con 27 átomos de carbono, formado por seis anillos: Anillo E (furano) y F (pirano) (Burga & Perey, 2018).

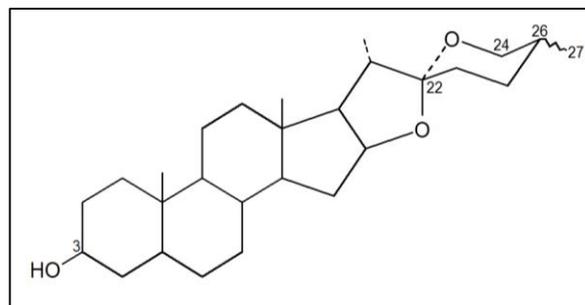


Ilustración 16. Estructura de Saponina alcaloidea

Fuente: (Burga & Perey, 2018)

II.9.12. Ensayo de Espuma

Esta prueba se realiza para determinar las saponinas presentes en los extractos a través de la formación de una espuma constante durante 15 minutos o más (Durango, 2014).

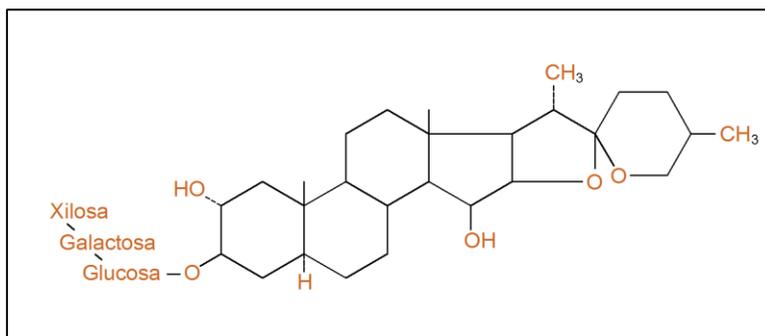


Ilustración 17. Estructura de Saponina Digonina

Fuente: (Zuñiga & Rebolledo, 2015)

II.9.13. Ensayo de Formaldehído

La reacción de formaldehído permite reconocer los taninos pirogálicos en las mismas condiciones dan compuestos parcialmente solubles, si precipita totalmente el tanino pertenece a la clase de catéuica (Colina, 2016).

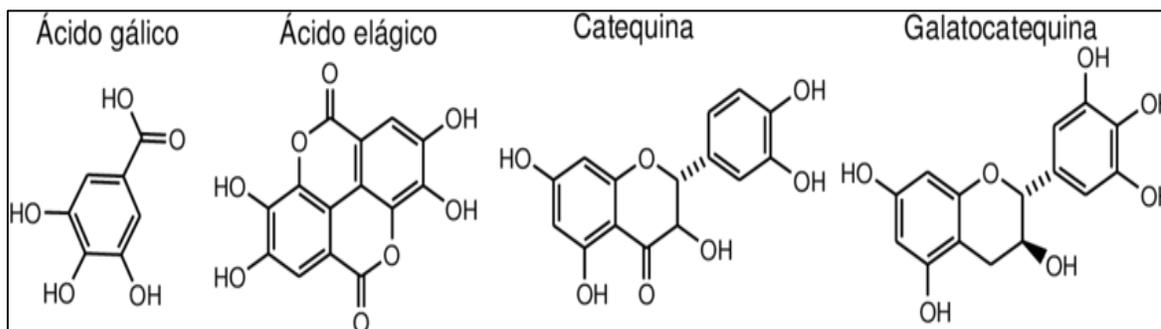


Ilustración 18. Unidades monómericas de taninos condensados (catequina y galocatequina) y taninos hidrolizables (ácido gálico y elágico).

Fuente: (Rodríguez, 2017)

II.9.14. Ensayo de Dragendorff

Este reactivo contiene yoduro de bismuto potasio, donde reacciona $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ con el ácido (HCl) y con yoduro de potasio, formando complejos de color naranja (Ochoa L. , 2018).

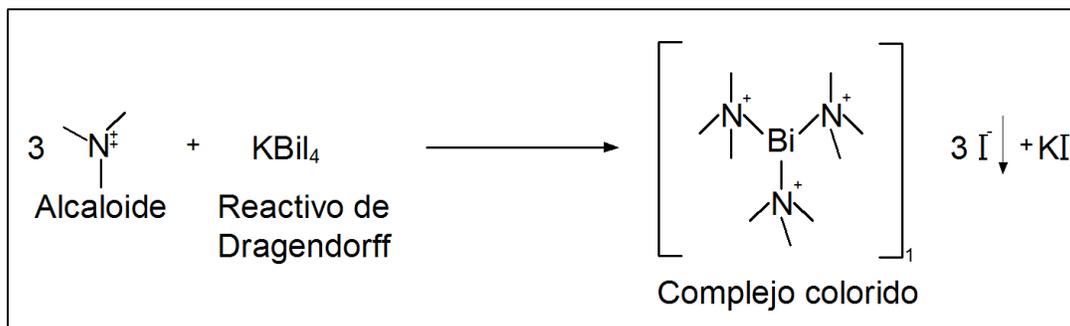


Ilustración 19. Reacción de Dragendorff

Fuente: (Ochoa L. , 2018)

II.9.15. Ensayo de Mayer

Este reactivo precipita la mayoría de los alcaloides en medio ácido favoreciendo la formación de precipitados cristalinos de color blanco, cuando el yoduro de potasio reacciona con el cloruro de mercurio forma un precipitado rojo de yoduro de mercurio, el cual es soluble en exceso de iones de yoduro dando la formación de un anión complejo incoloro (Ochoa L. , 2018).

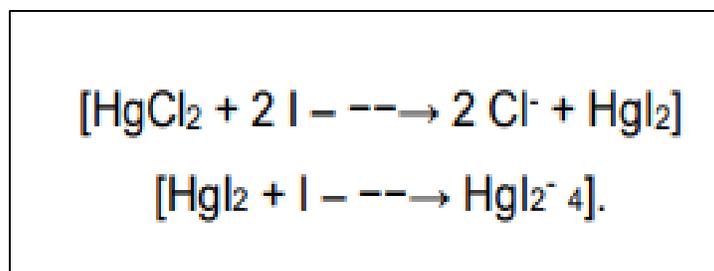


Ilustración 20. Reactivo de Mayer

Fuente: (Ochoa L. , 2018)

II.9.16. Ensayo de Wagner

La identificación de alcaloides se realiza mediante reacciones de coloración y precipitación. Las reacciones de precipitación se basan en un intercambio; que normalmente el anión voluminoso del reactivo en acción reemplaza a los aniones pequeños de las sales de alcaloides (Vidaurre, Querevalú, Ríos, & Ruiz, 2007).

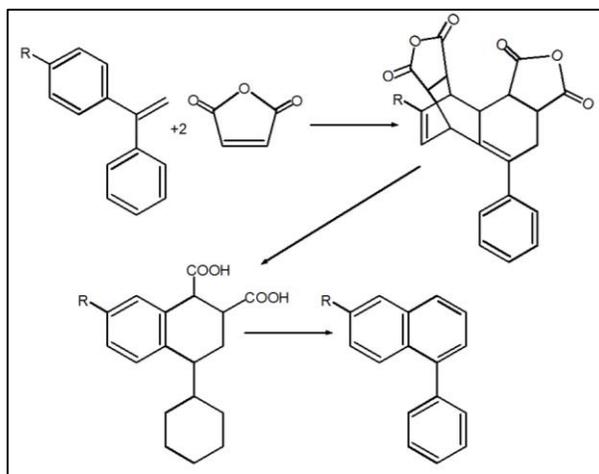


Ilustración 21. Reacción de Wagner
Fuente: (Martinez, 2012)

II.9.17. Ensayo de Leucoantocianinas

La reacción de identificación para estos metabolitos secundarios se realiza mediante el ensayo de antocianidinas ya que se fundamenta en el reconocimiento la presencia de estructuras de secuencia C6:C3:C6 de los anillos de la molécula y su conjugación (Tello, 2015).

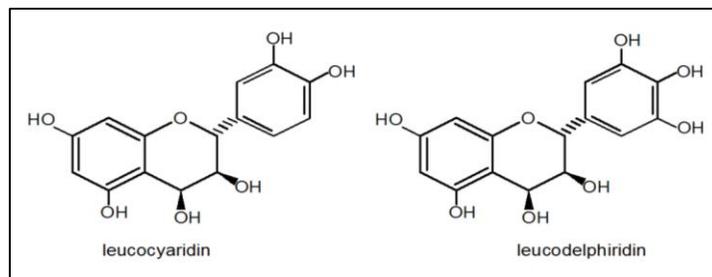


Ilustración 22. Estructuras de Leucoantocianinas

Fuente: (Peñarreta, 2014)

II.9.19. Test de Zinc

Es una prueba que permite reconocer flavonoides en muestras vegetales, que se caracteriza por la formación de un color rojo por unos minutos, los dihidroflavonoides reaccionan para formar colores que van de rojo púrpura a rojo cereza, mientras si presenta flavononas que están generalmente glicosiladas por un disacárido en la posición 7, dihidrochalconas y otros flavonoides se forman color rosa o café (Rodríguez, 2017).

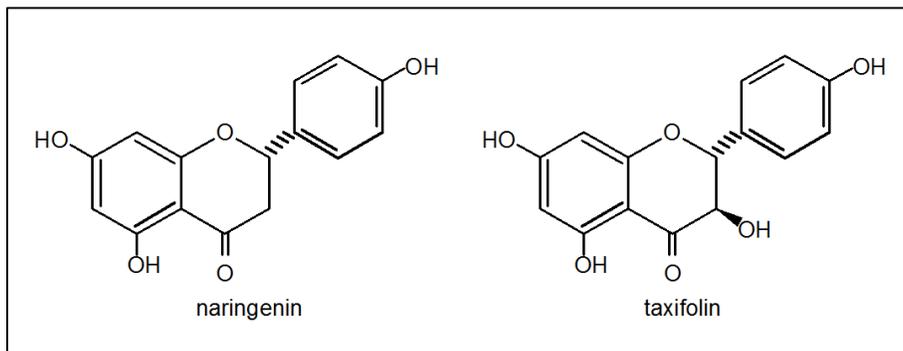


Ilustración 24. Estructura de Flavononas y flavonoles

Fuente: (Peñarreta, 2014)

CAPITULO III: MATERIALES Y METÓDOS

III.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

El presente trabajo es de tipo explicativo con un enfoque cualitativo y cuantitativo.

III.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

El presente trabajo consta de las siguientes etapas:

1. Certificar la planta *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don.
2. Preparación de extractos Acuoso y Etanólico.
3. Tamizaje fitoquímico preliminar orientado a compuestos fenólicos.
4. Determinar Polifenoles Totales por el método de Folin-Ciocalteu.
5. Determinar Actividad Antioxidante por el método de DPPH.

III.3. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

III.3.1. Equipos

- Balanza analítica (SHIMADZU)
- Centrifuga (Z-127 Giumelli)
- Baño María (WBN 10 Memmert)
- Estufa de secado (VWR Scientific 1350 GM)
- Espectrofotómetro Ultravioleta visible (SpectronicTM GENESYSTM)

III.3.2. Material vegetal

La Raíz de la planta *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don, se recolectó en el cantón Camilo Ponce Enríquez provincia de Azuay-Ecuador. Se obtuvo un peso promedio de la planta de 104.7g y su raíz de 10g, lo cual representa un 9.55% de su peso total.

III.3.3. Materiales

- Tubos de ensayo
- Agitador de tubos
- Gradilla
- Probeta
- Pipetas
- Auxiliar de pipeta
- Papel filtro
- Embudo
- Cinta de magnesio metálico
- Mascarillas
- Guantes

III.3.4. Reactivos

- Reactivo de Folin-Ciocalteu
- Solución de DDPH
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Meyer
- Reactivo de Wagner
- Reactivo de Baljet
- Reactivo de Borntrager
- Reactivo de Fehling A
- Reactivo de Fehling B
- HCl 1%
- Cloruro de Sodio
- Cloroformo
- Hidróxido de Sodio 5%
- Hidróxido de Sodio 10%
- Anhídrido Acético

- Ácido sulfúrico concentrado
- Polvo de Zinc
- Etanol
- Cloruro Férrico 5%
- Acetato de Sodio
- Alcohol Amílico
- Formaldehido

III.4. RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

Se recolectaron varias plantas de *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don. para obtener una muestra representativa, la muestra fue recolectada de manera silvestre y se trabajó con las raíces durante los meses de octubre a diciembre del 2019.

Cantón y Provincia: Camilo Ponce Enríquez provincia de Azuay.

Localización de las coordenadas: 3°03'00S 97°44'00"O ubicado en el flanco occidental de la Cordillera de Mollepongo.



Ilustración 25. *Arthrostemma ciliatum* Pav.ex D. Don



Ilustración 26. Sitio de recolección

III.5. CRITERIO DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

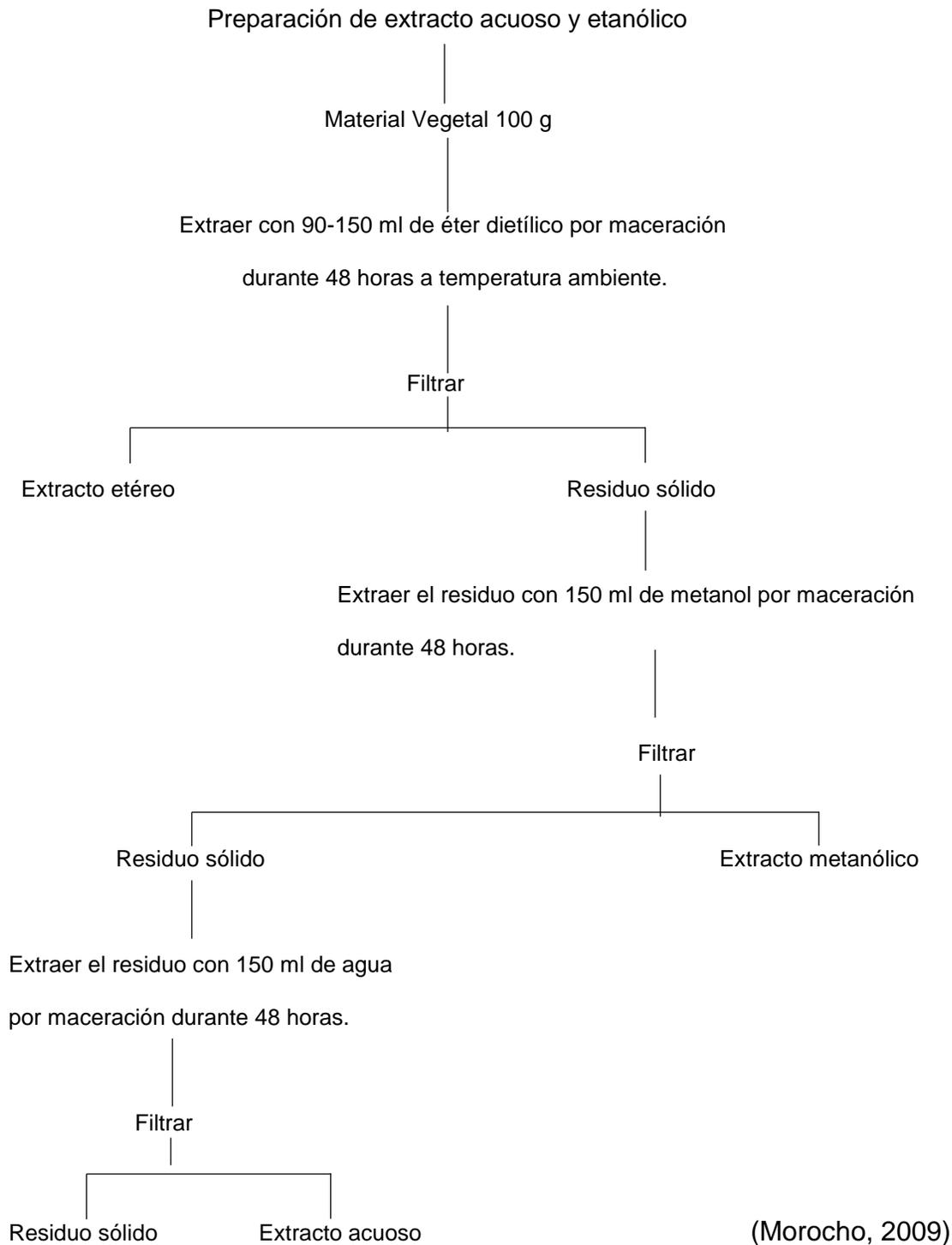
- Raíz fresca de planta adulta sin daño alguno.
- Serán descartadas las raíces con parásitos, sin cutícula de planta prematura con malezas.



Ilustración 27. Raíz de la planta *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don.

III.6. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

III.6.1 PREPARACIÓN DE EXTRACTOS ACUOSO Y ETANÓLICO



III.6.2 TAMIZAJE FITOQUÍMICO PRELIMINAR ORIENTADO A COMPUESTOS FENÓLICOS.

III.6.2.1 Ensayo de Fehling

Permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1-2 ml de agua. Se adicionan 2 ml del reactivo y se calienta en baño de agua 5-10 minutos la mezcla. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo. El reactivo se prepara de la siguiente forma:

Solución A: Se pesa 35g de Sulfato Cúprico hidratado cristalizado y se disuelve con agua hasta un volumen total de 1000 ml.

Solución B: Se pesa 150g de Tartrato de Sodio y Potasio y 40g de Hidróxido de Sodio y se disuelve con agua hasta un volumen total de 1000 ml.

Las soluciones se tienen preparadas de forma independiente y se mezcla igual cantidad de volumen de cada una de ellas justo en el momento de realizar el ensayo. Dicha mezcla es la que se adiciona a evaluar (Morocho, 2009).

III.6.2.2 Ensayo de Baljet

Es útil para reconocer la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en partículas cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos puedan dar resultados positivos. Si la alícuota de la muestra a probar no esté en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en 1 ml de alcohol. Seguidamente se añade 1 ml del reactivo. La prueba es positiva, cuando aparece una coloración o precipitado de color rojo (++ y +++) respectivamente (Morocho, 2009).

III.6.2.3 Ensayo de Cloruro Férrico

Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. A un alícuota del extracto alcohólico se le adicionan 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica (Morocho, 2009).

Un ensayo positivo puede dar la siguiente información general:

- Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.
- Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.
- Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos.

III.6.2.4 Ensayo de Shinoda

Permite reconocer la presencia de Flavonoides. Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 ml de Ácido Clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de Magnesio Metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 ml de alcohol amílico, se mezcla las fases y se dejan reposar hasta que separen. Si la alícuota del extracto se encuentra en agua, se procede de igual forma, a partir de la adición del Ácido Clorhídrico concentrado. El ensayo se considera positivo cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intenso en todos los casos (Morocho, 2009).

III.6.2.5 Ensayo de Borntrager

Es útil para detectar la presencia quinonas. Si la alícuota no está en cloroformo debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1ml de cloroformo. Se adiciona 1 ml de hidróxido de Sodio, hidróxido de Potasio o Amonio al 5%, Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su posterior separación. El ensayo es positivo cuando la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado, en este caso se reporta (++) o rojo, para cual se reporta (+++) (Morocho, 2009).

III.6.2.6 Ensayo de Lieberman - Buchard

Permite reconocer la presencia de triterpenos y/o esteroides, en ambos tipos debe poseer un núcleo del androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6. Para ello, si la alícuota no se encuentra en cloroformo debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 ml de cloroformo. Se adiciona 1 ml de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayo se dejan resbalar 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración.

- Rosado-azul muy rápido
- Verde intenso-visible aunque rápido
- Verde oscuro-negro-final de la reacción

El tercer cambio generalmente ocurre cuando el material evaluado tiene cantidades importantes de estos compuestos. Para realizar este ensayo no puede haber agua en el medio de reacción pues está con el ácido sulfúrico reacciona de forma violenta y puede ocurrir un accidente (Morocho, 2009).

III.6.2.7 Ensayo de Mucílagos

Es aquel ensayo que reconoce en los extractos de vegetales la presencia de esta estructura tipo polisacárido, que forma un coloide hidrófilo de alto índice de masa que aumenta la densidad del agua donde se extrae. Para ello una alícuota del extracto en agua se enfría a 0-5°C, si la solución toma una consistencia gelatinosa el ensayo es positivo (Morocho, 2009).

III.6.2.8. Ensayo de Cumarinas

Las cumarinas subliminales se detectan calentando los extractos acuosos en un tubo de ensayo tapado con papel filtro, impregnado en una solución alcalina. Las cumarinas se recogen en el papel. Si el papel exhibe puntos fluorescentes bajo luz UV, la prueba es positiva. (Guerrero, 2014).

III.6.2.9 Ensayo de Resinas

Para detectar este tipo de compuestos; se adiciona 2ml de la solución alcohólica, 10 ml de agua destilada. La aparición de una mancha verde carmelita a la luz UV indica un ensayo positivo. (Guerrero, 2014)

III.6.2.10 Ensayo con Vapores de Amoniac

Una porción de residuo etanólico se diluye con más etanol. Una tira de papel filtro se impregna con el extracto diluido y se deja secar a temperatura ambiente; posteriormente, se someterá a la acción de vapores de amoniac. El desarrollo de una coloración amarilla ocre se considera positiva. (Guerrero, 2014)

III.6.2.11. Ensayo de Salkowski

Permite reconocer saponinas triterpenoides o esteroides, a 2mg de muestra se agrega cloroformo, 5 gotas de anhídrido acético refrigerado y una gota de ácido sulfúrico por las paredes del tubo, es positivo para saponinas triterpénicas al formarse un color rojo grosella y positivo para saponinas esteroidales al formarse azul verdoso (Guerrero, 2014).

III.6.2.12 Ensayo de Espuma

Permite reconocer la presencia de saponinas, tanto del tipo esteroidal como triterpénicas. De modo que si la alícuota se encuentra en etanol se diluye en cinco veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5 – 10 minutos. El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de espesor o altura y si persiste por más de 2 minutos. (Bermejo, 2014)

III.6.2.13 Ensayo de Formaldehido

Se calienta 1 ml del extracto etanólico con 1ml del formaldehído + 2 gotas de HCl concentrado, mantener en Baño María de 3-5 minutos. Precipitado completo da positivo para tanino clase catequética y parcialmente soluble da positivo para un tanino pirogálico (Guerrero, 2014).

III.6.2.14 Ensayo de Dragendorff

Permite reconocer en un extracto la presencia de alcaloides, para ello, si la alícuota esta disuelta en un solvente orgánico, debe evaporarse en baño de agua y el residuo disolverse en 1ml de HCl (1%). Si el extracto es acuoso a la alícuota se le añade 1 gota de HCl concentrado, se calienta suavemente y se deja enfriar hasta acidez. Con la solución acuosa ácida se realiza el ensayo añadiendo 3 gotas del reactivo de Drangendorff. Si hay opalescencia se considera positivo (+), turbidez definida (+) (+), precipitado (+) (+) (+) (Bermejo, 2014).

III.6.2.15 Ensayo de Mayer

Permite también identificar alcaloides. A la solución ácida se le añade una pizca de Cloruro de sodio en polvo, se agita y se filtra. Se añade 2 o 3 gotas de la solución reactiva de Mayer, si se observa la opalescencia (+), turbidez definida (+) (+), precipitado coposo (+) (+) (+) (Bermejo, 2014).

III.6.2.16 Ensayo de Wagner

Se parte de una solución ácida, se añade de 2 a 3 gotas del reactivo, clasificando los ensayos de la misma forma (Bermejo, 2014).

III.6.2.17 Ensayo de Leucoantocianinas

Permite reconocer en los extractos vegetales de la presencia de estas estructuras de secuencia C6-C3-C6 del grupo de los flavonoides. Se calienta 2ml del extracto etanólico 10 minutos con 1 ml de HCl concentrado se deja enfriar y se adiciona 1ml de agua y 2ml de alcohol amílico. Se agita y se deja separar las dos fases. La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica, es indicativa de un ensayo positivo. (Guerrero, 2014).

III.6.2.18 Ensayo de Hidróxido de Sodio

A un tubo del extracto diluido se le agregan unas gotas de hidróxido de sodio diluido. La presencia de coloraciones amarillo o naranja se considera indicativa de la presencia de flavonoides (Guerrero, 2014).

III.6.2.19 Test de Zinc

Se agrega al extracto polvo de zinc y luego gotas de HCl concentrado, si aparece un color rojo por algunos minutos es positivo para flavonoides. Solo los dihidroflavonoides reaccionan para dar colores que van de rojo púrpura a rojo cereza, flavononas, dihidrochalconas y otros flavonoides dan color rosa o café (Bermejo, 2014).

III.6.3 DETERMINAR POLIFENOLES TOTALES POR MÉTODO DE FOLIN-CIOCALTEU

III.6.3.1 Preparación de los reactivos

Solución patrón: Pesar 12,5 mg de ácido gálico en matraces volumétricos de 25 ml y llevar a volumen con agua destilada, con una concentración de 500 mg/l, realizar por triplicado.

Solución de Carbonato de Sodio al 10%: Pesar 10 g de Na₂CO₃ y llevar a un matraz volumétrico de 100 ml con agua destilada en caliente, enfriar y filtrar.

Solución de Folin-Ciocalteu: Tomar 5 ml del reactivo 2 N y llevar a volumen en un matraz de 50 ml con agua destilada.

III.6.3.2 Procedimiento

En un tubo de ensayo adicionar, en el orden mencionado: 40 µl de muestra, 0,5 ml del reactivo de Folin-Ciocalteu, 2ml de solución de carbonato sódico y completar hasta 10 ml con agua destilada. Esperar 20 min y leer a 765nm. (Folinn, 2015).

III.6.4 DETERMINAR ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO DE DPPH

III.6.4.1 Procedimiento

Preparar una solución de DPPH (SIGMA) 0,2 mg/ml en etanol grado reactivo y a 1 ml de cada muestra, adicionar 1 ml de la solución de DPPH preparada. Se determina la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro ultravioleta visible SpectronicTM GENESYSTM, exactamente 30 minutos después de iniciada la reacción, y se compara la decoloración con una solución de la misma proporción 1:1 (v/v) de etanol y DPPH. Una solución de extracto y etanol en la misma proporción 1:1 (v/v) sirve como blanco de la muestra para corregir su color. Los resultados se expresan como porcentaje de decoloración de DPPH utilizando la siguiente expresión:

$$\% \text{ Decoloración DPPH} = \left(1 - \frac{Am - Abm}{DPPH} \right) * 100$$

Donde A_m es la absorbancia de la mezcla de reacción (DPPH + extracto), A_{bm} la del blanco de muestra (extracto + agua), y $ADPPH$ la absorbancia de la solución de DPPH (Echabarría, Franco, & Martínez, 2009).

CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIONES

Al culminar la parte experimental de esta investigación se pudo llegar a los siguientes resultados:

IV.1. CERTIFICACIÓN DE LA PLANTA

Tabla IX. Certificación de la planta

Clase:	Equisetopsida C. Agardh
Subclase:	Magnoliidae Novák ex Takht
Orden:	Mytales Juss ex Bercht & J. Prest
Familia:	Melastomataceae Juss
Género:	<i>Arthrostemma</i> Pav. Ex. D Don.
Nombre científico vigente:	<i>Arthrostemma ciliatum</i> Pav. Ex. D Don.

Fuente: Herbario GUAY



Ilustración 28. Herbario Guay 2019

Fuente: Herbario GUAY

IV.2. TAMIZAJE FITOQUIMICO PRELIMINAR ORIENTADO A COMPUESTOS FENÓLICOS

Tabla X. Tamizaje Fitoquímico Preliminar

ENSAYOS	RESULTADOS	
	ACUOSO	ETANÓLICO
Ensayo de Fehling	++++	NA
Ensayo de Baljet	NA	+
Ensayo de Cloruro Férrico	NA	+
Ensayo de Shinoda	NA	+
Ensayo de Borntrager	–	++
Ensayo de Lieberman – Buchard	–	++
Ensayo de Mucílagos	+	NA
Ensayo para Cumarinas	+	NA
Ensayo de Resinas	NA	–
Ensayo con Vapores de Amoniaco	NA	–
Ensayo de Salkowski	–	–
Ensayo de Espuma	NA	+
Ensayo de Formaldehido	NA	–
Ensayo de Dragendorff	–	+++
Ensayo de Mayer	–	+++
Ensayo de Wagner	–	+++
Ensayo de Leucoantocianinas	–	NA
Ensayo de Hidróxido de Sodio	–	–
Test de Zinc	–	–

Fuente: Autores

IV.3. Determinación de Polifenoles Totales de *Arthrostemma ciliatum* Pav. Ex. D Don

Tabla XI. Extracto Etanólico de Folin-Ciocalteu

VEGETAL	UNIDADES	RESULTADOS
Polifenoles Totales de <i>Arthrostemma ciliatum</i> Pav. Ex. D Don	mg/kg	728,06 mg/kg
		730,07 mg/kg
		720,04 mg/kg

PROMEDIO	726.06
DES. ESTÁNDAR	2.015

Fuente: Autores

Tabla XII. Extracto Acuoso de Folin-Ciocalteu

VEGETAL	UNIDADES	RESULTADOS
Polifenoles Totales de <i>Arthrostemma ciliatum</i> Pav. Ex. D Don	mg/kg	284.54 mg/kg
		289.57 mg/kg
		282.45 mg/kg

PROMEDIO	285.52
DES. ESTÁNDAR	1.23

Fuente: Autores

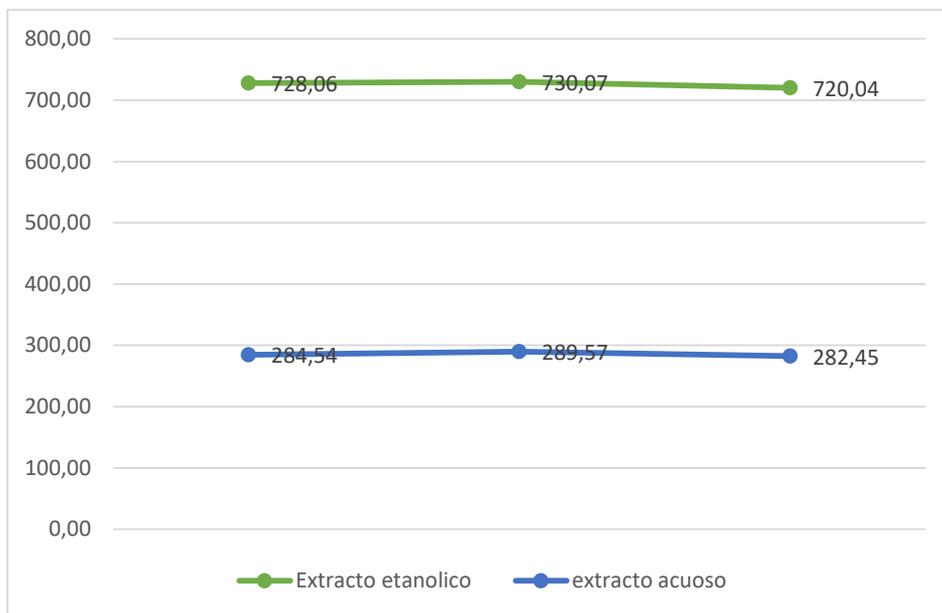


Gráfico 1. Comparación de los polifenoles totales en extractos acuoso y etanólico de *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don.

IV.4 Determinación de actividad antioxidante del *Arthrostemma ciliatum* Pav. Ex. D Don

Tabla XIII. Extracto Etanólico DDPH

VEGETAL	UNIDADES	RESULTADOS
Actividad Antioxidante de <i>Arthrostemma ciliatum</i> Pav. Ex. D Don	µg/mL	5.77 µg/mL
		5.87 µg/mL
		5.01 µg/mL
PROMEDIO		5.55
DES. ESTÁNDAR		0.33

Fuente: Autores

Tabla XIV. Extracto Acuoso DDPH

VEGETAL	UNIDADES	RESULTADOS
Actividad Antioxidante de <i>Arthrostemma ciliatum</i> Pav. Ex. D Don	μg/mL	10.28 μg/mL
		10.97 μg/mL
		10.01 μg/mL
PROMEDIO		10.42
DES. ESTÁNDAR		0.17

Fuente: Autores

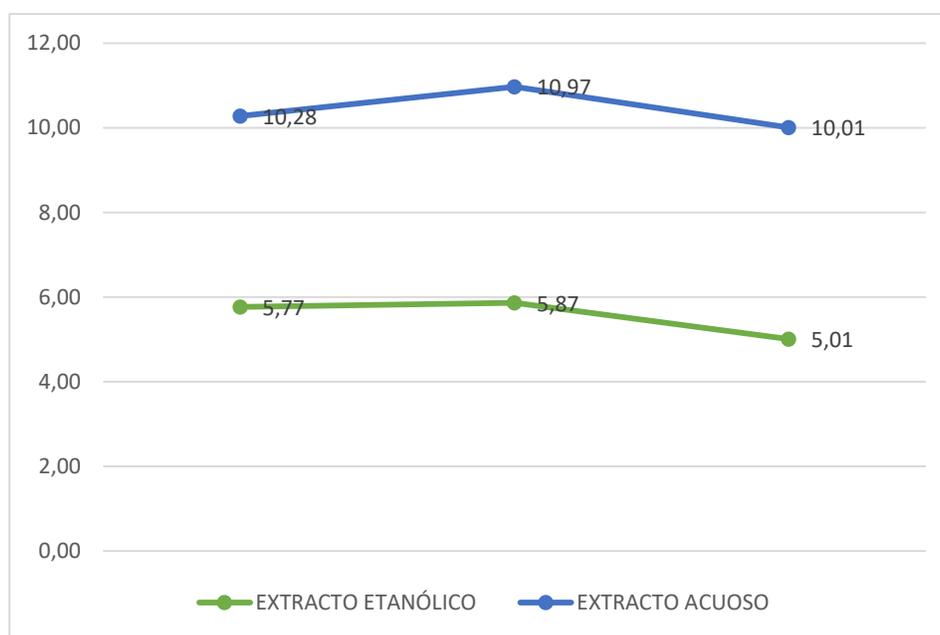


Gráfico 2. Comparación de actividad antioxidante en extracto acuoso y etanólico de *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don.

IV.5 DISCUSIÓN

La presencia de polifenoles totales en el presente estudio dio como resultado en el extracto etanólico 728.05 mgEAG/Kg y en el extracto acuoso 284.55 mg/ EAG/Kg valores que se acercan a la investigación realizada por (Castillo & Vinueza, 2019) en el tallo de la planta *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don. con un resultado en el extracto acuoso de 650mg/kg y en el extracto etanólico de 163mg/kg demostrando valores altamente mayores que puede deberse a que la raíz presenta concentraciones más altas que las hojas.

El presente estudio al realizar la determinación de polifenoles totales en la raíz churco *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don. obtuvo en el extracto etanólico 728.05mg/kg y en el extracto acuoso 284.55mg/ EAG/Kg valores que se acercan a los de (Ocampo, Valverde, Colmenares, & Isaza, 2014) en el extracto metanólico y acuoso de las hojas de las especies *Meriania speciosa* 470mg/kg; 160mg/kg y en el extracto metanólico de la especie *Meriania nobilis* 400 mg/kg.

Los Polifenoles Totales en el extracto etanólico es de 728.05 mg EAG/Kg mientras que el extracto acuoso presentó un valor de 284.55 mg/ EAG/Kg valores que se alejan a los resultados de (Nunes, 2018) quien realizó un estudio para la determinación de polifenoles totales en la fruta liofilizada (FLLA) *L. Australis*, donde se presentó un contenido 44.200 mg/Kg, donde se puede demostrar que la raíz posee menor cantidad de polifenoles que la fruta.

En el estudio realizado se obtuvieron en el extracto acuoso de 10.27ug/ml y en el etanólico un valor de 5.76ug/ml dichos valores se alejan a los estudios realizados por (Luliana, Purwanti, & Kris, 2016) de la familia Melastomatacea en la especie *Melastoma malabathricum* dando como resultado en las concentraciones de 200ppm con un valor de $91.11 \pm 0,5\%$.

El presente estudio presentó una actividad antioxidante en el extracto acuoso de 10.28 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y en el extracto etanólico 5.77 $\mu\text{g}/\text{mL}$, donde se evidencia una diferencia con los valores obtenidos en el estudio de (Plaza, 2016) que fueron superiores al presentar una alta concentración de los compuestos donde se analizó y comparó 3 órganos de distintas especies de la familia Melastomataceae, en las hojas de la especie *M suma* un 61,3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y los frutos verdes 89 $\mu\text{g}/\text{mL}$, en sus frutos maduros un valor de 34.8 mg/mL , debido a que es de gran importancia la especie a estudiar como la composición química de la misma.

Los valores obtenidos para la Actividad Antioxidante en el extracto acuoso de 10.28 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y etanólico 5.77 $\mu\text{g}/\text{mL}$ valores que se alejan a los resultados de (Castillo & Vinueza, 2019) en el extracto acuoso presentó valores de 1136.50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ y etanólico un 1666.80 $\mu\text{g}/\text{ml}$, demostrando que dichos valores se encuentran superiores en relación a la raíz de *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don.

Arthrostemma ciliatum Pav. ex D. Don. fue recolectada en el cantón Camilo Ponce Enríquez provincia de Azuay-Ecuador que crece a una altura de 1500 msnm, mientras que en el estudio de (Ocampo, Valverde, Colmenares, & Isaza, 2014) se colectó en el municipio de Caldas (Antioquia), a una altitud de 1500 metros sobre el nivel del mar para la especie *M nobilis* y la especie *Meriania speciosa*, en el corregimiento de Pance (Valle del Cauca) a una altura de 1700 msnm con una temperatura de 25°C, en el estudio de (Plaza, 2016) las muestras fueron recolectadas en el páramo de Calderitas a una altura de aproximadamente de 3300-3400 msnm con temperaturas de 10°C a 18°C, siendo así estos factores motivo para generar polifenoles y otros compuestos con gran variedad que se reflejan en los resultados de las investigaciones.

Además en el presente estudio se realizó un tamizaje fitoquímico preliminar obteniéndose como positivo la presencia de cumarinas, compuestos fenólicos, quinonas, triterpenos o esteroides, flavonoides, mucílagos, saponinas, alcaloides y azúcares reductores los cuales coinciden con las investigaciones realizadas por (Soto, Soto, Santos, & Moncayo, 2015) en la raíz de *Rumex crispus L.* encontrando positivo para triterpenos y esteroides , saponinas, quinonas, compuestos fenólicos, flavonoides y alcaloides, y coincide también con el estudio de (Mencias, 2015) realizado en la especie del extracto etanólico de las hojas de Colca (*Miconia pseudocentrophora*) donde se encontró positivo para fenoles, flavonoides, alcaloides, quinonas, esteroides, triterpenos y azúcares reductores. Así mismo con el tamizaje fitoquímico en hojas y frutos de las especies *Miconia summa*, *Miconia elaeodides*, *Miconia sp* de la familia de Melastomataceae realizado por (Plaza, 2016) encontrando positivo para fenoles, flavonoides, alcaloides, quinonas, triterpenos y esteroides y azúcares reductores.

Cabe recalcar que nuestras muestras fueron en la raíz al contrario de los otros estudios que se analizó en órganos como hojas, tallos, frutos, se puede realizar la comparación al pertenecer a la misma familia o división de su taxonomía.

V.I.6 CONCLUSIONES

- Se certificó la muestra churco *Arthrostemma ciliatum* Pav. Ex. D Don en el Herbario GUAY de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil.
- Se identificó de manera cualitativa los tipos de compuestos presentes en los extractos acuoso y etanólico de la raíz del *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don realizando un tamizaje fitoquímico preliminar orientado a compuestos fenólicos y se detectó la presencia de cumarinas, compuestos fenólicos, quinonas, triterpenos o esteroides, flavonoides, mucílagos, saponinas alcaloides y azúcares reductores.
- Se determinó la concentración de polifenoles totales en los extractos acuoso y etanólico con valores de 284.55 mg/kg y 728.05 mg/kg por el método de Folin-Ciocalteau.
- Se evaluó la actividad antioxidante por el método del radical de DPPH con valores de 10.27 µg/mL para el extracto acuoso y 5.76 µg/mL para extracto etanólico, siendo el extracto etanólico el que presento un IC50 más bajo por lo tanto mejor actividad antioxidante.

V.I.7 RECOMENDACIONES

- Identificar y cuantificar los compuestos encontrados como cumarinas, compuestos fenólicos, quinonas, triterpenos o esteroides, flavonoides, mucílagos, saponinas alcaloides y azúcares reductores en el tamizaje fitoquímico preliminar.
- Determinar la presencia de vitamina C en la *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don debido que posee un sabor ácido.
- Realizar futuras investigaciones de actividad antimicrobiana de la especie *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alejandra, M., Santiana, J., Vacas, O., Báez, S., Sánchez, A., & Churchill, S. (2018). *LIBRO ROJO de las plantas endémicas del Ecuador* . Quito : Centro de Publicaciones .
- Ana, M., Gaviriall, C., Cardona, F., Sáez, J., Trujillo, S., & Rojano, B. (2010). Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de algunas especies del género *Calophyllum*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 13 - 26 .
- Barberán, T. (2010). Los polifenoles de los alimentos y la salud. *ALIM. NUTRI. SALUD*, 41 - 53 .
- Bermejo, A. (2014). Determinación de parámetros químico- físico de las tinturas al 20% obtenidas de las hojas, tallos y frutos de *Melia azedarach* L (Pursiana). *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 5-8.
- Burga, W., & Perey, C. (Octubre de 2018). *Comparación de la concentración de saponinas entre Chenopodium quinoa “quinua” y Quillaja saponaria “choloque”*.
- Caballero, L., & Gonzáles, G. (2016). Alimentos con efecto anti-inflamatorio. *Acta Médica Peruana*, 50 - 64 .
- Carlos, B. (2009). *Estudio Farmacognóstico y Actividad Antimicrobiana de la Violetilla (Hybanthus parviflorus)*. Riobamba - Ecuador .
- Castillo, E., & Vinueza, E. (Septiembre de 2019). *POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTO ACUOSO Y ETANÓLICO DEL TALLO DE CAÑA AGRIA Arthrostemma ciliatum Pav. ex D. Don*. Obtenido de *POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTO ACUOSO Y ETANÓLICO DEL TALLO DE CAÑA AGRIA Arthrostemma ciliatum Pav. ex D. Don*.
- Castillo, G., Zavala, D., & Carrillo, M. (24 de Abril de 2017). *Análisis Fitoquímico: Una Herramienta Para Develar El Potencial Biológico Y Farmacológico De Las Plantas*.

Obtenido de Análisis Fitoquímico: Una Herramienta Para Develar El Potencial Biológico Y Farmacológico De Las Plantas.

Castro, E., González, J., Luna, M., & Vargas, O. (2014). *La Selva, Florula Vegetal*.
Obtenido de <https://sura.ots.ac.cr/local/florula4/contacts.php>

Chavez, C. J. (2018). DETERMINACION Y CUANTIFICACION DE FLAVONOIDES MEDIANTE CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA PRESIÓN (HPLC) A PARTIR DEL EXTRACTO POLAR ACIDO DE *Euphorbia laurifolia juss ex lam* Y SU ACTIVIDAD TÓXICA . *DETERMINACION Y CUANTIFICACION DE FLAVONOIDES MEDIANTE CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA PRESIÓN (HPLC) A PARTIR DEL EXTRACTO POLAR ACIDO DE Euphorbia laurifolia juss ex lam Y SU ACTIVIDAD TÓXICA* . Arequipa , Perú: Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa .

Colina, A. (2016). Análisis fitoquímico, determinación cualitativa y cuantitativa de flavonoides y taninos, actividad antioxidante, antimicrobiana de las hojas de “*Muehlenbeckia hastulata* (J.E.Sm) I.M. Johnst” de la zona de Yucay (Cusco). UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS.

Coronado, M., Vega, S., León, G., Vásquez, M., & Radilla, C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista chilena de nutrición*, 206 - 212 .

Delgado Olivares, L., Betanzos Cabrera, G., & Sumaya Martínez, M. T. (2010). Importancia de los antioxidantes. *Investigación y Ciencia* , 10 - 15 .

Duran, F. (2015). Desarrollo y Validación de una Metodología Analítica para la cuantificación de compuestos flavonoides y organoazufrados en aros de cebolla, mediante DLLME-HPLC-UV. Obtenido de Desarrollo y Validación de una Metodología Analítica para la cuantificación de compuestos flavonoides y organoazufrados en aros de cebolla, mediante DLLME-HPLC-UV.

Durango, D. (2014). *Repositorio Institucional - Pontificia Universidad Javeriana*. Obtenido de

<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/16178/ArdilaDurangoDaniela2014.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Echabarría, B., Franco, A., & Martínez, A. (2009). EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN EXTRACTOS DE MACROALGAS DEL CARIBE COLOMBIANO. *VITAE, REVISTA DE LA FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA* , 126 - 131 .
- Eynden, V., & Cueva, E. (2008). Las plantas en la Alimentación . En L. De la Torre, H. Navarrete, P. Muriel, M. Macía, & H. Balslev, *Enciclopedia de las Plantas Útiles en Ecuador* (págs. 62 - 66). Quito : Herbario QCA & Herbario AAU .
- Fierro, A., Fernández, D., & Quintana, C. (2002). *SIDA, Contributions to Botany* . U.S.A: The Botanical Research Institute of Texas, Inc. .
- Folinn, C. (2015). *Tyrosine and tryptophan determination in proteins*. España: J. Biol. Chem.
- Freire, A., Fernandez, D., & Quintana, C. (2011). *USOS DE MELASTOMATACEAE EN EL ECUADOR*. Quito .
- García, E., Fernández, I., & Fuentes, A. (2015). Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu . *Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu* . Valencia , Valencia , España : Universitat Politecnica de Valencia .
- Gaspar, K., & Jimenéz, Y. (2015). *Estudio Fitoquímico y capacidad antioxidante in vitro del fruto fresco de Jalmata ventricosa*. Obtenido de Estudio Fitoquímico y capacidad antioxidante in vitro del fruto fresco de Jalmata ventricosa.
- Gonzalez, A. (2011). *OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES Y EXTRACTOS ETANOLICOS*. Bogotá - Colombia .

- Gonzalez, E. P. (2016). Tamizaje Químico y Evaluación de la Actividad Antioxidante de Hojas y Frutos de tres especies del Género Miconia (MELASTOMATACEAE). *Revista CienCia: DesaRRollo e innovaCión*, 43 - 48 Volumen 2 Número 1 .
- Guerrero, N. (15 de Mayo de 2014). *UPS-QT*. Obtenido de UPS-QT: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/7084/1/UPS-QT05854.pdf>
- Guija, E., Inocente, M., Ponce, J., & Zarzosa, E. (2015). Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar. *Horiz Med* , 57 - 70 .
- Gutiérrez, D., Ortiz, C., & Mendoza, A. (Octubre de 2008). Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas usadas para Alimentación Animal. Querétaro, México : Universidad Autónoma de Querétaro .
- Gutierrez, J., Mondragón, P., García, L., Hernández, S., Ramirez, S., & Nuñez, N. (2014). Breve descripción de los mecanismos moleculares de daño celular provocado por los radicales libres derivados de oxígeno y nitrógeno. *Rev Esp Méd Quir*, 446 - 454.
- Jaime, J. M. (25 de Octubre de 2015). Reactivo de Fehling. *Reactivo de Fehling*. Universidad Cardenal Herrera . Obtenido de Reactivo de Fehling.
- Jara, P. (25 de 09 de 2007). METODOLOGÍA PARA LA EVALUACIÓN DE INGREDIENTES FUNCIONALES ANTIOXIDANTES. Efecto de Fibra Antioxidante de Uva en status antioxidante y parámetros de riesgo cardiovascular en humanos. Madrid, España: Universidad Autonoma de Madrid.
- Jeton, J. (2014). *Facultad de Ciencia y Tecnologia Escuela de Ingenieria en Alimentos* . Obtenido de Desarrollo de Bebidas con potencial antioxidante y antirradicalario a partir de frutos ecuatorianos .
- Lamarque, A., Zygadlo, J., Labuckas, D., López, L., Torres, M., & Maestri, D. (2010). *Fundamentos teorico-practicos de quimica organica/*. Córdoba - Argentina : Editorial Encuentro .

- Lizarraga, C., Hernández, C., Aguilar, G., & Heredia, J. (2018). Propiedades antioxidantes e inmunoestimulantes de polifenoles en peces carnívoros de cultivo. *CienciaUAT* .
- Londoño, J. L. (2012). Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. *Grupo de Investigación en Ingeniería de Alimentos – GRIAL*.
- Luliana, S., Purwanti, N., & Kris, M. (2016). Pengaruh Cara Pengeringan Simplisia Daun Senggangi (*Melastoma malabathricum* L.) Terhadap Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Research in Pharmaceutical Sciences* , 120 - 129 . Obtenido de Pengaruh Cara Pengeringan Simplisia Daun Senggangi (*Melastoma malabathricum* L.) Terhadap Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).
- Maldonado, O., Jiménez, E., Guapillo, M., Ceballos, G., & Méndez, E. (2010). Radicales libres y su papel en las enfermedades. *Rev Med UV*, 33-38 .
- Martinez, A. (2012). *Ensayos de Reconocimiento de Metabolitos Secundarios de Interés Farmacéutico*. Obtenido de Ensayos de Reconocimiento de Metabolitos Secundarios de Interés Farmacéutico.
- Martínez, I., & Serracín, Y. (2015). *Flora asociada a Humedades en Cuesta de Piedra, Chiriquí*. Sistema Integrado de Divulgación Científica de la Universidad Autónoma de Chiriquí: Universo.
- Mencias, J. (2015). Separación I, Purificación e Identificación de Metabolitos secundarios de Extracto Etanólico de Colca (*Miconia pseudocentrophora*). *Separación I*, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Montalvo, K. (2011). Evaluación e la Actividad Antimicrobiana del Ectracto Etanólico de *Atrosthemmma Ciliatum* por el Método de Difusión de Agar . *Evaluación e la Actividad Antimicrobiana del Ectracto Etanólico de Atrosthemmma Ciliatum por el Método de Difusión de Agar* . Loja, , Ecuador : Universidad Nacional de Loja .
- Morocho, L. C. (2009). *Estudio Farmacognóstico y Actividad Antimicrobiana de la Violetilla (*Hybanthus parviflorus*)*. Riobamba - Ecuador.

- Moscoso, A., Santiana, J., Vacas-Cruz, O., Báez, S., & Sánchez, A. (2018). *LIBRO ROJO de plantas endémicas del Ecuador*. Quito : Centro de Publicaciones .
- Muñoz, O., Torres, G., Núñez, J., De la Rosa, L., García, J., Ayala, F., & Álvarez, E. (2017). Nuevo acercamiento a la interacción del reactivo de Folin-Ciocalteu con azúcares durante la cuantificación de polifenoles totales. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*.
- Nunes, A. (30 de Abril de 2018). UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA . *Frutos liofilizados de Lenadra australis y actividad en modelo* . Tubarao , Santa Catarina, Brasil .
- Ocampo, D., Valverde, C., Colmenares, A., & Isaza, J. (2014). Fenoles Totales y actividad antioxidante en hojas de dos especies colombianas del género Meriania (melastomataceae). *Revista Colombiana de Quimica*, 41- 46.
- Ochoa, L., & Sarmiento, A. (2018). *Repositorio Institucional U.D.C.A.* Obtenido de <https://repository.udca.edu.co/handle/11158/996>
- Octavio Maldonado Saavedra, E. N. (2010). Radicales libres y su papel en las enfermedades. *Rev Med UV*, 36 - 38 .
- OMS. (2019). *Dieta* .
- OPS. (2012). *Enfermedades producidas por radicales libres*.
- Palacios, M. (2014). Guia de practicas de Farmaconogsia y Fitoquimica. Universidad de los Ángeles de Chimbote.
- Peñarreta, M. (2014). PHENOLIC COMPOUNDS IN FOOD. *Revista Boliviana de Química*, 68-81.
- Pereira, S., Vega, D., & Almeida, M. (2010). Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólico, etéreo y acuoso de las hojas de la Trichilia hirta L. *Química Viva* , 192-199.
- Pérez, R. (2014). DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD LAXANTE DE LOS MUCILAGOS PRESENTES EN LA Salvia hispánica, Borragoofficinalis Y Ullucus

- tuberosus FRENTE A LA ACTIVIDAD LAXANTE DEL ACEITE DE RICINO IN VIVO. Riobamba, Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Plaza, E. G. (2016). Tamizaje Químico y Evaluación de la Actividad Antioxidante de Hojas y Frutos de tres especies del Género Miconia (MELASTOMATACEAE). *Revista CIENCIA: DESARROLLO E INNOVACIÓN*, 43- 48 Volumen 2 Número 1.
- Quiñonez, Miguel, & Aleixandre. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria* , 76 - 89 .
- Rengifo, R. (2013). CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES EN EL EXTRACTO ETANÓLICO. *Revista Farmaciencia Diciembre* , 3-5.
- Reyes, M. X. (Marzo de 2017). Inhibición de la Actividad Hemolítica del veneno de *Bothrops atrox* por los extractos de *Lonchocarpus utilis* A.CSm Y *Adenostemma lavenia* L (Kuntze). Quito , Ecuador : Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito .
- Robert, A. (27 de Diciembre de 2018). *OUSHIA Conciencia Saludable* . Obtenido de OUSHIA Conciencia Saludable : <https://oushia.com/los-flavonoides/>
- Rodriguez, A. (2017). Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana* en la dieta caprina: presencia de compuestos bioactivos y actividad antioxidante de la leche. Universidad Nacional Autónoma de México .
- Rojano, B., Zapata, K., & Cortes, F. (2012). Capacidad atrapadora de radicales libres de *Passiflora mollissima* (Kunth) L. H. Bailey (curuba). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 408 - 419 .
- Rojas, S., & Vibrans, H. (27 de Septiembre de 2011). *Melastomataceae Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don *Xoxocoyolcera*. *Melastomataceae México* .
- Sagar, k., & R.P, S. (2011). Génesis y Desarrollo del Método DDPH de ensayo antioxidante. *Revista de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 412- 422.

- Serván, A. (Julio de 2012). *Interés Farmacéutico de los Mucílagos*. Obtenido de Ensayos de Reconocimiento de Metabolitos Secundarios de Interés Farmacéutico: <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/82306/TFG%20terminado.pdf;jsessionid=C7E842B1051A838963E2F99074CD349E>
- Soto, M., Soto, K., Santos, A., & Moncayo, N. (2015). Metabolitos secundarios y actividad antibacteriana in vitro en extracto etanólico de la raíz de *Rumex crispus* L. *Revista Química Viva*.
- Tello, C. (Junio de 2015). EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE LOS EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS OBTENIDOS A PARTIR DE LA HOJA, TALLO Y RAÍZ DE *PETIVERIA ALLIACEA* L. SOBRE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*, *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* Y *CANDIDA ALBICANS*. Quito : Universidad Central del Ecuador .
- Toro, A., Vigo, F., & Muedas, G. (2011). Evaluación de la Actividad Antioxidante del piso peruano mediante voltametría cíclica. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 127 - 134.
- Vidaurre, Querevalú, Ríos, & Ruiz. (2007). Características farmacognósticas de las hojas de *Capparis avicennifolia*. *sisbib*, 125-129.
- Villacorta, G., & Perez, A. (2011). *Actividad Antioxidante "in Vitro" de las Hojas y Frutos de Morinda citrifolia Linn. Mediante el método de secuestro de radicales libres 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH)*. Perú.
- Zapata, S., Piedrahita, A., & Rojano, B. (2014). Capacidad captadora de radicales oxígeno (ORAC) y fenoles totales de frutas y hostalizas de Colombia. *Perspectivas en Nutrición Humana*, 25 - 36 Vol 16 Número 1.
- Zuñiga, Y., & Rebolledo, C. (23 de Noviembre de 2015). *saponinasorganicas*. Obtenido de <http://saponinasorganica.blogspot.com/2015/11/saponinas>

GLOSARIO

- ***Arthrostemma ciliatum Pav. ex D. Don.***-Es una planta tropical con pétalos que se cae con el menor movimiento, es común en orillas de caminos y sitios perturbados, es un género de plantas herbáceas perteneciente a la familia Melastomataceae.
- **Aterosclerosis.**- La aterosclerosis es una enfermedad de los seres humanos que comienza con el propio origen de la vida, porque cuando el espermatozoide penetra al óvulo para la concepción del nuevo ser, en ese mismo momento se le están incorporando las características genéticas y hereditarias del padre y la madre.
- **Alícuota.**- es una parte que se toma de un volumen (alícuota líquida) o de una masa (alícuota sólida) iniciales, para ser usada en una prueba de laboratorio, cuyas propiedades físicas y químicas, así como su composición, representan las de la sustancia original. Normalmente las alícuotas son el resultado de repartir un volumen inicial en varias partes iguales. Se suele medir en mililitros (mL) o gramos (g).
- **Actividad farmacológica.** - es una expresión que se emplea para describir los efectos benéficos o adversos que produce una droga sobre la materia viva.
- **ABTS:** es un compuesto químico utilizado para observar la cinética de reacción de enzimas específicas.
- **Biodisponibilidad:** Término que hace referencia a la velocidad y a la cantidad con las cuales un fármaco es absorbido y alcanza su punto de acción en el organismo.
- **Compuestos fenólicos:** son compuestos orgánicos cuyas estructuras moleculares contienen al menos un grupo fenol, un anillo aromático unido al menos a un grupo hidroxilo.
- **Capacidad o actividad antioxidante:** habilidad que poseen los compuestos antioxidantes para captar y estabilizar los radicales libres.
- **DPPH:** Compuesto químico orgánico 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl.

- **Etnofarmacología:** El estudio científico de los usos tradicionales de plantas y otros organismos con fines médicos. La etnofarmacología es una especialización dentro de la etnobiología, que es un campo interdisciplinario de la investigación llevada a cabo por personas capacitadas en la antropología cultural, la biología y la medicina.
- **Estrés oxidativo:** es un proceso químico que ocurre en nuestro cerebro, una alteración bioquímica. Uno de los factores que contribuyen a esta alteración se produce tras la producción excesiva de radicales libres debido a la insuficiencia antioxidante del sistema de respuesta.
- **Metabolitos:** Son compuestos generalmente orgánicos que participan en las reacciones químicas que tienen lugar a nivel celular. El conjunto de estas reacciones bioquímicas, junto a los procesos físico-químicos intracelulares, constituye el metabolismo celular, la base molecular de la vida.
- **Método DMPD:** Se trata de un mecanismo donde el radical libre se produce a partir de DMPD que al encontrarse presente a una solución de oxidante de cloruro férrico, y a pH ácido se convierte a un radical catiónico colorado y estable.
- **Polifenoles:** Son micronutrientes con actividad antioxidante, que se encuentran en abundancia en los alimentos como especias secas, frutas, vegetales, vino tinto y cocoa.
- **QCNE:** El Herbario Nacional del Ecuador.
- **Solución patrón:** Es un reactivo de concentración conocida con exactitud. Estas disoluciones desempeñan una función principal en todos los métodos volumétricos.
- **Tamizaje fitoquímico:** Es una de las etapas la cual permite determinar cualitativamente los grupos que se encuentran presentes en una planta y a partir de ello orientar la extracción de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés.

ANEXOS



Anexo A. Muestra Recolectada de *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don



Anexo B. Peso de la muestra para extracto Acuoso y Etanólico



Anexo C. Extractos Acuoso y Etanólico de *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don



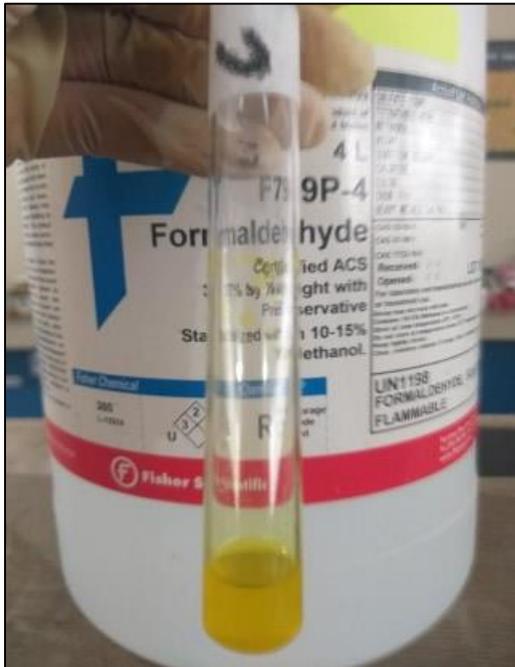
Anexo D. Identificación de metabolitos secundarios mediante Tamizaje Fitoquímico Preliminar



Anexo E. Ensayo de Dragendorff, Meyer y Wagner en Extracto Etanólico



Anexo F. Ensayo de Dragendorff, Meyer y Wagner en Extracto Acuoso



Anexo G. Ensayo de Baljet en Extracto Acuoso



Anexo H. Ensayo de Borntrager en Extracto Acuoso y Etanólico



Anexo I. Ensayo de Lieberman – Buchard en Extracto Acuoso y Etanólico



Anexo J. Ensayo de Fehling en Extracto Acuoso



Anexo K. Ensayo de Leucoantocianidinas en Extracto Acuoso



Anexo L. Test de Zinc en Extracto Acuoso y Etanólico



Anexo M. Ensayo de Salkowski en Extracto Etanólico



Anexo N. Ensayo de Shinoda en Extracto Acuoso y Etanólico



Anexo O. Ensayo de Cloruro Férrico en Extracto Acuoso y Etanólico

Herbario GUAY
Facultad de Ciencias Naturales
Universidad de Guayaquil

Clase: Equisetopsida C. Agardh

Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.

Orden: Mytales Juss. ex Bercht. & J. Presl

Familia: Melastomataceae Juss.

Género: *Arthrostemma* Pav. ex D. Don.

Nombre científico vigente: *Arthrostemma ciliatum* Pav. ex D. Don.

Descripción taxonómica:

Herbácea trepadora; tallo escandente, tetragonal, verde, glabro. Hojas simples, opuestas, lámina ovada, plinervia, margen finamente aserrado. Inflorescencias panículas, terminales. Corola de 4 pétalos, libres, lila. Cáliz de 4 sépalos, verde. Ovario ínfero, 4 lóculos. Fruto abayado.



Av. Juan Tanca Marengo y Av. Gómez Lince s.n.
P.O. Box 09-01-10634
Guayaquil-Ec

Anexo P. Certificación Taxonómica