



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS**  
**CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA**



---

"Obtención de un ingrediente activo microencapsulado con propiedades antiinflamatorias a partir de 8 plantas medicinales"

---

Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación previa a la obtención del Título de Ingeniera Bioquímica, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

**Autor:** María Belén Escobar Bustamante

**Tutor:** PhD. Orestes Darío López Hernández

**Ambato- Ecuador**

**Mayo-2018**

## **APROBACIÓN DEL TUTOR**

PhD. Orestes Darío López Hernández

### **CERTIFICA**

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación bajo la modalidad de Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad.

Ambato, 04 de abril de 2018



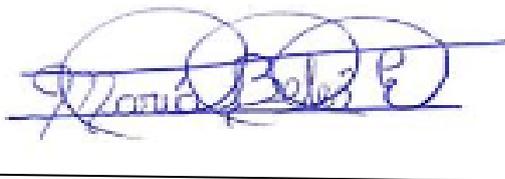
PhD. Orestes Darío López Hernández  
C.I. 175478486-4

**TUTOR**

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Escobar Bustamante María Belén manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Proyecto de Investigación, previo la obtención del título de Ingeniería Bioquímica, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas.

Ambato, 04 de abril de 2018



Srta. María Belén Escobar Bustamante

C.I. 100368003-8

**AUTOR**

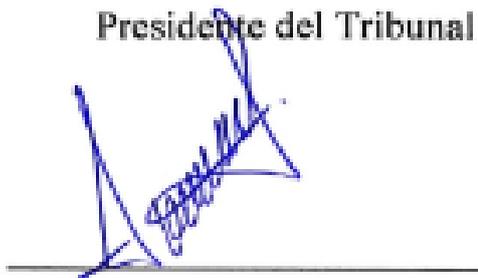
## **APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO**

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

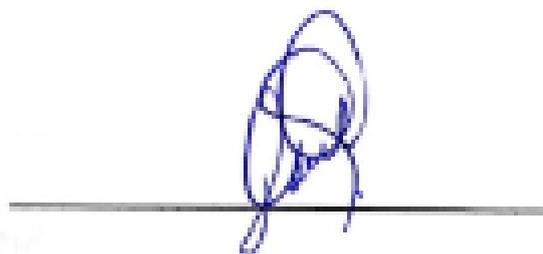


**Presidente del Tribunal**



MSc. Yunys Pérez Betancourt

C.I. 175647274-0



Lic. MSc. Danae Fernández Rivero

C.I. 175718120-9

Ambato, 07 de mayo de 2018

## **DERECHOS DE AUTOR**

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este proyecto de investigación o parte de él un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Proyecto, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este Proyecto dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando no suponga una ganancia económica y se realice respetando los derechos de autor.



Srta. María Belén Escobar Bustamante

C.I. 100368003-8

**AUTOR**

## DEDICATORIA

*“Tus creencias se convierten en tus pensamientos, tus pensamientos se convierten en tus palabras, tus palabras se convierten en tus acciones, tus acciones se convierten en tus hábitos, tus hábitos se convierten en tus valores, tus valores se convierten en tu destino”*

*Mahatma Gandhi*

*A mis padres Raúl y Marina por darme la vida  
Por su amor y su apoyo incondicional por cada uno de sus  
sacrificios durante todos estos años, gracias  
a ustedes he logrado llegar hasta aquí  
Los amo*

*Belén*

## AGRADECIMIENTO

A Dios, por haberme dado la vida y haberme permitido llegar a este momento tan importante de mi formación profesional. Por darme fuerza y sabiduría para superar cada obstáculo y por protegerme día a día.

A mis padres Raúl y Marina por su apoyo incondicional por ser un ejemplo de fuerza y lucha constante. Por cada uno de los sacrificios que han hecho por brindarme lo mejor. Por llenarme de amor y guiarme para ser una persona de bien. A mi ángel en el cielo Abuelita Julieta, por todo su amor y la sabiduría con que supo brindarme sus consejos.

A mis hermanos, Raúl y Cris gracias por todo este tiempo de vivencias y anécdotas por tanto amor por haberme permitido vivir una de las más hermosas experiencias de la vida ser tía de una pequeñita que me ha enseñado a ver el mundo de colores mi Mayita. Agradezco infinitamente a Dios por todos ustedes.

A mi compañero de vuelo, Martín Villacis, parte fundamental de mi vida, que me ha hecho crecer cada día, gracias por su apoyo por ese amor sincero e incondicional, por ser mi mejor amigo y mi confidente. Por tantos momentos hermosos y únicos. Por estar conmigo en las buenas y malas. Le amo mi amor

Agradezco de manera sincera al PhD. Orestes López por brindarme su amistad, apoyo, confianza y paciencia en la realización de este proyecto de investigación bajo su dirección.

A los docentes MSc. Yunys Pérez, Mg. Danae Fernández, por su apoyo, tiempo y paciencia para el desarrollo de la presente investigación.

A mi amiga Estefanía Calero por haberme extendido su ayuda en épocas difíciles en la realización del proyecto. Gracias por tu tiempo y paciencia.

A la Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Carrera de Ingeniería Bioquímica, por ser parte de mi formación profesional.

## ÍNDICE GENERAL DE COTENIDOS

ÍNDICE GENERAL DE COTENIDOS .....	viii
INDICE DE TABLAS .....	xi
INDICE DE FIGURAS .....	xii
INDICE DE ANEXOS .....	xiv
RESUMEN .....	xvi
ABSTRACT .....	xvii
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I.....	2
EL PROBLEMA .....	2
1.1. Tema de Investigación .....	2
1.2. Justificación.....	2
1.3. OBJETIVOS.....	3
1.3.1. Objetivo General .....	3
1.3.2. Objetivos Específicos .....	3
CAPÍTULO II.....	4
MARCO TEÓRICO .....	4
2.1. Antecedentes investigativos .....	4
2.1.1. Propiedades medicinales de las plantas.....	4
2.1.2. Menta ( <i>Mentha sativa</i> L).....	4
<b>2.1.2.1. Clasificación taxonómica</b> .....	4
<b>2.1.2.2. Composición Química</b> .....	5
<b>2.1.2.3. Propiedades Medicinales</b> .....	5
2.1.3. Hierba Luisa ( <i>Cymbopogon citratus</i> ).....	5
2.1.3.1. Taxonomía .....	5
<b>2.1.3.2. Composición Química</b> .....	5
<b>2.1.3.3. Propiedades Medicinales</b> .....	6
2.1.4. Albahaca ( <i>Ocimum basilicum</i> L.) .....	6
<b>2.1.4.2. Composición Química</b> .....	6
<b>2.1.4.3. Propiedades Medicinales</b> .....	6
2.1.5. Alcachofera ( <i>Cynara scolymus</i> L).....	7
<b>2.1.5.1. Taxonomía</b> .....	7
<b>2.1.5.2. Composición Química</b> .....	7
<b>2.1.5.3. Propiedades Medicinales</b> .....	7
2.1.6. Alcachofa ( <i>Cynara scolymus</i> L).....	8

<b>2.1.6.1. Taxonomía</b> .....	8
<b>2.1.6.2. Composición Química</b> .....	8
<b>2.1.6.3. Propiedades Medicinales</b> .....	8
2.1.7. Canela ( <i>Cinnamomum verum</i> J) .....	9
<b>2.1.7.1. Taxonomía</b> .....	9
<b>2.1.7.2. Composición Química</b> .....	9
<b>2.1.7.3. Propiedades Medicinales</b> .....	9
2.1.8. Jengibre ( <i>Zingiber officinale</i> L) .....	10
<b>2.1.8.1. Taxonomía</b> .....	10
<b>2.1.8.2. Composición Química</b> .....	10
<b>2.1.8.3. Propiedades Medicinales</b> .....	10
2.1.9. Té Verde ( <i>Camellia sinensis</i> ).....	10
<b>2.1.9.1. Taxonomía</b> .....	10
<b>2.1.9.2. Composición Química</b> .....	11
<b>2.1.9.3. Propiedades Medicinales</b> .....	11
2.1.10. Uso de Plantas como Medicina Natural .....	11
2.1.11. Evidencia Científica de la Actividad Antiinflamatoria de las Plantas .....	12
2.1.12. Actividad Biológica con experimentación in vitro .....	12
<b>2.1.12.1. Actividad antiinflamatoria</b> .....	12
<b>2.1.12.2. Acción de los medicamentos antiinflamatorios</b> .....	13
<b>2.1.12.3. Elementos fenólicos en actividades antiinflamatoria</b> .....	13
2.1.13. Secado por Aspersión.....	13
2.2 Hipótesis.....	15
2.3. Señalamiento de variables de la hipótesis .....	15
2.3.1. Variables Independientes .....	15
2.3.2. Variables Dependientes.....	15
CAPÍTULO III .....	16
MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
3.1. Materiales .....	16
3.2. Equipos.....	16
3.3. Reactivos .....	16
3.3.1. Preparación de extractos vegetales.....	16
3.3.2. Microencapsulación .....	16
3.3.3. Actividad Antiinflamatoria .....	16
3.3.4. Para la determinación de Polifenoles Totales .....	17
3.3.5. Para determinación de Flavonoides Totales.....	17
3.4. Métodos.....	17

3.4.1. Recolección de material vegetal.....	17
3.4.2. Preparación del extracto vegetal .....	17
<b>3.4.2.1. Obtención de material vegetal molido</b> .....	17
3.4.2.2. <b>Obtención de extracto vegetal líquido</b> .....	17
3.4.3. Determinación de humedad de extractos líquidos .....	18
3.4.4. Concentración de extractos líquidos .....	19
3.4.5. Microencapsulación de los extractos líquidos por Spray Dryer.....	19
3.4.6. Evaluación de Actividad Antiinflamatoria.....	19
<b>3.4.6.1. Solución de eritrocitos al 40%</b> .....	19
<b>3.4.6.2. Determinación de la actividad antiinflamatoria por el método de estabilización de la membrana de los glóbulos rojos o eritrocitos</b> .....	20
<b>3.4.6.3. Método de Folin and Ciocalteu (Cuantificación de Polifenoles Totales)</b> .....	21
<b>3.4.6.4. Análisis Cuantitativo por Espectrofotometría UV-V (Concentración de Flavonoides Totales)</b> .....	22
<b>3.4.6.5 Análisis Estadístico</b> .....	23
CAPÍTULO IV .....	24
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	24
4.1 Análisis e interpretación de resultados.....	24
4.1.1. Análisis fisicoquímico.....	24
<b>4.1.1.1. Determinación de sólidos solubles totales (SST) de extractos líquidos</b> .....	24
<b>4.1.1.2. Selección del mejor tratamiento para cada planta</b> .....	24
<b>4.1.1.2. Microencapsulación mediante secado por aspersión de la mezcla de extractos concentrados.</b> .....	39
4.1.2. Actividades biológicas .....	40
<b>4.1.2.1. Actividad antiinflamatoria</b> .....	40
4.1.3.-Determinación de fenoles totales. ....	49
4.1.4.-Determinación de flavonoides totales.....	50
4.2. Verificación de Hipótesis .....	52
CAPÍTULO V .....	53
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	53
5.1. Conclusiones .....	53
5.2. Recomendaciones.....	54
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS .....	55
ANEXOS.....	63

## INDICE DE TABLAS

Tablas 1. Diseño Experimental para extracción de los metabolitos vegetales.....	24
Tabla 2. Cuantificación de Componentes Fitoquímicos: Polifenoles y Flavonoides Totales presentes en el Microencapsulado.....	51

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Hierba luisa ( <i>Cymbopogon citratus</i> ).....	25
<b>Figura 2.</b> Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Menta ( <i>Mentha sativa L</i> ).....	26
<b>Figura 3.</b> Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Alcachofa planta ( <i>Cynara scolymus L</i> ).....	28
<b>Figura 4.</b> Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Alcachofa fruta ( <i>Cynara scolymus L</i> ).....	30
<b>Figura 5.</b> Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Canela ( <i>Cinnamomum verum J</i> ).....	32
<b>Figura 6.</b> Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Jengibre ( <i>Zingiber officinale L</i> ).....	34
<b>Figura 7.</b> Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Albahaca ( <i>Ocimum basilicum L</i> ).....	36
<b>Figura 8.</b> Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Té verde ( <i>Camellia sinensis</i> ).....	38
<b>Figura 9.</b> Comparación de la actividad antiinflamatoria del extracto vegetal de las 8 plantas medicinales y del antiinflamatorio testigo la aspirina.....	40
<b>Figura 10.</b> Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Hierba Luisa ( <i>Cymbopogon citratus</i> ) frente al Microencapsulado.....	41
<b>Figura 11.</b> Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Menta ( <i>Mentha sativa L</i> ) frente al Microencapsulado.....	42

<b>Figura 12.</b> Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Alcachofa Planta ( <i>Cynara scolymus</i> L) frente al Microencapsulado.....	43
<b>Figura 13.</b> Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Alcachofa Fruta ( <i>Cynara scolymus</i> L) frente al Microencapsulado.....	44
<b>Figura 14.</b> Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Canela ( <i>Cinnamomum verum</i> J) frente al Microencapsulado.....	45
<b>Figura 15.</b> Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Jengibre ( <i>Zingiber officinale</i> L.) frente al Microencapsulado.....	46
<b>Figura 16.</b> Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Albahaca ( <i>Ocimum basilicum</i> L) frente al Microencapsulado.....	47
<b>Figura 17.</b> Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Té Verde ( <i>Camellia sinensis</i> ) frente al Microencapsulado.....	48

## INDICE DE ANEXOS

<b>Anexo I.</b> Pesado del Material Vegetal seco (A), Obtención de extractos vegetales líquidos de las 8 plantas medicinales (B).....	63
<b>Anexo II.</b> Evaporación del solvente en el rotoevaporador (A) .Determinación de (SST) de los extractos (B).....	63
<b>Anexo III.</b> Proceso de secado por aspersión (A). Principio activo microencapsulado (B).....	63
<b>Anexo IV.</b> Determinación de la actividad antiinflamatoria del microencapsulado. Separación del Plasma Sanguíneo (A), lavados con PBS (B), Preparación de la solución de Eritrocitos al 40%.....	64
<b>Anexo V.</b> Determinación de la actividad antiinflamatoria. Preparación de las soluciones del extracto vegetal (A), del control aspirina (B), Preparación de OD2 y OD3 (C), Medición de la Absorbancia (D).....	65
<b>Anexo VI.</b> Determinación de Polifenoles (A) y Flavonoides Totales (B), Cuantificación por Espectrofotometría UV (C).....	65
<b>Anexo VII.</b> Rendimiento de sólidos solubles totales (SST) extraídos de las 8 plantas medicinales.....	66
<b>Anexo VIII.</b> Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Hierba luisa ( <i>Cymbopogon citratus</i> ).....	67
<b>Anexo IX.</b> Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Menta ( <i>Mentha sativa</i> L).....	67
<b>Anexo X.</b> Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Alcachofa planta ( <i>Cynara scolymus</i> L).....	68
<b>Anexo XI.</b> Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Alcachofa fruta ( <i>Cynara scolymus</i> L).....	68
<b>Anexo XII.</b> Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Canela ( <i>Cinnamomum verum</i> J).....	69
<b>Anexo XIII.</b> Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Jengibre ( <i>Zingiber officinale</i> L.).....	69
<b>Anexo XIV.</b> Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Albahaca ( <i>Ocimum basilicum</i> L.).....	70
<b>Anexo XV.</b> Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Té verde ( <i>Camellia sinensis</i> ).....	70
<b>Anexo XVI.</b> Valores de la Concentración de los Extractos Vegetales de las 8 Plantas Medicinales.....	71
<b>Anexo XVII.</b> Concentración de St para formular el Microencapsulado.....	71

<b>Anexo XVIII.</b> Comparación de la actividad antiinflamatoria del extracto vegetal de las 8 plantas medicinales y del antiinflamatorio testigo la aspirina.....	72
<b>Anexo XIX.</b> Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Hierba Luisa ( <i>Cymbopogon citratus</i> ) frente al Microencapsulado.....	72
<b>Anexo XX.</b> Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Menta ( <i>Mentha sativa</i> L) frente al Microencapsulado.....	73
<b>Anexo XXI.</b> Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Alcachofa Planta ( <i>Cynara scolymus</i> L) frente al Microencapsulado.....	73
<b>Anexo XXII.</b> Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Alcachofa Fruta ( <i>Cynara scolymus</i> L) frente al Microencapsulado.....	74
<b>Anexo XXIII.</b> Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Canela ( <i>Cinnamomum verum</i> J) frente al Microencapsulado.....	74
<b>Anexo XXIV.</b> Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Jengibre ( <i>Zingiber officinale</i> L) frente al Microencapsulado.....	75
<b>Anexo XXV.</b> Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Albahaca ( <i>Ocimum basilicum</i> L) frente al Microencapsulado.....	75
<b>Anexo XXVI.</b> Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Té Verde ( <i>Camellia sinensis</i> ) frente al Microencapsulado.....	76
<b>Anexo XXVII.</b> Valores de Absorbancia para la Elaboración de la Curva Patrón a partir de Ácido Gálico a 750 (nm) (A). Curva de Calibración (B). Cuantificación Polifenoles Totales.....	76
<b>Anexo XXVIII.</b> Polifenoles Totales. Valor de Absorbancias mediadas por triplicado a 750 nm para cada tratamiento: con agua destilada (M1) y Metanol: Agua (50:50 v/v) y Acetona: Agua (70:30 v/v) (M2).....	77
<b>Anexo XXIX.</b> Valores de Absorbancia para la Elaboración de la Curva Patrón a partir de Quercetina a 415 (nm) (A). Curva de Calibración Cuantificación de Flavonoides Totales (B).....	77
<b>Anexo XXX.</b> Flavonoides Totales. Valor de las Absorbancias mediadas por triplicado a 415 (nm).....	78

## RESUMEN

El empleo de plantas medicinales por su gran disponibilidad y variedad de principios activos con importancia farmacológica, ha sido fuente de investigación para avances científicos. El presente estudio se centró en la obtención de un ingrediente activo antiinflamatorio a partir de los extractos etanólicos de 8 plantas medicinales: *Cymbopogon citratus*, *Mentha sativa* L, *Cynara scolymus* L, *Zingiber officinale* L, *Ocimum basilicum* L, *Cinnamomum verum* J y *Camellia sinensis*.

Las mejores condiciones para el proceso de extracción de los metabolitos vegetales de las plantas empleadas se establecieron a partir de un diseño factorial 2<sup>2</sup>, utilizando dos variables de estudio, concentración del disolvente etanol (ETOH) y tiempo de extracción, empleando la tecnología de spray drying se microencapsularon los extractos etanólicos.

Para la determinación de la actividad antiinflamatoria, se sometió a pruebas *in vitro* mediante el método de estabilización de membrana de los eritrocitos humanos en comparación con el antiinflamatorio testigo utilizado la aspirina. Identificando que el mayor porcentaje de actividad antiinflamatoria lo posee el microencapsulado de la mezcla de las 8 plantas medicinales con un valor de 76,96 %.

A partir de espectrofotometría ultravioleta-visible, se cuantificaron dos de los componentes fitoquímicos que le dan la capacidad antiinflamatoria al microencapsulado, polifenoles totales 93,50 ± 1,78 mg AG/g microencapsulado y flavonoides totales 54,80 ± 8,61 mg quercetina/g microencapsulado.

Esta investigación mostró un efecto sinérgico de la mezcla de las 8 plantas debido a que se potenció la actividad de los principios activos que les dan la capacidad antiinflamatoria (polifenoles y flavonoides).

### Palabras clave

Ingredientes activos, microencapsulación, plantas medicinales, actividad antiinflamatoria, farmacología

## ABSTRACT

The use of medicinal plants for its great availability and variety of active ingredients with pharmacological importance has been a source of research for scientific advances. The present study focused on obtaining an active anti-inflammatory ingredient from the ethanolic extracts of 8 medicinal plants: *Cymbopogon citratus*, *Mentha sativa* L, *Cynara scolymus* L, *Zingiber officinale* L, *Ocimum basilicum* L, *Cinnamomum verum* J and *Camellia sinensis*.

The best conditions for the extraction process of the plant metabolites of the plants used were established from a factorial design  $2^2$ , using two study variables, the solvent ethanol concentration (ETOH) and the extraction time, using the technology of spray drying the ethanolic extracts were microencapsulated.

For the determination of the anti-inflammatory activity, it was subjected to in vitro tests by means of the method of membrane stabilization of human erythrocytes compared to the anti-inflammatory control used with aspirin. Identifying that the highest percentage of anti-inflammatory activity is possessed by microencapsulation from the mixture of the 8 medicinal plants with a value of 76,96 %.

Using ultraviolet-visible spectrophotometry, two phytochemical components were quantified that give the anti-inflammatory capacity to microencapsulation: total polyphenols  $93.50 \pm 1.78$  mg AG / g microencapsulated and total flavonoids  $54.80 \pm 8.61$  mg quercetin / microencapsulation g.

This research showed a synergistic effect of the mixture of the 8 plants due to the potentiation of the activity of the active ingredients that give them the anti-inflammatory capacity (polyphenols and flavonoids).

### Keywords

Active ingredients, microencapsulation, medicinal plants, anti-inflammatory activity, pharmacology.

## INTRODUCCIÓN

La importancia de los productos naturales radica en la propia función biológica en la que son biosintetizados (Ravelo, A, 2009). Las plantas, gracias a su maravilloso y complejo metabolismo, constituyen un verdadero arsenal químico, del cual sólo se conoce con éxito un tercio, considerando la variedad de especies existentes a nivel mundial y aquellas inexploradas hasta hoy (Avello, M, 2010).

Para determinar la composición química de las plantas medicinales y conocer sus constituyentes biológicamente activos puede hacerse un análisis fitoquímico preliminar, con el objetivo de determinar la presencia o ausencia de los principales grupos de metabolitos en una especie vegetal (Carvajal Rojas, L, 2009).

En la actualidad, los remedios de origen natural están en auge debido al conocimiento de los efectos secundarios que causan los medicamentos químicos en nuestro organismo. Son muchos los que optan por remedios naturales.

La inflamación es un proceso tisular constituido por una serie de fenómenos moleculares, celulares y vasculares de finalidad defensiva (Roit, IM, 1992), frente a agresiones físicas, químicas o biológicas, los aspectos básicos en el proceso inflamatorio es la focalización de la respuesta, la respuesta inflamatoria es inmediata, la atracción a las células inmunes de los tejidos cercanos (Male, DK, 1991).

La fitoterapia, gracias a la constante investigación de las propiedades de las diferentes plantas medicinales, ha sido una alternativa desarrollada que ha adquirido una gran importancia como herramienta terapéutica tanto por razones sociales, pues se tiende a terapias menos agresivas. El objetivo del presente trabajo radica en la obtención de un ingrediente activo microencapsulado que se enfoca en la determinación in vitro de la actividad biológica antiinflamatoria, para tener una base científica que respalde su empleo en el desarrollo de agentes terapéuticos, como modelos para la preparación de sustancias bioactivas, materia prima para la síntesis de sustancias de interés farmacológico o industrial como estructuras privilegiadas.

# CAPÍTULO I

## EL PROBLEMA

### 1.1. Tema de Investigación

OBTENCIÓN DE UN INGREDIENTE ACTIVO MICROENCAPSULADO CON PROPIEDADES ANTIINFLAMATORIAS A PARTIR DE 8 PLANTAS MEDICINALES

### 1.2. Justificación

La inflamación surge como un mecanismo de defensa del organismo y se produce ante estímulos perjudiciales, ya sean factores externos o internos, lesiones por agentes mecánicos, físicos, químicos, biológicos, etc. (Menéndez R, 2010). El tratamiento con plantas medicinales, utilizado desde tiempos ancestrales, es una opción para el alivio de estos síntomas (Sautebin L. 2000).

Existen diferentes formas en las que se pueden obtener beneficios del reino vegetal, resultando indispensable la búsqueda de alternativas novedosas en cuanto al desarrollo de productos naturales, poniendo gran interés en las especies vegetales con capacidad antiinflamatoria en diferentes plantas como : Hierba luisa (hojas), Menta (hojas), Albahaca (hojas), Alcachofera (planta), Alcachofa (fruto), Canela (corteza), Jengibre (raíz) y Té Verde (hojas), debido a sus usos tradicionales en la medicina es necesario contribuir con investigaciones que describan los principios activos y compuestos fotoquímicos de las plantas en estudio, aportando beneficios para la humanidad, ya que han demostrado tener un resultado importante combatiendo la inflamación y el dolor de algunas enfermedades, lo que se debe fundamentalmente a componentes activos como polifenoles y flavonoides, responsables de estos efectos que ejercen acción sobre el organismo humano, actúan inhibiendo la cascada de las citoquinas pro inflamatorias en los macrófagos.

La presente investigación servirá como fundamento para una posterior aplicación en el diseño y fabricación de preparaciones farmacológicas, cuyo objetivo principal será

lograr una respuesta terapéutica previsible a un fármaco que forme parte de una formulación y que éste pueda fabricarse a gran escala con una calidad reproducible, de manera que en un futuro se expendan medicamentos antiinflamatorios de origen natural que permitan mejorar la calidad de vida de los consumidores, debido a los beneficios que brinda por su bajo grado de reacciones adversas y tóxicas en comparación con los medicamentos sintetizados químicamente. En cuanto al impacto económico será positivo para poblaciones que se dedican a la comercialización de la materia prima (plantas) y para las personas que los van a consumir debido a que será más accesible por la reducción de costos durante su producción.

### **1.3. OBJETIVOS**

#### **1.3.1. Objetivo General**

Obtener un ingrediente activo microencapsulado con propiedades antiinflamatorias a partir de 8 plantas medicinales.

#### **1.3.2. Objetivos Específicos**

- Analizar las mejores condiciones para la extracción de metabolitos vegetales empleando un diseño experimental a partir de: *Mentha sativa* L, *Cymbopogon citratus*, *Ocimum basilicum* L, *Cynara scolymus* (alcachofera), *Cynara scolymus* (alcachofa), *Cinnamomum verum* J, *Zingiber officinale* L, *Camellia sinensi*
- Elaborar un microencapsulado a partir de los concentrados de los extractos vegetales de 8 plantas mediante secado por aspersión.
- Cuantificar polifenoles y flavonoides totales del microencapsulado
- Evaluar la actividad antiinflamatoria de los extractos vegetales de cada planta y del ingrediente activo microencapsulado mediante el método de estabilización de la membrana de los eritrocitos

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Antecedentes investigativos

##### 2.1.1. Propiedades medicinales de las plantas

Las plantas tienen propiedades y aplicaciones específicas, el uso de plantas como medicina natural tradicional es una excelente alternativa para el tratamiento o curación de enfermedades. Como parte de acción de su metabolismo, las plantas sintetizan componentes denominados como metabolitos secundarios, estas propiedades químicas se han investigado ampliamente desde mediados del siglo XIX (Freire Segura, K. S, 2017).

Las primeras aplicaciones fitoterapéuticas que desarrolló el ser humano tuvieron lugar, en principio, por una sabiduría ancestral e innata, de conexión energética con el medio. Por sus usos tradicionales en la medicina se ha visto la necesidad de realizar investigaciones que contribuyan con la descripción de los principios activos y otros compuestos fotoquímicos característicos de las plantas en estudio: Menta, hierba luisa, albahaca, alcachofa, jengibre, canela, té verde.

##### 2.1.2. Menta (*Mentha sativa* L)

###### 2.1.2.1. Clasificación taxonómica

Según la enciclopedia de Terranova (2001) la menta tiene la siguiente clasificación:

Nombre científico: *Mentha sativa* L

Nombre común: Hierbabuena, Menta piperita

Phylum: Euphyta

Reino: Vegetal

División: Angiospermae

Clase: Angiospermae

Subclase: Dicotyledoneae

Orden: Tubiflorae

Familia: Labiatae

Género: *Mentha*

Especie: *sativa*



### 2.1.2.2. Composición Química

La hoja ha sido ampliamente estudiada y contiene, entre otros componentes, aceite esencial: mentol, mentona, cineol; flavonoides: diosmina, eriocitrina, hesperidina, narirutina, luteolina, rutinósido, entre otros; que le da su olor tan característico y le confiere además sus propiedades farmacológicas (Guedon y Pasquier, 1994).

### 2.1.2.3. Propiedades Medicinales

Carminativa, antiespasmódica, antiséptica, estimulantes, estomáquicas, antifúngicas, eupépticas, colagogo, antiemético, espasmolítico, antipruriginoso, colerético, analgésico, energética, antiinflamatorio y vasodilatador para tratar enfermedades respiratorias (Muñoz, 1996).

## 2.1.3. Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*)

### 2.1.3.1. Taxonomía

Según Soto Rafaela en su estudio de la hierba luisa la clasifica de la siguiente manera:

Reino: Cormobionta

División: Magnoliophyta

Clase: Liliatae (Liliopsida)

Sub-clase: Commelinidae

Orden: Cyperales

Familia: POACEAE (Gramíneas).

Género: *Cymbopogon* Spreng.

Especie: *citratus* Stapf



### 2.1.3.2. Composición Química

Domínguez (1999) Determina que la hierba luisa posee oxidasas y vestigios de saponinas, además de aceite esencial en porcentajes de 0,195 en hojas; 0,132 en ramas floríferas, 0,014 en raíces y 0,007 en tallos, rico en: citral, linalol, canfeno, terpineol, cariofileno, limoneno, flavonoides

### 2.1.3.3. Propiedades Medicinales

Soraru, S. y Bandoni, A (1998) Antibacterial, antioxidante, expectorante, antiasmático, antiinflamatorio, anticancerígeno. Para facilitar la digestión o en estómagos débiles o nerviosos, ejerce una función tónico estomacal, digestiva y tranquilizante, evitando los espasmos.

### 2.1.4. Albahaca (*Ocimum basilicum* L.)

#### 2.1.4.1. Taxonomía

Reino: Plantae

División: Magnolophyta

Subclase: Asteridae

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Tribu: Ocimeae

Género: *Ocimum*

Especie: *Ocimum basilicum* L



Flores (1997)

#### 2.1.4.2. Composición Química

Las hojas de la albahaca tienen notables compuestos químicos conocidos por sus propiedades medicinales, flavonoides polifenólicos como la orientina y la vicenina, aceites esenciales como el eugenol, citronelol, lináloe, cidral, limoneno y terpinol, beta-caroteno, vitamina A, criptoxantina, luteína y zeaxantina.

#### 2.1.4.3. Propiedades Medicinales

Propiedades antiinflamatorias y antibacteriales, protección contra los radicales libres y las especies reactivas de oxígeno que juegan un papel importante en el envejecimiento, filtra los rayos UV, propiedades antioxidantes y características esenciales para la visión, mantiene saludables las membranas mucosas y la piel.

### 2.1.5. Alcachofera (*Cynara scolymus* L)

Es la hoja de la planta de la alcachofa, muy utilizada tradicionalmente en la medicina popular para proteger y cuidar el hígado de forma natural.

#### 2.1.5.1. Taxonomía

Reino: Vegetal.

División: Espermatofita.

Clase: Dicotiledónea.

Orden: Tubiflora.

Familia: Asteraceae.

Género: *Cynara*.

Especie: *Scolymus*.



Ecoagricultor (2018)

#### 2.1.5.2. Composición Química

Contiene cinarina, un ácido muy potente que estimula la secreción de bilis y protege el hígado, pero también actúa sobre las células de los riñones para que aumente la secreción de orina. La alcachofera también está compuesta por fitosteroles, inulina, mucílagos, vitaminas del complejo B y minerales como el magnesio, selenio, zinc, cobre, calcio, hierro o potasio, ácido fólico, niacina, hidratos de carbono, fibras, fósforo, Sodio, vitaminas (C, E, A).

#### 2.1.5.3. Propiedades Medicinales

- Favorece la eliminación de toxinas del hígado, ayuda a eliminar los edemas, estimula la regeneración de las células del hígado, tiene gran capacidad depurativa, ayuda a eliminar celulitis, está indicada para la Hepatitis, combate el estreñimiento, ya que, estimula los movimientos intestinales
- Al estimular la eliminación de líquidos, la alcachofera no sólo está indicada para casos de retención de líquidos, sino que además es muy beneficiosa para el ácido úrico alto, artritis o enfermedades circulatorias

## 2.1.6. Alcachofa (*Cynara scolymus* L)

Tomando como referencia al estudio de Narváez G. (2000, p.7)

### 2.1.6.1. Taxonomía

Reino: Vegetal.

División: Espermatofita.

Clase: Dicotiledónea.

Orden: Tubiflora.

Familia: Asteraceae.

Género: *Cynara*.

Especie: *Scolymus*.



### 2.1.6.2. Composición Química

- Ácidos fenólicos y derivados de ácido cinámico como la cinarina, ácidos clorogénico, neoclorogénico y criptoclorogénico, así como ácidos cafeico, cafeilquínico y dicafeilquínico.
- Flavonoides (0,5%): cinarósido, cinarotriósido y luteolina.
- Lactonas sesquiterpénicas: cinaropicrina, deshidrocinaropicrina, aquerina B.
- Ácidos orgánicos, málico, láctico y fumárico.
- Polisacáridos heterogéneos, mucílagos, inulina, triterpenos, taninos, esteroides, Beta-sitosterol, estigmasterol, aceite esencial

### 2.1.6.3. Propiedades Medicinales

Colagogo, diurético, útil para prevenir la arterioesclerosis y combatir la ictericia, dispepsia e insuficiencia hepática, contra la gota y reumatismo. Antirradicalar (disminuye la producción de radicales libres) con actividad antioxidante. La Cinarina, s flavonoide de acción antiinflamatoria. y cinaropicrina tiene un papel preventivo en enfermedades tumorales. Según Kozel (1981) ayudan a combatir enfermedades de las vías urinarias, Cinarósido: flavonoide de acción antiinflamatoria., dificultosa secreción de la orina, diabetes, etc.

## 2.1.7. Canela (*Cinnamomum verum* J)

### 2.1.7.1. Taxonomía

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Lurales
Familia:	Lauraceae
Género:	<i>Cinnamomum</i>
Especie:	<i>Cinnamomum verum</i>



GALVIS, J.A. (1995).

### 2.1.7.2. Composición Química

- Ácidos: ascórbico, palmítico p-cumérico (corteza)
- Terpenos: alfa-pineno alfa-terpineno, alfa-ylangeno, beta pineno canfeno, cariofileno, limoneno, linalol
- Aceite esencial: Rico eugenol, farnesol, gamma-terpineol, geraniol, isoeugeneol, cariofileno, 3-fenilpropenal (aldehído cinámico)
- Furfural, Alcanfor, Fibra, Taninos, Mucílagos, Sacarosa, Vainilla, Minerales: boro, calcio, zinc, cobre, cobalto, cromo, fósforo, hierro, mangesio, niquel, plomo, potasio, sodio, yodo
- Vitaminas: Vitamina C, niaciacina, tiamina (KUBECZKA K. H. 2002).

### 2.1.7.3. Propiedades Medicinales

Propiedades antifúngicas y antibacteriales.

Blume y C. camphora L. La canela tiene efectos biológicos: analgésico, antiespasmódico, antiinflamatorio afrodisiaco, astringente, carminativo, hemostático, insecticida y parasiticida (LEGGÉ, A.P, 1994)

## 2.1.8. Jengibre (*Zingiber officinale* L)

### 2.1.8.1. Taxonomía

Reino: Plantae

Familia: Zingiberaceae

Género: Jengibre

Especie: Officinalis

Nombre científico: *Zingiber Officinale*



BORJA, CHIMBO, 2013

### 2.1.8.2. Composición Química

Zingibereno, dextrcamfeno, metilheptenona, pinol, linalol, geraniol, citral, borneol, bisaboleno, farneseno, curcumeno, zingiberol, aldehídos decílicos y nonílicos, resina, compuestos fenólicos (gingerol y shogaol o zingiberona)

### 2.1.8.3. Propiedades Medicinales

Diaforético y antigripal (fiebre, escalofríos, cefalea, congestión nasal, gripes, resfriados, rinitis), antiemético, antitusivo y expectorante (bronquitis agudas o crónicas, enfermedad pulmonar obstructiva crónica), desintoxicante, inhibidor de la agregación plaquetaria, hipolipemiente, antiinflamatorio: en artritis reumatoide y molestias musculares debido al efecto inhibidor de la ciclooxigenasa y la lipooxigenasa, disminuye la síntesis de leucotrienos y prostaglandinas (Ballester Barquero,2016).

## 2.1.9. Té Verde (*Camellia sinensis*)

### 2.1.9.1. Taxonomía

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Ericales

Familia: Theaceae

Tribu: Theae

Género: *Camellia*

Especie: *C. sinensi*



Maldonado, P. (2016)

### **2.1.9.2. Composición Química**

Presenta más de 300 compuestos químicos: proteínas, hidratos de carbono, vitaminas (A, B, C y E), sales minerales ricas en potasio, manganeso y flúor, ácidos orgánicos (málico, succínico, oxálico y galoquínico), compuestos glucídicos (inositol), azúcares reductores, gomas, pectinas e incluso una pequeña cantidad de lípidos. (Sarmiento, 2010). Entre los principios activos: los polifenoles, flavonoides: catequinas, epicatequina, epicatequina galato (ECg), epigalocatequina, epigalocatequina (García, 2013)

Según Bustamante (2012), presenta alcaloides principalmente la cafeína teofilina y teobromina

### **2.1.9.3. Propiedades Medicinales**

Tiene la propiedad antioxidante (Quintana, 2008), además es hipoglucemiente, es "hipolipemiente", reduce los niveles de LDL-colesterol y de triglicéridos plasmáticos, eleva los niveles de HDL colesterol, el colesterol bueno" (Sarmiento, 2010). Útil en la prevención del cáncer, acción inhibitoria sobre la carcinogénesis, presenta efecto antihipertensivo y antiinflamatorio (López, 2014), evitan el crecimiento, la adherencia y el almacenamiento de los polisacáridos intracelulares. Inhiben la adherencia y la producción de ácido láctico, el ácido tánico inhibe la síntesis de dextranos solubles e insolubles (Moroni, 2007).

### **2.1.10. Uso de Plantas como Medicina Natural**

En el Ecuador el uso de plantas medicinales está inmerso en la cotidianidad de sus habitantes debido principalmente a que el conocimiento médico ancestral es inmenso. Pérez, A. (2012). Se reportan 3118 especies pertenecientes a 206 familias de plantas usadas con fines medicinales en el País. Estas son utilizadas para aliviar manifestaciones de enfermedades que pueden o no ser diagnosticadas por el enfermo o el tratante. Los productos del metabolismo secundario de las plantas son los principios activos los cuales proporcionan beneficios de prevención o curación con efecto fisiológico en el organismo.

La incorporación y utilización de las plantas medicinales en el tratamiento de diversas reacciones inflamatorias, son prácticas comunes en la medicina tradicional.

En la actualidad es evidente que el interés de las sustancias antiinflamatorias de origen vegetal va en aumento, porque ofrecen en algunos casos ventajas en relación a los antiinflamatorios clásicos, como es la baja incidencia de efectos secundarios

#### **2.1.11. Evidencia Científica de la Actividad Antiinflamatoria de las plantas**

En la literatura científica se encuentran reportes de usos tradicionales en plantas medicinales, con diferentes formas de preparación, para afecciones que evolucionan con dolor e inflamación como amigdalitis, cefaleas, aftas, picaduras, salpullidos, artritis, entre otras. No son suficientes los estudios preclínicos para validar esta actividad y el empleo tradicional de esas preparaciones, por lo que el objetivo de la investigación es evaluar el efecto antiinflamatorio preclínico de preparaciones obtenidas de las cinco plantas medicinales con uso tradicional (Brito Álvarez, G, 2014).

Las plantas medicinales constituyen un elemento terapéutico por excelencia en la medicina tradicional y popular. El estudio en este campo representa un desafío para los investigadores, quienes tratan de demostrar con evidencias científicas sus propiedades terapéuticas en la medida en que reconocen los verdaderos beneficios de estos productos para la salud (Sánchez N, 2012).

Existe una relación muy estrecha entre la composición química de sustancias antioxidantes en las plantas y su acción antiinflamatoria. Metabolitos secundarios como los flavonoides, taninos y otros compuestos polifenólicos son reconocidos como sustancias antioxidantes y antiinflamatorias (Quiles A, 2013).

#### **2.1.12. Actividad Biológica con experimentación in vitro**

##### **2.1.12.1. Actividad antiinflamatoria**

La inflamación es la respuesta del tejido vivo vascularizado a la lesión; puede ser causada por agentes biológicos, físicos o químicos. Existe liberación de sustancias mediadoras: bradiquinina, prostaglandina, histamina y serotonina-, que inducen permeabilidad vascular (Enciso, E, 2011)

Los aspectos básicos que se destacan en el proceso inflamatorio son en primer lugar, la focalización de la respuesta, que tiende a circunscribir la zona de lucha contra el agente agresor. En segundo lugar, la respuesta inflamatoria es inmediata, de urgencia y por tanto, preponderantemente inespecífica, aunque puede favorecer el desarrollo posterior de una respuesta específica. En tercer lugar, el foco inflamatorio atrae a las células

inmunes de los tejidos cercanos. Las alteraciones vasculares van a permitir, además, la llegada desde la sangre de moléculas inmunes (Gallin, JI, 1989)

#### **2.1.12.2. Acción de los medicamentos antiinflamatorios**

Los grupos fenólicos que presentan en su composición los medicamentos antiinflamatorios brindan protección a las células en caso de infecciones o lesiones (Harbone & Baxter, 1999). La estabilización de la membrana eritrocitaria permite disminuir el proceso de inflamación, evitando la liberación de elementos lisosómicos (enzimas proteasas y bactericidas), dándole propiedades de resistencia frente a la degradación proteolítica a partir de la estabilización de proteínas como el colágeno.

Para el tratamiento de enfermedades inflamatorias como la artritis, reumatismo y arteriosclerosis, resulta frecuente la utilización de plantas medicinales, debido a los beneficios que estas brindan ya que los efectos secundarios de su consumo son mínimos comparados con los de procedencia química (P. García, 2008).

#### **2.1.12.3. Elementos fenólicos en actividades antiinflamatoria**

Las familias de los principales fitoquímicos con propiedades anti-inflamatorias son los carotenoides, compuestos fenólicos, alcaloides que se obtienen a partir de extractos vegetales, contribuyen de manera preventiva para evitar enfermedades causadas por alteraciones inmunológicas.

Los compuestos fenólicos, se constituyen en el grupo más abundante de sustancias bioactivas, presentes en alimentos con pigmentos principalmente oscuros y coloridos en una amplia variedad de frutos, vegetales y especias, capaces de interferir en procesos bioquímicos y metabólicos asociados (González Cabrera, M. V. 2011).

Existen evidencias científicas que aseveran el poder inhibitorio de los flavonoides sobre las enzimas que actúan en procesos antiinflamatorios (V. García et al., 2007).

#### **2.1.13. Secado por Aspersión**

Técnica empleada para microencapsular principios activos útiles en la industria farmacéutica en forma de polvo para ser incorporados en formulaciones o emulsiones. Se basa en que el metabolito presentado (polvo) pueda ser almacenado y conservado por un largo periodo de tiempo.

Su principio de operación se basa en la atomización del producto generando de esta forma pequeñas microgotas, las cuales al estar en contacto con una corriente de aire

caliente (entre 150 °C a 300 °C) son pulverizadas, el aire actúa como medio de calefactor y fluido de transporte.

El contacto del producto con el aire caliente es crítico con respecto al rendimiento y calidad de secado. Las condiciones aquí establecidas como flujo de aire, temperatura de entrada y salida del mismo, temperatura de alimentación, diámetro de gota, velocidad de aire, etc., determinan las propiedades del producto final. Las partículas obtenidas en su mayoría son esféricas y su tamaño oscila en la escala de micras dando estabilidad y eficiencia referente a la dosis particulada (Vehring, 2008).

## **2.2 Hipótesis**

**2.2.1.** La combinación de los concentrados vegetales empleando parámetros óptimos de extracción: tiempo (h) y concentración de disolvente (ETOH) a partir de 8 plantas medicinales incide en la obtención de un Ingrediente Activo Microencapsulado con Propiedades Antiinflamatorias.

### **Hipótesis Nula**

La combinación de los concentrados vegetales empleando parámetros óptimos de extracción: tiempo (h) y concentración de disolvente (ETOH) a partir de 8 plantas medicinales no incide en la obtención de un Ingrediente Activo Microencapsulado con Propiedades Antiinflamatorias

### **Hipótesis Alternativa**

La combinación de los concentrados vegetales empleando parámetros óptimos de extracción: tiempo (h) y concentración de disolvente (ETOH) a partir de 8 plantas medicinales si incide en la obtención de un Ingrediente Activo Microencapsulado con Propiedades Antiinflamatorias

## **2.3. Señalamiento de variables de la hipótesis**

### **2.3.1. Variables Independientes**

- Tiempo
- Concentración del disolvente
- Combinación de los concentrados vegetales

### **2.3.2. Variables Dependientes**

### **Actividades Biológicas**

- Antiinflamatoria

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Materiales

Papel aluminio, lienzo, cedazo, vasos de precipitación de 1000, 600 y 250 ml (PYREX), probetas graduadas de vidrio de 1000, 500, 100 y 50 ml (Boro), agitador magnético, varilla de agitación, tubos plásticos de centrífuga, micropipetas de 100–1000  $\mu$ L, balones de aforo, balón rotoevaporador (IKA RU8, USA), celdas plásticas de 1 ml para espectrofotómetro, guantes quirúrgicos, mascarillas, toallas de papel.

#### 3.2. Equipos

Estufa (Gander MTN), cámara de molido (IKA WERKE M20), balanza analítica (Mettler Toledo XS 4002S), balanza de Humedad (5Q-5/10), plancha de calentamiento con agitador magnético (Super Nouva Multiplace, Thermo Scientific), refrigeradora, rotoevaporador (IKA RU8, USA), baño María (IKA, USA), spray dryer (BÜCHI Mini Spray Dryer (B-290, Switzerland), centrífuga (Hettich Zentrifugen, Germany), espectrofotómetro UV-VIS (Colorímetro 25FQ Génesis).

#### 3.3. Reactivos

##### 3.3.1. Preparación de extractos vegetales

Etanol 96 %, agua destilada

##### 3.3.2. Microencapsulación

Maltodextrina (Roig Farma, España) y Goma arábica (Roig Farma, España)

##### 3.3.3. Actividad Antiinflamatoria

Tubos con anticoagulante EDTA, Sangre de un paciente voluntario en buen estado de salud, que no haya consumido antiinflamatorios en los últimos 15 días, aspirina (ácido salicílico de 650 mg) (Bayer), Solución tampón fosfato (PBS) pH 7,4

### **3.3.4. Para la determinación de Polifenoles Totales**

Ácido Gálico Estándar (Sigma- Aldrich G7384), Folin & Ciocalteu's Phenol Reagent (MP, Biomediate), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Sodium Bicarbonate, Merck, USA).

### **3.3.5. Para determinación de Flavonoides Totales**

Quercetina al 98 % (HPLC), Etanol al 80 %, Acetato de Potasio 1 mol/l y Nitrato de Aluminio al 10 %.

## **3.4. Métodos**

### **3.4.1. Recolección de material vegetal**

Se adquirió en el mercado modelo de la Ciudad de Ambato las partes de las plantas que presentan las propiedades antiinflamatorias, menta (hojas), hierba luisa (hojas), albahaca (hojas), alcachofera (planta), alcachofa (fruta), jengibre (raíz), canela (corteza), té verde (hojas).

### **3.4.2. Preparación del extracto vegetal**

#### **3.4.2.1. Obtención de material vegetal molido**

El material vegetal (hojas) se lavó con agua para eliminar las impurezas, el material vegetal limpio, se colocó en una Estufa (Gander MTN) a una temperatura de 60 °C, para ayudar a secarlas de forma rápida. Con la ayuda de una cámara de molido (IKA WERKE M20), se trituró las hojas secas y se almacenó en fundas ziploc, en un lugar seco. Con la ayuda de una balanza analítica (Mettler Toledo XS 4002S) se pesó la materia vegetal molida 20,5 g por cada planta.

#### **3.4.2.2. Obtención de extracto vegetal líquido**

##### **3.4.2.2.1. Obtención del Extracto líquido (análisis de las mejores condiciones de extracción)**

Para la obtención de los extractos acuosos se utilizó una relación 1:13 empleando 20,5 g del material vegetal molido con 250 ml del disolvente (etanol) tomando en cuenta dos variables la concentración del disolvente (50 % y 70 %) y el tiempo (1 y 2 horas) para cada planta, a partir de un diseño experimental 2<sup>2</sup>. La mezcla se colocó en un vaso de precipitación de 500 ml (PYREX), y con la ayuda de una plancha de calentamiento

(IKA C-MAGHS7) se calentó a 60 °C (temperatura óptima menor a la de ebullición del disolvente) y 600 min<sup>-1</sup> se empleó un agitador magnético para mantener una agitación constante. La mezcla se filtró (empleando lienzo) para eliminar los sólidos, a partir del extracto líquido, se midió la concentración de sólidos totales empleando una balanza de humedad.

#### **3.4.2.2.2. Obtención y análisis del extracto líquido (mejor condición para cada planta)**

Para la obtención de los extractos líquidos finales se tomó en cuenta las condiciones del mejor ensayo: se pesó 82 g del material vegetal molido (hierba luisa, menta, alcachofera (planta), alcachofa (fruta), canela, jengibre, albahaca, té verde) y se mezcló con 1000 ml de disolvente Etanol (EMSURE, USA) resultando una proporción 1:13. La mezcla se colocó en un vaso de precipitación de 1000 ml (PYREX), se utilizó una plancha de calentamiento con agitación constante (IKA C-MAGHS7) a 60 °C (temperatura menor a la de ebullición del disolvente) y 800 min<sup>-1</sup>, con ayuda de un agitador magnético para tener una agitación constante. Las mezclas (material vegetal molido y disolvente de las plantas empleadas) se filtraron mediante un lienzo para eliminar los sólidos, las mismas que se almacenaron en una botella ámbar en el refrigerador, hasta ser posteriormente concentradas mediante el rotoevaporador.

#### **3.4.3. Determinación de humedad de extractos líquidos**

A partir de una balanza de humedad (5Q-5/10) previamente calibrada, se colocó 3 g del extracto líquido de cada planta, en el plato de aluminio de la balanza, una vez transcurrido el tiempo necesario, el equipo reveló el valor de la humedad de cada extracto líquido. El valor del porcentaje de sólidos solubles totales (SST) resultó de la diferencia del cien por ciento menos el porcentaje de humedad, el proceso se realizó por triplicado, para tener valores más precisos.

A continuación, se calculó la masa de sólidos extraídos aplicando la siguiente ecuación:

$$\text{Masa de Sólidos extraídos} = \frac{(\%SST \ 100) * V_{\text{extracto}}}{g \ (Materia \ Vegetal)} * 100 \quad [\text{Ec.1}]$$

#### **Dónde:**

**SST:** sólidos solubles totales

**V extracto:** Volumen del extracto (ml)

**g :** Materia vegetal seca de cada planta

(López, Muñoz, Carmona, Torres, & González, 2006)

### 3.4.4. Concentración de extractos líquidos

Se empleó un rotoevaporador (IKA RU8, USA) para concentrar el Extracto líquido de cada una de las 8 plantas: hierba luisa, menta, alcachofera, alcachofa, albahaca, jengibre, canela y té verde, cada uno de los extractos fueron colocados en el balón de vidrio del equipo, este consta de un baño maría que permitió calentar el extracto a 70 °C con una constante rotación de 200 min<sup>-1</sup>, proceso que se llevó a cabo hasta haber evaporado la mayor cantidad del disolvente de la mezcla (Etanol).

### 3.4.5. Microencapsulación de los extractos líquidos por Spray Dryer

A partir de un cálculo que involucró el volumen de extracto líquido, el porcentaje de Sólidos Totales y el volumen de cada concentrado, se determinó el volumen necesario de cada uno de los concentrados para realizar una mezcla final y posteriormente microencapsular, inicialmente se precalentó la mezcla de los concentrados empleando una plancha (IKA C-MAGHS7) hasta llegar a una temperatura de 60 °C, posteriormente se agregó maltodextrina 31,04 g y goma arábiga 31,04 g, se mezcló constantemente hasta que se disuelva en su totalidad. Se empleó un Spray Dryer (BÜCHI Mini Spray Dryer B-290, Switzerland), donde se colocó la manguera de absorción del Spray Dryer y se programó el equipo controlando factores: temperatura de entrada (140 °C), una vez alcanzada se abrió el flujo de aire y de agua para tener un control de temperatura de salida de (80 °C), porcentaje de aspiración, porcentaje de la bomba. El producto final (microencapsulado) se recolectó y posteriormente se pesó empleando una balanza analítica (Mettler Toledo XS 4002S. Para la determinación del rendimiento de secado se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Rendimiento Secado} = \frac{\text{Peso obtenido (g)}}{\text{Peso teórico (g)}} * 100 \quad [\text{Ec.2}]$$

### 3.4.6. Evaluación de Actividad Antiinflamatoria

#### 3.4.6.1. Solución de eritrocitos al 40%

Para el análisis de la capacidad antiinflamatoria del microencapsulado se empleó el método realizado por Kumar et al. (2011). Se partió de una solución de eritrocitos al 40 %. Para lo cual se debió contar con la aprobación de un voluntario sano que haya evitado el consumo al menos durante 15 días de medicamentos antiinflamatorios, se extrajo 5 ml de sangre y se colocó en un tubo de 5 ml con anticoagulante EDTA

(MONOJECT, USA), se empleó una centrífuga (Hettich Zentrifugen, Germany), durante un lapso de 5 minutos a  $3000 \text{ min}^{-1}$  para que se dé la separación de fases, se utilizó una micropipeta para retirar el plasma sanguíneo, mientras que al precipitado (eritrocitos) se le añadió 3 ml de PBS (solución tampón fosfato pH 7,4) (Thermo Scientific Fisher, USA), la mezcla se llevó a centrifugar por 5 minutos a  $3000 \text{ min}^{-1}$ , este proceso se repitió 4 veces. Al final del 4to lavado se procedió a preparar la solución de eritrocitos al 40 % en tampón fosfato pH 7,4.

### **3.4.6.2. Determinación de la actividad antiinflamatoria por el método de estabilización de la membrana de los glóbulos rojos o eritrocitos**

Se empleó el método desarrollado por (Rashid et al, 2011), para cuantificar el porcentaje de actividad antiinflamatoria del microencapsulado formulado a partir de los extractos vegetales de las 8 plantas (hierba luisa, menta, alcachofera, alcachofa, albahaca, jengibre, canela, té verde). Se preparó la solución madre (extracto vegetal en tampón fosfato pH 7,4 a una concentración de 40 mg/ml), y partiendo de esta se preparó 3 ml de solución del extracto vegetal en Buffer fosfato pH 7,4 a diferentes concentraciones (1; 1,5; 2; 2,5) mg/ml. Para la solución antiinflamatoria patrón a una concentración de 40 mg/ml, se empleó aspirina de 650 mg (Bayer) (Fernández et al., 2007) de la cual se realizó soluciones a diferentes concentraciones (1; 1,5; 2; 2,5) mg/ml.

Para cada experimento se utilizará 3 tubos: OD1, OD2 y OD3.

Dónde: **OD1:** Se añadió 3 ml del extracto vegetal, se adicionó 30  $\mu\text{L}$  de la solución de glóbulos rojos al 40 %, se mezcló ligeramente el contenido del tubo. No se lo sometió a calor y se lo dejó reposar durante 20 minutos, se centrifugó durante 10 minutos a  $3000 \text{ min}^{-1}$ .

**OD2:** Se añadió 3 ml del extracto vegetal, se adicionó 30  $\mu\text{L}$  de la solución de glóbulos rojos al 40 %, se mezcló ligeramente el contenido de los tubos, se le llevó a baño María a  $54 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 20 minutos, se centrifugó durante 10 minutos a  $3000 \text{ min}^{-1}$ .

**OD3:** Tubo control. Se añadió 3 ml de Buffer fosfato pH 7,4 (PBS), se adicionó 30  $\mu\text{L}$  de la solución de glóbulos rojos al 40 %, se mezcló ligeramente el contenido de los tubos, se llevó a baño María a  $54 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 20 minutos, se centrifugó durante 10 minutos a  $3000 \text{ min}^{-1}$

**Nota:** En ausencia del antiinflamatorio la temperatura provocó la lisis de los eritrocitos por lo que a los tubos **OD2 y OD3** se les expuso al calor

Se desarrolló el procedimiento antes descrito sustituyendo el extracto vegetal por una solución de aspirina a una concentración de 40 mg/ml.

Además, se realizó este mismo procedimiento utilizando como extracto vegetal cada uno de los concentrados de las 8 plantas de manera individual, considerando que las muestras serán líquidas y se diluirán al 40 % en PBS (buffer fosfato pH=7,4)

Se midió las absorbancias de los sobrenadantes en el espectrofotómetro UV-VIS (HACH DR 5000, Germany) a una longitud de onda de 540 nm. Se empleó como blanco de lectura PBS.

Con los valores registrados y a partir de la siguiente ecuación se determinó el porcentaje de actividad antiinflamatoria.

$$\% \text{ Actividad antiinflamatoria} = 100 * \left[ 1 - \frac{OD2 - OD1}{OD3 - OD1} \right] \quad [\text{Ec.3}]$$

**Dónde:**

**OD1:** 3 ml del extracto vegetal + 30 µL de la solución de glóbulos rojos al 40 % + reposo por 20 minutos.

**OD2:** 3 ml del extracto vegetal + 30 µL de la solución de glóbulos rojos al 40 % + baño María a 54 °C por 20 minutos

**OD3:** 3 ml de Buffer fosfato pH 7,4 (PBS) + 30 µL de la solución de glóbulos rojos al 40 % + baño María a 54 °C por 20 minutos

(Rashid et al., 2011)

#### **3.4.6.3. Método de Folin and Ciocalteu (Cuantificación de polifenoles totales)**

Siguiendo la metodología propuesta por (VASCO & RUALES, 2008) y mediante la reducción de un complejo fosfowolframato-fosfomolibdato, se dio el cambio de color de los productos (azul) por la acción de compuestos fenólicos. En un balón de aforo de 5ml se colocó 0,1 mL del extracto vegetal líquido (0,1 g del microencapsulado con 4ml de agua destilada) previamente diluido y centrifugado (15 min a 4000 min<sup>-1</sup>) y 0,1 mL del reactivo Folin–Ciocalteu, se dejó reaccionar por 3 minutos y luego se agregó 2 mL de solución de carbonato de sodio (75 g/l). Se completó el volumen de cada balón hasta el aforo (5 mL) con agua destilada, se dejó reposar a temperatura ambiente por 1 hora. Para la medición de las absorbancias a 750 nm de longitud se empleó un espectrofotómetro ultravioleta (25 FQ, Génesis), se utilizó una curva de calibración a partir de un stock de ácido gálico con diferentes concentraciones que van en un rango de 50 a 200 ppm. La determinación se hizo por triplicado.

A partir de la ecuación de la recta que se obtuvo de la curva de calibración de ácido gálico y empleando la siguiente ecuación se calculó el contenido de fenoles totales presentes en el microencapsulado.

$$[\text{Concentración}] = \frac{\text{Absorbancia} - b}{m} \quad [\text{Ec.4}]$$

Se expresó el contenido de fenoles totales en (mg GAE/g del microencapsulado)

#### **3.4.6.4. Análisis Cuantitativo por Espectrofotometría UV-V (Cuantificación de flavonoides totales)**

Para el análisis cuantitativo de la concentración de flavonoides totales se empleó espectrofotometría ultravioleta-visible, donde se utilizó reactivo de desplazamiento Lock, O (2006). Para el tratamiento de la muestra se pesó 1 g de muestra seca (microencapsulado), en un erlenmeyer de 50 mL, se añadió 20 mL de etanol al 80 %. Se llevó al ultrasonido por 30 minutos a la temperatura de 60 °C (o empleando una plancha de calentamiento). Se Filtró, y en un balón de 25 mL se colocó el filtrado y se aforó con etanol al 80 %.

En un balón de 10 mL se colocó 1 mL del extracto anterior, 200 µL de solución de acetato de potasio 1 mol/l y 200 µL de nitrato de aluminio al 10 %, se completó el volumen con etanol al 80 %. Durante 40 minutos se dejó reposar, para la medición de las absorbancias se empleó un espectrofotómetro ultravioleta (25 FQ, Génesis) y se midió a 415 nm de longitud. Se realizó las determinaciones por triplicado.

Para esto se partió de una curva estándar de Quercetina (HPLC), para la solución madre se pesó 2,7 mg de Quercetina, se colocó en un balón de 10 mL y se aforó con etanol al 80 %. Se tomó alícuotas de 350 µL, 175 µL y 100 µL que se colocó en 3 balones de 10 mL, se añadió en cada uno 200 µL de acetato de potasio 1 mol/l y 200 µL de nitrato de aluminio al 10 %, se llevó a aforo con etanol al 80 %, con ayuda de un espectrofotómetro-UV (25 FQ, Génesis) se midió las absorbancias a 415 nm de longitud para cada muestra.

#### **Cálculos:**

El contenido de flavonoides se determinó por la siguiente ecuación:

$$\text{Concentración (mg/g)} = \frac{A \cdot \text{intercepto}}{\text{pendiente}} \quad [\text{Ec.5}]$$

Se expresó el contenido de flavonoides totales del microencapsulado en (mg Quercetina/g del microencapsulado)

### **3.4.6.5 Análisis Estadístico**

Para el análisis de los datos obtenidos en la parte experimental del proyecto, inicialmente se utilizó un diseño experimental  $2^2$  para determinar las mejores condiciones de extracción de los metabolitos vegetales

Para evaluar la actividad antiinflamatoria se realizó gráficas de comparación, empleando el programa estadístico **Statgraphics Centurion**.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1 Análisis e interpretación de resultados

##### 4.1.1. Análisis fisicoquímico

##### 4.1.1.1. Determinación de sólidos solubles totales (SST) de extractos líquidos

Se obtuvieron principios antiinflamatorios de 8 plantas medicinales: Hierba luisa (hojas), Menta (hojas), Albahaca (hojas), Alcachofera (planta), Alcachofa (fruto), Canela (corteza), Jengibre (raíz) y Té Verde (hojas), partiendo de extractos etanólicos. Los valores del rendimiento de los sólidos solubles totales (SST) extraídos para cada planta se detallan en el Anexo VII.

La extracción de los sólidos solubles totales está determinada por diversos factores.

En el presente trabajo se ha estudiado la influencia del tiempo y la concentración de disolvente.

Robins (2003) señala que, entre los factores que inciden durante la extracción de los principios activos de plantas se encuentran las propiedades químicas de los metabolitos y la polaridad de los disolventes utilizados.

La determinación de sólidos extraídos es esencial para el análisis del rendimiento de los distintos tratamientos en la extracción de los principios activos de las plantas en estudio.

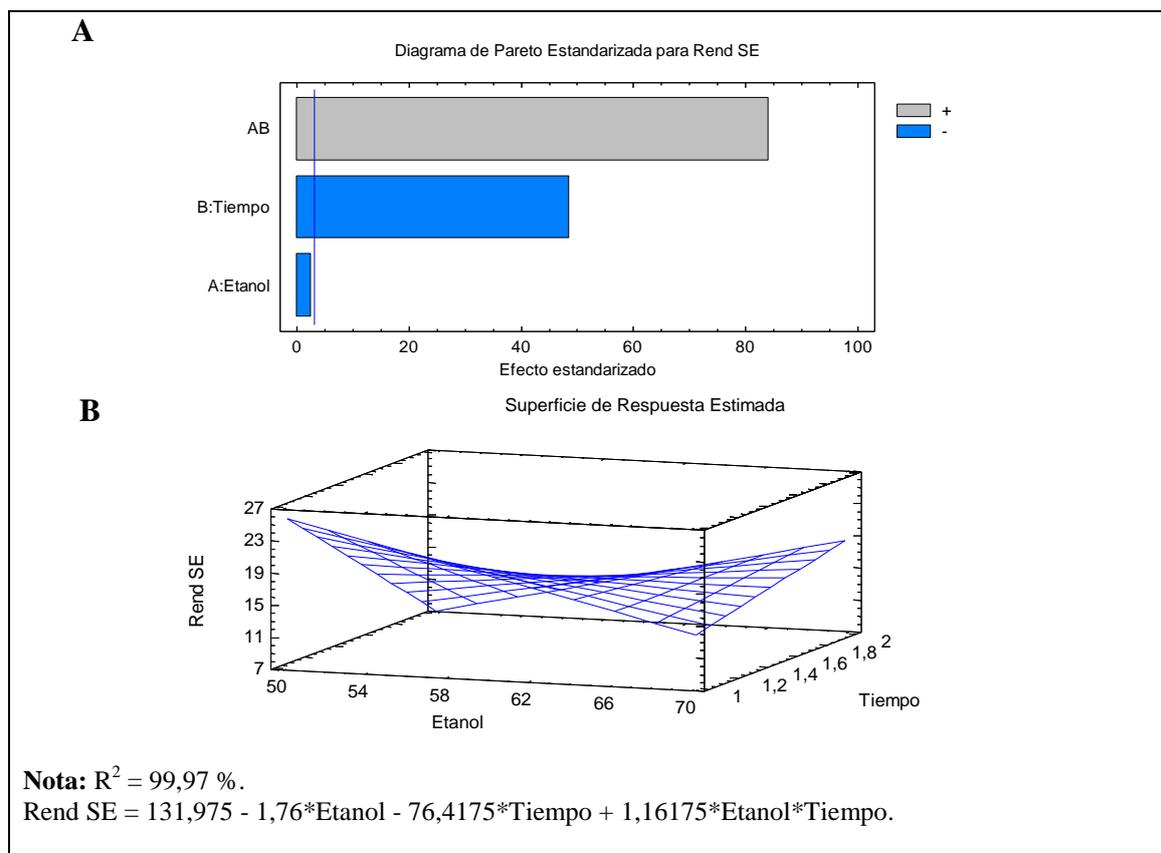
##### 4.1.1.2. Selección del mejor tratamiento para cada planta

Aplicando un diseño factorial  $2^2$ , utilizando dos factores de estudio: tiempo de extracción (h) y la concentración de disolvente (%), se determinó el mejor tratamiento por cada planta para la obtención del metabolito vegetal.

**Tabla 1. Factores y niveles del diseño experimental.**

Tratamiento	Factor A		Factor B	
	ETOH (%)		Tiempo (h)	
1	50 %	-	1 h	-
2	50 %	-	2 h	+
3	70 %	+	1 h	-
4	70 %	+	2 h	+

A continuación, en la figura 1 se muestran los gráficos del análisis estadístico para el proceso de extracción de Hierba luisa.



**Figura 1. Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Hierba luisa**  
*(Cymbopogon citratus)*

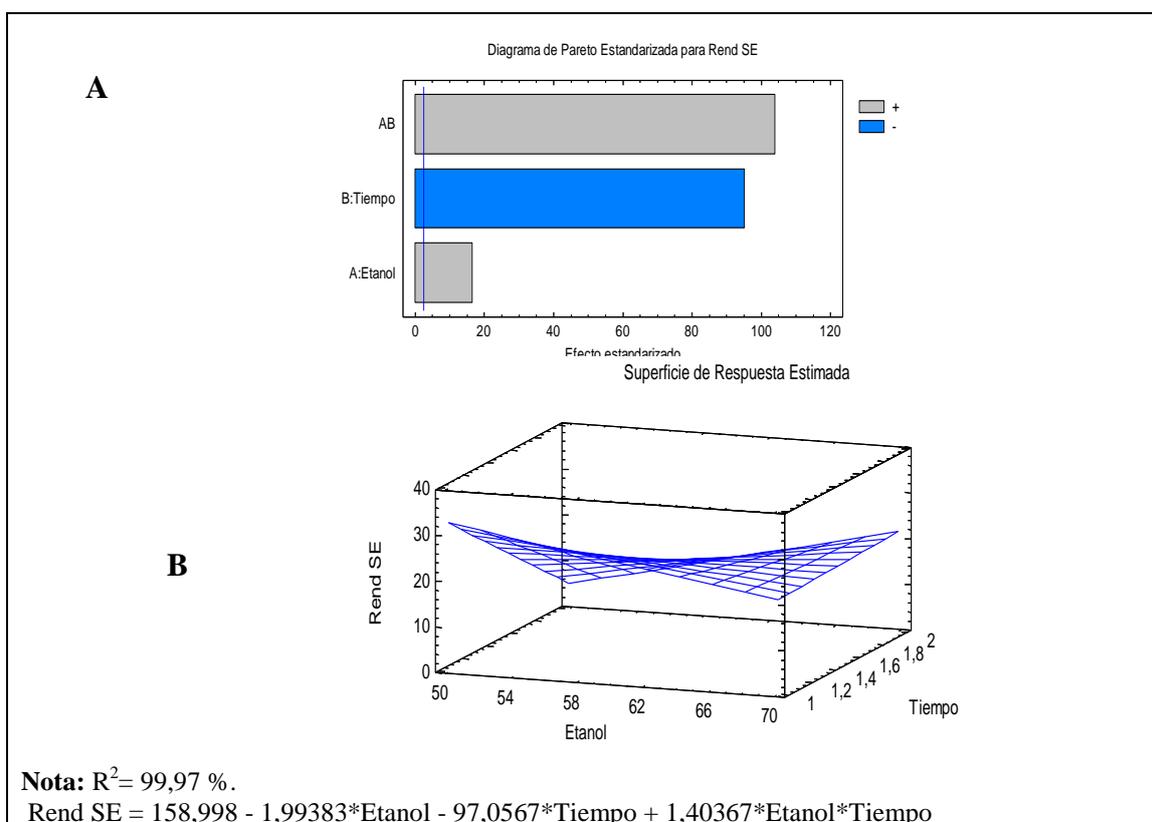
**(1A) Diagrama de Pareto Estandarizada.** AB: Interacción entre la Concentración de disolvente ETOH: Tiempo de Extracción, B: Tiempo de Extracción, A: Concentración de ETOH. Los efectos que se extienden más allá de la línea de referencia son significativos.

**(1B) Superficie de Respuesta.** Concentración de disolvente ETOH (50 % y 70 %). Tiempo de extracción en horas (1 y 2). \*Donde se optimiza la variable de interés, permitiendo determinar las mejores condiciones para el proceso de extracción.

En el Diagrama de Pareto (Fig. 1A) se observa que de los dos factores estudiados el factor B) el tiempo de extracción, tiene una influencia significativa sobre el rendimiento de sólidos extraídos al igual que la interacción, con un valor de ( $p < 0,05$ ) para un 95 % de confianza, obteniéndose un modelo con un ajuste de 99,97 %, de donde se aprecia que el tiempo influye negativamente. En el gráfico de superficie de respuesta (Fig. 1 B) se aprecia que se alcanza el mayor rendimiento en la extracción de los principios activos de la hierba luisa, para un tiempo de 1 h y una concentración de etanol de 50 % (Tratamiento 1), existió una mayor eficiencia del disolvente generando la mayor cantidad de sólidos por cada gramo de material vegetal.

Partiendo de la determinación de los sólidos extraídos, que permiten analizar el rendimiento de los distintos tratamientos para la extracción óptima de los principios activos de la planta en estudio. En cuanto al tiempo en la primera hora de extracción se da una difusión de los componentes de una fase a otra presentándose entre ellos una transferencia de masa de los componentes activos con tendencia al equilibrio (GEANKOPLIS, 1998)

A continuación, en la figura 2 se muestran los gráficos del análisis estadístico para el proceso de extracción de Menta.



**Figura 2. Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Menta**  
*(Mentha sativa L)*

**(2A) Diagrama de Pareto Estandarizada**, AB: Interacción entre la Concentración de disolvente ETOH: Tiempo de Extracción, B: Tiempo de Extracción, A: Concentración de ETOH. Los efectos que se extienden más allá de la línea de referencia son significativos.

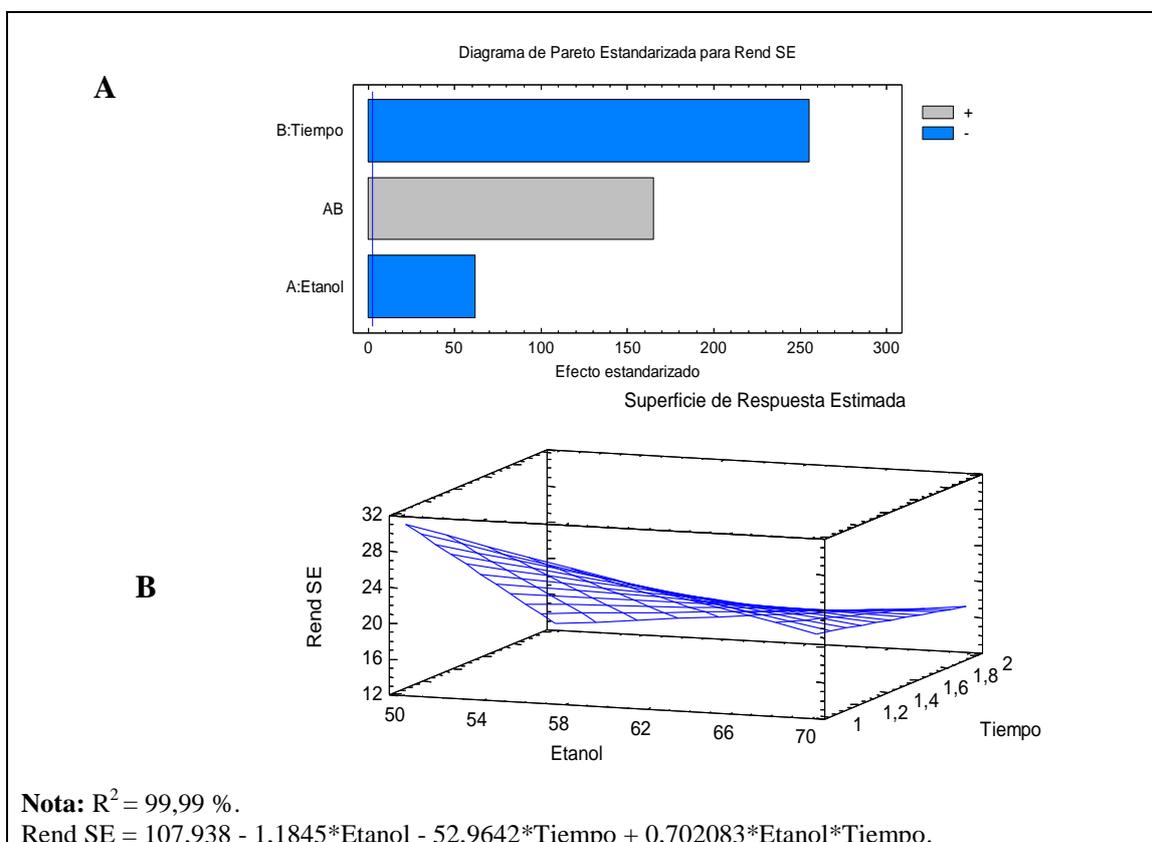
**(2B) Superficie de Respuesta**. Concentración de disolvente ETOH (50 % y 70%). Tiempo de extracción en horas (1 y 2). \*Donde se optimiza la variable de interés, permitiendo determinar las mejores condiciones para el proceso de extracción.

En el Diagrama de Pareto (Fig. 2A) se observa que los dos factores estudiados tienen una influencia significativa sobre el rendimiento de sólidos extraídos al igual que la interacción, con un valor de ( $p < 0,05$ ) para un 95 % de confianza, obteniéndose un

modelo con un ajuste de 99,97 %, de donde se aprecia que el tiempo influye negativamente y la concentración de disolvente influye positivamente. En el gráfico de superficie de respuesta (Fig. 2 B) se aprecia que se alcanza el mayor rendimiento en la extracción de los principios activos de la menta, para un tiempo de 1 h y una concentración de etanol de 50 % (Tratamiento 1) existió una mayor eficiencia del disolvente generando la mayor cantidad de sólidos por cada gramo de material vegetal. A partir de la determinación de sólidos extraídos se analizó el rendimiento de los distintos tratamientos para la extracción óptima de los principios activos de la planta en estudio. Se observa una tendencia de disminución de sólidos extraíbles conforme se aumenta la concentración de etanol. Soto-García, (2016), mencionan que la extracción incrementa al disminuir la concentración de etanol debido a la facilidad de extracción por la solubilidad que presentan los compuestos de la muestra, siendo esta al 50 % con un valor de (32,43 %).

En las primeras horas de extracción se da una difusión de los componentes de una fase a otra presentándose entre ellos una transferencia de masa de los componentes activos con tendencia al equilibrio (GEANKOPLIS, 1998), observándose que con 1 hora se da un aumento significativo en la concentración de sólidos.

A continuación, en la figura 3 se muestran los gráficos del análisis estadístico para el proceso de extracción de Alcachofa planta.



**Figura 3. Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Alcachofera (*Cynara scolymus* L)**

**(3A) Diagrama de Pareto Estandarizada**, AB: Interacción entre la Concentración de disolvente ETOH: Tiempo de Extracción, B: Tiempo de Extracción, A: Concentración de ETOH. Los efectos que se extienden más allá de la línea de referencia son significativos.

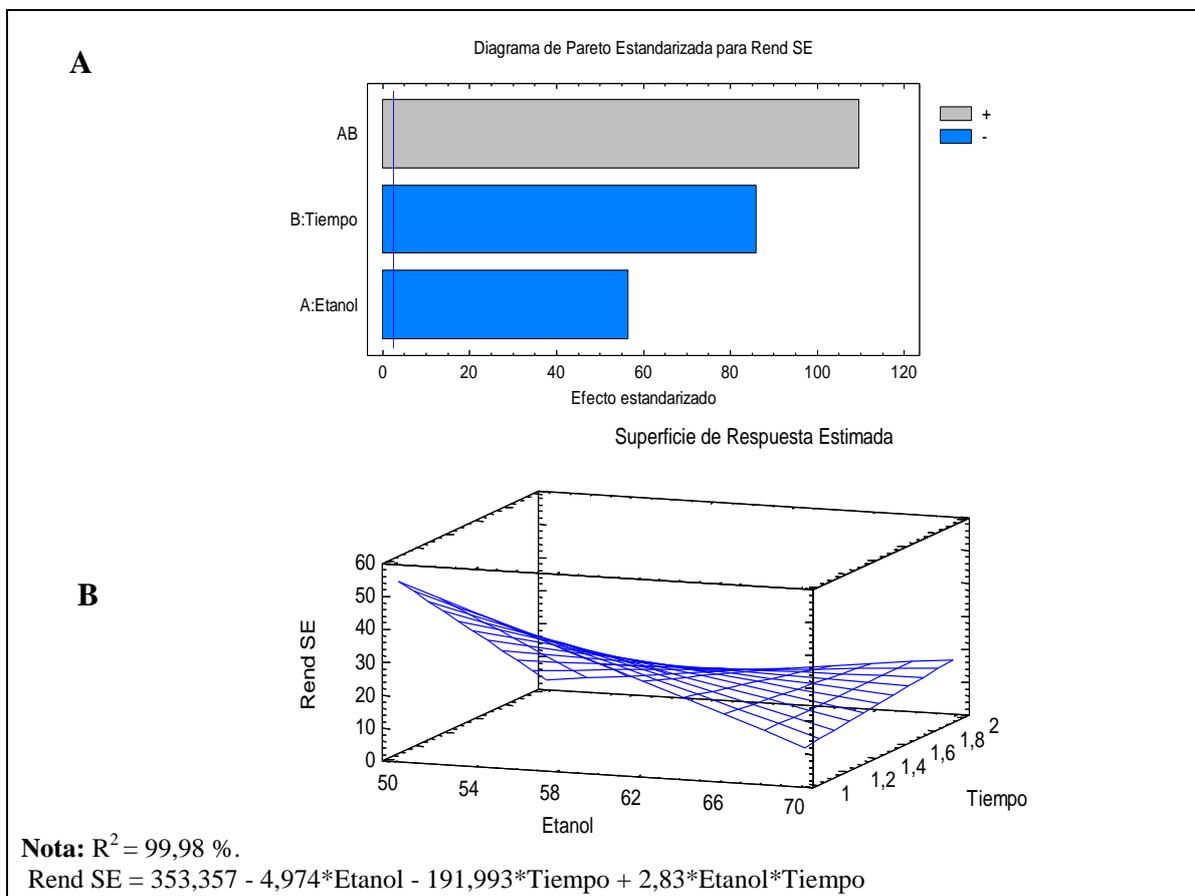
**(3B) Superficie de Respuesta.** Concentración de disolvente ETOH (50 % y 70%). Tiempo de extracción en horas (1 y 2). \*Donde se optimiza la variable de interés, permitiendo determinar las mejores condiciones para el proceso de extracción.

En el Diagrama de Pareto (Fig. 3A) se observa que los dos factores estudiados tienen una influencia significativa sobre el rendimiento de sólidos extraídos al igual que la interacción, con un valor de ( $p < 0,05$ ) para un 95 % de confianza, obteniéndose un modelo con un ajuste de 99,99 %, de donde se aprecia que el tiempo influye negativamente y la concentración de disolvente en el mayor nivel. En el gráfico de superficie de respuesta (Fig. 3 B) se aprecia que se alcanza el mayor rendimiento de sólidos extraídos para un tiempo de 1 h y una concentración de etanol de 50 %

(Tratamiento 1). Existió una mayor eficiencia del disolvente generando la mayor cantidad de sólidos por cada gramo de material vegetal.

A partir de la determinación de sólidos extraídos se analizó el rendimiento de los distintos tratamientos para la extracción óptima de los principios activos de la planta en estudio. Se observa una tendencia de disminución de sólidos extraíbles conforme se aumenta la concentración de etanol. Soto-García, (2016), mencionan que la extracción incrementa al disminuir la concentración de solvente siendo esta al 50 % con un rendimiento de (30,85 %). En cuanto al tiempo en las primeras horas de extracción se da una difusión de los componentes de una fase a otra presentándose entre ellos una transferencia de masa de los componentes activos con tendencia al equilibrio (GEANKOPLIS, 1998), observándose que con 1 hora se da un aumento significativo en la concentración de sólidos.

A continuación, en la figura 4 se muestran los gráficos del análisis estadístico para el proceso de extracción de Alcachofa fruta.



**Figura 4. Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Alcachofa fruta (*Cynara scolymus* L)**

**(4A) Diagrama de Pareto Estandarizada**, AB: Interacción entre la Concentración de disolvente ETOH: Tiempo de Extracción, B: Tiempo de Extracción, A: Concentración de ETOH. Los efectos que se extienden más allá de la línea de referencia son significativos.

**(4B) Superficie de Respuesta.** Concentración de disolvente ETOH (50 % y 70%). Tiempo de extracción en horas (1 y 2). \*Donde se optimiza la variable de interés, permitiendo determinar las mejores condiciones para el proceso de extracción.

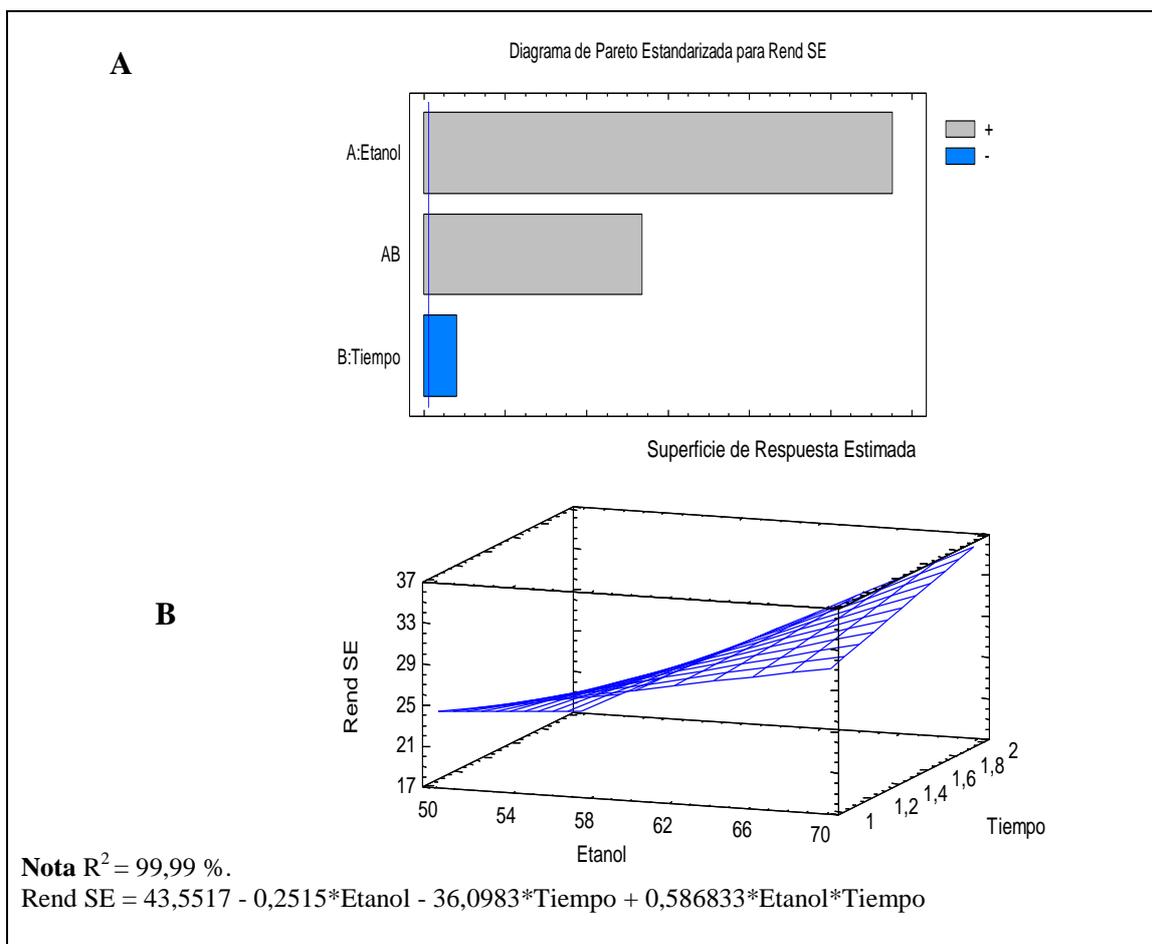
En el Diagrama de Pareto (Fig. 4A) se observa que los dos factores estudiados tienen una influencia significativa sobre el rendimiento de sólidos extraídos al igual que la interacción, con un valor de ( $p < 0,05$ ) para un 95 % de confianza, obteniéndose un modelo con un ajuste de 99,98 %, de donde se aprecia que el tiempo influye negativamente y la concentración de disolvente en el mayor nivel. En el gráfico de superficie de respuesta (Fig. 4 B) se aprecia que se alcanza el mayor rendimiento de sólidos extraídos para un tiempo de 1 h y una concentración de etanol de 50 %

(Tratamiento 1). Existió una mayor eficiencia del disolvente generando la mayor cantidad de sólidos por cada gramo de material vegetal.

A partir de la concentración de los sólidos extraídos se analizó el rendimiento de los distintos tratamientos para la extracción óptima de los principios activos de la planta en estudio. Se observa una tendencia de disminución de sólidos extraíbles conforme se aumenta la concentración de etanol. Soto-García, (2016), mencionan que la extracción incrementa al disminuir la concentración de solvente siendo esta al 50 % con un rendimiento de (54,15 %) debido a la facilidad de extracción por la solubilidad que presentan los compuestos de la muestra .

En cuanto al tiempo en las primeras horas de extracción se da una difusión de los componentes de una fase a otra presentándose entre ellos una transferencia de masa de los componentes activos con tendencia al equilibrio (GEANKOPLIS, 1998), observándose que con 1 hora se da un aumento significativo en la concentración de sólidos.

A continuación, en la figura 5 se muestran los gráficos del análisis estadístico para el proceso de extracción de Canela.



**Figura 5. Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Canela**  
*(Cinnamomum verum J)*

(5A) **Diagrama de Pareto Estandarizada**, AB: Interacción entre la Concentración de disolvente ETOH: Tiempo de Extracción, B: Tiempo de Extracción, A: Concentración de ETOH. Los efectos que se extienden más allá de la línea de referencia son significativos.

(5B) **Superficie de Respuesta**. Concentración de disolvente ETOH (50 % y 70%). Tiempo de extracción en horas (1 y 2). \*Donde se optimiza la variable de interés, permitiendo determinar las mejores condiciones para el proceso de extracción.

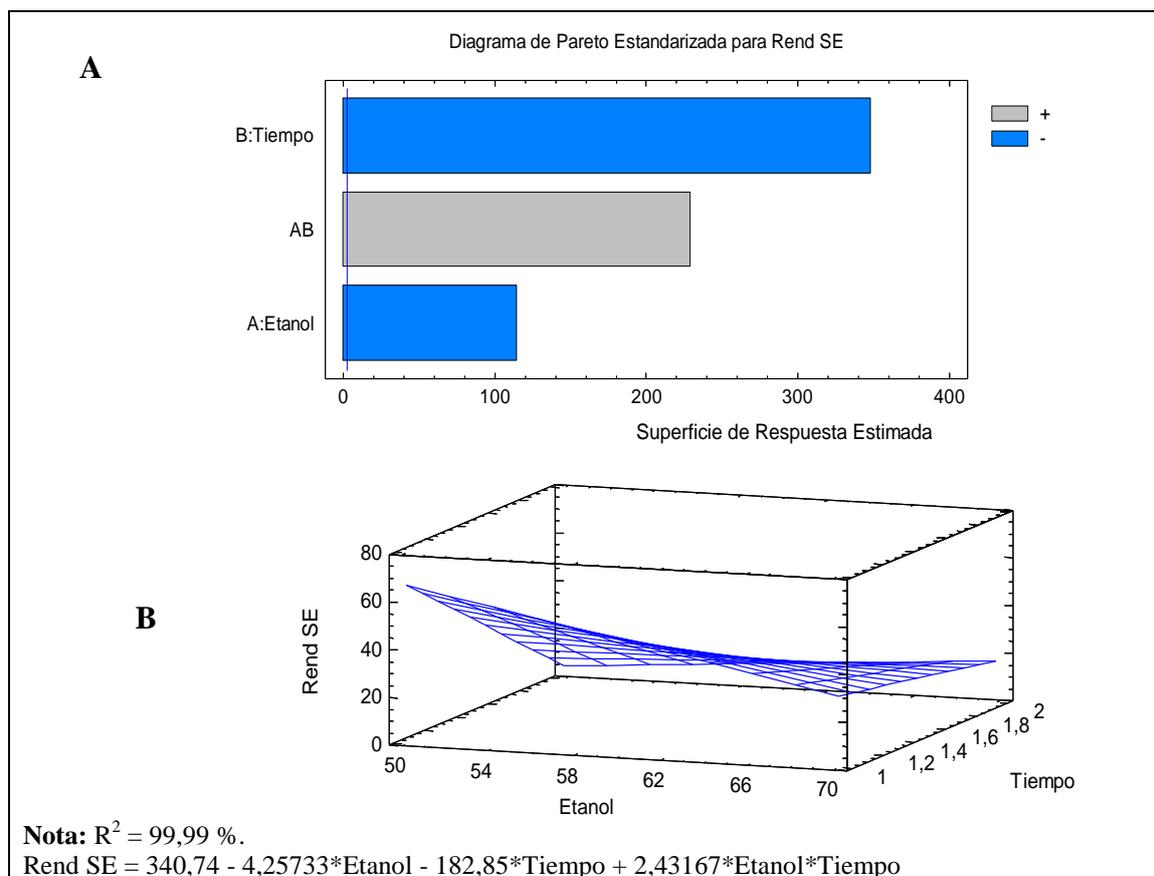
En el Diagrama de Pareto (Figura 5A) se observa que los dos factores estudiados tienen una influencia significativa sobre el rendimiento de sólidos extraídos al igual que la interacción, con un valor de ( $p < 0,05$ ) para un 95 % de confianza, obteniéndose un modelo con un ajuste de 99,99 %, de donde se aprecia que el tiempo influye negativamente en el mayor nivel y la concentración de disolvente influye positivamente. En el gráfico de superficie de respuesta (Figura 5 B) se aprecia que se alcanza el mayor rendimiento de sólidos extraídos para un tiempo de 2 h y una concentración de etanol de

70 % (Tratamiento 4). Existió una mayor eficiencia del disolvente generando la mayor cantidad de sólidos por cada gramo de material vegetal.

A partir de la determinación de sólidos extraídos se analizó el rendimiento de los distintos tratamientos para la extracción óptima de los principios activos de la planta en estudio. Se observa una tendencia de aumento de sólidos extraíbles conforme se aumenta la concentración de etanol. Soto-García, (2016), mencionan que la extracción incrementa al aumentar la concentración de solvente siendo esta al 70 % con un rendimiento de (35,91 %).

En cuanto al tiempo se observó que con 2 horas se logra un aumento significativo sobre la concentración de sólidos, dándose una difusión de los componentes de una fase a otra presentándose entre ellos una transferencia de masa de los componentes activos con tendencia al equilibrio (GEANKOPLIS, 1998)

A continuación, en la figura 6 se muestran los gráficos del análisis estadístico para el proceso de extracción del Jengibre.



**Figura 6. Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Jengibre**  
*(Zingiber officinale L.)*

**(6A) Diagrama de Pareto Estandarizada**, AB: Interacción entre la Concentración de disolvente ETOH: Tiempo de Extracción, B: Tiempo de Extracción, A: Concentración de ETOH. Los efectos que se extienden más allá de la línea de referencia son significativos.

**(6B) Superficie de Respuesta.** Concentración de disolvente ETOH (50 % y 70%). Tiempo de extracción en horas (1 y 2). \*Donde se optimiza la variable de interés, permitiendo determinar las mejores condiciones para el proceso de extracción.

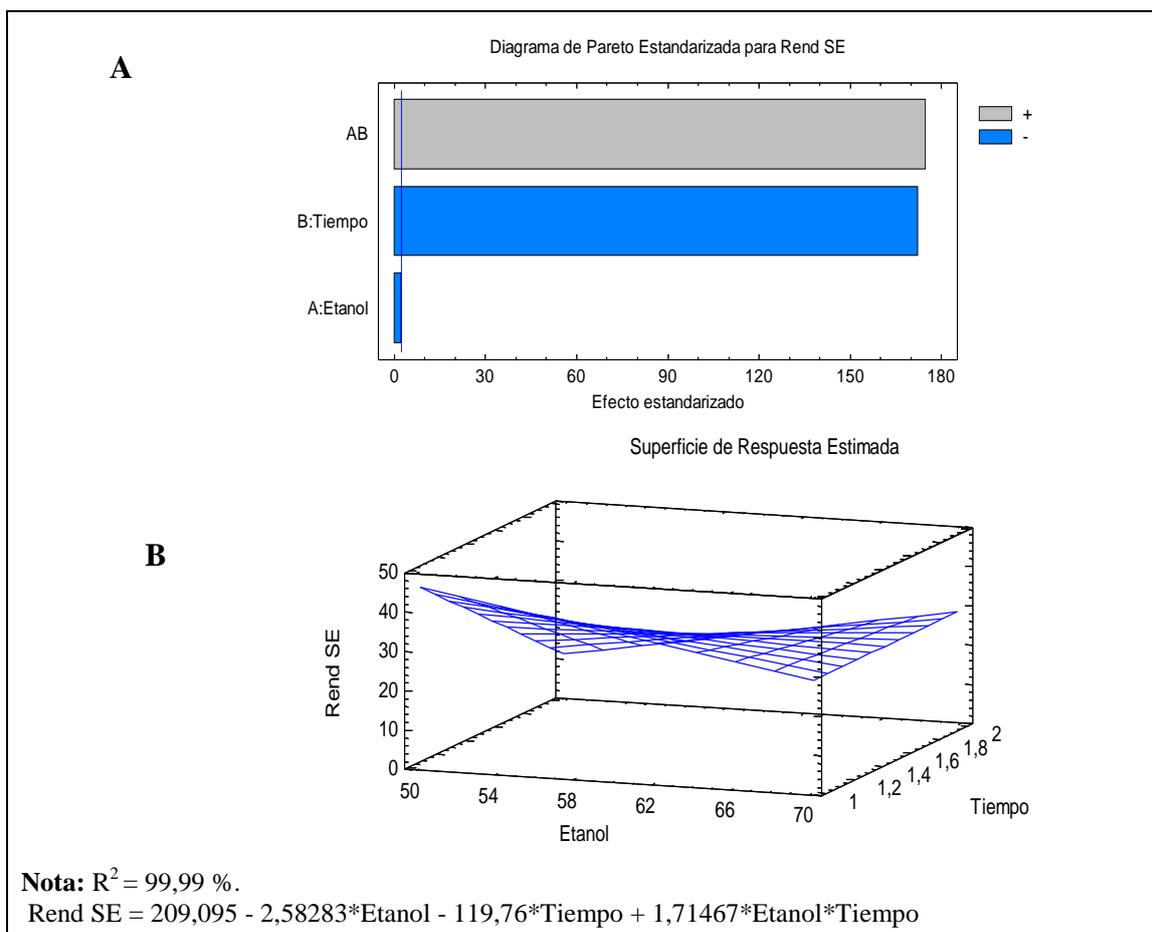
En el Diagrama de Pareto (Fig. 6A) se observa que los dos factores estudiados tienen una influencia significativa sobre el rendimiento de sólidos extraídos al igual que la interacción, con un valor de ( $p < 0,05$ ) para un 95 % de confianza, obteniéndose un modelo con un ajuste de 99,99 %, de donde se aprecia que el tiempo influye negativamente y la concentración de disolvente en el mayor nivel. En el gráfico de superficie de respuesta (Fig. 6 B) se aprecia que se alcanza el mayor rendimiento de sólidos extraídos para un tiempo de 1 h y una concentración de etanol de 50 %

(Tratamiento 1). Existió una mayor eficiencia del disolvente generando la mayor cantidad de sólidos por cada gramo de material vegetal.

Se observa una tendencia de disminución de sólidos extraíbles conforme se aumenta la concentración de etanol. Soto-García, (2016), mencionan que la extracción incrementa al disminuir la concentración de solvente siendo esta al 50 % con un rendimiento de (66,64 %) debido a la facilidad de extracción por la solubilidad que presentan los compuestos de la muestra.

En cuanto al tiempo en las primeras horas de extracción se da una difusión de los componentes de una fase a otra presentándose entre ellos una transferencia de masa de los componentes activos con tendencia al equilibrio (GEANKOPLIS, 1998), observándose que con 1 hora se da un aumento significativo en la concentración de sólidos.

A continuación, en la figura 7 se muestran los gráficos del análisis estadístico para el proceso de extracción de la Albahaca.



**Figura 7. Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Albahaca (*Ocimum basilicum* L)**

**(7A) Diagrama de Pareto Estandarizada**, AB: Interacción entre la Concentración de disolvente ETOH: Tiempo de Extracción, B: Tiempo de Extracción, A: Concentración de ETOH. Los efectos que se extienden más allá de la línea de referencia son significativos.

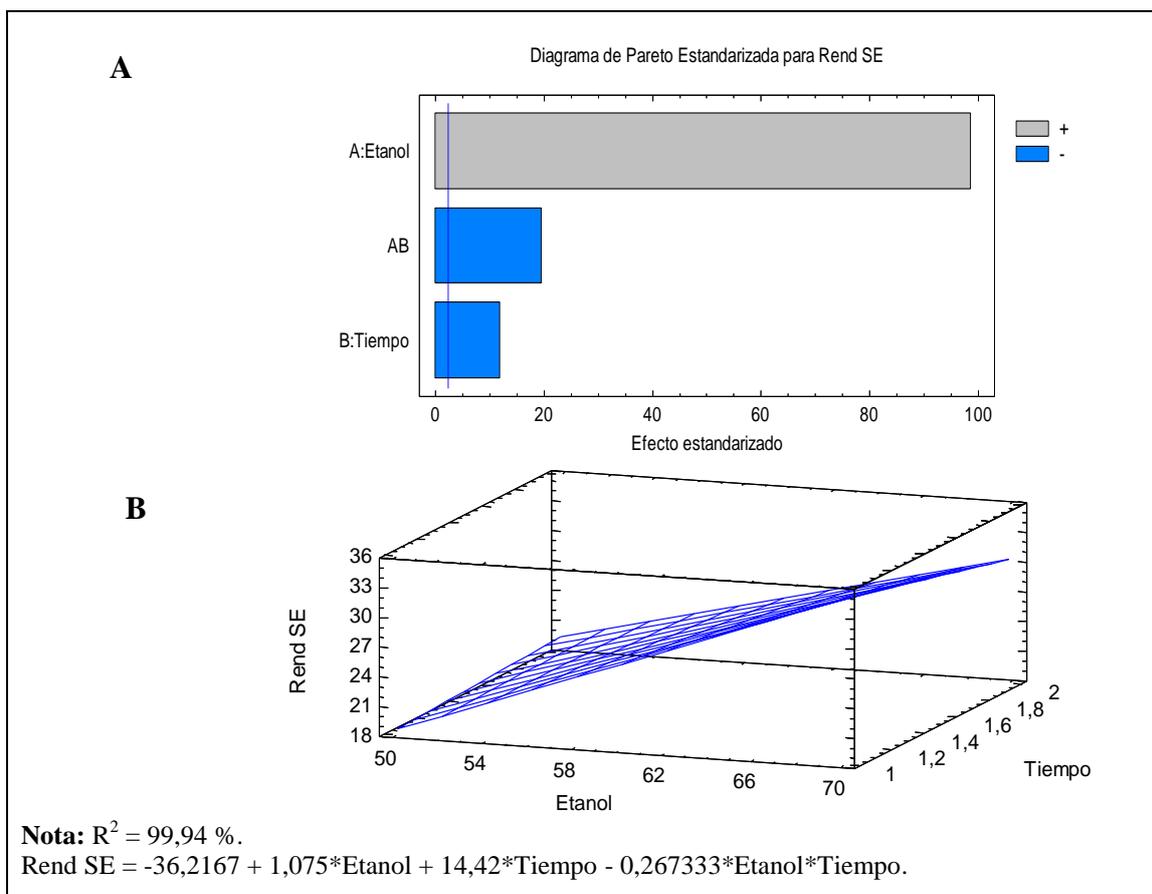
**(7B) Superficie de Respuesta**. Concentración de disolvente ETOH (50 % y 70%). Tiempo de extracción en horas (1 y 2). \*Donde se optimiza la variable de interés, permitiendo determinar las mejores condiciones para el proceso de extracción.

En el Diagrama de Pareto (Fig. 7A) se observa que el factor B) Tiempo de extracción, tiene una influencia significativa sobre el rendimiento de sólidos extraídos al igual que la interacción, con un valor de ( $p < 0,05$ ) para un 95 % de confianza, obteniéndose un modelo con un ajuste de 99,99 %, de donde se aprecia que el tiempo influye negativamente. En el gráfico de superficie de respuesta (Fig. 7B) se aprecia que se alcanza el mayor rendimiento de sólidos extraídos para un tiempo de 1 h y una concentración de etanol de 50 % (Tratamiento 1). Existió una mayor eficiencia del

disolvente generando la mayor cantidad de sólidos por cada gramo de material vegetal, con un rendimiento de (45,93 %).

En cuanto al tiempo en las primeras horas de extracción se da una difusión de los componentes de una fase a otra presentándose entre ellos una transferencia de masa de los componentes activos con tendencia al equilibrio (GEANKOPLIS, 1998), observándose que con 1 hora se da un aumento significativo en la concentración de sólidos.

A continuación, en la figura 8 se muestran los gráficos del análisis estadístico para el proceso de extracción del Té verde.



**Figura 8. Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Té verde (*Camellia sinensis*)**

**(8A) Diagrama de Pareto Estandarizada**, AB: Interacción entre la Concentración de disolvente ETOH: Tiempo de Extracción, B: Tiempo de Extracción, A: Concentración de ETOH. Los efectos que se extienden más allá de la línea de referencia son significativos.

**(8B) Superficie de Respuesta.** Concentración de disolvente ETOH (50 % y 70%). Tiempo de extracción en horas (1 y 2). \*Donde se optimiza la variable de interés, permitiendo determinar las mejores condiciones para el proceso de extracción.

En el Diagrama de Pareto (Fig. 8A) se observa que los dos factores estudiados tienen una influencia significativa sobre el rendimiento de sólidos extraídos al igual que la interacción, con un valor de ( $p < 0,05$ ) para un 95 % de confianza, obteniéndose un modelo con un ajuste de 99,94 %, de donde se aprecia que la concentración de disolvente influye positivamente y la interacción influye negativamente junto con el tiempo en el mayor nivel. En el gráfico de superficie de respuesta (Fig. 8B) se aprecia que se alcanza el mayor rendimiento de sólidos extraídos para un tiempo de 1 h y una

concentración de etanol de 70 % (Tratamiento 3). Existió una mayor eficiencia del disolvente generando la mayor cantidad de sólidos por cada gramo de material vegetal. Se observa una tendencia de aumento de sólidos extraíbles conforme se aumenta la concentración de etanol. Soto-García, (2016), mencionan que la extracción incrementa al aumentar la concentración de solvente siendo esta al 70 % con un rendimiento de (34,74 %) debido a la facilidad de extracción por la solubilidad que presentan los compuestos de la muestra.

En cuanto al tiempo en las primeras horas de extracción se da una difusión de los componentes de una fase a otra presentándose entre ellos una transferencia de masa de los componentes activos con tendencia al equilibrio (GEANKOPLIS, 1998), observándose que con 1 hora se da un aumento significativo en la concentración de sólidos.

El disolvente empleado tiene un polo lipofílico que ayuda a la extracción de compuestos fenólicos de polaridad media (Monroy, Totosaus, & García, 2005). Los rendimientos bajos en los demás tratamientos pueden deberse a diversos factores la evaporación de la mayor parte del disolvente, pérdida de sólidos por la adherencia en las paredes del recipiente de extracción y la reabsorción del líquido extraído

A partir de la identificación del mejor tratamiento de extracción para cada planta, se procedió con la concentración de cada uno de los extractos empleando rotoevaporador. Para el proceso de microencapsulación, Se realizó un cálculo para estimar la cantidad de extracto concentrado necesario para llevar a cabo este proceso tomando en cuenta el extracto con menor cantidad de St %, en esta investigación fue la alcachofa (fruta) (Anexo XVII).

#### **4.1.1.2. Microencapsulación mediante secado por aspersión de la mezcla de extractos concentrados.**

La unión de los extractos concentrados a partir de las 8 plantas medicinales empleadas se los secó en un secador por aspersión de laboratorio a una temperatura de entrada de 140 °C y de salida de 80 °C. El producto final fue un polvo de color beige (Anexo III) con un rendimiento de 70,5 %. Este porcentaje de secado tiene un valor aceptable para extractos vegetales, debido a que parte del material secado se pierde al impregnarse en los conductos del equipo y otra mínima se dispersa en el ambiente. Para este proceso se empleó la maltodextrina 30,2 g y goma arábica 30,2 g, como agentes encapsulantes que

actúan como coadyuvantes de secado y garantizan un mayor tiempo de vida del producto, ya que por sí solos los extractos secos suelen ser altamente higroscópicos (López et al., 2006).

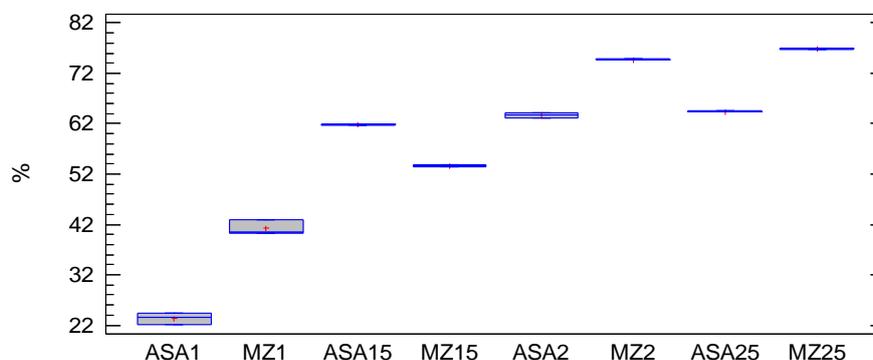
Según López (2010), el sistema de polímeros maltodextrina-goma arábiga ha sido utilizado ampliamente como encapsulante de sustancias de naturaleza lipídica como aceites fijos, aceites volátiles y vitaminas, lo que indica que este sistema debe ser el más adecuado para la encapsulación, por su garantía en la protección de este.

#### 4.1.2. Actividades biológicas

##### 4.1.2.1. Actividad antiinflamatoria

Middleton (2000) afirma que la acción antiinflamatoria que poseen muchos flavonoides se relaciona con la inhibición de diversas enzimas implicadas en el metabolismo del ácido araquidónico y de radicales libres que reducen el estrés oxidativo (García L, 2002). Como modelo biológico se empleó los eritrocitos ya que simulan la membrana de los lisosomas.

A continuación, en la figura 9 se muestra el gráfico de comparación de la capacidad antiinflamatoria del microencapsulado mediante el método de estabilización de membrana de los eritrocitos humanos comparado con el antiinflamatorio testigo utilizado la aspirina.



##### Leyenda

- |  |   |
|--|---|
| <b>ASA1:</b> Concentración de Aspirina 1 mg/ml         | <b>ASA15:</b> Concentración de Aspirina 1,5 mg/ml         |
| <b>ASA2:</b> Concentración de Aspirina 2 mg/ml         | <b>ASA25:</b> Concentración de Aspirina 2,5 mg/ml         |
| <b>MZ1:</b> Concentración del Microencapsulado 1 mg/ml | <b>MZ15:</b> Concentración del Microencapsulado 1,5 mg/ml |
| <b>MZ2:</b> Concentración del Microencapsulado 2 mg/ml | <b>MZ25:</b> Concentración del Microencapsulado 2,5 mg/ml |

**Figura 9. Comparación de la actividad antiinflamatoria del extracto vegetal de las 8 plantas medicinales y del antiinflamatorio testigo la aspirina.**

**Nota:** ASA: Aspirina, ME: Microencapsulado

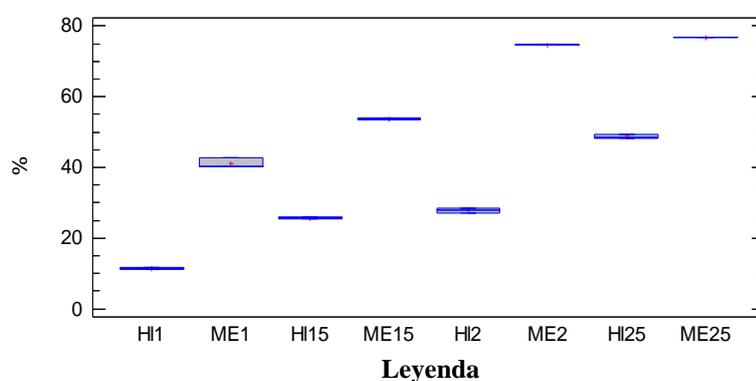
A partir de los resultados obtenidos se determinó que el microencapsulado desarrollado empleando 8 plantas medicinales con componentes bioactivos (polifenoles y flavonoides) presentó una mayor capacidad antiinflamatoria a las diferentes concentraciones: 1 mg/ml = 40,52 %, 2 mg/ml= 74,72 %, 2,5 mg/ml=76,96 %, superior al antiinflamatorio testigo a las mismas concentraciones con una actividad de 23,09 %, 63,56 % y 64,47 %, respectivamente.

Mediante un análisis de varianza ANOVA los resultados se analizaron para un 95% de confianza con un valor de significancia de ( $p < 0,05$ ) indicando una diferencia significativa.

García Bacallao (2002) afirma que entre los principales componentes fitoquímicos que les dan la capacidad antiinflamatoria a las 8 plantas utilizadas para la formulación del microencapsulado se encuentran polifenoles, cumarinas, taninos, saponinas y flavonoides.

#### 4.1.2.2. Comparación de la Actividad antiinflamatoria de cada extracto vegetal líquido frente al microencapsulado

A continuación, en la figura 10 se muestra el gráfico comparación de la actividad antiinflamatoria del extracto vegetal de las hojas de Hierba luisa (HI) y del microencapsulado (ME) a diferentes concentraciones (mg/ml).



<b>HI1:</b> Concentración de Hierba Luisa 1 mg/ml	<b>HI15:</b> Concentración de Hierba Luisa 1,5 mg/ml
<b>HI2:</b> Concentración de Hierba Luisa 2 mg/ml	<b>HI25:</b> Concentración de Hierba Luisa 2,5 mg/ml
<b>ME1:</b> Concentración de Microencapsulado 1 mg/ml	<b>ME15:</b> Concentración de Microencapsulado 1,5 mg/ml
<b>ME2:</b> Concentración de Microencapsulado 2 mg/ml	<b>ME25:</b> Concentración de Microencapsulado 2,5 mg/ml

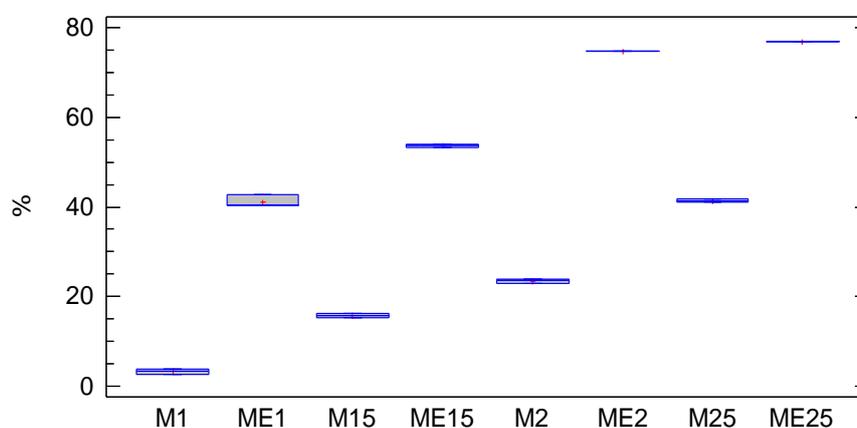
**Figura 10. Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*) frente al Microencapsulado**

**Nota:** HI: Hierba Luisa, ME: Microencapsulado

Con los resultados obtenidos se determinó que el mejor ensayo para el extracto etanólico de las hojas de Hierba luisa fue a una concentración de 2,5 mg/ml con una capacidad antiinflamatoria de 48,70 % inferior al microencapsulado con una actividad de 76,96 %, a la misma concentración.

Mediante un análisis de varianza ANOVA los resultados se analizaron para un 95 % de confianza con un valor de significancia de ( $p < 0,05$ ) 0 indicando una diferencia significativa.

A continuación, en la figura 11 se muestra el gráfico de comparación de la actividad antiinflamatoria de la menta frente al microencapsulado a diferentes concentraciones, para determinar el mejor ensayo.



**Leyenda**

- |   |  |
|---|--|
| <b>M1:</b> Concentración de Menta 1 mg/ml             | <b>M15:</b> Concentración de Menta 1,5 mg/ml             |
| <b>M2:</b> Concentración de Menta 2 mg/ml             | <b>M25:</b> Concentración de Menta 2,5 mg/ml             |
| <b>ME1:</b> Concentración de Microencapsulado 1 mg/ml | <b>ME15:</b> Concentración de Microencapsulado 1,5 mg/ml |
| <b>ME2:</b> Concentración de Microencapsulado 2 mg/ml | <b>ME25:</b> Concentración de Microencapsulado 2,5 mg/ml |

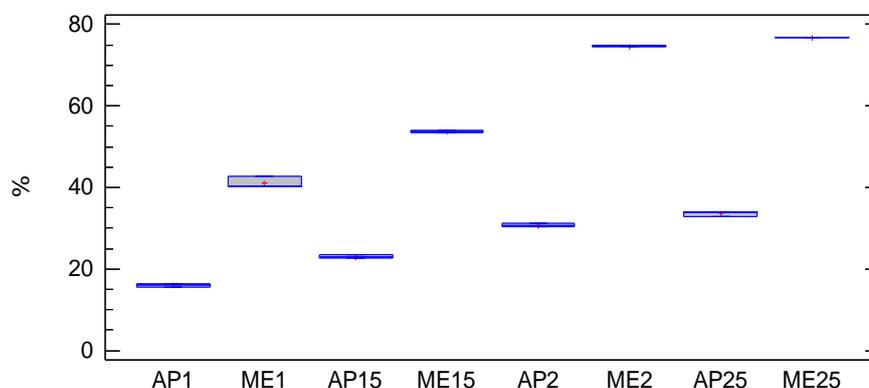
**Figura 11. Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Menta (*Mentha sativa* L) frente al Microencapsulado**

**Nota:** M: Menta, ME: Microencapsulado

Con los resultados obtenidos se determinó que para la Menta el mejor ensayo fue a una concentración de 2,5 mg/ml con una capacidad antiinflamatoria de 41,42 %, inferior al microencapsulado con una actividad de 76,96 % a la misma concentración.

Mediante un análisis de varianza ANOVA los resultados se analizaron para un 95 % de confianza con un valor de significancia de ( $p < 0,05$ ) indicando una diferencia significativa.

A continuación, en la figura 12 se muestran el gráfico de comparación de la actividad antiinflamatoria del extracto vegetal de la Alcachofera (planta) frente al microencapsulado a diferentes concentraciones



**Leyenda**

**AP1:** Concentración de Alcachofera (planta) 1 mg/ml

**AP2:** Concentración de Alcachofera (planta) 2 mg/ml

**ME1:** Concentración de Microencapsulado 1 mg/ml

**ME2:** Concentración de Microencapsulado 2 mg/ml

**AP15:** Concentración de Alcachofera (planta) 1,5 mg/ml

**AP25:** Concentración de Alcachofera (planta) 2,5 mg/ml

**ME15:** Concentración de Microencapsulado 1,5 mg/ml

**ME25:** Concentración de Microencapsulado 2,5 mg/ml

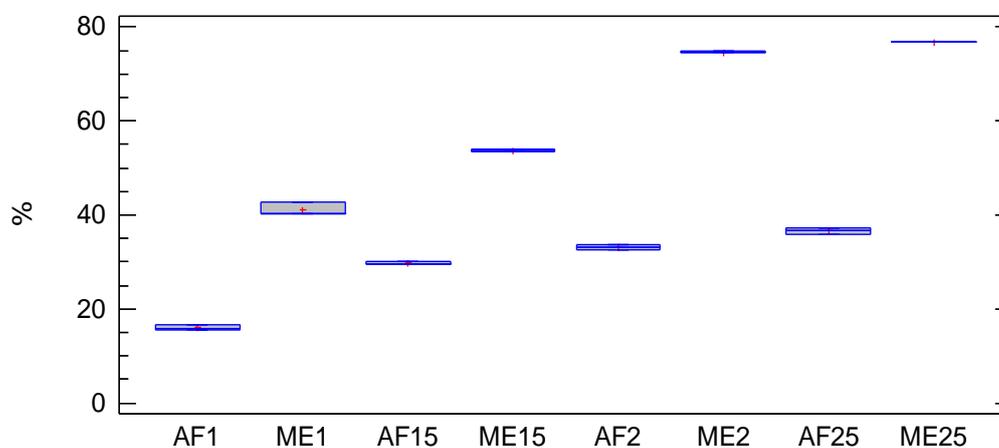
**Figura 12. Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Alcachofera (*Cynara scolymus* L) frente al Microencapsulado.**

**Nota:** AP: Alcachofera (planta), ME: Microencapsulado

Al interpretar los resultados se identificó que a una concentración de 2,5 mg/ml se obtuvo el mayor porcentaje de actividad antiinflamatoria para la Alcachofera (planta) siendo esta de 33,60 % inferior a la capacidad del microencapsulado a la misma concentración que fue de 76,96 % a la misma concentración.

Mediante un análisis de varianza ANOVA los resultados se analizaron para un 95 % de confianza con un valor de significancia de ( $p < 0,05$ ) indicando una diferencia significativa.

A continuación, en la figura 13 se muestra el gráfico de comparación de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Alcachofa (fruta) frente al Microencapsulado a diferentes concentraciones



#### Leyenda

<b>AF1:</b> Concentración de Alcachofa (fruta) 1 mg/ml	<b>AF15:</b> Concentración de Alcachofa (fruta) 1,5 mg/ml
<b>AF2:</b> Concentración de Alcachofa (fruta) 2 mg/ml	<b>AF25:</b> Concentración de Alcachofa (fruta) 2,5 mg/ml
<b>ME1:</b> Concentración de Microencapsulado 1 mg/ml	<b>ME15:</b> Concentración de Microencapsulado 1,5 mg/ml
<b>ME2:</b> Concentración de Microencapsulado 2 mg/ml	<b>ME25:</b> Concentración de Microencapsulado 2,5 mg/ml

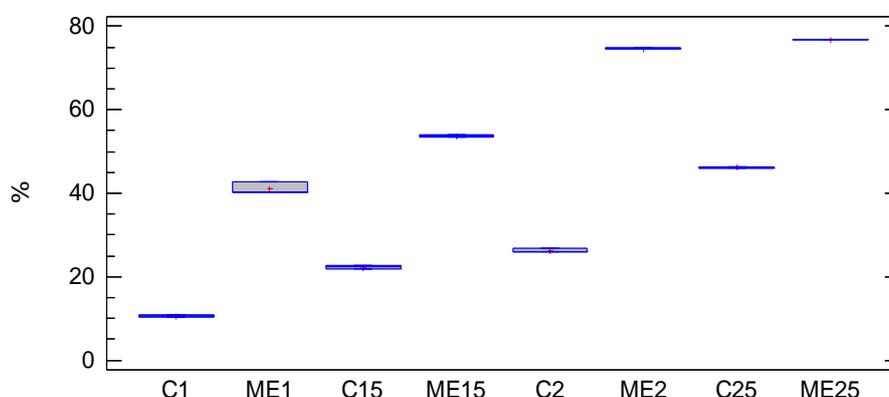
**Figura 13. Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Alcachofa fruta (*Cynara scolymus* L) frente al Microencapsulado**

**Nota:** AF: Alcachofa Fruta, ME: Microencapsulado

Con los resultados obtenidos se identificó que a una concentración de 2,5 mg/ml el extracto etanólico de la Alcachofa (fruta) obtuvo el mayor porcentaje de actividad antiinflamatoria siendo este de 36,58 % inferior a la capacidad del microencapsulado a la misma concentración que fue de 76,96 %.

Mediante un análisis de varianza ANOVA los resultados se analizaron para un 95 % de confianza con un valor de significancia de ( $p < 0,05$ ) indicando una diferencia significativa.

A continuación, en la figura 14 se muestra el gráfico de comparación respecto a la actividad antiinflamatoria del extracto de la Canela frente al microencapsulado a diferentes concentraciones



**Leyenda**

- |   |  |
|---|--|
| <b>C1:</b> Concentración de Canela 1 mg/ml            | <b>C15:</b> Concentración de Canela 1,5 mg/ml            |
| <b>C2:</b> Concentración de Canela 2 mg/ml            | <b>C25:</b> Concentración de Canela 2,5 mg/ml            |
| <b>ME1:</b> Concentración de Microencapsulado 1 mg/ml | <b>ME15:</b> Concentración de Microencapsulado 1,5 mg/ml |
| <b>ME2:</b> Concentración de Microencapsulado 2 mg/ml | <b>ME25:</b> Concentración de Microencapsulado 2,5 mg/ml |

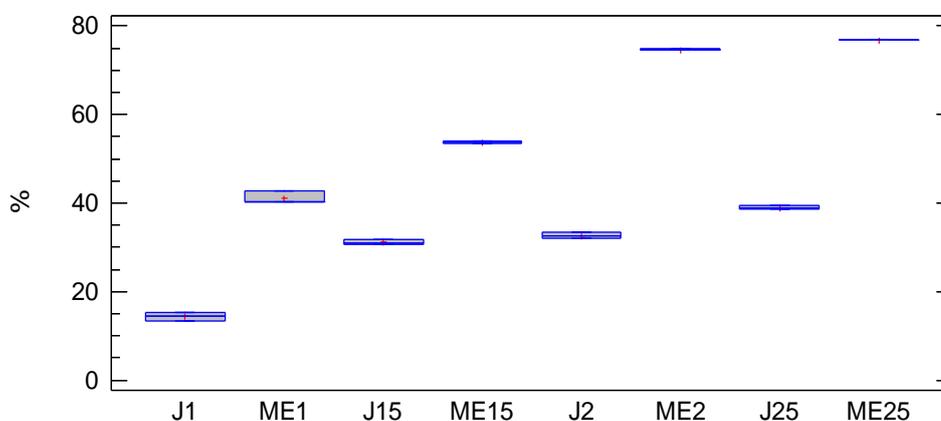
**Figura 14. Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Canela (*Cinnamomum verum J*) frente al Microencapsulado**

**Nota:** C: Canela, ME: Microencapsulado

A partir de la interpretación de los resultados obtenidos se identificó que a una concentración de 2,5 mg/ml, el extracto de Canela presentó el mayor porcentaje de actividad antiinflamatorio siendo este de 46,20 % inferior a la capacidad antiinflamatoria del microencapsulado que fue de 76,96 % a la misma concentración.

Mediante un análisis de varianza ANOVA los resultados se analizaron para un 95 % de confianza con un valor de significancia de ( $p < 0,05$ ) indicando una diferencia significativa.

A continuación, en la Figura 15 se muestra la gráfica de comparación de la actividad antiinflamatoria del extracto de Jengibre frente al microencapsulado a diferentes concentraciones



**Leyenda**

- |   |  |
|---|--|
| <b>J1:</b> Concentración de Jengibre 1 mg/ml          | <b>J15:</b> Concentración de Jengibre 1,5 mg/ml          |
| <b>J2:</b> Concentración de Jengibre 2 mg/ml          | <b>J25:</b> Concentración de Jengibre 2,5 mg/ml          |
| <b>ME1:</b> Concentración de Microencapsulado 1 mg/ml | <b>ME15:</b> Concentración de Microencapsulado 1,5 mg/ml |
| <b>ME2:</b> Concentración de Microencapsulado 2 mg/ml | <b>ME25:</b> Concentración de Microencapsulado 2,5 mg/ml |

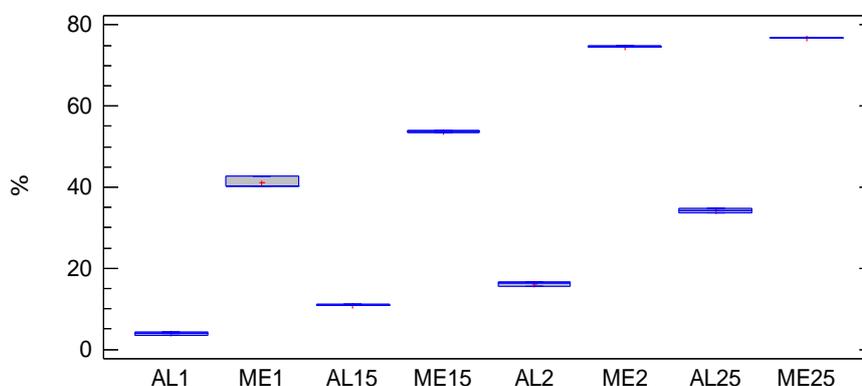
**Figura 15. Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Jengibre (*Zingiber officinale* L) frente al Microencapsulado**

**Nota:** J: Jengibre, ME: Microencapsulado

El mejor ensayo para la actividad antiinflamatoria del extracto de Jengibre fue a una concentración de 2,5 mg/ml obteniendo un valor de 38,94 % inferior a la capacidad antiinflamatoria del microencapsulado a la misma concentración que fue de 76,96 %.

Mediante un análisis de varianza ANOVA los resultados se analizaron para un 95 % de confianza con un valor de significancia de ( $p < 0,05$ ) indicando una diferencia significativa.

A continuación, en la figura 16 se muestra la gráfica de comparación de la actividad antiinflamatoria del extracto de Albahaca frente al microencapsulado a diferentes concentraciones



**Leyenda**

- |   |  |
|---|--|
| <b>A1:</b> Concentración de Albahaca 1 mg/ml          | <b>A15:</b> Concentración de Albahaca 1,5 mg/ml          |
| <b>A2:</b> Concentración de Albahaca 2 mg/ml          | <b>A25:</b> Concentración de Albahaca 2,5 mg/ml          |
| <b>ME1:</b> Concentración de Microencapsulado 1 mg/ml | <b>ME15:</b> Concentración de Microencapsulado 1,5 mg/ml |
| <b>ME2:</b> Concentración de Microencapsulado 2 mg/ml | <b>ME25:</b> Concentración de Microencapsulado 2,5 mg/ml |

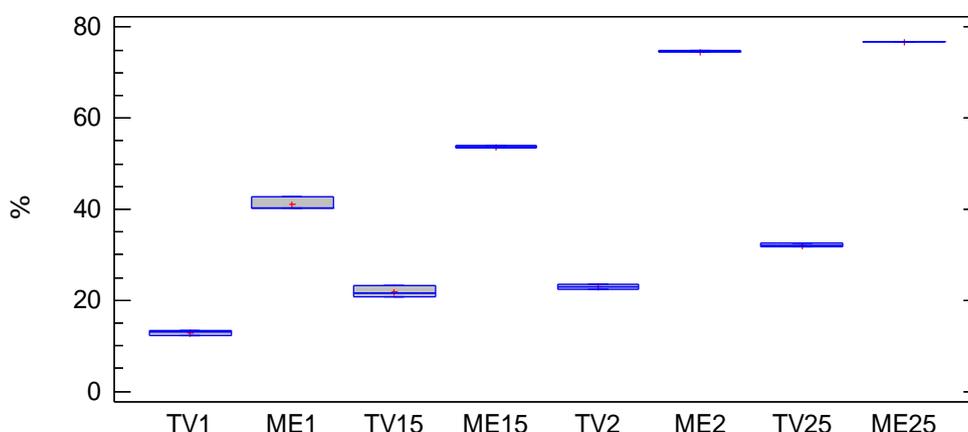
**Figura 16. Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Albahaca (*Ocimum basilicum* L) frente al Microencapsulado**

**Nota:** A: Albahaca, ME: Microencapsulado

Con los resultados obtenidos se determinó el mejor ensayo para el extracto etanólico de Albahaca frente al microencapsulado siendo esta de 34,24 % a una concentración de 2,5 mg/ml inferior a la capacidad antiinflamatoria del microencapsulado que fue de 76,96 % a la misma concentración

Mediante un análisis de varianza ANOVA los resultados se analizaron para un 95% de confianza con un valor de significancia de ( $p < 0,05$ ) indicando una diferencia significativa.

A continuación, en la figura 17 se muestra la gráfica de comparación respecto a la actividad antiinflamatoria del extracto de Té verde frente al microencapsulado a diferentes concentraciones



#### Leyenda

<b>Tv1:</b> Concentración de Té Verde 1 mg/ml	<b>Tv15:</b> Concentración de Té Verde 1,5 mg/ml
<b>Tv2:</b> Concentración de Té Verde 2 mg/ml	<b>Tv25:</b> Concentración de Té Verde 2,5 mg/ml
<b>ME1:</b> Concentración de Microencapsulado 1 mg/ml	<b>ME15:</b> Concentración de Microencapsulado 1,5 mg/ml
<b>ME2:</b> Concentración de Microencapsulado 2 mg/ml	<b>ME25:</b> Concentración de Microencapsulado 2,5 mg/ml

**Figura 17.** Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Té verde (*Camellia sinensis*) frente al Microencapsulado

**Nota:** Tv: Té Verde, ME: Microencapsulado

Con los resultados obtenidos se identificó que el mejor ensayo de actividad antiinflamatoria entre el extracto de Té verde frente al microencapsulado a diferentes concentraciones siendo este de 32,04 % a una concentración de 2,5 mg/ml inferior a la capacidad antiinflamatoria del microencapsulado que fue de 76, 96 % a la misma concentración

Mediante un análisis de varianza ANOVA los resultados se analizaron para un 95% de confianza con un valor de significancia de ( $p < 0,05$ ) indicando una diferencia significativa.

Los extractos vegetales con componentes bioactivos (polifenoles y flavonoides) que le brindan capacidad antiinflamatoria, al estar expuestos al factor temperatura permitieron la estabilización de la membrana eritrocitaria, determinando así el porcentaje de protección de membrana (Kumar et al., 2011)

Al analizar los resultados obtenidos de cada uno de los extractos líquidos de las 8 plantas medicinales con respecto a los del microencapsulado se determinó que su actividad antiinflamatoria a diferentes concentraciones no es superior a la capacidad antiinflamatoria del microencapsulado formulado a partir de la mezcla de los concentrados de las mismas. El enfoque inicial de esta investigación fue positivo potenciando la actividad antiinflamatoria al mezclar las 8 plantas que presenten componentes fitoquímicos como polifenoles y flavonoides, que le proporcionen esa característica al mismo

#### **4.1.3.-Determinación de Polifenoles totales.**

Empleando el método Folin-Ciocalteu se cuantificó el contenido de fenoles totales presentes en el microencapsulado formulado a partir del concentrado de 8 muestras vegetales, para ello se realizó la curva de calibración con ácido gálico. En el anexo **XXVII** se registra la Concentración de ácido gálico (mg/L) y los valores de la Absorbancia a 750 (nm) para la elaboración de la curva patrón a partir de la cual se obtuvo la ecuación para cuantificar el contenido de polifenoles totales (mg AG/g encapsulado) del microencapsulado.

En el Anexo XXVIII se registran los valores de absorbancias medidas por triplicado a 750 (nm).

A partir de la curva patrón de ácido gálico y empleando la [Ec.6] Se obtuvo la concentración de polifenoles en [mg AG/g encapsulado].

$$[\text{Concentración}] = \frac{\text{Absorbancia} - 0,0027}{0,0018} \quad [\text{Ec.6}]$$

Para la cuantificación de los polifenoles en el microencapsulado se necesitó diluir (1/15) cada muestra. El ensayo se realizó por triplicado.

La cuantificación de los polifenoles totales se llevó a cabo usando como disolvente agua destilada, estadísticamente en cuanto a la dispersión de los datos se obtuvo un valor mínimo de 91,72 mg GAE/g y un máximo de 95,28 mg GAE/g, por lo que se pudo identificar la precisión del método a partir de la desviación estándar relativa teniendo un valor de 1,9 %, el uso de un disolvente amigable con el medio ambiente y la facilidad con la que se disuelve el microencapsulado, son otras de las ventajas del empleo del mismo. Según Enciso, E, (2011) el agua es un disolvente polar en el que son solubles

diferentes solutos polares e iónicos, como proteínas, carbohidratos y sales minerales. En la Tabla 2. Se detalla la concentración de polifenoles totales en mg GAE /g, se evidenció que existe una correlación positiva entre la concentración de fenoles totales en el microencapsulado y la constante dieléctrica del solvente empleado (Enciso, E, 2011). Obteniendo un valor de  $93,50 \pm 1,78$ .

#### 4.1.4.-Determinación de flavonoides totales.

El contenido de flavonoides presentes en el microencapsulado fue determinado mediante espectrofotometría-UV partiendo de una curva de calibración. En el anexo **XXIX**. Se registran los valores de absorbancia para la curva patrón a partir de quercetina a 415 (nm) empelando la misma se obtuvo la ecuación de la recta para cuantificar el contenido de flavonoides totales del microencapsulado (mg quercetina/g microencapsulado)

En el **Anexo XXX**. Se registra el **valor** de absorbancias mediadas por triplicado a 415 (nm). A partir de la curva patrón de Quercetina y aplicando la [Ec.7] Se obtuvo la concentración de flavonoides en [mg/ g]

$$[\text{Concentración}] = \frac{\text{Absorbancia} - 0,0159}{0,0029} \quad [\text{Ec.7}]$$

Los flavonoides son compuestos de polaridad media, por lo que son solubles en disolventes polares, como el metanol, etanol, acetona o agua (Alejandro, G, 2009).

Al analizar los resultados de la concentración de flavonoides totales en mg quercetina/g de microencapsulado se notó una correlación positiva entre la concentración de flavonoides totales en el microencapsulado y la constante dieléctrica del disolvente empleado (etanol), obteniéndose un valor de  $54,80 \pm 8,61$  (mg quercetina /g microencapsulado) (Tabla 2). El disolvente utilizado en el proceso de extracción juega un rol importante en la actividad de los extractos, considerando la polaridad tanto del disolvente como la de los compuestos fenólicos (Ricco et al., 2010). Al utilizar un disolvente de alta polaridad como el etanol pudo ocurrir la ruptura de la membrana celular y por ende que se mejore el proceso de extracción.

Muchos de los flavonoides y fenoles cooperan en el efecto antiinflamatorio, pues una explicación posible sería la actividad inhibidora de la prostaglandina sintetiza,

impidiendo por lo tanto la síntesis de prostaglandinas, componente responsable de la actividad inflamatoria (Enciso, E, 2011).

**Tabla 2. Cuantificación de Principios Activos Antiinflamatorios Polifenoles Totales y Flavonoides presentes en el Microencapsulado**

Polifenoles Totales	Flavonoides Totales
<b>93,50 ± 1,78 mg Ácido gálico /g microencapsulado</b>	<b>54,80 ± 8,61 (mg Quercetina /g microencapsulado)</b>

**Nota:** \*Se midió el valor de las Absorbancias por triplicado a 750 nm, para la cuantificación de polifenoles en [ppm] a partir de la curva patrón con ácido gálico.

\*Se midió el valor de las Absorbancias mediadas por triplicado a 415 nm para determinar la concentración de flavonoides en [ppm] a partir de la curva patrón con quercetina.

## 4.2. Verificación de Hipótesis

Con los resultados obtenidos en la parte experimental in vitro en cuanto a la actividad antiinflamatoria con respecto a la hipótesis planteada en la presente investigación:

**$H_0 \neq 0$**  La hipótesis nula se rechaza

**$H_a = 0$**  La hipótesis alternativa se acepta

Lo que significa que la combinación de los concentrados vegetales empleando parámetros óptimos de extracción: tiempo (h) y concentración de disolvente (ETOH) a partir de 8 plantas medicinales si incide en la obtención de un Ingrediente Activo Microencapsulado con Propiedades Antiinflamatorias

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. Conclusiones

- Se analizaron las mejores condiciones para el proceso de extracción de metabolitos vegetales a partir de 8 plantas medicinales: Hierba luisa, Menta, Alcachofera (planta), Alcachofa (fruta) Jengibre, Albahaca, Canela y Té verde.
- La aplicación de la tecnología de secado por aspersión permitió elaborar un microencapsulado de los principios activos de los extractos etanólicos de las 8 plantas medicinales, con un rendimiento de secado del 70,5 %,
- La concentración de dos de los componentes fitoquímicos que le dan la capacidad antiinflamatoria al microencapsulado se cuantificó a partir de espectrofotometría-UV con un contenido de polifenoles de  $93,50 \pm 1,78$  mg GAE/g y de flavonoides de  $54,80 \pm 8,61$  mg quercetina/g.
- La actividad antiinflamatoria del ingrediente activo microencapsulado formulado a partir de las 8 plantas medicinales fue evaluada mediante el método de estabilización de la membrana de los eritrocitos humanos y se comparó con la actividad de la aspirina. A una concentración de 2,5 mg/ml y con respecto a las demás concentraciones empleadas, presentó la mayor actividad siendo esta del 76,96 % y superó a la aspirina que demostró una actividad del 64,47 %

## 5.2. Recomendaciones

- Evaluar la estabilidad del microencapsulado en el tiempo.
- Ampliar la evaluación de la actividad antiinflamatoria del microencapsulado en modelos *in vivo*.
- Realizar estudios acerca de otras actividades biológicas que puedan generar los principios activos del microencapsulado.

## REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Alejandro, G. N. M. (2009). Cuantificación De Fenoles Y Flavonoides Totales En Extractos Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro. Rev Acad, 1-4.
- 2) Antolovich, M., Prenzler, P., Robards, K., & Ryan, D. (2000). Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruits. Analyst, 125(5), 989-1009.
- 3) Avello, M., & Cisternas, I. (2010). Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. Revista médica de Chile, 138(10), 1288-1293.
- 4) Ballester Barquero, N. M., Brenes Fallas, S., & Campos Olivares, L. (2016). Alternativas no tradicionales para el control del biofilme dental: sustancias alternativas con acción antibacteriana para la desinfección de cavidades: aceites esenciales con acción antimicrobiana para la elaboración de Zingiber officinale desinfectantes de cavidades a partir de (jengibre) y Piper nigrum (pimienta negra).
- 5) Bustamante S. (2012) Té verde, Fitomedicamento contra la Influenza A: Rol de las Catequinas. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 11 (2): 106 – 110
- 6) Brito Álvarez, G., Frías Vázquez, A. I., MorónRodríguez, F. J., García Delgado, N., Cabrera Suárez, H. R., Morejón Rodríguez, Z., & del Carmen, M. (2014). Validación preclínica del efecto antiinflamatorio tópico de cinco plantas medicinales. Revista Cubana de Plantas Medicinales, 19(1), 40-50.
- 7) Carvajal Rojas, L., Hata Uribe, Y., Sierra Martínez, N., & Rueda Niño, D. (2009). Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de cupatá (Strychnos schultesiana Krukoff). Colombia forestal, 12(1), 161-170.

- 8) Enciclopedia Agropecuaria Terranova, 2001. Producción Agrícola Segunda edición. Pp. 457- 463
- 9) Ecoagricultor.com. (2018). Alcachofera para trastornos de hígado, estreñimiento, malas digestiones o sobrepeso | ECOagricultor. [online] Available at: <https://www.ecoagricultor.com/alcachofa-propiedades-usos/> [Accessed 20 Apr. 2018].
- 10) Enciso, E., & Arroyo, J. (2011). Efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico de puna) en un modelo experimental en ratas. In *Anales de la Facultad de Medicina* (Vol. 72, No. 4, pp. 231-237). UNMSM. Facultad de Medicina.
- 11) Fernández, A., Arroyo, J., Bonilla, P., Tomás, G., Medina, F., Chenguayén, J. Huamán, O. (2007). Efecto antiinflamatorio in vitro y seguridad en ratas del extracto acuoso atomizado de la raíz de *Krameria lappacea* (RATANIA). UNMSM, Cinecia e Investigación. Retrieved from <file:///D:/documentos/Downloads/4964-17162-1-PB.pdf>
- 12) Ferrándiz ML, Alcaraz MJ. (1991) Anti-inflammatory activity and inhibition of arachidonic acid metabolism by flavonoids. *Agents Actinos*;32:283-8.
- 13) Fuentes, N., & Fabricio, E. (2016). Evaluación de la Actividad antibacteriana frente a *Helicobacter pylori* de los polifenoles de *Rhizophora mangle* L. obtenidos mediante secado por aspersion (Bachelor's thesis, Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Carrera de Ingeniería Bioquímica).
- 14) Flores M. (1997). La familia leguminosae en el valle del Chillón-parte media y alta, Departamento de Lima. Tesis Magíster. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima.

- 15) Freire Segura, K. S. (2017). Uso de dos métodos de extracción fitoquímicos a base de Jengibre (*Zingiber officinale* L.), Oreganón (*Plectranthus amboinicus*) y Ortiga (*Urtica dioica*), para el control in vitro de la monilla (*Moniliophthora roreri* Cif & Par) (Bachelor's thesis, Quevedo: UTEQ).
- 16) Gallin JI. Inflammation. (1989). En: Paul, WE (Ed) Fundamental Immunology. Raven Press, New York: 721-733
- 17) Galvis, J.A. (1995). La mora: manejo pos-cosecha de mora, Bogotá, Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA). 45p
- 18) García Bacallao, L., Rojo Domínguez, D. M., García Gómez, L. V., & Hernández Ángel, M. (2002). Plantas con propiedades antiinflamatorias. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas, 21(3), 214-216. Bibliografía antiinflamatorio
- 19) García L, Rojo D, García LV, Hernández M. (2002) Plantas con propiedades antiinflamatorias. Centro de Investigaciones Biomédicas "Victoria de Girón" Rev Cubana Invest Biomed ;21(3):214-6.
- 20) García K. (2013) Efecto antibacteriano de una infusión de *Camellia sinensis* (té verde) usada como colutorio sobre placa bacteriana y saliva. Revista Pueblo continente vol. 24(2): 349-356
- 21) Garrido, G., Ortiz, M., & Pozo, P. (2013). Fenoles y flavonoides totales y actividad antioxidante de extractos de hojas de *Lampaya medicinalis* F. Phil. Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research.
- 22) González Cabrera, M. V. (2011). Conservación de Mora, Uvilla y Frutilla Mediante la Utilización de Aceite Esencial de Canela (*Cinnamomum zeynalicum*) (Bachelor's thesis). Retrieved from <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/737/1/56T00255.pdf>

- 23) Guedon Dj, Pasquier Bp, 1994. Analysis and distribution of flavonoid glycosides androsmarinic acid in 40 Menthaxpiperita clones. *JAgrFoodChem* 42(3):679-684
- 24) Harbone, J., & Baxter, H. (1999). *Handbook of Natural Flavonoids*. 2.
- 25) Jaramillo Alcívar, V. H. (2014). Determinación cuantitativa de saponinas totales y su actividad cicatrizante presentes en doce especies vegetales medicinales (Bachelor's thesis, Machala: Universidad Técnica de Machala).
- 26) Kubeczka K. H. (2002). *Essential Oils Analysis by Capillary Gas Chromatography and Carbon-13 nmr Spectroscopy*. 2a Ed. Nueva York, John Wiley, 461 p
- 27) Legge, A.P. (1994). Notes on History Cultivation and Uses of *Physalis peruviana* L. *Journal of the Royal Horticultural Society*, vol. 99, n°7, pp.310-314
- 28) Lock, O., Cabello, I., & Doroteo, V. H. (2006) PRÁCTICA VI. 6 ANÁLISIS DE FLAVONOIDES EN PLANTAS ANALYSIS OF FLAVONOIDS IN PLANTS. Recuperado de: [https://old.iupac.org/publications/cd/medicinal\\_chemistry/Practica-VI-6.pdf](https://old.iupac.org/publications/cd/medicinal_chemistry/Practica-VI-6.pdf)
- 29) López G. (2014) Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de la *Camellia sinensis* (té verde) frente al *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y al *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) (Tesis previo a la obtención del título de Cirujano dentista) Lima- Perú: Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas.
- 30) López, O., Muñoz, A., Carmona, R., Torres, L., & González, M. (2006). Influencia del uso de aditivos sobre el rendimiento del proceso de secado por aspersión de extracto acuoso de *Calendula officinalis* L. *SciELO. Revista Cubana de Plantas Medicinales*.

- 31) López Hernández Orestes (2010). Microencapsulación de sustancias oleosas mediante secado por aspersión. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM) La Habana, Cuba.
- 32) Martino, V. (2000). Los flavonoides como promisorios agentes preventivos y terapéuticos. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 19(4), 303-308.
- 33) Male, DK; Champion, B; Cooke, A; Owen, M. (1991) Cell troffic and inflammation. En: *Advance Immunology*. 2ª ed. Ed Gower London-New York
- 34) Maldonado, P., & Duchicela, V. (2016). Actividad antifúngica de la infusión de té verde y de manzanilla sobre cepas de *Candida albicans* encontradas en placas Hawley. Estudio comparativo in vitro (Bachelor's thesis, Quito: UCE).
- 35) Menéndez R, Fernández MD, García N. Las algas marinas como fuente de nuevos agentes anti-inflamatorios. *Revista electrónica de la Agencia de Medio Ambiente*. 2010. [Actualizado 20 Julio 2013; citado 5 Dic 2013]. Disponible en: <http://ama.redciencia.cu/articulos/19.06.pdf>
- 36) Middleton E, Kanndasamy C, Theoharides TC. (2000) The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implication for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*; 52(4):673-751.
- 37) Moromi H. & Col. (2007) Efecto antimicrobiano in vivo de la Infusión de *Camellia sinensis* sobre bacterias orales. *Revista Odontología Sanmarquina*. 10(2): 12-14
- 38) Moya Castillo, E. V. (2017). Evaluación de la actividad antioxidante, antiinflamatoria y citotóxica in vitro de los extractos vegetales de Marco (*Ambrosia arboresces*) y Quishuar (*Buddleja incana*), obtenidos mediante secado por aspersión (Bachelor's thesis, Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Carrera de Ingeniería Bioquímica).

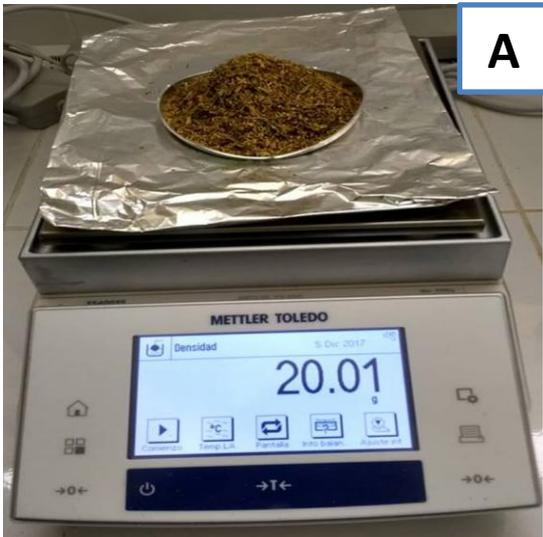
- 39) Muñoz F. (1996). Plantas Medicinales y Aromáticas; estudio, cultivo y procesado. 2da Reimpresión. Editorial Mundi Prensa S.A, Madrid España. pp 15, 247, 267, 311, 312, 316, 320
- 40) Muñoz-Velázquez, E. E., Rivas-Díaz, K., Loarca-Piña, M., Flavia, G., Mendoza-Díaz, S., Reynoso-Camacho, R., & Ramos-Gómez, M. (2012). Comparación del contenido fenólico, capacidad antioxidante y actividad antiinflamatoria de infusiones herbales comerciales. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(3), 481-495.
- 41) Narváez. G. y Narváez. E. (2000). Alcachofa Manual para la producción.
- 42) Pascal, C., & Maritsa, L. (2015). Efecto antifúngico del aceite esencial del *origanum vulgare* (orégano) y *cymbopogon citratus* (hierba luisa), sobre cepas de *cándida albicans* en comparación con la nistatina estudio invitro (Bachelor's thesis, Quito: UCE).
- 43) Pérez, A. (2012), Más y mejor Educación para todos, Editorial San Pablo, Caracas, 1997. SUAREZ, De Ribera, 50 “Hierbas Buenas”, Editorial, Editorial Aula Magna, España.
- 44) Quiles A, Dolores M, Sáenz MT. Plantas utilizadas en procesos inflamatorios y cancerosos en el Caribe. [Citado 21 Junio 2013]. Disponible en: <http://www.fitoterapia.net/revista/pdf/Caribe.pdf>
- 45) Quintana Ximena, (2008) Efecto del té verde sobre el pH salival post-ingesta de una bebida carbonatada (Tesis previo a la obtención del título de Cirujano dentista) TalcaChile: Uniersidad de Talca
- 46) Rashid, M., Silkder, A., Kaiser, M., Miah, K., Parvez, M., & Hossian, N. (2011). Membrane Stabilizing Activity - A Possible Mechanism Of Action For The Antiinflammatory Activity Of Two Bangladeshi Medicinal Plants: Mesua

- Nagassarium (Burm.F.) And Kigelia Pinnata (Jack) Dc. IJPRD 3(3).  
International Journal Of Pharmaceutical Research and Development (IJPRD).
- 47) Ravelo, A. G., & Braun, A. E. (2009). Relevancia de los productos naturales en el descubrimiento de nuevos fármacos en el S. XXI. Revista de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 103(2), 409-420.
- 48) Ricco RA, Wagner ML, Portmann E, Reides C, Llesuy S, Gurni AA, Carballo MA (2010) Análisis de polifenoles, actividad antioxidante y genotoxicidad en especies argentinas de Lippia y Aloysia (Verbenaceae). Bol Latinoamer Caribe Plant Med Aromat 9(5): 388-396.
- 49) Roit, IM; Brostoff, J; Male, DK (1992). Inmunología. 2ª ed. Barcelona: Salvat.
- 50) Robins, R. (2003). Extracción de compuestos fitoquímicos. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(7), 1761-2104.
- 51) Sánchez N, Bu Wong M, Pérez H, Lara G, Scull I (2012). Efecto del zumo de Morinda citrifolia L. (noni) en modelos de analgesia. Revista Cubana de Plantas Medicinales; Jul-Sept. 17(3):213-222. [Citado 1 Marzo 2013]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_issuetoc&pid=1028479620120003&lng=es&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_issuetoc&pid=1028479620120003&lng=es&nrm=iso)
- 52) Saquicaray, A., & Del Pilar, M. (2012). Evaluación de la Actividad Antiinflamatoria de la Mezcla de Extractos Fluidos de Jengibre (Zingiber officinale), Tomillo (Thymus vulgaris L.), Romero (Bachelor's thesis).
- 53) Sarmiento L. (2010) Efecto antibacteriano del extracto alcohólico y del extracto acuoso de Té verde (Camellia sinensis) sobre bacterias orales de Importancia Estomatológica, Streptococcus mutans, Streptococcus mitis y Streptococcus salivarius. Arequipa- Perú: Universidad de las Peruanas

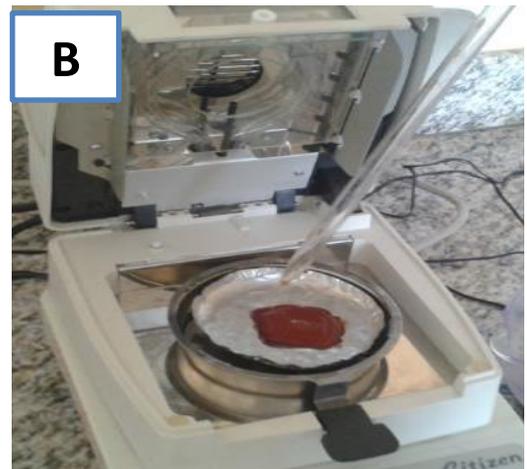
- 54) Sautebin L. (2000) Prostaglandins and nitric oxide as molecular targets for anti-inflammatory therapy. *Fitoterapia.*; 71(Suppl. 1):S48-57.
- 55) Soto-García, M., & Rosales-Castro, M. (2016). Efecto del solvente y de la relación masa/solvente, sobre la extracción de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de corteza de *Pinus durangensis* y *Quercus sideroxylla*. *Maderas. Ciencia y tecnología*, 18(4), 701-714.
- 56) Tirado Poveda, H. M. (2016). Evaluación de la Actividad antiinflamatoria de liposomas obtenidos mediante Secado por aspersion a partir del extracto hidrosoluble de la cáscara del coco verde (*Cocos nucifera*) (Bachelor's thesis, Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Carrera de Ingeniería Bioquímica).
- 57) Vasco Catalina, Ruales Jenny, (2008). "Total phenolic compounds and atioxidant capacities of major fruits from Ecuador". Recuperado el 23 de octubre de 2015. Disponible en:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608005062>
- 58) Vázquez, A. M., Martínez, I. G., & Sánchez, A. T. (2009). Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos etánolicos de romero y chile ancho y su aplicación en un batido cárnico. *Nacameh*, 3(1), 21-32.
- 59) Vehring, R. (2008). Pharmaceutical particle engineering via spray drying. *Pharmaceutical research*, 25(5), 999-1022.

## ANEXOS

**Anexo I.** Pesado del Material Vegetal seco (A), Obtención de extractos vegetales líquidos de las 8 plantas medicinales (B)



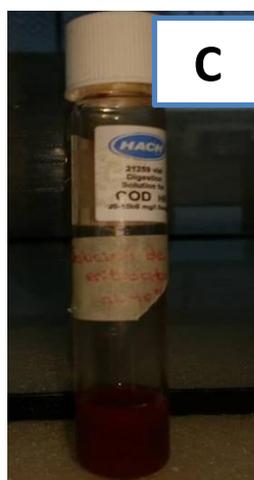
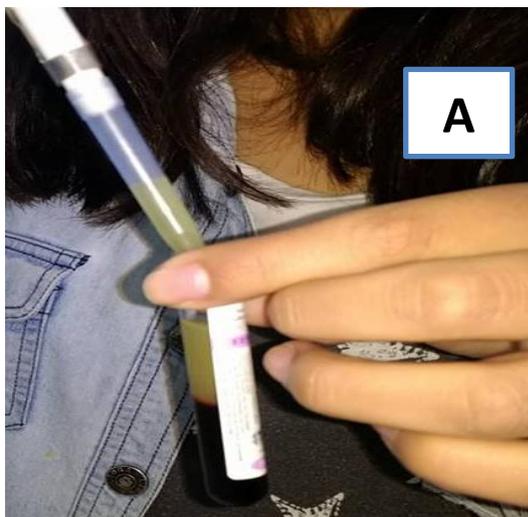
**Anexo II.** Evaporación del solvente en el rotoevaporador (A) .Determinación de (SST) de los extractos (B).



**Anexo III.** Proceso de secado por aspersión (A). Principio activo microencapsulado (B)

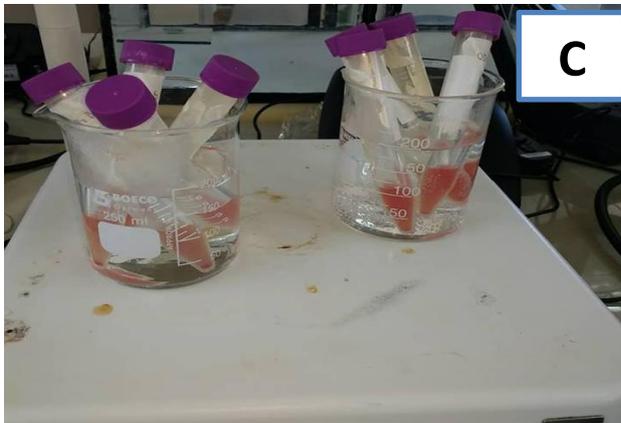
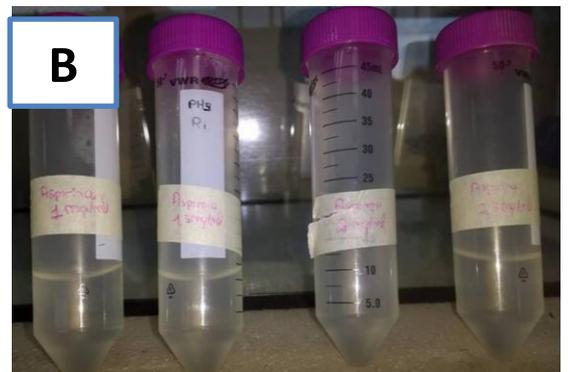


**Anexo IV.** Determinación de la actividad antiinflamatoria del microencapsulado.  
Separación del Plasma Sanguíneo (A), lavados con PBS (B), Preparación de la solución de Eritrocitos al 40%

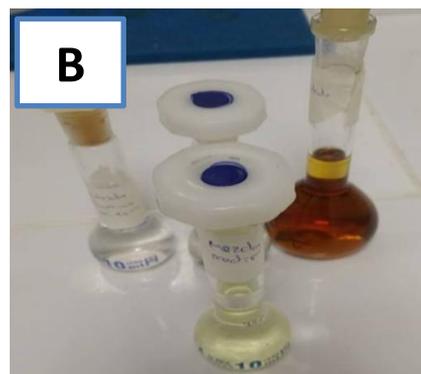
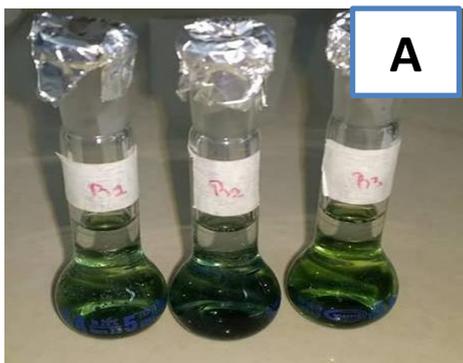


**Anexo V.** Determinación de la actividad antiinflamatoria.

Preparación de las soluciones del extracto vegetal (A), del control aspirina (B),  
Preparación de OD2 y OD3 (C), Medición de la Absorbancia (D)



**Anexo VI.** Determinación de Polifenoles (A) y Flavonoides Totales (B), Cuantificación por Espectrofotometría UV (C)



**Anexo VII. Rendimiento de sólidos solubles totales (SST) extraídos de las 8 plantas medicinales**

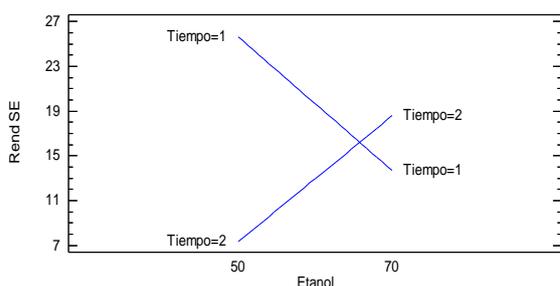
Plantas Medicinales	Variables		Rendimiento de sólidos extraídos %(p/v)		
	Disolvente	Tiempo	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
<b>Hierba Luisa</b>	<b>ETOH 50%</b>	<b>1 h</b>	<b>25,39</b>	<b>25,9</b>	<b>25,65</b>
	ETOH 50%	2 h	7,268	7,36	7,31
	ETOH 70%	1 h	13,71	13,65	13,68
	ETOH 70%	2 h	18,36	18,81	18,59
<b>Menta</b>	<b>ETOH 50%</b>	<b>1 h</b>	<b>32,62</b>	<b>32,25</b>	<b>32,43</b>
	ETOH 50%	2 h	5,182	5,94	5,56
	ETOH 70%	1 h	20,48	20,78	20,63
	ETOH 70%	2 h	21,77	21,89	21,83
<b>Alcachofera (planta)</b>	<b>ETOH 50%</b>	<b>1 h</b>	<b>30,73</b>	<b>30,98</b>	<b>30,85</b>
	ETOH 50%	2 h	12,95	13,04	12,99
	ETOH 70%	1 h	21,09	21,32	21,20
	ETOH 70%	2 h	17,42	17,35	17,39
<b>Alcachofa (fruta)</b>	<b>ETOH 50%</b>	<b>1 h</b>	<b>54,89</b>	<b>53,4</b>	<b>54,15</b>
	ETOH 50%	2 h	3,41	3,93	3,67
	ETOH 70%	1 h	11,22	11,35	11,28
	ETOH 70%	2 h	17,33	17,45	17,39
<b>Canela</b>	ETOH 50%	1 h	24,14	24,30	24,22
	ETOH 50%	2 h	17,25	17,68	17,46
	ETOH 70%	1 h	30,94	30,91	30,93
	<b>ETOH 70%</b>	<b>2 h</b>	<b>35,82</b>	<b>35,99</b>	<b>35,91</b>
<b>Jengibre</b>	<b>ETOH 50%</b>	<b>1 h</b>	<b>66,70</b>	<b>66,58</b>	<b>66,64</b>
	ETOH 50%	2 h	5,01	5,67	5,34
	ETOH 70%	1 h	30,01	30,18	30,09
	ETOH 70%	2 h	17,51	17,41	17,46
<b>Albahaca</b>	<b>ETOH 50%</b>	<b>1 h</b>	<b>45,92</b>	<b>45,93</b>	<b>45,93</b>
	ETOH 50%	2 h	11,70	12,1	11,9
	ETOH 70%	1 h	28,78	28,35	28,56
	ETOH 70%	2 h	28,85	28,81	28,83
<b>Té Verde</b>	ETOH 50%	1 h	18,29	18,88	18,59
	ETOH 50%	2 h	19,89	19,39	19,64
	<b>ETOH 70%</b>	<b>1 h</b>	<b>34,85</b>	<b>34,63</b>	<b>34,74</b>
	ETOH 70%	2 h	30,57	30,32	30,45

## Anexo VIII. Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*)

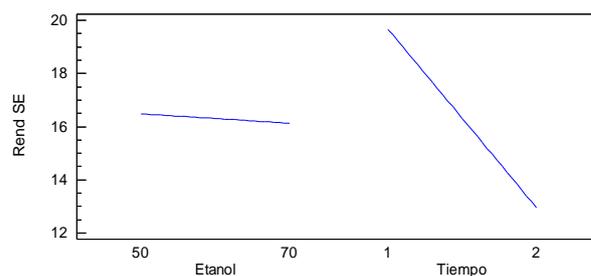
Análisis de Varianza para Rend SE

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Etanol	0,241513	1	0,241513	6,32	0,0866
B:Tiempo	90,1153	1	90,1153	2358,27	0,0000
AB	269,933	1	269,933	7063,99	0,0000
bloques	0,122512	1	0,122512	3,21	0,1713
Error total	0,114637	3	0,0382125		
Total (corr.)	360,527	7			

Gráfica de Interacción para Rend SE



Gráfica de Efectos Principales para Rend SE

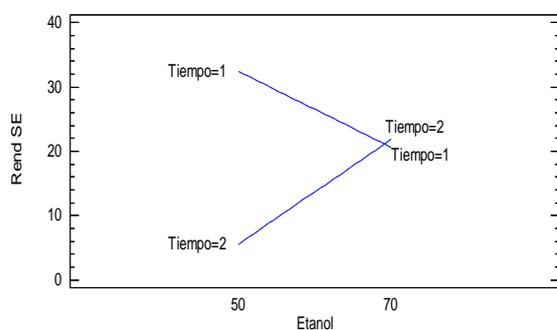


## Anexo IX. Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Menta (*Mentha sativa* L)

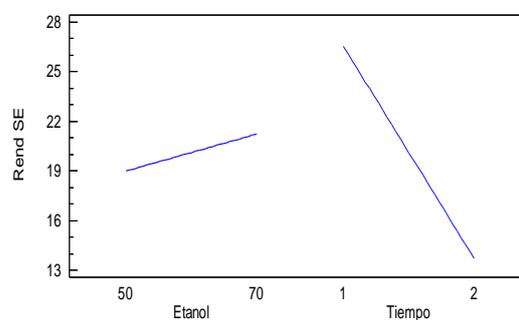
Análisis de Varianza para Rend SE

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Etanol	14,9633	1	14,9633	274,18	0,0000
B:Tiempo	494,34	1	494,34	9057,99	0,0000
AB	591,084	1	591,084	10830,67	0,0000
bloques	0,0820167	2	0,0410083	0,75	0,5114
Error total	0,32745	6	0,054575		
Total (corr.)	1100,8	11			

Gráfica de Interacción para Rend SE



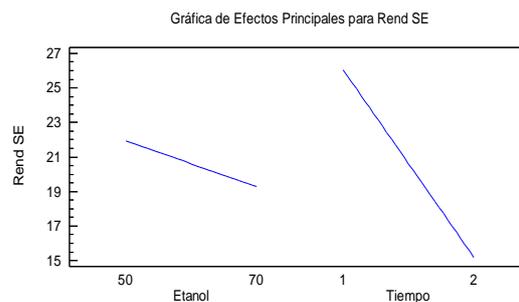
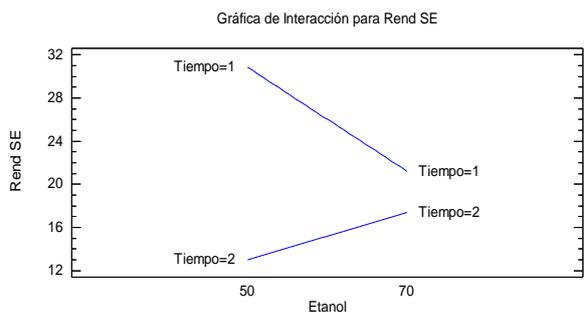
Gráfica de Efectos Principales para Rend SE



## Anexo X. Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Alcachofera (planta) (*Cynara scolymus* L)

Análisis de Varianza para Rend SE

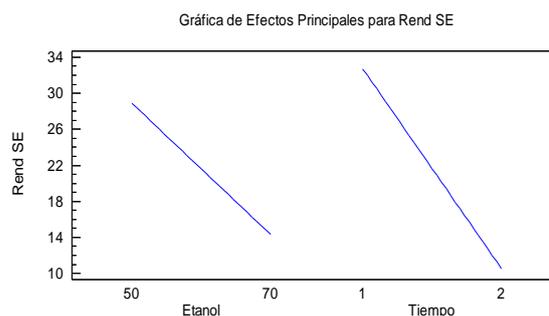
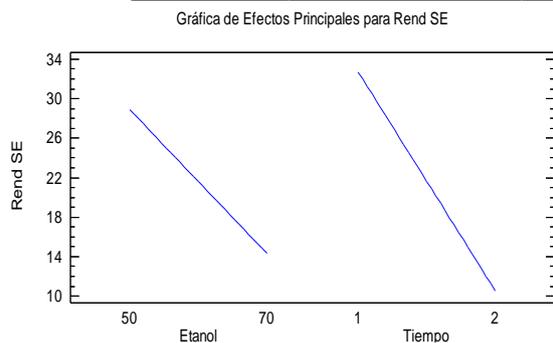
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Etanol	20,7113	1	20,7113	3824,11	0,0000
B:Tiempo	352,463	1	352,463	65078,36	0,0000
AB	147,876	1	147,876	27303,74	0,0000
bloques	0,0306542	2	0,0153271	2,83	0,1363
Error total	0,0324958	6	0,00541597		
Total (corr.)	521,113	11			



## Anexo XI. Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Alcachofa (fruta) (*Cynara scolymus* L)

Análisis de Varianza para Rend SE

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Etanol	637,729	1	637,729	3194,72	0,0000
B:Tiempo	1477,63	1	1477,63	7402,25	0,0000
AB	2402,67	1	2402,67	12036,25	0,0000
bloques	0,0652167	2	0,0326083	0,16	0,8529
Error total	1,19772	6	0,199619		
Total (corr.)	4519,29	11			

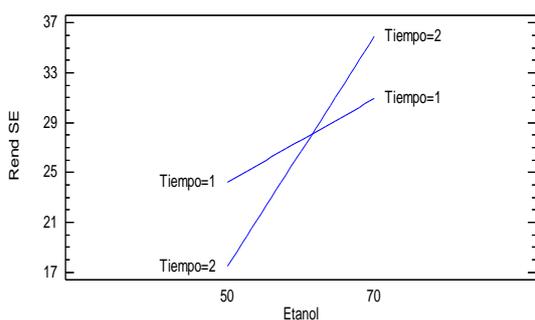


## Anexo XII. Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Canela (*Cinnamomum verum* J)

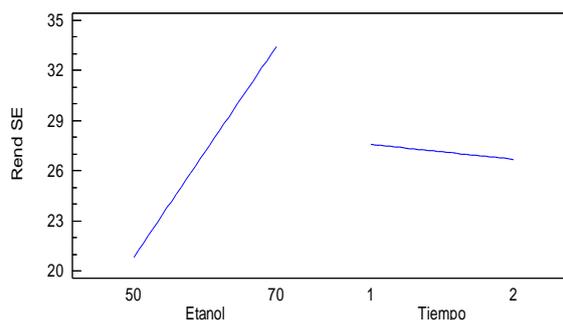
**Análisis de Varianza para Rend SE**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Etanol	474,392	1	474,392	53120,09	0,0000
B:Tiempo	2,36741	1	2,36741	265,09	0,0000
AB	103,312	1	103,312	11568,37	0,0000
bloques	0,0666167	2	0,0333083	3,73	0,0886
Error total	0,0535833	6	0,00893056		
Total (corr.)	580,191	11			

Gráfica de Interacción para Rend SE



Gráfica de Efectos Principales para Rend SE

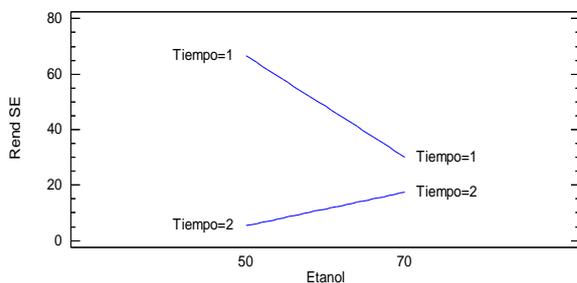


## Anexo XIII. Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Jengibre (*Zingiber officinale* L)

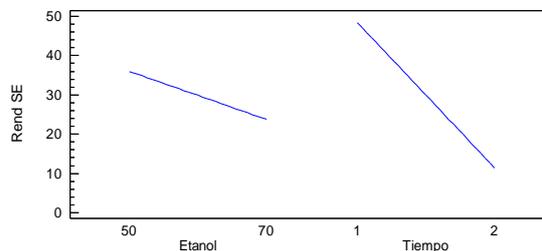
**Análisis de Varianza para Rend SE**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Etanol	446,276	1	446,276	13204,52	0,0000
B:Tiempo	4095,91	1	4095,91	121190,66	0,0000
AB	1773,9	1	1773,9	52486,59	0,0000
bloques	0,04835	2	0,024175	0,72	0,5265
Error total	0,202783	6	0,0337972		
Total (corr.)	6316,34	11			

Gráfica de Interacción para Rend SE



Gráfica de Efectos Principales para Rend SE

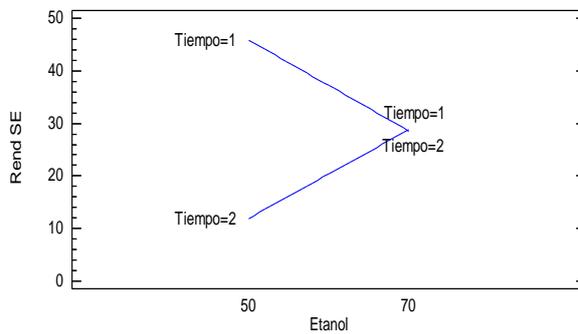


## Anexo XIV. Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Albahaca (*Ocimum basilicum* L)

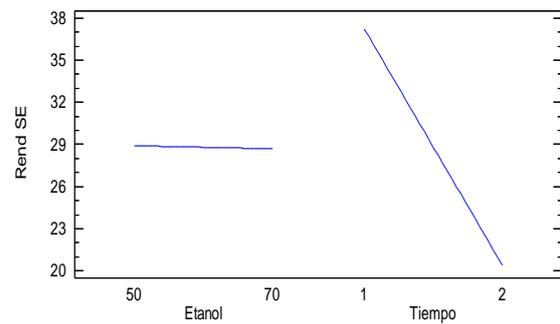
**Análisis de Varianza para Rend SE**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Etanol	0,140833	1	0,140833	4,89	0,0691
B:Tiempo	854,803	1	854,803	29666,36	0,0000
AB	882,025	1	882,025	30611,09	0,0000
bloques	0,00045	2	0,000225	0,01	0,9922
Error total	0,172883	6	0,0288139		
Total (corr.)	1737,14	11			

Gráfica de Interacción para Rend SE



Gráfica de Efectos Principales para Rend SE

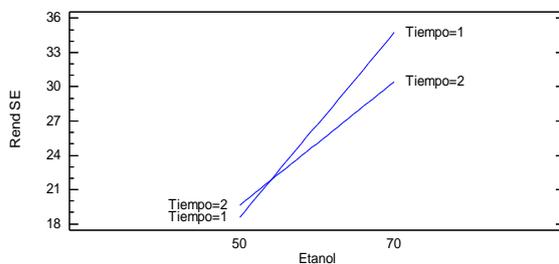


## Anexo XV. Análisis Estadístico del Proceso de Extracción con Té verde (*Camellia sinensis*)

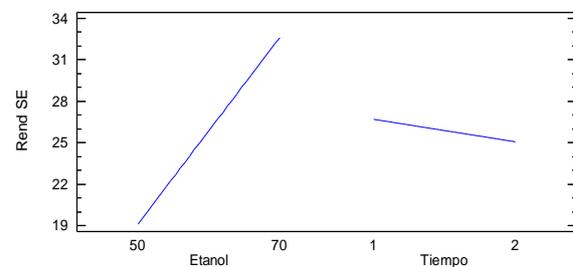
**Análisis de Varianza para Rend SE**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Etanol	545,131	1	545,131	9720,98	0,0000
B:Tiempo	7,8732	1	7,8732	140,40	0,0000
AB	21,4401	1	21,4401	382,33	0,0000
bloques	0,0180667	2	0,00903333	0,16	0,8548
Error total	0,336467	6	0,0560778		
Total (corr.)	574,799	11			

Gráfica de Interacción para Rend SE



Gráfica de Efectos Principales para Rend SE



**Anexo XVI.** Valores de la Concentración de los Extractos Vegetales de las 8 Plantas Medicinales

<b>Plantas Medicinales</b>	<b>Vol. (mL)</b>	<b>(g)</b>	<b>%St</b>	<b>Vol. Extracción</b>
<b>Hierba Luisa</b>	156 mL	17,74	1,745	730 mL
<b>Menta</b>	162 mL	18,62	2,19	850 mL
<b>Alcachofera (planta)</b>	86 mL	16,22	2,028	800 mL
<b>Alcachofa (fruta)</b>	152 mL	7,76	1,194	650 mL
<b>Canela</b>	60 mL	13,55	1,882	720 mL
<b>Jengibre</b>	136 mL	26,60	3,801	700 mL
<b>Albahaca</b>	146 mL	15,22	1,791	850 mL
<b>Té Verde</b>	76 mL	23,75	3,167	750 mL

**Anexo XVII.** Concentración de St para formular el Microencapsulado

<b>Plantas Medicinales</b>	<b>Concentración de St para formular el Microencapsulado</b>
<b>Hierba Luisa</b>	68,2 mL
<b>Menta</b>	67,5 mL
<b>Alcachofera (planta)</b>	41,1 mL
<b>Alcachofa (fruta)</b>	7,76 mL
<b>Canela</b>	34,4 mL
<b>Jengibre</b>	36,7 mL
<b>Albahaca</b>	74,4 mL
<b>Té Verde</b>	24,8 mL
<b>Total</b>	<b>354,86 mL</b>

**Anexo XVIII.** Comparación de la actividad antiinflamatoria del extracto vegetal de las 8 plantas medicinales y del antiinflamatorio testigo la aspirina

Aspirina (Control)				Microencapsulado			
ASA1 (%)	ASA15 (%)	ASA2 (%)	ASA25 (%)	MZ1 (%)	MZ15 (%)	MZ2 (%)	MZ25 (%)
24,29	61,69	63,12	64,33	42,88	53,68	74,66	76,96
23,53	61,90	64,13	64,40	40,30	53,35	74,78	76,91
22,20	61,82	63,70	64,47	40,40	53,91	74,72	76,80

**Leyenda**

**ASA1:** Concentración de Aspirina 1 mg/ml      **ASA15:** Concentración de Aspirina 1,5 mg/ml  
**ASA2:** Concentración de Aspirina 2 mg/ml      **ASA25:** Concentración de Aspirina 2,5 mg/ml  
**MZ1:** Concentración del Microencapsulado 1 mg/ml      **MZ15:** Concentración del Microencapsulado 1,5 mg/ml  
**MZ2:** Concentración del Microencapsulado 2 mg/ml      **MZ25:** Concentración del Microencapsulado 2,5 mg/ml

**Anexo XIX.** Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*) frente al Microencapsulado

**Tabla ANOVA**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	11404,4	7	1629,2	4075,26	0,0000
Intra grupos	6,39647	16	0,399779		
Total (Corr.)	11410,8	23			

**Pruebas de Múltiple Rangos**

Método: 95,0 porcentaje LSD

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
HI1	3	11,3733	X
HI15	3	25,65	X
HI2	3	27,8833	X
ME1	3	41,18	X
HI25	3	48,7033	X
ME15	3	53,6467	X
ME2	3	74,72	X
ME25	3	76,89	X

\* indica una diferencia significativa

**Leyenda**

**HI1:** Concentración de Hierba Luisa 1 mg/ml      **HI15:** Concentración de Hierba Luisa 1,5 mg/ml  
**HI2:** Concentración de Hierba Luisa 2 mg/ml      **HI25:** Concentración de Hierba Luisa 2,5 mg/ml  
**ME1:** Concentración de Microencapsulado 1 mg/ml      **ME15:** Concentración de Microencapsulado 1,5 mg/ml  
**ME2:** Concentración de Microencapsulado 2 mg/ml      **ME25:** Concentración de Microencapsulado 2,5 mg/ml

**Anexo XX.** Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Menta (*Mentha sativa* L) frente al Microencapsulado

**Tabla ANOVA**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	14831,9	7	2118,84	5451,32	0,0000
Intra grupos	6,21893	16	0,388683		
Total (Corr.)	14838,1	23			

**Pruebas de Múltiple Rangos**

Método: 95,0 porcentaje LSD

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
M1	3	3,32333	X
M15	3	15,8433	X
M2	3	23,4767	X
ME1	3	41,18	X
M25	3	41,4233	X
ME15	3	53,6467	X
ME2	3	74,72	X
ME25	3	76,89	X

\* indica una diferencia significativa.

**Leyenda**

**M1:** Concentración de Menta 1 mg/ml

**M15:** Concentración de Menta 1,5 mg/ml

**M2:** Concentración de Menta 2 mg/ml

**M25:** Concentración de Menta 2,5 mg/ml

**ME1:** Concentración de Microencapsulado 1 mg/ml

**ME15:** Concentración de Microencapsulado 1,5 mg/ml

**ME2:** Concentración de Microencapsulado 2 mg/ml

**ME25:** Concentración de Microencapsulado 2,5 mg/ml

**Anexo XXI.** Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Alcachofera (*Cynara scolymus* L) frente al Microencapsulado.

**Tabla ANOVA**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	10894,9	7	1556,41	4042,28	0,0000
Intra grupos	6,16053	16	0,385033		
Total (Corr.)	10901,1	23			

**Pruebas de Múltiple Rangos**

Método: 95,0 porcentaje LSD

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
AP1	3	16,0433	X
AP15	3	23,0633	X
AP2	3	30,6733	X
AP25	3	33,5967	X
ME1	3	41,18	X
ME15	3	53,6467	X
ME2	3	74,72	X
ME25	3	76,89	X

\* indica una diferencia significativa.

**Leyenda**

**AP1:** Concentración de Alcachofera (planta) 1 mg/ml

**AP15:** Concentración de Alcachofera (planta) 1,5 mg/ml

**AP2:** Concentración de Alcachofera (planta) 2 mg/ml

**AP25:** Concentración de Alcachofera (planta) 2,5 mg/ml

**ME1:** Concentración de Microencapsulado 1 mg/ml

**ME15:** Concentración de Microencapsulado 1,5 mg/ml

**ME2:** Concentración de Microencapsulado 2 mg/ml

**ME25:** Concentración de Microencapsulado 2,5 mg/ml

**Anexo XXII.** Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Alcachofa Fruta (*Cynara scolymus* L) frente al Microencapsulado

**Tabla ANOVA**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	9826,63	7	1403,8	3409,53	0,0000
Intra grupos	6,58767	16	0,411729		
Total (Corr.)	9833,22	23			

**Pruebas de Múltiple Rangos**

Método: 95,0 porcentaje LSD

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
AF1	3	15,9667	X
AF15	3	29,7667	X
AF2	3	33,1467	X
AF25	3	36,58	X
ME1	3	41,18	X
ME15	3	53,6467	X
ME2	3	74,72	X
ME25	3	76,89	X

\* indica una diferencia significativa.

**Leyenda**

**AF1:** Concentración de Alcachofa Fruta 1 mg/ml

**AF15:** Concentración de Alcachofa Fruta 1,5 mg/ml

**AF2:** Concentración de Alcachofa Fruta 2 mg/ml

**AF25:** Concentración de Alcachofa Fruta 2,5 mg/ml

**ME1:** Concentración de Microencapsulado 1 mg/ml

**ME15:** Concentración de Microencapsulado 1,5 mg/ml

**ME2:** Concentración de Microencapsulado 2 mg/ml

**ME25:** Concentración de Microencapsulado 2,5 mg/ml

**Anexo XXIII.** Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Canela (*Cinnamomum verum* J) frente al Microencapsulado

**Tabla ANOVA**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	12118,3	7	1731,18	5045,53	0,0000
Intra grupos	5,4898	16	0,343112		
Total (Corr.)	12123,8	23			

**Pruebas de Múltiple Rangos**

Método: 95,0 porcentaje LSD

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
C1	3	10,55	X
C15	3	22,23	X
C2	3	26,2433	X
ME1	3	41,18	X
C25	3	46,1967	X
ME15	3	53,6467	X
ME2	3	74,72	X
ME25	3	76,89	X

\* indica una diferencia significativa.

**Leyenda**

**C1:** Concentración de Canela 1 mg/ml

**C15:** Concentración de Canela 1,5 mg/ml

**C2:** Concentración de Canela 2 mg/ml

**C25:** Concentración de Canela 2,5 mg/ml

**ME1:** Concentración del Microencapsulado 1 mg/ml

**ME15:** Concentración del Microencapsulado 1,5 mg/ml

**ME2:** Concentración del Microencapsulado 2 mg/ml

**ME25:** Concentración del Microencapsulado 2,5 mg/ml

**Anexo XXIV.** Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Jengibre (*Zingiber officinale* L) frente al Microencapsulado

**Tabla ANOVA**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	9932,25	7	1418,89	3024,96	0,0000
Intra grupos	7,505	16	0,469062		
Total (Corr.)	9939,76	23			

**Pruebas de Múltiple Rangos**

Método: 95,0 porcentaje LSD

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
J1	3	14,3433	X
J15	3	31,08	X
J2	3	32,66	X
J25	3	38,9367	X
ME1	3	41,18	X
ME15	3	53,6467	X
ME2	3	74,72	X
ME25	3	76,89	X

\* indica una diferencia significativa.

**Leyenda**

**J1:** Concentración de Jengibre 1 mg/ml

**J15:** Concentración de Jengibre 1,5 mg/ml

**J2:** Concentración de Jengibre 2 mg/ml

**J25:** Concentración de Jengibre 2,5 mg/ml

**ME1:** Concentración del Microencapsulado 1 mg/ml

**ME15:** Concentración del Microencapsulado 1,5 mg/ml

**ME2:** Concentración del Microencapsulado 2 mg/ml

**ME25:** Concentración del Microencapsulado 2,5 mg/ml

**Anexo XXV.** Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Albahaca (*Ocimum basilicum* L) frente al Microencapsulado

**Tabla ANOVA**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	16462,9	7	2351,84	6420,52	0,0000
Intra grupos	5,8608	16	0,3663		
Total (Corr.)	16468,7	23			

**Pruebas de Múltiple Rangos**

Método: 95,0 porcentaje LSD

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
AL1	3	3,98667	X
AL15	3	10,98	X
AL2	3	16,13	X
AL25	3	34,2367	X
ME1	3	41,18	X
ME15	3	53,6467	X
ME2	3	74,72	X
ME25	3	76,89	X

\* indica una diferencia significativa.

**Leyenda**

**A1:** Concentración de Albahaca 1 mg/ml

**A15:** Concentración de Albahaca 1,5 mg/ml

**A2:** Concentración de Albahaca 2 mg/ml

**A25:** Concentración de Albahaca 2,5 mg/ml

**ME1:** Concentración de Microencapsulado 1 mg/ml

**ME15:** Concentración de Microencapsulado 1,5 mg/ml

**ME2:** Concentración de Microencapsulado 2 mg/ml

**ME25:** Concentración de Microencapsulado 2,5 mg/ml

**Anexo XXVI.** Análisis Estadístico de la Actividad antiinflamatoria del extracto de Té Verde (*Camellia sinensis*) frente al Microencapsulado

**Tabla ANOVA**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	12420,5	7	1774,35	3039,56	0,0000
Intra grupos	9,34007	16	0,583754		
Total (Corr.)	12429,8	23			

**Pruebas de Múltiple Rangos**

Método: 95,0 porcentaje LSD

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
TV1	3	12,9033	X
TV15	3	21,8567	X
TV2	3	22,91	X
TV25	3	32,0433	X
ME1	3	41,18	X
ME15	3	53,6467	X
ME2	3	74,72	X
ME25	3	76,89	X

\* indica una diferencia significativa.

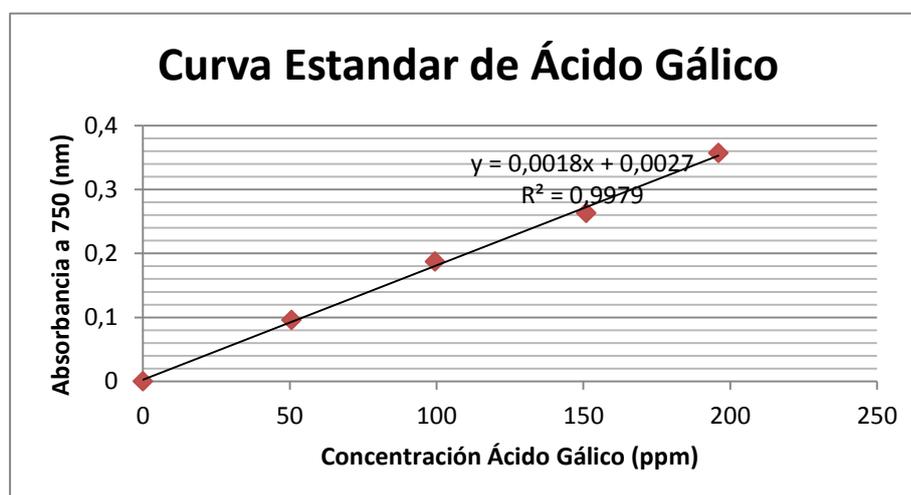
**Leyenda**

- Tv1:** Concentración de Té Verde 1 mg/ml      **Tv15:** Concentración de Té Verde 1,5 mg/ml  
**Tv2:** Concentración de Té Verde 2 mg/ml      **Tv25:** Concentración de Té Verde 2,5 mg/ml  
**ME1:** Concentración de Microencapsulado 1 mg/ml      **ME15:** Concentración de Microencapsulado 1,5 mg/ml  
**ME2:** Concentración de Microencapsulado 2 mg/ml      **ME25:** Concentración de Microencapsulado 2,5 mg/ml

**Anexo XXVII.** Valores de Absorbancia para la elaboración de la Curva Patrón a partir de Ácido Gálico a 750 (nm) (A). Cuantificación Polifenoles Totales. Curva Patrón de Ácido Gálico (B).

Concentración de ácido Gálico (mg/L)	Absorbancia a 750 (nm)
0,00	0,000
50,61	0,0958
99,53	0,1868
151,05	0,263
195,99	0,3568

A



B

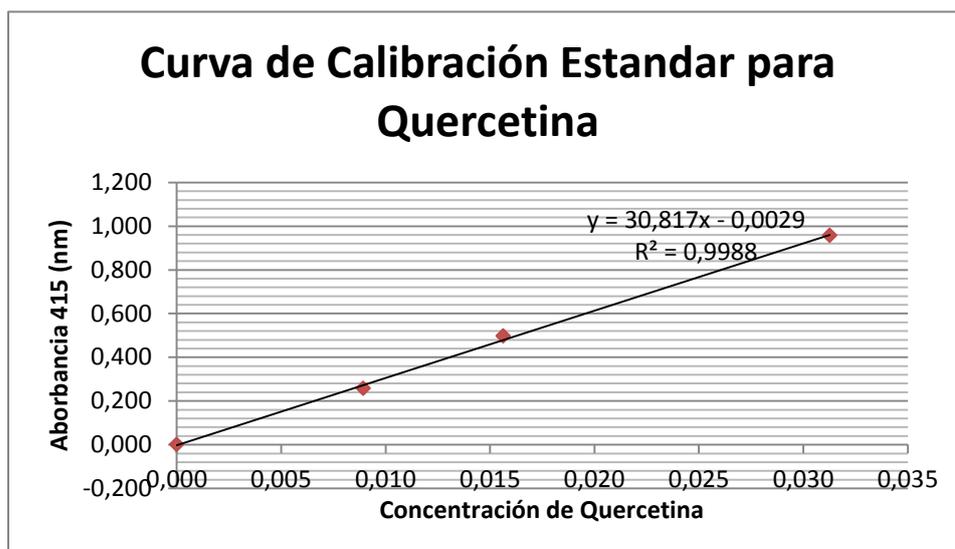
**Anexo XXVIII.** Polifenoles Totales. Valor de Absorbancias mediadas por triplicado a 750 nm para cada tratamiento: con agua destilada (M1) y Metanol: Agua (50:50 v/v) y Acetona: Agua (70:30 v/V) (M2).

<b>Polifenoles Totales</b>	
<b>Réplicas</b>	<b>Abs</b>
<b>1</b>	0,278
<b>2</b>	0,288
<b>3</b>	0,283

**Anexo XXIX.** Valores de Absorbancia para la elaboración de la Curva Patrón a partir de Quercetina a 415 (nm) (A). Cuantificación de Flavonoides Totales. Curva Patrón (B).

<b>Concentración de Quercetina</b>	<b>Absorbancia a 415 (nm)</b>
0	0
100	0,2561
175	0,4965
350	0,9565

A



B

**Anexo XXX.** Flavonoides Totales. Valor de las Absorbancias mediadas por triplicado a 415 (nm)

<b>Réplicas</b>	<b>Abs 415 (nm)</b>
<b>R1</b>	0,334
<b>R2</b>	0,336
<b>R3</b>	0,334