



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE LOS EXTRACTOS
DEL ESCANCEL (*Aerva sanguinolenta*), TEATINA (*Scoparia dulcis L*),
SANGORACHE (*Amaranthus hybridus L.*) FRENTE A *Trichoderma*, *Penicillium*,
Aspergillus.”**

TESIS DE GRADO

PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR

MÓNICA PATRICIA MOYÓN LLAMUCA

RIOBAMBA – ECUADOR

2014

DEDICATORIA

*A Dios y a la Virgen Santísima por
atender cada una de mis peticiones
y por bendecirme en mi diario vivir.*

*A esos dos seres excepcionales que
han sabido guiarme y enseñarme el
verdadero sentido de la vida, mis
padres*

Luis Moyón y Esperanza Llamuca.

*A mis hermanas/o y cuñados/a por el
ejemplo de constancia y los
momentos gratos compartidos.*

*A mis sobrinos/as que constantemente
me transmiten su alegría, cariño y
ternura.*

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

A la Dra. Susana Abdo e Ing. Paola Chiliza

*por compartir sus conocimientos y su tiempo
en la realización y revisión del presente
trabajo.*

A mis padres, hermanas /o, cuñados por

*el constante apoyo durante mi vida
estudiantil de manera especial a Pilar y
en la realización de éste trabajo*

a Elina y Armando.

A mis amigas por compartir

buenos y malos momentos.

A todos uds. Que Dios y la Virgen

Santísima los ilumine y cuide sus hogares.

ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA

El tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “**DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE LOS EXTRACTOS DEL ESCANCEL (*Aerva sanguinolenta*), TEATINA (*Scoparia dulcis L*), SANGORACHE (*Amaranthus hybridus L*) FRENTE A *Trichoderma, Penicillium, Aspergillus.*”, de responsabilidad de la estudiante egresada Mónica Patricia Moyón Llamuca, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.**

	FIRMA	FECHA
Ing. Cesar Avalos	_____	_____
DECANO		
Dra. Ana Albuja	_____	_____
DIRECTORA DE ESCUELA		
Dra. Susana Abdo	_____	_____
DIRECTORA DE TESIS		
Ing. Paola Chiluzia	_____	_____
MIEMBRO DE TRIBUNAL		
Dr. Carlos Espinoza	_____	_____
MIEMBRO DE TRIBUNAL		
DIRECTOR CENTRO	_____	_____
DE DOCUMENTACION		
NOTA DE TESIS ESCRITA	_____	

Yo, Mónica Patricia Moyón Llamuca, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

MONICA PATRICIA MOYON LLAMUCA

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue determinar la actividad antifúngica de los extractos del Escancel (*Aerva sanguinolenta*), Teatina (*Scoparia dulcis L*) y Sangorache (*Amaranthus hybridus L.*) frente a *Trichoderma*, *Penicillium* y *Aspergillus*. Estudio efectuado en los laboratorios de productos naturales y de microbiología ambiental de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo para dar solución a problemas agroindustriales y patologías en animales y el ser humano a causa de estos hongos.

Se realizaron extractos y sub- extractos utilizando solventes de distinta polaridad aplicándoles pruebas cualitativas preliminares para identificar los metabolitos secundarios. Las cepas de *Penicillium* y *Aspergillus* fueron aisladas de muestras de suelo y cereales en proceso de fermentación respectivamente; mientras que la cepa de *Trichoderma* se obtuvo purificada. Posteriormente mediante las técnicas de bioautobiografía y difusión en placas se observaron zonas inhibidas y ausencia de crecimiento, asignando la responsabilidad a compuestos fenólicos, cumarinas, flavonoides, alcaloides, terpenos que según datos bibliográficos poseen actividad antimicrobiana; estos compuestos fueron identificados a través del screening fitoquímico, espectrofotometría UV-Visible y por cromatografía en capa fina (TLC) por sus Rf. En la segunda técnica se realizó un análisis cualitativo para lo cual se establecieron parámetros como NC (no crecimiento), CP (crecimiento pobre), CM (crecimiento masivo).

De los análisis realizados se determinó que los extractos crudos del Escancel (*Aerva sanguinolenta*), Teatina (*Scoparia dulcis L*) y Sangorache (*Amaranthus hybridus L.*) presentan mayor actividad antifúngica frente a los hongos investigados y se observa también actividad en los sub- extractos alcohólicos y acuosos.

Se concluye que los extractos crudos de estos vegetales poseen actividad antifúngica frente a las cepas de *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus* por lo que se recomienda la elaboración de productos fitoterapéuticos y agroindustriales en beneficio de la sociedad.

ABSTRACT

The objective of this investigation was to determine the antifungal activity of the extracts, of Escancel (*Aerva sanguinolenta*), Teatina (*Scoparia dulcis L*) and Sangorache (*Amaranthus hybridus L.*) against *Trichoderma*, *Penicillium* and *Aspergillus*. Study carried out in the laboratories of natural products and for environmental microbiology at the Polytechnic School of Chimborazo, to solve problems in agribusiness and animal and human beings diseases because of these fungi.

Sub extracts and extracts were performed using solvents of different polarity by applying preliminary qualitative tests to identify the secondary metabolites. Strains of *Penicillium* and *Aspergillus* were isolated from soil samples and fermenting cereal, respectively; while strain of *Trichoderma* purified was obtained. Subsequently, bioautobiografía techniques, and diffusion plate were observed and no inhibited growth areas, assigning responsibility for phenolic compounds, coumarins, flavonoids, alkaloids, terpenes as bibliographic data have antimicrobial activity; these compounds were identified through the phytochemical screening, UV-Visible spectrophotometry and thin layer chromatography (TLC) for their Rf. In the second technique for qualitative analysis which parameters such as NC (no growth), CP (poor growth), CM (massive growth) was performed settled.

From the analyzes it was determined that the crude extracts of Escancel (*Aerva sanguinolenta*), Teatina (*Scoparia dulcis L*) and Sangorache (*Amaranthus hybridus L.*) had the highest antifungal activity against fungi investigated, and activity was also observed in the sub-extracts, alcoholic and aqueous.

We conclude that the crude extracts of these plants have antifungal activity against strains of *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus* so it is recommended; phytotherapeutic processing and agroindustrial products for the benefit of society.

ÍNDICE

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

ÍNDICE DE ANEXOS

ÍNDICE GENERAL

CAPITULO I	iv
1. MARCO TEÓRICO	iv
1.1 Micosis	iv
1.1.1 Clasificación	- 2 -
1.1.2 Enfermedades fúngicas en animales	- 3 -
1.1.3 Hongos a nivel agroindustrial	- 4 -
1.2 Fitoterapia de las infecciones fúngicas	- 5 -
1.2.2 Tratamiento de hongos causantes de micosis	- 6 -
1.3 Dermatofitos	- 6 -
1.4 Escancel (<i>Aerva sanguinolenta</i>)	- 7 -
1.4.1 Origen y distribución	- 8 -
1.4.2 Propiedades farmacológicas	- 8 -
1.4.3 Composición química	- 9 -
1.5 Teatina (<i>Scoparia dulcis L.</i>)	- 10 -
1.5.1 Origen y distribución	- 10 -
1.5.2 Propiedades farmacológicas	- 11 -
1.5.3 Composición química	- 11 -
1.6 Sangorache (<i>Amaranthus hybridus L.</i>)	- 12 -
1.6.1 Origen y distribución	- 13 -
1.6.3 Composición nutricional	- 14 -
1.6.4 Composición química	- 14 -
1.6.5 Usos industriales	- 15 -
1.7 Hongos utilizados en los análisis	- 15 -

1.7.1	<i>Trichoderma sp.</i>	- 15 -
1.7.1.1	Características <i>Trichoderma sp.</i>	- 16 -
1.7.2	<i>Trichoderma harzianum</i>	- 17 -
1.8	<i>Penicillium sp.</i>	- 19 -
1.8.1	Características.....	- 21 -
1.8.2	Usos	- 21 -
1.8.3	Enfermedades a causa de <i>Penicillium</i>	- 22 -
1.9.1	Características.....	- 23 -
1.9.2	Enfermedades a causa de <i>Aspergillus</i>	- 23 -
1.9.3	<i>Aspergillus niger</i>	- 24 -
1.9.3.1	Características.....	- 24 -
1.9.3.2	Usos	- 24 -
1.10	Bioautobiografía	- 25 -
CAPITULO II		- 26 -
2.	PARTE EXPERIMENTAL	- 26 -
2.1	Lugar de la investigación.....	- 26 -
2.2	Materiales, equipos y reactivos	- 26 -
2.2.1	Materiales	- 26 -
2.2.2	Equipos	27
2.2.3	Reactivos	28
2.3	Métodos y técnicas	28
2.3.1	Material vegetal para la obtención de extractos	28
2.3.2	Obtención de los extractos.....	30
2.3.4	Espectrofotometría uv- visible.....	33
2.3.5	Cromatografía de capa fina.....	33
2.3.6	Producción de hongos.....	34
2.3.7	Actividad antifúngica de los extractos de Escancel (<i>Aerva sanguinolenta</i>), Teatina (<i>Scoparia dulcis L</i>), Sangorache (<i>Amaranthus hybridus L.</i>) frente a <i>Trichoderma, Penicillium, Aspergillus.</i>	37
2.3.8	Evaluación de la actividad antifúngica por bioautobiografía	38
CAPITULO III		40
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
3.1	Control de calidad del material vegetal	40
3.2	Obtención de extractos	42
3.2.1	Control de calidad de los extractos.....	42
3.3	Tamizaje fitoquímico.....	44
3.4	Análisis espectrofotométrico uv- visible de los extractos	49

3.5	Cromatografía en capa delgada	51
3.6	Obtención de hongos	56
3.7	Evaluación de la actividad antifúngica de los extractos de Escancel, Teatina y Sangorache frente a <i>Trichoderma</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i>	57
3.7.1	Análisis estadístico	59
3.8	Evaluación de la actividad antifúngica de los extractos de escancel (<i>Aerva sanguinolenta</i>), Teatina (<i>Scoparia dulcis L</i>), Sangorache (<i>Amaranthus hybridus L.</i>) frente a <i>Trichoderma</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i> por bioautobiografía.....	65
	CAPITULO IV	72
	4.- CONCLUSIONES	72
	CAPITULO V	74
	5.- RECOMENDACIONES	74
	BIBLIOGRAFÍA	75
	ANEXOS	84

ABREVIATURAS

A.	Alcohólico
Ac.	Acuoso
A. P.	Alúmina de plástico
A.V.	Alúmina de vidrio
CM	Crecimiento masivo
CP.	Crecimiento pobre
E.	Etéreo
Ec.	Extracto crudo
H.	Hexánico
NC.	No crecimiento
nm.	Nanómetros
SG. V	Silica gel de vidrio
SG. A	Silica gel en aluminio
<i>sp.</i>	Especie

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1: Descripción botánica de Escancel (<i>Aerva sanguinolenta</i>)	7 -
TABLA N° 2: Descripción botánica de la Teatina (<i>Scoparia dulcis L.</i>)	10 -
TABLA N° 3: Descripción botánica del Sangorache (<i>Amaranthus hybridus L.</i>) ...	12 -
TABLA N° 4: Descripción taxonómica del género <i>Trichoderma sp.</i>	15 -
TABLA N° 5: Descripción taxonómica del género <i>Penicillium sp.</i>	20 -
TABLA N° 6: Descripción taxonómica del género <i>Aspergillus sp.</i>	22 -
TABLA N° 7: Solventes empleados para la obtención de los extractos	30
TABLA N° 8: Screening fitoquímico del material vegetal	32
TABLA N° 9: Composición de TRI- KO- FUN <i>Trichoderma harzianum</i>	35
TABLA N° 10: Determinación de humedad del escancel, sangorache y teatina.....	40
TABLA N° 11: Determinación de cenizas totales del escancel, sangorache y teatina	41
TABLA N° 12: Características organolépticas de los extractos	43
TABLA N° 13: pH de los extractos y sub- extractos de escancel, sangorache y teatina	44
TABLA N° 14: Resultados de screening fitoquímico de los extractos de distinta polaridad para alcaloides.....	44
TABLA N° 15: Resultados de screening fitoquímico de los extractos para lactonas y cumarinas.	45
TABLA N° 16: Resultados de screening fitoquímico de los extractos para grasas y aceites.....	45
TABLA N° 17: Resultados de screening fitoquímico de los extractos para terpenos y esteroides.....	45
TABLA N° 18: Resultados de screening fitoquímico de los extractos para fenoles y taninos.	46
TABLA N° 19: Resultados de screening fitoquímico de los extractos para saponinas.	46
TABLA N° 20: Resultados de screening fitoquímico de los extractos para flavonoides.	46
TABLA N° 21: Resultados de screening fitoquímico de los extractos para antocianidinas.....	47
TABLA N° 22: Resultados de screening fitoquímico de los extractos para resinas.....	47
TABLA N° 23: Resultados de screening fitoquímico de los extractos para mucilagos.	47
TABLA N° 24: Resultados de screening fitoquímico de los extractos para principios amargos y astringentes.	47
TABLA N° 25: Espectro UV- Visible de los extractos de escancel, sangorache y teatina	50
TABLA N° 26: Mezclas de solventes para cromatografías en capa delgada.....	52
TABLA N° 27: Rf en placas de silica y alúmina de vidrio de los extractos de escancel, sangorache y teatina	54
TABLA N° 28: Rf en placas de silica en papel cromatográfico y alúmina de plástico	55
TABLA N° 29: Actividad de los extractos del escancel (<i>Aerva sanguinolenta</i>) frente a <i>Penicillium sp. Trichoderma sp. Aspergillus sp.</i>	58
TABLA N° 30: Actividad de los extractos del sangorache (<i>Amaranthus hybridus L.</i>) frente a <i>Penicillium sp. Trichoderma sp. Aspergillus sp.</i>	58
TABLA N° 31: Actividad de los extractos de la teatina (<i>Scoparia dulcis L</i>) frente a <i>Penicillium sp. Trichoderma sp. Aspergillus sp.</i>	59

TABLA N° 32: Crecimiento de <i>Penicillium</i> , <i>Trichoderma</i> y <i>Aspergillus</i> frente a los extractos del escancel.	60
TABLA N° 33: Crecimiento de <i>Penicillium</i> , <i>Trichoderma</i> y <i>Aspergillus</i> frente a los extractos del sangorache	61
TABLA N° 34: Crecimiento de <i>Penicillium</i> , <i>Trichoderma</i> y <i>Aspergillus</i> frente a los extractos de la teatina.	62
TABLA N° 35: % de inhibición de crecimiento de <i>Penicillium</i> , <i>Trichoderma</i> y <i>Aspergillus</i> frente a los extractos del escancel.....	63
TABLA N° 36: % de inhibición de crecimiento de <i>Penicillium</i> , <i>Trichoderma</i> y <i>Aspergillus</i> frente a los extractos del sangorache	64
TABLA N° 37: % de inhibición de crecimiento de <i>Penicillium</i> , <i>Trichoderma</i> y <i>Aspergillus</i> frente a los extractos de la teatina.	64
TABLA N° 38: Rf y posibles grupos funcionales del escancel (<i>Aerva sanguinolenta</i>) con actividad antifúngica frente a <i>Trichoderma sp.</i> <i>Penicillium sp.</i> <i>Aspergillus sp.</i>	68
TABLA N° 39: Rf y posibles grupos funcionales del sangorache (<i>Amaranthus hybridus L.</i>) con actividad antifúngica frente a <i>Trichoderma sp.</i> <i>Penicillium sp.</i> <i>Aspergillus sp.</i>	69
TABLA N° 40: Rf y posibles grupos funcionales de la teatina (<i>Scoparia dulcis L.</i>), con actividad antifúngica frente a <i>Trichoderma sp.</i> <i>Penicillium sp.</i> <i>Aspergillus sp.</i>	70

ÍNDICE DE GRÁFICAS

GRÁFICA N° 1	Determinación del % humedad de escancel, sangorache y teatina. lab. de productos naturales. ESPOCH. Riobamba. 2014..... 41
GRÁFICA N° 2	Determinación del % de cenizas totales de escancel, sangorache y teatina. Lab. de Productos Naturales. ESPOCH. Riobamba. 2014.42
GRÁFICA N° 3	Valor promedio de crecimiento de <i>Penicillium</i> , <i>Trichoderma</i> y <i>Aspergillus</i> frente a los extractos del escancel. Lab. de Microbiología Ambiental. ESPOCH. Riobamba. 2014..... 60
GRÁFICA N° 4	Valor promedio de crecimiento de <i>Penicillium</i> , <i>Trichoderma</i> y <i>Aspergillus</i> frente a los extractos del sangorache. Lab. de Microbiología Ambiental. ESPOCH. Riobamba. 2014 61
GRÁFICA N° 5	Valor promedio de crecimiento de <i>Penicillium</i> , <i>Trichoderma</i> y <i>Aspergillus</i> frente a los extractos de la teatina. Lab. de Microbiología Ambiental. ESPOCH. Riobamba. 2014..... 62
GRÁFICA N° 6	% de inhibición de crecimiento de <i>Penicillium</i> , <i>Trichoderma</i> y <i>Aspergillus</i> frente a los extractos y sub- extractos del escancel. lab de microbiologia ambiental. ESPOCH. Riobamba.2014..... 63
GRÁFICA N° 7	% de inhibición de crecimiento de <i>Penicillium</i> , <i>Trichoderma</i> y <i>Aspergillus</i> frente a los extractos del sangorache. lab de microbiologia ambiental. ESPOCH. Riobamba.2014..... 64
GRÁFICA N° 8	% de inhibición de crecimiento de <i>Penicillium</i> , <i>Trichoderma</i> y <i>Aspergillus</i> frente a los extractos de la teatina. Lab. de Microbiología Ambiental. ESPOCH. Riobamba.2014 65

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 1	Proceso de obtención de los extractos con solventes de distinta polaridad	31
--------------------	---	----

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA N° 1	ESCANCEL (<i>Aerva sanguinolenta</i>) Recolectada en la parroquia San Gerardo del cantón Guano	7 -
FOTOGRAFÍA N° 2	TEATINA (<i>Scoparia dulcis</i> L.) Recolectada en el cantón Babahoyo provincia de Los Rios	10 -
FOTOGRAFÍA N° 3	SANGORACHE (<i>Amaranthus hybridus</i> L.) recolectada en la Parroquia San Gerardo del cantón Guano.....	12 -
FOTOGRAFÍA N° 4	<i>Trichoderma harzianum</i> aislado y purificado en el Lab. de Microbiología Ambiental de la ESPOCH. 2014.....	17 -
FOTOGRAFÍA N° 5	<i>Penicillium sp.</i> Aislado y purificado en el Lab. de Microbiología Ambiental de la ESPOCH. 2014	19 -
FOTOGRAFÍA N° 6	<i>Aspergillus niger</i> aislado y purificado en el Lab. de Microbiología Ambiental de la ESPOCH. 2014.....	24 -
FOTOGRAFÍA N° 7	Siembra de extractos de escancel sangorache y teatina sobre placas de silica gel y alúmina	33
FOTOGRAFÍA N° 8	TRI- KO- FUN " <i>Trichoderma harzianum</i> " Del departamento de fitopatología de la ESPOCH (MIKROBEN) 2014.....	34
FOTOGRAFÍA N° 9	Siembra de extractos de escancel, sangorache y teatina sobre agar saboraud.	37
FOTOGRAFÍA N° 10	Siembra de <i>Trichoderma</i> , <i>Penicillium</i> y <i>Aspergillus</i> , sobre extractos difundidos en agar saboraud.....	38
FOTOGRAFÍA N° 11	Aspersión de hongos sobre placas de silica gel.....	38
FOTOGRAFÍA N° 12	pH de los extractos de escancel, sangorache y teatina.....	43
FOTOGRAFÍA N° 13	Corrido de tolueno: acetato de etilo (93:7) y tolueno: metanol: ácido fórmico: agua (5,04:100:10:10)	52
FOTOGRAFÍA N° 14	Cromatografía de los extractos (apolares – polares) sobre silica de vidrio, revelado con sulfato de cerio (H ₂ SO ₄)	53
FOTOGRAFÍA N° 15	Cromatografía de los extractos (apolares – polares) sobre silica en aluminio y alúmina en plástico, revelado con sulfato de cerio (H ₂ SO ₄).....	53
FOTOGRAFÍA N° 16	Cromatografía de los extractos (apolares – polares) sobre silica de vidrio, revelado con vainillina (H ₂ SO ₄).....	54
FOTOGRAFÍA N° 17	Cepas puras de <i>Trichoderma</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i>	56
FOTOGRAFÍA N° 18	Evaluación de la actividad antifúngica de los extractos de escancel, sangorache y teatina frente a <i>Penicillium</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Aspergillus</i>	57
FOTOGRAFÍA N° 19	Bioautobiografía de los extractos (apolares – polares), frente al género <i>Penicillium</i>	66
FOTOGRAFÍA N° 20	Bioautobiografía de los extractos (apolares – polares), frente al género <i>trichoderma</i>	67
FOTOGRAFÍA N° 21	Bioautobiografía de los extractos (apolares –polares), frente al género <i>Aspergillus</i>	67

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N° 1	Diagrama de la metodología empleada en la investigación. Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Julio. 2014	84
ANEXO N° 2	Bioautobiografía de los extractos apolares, de constantes dieléctrica 1,89 (hexánico) y 4,34 (etéreo), frente al género <i>aspergillus</i> . Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Julio. 2014.....	85
ANEXO N° 3	Cromatografía de los extractos polares, de constante dieléctrica 24,3 (alcohólico) y 78,3 (acuoso) sobre alúmina de vidrio, revelado con sulfato de serio (H ₂ SO ₄), visto en la lámpara uv- visible. Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Julio. 2014	85
ANEXO N° 4	Cromatografía de los extractos apolares, de constantes dieléctrica 1,89 (hexánico) y 4,34 (etéreo), incluido el extracto alcohólico total, sobre silica gel, revelado con sulfato de cerio (H ₂ SO ₄), visto en la lámpara uv- visible. Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Julio. 2014	87
ANEXO N°5	Acondicionamiento de placas cromatograficas inoculadas con <i>Aspergillus</i> , <i>Trichoderma</i> y <i>Penicillium</i> . Laboratorio de Microbiología Ambiental. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Julio. 2014	88
ANEXO N° 6	Bioautobiografía de los extractos apolares y polares sobre placas de alúmina de vidrio. Laboratorio de Microbiología Ambiental. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Julio. 2014.....	88
ANEXO N° 7	Espectro UV- visible de los extractos del escancel (<i>A. sanguinolenta</i>). Laboratorio de instrumental. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Julio. 2014.....	89
ANEXO N° 8	Espectro UV- visible de los extractos del sangorache (<i>A. hybridus L.</i>). Laboratorio de Instrumental. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Julio. 2014.....	90
ANEXO N° 9	Espectro uv- visible de los extractos de la Teatina (<i>S. dulcis L.</i>). Laboratorio de Instrumental. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Julio. 2014.....	91

INTRODUCCIÓN

El ser humano desde hace muchas décadas ha hecho uso de los vegetales en varias actividades, algunas de ellas consideradas ancestrales, tal es el caso del uso de ciertas plantas en limpias (shaman), otras han sido usadas en el tratamiento de enfermedades o para salvar vidas en caso de accidentes, esta situación ha permitido que a un sin número de plantas las hayan catalogado como medicinales y de tal manera han sido clasificadas de acuerdo a la actividad terapéutica que han mostrado así: antiinflamatorias, antivirales, antiasmáticas, analgésicas, antifúngicas, etc.

En la actualidad se conocen estudios fitoquímicos, químicos, farmacológicos de una gran variedad de vegetales (85 %) (VELASTEGUI, M. 1995) que han permitido establecer los beneficios que brindan a quien haga uso de ellas, de esta manera las publicaciones de los diferentes estudios han facilitado también que la industria farmacéutica aproveche y oferte productos fitoterapéuticos que ayudan a prevenir enfermedades o a su vez ayuden en el tratamiento de las mismas.

Los vegetales poseen ciertas relaciones con microorganismos las mismas que pueden ser benéficas como perjudiciales, pues ciertos microorganismos provocan daño (pudrición) en el tejido del vegetal, por lo que ejercen mecanismos de defensa donde actúan metabolitos secundarios impidiendo la proliferación microbiana (bacteria, hongos, etc.) o a su vez se ve la intervención de otros microorganismos (*Trichoderma*) cuyo fin es degradar al perjudicial. De esta manera se establece importancia en aquellas plantas que poseen esta cualidad y se ha investigado la aplicación de ellas frente a distintos microorganismos que pueden ser perjudiciales no solo a nivel agronómico sino también causando problemas de salud en el ser humano animales. (ESTRADA, E. 2004)

Aproximadamente desde 1980 la incidencia de infecciones fúngicas se han incrementado notablemente, situación que puede deberse a los nuevos métodos

terapéuticos de los que se hace uso en aspectos clínicos; esta situación puede darse a causa de los fármacos antifúngicos que se receta en la actualidad y que a pesar de ser efectivos tienen desventajas ya que pueden resultar muy tóxicos, o producir alergias en el paciente. Es así que la mejor alternativa para dar solución a este problema es la búsqueda de nuevas opciones en el campo micológico. (VELASTEGUI, M. 1995)

En la presente investigación se han empleado vegetales nativos de nuestro país dos de ellos pertenecientes a la familia *Amaranthaceae* (escancel y sangorache) para determinar la similitud o diferencia de su actividad frente a los hongos empleados, de la misma manera se utilizó la teatina planta de fácil crecimiento en lugares e clima tropical y con varias aplicaciones terapéuticas. Un estudio científico realizado en la ESPOCH a partir de extractos del escancel mostró la actividad antifúngica del vegetal frente a ciertos microorganismos. (GUTIERRE, V. 2013) De la misma manera pruebas in vitro con extractos crudos reflejan la capacidad antifúngica de la teatina frente a *Aspergillus flavus*. (MASUMA, S. y LAZUMA, N. 2011)

Según Gil P. (2002) los metabolitos secundarios como los compuestos fenólicos (hidroxicinámicos o hidroxibenzoicos), cumarinas, flavonoides, alcaloides, terpenos, fenilpropanoides, aminas son compuestos que se encuentran en vegetales que demuestran actividad antifúngica.

Para esto existen técnicas mediante las cuales se determina los compuestos específicos que poseen actividad antimicrobiana tal es el caso de la bioautobiografía que por medio de la cromatografía de capa fina TLC permite la identificación de dichos metabolitos usando hongos con micelio pigmentado preferentemente; se conocen también otros tipos de técnicas como la difusión en placa mostrando de forma general la actividad.

Para nuestro estudio se han empleado hongos con micelio pigmentado y de rápido crecimiento como es el caso del género *Trichoderma*, de cual sus especies se encuentran distribuidos de manera natural en los suelos y hábitats del planeta, tiene la facilidad de reproducirse con gran facilidad y desarrolla esporas; se lo considera como uno de los hongos más aplicados en varios estudios de investigación por la capacidad de micoparasitar a otros hongos. (HOWELL Y STIPANOVIC, 1995)

El género *Aspergillus* y *Penicillium*, también han sido estudiados, se trata de hongos patógenos que presentan, colores característicos lo que facilita a la aplicación de técnicas de separación de compuestos puros, para la posterior utilización en la industria. (MÉNDEZ, L. 2010)

Este tipo de investigaciones son benéficos para el ser humano, veterinario incluso agrícola.

CAPITULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 MICOSIS

Según Vilata (2005) la palabra micosis quiere decir “enfermedad causada por hongos”; invadiendo en su mayoría de forma accidental al o los distintos tejidos del hospedador, puesto que su hábitat normal es el suelo. Se considera como una excepción a los dermatofitos ya que estos residen en la piel (órgano más extenso), uñas y pelo y pueden ser transmitidos de persona a persona, de animal a persona y pueden también darse infecciones micóticas por el contacto del hombre con la naturaleza. (FITZPATRICK 2003)

El primer hongo patógeno fue descubierto por Robert Remak en 1837, cuando observo la presencia de hifas de hongo en la enfermedad hoy conocida como favus a causa del *Trichophyton schonleinii*. (VILATA, J. 2005)

Es muy frecuente la dificultad para determinar que una cierta enfermedad se pueda considerar como micosis, ya que durante muchos años ha habido diversos patógenos como hongos, bacterias, protozoos y algas sin definirse la clasificación patológica específica, por otra parte es dificultoso también determinar si en realidad el hongo juega un papel patógeno en el hospedero. (ANDALUCIA, J. 2010)

Aproximadamente unos 300 tipos de hongos parasitan al ser humano y a los animales causando enfermedades en ellos (micosis); otros que no son parásitos pueden causar algún tipo de alergias. (LURÁ, M. 2009)

Según Lurá (2009) al ingerir alimentos contaminados con metabolitos secundarios de hongos puede producir intoxicaciones agudas o crónicas. De la misma manera que pueden causar daño otros hongos son benéficos y son empleados en la industria alimenticia, cosmética, farmacéutica.

1.1.1 CLASIFICACIÓN

Se consideran dos tipos de clasificación de las micosis; uno etiológico según el agente causal y uno clínico especificando la zona de infección por el hongo. (VILATA, J. 2005)

La **clasificación etiológica** considera a los hongos patógenos para el ser humano, que son susceptibles a cambios de clasificación y denominación por lo que se prefiere una categorización basada en características morfológicas de los hongos causales de enfermedades infecciosas así:

Hongos filamentosos:

- ✓ Dermatofitosis
- ✓ Hialohifomicosis
- ✓ Feohifomicosis
- ✓ Zigomicosis

Levaduras

- ✓ Candidosis
- ✓ Tricosporonosis
- ✓ Pitirosporiasis
- ✓ Criptococosis
- ✓ Rodotorulosis

Hongos dimorfos

- ✓ Histoplasmosis
- ✓ Coccidioidomicosis

- ✓ Paracoccidioidomicosis
- ✓ Blastomicosis
- ✓ Esporotricosis
- ✓ Penicilinosis
- ✓ Cromoblastomicosis por hongos dimorfos. (VILATA, J. 2005)

Dentro de la clasificación clínica se puede distinguir:

Micosis superficial

- ✓ No inflamatorias
- ✓ Inflamatorias

Micosis profunda

Micosis sistémica

- ✓ Respiratorias endémicas
- ✓ Sistémicas oportunistas (VILATA, J. 2005)

La afección es distinta en cada uno de los casos, pues en algunos de ellos solo se verá afectado las capas externas de la piel, pelo y uñas (micosis superficial), en otros casos puede afectar la dermis, el tejido celular subcutáneo, músculo y hueso (micosis profunda); en las micosis endémicas y oportunistas se dañan órganos internos siendo en algunos casos fulminantes sobre todo en pacientes inmunodeprimidos (VIH); muchas micosis oportunistas pueden mostrarse como aspergilosis a causa de *Aspergillus* , criptococosis, etc. incluso como una localización endémica como en el caso de peniciliosis a causa de *Penicillium marneffeii*. (VILATA, J. 2005)

1.1.2 ENFERMEDADES FÚNGICAS EN ANIMALES

Existe una gran variedad de infecciones fúngicas que afectan a los animales, encontrándose dificultad en la prevención por la casi total ausencia de vacunas. Una de las principales problemáticas al momento de tratar a los animales de este tipo de infecciones, es la mínima disponibilidad de fármacos o fitofármacos antifúngicos con

relación a los antibacterianos, por lo que es más complicado de conseguir, produce mayor cantidad de efectos secundarios y además se expone a que el animal presente resistencia de la misma forma que se ha observado con los antibióticos en tratamientos frente a bacterias. (GARCIA, M. y BLANCO, J. 2000)

García Y Blanco (2000) explican que en los perros más del 90 % de las dermatofitosis son a causa de *Microsporium canis*; es común también la rinitis micótica, criptococosis, otitis por levaduras. También se han encontrado micosis sistémicas en las que hasta hace poco tiempo consideraban como hongo implicado al *Aspergillus terreus* y que en la actualidad hay referencias de que son a causa de otras especies de hongos tanto del mismo género como de otros por ejemplo el *Penicillium*. (MENDEZ, L. 2014)

Situación parecida se observa en los felinos, bovinos, pequeños rumiantes, caballos, aves, porcinos, etc. (GARCIA, M. Y BLANCO, J. 2000)

1.1.3 HONGOS A NIVEL AGROINDUSTRIAL

Los hongos pueden vivir a expensas de materia orgánica muerta provocando su composición y mineralización, así como también puede causar cierto tipo de daños en otros seres vivos. Se sabe de alrededor de 8000 tipos de hongos perjudiciales para los vegetales que son utilizados como alimentos. (LURÁ, M. 2009)

Existen hongos potencialmente benéficos a nivel agroindustrial por la capacidad de degradar a otros que causan daño en los cultivos tal es el caso de *Trichoderma sp.* que es ampliamente utilizado y reproducido industrialmente. (GUILCAPI, E. 2009)

El interés de poner en marcha proyectos en esta área tiene varios intereses, pues mejora el rendimiento de especies cultivadas en peligro de ser afectadas por ciertas plagas, hace uso de nuevos desechos agroindustriales, lo que ocasiona ahorro económico y garantiza la calidad del producto alimenticio. (SANCHEZ, A. 2008)

1.2 FITOTERAPIA DE LAS INFECCIONES FÚNGICAS

La fitoterapia consiste en la utilización de plantas medicinales para el tratamiento de diferentes patologías, pueden resultar ser útiles como complemento terapéutico pues en ocasiones sirven para prevenir, curar como un coadyuvante o como un paliativo para los síntomas que presente el paciente. (CASTILLO, E. Y SOLIS, I. 2007)

La sociedad española de fitoterapia promueve la utilización racional de la fitoterapia y establece un consenso sobre el proceso de prescripción y utilización adecuada de este tipo de medicina. Estos medicamentos generalmente tienen márgenes terapéuticos más amplios que los medicamentos sintéticos y una gran ventaja es que producen menos efectos secundarios o a su vez se corre menos peligro de provocar resistencia a los medicamentos. (VANACLOCHA, B. 2003)

Es tan amplia la aplicación de los productos naturales que en la actualidad se busca perfeccionar estas técnicas y a nivel industrial producir medicamentos en base a vegetales de óptima calidad y que estos sean completamente seguros para determinadas patologías. (CASTILLO, E. Y SOLIS, I. 2007)

En el caso de las afecciones causadas por hongos no existe gran variedad de medicamentos en el mercado, sin embargo desde hace muchos años se utiliza varias plantas que poseen esta actividad y sirven como coadyuvante del tratamiento.

Entre las plantas que son empleadas para este tipo de patologías tenemos: el aloe vera, ajo, salvia, jengibre, propóleo, uña de gato etc. (ESTEBAN, J.)

Según Rivillas (2007) plantas pertenecientes a la familia Amaranthaceae poseen actividad antifúngica, pues mediante la obtención de extractos acuosos y extracción de una proteína del *Amaranthus hypochondriacus* fue comprobada su actividad; de la misma manera Gutiérrez (2013) demostró esta actividad con el escancel que también pertenece a la misma familia.

Estudios científicos realizados por Masuma S. y Lazuma N. (2011) también demuestran esta actividad en la teatina perteneciente a la familia Scrophulariaceae.

1.2.2 TRATAMIENTO DE HONGOS CAUSANTES DE MICOSIS

El incremento de este tipo de infecciones ha incentivado el desarrollo de productos antifúngicos, tópicos u orales. Para el tratamiento inicialmente se emplea cremas o polvos que disponen de sustancias antifúngicas que provoquen la muerte del hongo, entre ellas tenemos tolnaftato, undecilenato, clorofenesina, naftalina o a su vez un imidazol que puede ser clotrimazol, ketoconazol que científicamente han sido comprobada su actividad, otro fármaco potencialmente antimicótico es la anfotericina B. (PRADA, L Y VEGA, P. 2008)

1.3 DERMATOFITOS

Ecológicamente, los dermatofitos están clasificados en tres grupos. Antropofílicos, en donde el hospedero es humano; zoofílicos, en donde el hospedero es animal; y por último geofílicos, cuando cumplen su ciclo de vida o parte de este, en el suelo (Kane, 1997). Las dermatofitosis causadas por dermatofitos son también conocidas como tiñas, y son susceptibles a estas mamíferos, aves e incluso reptiles, se sabe que existe una relación entre la incidencia y expresión de la enfermedad con la edad. Se cree que este fenómeno se debe a que con la edad, el aumento del grosor de la piel, disminuye la receptividad del hongo en el hospedero (GONZÁLES, 1990). Morfológicamente, los dermatofitos están clasificados en tres géneros. *Trichophyton* se caracteriza por formar macroconidias multicelulares de pared lisa, y pueden existir microconias; *Microsporum*, forma macroconidias de pared rugosa, y pueden haber microconidias y *Epidermophyton*, por producir solo macroconidias de pared lisa y delgada (WAGNER, G. y SOHNLE, V. 1995) (KANE, 1997).

La inusual capacidad de utilizar la queratina como sustrato que presentan los dermatofitos, y su amplia distribución ecológica, los ha convertido en un grupo de especial importancia clínica, aunque se sabe qué factores ambientales como la

temperatura, humedad, presencia o ausencia de dióxido de carbono y disponibilidad de nutrientes influencia el desarrollo de estos organismos. La patogénesis inicia cuando la colonización ha ocurrido, luego de la transmisión directa o indirecta a partir de otros animales infectados o a partir del suelo. El desarrollo de la lesión sigue una serie de estados que incluye un periodo de incubación durante un lapso de tiempo entre tres y cuatro meses, en la cual la hifa crece en el estrato córneo de la piel. El crecimiento es seguido por un agrandamiento característico de la colonia de forma radial. Un periodo refractario sigue cuando la hifa desaparece y no se presentan nuevas lesiones, sin embargo, un gran número de arthroconidias son formadas en este periodo, iniciando un periodo conocido como recesión, en el cual el sitio infectado regresa a su estado original. La intensidad de la lesión está influenciada por el estado inmune del hospedador y del hábitat del dermatofito.

1.4 ESCANCEL (*Aerva sanguinolenta*)



FOTOGRAFÍA Nº 1 ESCANCEL (*Aerva sanguinolenta*) RECOLECTADA EN LA PARROQUIA SAN GERARDO DEL CANTÓN GUANO

TABLA Nº 1: DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE ESCANCEL (*Aerva sanguinolenta*)

Reino	Plantae
Familia	Amaranthaceae
Genero	Aerva
Orden	Caryophyllales
Clase	Magnoliopsida
División	Magnoliophyta
Nombre Científico	<i>Aerva sanguinolenta</i>
Nombre común	Escancel, Discancer

FUENTE: GUTIERREZ, V., 2013

Este vegetal posee ramas, tallo y hojas rojizas. Sus hojas son elípticas se borde es ondulado y base atenuada, el ápice termina en una fina punta, el haz es de color verde rojizo y el envés rojizo, presenta inflorescencia además flores sésiles blanquecinas, sus partes florales y los frutos son recónditos. (TRUJILLO S. y MADRIGAL B. 2005)

1.4.1 ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN

Según Burger (1983) es originaria de América del sur, muy conocida en Ecuador, Colombia, Guatemala, en el Ecuador es conocido como **Escancel**, comúnmente es cultivado en las provincias de Pastaza y Chimborazo. (GUTIERREZ, V. 2013)

De la misma manera Srinivas (2011) muestra que el origen del escancel son países de sur América, considerando que Ecuador posee un ambiente óptimo para su desarrollo, además son usados de forma tradicional por los campesinos.

Aerva sanguinolenta es una planta medicinal, de fácil acceso en varios países del sur de Asia, India, Nepal también se la encuentra en regiones de Indo China entre otros, en donde por sus propiedades curativas suele ser muy utilizada. (GUTIERREZ, V., 2013)

Crecen con facilidad en los bosques de suelos húmedos, arcillosos, en los bordes de las quebradas, a margen de los ríos.

1.4.2 PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS

El Escancel es una planta medicinal conocida por la variedad de beneficios que brinda a quien haga uso de esta. Al igual que otras plantas, se usan ciertas partes del vegetal con fines terapéuticos, por ejemplo, la infusión de las ramas y hojas, se usa como te frente a varias patologías, siendo más efectivo en problemas pulmonares (catarro, resfriado, anginas, dolor de pecho) es útil también en afecciones renales, dolores de cabeza, en personas que padecen de depresión. (GUTIERREZ, V., 2013)

Se han realizado estudios para la determinación de la actividad hepatoprotectora mediante la utilización de extractos etanólicos aplicado en animales de experimentación, siendo el resultado la disminución de los niveles de bilirrubina, actividad que según el estudio se atribuye a la presencia de flavonoides y taninos en el vegetal. (ASIF L. 2012)

Investigaciones muestran el efecto diurético y antiinflamatorio de extractos acuosos del Escancel, realizado en ratas siendo confirmada la actividad a la vez que justifica la utilización del vegetal por indígenas de nuestro país. (SRINIVAS R. 2011)

También se atribuye la actividad anticancerígena del Escancel por los flavonoides presentes; demostrado luego de realizar un estudio con extractos alcohólicos en el cual se comprobó que mejora el nivel de eritrocitos y concentración de hemoglobina. (ASIF L. 2012)

Adicionalmente la capacidad de cicatrizar heridas es otro de los beneficios terapéuticos de la *Aerva sanguinolenta*, actividad analizada en ratones por medio de extractos hidroalcohólicos. (GUTIERREZ, V., 2013)

1.4.3 COMPOSICIÓN QUÍMICA

Según Domínguez (1973), el escancel es conocido por poseer fenoles, esteroides, alcaloides, flavonoides, taninos, ácido oxálico, alcanos, sesquiterpenolactonas, metabolitos por medio de los cuales se le atribuyen actividades fármaco terapéuticas.

En base a investigaciones de los extractos de este vegetal han identificado la presencia de alcaloides, flavonoides y taninos, (ASIF L. 2012)

Trujillo S. y Madrigal B. (2005) indican la presencia de cumarinas, taninos, presencia mínima de alcaloides, saponinas, terpenos, esteroides, sesquiterpenolactonas, ácido oxálico, quinonas.

Otros estudios realizados con el escancel también indican la presencia de los compuestos antes mencionados como: flavonoides, cumarinas, alcaloides, taninos, triterpenos, saponinas en el extracto alcohólico.

1.5 TEATINA (*Scoparia dulcis* L.)



FOTOGRAFÍA Nº 2 TEATINA (*Scoparia dulcis* L.) RECOLECTADA EN EL CANTÓN BABAHOYO PROVINCIA DE LOS RIOS

TABLA Nº 2: DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE LA TEATINA (*Scoparia dulcis* L.)

Reino	Plantae
Familia	Scrophulariaceae
Genero	Scoparia
Especie	Dulcis
Nombre común	Teatina, escobilla
Orden	Scrophulariales

FUENTE: MURTI, K., 2012

Se trata de una hierba erecta que puede llegar a medir 1m de alto, posee unas pequeñas hojas dentadas, cuneadas; sus flores son pequeñas de color blanco además presenta inflorescencia axilar.

1.5.1 ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN

La Teatina es una planta que se desarrolla normalmente en suelos de clima tropical, América del sur, nuestra selva amazónica, algunas ciudades del litoral ecuatoriano, Estados Unidos, Brasil, Perú son lugares en los que crece este vegetal. (MURTI, K., 2012)

1.5.2 PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS

Se conoce de la *Scoparia dulcis L.* propiedades terapéuticas como: antiespasmódico digestivo, tónico estomacal, antiséptico, expectorante, de gran ayuda en el tratamiento de hemorroides, problemas renales, broncopulmonares etc.

Se ha asignado a la teatina, la actividad analgésica, por medio de un estudio in vivo en animales de experimentación con extractos etanólicos, identificando metabolitos secundarios posibles actores de la actividad. (ZULFIKER, A. 2010)

Este vegetal es beneficioso para tratar problemas de diabetes, comprobado mediante la aplicación de extractos alcohólicos y acuosos en ratones, pues reduce significativamente los niveles de glucosa en la sangre, situación por la cual en la actualidad existe gran interés en la utilización de la teatina a nivel industrial. (PARI, L. y LATHA, M. 2004) (DAS A.2011)

En estudios in vitro con la aplicación de extractos crudos se ha comprobado la actividad antibacterial por los componentes que posee, motivo por el cual es usado para tratar enfermedades infecciosas causadas por microorganismos resistentes; también la actividad citotóxica comprobada mediante el aislamiento de diterpenos y aplicados sobre seis líneas de células cancerígenas del estómago, antifúngica característica que motivó al desarrollo de la presente investigación. (MASUMA, S. y LAZUMA, N. 2011)

1.5.3 COMPOSICIÓN QUÍMICA

Estudios científicos demuestran que la *Scoparia dulcis L.* es rico en terpenos y flavonoides atribuyendo los beneficios farmacológicos principalmente a estos metabolitos, también contiene taninos, saponinas, alcaloides, carbohidratos, fenoles, cumarinas, glicósidos, aminoácidos, carbohidratos. (DAS A.2011)

Entre los principales productos químicos incluyen también scopadiol, scopaldulciol, scopadulin, el ácido scopadulcic A y B y ácido scoparico A y C que son diterpenos, ácido

betulínico y glutinol que son triterpenos, sitosterol que es un esteroide, flavonas como vitexin y linarin. (MASUMA, S. y LAZUMA, N. 2011)

Con el fin de determinar las propiedades terapéuticas del vegetal han sido realizadas varias investigaciones coincidiendo con los datos expuestos por Das (2001), Masuma (2011) que la teatina contiene terpenos, alcaloides, cumarinas, saponinas, taninos, terpenos, compuestos fenólicos, flavonoides.

1.6 SANGORACHE (*Amaranthus hybridus L.*)



FOTOGRAFÍA N° 3 SANGORACHE (*Amaranthus hybridus L.*)
RECOLECTADA EN LA PARROQUIA SAN GERARDO
DEL CANTÓN GUANO

TABLA N° 3: DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DEL SANGORACHE (*Amaranthus hybridus L.*)

Reino	Vegetal
Familia	Amaranthaceae
Genero	Amaranthus
Orden	Centrospermas
Clase	Dicotiledónea
División	Spermatofhyta
Nombre Científico	<i>Amaranthus hybridus L.</i>
Nombre común	Sangorache – ataco

FUENTE: PERALTA E., VILLACRES E. 2008

El Sangorache posee un tallo anguloso y cilíndrico, con unas estrías gruesas, de color morado o púrpura en algunos casos puede sobrepasar los 2 m de altura; las hojas son pecioladas de forma oval, elíptica alternas u opuestas con nervaduras muy prominentes en el envés pueden ser de color verde en épocas tempranas y moradas o purpura en la madurez de la planta, las mismas que son de menor tamaño en la base del ápice; posee inflorescencias que pueden ser decumbentes, semierecto y erectas en ciertos casos, el eje central de la inflorescencia que es la continuación del tallo lleva grupos de flores denominadas dicasio, el fruto es una capsula la que al madurar presenta dehiscencia transversal facilitando así la caída de la semilla. (PERALTA, E. 2008).

1.6.1 ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN

El Sangorache es una planta que fue cultivada y utilizada desde hace más de 4000 años en América; hay una gran demanda de este vegetal en Ecuador, Perú, Bolivia, norte de Argentina, en los valles interandinos. (VEJAR, R. 2008)

Varios restos arqueológicos revelan la utilización de las hojas y semillas del Sangorache para la alimentación, puesto que en regiones tropicales y subtropicales se consideraba como una planta de recolección. (PERALTA, E. 2008).

Según datos del INIAP el 80% de las colectas del Sangorache se dan en altitudes comprendidas entre 2000 y 3000m, en las siguientes provincias: Pichincha, Cañar, Azuay, Loja, Chimborazo, Manabí, Bolívar, Tungurahua, Carchi, Imbabura, Cotopaxi. (PERALTA, E. 2008).

1.6.2 PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS

Se conocen varios usos terapéuticos de esta planta, pues ayuda a la prevención y tratamiento de enfermedades cardiovasculares, en la prevención del cáncer por las sustancias anticancerígenas que posee (escualeno), usado también en el cuidado bucal, irritación de la boca y garganta, higiene íntima (lavados vaginales), en pacientes que padecen diabetes ya que ayuda a nivelar los niveles de glucosa, a tratar problemas digestivos, las hojas y ramas

se usa como astringente ya que es empleado para tratar la diarrea, dolor de estómago, en la prevención de la caída de cabello, dolor de espalda, y pecho, cólicos menstruales. (TRUJILLO S. y MADRIGAL B. 2005)

A demás de los beneficios mencionados anteriormente se pueden añadir los siguientes, benéfico para personas celiacas ya que no posee gluten, recomiendan también su consumo a mujeres que estén atravesando la menopausia, que padezcan de osteoporosis, en problemas de desnutrición y anemia, se usa también como un colorante natural (no tóxico) por la presencia de betalaina, en mermeladas, embutidos de cerdo (morcillas), etc.

1.6.3 COMPOSICIÓN NUTRICIONAL

El sangorache es un vegetal usado principalmente por su valor nutricional, posee un alto porcentaje de proteínas, en las semillas y hojas se encuentra aminoácidos como lisina, metionina y triptófano; además contienen aproximadamente un 6% de escualeno (útil para tratar problemas cardiovasculares), ácidos grasos como oleico linolénico; los granos poseen alrededor de 62% de carbohidratos, y sus hojas alrededor de 6%. (MUJICA, A. 2011)

Por el alto porcentaje de ácido oxálico que posee, se reporta en los glomérulos y hojas calcio, magnesio, hierro, fósforo, tiamina, riboflavina, niacina y vitamina C. Contiene pigmentos naturales llamados betalaínas, estructura dilucidada por Wyler (1963), él fue quien identifico la amarantina y betanidina. (GOMEZ, A. 2013)

1.6.4 COMPOSICIÓN QUÍMICA

El sangorache posee flavonoides, saponinas, taninos, triterpenos y esteroides, ácido oxálico, alcaloides en mínimas cantidades; adicionalmente posee ácido fítico, nitritos. (TRUJILLO S. y MADRIGAL B. 2005)

El tamizaje fitoquímico realizado con los glomérulos del ataco indican la presencia de compuestos polifenólicos, taninos y antocianidinas en esta parte del vegetal. (PERALTA, E. 2008).

Varias investigaciones en el área de alimentos también muestran un previo análisis fitoquímico en el que reportan la presencia de flavonoides. (FAJARDO S., CRIOLLO P. (2013)

En el Ecuador actualmente es muy utilizado para distintos fines principalmente alimenticio por lo que la Escuela politécnica Nacional vio la necesidad de analizar profundamente este vegetal y reporta la presencia de saponinas, taninos, flavonoides además de otros compuestos.

1.6.5 USOS INDUSTRIALES

El sangorache es valorado principalmente por su valor nutricional, por lo que es usado en la elaboración de productos alimenticios.

La amarantina que se obtiene de los glomérulos de este vegetal sirve no solo para ser aditivo de productos alimenticios, bebidas, sino puede emplearse en la elaboración de tisanas medicinales. (FAJARDO, S. y CRIOLLO, P. 2013) Adicionalmente al área alimenticia y farmacológica también es usado en cosmetología.

1.7 HONGOS UTILIZADOS EN LOS ANÁLISIS

1.7.1 *Trichoderma sp.*

TABLA Nº 4: DESCRIPCIÓN TAXONÓMICA DEL GÉNERO *Trichoderma sp.*

Reino	Mycetae (Fungi)
División	Eumycota
Sub división	Deuteromycotina
Clase	Deuteromicetes
Orden	Moniliales
Familia	Moniliaceae
Género	<i>Trichoderma</i>

FUENTE: ARGUMEDO R., ALARCON A. 2009

El género *Trichoderma* es considerado como hongos anaerobios facultativos, pues se encuentra con regularidad en suelos agrícolas y no perturbados, (FIA 2012) este género es uno de los más empleados como agentes de control biológico, por la característica antagonista que muestra de manera natural. (CAPUZ, R. 2009)

Es común su ubicación sobre las raíces de vegetales, cortezas en descomposición, en el interior de los troncos, (SANCHEZ, V. 2008) en residuos de cultivo y en aquellos afectados por hongos fitopatógenos. (CAPUZ, R. 2009)

Actúan como hiperparásito frente a varios agentes fitopatógenos, pues producen la ruptura de su micelio; también tienen la capacidad de inactivar exudados que tienen origen en las semillas que están en proceso de germinación. (FIA 2012)

Entre los fitopatógenos sobre los cuales ha ejercido control tenemos: *Fusarium oxysporum*, *Colletotrihum gloeosporioides* en cultivos de tomate, frijol; *Fusarium moniliforme* en cultivos de maíz; *Rhizoctonia solani* en lechuga, col, café, cebolla, ajo, pimentón; *Phytophthora infestans* en cultivos de pepino de agua y papas. (CAPUZ, R. 2009)

Existen una gran cantidad de especies pertenecientes a este género, por ejemplo *T. spirale*, *T. koningg*, *T. virens*, *T. asperellum*, *T.harzianum* utilizado en la presente investigación.

1.7.1.1 Características *Trichoderma sp.*

La mayoría de colonias de éste género inicialmente son de color blanco, y después de torna verde oscuro o amarillento, dado a su densa esporulación. Producen tres tipos de propágulos: hifas, clamidosporas y esporas “conidias”, estos últimos son utilizados para biocontrol. Presentan una pared exterior gruesa formada por endospora, epispora, y perispora. (CAPUZ, R. 2009)

La temperatura óptima para el crecimiento en agar y producción de micelio es de 20- 28° C, el contenido mínimo de humedad que requiere para su desarrollo es 92% y 93- 95% para su esporulación. (ALVAREZ, S. y SIVILA, N. 2013)

1.7.2 *Trichoderma harzianum*



FOTOGRAFÍA Nº 4 *Trichoderma harzianum* AISLADO Y PURIFICADO EN EL LAB. DE MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL DE LA ESPOCH. 2014

Trichoderma harzianum es considerado como un hongo antagonista de diversos patógenos capaces de causar daño en los vegetales, es muy frecuente encontrar esta especie de *Trichoderma* en casi todos los tipos de suelos. Coloniza rápidamente en las raíces de las plantas en su proceso de desarrollo. En caso de tener un producto formulado a base de esta especie se aplica directamente a los semilleros, semillas, plantas de masetta etc. (GUILCAPI, E. 2009)

En Cuba, estudios *in vitro* confirmaron la efectividad del *Trichoderma harzianum* para la reducción de patógenos que afecten a ciertos cultivos como *Phytophthora parasítica*, *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii*. Otros estudios realizados en el año 2000 también confirmaron esta teoría. (CAPUZ, R. 2009)

1.7.2.1 Características

- ✓ **Macroscópicas.-** son de fácil crecimiento, forman un micelio aéreo flucoso, blanco los primeros días y posteriormente verdoso, sus conidios suelen cubrir

toda la superficie de la placa (fotografía. 4). Pueden alcanzar un diámetro de 9 cm aproximadamente a los 7 días a 28 ° C. (ARIAS, E. y PIÑEROS, P. 2008)

- ✓ **Microscópicas.-** se observan agrupaciones de 3 a 5 fialides, dando la forma de una botella de 4-7 x 2,5-3,5; los conidióforos están ramificados de forma piramidal; sus conidios son globosos u ovoides de paredes lisas, hialinos a verde pálido. (ARIAS, E. y PIÑEROS, P. 2008)

1.7.2.2 Mecanismos de acción

Se han estudiado 4 mecanismos de acción de *Trichoderma Harzianum*: (FIA 2012)

- ✓ **Micoparasitismo.-** es uno de los mecanismos más importantes en cuanto a la acción antagonista como un biocontrolador; para ejercer acción crece alrededor del agente patógeno o en su defecto produce estructuras similares a ganchos en la superficie de éste; de esta manera actúan enzimas líticas degradando la pared celular.
- ✓ **Antibiosis.-** ésta acción se da por las sustancias antibióticas o metabolitos (volátiles y no volátiles) como trichodermin, glioviridin, gliotoxin, viridín y harzaniolide siendo esta ultima la más representativa al inhibir la actividad ribosomal del patógeno.
- ✓ **Competencia.-** se da por la necesidad de ciertos recursos (carbono, nitrógeno , hierro, espacio físico) por parte de dos o más organismos; la competencia es a nivel de la rizosfera, al aplicar cepas de *Trichoderma Harzianum* se produce un crecimiento rápido conjuntamente con el desarrollo radicular de los vegetales tratados impidiendo el desarrollo normal del patógeno.
- ✓ **Inducción de resistencia en las plantas.-** este mecanismo de biocontrol se da cuando las hifas del *Trichoderma Harzianum* penetran en la epidermis y corteza superior de la raíz, donde actúa la peroxidasa (enzima asociada con la producción

de fungitoxinas), la quitinasa aumenta su actividad y la cantidad de celulosa en la superficie interna. Este hongo produce compuestos como: homólogos de proteínas, oligosacáridos y proteínas con función enzimática responsable de inducir resistencia en los vegetales frente a patógenos.

1.7.2.3 Ventajas

- ✓ Preservan las raíces de los vegetales de plagas a causa de microorganismos patógenos.
- ✓ La aplicación de productos a base de *Trichoderma Harzianum* no necesitan de un equipamiento especial.
- ✓ Reduce significativamente la necesidad de utilizar fungicidas químicos; incrementando el ingreso económico para los agricultores.
- ✓ Los cultivos donde se encuentra esta especie capturan con mayor facilidad los nutrientes del suelo y mejora los rendimientos en condiciones de estrés hídrico.

1.7.2.4 Usos

Este género contiene varias especies de gran valor biotecnológico; son utilizadas como agentes de biocontrol para evitar plagas en los vegetales, también para la producción de enzimas y antibióticos, para la obtención de plantas transgénicas, en la remediación de ambientes contaminados. (SANCHEZ, V. 2008)

1.8 *Penicillium sp.*



FOTOGRAFÍA Nº 5 *Penicillium sp.* AISLADO Y PURIFICADO EN EL LAB. DE MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL DE LA ESPOCH. 2014

Tabla N° 5: DESCRIPCIÓN TAXONÓMICA DEL GÉNERO *Penicillium* sp.

Reino	Fungi
Phylum	Ascomycota
Clase	Euascomycetes
Orden	Eurotiales
Familia	Trichomaceae
Genero	<i>penicillium</i>

LINK. 1809

Las especies de este género son hongos filamentosos a excepción del *Penicillium marneffe* (hongo termodimórfico). (ARIAS, E. y PIÑEROS, P. 2008)

Se encuentran por todo el mundo y se son consideradas saprófitas, están comúnmente en el suelo, materia orgánica en descomposición, en lugares húmedos dentro y fuera de las casas, tienen gran afinidad por los alimentos como frutas cítricas, verduras, cereales, etc.

Penicillium sp. producen micotoxinas con efectos tóxicos en alimentos y que son perjudiciales para el hombre y animales; estos hongos son considerados como colonizadores tanto en condiciones de campo como de almacenamiento. (ARIAS, E. y PIÑEROS, P. 2008)

Los hongos de este género son aerobio facultativos crecen a una temperatura óptima que oscila entre 22-30°C; y requieren de un pH de 5,6%, sin embargo pueden desarrollarse a 2- 9 %. Este género degrada varios compuestos como: quitina, celulosa, azúcares, lignina.

En investigaciones recientes de comprobó la capacidad de inhibir el crecimiento de células cancerígenas en el colon mediante el uso de un compuesto de *Penicillium aurantiogriseum*. (BENITEZ, E. 2003)

1.8.1 CARACTERÍSTICAS

- ✓ **Macroscópica.-** se trata de crecimiento rápido, inicialmente se observa el borde relativamente ancho con colonias blanquecinas y textura algodonosa, la superficie presenta de la colonia es verde, que de acuerdo a la edad hongo la tonalidad varia, la zona central del cultivo se encuentra más levantada por la acumulación de las esporas, posee hifas septadas muy delgadas. Un aspecto de mucha importancia para la clasificación del hongo es el verticillum. El reverso del cultivo se observa blanco amarillento en ocasiones verde claro con centro café. (ARIAS, E. y PIÑEROS, P. 2008) (BENITEZ, E. 2003)

- ✓ **Microscópica.-** Se observa conidióforos de paredes lisas y gruesas, cuatriverticilado; las fialides en grupos de tres a seis con forma cilíndrica, el ápice inflado; conidios globosos formando cadenas cortas y divergentes. (ARIAS, E. y PIÑEROS, P. 2008)

1.8.2 USOS

Varias especies del género *Penicillium* son utilizadas en la industria alimenticia, farmacéutica así:

- ✓ En 1928 Alexander Fleming descubrió la Penicilina a partir de un metabolito de *Penicillium chrysogenum*. (BELLANTI, J. 2008)
- ✓ Una gran cantidad de esporas de *Penicillium camembert* se encuentra en la cascara del queso de Brie.
- ✓ El *Penicillium roqueforti* ha sido empleado en la elaboración del queso azul.
- ✓ *Penicillium nalgiovense* es considerada como la forma domestica del *Penicillium chrysogenum* y tiene también la capacidad de producir penicilina, sin embargo en la industria alimenticia es empleada como cultivo indicador para la producción de cultivos, por lo que es necesario la selección de las cepas no productoras del antibiótico.

- ✓ En países orientales de África y América usan *Penicillium sp.* fabrican productos fermentados. (BENITEZ, E. 2003)
- ✓ El *Penicillium citrinum* es capaz de sintetizar el precursor de la pravastatina, fármaco usado para tratar problemas de hipercolesterolemia.

1.8.3 ENFERMEDADES A CAUSA DE *Penicillium*

En extrañas ocasiones se ha identificado infección en humanos a causa de *Penicillium*; estudios científicos muestran la intervención de este género en algunos tipos de infecciones afectando a pacientes inmunocomprometidos, por ejemplo el *Penicillium marneffeii* afecta a personas que padezcan de HIV situación común al sureste de Asia; de igual manera en individuos que padecen de endoftalmítis, neumonía, peritonitis, esofagitis, infección de vías urinarias.

En el 2003 se identificó un caso clínico de un paciente con infección conjuntival a causa de *Penicillium sp.* el cual con un tratamiento antifúngico tanto local como sistémico mejoró paulatinamente. (MIGUÉLEZ, S. 2003)

La afección en los cultivos principalmente de cítricos también puede causar problemas posteriormente en humanos, por lo que es de gran importancia la protección de los cultivos mediante antifungicidas adecuados no tóxicos. (OCHOA, J. 2007)

1.9 *Aspergillus sp.*

TABLA Nº 6: DESCRIPCION TAXONOMICA DE *Aspergillus sp.*

División	Deuteromycota
Clase	Hyphomycetes
Orden	Hyphomycetales
Familia	Moniliaceae
Genero	<i>Aspergillus</i>

FUENTE: <http://eprints.ucm.es/13019/1/T32868.pdf>

El género *Aspergillus sp.* es considerado como hongos filamentosos, saprófitos. Estos hongos están altamente difundidos en la naturaleza, pueden desarrollarse en vegetales en descomposición, granos de cereal, heno, tejidos de algodón, lanas, plumas, paredes de habitaciones, aires acondicionados, pues su medio ideal es ambientes oscuros, húmedos y cerrados. (BELLANTI, J. 2008)

1.9.1 CARACTERÍSTICAS

Son hongos aerobios de rápido crecimiento, se clasifica tomando en cuenta las estructuras de reproducción y color de sus colonias; inicialmente las colonias son planas, blancas con aspecto algodonoso, con el paso de los días empieza a esporularse y en el centro de la colonia hay un cambio de coloración de acuerdo a la especie por ejemplo: *Aspergillus flavus* (amarillo), *Aspergillus glaucus* (verde), *Aspergillus fumigatus* (gris), *Aspergillus niger* (negro). (ARIAS, E. y PIÑEROS, P. 2008)

Pueden desarrollarse en varios medios como agar Saboraud, malta, PDA, agar infusión cerebro corazón, etc.; crecen a 25 – 37° C durante 7 días. (LUCENA P. 2011)

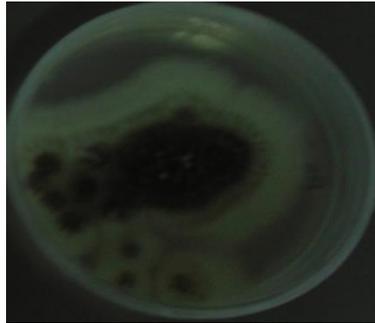
1.9.2 ENFERMEDADES A CAUSA DE *Aspergillus*

Se conocen alrededor de 150 especies comprendidas dentro de este género y varias de éstas son consideradas como patógenas por ejemplo: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus fumigatus* causante de aproximadamente el 90% de infecciones, *Aspergillus niger* usado en la presente investigación. (LUCENA, P. 2011)

Se conoce que este género es aerotransportado y por esta razón es considerado como patógeno oportunista para el ser humano; entre las enfermedades que causan tenemos: aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA), aspergilosis pulmonar crónica, aspergiloma, traqueobronquitis aspergilar, aspergilosis pulmonar invasora, aspergilosis pulmonar crónica cavitaria (APCC), aspergilosis pulmonar crónica necrosante; éstas enfermedades son producidas cuando esporas de *Aspergillus* lo suficientemente pequeñas

ingresan en el parénquima pulmonar por vía aérea. En personas sanas las esporas son expulsadas por los cilios del epitelio bronquial. (LUCENA, P. 2011) (BELLANTI, J. 2008)

1.9.3 *Aspergillus niger*



FOTOGRAFÍA Nº 6 *Aspergillus niger* AISLADO Y PURIFICADO EN EL LAB. DE MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL DE LA ESPOCH. 2014

1.9.3.1 Características

- ✓ **Macroscópicas.-** tiene al principio un fondo amarillento y con el paso de los días presenta cabezas conidiales negras o negras grisáceas, negro carbón con apariencia algodonosa, quedando marcada una gruesa capa de color blanco que rodea a conidios de color obscuro en su interior. (Fotografía. 6) (LUCENA, P. 2011)
- ✓ **Microscópicas.-** los conidióforos son de pared lisa, hialina o pigmentada que pueden medir entre 1,5-3 mm de largo, poseen una vesícula globosa y produce fialides a su alrededor de donde brotan los conidios que son rugosos y globosos cuyo color va desde marrón a negro. (MSP, INS 2010)

1.9.3.2 Usos

El *Aspergillus niger* y en general este género es conocido por las reacciones alérgicas y enfermedades que produce; sin embargo también son utilizados dentro de la industria alimenticia y farmacología dado a ciertos metabolitos que producen así:

- ✓ Tras un proceso de fermentación, se somete a un nuevo proceso para la obtención de enzimas como: celulasa, invertasa, amiloglucosidasa, amilasa, lactasa, proteasa ácida y pectinasa, en países asiáticos se usan para elaborar Té.
- ✓ La industria alimenticia también usa *Aspergillus niger* mediante fermentación para producir ácido glucónico (aditivo alimentario y productos de limpieza) y ácido cítrico (aditivo de bebidas y alimentos).
- ✓ Ácidos orgánicos derivados de esta especie demuestran actividades farmacológicas (anticancerígenas y antigioegénicas).
- ✓ Es utilizado para evaluar la efectividad de los conservantes alimentarios.
- ✓ En ocasiones estas cepas son utilizadas para probar los suelos, por la sensibilidad a la falta de nutrientes que pueden presentar los mismos. (BELLANTI, J. 2008)

1.10 BIOAUTOBIOGRAFÍA

Es una técnica que se aplica sobre placas cromatográficas de capa delgada, con el fin de detectar sustancias antifúngicas en extractos o sub- extractos. Consiste en inocular e incubar una determinada cepa que se desea inhibir sobre una placa cromatográfica en la cual se ha sembrado las muestras y al pasar los días observar las zonas de inhibición. (PRADA, L. y VEGA, P. 2008)

Estos métodos bioautobiográficos facilitan la separación de los compuestos con actividad antimicrobiana, es muy sensible y los resultados que se obtengan pueden almacenarse. Se presenta como inconveniente el que ciertas sustancias se conviertan en unas nuevas por oxidación o hidrólisis sin que intervenga las enzimas. (PRADA, L. y VEGA, P. 2008)

Según Howans (1970) es recomendable usar hongos no filamentosos, aplicando sobre la placa medio sólido (PDA, Agar Saboraud) exclusivo para hongos. Se Ha obtenido buenos resultados al asperjar condios de un hongo suspendidos en solución (sacarosa y sales minerales) además considera que es un método sencillo y se obtiene resultados confiables en comparación con métodos tradicionales para determinar la actividad antifúngica de un compuesto.

CAPITULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN

Esta investigación se ejecutó en la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, en los siguientes espacios:

- ✓ Laboratorio de Recursos Naturales
- ✓ Laboratorio clínico
- ✓ Laboratorio de Análisis Instrumental
- ✓ Laboratorio de Microbiología ambiental

2.2 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1 MATERIALES

2.2.1.1 Material vegetal

Para esta investigación se empleó:

- ✓ 80 gramos de hojas y flores de Escancel (*Aerva sanguinolenta*) seca y pulverizada recolectada en la parroquia San Gerardo cantón Guano.
- ✓ 80 gramos de hojas y flores de Sangorache (*Amaranthus hybridus L.*) seca y pulverizada recolectada en la parroquia San Gerardo cantón Guano.
- ✓ 80 gramos de hojas, flores y tallos de Teatina (*Scoparia dulcis L.*) seca y pulverizada recolectada en Babahoyo provincia de Los Ríos.

2.2.1.2 Material biológico

- ✓ *Aspergillus niger*
- ✓ *Penicillium sp.*
- ✓ *Trichoderma harzianum.*

2.2.1.3 Material de laboratorio

- | | |
|---|-----------------------|
| ✓ Tubos de ensayo | ✓ Cuba cromatográfica |
| ✓ Gradilla | ✓ Placas de silica |
| ✓ Vasos de precipitación de 50,
100, 250, 500 ml | ✓ Placas de alúmina |
| ✓ Varilla de agitación | ✓ Espátula |
| ✓ Pipetas volumétricas de 9 ml | ✓ Papel aluminio |
| ✓ Pipetas graduadas de 1, 5, 10 ml | ✓ Papel filtro |
| ✓ Embudo | ✓ Capilares |
| ✓ Probetas | ✓ Frascos ámbar |
| ✓ Balón de aforo | ✓ Asa de platino |
| ✓ matraces | ✓ Cajas Petri |
| ✓ Trípode | ✓ Lámpara de alcohol |
| ✓ Mortero y pistilo | ✓ Parafilm |
| ✓ Pera de succión | ✓ Mascarilla |
| | ✓ Guantes |

2.2.2 EQUIPOS

- | | |
|----------------------------|------------------------|
| ✓ Balanza | ✓ Cámara de Neubauer |
| ✓ Estufa (Memmert Germany) | ✓ Espectrofotómetro |
| ✓ Refrigerador | ✓ Cámara (Sony) |
| ✓ Autoclave (Tuttnauer) | ✓ Calculadora |
| ✓ Lámpara | ✓ Computador (Samsung) |

2.2.3 REACTIVOS

- | | |
|--------------------------|--------------------------|
| ✓ Agua destilada | ✓ Butanol |
| ✓ Alcohol potable al 96% | ✓ Vainillina |
| ✓ Alcohol absoluto | ✓ Sulfato de serio |
| ✓ Hexano | ✓ Ácido sulfúrico |
| ✓ Éter etílico | ✓ PDA |
| ✓ Acetato de etilo | ✓ Saboraud dextrose agar |
| ✓ Metanol absoluto | ✓ Malt extract agar |
| ✓ Tolueno | ✓ Buffered peptone water |
| ✓ Cloroformo | ✓ Iodo metálico |
| ✓ Ácido fórmico | ✓ Reactivos de screening |
| ✓ Ácido acético glacial | fitoquímico |

2.3 METODOS Y TÉCNICAS

2.3.1 MATERIAL VEGETAL PARA LA OBTENCIÓN DE EXTRACTOS

2.3.1.1 Recolección del material vegetal

El Escancel (*Aerva sanguinolenta*) y Sangorache (*Amaranthus hybridus L.*) fueron recolectados en la parroquia San Gerardo del cantón Guano provincia de Chimborazo este cantón se encuentra a una altura de 2683 m. y 17° C.

La Teatina (*Scoparia dulcis L*) fue recolectada en Babahoyo provincia de los Ríos, la que se encuentra a 8msnm, dado que la planta fue recogida en el mes de junio su temperatura fue de 26°C.

Se procuró recolectar la cantidad necesaria para poder secar, pulverizar y realizar los distintos análisis.

2.3.1.2 Transporte y limpieza

El material vegetal recolectado se trasladó en bolsas de papel para evitar reacciones enzimáticas y se desinfectó con agua clorada (5 gotas de cloro/ litro de agua). Posteriormente las muestras vegetales se colocaron en la estufa a 50°C durante 48 horas, tiempo en el cual se puede pulverizar con facilidad.

2.3.1.3 Control de calidad de la materia prima

El control de calidad que se realiza a la materia prima tiene la finalidad de evaluar las condiciones higiénicas que presentan los vegetales antes de empezar algún tipo de transformación química.

✓ **Determinación de Humedad**

La humedad puede inducir a la proliferación de microorganismos, alterando así a alguno de sus componentes, en varias farmacopeas hay un límite permitido de humedad que varía entre 8- 14 %. (MIRANDA, M. 2000)

Calculo

$$H = \frac{m_2 - m}{m_2 - m} * 100$$

H = Pérdida de peso por desecación (%).

m = Peso de la capsula más la muestra (g).

m₁ = Peso de la capsula más la muestra (g).

m₂ = Peso de la capsula más la muestra (g).

100 = factor matemático para los cálculos.

✓ **Determinación de cenizas totales**

Al incinerar la muestra del vegetal a ser analizado se obtiene un residuo orgánico (cenizas).

Calculo

$$\% \text{ cenizas} = (P_3 - P_1 / P_2 - P_1) \times 100$$

C = porcentaje de cenizas totales en base hidratada.

P₁ = masa del crisol vacío (g)

P₂ = masa del crisol con la porción de ensayo (g)

P₃ = masa del crisol con la ceniza (g)

100 = factor matemático para los cálculos. (MIRANDA, M., 2000)

2.3.2 OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

Los extractos y sub- extractos de Escancel (*Aerva sanguinolenta*), Sangorache (*Amaranthus hybridus L.*) y Teatina (*Scoparia dulcis L.*) se obtuvieron mediante maceración con cuatro solventes de distinta polaridad así:

TABLA Nº 7: SOLVENTES EMPLEADOS PARA LA OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

Solventes	Constante dieléctrica
Hexano	1,89
Éter etílico	4,34
Etanol	24,3
Agua	78,3

FUENTE: SHARAPIN N.

Estos solventes se utilizaron secuencialmente desde el más apolar hasta el más polar como se observa en la Figura 1.

La finalidad de usar solventes de distinta polaridad fue la identificación de los metabolitos secundarios presentes en cada extracto; los solventes apolares se usan para eliminar la grasa del vegetal, otros compuestos como flavonoides, taninos, cumarinas entre otros son solubles en solventes más polares (etanol, agua), se preparó también un extracto etanólico puro por cada planta para comparar la efectividad de la extracción fraccionada.

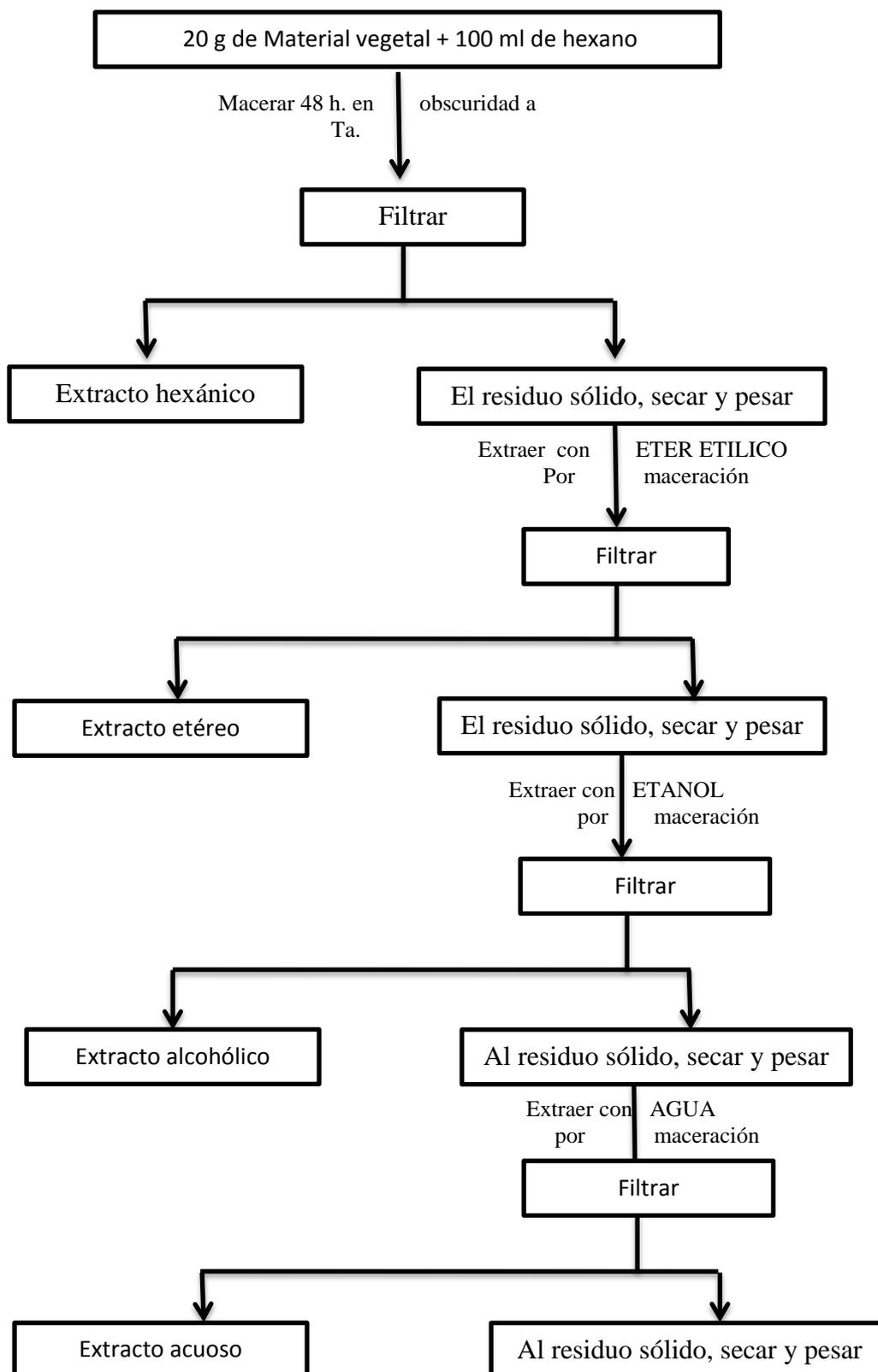


FIGURA Nº 1 PROCESO DE OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS CON SOLVENTES DE DISTINTA POLARIDAD

2.3.2.1 Control de calidad de los extractos

- ✓ Olor
- ✓ Color
- ✓ pH

2.3.3 SCREENING FITOQUÍMICO

TABLA Nº 8: SCREENING FITOQUÍMICO DEL MATERIAL VEGETAL

METABOLITO IDENTIFICADO	ENSAYO	RESULTADO POSITIVO	OBSERVACION
Flavonoides	Shinoda	Amarillo Naranja Carmelita Rojo	Colores intensos
Alcaloides	Dragendorff	Rojo - naranja	Opalescencia + Turbidez +++ Precipitado +++
	Mayer	Blanco - crema	Reportar igual que el anterior.
	Wagner	Marrón	Reportar igual que el anterior.
Triterpenos y/o esteroides	Lieberman-Buchard	Rosado- azul Verde intenso Verde oscuro	Tomar atención el tiempo de viraje de color
Quinonas	Borntrager	Rosado: ++ Rojo: +++	Observar la fase alcalina (superior)
Cumarinas	Baljet	Color rojo: ++ Precipitado rojo: +++
Saponinas	Ensayo de espuma	Espuma	Debe permanecer la espuma más de 2 min.
Taninos	Cloruro férrico Resinas	Verde intenso- azul Precipitado

FUENTE: LOCK, O. 1994

2.3.4 ESPECTROFOTOMETRÍA UV- VISIBLE

Es una técnica que permite cuantificar la presencia de un metabolito a diferentes longitudes de onda, se realizó de la siguiente manera:

- ✓ Se preparó una solución diluida a 20 ppm, con el solvente de cada extracto y sub-extracto.

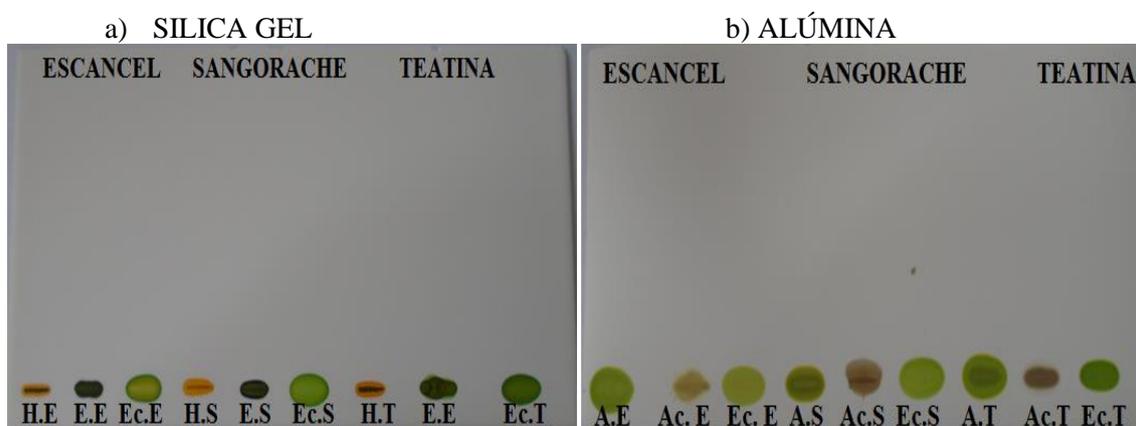
$$20 \text{ ppm}_{\text{Extracto}} \quad 1000 \text{ ml}_{\text{solvente}}$$

$$5 \text{ ml}_{\text{solvente}} = 0,1 \text{ ml}_{\text{Extracto.}}$$

Se llevó cada solución diluida al espectrofotómetro, y se leyó el valor de la absorbancia en un barrido de 200 a 600 nm frente a un blanco (solvente de cada extracto y sub- extracto)

- ✓ Se obtuvo el espectro de cada una de las muestras, en el que se observó el valor de λ al que el compuesto presenta mayor absorbancia (λ máx.)

2.3.5 CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA



FOTOGRAFÍA N° 7 SIEMBRA DE EXTRACTOS DE ESCANCEL SANGORACHE Y TEATINA SOBRE PLACAS DE SILICA GEL Y ALÚMINA

Los extractos de los vegetales en estudio fueron concentrados para realizar la cromatografía, se aplicaron inicialmente en placas de silica gel 60 F254 en aluminio y silica gel 60 F254 de vidrio de 3cm de ancho X 10cm de alto, hasta determinar la mezcla de solventes adecuada, para lo que se hicieron pruebas con distintas combinaciones.

Una vez identificados los solventes óptimos tanto para los extractos apolares como polares se corrió en placas cromatográficas de silica gel 60 F254 en aluminio, silica gel 60 F254 de vidrio, placas de alúmina de plástico y vidrio 60 F254, cada placa tiene una dimensión de 20cm de ancho X 10 cm de alto. La siembra fue en líneas de 1cm separadas por 1cm; además se tomó en cuenta la polaridad de los extractos por lo que los extractos apolares, de constante dieléctrica 1,89 (hexánico) y 4,34 (etéreo) se aplicó en las placas de silica gel mientras que los polares de constante dieléctrica 24,3 (alcohólico) y 78,3 (acuoso) en placas de alúmina de plástico y vidrio (fotografía 7), se siguió el mismo orden en todas placas tanto aquellas placas reveladas con reveladores químicos (sulfato de serio (H_2SO_4), vainillina (H_2SO_4), hidróxido de potasio), como con hongos. Posteriormente se observan las manchas y se calculó los Rf haciendo uso de la siguiente relación:

$$Rf = \frac{\text{Distancia recorrida por la muestra}}{\text{Distancia recorrida por el disolvente}}$$

2.3.6 PRODUCCIÓN DE HONGOS

La obtención de los hongos fue posible utilizando distintos sustratos; el *Penicillium sp.* de muestras de suelo, el *Aspergillus sp.* de cereales fermentados y el *Trichoderma* se obtuvo purificado del departamento de fitopatología de la EsPOCH (MIKROBEN).



FOTOGRAFÍA Nº 8 TRI- KO- FUN “*Trichoderma harzianum*” DEL DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGÍA DE LA ESPOCH (MIKROBEN) 2014

TABLA Nº 9: COMPOSICIÓN DE TRI- KO- FUN “*Trichoderma harzianum*”

Nombre del producto	TRI- KO- FUN
Ingrediente activo	<i>Trichoderma harzianum</i>
Contiene	2,5 x 10 ⁹ upc. / ml de producto
Registro MAG	020611018
Contenido neto	100 ML
Fecha de elaboración	2014-05-25
Fecha de vencimiento	2014-08-25

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014

2.3.6.1 Técnica de dilución en placa

Se prepararon diluciones seriadas (10^{-1} a 10^{-6}) de base diez en agua peptonada al 0,1 % para cada uno de los sustratos, de la siguiente manera:

- ✓ Inicialmente se calculó la cantidad de Buffered peptone water a utilizar.

$$1 \text{ g (PEPTONA)} \qquad 100 \text{ ml (H}_2\text{O)}$$

$$144 \text{ ml (H}_2\text{O)} = 1,44 \text{ g. (PEPTONA)}$$

- ✓ Se disolvió el Buffered peptone water (1,44g) en agua destilada 144 ml en un matraz.
- ✓ Se colocó 9 ml de agua peptonada en tubos.
- ✓ Se autoclavó a 121°C durante 30min.
- ✓ Dejamos enfriar (T° ambiente)
- ✓ Seguidamente se pesó 10 g de muestra (suelo, pan integral fermentado)
- ✓ El sustrato se colocó en el matraz con agua peptonada. (10^{-1})
- ✓ La muestra se dejó que precipite y se realizó las diluciones conjuntamente con la siembra en superficie tanto en agar Malta como Saboraud.
- ✓ Las muestras se incubó durante 7 días a 28° C.

2.3.6.2 Proceso de purificación

El proceso de purificación de las cepas de *Penicillium sp.* y *Aspergillus sp.* se realizó transfiriendo colonias diferenciales de los cultivos anteriores, mediante la técnica de resiembra en agar Saboraud, hasta lograr su purificación. (DOMÍNGUEZ, R. 2007)

2.3.6.3 Caracterización de las cepas

Con las cepas puras se realizó el análisis macro y microscópico. Macroscópicamente se observó el color de las colonias, tipo de crecimiento, textura, etc. Para el análisis microscópico se utilizó técnicas que permitan su identificación. (ARIAS, E. y PIÑEROS, P. 2008)

Montaje por disección

En esta técnica se utilizó una aguja adaptada con la cual se cogió parte de la superficie de las colonias y se extendió sobre una placa porta objetos, enseguida se adiciona una gota de KOH y se cubrió con un cubre objetos, para finalmente observar al microscopio con lentes de 10X y 40X. (ARIAS, E. y PIÑEROS, P. 2008)

Técnica de la cinta pegante

Sobre un porta objetos con una gota de KOH, se colocó la cinta adhesiva de 3 o 4 cm con micelio aéreo de los hongos en estudio; a la que previamente se presionó con fuerza sobre la superficie de las placas con los hongos, que con la ayuda de pinzas. Posteriormente se observa al microscopio (ARIAS, E. y PIÑEROS, P. 2008)

2.3.6.4 Conservación de las cepas

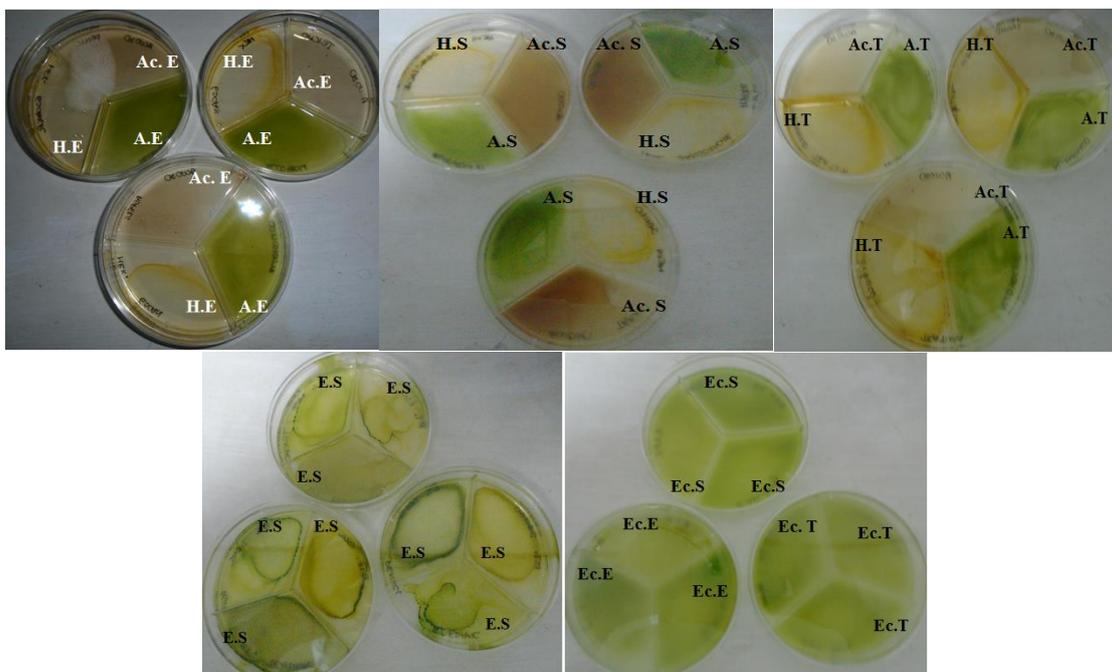
Para evitar que las características innatas de cada una de las cepas en estudio se pierdan y a la vez mantener la viabilidad, se hizo una resiembra y luego de los 7 días de incubación se transfirió hasta su uso a refrigeración a 4°C, estas cepas pueden ser

utilizadas hasta cuatro meses después de su siembra de lo contrario es necesario hacer una re siembra. (DOMÍNGUEZ, R. 2007)

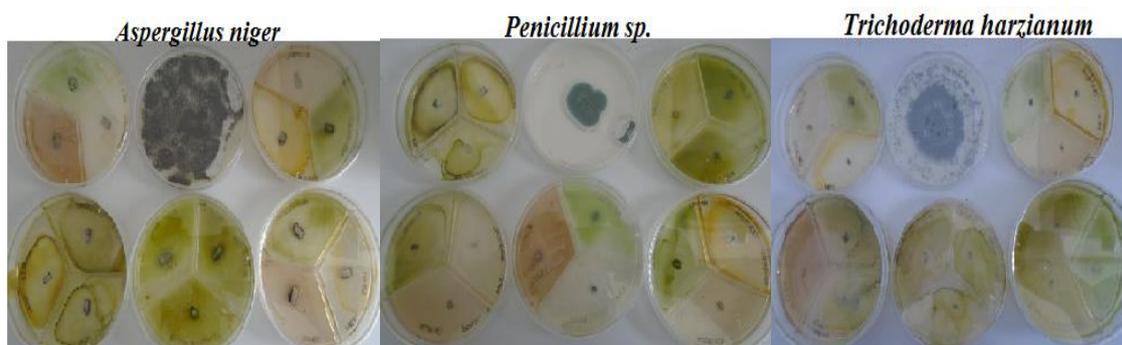
2.3.7 ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE LOS EXTRACTOS DE ESCANCEL (*Aerva sanguinolenta*), TEATINA (*Scoparia dulcis* L), SANGORACHE (*Amaranthus hybridus* L.) FRENTE A *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus*.

La determinación antifúngica frente a *Trichoderma harzianum*, *Penicillium sp*, y *Aspergillus niger* se ejecutó sobre placas tri Petri con agar Saboraud, sobre las cuales se aplicó 0,1 ml de los diferentes extractos por cada vegetal, procurando que la fracción se difundiera por todo el cuadrante. (Fotografía 9)

A esta siembra se dejó durante una noche en refrigeración (5°C), para posteriormente haciendo pozos en el centro de cada cuadrante sembrar discos de agar con micelios aislados de *Trichoderma harzianum*, *Penicillium sp*, y *Aspergillus niger*. (Fotografía 10) Estas placas fueron incubadas durante 7 días, evaluando diariamente el crecimiento de los hongos en diámetro y reportando en mm; este análisis se realizó por duplicado para confirmar los resultados que se obtuvieron. (PRADA, L. y VEGA, P 2008)



FOTOGRAFÍA Nº 9 SIEMBRA DE EXTRACTOS DE ESCANCEL, SANGORACHE Y TEATINA SOBRE AGAR SABORAUD.



FOTOGRAFÍA N° 10 SIEMBRA DE *Trichoderma*, *Penicillium* y *Aspergillus*, SOBRE EXTRACTOS DIFUNDIDOS EN AGAR SABORAUD.

2.3.8 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA POR BIOAUTOBIOGRAFÍA



FOTOGRAFÍA N° 11 ASPERSIÓN DE HONGOS SOBRE PLACAS DE SILICA GEL

El objetivo de realizar la bioautobiografía fue identificar los metabolitos de cada uno de los extractos del Escancel, Sangorache y Teatina que presenten actividad antimicrobiana.

El desarrollo de esta técnica se llevó a cabo de la siguiente manera:

- ✓ Centramos los extractos de diferente polaridad de los vegetales en estudio.
- ✓ Los extractos se aplicaron en placas cromatográficas de sílica gel 60 F254 de vidrio y placas de alúmina de vidrio de 20 cm de ancho X 10cm de alto; tomando en cuenta las mismas condiciones que para la detección de grupos funcionales.
- ✓ Una vez corridas las placas se dejó secar unos cuantos minutos.

- ✓ Se inocularon los hongos sobre las placas cromatográficas por aspersión con una suspensión de conidios previamente preparada a una concentración de 5×10^5 conidios/ml. Y diluidos en agar PDA.
- ✓ Realizada la aspersión se incubaron por 7 días o más a 28°C en dependencia de la tasa de crecimiento de cada hongo.
- ✓ Se incubaron en condiciones de cama húmeda para lo cual se hizo uso de cajas de vidrio de 45 cm de ancho x 5 cm de alto.
- ✓ Finalmente se observó la inhibición de las cepas de hongos en lugares específicos, en el caso de los hongos que poseen micelio hialino (*Aspergillus niger*) se realizó un último revelado con vapores de yodo para mejor visualización. (PRADA, L. y VEGA, P 2008)

2.3.8.1 Suspensión de hongos

Se trata de un método de conservación, que permite que las cepas en estudio conserven sus características morfológicas y fisiológicas incluso por varios años (5 años), en nuestra investigación ésta suspensión fue necesaria a una concentración de 5×10^5 conidios/ml.

Para esto se esterilizó agua destilada (25ml/ cepa), se dejó entibiar y se colocó agar con micelios de hongos, se agitó durante 5min; se realizó el conteo de esporas. Ya con la concentración deseada se adicionó al agar PDA para la aspersión. En caso de no usar inmediatamente la suspensión se debe incubar a 25°C hasta su uso. (ARIAS, E. y PIÑEROS, P. 2008)

CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 CONTROL DE CALIDAD DEL MATERIAL VEGETAL

Es de gran importancia la realización del control de calidad de los vegetales antes de iniciar un proceso investigativo.

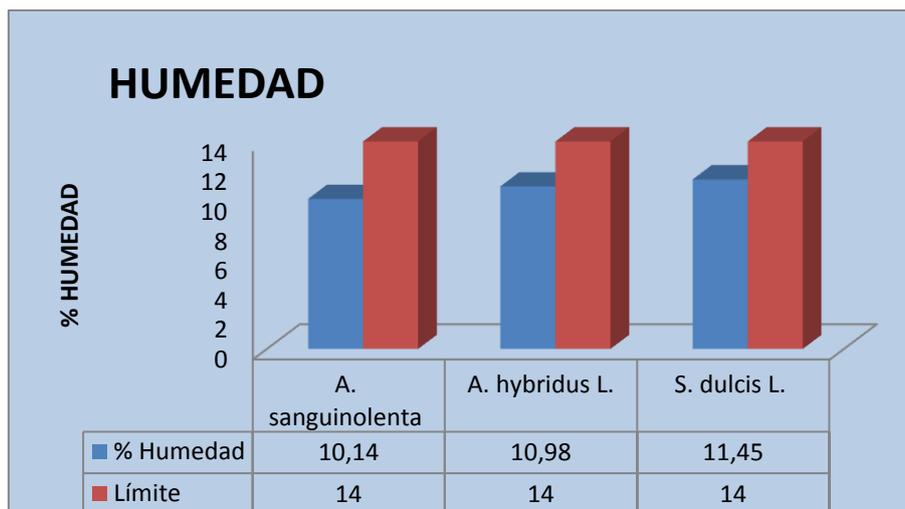
A continuación se muestran los resultados obtenidos en los análisis de humedad y cenizas totales.

- ✓ **Humedad.-** este parámetro permite determinar el estado del vegetal, y a estimar un posible crecimiento bacteriano.

TABLA Nº 10 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD DEL ESCANCEL, SANGORACHE Y TEATINA

VEGETAL	% HUMEDAD	ESPECIFICACIÓN
(<i>Aerva sanguinolenta</i>) Escancel	10.14	8-14
(<i>Amaranthus hybridus L.</i>) Sangorache	10,98	8-14
(<i>Scoparia dulcis L.</i>) Teatina	11,45	8-14

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014



GRÁFICOA Nº 1 DETERMINACIÓN DEL % HUMEDAD DE ESCANCEL, SANGORACHE Y TEATINA. LAB. DE PRODUCTOS NATURALES. ESPOCH. RIOBAMBA. 2014.

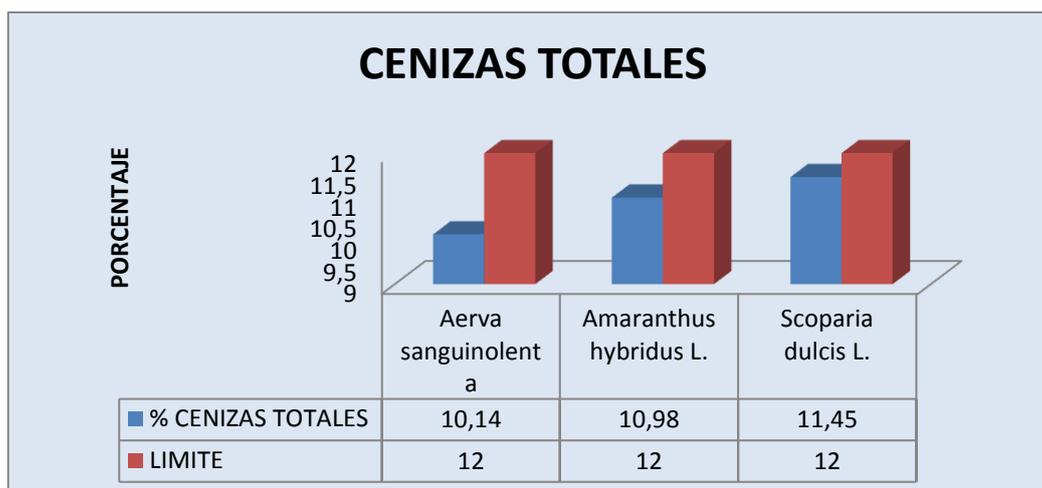
Los valores expuestos en la tabla 9 indican que el % de humedad del Escancel 10.14, Sangorache 10.98 y Teatina 11.45, están dentro de las especificaciones (8- 14), según lo establecido en la USP 28.

- ✓ **Cenizas.-** permite determinar la presencia de minerales y contaminación o no de la planta.

TABLA Nº 11: DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES DEL ESCANCEL, SANGORACHE Y TEATINA

VEGETAL	% CENIZAS TOTALES	ESPECIFICACIÓN
(<i>Aerva sanguinolenta</i>) Escancel	10.33	12
(<i>Amaranthus hybridus L.</i>) Sangorache	9,89	12
(<i>Scoparia dulcis L.</i>) Teatina	11,67	12

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014



GRÁFICA Nº 2 DETERMINACIÓN DEL % HUMEDAD DE ESCANCEL, SANGORACHE Y TEATINA. LAB. DE PRODUCTOS NATURALES. ESPOCH. RIOBAMBA. 2014.

Los resultados obtenidos en la determinación de cenizas totales de los tres vegetales en estudio, están dentro de las especificaciones establecidas en la USP 28.

Gutiérrez V. (2013) en su estudio sobre el escancel reporta un 10,68 % de cenizas totales, enunciando la presencia de sales minerales como el sodio que presentan propiedad antiséptica.

Se debe tomar en cuenta que en caso de que el valor sea superior a 12% hay que rechazar la muestra por contaminación.

3.2 OBTENCIÓN DE EXTRACTOS

Los extractos y sub- extractos se obtuvieron mediante maceración, haciendo uso de cuatro solventes de distinta polaridad, empezando secuencialmente del más apolar (hexano) al más polar (agua), además de preparar un extracto alcohólico total.

3.2.1 CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS

- ✓ **Características organolépticas.-** se analiza cualitativamente las muestras.

TABLA N° 12: CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DE LOS EXTRACTOS Y SUB-EXTRACTOS

Extracto Y sub - extracto	(<i>Aerva sanguinolenta</i>) Escancel	(<i>Amaranthus hybridus L.</i>) Sangorache	(<i>Scoparia dulcis L</i>) Teatina
Hexánico	Color: amarillo claro. Olor: característico	Color : amarillo transparente Olor: característico	Color : amarillo Olor: floral
Etéreo	Color: verde intenso. Olor: floral	Color: verde intenso. Olor: característico	Color: verde intenso. Olor: floral
Alcohólico	Color : verde Olor: floral	Color : verde Olor: característico	Color : verde Olor: floral
Acuoso	Color : vino Olor: floral	Color : rojo intenso Olor: característico	Color : café oscuro Olor: floral
Extracto total	Color : verde bosque Olor: floral	Color : verde bosque Olor: floral	Color : verde bosque Olor: floral

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014

No existen parámetros organolépticos mediante los cuales se puedan establecer comparaciones con los datos expuestos; los mismos que presentan características propias de cada planta, tanto en color como olor.

✓ pH.-



**FOTOGRAFÍA N° 12 pH DE LOS EXTRACTOS DE ESCANCEL,
SANGORACHE Y TEATINA**

TABLA N° 13: pH DE LOS EXTRACTOS DE ESCANCEL, SANGORACHE Y TEATINA

Extractos	(<i>Aerva sanguinolenta</i>) Escancel	(<i>Amaranthus hybridus L.</i>) Sangorache	(<i>Scoparia dulcis L.</i>) Teatina
Hexánico	6,33	6,32	6,27
Etéreo	5,78	5,67	5,70
Alcohólico	5,56	5,76	5,98
Acuoso	4,97	4,70	4,99
Extracto total	6,12	6,10	6,20

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014

3.3 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Con el objetivo de determinar en forma cualitativa los componentes químicos que posean actividad antifúngica, necesarios para nuestra investigación se realizó el tamizaje fitoquímico, reportándose los siguientes resultados:

TABLA N° 14: RESULTADOS DE SCREENING FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS DE DISTINTA POLARIDAD PARA ALCALOIDES.

ALCALOIDES				
EXTRACTOS	PRUEBAS	(<i>A. sanguinolenta</i>) Escancel	(<i>A. hybridus L.</i>) Sangorache	(<i>S. dulcis L.</i>) Teatina
Hexánico	Dragendorff	-	-	-
	Mayer	+	-	+
	Wagner	-	-	-
Etéreo	Dragendorff	-	-	-
	Mayer	-	-	+
	Wagner	-	-	+
Alcohólico	Dragendorff	+	-	+
	Mayer	+	-	+
	Wagner	+	+	+
Acuoso	Dragendorff	+	+	+
	Mayer	+	+	+
	Wagner	+	+	-
Interpretación de los resultados.- Opalescencia (+), turbidez definida(++), precipitado(+++)				

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014

TABLA Nº 15: RESULTADOS DE SCREENING FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS PARA LACTONAS Y CUMARINAS.

LACTONAS Y CUMARINAS				
EXTRACTOS	PRUEBA	<i>(Aerva sanguinolenta)</i> Escancel	<i>(Amaranthus hybridus L.)</i> Sangorache	<i>(Scoparia dulces L)</i> Teatina
Hexánico	Baljet	-	-	-
Etéreo	Baljet	-	-	-
Alcohólico	Baljet	++ (azul)	-	++ (azul)
Interpretación de los resultados.- aparición de coloración (++) , precipitado (+++)				

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014

TABLA Nº 16 RESULTADOS DE SCREENING FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS PARA GRASAS Y ACEITES.

GRASAS Y ACEITES				
EXTRACTOS	PRUEBA	<i>(Aerva sanguinolenta)</i> Escancel	<i>(Amaranthus hybridus L.)</i> Sangorache	<i>(Scoparia dulcis L)</i> Teatina
Hexánico	Sudan	+	+	+
Etéreo	Sudan	+	+	+

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014

TABLA Nº 17 RESULTADOS DE SCREENING FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS PARA TERPENOS Y ESTEROIDES.

TRITERPENOS Y ESTEROIDES				
EXTRACTOS	PRUEBA	<i>(Aerva sanguinolenta)</i> Escancel	<i>(Amaranthus hybridus L.)</i> Sangorache	<i>(Scoparia dulcis L)</i> Teatina
Hexánico	Liebermann-Buchard	-	-	Azul
Etéreo	Liebermann-Buchard	-	azul	Azul
Alcohólico	Liebermann-Buchard	Verde intenso	Verde intenso	Verde intenso

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014

TABLA Nº 18 RESULTADOS DE SCREENING FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS PARA FENOLES Y TANINOS.

FENOLES Y TANINOS				
EXTRACTOS	PRUEBA	<i>(Aerva sanguinolenta)</i> Escancel	<i>(Amaranthus hybridus L.)</i> Sangorache	<i>(Scoparia dulcis L)</i> Teatina
Alcohólico	Cl ₃ Fe	Rojo	verde	Rojo
Acuoso	Cl ₃ Fe	Vino	vino	Vino
Interpretación de los resultados.- coloración rojo- vino (fenoles en general), verde intensa (taninos pirocatecólicos), azul (taninos pirogalotánicos)				

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014

TABLA Nº 19 RESULTADOS DE SCREENING FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS PARA SAPONINAS.

SAPONINAS				
EXTRACTOS	PRUEBA	<i>(Aerva sanguinolenta)</i> Escancel	<i>(Amaranthus hybridus L.)</i> Sangorache	<i>(Scoparia dulcis L)</i> Teatina
Alcohólico	Ensayo de espuma	+	+	+
Acuoso	Ensayo de espuma	+	+	+

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014

TABLA Nº 20 RESULTADOS DE SCREENING FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS PARA FLAVONOIDES.

FLAVONOIDES				
EXTRACTOS	PRUEBA	<i>(Aerva sanguinolenta)</i> Escancel	<i>(Amaranthus hybridus L.)</i> Sangorache	<i>(Scoparia dulcis L)</i> Teatina
Alcohólico	Shinoda	Carmelita	Rojo intenso	Rojo intenso
Acuoso	Shinoda	Carmelita	Rojo intenso	Rojo bajo

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014

TABLA Nº 21 RESULTADOS DE SCREENING FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS PARA ANTOCIANIDINAS.

ANTOCIANIDINA				
EXTRACTOS	PRUEBA	(<i>Aerva sanguinolenta</i>) Escancel	(<i>Amaranthus hybridus L.</i>) Sangorache	(<i>Scoparia dulcis L.</i>) Teatina
Alcohólico	Antocianina	+	+	-

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014

TABLA Nº 22 RESULTADOS DE SCREENING FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS PARA RESINAS.

RESINAS				
EXTRACTOS	PRUEBA	(<i>Aerva sanguinolenta</i>) Escancel	(<i>Amaranthus hybridus L.</i>) Sangorache	(<i>Scoparia dulcis L.</i>) Teatina
Alcohólico	Resinas	-	-	-

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014

TABLA Nº 23 RESULTADOS DE SCREENING FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS PARA MUCILAGOS.

MUCILAGOS				
EXTRACTOS	PRUEBA	(<i>Aerva sanguinolenta</i>) Escancel	(<i>Amaranthus hybridus L.</i>) Sangorache	(<i>Scoparia dulcis L.</i>) Teatina
Alcohólico	Mucilagos	-	-	-
Acuoso	Mucilagos	-	-	-

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014

TABLA Nº 24 RESULTADOS DE SCREENING FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS PARA PRINCIPIOS AMARGOS Y ASTRINGENTES.

PRINCIPIOS AMARGOS Y ASTRINGENTES				
EXTRACTOS	PRUEBA	(<i>Aerva sanguinolenta</i>) Escancel	(<i>Amaranthus hybridus L.</i>) Sangorache	(<i>Scoparia dulcis L.</i>) Teatina
Alcohólico	Gotas	Amargo	amargo	Amargo
Acuoso	Gotas	Amargo	amargo	Amargo

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014

Los datos expuestos en las tablas (14-24), muestran los resultados obtenidos en el screening fitoquímico para los tres vegetales investigados:

En el **Escancel** (*Aerva sanguinolenta*) se identificó la presencia de aceite, compuestos fenólicos, alcaloides, cumarinas, taninos, triterpenos, esteroides, saponinas y flavonoides. Estos resultados concuerdan con Asif L. (2012) que manifiesta que el extracto alcohólico presenta alcaloides, flavonoides y taninos, en estudios realizados para determinar la actividad anticancerígena y hepatoprotectora.

Domínguez (2013) reporta la presencia de cantidades significativas de flavonoides en el extracto alcohólico. Los datos coinciden también con los obtenidos por Trujillo S. y Madrigal B. (2005) en estudios fitoquímicos, reportando la presencia de cumarinas, taninos, presencia mínima de alcaloides, saponinas, terpenos, esteroides, sesquiterpenolactonas, ácido oxálico, quinonas.

Adicionalmente en estudios para determinar la actividad cicatrizante del escancel, Gutiérrez V. (2013) indica la presencia de flavonoides, cumarinas, alcaloides, taninos, triterpenos, saponinas en el extracto alcohólico.

Por medio del cribado fitoquímico de **Teatina** (*Scoparia dulcis* L.), se reportó como positivo la prueba de Sudan, también contiene terpenos, una mínima presencia de alcaloides; en los extractos polares se detectó alcaloides, cumarinas, saponinas, taninos, terpenos, compuestos fenólicos, flavonoides.

Estos datos coinciden con varias investigaciones científicas, pues Zulfiker A. (2010) en su estudio para determinar la actividad analgésica de la teatina, reporta en el análisis fitoquímico la presencia de alcaloides, taninos.

Según Das (2011) el extracto alcohólico posee fenoles, saponinas, flavonoides, taninos, terpenos y catecolaminas, en estudios realizados para determinar la actividad antidiabética. Los resultados coinciden también con los revelados por Masuma S. y Lazuma N. (2011) indicando la presencia de flavonoides, alcaloides, taninos, carbohidratos y glicósidos en el extracto crudo, en su investigación para determinar la actividad citotóxica, antifúngica y antibacteriana de la *Scoparia dulcis*.

En el análisis fitoquímico del **SANGORACHE** (*Amaranthus hybridus L.*) se obtuvo como resultados positivos las pruebas para grasas y aceites y triterpenos y esteroides en los extractos apolares. En el extracto alcohólico y acuoso se identificó flavonoides, taninos, saponinas, antocianinas, alcaloides, triterpenos y esteroides, compuestos fenólicos.

Este resultado concuerda con Trujillo S. y Madrigal B. (2005) que en el tamizaje fitoquímico manifiesta la presencia de saponinas, triterpenos y esteroides, alcaloides.

El cribado fitoquímico realizado por Peralta E., Villacrés E. (2008) al extracto acuoso de los glomérulos de sangorache revela la presencia de taninos, compuestos fenólicos antocianinas.

Fajardo S. y Criollo P. (2013) en su análisis, tanto fitoquímico como bromatológico previo a la elaboración de galletas de amaranto analizó el contenido de flavonoides del vegetal.

Gómez A. (2013) reporta saponinas, taninos, flavonoides además de otros compuestos dentro de su composición química.

3.4 ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICO UV- VISIBLE DE LOS EXTRACTOS

Se partió de una solución diluida a 20 ppm de los extractos obtenidos por separación fraccionada en base a solventes de diferente constante dieléctrica: 1,89 (hexánico), 4,34 (etéreo), 24,3 (alcohólico) y 78,3 (acuoso), y se realizó un barrido de 200 a 600nm, de cada extracto.

A continuación se detallan los valores y los posibles compuestos presentes de acuerdo a las longitudes de onda.

TABLA Nº 25 ESPECTRO UV- VISIBLE DE LOS EXTRACTOS DE ESCANCEL, SANGORACHE Y TEATINA

	Escancel (<i>A. sanguinolenta</i>)		Sangorache (<i>A. hybridus L.</i>)		Teatina (<i>S. dulcis L.</i>)	
	UV-Visible	Posible compuesto	UV-Visible	Posible compuesto	UV-Visible	Posible compuesto
Hexánico Q 1,89	262	Xantona	413	262	Terpeno
	448	448	412
	476	quinonas	476	Naftoquinona	448
					476
				533	Antocianina	
Etéreo Q 4,34	329	Xantona	267	Flavona	267	Flavonol
	431	Quinona	328	Xantona	309	Xantona
	534	antocianina	431	Quinona	413
			579	430
					450
				533	Antocianina	
Alcohólico Q 24,3	267	Flavonoles	335	Naftoquinona		
	336	Cumarina	418	Naftoquinona	334
	418	Naftoquinona	434	Quinona	416
	435	Alcaloide				
Acuoso Q 78,3	215	Terpeno	217	Terpeno		
	224	Chalconas	226	Benzofurano	212	Sesqui terpenolactona
	269	flavona	233	Aurona		
	324	Cumarina	286	221	
	334	315	Cumarina	226	Benzofurano
		326	Cumarina			
Total Q 24,3	269	Flavona	335	Naftoquinona	335	Naftoquinona
	338	Cumarina	419	417
	418	Naftoquinona	435	Alcaloide		
	435	alcaloide				

ELABORADO POR: MOYON M. 2014

Los resultados obtenidos en el espectro UV- Visible acerca del **Escancel** (*A. sanguinolenta*) afirman los datos del tamizaje fitoquímico de esta investigación que son: compuestos fenólicos (xantonas, quinonas), flavonoides, antocianinas, cumarinas, alcaloides, terpenos.

Estos datos tienen semejanza con los de Trujillo S. y Madrigal B. (2005) que en el cribado fitoquímico identificaron presencia mínima de alcaloides, saponinas, terpenos, esteroides, sesquiterpenolactonas, ácido oxálico, quinonas, cumarinas, taninos. También se asemejan a los resultados de otras investigaciones científicas para determinar

diferentes actividades farmacológicas del escancel, haciendo uso de extractos alcohólicos y acuosos in vivo e in vitro.

De acuerdo a los valores del espectro UV- Visible del **sangorache** tenemos: alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos en general, cumarinas, terpenos; coincidiendo con los resultados del tamizaje previamente realizado.

Estos valores tienen relación a los emitidos por Gómez A. (2013) que reporta la presencia de saponinas, taninos, flavonoides además de otros compuestos; así como de otros estudios realizados con la finalidad de analizar actividades farmacológicas, cosméticas, alimenticias por el alto valor nutricional que posee.

Por los valores obtenidos en el espectro UV- Visible de la **teatina** (*S. dulcis L.*) tenemos: compuestos fenólicos, antocianinas, terpenos, flavonoides pues la longitud de onda puede corresponder a estos compuestos; son datos similares a los obtenidos en el tamizaje fitoquímico de este vegetal.

Estudios realizados para determinar la actividad anticancerígena, antidiabética, citotóxica, antifúngica, antibacterial, analgésica exponen la presencia de flavonoides, alcaloides, taninos, saponinas, terpenos, compuestos fenólicos, por lo tanto los datos de este análisis tienen relación a los de bibliografía.

3.5 CROMATOGRAFÍA EN CAPA DELGADA

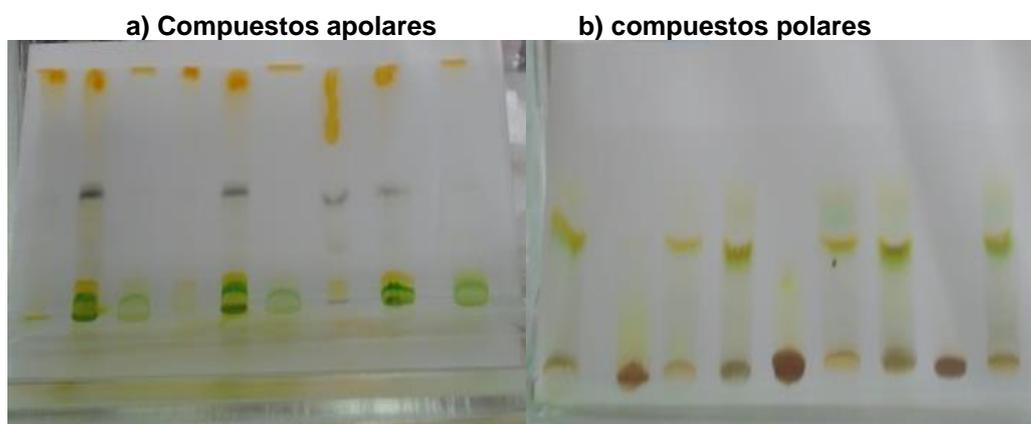
Posterior al análisis con las diferentes mezclas se determinó que para los extractos apolares, de constantes dieléctrica 1,89 (hexánico) y 4,34 (etéreo) la mejor opción fue (Tolueno: acetato de etilo (93:7)), en tanto que para las fracciones polares de constante dieléctrica 24,3 (alcohólico) y 78,3 (acuoso) fue Tolueno: metanol: ácido fórmico: agua (5,04:100:10:10), debido a que se observa un mejor corrido y resolución de bandas, el revelado se realizó con sulfato de serio, vainillina e hidróxido de potasio para luego ser observadas en una lámpara UV.

La siguiente tabla muestra varias mezclas de solventes empleados en las cromatografías para observar de mejor manera la separación de los componentes.

TABLA Nº 26 MEZCLAS DE SOLVENTES PARA CROMATOGRAFÍAS EN CAPA DELGADA

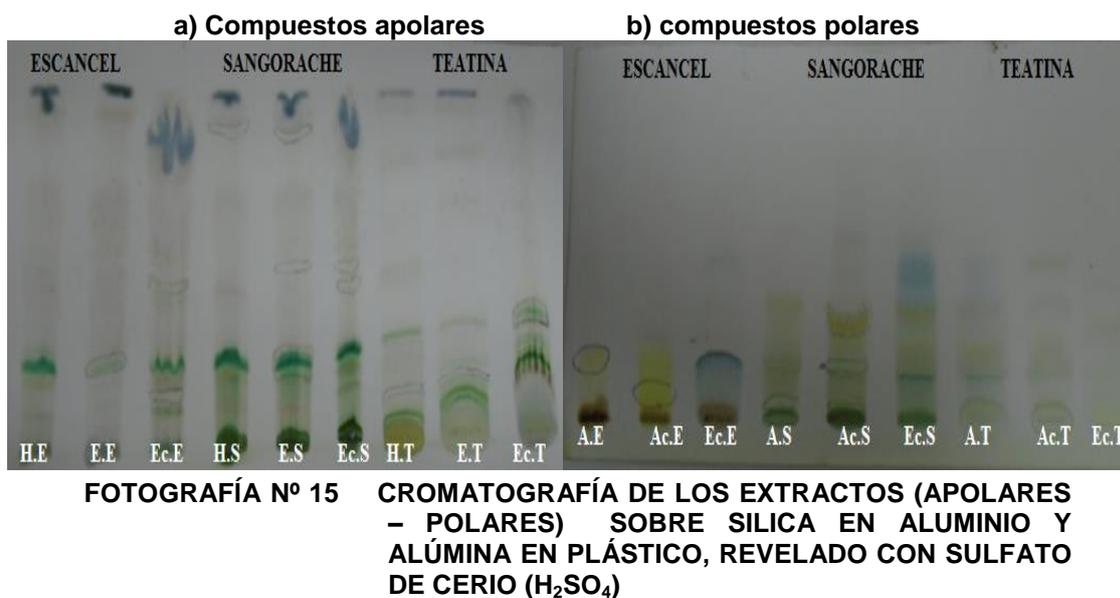
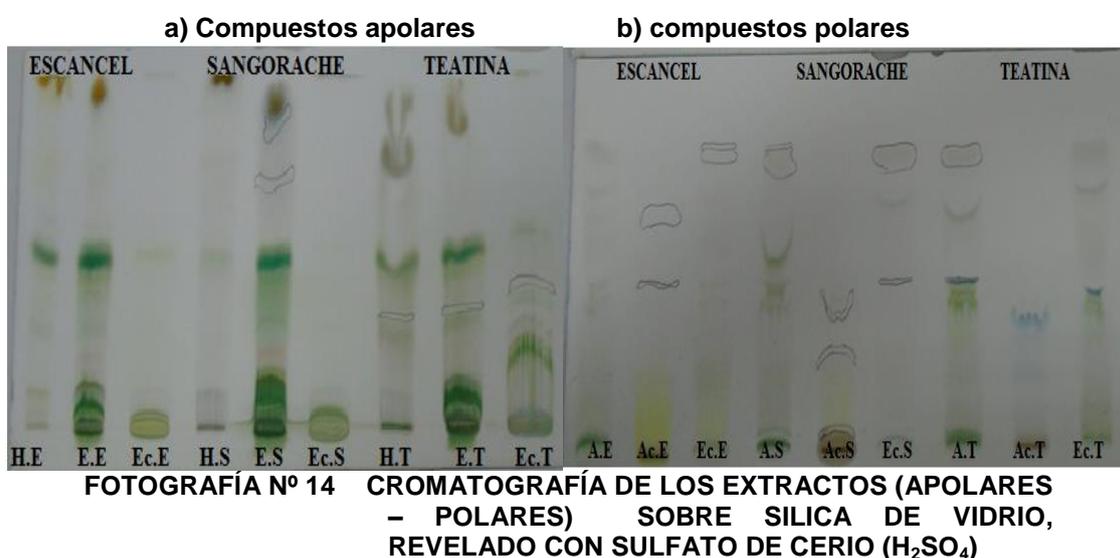
Mezclas de solventes	Referencia
Acetato de etilo: metanol: agua (15:1,7:1)	Lock Olga, 1994
Acetato de etilo (100)	Lock Olga, 1994
Cloroformo: acetato de etilo: agua (28:1:1)	Sherma, 1996
Cloroformo: metanol: agua (11:9:2)	Sherma, 1996
Butanol: ácido acético glacial: agua (50:10:20)	Wagner, Bladt
Cloroformo: acetato de etilo (60:40)	Wagner, Bladt
Acetato de etilo: metanol (90:10)	Wagner, Bladt
Tolueno: acetato de etilo (93:7)	Wagner, Bladt
Tolueno: metanol: ácido fórmico: agua (5,04:100:10:10)	Wagner, Bladt

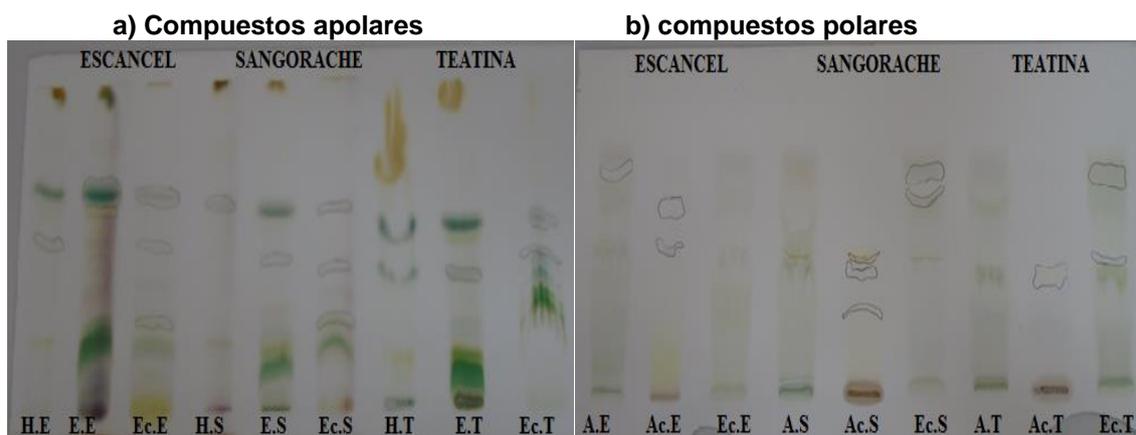
Algunos compuestos empezaron a hacerse visibles desde el momento en que el solvente corrió a través de la placa (fotografía 28) y luego de ser reveladas, permanecieron, se intensificaron o cambiaron de color. Se observó colores como: verde intenso, verde claro, amarillo, azul, celeste, rosado, marrón como se muestra a continuación. En los anexos (3 y 4) están las placas vistas en el UV.



FOTOGRAFÍA Nº 13 CORRIDO DE TOLUENO: ACETATO DE ETILO (93:7) Y TOLUENO: METANOL: ÁCIDO FÓRMICO: AGUA (5,04:100:10:10)

Para una fácil descripción de las fracciones de cada vegetal se adoptó la siguiente denominación; la misma que consta de la inicial del solvente empleado más la inicial del vegetal así: H.E (hexánico Escancel), E.E (etéreo Escancel), EC.E (extracto crudo Escancel) H.S (hexánico Sangorache) E.S (etéreo Sangorache), E C. S (extracto crudo Sangorache), H.T (hexánico teatina), E.T (etéreo teatina), EC. T (extracto crudo teatina) A.E (alcohólico Escancel), Ac. E (acuoso Escancel), EC.E (extracto crudo Escancel) A.S (alcohólico Sangorache) Ac. S (acuoso Sangorache), E C. S (extracto crudo Sangorache), A.T (alcohólico teatina), Ac. T (acuoso teatina), Et. T (extracto alcohólico total teatina)





FOTOGRAFÍA Nº 16 CROMATOGRAFÍA DE LOS EXTRACTOS (APOLARES – POLARES) SOBRE SILICA DE VIDRIO, REVELADO CON VAINILLINA (H₂SO₄).

Los datos que se presentan a continuación corresponden a las bandas de cada uno de los grupos funcionales que han sido identificados a través de los reveladores.

TABLA Nº 27 RF EN PLACAS DE SILICA Y ALÚMINA DE VIDRIO DE LOS EXTRACTOS Y SUB-EXTRACTOS DE ESCANCEL, SANGORACHE Y TEATINA

Vegetal	Rf						Revelador
	Hexano	Éter	Alcohólico	Acuoso	Extracto Total		
					SG. V	A. V	
Escancel (<i>Aerva sanguinolenta</i>)	0,45	0,53 0,60	0,61	0,45 0,51	0,23 0,45 0,57	0,36	Vainillina (H₂SO₄) (alcoholes, fenoles esteroides, aceites esenciales)
Sangorache (<i>Amaranthus hybridus L.</i>)	0,54	0,45 0,70	0,37 0,45 0,57	0,06 0,24 0,33 0,36	0,23 0,37 0,53	0,52 0,60	
Teatina (<i>Scoparia dulcis L.</i>)	0,45	0,34 0,44	0,34	0,29	0,41 0,59	0,36 0,59	

TABLA Nº 28 RF EN PLACAS DE SILICA Y ALÚMINA DE VIDRIO DE LOS EXTRACTOS DE ESCANCEL, SANGORACHE Y TEATINA (Continuación)

Escancel (<i>Aerva sanguinolenta</i>)	0,45 0,67	0,18 0,41 0,67	0,45 0,70	0,41 0,61	0,45	0,10 0,61 0,73	Sulfato de serio (H₂SO₄) (flavonoides)
Sangorache (<i>Amaranthus hybridus L.</i>)	0,45 0,68	0,18 0,40 0,62 0,88	0,37 0,45 0,72	0,06 0,21 0,24 0,33	No se observan bandas	0,40 0,60 0,72	
Teatina (<i>Scoparia dulcis L.</i>)	0,27 0,65	0,28	0,41 0,57 0,72	0,29 0,36	0,36	0,36 0,72	
Escancel (<i>Aerva sanguinolenta</i>)	0,28	0,53 0,60	0,09	0,60			Hidróxido de potasio (cumarinas)
Sangorache (<i>Amaranthus hybridus L.</i>)	0,61	0,53 0,60	0,09	0,60			
Teatina (<i>Scoparia dulcis L.</i>)	0,17 0,44	0,08 0,11	0,06	0,11			

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014

TABLA Nº 29 RF EN PLACAS DE SILICA EN PAPEL CROMATOGRÁFICO Y ALÚMINA DE PLÁSTICO

Vegetal	Rf						Revelador
	Hexano	Éter	Alcohólico	Acuoso	Extracto total		
					SG. A	A. P	
Escancel (<i>Aerva sanguinolenta</i>)	0,23	0,83	0,14	0,15	0,12 0,26 0,38 0,87	0,12	Sulfato de serio (H₂SO₄) (universal)
Sangorache (<i>Amaranthus hybridus L.</i>)	0,21	0,18 0,44 0,88	0,14	0,33 0,21	0,16 0,89	No se observan bandas	
Teatina (<i>Scoparia dulcis L.</i>)	0,10 0,19 0,39	0,16 0,26 0,38 0,42	0,32 0,39	0,19 0,40	0,30	No se observan bandas	

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014

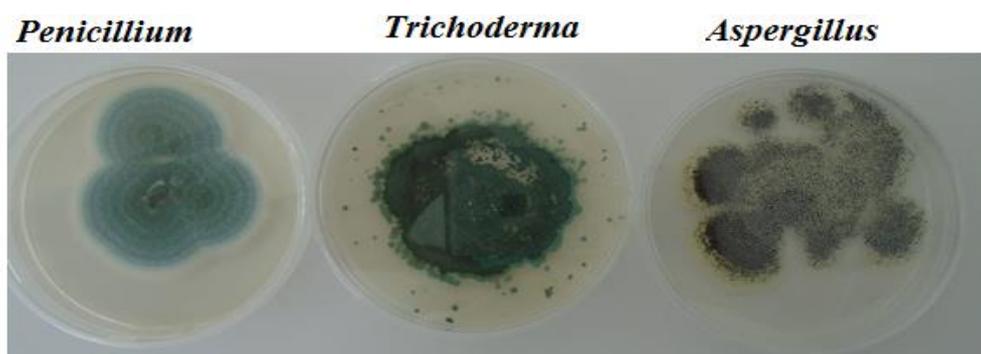
Por medio de la cromatografía (TLC) se evidenciaron compuestos con Rfs, correspondientes a los metabolitos identificados en el tamizaje fitoquímico y en el espectro U-Visible por las longitudes de onda.

En el caso del Escancel (*Aerva sanguinolenta*) se repite con frecuencia el Rf= 0,45 dato que según Wagner (1996) especifica corresponde a la RUTINA. Según Gutiérrez V. (2013) en un estudio para de determinar la actividad cicatrizante de este vegetal utilizando el estándar correspondiente identificó la presencia de este flavonoide. En la técnica farmacopea británica del 2011 (TFB) indica el mismo Rf para este metabolito.

Dentro de los datos del Sangorache (*Amaranthus hybridus L.*), también se observa el Rf= 0,45 con menor repetitividad; en datos bibliográficos manifiestan la presencia de flavonoides sin especificación alguna.

Se observó relación entre el número de compuestos (Rf) medidos con el número de picos de los espectros UV- Visible en los diferentes extractos.

3.6 OBTENCIÓN DE HONGOS



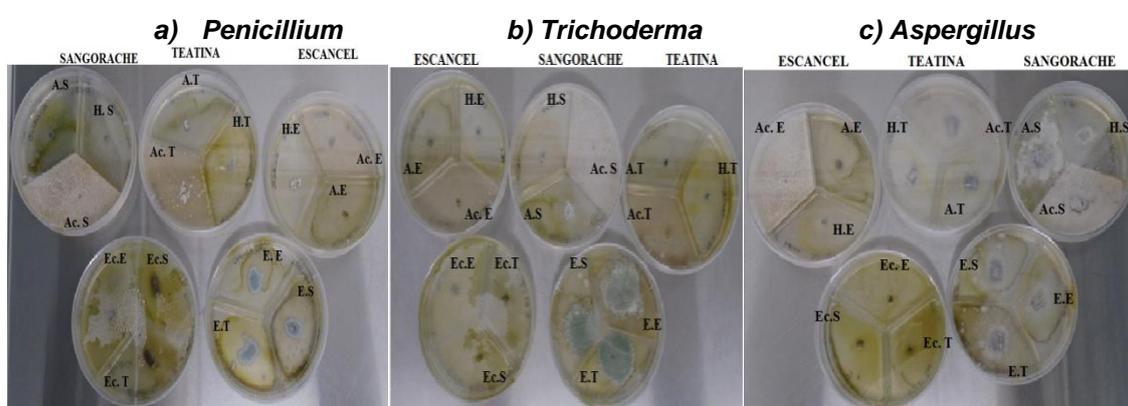
FOTOGRAFÍA N° 17 CEPAS PURAS DE *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus*

Como se observa en la fotografía 17 las cepas puras de *Trichoderma*, *Penicillium* y *Aspergillus* se obtuvieron de muestras de suelo y cereales por el método de dilución en placa y previamente identificadas por los métodos de la cinta pegante y montaje por disección. Además las cepas fueron conservadas en refrigeración a 4° C hasta su

utilización en los enfrentamientos con los extractos y sub- extractos de Escancel, Sangorache y Teatina.

3.7 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE LOS EXTRACTOS DE ESCANCEL, TEATINA Y SANGORACHE FRENTE A *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus*.

En la fotografía 18 se observa el resultado del análisis de la técnica de dilución en placa el mismo que se realizó por duplicado; además se hizo una última lectura a los diez días.



FOTOGRAFÍA Nº 18 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE LOS EXTRACTOS DE ESCANCEL, SANGORACHE Y TEATINA FRENTE A *Penicillium*, *Trichoderma*, *Aspergillus*

En la fotografía 18 **a)** se observó que en el extracto hexánico, etéreo y alcohólico del Sangorache; acuoso y etéreo de la Teatina; el extracto hexánico del escancel presentan contaminación con levaduras.

En la **b)** el extracto hexánico del Sangorache presenta contaminación con levaduras. En la **c)** No se observó contaminación en ninguna de las cajas.

El 14 % de los cuadrantes de las cajas en donde se hizo el análisis presentaron contaminación con levaduras.

En las cajas con la alícuota de los extractos crudos de las tres plantas no se observó contaminación ni crecimiento frente a las cepas expuestas.

Si se hace una comparación del tamaño de los hongos en los sub- extractos etéreos en referencia a las otras placas son considerablemente grandes y en referencia al hongo

(estándar) de partida son de menor tamaño, por lo que se considera que de alguna manera puede ejercer actividad.

Se realizó un análisis cualitativo para lo cual se establecieron parámetros como: no crecimiento (NC), crecimiento pobre (CP), y crecimiento masivo (CM), como se muestra a continuación:

TABLA N° 30 ACTIVIDAD DE LOS EXTRACTOS Y SUB- EXTRACTOS DEL ESCANCEL (*Aerva sanguinolenta*) FRENTE A *Penicillium*, *Trichoderma* y *Aspergillus*

Días	<i>Penicillium sp.</i>				<i>Trichoderma sp.</i>				<i>Aspergillus sp.</i>			
	2	4	6	7	2	4	6	7	2	4	6	7
Hexánico	NC	NC	CP	CP	NC	NC	CP	CP	NC	NC	CP	CP
Etéreo	NC	CP	CM	CM	CP	CM	CM	CM	CP	CM	CM	CM
Alcohólico	NC	NC	NC	NC	NC	NC	CP	CP	NC	NC	NC	NC
Acuoso	NC	NC	CP	CP	NC	NC	NC	CP	NC	NC	CP	CP
Crudo	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014

TABLA N° 31 ACTIVIDAD DE LOS EXTRACTOS Y SUB EXTRACTOS DEL SANGORACHE (*A. hybridus L.*) FRENTE A *Penicillium*, *Trichoderma* y *Aspergillus*

Días	<i>Penicillium sp.</i>				<i>Trichoderma sp.</i>				<i>Aspergillus sp.</i>			
	2	4	6	7	2	4	6	7	2	4	6	7
Hexánico	NC	NC	CP	CP	NC	NC	CP	CP	NC	NC	CP	CP
Etéreo	CP	CP	CM	CM	CP	CM	CM	CM	CP	CM	CM	CM
Alcohólico	NC	NC	CP	CP	NC	NC	CP	CP	CP	CM	CM	CM
Acuoso	NC	NC	CP	CP	NC	CP	CP	CP	NC	NC	CP	CP
Crudo	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014

**TABLA N° 32 ACTIVIDAD DE LOS EXTRACTOS Y SUB- EXTRACTOS DE LA
TEATINA (*Scoparia dulcis* L) frente a *Penicillium*,
Trichoderma y *Aspergillus***

Días	<i>Penicillium sp.</i>				<i>Trichoderma sp.</i>				<i>Aspergillus sp.</i>			
	2	4	6	7	2	4	6	7	2	4	6	7
Hexánico	NC	NC	NC	NC	NC	NC	CP	CP	NC	NC	CP	CP
Etéreo	NC	CP	CM	CM	NC	CP	CM	CM	CP	CM	CM	CM
Alcohólico	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	CP	CP
Acuoso	NC	CP	CP	CP	NC	NC	NC	NC	NC	NC	CP	CP
Crudo	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014

En estas tablas se encuentran marcadas con color amarillo las zonas de las fracciones en donde hubo ausencia de crecimiento y con color lila en aquellos que se observó un crecimiento masivo.

3.7.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico se consideró el crecimiento diario en diámetro de cada una de las cepas.

De la misma manera que en el análisis cualitativo en las siguientes tablas se encuentran resaltados con color amarillo las fracciones donde no se desarrolló el hongo y con color lila donde se evidenció su crecimiento.

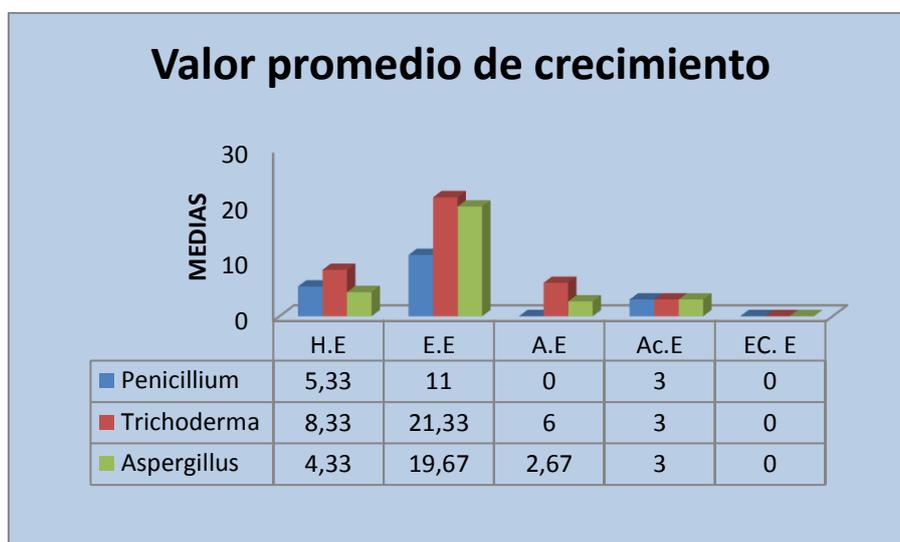
En las siguientes tablas y gráficas se detallan los valores de las medias y agrupamientos por el método de Tukey de los extractos frente a las cepas de *Penicillium*, *Trichoderma* y *Aspergillus*.

TABLA Nº 33 CRECIMIENTO DE *Penicillium*, *Trichoderma* y *Aspergillus* FRENTE A LOS EXTRACTOS DEL ESCANCEL.

Escancel (<i>Aerva sanguinolenta</i>)								
<i>Penicillium</i>			<i>Trichoderma</i>			<i>Aspergillus</i>		
Ext.	Media	Tukey	Ext.	Media	Tukey	Ext.	Media	Tukey
H.E	5.33± 1.15	B	H.E	8.33 ± 3.79	C	H.E	4.33 ± 3.79	B
E.E	11 ± 3.61	C	E.E	21.33 ±3.06	D	E.E	19.67 ±2.52	C
A.E	0.0 ± 0	A	A.E	6 ± 5,29	BC	A.E	2.67 ± 2.31	AC
Ac.E	3 ± 2,65	AC	Ac.E	3 ± 2.65	B	Ac.E	3 ± 2.65	AC
Et. E	0.0 0	A	Et. E	0.0 0	A	Et.E	0.0 0	A

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014

Nivel de significancia = 0,05; p valor para *Penicillium* = 0.0011, *Trichoderma* = 0.0002 y *Aspergillus* = 0.000⁻¹. Valor promedio de crecimiento más alto correspondiente a *Trichoderma* = 21.33.



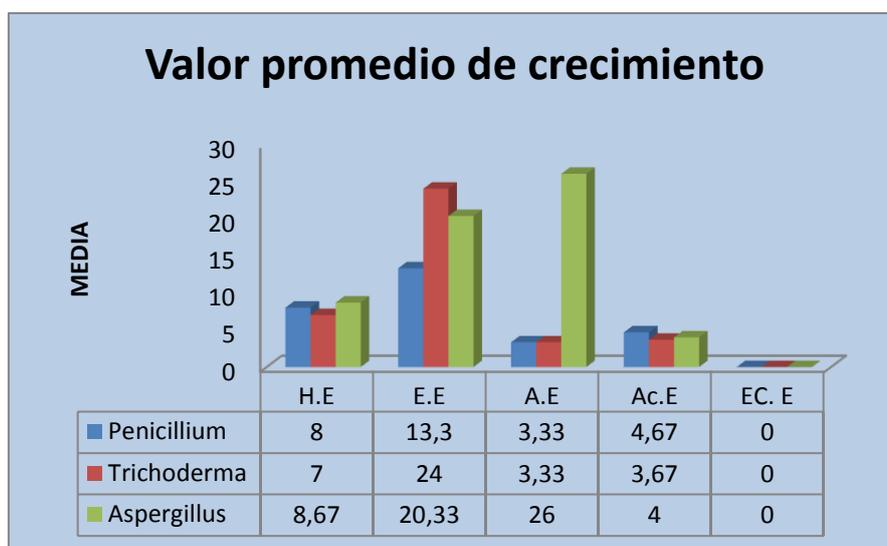
GRÁFICA Nº 3 VALOR PROMEDIO DE CRECIMIENTO DE *Penicillium*, *Trichoderma* y *Aspergillus* FRENTE A LOS EXTRACTOS DEL ESCANCEL. LAB DE MICROBIOLOGIA AMBIENTAL. ESPOCH. RIOBAMBA. 2014

TABLA N° 34 CRECIMIENTO DE *Penicillium*, *Trichoderma* y *Aspergillus* FRENTE A LOS EXTRACTOS Y SUB-EXTRACTOS DEL SANGORACHE

Sangorache (<i>Amaranthus hybridus</i> L.)								
<i>Penicillium</i>			<i>Trichoderma</i>			<i>Aspergillus</i>		
Ext.	Media	Tukey	Ext.	Media	Tukey	Ext.	Media	Tukey
H.S	8 ± 3.61	B	H.S	7 ± 2	C	H.S	8.67 ± 2.31	B
E.S	13.3 ± 4.04	C	E.S	24 ± 3.46	D	E.S	20.33 ± 2.89	C
A.S	3.33 ± 3	A	A.S	3.33 ± 2.89	B	A.S	26 ± 1.73	D
Ac.S	4.67 ± 4	AB	Ac.S	3.67 ± 3.21	B	Ac.S	4 ± 3.46	AB
Et. S	0.0 ± 0	A	Et. S	0.0 ± 0	A	Et.S	0.0 0	A

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014

Nivel de significancia = 0,05; p valor para *Penicillium* = 0.0069, *Trichoderma* = 0.0002¹ y *Aspergillus* = 0.0002⁻². Valor promedio de crecimiento más alto correspondiente a *Trichoderma* = 24.



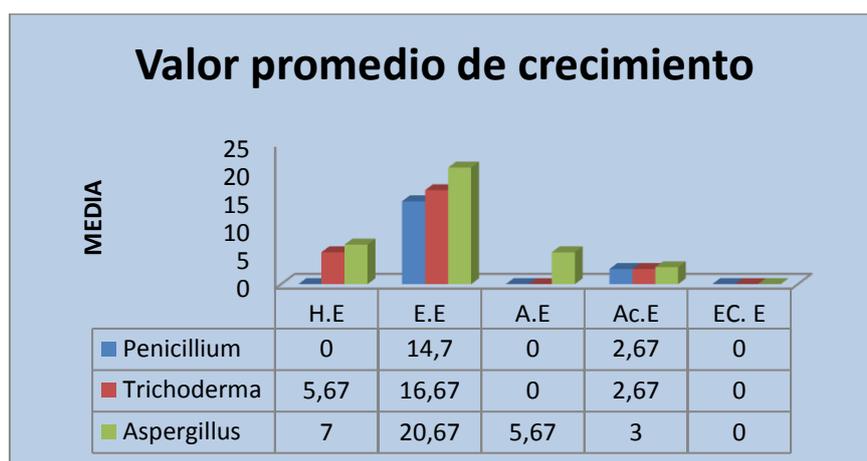
GRÁFICA N° 4 VALOR PROMEDIO DE CRECIMIENTO DE *Penicillium*, *Trichoderma* y *Aspergillus* FRENTE A LOS EXTRACTOS DEL SANGORACHE. LAB DE MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL. ESPOCH. RIOBAMBA. 2014

TABLA Nº 35 CRECIMIENTO DE *Penicillium*, *Trichoderma* y *Aspergillus* FRENTE A LOS EXTRACTOS DE LA TEATINA.

Teatina (<i>Scoparia dulcis</i> L)								
<i>Penicillium</i>			<i>Trichoderma</i>			<i>Aspergillus</i>		
Ext.	Media	Tukey	Ext.	Media	Tukey	Ext.	Media	Tukey
H.T	0.0 ± 0	A	H.T	5.67 ± 1.53	B	H.T	7 ± 2.65	B
E.T	14.7±4.16	B	E.T	16.67 ±5.86	C	E.T	20.67 ±3.21	C
A.T	0.0 ± 0	A	A.T	0.0 ± 0	A	A.T	5.67 ± 4.93	B
Ac.T	2,67 ±2.30	A	Ac.T	2.67 ± 2.30	AC	Ac.T	3 ± 2.65	AB
Et. T	0.0 0	A	Et. T	0.0 0	A	Et.T	0.0 ± 0	A

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014

Nivel de significancia = 0,05; p valor para *Penicillium* = 0.0001, *Trichoderma* = 0. 0007 y *Aspergillus* = 0.0003. Valor promedio de crecimiento más alto correspondiente a *Aspergillus* = 20.67.



GRÁFICA Nº 5 VALOR PROMEDIO DE CRECIMIENTO DE *Penicillium*, *Trichoderma* y *Aspergillus* FRENTE A LOS EXTRACTOS DE LA TEATINA. LAB DE MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL. ESPOCH. RIOBAMBA. 2014

Se observa una diferencia significativa por medio del análisis de varianza ($P \leq 0.05$) en todos los casos analizados, pues en los extractos totales hubo ausencia de crecimiento en un 100 % mientras que en los extractos etéreos se notó claramente el desarrollo de las cepas.

Los extractos alcohólicos y acuosos también presentaron crecimiento mínimo a excepción del *Aspergillus* sobre la fracción alcohólica del sangorache; también en el extracto hexánico de la teatina no observó crecimiento de *Penicillium*.

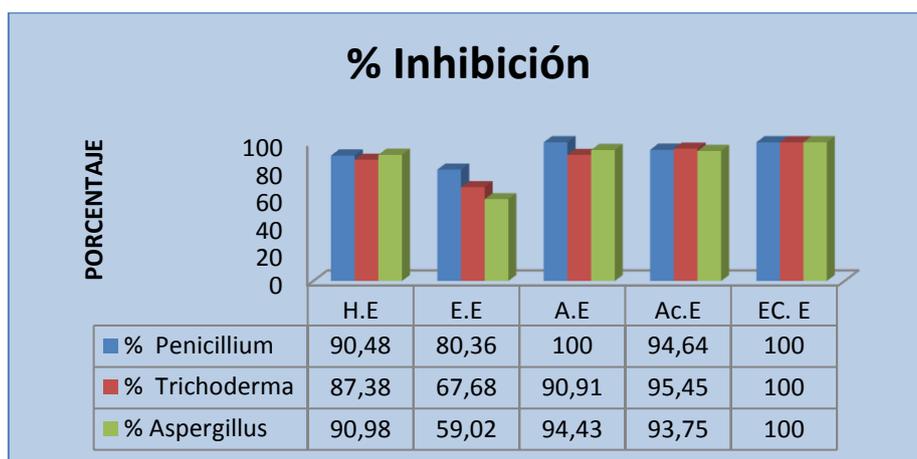
En las tablas 33-35 están marcadas con color lila los datos correspondientes a los extractos etéreos donde hubo crecimiento de los tres hongos frente a escancel, sangorache y teatina pudiéndose atribuir responsabilidad a compuestos como los fitosteróles que comúnmente se encuentran en solventes apolares y que favorecen el crecimiento; en tanto que los datos macados con color amarillo corresponden a los extractos alcohólicos totales donde no se notó crecimiento en ningún caso.

Mediante los datos promedios de crecimiento se calculó el **% de inhibición** de las cepas, tomando en cuenta que se trata del valor inverso al crecimiento.

Tabla 36: % DE INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO DE *Penicillium*, *Trichoderma* y *Aspergillus* FRENTE A LOS EXTRACTOS DEL ESCANCEL

Extracto	% <i>Penicillium</i>	% <i>Trichoderma</i>	% <i>Aspergillus</i>
H.E	90,48	87,38	90,98
E.E	80,36	67,68	59,02
A.E	100	90,91	94,43
Ac.E	94,64	95,45	93,75
ET. E	100	100	100

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014



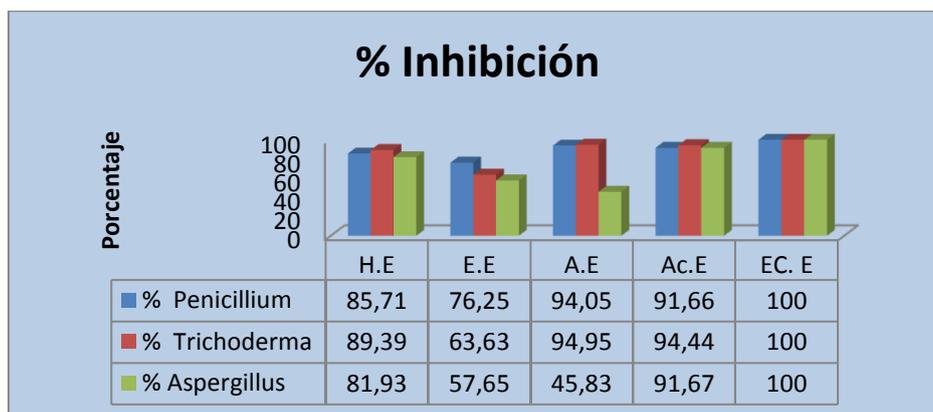
GRÁFICA Nº 6% DE INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO DE *Penicillium*, *Trichoderma* y *Aspergillus* FRENTE A LOS EXTRACTOS DEL ESCANCEL. LAB DE MICROBIOLOGIA AMBIENTAL. ESPOCH. RIOBAMBA. 2014

Se nota un porcentaje de inhibición más alto del extracto alcohólico total frente a las tres cepas; caso contrario sucede con la fracción etérea en donde frente a *Aspergillus* hubo el porcentaje de inhibición de 59,02 % que es bajo en relación al resto.

TABLA Nº 37 % DE INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO DE *Penicillium*, *Trichoderma* y *Aspergillus* FRENTE A LOS EXTRACTOS DEL SANGORACHE

Extracto	% <i>Penicillium</i>	% <i>Trichoderma</i>	% <i>Aspergillus</i>
H.S	85,71	89,39	81,93
E.S	76,25	63,63	57,65
A.S	94,05	94,95	45,83
Ac.S	91,66	94,44	91,67
ET. S	100	100	100

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014



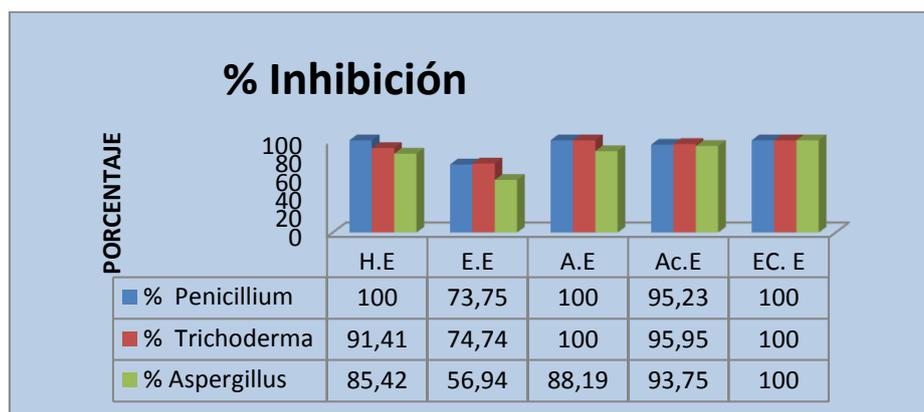
GRÁFICA Nº 7 % DE INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO DE *Penicillium*, *Trichoderma* y *Aspergillus* FRENTE A LOS EXTRACTOS DEL SANGORACHE. LAB DE MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL. ESPOCH. RIOBAMBA. 2014

De la misma manera que en el escancel, el extracto crudo presentó 100% de inhibición para las cepas empleadas, y el valor mínimo corresponde a la fracción alcohólica frente a *Aspergillus*.

TABLA Nº 38 % DE INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO DE *Penicillium*, *Trichoderma* y *Aspergillus* FRENTE A LOS EXTRACTOS DE LA TEATINA

Extracto	% <i>Penicillium</i>	% <i>Trichoderma</i>	% <i>Aspergillus</i>
H.T	100	91,41	85,42
E.T	73,75	74,74	56,94
A.T	100	100	88,19
Ac.T	95,23	95,95	93,75
Et. T	100	100	100

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014



GRÁFICA Nº 8 % DE INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO DE *Penicillium*, *Trichoderma* y *Aspergillus* FRENTE A LOS EXTRACTOS DE LA TEATINA. LAB DE MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL. ESPOCH. RIOBAMBA. 2014

En la tabla 38 y gráfica 8 con respecto a la teatina se observa que el extracto etanólico total presentó el 100% de inhibición; en tanto que la fracción etérea mostró un 56.94% con lo que se determinó que el crecimiento de *Aspergillus* fue estadísticamente diferente con relación al resto.

De acuerdo a los porcentajes de inhibición se pudo determinar mayor efecto de los tres vegetales frente al género *Penicillium*. Además haciendo referencia un porcentaje general de inhibición de las fracciones realizadas para las tres cepas presenta mayor actividad la teatina, seguido del escancel y finalmente el sangorache.

De manera general estos resultados mantienen estrecha relación con los obtenidos por Moreno (2011) en el estudio antifúngico de extractos de Gobernadora frente a *Aspergillus flavus* y *Penicillium sp* destacando especialmente la actividad de los extractos etanólicos y metanólicos (polares).

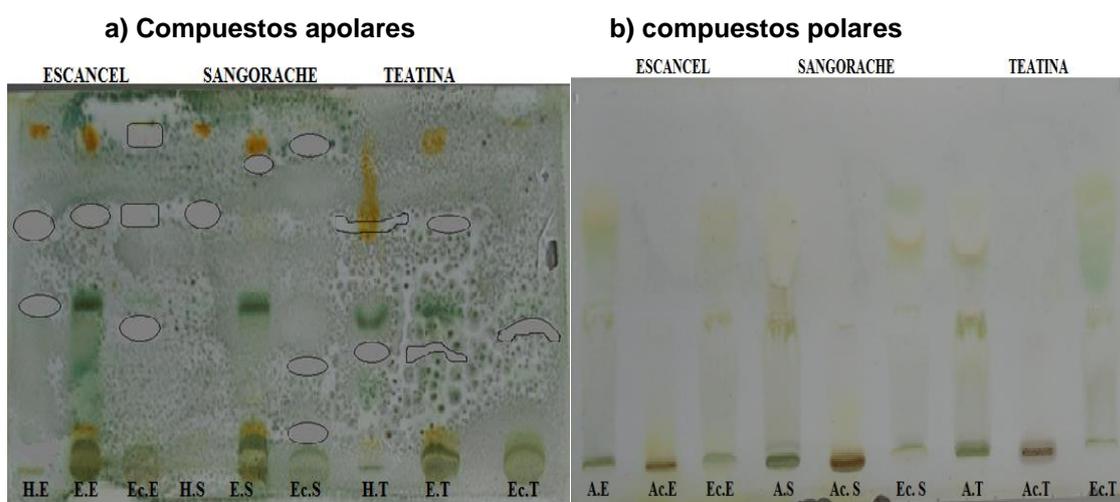
3.8 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE LOS EXTRACTOS DE ESCANCEL (*Aerva sanguinolenta*), TEATINA (*Scoparia dulcis L*), Sangorache (*Amaranthus hybridus L.*) FRENTE A *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus* POR BIOAUTOBIOGRAFÍA.

Teniendo preparada la suspensión de conidios de *Trichoderma sp.*, *Penicillium sp.* y *Aspergillus sp.* en la sorbona se asperjaron en forma de zigzag horizontal y verticalmente hasta que la placa quede totalmente cubierta por la suspensión.

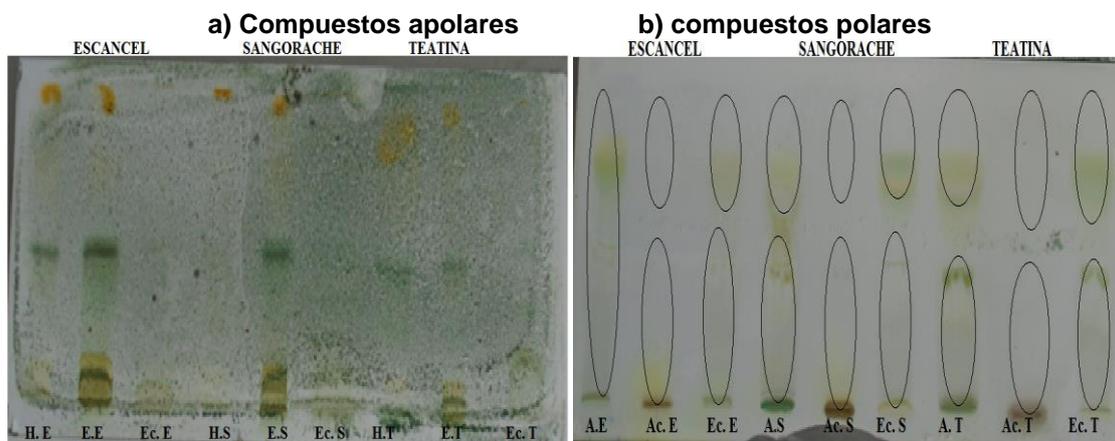
Con un control diario hasta el séptimo día de incubación se evaluó el crecimiento de los hongos en las distintas placas, observando diferencias en el tiempo de crecimiento; al cuarto día la placa en la que se sembró los extractos apolares, de constantes dieléctricas 1,89 (hexánico) y 4,34 (etéreo) incluido los extractos crudos de cada vegetal el género *Trichoderma sp.* creció masivamente y en la placa de compuestos polares hubo crecimiento pobre hasta el séptimo día; al quinto día la placa con los mismos extractos en la que se asperjó el género *Penicillium sp.* marcó claramente halos de inhibición y en los extractos polares presentó ausencia de crecimiento, mientras que en las placas con el género *Aspergillus sp.* al séptimo día se observó crecimiento.

Las fotografías (19-21) corresponden a las placas en las que se aplicó bioautobiografía frente a las tres cepas de hongos empleados en la investigación, están marcadas las zonas en las que se hay ausencia de crecimiento. Estas placas son de silica gel (compuestos polares) y alúmina (compuestos polares) de vidrio, se sembró en el siguiente orden: escancel, sangorache, teatina. Las siglas que se encuentran en la parte inferior de cada fotografía corresponden a los extractos hexánico, etéreos, crudos y alcohólicos, acuosos, crudos de cada vegetal en las placas correspondientes.

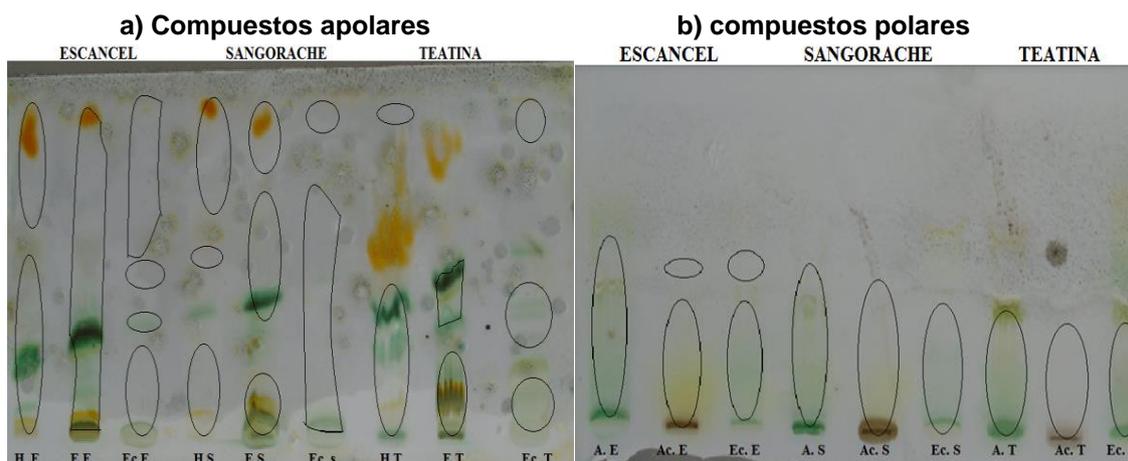
✓ *Penicillium*



FOTOGRAFÍA Nº 19 BIOAUTOBIOGRAFÍA DE LOS EXTRACTOS (APOLARES – POLARES), FRENTE AL GÉNERO *Penicillium*. LAB. DE PRODUCTOS NATURALES Y AMBIENTAL. ESPOCH. 2014

✓ *Trichoderma*

FOTOGRAFÍA Nº 20 BIOAUTOBIOGRAFÍA DE LOS EXTRACTOS (APOLARES – POLARES), FRENTE AL GÉNERO *Trichoderma*. LAB. DE PRODUCTOS NATURALES Y AMBIENTAL. ESPOCH. 2014

✓ *Aspergillus*

FOTOGRAFÍA Nº 21 BIOAUTOBIOGRAFÍA DE LOS EXTRACTOS (APOLARES – POLARES), FRENTE AL GÉNERO *Aspergillus*. LAB. DE PRODUCTOS NATURALES Y AMBIENTAL. ESPOCH. 2014

En la fotografía 21 a) se observan unas zonas más humedecidas que otras, las que al décimo día presentaban contaminación con *Penicillium sp.* Anexo 2.

El análisis se efectuó por duplicado y las placas fueron conservadas hasta el décimo día, identificando contaminación con *Penicillium* la placa asperjada con *Aspergillus*, en el resto no se observó contaminación pero estaban completamente humedecidas. En el caso de las placas en las que se asperjó el género *Penicillium* y *Trichoderma* se hizo una tercera placa, pues como se observó en las fotografías (40 y 42) no hubo crecimiento, obteniéndose el mismo resultado. La bioautobiografía se realizó también en placas de

alúmina de plástico, obteniendo resultados negativos. En las tablas 38-40 se detalla el valor de los Rf de las distintas placas cromatográficas en las que se asperjaron los tres géneros de hongos empleados en la investigación:

TABLA Nº 39 RF Y POSIBLES GRUPOS FUNCIONALES DEL ESCANCEL (*Aerva sanguinolenta*) CON ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA FRENTE A *Trichoderma*, *Penicillium* y *Aspergillus*.

ESCANCEL (<i>Aerva sanguinolenta</i>)				
EXTRACTOS	Rf central	Rf Inferior y superior	Posibles metabolitos que intervienen en la actividad	
<i>Penicillium sp.</i>	Hexánico	0,45 0,67	0,39----- 0,49 0,64----- 0,71	Metabolitos secundarios identificados
	Etéreo	0,70	0,67----- 0,76	Metabolitos secundarios identificados
	Alcohólico	No se observa crecimiento de hongo		
	Acuoso	No se observa crecimiento de hongo		
	Total	0,38 0,71 0,86	0,36----- 0,41 0,67----- 0,77 0,82----- 0,89	Metabolitos secundarios identificados
<i>Trichoderma sp.</i>	Hexánico	No se observa halos de inhibición que presente actividad		
	Etéreo	No se observa halos de inhibición que presente actividad		
	Alcohólico	0,45	0 ----- 0,89	Metabolitos secundarios identificados
	Acuoso	0,21 0,67	0 ----- 0,41 0,49----- 0,87	Metabolitos secundarios identificados
	Total	0,22 0,70	0 ----- 0,44 0,52----- 0,89	Metabolitos secundarios identificados
<i>Aspergillus sp.</i>	Hexánico	0,20 0,70	0 ----- 0,39 0,50----- 0,89	Metabolitos secundarios identificados
	Etéreo	0,45	0 ----- 0,89	Metabolitos secundarios identificados
	Alcohólico	0,22	0 ----- 0,43	Metabolitos secundarios identificados
	Acuoso	0,12 0,37	0 ----- 0,31 0,31----- 0,44	Metabolitos secundarios identificados
	Total	0,12 0,18 0,36 0,57 0,77	0 ----- 0,24 0 ----- 0,31 0,29----- 0,45 0,51----- 0,62 0,63----- 0,89	Metabolitos secundarios identificados

TABLA Nº 40 RF Y POSIBLES GRUPOS FUNCIONALES DEL SANGORACHE (*Amaranthus hybridus* L.) CON ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA FRENTE A *Trichoderma*, *Penicillium* y *Aspergillus*

SANGORACHE (<i>Amaranthus hybridus</i> L.)				
EXTRACTOS	Rf central	Rf Inferior y superior	Posibles metabolitos que intervienen en la actividad	
<i>Penicillium</i> sp.	Hexánico	0,72	0,66----- 0,78	Metabolitos secundarios identificados
	Etéreo	0,77	0,73----- 0,79	Metabolitos secundarios identificados
	Alcohólico	No se observa crecimiento de hongo		
	Acuoso	No se observa crecimiento de hongo		
	Total	0,14 0,37 0,83	0,11----- 0,18 0,34----- 0,39 0,79----- 0,89	Metabolitos secundarios identificados
<i>Trichoderma</i> sp.	Hexánico	No se observa halos de inhibición que presente actividad		
	Etéreo	No se observa halos de inhibición que presente actividad		
	Alcohólico	0,21	0 ----- 0,41	Metabolitos secundarios identificados
	Acuoso	0,21 0,71	0 ----- 0,41 0,52----- 0,89	Metabolitos secundarios identificados
	Total	0,21 0,71	0 ----- 0,41 0,52----- 0,89	Metabolitos secundarios identificados
<i>Aspergillus</i> sp.	Hexánico	0,12 0,51 0,78	0 ----- 0,24 0,47----- 0,56 0,68----- 0,89	Metabolitos secundarios identificados
	Etéreo	0,08 0,52 0,80	0 ----- 0,16 0,40----- 0,64 0,73----- 0,89	Metabolitos secundarios identificados
	Alcohólico	0,19	0 ----- 0,38	Metabolitos secundarios identificados
	Acuoso	0,18	0 ----- 0,34	Metabolitos secundarios identificados
	Total	0,16 0,29 0,83	0 ----- 0,31 0 ----- 0,56 0,77----- 0,89	Metabolitos secundarios identificados

**TABLA Nº 41 RF Y POSIBLES GRUPOS FUNCIONALES DE LA TEATINA
(*Scoparia dulcis* L), CON ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA FRENTE A
Trichoderma, *Penicillium* y *Aspergillus***

TEATINA (<i>Scoparia dulcis</i> L)				
EXTRACTOS	Rf central	Rf Inferior y superior	Posibles metabolitos que intervienen en la actividad	
<i>Penicillium</i> sp.	Hexánico	0,39 0,68	0,36----- 0,42 0,67----- 0,71	Metabolitos secundarios identificados
	Etéreo	0,39 0,64	0,36----- 0,41 0,62----- 0,68	Metabolitos secundarios identificados
	Alcohólico	No se observa crecimiento de hongo		
	Acuoso	No se observa crecimiento de hongo		
	Total	0,36	0,32----- 0,39	Metabolitos secundarios identificados
<i>Trichoderma</i> sp.	Hexánico	No se observa halos de inhibición que presente actividad		
	Etéreo	No se observa halos de inhibición que presente actividad		
	Alcohólico	0,19 0,72	0 ----- 0,35 0,53----- 0,88	Metabolitos secundarios identificados
	Acuoso	0,19 0,72	0 ----- 0,37 0,52----- 0,89	Metabolitos secundarios identificados
	Total	0,19 0,72	0 ----- 0,37 0,53----- 0,89	Metabolitos secundarios identificados
<i>Aspergillus</i> sp.	Hexánico	0,21 0,84	0 ----- 0,42 0,81----- 0,89	Metabolitos secundarios identificados
	Etéreo	0,30 0,42	0 ----- 0,26 0,37----- 0,49	Metabolitos secundarios identificados
	Alcohólico	0,15	0 ----- 0,29	Metabolitos secundarios identificados
	Acuoso	0,13	0 ----- 0,27	Metabolitos secundarios identificados
	Total	0,09 0,13 0,40 0,82	0 ----- 0,17 0 ----- 0,27 0,26----- 0,42 0,78----- 0,89	Metabolitos secundarios identificados

ELABORADO POR: MOYÓN M. 2014

Varios de los Rf calculados en las cromatografías de capa fina (TLC) reveladas con solventes químicos coinciden con los Rf centrales o a su vez están dentro del Rf inferior y superior de los halos de inhibición observados.

En las fracciones del **Escancel** (*Aerva sanguinolenta*) frente a las distintas cepas se observó mayor cantidad de halos inhibidos frente al género *Aspergillus* de manera especial en el extracto crudo; frente al género *Penicillium* hubo ausencia de crecimiento en las fracciones alcohólica y acuosa; mientras que en las fracciones hexánico y etéreo frente al género *Trichoderma* hubo un crecimiento masivo.

De los valores del **Sangorache** (*Amaranthus hybridus L.*) en las fracciones hexánico y etéreo frente a *Trichoderma* se nota crecimiento masivo; en las fracciones alcohólica, acuosa y extracto crudo en cambio no hubo crecimiento de *Penicillium*.

En los extractos y sub- extractos de la **Teatina** (*Scoparia dulcis L*) se nota cierta similitud que los anteriores vegetales, un crecimiento masivo en el hexánico y etéreo frente a *Trichoderma*; ausencia en al alcohólico, acuoso y extracto crudo frente a *Penicillium*; además se observa varios halos de inhibición en el extracto crudo frente a *Aspergillus*.

Con los resultados obtenidos mediante la técnica bioautobiográfica se determina la acción antifúngica de los metabolitos presentes en el extracto alcohólico total, coincidiendo con los resultados del análisis antifúngico por dilución en placa previamente analizado. De igual manera se observaron amplios rangos (halos de inhibición) en las fracciones alcohólica y acuosa que también es similar al análisis de dilución en placa donde hubo crecimiento mínimo y ausencia en varios cuadrantes.

CAPITULO IV

4.- CONCLUSIONES

1. Mediante el control de calidad realizado a la materia prima se concluye que tanto: el **Escancel** (*Aerva sanguinolenta*), **Sangorache** (*Amaranthus hybridus L.*) y **Teatina** (*Scoparia dulcis L.*) cumplen con los valores establecidos por la USP 28: 8-14 % para humedad y 12 % para cenizas.
2. Por medio del tamizaje fitoquímico de los extractos y sub- extractos de distinta polaridad, se identificó en el **Escancel** (*Aerva sanguinolenta*) la presencia de: alcaloides, cumarinas, terpenos, esteroides, saponinas, taninos, fenoles, flavonoides, antocianina. En el **Sangorache** (*Amaranthus hybridus L.*) alcaloides, terpenos, esteroides, saponinas, taninos, fenoles, flavonoides, antocianina. En la **Teatina** (*Scoparia dulcis L.*) triterpenos, alcaloides, cumarinas, saponinas, taninos, fenoles, flavonoides, esteroides.
3. Por medio de la cromatografía de capa fina (TLC) se identificaron manchas coloreadas de las cuales varios Rf fueron repetitivos y por medio del espectro UV- Visible se concluye que corresponde a los metabolitos identificados en el cribado de los tres vegetales.
4. En la determinación antifúngica utilizando la técnica de dilución en placa de los extractos y sub- extractos se determinó mayor actividad en los extractos crudos (totales) del Escancel, Sangorache y Teatina frente a *Penicillium*, *Aspergillus* y *Trichoderma*.

5. Por medio de la aplicación de la bioautobiografía sobre placas cromatográficas se identificaron metabolitos secundarios responsables de la actividad antifúngica mediante la formación de halos de inhibición y ausencia de crecimiento, por lo que se asignó la responsabilidad a los compuestos fenólicos, cumarinas, flavonoides, alcaloides, terpenos presentes en los vegetales estudiados; compuestos que según Gil 2002 poseen actividad antimicrobiana.
6. Se comprobó que existe variabilidad en el tiempo de crecimiento de los hongos a partir de su atomización sobre las placas cromatográficas: el *Trichoderma* al tercer día, el *Penicillium* al quinto día y el *Aspergillus* al séptimo día.
7. De acuerdo a los % de inhibición obtenidos se concluye que, los extractos etanólicos puros ejercen mayor actividad mayoritariamente frente a *Penicillium*.
8. Mediante un % general de Inhibición se comprobó que la Teatina presenta mayor actividad frente a las cepas analizadas, seguido del escancel y finalmente el sangorache.

CAPITULO V

5.- RECOMENDACIONES

1. Se recomienda purificar los metabolitos secundarios (compuestos fenólicos, cumarinas, flavonoides, alcaloides, terpenos, aminos) presentes en los vegetales investigados y determinar el compuesto que presenta mejor actividad antimicrobiana; ya que pueden ser utilizados posteriormente en la elaboración de biofungicidas o incluso como fitomedicamentos.
2. Se puede evaluar la actividad antifúngica del escancel, sangorache y teatina frente a hongos dermatofitos; tomando en consideración que es recomendable la utilización de cepas que posean micelios coloreados y sean de rápido crecimiento, con el fin de evitar contaminaciones.
3. Utilizando extractos y sub- extractos de distinta polaridad de los vegetales empleados en esta investigación o a su vez de plantas de las cuales se conozca posean esta actividad, se recomienda mezclar suspensiones de hongos con la finalidad de determinar frente a cuál de las cepas ejerce actividad el vegetal.
4. Además del PDA hacer uso de otros medios de cultivo (agares y/o caldos) en el método bioautobiográfico.

BIBLIOGRAFÍA

1. **ABRIL, N. y otros.** Espectrofotometría: espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas.
http://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETR%C3%8DA.pdf
20140920
2. **AGUILERA, M., y otros (2011).** Propiedades funcionales de las antocianinas. *Revistas de ciencias biológicas y de la salud*. Vol. 13. Núm. 2. (México), p. 17
3. **ALBERTÓ, E. (2007).** El cultivo de hongos superiores y su aplicación en la taxonomía. *Revista botánica argentina*. Vol. 42. (Argentina). Pp. 201-207
4. **ALVAREZ S. y SIVILA, N. (2013).** Producción artesanal de *Trichoderma*. *Tecnologías agroecológicas para la agricultura familiar*. San Salvados de Jujuy. E- Book. pp17-19
5. **ARANGO, G.** Alcaloides y compuestos nitrogenados.
<http://farmacia.udea.edu.co/~ff/alcaloides.pdf>
20140922
6. **ARANGO, G.** Compuestos derivados del ácido shikimico.
<http://farmacia.udea.edu.co/~ff/shikimico.pdf>
20140922
7. **ARIAS, E. y PIÑEROS, P. (2008).** Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestras de suelo de los páramos de Guasca y Cruz Verde. (Tesis) (Micro. Ind.). Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Carrera de microbiología industrial. Bogotá. p. 136-145
8. **ASIF, L. y otros. (2012).** Hepatoprotective activity of ethanolic extract of *Aerva sanguinolenta* (Amaranthaceae) against paracetamol induced liver toxicity on

- Wistar Rats. Revista NSHM Journal of Pharmacy and Healthcare Management. Vol. 03. Núm. 1 (India). pp. 57-65.
2014-09-12
9. **ASIF, L., y otros. (2012)** Evaluation of Anticancer activity of *Aerva Sanguinolenta* (L.) (Amaranthaceae) on Ehrlich's Ascites cell induced Swiss Mice. International journal of drug development and research. Vol. 4. Núm. 5. (India). Pp. 203- 209
10. **ATLAS DE LAS PLANTAS DE LA MEDICINA TRADICIONAL MEXICANA.**
<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7438>
20140917
11. **BELLANTI, J. y otros. (2008).** Alergia, enfermedad multisistémica Fundamentos básicos y clínicos. México. Editorial médica panamericana. p. 90
12. **BENITEZ, E. (2003).** Estudio de especies micotoxígenas del genero *Penicillium: Penicillium verrucosum* Dierckx. (Tesis) (Dr. Vet.). Universidad autónoma de Barcelona. Facultad de veterinaria. Barcelona- España. pp.23-29
13. **BUSTAMANTE, J. y CARRASCAL, L. (2010).** Estandarización de la técnica espectrofotométrica (UV- vis) para la cuantificación de antraquinonas presentes en productos a base de *Aloe vera*. (Tesis) (Tlgo. Quim.). Universidad tecnológica de Pereira. Facultad de tecnología. Escuela de química. Pereira. pp. 33-36
14. **CAPUZ, R. (2009).** Identificación de microorganismos antagonistas de fitopatógenos del suelo y su efecto In vitro e invernadero en especies hortícolas. (Tesis) (Ing. Agr.). Universidad de Guayaquil. Facultad de ciencias agrarias. Escuela de agronomía. Guayaquil- Ecuador. pp. 9-12

15. **CARVAJAL, L. y otros. (2011).** Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de Cupatá (*Strychnos schultesiana krukoff*). Revista colombiana forestal. Vol. 12. Núm. 1. (Colombia). p. 166

16. **CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA**
<http://biblioteca.uns.edu.pe/saladocentes/archivoz/curzoz/cromatograf%EDa.pdf>
20140919

17. **DAS A., y otros. (2011).** Antidiabetic activity of ethno medicinal plant *Scoparia dulcis* L. (family: Scrophulariaceae): a review. Assam University journal of Science and technology: biological and environmental sciences. Vol. 7. Núm. 1. (India). Pp. 173-180.

18. **DEVANEY, E.** Ventajas y desventajas del *Aspergillus niger*.
http://www.ehowenespanol.com/ventajas-desventajas-del-aspergillus-niger-lista_103103/
20140919

19. **DOMÍNGUEZ, R. y otros. (2013).** Aislamiento y purificación del hongo ectomicorrizico *Helvella lacunosa* en diferentes medios de cultivo. Tropical and subtropical agroecosystems. Vol. 16. Núm. 1. (México). pp.51-59

20. **ENDARA, M. (2009).** Reproducción del hongo *Trichoderma harzianum* (biofungicida) aprovechando desechos agroindustriales (residuos de papa, tamo de frejol, bagazo de caña. (Tesis) (Ing. Agroind.). Universidad Técnica del Norte, Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales. Escuela de agronomía. Ibarra. pp. 17-21.

21. **ESCAMILLA, C. y CUEVAS, E. (2009).** Flavonoides y sus acciones antioxidantes. Revista mediagraphic artemisa. Vol. 52. Núm.2. Colombia. p. 73

22. **ESTEBAN, J.** Hierbas para los hongos
<http://remedios.innatia.com/c-remedios-hongos/a-hierbas-para-los-hongos.html>
20140920
23. **FAJARDO, S. y CRIOLLO, P. (2013).** Elaboración de galletas de amaranto y determinación de su valor nutricional. Tesis (Ing. Alimentos). Universidad de Cuenca. Facultad de ciencias. Escuela de ingeniería en alimentos. Cuenca. pp. 81-102
24. **GARCIA, C. y MARTINEZ, I. (2007).** Manual de fitoterapia. España. Barcelona. Gráficas Muriel. pp. 100-115
25. **GARCIA, M. (2008).** Extracción y determinación de propiedades de saponinas obtenidas a partir del fruto de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb (“parota”). (Tesis) (Biog.). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Biología. México. pp. 23- 25
26. **GARCIA, M. y BLANCO, J. (2000).** Principales enfermedades antifúngicas que afectan a los animales domésticos. Revista iberoamericana de micología. Vol. 17. Núm. 2. (España). pp. 3-7
27. **GARZON, G. (2008).** Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos. Revista colombiana biológica. Vol. 13. Núm. 3. (Colombia). pp. 28-31
28. **GIL, P. (2002).** Productos naturales. España. Universidad pública de Navarra. Pp. 108-117
29. **GOMEZ, A. (2013).** Selección de un proceso de transformación para la disminución de compuestos antinutricionales en el grano y hojas de Amaranto (*Amaranthus caudatus* L.) y sangorache (*Amaranthus hybridus* L.). (Tesis) (Ing. Q.A.I.). Escuela Politécnica Nacional. Facultad de ingeniería y agro industria. Quito. pp. 58-90

30. **GUILCAPI E. (2009).** Efecto del *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*, en la producción de plantas de café (*Coffea arábica*) variedad caturra a nivel de vivero. (Tesis) (Ing. Agr.). ESPOCH, Facultad de Recursos naturales. Riobamba. pp. 33-35
31. **HOWANS, A. y otros. (1970).** Direct bioautography on thin layer chromatograms as a method for detecting fungyotoxic substances. España. pp. 327-329
32. **JATIVA, C. (2000).** Texto básico de fitoquímica. Ecuador. S.E. PP.19-21
33. **LINK.** *Penicillium* sp.
<http://www.fba.org.ar/panel-gestion/InformeResultado/MI/mi31.pdf>
20141005
34. **LIZCANO, M. (2007).** Evaluación de la actividad anti fúngica del extracto del tomillo contra *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* y *Sclerotinia sclerotiorum*. Tesis (Micr. Agr. y vet.). Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá. pp.35-37.
35. **LOCK, O. (1994).** Investigación Fitoquímica. 2^{da} ed. Perú. Fondo editorial. p. 114
36. **LOPEZ, M. (2002).** Flavonoides. Revista *Ámbito farmacéutico: Fitoterapia*. Vol. 21. Núm. 4. (Colombia). pp. 108-110
37. **LOPEZ, M. (2001).** Saponósidos. (Revista *Ámbito farmacéutico: Fitoterapia*. Vol. 19. Núm. 4. (Colombia). pp. 124-126
38. **LORENZO, M. y otros. (2006).** Detección por cromatografía de capa fina (CCF) de metabolitos antifúngicos producidos de *Pseudomonas aeruginosa* cepa PSS. *Reoalyc.org*. Vol. XL. Núm. 1. (Cuba). pp. 28-29

39. **LUCENA, P. (2011).** Significación clínica del aislamiento de *Aspergillus sp.* en secreciones respiratorias del paciente con enfermedad pulmonar estructural. (Tesis) (Dr.). Universidad Complutense de Madrid. Facultad de medicina. España. pp. 17-29
40. **LURÁ, M. y otros. (2009).** Introducción al estudio de la micología. Italia. S. ed. pp. 34-56
41. **MARTINEZ, A. y VALENCIA, G. (2008).** Manual de prácticas de laboratorio de farmacognosia y Fitoquímica. Colombia. Medellín. p. 76
42. **MASUMA, S. y LAZUMA, N. (2011).** In vitro antibacterial, antifungal and cytotoxic activity of *Scoparia Dulcis L.* International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. Vol.3. Núm. 1. (España). pp. 57-68
43. **MENDEZ, L.** La importancia de las zoonosis por hongos en las micosis humanas.
<http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/micologia/zoonosis.html>
20140922
44. **MIGUÉLEZ, S. y otros. (2003).** Infección conjuntival por *Penicillium sp.* Archivos de la sociedad española de oftalmología. Vol. 78. Núm.1. (España). pp. 12-17
45. **MIRANDA, M. (2000).** Farmacognosia y Productos naturales. Cuba. Habana. S.E. pp. 40-60.
46. **MORENO, S y otros. (2011).** Efecto antifúngico de los extractos de gobernadora (*Larrea tridentata L.*) sobre la inhibición *in vitro* de *Aspergillus flavus* y *Penicillium sp.* Polibotánica. Vol. 1. Núm. 32. (Mexico). pp. 193-205
47. **MSP, INS. (2010).** Identificación de principales hongos filamentoso. Manual de procedimientos y técnicas de laboratorio para la identificación de los

- principales hongos oportunistas causantes de micosis humanas. Vol. 16. Núm.9-10. (Perú). p. 471
48. **MURTI, K. y otros. (2012).** Propiedades farmacológicas de *Scoparia Dulcis*. *Pharmacología a Science Magazine*. Vol. 3. Núm. 8. (Mexico). pp.87-90
49. **OCHOA, J. y otros. (2007).** Aislamiento e identificación de hongos patógenos de naranja citrus sinensis L. Osbeck cultivada en Baja California Sur, México. *Ciencia y tecnología alimentaria*. Vol. 5. Num. 5. (Mexico). pp.352-359
50. **PARI L. y LATHA M. (2004).** Effect of an aqueous extract of *Scoparia dulcis* on blood glucose, plasma insulin and some polyol pathway enzymes in experimental rat diabetes. *Brazilian journal of medical and biological research*. Vól. 37. Núm. 1. (Brasil). pp. 577-586
51. **PERALTA, E. y otros. (2008).** Descripción botánica. El ataco, Sangorache o Amaranto negro (*Amaranthus hybridus* L.) en el Ecuador. Ecuador. Quito. Tecnigrava. Pp. 9-20
52. **PRADA, L. y VEGA, P. (2008).** Caracterización y evaluación de actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de hongos de la familia *tricholomataceae* frente a agentes causales de dermatomicosis en animales. (Tesis) (Micr. Indus.). Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Colombia. pp. 61-62.
53. **PRINCIPALES ENFERMEDADES DE NUESTRO TIEMPO**
<http://www.juntadeandalucia.es/averroes/~29701428/salud/micosis.htm>
20140918
54. **PRODUCCIÓN Y UTILIZACIÓN DE TRICHODERMA SPP.**
http://educacion.ucv.cl/prontus_formacion/site/artic/20070710/asocfile/ASOCFI LE120070710123449.PDF
20140918

55. PROPIEDADES MEDICINALES DEL *AMARANTHUS HIBRIDUS L.*

http://www.botanical-online.com/amaranto_propiedades.htm

20140916

56. **SANCHEZ, A. y otros (2008).** Uso potencial del rastrojo de tomate como sustrato para el cultivo de *Pleurotus spp.* Revista mexicana de micología. Vol. 28. Núm. 2 (Mexico). pp. 12-18

57. **SANCHEZ, M. (2010).** Comprobación de la actividad tintorera en fibras orgánicas y sintéticas de la *Berberis hallii*. (Tesis) (B.Q.F.). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba. pp. 25-27

58. **SANCHEZ, V. (2008).** Aislamiento y caracterización de *Trichoderma spp.* De diferentes ecosistemas en la región de Papaloapan. Revista Proyecto Promep UNPA. Vól. 1. Num. 1. (México). p. 1

59. SANGORACHE

http://www.terapianeuralecuador.com.ec/index.php?option=com_content&view=article&id=234:plantas-iles-del-ecuador-una-aproximaci-a-sus-usos&catid=62:omar-wladimir-vacas-cruz

20140916

60. **SRINIVAS, R. (2011).** Diuretic and anti- inflammatory activity of aqueous extract of *Aerva sanguinolenta (L.)*. International research journal of pharmacy. Vol. 7. Núm. 1. (India). pp. 65-67.

61. TANINOS

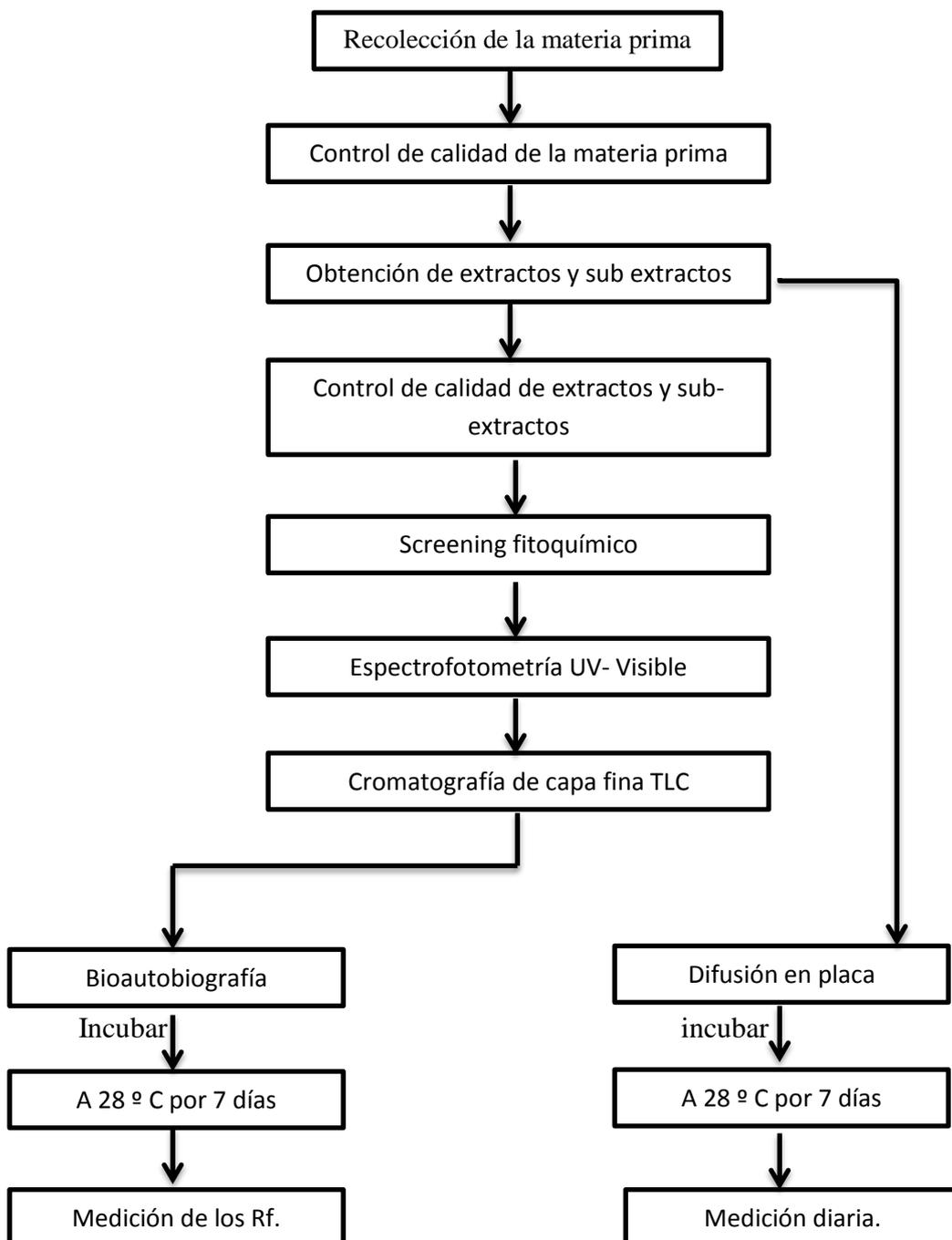
http://www.agro.unlpam.edu.ar/catedras-pdf/sustancias_fenolicas.pdf

20140922

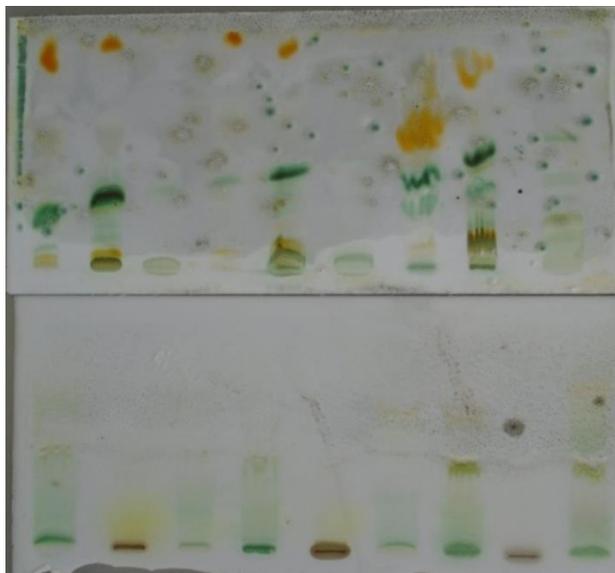
62. **TRUJILLO, S. y MADRIGAL, B. (2005).** Discancer grande. Plantas antimaláricas de Tumaco Costa Pacífica colombiana. Colombia. Universidad de Antioquia. pp.8-17
63. **VANACLOCHA, B. y CAÑIGUERAL, S. (2003).** Fitoterapia. 4 ed. España. Barcelona. Gráficas 92 S.A. pp. 70-87
64. **VELASTEGUI, M. (1995).** Análisis del efecto anti fúngico de 20 extractos de plantas. (Tesis) (maestro de ciencias). Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas. México. pp. 1-2.
65. **ZULFIKER A. y otros. (2010).** In vivo analgesic activity of ethanolic extracts of two medicinal plants- *Scoparia dulcis* L. and *Ficus racemosa* Linn. *Biology and medicine*. Vol. 2. Num.2. (Alemania). pp. 42-48

ANEXOS

ANEXO N° 1 DIAGRAMA DE LA METODOLOGÍA EMPLEADA EN LA INVESTIGACIÓN. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. JULIO. 2014

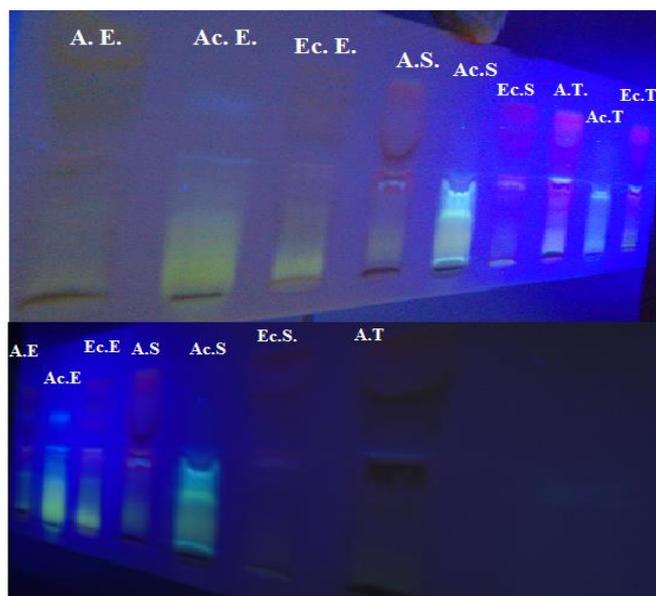


ANEXO Nº 2 BIOAUTOBIOGRAFÍA DE LOS EXTRACTOS APOLARES, DE CONSTANTES DIELECTRICA 1,89 (HEXÁNICO) Y 4,34 (ETÉREO), FRENTE AL GÉNERO *ASPERGILLUS*. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. JULIO. 2014



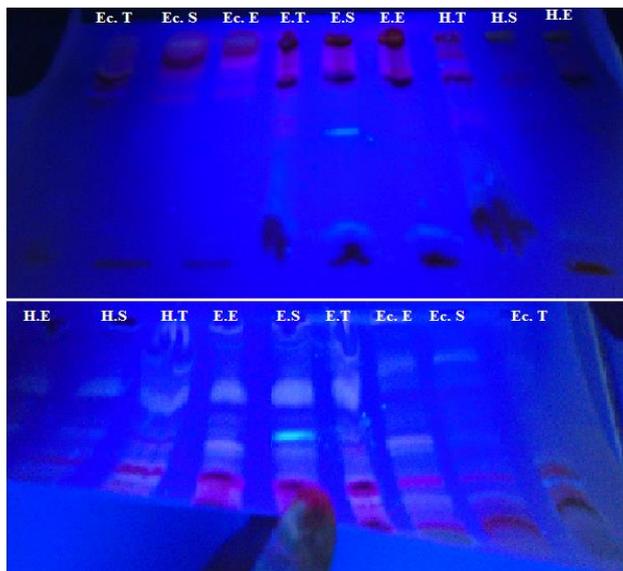
La fotografía corresponde a las placas de silica gel y alúmina de vidrio inoculadas con el género *Aspergillus*, en donde se observó contaminación (fracciones apolares) con *Penicillium* al décimo día.

ANEXO Nº 3 CROMATOGRAFÍA DE LOS EXTRACTOS POLARES, DE CONSTANTE DIELECTRICA 24,3 (ALCOHÓLICO) Y 78,3 (ACUOSO) SOBRE ALÚMINA DE VIDRIO, REVELADO CON SULFATO DE SERIO (H₂SO₄), VISTO EN LA LÁMPARA UV- VISIBLE. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. JULIO. 2014



VEGETAL	FRACCIÓN	TONALIDADES
Escancel	Alcohólico	Amarillo intenso Verde fluorescente Rosado fluorescente
	Acuoso	Verde fluorescente Celeste tenue 2 bandas azules
	Extracto total	Amarrillo fluorescente Verde tenue Rosado fluorescente Fina linea naranja Celeste
Sangorache	Alcohólico	Amarillo verdoso Rosado fluorescente con centro verde intenso Linea fina negra Linea fina naranja Rosado fluorescente con centro negro Rosado fluorescente
	Acuoso	Celeste tenue Marrón Amarillo verdoso Azul tenue
	Extracto total	Rosado fluorescente con centro amarillo tenue 2 fracciones Rosadas fluorescente
Teatina	Alcohólico	Negra Verde Amarillo verdoso Azul intenso Rosado fluorescente Verde fluorescente
	Acuoso	Verde tenue Verde fluorescente
	Extracto total	Verde tenue Amarrillo verdoso Rosado fluorescente Verde fluorescente

ANEXO N° 4 CROMATOGRAFÍA DE LOS EXTRACTOS APOLARES, DE CONSTANTES DIELECTRICA 1,89 (HEXÁNICO) Y 4,34 (ETÉREO), INCLUIDO EL EXTRACTO ALCOHÓLICO TOTAL, SOBRE SILICA GEL, REVELADO CON SULFATO DE CERIO (H₂SO₄) VISTO EN LA LÁMPARA UV- VISIBLE. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. JULIO. 2014

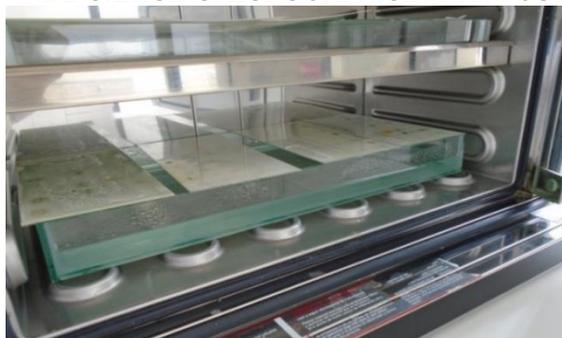


VEGETAL	FRACCIÓN	TONALIDADES
Escancel	Hexánico	Franja negra
	Etéreo	Rosado fluorescente Línea negra Rosado pálido Verde tenue
	Extracto total	Varias líneas rosadas fluorescentes Rosado pálido Verde tenue
Sangorache	Hexánico	Línea rosada fluorescente Amarillo verdoso Negro
	Etéreo	Rosada fluorescente Negra rodeada de línea fina rosada fluorescente Rosado pálido Línea fina verde fluorescente Amarillo verdoso
	Extracto total	Franja rosada fluorescente con centro negro Rosadas fluorescentes Verdes muy tenues

Sangorache	Hexánico	Rosada Amarillo verdoso Rosado fluorescente con centro negro
	Etéreo	Rosada Rosado fluorescente con centro negro Línea fina rosada pálida
	Extracto total	Negra Rosada fluorescente Línea fina azul intensa

FUENTE: MOYON M. 2014

ANEXO Nº 5 ACONDICIONAMIENTO DE PLACAS CROMATOGRÁFICAS INOCULADAS CON *Aspergillus*, *Trichoderma* y *Penicillium*. LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. JULIO. 2014



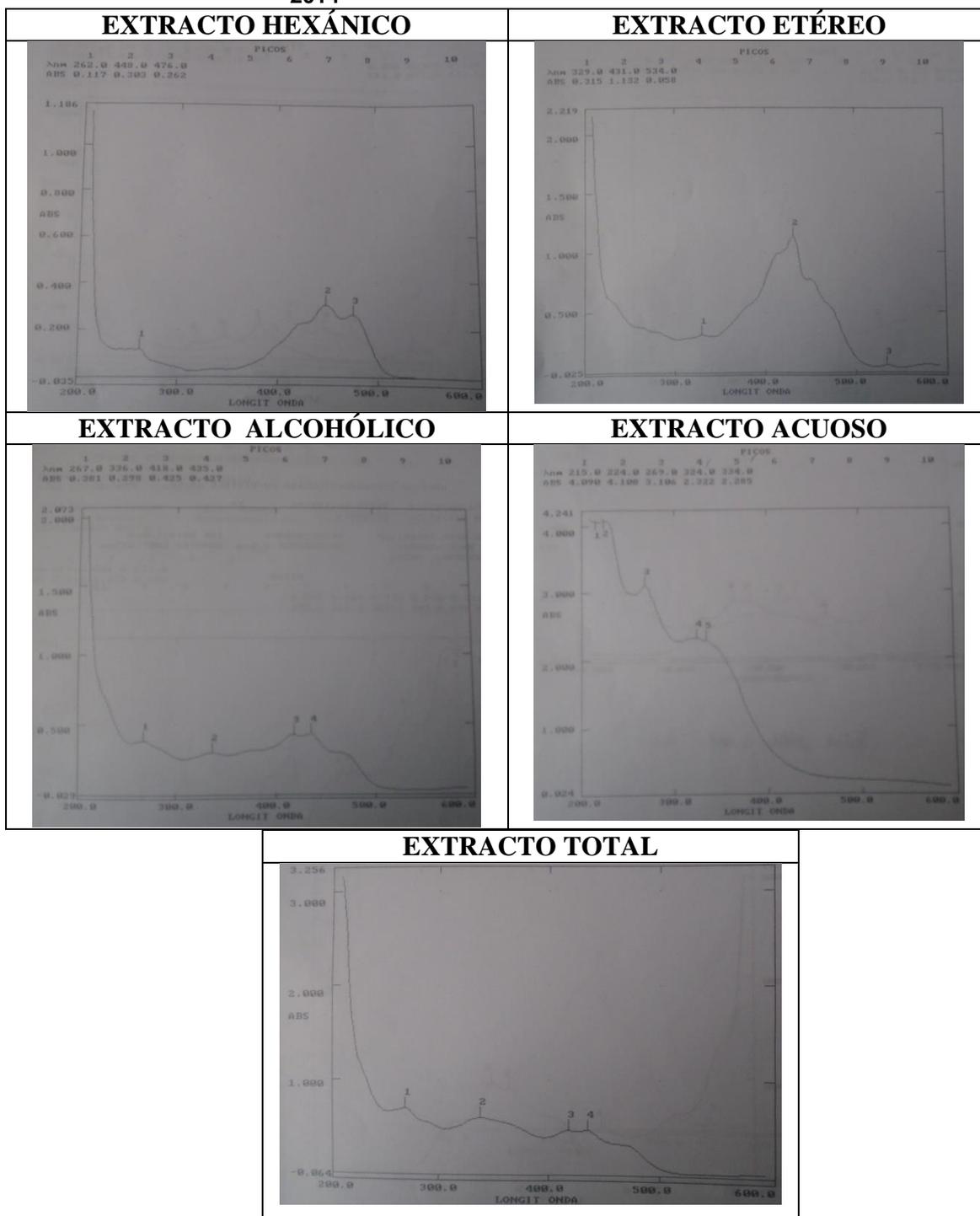
Las placas en las cuales se aplicó la técnica de bioautobiografía se incubaron a 28 ° C durante siete días tomando en cuenta las condiciones necesarias (cámara húmeda), para lo cual se empleó bandejas de vidrio con agua.

ANEXO Nº 6 BIOAUTOBIOGRAFÍA DE LOS EXTRACTOS APOLARES Y POLARES SOBRE PLACAS DE ALÚMINA DE VIDRIO. LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. JULIO. 2014

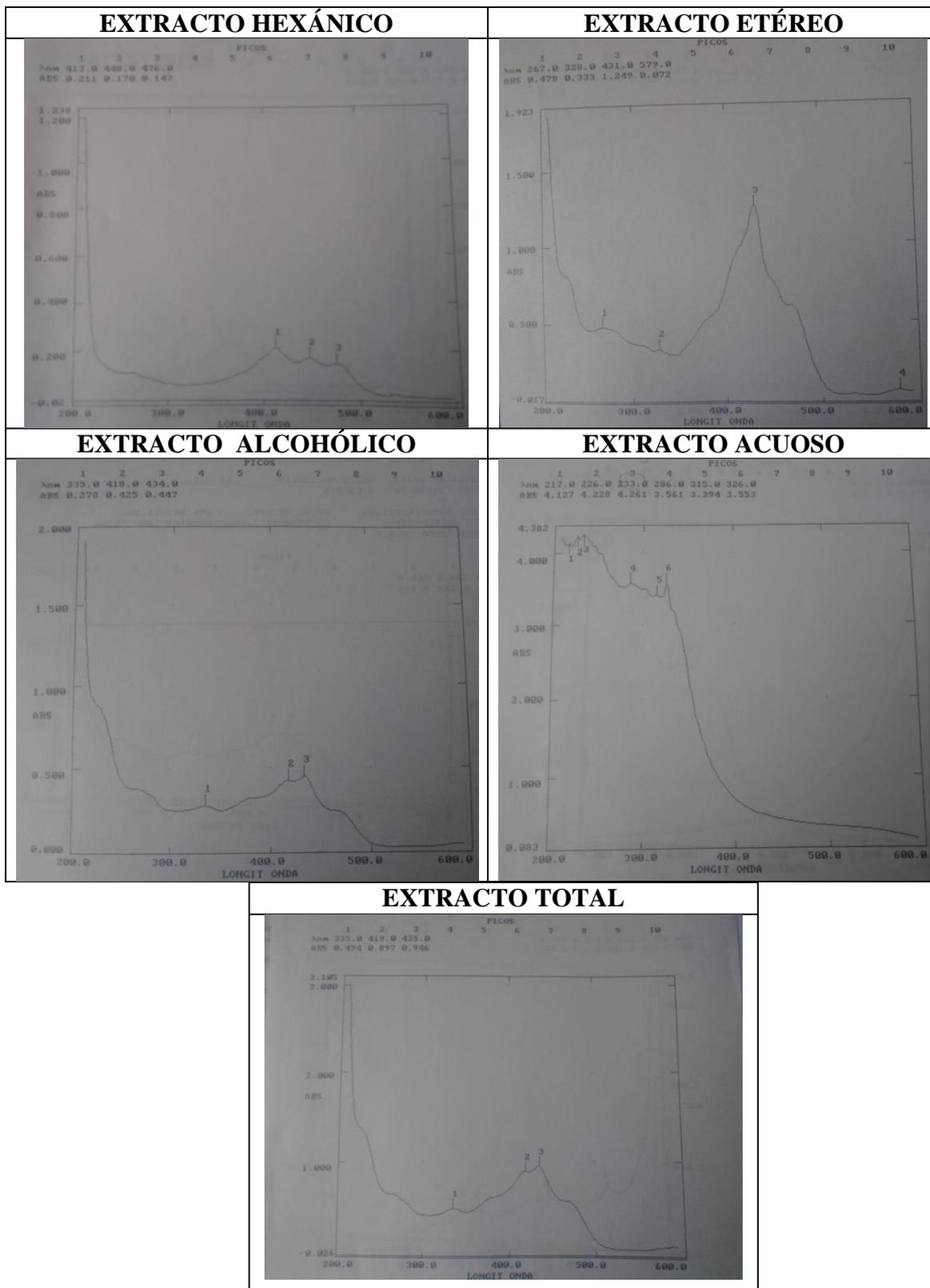


Son placas correspondientes al decimo día de ser asperjadas con las cepas de *Trichoderma* y *Penicillium* y no se obtuvieron resultados positivos, tomando en cuenta que todas las placas fueron incubadas bajo las mismas condiciones.

**ANEXO N° 7 ESPECTRO UV- VISIBLE DE LOS EXTRACTOS DEL ESCANCEL
(*A. sanguinolenta*). LABORATORIO DE INSTRUMENTAL.
FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. JULIO.
2014**



ANEXO Nº 8 ESPECTRO UV- VISIBLE DE LOS EXTRACTOS DEL SANGORACHE (*A. hybridus* L.). LABORATORIO DE INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. JULIO. 2014



ANEXO Nº 9 ESPECTRO UV- VISIBLE DE LOS EXTRACTOS DE LA TEATINA (S. *dulcis L.*). LABORATORIO DE INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. JULIO. 2014

