



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO



DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BÁSICAS

Estudio comparativo entre dos métodos de extracción para la cuantificación de flavonoides y polifenoles totales en partes aéreas de *S. nigra* L.

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE:

LICENCIADA EN QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

FRANCISCA KRISTEL DOMINGUEZ REYES

ESTUDIANTE DE LA LICENCIATURA QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

BAJO LA DIRECCIÓN:

DR. ABRAHAM GÓMEZ RIVERA

EN CO-DIRECCIÓN DE:

M.C. VERÓNICA DEL CARMEN DÍAZ OLIVA

CUNDUACÁN, TABASCO, A ABRIL DE 2025

Declaración de Autoría y Originalidad

En la Ciudad de Cunduacán, el día 11 del mes de abril del año 2025, el que suscribe **Francisca Kristel Domínguez Reyes** alumna(o) del Programa de Lic. Químico Farmacéutico Biólogo con número de matrícula **192A20053**, adscrito a la **División Académica de Ciencias Básicas**, de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, como autor(a) de la Tesis presentada para la obtención del título como Licenciada en Químico Farmacéutico Biólogo y titulada "**Estudio comparativo entre dos métodos de extracción para la cuantificación de flavonoides y polifenoles totales en partes aéreas de *S. nigra* L.**" dirigida por el **Dr. Abraham Gómez Rivera** y codirigida por la **M.C. Verónica del Carmen Díaz Oliva**.

DECLARO QUE:

La Tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la LEY FEDERAL DEL DERECHO DE AUTOR (Decreto por el que se reforman y adicionan diversas disposiciones de la Ley Federal del Derecho de Autor del 01 de Julio de 2020 regularizando y aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita. Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad o contenido de la Tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

Cunduacán, Tabasco a 11 de abril de 2025.



C. Francisca Kristel Domínguez Reyes

Nombre y Firma

DIRECCIÓN

Cunduacán, Tabasco; a 07 de abril de 2025.

C. FRANCISCA KRISTEL DOMÍNGUEZ REYES
PASANTE DE LA LIC. EN QUÍMICO
FARMACÉUTICO BIÓLOGO
PRESENTE

Por medio del presente, me dirijo a usted para hacer de su conocimiento que proceda a la impresión del trabajo titulado: **"ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE DOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES Y POLIFENOLES TOTALES EN PARTES AÉREAS DE *S. nigra* L."** dirigido por el Dr. Abraham Gómez Rivera con la codirección de la Dra. Verónica del Carmen Díaz Oliva, bajo la modalidad de titulación por **TESIS**. La comisión de revisión conformada por el Dr. Ever Arquímedes Blé González, Dr. Carlos Ernesto Lobato García, Dr. Abraham Gómez Rivera, Dr. Ricardo López Rodríguez y Dra. María Antonia Lunagómez Rocha, liberó el documento en virtud de que reúne los requisitos para el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente.

Sin otro particular, reciba usted un cordial saludo.

ATENTAMENTE





DRA. HERMICENDA PÉREZ VIDAL
DIRECTORA

C.c.p. Archivo.

DIR: DRA,HPV/kdvjg

Km.1 Carretera Cunduacán-Jalpa de Méndez, A.P. 24, C.P. 86690, Cunduacán, Tab., México.
Tel/Fax: (993) 3581500 Ext. 6702,6701 E-Mail: direccion.dacb@ujat.mx

www.ujat.mx

Carta de Cesión de Derechos

Villahermosa, Tabasco a 11 de abril de 2025.

- Por medio de la presente manifestamos haber colaborado como AUTOR(A) en la producción, creación y/o realización de la obra denominada **"Estudio comparativo entre dos métodos de extracción para la cuantificación de flavonoides y polifenoles totales en partes aéreas de *S. nigra* L."**

Con fundamento en el artículo 83 de la Ley Federal del Derecho de Autor y toda vez que, la creación y/o realización de la obra antes mencionada se realizó bajo la comisión de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; entendemos y aceptamos el alcance del artículo en mención, de que tenemos el derecho al reconocimiento como autores de la obra, y la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco mantendrá en un 100% la titularidad de los derechos patrimoniales por un periodo de 20 años sobre la obra en la que colaboramos, por lo anterior, cedemos el derecho patrimonial exclusivo en favor de la Universidad.

COLABORADORES



Francisca Kristel Domínguez Reyes

Egresada de la Lic. En Químico Farmacéutico Biólogo



Dr. Abraham Gómez Rivera

DIRECTOR



M.C. Verónica del Carmen Díaz Oliva

CODIRECTOR(A)



Dr. Ricardo López Rodríguez

TESTIGOS



Q.F.B. Santiago Santos Vázquez

LICENCIATURA - ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE DOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES Y POLIFENOLES TOTALES EN PARTES AÉREAS DE *S. nigra* L.

INFORME DE ORIGINALIDAD

14%

ÍNDICE DE SIMILITUD

FUENTES PRIMARIAS

1	baixardoc.com Internet	309 palabras — 3%
2	www.researchgate.net Internet	153 palabras — 2%
3	www.eumed.net Internet	83 palabras — 1%
4	hdl.handle.net Internet	73 palabras — 1%
5	www.scielo.org.pe Internet	66 palabras — 1%
6	docplayer.es Internet	64 palabras — 1%
7	www.cio.mx Internet	64 palabras — 1%
8	eprints.uanl.mx Internet	41 palabras — 1%
9	dspace.ucuenca.edu.ec Internet	36 palabras — < 1%



DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS BÁSICAS
ESTUDIOS
TERMINALES

Dedicatoria (opcional):

A Dios, por darme la sabiduría de comenzar y concluir esta etapa de mi vida. A mi padre por creer en mí siempre, por su confianza y apoyo en cada momento, por siempre dar lo máximo y darme la oportunidad de perseguir mis sueños con determinación. A mi madre por su amor incondicional, por sus ánimos en cada paso que di y enseñarme a nunca rendirme. A mi hermana Mari por ser mi fuerza en los momentos difíciles, por sus ánimos y sus abrazos. A mis hermanitos por sacarme una sonrisa en los días más estresantes.

A mis amigos, por su compañía, motivación, por hacer que los momentos más difíciles fueran más llevaderos con cada una de sus ocurrencias y por ser las curitas de mi corazón. A mis profesores, que contribuyeron a este logro con su apoyo, su sabiduría y sobretodo su paciencia.

Esta tesis es reflejo de la confianza y el esfuerzo que tuvieron en mí, y se las dedico con todo mi corazón.

Agradecimientos:

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que han sido fundamentales en la realización de esta tesis, en mi formación académica y personal.

En primer lugar, agradezco a mi director de tesis, el Dr. Abraham Gómez Rivera, por confiar plenamente en mí, por su orientación, sus constantes enseñanzas, por siempre ofrecerme su apoyo y sugerencias, las cuales me han permitido superar los retos de este proyecto. Su orientación, su paciencia y sus conocimientos fueron esenciales para la realización de este proyecto.

Agradezco al Dr. Ricardo López Rodríguez, al Dr. Eric Jaziel Medrano Sánchez, a la Dra. Ammy Johana Gallegos García, al LQFB Santiago Santos Vázquez y al LQ Cristian Octavio Barredo Hernández, por sus enseñanzas, sus críticas constructivas, por aconsejarme y guiarme en cada paso de este proyecto, sobre todo por fomentar un ambiente de aprendizaje tan enriquecedor y crear buenos momentos. A la División Académica de Ciencias Básicas de la UJAT por brindarme el espacio para llevar a cabo este proyecto.

A mi familia, por su amor incondicional, su apoyo emocional y por brindarme siempre el respaldo necesario para continuar, incluso en los momentos más difíciles, especialmente agradezco a mi padre por impulsarme a seguir mis sueños, sin su apoyo incondicional y motivacional, este logro no hubiera sido posible.

A mis amigos y a mi novio, por comprenderme y acompañarme durante este proceso, por estar dispuestos a escucharme, abrazarme y darme ánimo en aquellos días cuando más lo necesitaba, gracias a ellos mi caminar por la universidad fue placentero.

Agradezco a los profesores, asesores y a todas las personas que contribuyeron a mi crecimiento académico y personal.

Finalmente, me agradezco por no rendirme, por sacar las fuerzas para continuar este proyecto, por tomar los consejos y luchar por mis sueños. Este trabajo es el resultado de la colaboración y el esfuerzo en conjunto de todos.

¡Gracias de corazón, los quiero!

ÍNDICE DE CONTENIDO

1. RESUMEN	1
2. ABSTRACT	1
3. INTRODUCCIÓN	3
4. MARCO TEÓRICO	5
4.1. Generalidades de <i>Sambucus nigra</i> L.	5
4.1.1 Hábitat	5
4.1.2. Características morfológicas	5
4.1.3. Taxonomía de <i>Sambucus nigra</i> L.	6
4.1.4. Usos en la medicina tradicional.....	7
4.2. Métodos para la obtención de extractos	8
4.2.1. Extracción por maceración.	8
4.2.2. Extracción por ultrasonido.....	9
4.3. Cromatografía en capa fina para la identificación de metabolitos secundarios.....	10
4.4. Importancia de los compuestos fenólicos.	12
4.4.1. Ácidos fenólicos.....	12
4.4.2. Flavonoides.	13
4.5. Cuantificación de flavonoides totales por el método de Zhu <i>et al.</i> , 2010.	14
4.6. Cuantificación de polifenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu.....	15
5. JUSTIFICACIÓN.....	16
6. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	17
7. HIPÓTESIS.....	17
8. OBJETIVO GENERAL.....	17
9. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
10. METODOLOGÍA.....	18
10.1. Colecta del material vegetal.....	19
10.2. Secado y molienda del material vegetal.	19
10.3. Obtención de los extractos hidroalcohólicos.	19
10.3.1. Extracción por maceración.	20
10.3.2. Extracción por ultrasonido.....	21
10.4. Cromatografía en capa fina.....	22

10.5. Cuantificación de flavonoides totales.....	22
10.6. Cuantificación de polifenoles totales.....	23
10.7. Análisis estadístico	24
11. RESULTADOS	25
11.1. Obtención de los extractos de <i>Sambucus nigra</i> L.....	25
11.2. Análisis de los extractos por Cromatografía en Capa Fina (CCF)	26
11.3. Determinación de flavonoides totales.....	28
11.4. Cuantificación de polifenoles totales.....	30
12. DISCUSIÓN.	33
12.1. Porcentaje de rendimiento.....	33
12.2. Análisis de los extractos por Cromatografía en capa fina (CCF).	33
12.3. Cuantificación de flavonoides totales.....	33
12.4. Cuantificación de polifenoles totales.....	34
13. CONCLUSIÓN	35
14. GLOSARIO	36
15. REFERENCIAS CITADAS	37
16. Anexos.....	44
16.1 Participación del 5to. Congreso Internacional de Química, Sustentabilidad Energética y Ambiental Dr. Mario Molina Henríquez.....	44
Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Digital.....	45

ÍNDICE DE TABLAS:

Tabla 1. Taxonomía de <i>S. nigra</i> L. (CONABIO, 2009).....	6
Tabla 2. Composición de las mezclas extractantes para cada método de extracción.	20

ÍNDICE DE FIGURAS:

Figura 1. Ejemplo de compuestos bioactivos presentes en <i>S. nigra</i> L. a) rutina, b) ácido clorogénico, c) quercetina y d) kaempferol. Elaboración propia usando ChemDraw® pro 8.....	4
Figura 2. Partes aéreas de <i>Sambucus nigra</i> L., a) morfología de las flores de <i>S. nigra</i> L., b) hojas de <i>S. nigra</i> L. Imágenes propias.	6
Figura 3. Esquema para la obtención del F_R de componentes químicos. Elaboración propia.	12
Figura 4. Ejemplos de ácidos hidroxibenzóicos y ácidos hidroxicinámicos. Elaboración propia usando ChemDraw® pro 8.	13
Figura 5. Estructura general de los flavonoides. Elaboración propia usando ChemDraw® pro 8.....	14
Figura 6. Mecanismo de reacción de la cuantificación de flavonoides totales, adaptado de Zhu et al., 2010, utilizando ChemDraw® pro 8.....	14
Figura 7. Mecanismo de reacción de la cuantificación de polifenoles totales por el método Folin-Ciocalteu. Adaptado de Muñoz-Bernal et al., 2017, utilizando ChemDraw® pro 8.....	15
Figura 8. Diagrama de la metodología empleada.....	18
Figura 9. Mapa de la ubicación de la colecta del material vegetal (18°03'10.9"N 93°11'54.8"W), Huapaca-Amestoy, Cunduacán, Tabasco. (fuente: Google Maps).	19
Figura 10. Baño de ultrasonido Cole-Parmer 8891. Imagen propia.....	21
Figura 11. Espectrofotómetro GENESYS 10S UV-Vis. Imagen propia.	22
Figura 12. Gráficas del porcentaje de rendimiento para cada una de las muestras. M1; U1=100% EtOH, M2; U2= 80/20 EtOH/H ₂ O, M3; U3= 50/50 EtOH/H ₂ O, M4; U4=	

20/80 EtOH/H₂O, M5; U5= 100% H₂O. Porcentaje de rendimiento de los extractos hidroalcohólicos de *S. nigra* L. obtenidos por macerado (M1, M2, M3, M4, M5) y ultrasonido (U1, U2, U3, U4, U5). Los datos representan la media $\pm$ error estándar (n=3) de cada uno de los extractos. La significancia estadística se determinó por medio del análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba de *post hoc* Tukey. Las barras con la misma letra (a-e) no presentan diferencias significativas en $p<0.05$. Elaboración propia por GraphPad prism® 9. 25

Figura 13. Cromatografía de Capa Fina Fase normal del conjunto de extractos. AC= Ácido clorogénico, R= Rutina, M1; U1= 100% EtOH, M2; U2= 80/20 EtOH/H₂O, M3; U3= 50/50 EtOH/H₂O, M4; U4= EtOH/H₂O, M5; U5= 100% H₂O, F_R= Factor de retención. Eluídas en el sistema acidificado acetato de etilo/ácido fórmico/ácido acético glacial/agua en proporciones (5:0.25:0.25:0.7). Revelados con NP-PEG (Natural Product – Polietilenglicol), observada a $\lambda= 365$ nm. Imagen propia. 27

Figura 14. Curvas de calibración para la cuantificación de flavonoides empleando rutina como estándar. Elaboración propia por GraphPad prism® 9. 28

Figura 15. Gráficas de la cuantificación de flavonoides totales para cada una de las muestras. CFT= Concentración de Flavonoides Totales. M1; U1=100% EtOH, M2; U2= 80/20 EtOH/H₂O, M3; U3= 50/50 EtOH/H₂O, M4; U4= 20/80 EtOH/H₂O, M5; U5= 100% H₂O. Contenido de FT de los extractos hidroalcohólicos de *S. nigra* L. obtenidos por macerado (M1, M2, M3, M4, M5) y ultrasonido (U1, U2, U3, U4, U5). Los datos representan la media $\pm$ error estándar (n=3) de cada uno de los extractos. La significancia estadística se determinó por medio del análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba de *post hoc* Tukey. Las barras con la misma letra (a-f) no presentan diferencias significativas en $p<0.05$. Elaboración propia por GraphPad prism® 9. 29

Figura 16. Curvas de calibración para la cuantificación de polifenoles empleando ácido gálico como estándar. Elaboración propia por GraphPad prism® 9. 30

Figura 17. Gráficas de la cuantificación de polifenoles totales para cada una de las muestras. CPT= Concentración de Polifenoles Totales. M1; U1=100% EtOH, M2; U2= 80/20 EtOH/H₂O, M3; U3= 50/50 EtOH/H₂O, M4; U4= 20/80 EtOH/H₂O, M5; U5= 100% H₂O. Contenido de FT de los extractos hidroalcohólicos de *S. nigra* L.

obtenidos por macerado (M1, M2, M3, M4, M5) y ultrasonido (U1, U2, U3, U4, U5). Los datos representan la media $\pm$ error estándar (n=3) de cada uno de los extractos. La significancia estadística se determinó por medio del análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba de *post hoc* Tukey. Las barras con la misma letra (a-f) no presentan diferencias significativas en $p < 0.05$. Elaboración propia por GraphPad prism® 9..... 31

ÍNDICE DE ECUACIONES:

Ecuación 1. Obtención del F_r	11
Ecuación 2. Obtención del % del rendimiento de los extractos.....	20

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

1. RESUMEN

Sambucus nigra L., conocido como Saúco negro, es una planta cultivada en huertos debido a las propiedades medicinales que posee; utilizada principalmente como auxiliar en el alivio del resfriado común. El objetivo de este proyecto es comparar la eficiencia entre dos métodos de extracción (maceración y ultrasonido) con base a la variación en la composición del agente extractante y la influencia presente en el contenido de flavonoides y polifenoles totales en extractos hidroalcohólicos de las partes aéreas de *Sambucus nigra* L. La cuantificación de flavonoides y polifenoles presentes en los extractos obtenidos fue mediante espectrofotometría UV-Vis y el análisis del contenido metabólico fue por cromatografía en capa fina. Los resultados mostraron que en la extracción por ambos métodos el contenido de flavonoides disminuyó conforme aumentó la polaridad de la mezcla extractante y para Polifenoles fue creciente. Por último, en el análisis del contenido metabólico se identificaron Rutina y Ácido clorogénico como principales metabolitos.

Palabras claves: Flavonoides, Polifenoles, Maceración, Ultrasonido, Cromatografía.

2. ABSTRACT

Sambucus nigra L., know as Black Elderberry, is a plant grown in orchards due to its medicinal properties; it's mainly used as an aid in alleviating the common cold. The objective of this project is to compare the efficiency between two extraction methods (maceration and ultrasound) based on the variation in the composition of the extracting agent and the influence present in the content of flavonoids and total polyphenols in hydroalcoholic extracts of the aerial parts of *Sambucus nigra* L. The quantification of flavonoids and polyphenols present in the extracts obtained was by UV-Vis spectrophotometry and the analysis of the metabolic content was by thin layer chromatography. The results showed that in the extraction by both methods

the flavonoid content decreased as the polarity of the extracting mixture increased and for polyphenols it increased. Finally, in the analysis of the metabolic content, Rutin and Chlorogenic Acid were identified as the main metabolites.

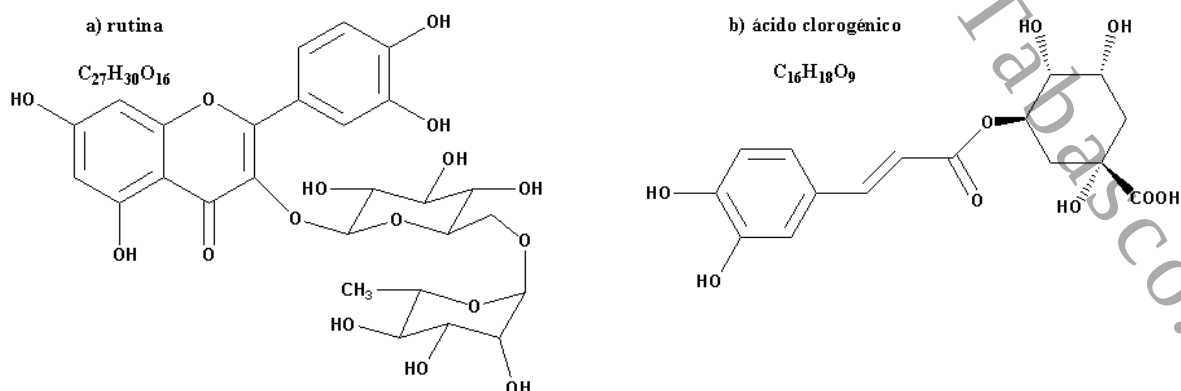
Keywords: Flavonoids, Polyphenols, Maceration, Ultrasound, Chromatography.

3. INTRODUCCIÓN

Sambucus nigra L., también conocido comúnmente como Sauco negro, es una planta nativa de Europa, Asia, el noroeste de África y América del Norte. En México se encuentra de manera silvestre, preferentemente en áreas de cañadas húmedas en las regiones del bosque oyamel o del bosque mesófilo. *S. nigra* L. es comúnmente cultivada en huertos familiares debido a las propiedades medicinales que posee (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

Las partes aéreas del *S. nigra* L. que se utilizan principalmente en la medicina tradicional son sus flores y bayas. Las flores de *S. nigra* L. son ampliamente usadas como auxiliar en el alivio de los primeros síntomas del resfriado común, en cambio las bayas, en forma de infusiones, jarabes o zumos actúan en contra del resfriado, así como laxante, diaforético, diurético y analgésico (Mota *et al.*, 2020). Las hojas tienen uso externo de piel y ojos, la decocción se utiliza para hematomas, contusiones, torceduras y otras complicaciones de la piel, así como también en forma de infusión (Laffita & Castillo, 2011), la cual es empleada para tratar resfriados, catarros de las vías respiratorias superiores y trastornos nerviosos.

En la actualidad, el interés por el *S. nigra* L. ha ido en aumento debido a la presencia de compuestos con alta bioactividad, principalmente del tipo polifenoles, como son los flavonoles, ácidos fenólicos, proantocianidinas y antocianinas (Sidor y Gramza-Michalowska, 2014); los compuestos polifenólicos están presentes en las hojas, frutos y flores. Se han identificados diversos compuestos bioactivos como kaempferol, quercetina, rutina, terpenos, ácidos clorogénicos, taninos, pectina y azúcar (Figura 1) (Barnes *et al.*, 2007).



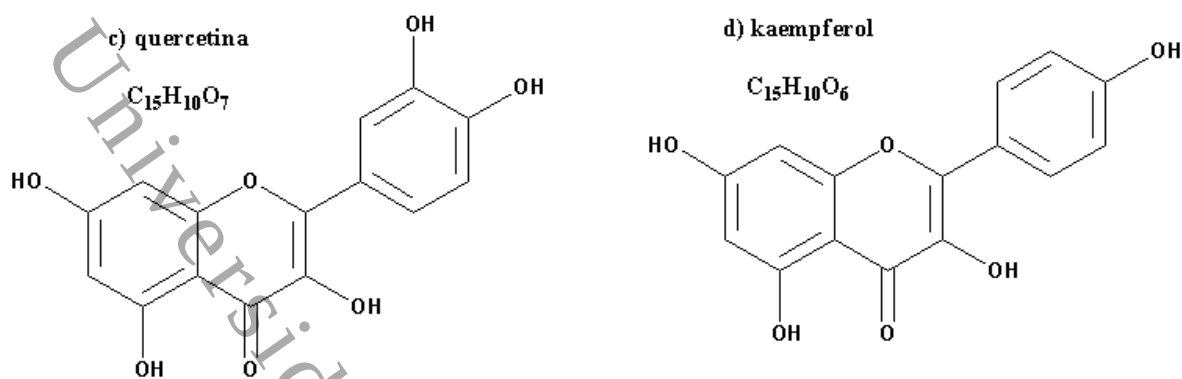


Figura 1. Ejemplo de compuestos bioactivos presentes en *S. nigra* L. a) rutina, b) ácido clorogénico, c) quercetina y d) kaempferol. Elaboración propia usando ChemDraw® pro 8.

Debido a la existencia de compuestos potencialmente bioactivos, se están explorando estrategias con el fin de mejorar la eficiencia en su extracción y aislamiento, utilizando nuevas técnicas como es el empleo de fluidos supercríticos, microondas y ultrasonido.

Por lo tanto, el presente proyecto tiene como propósito comparar dos métodos de extracción de metabolitos secundarios a partir de las partes aéreas del *Sambucus nigra* L.; el método tradicional de maceración y un método emergente mediante el uso de ultrasonido. Así mismo, se evaluará la eficiencia de ambos métodos empleando mezclas hidroalcohólicas con diferentes proporciones de alcohol y agua, mediante la cuantificación de flavonoides y polifenoles totales presentes en los extractos obtenidos.

4. MARCO TEÓRICO

4.1. Generalidades de *Sambucus nigra* L.

4.1.1 Hábitat

Sambucus nigra L. es una planta nativa del hemisferio norte, que se encuentra de manera natural en los bordes de bosques húmedos, en matorrales espinosos de hoja caduca y en entornos mediterráneos, como valles o cerca de cursos de agua permanentes (Albert *et al.*, 2008). Es poco exigente en suelos debido a que puede crecer tanto en suelo húmedo, así como en suelos secos (Hernández, 2011).

4.1.2. Características morfológicas

Sambucus nigra L. es un arbusto que alcanza entre 6 a 10 metros de altura, presenta una copa redondeada, baja y densa. Su tronco es curvo e inclinado, con una corteza suberosa con ramas gruesas (Sánchez *et al.*, 2010). Sus ramas desarrollan una médula abundante y blanquecina (Font, 1990).

Los troncos más gruesos del *S. nigra* L. presentan una madera pesada y muy dura, requiriendo un secado lento con el fin de evitar el alabeo y agrietamiento (Abella, 2012). La corteza externa es de color marrón cenizo, con grietas y en ocasiones se desprende en placas rectangulares, mientras que la corteza interna es de color blanco (Reynel & Marcelo, 2009).

Las hojas pecioladas del *S. nigra* L. son compuestas y opuestas, con una longitud que varía entre 20 y 30 cm. Presentan bordes que son regularmente aserrados, con pequeñas protuberancias de 1 mm aproximadamente (Reynel & Marcelo, 2009).

Las flores individuales de color blanco se agrupan en racimos terminales que pueden medir 15 cm o más de longitud; cada flor, que es hermafrodita, cuenta con 5 pétalos, 5 estambres y un pistilo (Reynel & Marcelo, 2009). La corola tiene un diámetro de 4 a 5 mm y tiene forma de una estrella de cinco puntas que se desprenden fácilmente. Entre cada par de puntas se sitúa un estambre, alternando con los cinco lóbulos de la corola (Font, 1990).

Los frutos son bayas globosas, presentan un diámetro de 8 a 10 mm, son jugosas y comestibles. Al madurar, los frutos producen un tinte que puede variar de rojizo a negro, mientras que en un estado inmaduro son de color azul, lila o violeta (Abella, 2012). Cada una de las bayas contiene de 3 a 6 semillas (Reynel & Marcelo, 2009). En la Figura 2 se muestra la morfología de las partes aéreas de *Sambucus nigra* L.

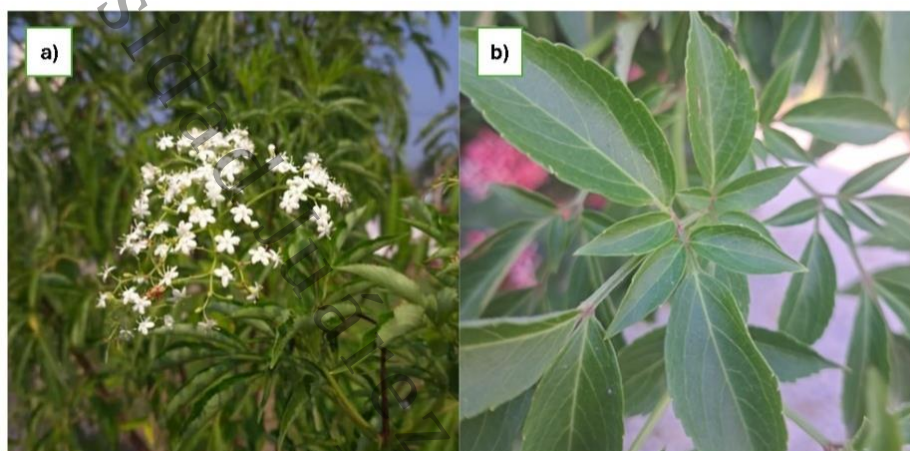


Figura 2. Partes aéreas de *Sambucus nigra* L., a) morfología de las flores de *S. nigra* L., b) hojas de *S. nigra* L. Imágenes propias.

4.1.3. Taxonomía de *Sambucus nigra* L.

En la tabla 1 se muestra la clasificación taxonómica de *Sambucus nigra* L. (CONABIO, 2009).

Tabla 1. Taxonomía de *S. nigra* L. (CONABIO, 2009).

Taxonomía de <i>Sambucus nigra</i> L.	
Reino	Plantae (Plantas)
Filo	Tracheophyta (P. vasculares)
Clase	Magnoliopsida (P. con flores)
Subclase	Asteridae (P. leñosas o herbáceas)
Orden	Dipsacales
Familia	Adoxaceae
Género	<i>Sambucus</i>
Especie	<i>Sambucus nigra</i> L.
Nombre común	Saúco negro

4.1.4. Usos en la medicina tradicional.

Con base a sus características botánicas, su composición química y sus sustancias activas, presenta potencial para ser utilizada con fines medicinales, alimenticios, ornamentales, artesanales y en la suplementación animal (Grajales *et al.*, 2015).

Las partes de la planta que se utilizan comúnmente con fines medicinales son las flores y las hojas (Díaz, 2003). Entre estos usos se incluye su aplicación como febrífugo y analgésico alternativo en pacientes con SIDA (Rivas *et al.*, 2005). Los flavonoides presentes en el *S. nigra* L. tienen propiedades antioxidantes e inmunológicas (Laffita & Castillo, 2011; Ruiz *et al.*, 2013). Además, el *S. nigra* L. ayuda a reducir la producción excesiva de mucosidad en los senos paranasales en pacientes con sinusitis bacteriana (Laffita & Castillo, 2011).

Sus propiedades antigripales permiten aliviar los síntomas del resfriado común, como fiebre, fatiga, dolor de cabeza, dolor de garganta, tos y malestar general, en menos de la mitad del tiempo habitual de recuperación (Laffita & Castillo, 2011). Otro de los beneficios medicinales que presenta el *S. nigra* L. es su capacidad para reducir los niveles de colesterol; el jugo de las bayas ha demostrado en ocasiones disminuir la concentración sérica de colesterol y mejorar la estabilidad de las lipoproteínas de baja densidad (Laffita & Castillo, 2011).

Las flores contienen principios activos como ácido ascórbico, sitosterol, rutina y sambunigrina, dichos principios activos tienen propiedades antiinflamatorias y se emplean para tratar problemas reumáticos, dolores musculares, inflamaciones respiratorias, infecciones y gastritis (Pahlow, 1985). Se deben tener precaución en el uso medicinal de *S. nigra* L., principalmente, en el uso de las hojas y la corteza ya que se han observado en ocasiones irritaciones en el estómago y el intestino; además, las bayas deben comerse maduras, debido a que si se comen inmaduras pueden ser ligeramente tóxicas. En varias poblaciones rurales de México, *S. nigra* L. tiene importancia en la medicina tradicional (Coral *et al.*, 2011), donde se ha empleado como diaforético, béquico, laxante, calmante, excitante, purgante, expectorante, emético (Fonnegra y Jiménez, 2006).

4.2. Métodos para la obtención de extractos

Las técnicas de extracción han sido objeto de estudios para la obtención de componentes naturales de plantas que tienen un alto valor comercial. El método de extracción por Soxhlet, que ha sido utilizado durante muchas décadas, es prolongado y requiere grandes cantidades de solventes. La maceración es uno de los métodos convencionales de extracción más utilizados, en la antigüedad era muy utilizado para la elaboración de vinos, debido a que es un método sencillo y no genera costos elevados, sin embargo, estudios han reportado una baja eficiencia en los extractos obtenidos por este método (Duarte *et al.*, 2020).

Actualmente, hay un aumento en la demanda de nuevas técnicas de obtención de extractos bioactivos a partir de plantas, en las que se busca reducir el tiempo y minimizar el uso de solventes orgánicos (Rojas, 2009). Entre los métodos innovadores se encuentran la extracción asistida por ultrasonido, por microondas, con fluidos supercríticos y la extracción acelerada con solventes.

A continuación se presentan de forma general las técnicas de extracción que se compararán en este proyecto:

4.2.1. Extracción por maceración.

La maceración es un proceso de extracción sólido-líquido, donde la materia prima contiene compuestos solubles en el líquido de extracción que se desean obtener, mayormente se utilizan solventes de naturaleza polar como el agua, algunos alcoholes o la mezcla de ambos, los solventes deben tener afinidad con los compuestos que se desean extraer, la materia orgánica se deja en contacto con solventes durante periodos de tiempo específicos. Los extractos se recuperan al evaporar el solvente, generalmente con ayuda de evaporadores rotatorios (Peredo, 2009).

Este proceso genera dos productos que pueden ser utilizados según las necesidades; el sólido sin esencias o el propio extracto. La naturaleza de los compuestos extraídos varía según la materia prima utilizada y el solvente de

extracción. Existen dos métodos de maceración, en las cuales varía la temperatura: fría y caliente (Sierra *et al.*, 2018).

La maceración en frío implica sumergir el material vegetal en un recipiente con la cantidad adecuada de solvente para cubrirlo completamente. Una de las ventajas de la maceración en frío es que tiene la capacidad de extraer casi todas las propiedades del material sin alterarlas por efectos de temperatura. Sin embargo, este método requiere tiempo de extracción más largo para obtener resultados satisfactorios (López, 2008).

En la maceración en caliente, el proceso se basa en el contacto entre las fases de la materia prima y el solvente, con la diferencia de que se aplica calor. El tiempo de maceración es menor que en la maceración en frío, ya que el calor acelera el proceso. Sin embargo, una desventaja es que puede modificar algunas propiedades bioactivas sobre compuestos termolábiles. Además, este método requiere equipos sofisticados para controlar la temperatura, lo cual implica un mayor consumo de energía. A pesar de esto, los tiempos de extracción dependen de varios factores, especialmente de aquellos relacionados con la solubilidad de los componentes que se buscan extraer (López, 2008).

4.2.2. Extracción por ultrasonido.

De acuerdo con Meireles (2009), “El ultrasonido es una técnica ampliamente usada en procesos químicos como en tratamiento de aguas, industria de colorantes, alimentos e industria farmacéutica para extraer compuestos bioactivos tales como aceites esenciales, flavonoides, alcaloides, polisacáridos, ésteres, etc.”.

La extracción asistida por ultrasonido es un método rápido y sencillo en contraste de los métodos convencionales, como es el caso de la extracción por maceración. Este método, utiliza ondas de alta frecuencia para liberar el compuesto deseado del material vegetal, es decir las ondas causan ruptura mecánica en la pared celular de las plantas liberando así los compuestos bioactivos de interés (Medina *et al.*, 2017). Las partículas sólidas y líquidas vibran y se aceleran bajo la acción ultrasónica, lo que permite que el soluto pase rápidamente de la fase sólida al solvente (Azuola y Vargas, 2007). Además, el ultrasonido produce efectos fisicoquímicos mediante el

fenómeno de cavitación, donde se forman burbujas debido al crecimiento del núcleo de la biomasa y su posterior colapso, lo que genera variaciones de presión. Esto permite una mayor transferencia de masa y mejora la extracción (Fuentes y Aranda, 2013).

4.3. Cromatografía en capa fina para la identificación de metabolitos secundarios.

La cromatografía es un método de separación de los constituyentes de una mezcla, mediante la interacción de todos sus componentes, se caracteriza por ser una técnica analítica rápida y fácil de realizar. Entre las características principales de esta técnica es permitir la determinación de pureza de un compuesto, así como la identificación y comparación de analitos (Corzo, 2019). La cromatografía consiste en dos fases: una fase estacionaria (sólido o líquido anclado a un soporte sólido) y una otra fase móvil (líquido o gas), el principio de la separación se basa en que la mezcla de interés será retenida por medio de la fase estacionaria, o podría moverse junto a la fase móvil, recorriendo así, una distancia que es proporcional a la afinidad por la fase estacionaria (Corzo, 2019). Dentro de las técnicas cromatográficas se encuentra la cromatografía en capa fina (CCF).

La CCF es una variante de la cromatografía en columna o en papel (Marcano y Hasegawa, 2018). La CCF se divide en fase normal, en la cual la fase estacionaria (SiO_2) es más polar que la fase móvil (hexano o una mezcla de solventes no polares) y la fase reversa, donde la fase estacionaria es no polar (sílica recubierta de cadenas de hidrocarburos largas, por ejemplo el C18) mientras que la fase móvil es polar (agua, metanol o mezcla de solventes polares), en esta fase las sustancias menos polares o hidrofóbicas se adsorben en la fase estacionaria y las polares se eluyen rápido. Ambas fases actúan como un método de purificación capaz de separar compuestos que presentan características similares (Mayolo, *et al.*, 2012).

Una de las reglas aceptadas en la CCF es que las muestras polares deben ser separadas utilizando materiales con fuertes propiedades adsorptivas (cromatografía de adsorción) como el gel de sílice (SiO_2) y la alúmina (Al_2O_3), y los eluyentes se

seleccionan dependiendo de la sustancia que se desea separar (Egbuna *et al.*, 2019).

La CCF es el método más utilizado, entre los muchos métodos cromatográficos disponibles en la actualidad, para el análisis rápido de fármacos y compuestos bioactivos de plantas. Existen diversas razones para ello, como por ejemplo (Wagner & Bladt, 1996):

- El tiempo en el que se muestra la mayoría de los componentes de una muestra mediante la CCF es muy corto.
- La CCF proporciona una idea cualitativa sobre los componentes bioactivos presentes de un extracto.
- La CCF proporciona una huella cromatográfica de un extracto, lo que resulta beneficioso para controlar la identidad y la pureza de este.

La cromatografía en capa fina se desarrolla normalmente por la acción de la capilaridad, al permitir que el eluyente suba por una placa en vertical. Las manchas en una placa de sílica gel se caracterizan por la distancia recorrida con la relación a la distancia recorrida por la fase móvil (Méndez, 2023). El factor de retención (F_R) puede expresarse como el factor de retardación o índice de retención expresado de la siguiente manera (Ecuación 1):

$$F_R = \frac{\text{Desplazamiento del soluto}}{\text{Desplazamiento de la fase móvil}}$$

Ecuación 1. Obtención del F_R .

En pocas palabras, el F_R expresa la posición de un compuesto sobre una placa como una fracción decimal, midiendo así la retención de un componente. En la figura 3 se presenta un ejemplo de la obtención del F_R de los componentes.

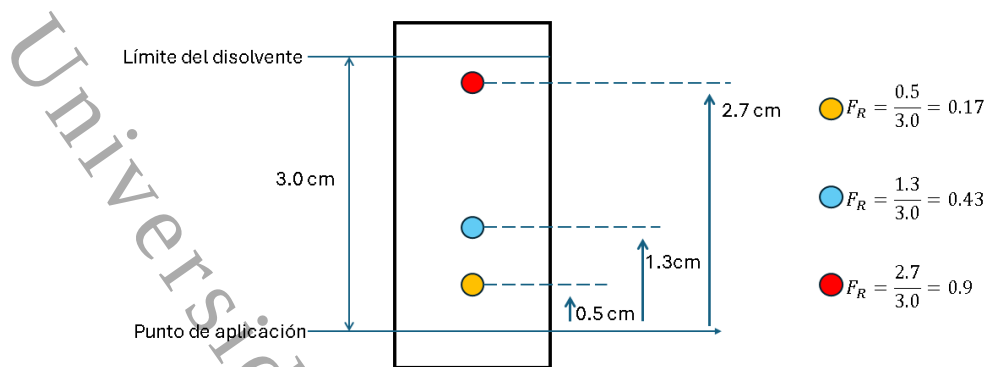


Figura 3. Esquema para la obtención del F_R de componentes químicos. Elaboración propia.

4.4. Importancia de los compuestos fenólicos.

Los compuestos fenólicos son aquellas sustancias que contienen uno o más grupos OH en un anillo aromático, estos constituyen a los metabolitos secundarios más abundantes en el reino vegetal. Debido a los grupos hidroxilos unidos al anillo aromático, los compuestos fenólicos se clasifican en los ácidos fenólicos, benzoicos y cinámicos; lignanos, estilbenos y flavonoides, siendo los flavonoides los compuestos fenólicos más abundantes en las plantas. Los ácidos fenólicos están formados por un único anillo, en cambio los flavonoides presentan dos anillos fenólicos unidos por tres átomos de carbono (Sánchez, 2022).

La biosíntesis de los compuestos fenólicos está asociada a dos rutas metabólicas: la del ácido shikímico y la del ácido malónico.

4.4.1. Ácidos fenólicos.

Los ácidos fenólicos son aquellos compuestos que presentan un grupo carboxilo en su estructura química. Se dividen en dos grupos: los derivados de ácido benzoico y los derivados del ácido cinámico. La presencia de más de un grupo hidroxilo y una mayor separación del grupo carbonilo al anillo aromático, aumenta la actividad antioxidante de dichos compuestos (Peñarrieta *et al.*, 2014).

En la figura 4 se presentan algunos ejemplos de ácidos fenólicos:

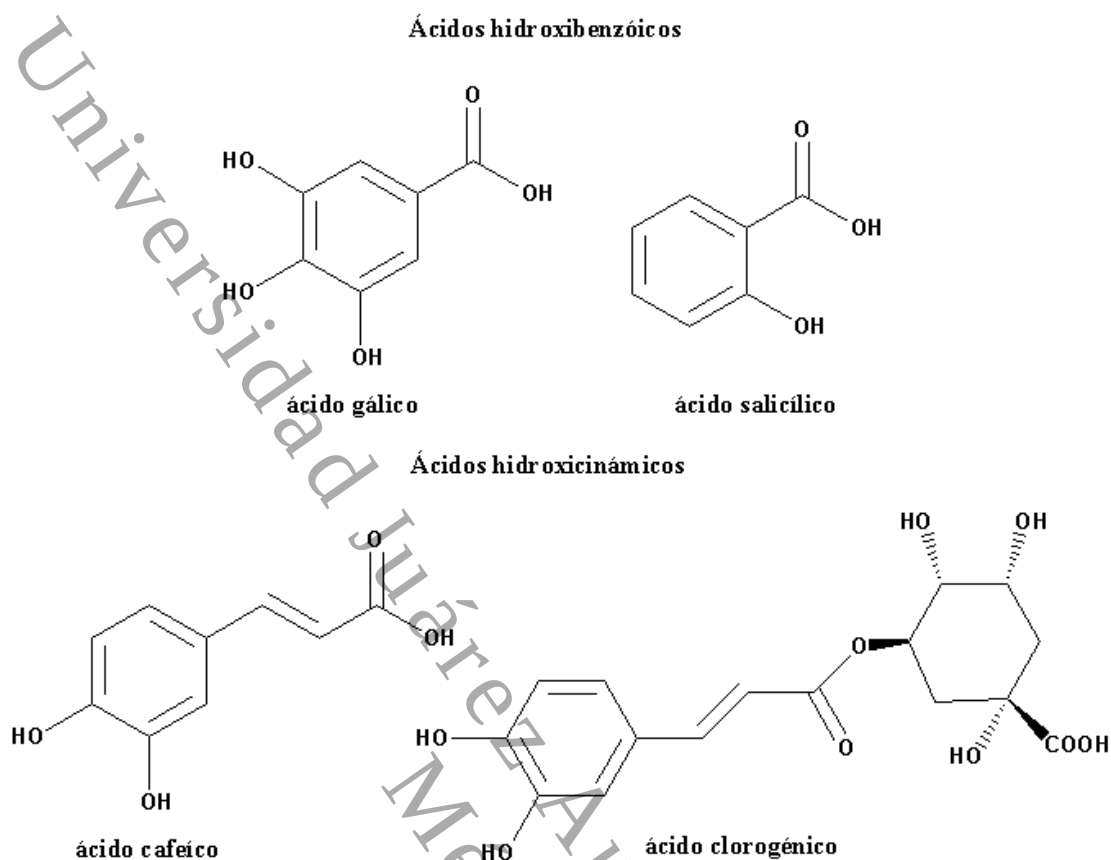


Figura 4. Ejemplos de ácidos hidroxibenzoicos y ácidos hidroxicinámicos. Elaboración propia usando ChemDraw® pro 8.

4.4.2. Flavonoides.

Su nombre deriva del latín *flavus* cuyo significado es amarillo y otorgan el color a las flores y a sus frutos. Su biosíntesis se lleva a cabo a partir de la fenilalanina proveniente de la ruta del ácido shikimato, produciendo 4-cumaril-CoA, la cual se une con 3 moléculas de malonil-CoA, obteniendo las chalconas, las cuales constituyen la estructura principal de los flavonoides (Shen *et al.*, 2022). Su principal localización es en las partes aéreas de las plantas (Sánchez, 2022). Los flavonoides tienen en común una estructura general de difenilpirano C6-C3-C6, compuesta por dos anillos de benceno (A y B), los cuales se encuentran unidos por un anillo de pirano (C) (Figura 5).

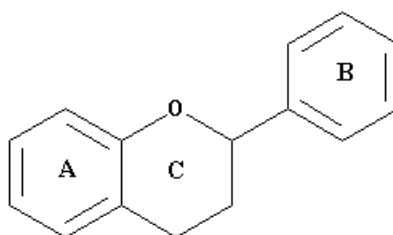


Figura 5. Estructura general de los flavonoides. Elaboración propia usando ChemDraw® pro 8.

Los principales efectos biológicos de los flavonoides se llevan a cabo a nivel vascular, debido a que tienen la propiedad de disminuir la permeabilidad y aumentar la resistencia, también algunos son diuréticos, antiespasmódicos, antiinflamatorios, antialérgicos, entre otros. Además de ello, se les atribuyen propiedades antimicrobianas y antifúngicas (Sánchez, 2022).

4.5. Cuantificación de flavonoides totales por el método de Zhu *et al.*, 2010.

La técnica de cuantificación de flavonoides totales se basa en la reacción de iones de aluminio con los flavonoides en un medio básico, formando quelatos rojos que con ayuda de un espectrofotómetro UV-Vis son medidos a 510 nm, pudiendo con ello determinar la concentración de flavonoides totales. Los flavonoides que presentan una estructura 3',4'-dihidroxi-sustituida pueden mostrar una coloración al reaccionar en el sistema $\text{NaNO}_2\text{-AlCl}_3\text{-NaOH}$. En la figura 6 se observa la reacción de los flavonoides y el sistema cromogénico (Zhu *et al.*, 2010).

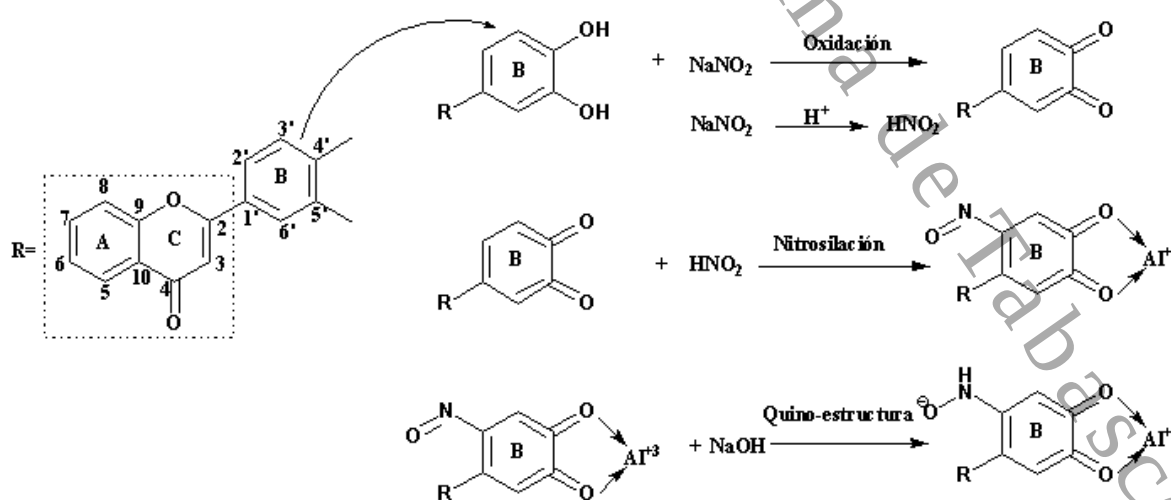


Figura 6. Mecanismo de reacción de la cuantificación de flavonoides totales, adaptado de Zhu *et al.*, 2010, utilizando ChemDraw® pro 8.

4.6. Cuantificación de polifenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu.

La técnica de cuantificación de polifenoles totales se basa en utilizar el método colorimétrico Folin-Ciocalteu (FC), que permite determinar el contenido de compuestos fenólicos en diversas muestras. El método obtiene su nombre debido a que el reactivo de FC es el reactivo principal de la reacción, el cual consiste en una mezcla de ácido fosfotúngstico y ácido fosfomolibdico, resultando de ellos una solución de color amarillo, de dicha mezcla se producen iones de tungsteno y molibdato. La reacción se fundamenta en la reactividad que tienen los polifenoles con el reactivo de FC en un pH básico, mayormente a pH 10, con el fin de generar el ion fenolato que por medio de una reacción redox reduzca al reactivo de FC, formando un complejo de Mo(V), presentando una coloración azul que es medida en un espectrofotómetro UV-Vis a 760 nm. (Muñoz-Bernal *et al.*, 2017). Dicha reacción se presenta en la figura 7.

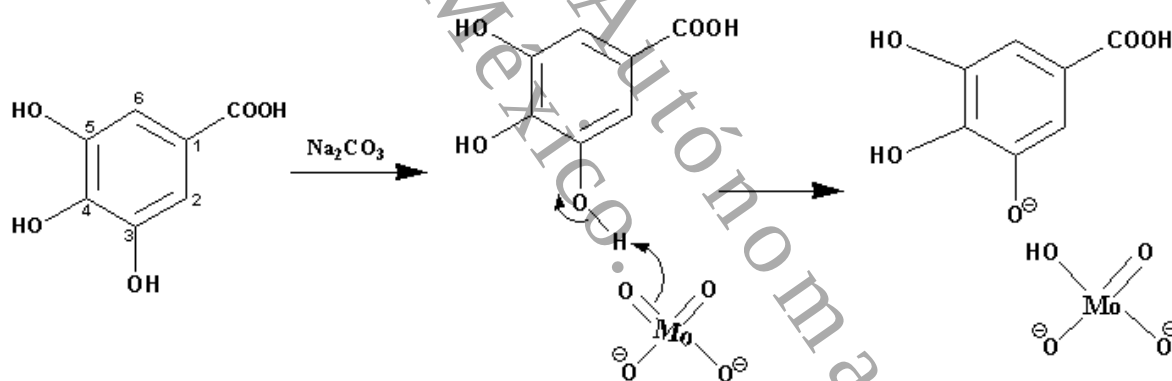


Figura 7. Mecanismo de reacción de la cuantificación de polifenoles totales por el método Folin-Ciocalteu. Adaptado de Muñoz-Bernal *et al.*, 2017, utilizando ChemDraw® pro 8.

5. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad está surgiendo un interés por el uso de productos naturales como principales fuentes de metabolitos secundarios con potencial actividad biológica. Un ejemplo de esto es *Sambucus nigra* L., como una alternativa para el tratamiento del resfriado común, donde los metabolitos que han sido relacionados a este uso son del tipo polifenoles como; rutina, kaempferol, quercetina y ácido clorogénico. No obstante, los procesos de extracción tradicional como en el caso de la maceración requieren de tiempos prolongados para la obtención de una concentración necesaria de metabolitos.

Por lo que se hace necesario, seleccionar una técnica de extracción adecuada para estandarizar los productos vegetales que permita obtener los componentes solubles deseados y omitir aquellos no deseados utilizando la ayuda de solventes, por lo cual en las últimas décadas ha aumentado el interés por las técnicas emergentes de extracción, como es el caso de la extracción por ultrasonido.

Considerando que el *Sambucus nigra* L. es una planta de gran interés en la actualidad por la riqueza de los componentes bioactivos que posee, es necesario evaluar la eficiencia de métodos de extracción (maceración y ultrasonido) para determinar cuál de los métodos es el más adecuado para una mejor extracción de grupos metabólicos como son los flavonoides y polifenoles presentes en las partes aéreas de *S. nigra* L., utilizando mezclas extractantes con diferentes proporciones de alcohol:agua.

6. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cómo influye el método de extracción y la proporción del agente extractante en la concentración de flavonoides y polifenoles totales en los extractos hidroalcohólicos de *Sambucus nigra* L.?

7. HIPÓTESIS.

Los extractos hidroalcohólicos de *S. nigra* L. obtenidos mediante maceración y ultrasonido con distintas proporciones en la composición del agente extractante, presentarán variaciones en las concentraciones de flavonoides y polifenoles totales.

8. OBJETIVO GENERAL

Comparar la eficiencia entre dos métodos de extracción mediante la variación en la composición del agente extractante y su influencia en el contenido de flavonoides y polifenoles totales en extractos hidroalcohólicos de las partes aéreas de *Sambucus nigra* L.

9. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extraer los metabolitos secundarios presentes en las partes aéreas de *S. nigra* L. mediante las técnicas de extracción por maceración y ultrasonido, utilizando en ambos casos como agente extractante cinco mezclas hidroalcohólicas en diferentes proporciones.
- Analizar por cromatografía en capa fina la variabilidad del contenido metabólico de los extractos obtenidos de *S. nigra* L.
- Cuantificar mediante espectrofotometría UV-Vis los flavonoides y polifenoles totales obtenidos mediante las diferentes combinaciones de las técnicas de extracción y composición del agente extractante.

10. METODOLOGÍA

En la figura 8 se muestra el diagrama de flujo de la metodología a seguir durante el presente proyecto.

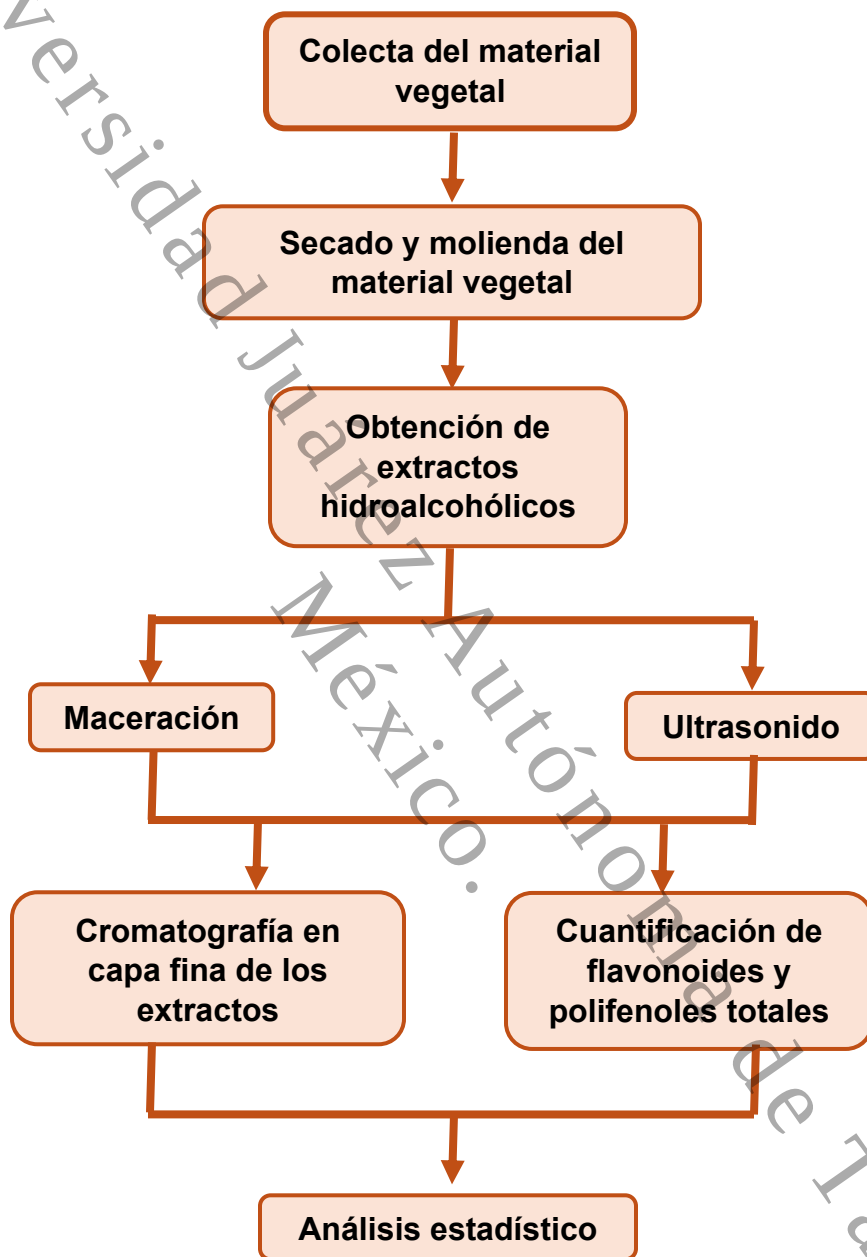


Figura 8. Diagrama de la metodología empleada.

10.1. Colecta del material vegetal

La colecta de las partes aéreas (hojas y flores) del *Sambucus nigra* L., se llevó a cabo en la carretera Samaria-Amatitán, 86690 Huapaca-Amestoy, localizada en el municipio de Cunduacán, Tabasco en febrero del 2024 (Figura 9).



Figura 9. Mapa de la ubicación de la colecta del material vegetal ($18^{\circ}03'10.9''\text{N}$ $93^{\circ}11'54.8''\text{W}$), Huapaca-Amestoy, Cunduacán, Tabasco. (fuente: Google Maps).

10.2. Secado y molienda del material vegetal.

Las partes aéreas colectadas fueron secadas protegidas de la luz solar y a temperatura ambiente durante 72 h, una vez secas se realizó la molienda con ayuda de un molino manual, obteniendo un peso de material vegetal de 509 gramos.

10.3. Obtención de los extractos hidroalcohólicos.

Para cada una de las mezclas extractantes y método de extracción el proceso se realizó por triplicado ($n=3$) fueron empleados 10 g de material vegetal seco junto a 200 ml de la mezcla extractante.

Las mezclas hidroalcohólicas como agentes extractantes en distintas proporciones, se indica en la tabla 2.

Tabla 2. Composición de las mezclas extractantes para cada método de extracción.

Método de extracción	Mezcla del agente extractante (%v/v)		Clave de identificación
	Etanol (%v/v)	Agua (%v/v)	
Maceración	100	0	M1
	80	20	M2
	50	50	M3
	20	80	M4
	0	100	M5
Ultrasonido	100	0	U1
	80	20	U2
	50	50	U3
	20	80	U4
	0	100	U5

10.3.1. Extracción por maceración.

La maceración se llevó a cabo de acuerdo con la metodología descrita por Miranda (2002); para lo cual, fue colocado en un matraz Erlenmeyer 10 g del material vegetal seco y se añadió un volumen de 200 mL de la mezcla hidroalcohólica a evaluar, asegurando de cubrir todo el material vegetal, sin que la muestra ocupe más de la $\frac{3}{4}$ parte del volumen total del matraz. Luego, se tapó el matraz y se dejó reposar durante 24 horas, agitando de manera periódica el matraz. Una vez finalizado el tiempo de macerado, se extrajo la mezcla extractante por medio de decantación y se filtró, este procedimiento se repitió 2 veces con la muestra a evaluar. Posteriormente, se obtuvo el extracto con ayuda de un Rotavapor® R-100 (BÜCHI, Suiza), con el fin de llevarlo a sequedad eliminando totalmente el agente extractante. Lo anterior, fue realizado en cada una de las muestras con las distintas mezclas extractantes.

El cálculo del rendimiento obtenido de cada uno de los extractos según las proporciones de las mezclas empleadas de acuerdo con la ecuación 2:

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{\text{Peso del extracto}}{\text{Peso de la muestra seca}} \times 100$$

Ecuación 2. Obtención del % del rendimiento de los extractos.

Finalmente, se etiquetaron y se guardaron para su posterior cuantificación de flavonoides y polifenoles totales mediante espectrofotometría UV-Vis.

10.3.2. Extracción por ultrasonido.

La extracción con ultrasonido se realizó usando como guía la metodología de Morales *et al.*, (2023), realizando modificaciones de acuerdo con el presente proyecto; para lo cual en un matraz Erlenmeyer, se colocaron 10 gramos del material vegetal seco y se añadió 200 ml de la mezcla hidroalcohólica a evaluar, cubriendo todo el material vegetal, sin que la muestra ocupe más de la $\frac{3}{4}$ parte del volumen total del matraz. Seguido de ello, se sumergió en un baño de ultrasonido (Cole-Parmer 8891, Vernon Hills, IL, figura 10.) a una frecuencia de 20 KHz y una potencia de 750 W durante 15 minutos, procurando que haya quedado sumergida la muestra dentro del baño. Al concluir la extracción, se filtró el extracto. Posteriormente, se eliminó el solvente utilizando un Rotavapor® R-100 (BÜCHI, Suiza) hasta llevarlo a sequedad, eliminando todo el agente extractante. Este procedimiento se realizó por triplicado. Se calculó el rendimiento obtenido para cada uno de los extractos de acuerdo con la ecuación 2.

Finalmente, se etiquetó cada uno de los extractos resultantes y se guardaron para su posterior cuantificación de flavonoides y polifenoles totales a través de espectrofotometría UV-Vis.



Figura 10. Baño de ultrasonido Cole-Parmer 8891. Imagen propia.

10.4. Cromatografía en capa fina

El perfil cromatográfico de cada una de las muestras fue realizado mediante cromatografía en capa fina fase normal, empleando como fase estacionaria placas de sílica gel 60 F254. Las placas fueron eluidas en el sistema de acetato de etilo/ácido fórmico/ácido acético glacial/agua en proporciones (5:0.25:0.25:0.7). Se utilizó una lámpara UV-Vis (Spectroline CM-10) a $\lambda = 254$ y 365 nm para identificar los compuestos presentes. Además, se empleó como solución reveladora el reactivo “Natural Product – Polietilenglicol (NP-PEG)”.

10.5. Cuantificación de flavonoides totales

La cuantificación de flavonoides se realizó de acuerdo con la metodología de Zhu, (2010), la cual se basa en una reacción de iones de aluminio con los flavonoides en un medio alcalino formando quelatos que dan una coloración roja.

El procedimiento consistió en medir la concentración de flavonoides totales mediante espectrometría de absorción, utilizando el espectrofotómetro UV-Vis GENESYS™ (Figura 11) 10S a $\lambda = 510$ nm.



Figura 11. Espectrofotómetro GENESYS 10S UV-Vis. Imagen propia.

Con este propósito, se elaboró una curva de calibración utilizando como patrón el flavonoide rutina en concentraciones de 0.01, 0.02, 0.03, 0.04 y 0.05 mg/mL del patrón y a partir de la cual se determinó la concentración de flavonoides en cada uno de los extractos.

Se disolvieron 10 mg de cada uno de los extractos en 2 mL de MeOH. Se realizaron diluciones de la muestra, luego se tomó una alícuota 100 μ L de la disolución anterior, se añadieron 1675 μ L de agua y 75 μ L de NaNO_2 al 5%, pasados 5 minutos se agregaron 150 μ L de AlCl_3 al 10% y se esperó 6 minutos, pasado el tiempo se añadieron 500 μ L de NaOH 1M, se observó la aparición de un complejo rojo, las lecturas se leyeron antes de 15 minutos después de agregar el NaOH , de igual forma se preparó el blanco utilizando 100 μ L de MeOH.

Finalmente, se procedió a leer cada una de las muestras a la misma longitud de onda, obteniendo el contenido de flavonoides totales.

10.6. Cuantificación de polifenoles totales

La cuantificación de polifenoles totales se realizó según la NOM-003-SAG/GAN-2017 (SAGARPA, 2017). Este procedimiento consiste en medir la concentración de polifenoles totales mediante espectrofotometría de absorción UV-Vis GENESYS™ 10S (Figura 11) a $\lambda = 760$ nm, basado en una reacción colorimétrica de óxido-reducción (amarillo a azul). El reactivo de Folin-Ciocalteu (FC) se utilizó como el agente oxidante.

Se elaboró una curva de calibración utilizando ácido gálico como patrón, en concentraciones de 0.001, 0.002, 0.004, 0.006, 0.007 mg/mL, a partir de la cual se determinó la concentración de polifenoles totales en cada uno de los extractos a evaluar.

Se disolvieron 10 mg de cada uno de los extractos en 2 mL de MeOH. Se realizaron varias diluciones de la muestra, luego se tomó una alícuota 100 μ L de la solución anterior, seguido de ello, se añadieron 1400 μ L de agua y 250 μ L de reactivo de Folin-Ciocalteu 1N, después de 5 minutos se agregaron 250 μ L de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 20 %, observando la aparición de un complejo coloreado azul, y se esperaron 2 horas para realizar las lecturas, de igual forma se preparó el blanco utilizando 100 μ L de MeOH.

Finalmente, se procedió a realizar las lecturas de las muestras y con ellas se determinaron las concentraciones de polifenoles totales en cada uno de los extractos obtenidos.

10.7. Análisis estadístico

Los resultados de la cuantificación de flavonoides y polifenoles totales de los extractos obtenidos por maceración y ultrasonido fueron expresados como la media $\pm$ desviación estándar.

El análisis estadístico se realizó con un paquete estadístico (SPSS™ versión 23.0), mediante ANOVA y la prueba de Tukey; considerando una diferencia significativa de $p < 0.05$. El objetivo de este análisis es organizar los datos obtenidos, analizarlos e interpretarlos, con el fin de encontrar tendencias significativas entre ellas que nos ayuden a comprender los resultados.

11. RESULTADOS

11.1. Obtención de los extractos de *Sambucus nigra* L.

En la figura 12 se presentan las gráficas del porcentaje de rendimiento en cada uno de los extractos obtenidos mediante las técnicas de maceración y ultrasonido, dependiendo de la mezcla extractante de las partes aéreas de *S. nigra* L.

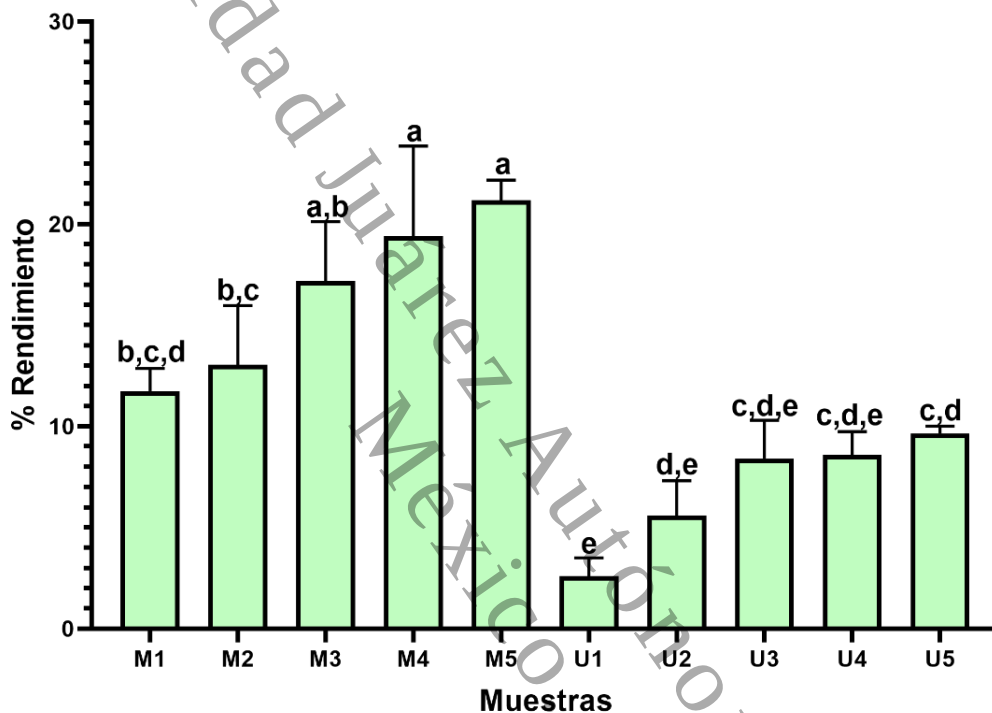


Figura 12. Gráficas del porcentaje de rendimiento para cada una de las muestras. M1; U1=100% EtOH, M2; U2= 80/20 EtOH/H₂O, M3; U3= 50/50 EtOH/H₂O, M4; U4= 20/80 EtOH/H₂O, M5; U5= 100% H₂O. Porcentaje de rendimiento de los extractos hidroalcohólicos de *S. nigra* L. obtenidos por macerado (M1, M2, M3, M4, M5) y ultrasonido (U1, U2, U3, U4, U5). Los datos representan la media $\pm$ error estándar (n=3) de cada uno de los extractos. La significancia estadística se determinó por medio del análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba de *post hoc* Tukey. Las barras con la misma letra (a-e) no presentan diferencias significativas en $p < 0.05$. Elaboración propia por GraphPad prism® 9.

Los extractos obtenidos por maceración mostraron un mayor porcentaje de rendimiento comparados con los obtenidos por ultrasonido. En el caso de los extractos obtenidos por maceración, los mayores rendimientos se presentaron en las muestras **M4** y **M5** utilizando como agente extractante 20:80 y 100% H₂O, respectivamente, en la cuales no se observaron diferencias significativas entre

ambas ($19.4 \pm 2.5\%$; $21.2 \pm 0.6\%$), seguido de la muestra **M3** extraída al 50:50 de la mezcla extractante ($17.2 \pm 1.7\%$) que no presentó diferencias significativas con las muestras **M4** y **M5** ni con las muestras **M1** y **M2** ($11.7 \pm 0.7\%$; $13.0 \pm 1.7\%$) extraídas con ayuda de la mezcla de extractantes 100% EtOH y 80:20 respectivamente.

Los extractos obtenidos por ultrasonido que presentaron el mayor porcentaje de rendimiento son las muestras **U3**, **U4** y **U5** extraídas al 50:50, 20:80 y 100% H₂O de las mezclas hidroalcohólicas utilizadas, en las cuales no se presentaron diferencias significativas entre ellas ($8.4 \pm 1.1\%$; $8.6 \pm 0.7\%$; $9.7 \pm 0.2\%$), seguido de la muestra extraída al 80:20 de la mezcla extractante **U2** que no presentó diferencias significativas con las muestras anteriores, ni con la muestra **U1** que utilizó 100% EtOH para su extracción, la cual mostró el menor porcentaje de rendimiento ($2.6 \pm 0.5\%$).

En la obtención de los extractos de las partes aéreas de *S. nigra* L. se pudo observar un mayor porcentaje de rendimiento en el extracto M5 obtenido por el método de maceración y utilizando como agente extractante 100% H₂O. Contrario a ello, la muestra que presentó el menor porcentaje de rendimiento fue la muestra U1 la cual se obtuvo por medio del método de ultrasonido utilizando 100% EtOH como agente extractante. En base a ello, se observó que el porcentaje de rendimiento era mayor conforme la polaridad del agente extractante aumentó.

11.2. Análisis de los extractos por Cromatografía en Capa Fina (CCF)

Una de las características de la CCF en fase normal fue permitir una identificación preliminar sobre el contenido de los metabolitos presentes en cada uno de los extractos de *S. nigra* L.

En la figura 13 se muestra el cromatofolio donde se analizaron los extractos obtenidos en cada uno de los métodos de extracción, junto a los estándares de ácido clorogénico (AC) con fluorescencia azul y rutina (R) con fluorescencia naranja, para facilitar la observación de algunos metabolitos presentes en *S. nigra* L. Las placas se eluyeron en el sistema acidificado acetato de etilo/ácido fórmico/ácido acético glacial/agua en proporciones (5:0.25:0.25:0.7).

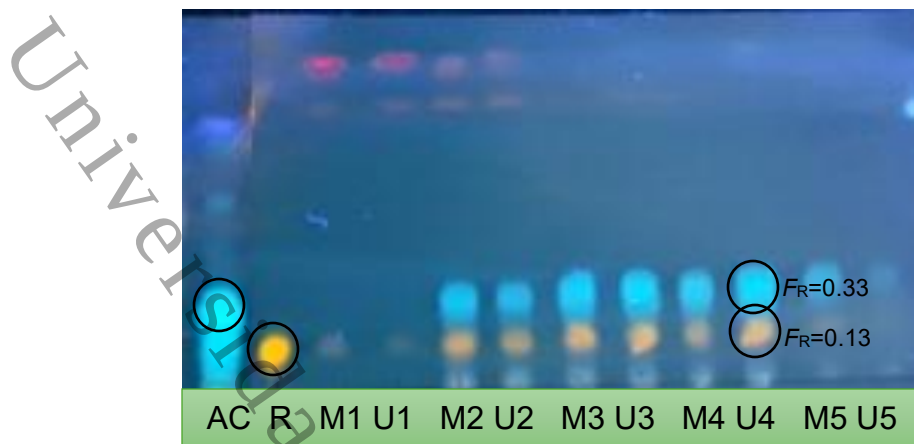


Figura 13. Cromatografía de Capa Fina Fase normal del conjunto de extractos. AC= Ácido clorogénico, R= Rutina, M1; U1= 100% EtOH, M2; U2= 80/20 EtOH/H₂O, M3; U3= 50/50 EtOH/H₂O, M4; U4= EtOH/H₂O, M5; U5= 100% H₂O, F_R = Factor de retención. Eluidas en el sistema acidificado acetato de etilo/ácido fórmico/ácido acético glacial/agua en proporciones (5:0.25:0.25:0.7). Revelados con NP-PEG (Natural Product – Polietilenglicol), observada a $\lambda = 365$ nm. Imagen propia.

Los extractos **M1** y **U1** extraídos al 100% de EtOH presentaron similitudes en su contenido metabólico indicados en la cromatografía de la figura 13, en ambas se logró observar levemente la presencia de rutina (R) con un F_R de 0.13, pero no se observó el ácido clorogénico (AC). De igual forma, los extractos **M2**, **U2**, **M3**, **U3**, **M4** y **U4** extraídos en mezclas 80:20, 50:50 y 20:80 de EtOH/H₂O, presentaron un perfil cromatográfico similar, con una intensa coloración de dos manchas, una de color naranja fluorescente y otra de color azul fluorescente con un F_R similar a los estándares de R y AC. En el caso de los extractos **M5** y **U5** los cuales fueron extraídos utilizando 100% H₂O como agente extractante, presentaron el mismo contenido que las anteriores, sin embargo, la diferencia radica en la intensidad de los compuestos naranja fluorescente y azul fluorescente, observándose en **M5** una mayor intensidad entre ambos.

Se debe tener presente que aunque no se observen a simple vista rutina, ácido clorogénico u otros metabolitos secundarios reportados en *S. nigra* L. no quiere decir que no se encuentren presentes, esto debido a que la CCF es un método cualitativo y por ello se puede optar por realizar la elución en un sistema diferente o realizar la CCF-Fase reversa con el fin de observar aquellos metabolitos que no se logran presenciar en el sistema acidificado.

11.3. Determinación de flavonoides totales.

En la figura 14 se presenta la curva de calibración de rutina necesaria para la cuantificación de flavonoides totales.

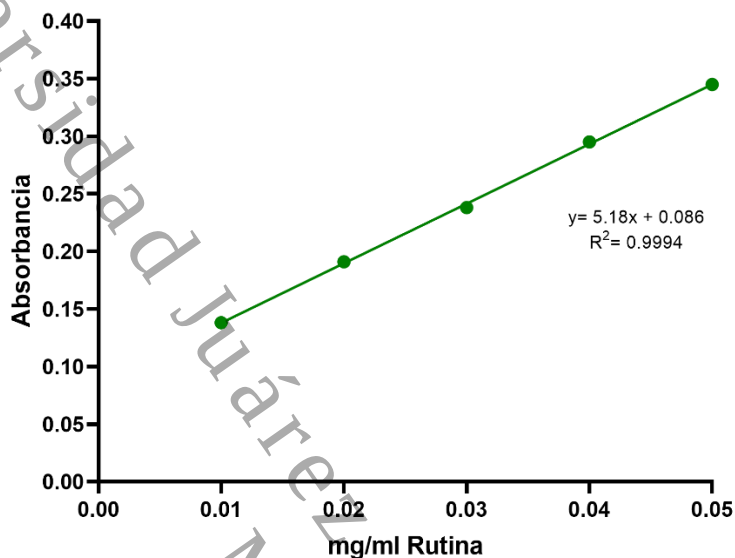


Figura 14. Curvas de calibración para la cuantificación de flavonoides empleando rutina como estándar. Elaboración propia por GraphPad prism® 9.

En la figura 15 se observan las gráficas del contenido de flavonoides totales obtenidos en cada uno de los extractos.

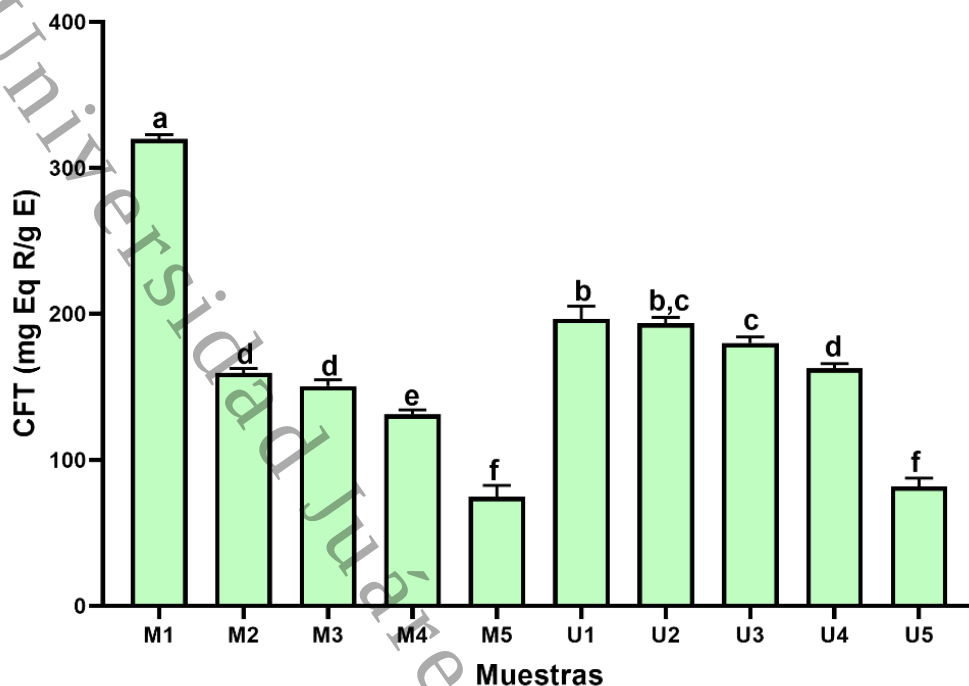


Figura 15. Gráficas de la cuantificación de flavonoides totales para cada una de las muestras. CFT= Concentración de Flavonoides Totales. M1; U1=100% EtOH, M2; U2= 80/20 EtOH/H₂O, M3; U3= 50/50 EtOH/H₂O, M4; U4= 20/80 EtOH/H₂O, M5; U5= 100% H₂O. Contenido de FT de los extractos hidroalcohólicos de *S. nigra* L. obtenidos por macerado (M1, M2, M3, M4, M5) y ultrasonido (U1, U2, U3, U4, U5). Los datos representan la media ± error estándar (n=3) de cada uno de los extractos. La significancia estadística se determinó por medio del análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba de *post hoc* Tukey. Las barras con la misma letra (a-f) no presentan diferencias significativas en $p < 0.05$. Elaboración propia por GraphPad prism® 9.

Con base a la figura 15, se describe el análisis estadístico de la cuantificación de flavonoides totales, en la cual se observó que los extractos obtenidos por ultrasonido mostraron un mayor contenido de este metabolito, a diferencia de aquellos obtenidos por maceración, sin embargo la muestra **M1** mostró la concentración más alta de FT presentando diferencias significativas con cada uno de los extractos (319.82 ± 1.7 mg Eq RE/ g de extracto), seguido de las muestras **U2** y **U1** que no presentaron diferencias significativas entre ellas (193.69 ± 2.3 ; 196.59 ± 5.0 mg Eq RE/ g de extracto), así mismo, la muestra **U2** no presentó diferencias significativas con la muestra **U3** (180.18 ± 2.2 mg Eq RE/ g de extracto). Las muestras **M3**, **M2** y **U4** presentaron la cuarta concentración más alta de FT sin diferencias significativas entre ellas (150.58 ± 2.4 ; 159.59 ± 1.18 ; 162.80 ± 1.8 mg Eq RE/ g de extracto), la

muestra **M4** presentó la quinta concentración más alta presentando diferencias significativas con cada una de las muestras (131.27 ± 1.7 mg Eq RE/ g de extracto). Por último, las muestras **M5** y **U5** mostraron las concentraciones más bajas sin presentar diferencias significativas entre ellas (74.65 ± 4.5 ; 81.72 ± 3.3 mg Eq RE/ g de extracto).

De acuerdo con los resultados obtenidos se puede observar que los extractos de las partes aéreas del *Sambucus nigra* L. presentan una concentración alta de flavonoides utilizando el método de extracción por ultrasonido y el agente extractante 100% EtOH o mezclas con mayor porcentaje de EtOH, habiendo así poca variabilidad en las concentraciones de FT obtenidos en un tiempo menor contrario al método de maceración.

11.4. Cuantificación de polifenoles totales.

En la figura 16 se presenta la curva de calibración de ácido gálico necesaria para la cuantificación de polifenoles totales.

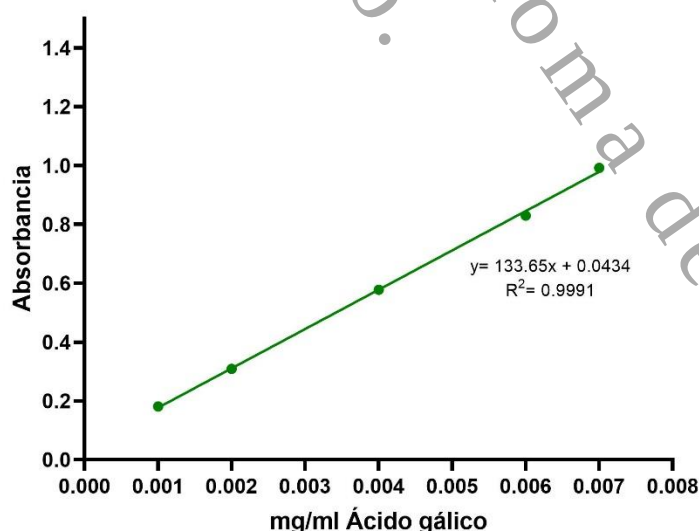


Figura 16. Curvas de calibración para la cuantificación de polifenoles empleando ácido gálico como estándar. Elaboración propia por GraphPad prism® 9.

En la figura 17 se observa la gráfica del contenido de polifenoles totales obtenidos en cada uno de los extractos.

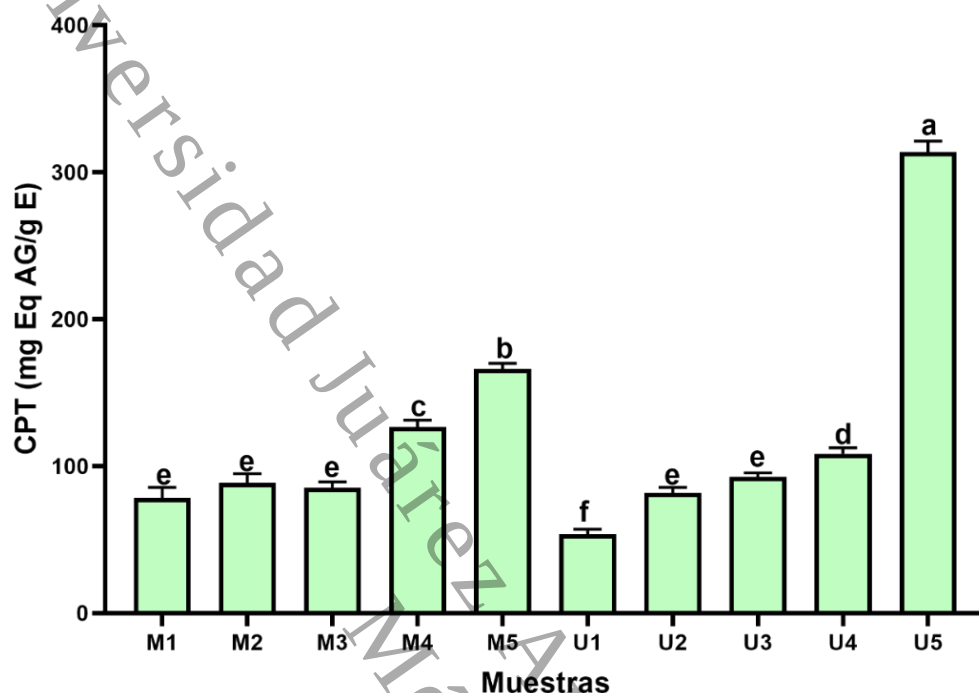


Figura 17. Gráficas de la cuantificación de polifenoles totales para cada una de las muestras. CPT= Concentración de Polifenoles Totales. M1; U1=100% EtOH, M2; U2= 80/20 EtOH/H₂O, M3; U3= 50/50 EtOH/H₂O, M4; U4= 20/80 EtOH/H₂O, M5; U5= 100% H₂O. Contenido de FT de los extractos hidroalcohólicos de *S. nigra* L. obtenidos por macerado (M1, M2, M3, M4, M5) y ultrasonido (U1, U2, U3, U4, U5). Los datos representan la media $\pm$ error estándar ($n=3$) de cada uno de los extractos. La significancia estadística se determinó por medio del análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba de *post hoc* Tukey. Las barras con la misma letra (a-f) no presentan diferencias significativas en $p<0.05$. Elaboración propia por GraphPad prism® 9.

En la figura 17 se muestra la cuantificación de polifenoles totales de las muestras de *S. nigra* L., en las cuales se observó la variación en la concentración de PT de los extractos analizados en ambos métodos de extracción. La muestra **U5** mostró la mayor concentración de PT presentando diferencias significativas con respecto a los demás extractos (313.73 ± 4.3 mg Eq AGE/ g de extracto), seguido de la muestra **M5** con diferencias significativas frente a las demás muestras (166.20 ± 2.1 mg Eq AGE/ g de extracto). Ambas muestras (U5 y M5) fueron extraídas usando como agente extracte 100%H₂O lo cual puede deberse a la polaridad de los polifenoles o compuestos fenólicos presentes en los extractos de las partes aéreas de *Sambucus nigra* L.

La muestra **M4** presentó la tercera concentración más alta presentando diferencias significativas frente a las demás muestras (126.55 ± 2.7 mg Eq AGE/ g de extracto), seguido de la muestra **U4** presentando diferencias significativas respecto a las otras muestras (108.47 ± 2.3 mg Eq AGE/ g de extracto). Las muestras **M1**, **U2**, **M3**, **M2** y **U3**, presentaron la quinta concentración más alta de PT en orden ascendente en las concentraciones sin diferencias significativas entre sí (78.41 ± 4.1 ; 81.90 ± 2.1 ; 85.15 ± 2.4 ; 88.51 ± 3.7 ; 92.75 ± 1.5 mg Eq AGE/ g de extracto). Finalmente, la muestra **U1** mostró la menor concentración de PT con diferencias significativas entre las muestras (53.85 ± 1.8 mg Eq AGE/ g de extracto).

En base a los resultados obtenidos se logró observar que las mayores concentraciones, tanto por el método de ultrasonido como por el método de maceración, fueron extraídas utilizando como agente extractante 100% H₂O. Asimismo, se logró observar una tendencia similar en los extractos M1, U2, M3, M2, y U3, las cuales fueron extraídas con mezclas hidroalcohólicas en diferentes concentraciones y utilizando ambos métodos de extracción.

12. DISCUSIÓN.

12.1. Porcentaje de rendimiento.

De acuerdo con la figura 12 se le atribuye un mayor porcentaje de rendimiento a la extracción por maceración al ser un procedimiento en el cual el material vegetal tiene un contacto prolongado con el disolvente por un periodo de horas e incluso días, permite que haya una difusión mayor de los compuestos presentes en el material vegetal, beneficiando la extracción de una cantidad mayor de extracto (Carrión y García, 2010).

12.2. Análisis de los extractos por Cromatografía en capa fina (CCF).

El cromatofolio de fase normal de la figura 13 fue revelado con el reactivo NP-PEG el cual permite identificar la presencia de compuestos tipo fenólicos, específicamente flavonoides que al ser observada a $\lambda = 365\text{nm}$ presentan fluorescencia, la coloración de cada metabolito es característico y dependiente de su estructura química, por lo que es posible observar fluorescencia en tonalidades amarillas, naranjas, azules y verdes. Los estándares utilizados en la CCF fueron rutina, cuya presencia se puede observar en color naranja-amarillo fluorescente y ácido clorogénico en coloración azul fluorescente (Apuaca-Aspuac *et al.*, 2017).

Es importante tener presente las limitaciones de la CCF, por ejemplo la sensibilidad de esta técnica es moderadamente baja, por lo tanto algunos compuestos con concentraciones bajas presentes en los extractos de *S. nigra* L. no podrían ser observadas por este método (Muñoz, 2015), sin embargo hay técnicas con mayor sensibilidad, como el caso de la espectrofotometría UV-Vis que nos permite cuantificar las concentraciones de los metabolitos secundarios presentes incluso en concentraciones bajas.

12.3. Cuantificación de flavonoides totales.

En la figura 15 se observó una tendencia decreciente en ambos métodos de extracción, lo cual puede atribuirse a la polaridad de aquellos flavonoides que poseen en su estructura grupos hidroxilos insustituídos o glicosilados, lo que permite una mayor afinidad hacia disolventes polares como el etanol, metanol, acetona,

agua o mezclas de estos (Cartaya y Reynaldo, 2001; Rodríguez de Luna et al., 2020).

Las concentraciones más altas se observaron en las muestras extraídas con mayor cantidad de etanol, debido a que los flavonoides son metabolitos con propiedades lipofílicas altas, dificultando la extracción con solventes como el agua, siendo el etanol el solvente más adecuado para la extracción de flavonoides, debido a las características polares y no polares de su estructura (Nagula y Wairkar, 2019).

Con base a la figura 15 podemos inferir que si en un proyecto futuro queremos obtener rutina u otro flavonoide, debemos optar por un sistema de extracción 100% EtOH, debido a que permite la extracción del mayor contenido de flavonoides totales en los extractos de *S. nigra* L.

12.4. Cuantificación de polifenoles totales.

De acuerdo con la figura 17 la concentración de polifenoles totales presenta una tendencia creciente conforme el agente extractante contiene mayor proporción de agua, como es el caso de M5 y U5 en donde ambas el agente extractante es 100% H₂O. Los polifenoles son altamente solubles en agua, ya que muchos presentan en su estructura grupos hidroxilos, volviéndolos hidrofílicos, lo que permite que formen enlaces H con las moléculas del agua, aunque el etanol también contiene grupos hidroxilos es menos polar que el agua (Ferrer et al., 2016).

De acuerdo con los resultados obtenidos se puede observar que los extractos de las partes aéreas del *Sambucus nigra* L. presentan una concentración alta de polifenoles y no presentaron diferencias significativas en ambos métodos de extracción. Es por lo que, utilizar nuevas técnicas de extracción hoy en día es algo muy importante para agilizar la obtención de los extractos, es así que la extracción asistida por ultrasonido ha demostrado ser una de las opciones más eficientes, obteniendo resultados comparables e inclusive en algunos casos, superiores a los de la extracción por maceración. Además, esta técnica no solo nos permite reducir significativamente el tiempo requerido para la extracción, sino que también resulta beneficiosa desde un punto de vista energético (Fajardo et al., 2022).

13. CONCLUSIÓN

Este trabajo permitió la comparación entre dos métodos de extracción con diferente composición de solventes como agente extractante, donde se encontró que: el método de extracción por maceración obtuvo un mayor rendimiento de extracción. Así mismo, el análisis del contenido metabólico por medio de la CCF en todas las muestras permitió identificar la presencia de dos principales metabolitos secundarios en los extractos de las partes aéreas de *S. nigra* L., rutina y ácido clorogénico.

Por otra parte, en este trabajo se observó que la eficiencia para lograr un mayor contenido de flavonoides totales fue mediante la extracción por ultrasonido y utilizando como agente extractante EtOH al 100% o mezclas con mayor concentración de EtOH, en el caso de la cuantificación de la concentración de polifenoles totales, ambos métodos no presentaron muchas diferencias, no obstante, considerando el tiempo de obtención de 45 min del ultrasonido a 3 días del macerado, la mejor opción es la extracción por ultrasonido.

Por lo anterior, es importante destacar que es posible generar condiciones para una mejor obtención de metabolitos secundarios a partir de la selección adecuada del método de extracción y del agente extractante, de acuerdo con el interés de aquellos metabolitos secundarios que se deseen estudiar.

14. GLOSARIO

Alcaloides: Compuestos orgánicos nitrogenados con carácter básico en su mayoría, de origen vegetal y con una estructura química compleja, las cuales tienen diversas acciones farmacológicas en pequeñas dosis.

Extracción: Implica retirar, de la manera más selectiva y exhaustiva posible, las sustancias o fracciones activas presentes en la planta, utilizando un líquido o mezcla de líquidos que sean tecnológicamente adecuados y seguros desde el punto de vista toxicológico.

Extractantes: Sustancia o compuesto empleada con el fin de separar o liberar químicamente otras sustancias de una mezcla más compleja.

Fenoles: Compuestos orgánicos que tienen en su estructura anillos aromáticos los cuales contienen un grupo hidroxilo como su grupo funcional.

Maceración: Es un método de extracción de los compuestos bioactivos de una planta sumergida dentro de un solvente soluble.

Medicina tradicional: Según la definición de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la medicina tradicional abarca el conjunto de conocimientos, técnicas y prácticas basadas en las teorías, creencias y experiencias de diversas culturas, utilizadas para preservar la salud física y mental.

Metabolitos secundarios: Compuestos químicos con propiedades farmacológicas.

Terpenos: Son metabolitos secundarios responsables de las características organolépticas, como el aroma y el sabor, de las plantas.

Ultrasonido: Técnica que permite la extracción completa de los compuestos bioactivos de las plantas, lo que resulta en rendimientos superiores en un tiempo de extracción muy reducido.

15. REFERENCIAS CITADAS

- Abella, I. (2012). *La magia de los árboles* (6ta. Ed.). Barcelona: Editorial Rba Libros.
- Albarracín, G. y Gallo, S. (2003). *Comparación de dos métodos de extracción de aceite esencial utilizando Piper Aduncum (Cordoncillo) procedente de la zona cafetera*. Universidad Nacional de Colombia, Sede Manizales.
- Albert, N., Almeida, M., Arizpe, D., Campos, E. y Rueda, J. (2008). *Manual de Propagación de Árboles y Arbustos de Ribera. Una ayuda para la restauración de riberas en la región mediterránea*. Valencia, España: Generalitat España. 205 p.
- Axpucac-Aspuac, E., Estrada-Palencia, E., Valladares-Jovel, B., Oliva-Hernández, B., Hernández-Hernández, E. y Pérez-Sabino, F. (2017). Metabolitos secundarios y cianotoxinas producidos por cianobacterias del lago de Atitlán. *Revista Científica*, 27(1), <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6185773.pdf>
- Azcón, J. y Talón, M. (2000). *Citoquininas. Fundamentos de Fisiología Vegetal*. (2da Ed.) España: Editorial McGraw Hill S.A Interamericana de España.
- Azuola, R. y Vargas, P. (2007). *Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (EUA)*. *Revista Tecnología en Marcha*, 20(4), 30-40.
- Barnes, J., Anderson, L. A., & Phillipson, J. D. (2007). *Herbal Medicines* (Third edition ed.). Londres: Pharmaceutical Press.
- Bremness L. (1993). *Manual del Herborista. Guía Práctica para el Uso y Cultivo de Plantas Aromáticas y Culinarias*. Madrid. Edición Española, Editorial Raíces.
- Carrión Jara, A. V., y García Gómez, C. R. (2010). Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metódica. *Bioquímica Farmacéutica*, Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador. Recuperado de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/2483>
- Cartaya, O., Reynaldo Inés. Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*. 2001, 22(2), 5-14 ISSN:. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193215009001>

Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). (2009). Catálogo Taxonómico de Especies de México. Cap. Nat. México 1. México: CONABIO.

Coral, D., Coral, J. & Muñoz, D. (2011). *Caracterización del Conocimiento Local del Componente Arbóreo en Fincas Ganaderas*. Revista de Ciencias Agrícolas. Volumen XXVIII No. 2 p. 18-30.

Díaz, J. (2003). *Informe Técnico. Caracterización del mercado Colombiano de plantas medicinales y aromáticas*. Bogotá D.C.

Domínguez, R., Zhang, L., Rocchetti, G., Lucini, L., Pateiro, M., Munekata, P. E. S. y Lorenzo, J. M. (2020). Elderberry (*Sambucus nigra* L.) as potential source of antioxidants. Characterization, optimization of extraction parameters and bioactive properties. Food Chemistry, 330, 127266. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127266>

Duarte-Trujillo, A. S., Jiménez-Forero, J. A., Pineda-Insuasti, J., González-Trujillo, C. A., & García-Juárez, M. (2020). *Extracción de sustancias bioactivas de Pleurotus ostreatus (Pleurotaceae) por maceración dinámica*. Acta biológica colombiana, 25(1), 61-74.

Egbuna, C., Kumar, S., Ifemeje, J.C., Ezzat S. M., Kaliyaperumal, S. (2019) *Phytochemicals as Lead Compounds for New Drug Discovery*. Elsevier, Amsterdam.

Fajardo Contreras, John Daniel, Sánchez Plaza, Francisco Alfredo, Dueñas Rivadeneira, Juan Pablo, & Dueñas Rivadeneira, Alex Alberto. (2022). EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO Y SU APLICACIÓN EN LA OBTENCIÓN DE ACEITES VEGETALES. *Centro Azúcar*, 49(4), 125-143. Epub 01 de octubre de 2022. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2223-48612022000400125&lng=es&tlng=es.

Ferrer Dubois, A. E., Fung Boix, Y., Gómez Luna, L. M., & Cuypers, A. (2016). CONTENIDO DE POLIFENOLES EN *Solanum lycopersicum* L. BAJO LA ACCIÓN DE UN CAMPO MAGNÉTICO ESTÁTICO. *Cultivos Tropicales*, 37(1), 142-147.

Fonnegra, R. y Jiménez, S. (2006). *Plantas medicinales aprobadas en Colombia*. (2da Ed.) Medellín. Editorial Universidad de Antioquia. 347 p.

Font, P. (1990). *Plantas Medicinales El Dioscórides Renovado*. (1ra Ed.). Barcelona: Editorial Labor, S.A.

Fuentes, M. y Aranda, S. (2013). Metodología para extracción de aceite de la microalga *Nannochloropsis oculata* usando ultrasonido. *Revista del Instituto de Investigación de la Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalúrgica y Geográfica*, 16(32). DOI: <https://doi.org/10.15381/iigeo.v16i32.11345>

Giraldo, J., Sinisterra, J. & Murgueitio, E. (2011). Árboles y arbustos forrajeros en policultivos para la producción campesina: Bancos Forrajeros Mixtos. Fundación CIPAV. LEISA Revista de Agroecología, Volumen 27 número 2, Páginas 15 a 18.

Grajales, B. M., Botero, M. M., Ramírez, J. F., (2015). Características, manejo, usos y beneficios del saúco (*Sambucus nigra* L.) con énfasis en su implementación en sistemas silvopastoriles del Trópico Alto. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*. Vol 6. Pag 155-168. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.1271>

Hernández, M. (2011). Ganadería Ecológica, Cartilla 2, Principales especies arbóreas y arbustivas usadas en sistemas silvopastoriles de la región de Sumapaz Colombia. Condiciones agroecológicas, técnicas de propagación y usos en producción ganadera. Universidad de Cundinamarca Sede Principal Fusagasugá y Ciencia gro.

Laffita, O. & Castillo, A. (2011). Caracterización fármacotoxicológica de la planta medicinal *S. nigra* L. subsp. *canadensis* (L). R. Bolli. *Revista Cubana*, 45(4): 586-596.

Lock, O., Cabello, I., y Doroteo, V. (2006). Análisis de Flavonoides en Plantas. Analysis Of Flavonoids In Plants. Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima, Perú.

López, E. (2008). Producción de Bebida Alcohólica de Alta Calidad. Universidad de las Américas, Puebla Cholula, México.

Marcano, Deana, Hasegawa, Masahisa (2018) Fitoquímica Orgánica. Universidad Central de Venezuela

Martín Gordo, D. A. (2018). Los Compuestos Fenólicos, Un Acercamiento A Su Biosíntesis, Síntesis Y Actividad Biológica. *Revista De Investigación Agraria Y Ambiental*, 9(1), 81-104. <https://doi.org/10.22490/21456453.1968>

Mayolo-Deloisa, K., Martínez, L.M., & Rito-Palomares, M.. (2012). Técnicas cromatográficas y su aplicación a estudios de cambios conformacionales, estabilidad y replegamiento de proteínas. *Revista mexicana de ingeniería química*, 11(3), 415-429. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382012000300006&lng=es&tlng=es.

Méndez, Antonio Matthew, Penieres Carrillo, José Guillermo y Ortega Jiménez, Fernando (septiembre 2023). Cromatografía en Capa fina y Columna (monografía). Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM.

Miranda, M. (2002). *Métodos de análisis de drogas y extractos. Instituto de farmacia y alimentos*. Universidad Habana de Cuba. Vol 36.

Medina-Torres, N., Ayora-Talavera, T., Espinosa-Andrews, H., Sánchez-Contreras, A., & Pacheco, N. (2017). Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. *Agronomy*, 7(3), 47.

Morales Reynoso, J.; Veana Hernández, F.; Wong Paz, J. E. & Muñiz Márquez, D. B. (2023). Comparación de métodos de extracción en el contenido fenólico y antioxidante de espada africana (*Sansevieria trifasciata*). *TECTZAPIC Revista Académico-Científica*. DOI: <https://doi.org/10.51896/tectzapic/KMAJ2054>

Mota, A., et al. (2020). Synchronous insight of in vitro and in vivo biological activities of *Sambucus nigra* L. extracts for industrial uses. *Industrial Crops and Products*, 154, 112709. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112709>.

Muñoz-Bernal, Ó. A.; Torres-Aguirre, G. A.; Núñez-Gastélum, J. A.; de la Rosa, L. A.; Rodrigo-García, J.; Ayala-Zavala, J. F.; Álvarez-Parrilla, E. Nuevo Acercamiento

a La Interacción Del Reactivo de Folin-Ciocalteu Con Azúcares Durante La Cuantificación de Polifenoles Totales. TIP 2017, 20 (2), 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.recqb.2017.04.003>.

Muñoz, P.M. (2015). ANÁLISIS METABOLÓMICO DE LA ESPECIE *Baccharis latifolia* (ASTERACEAE) EN LA SABANA DE BOGOTÁ.

Nagula, R. L., & Wairkar, S. (2019). Recent advances in topical delivery of flavonoids: A review. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*, 296, 190–201. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.01.029>

Pahlow, M. (1985). El gran libro de las plantas medicinales, Salud a través de las fuerzas curativas de la naturaleza. España. Editorial EVEREST S.A, Séptima Edición. 465 p.

Peñarrieta, J. Mauricio; Tejeda, Leslie; Mollinedo, Patricia; Vila, José L.; Bravo, José A. Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos Revista Boliviana de Química, vol. 31, núm. 2, julio-diciembre, 2014, pp. 68-81

Peredo, H., Palou, E. y López, A. (2009). *Aceites esenciales: métodos de extracción. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 3(1), 24-32.

Porras, A., López, A. (2009). *Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 3(1), 121-124.

Reynel, C. & Marcelo, J. (2009). *Árboles de los Ecosistemas Forestales Andinos, Manual de Identificación de Especies*. (9na Ed.) Lima: Editorial Intercooperation Fundación Suiza.

Rivas, E., Lengua, L., Liu, H., Salazar, A., Román, L., Salvador, I., Rabanal, P., Castañeda, B., Manrique, R. e Ibáñez, L. (2005). Estudio de la actividad analgésica de extractos metanólicos de *Maytenus krukovii* (chuchuhuasi), *Alchornea castaneifolia* (hiporuro), *Sambucus nigra* (saúco) y *Aristeguietia discolor* (pulmonaria) en ratones frente al Ibuprofeno. Horizonte Médico, vol. 5, núm. pp. 57-61.

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

Rojas, O. (2009). *Hidrodestilación y caracterización del aceite esencial de plantas medicinales de Santa María Huitepec, Oaxaca*. Tesis de maestría. (Ingeniería de procesos). Instituto Politécnico Nacional, México.

Ruiz G., Venegas E., Ruidías D., Horna L. y López, W. (2013). Capacidad antioxidante in vitro de los flavonoides totales obtenidos de las hojas de *Sambucus peruviana* H.B.K. (SAÚCO) proveniente de la ciudad de Huamachuco. *Revista Farmaciencia*. Vol 1(2).

Rzedowski, G. C. de y J. Rzedowski (2001). *Flora fanerogámica del Valle de México*. 2a ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México.

Salisbury, F. y Ross, C. (1992). *Fisiología Vegetal*. México: Grupo Editorial Iberoamericano.

Sánchez y García Figueroa, F. L. (2022). *Fitoquímica*. FES Zaragoza. Recuperado de: <https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/2022/Publicaciones/libros/cbiologia/Fitoquimica.pdf>

Sánchez, L., Amado, G., Criollo, P., Carvajal, T., Roa, J., Cuesta, A., Umana, A., Bernal, L. y Barreto, L. (2010). *El Saúco (Sambucus nigra L.) como alternativa silvopartoril en el manejo sostenible de praderas en el trópico alto Colombiano*. (1ra Ed.). Colombia: Editorial Produmedios.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2017). *Norma Oficial Mexicana NOM-003-SAG/GAN-2017, Propóleos, producción y especificaciones para su procesamiento*. México: Diario Oficial de la Federación, 6 de octubre de 2017.

Sepúlveda, G., Porta, H., y Rocha, M. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(3).

Shen, N., Wang, T., Gan, Q., Liu, S., Wang, L., & Jin, B. (2022). Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. *Food chemistry*, 383, 132531. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132531>

Sidor, A & Gramza-Michałowska, A. (2014). Advanced research on the antioxidant and health benefit of elderberry (*Sambucus nigra* L.) in food. *Journal of Functional Foods*. Vol 18. Parte B. Pag 941-958.

Sierra, M., Barros R., Gómez, D., Mejía, A. y Suarez, D. (2018). Productos Naturales: Metabolitos secundarios y aceites esenciales. Fundación Universitaria Agraria de Colombia. Bogotá D.C.

Suarez, D. y Morales, Y. (2018). Principios básicos de la cromatografía líquida de alto rendimiento para la separación y análisis de mezclas. *Revista Semilleros: Formación investigativa*. Vol 4.

Suárez-Ospina, D., Morales-Hernández, Y. (2018). Principios básicos de la cromatografía líquida de alto rendimiento para la separación y análisis de mezclas. *Revista Semilleros: Formación Investigativa*, 4(1), 7-14.

Taiz, L. y Zeiger, E. (2002). *Plant Physiology*. (3ra Ed.). Sunderland, United States: Editorial Sinauer Associates, Inc., Publishers.

Taiz, L. y Zeiger, E. (2006). *Secondary Metabolites and Plant Defense*. (4ta Ed.) United States: Sinauer Associates.

Vujanović M., Makjic, T., Gökhan, Z., Beara, I., Cvetanovic, A., Mahomoodally, F., Radojkovic, M. (2019). Advantages of contemporary extraction techniques for the extraction of bioactive constituents from black elderberry (*Sambucus nigra* L.) flowers. *Industrial Crops and Products*, 136, 93-101 <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.058>

Wagner, H. and Bladt, S. (2001) Plant Drugs Analysis, a Thin Layer Chromatography. 2nd Edition, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York.

Zadra, M., Piana, M., Brum, T. F. d., Boligon, A. A., Freitas, R. B. d., Machado, M. M., . . . Athayde, M. L. (2012). Antioxidant Activity and Phytochemical Composition of the Leaves of *Solanum guaraniticum* A. St.-Hil. *Molecules*, 17(11), 12560- 12574. doi: 10.3390/molecules171112560

Zhu, H., Wang, Y., Liu, Y. *et al.* Analysis of Flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by UV-Vis Spectrophotometry with Comparative Study on Different Extraction Technologies. *Food Anal. Methods* **3**, 90–97 (2010). <https://doi.org/10.1007/s12161-009-9091-2>

16. Anexos.

16.1 Participación del 5to. Congreso Internacional de Química, Sustentabilidad Energética y Ambiental Dr. Mario Molina Henríquez.



Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Digital.

Título de Tesis:	Estudio comparativo entre dos métodos de extracción para la cuantificación de flavonoides y polifenoles totales en partes aéreas de <i>S. nigra</i> L.
Autor(a) o autores(ras) de la Tesis:	Francisca Kristel Domínguez Reyes
ORCID:	Francisca Kristel Domínguez Reyes [https://orcid.org/0009-0008-7057-1016]
Resumen de Tesis:	<i>Sambucus nigra</i> L., conocido como Saúco negro, es una planta cultivada en huertos debido a las propiedades medicinales que posee; utilizada principalmente como auxiliar en el alivio del resfriado común. El objetivo de este proyecto es comparar la eficiencia entre dos métodos de extracción (maceración y ultrasonido) con base a la variación en la composición del agente extractante y la influencia presente en el contenido de flavonoides y polifenoles totales en extractos hidroalcohólicos de las partes aéreas de <i>Sambucus nigra</i> L. La cuantificación de flavonoides y polifenoles presentes en los extractos obtenidos fue mediante espectrofotometría UV-Vis y el análisis del contenido metabólico fue por cromatografía en capa fina. Los resultados mostraron que en la extracción por ambos métodos el contenido de flavonoides disminuyó conforme aumentó la polaridad de la mezcla extractante y para Polifenoles fue creciente. Por último, en el análisis del contenido

	metabólico se identificaron Rutina y Ácido clorogénico como principales metabolitos.
Palabras clave de la Tesis:	Flavonoides, Polifenoles, Maceración, Ultrasonido, Cromatografía.
Referencias citadas:	Las referencias citadas se encuentran en las páginas 37-44.