

## EFFECTO DEL ULTRASONIDO EN EL RENDIMIENTO Y COMPOSICIÓN FITOQUÍMICA DE LOS EXTRACTOS DE *LIPPIA ALBA* (MILL.) N.E. BROWN

(Ultrasound effect on the performance and phytochemical composition of *Lippia alba* extracts (Mill.) N.E. Brown)

Ulbio Alcívar Cedeño<sup>1</sup>, Gabriel Burgos Briones<sup>2</sup>,  
Andrea Daza López<sup>3</sup>, María Valentina Lucas Bailón<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Universidad Técnica de Manabí, Facultad de Ciencias Matemáticas, Físicas y Químicas, Dept. de Procesos Químicos, Ecuador. [ulbio.alcivar@utm.edu.ec](mailto:ulbio.alcivar@utm.edu.ec). ORCID: 0000-0001-7941-6401

<sup>2</sup> Universidad Técnica de Manabí, Facultad de Ciencias Matemáticas, Físicas y Químicas, Dept. de Procesos Químicos, Ecuador. [gabriel.burgos@tm.edu.ec](mailto:gabriel.burgos@tm.edu.ec). ORCID: 0000-0002-1291-4083

<sup>3</sup> Universidad Técnica de Manabí, Facultad de Ciencias Matemáticas, Físicas y Químicas, Carrera de Ingeniería Industrial, Ecuador. [andreadaza23@outlook.com](mailto:andreadaza23@outlook.com). ORCID: 0000-0001-6413-3919

<sup>4</sup> Universidad Técnica de Manabí, Facultad de Ciencias Matemáticas, Físicas y Químicas, Carrera de Ingeniería Industrial, Ecuador. [mavalilucas@gmail.com](mailto:mavalilucas@gmail.com). ORCID: 0000-0001-9474-6169

### RESUMEN

*Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown es una planta aromática y medicinal que, actualmente, se emplea para el tratamiento de múltiples dolencias gastrointestinales de manera convencional. Se ha comprobado que posee propiedades con poder antibacteriano, antiviral, antiparasitario y antimicótico que convierten a esta planta en materia prima ideal para aplicaciones dentro de la industria farmacéutica. De sus hojas se pueden obtener aceites esenciales, extractos acuosos o alcohólicos mediante diferentes métodos de extracción que permiten evaluar y conocer sus características físicas, químicas, microbiológicas y funcionales. El propósito del presente trabajo fue determinar el efecto de la extracción asistida por ultrasonido sobre las características de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown modificando las condiciones de extracción, realizando extracciones de tres combinaciones bajo tres temperaturas diferentes: 25°C, 40°C y 55°C; y dos tiempos: 30 minutos y 60 minutos, llevando a cabo una caracterización fitoquímica y funcional de los extractos de la planta y así mismo una evaluación de los rendimientos resultantes de dichos extractos. La composición fitoquímica se realizó mediante ensayo de Wagner, Bénédict, espuma,



Shinoda, cloruro férrico y con hidróxido de sodio 10%, identificando presencia de alcaloides, fenoles, taninos y saponinas como compuestos secundarios. La determinación de contenido fenólico se realizó con Folin Ciocalteu y la capacidad antioxidante mediante las técnicas de ABTS, FRAP y DPPH, logrando establecer los extractos con mejores características y con ello conocer la condición de extracción ultrasónica óptima.

## **PALABRA CLAVE**

Antioxidante, extracción, microbiología, ultrasonido.

## **ABSTRACT**

*Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown is an aromatic and medicinal plant that is currently used for the treatment of multiple gastrointestinal ailments in a conventional way. It has been proven to have antibacterial, antiviral, antiparasitic and antifungal properties, which make this plant an ideal raw material for applications within the pharmaceutical industry. From its leaves, essential oils, aqueous or alcoholic extracts can be obtained through different extraction methods that allow evaluating and knowing their physical, chemical, microbiological and functional characteristics. The purpose of this work was to determine the effect of ultrasound-assisted extraction on the characteristics of *Lippia Alba* (Mill.) N.E. Brown modifying the extraction conditions, carrying out extractions of three combinations under three different temperatures: 25°C, 40°C and 55°C; and two times: 30 minutes and 60 minutes, carrying out a phytochemical and functional characterization of the plant extracts and an evaluation of the resulting yields of these extracts. The phytochemical composition was performed by Wagner, Benedict, foam, Shinoda test, ferric chloride and 10% sodium hydroxide, identifying the presence of alkaloids, phenols, tannins and saponins as secondary compounds. The determination of phenolic content was carried out with Folin Ciocalteu and the antioxidant capacity by means of ABTS, FRAP and DPPH techniques, managing to identify the extracts with the best characteristics and determining the optimal ultrasonic extraction condition.



## KEYWORD

Antioxidant, extraction, microbiology, ultrasound.

## INTRODUCCIÓN

El uso de las plantas con propósitos diversos se ha tratado desde que la humanidad existe para fines medicinales y cosméticos, alimenticios, veterinarios, para el control de plagas y enfermedades en la agricultura (Dellacassa, 2010). Sin embargo, se ha intensificado el interés por validar científicamente las bondades de las plantas medicinales a través de estudios que respalden y garanticen productos fitoterapéuticos de calidad, incluyendo en este término la inocuidad, la eficacia y la seguridad de las producciones que puedan beneficiar a un mayor número de personas (Bandoni, Mendiondo, Rondina, & Coussio, 1972).

El Ecuador se destaca por ser considerado como uno de los países con mayor biodiversidad por unidad de área del planeta. Esta biodiversidad no está limitada únicamente por el número de especies de flora y fauna, también se incluyen los distintos tipos de ambientes naturales o ecosistemas que existen en el país debido a su ubicación en la línea ecuatorial. Dentro de este contexto, se encuentra la variedad de plantas medicinales y aromáticas nativas que representan un recurso natural de gran importancia para el estudio de sus características funcionales, representando un gran potencial para su industrialización (Guzmán, Cardozo & García, 2004).

Algunas plantas medicinales y aromáticas andinas se emplean para la extracción de aceites esenciales que son utilizados en la industria farmacéutica y cosmetológica, basándose en un legado de las comunidades indígenas que ha llegado hasta nuestros días de generación en generación (Bandoni, 2000).

Algunas técnicas alternativas son la extracción por fluidos supercríticos, la extracción asistida por microondas y la extracción asistida por ultrasonido que ofrecen ventajas en la reducción de los tiempos de operación y consumo de energía; sin embargo, llevar estos métodos a escala industrial



supone un verdadero desafío debido a sus requerimientos de investigación e innovación que repercuten favorablemente en la relación calidad- costo (Peredo, Palou García, & López Malo, 2009).

En años recientes se han estudiado los extractos y aceites esenciales de condimentos y especias desde un punto de vista funcional. Es decir, se ha estudiado si los extractos o aceites esenciales tienen actividad antimicrobiana, si actúan como agentes antioxidantes o si aportan nutrimentos. Los métodos de obtención de extractos o aceites esenciales determinan el uso de estos. El tipo de disolventes pueden contaminarlos o limitar su uso, dependiendo de la toxicidad del disolvente y de las técnicas utilizadas para su eliminación (Thongson, Davidson, Mahakarnchanakul, & Weiss, 2004).

Dentro de la familia Verbenaceae, se encuentra la planta *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown ex Britton & P. Wilson (género *Lippia*) (Oliveira, Leitao, Bizzo, Alviano, & Leitao, 2007) una especie semiarbusciva muy aromática que crece de manera espontánea y que posee un alto potencial como fuente para la obtención de extractos para la industria farmacéutica.

El ultrasonido es un método para la obtención de extractos y hacen uso de fenómenos físicos y químicos que son fundamentalmente diferentes a los que se aplican convencionalmente en las técnicas de extracción, procesamiento y conservación. Ofrece ventajas en términos de productividad, rendimiento y selectividad, ya que se obtienen mejores tiempos de proceso, mejora la calidad, reduce riesgos químicos y físicos, considerado además ambientalmente amigable. Actualmente es definida como una técnica de procesamiento sustentable debido a que típicamente emplea menos tiempo, agua y energía.

Sin embargo, el desconocimiento generalizado que se tiene acerca de las propiedades beneficiosas y características de esta planta no ha permitido lograr su potencial explotación a nivel industrial (Álvarez, Uribe, Acevedo, & Lesmes, 2015), por lo que se optó como materia prima para determinar el efecto de la extracción asistida por ultrasonido sobre el rendimiento y la composición fitoquímica de los extractos de *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown.

## MATERIALES Y MÉTODO

Las muestras se encuentran localizadas en la comunidad San Ignacio de la parroquia Charapotó, cantón Sucre, provincia de Manabí, Ecuador a  $-0,828675$ :  $-80,510000$ , en una zona con un bosque tropical seco, riparia y rodeada de cultivos de arroz, cebolla, tomate y melón según Tubay (2018).

Una vez recolectado el material vegetal se procede a su limpieza, a través de la separación manual de compuestos ajenos a la parte de interés de la planta en estudio como ramas, flores, raíces y tallos. A continuación, la muestra se somete a un proceso de secado en una estufa a una temperatura de  $45^{\circ}\text{C}$  (Rodríguez Ferradá, Carballo Guerra, Hechevarría Sosa, & Acosta de la Luz, 2005) durante un tiempo de 5 horas, el mismo que fue determinado por un estudio de la cinética de secado de la planta. Este proceso se realiza con el fin de alcanzar un contenido de humedad óptimo de hasta un 12% (Delgado Ospina, Sánchez Orozco, & Bonilla Correa, 2016).

Para la preparación de la materia prima a utilizarse en las extracciones se realizó un estudio de la cinética de secado, de acuerdo con Ocon y Tojo (1980) estableciendo las condiciones de operación. Las mismas que pueden variar en relación con la humedad inicial de la materia prima a procesar, la cual se encuentra en valores promedios cercanos al 67% de humedad. Las condiciones establecidas en el equipo fueron: 45 grados Celsius en un tiempo de 5 horas, con un flujo de aire de  $0,85 \text{ Kg / h}$ . Esto logró llevar al producto a una humedad final del 12% de humedad para todas las muestras evaluadas, generando condiciones ideales para las siguientes operaciones de extracción. Con base en la cinética estudiada se puede suponer que el mecanismo de secado para el agua presente en la muestra se logra a través del mecanismo de osmosis, que es el mecanismo de mayor influencia dentro de los procesos de secado para materiales vegetales de este tipo. Tal como lo establecen autores como Treybal (1980) y Geankoplis (1998).

El tamizaje fitoquímico se determinó por medio de ensayos cualitativos y la actividad funcional por el método cuantitativo de espectrofotometría, descritos en la Tabla 1 según Daza y Lucas (2019).

**Tabla 1.** Técnicas empleadas en la investigación

VARIABLE	TÉCNICA
Rendimiento	Relación Volumen final / Volumen recuperado
Concentración	Relación Peso/ Volumen
Tamizaje fitoquímico	Ensayo con NaOH 10% -Ensayo de cloruro férrico. -Ensayo Shinoda -Ensayo de Espuma -Ensayo de Wagner -Ensayo de Benedit
Contenido fenólico	Folin- Ciocalteu
Actividad antioxidante	ABTS, FRAP, DPPH

En la Tabla 2 según Daza y Lucas (2019), se muestran los parámetros que se modificaron en cada uno de los procesos extractivos realizados.

**Tabla 2.** Condiciones de operación establecidas para cada extracción

Condiciones de operación				
Solventes	Proporción	Potencia (W)	Temperatura (°C)	Tiempo (min)
Etanol- Agua*	1: 1	50	25	30
				60
		290	40	30
Hexano	1	50	25	60
Acetona- Metanol- Agua	7: 7: 6	290	40	30

## RESULTADOS

Se llevó a cabo un análisis comparativo para los valores de rendimiento descrito en la Tabla 3 (Daza y Lucas, 2019), donde se comparó la variación estadística que se presenta para los porcentajes obtenidos en los extractos bajo las distintas condiciones de extracción.

**Tabla 3.** ANOVA del rendimiento

Fuente	Suma de Cuadrados	gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-p
Entre grupos	12983,1	5	2596,61	137,50	0,0000
Intra grupos	226,611	12	18,8842		
Total (Corr.)	13209,7	17			

En la Tabla 4, se realizó un análisis comparativo para los valores de concentración obtenidos de los distintos extractos analizados, en el cual se comparó la variación estadística que se presenta para esta variable (Daza & Lucas, 2019).

**Tabla 4.** ANOVA de concentración

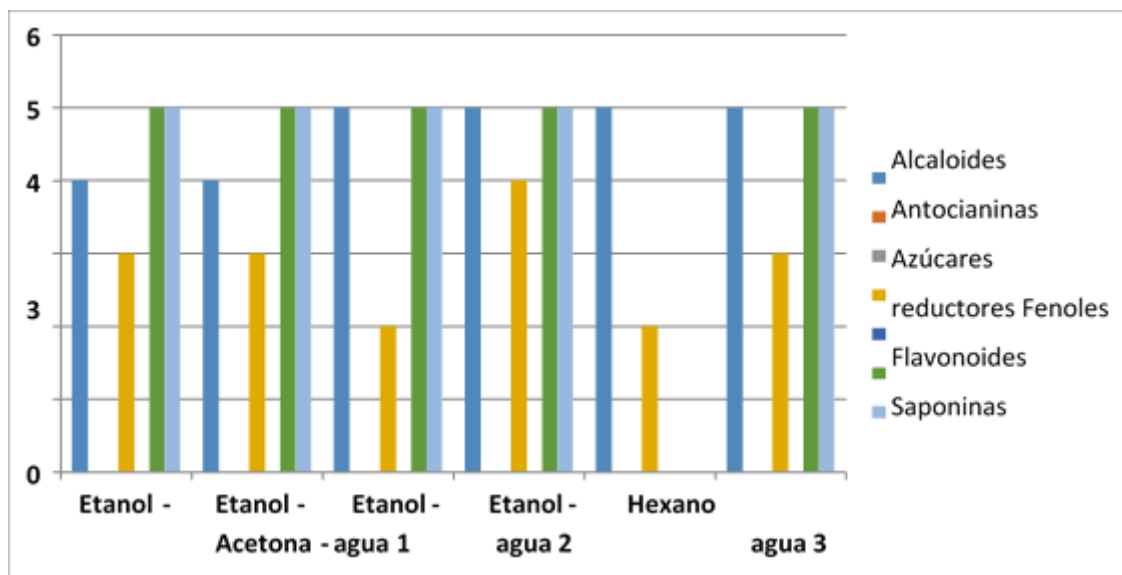
Fuente	Suma de Cuadrados	gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-p
Entre grupos	1326,96	5	265,392	5,83	0,0074
Intra grupos	546,488	12	45,5406		
Total (Corr.)	1873,45	17			

En la Tabla 5 y Figura 1, se muestran los resultados obtenidos en el tamizaje preliminar fitoquímico realizado a cada uno de los extractos analizados. Se identifican la presencia de ciertos metabolitos secundarios con una leve hasta una abundante concentración, de acuerdo con los parámetros bajo los cuales han sido obtenidos. En la gráfica se evidencia que los extractos de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown tienen presencia de alcaloides, fenoles, taninos y saponinas, a

excepción de los extractos obtenidos con hexano que no presentan taninos ni saponinas en su composición.

**Tabla 5.** Resultados obtenidos del tamizaje fitoquímico de los extractos de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown

	Etanol - agua 1	Etanol - agua 2	Etanol - agua 3	Etanol - agua 4	Hexano	Acetona - metanol - Agua
<b>Alcaloides</b>	4	4	5	5	5	5
<b>Antocianinas</b>	0	0	0	0	0	0
<b>Azúcares reductores</b>	0	0	0	0	0	0
<b>Fenoles</b>	3	3	2	4	2	3
<b>Flavonoides</b>	0	0	0	0	0	0
<b>Saponinas</b>	5	5	5	5	0	5
<b>Taninos</b>	5	5	5	5	0	5



**Figura 1.** Resultado del tamizaje fitoquímico de los extractos de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown



Se comparó la variación estadística de los resultados de contenido fenólico obtenidos para cada uno de los extractos en estudio, realizando un análisis comparativo descrito en la Tabla 6 según Daza y Lucas (2019).

**Tabla 6.** ANOVA de contenido fenólico

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-p</b>
Entre grupos	79952,4	5	15990,5	2,60	0,0456
Intra grupos	184662,0	30	6155,4		
Total (Corr.)	264614,4	35			

En la Tabla 7, se desarrollaron unos análisis comparativos de los valores de capacidad antioxidante obtenidos por la técnica ABTS de los distintos extractos, excepto para aquellos obtenidos con acetona- metanol y agua que se sometieron a los análisis por las técnicas de FRAP y DPPH. Se comparó la variación estadística que se manifiesta para la actividad antioxidante.

**Tabla 7.** ANOVA de ABTS

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-p</b>
Entre grupos	12740,1	4	3185,03	3,29	0,0269
Intra grupos	24215,8	25	968,633		
Total (Corr.)	36955,9	29			

Se desarrolló un análisis de la variación estadística para los valores resultantes de la capacidad antioxidante por la técnica de FRAP de los extractos obtenidos con etanol - agua 3, debido a que estos presentaron mejores resultados de contenido antioxidante en la técnica de ABTS, tal como se muestra en la Tabla 8. Así mismo, se incluyeron los resultados de los extractos obtenidos con acetona - metanol - agua bajo las mismas condiciones para descartar el uso de alguna de estas combinaciones de solventes.

**Tabla 8.** ANOVA de FRAP

Fuente	Suma de Cuadrados	gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-p
Entre grupos	45641,6	3	15213,9	81,09	0,0000
Intra grupos	4502,54	24	187,606		
Total (Corr.)	50144,2	27			

La Tabla 9 muestra el desarrollo de un análisis comparativo para los valores del contenido antioxidante obtenidos por la técnica de DPPH que expresa la cantidad de radicales libres de los extractos analizados de igual manera por la técnica de FRAP. Se compara la variación estadística que se manifiesta para la actividad antioxidante.

**Tabla 9.** ANOVA de DPPH

Fuente	Suma de Cuadrados	gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-p
Entre grupos	12,5807	5	2,51615	130,15	0,0000
Intra grupos	2,20399	114	0.0193332		
Total (Corr.)	14,7847	119			

## CONCLUSIONES

Al término de la presente investigación se determinó a manera general que los parámetros de operación y de extracción utilizados en el proceso de extracción asistida por ultrasonido tienen influencia en las características de los extractos de la planta *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. Se obtuvieron extractos mediante la modificación del tipo de solventes, temperatura, tiempo y potencia empleados en los diferentes procesos extractivos. Se establecieron como los mejores

solventes las combinaciones de etanol-agua y acetona-metanol-agua bajo las mismas condiciones de temperatura, tiempo y potencia. Sin embargo, se considera óptima el uso de la primera.

Se evaluó el rendimiento de los extractos de la especie bajo diferentes condiciones, siendo los extractos obtenidos a partir de etanol-agua los que presentaron un alto porcentaje de rendimiento en comparación a los demás extractos, así mismo se determinó la concentración de las muestras donde la de hexano mostró el mejor porcentaje. Sin embargo, dicho extracto presenta un rendimiento insignificante por lo que se descarta como alternativa para este trabajo.

De la misma manera, se identificó en la caracterización fitoquímica de los extractos la presencia de metabolitos secundarios activos: alcaloides, fenoles, saponinas y taninos para todas las extracciones analizadas, a excepción de aquellas obtenidas con hexano que dio como resultado negativo en saponinas y taninos, lo cual demostró la presencia de compuestos bioactivos de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown con características desde mediana hasta altamente polares debido a los disolventes orgánicos polares (agua, etanol, metanol y acetona) empleados en las extracciones.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez, I. J., Uribe, C. A., Acevedo, J. O., & Lesmes, R. (2015). Análisis de la Producción de Aceite Esencial de *Lippia alba* por Destilación Mediante Arrastre de Vapor en Planta Móvil. *Revista Integra*, 2(1), 5-34.
- Bandoni, A., Mendiondo, M., Rondina, R., & Coussio, J. (1972). Survey of Argentine medicinal plants. I. Folklore and phytochemical screening. *Lloydia*, 35, 69-80.
- Bandoni, A. (2000). *Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica* (2 ed.). Buenos Aires.
- Daza López, A.V. y Lucas Bailón, M.V. (2019). *Efecto de la extracción asistida por ultrasonido sobre el rendimiento y la composición fitoquímica de los extractos de Lippia Alba (Mill.) N.E. Brown* [tesis de licenciatura no publicada, Universidad Técnica de Manabí, Ecuador]



- Delgado Ospina, J., Sánchez Orozco, M. S., & Bonilla Correa, C. R. (2016). Efecto del secado y la edad de las plantas en la composición de los aceites esenciales de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson y *Lippia origanoides* Kunth. *Acta Agronómica*, 65(2), 170-175. <https://doi.org/10.15446/acag.v65n2.47576>
- Dellacassa, E. (2010). *Normalización de productos naturales obtenidos de especies de la flora aromática latinoamericana: proyecto CYTED IV*. 20. Porto Alegre: EdiPUCRS.
- Geankoplis, C. J. (1998). *Procesos de Transporte y Operaciones Unitarias*. Editorial CECSA.
- Guzmán, S. P., Cardozo, R., & García, V. (2004). Desarrollo agrotecnológico de *Lippia alba* (Miller) NE Brown ex Britton & Wilson. *Revista Científica Guillermo de Ockham*, 2 (1). <https://doi.org/10.21500/22563202.461>
- Ocon, J., & Tojo, G. (1980). *Problemas de Ingeniería Química - Operaciones Básicas*. Editorial Aguilar.
- Oliveira, D. R., Leitao, G. G., Bizzo, H. R., Alviano, D. S., Alviano, C. S., & Leitão, S. G. (2007). Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia origanoides* HBK. *Food Chemistry*, 101(1), 236-240. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.01.022>
- Peredo, H. A., Palou, E., & López, A. (2009). Aceites esenciales: métodos de extracción. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 3(1), 24-32.
- Rodríguez Ferradá, C. A., Carballo Guerra, C., Hechevarría Sosa, I., & Acosta de la Luz, L. (2005). Ahorro de energía en el secado de plantas medicinales. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 10(1). [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962005000100011&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962005000100011&lng=es&tlng=es).
- Thongson, C., Davidson, P. M., Mahakarnchanakul, W., & Weiss, J. (2004). Antimicrobial activity of ultrasound-assisted solvent-extracted spices. *Letters in applied microbiology*, 39(5), 401–406. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2004.01605.x>
- Treybal, R. (1980). *Operaciones de Transferencia de Masa*. Editorial Mc Graw Hill.

# Revista Colón Ciencias, Tecnología y Negocios

ISSN: 2313-7819

[revistas.up.ac.pa/index.php/revista\\_colon\\_ctn](http://revistas.up.ac.pa/index.php/revista_colon_ctn)



Tubay Bermúdez, C. (2018). Composición química (volátiles), caracterización físico química y actividades biológicas del aceite esencial de *Lippia alba* de Ecuador. [tesis de maestría no publicada, Universidad Politécnica de Leiria, Portugal].