

	UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA GESTIÓN SERVICIOS BIBLIOTECARIOS						
	CARTA DE AUTORIZACIÓN						
CÓDIGO	AP-BIB-FO-06	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA	1 de 2

Neiva, 24 de Enero de 2020

Señores

CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA

Ciudad

El (Los) suscrito(s):

Ana María Mora López, con C.C. No. 1.075.310.494 de Neiva (H),

Aldemar Morales Loaiza, con C.C. No. 1.075.311.145 de Neiva (H),

Yilber Alexis Valderrama Córdoba, con C.C. No. 1.081.157.662 de Rivera (H),

Autores de la tesis y/o trabajo de grado titulado “Aprendizaje sobre el aislamiento e identificación de metabolitos secundarios del helecho *Eupodium pittieri* a través del modelo investigativo en estudiantes del programa de Licenciatura en Ciencias Naturales y Educación Ambiental de la Universidad Surcolombiana” presentado y aprobado en el año 2019 como requisito para optar al título de

Licenciados en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología;

Autorizamos al CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN de la Universidad Surcolombiana para que, con fines académicos, muestre al país y el exterior la producción intelectual de la Universidad Surcolombiana, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera:

- Los usuarios puedan consultar el contenido de este trabajo de grado en los sitios web que administra la Universidad, en bases de datos, repositorio digital, catálogos y en otros sitios web, redes y sistemas de información nacionales e internacionales “open access” y en las redes de información con las cuales tenga convenio la Institución.
- Permita la consulta, la reproducción y préstamo a los usuarios interesados en el contenido de este trabajo, para todos los usos que tengan finalidad académica, ya sea en formato Cd-Rom o digital desde internet, intranet, etc., y en general para cualquier formato conocido o por conocer, dentro de los términos establecidos en la Ley 23 de 1982, Ley 44 de 1993, Decisión Andina 351 de 1993, Decreto 460 de 1995 y demás normas generales sobre la materia.
- Continúo conservando los correspondientes derechos sin modificación o restricción alguna; puesto que, de acuerdo con la legislación colombiana aplicable, el presente es un acuerdo jurídico que en ningún caso conlleva la enajenación del derecho de autor y sus conexos.

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, “Los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores”, los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.

Vigilada Mineducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.



UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
GESTIÓN SERVICIOS BIBLIOTECARIOS



CARTA DE AUTORIZACIÓN

CÓDIGO

AP-BIB-FO-06

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2014

PÁGINA

2 de 2

ANA MARÍA MORA LÓPEZ (AUTOR):

Firma:

ALDEMAR MORALES LOAIZA (AUTOR):

Firma:

YILBER ALEXIS VALDERRAMA CÓRDOBA (AUTOR)

Firma:

Vigilada Mineducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.

	UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA						
	GESTIÓN SERVICIOS BIBLIOTECARIOS						
	DESCRIPCIÓN DE LA TESIS Y/O TRABAJOS DE GRADO						
CÓDIGO	AP-BIB-FO-07	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA	1 de 3

TÍTULO COMPLETO DEL TRABAJO: “Aprendizaje sobre el Aislamiento e Identificación de Metabolitos Secundarios del Helecho *Eupodium pittieri* a través del Modelo Investigativo, en Estudiantes del Programa de Licenciatura en Ciencias Naturales y Educación Ambiental de la Universidad Surcolombiana”

AUTOR O AUTORES:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Mora López	Ana María
Morales Loaiza	Aldemar
Valderrama Córdoba	Yilber Alexis

DIRECTOR Y CODIRECTOR TESIS:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre

ASESOR (ES):

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Castañeda Gómez	Jhon Fredy
Narváez Zamora	Luis Javier

PARA OPTAR AL TÍTULO DE: Licenciado(a) en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología

FACULTAD: Educación

PROGRAMA O POSGRADO: Licenciatura en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología

CIUDAD: Neiva (H) **AÑO DE PRESENTACIÓN:** 2019 **NÚMERO DE PÁGINAS:** 286

Vigilada Mineducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.

	UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA GESTIÓN SERVICIOS BIBLIOTECARIOS					
	DESCRIPCIÓN DE LA TESIS Y/O TRABAJOS DE GRADO					
CÓDIGO	AP-BIB-FO-07	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA 2 de 3

TIPO DE ILUSTRACIONES (Marcar con una X):

Diagramas X Fotografías X Grabaciones en discos___ Ilustraciones en general X Grabados___
Láminas___ Litografías___ Mapas___ Música impresa___ Planos___ Retratos___ Sin ilustraciones___ Tablas
o Cuadros X

SOFTWARE requerido y/o especializado para la lectura del documento:

MATERIAL ANEXO:

PREMIO O DISTINCIÓN (*En caso de ser LAUREADAS o Meritoria*): Laureada

PALABRAS CLAVES EN ESPAÑOL E INGLÉS:

<u>Español</u>	<u>Inglés</u>	<u>Español</u>	<u>Inglés</u>
1. Aprendizaje	Learning	6. Tamizaje	Screening
2. Fitoquímica	Phytochemical	7. Cromatografía	Chromatography
3. Modelo Investigativo	Research Model	8. Espectroscopía	Spectroscopy
4. Ciencias Naturales	Natural Sciences	9. Experimentación	Experimentation
5. Intervención didáctica	Didactic Intervention	10. Hipótesis	Hypotesis

RESUMEN DEL CONTENIDO: (Máximo 250 palabras)

El presente estudio se realizó con el fin de estimar la eficacia del modelo investigativo como estrategia de aprendizaje de algunos conceptos asociados al aislamiento e identificación de metabolitos secundarios del helecho *Eupodium pittieri*, en estudiantes del programa de Licenciatura en Ciencias Naturales de la Universidad Surcolombiana. Inicialmente los autores diseñaron la estrategia didáctica a aplicar, junto al respectivo cuestionario en escala Likert para valorar los saberes del estudiantado en los dos momentos de intervención (pretest y postest). Como muestra del estudio, participaron los 26 estudiantes matriculados en la asignatura de Fitoquímica dividida en un grupo control y experimental. En el grupo control se encontró un aprendizaje inicial del 71%, al finalizar se obtuvo un decremento conceptual del 0,75% obteniendo una estructura cognitiva final de 70,25%. El grupo experimental evidenció una estructura inicial del 69%, posterior a la intervención del modelo investigativo se obtuvo un aprendizaje final de 75,78% con una ganancia conceptual del 6,78%. Por prueba de hipótesis, la ubicación del Z calculado en la zona de alta significancia de la

	UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA GESTIÓN SERVICIOS BIBLIOTECARIOS						
	DESCRIPCIÓN DE LA TESIS Y/O TRABAJOS DE GRADO						
CÓDIGO	AP-BIB-FO-07	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA	3 de 3

curva binomial para el grupo experimental, permitió consolidar la eficacia del modelo investigativo como estrategia para el aprendizaje de conceptos fitoquímicos asociados al aislamiento e identificación de metabolitos secundarios en la especie vegetal de estudio.

ABSTRACT: (Máximo 250 palabras)

The present study was accomplished in order to estimate the efficacy of the research model as a learning strategy for some concepts associated with the isolation and identification of secondary metabolites of the *Eupodium pittieri* fern, in students of the Bachelor of Natural Sciences program of the Universidad Surcolombiana. Initially, the authors designed the didactic strategy to be applied, together with the respective Likert scale questionnaire to assess the students' knowledge in the two intervention moments (pretest and posttest). As a sample of the study, the 26 students enrolled in the subject of Phytochemistry divided into a control and experimental group participated. In the control group an initial learning of 71% was found, at the end a conceptual decrease of 0.75% was obtained obtaining a final cognitive structure of 70.25%. The experimental group showed an initial structure of 69%, after the intervention of the research model, a final learning of 75.78% was obtained with a conceptual gain of 6.78%. By hypothesis test, the location of the Z calculated in the zone of high significance of the binomial curve for the experimental group, allowed to consolidate the effectiveness of the research model as a strategy for learning phytochemical concepts associated with the isolation and identification of secondary metabolites in the plant species of study.

APROBACION DE LA TESIS

Nombre Presidente Jurado: Alcides Polanía Patiño

Firma:



Nombre Jurado: José Joaquín García García

Firma:



Vigilada Mineducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.



Facultad de Educación

Licenciatura en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología

**Aprendizaje sobre el Aislamiento e Identificación de Metabolitos
Secundarios del Helecho *Eupodium pittieri* a través del Modelo Investigativo,
en Estudiantes del Programa de Licenciatura en Ciencias Naturales y
Educación Ambiental de la Universidad Surcolombiana**

Ana María Mora López

Aldemar Morales Loaiza

Yilber Alexis Valderrama Córdoba

Neiva, Huila, Colombia

Diciembre de 2019



Facultad de Educación

Licenciatura en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología

**Aprendizaje sobre el Aislamiento e Identificación de Metabolitos
Secundarios del Helecho *Eupodium pittieri* a través del Modelo Investigativo,
en Estudiantes del Programa de Licenciatura en Ciencias Naturales y
Educación Ambiental de la Universidad Surcolombiana**

**Tesis de Grado para optar al título de
Licenciado en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología**

Presentan:

Ana María Mora López

Aldemar Morales Loaiza

Yilber Alexis Valderrama Córdoba

Asesores

Ph.D. Jhon Fredy Castañeda Gómez

M. Sc. Luis Javier Narváez Zamora

Neiva, Huila, Colombia

Diciembre de 2019

NOTA DE ACEPTACIÓN

Presidente del Jurado

Jurado

DEDICATORIA

Esta tesis de investigación la quiero dedicar principalmente a Dios Padre Celestial, por brindarme cada día la sabiduría, inteligencia, entendimiento y la paciencia para culminar satisfactoriamente mi trabajo de grado, además por ser mi compañero, amigo, mi razón de ser, en fin, mi todo. Darles las gracias a mis padres Armando Mora Gutiérrez y Martha Cecilia López, por su esfuerzo, y apoyo incondicional en todo mi proceso de aprendizaje, de igual manera, por otorgarme sus consejos, amor, e inculcarme siempre la ética, los valores, principios y virtudes; por el ejemplo y valentía que siempre me demostraron para salir adelante y cumplir todas las metas que como seres humanos nos proponemos. A mi querida hermana Danna Michell Mora López, por ser mi apoyo y extenderme su mano en momentos que más he necesitado. A todos mis restantes familiares, docentes y amigos porque de una u otra manera me brindaron su amor, confianza y apoyo para lograr esta meta. Por estas razones y muchas más, infinitos agradecimiento, ¡los amo!

Ana María Mora López

A mi padre Aldemar Morales Rodríguez y madre Rosa Tulia Loaiza Capera, quienes han dado la mitad de sus vidas en mi formación. A mis hermanas especialmente a Xiomara Morales Loaiza por su deslumbrante llegada a nuestras vidas.

Aldemar Morales Loaiza

Dedico de manera especial este trabajo de investigación a mis padres, Alejo Valderrama y Ana Lucía Córdoba quienes han sido el cimiento de mi vida, pues con su apoyo, consejos, acompañamiento y enseñanzas me han formado como ser y me han permitido llegar hasta este nivel. Al resto de mi familia por sus palabras de aliento, me dieron la fortaleza para seguir adelante y perseverar por mis sueños e ideales. Por último, a todos mis docentes y amigos quienes, con sus vivencias durante mi formación, han compartido su conocimiento contribuyendo en gran manera para la culminación de esta etapa profesional.

Yilber Alexis Valderrama Córdoba

AGRADECIMIENTOS

A los directores de tesis Luis Javier Narváez Zamora y Jhon Fredy Castañeda Gómez del Programa de Licenciatura en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología de la Universidad Surcolombiana, por su apoyo incondicional, estímulo y compañía permanente en la realización fructífera de este trabajo de grado.

A los profesores: Marino Valdemar Muñoz Burbano, Elías Francisco Amorteguí, Alcides Polanía Patiño, Paula Andrea Charry Sánchez y Eunice Ríos Vásquez por la colaboración en los juicios de experto emitidos en la validación del cuestionario de recabación de saberes.

En gran medida a la coordinación del laboratorio de Química de Ciencias Básicas de la Universidad Surcolombiana, a cargo de la Licenciada Yeimis Yoana Montealegre Figueroa, y a la coordinación del Laboratorio de Biología a Cargo del Licenciado Wilson Rodrigo Cruz, por brindarnos los espacios y el respaldo para la ejecución metodológica del presente proyecto.

A los participantes de la grata experiencia en el curso de Fitoquímica 2019-1 de la Universidad Surcolombiana, así como todas aquellas personas que contribuyeron en la construcción y enriquecimiento de este trabajo de grado.

A los jurados del presente trabajo de investigación Mg. Alcides Polanía Patiño y al PhD. José Joaquín García García, por su dedicación y aportes en beneficio del enriquecimiento de la presente investigación.

TABLA DE CONTENIDO

Índice de Tablas	8
Índice de Ilustraciones	10
1. Introducción	13
2. Antecedentes.....	17
2.1. Internacionales	17
2.2. Nacional.....	24
2.3. Regional.....	29
3. Planteamiento del Problema.....	32
4. Justificación.....	35
5. Objetivos.....	37
5.1 Objetivo General	37
5.2 Objetivo Específicos	37
6. Marco Teórico.....	38
6.1 Aprendizaje Sobre el Aislamiento e Identificación de Metabolitos Secundarios ...	38
6.1.1. Paradigma actual del aprendizaje.....	38
6.1.2. El aprendizaje basado en investigación.	39
6.1.3. Concepciones.....	42
6.1.4. Aprendizaje de la química, biología, fitoquímica	42
6.1.5. Secuencias didácticas.....	44
6.1.6. Proyectos de investigación.	45
6.2 Bioprospección de la Especie Vegetal.....	46
6.2.1. Generalidades de la familia Marattiaceae y del género Eupodium.	46
6.2.2. Taxonomía.....	47
6.2.3. Usos comunes de los helechos.	48
6.3 Tamizaje Fitoquímico	49
6.4 La Fitoquímica y la Etnobotánica.....	50
6.5 Metabolismo Secundario y Actividades Biológicas	51
6.6 Técnicas de Separación de Compuestos Naturales	52
6.6.1. Cromatografía en columna.	52
6.6.2. Cromatografía en capa fina.	53

6.7	Técnicas Modernas de Identificación Estructural	53
6.7.1.	Identificación espectroscópica mediante absorción en el ultravioleta visible (uv-vis).....	53
6.7.2.	Identificación espectroscópica mediante absorción en el infrarrojo (IR).	54
7.	Metodología.....	55
7.1	Tipo de Investigación	55
7.2	Diseño de Investigación.....	56
7.3	Técnicas de Recolección de Información	56
7.5	Intervención Didáctica.....	57
7.6	Etapas de la investigación.....	58
7.6.1	Etapa inicial.....	58
7.6.2.	Etapa de desarrollo.....	58
7.6.3.	Etapa final.	66
8.	Resultados y Discusión	67
8.1	Resultados y Análisis del Grupo Control	67
8.2	Resultados y Análisis del Grupo Experimental	84
8.3	Comparación entre el Grupo Control vs Experimental	100
8.4	Consideraciones Adicionales de Aprendizaje para el Grupo Experimental.	101
8.4.1	Elaboración del miniproyecto de investigación.....	102
8.4.2	Trabajo experimental.	102
8.4.3	Socialización.	111
9.	Conclusiones.....	129
10.	Recomendaciones	132
11.	Referencias Bibliográficas.....	134
12.	Anexos	147

Índice de Tablas

Tabla No. 1 Recopilación de antecedentes a nivel internacional.....	20
Tabla No. 2 Recopilación de antecedentes a nivel nacional.....	26
Tabla No. 3 Recopilación de antecedentes a nivel regional.	31
Tabla No. 4 Clasificación taxonómica de la especie sometida a estudio <i>Eupodium pittieri</i> . Tomado de: Colecciones Científicas del Instituto de Ciencias Naturales (ICN) de la Universidad Nacional de Colombia, por (Hagemann, 2012)Universidad Nacional de Colombia.....	47
Tabla No. 5 Estructura cognitiva inicial del Grupo Control.	68
Tabla No. 6 Medidas de tendencia central obtenidas en pretest. Grupo Control.....	68
Tabla No. 7 Estructura cognitiva final del Grupo Control.....	69
Tabla No. 8 Medidas de tendencia central obtenidas en postest. Grupo Control.	70
Tabla No. 9 Estructura cognitiva del Grupo Experimental – Pretest.....	84
Tabla No. 10 Medidas de tendencia central obtenidas en Pretest. Grupo Experimental.	85
Tabla No. 11 Estructura cognitiva del Grupo Experimental – Postest.	85
Tabla No. 12 Medidas de tendencia central obtenidas en postest. Grupo Experimental.....	86
Tabla No. 13 Clasificación de los terpenos. Adaptado de (Primo, 1995, pág. 851)	126
Tabla No. 14 Plan de Evaluación del instrumento.....	153
Tabla No. 15. Profesionales expertos que participaron en la validación del instrumento.	154
Tabla No. 16 Valoración de los ítems del instrumento para evaluador 1	155
Tabla No. 17 Consistencia de la prueba para evaluador 1	156
Tabla No. 18 Valoración de los ítems del instrumento para evaluador 2	157
Tabla No. 19 Consistencia de la prueba para evaluador 2	157
Tabla No. 20 Valoración de los ítems del instrumento para evaluador 3	158
Tabla No. 21 Consistencia de la prueba para evaluador 3.....	158
Tabla No. 22 Valoración de los ítems del instrumento para evaluador 4.....	159
Tabla No. 23 Consistencia de la prueba para evaluador 4.....	160
Tabla No. 24 Valoración de los ítems del instrumento para evaluador 5.....	161
Tabla No. 25 Consistencia de la prueba para evaluador 5.....	162
Tabla No. 26. Razón de validez de contenido (CRV).....	163
Tabla No. 27. Consistencia del instrumento de investigación.	163
Tabla No. 28 Aspectos didácticos del proyecto.....	166
Tabla No. 29 Relación de ensayos realizados para determinar la presencia de flavonoides.	190
Tabla No. 30 Ensayo realizado en la determinación de flavonoides.	195
Tabla No. 31 Resultados obtenidos por medio de las pruebas de identificación preliminar de saponinas.....	218
Tabla No. 32 Polaridad de disolventes. Tomado de (Jestval, 2012).....	234
Tabla No. 33 Resultados pruebas cualitativas	236
Tabla No. 34 Clasificación de terpenos. Tomado de (Wallach , 1987) citado en (Palá Paúl, 2002)	252
Tabla No. 35 Clasificación taxonómica de la especie sometida a estudio <i>Eupodium pittieri</i> . Tomado de: Colecciones Científicas del Instituto de Ciencias Naturales (ICN) de la Universidad Nacional de Colombia, por (Hagemann, 2012).	254

Tabla No. 36 Pruebas cualitativas de Terpenos y Esteroides para los extractos de las plantas estudiadas.....	261
Tabla No. 37 Síntesis de Presencia / Ausencia de Metabolitos secundarios en los Extractos....	262

Índice de Ilustraciones

Ilustración No. 1 Fronde de la especie <i>E. pittieri</i> . Tomado de (Orozco 2015).	48
Ilustración No. 2 Estructura inicial y final del Grupo Control.	71
Ilustración No. 3 Ubicación del valor Z calculado en la curva binomial.. Grupo Control.	83
Ilustración No. 4 Estructura inicial y final del Grupo Experimental.	87
Ilustración No. 5 Ubicación del valor Z calculado en la curva binomial. Grupo Experimental... ..	99
Ilustración No. 6 Ubicación del valor Z calculado en la curva binomial. Grupo Control vs Experimental.	101
Ilustración No. 7 Grupos de investigación elaborando los proyectos asociados a los metabolitos secundarios.....	102
Ilustración No. 8 Actividades realizadas para la extracción fitoquímica de metabolitos secundarios de los grupos de investigación.	103
Ilustración No. 9 Resultados de las pruebas cualitativas de los grupos de investigación.....	105
Ilustración No. 10 Desarrollo de técnicas cromatográfica y detención cualitativa de metabolitos los metabolitos secundarios.	106
Ilustración No. 11 Identificación cromatográfica, revelado y ajuste de condiciones cromatográficas para el aislamiento en Cromatografía en Capa Fina Preparativa.	107
Ilustración No. 12 Procesamiento para el Aislamiento de los compuestos de interés en la investigación Fitoquímica.....	108
Ilustración No. 13 Desarrollo de la espectroscopia ultravioleta visible. Espectrofotómetro UV-Vis Perkin Elmer Lambda 35, y su respectivo software UV WinLab.	109
Ilustración No. 14 Obtención de los espectros para cada muestra obtenida por parte de los grupos de investigación para metabolitos secundarios.	110
Ilustración No. 15 Socialización de los proyectos de los grupos experimentales.	111
Ilustración No. 16 Estructura de los flavonoides. Adaptado de (Sing, 1997, pág. 72)	113
Ilustración No. 17 Resultados obtenidos por los estudiantes del grupo flavonoides.....	116
Ilustración No. 18 Exposición de los resultados obtenidos del proyecto por parte de los estudiantes del grupo de saponinas.	120
Ilustración No. 19 Exposición de los resultados obtenidos en el proyecto, por parte de los estudiantes del grupo de alcaloides.....	124
Ilustración No. 20 Resultados obtenidos en el proyecto por parte del grupo de terpenos.	127
Ilustración No. 21. Estructura general y algunos ejemplos de diferentes flavonoides. Tomado de (Martínez Flórez, González Gallego, Culebras y Tuñón, 2002, pág. 272).	186
Ilustración No. 22 Diferentes subclases de flavonoides. Tomado de Bedascasburre (2006) citado en (Medina Arnaldi, 2012, pág. 12).....	187
Ilustración No. 23 Preparación de la columna cromatográfica del extracto vegetal.	191
Ilustración No. 24 Frascos limpios y secos para desarrollar la columna cromatográfica.	191
Ilustración No. 25 Frascos con posible presencia de flavonoides de la planta <i>Eupodium pittieri</i> revelado en cámara Uv 365nm.	192
Ilustración No. 26 Cromatografía en capa fina de las fracciones seleccionadas de <i>Eupodium pittieri</i>	193
Ilustración No. 27 Cromatografía en capa fina preparativa de la fracción 10.	194

Ilustración No. 28 Fraccionamiento cromatográfico del extracto de <i>Eupodium pittieri</i> ..	196
Ilustración No. 29 Corrido cromatográfico en capa fina de las fracciones 6, 7 y 10.....	197
Ilustración No. 30 Revelado de placa en cámara UV a 365nm y 302 nm, respectivamente.	198
Ilustración No. 31 Resultado de la cromatografía en capa fina preparativa de la fracción No. 10. Revelado en UV 365 nm.....	199
Ilustración No. 32 Compuestos A y B aislados y revelado en luz UV a 365 nm y 302 nm.	199
Ilustración No. 33 Espectroscopia de la muestra A. Software UV WinLab.	200
Ilustración No. 34 Espectroscopia de la muestra B. Software UV WinLab.	201
Ilustración No. 35 Estructura general de las saponinas donde se indica el enlace glucosídico entre la aglicona y un glucósido. Tomado de Ahumada, Ortega , Chito y Benítez (2016)	212
Ilustración No. 36 Diagrama de flujo de la metodología a desarrollar. Esquema realizado por los autores.	216
Ilustración No. 37 Izq) Filtrado del material vegetal. Der) Extracto vegetal posterior a rotaevaporado. Fotos tomadas por los autores.....	217
Ilustración No. 38 Izq) Cromatografía en columna. Der) Cromatografía en placa preparativa. Fotos tomadas por los autores.....	219
Ilustración No. 39 Identificación de muestras aisladas mediante cámara UV- Vis.....	219
Ilustración No. 40 Espectro de la muestra uno. Máxima absorbancia en 273,01 nm.	220
Ilustración No. 41 Espectro Uv-Vis de la muestra dos. Máxima absorbancia en 278,91 nm.....	221
Ilustración No. 42 Espectros Uv-Vis de la muestra tres. Máxima Absorbancia en 272,94 nm..	221
Ilustración No. 43 A) Cromatografía en Capa Fina, revelado cámara UV-Vis a 320 nm. B) Cromatografía en Capa Fina, revelado en cámara Uv-Vis a 360 nm.	237
Ilustración No. 44 Cromatografía en Capa Fina, revelado con vapor de Yodo resublimado.	237
Ilustración No. 45 A) Cromatografía en Placa Preparativa, revelado en cámara UV a 302 nm. B) Espectrograma de la muestra indicando picos de máxima absorbancia a 276 nm, 413 nm y 666 nm.	238
Ilustración No. 46 A) Cromatografía en Placa Preparativa, revelado en cámara UV a 365 nm. B) Espectrograma de la muestra indicando picos de máxima absorbancia a 273 nm.	239
Ilustración No. 47 Capas cromatográficas en cámara de luz ultravioleta. Tomado de (Rodríguez Pava, Zarate Sanabria, & Sánchez Leal, 2017, pág. 123)	241
Ilustración No. 48 Espectros UV de las fracciones antibacterianas. Tomado de (Morales León, Arias Cedeño, Torres Rodríguez, Alarcón Zayas, & Sariago Tamayo, 2017, pág. 450).....	242
Ilustración No. 49 A) Alcaloide aislado de <i>Lupinus ballianus</i> , tomado de Fuertes. 1997. B) Espectro de posible alcaloide presente en <i>Eupodium pittieri</i>	243
Ilustración No. 50 Hoja y tallo de la especie <i>E. pittieri</i> . Tomado de Herbario JBB en línea (2015).	254
Ilustración No. 51 Detalle de la planta (hojas y tallo) (A) y fruto inmaduro (B) de <i>Vitis tiliifolia</i> . Tomado de (Naturalist, s.f.)	255
Ilustración No. 52 Maceración y filtración del fruto de agraz (A) y de las frondes del helecho (B)	257
Ilustración No. 53 Obtención del extracto del agraz (A) en butanol, hexano y cloroformo; y del helecho (B) en metanol	258
Ilustración No. 54 Proceso de rotaevaporado de los extractos vegetales para obtenerlos secos.	258

Ilustración No. 55 Cromatografía en capa fina de la muestra del helecho y agraz disuelta en cloroformo y con una fase móvil de 2 mil de: cloroformo, metanol y hexano.	263
Ilustración No. 56 Cromatografía en capa fina del helecho y agraz revelada en yodo.	263
Ilustración No. 57 Cromatografía capa fina del helecho y agraz, revelada en UV.....	263
Ilustración No. 58 cromatografía en capa fina del Helecho.....	264
Ilustración No. 59 cromatografía capa fina del Helecho, revelada en UV. Para definir las zonas de corrimiento y continuar con el procedimiento.	264
Ilustración No. 60 Raspado de la fracción de la cromatografía correspondiente a los terpenos.	264
Ilustración No. 61 Filtrado de la silica gel con metanol y calentamiento de la muestra.	265
Ilustración No. 62 Espectros de absorción en Uv para el helecho. Máxima absorbancia en 274,68 nm.	265
Ilustración No. 63 Espectros de absorción en Uv para el agraz en el extracto Hexánico. Máxima absorbancia obtenida en (A) y (B) 272,93 nm.	266
Ilustración No. 64 Espectros de absorción en Uv para el agraz en el extracto butánolico, fracción 3. Máxima absorbancia en 286,90 nm.	267
Ilustración No. 65 Espectro UV del eugenol ampliado. Tomado de (NIST, 2016).....	270

1. Introducción

En los últimos años se ha evidenciado en el aula de clases actual, una baja motivación del estudiantado hacia la participación y desarrollo de las actividades propuestas por el docente de ciencias naturales, particularmente en el área de química, lo cual se refleja directamente en un bajo rendimiento generalizado en los jóvenes estudiantes. Lo anterior, en muchos casos está asociado a las estrategias de enseñanza que los docentes implementan en el aula de clases para abordar conceptos abstractos de la asignatura (Pozo y Gómez, 2006). A raíz de esta situación, es sumamente importante que el maestro diseñe y aplique distintas estrategias pedagógicas que puedan ser útiles para generar en los estudiantes una resignificación de conceptos a través de actividades que concreten y apoyen el proceso de aprendizaje, claro está, que en el contexto sociocultural en el que se desarrolla, y/o como lo menciona Castiblanco (2014) con su idea sobre “la planificación de la clase, tarea propia del maestro, es un escenario donde surgen preguntas como ¿qué enseñar?, ¿por dónde debo iniciar?, ¿qué prácticas de laboratorio debo diseñar?” (pág. 21).

En este orden de ideas, una de las estrategias para abordar los diferentes conceptos abstractos y poner en contexto a los estudiantes con situaciones cotidianas, es la implementación del aprendizaje basado en investigación. Esta estrategia, de acuerdo con lo planteado por Rivadeneira y Silva (2017) donde expresa que “Los estudiantes tienen la posibilidad de relacionarse con la indagación por medio del método científico, para actuar con conocimientos, habilidades y actitudes” (pág. 6). De manera que, en el aprendizaje basado en investigación, los estudiantes observan, analizan, reflexionan brindando una solución a un problema en particular, por lo que es necesario en primer lugar realizar el planteamiento a una pregunta de investigación, seguido de fijar unos objetivos, metodología, en donde el estudiantado previamente se haya

acercado a algunos soportes teóricos, lo que les permite convalidar finalmente los resultados a fin de obtener conclusiones respecto al trabajo realizado.

Es importante mencionar que, los autores hicieron el ejercicio investigativo de aislar e identificar algunos metabolitos secundarios del helecho *Eupodium pittieri*, aplicando las etapas del método científico y sobre la base de esta experiencia inicial, se planteó al Comité de Currículo del Programa de Licenciatura en Ciencias Naturales, aplicar la misma estrategia pedagógica a los estudiantes del curso de Fitoquímica correspondiente al periodo académico 2019-A. En síntesis, como investigadores primero se obtuvo conocimiento sobre el objeto de estudio de nuestra propuesta investigativa y luego se intentó el aprendizaje de estos conceptos en estudiantes de pregrado.

En este sentido, el presente proyecto plantea promover el aprendizaje en estudiantes de la Licenciatura en Ciencias Naturales, sobre el aislamiento e identificación de algunos de los metabolitos secundarios presentes en esta especie, la cual ha sido empleada en la comunidad de Copalito, en el municipio de Acevedo, Huila- Colombia, dado su potencial previamente descrito; por medio del empleo de algunos pasos inherentes a la bioprospección Muller, Obermeier y Berg (2016) afirman que por medio de esta se busca revelar ese potencial bioactivo presente en las especies vegetales para el beneficio humano. En este sentido, el respectivo tamizaje fitoquímico mediante extracciones sucesivas empleando disolventes orgánicos (hexano, cloroformo y metanol), la elaboración de algunos ensayos biológicos como la determinación de toxicidad usando *Artemia salina*, junto a la respectiva determinación del efecto alelopático en semillas *Lactuca sativa*, y, evaluación sobre microorganismos (bacterias), permiten comprobar el potencial bioactivo de esta especie vegetal, en este orden de ideas por medio del aislamiento de algunos compuestos de interés mediante técnicas de separación cromatográficas, se espera

reconocer por medio de métodos de identificación estructural, la naturaleza de algunos metabolitos presentes en esta especie vegetal, proporcionando así, referentes teóricos sobre la relación estructura-actividad biológica en esta línea de investigación sobre la Química de las plantas para nuestro departamento, región y país.

Es de esta manera que para propiciar espacios de aprendizaje estimulantes en los estudiantes, se propone implementar una estrategia pedagógica de aprendizaje que permita al docente dejar de lado algunos paradigmas que continúan vigentes en los procesos educativos actuales, para organizar actividades encaminadas a la generación de habilidades científicas en el estudiantado, considerando todos aquellos conocimientos y destrezas presentes relacionadas a conceptos propios de la fitoquímica, especialmente sobre aislamiento e identificación de los metabolitos secundarios a partir de la bioprospección de la especie vegetal *Eupodium pittieri*

A modo de contexto, la especie vegetal *Eupodium pittieri*, hace parte de la familia *Marattiaceae* (pteridofitas), teniendo en cuenta que estas últimas según Anónimo (2000) “son un conjunto de plantas vasculares que no producen semillas y no tienen flores. Comprende helechos y los llamados grupos relacionados (licopodios y los equisetos)”. *E. pittieri* suele encontrarse principalmente en el centro de la Región Andina entre 1800 - 2850 metros de altitud, y crece al interior de bosques maduros, preferencialmente en sitios sombreados, húmedos y cercanos a corrientes de agua; entre sus principales utilidades se resalta su uso como hierba ornamental (Orozco, 2015). Por otra parte, dentro de la medicina tradicional, se rescata la capacidad de esta planta dada su acción promotora en el crecimiento del vello facial (barba). De acuerdo a la literatura científica, son escasas las investigaciones fitoquímicas y etnobotánicas realizadas con esta especie. Sin embargo, cabe resaltar el trabajo realizado por López, Vélez, Sánchez, Bonilla, y Gallo (2006), quienes realizaron el tamizaje fitoquímico preliminar junto a una evaluación del

efecto fungicida en especies vegetales del género *Pteridium*, presente en municipios del Valle del Cauca, Colombia.

2. Antecedentes

Como se mencionó en el apartado anterior, es importante que los docentes implementen estrategias adecuadas para lograr el aprendizaje y motivación en los estudiantes, sobre este aspecto se hizo una revisión documental en las respectivas fuentes de información, incluyendo bases de datos, catálogos bibliográficos, etc., como resultado de este ejercicio se presentan algunos trabajos realizados en base al Aprendizaje Basado en Investigación, en los cuales, se mencionan no solamente el valor que toma esta estrategia o modelo pedagógico al ser utilizadas en el aula de clase, sino también las percepciones de los estudiantes frente a una pedagogía diferente a la tradicional.

Con base en el conocimiento científico así sistematizado, se puede concluir que son escasas las investigaciones realizadas específicamente a la especie vegetal de interés (*Eupodium pittieri*), por lo que se hace complicado rescatar los conocimientos científicos relacionados al trabajo propuesto; sin embargo, a través de la constante revisión documental, los autores del presente estudio, incluyen como antecedentes algunas investigaciones relacionadas con la estrategia de Aprendizaje Basado en Investigación, y así como la fitoquímica de la familia de la especie vegetal de interés. En ese sentido, se ilustran a continuación los antecedentes Internacionales, Nacionales y Regionales encontrados.

2.1. Internacionales

Crujeiras Pérez (2014), pág. 201, planteó una investigación pedagógica en el cual, se busca contribuir a la participación del estudiante en las prácticas científicas, por medio del diseño e implementación de la investigación, así como también en la interpretación de datos y establecimiento de conclusiones. De la misma manera Espine Guadalupe, Robles Amaya, Ramírez Calixto y Ramírez Anormaliza (2016), resaltan un estudio realizado en el Ecuador, con

el fin de transformar el sistema educativo nacional, mediante el desarrollo de estrategias educativas como el Aprendizaje basado en la Investigación. Cabe mencionar que esta estrategia pedagógica permite el desarrollo de habilidades no solamente científicas sino también personales en donde el estudiante puede resolver preguntas relacionadas a su contexto.

Por otro lado, Remón Rodríguez et al. (2012) mencionan que “La Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce el papel de las plantas medicinales en la cura y el tratamiento de diversas enfermedades que afectan al hombre e identifican más de 119 sustancias químicas pertenecientes a 60 familias” (pág. 301).

De tal manera que las plantas medicinales han sido fundamentales en el tratamiento de diversas enfermedades, además que, estas son el medio más común de la medicina tradicional. Las plantas se conocen a través de la recolección y en muchas de ellas se destaca el potencial para fines medicinales, ornamentales, alimenticio o culturales; un ejemplo muy evidente es la especie *Eupodium pittieri*, perteneciente a la familia Marattiaceae. De acuerdo con la investigación realizada por Lavallo, Mengascini y Rodríguez (2011) en Argentina, se pudo determinar principalmente la taxonomía de siete especies del género *Marattia*, además de analizar los receptáculos, esporas, micro y macro- ornamentación. Es importante destacar que estudios específicos del género *Eupodium* y la especie *Eupodium pittieri* tienen poca presencia en la literatura científica actual.

Las plantas medicinales tienen la capacidad de producir metabolitos originarios de rutas metabólicas secundarias. Estos metabolitos, productos de las plantas medicinales, y que presentan actividades biológicas son también denominados principios activos, luego poseen una acción beneficiosa o perjudicial vista desde el punto de vista farmacológico sobre los organismos vivos. Además, a partir de estas acciones sirven como fitoterapéutico para el alivio y/o cura de

enfermedades (Remón Rodríguez, et al., 2012). Una investigación realizada por Campusano, Fonseca Cabrales, Almeida Saavedra, Fonseca García y Reytor Rosabal (2010), “permitió la determinación de algunos de los metabolitos secundarios presentes en la planta *Pteris vittata* L. a la cual se les atribuye acción antimicótica” (pág. 1). A través de los extractos etéreo, alcohólico y acuoso y el empleo del tamizaje fitoquímico, se evidencio que la especie vegetal tiene una gran variabilidad de compuestos como: *antocianidinas, azúcares reductores, taninos, saponinas, esteroides, aminoácidos, triterpenos, fenoles y ácidos grasos* (Campusano et al., 2010, Pág.1.)

A continuación, en la Tabla No. 1 se presenta de manera específica algunas investigaciones realizadas a nivel mundial en relación a los temas de interés.

Tabla No. 1 Recopilación de antecedentes a nivel internacional.

Autor y año	Objetivos	Aspectos metodológicos	Principales hallazgos
(Crujeiras Pérez, 2014)	Examinar el desarrollo de la competencia científica a través de la participación del alumnado en las prácticas científicas de diseño y puesta en práctica de investigaciones y análisis e interpretación de datos a lo largo del estudio longitudinal de indagación en el laboratorio. Identificar un repertorio de estrategias docentes que promuevan la participación del alumnado en las prácticas científicas.	El estudio estuvo enmarcado en la investigación cualitativa, con un tipo longitudinal y se realizó a lo largo de dos cursos consecutivos, tercero y cuarto grado de Enseñanza Secundaria Obligatoria. Consistió en realizar cinco tareas de laboratorio de indagación con una duración de dos secciones cada una, en las que los estudiantes trabajaron en tres pequeños grupos establecidos para su análisis. Los estudiantes en cada tarea (T) de laboratorio, tenían que planificar y poner en práctica la investigación, para así mismo resolver las problemáticas que se presentaba, como, por ejemplo: T1- La pasta de dientes menos efectiva para proteger contra la caries. T2- Cómo separar e identificar unas sustancias procedentes de un pedido roto. T3- Identificar qué fabrica contaminó un río. T4- Identificar el contenido de una disolución olvidada en el laboratorio para reciclarlo adecuadamente. T5- Identificar la sospecha de escrito un anónimo de clase. Para la toma de datos, se grabaron las secciones de laboratorio y posteriormente fueron transcritas a manera de seudónimo para respetar la identidad de estudiantes. Para el análisis de datos, enmarcado en el análisis del discurso, se utilizaron las transcripciones para elaborar las rúbricas de análisis correspondiente a cada pregunta.	Se identificó una frecuencia menor de episodios dedicados a cada operación epistémica en las tareas finales del estudio (T4- T5), por lo que se relación con la familiarización del alumnado con la forma de resolver este tipo de tareas. Asimismo, al final del estudio, se identificó la progresión de los estudiantes representada directamente en la elaboración de diseños que satisfacen la resolución de tareas independientemente. A partir de ello, encontraron diferencias en las estrategias docentes encaminadas a la transferencia de responsabilidad al alumnado, esto se encuentra directamente relacionado en la participación de los estudiantes en el desarrollo de habilidades científicas, ya que fueron las más aptas para la evaluación del conocimiento mediante preguntas abiertas.

Continuación Tabla No. 1

Autor y año	Objetivos	Aspectos metodológicos	Principales hallazgos
(Espine Guadalupe, Robles Amaya, Ramírez Calixto, & Ramírez Anormaliza, 2016)	Se planteó demostrar la relación entre la producción científica de los docentes y el uso de la estrategia ABI en las aulas de clase UNEMI	Esta investigación posee un enfoque cuali- cuantitativo, con un tipo transversal, contó con una participación de 304 estudiantes de los cuales el 77,9 % pertenecen a la Facultad Ciencias de la Educación y el 22,1 % de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad Estatal de Milagro (UNEMI). Se obtuvo primeramente la información del Departamento de Investigación de la UNEMI, relacionada con la producción científica de los docentes. Luego, el cuestionario con seis ítems y cuatro opciones de respuesta investigó acciones didácticas que realiza el docente en el aula fue validado por los autores y se implementó.	Se pudo observar el incremento de la producción científica desarrollada por docentes de la UNEMI de más del 25% entre el 2013 y 2015, evidenciándose el rol que tiene lo docente de las universidades en el proceso de la implementación de la metodología ABI. En ese sentido, los resultados arrojaron una relación fuerte entre los estudiantes que hacen uso de información científica en la elaboración de reportes académicos con los profesores que comparten sus investigaciones en el aula.
(Figuerroa de la Fuente, Reyes Coronado, & Fiorentini Cañedo, 2017)	Abordar cómo la articulación de la docencia con la investigación puede ser un factor determinante en el fortalecimiento de los Programas académicos en educación superior, concretamente en la Universidad de Quintana Roo, Unidad Académica Playa del Carmen (UAPC).	Con un enfoque mixto se efectuó la revisión de documentos bibliográficos. A partir de ello, se desarrolló un cuestionario estructurado para llevar a cabo una encuesta para la parte cuantitativa de la investigación. Dicha encuesta que contenía tres preguntas -dos de ellas, con siete y 15 reactivos respectivamente, fueron medidas con la escala de Likert, mientras que la última pregunta fue abierta- se desarrolló en el programa SurveyMonkey. Recolectada la información, se trianguló con el marco teórico para hacer el análisis más profundo y poder conocer la disposición y los obstáculos para implementar el ABI.	Se menciona que, durante la parte inicial, la preocupación del docente gira en torno a sí mismo y en dominar su materia; conforme adquiere más experiencia, así mismo se preocupa por el aprendizaje del estudiantado y las nuevas estrategias que utiliza en el aula lo conciben como un sujeto activo. Adicional al plan estratégico, es necesario la implementación de políticas educativas institucionales que coordinen los procesos de selección, formación, evaluación y promoción del profesorado.

Continuación Tabla No. 1

Autor y año	Objetivos	Aspectos metodológicos	Principales hallazgos
(Lavalle, Mengascini, & Rodríguez, 2011)	Analizar el aspecto de los receptáculos, la forma, posición de los sinangios y la micro y macro-ornamentación de los exosporios y perisporios de las esporas de 7 especies neotropicales de <i>Marattia</i> , así como también evaluar el significado taxonómico y poner a prueba el valor diagnóstico de su morfología	Se utilizó material vegetal de distintos herbarios a nivel mundial. Las especies utilizadas fueron las siguientes: <i>M. weinmanniifolia</i>, <i>M. interposita</i>, <i>M. laxa</i>, <i>Marattia alata</i>, <i>M. laevis</i>, <i>M. cicutifolia</i> y <i>M. excavata</i>. Una vez conseguidas las especies, se procedió a realizar el corte transversal de receptáculos y sinangios para el caso de las pinnúculas y pínulas fueron hidrataron con agua y unas gotas de detergente en estufa a 300 °C, se aclararon con NaCl al 5 % acuoso, se blanquearon con NaClO 1:1 en agua. Luego se incluyeron en “Paraplast Plus”, donde se cortaron además se tiñeron con safranina-verde. Para el estudio de estas especies vegetales, se tomaron láminas sinangios cerrados, luego se realizaron varias preparaciones del ejemplar para fotografiarlos con ayuda de Microscopía Electrónica de Barrido.	A partir de esta investigación, las especies vegetales fueron analizadas morfológicamente, principalmente los Receptáculos y Esporas. En ese sentido, los receptáculos de especies del neotropico presentan una generalidad de tener un contorno elíptico visto superficialmente. Asimismo, los sinangios presentan un contorno elipsoidal ancho. En cuanto a las esporas se presentan siempre en monoletes.
(Remón Rodríguez, y otros, 2012)	Realizar el tamizaje fitoquímico y determinar la actividad antibacteriana de los extractos secos de la tintura al 20 % de las hojas y corteza del fuste de la planta <i>Mammea americana</i> L. en Cuba.	Se realizó un tamiz fitoquímico con las partes aéreas de la planta fueron tratadas para elaborar tinturas al 20 % mediante maceración además se desarrolló una evaluación biológica con microorganismos.	A partir de la investigación se comprobó la presencia de alta presencia de metabolitos originarios de rutas sintéticas secundarias como flavonoides, fenoles, coumarinas, alcaloides entre otros. Los tintes mostraron actividad antibacteriana <i>in vitro</i> frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i>.

Continuación Tabla No. 1

Autor y año	Objetivos	Aspectos metodológicos	Principales hallazgos
(Campusano, Fonseca Cabrales, Almeida Saavedra, Fonseca García, & Reytor Rosabal, 2010)	Establecer la presencia de los metabolitos secundarios de la especie vegetal <i>Pteris vittata</i> L. relacionados a un potencial antimicótico.	Se realizó la respectiva identificación de la especie vegetal el material fue tratado para la realización de un tamiz fitoquímico para la obtención extractos mediante maceración exhaustiva. Se emplearon técnicas sencillas de identificación cualitativa de metabolitos secundarios.	Se encontró la presencia de metabolitos secundarios polifenólicos, ácidos grasos, saponinas, triterpenos, azúcares reductores, entre otros en los tres extractos obtenidos, etéreo, alcohólico y acuoso de la especie vegetal asociados a un potencial antimicótico.
(Cabrera Meléndez, 2014)	Identificar los principales metabolitos de interés medicinal en helechos llamados “cuti cuti”	Se realizó una entrevista no estructurada a vendedores de plantas medicinales en el mercado “La Victoria” en Lima-Perú, para conocer información sobre el uso y preparación de los helechos “cuti cuti”. Se realizó el respectivo tamizaje fitoquímico empleando soluciones hidroalcohólicas.	Las soluciones hidroalcohólicas de los helechos presentaron abundancia de metabolitos secundarios como grupos fenólicos, alcaloides, glucósidos, flavonoides y proteínas.
(Acosta Campusano, y otros, 2015)	Identificar los metabolitos secundarios presentes en hojas de la especie vegetal <i>Pteris vittata</i> L. además de evaluar su actividad antimicrobiana con cepas de microorganismos.	Se realizó colecta y tratamiento de las hojas de <i>Pteris vittata</i> L. para la extracción de metabolitos con disolventes orgánicos, dichos extractos se fraccionaron con técnicas cromatográficas a las cuales se realizaron pruebas de identificación cualitativa además de ensayos microbiológicos con cepas de <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Candida sp.</i>	Los extractos obtenidos mostraron actividad positiva en las pruebas <i>in vitro</i> con las cepas seleccionadas. El tamiz fitoquímico presentó abundancia de quinonas y alcaloides en las fracciones cromatográficas a los cuales se les puede responsabilizar de la actividad biológica.

2.2. Nacional

En Colombia, las investigaciones en cuanto al uso de estrategias pedagógicas para el aprendizaje significativo en los estudiantes, ha sido de gran importancia en los últimos años para aquellos grupos de investigadores pedagógicos, de manera que, se puede encontrar que, al incluir en las clases una estrategia diferente como lo es el aprendizaje basado en investigación, se logra alcanzar niveles superiores de motivación, competencias básicas y habilidades en los estudiantes, como lo menciona Ochoa Reyes y Murcia Rodríguez (2017) quienes realizaron una investigación en la universidad de Pamplona, con el fin de facilitar la participación además de promover habilidades científicas y competencias básicas de un curso de fisiología vegetal. Por otro lado, Rodríguez Sandoval y Cortés Rodríguez (2010), realizaron un estudio con el propósito de “Mostrar la percepción que tienen los estudiantes del programa de Ingeniería Agrícola de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín sobre la evaluación y el desarrollo de la estrategia pedagógica “aprendizaje basado en proyectos”, utilizadas en cursos teóricos-prácticos” (pág. 143). Los resultados encontrados fueron favorables, ya que se evidenció en la encuesta realizada que a los estudiantes los motiva realizar este tipo de estrategia en el aula de clases además de estar de acuerdo ya que les ayuda en su formación como profesionales.

Enfocándose de cierta manera, en el estudio químico de diversas plantas de interés, se han encontrado investigaciones basadas en los metabolitos originarios de rutas metabólicas secundarias, extracción de compuestos químicos, realización de bioensayos, el empleo de la cromatografía para identificación de componentes, entre otros. Sin embargo, desde el ámbito educativo, “la enseñanza y aprendizaje de conceptos asociados a la química y a la biología como lo son los metabolitos secundarios, es vista como la memorización de conceptos y fórmulas que

no tienen un uso en la cotidianidad del estudiante” (Castiblanco, 2014, pág. 23) por lo que, en muchos casos, el alumno se desmotiva por aprender el mundo de las Ciencias.

Por lo anterior, Riveros Neira y Gómez Aguilar (2007) en su investigación realizaron la recolección, extracción, bioensayos de *Niphogeton ternata* además de una implementación pedagógica como mecanismo de aprendizaje de conceptos de Ciencias Naturales con estudiantes que oscilan en edades entre 15 y 17 años en una institución de Cota, Cundinamarca. Los resultados permitieron observar que, tras varias salidas de campo, prácticas de laboratorios de química y microbiología, trabajos en el aula y videos se puede destacar que es posible generar un proceso de aprendizaje positivo en Ciencias Naturales (Riveros Neira & Gómez Aguilar, 2007).

Algunas de las finalidades para la enseñanza- aprendizaje de las Ciencias Naturales, se encuentra la generación de estrategias didácticas con la finalidad de contribuir con el fortalecimiento de aquellas concepciones que tienen los estudiantes con respecto a la fitoquímica, de tal manera que es importante el diseño de secuencias didácticas para el aprendizaje de conceptos, además de realizar la investigación científica de especies vegetales; esto se compara con un estudio efectuado por Castiblanco (2014) en el cual realiza una secuencia didáctica para la enseñanza de conceptos asociados a la fitoquímica con ayuda de un perfil químico de especies vegetales planteó que “La Unidad didáctica deberá partir de las expectativas o intencionalidades formativas, acompañado de un conjunto de actividades que permita abordar los contenidos de cada unidad” (Castiblanco, 2014, pág. 48). Además, las actividades secuenciadas deberán ser explícitas, teniendo siempre en cuenta los objetivos de las actividades propuestas, recursos y materiales a emplear para el desarrollo de la misma.

A continuación, en la Tabla No. 2 se presenta de manera específica algunas investigaciones realizadas en distintas partes de Colombia

Tabla No. 2 Recopilación de antecedentes a nivel nacional.

Autor y año	Objetivos	Aspectos metodológicos	Principales hallazgos
(Rodríguez Sandoval & Cortés Rodríguez, 2010)	Mostrar la percepción que tienen los estudiantes del programa de Ingeniería Agrícola de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín sobre la estrategia pedagógica “aprendizaje basado en proyectos”, utilizadas en cursos teóricos- prácticos.	Al inicio del curso, se les planteo a los estudiantes la ejecución de un proyecto de investigación, en donde se aplicaría los conceptos teóricos. Las opciones presentadas fueron la decisión de ellos mismos al escoger el tema de interés. El docente cumplió con el papel de orientador en el proceso, al finalizar el profesor se presentó un reporte escrito a manera de trabajo científico en donde se plasmó lo obtenido. Luego, se realizó una evaluación de la estrategia pedagógica (ABPr), realizada por el grupo de trabajo de la universidad, en donde se indagaron las percepciones de los estudiantes en relación a la manera de desarrollar y evaluar el ABPr.	La encuesta presentó un panorama general sobre las percepciones de los estudiantes frente a la estrategia pedagógica aplicada, en donde se resaltó la importancia de está para su formación como profesional. De igual manera se encontró dificultades en la mayoría de los estudiantes al momento de encontrar ideas para la realización de los proyectos, ya que en muchos casos no se contaban con recursos físicos para la parte experimental de la investigación.
(Ochoa Reyes & Murcia Rodríguez, 2017)	Potencializar la motivación, las competencias básicas y las capacidades investigativas en los estudiantes del curso de fisiología vegetal del programa de biología de la Universidad de Pamplona, a través de la implementación de estrategias pedagógicas siguiendo el modelo ABI	Se basó en el método científico: Planteamiento del problema, revisión bibliográfica, pregunta biológica, hipótesis de trabajo, diseño experimental, manejo de datos e interpretación estadística, presentación de resultados; también se integró con salidas de campo para contrastar los resultados experimentales con los obtenidos en la fase de campo. Los proyectos de aula se establecieron en base a los intereses propios de los estudiantes, encontrando mayor relevancia en el tema del crecimiento y desarrollo vegetal agrícola y el estudio de la morfo anatomía foliar y el tipo de fotosíntesis de especies nativas.	A partir de la investigación en el aula de clase se logró un alto valor significativo a nivel conceptual, actitudinal y procedimental acerca de las plantas nativas escogidas. Las elaboraciones de los proyectos mejoraron la apropiación del conocimiento científico además de mejorar las capacidades en el tratamiento de datos experimentales y la socialización de los mismos en diversos ámbitos de divulgación.

Continuación Tabla No. 2

Autor y año	Objetivos	Aspectos metodológicos	Principales hallazgos
(López, Vélez, Sánchez, Bonilla, & Gallo, 2006)	Contribuir al conocimiento de las propiedades fungicidas de extractos vegetales del helecho marranero (<i>Pteridium aquilinum</i>) para el control de <i>Colletotrichum musae</i> y <i>Botrytis cinerea</i> en banana (<i>Musa sapientum</i>) y fresa (<i>Fragaria sp</i>) durante el almacenamiento poscosecha	Se colectó el helecho en el Valle del Cauca, se trató para realizar una extracción por percolación con etanol y agua a los cuales se les realizó pruebas cualitativas de identificación. Adicionalmente, se realizó una evaluación fungicida con controles positivos y negativos en medio PDA en presencia de testigos. La evaluación <i>in vivo</i> se realizó con extractos etanólicos diluidos al 25 %.	Se encontró la presencia de saponinas y flavonoides en los extractos de <i>P. aquilinum</i> además hubo diferencias significativas entre los extractos tanto que mostró menor incidencia de los hongos en presencia del extracto etanólico comparado con los testigos determinando que contribuye a que los frutos no se deterioren rápidamente.
(Riveros Neira & Gómez Aguilar, 2007)	Caracterizar y extraer las cumarinas presentes en la especie vegetal <i>Niphogeton ternata</i> a fin de evaluarlas en cultivos de <i>E. coli</i> .	La metodología consistió en separar las partes aéreas de la planta, realizar su tratamiento para extracción en soxhlet empleando disolventes orgánicos. Luego, separación con métodos cromatográficos. Las fracciones fueron evaluadas en agar antibiotico con <i>E. coli</i> . Adicionalmente, se presentó una secuencia didáctica con el fin de preservar las especies vegetales a partir de la divulgación de la investigación sobre los compuestos aislados con técnicas cromatográficas y su actividad biológica, la información se recolectó mediante cuestionarios y entrevistas.	Mediante Cromatografía en Capa Fina (CCF) en sílica gel se evidenció que los extractos de las hojas y tallos presentaron similitudes en cuanto a los compuestos químicos identificados. Dado a un problema de contaminación, no se pudo reportar los resultados obtenidos para la parte biológica. Tras varias salidas extramurales, participación en los laboratorios, trabajos en clase y videos se puede destacar que es posible generar un proceso de aprendizaje positivo en Ciencias Naturales.

Continuación Tabla No. 2

Autor y año	Objetivos	Aspectos metodológicos	Principales hallazgos
(Quintero Londoño & Reyes Sáenz, 2016)	Determinar la relación entre el estudio de la fitoquímica con la formación inicial de los docentes de la Universidad Pedagógica Nacional (UPN).	Se realizó un tamiz fitoquímico a tres especies vegetales, posteriormente se desarrolló una encuesta tipo Likert para conocer las percepciones de los estudiantes sobre el estudio fitoquímico, la utilidad de esta área y los conocimientos previos. Se diseñó una secuencia didáctica basada en el trabajo experimental de laboratorio. Finalmente, se aplicó la prueba Likert y cuestionario de salida.	Se obtuvo resultados positivos en cuanto al trabajo realizado de manera teórica y experimental con los estudiantes a través de secuencias didácticas, ya que, de cierta manera, adquirieron una estructura cognitiva mejor elaborada. Además, mejoró las relaciones interpersonales trabajando aspectos relacionados a la química de las plantas.
(Castiblanco, 2014)	Diseñar una secuencia didáctica para la enseñanza de conceptos en fitoquímica a partir de tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólicos de las especies <i>Croton funckianus</i> y <i>Croton bogotanus</i> .	Los extractos fueron obtenidos de hojas secas en etanol. Se cuantificaron flavonoides y fenoles mediante el método Folin-Ciocalteu, y Jimoh. además, se determinó la presencia de otros metabolitos como alcaloides, carotenoides y taninos mediante pruebas cualitativas. Finalmente, se diseñó y aplicó una secuencia didáctica para la enseñanza de algunos conceptos de la fitoquímica a partir de los resultados previos.	Se demostró la presencia de metabolitos secundarios como alcaloides y flavonoides. La prueba con el reactivo de Folin-Ciocalteu, reveló que en los extractos de las muestras de <i>Croton</i> poseen contenido polifenólico dado a la presencia de compuestos aromáticos. Para la reacción con FeCl_3 comprobó la abundancia de flavonoides en los extractos etanólicos. La elaboración de la secuencia didáctica permitió identificar particularidades de la enseñanza de la biología; así como también generar un pensamiento reflexivo, científico y constructivo en los estudiantes.

2.3. Regional

Desde el ámbito regional, se han ejecutado diversos estudios etnobotánicos, los cuales principalmente se enfocan en grupos humanos directamente relacionados con la naturaleza, es decir, comunidades rurales, asentamientos indígenas donde el saber común y la medicina tradicional posee mayor trascendencia dado a distintas razones (Pardo de Santayana & Gómez Pellón, 2003).

De esta manera, el empleo de plantas medicinales sigue siendo fundamental en investigaciones acerca de farmacología humana y animal, debido al bajo costo que proporcionan para el tratamiento de múltiples enfermedades. Asimismo, en el tratamiento de infecciones las especies vegetales cuentan con gran potencial antimicrobiano y antiséptico. Sin embargo, es sumamente importante conocer los usos tradicionales que las poblaciones le dan a distintas especies vegetales para su beneficio propio, por lo que Pardo Rodríguez et al. (2014) realizaron una investigación en torno a la especie vegetal *Croton leptostachyus* con el fin de establecer un perfil etnobotánico en el municipio de Gigante, Huila cuyos resultados revelaron gran diversidad etnofarmacológica relacionada al tratamiento de enfermedades de humanos y animales de la especie vegetal entre otros recursos vegetales.

Para abordar los distintos conceptos desde un ámbito educativo, se encontró un estudio realizado por Guarnizo Losada, Puentes Luna y Amortegui Cedeño (2015), pág. 31, en el cual los autores abordan el concepto de diversidad vegetal en estudiantes de noveno grado en Campoalegre, Huila donde diseñaron y aplicaron una secuencia didáctica. Producto de la investigación, se evidenció que las concepciones de los estudiantes frente al concepto de diversidad vegetal cambiaron al comparar los dos momentos de intervención (pre y pos cuestionario), por lo que, a través de la estrategia mejoraron su aprendizaje.

A continuación, en la Tabla No. 3 se presenta de manera específica algunas investigaciones realizadas en distintas regiones del departamento del Huila.

Tabla No. 3 Recopilación de antecedentes a nivel regional.

Autor y año	Objetivos	Aspectos metodológicos	Principales hallazgos
(Pardo Rodríguez, y otros, 2014)	Establecer el uso tradicional que la comunidad del municipio de Gigante, Huila, da a la especie vegetal <i>Croton leptostachyus</i> , llamada comúnmente “mosquero”; así mismo confrontar la información obtenida con el estudio fitoquímico de la planta.	Consistió en la identificación de la información etnobotánica en el municipio de Gigante, Huila asociada a la especie vegetal. Seguidamente se realizó una extracción soxhel en agua y etanol para su posterior tamiz fitoquímico recomendado por Sanabria (1983) y Lock (1994). Se evaluó su actividad antimicrobiana y antifúngica en cepas bacterianas y fúngicas con el método en pozo y halos de inhibición, respectivamente.	La comunidad reconoce la importancia de la especie vegetal en cuanto al tratamiento de enfermedades. Se verificó la presencia de compuestos fenólicos, terpenos y/o esteroides además de saponinas y alcaloides tipo indólico contenidas en el material vegetal de <i>C. leptostachyus</i> .
(Guarnizo Losada, Puentes Luna, & Amortegui Cedeño, 2015)	Los objetivos de la investigación fueron el diseño e implementación de una unidad didáctica para el aprendizaje del concepto de diversidad vegetal en estudiantes de noveno grado de la Institución Educativa Eugenio Ferro Falla en Campoalegre, Huila (Colombia).	Desde un enfoque cuantitativo con un diseño flexible se observó el escenario y los estudiantes desde un punto de vista holístico. Se realizó la recolección de información mediante observación, cuestionario y opiniones de los estudiantes. Para sistematizar las concepciones encontradas se utilizaron dos cuestionarios: las observaciones de las clases y la unidad didáctica para cada uno, seguido de la unidad de información que para este caso es la respuesta de los estudiantes frente a una pregunta compilada en la herramienta aplicada.	En los momentos iniciales y finales se encontró similitud en cuanto a cuatro tendencias para el caso de diversidad vegetal enfocándose en: riqueza, abundancia, ambiente y riqueza. No obstante, el proceso formativo favoreció el aumento de las concepciones adicionales como presencia de plantas, usos y desarrollo de la planta. Todos los hallazgos muestran que la mayor cantidad de estudiantes respondieron satisfactoriamente a las preguntas planteadas sobre el concepto de diversidad vegetal.

3. Planteamiento del Problema

Desde el ámbito educativo, se ha evidenciado que la enseñanza- aprendizaje de conceptos abstractos relacionados con la química y en algunos casos la biología, es vista bajo condiciones memorísticas que no tienen un uso en la vida cotidiana de los estudiantes; como lo plantea Castiblanco (2014) “los textos de fitoquímica se limitan a definir conceptos y deducciones químicas y matemáticas, pero no se evidencia la relación de dichos conceptos con las situaciones junto a problemáticas de la vida real” (pág. 23). Asimismo, la enseñanza de los conceptos relacionados a la fitoquímica, desde un enfoque tradicional recae profundamente en la dificultad mencionada sobre la transmisión de conocimientos verbales, donde el estudiante es un actor pasivo en el proceso de aprendizaje, situándose como un consumidor de conocimientos previamente elaborados por el profesor (Pozo y Gómez, 2006). Sumado a ello, se encuentra la poca importancia del trabajo experimental hacia los procesos de enseñanza/aprendizaje, donde dificulta al estudiantado comprender de manera asertiva aquellos conceptos, asimismo relacionarlos con las infinitas aplicaciones en su contexto cotidiano (Carriazo & Saavedra , 2004).

Lo anterior, ha sido determinante en la estructuración curricular de las asignaturas, en nuestro caso particular la asignatura de Fitoquímica perteneciente al plan de estudios del Programa de Licenciatura en Ciencias Naturales y Educación Ambiental de la Universidad Surcolombiana, donde se encuentra exenta del componente práctico; esencial para promover las actitudes hacia la ciencia desde un espacio crítico y reflexivo, concibiendo la ciencia como una forma de hacer preguntas que como una respuesta ya dada (Claxton 1991 citado en (Pozo & Gómez, 1998, pág. 42).

Es imperante, el desarrollo de las actitudes hacia la investigación por parte de los docentes en formación en Ciencias Naturales, puesto que, la forma de aprender esta asignatura puede influir más en el desarrollo en el futuro académico y personal que los propios “contenidos” aprendidos (Pozo y Gómez, 1998, pág. 44). De forma que, a través del Aprendizaje Basado en Investigación perduran dichas actitudes y aptitudes frente a la ciencia de los futuros Licenciados en Ciencias Naturales de la región surcolombiana (Rivadeneira y Silva, 2017).

Como respuesta a los anteriores planteamientos, surge la necesidad de implementar la estrategia de aprendizaje basado en investigación, reportes investigativos demuestran que esta facilita en los estudiantes la comprensión de las distintas dinámicas interdisciplinarias asociadas a las Ciencias Naturales. Además, promueve cambios no solo conceptuales sino también procedimentales y actitudinales (Pozo y Gómez, 1998, pág. 294).

Desde esta perspectiva, planteamos esta propuesta investigativa, dada las escasas investigaciones sobre estrategias didácticas relacionadas a temas inherentes a la química de las plantas de la región surcolombiana, junto con la necesidad de indagar especialmente sobre el uso de la investigación como estrategia didáctica para lograr el aprendizaje de conceptos, procedimientos y actitudes en docentes en formación especialmente sobre el aislamiento e identificación de metabolitos secundarios empleando una variable adicional dependiente de la estrategia de Aprendizaje Basado en Investigación, la bioprospección de la especie vegetal *Eupodium pittieri* cuyo potencial biológico tiene gran impacto a nivel regional acerca del crecimiento del vello facial.

La inclusión de una hipótesis en este estudio, permite evaluar el grado de aprendizaje alcanzado por la muestra de estudiantes sobre algunos conceptos fitoquímicos, utilizando la estrategia de la investigación dirigida.

Por tal razón, se plantea el siguiente interrogante de investigación: ¿Cómo promover el aprendizaje sobre el aislamiento e identificación de metabolitos secundarios del helecho *Eupodium pittieri* a través del modelo investigativo “como estrategia didáctica”, en estudiantes del Programa de Licenciatura en Ciencias Naturales y Educación Ambiental de la Universidad Surcolombiana?

4. Justificación

Actualmente, en la formación de docentes especialmente en Ciencias Naturales, los procesos de Enseñanza y Aprendizaje han tenido muchos modelos didácticos entre los cuales se destaca la presencia del modelo tradicional puesto que no implica en gran medida los procesos de (auto)crítica y la (auto)reflexión de las actividades llevadas a cabo, ni tampoco la contrastación o complementación práctica. Sumado a ello, las estrategias aplicadas en estos procesos de aprendizaje y contextos específicos, no poseen mayor trascendencia a niveles curriculares de impacto social y educativo, por tanto el uso del aprendizaje basado en la investigación, sus estrategias para adquisición de habilidades y destrezas científicas, pueden constituirse en pilares fundamentales en la formación de docentes. Asimismo, el componente experimental (práctico) de las asignaturas es menester en el desarrollo de conocimiento científico de la importancia biológica y química en plantas de la región surcolombiana a través de la formación de los Licenciados en Ciencias Naturales y Educación Ambiental.

Esta investigación pretende tal como se ha escrito, determinar la relación entre el uso de una estrategia pedagógica y el aprendizaje derivado de ella en estudiantes de Licenciatura en Ciencias Naturales; específicamente se investiga el impacto que genera la investigación sobre el aprendizaje de algunos conceptos fitoquímicos, precisamente sobre aquellos derivados del planteamiento de la pregunta problema sobre la cual gira este trabajo.

En ese sentido, este estudio investigativo acoge el modelo pedagógico del Aprendizaje Basado en la Investigación, el cual orienta el Proyecto Educativo del Programa de Licenciatura en Ciencias Naturales en su componente teleológico. Es decir, a partir de la reflexión y la autocrítica, el grupo de investigadores además de acoger el modelo pedagógico y ponerlo en

acción, plantea la necesidad de aplicarlo en el ejercicio de la práctica pedagógica de los estudiantes, como en la práctica profesional de sus egresados para fortalecer sus competencias científicas, ciudadanas y personales.

Finalmente, este estudio pretende demostrar la eficacia de la estrategia de la investigación en el aprendizaje de algunos conceptos disciplinares, específicamente sobre el aislamiento e identificación de algunos metabolitos secundarios de la especie *Eupodium pittieri* y con sus resultados, proyectar su alcance hacia otras especies vegetales de la región y a otros campos disciplinares.

5. Objetivos

5.1 Objetivo General

- Promover el aprendizaje sobre el aislamiento e identificación de metabolitos secundarios del helecho *Eupodium pittieri* a través del modelo investigativo, en estudiantes del Programa de Licenciatura en Ciencias Naturales y Educación Ambiental de la Universidad Surcolombiana.

5.2 Objetivo Específicos

- Diseñar e implementar una estrategia didáctica basada en la investigación para promover el aprendizaje sobre el aislamiento e identificación de algunos metabolitos secundarios de la especie vegetal *Eupodium pittieri*.

- Estimar la eficacia de la estrategia investigativa sobre el aprendizaje de algunos conceptos fitoquímicos sobre extracción e identificación de algunos metabolitos secundarios de la especie *Eupodium pittieri*.

6. Marco Teórico

En el desarrollo de las bases conceptuales que soportan el presente estudio, es importante aclarar que las definiciones planteadas, resultan de la construcción de aquellos aportes por parte de los autores de la investigación.

En primer lugar, se mencionan algunos aspectos importantes en cuanto al Aprendizaje Basado en Investigación, es decir, en relación a la estrategia didáctica que permite promover el aprendizaje sobre el aislamiento e identificación de los metabolitos de fuentes naturales como lo es la especie vegetal *Eupodium pittieri*. El aislamiento y posterior identificación de los metabolitos secundarios, es tan solo uno de los componentes de su bioprospección; de tal manera que la intencionalidad del presente trabajo investigativo es propender para que el grupo experimental se familiarice con el proceso de investigación y a través de él, construya los significados fitoquímicos involucrados en la búsqueda investigativa.

6.1 Aprendizaje Sobre el Aislamiento e Identificación de Metabolitos Secundarios

Es importante mencionar que la estrategia propuesta en la presente investigación se propone con el fin de mejorar el aprendizaje de conceptos inherentes de la fitoquímica sobre el aislamiento e identificación de metabolitos secundarios de fuentes naturales —como se ha hecho mención con anterioridad— se encuentra fundamentado bajo unas perspectivas pedagógicas, psicológicas y didácticas que se muestran a continuación.

6.1.1. Paradigma actual del aprendizaje. De acuerdo a lo planteado por Campos y Gaspar (1996) Citado por (Tunnermann, 2011, pág. 23) “El constructivismo es hoy en día el paradigma predominante en la investigación cognoscitiva en educación.” Sin embargo, hay que tener en cuenta que, al momento de asociar el constructivismo con la educación, a menudo, se

puede apreciar que este enfoque se ha entendido como la forma de dejar en libertad a los estudiantes para que de alguna manera aprendan a su ritmo; por lo que, en este caso, el docente no interviene en dicho proceso. Esta concepción es errónea, ya que el constructivismo, de acuerdo a Ortiz (2015) plantea que “hay una interacción entre el docente y los estudiantes, un intercambio dialéctico entre los conocimientos del docente y los del estudiante, de tal forma que se pueda llegar a una síntesis productiva para ambos” (pág. 94).

Así que, el constructivismo es un enfoque en el cual el estudiante se convierte en protagonista del proceso interno, activo e individual del aprendizaje, donde estructura los contenidos activamente, tomando en cuenta las concepciones que el docente promueve y facilita para el proceso de aprendizaje a través de las estrategias didácticas novedosas. En ese sentido, la construcción del conocimiento se basa en aprender y enseñar, dejando de lado la repetición y acumulación de conocimientos (Pozo y Gómez, 1998, pág. 23).

Sin embargo, se tendrá en cuenta un modelo que permita incluir la investigación experimental en la resolución de un problema específico, en el cual los estudiantes se sientan como los investigadores principales, dirigidos por coordinadores de investigación. Lo que en dicho caso explicita, un modelo que toma aspectos positivos del modelo de aprendizaje por descubrimiento a manera de salvaguardar el modelo constructivista a su vez articula el aprendizaje significativo como vínculo directo de la evolución y aplicación de los conocimientos científicos (Gil, 1991 citado por (Alvear , 2011, pág. 104).

6.1.2. El aprendizaje basado en investigación. Esta estrategia permite de alguna manera acercar a los estudiantes al contexto en el que trabajan todos los científicos, es decir por medio de investigaciones dar solución a un problema en particular. Como lo menciona Franco Mariscal (2015) “La investigación en el medio escolar, centrada en los alumnos con un papel activo en el

aprendizaje, es compatible y adecuada dentro de un marco constructivista” (pág. 232). Pero, además de eso, es importante tener en cuenta la indagación –estrategia de enseñanza-aprendizaje, la cual permite aprender Ciencias a partir de la investigación, ya que aporta evidencias experimentales y evolución del conocimiento científico escolar (Franco Mariscal, 2015). Ahora bien, de acuerdo a Vargas, 2002 citado en (Franco Mariscal, 2015, pág. 233) una vez el estudiante se enfrente a una investigación, debe demostrar que posee o desarrollará, un conjunto de habilidades o destrezas interrelacionadas entre sí. De esta manera, a través de procedimientos científicos, y toda la rigurosidad que esta implica; el manejo de los contenidos para la resolución de la premisa de investigación generará habilidades y competencias promisorias características en este caso, para los docentes en formación en Ciencias Naturales y Educación Ambiental.

Es por ello que, el proceso de investigación implica un trabajo colaborativo, es decir, el desarrollo de habilidades tanto para los maestros como para los estudiantes, en donde se destaca según Gallego, Quiceno Serna y Pulgarín Vásquez (2014) “el indagar, discutir, reflexionar, comunicar, organizar información, establecer conexiones con otros campos de conocimiento y con otras personas o entidades que aportan a los procesos de investigación” (pág. 931). Por otro lado, para que el alumno participe en la construcción del conocimiento, Gil (1993) citado en (Franco Mariscal, 2015, pág. 234), propuso un diagrama de investigación con el fin de introducir aspectos del estudio científico como “el enunciado preciso del problema, la construcción y fundamentación de modelos e hipótesis contrastable, la necesidad de elaborar estrategias diversas de contrastación o la interpretación y comunicación de los resultados”. De manera que, todas las habilidades y competencias científicas que el estudiante va desarrollando se deben plasmar en forma similar a como hacen los científicos, justificando el problema, formulando objetivos e

hipótesis, búsqueda de información, antecedentes para la elaboración de un marco teórico, elaboración de un diseño metodológico, presentación de resultados con su discusión y la emisión de conclusiones (Franco Mariscal, 2015).

Ahora bien, una de las actividades para el desarrollo del aprendizaje basado en investigación, son las denominadas prácticas de laboratorio, éstas son un complemento para la enseñanza- aprendizaje de los estudiantes, ya que en ellas, según Cardona Buitrago (2013) se busca el “desarrollo de habilidades manipulativas y de medición, para la verificación del sistema de conocimientos, para aprender diversas técnicas de laboratorios y para la aplicación de la teoría de errores empleada para el procesamiento de la base de datos experimental” (pág. 4). Por lo que este tipo de actividades de cierta forma, facilita el aprendizaje propio de los estudiantes a través de la investigación, el desarrollo y la reflexión crítica; así que, no es simplemente la “transmisión de conocimientos”, sino más bien una secuencia didáctica para la aplicación de los conceptos, uso de instrumentos para lograr un buen aprendizaje, asociación y retención de nuevos conceptos (Cardona Buitrago, 2013, pág. 3).

Por lo anterior, los perfiles de los investigadores favorecen la construcción de los conocimientos científicos por parte de los estudiantes, debido a la acción paralela de orientación en el proceso educativo, la familiarización de las metodologías científicas en el desarrollo de habilidades, actitudes y capacidades positivas, necesarias para la formación de Docentes en Ciencias Naturales y Educación Ambiental (Alvear , 2011, pág. 104).

Es por ello, que se tienen en cuenta los aspectos relacionados a las concepciones en el desarrollo de la secuencia de aprendizaje que gira en torno al desarrollo de las actitudes y habilidades científicas, entre otras, empleando como eje articulador el aislamiento e identificación de metabolitos y lo que ello implica a nivel experimental mediante la resolución de

un problema de investigación concerniente a cuales son aquellos metabolitos del helecho *Eupodium pittieri* que permiten potenciar el crecimiento del vello facial en el municipio de Acevedo, Huila.

6.1.3. Concepciones. Dentro del proceso de enseñanza – aprendizaje, resulta algo complicado definir las concepciones, estas, tal como menciona (Tobin & Lamaster, 1995) se encuentran ligadas al desarrollo de un sistema de creencias por parte de un individuo, por lo que alberga todas esas creencias y representaciones adquiridas a través del proceso de transmisión cultural. Por lo que las concepciones vienen acompañadas de algunas simplificaciones, vacíos, dificultades y confusiones, que, por su parte se relacionan a las experiencias vividas dentro del proceso educativo del sujeto.

Dentro de este proceso, tal como afirma Pozo y Gómez (2000), pág. 17, estas concepciones se encuentran enmarcadas dentro de un proceso de construcción de modelos y teorías para la generación de ciertas destrezas y habilidades en la experiencia del individuo, así, estas concepciones a lo largo del proceso, pueden transformarse enmarcadas en una reestructuración con base en nuevas interacciones junto a experiencias del sujeto.

La transformación de esas concepciones, según Campanario y Otero (2000), pág. 160, evolucionan a medida que avanzan en el sistema educativo, por lo que esta evolución es el resultado de la forma en que los sujetos toman contacto con el conocimiento científico y en cómo dicho conocimiento es presentado y utilizado. Según Hodson (1994), pág. 307, las experiencias escolares que influyen en las concepciones de los alumnos son de dos tipos: las planificadas explícitamente y las que no lo son.

6.1.4. Aprendizaje de la química, biología, fitoquímica. La fitoquímica, tal como se ha afirmado en anteriores apartados y como resaltan Castillo Olvera, Zavala Cuevas y Carrillo

Inungaray (2017), esta disciplina resulta una herramienta para el conocimiento del potencial biológico y farmacológico que poseen las distintas especies vegetales. Así, dada la naturaleza de esta rama de la química, resulta como un sólido fundamento teórico la relación que presenta entre la química y biología, así como con las diferentes disciplinas experimentales en la que ésta se desarrolla y se aplica.

En ese sentido vale la pena resaltar lo mencionado por Quintero Londoño y Reyes Sáenz, (2016), en donde resaltan que los distintos procesos de experimentación que se originan por medio del uso de especies vegetales junto a aquellos conceptos que estas enmarcan, se pueden emplear como inicio para la búsqueda de múltiples estrategias que permitan la explicación junto a la comprensión de los distintos conceptos químicos y biológicos en el aula de clase actual. Los mismos autores mencionan que por medio de una integración entre el trabajo teórico con el práctico, se puede promover la participación activa de los estudiantes, como herramienta fundamental para el aprendizaje de la química.

Dado el alto carácter experimental en el cual la fitoquímica se desarrolla, hace que se permita una integración en los estudiantes hacia la comprensión de conceptos, desarrollo de habilidades experimentales, promoción de actitudes científicas como la observación, comparación, clasificación, análisis, síntesis, toma de decisiones, integración y aplicación de conocimientos disciplinares, por lo que, como resalta (Quintero Londoño y Reyes Sáenz, 2016, pág. 4), la integración de la fitoquímica en el aula favorece y promueve el aprendizaje de las ciencias naturales, pues le permite al estudiante cuestionar sus saberes, de manera que logre confrontarlos con la realidad; de esta manera, el uso de las distintas especies vegetales como recurso didáctico, es una interesante alternativa en el proceso de enseñanza - aprendizaje de las ciencias naturales, ya que el análisis químico y biológico de estas, se puede emplear como una

estrategia útil con la que logre relacionar aspectos teórico-prácticos enseñados en el aula con su cotidianidad.

6.1.5. Secuencias didácticas. Las unidades didácticas surgen como respuesta a la necesidad del docente de ciencias naturales de organizar y dar respuesta a interrogantes como ¿Cómo inicio mis clases? ¿Qué contenidos incluyo en las lecciones? ¿Qué prácticas de laboratorio debo incluir?, en este sentido, Sánchez Blanco y Valcárcel Pérez (1993), pág. 33, estipulan que la planificación y secuenciación de las unidades didácticas de aprendizaje conforman una herramienta para la planificación de la enseñanza y la conformación de espacios de aprendizaje estimulantes.

Una de las relevancias del diseño de Unidades Didácticas en Biología y Química, radica en la formación del pensamiento científico, de modo que como afirma Quintanilla, Merino, y Daza, (2010) pág. 4, los estudiantes captan una temática de actualidad de modo que logren relacionar hacia su importancia práctica, de manera que, la enseñanza y el aprendizaje de las ciencias bajo un enfoque de promoción de competencias de pensamiento científico, ocasionan desafíos para la iniciativa, innovación y, adicionalmente, la actividad creativa de profesores y estudiantes.

Por su parte, Sanmartí (2002), pág. 71, resalta que existen muchas propuestas para la elaboración y diseño de unidades didácticas, sin embargo éstas de manera general intenta reflejar lo que puede ser la preparación de una lección, desde la transposición de los contenidos científicos, diseño de las distintas actividades, contrastación de los problemas didácticos que pueden aparecer, por medio del abordaje de los elementos estipulados en el currículo, como se ha venido mencionando, el ¿Qué enseñar?, ¿a quién enseñar?, ¿cómo enseñar?, ¿cuándo enseñar?, ¿para qué enseñar?, ¿por qué enseñar?, ¿cómo evaluar?, etc.

En ese sentido, se pretende articular el aprendizaje basado en investigación empleando el desarrollo de proyectos de investigación, donde se resolvió los interrogantes en la elaboración de la secuencia didáctica de aprendizaje sobre los temas inherentes a la extracción e identificación de aquellos metabolitos secundarios de mayor presencia, ejecutando una pequeña parte de la bioprospección del helecho *Eupodium pittieri*.

Basados en lo anterior, la diversidad metabólica de la especie vegetal permitió el desarrollo de investigaciones en aras de aislar e identificar metabolitos de gran importancia como lo son los Flavonoides, Saponinas, Terpenos y/o Esteroides, Alcaloides, entre otros., donde los estudiantes como “investigadores” son asesorados por los docentes (investigadores en la presente propuesta investigativa) para la resolución del problema de investigación asignado.

6.1.6. Proyectos de investigación. La ejecución de proyectos de investigación, es la estrategia metodológica seleccionada en el marco del desarrollo del modelo investigativo, como estrategia de aprendizaje, el cual permite resolver preguntas que responden a un mismo eje problémico, muy útil en la formación de profesionales con carácter crítico en investigación donde las condiciones y ambientes que se proporcionan, retroalimentan los sujetos generando apropiación hacia y desde el proyecto, teniendo en cuenta, que responde a una problemática en particular. En este contexto, la ejecución de proyectos es una estrategia organizativa, articuladora, formativa e investigativa que tiene como objetivo converger en la formación de docentes Investigadores en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología (Moreno , 2014, págs. 119-121).

Los diferentes proyectos a ejecutar se centrarán en torno a responder el siguiente interrogante ¿Cuáles son los metabolitos secundarios de mayor presencia en la especie vegetal *Eupodium pittieri*? se conoce que la especie vegetal presenta metabolitos secundarios de interés

en investigaciones como son los Flavonoides, Saponinas, Terpenos y/o Esteroides, Alcaloides, entre otros que hacen parte de su diversidad metabólica (Castañeda, Morales y Valderrama, 2019).

En ese sentido, los pilares que conforman los distintos trabajos de investigación serán orientados de tal forma que los grupos centren el desarrollo de esta en el aislamiento e identificación de un metabolito determinado para lo cual, se requieren habilidades científicas y de pensamiento que se esperan consolidar, afianzar y fortalecer como fuente importante en el proceso de formación de docentes en Ciencias Naturales.

6.2 Bioprospección de la Especie Vegetal

La bioprospección, es el estudio sistemático y desarrollo de las bases científicas que soportan los potenciales biomédicos, farmacológicos o de la medicina tradicional de nuevas fuentes naturales de compuestos químicos en ese sentido, persiste un valor comercial de dicho potencial en la sociedad en general. A continuación, se abordan algunas temáticas inherentes al desarrollo metodológico de la bioprospección del helecho *Eupodium pittieri*.

6.2.1. Generalidades de la familia Marattiaceae y del género Eupodium. Es importante reconocer la biodiversidad vegetal dentro de la cual nos encontramos inmersos en la región Surcolombiana, como se ha mencionado anteriormente, en el reino Plantae se encuentran “los helechos, los cuales hacen parte del grupo de aquellas plantas esporógenas, es decir, que se reproducen por medio de esporas y no mediante semillas” (Méndez y Murillo, 2014, pág. 8). Estas plantas vasculares poseen alrededor de 11000 especies que se encuentran ampliamente distribuidas alrededor del mundo, pero principalmente en zonas tropicales y subtropicales de América y del sur de Asia (Tryon, R., y Tryon, A., 1982 citado por (Méndez y Murillo, 2014,

pág. 11). Es importante destacar que en Colombia crecen aproximadamente 120 géneros de pteridofitos y 1.300 especies (Murillo Pulido y Harker Useche, 1990).

Una de las familias más primitivas de los helechos es la Marattiaceae, perteneciente al orden Marattiales. De acuerdo a lo planteado por Lavalley y Mengascini (2007), pág. 79, esta familia vegetal incluye 5 géneros: *Angiopteris*, *Archangiopteris*, *Christensenia*, *Danaea* y *Marattia*. Estas plantas son terrestres, con frondas monomórficas o dimórficas. Su rizoma es erecto, carnoso con peciolo acanalado adaxialmente; además tiene una distribución pantropical (Triana Moreno y Murillo, 2005, pág. 82).

6.2.2. Taxonomía. Tal como se evidencia en la clasificación taxonómica presente en la Tabla No. 4., la especie vegetal se encuentra dentro de la familia Marattiaceae, a su vez, a través de la Ilustración No. 1., se aprecia que esta especie vegetal se caracteriza por ser terrestre, por tener un rizoma carnoso que junto a la base del peciolo está cubierto con dispersas escamas lineares, su hoja es dimórficas y sus esporangios se encuentran fusionados en sinangios abaxiales, elipsoides, pedunculados, dehiscentes en dos valvas (Méndez y Murillo, 2014). Es importante destacar que el *E. pittieri* es una especie neotropical, que se distribuye principalmente en la región Andina entre los 1400 y 3000 m de altura en Colombia (Méndez y Murillo, 2014). A continuación, se presenta la clasificación taxonómica de la especie de estudio:

Tabla No. 4 Clasificación taxonómica de la especie sometida a estudio *Eupodium pittieri*. Tomado de: Colecciones Científicas del Instituto de Ciencias Naturales (ICN) de la Universidad Nacional de Colombia, por (Hagemann, 2012) Universidad Nacional de Colombia.

Reino	Plantae
Phylum	Pteridophyta
Clase	Marattiopsida
Orden	Marattiales
Familia	Marattiaceae
Género	Eupodium
Epíteto específico	pittieri
Autor	(Maxon) Christenh.
Fecha determinación	1 de agosto de 2011



Ilustración No. 1 Fronde de la especie *E. pittieri*. Tomado de (Orozco 2015).

6.2.3. Usos comunes de los helechos. A menudo se puede observar que algunas plantas son consideradas de gran utilidad dado al potencial que tienen; entre esas plantas se encuentran los helechos, los cuales, tradicionalmente se utilizan con fines ornamentales, medicinales, alimenticios, horticultura, como fertilizante, en la construcción y como sustratos de otras especies. De acuerdo a lo planteado por Muñiz, Mendoza Ruíz y Pérez García (2005) “En muchas ciudades del mundo, los helechos son cultivados con el objeto de explotarlos como plantas de ornato para jardines públicos y privados” (pág. 118), para el uso ornamental. En este caso, especies como *Adiantum cuneatum*, *A. macrophyllum*, *A. tenerum*, *Asplenium cristatum*, entre otros son los más cultivados.

Es muy común percibir que los helechos se utilicen en la medicina tradicional con el propósito de servir como tratamiento para las distintas enfermedades, por ejemplo, para tratar la úlcera, contusiones, quemaduras se usan *Acrostichum aureum*, *Asplenium marium*, *Dicranopteris linearis* (Muñiz et al., 2005, pág. 119). Por otro lado, es importante destacar la aplicación que se le dan a las pteridofitas para el uso alimenticio, puesto que, en muchas comunidades de México,

la consumen ya sean cocinadas, en encurtidos, en ensaladas o simplemente crudas; un ejemplo claro se presenta con la especie *Marattia salicina* (Muñiz et al., 2005, pág. 120).

A nivel general se ha evidenciado que algunas plantas vasculares presentan almidón con el fin de fijar afinidades entre ellas, un ejemplo muy particular es planteado por Czaja (1978) (citado en (Lavalle & Mengascini, 2007, pág. 80), donde en un estudio realizado, se registró e ilustró por primera vez granos de almidón en tres géneros de la familia Marattiaceae, a los que agrupó con las monocotiledóneas debido a su forma. Hay que mencionar, además que, los extractos de algunas plantas -helechos, son frecuentemente aplicados como ingredientes para aquellos productos de cosmetología y dermo-farmacología dado a sus acciones antioxidantes, antiinflamatorias, calmantes, exfoliantes, etc., (Farrás, Terrado y López, 2017). De lo anterior, se puede asociar que, en la región de Acevedo, Huila, la comunidad utiliza la especie vegetal *Eupodium pittieri* como tratamiento farmacológico para el crecimiento del vello facial.

6.3 Tamizaje Fitoquímico

La fitoquímica, es una disciplina que comprende “el estudio de metabolitos secundarios presentes en especies vegetales, los cuales pueden ser fenoles y polifenoles, quinonas, flavonas y flavonoides, taninos, cumarinas, terpenoides y aceites esenciales, alcaloides, lectinas y polipéptidos, glucósidos y saponinas” (Prashant, Bimlesh, Mandeep, Gurpreet, y Harleen, 2011) citado por (Castillo et al., 2017). Conviene destacar que, para identificar aquellos compuestos que se encuentran presentes en las plantas, se suelen utilizar diversas técnicas como por ejemplo el tamizaje fitoquímico.

“El tamiz fitoquímico consiste en la obtención de extractos de plantas con solventes apropiados, tales como agua, acetona, alcohol, cloroformo y éter. Otro solvente, el

diclorometano, se usa específicamente para la extracción de terpenoides” (Prashant *et al.*, 2011 citado por (Castillo et al., 2017); por tanto, el tamizaje fitoquímico permite de cierta manera, identificar cualitativamente aquellos grupos químicos presentes en las plantas, para así seguidamente obtener los extractos de interés. Es de mencionar que la importancia radica en obtener la diversidad metabólica de cada extracto indicando la presencia de los metabolitos secundarios de referencia mediante la representación de signos positivo (+) y negativo (-) asimismo, indicando la abundancia de estos compuestos en cada uno de los extractos.

6.4 La Fitoquímica y la Etnobotánica

La fitoquímica es un campo multidisciplinario, el cual tiene como objeto de estudio la bioquímica de los organismos vivos fundamentalmente especies vegetales. Este campo del saber, se nutre directamente del conocimiento Etnobotánico, permitiendo reconocer los procesos metabólicos que dan origen a una mega diversidad estructural, responsables de actividades biológicas como lo predispone el conocimiento tradicional (Castiblanco, 2014).

Las plantas con potenciales biológicos, han sido ampliamente estudiadas por las comunidades indígenas dotando particularmente a éstas de un interés religioso. En ese sentido, la fitoquímica se encarga de otorgar un soporte científico a dichas actividades de interés biológico e industrial.

El Huila, es un departamento que posee las características propias del trópico, lo que ha generado un amplio espectro de diversidad faunística y florística. No obstante, y pese a la gran presencia de conocimiento etnobotánico, las actividades biológicas han sido poco estudiadas a nivel científico razón por la cual, se constituye a la fitoquímica como una línea de investigación de gran importancia.

6.5 Metabolismo Secundario y Actividades Biológicas

Diversas investigaciones en plantas, manifiestan que las familias taxonómicas tienden a producir una serie de compuestos afines y de interés en la producción de medicamentos. Es por esta razón que surge la Quimiotaxonomía como una forma promisorio para la clasificación de los metabolitos secundarios conforme la familia vegetal productora.

Las plantas al igual que muchos otros organismos vivos poseen sistemas complejos de nutrición, crecimiento, defensa, entre otros que están ligados al comportamiento externo del lugar como el clima, temperatura, humedad y tiempo atmosférico. Es así, donde las condiciones externas e internas promueven la producción de los metabolitos originarios de rutas metabólicas secundarias en estrecha relación con las funciones fisiológicas demandadas por el entorno.

Los metabolitos secundarios son compuestos químicos producto de rutas metabólicas como: Acetato-Malonato (Policétidos, Ácidos Grasos, Macrólidos), acetato-mevalonato (Terpenoides, esteroides), DOXP-MEP (Hemiterpenoides, Carotenoides), Acido Siquímico (Taninos, Lignanos, Cumarinas, Algunos alcaloides, quinonas y demás) o metabolitos derivados de dos o más rutas, así como también de aminoácidos no aromáticos para el caso de los alcaloides.

En ese sentido, los compuestos de origen natural se han identificado por presentar potenciales originarios de conocimiento tradicional, siendo caracterizados como también clasificados de acuerdo a sus potenciales a nivel fisiológico-funcional en un organismo vivo. Se conoce que compuestos como los polifenoles, antioxidantes metabolitos presentes en el vino de uva ayudan a “retardar” el envejecimiento por la captura de los radicales libres como principal potencial de los mismos a nivel biológico además diversas variaciones a nivel estructural

también determinan el comportamiento como antiinflamatorios, vasodilatadores, cardiotónicos entre otras propiedades beneficiosas para los seres vivos, especialmente de interés para la búsqueda de nuevas fuentes de principios activos en la producción de fármacos (Quiñones, Miguel y Aleixandre, 2012, pág. 82).

6.6 Técnicas de Separación de Compuestos Naturales

La diversidad de compuestos químicos producto del metabolismo de los organismos, hace dispendiosa la labor de obtención de los principios activos de interés. Es por ello, que, a partir del conocimiento de la actividad y las pruebas cualitativas, se obtiene una prospección de la funcionalidad biológica con relación a los compuestos químicos identificados colorimétricamente.

En algunos casos, la mayor parte de compuestos de interés son aquellos que se encuentran en gran presencia. No obstante, en la fitoquímica es de vital importancia separar e identificar la mayor cantidad de compuestos naturales presentes, la razón de ello, es debido al poco conocimiento científico que existe.

En este sentido, la separación de compuestos está relacionada directamente al estudio preliminar, cada molécula de interés posee cierta particularidad estructural, lo que ayuda a emplear técnicas de cromatografía en capa fina y columna.

6.6.1. Cromatografía en columna. Esta, hace parte de una de las técnicas más comunes empleadas en la separación analítica de compuestos químicos, de manera que, tal como menciona Skoog, (2015), pág. 862, su fundamento consiste en el empleo de un tubo de diámetro determinado en el que se encuentra un sólido que sostiene la fase estacionaria, por lo que, la mezcla analítica a separar se encuentra distribuida en la fase móvil, la cual es introducida en la

cabeza de la columna, de modo que esta se distribuye entre la fase móvil y la fase estacionaria, así, el proceso de elución ocurre posteriormente al desplazar los componentes de la muestra analítica a través de la columna por medio de la adición continua de una fase móvil nueva.

6.6.2. Cromatografía en capa fina. Con fundamento similar al anterior, esta es una técnica analítica que cuenta con un alto nivel de sencillez y practicidad en el momento de determinar la naturaleza de los analitos presentes, así, rescatando lo enunciado por Castillo, Ortega, Carabeo, Delgado y Michelena (2007), pág. 14, en esta técnica la muestra a analizar se deposita cerca de un extremo de una lámina de vidrio o aluminio recubierta de la respectiva fase estacionaria (gel de sílice), por lo que al contacto de la lámina con el respectivo solvente de la fase móvil, a medida que esta asciende por capilaridad, ocurre un reparto diferencial entre los compuestos presentes en la mezcla a analizar.

Es de mencionar que las técnicas de separación que a continuación se citan, corresponden al objetivo planteado, resultado esperado, así como la cantidad de extracto o fracción disponible con el fin de optimizar los procesos de separación y posterior identificación espectroscópica.

6.7 Técnicas Modernas de Identificación Estructural

En este apartado se presentan algunas técnicas dentro del análisis químico, entre las cuales se destaca el favorecimiento de la determinación cualitativa de la naturaleza de las distintas muestras químicas en cuestión, las cuales se abordarán a continuación

6.7.1. Identificación espectroscópica mediante absorción en el ultravioleta visible (uv-vis). Respecto a esta técnica espectroscópica, no se puede afirmar que proporciona de manera inequívoca la identificación de algún compuesto orgánico en particular, sin embargo, este método resulta útil de manera que aporta a la descripción de la naturaleza de las especies

químicas en cuestión, por lo que en ese sentido Skoog, Holler y Nieman, 2001, pág. 4, menciona que el espectro de absorción en el ultravioleta y visible es un método útil en cuanto a la detección de aquellos grupos funcionales que actúan como cromóforos, de manera que resulta un método de importancia en la determinación de la naturaleza del compuesto analítico en cuestión, por lo que, la mayoría de los grupos insaturados y heteroatómicos que tienen pares de electrones no compartidos, son cromóforos potenciales y estos grupos son la base de la elucidación de grupos estructurales en las moléculas activas en el espectro UV.

6.7.2. Identificación espectroscópica mediante absorción en el infrarrojo (IR). La espectroscopia infrarroja registra la flexión y vibración de los enlaces presentes en las moléculas, por lo que hace empleo de este espectro en un intervalo entre 400 a 4000 cm^{-1} , por lo que tal como recalca Dupont y Gokel (1985), pág. 137, la observación de los espectros en el infrarrojo resulta de la interacción entre la radiación electromagnética de la longitud de onda adecuada con las vibraciones en la molécula producto de esta interrelación. Dado que son altas las probabilidades de movimientos y vibraciones de los enlaces de las moléculas, en el espectro ir se pueden obtener múltiples señales, sin embargo, esta técnica ha venido siendo de gran importancia en la determinación de la naturaleza de los grupos funcionales presentes en la mayoría de compuestos químicos.

Lo anterior constituye el componente disciplinar de este proyecto, que se basa en el aislamiento e identificación de los compuestos químicos, así como su evaluación biológica entre otros. Sin embargo, cabe destacar que el conocimiento científico no solo se basa en la generación de soporte de dichos potenciales naturales, sino que además incluye la capacidad de transmitir esta información o este conocimiento de técnicas y habilidades a un ámbito de aprendizaje como lo es en la formación de docentes en Ciencias Naturales y Educación Ambiental.

7. Metodología

En el presente apartado, se realiza una descripción de los aspectos metodológicos que se desarrollaron en el proyecto de investigación haciendo énfasis a un enfoque mixto, mediante un diseño metodológico cuasi experimental y el análisis de datos estadísticos, utilizando una técnica de recolección de datos provenientes de un cuestionario tipo Likert validado por expertos en la temática.

7.1 Tipo de Investigación

Haciendo una revisión documental que soporte los diferentes aspectos metodológicos para el desarrollo del proyecto de investigación, dentro de los diferentes tipos de investigación que se cuentan en la actualidad, se encuentra que el presente trabajo se enmarcará bajo el tipo de investigación mixta, según Hernández, Fernández y Baptista (2006), pág. 755, este tipo de investigación se destaca por el proceder entre la unión de los enfoques cuantitativo y cualitativo, en el cual se procederá a realizar unos cuestionarios tipos escala Likert, previamente validados, en donde se pretende conocer el nivel de conocimientos en un momento previo y posterior a un momento didáctico. Por su parte, también se obtendrán datos de investigación producto del desarrollo de los proyectos junto al trabajo práctico, en donde se pretende conocer aquellos conocimientos, procedimientos y habilidades propias de la fitoquímica. El análisis e interpretación de los datos cuantitativos y cualitativos recopilados a lo largo de la investigación, permitirá establecer la relación entre el uso de investigación como estrategia didáctica para lograr el aprendizaje de conceptos y procedimientos asociados a la fitoquímica.

7.2 Diseño de Investigación

Tal como se ha afirmado anteriormente, el desarrollo del tipo mixto de investigación, trae como ventajas, según Creswell, 1998 citado por (Hernández et al., 2006, pág. 755), el acceso a datos cuantitativos y cualitativos, permite emplear ambas fuentes de datos para entender con mayor profundidad y amplitud el problema de investigación planteado. Dada la naturaleza del presente estudio es necesario abordar el diseño de investigación cuasiexperimental, según Balluerka y Vergara (2002) este responde a aquellas situaciones fuera del contexto de un laboratorio, donde no es posible una aleatorización de los sujetos, ni se tiene el control de las variables como se haría en un entorno de laboratorio. Dada la aleatoriedad de las variables Aprendizaje e Investigación hace que se opte por este diseño de investigación, el cual trae como ventajas, según Balluerka y Vergara (2002) el diseño cuasiexperimental puede ofrecer una evidencia fuerte del impacto de la estrategia por medio de los datos recopilados, lo que permite entender con mayor profundidad y amplitud el problema de investigación planteado. En ese sentido, de acuerdo a lo planteado por Balluerka y Vergara (2002), pág. 20, para esta investigación se ha seleccionado el diseño longitudinal, dado que este se caracteriza porque se toman varias medidas de la variable de respuesta para los sujetos de estudio en periodos de tiempo determinado, lo que permite cumplir el objetivo de estudiar los procesos de cambio en función del tiempo y explicarlos.

7.3 Técnicas de Recolección de Información

Con base en lo expuesto anteriormente y acorde a los objetivos de investigación, se ha seleccionado como técnica de recolección de información un cuestionario tipo Likert que permite obtener las ideas o concepciones previas y finales en dos momentos específicos —pre y post— de la intervención didáctica basada en el aprendizaje por investigación.

7.4 Cuestionario

El cuestionario que se va a implementar en la investigación consta de portada, introducción, instrucciones para dar dichas respuestas. De acuerdo a Hernández et al. (2006) proponen que la Portada debe constituir la caratula, en general, debe de ser atractiva gráficamente para favorecer las respuestas, debe de incluir el nombre del cuestionario y el logotipo de la institución que lo patrocina. En la introducción se incluye el propósito general del estudio para el sujeto encuestado y por ultimo las instrucciones de manera claras y sencillas, para así dar inicio al desarrollo del cuestionario.

Es importante destacar que el cuestionario es de tipo Likert, lo cual ayuda a cuantificar y globalizar el nivel de satisfacción frente a una afirmación mediante una escala determinada por los investigadores que reduce el sesgo en las respuestas, es la técnica más utilizada y de bajo costo que se ajusta a la investigación cuasi experimental, además permite la recolección de información en los tiempos definidos antes y después de la intervención didáctica. Por ende, tal como se evidencia en el Anexo No.1, se ha construido y validado un total de veinte afirmaciones basado en un plan de evaluación sobre los temas inherentes al aislamiento e identificación de metabolitos secundarios de origen vegetal.

7.5 Intervención Didáctica

Asimismo, dada la relación de la intervención didáctica y su naturaleza experimental, plantea el desarrollo de proyecto de investigación que proporcionó la estrategia metodológica adecuada para generación del aprendizaje sobre aislamiento e identificación de los metabolitos secundarios de la especie vegetal. Tal como se plantea en el Anexo No.3, los investigadores principales consideran las acciones que hacen parte del proceso de aprendizaje, así como las

indicaciones para cada etapa del proyecto, asesorías, que permitieron a cada grupo llegar hacia el objetivo propuesto en su investigación.

7.6 Etapas de la investigación

La investigación considera tres etapas cruciales que se mencionan a continuación de la siguiente manera.

7.6.1 Etapa inicial. Durante el desarrollo de esta etapa, se realiza la búsqueda del material bibliográfico que soporta la investigación; sus referentes teóricos y sus antecedentes sobre los temas inherentes al aprendizaje de la fitoquímica especialmente lo que se relacionan principalmente con el aislamiento e identificación de metabolitos secundarios de especies vegetales mediante investigación dirigida o bien llamada aprendizaje basado en investigación.

7.6.2. Etapa de desarrollo. Las etapas para el desarrollo de la propuesta investigativa contemplan dos momentos cruciales: el primero hace referencia a la apropiación de los saberes, métodos y técnicas disciplinares asociados a la fitoquímica como parte de la bioprospección en especies vegetales de los directores de investigación. Asimismo, se presenta el manejo investigativo en lo conceptual, cognitivo y didáctico de la estrategia sobre el Aprendizaje Basado en Investigación desplegando de esta las fases y actividades para desarrollo de la presente investigación. Por esta razón, se presenta a continuación las consideraciones mencionadas para el grupo investigador y desarrollo de la propuesta.

7.6.2.1. Rol del grupo investigador. Como menciona Gil (1993) citado en (Pozo y Gómez, 1998, pág. 268) posicionar a los sujetos de aprendizaje en un contexto similar al del científico supone el rol del profesor como un director de investigación. En ese sentido, se ilustra a continuación las experiencias consiguientes de los tres investigadores principales en cuanto a la

formación conceptual, procedimental y actitudinal asociados a la investigación fitoquímica así como a la investigación en los procesos de aprendizaje de las Ciencias.

En cuanto a la formación disciplinar y procesos de investigación se comparte la presencia desde la constitución del Semillero de Investigación en Química de la Universidad Surcolombiana SIQUS aprobado bajo Acuerdo 260 del 2017 de la Facultad de Educación, asociado al Grupo Químico de Investigación y Desarrollo Ambiental (Quidea) avalado por COLCIENCIAS en categoría B además en ese marco de investigación se ha realizado el proyecto de investigación “*Evaluación biológica de los extractos del helecho Eupodium pittieri empleado en el crecimiento del vello facial en el municipio de Acevedo-Huila*” financiado por la Vicerrectoría de Investigación y Proyección Social VIPS 2018 con código 2835 en el cual se presentan aportes disciplinares desde la fitoquímica, técnicas y métodos empleados en la bioprospección de la especie vegetal. Sumado a ello, además del proceso formativo en Química también los tres investigadores han sido participes durante cinco semestres de las actividades del Semillero de Investigación en Microbiología de la Universidad Surcolombiana —Virhobac.

Cabe mencionar que durante las estancias en los semilleros, se fortalecieron los procesos investigativos, la elaboración de propuestas disciplinares y didácticas además de la adquisición de habilidades científicas en el laboratorio así como también capacidades de lectoescritura, fundamentales para la producción de artículos científicos, resúmenes entre otras obras., que han sido presentadas en el marco de eventos científicos, pedagógicos y didácticos a nivel regional, nacional e internacional.

De igual manera, la Licenciatura en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología a la cual se aspira obtener el título, cuenta con una planta docente fuerte, muy garante en cuanto a investigación lo que ha otorgado asignaturas claves en la innovación del proceso de enseñanza de

las Ciencias Naturales siendo fuentes de inspiración para la consolidación de la propuesta planteada.

7.6.2.2. Desarrollo de la propuesta. En concordancia anteriormente mencionado, la población de estudio a la cual dirige la atención el trabajo de investigación, son los estudiantes de la Licenciatura en Ciencias Naturales y Educación Ambiental especialmente aquellos docentes en formación inscritos en el componente flexible de Fitoquímica en la cohorte del 2019-1. Dicha asignatura cuenta con un desarrollo netamente teórico, impedimento que socaba en la utilización de una metodología tradicional cuyas limitaciones están presentes en la adquisición de habilidades científicas, procedimentales y actitudinales dejando excluido el componente conceptual frente a la química de las plantas.

Dado que el componente flexible contó para el periodo 2019-1 con 26 personas matriculadas, esta muestra poblacional fue dividida aleatoriamente en dos grupos poblacionales, un grupo control de 12 estudiantes, y un grupo experimental de 14 estudiantes. Lo anterior, fue producto de una elección en función a los intereses del estudiantado; en un inicio se planeó dividir la muestra en grupos de 13 estudiantes respectivamente, pero dado que, al observar una actitud positiva junto a una excelente recepción por parte del estudiantado para ser parte del desarrollo de la intervención didáctica, se optó por 14 estudiantes para el grupo experimental.

En ese sentido, el grupo control desarrollaron los contenidos de la forma convencional del curso de fitoquímica, en donde se abordan conceptos teóricos con poca inmersión práctica a nivel de laboratorio. En contraste, el grupo experimental sigue las actividades propuestas en el presente estudio por medio del desarrollo de la estrategia de aprendizaje basado en investigación extrayendo e identificando los metabolitos secundarios presentes en el helecho *Eupodium pittieri* por lo anterior, inicialmente se realizó una caracterización de las estructuras conceptuales

iniciales y finales para cada grupo mencionado a través de un cuestionario elaborado con el fin de determinar la eficacia de la variable correspondiente a la estrategia didáctica de la investigación en la búsqueda del aprendizaje sobre el aislamiento e identificación de metabolitos propuestos a lo largo del trabajo, a través del respectivo tratamiento estadístico inferencial.

A partir del segundo objetivo específico, se pretende demostrar la eficacia de la estrategia implementada a través de su relación con el aprendizaje alcanzado por medio de esta. En consecuencia, se realizó el planteamiento de las respectivas hipótesis y su docimasia gracias a lo cual, se puede afirmar o negar la pertinencia o efectividad de la estrategia pedagógica. De acuerdo con lo planteado por Martínez (2012), pág. 323, se planteó como hipótesis nula (H_0) que el aprendizaje basado en la investigación no permite la definición de algunos conceptos fitoquímicos en estudiantes de la Licenciatura en Ciencias Naturales de la Universidad Surcolombiana. De tal manera, se tiene como hipótesis alternativa (H_A) que el aprendizaje basado en la investigación permite la definición de algunos conceptos fitoquímicos en estudiantes de la Licenciatura en Ciencias Naturales de la Universidad Surcolombiana.

A continuación, se hace referencia al desarrollo metodológico llevado a cabo en los dos grupos de estudio durante el desarrollo de la presente investigación. En primer lugar, para el grupo control se ejecutaron tres etapas; la etapa inicial hace referencia al momento en el cual se realizó la recabación de saberes previos y el reconocimiento de la estructura cognitiva presente en el estudiantado a través de la aplicación del instrumento (pretest), la etapa siguiente se relaciona con los momentos de interacción de los estudiantes pertenecientes a este grupo con las sesiones ordinarias del curso de Fitoquímica a través de la estrategia convencional de enseñanza/aprendizaje y las actividades contempladas en el diseño del curso; de este modo, en la última etapa se recopilará la estructura cognitiva final del grupo control a través del respectivo

instrumento (postest) con la finalidad de reconocer la resignificación de algunos conceptos, para ello, basados en lo mencionado por (Narváez Zamora, 2009), se desarrolló una prueba Z, por la que a través de algunas expresiones indicadas por (Martinez Bencardino, 2012), y haciendo uso del programa Microsoft Excel quien fue adquirido con su respectiva licencia; se procedió a docimar las hipótesis propuestas en la que se estimó la significancia de la estrategia convencional aplicada en el grupo control del presente estudio.

Por su parte, las fases contempladas para el grupo experimental donde se emplea la estrategia de Aprendizaje Basado en Investigación tomando como base parte de la bioprospección de la especie vegetal *Eupodium pittieri* en el cual los participantes establecen de acuerdo a sus intereses la conformación de los grupos de trabajo. Cabe mencionar, la estrategia contempla los procedimientos del método científico presentando así la definición de la pregunta general de investigación, documentación de la problemática para definir el estado del arte conducente a la formulación del problema investigativo grupal, selección de objetivos o hipótesis, definición de la metodología para abordar el problema de investigación así como la recolección de datos, organización y procesamiento además la discusión de resultados, elaboración de conclusiones para finalmente realizar la publicación.

7.6.2.2.1. *Fase i. preámbulo.* En esta fase, se realiza una contextualización con relación al aislamiento e identificación de los metabolitos secundarios (alcaloides, flavonoides, saponinas y terpenos y/o esteroides) empleando la especie vegetal —objeto de estudio, así como la metodología a desarrollarse para cumplir con los objetivos propuestos en la investigación.

7.6.2.2.2. *Fase ii. recopilación de saberes preliminares (pretest).* Como primera medida el instrumento de recabación de las estructuras conceptuales asociado al objetivo principal sobre el aislamiento e identificación de metabolitos secundarios en especies vegetales, se construyó bajo

criterios de evaluación pertinentes para conocer dichas estructuras conceptuales con respecto a los ejes fundamentales de la asignatura en dos momentos específicos antes y después de la intervención de la estrategia Aprendizaje Basado en Investigación para el grupo experimental —teniendo a modo de comparación el grupo control— para la medición de la eficacia de la estrategia cuali y cuantitativamente. Asimismo, durante esta fase se realiza la validación y piloteo de la herramienta con el fin de obtener veracidad en la aplicación del instrumento de indagación de saberes previos lo que permite abordar los temas sobre el aislamiento e identificación de diversos metabolitos secundarios de la especie vegetal *Eupodium pittieri*, tal como se evidencia en los Anexos No. 1 y 2.

7.6.2.2.3. *Fase iii. elaboración de proyecto de aprendizaje.* Se destacan las siguientes actividades.

Actividad 1: Organización de los grupos de trabajo. Para llevar a cabo el desarrollo de las actividades posteriores, la cohorte de estudiantes pertenecientes al componente flexible de fitoquímica en el periodo 2019-1 que comprende 26 estudiantes, se dividió en dos grupos: uno control y otro como muestra experimental, con el propósito de contrastar la influencia de la estrategia aplicada para el aprendizaje del aislamiento e identificación de los metabolitos secundarios de la especie vegetal de estudio.

Actividad 2: Planeación del proyecto. Inicialmente, los autores de investigación, basados en el trabajo experimental previamente elaborado por (Castañeda Gómez, Morales, & Valderrama, 2018) seleccionaron aquellos metabolitos secundarios con mayor presencia en la especie vegetal, con ellos, en el grupo de trabajo experimental, de acuerdo a sus intereses personales, seleccionó cada uno, uno de los cuatro tipos de metabolitos secundarios (Saponinas, Flavonoides, Alcaloides, Terpenos y/o Esteroides). Asimismo, con la orientación de los

investigadores principales, se indujo a la formulación de la pregunta general del proyecto asociado al metabolito.

Actividad 3: Documentación y problemática. En este apartado, los grupos de investigación, realizaron la respectiva indagación por medio del empleo de bases de datos y fuentes bibliográficas, obteniendo de tal manera, la consolidación de un marco referencia en relación al metabolito seleccionado. Como investigadores principales, se incentivó en los estudiantes hacer énfasis sobre la importancia del metabolito para el desarrollo del proyecto.

Actividad 4: Objetivo de investigación y delimitación metodológica. Dada a la naturaleza de la investigación, los grupos enmarcaron unos objetivos principales para llevar a cabo la extracción y el reconocimiento de la naturaleza del metabolito secundario en cuestión. Con ello, basado en diversas fuentes bibliográficas diseñaron las estrategias procedimentales para el cumplimiento de dichos objetivos propuestos previamente. Sin embargo, cabe esclarecer que, para desarrollar el trabajo experimental, los estudiantes contaron con aval por parte de los directores de esta investigación para presentar sus avances en el desarrollo de la propuesta investigativa, para así mismo, continuar con las siguientes etapas.

7.6.2.2.4. *Fase iv. trabajo experimental.* Dentro de los aspectos metodológicos, en lo que respecta a procedimiento de laboratorio, los grupos ejecutaron cuatro actividades primordiales desarrolladas de manera secuencial, avaladas y dirigidas por los investigadores principales enmarcando algunos pasos del aislamiento e identificación de metabolitos secundarios de la especie vegetal, como se contempla de la siguiente manera:

Actividad 1: Extracción fitoquímica. La colecta de material vegetal del helecho *Eupodium pittieri* se realizó en enero de 2018, en el municipio de Acevedo, Huila (1,724522,-75.962772). La colecta tuvo lugar en horas de la mañana, tomando helechos jóvenes, particularmente, las

frondes. Posteriormente, la muestra fue secada a la sombra y pulverizada en una trituradora forrajera TRF 60 permitiendo el almacenado del mismo. Por lo anterior, los estudiantes del grupo experimental, teniendo a disposición material vegetal, procedieron a obtener la respectiva pasta vegetal a partir de la disolución del material con algunos disolventes orgánicos, empleando seguidamente el equipo de rotaevaporación.

Actividad 2: Identificación preliminar. Con el propósito de identificar cualitativamente los metabolitos de interés, cada grupo, desarrolló algunas pruebas cualitativas que, por reacción colorimétrica con reactivos de Shinoda (Flavonoides), Salkowski y Burchard (Saponinas), Dragendorff, Mayer, Wagner (Alcaloides), y Liebermann-Burchard (Terpenos), permitieron identificar la presencia o ausencia de estos en el material obtenido.

Actividad 3: Aislamiento del metabolito. Una vez identificado, los grupos aplicaron algunas técnicas de separación cromatográficas, como la cromatografía en columna y cromatografía en capa fina, para realizar el respectivo seguimiento del metabolito secundario de interés y lograr de esta manera la purificación del mismo.

Actividad 4: Identificación por espectroscopia UV- Vis. Aislado el metabolito secundario, los grupos ejecutaron un análisis por medio de espectroscopia UV-Vis la cual resulta una técnica fiable y adecuada para validar la presencia del metabolito secundario con base en la naturaleza de la molécula y su interacción con esta región del espectro electromagnético.

Actividad 5: Elaboración del reporte de investigación. Finalmente, los estudiantes elaboraron un reporte con los resultados obtenidos, donde se sintetiza los aspectos teóricos que soportaron el desarrollo experimental en el laboratorio, así como la presentación de lo obtenido junto a su respectivo análisis y conclusiones del proyecto elaborado; incluyendo anexos que validen la realización del mismo (Ver anexo E).

7.6.2.2.5. *Fase v. socialización.* La fase V, es una de las más importantes, es donde se consolidó un espacio de retroalimentación y reflexión de los procesos llevados a cabo en la investigación por los grupos de estudiantes. De esta forma, se estableció un foro en el que cada grupo presentó su informe final donde previamente se ha realizado un análisis de los procesos con relación al problema, además del propio proceso llevado a cabo por los mismos. Finalmente, se llegaron a conclusiones sobre y desde la perspectiva investigativa en el proceso formativo integral de los Licenciados en Ciencias Naturales.

7.6.2.2.6. *Fase vi. recopilación final de saberes.* Para la fase final de desarrollo, se contempló la aplicación del cuestionario al grupo experimental, posterior a la intervención didáctica, con la finalidad de reconocer la resignificación de algunos conceptos producto de la estrategia implementada en la investigación. Por lo anterior, basados en la experiencia de Narváez (2009) se desarrolló una prueba Z, por la que a través de los algoritmos planteados por Martínez (2012), y empleando Microsoft Excel, se procedió a docimar las hipótesis propuestas en la que se estimará la significancia de la estrategia de aprendizaje para la definición de conceptos asociados al aislamiento e identificación de metabolitos secundarios en estudiantes de la Licenciatura en Ciencias Naturales de la Universidad Surcolombiana

7.6.3. Etapa final. Finalmente, para esta etapa se realizó la presentación de resultados obtenidos en los grupos control y experimental, al igual que el análisis y discusión de las actividades implementadas, las estrategias y recursos didácticos con los que contó cada grupo del presente estudio, así como la influencia del trabajo experimental, la adquisición de habilidades científicas, teniendo como referente las herramientas de compilación de información de acuerdo a las bases conceptuales de esta investigación.

8. Resultados y Discusión

A continuación, se realiza una presentación sistemática de los resultados derivados de la investigación que contribuye a consolidar aspectos de gran relevancia sobre las estrategias didácticas implementadas, es decir, Aprendizaje Basado en Investigación y en la enseñanza convencional de las Ciencias Naturales y sus disciplinas afines como es el caso concreto la fitoquímica. Asimismo, el impacto sobre licenciados en formación en Ciencias Naturales y Educación Ambiental en el fortalecimiento de habilidades científicas como también las de pensamiento en el desarrollo de proyectos de investigación en un contexto determinado.

Los resultados recabados en este estudio, en su orden, se presentan inicialmente con respecto al grupo control y posteriormente respecto al grupo experimental. Por su parte, se evidencia el respectivo análisis cuantitativo de la comparación entre los saberes asociados a la fitoquímica especialmente en relación al aislamiento e identificación de metabolitos secundarios de la especie vegetal, antes y después de las intervenciones didácticas aplicadas.

8.1 Resultados y Análisis del Grupo Control

Dentro del presente estudio, inicialmente se llevó a cabo la recopilación de saberes previos o concepciones iniciales en los estudiantes pertenecientes al grupo control, a través del respectivo instrumento; este permitió conocer la estructura cognitiva de los estudiantes con respecto a aquellos ejes fundamentales de la asignatura.

Los resultados obtenidos al aplicar el pretest en el grupo control permiten realizar deducciones acerca de la estructura cognitiva inicial de esta muestra en relación a las definiciones presentes en relación al aislamiento e identificación de metabolitos secundarios presentes en la especie vegetal, tal como se muestran en la Tabla No. 5, por su parte se evidencian las medidas de tendencia central del pretest en la Tabla No. 6.

Tabla No. 5 Estructura cognitiva inicial del Grupo Control.

Ítem	Casos												Total	Acierto (%)
	S15	S16	S17	S18	S19	S20	S21	S22	S23	S24	S25	S26		
1	5	4	5	4	5	4	5	4	4	4	5	2	51	85,00
2	5	4	1	2	5	3	5	2	5	5	5	5	47	78,33
3	5	4	4	5	3	2	3	4	4	4	4	5	47	78,33
4	5	1	4	4	3	3	3	4	3	2	2	2	36	60,00
5	5	5	1	1	1	2	1	3	3	4	5	4	35	58,33
6	3	3	1	4	4	3	4	4	3	4	4	4	41	68,33
7	4	5	4	4	4	3	4	4	5	5	4	4	50	83,33
8	5	3	3	2	5	3	5	2	5	2	1	3	39	65,00
9	4	4	4	4	5	3	5	3	4	4	5	4	49	81,67
10	4	5	4	4	4	5	4	5	3	5	5	5	53	88,33
11	2	1	1	1	1	4	1	1	2	3	3	3	23	38,33
12	4	4	5	5	5	2	5	5	3	4	4	4	50	83,33
13	4	4	4	4	4	3	4	5	5	5	4	5	51	85,00
14	4	4	5	5	5	5	5	4	3	4	4	4	52	86,67
15	2	3	2	2	3	4	3	4	4	2	2	3	34	56,67
16	5	3	3	4	4	3	4	1	3	5	3	3	41	68,33
17	4	4	3	2	5	2	4	2	4	4	4	4	42	70,00
18	2	2	3	3	3	1	3	3	3	2	2	3	30	50,00
19	3	4	3	5	3	1	3	5	3	5	5	3	43	71,67
20	4	3	3	2	5	1	4	1	3	4	4	4	38	63,33
Total	79	70	63	67	77	57	75	66	72	77	75	74	852	71

Tabla No. 6 Medidas de tendencia central obtenidas en pretest. Grupo Control.

Desviación Estándar	Varianza	Mínimo	Máximo	Media	Moda	Puntaje Total	Acierto (%)
6,605782591	43,63636364	57	79	71	77	852	71

Inicialmente el grupo control de 1200 puntos posibles en la prueba alcanzó un puntaje de 852, relacionándose con un nivel de acierto inicial del **71,0 %**, lo que probablemente se vincularía con la definición en el estudiantado de algunos conceptos asociados a lo largo de la interacción con las diferentes asignaturas del área de química desarrolladas en la Licenciatura en Ciencias Naturales y Educación Ambiental de la Universidad Surcolombiana. Respecto a algunos estadísticos descriptivos, vale la pena resaltar valores que el grupo inicialmente se encontró en mínimos de acierto del 57 % y máximos del 79 %.

Por su parte, los resultados obtenidos posterior a la interacción de esta muestra con la estrategia en enseñanza convencional, por medio de la aplicación del respectivo posttest, se evidencian en la Tabla No. 7, de igual manera en la tabla No. 8 se evidencian las medidas de tendencia central recopiladas por medio de la aplicación del instrumento en este grupo.

Tabla No. 7 Estructura cognitiva final del Grupo Control.

Casos Item	S15	S16	S17	S18	S19	S20	S21	S22	S23	S24	S25	S26	Total	Acierto (%)
1	4	4	5	4	4	5	4	5	4	4	4	5	52	86,67
2	4	4	1	5	5	2	5	3	4	5	4	5	47	78,33
3	4	4	5	3	4	5	0	5	5	3	3	5	46	76,67
4	2	1	4	4	1	4	1	5	3	2	2	2	31	51,67
5	1	1	1	1	1	2	1	4	1	4	4	2	23	38,33
6	5	4	3	5	5	3	5	4	5	4	4	3	50	83,33
7	5	5	4	5	4	5	4	4	4	5	5	5	55	91,67
8	1	2	2	2	4	3	4	2	2	2	2	3	29	48,33
9	3	3	4	4	5	3	4	3	3	3	4	4	43	71,67
10	4	5	5	5	5	3	5	3	5	5	3	3	51	85,00
11	2	3	1	2	2	2	1	1	2	0	3	3	22	36,67
12	4	4	5	5	5	3	5	4	5	4	5	4	53	88,33
13	4	4	4	4	4	3	5	4	4	4	4	5	49	81,67
14	5	4	5	5	5	3	4	5	5	4	4	4	53	88,33
15	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2	2	26	43,33
16	4	5	4	5	4	3	4	3	4	3	3	3	45	75,00
17	5	5	5	4	4	3	4	4	5	4	4	4	51	85,00
18	1	3	2	3	2	3	2	3	3	2	2	2	28	46,67
19	4	1	5	5	3	3	3	3	4	5	5	2	43	71,67
20	5	4	3	5	4	3	5	5	1	4	4	3	46	76,67
Total	69	68	70	79	73	63	68	73	71	69	71	69	843	70,25

Tabla No. 8 Medidas de tendencia central obtenidas en postest. Grupo Control.

Desviación Estándar	Varianza	Mínimo	Máximo	Media	Moda	Puntaje Total	Acierto (%)
3,816828765	14,56818182	63	79	70,25	69	843	70,25

Posterior a la interacción de la estrategia convencional, el grupo control de 1200 puntos posibles obtuvo un decremento en su puntaje con un valor de 843, relacionándose con un nivel de acierto final del **70,25 %**, lo que revela un desaprendizaje en la estructura cognitiva final producto de la interacción con las sesiones del componente Fitoquímica de la Licenciatura en Ciencias Naturales y Educación Ambiental de la Universidad Surcolombiana. Por su parte, vale la pena resaltar valores en los que finalmente el grupo se encontró, relacionando mínimos de acierto del 63 % y máximos del 79 %, lo que en cierta medida permite reconocer que parte de la estructura cognitiva se mantuvo a lo largo de la experiencia.

Por medio de los resultados obtenidos en las Tablas No. 5 y No. 7, se realizó la Ilustración No. 2, en donde se evidencia de manera comparada las estructuras cognitivas en los dos momentos de intervención en la aplicación del instrumento, por lo que se puede reconocer la estructura cognitiva presente en el estudiantado de la presente muestra poblacional y la influencia de la estrategia de enseñanza convencional con la que este grupo interactuó.

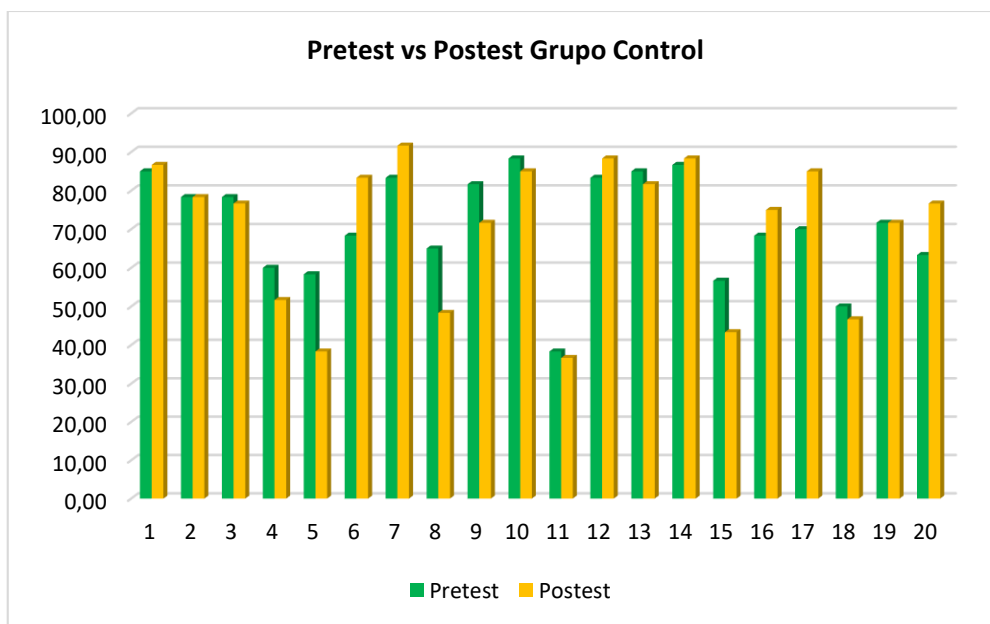


Ilustración No. 2 Estructura inicial y final del Grupo Control.

A continuación, se detallan las consideraciones de lo plasmado en la anterior ilustración, en relación a cada ítem del instrumento y su significación en el proceso de aprendizaje llevado a cabo en esta muestra poblacional.

Ítem 1. Este ítem se elaboró con el fin de comprobar la capacidad del estudiantado de asociar la fitoquímica como una rama de las Ciencias Naturales en la que se buscan principios activos de interés medicinal a partir de fuentes naturales. En ese sentido, se encontró un leve aumento en la definición de este concepto, encontrando una diferencia del **1 %**, dado que se encontraron valores de acierto del 85 % y del 86 % , para los momentos de intervención del pretest y posttest respectivamente, lo que permite asumir que la estrategia convencional les permitió en cierta medida establecer que la fitoquímica es una rama de la bioquímica, cuyo objeto de estudio se relaciona con la biosíntesis de los metabolitos secundarios y su diversidad estructural enmarcada principalmente en la búsqueda de nuevos productos con potenciales farmacológicos, además, “La fitoquímica se relaciona con el análisis de los componentes químicos o principios activos de las plantas mediante la extracción de material que ha sido

recolectado, secado y molido de acuerdo con procedimientos establecidos” (Ocampo, 1994, pág. 108); por lo anterior, el grupo se encuentra en un nivel deseable respecto a este ítem.

Ítem 2. Analizando el ítem establecido para la producción de nuevos medicamentos en la industria farmacéutica en relación con los principios activos de fuentes naturales el grupo mantuvo su estructura cognitiva, no se hallaron diferencias dado que se mantuvo el valor de acierto en un 78,33 % para ambos momentos de intervención del instrumento, lo que a los autores del presente estudio les permite deducir que la estrategia con la cual el grupo interactuó permitió definir esa relación de la fitoquímica para identificar especies con potenciales biológicos importantes, asimismo reconocer que existen otras formas de producir nuevos fármacos. Es de aclarar que “Los principios activos son la base para la síntesis de nuevos tipos estructurales de fármacos” (Villacrés et al., 2009, pág. 5); lo anterior, una vez más indica que el grupo mantuvo ese nivel en cuanto a la fundamentación esencial de la fitoquímica, así como los procesos que trascienden de ésta área resaltando un saber previo muy significativo.

Ítem 3. Es necesario comenzar diciendo que para reconocer los metabolitos secundarios es indispensable la realización de extracciones fitoquímicas o tamizajes fitoquímicos. Según (Prashant *et al.*, 2011 citado por (Castillo et al., 2017) “El tamiz fitoquímico consiste en la obtención de extractos de plantas con solventes apropiados, tales como agua, acetona, alcohol, cloroformo y éter. Otro solvente, el diclorometano, se usa específicamente para la extracción de terpenoides”; en ese sentido, el ítem 3, está construido para identificar en el sujeto de estudio la capacidad de diferenciar entre un proceso de identificación cualitativa de elementos como lo son Carbono, Hidrogeno, Nitrógeno, entre otros a comparación de los metabolitos secundarios presentes como compuestos en un extracto o fracción vegetal. En ese sentido, el grupo control presentó un decremento en su estructura cognitiva, presentando un valor de **1,66 %**, dado que se

encontraron valores de acierto del 78,33 % y 76,67 %, en el pretest y posttest respectivamente; lo anterior indica que este grupo presentaba una mayor estructura cognitiva de manera inicial, esto pudo ser ocasionado dada la necesidad de interactuar con experiencias en laboratorio, lo que generó un grado de dificultad en el momento de reconocer la diferencia entre tamizaje fitoquímico y análisis cualitativo elemental.

Ítem 4. En este aspecto se tratan aspectos relacionados a la biosíntesis de metabolitos secundarios, en el cual, se encontró un decremento significativo en la estructura cognitiva presente en la muestra, en la cual se encontró valor de **8,33 %**, dado que se tenía una mayor estructura cognitiva inicial con un valor de 60 % en pretest, y resultando en un 51,67 % por medio del posttest, lo anterior indica que la estrategia de enseñanza convencional no logró definir lo relacionado con la biosíntesis de metabolitos secundarios, en donde tal como lo plantean diferentes autores como Taiz y Zeiger (2006), Riveros, Pocasangre y Rosales (2002), Marcano y Hasegawa (2002), y Claramunt, Farrán, López, Pérez y Santa María (2013), estipulan que las rutas de biosíntesis de los metabolitos secundarios son las del ácido siquímico, ácido acetato malonato, acetato mevalonato, DOX- MEP y demás.

Ítem 5. De manera similar al anterior ítem, se presentó una significativa disminución en la estructura cognitiva, encontrándose un valor de **20 %**, dado que inicialmente el grupo contó con un nivel de 58,33% en pretest, y de 38,33% por medio del posttest, se puede resaltar que por medio de la enseñanza convencional no se logró definir en este grupo estudiantil la clasificación de los diferentes metabolitos secundarios en relación a su biosíntesis. Según Castillo García y Martínez Solís (2007) “Los metabolitos secundarios se han clasificado en: compuestos terpénicos, compuestos fenólicos, compuestos nitrógenados –principalmente los alcaloides” (pág. 26). Así mismo se destacan los esteroides, lignanos, cumarinas, ácidos grasos, entre otros.

Los ítems 4 y 5, permitieron identificar que a pesar que el grupo control logra reconocer los procesos metabólicos primarios y secundarios de las plantas, al momento de clasificar los metabolitos por su origen biosintético, el grupo control confunde las rutas metabólicas con relación a la producción de metabolitos secundarios como flavonoides, alcaloides, cumarinas, entre otras. Lo anterior, supone una dificultad en el aprendizaje de los conceptos inherentes a la fitoquímica en relación al aislamiento e identificación de metabolitos secundarios.

Ítem 6. En la fitoquímica, así como muchas disciplinas relacionadas a la obtención de compuestos es indispensable el reconocimiento de técnicas analíticas para la identificación de algunas propiedades y las características fundamentales que describen el comportamiento estructural de las moléculas. Es por ello, que el ítem 6 planteado se relaciona con la técnica de espectrometría de masas, según Cocho (2008) “La espectrometría de masas (MS) es una técnica analítica que proporciona información tanto cualitativa (Estructura) como cuantitativa (masa molecular o concentración) de las moléculas analizadas previamente convertidas en iones” (pág. 27). Para lo cual, se analizó que el grupo de estudiantes se definió significativamente este concepto, encontrando una diferencia del 15 %, lo que concuerda con los niveles de acierto hallados con valores del 68,33 % y del 83,33 %, para la intervención del pretest y posttest respectivamente, lo que permite resaltar que se conserva ese bagaje conceptual que poseen los estudiantes desde asignaturas como Química Analítica en cuarto semestre, la que aborda como ejes temáticos fuertes el reconocimiento de algunas técnicas espectrométricas y espectroscópicas, las cuales permiten identificar la masa molecular del compuesto entre otras características.

Ítem 7. La afirmación se construyó teniendo en cuenta la funcionalidad de los metabolitos secundarios en las especies vegetales como lo afirma Taiz y Zeiger (2006) “Los metabolitos secundarios tienen importantes funciones ecológicas en las plantas: Protegen a las plantas de la

ingestión por herbívoros, sirven como atrayentes de polinizadores y dispersadores de semillas...” (pág. 534). De igual modo, los metabolitos pueden fomentar actividades de impacto biológico reconociéndolo como principios activos con propiedades benéficas tanto para los seres humanos como para el medio ambiente. En este aspecto, se encontró que la estrategia permitió consolidar en el estudiantado una significancia positiva, encontrando una diferencia de **8,34 %**, dados los niveles hallados del 83,33 % y 91,67 % para el momento inicial y final de intervención del instrumento.

Ítem 8. Con respecto al plan de evaluación, relacionado a este ítem sobre el aislamiento e identificación de metabolitos secundarios es fundamental para la realización de las mismas, el empleo de disolventes orgánicos que emplean fundamentalmente la premisa “Lo semejante disuelve lo semejante” (Chang, 2010, pág. 516). Dada a la naturaleza de los metabolitos secundarios presentes en las especies vegetales, es necesario para extracción el uso de disolventes orgánicos en función a un gradiente de polaridad afín a los metabolitos secundarios de interés de la muestra vegetal (Navarro Flores, Sánchez Garrido y Collado Fernández, 1999). Por lo anterior, dada la escasa interacción del grupo control con el trabajo en laboratorio y/o enrolamiento en procesos investigativos, se encontró un decremento en la estructura cognitiva, hallándose una diferencia del **16,67 %**, lo cual se encuentra en concordancia con los niveles conceptuales hallados con valores del 65 % y 48,33 % para el pretest y posttest respectivamente.

Ítem 9. De manera similar al anterior ítem, el grupo presentó un decremento en su estructura cognitiva del **10 %**, dado que se contaba con una mayor estructura cognitiva inicial de un 81,67 %, respecto al valor final de 71,67 %; por lo anterior, los autores del presente estudio deducen que la estrategia no logró definir aquellos conceptos asociados a la bioprospección de los metabolitos, según lo enunciado por Arias (1999) el termino bioprospección se refiere a la

“exploración o búsqueda, extracción y tipificación de las sustancias químicas presentes en los seres vivos y que poseen una actividad biológica propia o juegan un papel importante en el metabolismo de estos organismos” (pág. 29). Es decir que, consiste en agrupar una serie de procedimientos que dan razón del potencial biológico de una sustancia química. Este valor, corresponde a la asociación moderada de las técnicas y procedimientos con respecto a la bioprospección, el grupo presenta un bajo nivel de apropiación conceptual en relación a este argumento planteado.

Ítem 10. Los ensayos biológicos son sustanciales en la determinación de los potenciales biológicos de las especies vegetales entre ellos se encuentra la inhibición del crecimiento microbiano, un ensayo que permite de acuerdo con su objetividad metodológica la confirmación o la derogación de dichos potenciales atribuidos a las plantas. Por su parte, “Estas pruebas se diseñan para determinar con alto grado de certeza la ausencia o presencia de un tipo de actividad (actividad antibacteriana, etc.) o cualidad (toxicidad, etc.)” (Gennaro, 2003, pág. 639). De esta manera, una vez más el grupo presenta un decremento en su estructura cognitiva con un valor de 3,33 %, concordando con los valores encontrados de 88,33 % y 85 %, para el pretest y posttest respectivamente, lo que se relaciona con la baja interacción a procesos investigativos que le permitan definir lo planteado en esta aseveración.

Ítem 11. Esta afirmación se realizó con el propósito de analizar la capacidad del estudiante para determinar el efecto de agentes químicos en organismos a través de los ensayos biológicos, tal como lo menciona Díaz Báez, Bustos López y Espinosa Ramírez (2004) “Los ensayos biológicos son herramientas de diagnóstico adecuadas para determinar el efecto de agentes físicos y químicos sobre organismos de prueba bajo condiciones experimentales específicas y controladas” (pág. 18). De tal manera que los efectos evaluados de los organismos van en

relación al estudio de la mortalidad, el crecimiento, cambios morfológicos, etc. Además, en los resultados que se obtienen en un estudio determinado, se efectúan una regresión rectilínea que permite calcular la concentración letal media (CL₅₀) de los extractos y patrones con un intervalo de confianza (Sanabria Galindo, López y Gualdrón, 1997, pág. 17). Con base en lo anterior, el grupo inicialmente poseía una estructura conceptual baja del 38,33 %, lo que sumado a un bajo valor en el momento final del 36,67 %, permitió identificar que no se logró definir este concepto en el estudiantado, hallando un decremento conceptual del **1,66 %**, lo anterior indica la falta de conocimiento de los jóvenes en relación a los ensayos biológicos y su importancia dentro de la determinación del potencial biológico de una especie.

Ítem 12. La afirmación estaba basada con el fin de relacionar el mundo vegetal con el ser humano –etnobotánica. En este sentido se encontró un aumento en la estructura cognitiva del estudiantado, hallándose una diferencia del **5 %** en relación al valor inicial del pretest de 83,33 % y del 88,33 % en el posttest, lo que permitió definir que la estrategia convencional logró en cierta medida definir esta relación entre los saberes populares y el conocimiento científico, lo que concuerda con lo establecido por Carreño Hidalgo (2016) en donde plantea que “La etnobotánica es el intercambio y la articulación de saberes que se recogen en resultados dados por el diálogo entre académicos, sabedores y miembros de la comunidad donde nace y vive la planta” (pág. 17), además, de estar relacionada con la farmacología, botánica, química, medicina, entre otras. En los trabajos desarrollados por Fajardo y Gómez (2011), Rodríguez (2010), Hoyos y Prieto (2000), Giraldo (2000), y Guerrero (1997), citado en (Carreño Hidalgo, 2016, pág. 28), se destacan algunas familias botánicas que albergan la mayoría de organismos vegetales usados en la medicina tradicional, asimismo están asociados a principios activos y propiedades de importancia farmacológica.

Ítem 13. Nuevamente en este ítem se encontró un decremento en la estructura cognitiva del estudiantado, hallando una diferencia de **3,33 %** lo que concuerda con los valores identificados del 85 % y del 81,67 % por medio de la aplicación del pretest y postest respectivamente. de modo que, se puede deducir que la estrategia convencional de aprendizaje no permitió definir en el estudiantado las funciones que cumplen los metabolitos secundarios en las especies vegetales, lo anterior comparando lo planteado por Sepúlveda Jiménez, Porta Ducoing y Rocha Sosa (2004), en donde destacan que “los metabolitos secundarios tienen una gran importancia ecológica, participan en los procesos de adaptación de las plantas a su ambiente en la atracción de insectos polinizadores y dispersores de las semillas y frutos” (pág. 355), además de que muchos de los metabolitos secundarios se inducen cuando las plantas están expuestas a condiciones adversas es decir como mecanismos de defensa.

Ítem 14. La afirmación estaba basada en la relación de la fitoquímica con la producción de productos naturales, en el que se destaca una leve significación del **1,66 %** de diferencia entre los valores de 86,67 % y 88,33 % obtenidos por medio de la aplicación del instrumento en los dos momentos respectivamente, es así que la estrategia de alguna manera permitió definir en los estudiantes la trascendencia de la investigación fitoquímica; ya que según Pomilio (2012) “La Química de los Productos Naturales se refiere a la investigación en metabolitos secundarios o “metabolitos especiales” de fuentes naturales de origen vegetal, animal, marino, fúngico y bacteriano” (pág. 74); de manera que las investigaciones fitoquímica soportan científicamente el uso de productos naturales.

Ítem 15. Primeramente, hay que tener en cuenta que un método para el aislamiento de compuestos orgánicos es la extracción. De acuerdo con Beyer y Walter (1987) “Mediante este método se pueden separar sustancias orgánicas de disoluciones acuosas, con el uso de

disolventes volátiles e insolubles en agua, como éter o cloroformo” (pág. 6). Sin embargo, la afirmación planteada, se realizó de manera negativa, es decir, se menciona que el aislamiento se lleva acabo con disolventes inorgánicos. Con base a lo planteado anteriormente, se pudo analizar que el estudiantado perteneciente a esta muestra poblacional no logró definir de manera adecuada la necesidad de los disolventes orgánicos en los procesos de investigación fitoquímica, lo que permitió encontrar un decremento en la definición adecuada de estos conceptos encontrando una diferencia de **13,34 %**, en donde el grupo inicialmente contó con un nivel conceptual mayor de 56,67 % frente al 43,37 % encontrado finalmente. lo que induce que probablemente no leyeron el ítem de manera acertada o simplemente evaden el hecho de que por medio de la extracción se utiliza disolventes orgánicos.

Ítem 16. El termino alelopatía hace referencia según Blanco (2006) “a los efectos perjudiciales o benéficos, que son directa o indirectamente el resultado de la acción de compuestos químicos, que, liberados por una planta, ejercen su acción en otra” (pág. 6), de modo que, el comportamiento de los metabolitos secundarios influye en el desarrollo de otras especies. Relacionando lo anterior, se encontró una significación del **6,67 %**, en concordancia con el valor inicial de acierto del 68,33 % y resultando en un acierto final del 75 %, verificando el nivel de definición alcanzado por el grupo control por medio de la interacción con la estrategia de aprendizaje convencional.

Ítem 17. El ítem se plantea con el propósito de conocer las ideas de los estudiantes con base al aislamiento de metabolitos secundarios; en este caso, se hace alusión al método de separación cromatográfica de capa fina, en el cual los estudiantes lograron definir significativamente este concepto, dada una diferencia del **15 %** en relación a los niveles encontrados del 70 % y 85 % por medio de la aplicación del pretest y posttest respectivamente.

Esto se compara con lo planteado por Herrera, Bolaños y Lutz (2003), en donde menciona que “La cromatografía en papel o capa fina son métodos útiles para la separación y caracterización de pequeñas cantidades de compuestos... La caracterización de los compuestos se realiza comparando la migración (R_f) de sustancias desconocidas con migración de compuesto patrón” (pág. 4).

Ítem 18. Este ítem se plantea con el fin de analizar la capacidad del estudiante en relacionar la aplicabilidad de la fitoquímica, en este caso, se encontró un decremento en la estructura conceptual del **3,33 %** en relación al nivel encontrado inicialmente de 50 % en comparación al valor final de 46,67 %; en este sentido la estrategia no brindó las bases conceptuales necesarias para una definición significativa de este concepto. Por lo anterior, es importante mencionar que “Gran parte de los principios activos utilizados para la elaboración de los medicamentos proceden de drogas vegetales y animales” (Casado Sánchez, 2012, pág. 166). Además, estas drogas primeramente deben ser sometidas a distintos procedimientos de extracción para la obtención y purificación de dichos principios activos.

Ítem 19. La afirmación se plantea con el fin de relacionar la identificación preliminar en las investigaciones fitoquímica. Con base a ello, se encontró que el grupo mantuvo su estructura cognitiva en un 71,67 % a lo largo de la intervención de la estrategia de aprendizaje convencional, por lo que la estrategia no redefinió aquellos conceptos en relación a los potenciales usos dados por las especies vegetales a algunos metabolitos secundarios, ya que es importante mencionar que, según Rivas Morales, Oranday Cárdenas y Verde Star (2016) “las plantas cuentan con la habilidad de sintetizar sustancias aromáticas de diferentes grupos funcionales, la mayoría de los cuales son fenoles o derivados oxigenados” (pág. 115). Por otro

lado, los metabolitos secundarios son utilizados como mecanismos de defensa, además de eso, poseen propiedades medicinales que contribuyen en gran manera.

Ítem 20. Para la identificación y determinación estructural de las moléculas, a menudo se suele utilizar un método conocido como espectroscopia. De acuerdo a lo planteado por Pasto y Johnson (1981), “La mayor parte de esta técnica física están basadas sobre el hecho de que las moléculas son capaces de absorber energía radiante y experimentar distintos tipos de excitación, deformaciones de enlaces, excitación rotacional e inversión del spin nuclear” (pág. 91). De manera que, esta técnica es importante para determinar la naturaleza de una molécula desconocida. Con base en los resultados obtenidos por el grupo experimental, se encontró un aumento en la estructura cognitiva del **13,34 %** en relación al nivel conceptual inicial del 63,33 % y la estructura final del 76,67 %, lo que permitió verificar la influencia de la estrategia convencional en la definición de este concepto en el estudiantado.

Revisados los resultados obtenidos por el grupo control, de manera general se observa que su estructura cognitiva sufre un decremento del **0,75 %** el cual se obtiene al efectuar la diferencia entre el porcentaje de aciertos del post-test (70,25 %) y el pre-test (71 %); lo anterior no concuerda con lo plasmado por Runyon y Haber (1986), donde estipulan que una diferencia superior al 5 % es suficiente para aceptar que la estrategia pedagógica es la responsable en el grado de aprendizaje alcanzado por este grupo de control, esto se debe al decremento conceptual hallado en relación a diez ítems y posiblemente dos ítems en donde se mantuvo la estructura conceptual.

En relación a estos ítems con decremento significativo por medio de la ilustración No. 2, se encontró que aquellos conceptos críticos giran en torno a los procesos del tamizaje fitoquímico, el reconocimiento de la bioprospección como proceso fundamental en el reconocimiento del

potencial biológico, por su parte se hallaron dificultades en la diferenciación de las rutas de biosíntesis y la clasificación de los metabolitos secundarios; por otra parte el estudiantado no logró reconocer la importancia de los ensayos biológicos y sus implicaciones en la identificación del potencial biológico de los compuestos de origen natural; de otro modo, el estudiantado no logró identificar la necesidad de solventes orgánicos para los procesos llevados a cabo en la investigación fitoquímica y la importancia de esta dentro del reconocimiento de compuestos de interés biológico. Lo anterior indica de manera general aquellos ejes centrales de la fitoquímica, entre otros, que se desaprendieron durante la interacción del grupo control con la estrategia de enseñanza/aprendizaje convencional.

Con los datos obtenidos en las Tablas No. 5 y No. 7, mostrados a su vez en la Ilustración No.2, Se procede a demostrar la eficacia de la estrategia didáctica utilizada con este grupo. Esta relación se plantea a través de una prueba Z para la cual se utiliza los siguientes algoritmos planteados por Martinez (2012).

$$\delta(\overline{X}_1 - \overline{X}_2) = \sqrt{\frac{\sigma_1^2}{N_1} + \frac{\sigma_2^2}{N_2}} \quad (1)$$

En este algoritmo, $\delta(\overline{X}_1 - \overline{X}_2)$ es la diferenciación por desviación estándar del comportamiento grupal, σ_1^2 y σ_2^2 se corresponden con las varianzas del pretest y posttest y N_1 y N_2 representan el número de casos.

$$Z = \frac{\overline{X}_1 - \overline{X}_2}{\delta(\overline{X}_1 - \overline{X}_2)} \quad (2)$$

Por medio de las Tablas No. 6 y No. 8, se emplean los valores calculados de la desviación estándar, la varianza y media del pretest y posttest, por lo que a través de la expresión (1) se tiene que:

$$\delta(\overline{X}_1 - \overline{X}_2) = \sqrt{\frac{14,56}{12} + \frac{43,63}{12}} = 2,20$$

Con el anterior valor, empleando la expresión (2) se procede a calcular el valor Z, tal como se ilustra a continuación:

$$Z = \frac{70,25 - 71}{2,20} = -0,34$$

Por lo anterior, se procede a ubicar el valor Z obtenido en la curva bilateral, tal como se evidencia en la Ilustración No. 3.

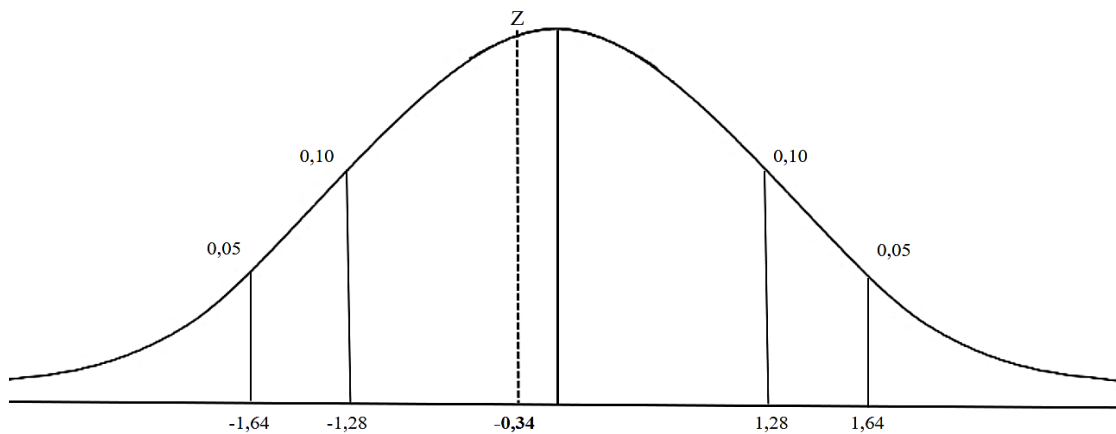


Ilustración No. 3 Ubicación del valor Z calculado en la curva binomial.. Grupo Control.

El valor de Z calculado presente en la Ilustración No. 3, se ubica en la zona de baja significancia con un intervalo de confianza mayor a 0.10 y 0.05, lo anterior permite validar el segundo objetivo específico trazado para el presente estudio, en donde, a través de la aceptación de la hipótesis nula (H_0), la estrategia de aprendizaje convencional con la que el grupo control interactuó no incide de manera significativa en el aprendizaje de los conceptos asociados al aislamiento e identificación de metabolitos secundarios involucrados en el presente estudio en estudiantes de la Licenciatura en Ciencias Naturales de la Universidad Surcolombiana.

8.2 Resultados y Análisis del Grupo Experimental

De manera similar al grupo control, por medio de la aplicación instrumento de recabación de saberes se logró reconocer la estructura cognitiva inicial presente en el grupo experimental cuyos resultados obtenidos al aplicar el pretest se evidencian en la Tabla No. 9, por su parte en la Tabla No. 10 se presentan las medidas de tendencia central correspondientes al pretest.

Tabla No. 9 Estructura cognitiva del Grupo Experimental – Pretest.

Ítems	Casos														Total	Acierto
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14		
1	5	2	5	4	2	5	4	4	5	4	4	5	4	4	57	81,43
2	3	5	5	5	3	5	5	1	5	3	5	5	5	5	60	85,71
3	4	3	3	4	2	4	4	4	4	4	5	5	3	5	54	77,14
4	2	1	4	2	3	2	2	2	2	2	1	4	2	5	34	48,57
5	5	1	2	4	2	2	2	1	1	4	2	5	4	5	40	57,14
6	4	5	4	5	3	3	4	3	4	3	3	4	4	3	52	74,29
7	5	2	4	4	2	4	5	4	4	2	4	5	4	5	54	77,14
8	1	5	3	2	2	3	3	5	2	2	5	5	5	3	46	65,71
9	3	3	3	4	2	3	2	4	5	4	3	3	5	3	47	67,14
10	4	1	5	2	5	5	5	1	5	4	5	5	5	5	57	81,43
11	1	1	1	2	4	3	3	3	1	3	3	1	3	2	31	44,29
12	5	2	4	4	2	4	4	4	5	4	5	4	4	4	55	78,57
13	4	2	4	5	3	4	5	4	4	5	4	5	4	5	58	82,86
14	3	2	3	5	5	5	4	5	5	4	2	4	5	4	56	80,00
15	1	4	2	3	4	3	2	2	4	2	3	4	4	3	41	58,57
16	5	3	4	3	5	5	3	4	2	5	5	3	3	3	53	75,71
17	4	2	5	4	2	3	4	4	2	4	4	4	5	4	51	72,86
18	3	3	2	3	1	2	1	2	2	2	3	2	2	2	30	42,86
19	4	3	3	3	1	2	3	5	5	5	3	4	2	5	48	68,57
20	3	2	3	3	1	4	4	3	2	4	3	3	4	3	42	60,00
TOTAL	69	52	69	71	54	71	69	65	69	70	72	80	77	78	966	69,00

Tabla No. 10 Medidas de tendencia central obtenidas en Pretest. Grupo Experimental.

Desviación estándar	Varianza	Mínimo	Máximo	Media	Moda	Puntaje Total	Acierto (%)
7,912988349	62,61538462	52	80	69	69	966	69

Respecto a la estructura cognitiva inicial presente, el grupo experimental tenía consolidado un nivel de acierto del **69 %**, lo que concuerda con los 966 puntos alcanzados de los 1400 puntos totales a los que se podía llegar. Cabe mencionar que este grupo poblacional poseía una menor estructura cognitiva que el grupo control, el cual alcanzó un puntaje del 71 %. Por su parte, por medio de los resultados estadísticos descriptivos se aprecian valores mínimos de acierto del 52 % y máximos del 80 %.

Por otro lado, los resultados obtenidos por medio de la aplicación del respectivo postest, posterior a la interacción del grupo experimental con la estrategia de Aprendizaje Basado en Investigación, los cuales se evidencian en la Tabla No. 11, de igual manera se evidencian las medidas de tendencia central del postest por medio de la Tabla No. 12.

Tabla No. 11 Estructura cognitiva del Grupo Experimental – Postest.

Ítems	Casos														Total	Acierto
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14		
1	5	4	5	4	5	4	4	5	4	5	4	4	4	4	61	87,14
2	5	5	5	4	3	4	5	5	5	3	4	4	5	4	61	87,14
3	4	3	4	3	3	3	4	4	4	4	3	3	4	3	49	70,00
4	5	4	5	2	5	1	2	4	2	5	5	4	1	5	50	71,43
5	1	1	2	3	2	4	1	5	1	1	1	5	1	4	32	45,71
6	3	5	4	5	4	4	2	3	4	4	4	5	5	5	57	81,43
7	5	5	5	4	4	4	5	5	5	4	4	4	4	4	62	88,57
8	5	2	5	2	5	5	3	5	3	1	3	1	4	1	45	64,29
9	3	4	2	3	4	4	4	4	4	4	3	5	3	5	52	74,29
10	4	5	5	5	5	5	5	5	5	3	5	3	3	3	61	87,14
11	2	2	2	1	2	3	2	4	2	2	2	1	2	1	28	40,00
12	5	5	4	5	5	5	2	4	5	5	5	5	3	5	63	90,00
13	5	4	5	5	4	4	5	4	5	5	5	4	5	4	64	91,43
14	4	5	4	5	5	5	4	5	4	5	5	5	4	5	65	92,86
15	3	3	4	1	4	2	3	4	1	5	4	5	4	1	44	62,86

Continuación Tabla No. 11

Ítems	Casos														Total	Acierto
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14		
16	5	5	5	5	5	5	5	5	4	4	5	4	5	4	66	94,29
17	2	4	4	5	4	4	4	5	5	5	4	5	4	5	60	85,71
18	5	3	2	2	3	2	1	2	2	1	3	1	2	1	30	42,86
19	5	5	2	2	4	4	2	5	2	4	5	4	2	5	51	72,86
20	3	5	4	5	5	4	4	5	5	4	3	5	4	4	60	85,71
TOTAL	79	79	78	71	81	76	67	88	72	74	77	77	69	73	1061	75,78

Tabla No. 12 Medidas de tendencia central obtenidas en postest. Grupo Experimental.

Desviación estándar	Varianza	Mínimo	Máximo	Media	Moda	Puntaje Total	Acierto (%)
5,38057148	28,95054945	67	88	75,78571429	79	1061	75,78

Respecto a la estructura cognitiva final a la que llegó el grupo experimental, se logró consolidar un nivel de acierto del **75,78 %**, lo que concuerda con los 1061 puntos alcanzados de los 1400 puntos totales a los que se podía llegar. Este valor final frente al porcentaje de acierto inicial de 69 %, demuestra una diferencia significativa del 6.58 %, el cual en términos de (Runyon & Haber, 1986), es producto de la estrategia pedagógica usada con el grupo experimental. Lo anterior sobrepasa en gran manera la estructura cognitiva final del grupo control, la cual alcanzó un puntaje del 70,25 %. Por su parte, por medio de los resultados estadísticos descriptivos se aprecian valores mínimos de acierto del 67 % y máximos del 88 %.

Por medio de los resultados obtenidos en las Tablas No. 9 y No. 11, se realizó la Ilustración No. 4., en donde se evidencia de manera comparada las estructuras cognitivas en los dos momentos de intervención en la aplicación del instrumento, por lo que se puede reconocer las definiciones presentes en ambos momentos de intervención del instrumento al estudiantado de la muestra poblacional, así como la influencia de la estrategia de Aprendizaje Basado en Investigación con la que este grupo interactuó.

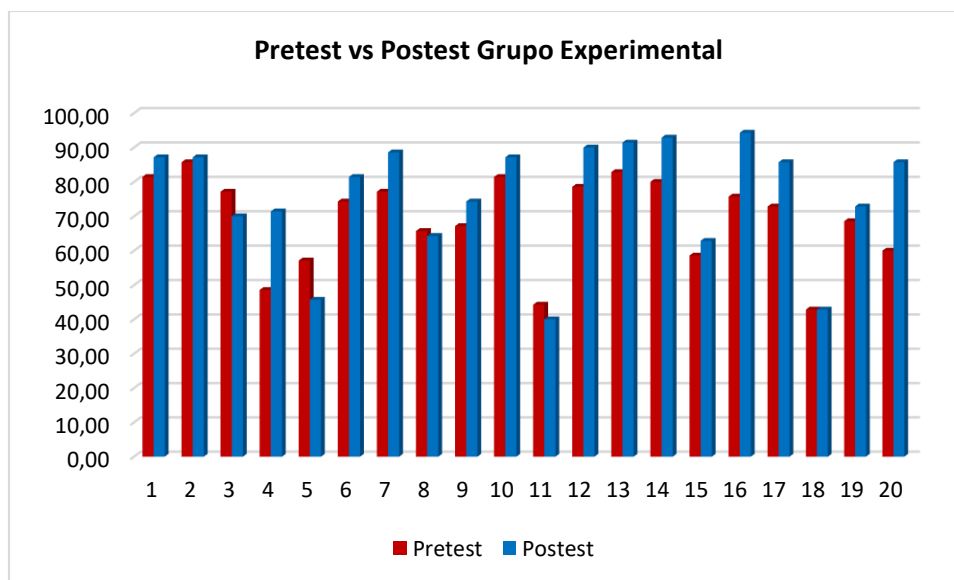


Ilustración No. 4 Estructura inicial y final del Grupo Experimental.

En relación a la anterior ilustración, se evidencian que la mayoría de ítems presentan unos altos índices de significancia en la definición de conceptos, por lo que a continuación, se presenta un análisis detallado de aquellos ítems resaltando las implicaciones estadísticas que soportan la construcción de conocimiento en los dos momentos de intervención del instrumento.

Ítem 1. Respecto a la identificación de la naturaleza de la fitoquímica, se encontró en los estudiantes un valor de resignificación del **6 %** el cual se obtuvo por la diferencia entre el pretest (81,43 %) y el posttest (87,14 %), lo que permitió reconocer que en este último grupo la estrategia permitió el estudiantado lograra verificar la importancia de la fitoquímica como una disciplina clave para el aislamiento y la identificación de la actividad biológica que poseen las diferentes especies vegetales de una región (Hernández et al., 2015).

Ítem 2. En este sentido, se logró verificar que el grupo experimental mejoró en un **2 %**, el cual es un valor que se debe tener en cuenta dada la alta significancia que se presentó en estos estudiantes dados los dos momentos de aplicación del instrumento, deducido por la diferencia obtenida en el pretest (85,71 %) y posttest (87,14 %), lo que permitió verificar la influencia de la

interacción con la estrategia para el reconocimiento de las diferentes técnicas fitoquímicas que facilitan la identificación de aquellos principios activos de las especies vegetales con alto potencial biológico, y por las cuales son las bases de la investigación en farmacognosia que de la mano de un riguroso estudio científico y el adecuado uso de las sustancias de origen natural permite la recolección, preparación, preservación, comercialización, distribución, identificación y evaluación de los componentes químicos de origen natural, finalmente generando la producción de nuevos medicamentos para el beneficio humano (Cortez Gallardo et al., 2004).

Ítem 3. Para los autores de la presente investigación, se evidenció que este ítem resultó uno de los aspectos con mayor conflicto en el estudiantado, dado que como se observa en la ilustración No. 4, se evidenció en este grupo de manera inicial una estructura cognitiva considerable en este ámbito, sin embargo posterior a la aplicación del posttest se encontró un decremento del **7,14 %** producto de la diferencia encontrada en el pretest (77,14 %) y posttest (70,0 %), de modo que este cambio negativo permite establecer que una parte del grupo no considera que la identificación de los tipos de metabolitos secundarios presentes en una especie vegetal se empleen técnicas cualitativas o el respectivo tamizaje fitoquímico, en este último aspecto cuando se consultó este apartado a los estudiantes durante su etapa experimental, algunas afirmaciones relacionadas son:

“Para reconocer los tipos de metabolitos que se encuentran en un extracto se emplean algunos reactivos que dan un color específico según el tipo de compuesto presente”

“El tamizaje fitoquímico es la manera en la que se puede identificar los compuestos que se presentan en un extracto por medio de reacciones químicas”

Dado que el grupo experimental ya tenía una estructura cognitiva respecto a este apartado, las afirmaciones expuestas previamente soportan la búsqueda realizada por ellos en el sentido de

conocer a un mayor nivel los fundamentos teóricos que validan la identificación cualitativa de metabolitos en una especie vegetal (Remón Rodríguez et al., 2012), se esperaba que este grupo llegara a un mayor nivel conceptual en este aspecto dada su interacción con las fases llevadas a cabo en laboratorio, en ese sentido se destaca que en el momento final se conserva un nivel de acierto considerable por lo que la estructura cognitiva se ha logrado consolidar en este grupo.

Ítem 4. Por medio de la ilustración No. 4, se evidencia una notable consolidación conceptual en el grupo experimental de **22,86 %** producto de la diferencia en el pretest (48,57 %) y posttest (71,43 %), dado que el estudiantado ya poseía una estructura conceptual previa, a través de la constante búsqueda de la naturaleza de los metabolitos secundarios seleccionados durante la etapa de la elaboración de los proyectos en el grupo junto al trabajo desarrollado en laboratorio, esto permitió consolidar que efectivamente los metabolitos secundarios son obtenidos a partir de los productos del metabolismo primario (Galbis Pérez, 1999), pero estos no son sintetizados a partir de las rutas metabólicas del metabolismo primario, sino que en las plantas siguen unas rutas específicas de biosíntesis como producto de la evolución y en función de la naturaleza del empleo que le da la especie vegetal a los principios activos en mención (Taiz y Zeiger, 2006).

Ítem 5. De manera similar al ítem No. 3., este apartado resultó en el estudiantado perteneciente al grupo experimental uno de los de mayor conflicto a nivel conceptual, encontrando un decremento del **11,43 %** producto de la diferencia en los dos momentos de aplicación del instrumento (57,14 y 45,71 % respectivamente), de esta manera pese que el grupo experimental se encontró en constante interacción teórico-práctica para el reconocimiento de la naturaleza de los metabolitos secundarios, en una parte de la muestra poblacional es muy posible que se halla dificultado el reconocimiento de la amplia clasificación de los metabolitos

secundarios, no solo a partir de sus orígenes biosintéticos en los que se tiene como base la ruta metabólica en la que se produjo, sino que se tiene en cuenta aspectos base como la quimiotaxonomía en la que se tiene en cuenta la estructura química del metabolito en cuestión, entre otros (Castillo García y Martínez Solís, 2007, pág. 25).

Ítem 6. Debido al nivel conceptual en el que se encontraban los estudiantes, se logró evidenciar una resignificación de **7,14 %** producto de la diferencia hallada en el pretest (74,29 %) y el posttest (81,43 %), lo que permite deducir que en el desarrollo de cada grupo durante la etapa de trabajo práctico permitió reconocer que, aunque en nuestra institución no poseemos la tecnología necesaria para realizar este tipo de análisis, durante el trabajo en el aislamiento e identificación de metabolitos secundarios es necesario el empleo de técnicas espectroscópicas en especial la espectrometría de masas en las que a partir de la producción de iones de las moléculas a identificar, la separación de estos en relación a la masa carga y la medición de las masas relativas de cada ion se lograra la identificación de la molécula desconocida con potencial biológico (Pasto y Johnson , 1981, pág. 273).

Ítem 7. Este concepto resultó de alta significancia, dado que se encontró un valor asociado a resignificación de conceptos del **11,43 %** producto de las diferencia obtenida entre el pretest (77,14 %) y el posttest (88,57 %), lo anterior permitió deducir que es muy factible que la experiencia llevada a cabo por cada uno de los estudiantes les permitiese reconocer que los metabolitos secundarios son diferentes en cada especie vegetal por lo que su función en la mayoría de los casos se relaciona con aquellos sistemas de excreción o defensa en las plantas, así como su responsabilidad en el olor, color, sabor y de muchas propiedades en sí de las especies. (Anaya Lang, 2003); (Castillo García y Martínez Solís, 2007, pág. 25).

Ítem 8. En este aspecto se pretendía reconocer el principio que permite la extracción de los componentes o principios activos que se encuentran en una especie vegetal, dada la naturaleza orgánica de los metabolitos secundarios, el estudiantado se debía encontrar en desacuerdo con el enunciado, dado el principio de solubilidad estos deben ser tratados con solventes orgánicos en función de un gradiente de polaridad (Rodríguez, H. et al), por lo anterior, en los dos momentos de intervención del instrumento se encontró un leve decremento en la estructura cognitiva en la que se presentó un margen de diferencia del **1,42 %**, esto permitió reconocer que la experiencia desarrollada en laboratorio logró definir en cierta medida la importancia del empleo de solventes orgánicos para la extracción de metabolitos secundarios, sin embargo no se puede obviar que aun persistan conflictos en la manera que se seleccionan los respectivos solventes para una extracción preliminar de metabolitos en una muestra vegetal.

Ítem 9. De manera similar al grupo control, a lo largo del desarrollo de la experiencia se encontró un conflicto con el término bioprospección, en el que aludiendo a lo mencionado por Muller, Obermeier y Berg (2016), se resalta el papel de la bioprospección con toda esa demanda creciente en la actualidad para el reconocimiento de nuevos componentes bioactivos para el beneficio en el campo de la salud, industria, agricultura y demás. Es en este sentido que los procedimientos llevados a cabo en el aislamiento e identificación de metabolitos secundarios permiten relacionarlo con la bioprospección como tal; En relación a la estructura cognitiva que se encontró en el grupo experimental, se logró identificar una aumento en la estructura conceptual de **7,15 %** obtenidos de la diferencia entre el pretest (67,14 %) y posttest (74,29 %), es de resaltar que esta muestra poblacional al encontrarse interactuando de manera continua con el tratamiento fitoquímico que recibe una muestra vegetal, la realización de la extracción de metabolitos presentes en ella, el respectivo tamizaje fitoquímico y demás procedimientos,

permitieron al estudiantado reconocer en buena medida el papel de las técnicas fitoquímicas en la bioprospección de una especie vegetal.

Ítem 10. Vale la pena resaltar el gran índice de resignificación encontrado en el grupo experimental, por medio de la Ilustración No.4, se encontró un cambio del **5,71 %** producto de la obtención de la diferencia entre los resultados del pretest (81,43 %) y el posttest (87,14 %). Lo anterior sugiere la capacidad del estudiantado de reconocer las implicaciones de la interacción de algunos metabolitos secundarios con microorganismos, dado que dependiendo de la naturaleza de la sustancia química en mención se puede lograr la inhibición o proliferación de estos organismos en un cultivo dado, tal como menciona Parés I Farrás y Giménez (1997), pág. 330, de esta manera es que se les atribuye la actividad farmacológica o inmunológica a los productos de fuentes naturales, dado que por medio de la inhibición en el crecimiento bacteriano es que muchos compuestos han venido siendo empleados como anticancerígenos dada la toxicidad para células de alta proliferación.

Ítem 11. Pese que de manera global el estudiantado poseía consolidada una estructura cognitiva en relación a este ítem, por medio de la Ilustración No. 4, se pudo identificar que este ítem resultó en uno de los de mayor conflicto presentado en el estudiantado, en el grupo experimental se halló un decremento conceptual del **4,29 %** producto de la diferencia del pretest (44,29 %) y el posttest (40,0 %). Como autores del presente estudio se pudo determinar que los estudiantes al presentar previamente unos conocimientos estructurados, no son capaces de relacionar la evaluación del potencial anticancerígeno en los metabolitos con unos procedimientos a seguir para su respectiva determinación, tales como la determinación del nivel de toxicidad de los metabolitos secundarios a través de su evaluación sobre *Artemia salina* (Ordaz González, D'Armas, Yáñez, Hernández y Camacho, 2010), reconocimiento de la

evaluación antimicrobiana por medio de la técnica de bioautografía directa (Colorado, Galeano y Martínez 2007), o la difusión en agar por medio de pozos (Ordaz, D Armas, Yáñez, Hernández, y Camacho 2010), y la evaluación por actividad citotóxica por líneas celulares (Gómez y Trejos 2009), entre otros.

Ítem 12. Por medio de la Ilustración No. 4, se evidenció una alta resignificación del **11,43 %** producto de la diferencia entre lo obtenido por medio del pretest (78,57 %) y el posttest (90,0 %), de esta manera, se logró verificar la eficacia de la interacción del estudiantado con la estrategia de aprendizaje postulada, dado que en la formulación de los respectivos proyectos por cada subgrupo elaborado se parte del reconocimiento de la importancia del metabolito secundario en cuestión relacionando esos nexos fundamentales entre el conocimiento etnobotánico y la fitoquímica dentro de la búsqueda y aislamiento de nuevos principios activos con interés médico entre otros. Como autores del presente estudio se puede relacionar este conocimiento consolidado en los estudiantes dada la fuerte relación que se posee de manera cultural en nuestra región en relación al uso de especies vegetales, para ellos resulta sencillo relacionar el conocimiento que se tiene de una especie dada con los posibles potenciales que esta posea, es así que el trabajo desarrollado les ha permitido adquirir habilidades que les permita reconocer la importancia del aislamiento e identificación de metabolitos secundarios, en donde tal como afirman Méndez y Durán (1997), cada vez es más notable la fuerte tendencia mundial en la búsqueda de medicamentos de origen natural, dada la inmensa riqueza vegetal que se posee en los países tropicales se ha puesto la mirada en la obtención de compuestos a partir de plantas medicinales.

Ítem 13. Este ítem se encuentra relacionado al ítem No. 7., dado que por medio de estos se valora la capacidad del estudiante en el reconocimiento de las propiedades de los metabolitos

secundarios y sus diversas funciones en las especies vegetales. Tal como se logró apreciar por medio de la Ilustración No. 4, se encontró una alta significancia en la reformulación de estas concepciones en los estudiantes pertenecientes al grupo experimental, dado que tal como se ha venido evaluando en el instrumento, la mayor parte de la investigación en productos naturales se encuentra estrechamente vinculada con esas propiedades asociadas a estos principios activos, por lo anterior, este grupo logró una alta resignificación de este concepto con un valor del **8,57 %** producto de la diferencia encontrada entre la intervención del pretest (82,86 %) y el posttest (91,43 %). Esta significancia se relaciona directamente con el trabajo desarrollado por los subgrupos establecidos, en donde cada uno describió aquellas actividades por las que se destaca el metabolito secundario en cuestión, y que, en últimas llevó al estudiantado al reconocimiento en la importancia a nivel vegetal en la producción de estos compuestos químicos como mecanismos de defensa, atrayentes, soporte estructural, entre otros (Taiz y Zeiger, 2006)

Ítem 14. En este aspecto se logró identificar el alto nivel de reconceptualización presentado en este grupo, en el que se encontró un cambio significativo del **12,86 %** producto de la diferencia entre el pretest (80,0 %) y posttest (92,86 %), de esta manera se aprecia el efecto de una revisión constante de literatura dado que en la etapa de trabajo en laboratorio ameritaba por parte de ellos una contextualización de lo que cada uno realizó, de esta manera, el trabajo experimental permitió dicha consolidación conceptual en donde la investigación fitoquímica toma esa importancia en la colecta, identificación, preparación del material vegetal, tamizaje fitoquímico, determinación de actividad biológica, actividad citotóxica y determinación estructural, entre otros, que son las actividades que permiten reconocer esas nuevas fuentes de productos naturales y las soportan por medio de la divulgación científica (Rivas et al., 2016).

Ítem 15. De manera similar al ítem No. 8., este aspecto se realizó con el fin de evaluar la capacidad del estudiantado para reconocer que en la investigación fitoquímica no se emplean disolventes inorgánicos sino orgánicos dada la naturaleza de los metabolitos secundarios como compuestos químicos de origen natural, aquí se planteó las características que debía poseer la muestra vegetal previamente a ser tratada (Rivas et al., 2016, pág. 6), por medio de la Ilustración No. 4., se logró verificar un nivel de significación de **4,29 %** producto de las diferencias encontradas en los dos momentos de intervención del instrumento (Pretest y Posttest), es así, que se logra identificar en una buena medida la interacción con el trabajo en laboratorio permitió asociar la técnica por la cual el material vegetal debe ser tratado, logrando reconocer la capacidad del estudiantado para identificar la metodología a seguir para el tratamiento del material vegetal hacia la extracción de los compuestos químicos bioactivos de interés.

Ítem 16. Tal como se ha tratado en anteriores apartados, la alelopatía se conoce como esa interacción en la que intervienen metabolitos secundarios que influyen en el crecimiento y desarrollo de otros organismos vivos (Anaya Lang, 2003, pág. 255). De manera que por medio de las diversas interacciones metodológicas a las que fueron sometidos los grupos es de esperar una resignificación positiva dado el nivel de acierto del estudiantado con el enunciado propuesto, de este modo, por medio de la Ilustración No. 4, se logró encontrar un notable crecimiento en la estructura cognitiva del grupo en un **18,58 %** producto de la diferencia encontrada entre el pretest (75,71 %) y posttest (94,29 %). Lo anterior, cabe resaltar que, aunque no se llevó a cabo esta etapa procedimental, los grupos dentro del planteamiento de sus respectivos proyectos lograron acercarse de manera teórica permitiendo establecer una resignificación de este concepto para consolidar el papel de la alelopatía en la evaluación biológica de los metabolitos secundarios.

Ítem 17. Dentro de este aspecto se resalta la capacidad del estudiantado en reconocer la importancia de las técnicas cromatográficas (Cromatografía en Columna y Cromatografía en Capa Fina) para la separación de los diferentes metabolitos secundarios presentes en una muestra, tal como afirma Sharapin (2000), la cromatografía permite separar compuestos en función de su polaridad, aunque no todas las moléculas orgánicas poseen una coloración visible, las sustancias incoloras pueden ser separadas y visualizadas por medio del empleo de un revelador que puede ser un reactivo químico o su interacción con luz UV. Dado que en las diferentes cátedras de química por las que han pasado los estudiantes se ha hecho énfasis en estas técnicas, la Ilustración No. 4., revela el alto acierto presente en el estudiantado en el momento inicial sumado a una alta significación conceptual del **12,85 %** producto de la diferencia obtenida entre el pretest (72,86 %) y posttest (85,71 %), lo que implica en una eficiencia por parte de la estrategia en la medida de promover en el estudiantado una resignificación de dicha técnica en el análisis químico junto a su aplicación en la identificación de metabolitos secundarios como tal.

Ítem 18. Como uno de los objetivos del curso de fitoquímica, es el reconocimiento de compuestos bioactivos en la búsqueda de nuevos medicamentos de estos productos naturales, de esta manera al encontrar un principio activo de interés existe la posibilidad de sintetizar dicho compuesto a partir de su estructura conocida, tal como afirman Bradshaw y Bonjoch (2015), la síntesis de productos naturales ha entrado en una etapa en la que la eficiencia del proceso asume un papel preponderante, a fin de poder acceder de manera escalable a moléculas con potencial impacto en la sociedad. De esta manera, por medio de la Ilustración No.4., se encontró que la estructura cognitiva asociada a este ítem en el grupo experimental se mantuvo igual a lo largo de la experiencia, por lo que en una parte del estudiantado a través del estudio constante de la

naturaleza de la química de productos naturales permitió consolidar esta faceta importante de la investigación fitoquímica.

Ítem 19. Por medio de la Ilustración No. 4, se logró identificar que el grupo experimental pasó por un cambio conceptual aproximado de **4,29 %** producto de la diferencia hallada entre el pretest (68,57 %) y posttest (72,86 %), en donde el estudiantado logró reconocer el conflicto existente en este ítem, dado que se diseñó para valorar la capacidad del estudiante de identificar las implicaciones de la naturaleza de las reacciones químicas cualitativas, en donde la aplicación de reacciones de coloración resultan en unas técnicas sensibles reproducibles y de bajo costo, que permiten la formación de complejos químicos específicos que viabilizan la identificación preliminar de la gran diversidad metabólica presente en un extracto vegetal (Sharapin, 2000)

Ítem 20. Este último ítem permitió valorar las concepciones presentes en los estudiantes en relación a la espectroscopia, tal como lo define Pasto y Johnson (1981), estos métodos estudian la interacción entre la interacción electromagnética y la materia, en particular tres zonas del espectro electromagnético con especial interés en la determinación de compuestos químicos, UV, IR y ondas de radio. Dado que los estudiantes del grupo experimental contaron con el empleo de equipos de espectroscopia para la identificación de los metabolitos secundarios de interés, la Ilustración No. 4, permitió comprobar la significancia que tuvo esta metodología en el reconocimiento de la naturaleza estructural de los metabolitos, en donde se halló un notable cambio conceptual de **25,71 %** en los dos momentos de aplicación del instrumento (Pretest y posttest respectivamente), lo que la interacción y manipulación de instrumental asociado a técnicas espectroscópicas contó con una significancia en sus estructuras cognitivas asociadas a los métodos de identificación estructural para la identificación de la naturaleza de los diferentes metabolitos secundarios.

Revisados los resultados del grupo experimental, en general se observa que su estructura cognitiva experimenta un aumento del **6,78 %**, el cual se obtuvo al restar el porcentaje de aciertos del post-test (75,78 %) y el pre-test (69 %), por su parte Runyon y Haber (1986) plantean que una diferencia superior al 5% es suficiente para la aceptación de la hipótesis propuesta en el respectivo estudio.

Por su parte, el aumento cognitivo encontrado en el grupo experimental concuerda con lo observado en la Ilustración No.4., donde solo 4 ítems del estudio presentaron un decremento en su estructura cognitiva, los cuales se relacionaban con aspectos como el tamizaje fitoquímico y preparación de la muestra vegetal, el empleo de solventes orgánicos y su importancia, asimismo, se presentó cierto nivel de dificultad cognitiva en el momento de reconocer las rutas de biosíntesis de los metabolitos secundarios y su respectiva clasificación, así como algunos aspectos relacionados a los ensayos biológicos. No obstante, los 16 ítems restantes sufrieron una alta resignificación producto de la estrategia Aprendizaje Basado en Investigación implementada, lo que permitió aumentar la estructura cognitiva del grupo

Con los datos obtenidos en las Tablas No. 9 y 11., y evidenciados en la Ilustración No.4, se procede a demostrar la eficacia de la estrategia didáctica utilizada con este grupo. Esta relación se plantea a través de una prueba Z (Martinez Bencardino, 2012) para la cual se utiliza los siguientes algoritmos.

$$\delta(\overline{X_1} - \overline{X_2}) = \sqrt{\frac{\sigma_1^2}{N_1} + \frac{\sigma_2^2}{N_2}} \quad (1)$$

$$Z = \frac{\overline{X_1} - \overline{X_2}}{\delta(\overline{X_1} - \overline{X_2})} \quad (2)$$

Por medio de las Tablas No. 10 y No. 12, se emplean los valores calculados de la desviación estándar y media del pretest y postest, por lo que a través de la expresión (1) se tiene que:

$$\delta(\overline{X}_1 - \overline{X}_2) = \sqrt{\frac{28,95}{14} + \frac{62,61}{14}} = 2,55$$

Con el anterior valor, empleando la expresión (2) se procede a calcular el valor Z, tal como se ilustra a continuación:

$$Z = \frac{75,78 - 69}{2,55} = 2,65$$

Por lo anterior, se procede a ubicar el valor Z obtenido en la curva bilateral, tal como se evidencia en la Ilustración No.5.

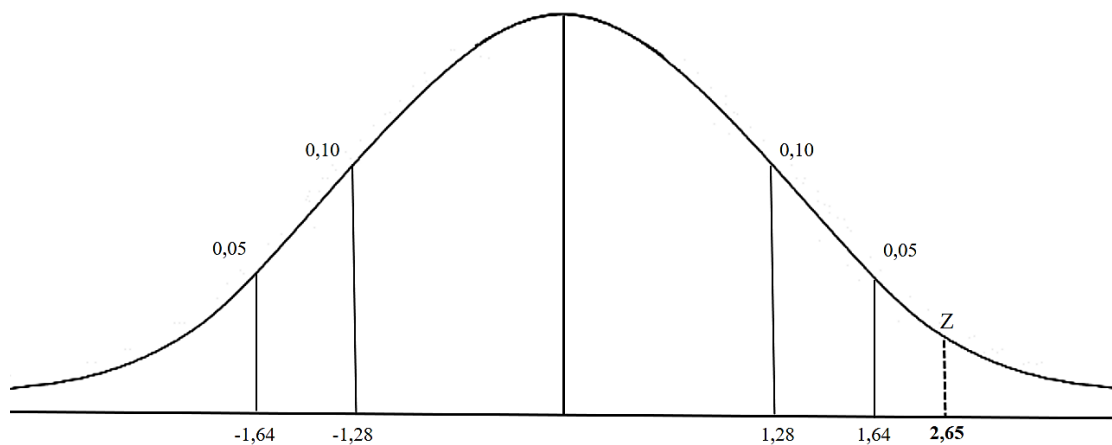


Ilustración No. 5 Ubicación del valor Z calculado en la curva binomial. Grupo Experimental.

El valor de Z calculado presente en la Ilustración No. 5, se ubica en la zona de alta significancia de la curva binomial con un intervalo de confianza menor a 0.10 y 0.05, en consonancia con el segundo objetivo específico propuesto, este valor se posiciona en la zona de rechazo de la hipótesis nula (H_0) por lo que se procede a aceptar la hipótesis alternativa (H_A), en donde se planteó que el aprendizaje basado en investigación permite la definición de algunos

conceptos fitoquímicos en estudiantes de la Licenciatura en Ciencias Naturales de la Universidad Surcolombiana. Lo que comprueba que la estrategia didáctica del Aprendizaje Basado en Investigación con la que el grupo experimental interactuó sí incide de manera significativa en el aprendizaje de los conceptos asociados al aislamiento e identificación de metabolitos secundarios involucrados en el presente estudio.

8.3 Comparación entre el Grupo Control vs Experimental

Por último, se realiza una comparación entre las estructuras cognitivas presentes en el momento final para ambos grupos del presente estudio, por lo que se hace realiza nuevamente una prueba Z para definir el nivel de eficacia de la estrategia Aprendizaje Basado en Investigación en comparación a la enseñanza convencional como estrategia significativa para el aprendizaje de algunos conceptos relacionados al aislamiento e identificación de metabolitos secundarios, tal como se ilustra a continuación

Por medio de las Tablas No. 8 y No. 12, se emplean los valores calculados de la desviación estándar y media obtenidas en el posttest para los grupos control y experimental, por lo que a través de la expresión (1) se tiene que:

$$\delta(\overline{X}_1 - \overline{X}_2) = \sqrt{\frac{28,95}{14} + \frac{14,56}{12}} = 1,81$$

Con el anterior valor, empleando la expresión (2) se procede a calcular el valor Z, tal como se ilustra a continuación:

$$Z = \frac{75,78 - 70,25}{1,81} = 3,05$$

Por lo anterior, se procede a ubicar el valor Z obtenido en la curva binomial, tal como se evidencia en la Ilustración No. 6.

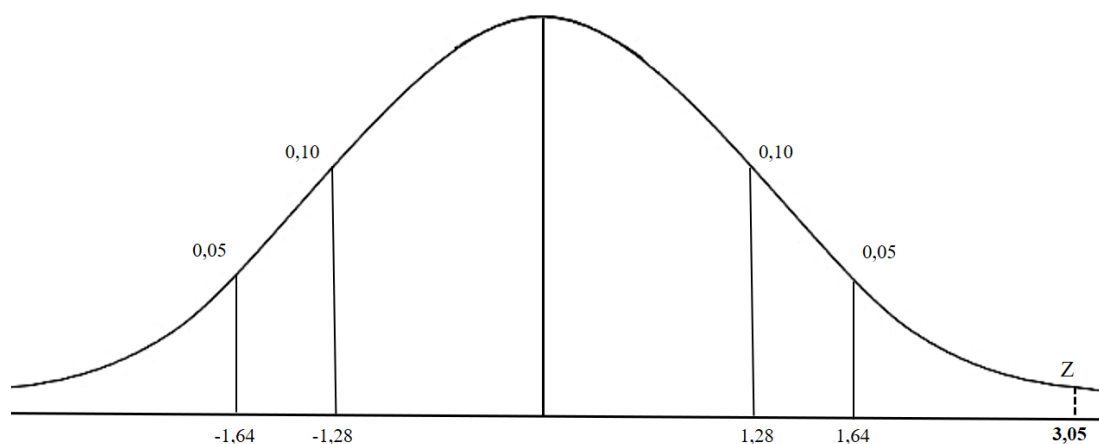


Ilustración No. 6 Ubicación del valor Z calculado en la curva binomial. Grupo Control vs Experimental.

El valor de Z calculado presente en la Ilustración No. 6, se ubica en la zona de alta significancia con un intervalo de confianza inferior a 0.10 y 0.05; de acuerdo al segundo objetivo específico propuesto en el presente estudio, este valor se localiza en la zona de rechazo de la hipótesis nula (H_0), por lo que realizando la comparación de resultados obtenidos en la estructura conceptual de ambos grupos del estudio, se procede a aceptar la hipótesis alternativa (H_A), la cual plantea que la estrategia Aprendizaje Basado en Investigación permite una mejor definición de algunos conceptos fitoquímicos en estudiantes de la Licenciatura en Ciencias Naturales de la Universidad Surcolombiana, comparada con el grupo control. Lo anterior, una vez más, permite comprobar la eficacia de la estrategia didáctica con la que el grupo experimental interactuó sí incide de manera significativa en el aprendizaje de los conceptos asociados al aislamiento e identificación de metabolitos secundarios involucrados en el presente estudio.

8.4 Consideraciones Adicionales de Aprendizaje para el Grupo Experimental.

En este apartado, se analiza la estrategia implementada para incentivar el aprendizaje sobre el aislamiento e identificación de metabolitos secundarios empleando como base la bioprospección del helecho *Eupodium pittieri* el cual, como se ha mencionado posee un potencial

biológico atribuido en la zona sur del departamento de Huila. Por lo anterior, se llevaron a cabo los pasos y actividades propuestas en la fase III y fase IV donde se destaca la rigurosidad metodológica e investigativa en la cual se enmarca el Aprendizaje Basado en Investigación.

8.4.1 Elaboración del miniproyecto de investigación. Para el desarrollo de este, se tuvo en cuenta la consolidación de las bases conceptuales y metodológicas descritas en las actividades 3 y 4 donde se realizó, por parte de los grupos de investigación, la documentación respectiva, la problemática a la cual atiende el proyecto, así como la formulación de los objetivos de investigación y la delimitación metodológica. (ver Ilustración No. 7)

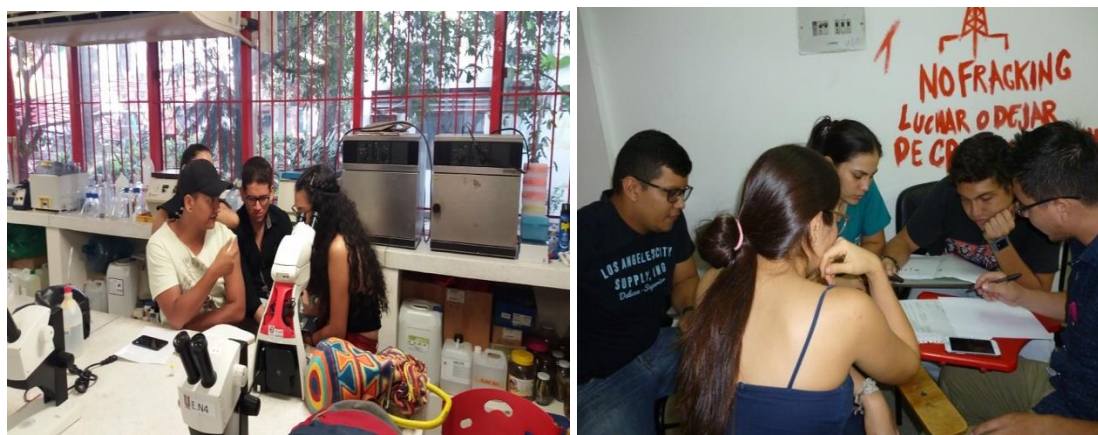


Ilustración No. 7 Grupos de investigación elaborando los proyectos asociados a los metabolitos secundarios.

En ese sentido, como se muestran en las anteriores ilustraciones, los grupos elaboraron en acompañamiento de los directores de investigación lo concerniente a factores que influyen en el desarrollo de una propuesta investigativa.

8.4.2 Trabajo experimental. Avalado el proceso de investigación anterior, los grupos de trabajo desarrollaron paso a paso la investigación fitoquímica principalmente centrando la atención en el aislamiento e identificación de los metabolitos secundarios descritos.

Actividad 1. Extracción fitoquímica. De acuerdo a la delimitación metodológica por parte de los grupos, tres de los cuatro grupos concordaron en la extracción de los metabolitos secundarios empleando la técnica de maceración exhaustiva con disolvente orgánicos no obstante el grupo de Saponinas propuso una metodología específica para este metabolito producto de lecturas en artículos científicos lo cual consistió en tomar una cantidad de material vegetal tratándolo con Etanol en un tubo de ensayo una temperatura de ebullición de agua en baño maría por 15 minutos posteriormente desarrollando una filtración así obteniendo el extracto crudo con el disolvente.

Por lo anterior, se les proporcionó material tratado previamente por los autores-investigadores, de la especie vegetal con el objetivo de desarrollar el aislamiento e identificación del metabolito por parte de los grupos, de esta forma, llevaron a cabo el respectivo desengrase del material vegetal con n-hexano, seguidamente realizaron la extracción descrita anteriormente para obtener los extractos crudos. (ver Ilustración No. 8)



Ilustración No. 8 Actividades realizadas para la extracción fitoquímica de metabolitos secundarios de los grupos de investigación.

Como se puede observar en las anteriores ilustraciones se detalla los procesos metodológicos llevados a cabo por cada uno de los grupos para la obtención de extractos metanólicos y clorofórmicos necesarios para las posteriores actividades. En ese sentido, se evidenció un comportamiento procedimental aproximado al científico con relación al manejo de materiales, reactivos y procedimientos de laboratorio. Cabe resaltar que antes de iniciar cada una de las metodologías descritas por ellos, a modo de coordinación de investigación, se les preguntó cuál es el objetivo persigue la metodología a desarrollar al igual que la fundamentación teórica y aspectos metodológicos del mismo consolidando así un espacio para la socialización de estos aspectos.

Actividad 2. Identificación preliminar. Cada uno de los grupos investigo pruebas específicas de identificación colorimétrica para los metabolitos secundarios estudiados, en el caso de alcaloides fue el grupo que desarrollo mayor cantidad de pruebas puesto que los alcaloides reaccionan con yodo, este grupo presentó un comportamiento deseado en la preparación de reactivos, procedimientos y actitudes científicas, manifestaron lo siguiente:

S11: *“Nos gusta esta experiencia porque no es el curso normal donde nos facilitan los reactivos hechos, acá conocemos como debe de prepararse y cómo funciona”.*

Cabe resaltar, que los directores de investigación mantuvieron una constante observación de los procesos, cada grupo llevo independencia de los procesos metodológicos puesto que ya contaban con aval para esta actividad. (ver Ilustración No. 9)

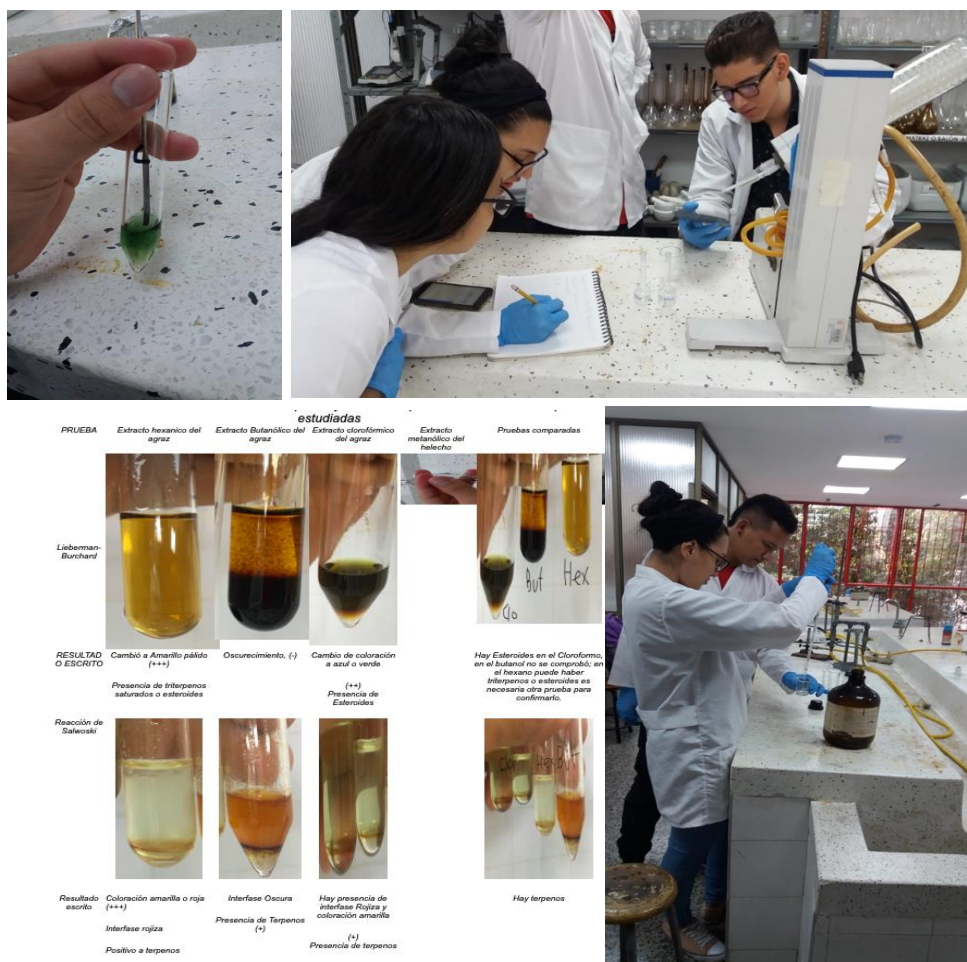


Ilustración No. 9 Resultados de las pruebas cualitativas de los grupos de investigación.

Actividad 3. Aislamiento de metabolitos. Con los resultados presentados en la actividad anterior, cada uno de los grupos presentó una estrategia de aislamiento de los metabolitos para los cuales escogieron técnicas cromatográficas para dos grupos —saponinas y flavonoides— observaron la pertinencia de hacer una columna cromatográfica. En cuanto que, el grupo de alcaloides, así como terpenos y/o esteroides decidieron utilizar la cromatografía en capa fina (CCF). Debido a las asesorías pertinentes cada uno de los grupos buscó en la literatura como poder identificar el metabolito de interés empleando tanto la absorción al ultravioleta como también la coloración específica en una reacción. En ese sentido, como se mencionó el grupo de alcaloides, determinó la facilidad de utilizar yodo resublimado; flavonoides, vapores de

amoniaco, así como luz UV; saponinas y terpenos y/o esteroides la reacción de Liberman-Burchard por la similitud estructural de los mismos. Es de mencionar, hasta este proceso se puede evidenciar comportamientos y actitudes similares a los investigadores en ciencias, la curiosidad así como el interés ayudó a la asimilación de los procesos, la comprensión además de la importancia de “*seguirle la pista a un compuesto*” también, saber la disposición de su polaridad conforme su factor de retención, las fases móviles adecuadas para posteriores procesos entre otros factores determinantes para el aislamiento de metabolitos como es la inferenciación a partir de resultados preliminares. (Ver Ilustración No. 10.)



Ilustración No. 10 Desarrollo de técnicas cromatográfica y detención cualitativa de metabolitos los metabolitos secundarios.

Asimismo, desarrollado la identificación preliminar de los metabolitos, cada grupo en común acuerdo y con la observación directa de los datos determinó la polaridad adecuada para el

desarrollo de las técnicas de separación y aislamiento del metabolito, en ese sentido, cada grupo le siguió la pista con los reactivos y el revelado en la cámara ultravioleta UV- Vis con emisión de 302 nm y 365 nm donde notaron la presencia de la diversidad metabolita en las muestras de cada uno de los grupos, las coloraciones de las fracciones así como la observación de colores en la placa de cromatografía en capa fina incolora a simple vista después del corrido cromatográfica. (ver Ilustración No.11)



Ilustración No. 11 Identificación cromatográfica, revelado y ajuste de condiciones cromatográficas para el aislamiento en Cromatografía en Capa Fina Preparativa.

Posteriormente, cada grupo decidió la cantidad de muestras que querían analizar, se les recomendó como primera medida aislar el compuesto de interés según la pista del revelado empleado. Además de ello, hubo grupos que aislaron hasta tres muestras de la cromatografía en capa fina preparativa de acuerdo a la resolución de las bandas observadas en la cámara UV, lo

que determinaron como ideales para purificar. La técnica consistió en revelar las placas exponiéndolas al UV, delimitar las franjas eluididas con ayuda de un lápiz de las que presentaron una buena separación, seguidamente, realizaron un raspado de la fase estacionaria (Silica gel) así como un filtrado con un disolvente orgánico (cloroformo o metanol) donde finalmente se disponía de la muestra para evaporación del disolvente a menos de 40° C. (ver Ilustración No. 12)

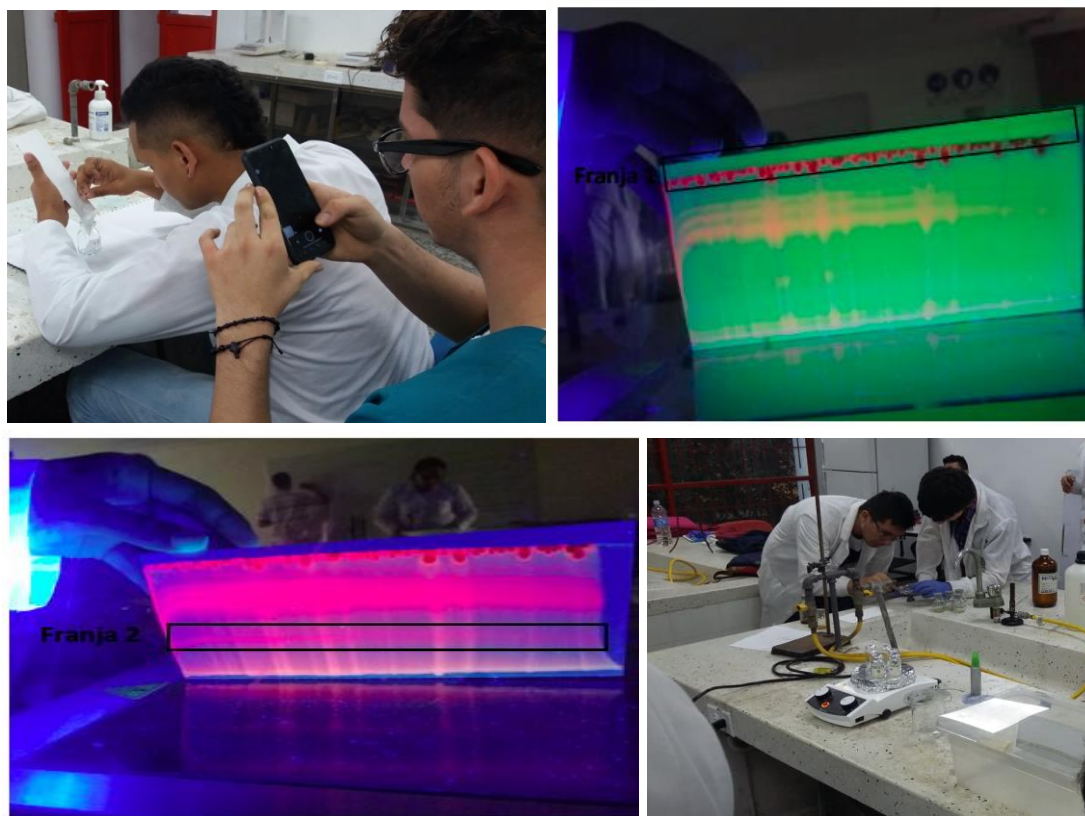


Ilustración No. 12 Procesamiento para el Aislamiento de los compuestos de interés en la investigación Fitoquímica.

Actividad 4. Identificación. Cada grupo trato la muestra para llevar a cabo el análisis espectroscópico donde a partir de las revisiones preliminares, se determinó que la forma más adecuada debido a la poca cantidad de compuestos obtenidos en cantidades de 0,005 g la mejor técnica que permitió la identificación del tipo de metabolito fue la espectroscopia ultravioleta visible empleando el equipo Espectrofotómetro UV-Vis Perkin Elmer Lambda 35, y su

respectivo software UV WinLab para la determinación de la máxima absorbancia de los compuestos aislados. Cada muestra fue analizada por los grupos en una celda de vidrio verde con una alícuota de 3.0 mL de muestra disuelta en Cloroformo este último como blanco empleado de esta manera los grupos obtuvieron los espectros respectivos para su posterior análisis. (ver Ilustración No. 13)



Ilustración No. 13 Desarrollo de la espectroscopia ultravioleta visible. Espectrofotómetro UV-Vis Perkin Elmer Lambda 35, y su respectivo software UV WinLab.

De esta manera, cada grupo de investigación realizó el procesamiento espectroscópico para determinar la interacción de este tipo de radiación electromagnética con la naturaleza estructural de las moléculas objeto de estudio como se exponen a continuación en la Ilustración No. 14

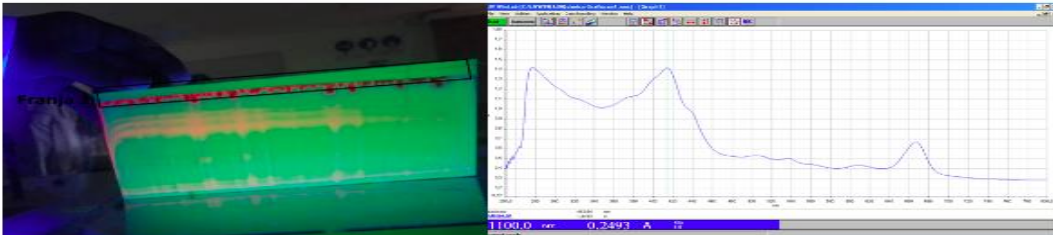


Figura 5. CCF 302 nanómetros. Extracto *Eupodium pittieri*

Figura 6. UV – VIS Longitudes de máxima de absorción (276, 413 y

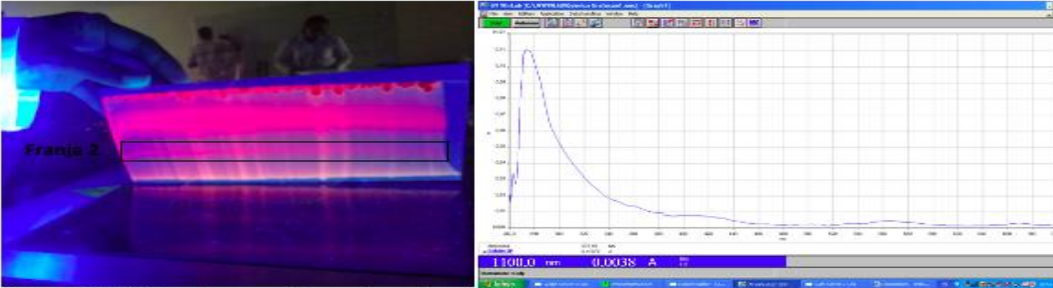


Figura 7. CCF 365 nanómetros. Extracto *Eupodium*

Figura 8. UV – VIS Longitud máxima de absorción (273 nm). Extracto *Eupodium pittieri*

Ilustración No. 14 Obtención de los espectros para cada muestra obtenida por parte de los grupos de investigación para metabolitos secundarios.

Actividad 5. Reportes finales de investigación. Realizado todo el proceso en el laboratorio por los cuatro grupos sobre el Aislamiento e identificación de los metabolitos secundarios descritos anteriormente, los datos obtenidos mediante las pruebas fueron contundentes para el asesoramiento, así como la retroalimentación en la elaboración de los reportes finales de la investigación. Es de vital importancia, mencionar que la organización en la presentación de datos de laboratorio, evidencias como el diario de laboratorio, fotos, artículos clave, resultan ser esenciales en la comprensión preliminar y final del proceso desarrollado. Por lo anterior, el reporte final de investigación por parte del grupo experimental, se consolida con los ítems triangulando la pregunta formulada de investigación, los objetivos planteados junto con la metodología propuesta, por su puesto, acompañado de un marco referencial en cuanto a la importancia de cada uno de los metabolitos estudiando en la presente investigación debidamente referenciado.

Los resultados fueron enmarcaron realizando una comparación de los espectros UV en bases de datos, tesis de pregrado o postgrado, artículos de investigación con los espectros obtenidos en el laboratorio, realizando así, el análisis y discusión con lo reportado en la literatura científica, dando una aseveración en cuanto a la presencia o ausencia del aislamiento del metabolito de interés. Finalmente, cada grupo entrego su reporte final a los investigadores principales relacionando sus consideraciones del proceso investigativo llevado a cabo, tal como se ilustra en los Anexos No. 4, 5, 6 y 7.

8.4.3 Socialización. Una vez culminada las fases y actividades en relación al aislamiento e identificación de los metabolitos secundarios, se procedió a realizar la socialización de los resultados obtenidos por parte de los grupos de trabajo (Ilustración No. 15) en el cual es importante destacar que cumplieron satisfactoriamente con los objetivos propuestos en los proyectos.



Ilustración No. 15 Socialización de los proyectos de los grupos experimentales.

Primeramente, cada grupo –flavonoides, saponinas, alcaloides y terpenos, expusieron sus proyectos mencionando los aspectos más relevantes para cada metabolito; seguidamente se destacaron los aspectos relación a la contribución del metabolito al potencial biológico del

helecho. Cabe destacar que a continuación se presenta una breve síntesis construida a partir de la recopilación además de tratamiento de material audiovisual obtenido.

8.4.3.1 Grupo flavonoides: —¿Qué métodos más eficientes se pueden utilizar para el aislamiento e identificación de flavonoides en la especie *Eupodium pittieri*?—. Los objetivos que se plantearon para el desarrollo de la investigación fueron:

—Objetivo General: Aislar e identificar flavonoides en la especie *Eupodium pittieri*.

Específicos: Establecer una ruta metodológica para la identificación de flavonoides y determinar la presencia de flavonoides mediante las diferentes pruebas cualitativas y determinar cualitativamente por cromatografía y espectroscopia la presencia de flavonoides—.

Una vez planteada la pregunta y los objetivos del miniproyecto, los estudiantes prosiguieron con las explicaciones, aclarando el concepto de flavonoides, mencionando que —“Son metabolitos secundarios, que se encuentran en las flores, hojas y frutos... Son compuestos polifenólicos, es decir que tienen dos fenoles, o sea dos anillos aromáticos que en este caso es el A y el B, y un tercer anillo pirano que contiene 5 carbonos y un átomo de oxígeno...”—. Lo dicho anteriormente por los estudiantes, se puede contrastar con lo planteado por Sing (1997), en donde destaca que los flavonoides se “componen bajo un sistema C₆-C₃-C₆, en el cual dos anillos aromáticos llamados A y B están unidos por una unidad de tres carbonos que pueden o no formar un tercer anillo, que en caso de existir es llamado C” (pág. 72). Como se evidencia en la Ilustración No. 16.

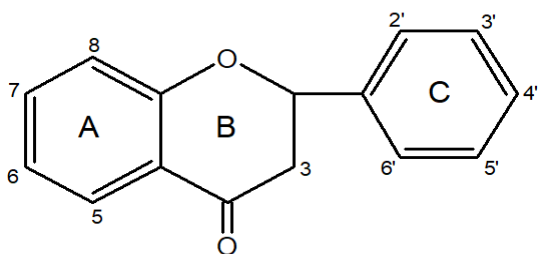


Ilustración No. 16 Estructura de los flavonoides. Adaptado de (Sing, 1997, pág. 72)

A partir de eso, se puede deducir que los estudiantes reconocieron de manera satisfactoria la estructura de los flavonoides, además de destacar los grupos funcionales y su función en las plantas.

— “Ya sabiendo que son los flavonoides, se dirige hacia la evaluación fitoquímica, se realizó el ensayo de Shinoda porque es característico para encontrar flavonoides, entonces lo que se necesitaba es el extracto en forma acuosa o en alcohol, ácido clorhídrico, cinta de magnesio o de zinc y alcohol amílico. Se disolvió un poco del extracto en hexano y tomamos 1 mL, a ese mL se agregó otro mL de ácido clorhídrico y por último se adicionó un pedacito de cinta de Zn o Mg, se dejó un rato y luego se le agregó el alcohol amílico. El resultado que se obtuvo fue una coloración roja—. De acuerdo a lo enunciado por Bravo Sánchez y Acuña Calle (2015), Lock, Cabello y Hugo Doroteo (2006), y Cayón Salinas y Salazar Alonso (2001), mencionan que la prueba de Shinoda indica la presencia de los metabolitos secundarios llamados flavonoides.

—Lo que ocurre es que los flavonoides por acción del Zinc en polvo, en presencia de HCl y junto a los hidrogeniones en el agua, permiten la formación de un complejo que genera la reducción del ion cloruro, el cual forma una coloración rojiza, la cual es el indicador que permite determinar cualitativamente la presencia de flavonoides en la muestra dada—.

—Luego que se reconoció la presencia de flavonoides en el extracto lo siguiente fue hacer uso de algunas técnicas cromatográfica, utilizando tanto la cromatografía de columna, capa fina y placa preparativa —.

—Cromatografía en columna: consiste en tener la columna con una llave de paso, se le pone un pedacito de algodón y cerca de 1 o 1,5g de silicagel, luego con un poco de disolvente que en este caso se usó hexano, se agregó y se medió la distancia para luego agregar de nuevo más disolvente como fase móvil, en este caso, inicialmente se empleó hexano y luego cloroformo. Se obtuvo cerca de 11 fracciones. Luego se escogieron 3 que tuviera la mayor cantidad de fracción, se revelaron a la luz ultravioleta y se identificó que estos posiblemente tenían flavonoides por su coloración presentada—.

*—Cromatografía en capa fina: Luego de escoger las fracciones que posiblemente tenían flavonoides, se tomó una placa cromatográfica de silicagel, marcando una línea de 1 cm en la parte inferior y superior, en la parte inferior se colocaron las muestras de las 3 fracciones y después se pasó la placa cromatográfica con los disolventes 1:1 de hexano y tolueno, la cual se obtuvo 5 manchas donde posiblemente había presencia de flavonoides en la especie *Eupodium pittieri*, luego se llevó esta placa al UV, y se pudo analizar con mayor claridad la presencia de flavonoides, pero también permitió a identificar que la muestra 10 tiene mayor cantidad de flavonoides—.*

Es importante destacar que ambas cromatografías se emplean gel de sílice o silicagel como fase estacionaria, y una fase móvil orgánica. Pero existe una diferencia entre estas dos cromatografías, como lo destaca Dupont y Gokel (1985) “la principal diferencia es que en la cromatografía en columna el adsorbente se introduce en una columna, mientras que, en la

cromatografía en capa fina, el adsorbente se deposita en forma de capa delgada sobre una placa de vidrio” (pág. 79).

—Posterior a la identificación preliminarmente se eligió la fracción 10, se procedió a implementar la cromatografía de capa preparativa para conocer con mayor claridad la presencia de flavonoides. Se tomó la fracción 10 en la placa cromatográfica y se marcó con una diferencia de 0,5 cm para empezar a depositarla en la placa y después se pasó a la placa preparativa que se tuvieron mediante el corrido con disolventes polares, en este caso fueron hexano, tolueno y butanol en proporciones de 1:1:2; Posterior al recorrido de la fase móvil por la placa, se observaron unas manchas en la parte superior de color verde claro y en la parte inferior unas manchas, las cuales solo se lograron observar por medio de la lámpara UV. Al final se analizó que en la parte superior quedaron marcadas de un color rojo fosforescente y en la parte inferior un azul celeste significativamente —.

—Una vez localizado los compuestos separados en la cromatografía de capa fina, lo siguiente fue realizar el respectivo raspado de estas mismas... agregarlo a un embudo de papel para filtrarlo con metanol, permitiendo a el MeOH arrastrar el compuesto de la silica gel—...

—El polvillo obtenido se llevó a espectroscopía UV-Vis, el cual evidenció una absorbancia máxima de 269, 86nm en la muestra A, y en la muestra B, una absorbancia máxima de 276,78nm. En la teoría afirma que en este rango se encuentran el espectro de los flavonoides porque tienen algunas características especiales como la forma de ser del compuesto—.

Culminada la metodología planteada y resultados obtenidos por parte de los estudiantes, se dio paso a la sección de las preguntas por parte del profesor titular del curso Jhon Fredy Castañeda, resultando la siguiente: ¿Qué se les dificultó para entender sobre el aislamiento e

identificación de flavonoides, las pruebas cualitativas, es decir para que se hace cada cosa o proceso? Los estudiantes respondieron lo siguiente: —*Yo no sabía porque se hacía eso, ahora si lo entiendo. La parte fitoquímica se hace para ver si hay ese compuesto, después en la capa fina es para ver cómo se distribuye y como hallar la polaridad correcta para que se pueda separar mejor y en la placa preparativa es para separarla y aislarlo de todo. La columna es para ver en qué proporción hay más o menos de flavonoides en este caso—.*

Profesor: ¿Qué es lo que hace que los flavonoides adsorban en el ultravioleta? —*la presencia de aromáticos, que se pueden identificar por radiación UV; los carbonilos, carbono doble enlace carbono, porque la radiación UV, absorbe todos los compuestos que tengan estos dobles enlaces, por lo que va haber una interacción electrónica—.*

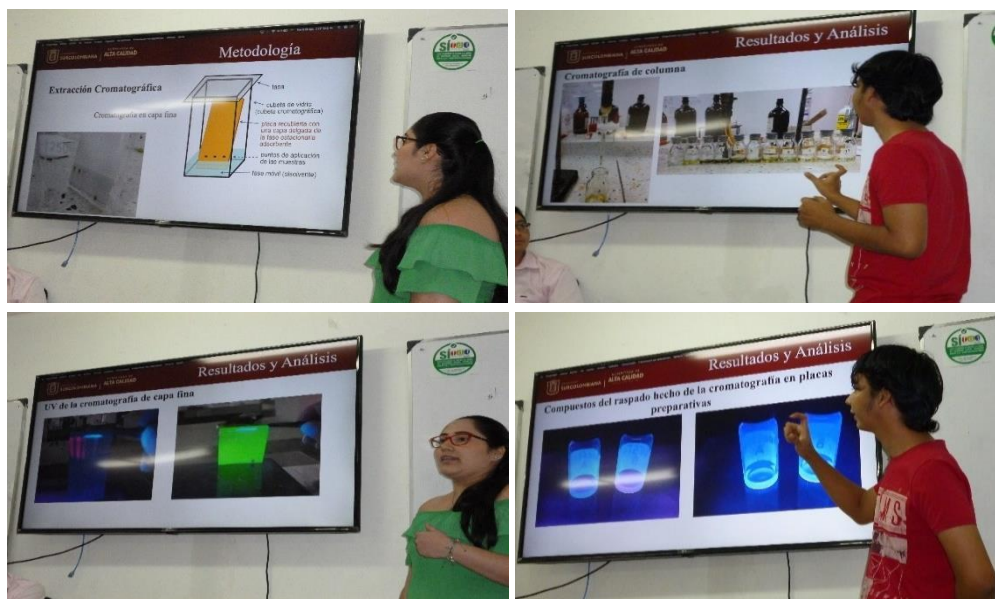


Ilustración No. 17 Resultados obtenidos por los estudiantes del grupo flavonoides.

8.4.3.2 Grupo de saponinas: Los estudiantes inician destacando aspectos relevantes de las saponinas, mencionando que —*“forman parte de la gran familia de compuestos estructuralmente contruidos por un anillo terpenoide o esteroidal conocidos como aglicona o*

sapogenina sustituidos por oligosacáridos a través de enlaces glucosídicos que les confieren un carácter anfifílico.... Son metabolitos secundarios vegetales que tienen una importancia farmacéutica y tienen una gran actividad biológica como lo son la acción antimicótica, antiviral, hipolesterolémica, antitrombótica, diurética, antiinflamatoria, antiséptica—... Dicho anteriormente, se puede comparar con lo expuesto por Gennaro (2003), en donde menciona que “las saponinas son un grupo de glucósidos amorfos coloidales muy hidrosolubles que producen espuma cuando se agita la solución acuosa y que son excelentes agentes emulsionantes...” (pág. 477); además, algunas de sus propiedades biológicas están basadas en sus propiedades físicas en solución por su comportamiento anfifílico (Ferraro, Martino, Bandoni y Nadinic, 2015)

Luego de mencionar una parte introductoria del proyecto, en donde se rescatan algunas características de las saponinas, los estudiantes mencionaron la siguiente pregunta de investigación: *—¿Cuál es la técnica más adecuada para el aislamiento de saponinas del teridofito Eupodium pittieri? —* A partir de lo anterior, los estudiantes plantearon el siguiente objetivo general: *—Determinar la técnica más adecuada para el aislamiento de saponinas del Teridofito Eupodium pittieri; y como objetivo específico: Aislar e identificar saponinas a través de los distintos tratamientos fitoquímicos. —*

—La biosíntesis de la saponina: ellas derivan de la ruta del mevalonato a través de la condensación del acetyl coenzima A y el piruvato, entonces a partir de ella se van a unir todos los elementos que tengan 5 carbonos llamados IPP (3-isopentenil-pirofosfato) y DMAPP (dimetilalilpirofosfato) que son característicos de estas saponinas.—

Es importante destacar que las saponinas se encuentran como glicósidos por lo que son triterpenoides o esteroides que contienen moléculas de azúcar en su estructura; a partir de allí,

Mangas (2009) menciona que *“la biosíntesis de las saponinas discurre por la vía isoprenoide, en la que 3 unidades isoprenoides (moléculas de 5C) se unen cabeza- cola (1´- 5) resultando un compuesto de 15C, el farnesil difosfato (FPP)”* (pág. 19).

—Las saponinas pueden ser de dos tipos: unas básicas y otras que son ácidas. Las ácidas se le atribuyen la toxicidad y las básicas son las que se utilizan para el consumo humano como para medicamentos; también se utilizan para hacer jabones, detergentes—...

Seguidamente, los estudiantes mencionaron el proceso de aislamiento e identificación de las saponinas para la especie vegetal, haciendo inferencia que: *—primeramente, se hace la recolección del material vegetal, se pulveriza, luego se realizó el secado al horno a 45° durante 10 horas, a partir de allí fue que se procedió a extraer los compuestos empleando diferentes disolventes que se usaron para aumentar la polaridad y de esta manera lograr una extracción más rápida de las saponinas; primero con metanol, observando que este era bastante polar para el proceso de extracción de estas saponinas, por lo que se cambió a cloroformo, que es un compuesto menos polar, permitiendo extraer el material vegetal.—*

—A partir de allí, se realizaron las pruebas cualitativas, por ejemplo, la prueba de Lieberman- Buchard en donde se agregó 2 mL de anhídrido acético más 2 mL de cloroformo dejándolo enfriar, luego se adicionó 4 gotas de ácido sulfúrico, pero en este caso fue de 5 gotas ya que el cambio de coloración no fue bastante rápido. El resultado de la coloración fue naranja, por lo que se pensó que era negativo para saponinas, sin embargo, la teoría indica que es importante esperar entre 1 a 2 minutos la formación del color verde; Por lo que finalmente el resultado tornó a una coloración verdosa, siendo de esta manera positivo para saponinas—.

—No conformes con esta prueba, se procedió a realizar la prueba de Salkowski, en donde se agregó 2 mL de cloroformo y 2 mL de ácido sulfúrico; a partir de allí se esperó minuto para la formación de una coloración naranja—. Con base en lo expuesto por los estudiantes en relación de las pruebas cualitativas que utilizaron, se pudo observar la pertinencia en cuanto a la investigación, ya que según Foy Valencia, Mac Donald, Cuyos y Dueñas (2005), pág. 34, destacan la realización de diferentes reacciones de coloración para la identificación de saponinas tales como: Prueba de Lieberman- Burchard, prueba de Salkowski y prueba del α naftol.

—Luego de confirmar la presencia de saponinas en el material vegetal, se dio paso a la separación de estos metabolitos secundarios. En extracto clorofórmico, se llevó al rotaevaporador y seguidamente a la cromatografía de columna estándar, en donde se pudo extraer las saponinas. Es importante destacar que por medio de la cámara UV- Vis se reveló que, de haber saponinas, éstas presentan insaturaciones, dada la formación de colores rosado fosforescente y azul claro. Posterior a ello, se hizo la cromatografía de capa preparativa para la mayor extracción de las saponinas... dado al tiempo y la cantidad de muestra no se alcanzó a llegar a la espectroscopia IR pero si se logró llevar al espectrofotómetro UV- Vis... Se raspó con la silicagel y se purificó con cloroformo directamente para la extracción de saponinas, encontrando esos colores... En el espectro UV se obtuvo absorbancia máxima 273,26nm por lo que se encontró presencia de posibles saponinas insaturadas con el pico más grande. Es importante resaltar que en la literatura la estructura de las saponinas son pentaciclo, es decir que contiene 5 anillos, pero no son aromáticos y también se menciona que son diterpenoles. Así que, se halló los pentaciclos en la muestra 1 ... por lo que se pudo observar a partir de los picos que tipo de saponinas podía ser, posiblemente una amina, pero se necesitaba el IR para

identificar la estructura por medio de los grupos funcionales... En la muestra 3 se encontró un pequeño pico cerca de los enlaces C-C ...—

En la sección de preguntas, se rescató la siguiente: —¿Qué conceptos de química se aprenden en fitoquímica? — Los estudiantes respondieron lo siguiente: —Grupos funcionales, reacciones químicas, estequiometría, conceptos básicos como soluto, solventes, mezclas, compuestos, electronegatividad, polaridad, cromatografía en columna, en capa fina y en capa fina preparativa—.



Ilustración No. 18 Exposición de los resultados obtenidos del proyecto por parte de los estudiantes del grupo de saponinas.

8.4.3.3 Grupo alcaloides. —Los alcaloides son un tipo de metabolitos secundarios que se encuentran en diversas especies ya sea animal o vegetal. Se derivan del ácido siquimico, esta ruta produce alcaloides y esos alcaloides producen otro tipo de alcaloides que tienen un enlace del nitrógeno que es reemplazado por un carbono—. Lo anterior, se puede comparar con lo

planteado por (Muñoz , 2002) al referir que los alcaloides son compuestos nitrogenados, los cuales no tiene una función fisiológica determinada en las plantas. Por su parte Taiz y Zeiger (2006) destaca que “los alcaloides se sintetizan normalmente a partir de unos pocos aminoácidos comunes, en concreto lisina, tirosina y triptófano” (pág. 558). De alguna manera, la estrategia Aprendizaje Basado en Investigación implementada corrobora que los estudiantes reconocen la estructura de los alcaloides gracias a la presencia de nitrógeno, además de ser derivados de aminoácidos.

Luego de aclarar el concepto de alcaloides, y la diferencia entre el conocimiento empírico y el científico, los estudiantes formularon la siguiente pregunta problema — *“¿Qué estrategias metodológicas pueden utilizarse la identificación de alcaloides en la planta Eupodium pittieri?. El objetivo general fue Determinar la estrategia metodológica para la identificación de alcaloides en la planta Eupodium pittieri, los específicos fueron reconocer las diferentes estrategias metodológicas para la identificación de alcaloides en pruebas cualitativas y la otra es diseñar una ruta metodológica para la identificación o extracción de alcaloides—*.

Seguidamente, los estudiantes destacaron las pruebas cualitativas que utilizaron para el reconocimiento de alcaloides en la muestra vegetal; —*se realizaron las pruebas de con reactivo de Mayer, Dragendorff, y Wagner—*. Según Nina y Romero (2009); Suau et al., (1988), quienes plantean que las evaluaciones cualitativas de alcaloides se llevó a cabo con los reactivos de Wagner, Mayer (Solución de yoduro de mercurio y potasio), Bouchardat (solución de yodo yodurado) y Dragendorff (solución ácida de yodobusmutato de potasio); —*se eludió la muestra, también se realizó la prueba de manera que se observó que la primera vez que se realizaron todas tuvieron presencia de alcaloides; la segunda vez, mostro que en la prueba de Mayer no se evidenció presencia de alcaloides; entonces al ver que la primera vez todas las pruebas dieron*

positivos, se decidió realizar una cromatografía en capa fina y revelando con cámara UV-Vis a 302nm y 365nm longitudes de onda visible—.

—Para poder observar las líneas de recorrido, se efectuó revelado con vapores de yodo teniendo en cuenta las precauciones debidas; como por medio de las pruebas preliminares se identificó la presencia de alcaloides, pero de manera difusa, entonces se cambió la fase móvil por disolventes menos polares, bajando la polaridad de la fase móvil para realizar nuevamente la cromatografía, se reveló en cámara UV, realizando posteriormente el raspado correspondiente a cierta parte de la muestra, revelando nuevamente en cámara y una vez aislados los compuestos se realizó la prueba UV- VIS.—

Cabe destacar que al grupo durante la realización de la capa preparativa se les solicitó purificar dos muestras, la primera que mostraba una serie de colores llamativos y otra completamente separada (pura) esto esencial para verificar en el grupo la capacidad de análisis y síntesis de los resultados además de la respectiva contrastación de datos experimentales. Una vez escuchados la metodología propuesta por el grupo de alcaloides, se procedieron con los resultados obtenidos de manera que según el grupo: *—como resultados, en la prueba de Mayer la primera vez que se realizó, se obtuvo un resultado positivo. La prueba de Mayer reacciona con la capacidad que tiene los alcaloides en forma de sal y de ahí se tiene que acidular la muestra para poder obtener la reacción respectiva. —* Comparado con lo descrito por Coy Barrera, Parra y Cuca Suárez (2014) Se puede destacar que *“el reactivo Mayer se basa en la acidez de los alcaloides en su forma de sales (carbohidratos) debido a que en medios básicos el reactivo Mayer no precipita”* (pág. 35). De tal manera que, al adicionar unas gotas del reactivo de Mayer al extracto, en este se observó un precipitado blanco. Asimismo, se demuestra que la

estrategia permite el aprendizaje de los conceptos, habilidades y destrezas propias de la química en este caso la Química de las plantas.

—El reactivo de Mayer reacciona de esta manera formando yoduro de mercurio, este yoduro de mercurio a su vez reacciona con una molécula de yodo que produce tetrayoduro de mercurio, este es el que muestra la presencia o indicios de amoníaco. Como los alcaloides tienen nitrógenos en su estructura se comportan como bases y tienden a comportarse de manera similar al amoníaco, de ahí viene el color pardo que se observa. En el reactivo de Wagner y Dragendorff dio positivo—

—En las cromatografías como las manchas que obtuvimos fueron pocas, entonces se decidió colocar la polaridad menor a la fase móvil ya que la silicagel es muy polar y si el reactivo muy poco polar entonces se debe disminuir la polaridad para que se defina mejor las manchas—; Lo anteriormente expuesto por los estudiantes, se puede contrastar con lo planteado teóricamente por Macarulla y Goñi (1994) en el cual plantea que:

Para la cromatografía en capa fina se utiliza un soporte de silicagel, extendido sobre una placa de vidrio o aluminio. La fase móvil consiste en una mezcla de disolventes, más o menos polares, según la mayor o menor polaridad de los lípidos que se desea separar. (Pág. 93)

Por lo que, se deduce que los estudiantes primeramente buscaron información pertinente para la elaboración de la cromatografía en capa fina antes de realizarla, además de evidenciar experimentalmente lo que sucede a nivel atómico molecular de los compuestos al ser expuestos a una serie de solventes orgánicos.

—Entonces, se realizó la placa preparativa y se identificaron las manchas de la franja 1 a 305nm y la franja 2 a 365nm. Las curvas obtenidas por medio de UV- Vis dan a entender que es una cumarina por el comportamiento que tienen estas en la espectroscopia. Se comparó la

teoría con lo obtenido, o sea, se relacionó con algunos espectros obtenidos en otros proyectos.

— Los estudiantes explicaron que el resultado de la aparición de cumarina en vez de alcaloides, se debía probablemente por ser la mezcla de compuestos en la franja aislada e identificada. —

*Sin embargo, la siguiente franja si nos dio presencia de alcaloides y es comparado con *Lupinus ballanus* que lo aisló Fuertes et al 1997—.*

Cabe resaltar que de lo anterior expuesto se rescata la Ilustración No. 14. (pág 116), donde se evidencia la capacidad de análisis del grupo respecto a los dos espectros obtenidos, además de la aseveración contundente del grupo con respecto a la muestra analizada. Culminando las explicaciones de los aspectos más importantes del proyecto, se procedió a la sección de preguntas, en el cual se destacó la siguiente: *¿Cómo a nosotros como futuros maestros de Ciencias Naturales nos va a beneficiar el uso fitoquímico, es decir para que la fitoquímica?* Los seres vivos a través de la química se pueden explicar muchas interacciones biológicas y con más profundidad.



Ilustración No. 19 Exposición de los resultados obtenidos en el proyecto, por parte de los estudiantes del grupo de alcaloides.

8.4.3.1 Grupo terpenos y/o esteroides. —En nuestro proyecto lo primero que se realizó fue tomar las dos muestras y con la orientación de los tutores, fue llevar a cabo cierta metodología que permitió desarrollar este proyecto, nos orientaron al planteamiento de una

pregunta problema, lo cual estaba orientado a esas dos muestras de Eupodium pittieri y entonces a partir de ahí se van a realizar pruebas de laboratorio de tipo cualitativo y luego se hizo el aislamiento e identificación mediante técnicas cromatografías y espectroscopia UV.

—Se planteó como pregunta problema: ¿Qué técnicas experimentales permiten identificar cualitativamente los terpenos y/o esteroides en el Eupodium pittieri? Entonces para ello, se desarrollaron unos objetivos: Identificar cualitativamente terpenos y/o esteroides en esa muestra, así como también evaluar la presencia de terpenos y/o esteroides en esa muestra. Entonces para llevar a cabo esto, se tuvo que aislar los metabolitos y purificarlos mediante las técnicas y también identificarlos. —

Luego de una parte introductoria del proyecto, en donde se abordaron los aspectos más relevantes en cuanto a los terpenos, los estudiantes exponen que *—los terpenos constan de 5 carbonos de tipo isopreno que se forman en la vía del ácido mevalónico. Es un grupo grande de metabolitos en todo lo que tiene que ver con la actividad biológica y aparte de eso entonces encontramos que se dividen de acuerdo a la cantidad de carbonos que tengan, clasificándose en monoterpeno, sesquiterpenos etc. Son muy utilizados en la industria farmacológica para tratar la parte tóxica, también como actividad antimicrobiana—*. De acuerdo con Hill (2004) “los terpenos son una clase de compuestos de carbono, hidrógeno y oxígeno cuya unidad básica es el isopreno, C_5H_8 ” (pág. 70). Es importante destacar que los terpenos son los responsables del aroma de las rosas además de encontrarlos en vinos blancos. Ahora bien, es de mencionar que según Primo (1995) “los terpenos se clasifican según el número de unidades de isopreno que se unen” (pág. 851), es decir, de acuerdo a la siguiente Tabla No. 13:

Tabla No. 13 Clasificación de los terpenos. Adaptado de (Primo, 1995, pág. 851)

Nº de Isoprenos	Nº de Carbonos	Nombre
2	10	Monoterpenos
3	15	Sesquiterpenos
4	20	Diterpenos
6	30	Triterpenos
8	40	Tetraterpenos
x	5-x	Politerpenos

—Se realizaron las pruebas cualitativas para la muestra, la primera fue la reacción de Lieberman- Burchad, la cual consistía en agregar unas gotas de anhídrido acético y ácido sulfúrico concentrado. Da como resultado un color verdoso que indica la presencia de esteroides. —

—La segunda reacción fue la de Salwoski que consistía en cloroformo y 1mL de ácido sulfúrico. Di la coloración roja y dio positivo para terpenos. Y la última, la reacción de Zlatkis que consistía en una gota de ácido acético glacial, una gota de cloruro férrico y ácido sulfúrico. Al reaccionar estaba muy oscura, y lo pusimos en la luz y el rojo era opaco—. Con base en las pruebas realizadas por los estudiantes para la identificación de terpenos, se puede destacar la asertividad en la investigación, ya que como lo plantean Cely Veloza, Matulevich y Castrillón (2014), pág. 71; Montealegre Pinzón (2011), pág. 28, las pruebas más utilizadas para el análisis de esteroides y/o terpenos son Lieberman- Burchard, Salkowski, Baljet y Zlatkis.

—En la cromatografía de capa se utilizó cloroformo, hexano y metanol. Se puso en cámara UV. Luego se hizo la placa preparativa. Cuando se analizó en el UV se pudo evidenciar el fragmento clave que se señaló y se raspó...—

Los estudiantes de igual manera, destacaron que el máximo pico en el espectro UV fue de 272nm aproximadamente, de modo que al comparar con la teoría dedujeron la presencia de eugenol el cual tiene como longitud máxima un valor de 280nm.



Ilustración No. 20 Resultados obtenidos en el proyecto por parte del grupo de terpenos.

Finalmente, de los grupos de estudio anteriormente descritos se evidencia que la variable dependiente de la estrategia Aprendizaje Basado en Investigación, la bioprospección del helecho *Eupodium pittieri*, muestra la forma en los actores principales de la investigación (estudiantes) crecen social y cognitivamente de manera que reconocen el potencial de esta especie vegetal así como otras en el departamento del Huila además de atribuir a esta una perspectiva química especialmente desde la Fitoquímica, esta especie posee una diversidad química responsable del potencial biológico descrito.

Asimismo, en cuanto a los ensayos biológicos los estudiantes reconocen de estos la eficacia para determinar los potenciales de las especies vegetales, por esta razón, se menciona brevemente lo encontrado por los directores de investigación en los cuales se concluye que de los tres ensayos biológicos 1) Determinación de toxicidad 2) Efecto alelopático y 3) Inhibición bacteriana; estos emiten un juicio de valor prominente acerca del helecho *Eupodium pittieri* en cuanto a su potencial sobre el crecimiento del vello facial, en el cual, la diversidad metabólica no

posee un valor tóxico perjudicial. Además, se infiere que a nivel de los folículos pilosos permite el crecimiento y desarrollo, sin alterar la microbiota existente en la epidermis facial (cutis) producto de la presencia de Flavonoides, Alcaloides, Terpenos y/o Esteroides así como Saponinas presentes en la especie vegetal.

9. Conclusiones

El objetivo que enmarco el desarrollo de la tesis fue promover el aprendizaje de la fitoquímica especialmente el aislamiento e identificación de metabolitos secundarios de origen vegetal empleando una planta del departamento del Huila con un potencial biológico atribuido por el saber popular, el helecho *Eupodium pittieri* utilizado para el crecimiento del vello facial. De acuerdo con esto, el proyecto se construyó con base al aprendizaje basado en investigación puesto que, por medio de esta estrategia pedagógica, los estudiantes construyen el aprendizaje de los conceptos, procedimientos y actitudes bajo la perspectiva investigativa de aprender haciendo. Cabe resaltar que, los directores de investigación —autores, cumplieron un rol importante en la orientación, antes, durante y después del desarrollo experimental de la estrategia, en donde inicialmente se aprendió algunos aspectos relacionados a la bioprospección de la especie vegetal, por medio del seguimiento del método científico y su posterior transposición hacia la estrategia didáctica del uso de la investigación con la muestra poblacional objeto de estudio.

El tratamiento estadístico de los resultados obtenidos antes y después de la intervención didáctica, permite deducir la eficacia del modelo basado en la investigación para alcanzar el aprendizaje de algunos conceptos fitoquímicos sobre el aislamiento y reconocimiento de algunos metabolitos secundarios de la especie *Eupodium pittieri* en estudiantes de Licenciatura en Ciencias Naturales de la Universidad Surcolombiana de Neiva, Huila.

Por igual se pudo inferir que el modelo basado en la investigación genera mayor y mejor aprendizaje que la estrategia convencional de aprendizaje, se encontró una diferencia significativa de aprendizaje en el grupo experimental del 6,78%, (Runyon y Haber (1986) consideran significativa toda diferencia igual o superior al 5 %), la cual se debe a la implementación de la investigación como estrategia didáctica para alcanzar el aprendizaje de

algunos conceptos de fitoquímica involucrados en el estudio; en tanto que, para el grupo control se denota un 0,75% de decremento en la construcción de los significados otorgados por este grupo a los conceptos objetos de estudio.

En las pruebas de hipótesis, la ubicación de Z calculado de 2,65 en la zona de alta significancia de la curva binomial para el grupo experimental, les permite a los autores inferir que la estrategia de Aprendizaje Basado en la Investigación le facilitó a este grupo el aprendizaje de los conceptos fitoquímicos objetos de estudio. Por su parte, la ubicación de Z calculado de -0,34 en la zona de baja significancia de la curva binomial, permite deducir que la estrategia didáctica de la Enseñanza convencional de las Ciencias, es la responsable del decremento conceptual observado en el grupo control.

Un aspecto fundamental en el desarrollo del Aprendizaje Basado en Investigación es el requerimiento de docentes con la capacidad de dar solución, orientación y guía a los momentos en los cuales es menester ubicar a los grupos con respecto a los objetivos propuestos por ellos mismos. De esta manera, existen puntos de inflexión en el desarrollo de las actividades propuestas en las cuales los docentes deben ajustarse a las condiciones externas que influyen en el desarrollo del mismo, uno de los puntos que se destacan es el factor económico puesto que desarrollar investigación de este tipo, requiere muchos materiales y reactivos para llevar a cabalidad los procedimientos puesto que esto delimita la rigurosidad científica, calidad y confiabilidad de los datos. No obstante, bajo esta perspectiva se cumplió con el desarrollo de las expectativas sobre la inmersión de los estudiantes en la investigación Fitoquímica y lo que ello conlleva a nivel de laboratorio, en el sentido de seguir algunas metodologías descritas en la literatura y de igual manera, despertar esa capacidad de análisis y observación de los resultados obtenidos a partir del seguimiento de estas.

Por medio de la aplicación del modelo investigativo para el aprendizaje sobre el aislamiento e identificación de los metabolitos secundarios, se destaca el rol de los investigadores principales como actores de motivación, guía, orientadores, incentivadores y principalmente el de despertar el espíritu investigativo en el estudiantado; en este último, como constructores de sus conocimientos a través de la toma de una actitud crítica en el desarrollo de la investigación hacia la creación de vínculos estrechos con los investigadores y sus compañeros de grupo, para el cumplimiento de los objetivos trazados por sí mismo y la consolidación de su propuesta investigativa.

10. Recomendaciones

En cuanto a las investigaciones basadas en promover el aprendizaje, enfocado en la investigación de especies vegetales, se recomienda emplear, aquellas que se encuentren familiarizadas, o cuyo potencial atribuido genera como primera medida curiosidad, puesto que es un factor determinante para motivar a los estudiantes hacia el desarrollo de las investigaciones. De esta forma, como punto de inflexión, el docente(s) orientador(es) debe brindar desde su perspectiva del conocimiento, una agradable sensación sobre las concepciones de lo que es hacer investigación, así, el impacto que esta genera en un ambiente académico como es la Universidad Surcolombiana.

Es necesario, mencionar que el trabajo acá expuesto es una clara muestra de lo que se puede consolidar desde lo conceptual, procedimental y actitudinal teniendo como base criterios específicos en la enseñanza de las Ciencias Naturales.

Se sugiere realizar estudios de esta índole con grupos más homogéneos, en cuanto a la universidad, los cursos deben ser pertenecientes a la misma cohorte estudiantil, lo que genera mejor asociación grupal. Sin embargo, a pesar de lo anterior expuesto no se evidenció complicaciones que limitaran el desarrollo de las actividades desarrolladas.

Los autores recomiendan para posteriores investigaciones tomar como punto de partida los metabolitos secundarios aislados e identificados en este estudio, para relacionarlos con su potencial biológico como factor de crecimiento del vello facial.

Es indispensable, generar desde los espacios de formación de docentes en Ciencias Naturales estrategias que permitan a partir de los intereses personales y grupales que subyacen en los estudiantes, la apropiación conceptual de los mismos mediante el desarrollo de un proyecto de investigación o mini proyectos además de generar como ganancia el desarrollo de habilidades

de pensamiento, toma de decisiones, el trabajo en equipo, la consolidación de propuestas con fines específicos entre otros aspectos que permiten el crecimiento personal de los docentes.

11. Referencias Bibliográficas

- Abbott, D., & Andrews, R. (1970). *Introducción a la Cromatografía*. Madrid: Alhambra.
- Acosta Campusano, Y., Castellano Lugo, O., Roble, J., Gondres Barreiro, M., Frías Tamayo, J., & Torres Rodríguez, E. (2015). Actividad antimicrobiana in vitro de *Pteris vittata* L. *Revista cubana de farmacia*, 49(4).
- Ahumada, A., Ortega, A., Chito, D., & Benítez, R. (2016). Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* willd.): un subproducto con alto potencial biológico. *Colombiana de Ciencias, Químico- Farmacéutica*, 45(3), 438- 469.
- Alfaro, S., & Murillo, I. (13 de 12 de 2010). *Alcaloides en Solanáceas*. Obtenido de Usos medicinales de los principales alcaloides presentes en solanáceas: <http://alcaloidesenolanaceas.blogspot.com/2010/12/usos-medicinales-de-los-principales.html>
- Alvear, V. (2011). Problemas tridimensionales de Química. *Universidad Surcolombiana*.
- Anaya Lang, A. (2003). *Ecología química*. Plaza y Valdés.
- Andersen, Ø., & Markham, K. (2006). *Flavonoids Chemistry, Biochemistry and Applications*. CRC Press.
- Anónimo. (2000). *Oyacachi: la gente y la biodiversidad*. Quito, Ecuador: Abya Yala.
- Arias, T. (1999). *Glosario de Medicamentos: desarrollo, evaluación y uso*. (Primera ed.). Washington, D.C: Organización Panamericana de la Salud.
- Balluerka, N., & Vergara, A. (2002). *Diseño de investigación experimental en psicología*. Madrid: Prentice Hall.
- Balluerka, N., y Vergara, A. I. (2002). *Diseño de investigación experimental en psicología*. Madrid: Prentice Hall.
- Bermúdez, A., Oliveria Miranda, M., & Velázquez, D. (2005). La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: Una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. *INCI*, 30(8), 453- 459.
- Bernal, R., Galeano, G., Rodríguez, A., & Sarmiento, H. (2011). *Nombres comunes de las plantas de Colombia*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
- Beyer, H., & Walter, W. (1987). *Manual de Química Orgánica*. Barcelona: Reverté S.A.
- BioEnciclopedia. (07 de 07 de 2016). *Vitis Vinifera*. Obtenido de <https://www.bioenciclopedia.com/vid/>
- Blanco, Y. (2006). La utilización de la alelopatía y sus efectos en diferentes cultivos agrícolas. *Cultivos Tropicales*, 27(3), 5- 16.

- Bonilla, H., Carbajal, Y., Gonzales, M., Vásquez, V., & López, A. (2019). Determinación de la actividad insecticida de la saponina de la quinua (*Chenopodium quinoa*) en larvas de *Drosophila melanogaster*. *Scientia Agropecuaria*, 10(1), 39- 45.
- Bradshaw, B., & Bonjoch, J. (2015). *Eficiencia en la síntesis total de productos naturales* (Vol. 111). In *Anales de Química*.
- Bravo Sánchez, A., & Acuña Calle, W. (2015). Evaluación fitoquímica y determinación de flavonoides en hojas de *Ficus benjamina* L. *Xilema*, 28, 61- 67.
- Cabrera Meléndez, J. (2014). *Determinación de metabolitos secundarios en tres pteridofitos, plantas con interés medicinal*. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Campanario, J. M., & Otero, J. (2000). Más allá de las ideas previas como dificultades de aprendizaje: las pautas de pensamiento, las concepciones epistemológicas y las estrategias metacognitivas de los alumnos de Ciencias. *Revista de Investigación y Experiencias Didácticas*, 18(2), 155-169.
- Campell, D., Stanley, J. (1973). *Diseños experimentales y cuasi experimentales en la investigación social*. Buenos Aires: Amorrortu editores.
- Campos, M., y Gaspar, S. (s.f.). La construcción del constructivismo en investigación cognoscitiva. *Siglo XXI: Perspectivas Latinoamericanas*.
- Campusano, Y., Fonseca Cabrales, L., Almeida Saavedra, M., Fonseca García, A., & Reytor Rosabal, N. (2010). Tamizaje Fitoquímico de extractos etéreo, alcohólico y acuoso de hojas de *Pteris vittata* L. *Química Viva*, 9(1), 30-34.
- capril, A. (06 de junio de 2015). *Revelador químico gaseoso: vapores de yodo*. Obtenido de Scribd: <https://es.scribd.com/document/260974926/Revelador-Quimico-Gaseoso-Yodo>
- Capril, A. (06 de junio de 2015). *scrib*. Obtenido de <https://es.scribd.com/document/260974926/Revelador-Quimico-Gaseoso-Yodo>
- Cardona Buitrago, F. (2013). *Las prácticas de laboratorio como estrategia didáctica*. Santiago de Cali: Universidad del Valle.
- Carreño Hidalgo, P. (2016). *La etnobotánica y su importancia como herramienta para la articulación entre conocimientos ancestrales y científicos. Análisis de los estudios sobre las plantas medicinales usadas por las diferentes comunidades del Valle de Sibundoy, Alto Putumayo*. Bogotá: Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Facultad de Ciencias y Educación.
- Carriazo , J., & Saavedra , M. (2004). La didáctica de la química. Una disciplina emergente. *Tecno, Episteme y Didaxis*, 15(1), 73-84.
- Cartaya, O., & Reynaldo, I. (2001). Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivos tropicales*, 22(2), 5-14.

- Casado Sánchez, E. (2012). *Operaciones básicas de laboratorio* (Primera ed.). España: Paraninfo.
- Castañeda Gómez, J., Morales, A., & Valderrama, Y. (2018). Análisis fitoquímico preliminar del helecho *Eupodium pittieri* empleado para el crecimiento del vello facial en Acevedo (Huila) y su evaluación de toxicidad sobre *Artemia Salina*. *Educación y Ciencia*(21), 913- 919.
- Castañeda, J. F. (2019). Curso de fitoquímica, universidad surcolombiana. Neiva, Huila, colombia.
- Castañeda, J., Morales, A., & Valderrama, Y. (2019). Evaluación biológica de los extractos de *Eupodium pittieri*: un helecho empleado en Colombia para el crecimiento del vello facial. *XXXII Congreso Argentino de Química*. Buenos Aires, 559-563.
- Castellano, A. (2 de 11 de 2016). *Cromatografía: Cromatografía en capa fina y en columna*. Obtenido de UB: http://www.ub.edu/oblq/oblq%20castellano/cromatografia_tipus.html
- Castiblanco, F. (2014). *Unidad didáctica para la enseñanza de conceptos asociados a la fitoquímica a partir de un perfil químico de extractos etanólicos de las especies Croton funkianus y Croton bogotanus (Euphorbiaceae)*. Bogotá: Universidad Pedagógica Nacional. Facultad de Ciencias y Tecnología.
- Castillo García, E., & Martínez Solís, I. (2007). *Manual de Fitoterapia*. España: Elsevier Masson.
- Castillo Olvera, G., Zavala Cuevas, D., & Carrillo Inungaray, M. (2017). Análisis Fitoquímico: Una herramienta para develar el potencial biológico y farmacológico de las plantas. *Tlatoamini Revista Académica de Investigación*, 8(24).
- Castillo, G., Ortega, G., Carabeo, V., Delgado, G., & Michelena, G. (2007). Determinación cualitativa de giberelinas y auxinas por cromatografía de capa fina. *ICIDA. Sobre los derivados de la Caña de Azúcar*, 41(1), 12-17.
- Cayón Salinas, D., & Salazar Alonso, F. (2001). *Resúmenes analíticos de la investigación sobre plátano en Colombia*. Armenia: Corpoica.
- Cely Veloza, W., Matulevich, J., & Castrillón, W. (2014). Triterpenos y esteroides de *Salvia leucantha* (Lamiaceae) y evaluación de su capacidad antioxidante. *Facultad de Ciencias Básicas*, 10(1), 68- 79.
- Ch, G., & Lock, O. (2001). Aislamiento y caracterización de un triterpenoide a partir de la *Gentiana thyrsoidea hooker* FABRIS. *Peruana de Química e Ingeniería Química*, 4(1), 30-35.
- Chang Huerta, L., Carbonell, Y., & Morales León, J. (2013). Composición fitoquímica de los tallos y hojas de la especie *Solanum nigrum* L. que crece en Cuba. *Cubana de Plantas Medicinales*, 18(1), 10-16.

- Chang, R. (2010). *Química* (Décima ed.). México: McGraw-Hill/Interamericana .
- Chávez Gonzales, L., & Gutiérrez Condori, D. (2013). *Estudio fitoquímico y evaluación de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de Tanacetum vulgare L., "Palma real"*. Lima- Perú: Universidad Wiener.
- Chízmar Fernández, C. (2009). *Plantas comestibles de Centroamérica*. Costa Rica: Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio).
- Claramunt, R., Farrán, M., López, C., Pérez, M., & Santa María, D. (2013). *Química Bioorgánica y Productos Naturales*. Universidad Nacional de Educación a Distancia (UNED): Madrid.
- Cocho, J. (2008). *Desarrollo de un método por espectrometría de masas en tándem para la determinación de acilcarnitinas y la detección neonatal de alteraciones del metabolismo de ácidos orgánicos y ácidos grasos*. Universidad de Santiago de Compostela (USC).
- Cohen, R., & Swerdlik, M. (2001). *Pruebas y evaluación psicológicas: Introducción a las pruebas y a la medición* (Cuarta ed.). México: McGraw-Hill.
- Colina Ramos, A. (2016). *Análisis fitoquímico, determinación cualitativa y cuantitativa de flavonoides y taninos, actividad antioxidante, antimicrobiana de las hojas de "Muehlenbeckia hastulata (J.E.Sm) I.M. Johnst" de la zona de Yucay (Cusco)*. Lima-Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Química e Ingeniería Química.
- Colorado, J., Galeano, E., & Martínez, A. (2007). Desarrollo de la bioautografía directa como método de referencia para evaluar la actividad antimicrobiana de la gentamicina contra *Escherichia coli*. *Vitae*, 14(1), 67- 71.
- Colorado, J., Galeano, E., y Martínez, A. (2007). Desarrollo de la bioautografía directa como método de referencia para evaluar la actividad antimicrobiana de la gentamicina contra *Escherichia coli*. *Vitae*, 14(1), 67- 71.
- Cook, R. (1961). Reactions of steroids with acetic anhydride and sulphuric acid (the liebermann-Burchard test). *Analyst*, 86(1023), 373-381.
- Corilla Flores, D. (2017). *Eficacia de un desinfectante biodegradable a base de residuos de naranja y quinua en el control del crecimiento de Escherichia coli y Staphylococcus aureus*. . Perú: Universidad Nacional del Centro del Perú.
- Corporación Autónoma del alto Magdalena (CAM). (s.f.). *Huila, una región rica en biodiversidad*. Recuperado el 4 de 3 de 2019, de <https://www.cam.gov.co/1488-huila,-una-regi%C3%B3n-rica-en-biodiversidad.html>,
- Cortez Gallardo, V., Macedo Ceja, J., Hernández Arroyo, M., Arteaga Aureoles, G., Espinosa Galván, D., & Rodríguez Landa, J. (2004). Farmacognosia: breve historia de sus orígenes y su relación con las ciencias médicas. *Revista Biomédica*, 15(2), 123- 136.

- Coy Barrera, C., Parra, J., & Cuca Suárez, L. (2014). Caracterización química del aceite esencial e identificación preliminar de metabolitos secundarios en hojas de la especie *raputia heptaphylla* (rutaceae). *Elementos*(4), 31- 39.
- Creswell, J. (1998). *Qualitative inquiry and research designs: Choosing harmony among five traditions*. Thousand Oaks: Sage Publications.
- Croat, T. (1978). *Flora de la isla barro colorado*. . Panamá: Instituto de Investigación Tropical Smithsonian.
- Cromtek. (6 de 2 de 2015). *Espectrofotometría UV- VIS*. Obtenido de Ciencias- Analítica- Tecnología: <https://www.cromtek.cl/espectrofotometria-uv-vis/>
- Crujeiras Pérez, B. (2014). Competencias y prácticas científicas en el laboratorio de química: participación del alumnado de secundaria en la indagación. *Enseñanza de las Ciencias*, 33(3), 201- 202.
- Czaja, A. (1978). Structure of starch grains and the classification of vascular plant families. *Taxon*, 27(5-6), 463-470.
- Díaz Báez, M., Bustos López, M., & Espinosa Ramírez, A. (2004). *Prueba de toxicidad acuática: fundamentos y métodos* (Primera ed.). Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
- Dominguez, X. (1973). *Métodos de investigación fitoquímica*. México: Limusa.
- Dupont, H., & Gokel, G. (1985). *Química Orgánica Experimental*. Reverté, S. A.
- Dupont, H., Gokel, G. (1985). *Química Orgánica Experimental*. Barcelona- España: Reverté.
- Ege, S. (1998). *Química Orgánica: Estructura y Reactividad* (Vol. 2). Reverté.
- Escalante , A., Valdivia, A., & Gosset, G. (2009). *Ingeniería de vías metabólicas en Escherichia coli PTS- para la obtención de cepas sobreproductoras de shikimate*. México. : Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis. Instituto de Biotecnología. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Espino Guadalupe, J., Robles Amaya, J., Ramírez Calixto, C., & Ramírez Anormaliza, R. (2016). Aprendizaje basado en la investigación: caso UNEMI. *Ciencia UNEMI*, 9(21), 49-57.
- Espinosa Ipinza, F., & Rivas Poblete, V. (2011). Fluorescencia visible inducida por radiación UV. Sus usos en conservación y diagnóstico de colecciones. Una revisión crítica. *Conserva*(16), 27- 38.
- Farrás , A., Terrado , E., & López, V. (2017). *Potencial de extractos de helechos como ingredientes activos para productos dermocosméticos*. Obtenido de Comunicación en forma de póster en el 9º Congreso de Fitoterapia de SEFIT, Menorca: <http://www.sefit.es/potencial-extractos-helechos-ingredientes-dermocosmeticos/>

- Fernanda Espinoza, R. V. (23 de 6 de 2011). FLUORESCENCIA VISIBLE INDUCIDA POR RADIACION UV.SUS USOS EN EL DIAGNOSTICO DE COLECCIONES. MADRID, BARCELONA , ESPAÑA.
- Ferraro, G., Martino, V., Bandoni, A., & Nadinic, J. (2015). *Fitocosmética: Fitoingredientes y otros productos naturales*. Buenos Aires: Universitaria de Buenos Aires (EUDEBA).
- Figueroa de la Fuente, M., Reyes Coronado, D., & Fiorentini Cañedo, N. (2017). El aprendizaje basado en la investigación (ABI) como un factor para el fortalecimiento de los programas educativos de la Universidad Quintana Roo en Playa del Carmen, México. *Ensayos Pedagógicos*, 13(1), 131- 156.
- Foy Valencia, E., Mac Donald, D., Cuyos, M., & Dueñas, R. (2005). Extracción, identificación y evaluación de saponinas en *Agaricus bisporus*. *Biotempo*, 5, 31- 36.
- Franco Mariscal, A. (2015). Competencias científicas en la enseñanza y el aprendizaje por investigación. Un estudio de caso sobre corrosión de metales en secundaria. *Enseñanza de las ciencias*, 33(2), 231- 252.
- Fuertes , C., Roque, M., & Tristan, M. (1997). Flavonoides y alcaloides de *Lupinus Ballianus* C.P Smith con actividad antibacteriana y antifungica. *Ciencias e Investigación*, 71- 80.
- Galbis Pérez, J. (1999). *Panaroma actual de la química farmacéutica* (Vol. 5). Universidad de Sevilla.
- Gallego, D., Quiceno Serna, Y., & Pulgarín Vásquez, D. (2014). Unidades didácticas: un camino para la transformación de la enseñanza de las ciencias desde un enfoque investigativo. *Tecné, Episteme y Didaxis: TED*, 923- 934.
- Gennaro, A. (2003). *Remington Farmacia*. (Veinte ed.). Buenos Aires: Medica Panamericana.
- Gil, J., Gómez , M., & Trejos, J. (2009). Citotoxicidad y actividad anticancerigena de dos flavonoides aislados y purificados de *Brownea ariza* Brenth. *Vitae*, 16(1), 93- 101.
- Gómez, M., Trejos, J. (2009). Citotoxicidad y actividad anticancerigena de dos flavonoides aislados y purificados de *Brownea ariza* Brenth. *Vitae*, 16(1), 93- 101.
- Gonzalez, M. (05 de 07 de 2011). *Metabolitos secundarios de las plantas*. Obtenido de La guía: <https://quimica.laguia2000.com/reacciones-quimicas/metabolitos-secundarios-de-las-plantas>
- Guarnizo Losada, M., Puentes Luna, O., & Amortegui Cedeño, E. (2015). Diseño y aplicación de una unidad didáctica para la enseñanza-aprendizaje del concepto diversidad vegetal en estudiantes de noveno grado de la institución educativa Eugenio Ferro Falla, Campoalegre, Huila. *Tecné Episteme y Didaxis*, 31-49.
- Guzman Loayza, D. (2013). *Guía de prácticas de Química Forestal*. Perú: Universidad Nacional Agraria La Molina. Facultad de Ciencias Forestales. Dpto. Industrias Forestales. La Molina.

- Hagemann, W. (2012). *Eupodium pittieri* (Maxon) Christenh. -Marattiaceae- Taxonomía. Obtenido de Colecciones Científicas del Instituto de Ciencias Naturales (ICN) de la Universidad Nacional de Colombia: <http://www.biovirtual.unal.edu.co/es/colecciones/detail/205862/index.html>
- Heng, L., Vincken, J., Hoppe, K., Koningsveld, G., Decroos, K., Gruppen, H., . . . Voragen, A. (2006). Stability of pea DDMP saponin and the mechanism of its decomposition. *Food Chemistry*, 99(2), 326- 334.
- Hernández, R., Fernández, C., & Baptista, P. (2006). *Metodología de la Investigación* (Cuarta ed.). México, D.F: Editorial McGraw-Hill Interamericana.
- Hernández, T., García Bores, A., Serrano, R., Dávila , P., Cervantes, H., Peñalosa, I., . . . Lira , R. (2015). Fitoquímica y actividades biológicas de plantas de importancia en la medicina tradicional del Valle de Tehuacán- Cuicatlán. TIP. *Especializada en ciencias químico- biológicas*, 18(2), 116- 121.
- Herrera, C., Bolaños , N., & Lutz, G. (2003). *Química de Alimentos: Manual de laboratorio*. (Primera ed.). Costa Rica: Universidad de Costa Rica.
- Hill, P. (2004). *Degustar el vino: el sabor del vino explicado* (Primera ed.). Buenos Aires: Albatros.
- Hocman, G. (1988). Chemoprevention of cancer: Phenolic antioxidants (BHT, BHA). *International Journal of Biochemistry*, 20, 639- 651.
- Hodson, D. (1994). Hacia un enfoque más crítico del trabajo de laboratorio. *Enseñanza de las Ciencias*, 12(3), 299-313.
- Jestval. (29 de diciembre de 2012). *slideshare* . Obtenido de Jestval: <https://es.slideshare.net/jestval/tabla-miscibilidades>
- Lavalle , M., & Mengascini, A. (2007). Almidón de reserva en especies neotropicales de Marattia (Marattiaceae- Pteridófitas). *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 64(1), 79- 85.
- Lavalle, M., Mengascini, A., & Rodríguez, M. (2011). Morfología de esporas y sinangios en especies neotropicales del helecho Marattia (Marattiaceae). *Biol. Trop*, 59(4), 1833-1844.
- Lock, O., Cabello, I., & Hugo Doroteo, V. (2006). *Análisis de flavonoides en plantas*. Perú: Pontificia Universidad Católica del Perú.
- Londoño, C. y Sáenz, E. (2016). Fitoquímica en la formación inicial de profesores en química. *Revista Iberoamericana de Producción Académica y Gestión Educativa*, 3(5).
- López, A., Vélez, M., Sánchez, M., Bonilla, C., & Gallo, P. (2006). Evaluación de extractos vegetales para manejo de hongos patógenos en banano y fresa almacenados. 55(4).
- Mabry, T., Markham, K., & Thomas, M. (1969). *The systematic identification of flavonoids*. New Yor Inc. USA: Springer- Verlag.

- Macarulla, J., & Goñi, F. (1994). *Bioquímica Humana*. Barcelona: Reverté, S. A.
- Mangas, A. (2009). *Producción de saponinas triterpénicas en cultivos in vitro de Centella asiatica*. Barcelona: Universitat de Barcelona. Obtenido de https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/2622/02.SMA_INTRODUCCION.pdf?sequence=2&isAllowed=y
- Marcano, D., & Hasegawa, M. (2002). *Fitoquímica Orgánica* (Segunda ed.). Venezuela: Universidad Central de Venezuela.
- Marqués, M. (2001). *Estadística Básica: un enfoque no paramétrico*. México: Universidad Nacional Autónoma de México- Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.
- Martínez, A. (2001). *Aceites Esenciales*. Medellín: Universidad de Antioquia- Facultad Química Farmacéutica.
- Martínez Bencardino, C. (2012). *Estadística y Muestreo*. Bogotá: Ecoe Ediciones.
- Martínez Flórez, S., González Gallego, J., Culebras, J., & Tuñón, M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*, 17(6), 271-278.
- Martínez García, C. (2014). *Identificación de flavonoides con actividad antioxidante presentes en Alchornea coelophylla*. Pereira: Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnología.
- Martínez Lirola, M., Molero, J., & González Tejero, M. (1997). *Investigaciones etnobotánicas en el Parque Natural de Cabo de Gata- Níjar (Almería)*. España: Almería: Sociedad Almeriense de Historia Natural.
- Martínez, C. (2012). *Estadística y muestreo* (13ra ed.). Ecoe ediciones.
- Martino, V. (2000). Los flavonoides como promisorios agentes preventivos y terapéuticos. *Acta farmacéutica bonaerense*, 19(4), 303- 308.
- Medina Arnaldi, M. (2012). *Flavonoides aislados de propóleos chilenos y bioactividad*. Chile: Universidad Austral de Chile- Facultad de Ciencias.
- Mejía, J. (2019). *Actividad biológica de la planta Tigridia vanhouttei*. México: Universidad de las Américas Puebla.
- Méndez, M., & Durán, R. (1997). Diagnóstico del conocimiento etnobotánico actual de las plantas medicinales de la Península de Yucatán. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 60, 15- 24.
- Méndez, C., & Murillo, J. (2014). *Helechos y Lycófitos de Santa María (Boyacá, Colombia)*. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, Instituto de Ciencias Naturales.

- Milián Domínguez, J., Iglesias Monroy, O., & Valdés Hernández, H. (2017). Caracterización fitoquímica de Samanea Saman (Jacq.) Merr (algarrobo). *Cubana de Ciencias Forestales*, 5(1), 49-61.
- Moncada, J. (2005). *Estadística para ciencias del movimiento humano*. . San José: Universidad de Costa Rica.
- Montealegre Pinzón, C. (2011). *Etbonotanica Preliminar del Espíngo (Ocotea quixos (Lam.) Kosterm.) en la medicina tradicional indígena inga, pruebas fitoquímicas y evaluación de la actividad antimicrobiana*. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana.
- Morales León, J., Arias Cedeño, Q., Torres Rodríguez, E., Alarcón Zayas, A., & Sariego Tamayo, O. (2017). Actividad antibacteriana de fracciones obtenidas de las hojas de *Cassia uniflora* frente a *Staphylococcus aureus* resistente a la metilicina. *Cubana de Química*, 29(3), 444-455.
- Moreno , P. (2014). Los macroproyectos de investigación: una estrategia para la formación de docentes investigadores. *Actualidades pedagógicas*, 117-131.
- Muller, C., Obermeier, M., & Berg, G. (2016). Bioprospecting plant- associated microbiomes. *Journal of biotechnology*, 235, 171-180.
- Muñiz, M. E., Mendoza Ruíz, A., & Pérez García, B. (2005). Usos de los helechos y plantas afines. *Etnobiología*, 117-125.
- Muñoz , F. (2002). *Plantas medicinales y aromáticas: estudio, cultivo y procesado*. Madrid: Mundi - Prensa.
- Murillo Pulido, M., & Harker Useche, M. (1990). *Helechos y plantas afines de Colombia*. Bogotá: Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Física y Naturales, Colección Enrique Álvarez Lleras.
- Narváez Zamora, L. J. (2009). Aprendizaje significativo de algunos conceptos químicos, a través de resolución de problemas. *Entornos*(21), 43-56.
- Naturalist. (s.f.). *Bejuco Blanco (Vitis tiliifolia)*. Obtenido de <https://www.inaturalist.org/taxa/286649-Vitis-tiliifolia>
- Navarro Flores, A., Sánchez Garrido, J., & Collado Fernández, D. (1999). *Minería, Industria y Medio Ambiente en la Cuenca Mediterránea*. Editorial Business y Economics. Barcelona: Universidad de Almería.
- Nina, C., & Romero, G. (2009). Extracción e identificación de alcaloides y otros compuestos químicos de la planta *huperziasaururus* (cola de quirquincho). 33- 42.
- NIST. (2016). *Libro del Web de Química*. Obtenido de Eugenol: <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C97530&Mask=400>
- Ocampo, R. (1994). *Domesticación de plantas medicinales en Centroamérica*. Costa Rica: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza.

- Ochoa Amado, L., & Sarmiento Mora, A. (2018). *Estudio fitoquímico de la especie vegetal Bucquetia glutinosa (L.f) DC. (Melastomataceae) y evaluación de su actividad biológica*. Bogotá: Universidad de Ciencias Aplicadas u Ambientales.
- Ochoa Reyes, M., & Murcia Rodríguez, M. (2017). Aprendizaje Basado en la Investigación (ABI) como potencializador del estudio fisiológico de especies agrícolas y arbóreas del bosque Alto Andino, Colombia. *Internacional de aprendizaje en ciencia, matemática y tecnología*, 4(2), 9-16.
- Ordaz González, G., D'Armas, H., Yáñez, D., Hernández, J., & Camacho, A. (2010). Metabolitos secundarios, letalidad y actividad antimicrobiana de los extractos de tres corales y tres moluscos marinos de Sucre, Venezuela. *Biología tropical*, 58(2), 677- 688.
- Ordaz, G., D Armas, H., Yáñez, D., Hernández, J., & Camacho, A. (2010). Metabolitos secundarios, letalidad y actividad antimicrobiana de los extractos de tres corales y tres moluscos marinos de Sucre, Venezuela. *Biología tropical*, 58(2), 677- 688.
- Orozco, N. (2015). *Eupodium pittieri (Maxon) Christenh.* Obtenido de Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis: <http://coleccion.esjbb.gov.co/herbario/especimen/4381>.
- Ortiz, D. (2015). El constructivismo como teoría y método de enseñanza. *Sophia, Colección de Filosofía de la Educación*(19), 93-110.
- Palá Paúl, J. (2002). *Contribución al conocimiento de los aceites esenciales del género Eryngium L., en la península Ibérica*. Madrid: Universidad Complutense de Madrid.
- Palacios Palacios, M. (2013). *Texto digital de Farmacognosia y Fitoquímica*. Perú: Universidad Católica "Los Ángeles de Chimbote".
- Pardo de Santayana, M., & Gómez Pellón, E. (2003). Etnobotánica: aprovechamiento tradicional de plantas y patrimonio cultural. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 60(1), 171-181.
- Pardo Rodríguez, D., Ortiz Romero, L., Tacha, A., Murillo Perea, E., Mendez Arteaga, J., & Murillo Arango, W. (2014). Estudio química y etnobotánico de Croton leptostachyus. *Acad. Colomb. Cienc*, 39(149), 356-363.
- Parés I Farrás, R., & Giménez, A. (1997). *Bioquímica de los microorganismos*. Reverté, S. A.
- Pasto, D., & Johnson, C. (1981). *Determinación de estructuras orgánicas*. Barcelona: Reverté, S.A.
- Pereira, Z. (Enero-Junio de 2011). Los diseños de método mixto en la investigación en educación: una experiencia completa. *Revista electrónica Educare*, XV(1), 15-29. doi: 1409-42-58
- Pergaud, L., & Kuete, V. (2013). Triterpenes and Steroids from the Medicinal Plants of Africa. Medicinal planta research in Africa. *Pharmacology and Chemistry*.
- Pomilio, A. (2012). Investigación en Química de Productos Naturales en Argentina: Vinculación con la Bioquímica. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 46(1), 73- 82.

- Pozo, J., & Gómez, M. (2006). *Aprender y enseñar ciencias: Del conocimiento cotidiano al conocimiento científico*. Madrid: Morata.
- Pozo, I., & Gómez, M. (2000). *¿Por qué los alumnos no aprenden la ciencia que se les enseña? Aprender y Enseñar Ciencia: Del conocimiento cotidiano al conocimiento científico*. Madrid: Morata.
- Pozo, J. I., & Gómez, M. (1998). Aprender y enseñar ciencia. Del conocimiento cotidiano al conocimiento científico. *Morata S.L.*
- Prashant, T., Bimlesh, K., Mandeep, K., Gurpreet, K., y Harleen, K. (2011). Phytochemical Screening and Extraction. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1), 98-106.
- Primo, E. (1995). *Química orgánica básica y aplicada: de la molécula a la industria*. Barcelona: Reverté, S. A.
- Procházkova, D., Bousova, I., & Wilhelmova, N. (2011). Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*, 82, 513- 523.
- Quintanilla, M., Merino, C., & Daza, S. (2010). Unidades didácticas en Química: Su contribución a la promoción de competencias de pensamiento científico. *Fondecyt*, 3.
- Quintero Londoño, C., & Reyes Sáenz, E. (2016). Fitoquímica en la formación inicial de profesores en química. *Revista Iberoamericana de Producción Académica y Gestión Educativa*.
- Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). The polyphenols, naturally occurring compounds with beneficial effects on cardiovascular disease. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76-89.
- Remón Rodríguez, H., Alarcón Zayas, A., Almeida Saavedra, M., Viera Tamayo, Y., Ramos Escalona, M., & Bazan Osorio, Y. (2012). Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana de los extractos secos de tinturas al 20% de *Mammea americana* L. *Revista cubana de plantas medicinales*, 17(4), 300-307.
- Rios Herrera, E. (2012). *Determinación de metabolitos secundarios y código de barras de ADN de vitroplantas de Turbinicarpus valdezianus*. México: Universidad Autónoma Agraria.
- Rivadeneira, E. M., & Silva, R. J. (2017). Aprendizaje basado en la investigación en el trabajo autónomo y en equipo. *Científica electrónica de Ciencias Gerenciales*, 13(38), 5-16.
- Rivas Morales, C., Oranday Cárdenas, M., & Verde Star, M. (2016). *Investigación en plantas de importancia médica*. México: OmniaScience.
- Rivas, C., Oranday, M., & Verde, M. (2016). *Investigación en plantas de importancia médica*. OmniaScience.
- Riveros Neira, A., & Gómez Aguilar, D. (2007). Análisis Fitoquímico del *Niphogeton ternata*, como mecanismo de aprendizaje de conceptos de Ciencias Naturales. *Scientia et Technica Año XIII*(3).

- Riveros, A., Pocasangre, L., & Rosales, F. (2002). *Inducción de resistencia y uso de tecnologías limpias para el manejo de plagas en plantas*. Costa Rica: Catie. Inibap.
- Rodríguez Pava, C., Zarate Sanabria, A., & Sánchez Leal, L. (2017). Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas frente a patógenos de importancia clínica en Colombia. *NOVA*, 15(27), 119- 129.
- Rodríguez Sandoval, E., & Cortés Rodríguez, M. (2010). Evaluación de la estrategia pedagógica "Aprendizaje basado en proyecto": percepción de los estudiantes. *Avaliação, Campinas; Sorocaba, SP.*, 15(1), 143- 158.
- Rodríguez, H.R., Zayas, A., Saavedra, M., Vierta, Y., Escalona, M., y Osorio, Y. (2012). Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana de los extractos secos de tinturas al 20% de *Mammea americana* L. *Cubana de Plantas Medicinales*, 17(4), 300-307.
- Runyon , R., & Haber, A. (1986). *Estadística para las ciencias sociales* . México: Adisson Wesley Iberoamericana.
- S., A. D. (1970). *INTRODUCCION A LA CROMATOGRAFIA* . MADRID: Alhambra.
- Sanabria Galindo, A., López, S., & Gualdrón, R. (1997). Estudio Fitoquímico Preliminar y Letalidad sobre *Artemia salina* de plantas de Colombia. *Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas*, 26, 15-19.
- Sánchez Blanco, G., & Valcárcel Pérez, M. (1993). Diseño de unidades didácticas en el área de Ciencias Experimentales. Enseñanza de las ciencias. *Revista de Investigación y Experiencias Didácticas*, 11(1), 33-44.
- Sandoval , M. (24 de 11 de 2013). *SlideShare*. Obtenido de Reconocimiento del Colesterol: <https://es.slideshare.net/Milisanm/reconocimiento-del-colesterol-quimica>
- Sandoval, M. (24 de noviembre de 2013). *Reconocimiento del Colesterol*. Obtenido de Reconocimiento del colesterol: <https://es.slideshare.net/Milisanm/reconocimiento-del-colesterol-quimica>
- Sanmartí, N. (2002). Didáctica de las ciencias en la educación secundaria obligatoria. *Sintesis Educación*, 6(2).
- Sepúlveda Jiménez, G., Porta Ducoing, H., & Rocha Sosa, M. (2004). La participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. *Mexicana de Fitopatología*, 21(3), 355- 365.
- Sepúlveda Vázquez, J., Torres Acosta, J., Sandoval Castro, C., Martínez Puc , J., & Chan Pérez, J. (2018). Importancia de los metabolitos secundarios en el control de nematodos gastrointestinales en ovinos con énfasis en Yucatán, México. *Selva Andina Animal Science*, 5(2), 79- 95.
- Sharapin, N. (2000). *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos* (Vol. 78). Convenio andres bello.

- Sing, O. (1997). *Colorantes Naturales* (Primera ed.). Perú: Fondo.
- Skoog, D., Holler, F., & Nieman, T. (2001). *Principios de Análisis Instrumental* (Quinta ed.). Madrid- España: Mc Graw Hill Interamericana.
- Skoow, W. (2015). *Fundamentos de Química Analítica*. México D.F: Cengage Learning.
- Soto Vasquez, M. (12 de 09 de 2013). *Clase de metabolitos secundarios y ruta del ácido shikimico*. Obtenido de Slideshare: <https://es.slideshare.net/maryluz/clase-de-metabolitos-sekundarios-y-ruta-de-acido-shikimico-por-qf-maril-roxana-soto-vsquez>
- Suau, R., García, A., Rico, R., Cabezudo, B., Nieto Caldera , J., & Salvo, A. (1988). Alcaloides en la flora de Andalucía. I. *Acta Botánica Malacitana*, 189- 200.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). *Fisiología Vegetal* (Vol. 1). Los Ángeles: Universitat Jaume.
- Tenorio Domínguez, M. (2016). Flavonoides extraídos de la cascara de naranja tangelo (*Citrus reticulata* x *Citrus paradisi*) y su aplicación como antioxidante natural en el aceite vegetal sachá inchi (*Plukenetia volubilis*). *Scientia Agropecuaria*, 7(4), 419- 431.
- Tobin, K., & Lamaster, S. (1995). Relationship between methapors, beliefs and actions in a context of science curriculum change. *Journal of Research in Science Teaching*, 32(3), 226.
- Triana Moreno, L., & Murillo, J. (2005). *Helechos y plantas afines de Albán (Cundinamarca): el bosque subandino y su diversidad*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia: Instituto de Ciencias Naturales.
- Tryon, R., y Tryon, A. (1982). *Ferns and allied plants, with special reference to Tropical America*. Nueva York: Springer- Verlag.
- Tunnermann, C. (2011). El constructivismo y el aprendizaje de los estudiantes. *Universidades*, 21-32.
- UNAM. (2010). *Química Orgánica*. Obtenido de Cromatografía en capa fina: http://organica1.org/1311/1311_6.pdf
- Vanguardia. (09 de 07 de 2018). *Una historia de alcaloides*. Obtenido de <https://vanguardia.com.mx/articulo/una-historia-de-alcaloides>
- Villacrés, E., Peralta, E., Cuadrado , L., Revelo, J., Addo, S., & Aldaz, R. (2009). *Propiedades y aplicaciones de los alcaloides del Chocho (lupinus mutabilis Sweet)* (Primera ed.). Quito, Ecuador: Grafistas.
- Wallach , O. (1987). Zur kenntnis der terpepe und ätherischen öle. *Liebigs Annalen der Chemie*, 239, 1-54.

12. Anexos

Anexo No. 1: Formato del Cuestionario

APRENDIZAJE SOBRE EL AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS DEL HELECHO *Eupodium pittieri* A TRAVÉS DEL MODELO INVESTIGATIVO, EN ESTUDIANTES DEL PROGRAMA DE LICENCIATURA EN CIENCIAS NATURALES Y EDUCACIÓN AMBIENTAL DE LA UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA

INVESTIGADORES: Ana María Mora López, Aldemar Morales Loaiza y Yilber Alexis Valderrama

DIRECTORES: Ph.D. Jhon Fredy Castañeda Gómez y MSC. Luis Javier Narváez Zamora

Presentación: El presente cuestionario, hace parte de un proyecto de investigación como trabajo de grado para recibir el título de Licenciatura en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología de la Universidad Surcolombiana. Por tal razón, el equipo de investigadores está interesado en conocer las opiniones, conocimientos y concepciones que poseen los docentes en formación de la licenciatura en Ciencias Naturales y Educación Ambiental, sobre los usos tradicionales de las especies vegetales, los métodos más comunes para el aislamiento e identificación de metabolitos secundarios de fuentes naturales y los procedimientos para identificar sustancias con potencial tóxico, alelopático y antimicrobiano.

Objetivo: Promover el aprendizaje sobre el aislamiento e identificación de metabolitos secundarios como parte de la bioprospección del helecho *Eupodium pittieri* en los estudiantes del Programa de Licenciatura en Ciencias Naturales y Educación Ambiental de la Universidad Surcolombiana.

Instrucciones: Lee detenidamente cada una de las preguntas formuladas en el siguiente cuestionario y selecciona la respuesta que más se refleje con lo que piensas. Por favor, responder con sinceridad, lo más preciso posible y tratar de no pasar por alto ninguna afirmación. Tus respuestas son confidenciales y no serán evaluadas como buena o mala. Agradecemos tu participación en el cuestionario.

CUESTIONARIO PARA DOCENTES EN FORMACIÓN

NOMBRE: _____

EDAD: _____

SEMESTRE QUE CURSA: _____

AFIRMACIONES. Marca con X tu respuesta en cada caso.

1. La fitoquímica es una disciplina de las Ciencias Naturales, que tiene como objeto de estudio reconocer la diversidad química de las especies vegetales a través del aislamiento, purificación, identificación estructural y caracterización de la actividad biológica de diversas sustancias de origen vegetal.

De acuerdo a la información anterior, responde si estas:				
Totalmente de acuerdo	De acuerdo	Ni de acuerdo ni en desacuerdo	En desacuerdo	Totalmente en desacuerdo
☐	☐	☐	☐	☐

2. La producción de nuevos medicamentos en la industria farmacéutica se realiza de manera sintética y el primer paso es aislar los principios activos de fuentes naturales.

De acuerdo a la información anterior, responde si estas:				
Totalmente de acuerdo	De acuerdo	Ni de acuerdo ni en desacuerdo	En desacuerdo	Totalmente en desacuerdo
☐	☐	☐	☐	☐

3. Para reconocer de manera preliminar los tipos de metabolitos secundarios presentes en un extracto o fracción vegetal, se acude a la realización de técnicas de análisis elemental cualitativo o tamizaje fitoquímico.

De acuerdo a la información anterior, responde si estas:				
Totalmente de acuerdo	De acuerdo	Ni de acuerdo ni en desacuerdo	En desacuerdo	Totalmente en desacuerdo
☐	☐	☐	☐	☐

4. Los metabolitos secundarios se sintetizan a partir de los metabolitos primarios, para ello, siguen rutas de biosíntesis como: glucólisis, ciclo de Krebs o la vía del ácido cinámico.

De acuerdo a la información anterior, responde si estas:				
Totalmente de acuerdo	De acuerdo	Ni de acuerdo ni en desacuerdo	En desacuerdo	Totalmente en desacuerdo
☐	☐	☐	☐	☐

5. Los metabolitos secundarios por su origen biosintético se pueden clasificar en: Acetato-Malonato, Acetato- Mevalonato, Mixta, Siquimico, Acetato y Dox- Mep.

De acuerdo a la información anterior, responde si estas:				
Totalmente de acuerdo	De acuerdo	Ni de acuerdo ni en desacuerdo	En desacuerdo	Totalmente en desacuerdo
☐	☐	☐	☐	☐

6. Dentro de los métodos de identificación y análisis de un compuesto desconocido, se emplean las técnicas de espectrometría de masa para determinar la distribución de las moléculas de una sustancia en función de su masa.

De acuerdo a la información anterior, responde si estas:				
Totalmente de acuerdo	De acuerdo	Ni de acuerdo ni en desacuerdo	En desacuerdo	Totalmente en desacuerdo
☐	☐	☐	☐	☐

7. Los metabolitos secundarios son los responsables del aroma, los principios activos y color de numerosas especies vegetales además de cumplir funciones específicas en los seres vivos.

De acuerdo a la información anterior, responde si estas:				
Totalmente de acuerdo	De acuerdo	Ni de acuerdo ni en desacuerdo	En desacuerdo	Totalmente en desacuerdo
☐	☐	☐	☐	☐

8. “Lo semejante disuelve lo semejante” indica el disolvente inorgánico que se debe emplear para extraer cierto tipo de metabolito secundario.

De acuerdo a la información anterior, responde si estas:				
Totalmente de acuerdo	De acuerdo	Ni de acuerdo ni en desacuerdo	En desacuerdo	Totalmente en desacuerdo
☐	☐	☐	☐	☐

9. La bioprospección agrupa una serie de procedimientos que permiten caracterizar el potencial biológico de una sustancia química.

De acuerdo a la información anterior, responde si estas:				
Totalmente de acuerdo	De acuerdo	Ni de acuerdo ni en desacuerdo	En desacuerdo	Totalmente en desacuerdo
☐	☐	☐	☐	☐

10. La inhibición microbiana se puede lograr por acción de sustancias químicas derivadas de fuentes naturales.

De acuerdo a la información anterior, responde si estas:				
Totalmente de acuerdo	De acuerdo	Ni de acuerdo ni en desacuerdo	En desacuerdo	Totalmente en desacuerdo
☐	☐	☐	☐	☐

11. En la determinación del potencial anticancerígeno de los metabolitos secundarios, se recurre a emplear crustaceos de *Artemia salina* donde se calcula la dosis letal (DL₅₀)

De acuerdo a la información anterior, responde si estas:				
Totalmente de acuerdo	De acuerdo	Ni de acuerdo ni en desacuerdo	En desacuerdo	Totalmente en desacuerdo
☐	☐	☐	☐	☐

12. El conocimiento etnobotánico es un criterio que permite seleccionar especies como fuente de nuevos medicamentos.

De acuerdo a la información anterior, responde si estas:				
Totalmente de acuerdo	De acuerdo	Ni de acuerdo ni en desacuerdo	En desacuerdo	Totalmente en desacuerdo
☐	☐	☐	☐	☐

13. Muchas plantas producen metabolitos secundarios como mecanismos de defensa, atrayentes volátiles y agentes de color para advertir o atraer otros organismos.

De acuerdo a la información anterior, responde si estas:				
Totalmente de acuerdo	de acuerdo	Ni de acuerdo ni desacuerdo	En desacuerdo	Totalmente en desacuerdo
☐	☐	☐	☐	☐

14. La Investigación fitoquímica permite soportar científicamente el uso de los productos naturales de origen vegetal.

De acuerdo a la información anterior, responde si estas:				
Totalmente de acuerdo	de acuerdo	Ni de acuerdo ni desacuerdo	En desacuerdo	Totalmente en desacuerdo
☐	☐	☐	☐	☐

15. El aislamiento de sustancias de especies vegetales se realiza mediante maceración exhaustiva con disolventes inorgánicos según un gradiente de polaridad definido donde el material se encuentra particulado y libre de humedad.

De acuerdo a la información anterior, responde si estas:				
Totalmente de acuerdo	de acuerdo	Ni de acuerdo ni desacuerdo	En desacuerdo	Totalmente en desacuerdo
☐	☐	☐	☐	☐

16. El comportamiento de algunos metabolitos secundarios de origen vegetal influye en el desarrollo de otras especies vegetales y se conoce como alelopatía.

De acuerdo a la información anterior, responde si estas:				
Totalmente de acuerdo	de acuerdo	Ni de acuerdo ni desacuerdo	En desacuerdo	Totalmente en desacuerdo
☐	☐	☐	☐	☐

17. En la determinación de algunos tipos de metabolitos secundarios se recurre al empleo de la cromatografía en capa fina, teniendo en cuenta el factor de retención junto al color; que dependerá este último de un revelador para indicar la presencia del mismo.

De acuerdo a la información anterior, responde si estas:				
Totalmente de acuerdo	De acuerdo	Ni de acuerdo ni en desacuerdo	En desacuerdo	Totalmente en desacuerdo
☐	☐	☐	☐	☐

18. Los principios activos de origen vegetal pueden ser empleados para el desarrollo de productos afines a su estructura.

De acuerdo a la información anterior, responde si estas:				
Totalmente de acuerdo	De acuerdo	Ni de acuerdo ni en desacuerdo	En desacuerdo	Totalmente en desacuerdo
☐	☐	☐	☐	☐

19. los metabolitos secundarios, debido a sus diferencias estructurales moleculares (grupos funcionales) reaccionan químicamente de manera que refleja poca diversidad metabólica.

De acuerdo a la información anterior, responde si estas:				
Totalmente de acuerdo	De acuerdo	Ni de acuerdo ni en desacuerdo	En desacuerdo	Totalmente en desacuerdo
☐	☐	☐	☐	☐

20. Para determinar la naturaleza de una molécula desconocida, algunas técnicas de análisis estructural se fundamentan en la interacción de algunos grupos funcionales orgánicos con las diferentes formas de energía electromagnética

De acuerdo a la información anterior, responde si estas:				
Totalmente de acuerdo	De acuerdo	Ni de acuerdo ni en desacuerdo	En desacuerdo	Totalmente en desacuerdo
☐	☐	☐	☐	☐

Anexo No. 2: Plan de evaluación para el cuestionario

En la elaboración del instrumento tipo Likert, se tuvo en cuenta un plan de evaluación que se consolida como una estrategia para determinar el peso conceptual inherentes a la identificación de metabolitos secundarios de origen vegetal. Para ello, se ha establecido la Tabla No. 14., donde se relacionan aquellos conceptos que los autores del presente, consideran necesarios para alcanzar el objetivo de investigación propuesto.

Tabla No. 14 Plan de Evaluación del instrumento.

Concepto	Peso Conceptual	Ítems
1. Fundamentos de Fitoquímica	10%	2
2. Interdisciplinariedad	5%	1
3. Fuentes de Productos Naturales	10%	2
4. Metabolismo Secundario	20%	4
5. Identificación Preliminar	10%	2
6. Aislamiento de Metabolitos Secundarios	15%	3
7. Ensayos Biológicos	15%	3
8. Identificación Estructural	10%	2
9. Aplicabilidad	5%	1
TOTAL		20

De esta manera, el instrumento con un total de veinte ítems se dispuso a consideración del juicio de expertos, tomando en cuenta que durante su formación han estado en contacto en este campo de la Fitoquímica así como la asociación a la Enseñanza de las Ciencias Naturales, Productos Naturales, Bioquímica, entre otras líneas afines.(ver *Tabla No. 14*) Por esta razón, se acudió a cinco expertos que se relacionan a continuación, favoreciendo la estadística en la determinación de la Razón de Validez de Contenido (CRV) para los ítems propuestos así como el cuestionario en general, siguiendo la metodología descrita por Cohen y Swerdlik (2001), pág. 188, cuyos resultados se encuentran establecidos en la Tabla No. 26,

Por consiguiente, se elaboró el formato de validez del instrumento de investigación para el desarrollo de juicio de experto, donde cada uno de los participantes profesionales consolidó sus aseveraciones cualitativas como cuantitativas por medio de la valoración de los ítems otorgando

un valor numero de 1 si considero que cumple con los objetivos propuestos, o en el caso contrario O al igual que la consistencia de la prueba con un valor total de 20 puntos distribuidos uniformemente en cuatro criterios de validez.

Tabla No. 15. Profesionales expertos que participaron en la validación del instrumento.

Experto	Mención	Estudios
Elías Francisco Amórtegui Cedeño	Licenciado en Biología de la Universidad Pedagógica Nacional, UPN.	Magister en Educación de la Universidad Pedagógica Nacional, UPN. Doctorado Universitat de Valencia.
Paula Andrea Charry Sánchez	Química de la Universidad del Quindío	Magister en Química de la Universidad del Quindío
Eunice Ríos Vásquez	Química de la Universidad del Valle	Magister en Ciencias- Química de la Universidad del Valle Doctorado en Ciencias- Química de la Universidad Nacional Autónoma de México
Marino Valdemar Muñoz Burbano	Licenciado en Química y Biología de la Universidad de Nariño.	Especialista en Educación Sexual y Desarrollo Humano.
Alcides Polanía Patiño	Licenciado en Educación Básica con Énfasis en Ciencias Naturales y Educación Ambiental de la Universidad Surcolombiana	Magister en Ciencias Farmacéuticas de la Universidad Nacional de Colombia

VALIDEZ DEL INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN JUICIO DE EXPERTO

CUESTIONARIO PARA DOCENTES EN FORMACIÓN

RESPONSABLES: *Morales, L. Aldemar, Mora, L. Ana M & Valderrama, C. Yilber A.*

¹Licenciados en formación en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología de la Universidad Surcolombiana, Neiva, Huila (Colombia). moralesk12.aml@icloud.com

El objetivo general de este estudio es determinar la pertinencia del modelo de aprendizaje basado en la investigación, para tratar de generar aprendizaje sobre el aislamiento e identificación de metabolitos secundarios del helecho *Eupodium pittieri*, en los estudiantes del programa de licenciatura en Ciencias Naturales y Educación Ambiental de la Universidad Surcolombiana”

Instrucciones: Luego de analizar y cotejar el instrumento de investigación “Cuestionario para docentes en formación” con la matriz de consistencia de la presente, le solicitamos que, con base a su criterio y experiencia profesional, valide dicho instrumento para su aplicación. De antemano, agradecemos por tu valiosa colaboración por diligenciar las tablas anexas. Cuya información nos permitirá establecer el índice de validez de constructo y la consistencia evaluadora de la prueba. En la columna Valoración correspondiente a la Tabla No. 16, escriba 1 si considera que el ítem es válido para alcanzar los objetivos propuesto, o en el caso contrario escriba 0.

❖ Evaluador 1: Elías Amórtegui

Tabla No. 16 Valoración de los ítems del instrumento para evaluador 1

Ítem	Valoración	Sugerencias
1	1	
2	1	
3	1	
4	1	
5	1	
6	1	
7	1	
8	1	
9	1	
10	1	
11	1	
12	1	
13	1	

Continuación Tabla No. 16

Ítem	Valoración	Sugerencias
14	1	
15	1	
16	1	
17	1	
18	1	
19	1	
20	1	El instrumento está muy bien estructurado para indagar el conocimiento de los estudiantes sobre fitoquímica, sin embargo no lo veo tan contundente para el “aprendizaje”; podría revisarse la idea de “generar el aprendizaje...”

Tabla No. 17 Consistencia de la prueba para evaluador 1

Señale con una x la puntuación otorgada al instrumento en general.

1- Muy poco	2- Poco	3- Regular	4- Aceptable	5 – Muy aceptable
-------------	---------	------------	--------------	-------------------

Criterio de Validez	Puntuación					Argumento	Observaciones y/o Sugerencias
	1	2	3	4	5		
Validez de contenido					X		
Validez de criterio metodológico					X		
Validez de intención y objetividad en la medición y observación					X		
Presentación y formalidad del instrumento					X		En general, el instrumento corresponde con conocimientos sobre el área de la fitoquímica, sin embargo, sobre “Generar el aprendizaje...” puede generarse allí confusión.
Resultado parcial							
Total							

Puntuación:

De 1 a 11: No valida, Reformular

De 12 a 14: No valido, Modificar

De 15 a 17: Valido, Mejorar

De 18 a 20: Valido, aplicar

Firma

Apellido y Nombre	Amórtégui Elías
Grado Académico	Ph.D
Mención	

❖ Evaluador 2: Paula Andrea Charry Sánchez

Tabla No. 18 Valoración de los ítems del instrumento para evaluador 2

Ítem	Valoración	Sugerencias
1	1	
2	1	
3	1	
4	1	
5	1	
6	1	
7	1	
8	1	
9	1	
10	1	
11	1	
12	1	
13	1	
14	1	
15	1	
16	1	
17	1	
18	1	
19	1	
20	1	

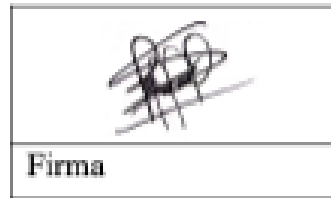
Tabla No. 19 Consistencia de la prueba para evaluador 2

Señale con una x la puntuación otorgada al instrumento en general.

1- Muy poco	2- Poco	3- Regular	4- Aceptable	5 – Muy aceptable			
Criterio de Validez	Puntuación					Argumento	Observaciones y/o Sugerencias
	1	2	3	4	5		
Validez de contenido					X		
Validez de criterio metodológico					X		
Validez de intención y objetividad en la medición y observación					X		
Presentación y formalidad del instrumento					X		
Resultado parcial					20		
Total					20		

Puntuación:**De 1 a 11: No valida, Reformular** **De 12 a 14: No valido, Modificar** **De 15 a 17: Valido, Mejorar** **De 18 a 20: Valido, aplicar**

Apellido y Nombre	Paula Andrea Charry Sánchez
Grado Académico	Magister en Química
	Docente Ocasional Tiempo Completo
Mención	Programa de Química Universidad del Quindío

❖ **Evaluador 3: Eunice Ríos Vásquez***Tabla No. 20 Valoración de los ítems del instrumento para evaluador 3*

Ítem	Valoración	Sugerencias
1	1	
2	1	
3	1	
4	1	
5	1	
6	1	
7	1	
8	1	
9	1	
10	1	
11	1	
12	1	
13	1	
14	1	
15	1	
16	1	
17	1	
18	1	
19	1	
20	1	Muy bien redactado todo el cuestionario

*Tabla No. 21 Consistencia de la prueba para evaluador 3.**Señale con una x la puntuación otorgada al instrumento en general.*

1- Muy poco	2- Poco	3- Regular	4- Aceptable	5 – Muy aceptable
-------------	---------	------------	--------------	-------------------

Continuación Tabla No. 21

Criterio de Validez	Puntuación					Argumento	Observaciones y/o Sugerencias
	1	2	3	4	5		
Validez de contenido					X		NINGUNA
Validez de criterio metodológico					X		NINGUNA
Validez de intención y objetividad en la medición y observación					X		NINGUNA
Presentación y formalidad del instrumento					X		
Resultado parcial					X		
Total							

Puntuación:

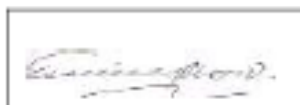
De 1 a 11: No valida, Reformular

De 12 a 14: No valido, Modificar

De 15 a 17: Valido, Mejorar

De 18 a 20: Valido, aplicar

Apellido y Nombre	Eunice Ríos V.
Grado Académico	PhD.
Mención	Docente de planta Programa de Química Universidad del Quindío



Firma

❖ Evaluador 4: Marino Valdemar Muñoz Burbano

Tabla No. 22 Valoración de los ítems del instrumento para evaluador 4.

Ítem	Valoración	Sugerencias
1	0	Las disciplinas de las Ciencias Naturales son: Biología, Química, Física, Geología y Astronomía. La Fitoquímica es una disciplina científica que forma parte de la Bioquímica.
2	1	
3	1	
4	1	Los metabolitos secundarios se sintetizan a partir de metabolitos primarios pero no a través de las rutas mencionadas.
5	1	Se clasifican en terpenos, compuestos fenólicos y compuestos nitrogenados o alcaloides.
6	1	
7	1	
8	1	Los metabolitos secundarios son compuestos orgánicos por consiguiente se necesita un disolvente orgánico.
9	1	Para un concepto más amplio falta mencionar lo comercial y lo holístico
10	1	

Continuación Tabla No. 22

Ítem	Valoración	Sugerencias
11	1	
12	1	Falta hablar de las relaciones de los grupos humanos y su entorno vegetal
13	1	
14	1	
15	1	Los metabolitos secundarios son compuestos orgánicos por consiguiente se necesita un disolvente orgánico.
16	1	La Alelopatía es un concepto más amplio incluye a los animales por ejemplo control de plagas.
17	1	
18	1	
19	1	
20	1	

Tabla No. 23 Consistencia de la prueba para evaluador 4.

Señale con una x la puntuación otorgada al instrumento en general.

1- Muy poco	2- Poco	3- Regular	4- Aceptable	5 – Muy aceptable			
Criterio de Validez	Puntuación					Argumento	Observaciones y/o Sugerencias
	1	2	3	4	5		
Validez de contenido					X		

Continuación de la Tabla No. 28

Criterio de Validez	Puntuación					Argumento	Observaciones y/o Sugerencias
	1	2	3	4	5		
Validez de contenido					X		
Validez de criterio metodológico					X		
Validez de intención y objetividad en la medición y observación					X		
Presentación y formalidad del instrumento					X		
Resultado parcial					20		
Total					20		

Puntuación:

De 1 a 11: No valida, Reformular

De 12 a 14: No valido, Modificar

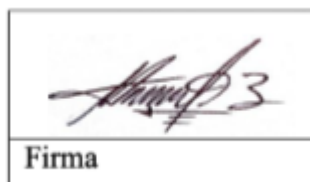
De 15 a 17: Valido, Mejorar

☐

De 18 a 20: Valido, aplicar

☒

Apellido y Nombre	MARINO VALDEMAR MUÑOZ BURBANO
Grado Académico	Especialista
Mención	EDUCACION SEXUAL Y DESARROLLO HUMANO



❖ Evaluador 5: Alcides Polanía Patiño

Tabla No. 24 Valoración de los ítems del instrumento para evaluador 5.

Ítem	Valoración	Sugerencias
1	0	Usar el término disciplina hacia las CIENCIAS NATURALES no sería pertinente. Según COLCIENCIAS, Ciencias Naturales es categorizada como “Gran Área del Conocimiento” y las disciplina a convenir serían alguna de las siguientes como: métodos de investigación en bioquímica, bioquímica y biología molecular, botánica y ciencias de las plantas, química orgánica, analítica ... La disciplina acorde al test sería FARMACOLOGÍA Y FARMACIA.
2	1	La pregunta hace referencia a los métodos de investigación asistida por modelaje de homologías estructurales, sin embargo, no todos los fármacos iniciaron de esta manera, y ello puede generar una gran dispersión en los resultados.
3	1	Sin discusión.
4	1	Sin discusión.
5	1	Sin discusión.
6	1	Sin discusión.
7	1	Sin discusión.
8	1	Sin discusión.
9	1	Sin discusión.
10	0	Considero que esta pregunta puede generar una gran dispersión luego la actividad antimicrobiana, son dadas tanto por compuestos de fuentes naturales, como también sintéticos.
11	1	Sugiero sustituir el término anticancerígeno por ANTINEOPLÁSICO, luego la población a la cual va dirigido el estudio, presentan conocimientos básicos en bioquímica, morfología y fisiología humana y animal.
12	1	Sin discusión.
13	1	Sin discusión.
14	1	Sin discusión.
15	1	Sin discusión.
16	1	Sin discusión.
17	1	Sin discusión.
18	0	Reformular la pregunta, no fue comprendida por el lector.
19	1	Considero que debe omitirse el termino moleculares, luego en la oración solo se infiere lo respectivo a metabolitos secundarios.
20	1	Sin discusión.

Tabla No. 25 Consistencia de la prueba para evaluador 5.
Señale con una x la puntuación otorgada al instrumento en general.

1- Muy poco	2- Poco	3- Regular	4- Aceptable	5 – Muy aceptable
-------------	---------	------------	--------------	-------------------

Criterio de Validez	Puntuación					Argumento	Observaciones y/o Sugerencias
	1	2	3	4	5		
Validez de contenido				X		El contenido es apropiado	Ver sugerencias
Validez de criterio metodológico				X		La metodología es idónea	Considero que el test debería presentar sus tópicos de modo estructurado, por secciones, uno conceptual, uno metodológico instrumental y uno aplicado.
Validez de intención y objetividad en la medición y observación					X	Es objetivo el diseño experimental	Sin opinión
Presentación y formalidad del instrumento					X	Formato ideal para el estudio	Sin opinión
Resultado parcial				18			
Total					18		

Puntuación:

De 1 a 11: No valida, Reformular

De 12 a 14: No valido, Modificar

De 15 a 17: Valido, Mejorar

De 18 a 20: Valido, aplicar

Apellido y Nombre	Alcides Polanía Patiño
Grado Académico	Mgtr.
Mención	

Firma

De esta manera, la valoración de los ítems por parte de los expertos permitió obtener una Razón de Validez de Contenido (CRV: 0,920)

Tabla No. 26. Razón de validez de contenido (CRV).

Experto	E.1.	E.2.	E.3.	E.4.	E.5.	CRV
Ítems						
1	1	1	0	1	0	0,2
2	1	1	1	1	1	1,0
3	1	1	1	1	1	1,0
4	1	1	1	1	1	1,0
5	1	1	1	1	1	1,0
6	1	1	1	1	1	1,0
7	1	1	1	1	1	1,0
8	1	1	1	1	1	1,0
9	1	1	1	1	1	1,0
10	1	1	0	1	1	0,6
11	1	1	1	1	1	1,0
12	1	1	1	1	1	1,0
13	1	1	1	1	1	1,0
14	1	1	1	1	1	1,0
15	1	1	1	1	1	1,0
16	1	1	1	1	1	1,0
17	1	1	1	1	1	1,0
18	1	1	0	1	1	0,6
19	1	1	1	1	1	1,0
20	1	1	1	1	1	1,0
CRV	1	1	0,85	1	0,95	0,920

Asimismo, la consistencia de la prueba por parte de los expertos permitió convalidar la aplicación del instrumento en la muestra de estudio, así como se muestra en la Tabla No. 27. Donde según (Cohen & Swerdlik, 2001) con relación a la puntuación obtenida orienta a los investigadores a realizar reformulaciones, modificaciones, mejoras o finalmente la aplicación del instrumento que se encuentra en el rango mínimo de 18 al puntaje máximo total de 20 puntos.

Tabla No. 27. Consistencia del instrumento de investigación.

Criterio de validez	Puntuación experto					Media
	E1	E2	E3	E4	E5	
Validez de contenido	5	5	5	5	4	4,8
Validez de criterio metodológico	5	5	5	5	4	4,8
Validez de intención y objetividad en la medición y observación	5	5	5	5	5	5
Presentación y formalidad del instrumento	5	5	5	5	5	5

Continuación de la Tabla No. 27

Criterio de validez	Puntuación experto					Media
	E1	E2	E3	E4	E5	
Total	20	20	20	20	18	19,6
Media	5	5	5	5	4,5	4,9

Anexo No. 3: Proyectos

Diseño

En el siguiente apartado se muestra la elaboración de los proyectos de investigación contemplado para el desarrollo, por parte de una muestra escogida de estudiantes pertenecientes al curso de Fitoquímica del programa de Licenciatura en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología matriculados en el período académico 2019-1. Es de mencionar a modo de contexto, que esta asignatura pertenece al componente flexible y su Microdiseño tiene carácter teórico, razón por la cual actualmente no cuenta con espacios de laboratorio para el desarrollo de prácticas, de modo que las clases se realizan de manera teórica, en el cual se plantea un proceso de aprendizaje diferente en comparación al aprendizaje obtenido a través de una estrategia didáctica en este caso Aprendizaje Basado en Investigación para la incorporación de aquellos conceptos abstractos de la Fitoquímica. En este sentido, la implementación de un proyecto investigativo como estrategia didáctica para generar la construcción de algunos conceptos fitoquímicos, en él se involucran las siguientes actividades: Extracción de Metabolitos; Identificación Preliminar; Separación Mediante Técnicas Cromatográficas; Aislamiento e Identificación de los Metabolitos de interés así finalmente, divulgación de los resultados obtenidos. Se consolida en la Tabla No. 28 las finalidades de aprendizaje que persigue cada una de las anteriores en el proyecto.

Tabla No. 28 Aspectos didácticos del proyecto.

Finalidades de Aprendizaje	Descripción	Indicador
Conceptuales	✓ Reconoce las características de los metabolismos secundarios.	✓ Reconoce la importancia de los procesos por los cuales se sintetizan los metabolitos secundarios como respuesta a estímulos exteriores.
	✓ Establece relación entre los diferentes tipos de metabolitos y la importancia en la especie vegetal.	✓ Asocia los diferentes metabolitos secundarios según su ruta biosintética correspondiente.
	✓ Identifica las diferentes Rutas metabólicas.	✓ Identifica las diferentes técnicas químicas para el proceso de aislamiento e identificación de metabolitos secundarios.
	✓ Reconoce los fundamentos para la extracción de metabolitos de las especies vegetales.	✓ Analiza las diferencias estructurales que presentan los grupos de metabolitos secundarios con relación a sus potenciales biológicos.
	✓ Establece la presencia de metabolitos a través del Análisis cualitativo químico.	✓ Asocia las interacciones de las moléculas orgánicas con regiones específicas del espectro electromagnético para su determinación estructural.
	✓ Reconoce las diferentes técnicas de separación de compuestos químicos (marcha analítica).	✓ Reconoce la fitoquímica como un campo del saber, que permite la búsqueda de nuevos fármacos y fitomedicamentos, con base en los potenciales biológicos de beneficio para los seres humanos.
	✓ Identifica la estructura de los metabolitos secundarios empleando técnicas modernas de análisis estructural.	

Continuación de la Tabla No. 28

Finalidades de Aprendizaje	Descripción	Indicador
Procedimentales	✓ Aplica algunas técnicas fitoquímicas para la extracción de metabolitos secundarios a partir del material vegetal. ✓ Identifica las características más importantes de los metabolitos secundarios para así mismo clasificarlos. ✓ Investiga diferentes pruebas para identificar el tipo de metabolito secundario presente en una muestra dada. ✓ Compara los resultados obtenidos de manera experimental con datos teóricos que le permitan validar sus resultados. ✓ Relaciona los efectos de la polaridad de los solutos con la de la muestra para separar los metabolitos según su afinidad. ✓ Describe el comportamiento de un metabolito secundario dada su interacción con las ondas electromagnéticas para identificar su naturaleza a nivel molecular.	✓ Hace uso adecuado del laboratorio para realizar la extracción e identificación de metabolitos secundarios de la especie vegetal. ✓ Reconoce a través de pruebas cualitativas las características que determinan la presencia o ausencia de metabolitos secundarios. ✓ Propone diferentes estrategias para llevar a cabo la identificación de los metabolitos secundarios. ✓ Valida los resultados obtenidos experimentalmente de acuerdo a investigaciones científicas como referentes. ✓ Asocia las interacciones soluto-solvente para seleccionar la técnica adecuada durante el aislamiento por medio de técnicas analíticas. ✓ Interpreta de manera adecuada los espectros de los metabolitos secundarios para su identificación molecular.

Continuación de la Tabla No. 28.

Finalidades de Aprendizaje	Descripción	Indicador
Actitudinales	✓ Valora la opinión de sus compañeros para la solución de interrogantes planteados y cumplir los objetivos propuestos. ✓ Participa activamente en las actividades que se lleven a cabo en el proceso de investigación. ✓ Formula estrategias para resolución de problemas empleando como base el conocimiento científico. ✓ Genera espacios de debate para la solución de dudas e interrogantes. ✓ Cumple activamente su papel dentro del equipo de investigación. ✓ Respeto las opiniones de los demás y es capaz de cambiar sus conocimientos previos acercándose al conocimiento científico. ✓ Trabajo en equipo para la construcción de nuevos conocimientos en relación a la fitoquímica. ✓ Reconozco la importancia que tienen los metabolitos secundarios en la especie vegetal de interés.	✓ Es capaz de formular preguntas que son de gran interés en relación a la temática, generando espacios de debates y socialización. ✓ Presenta una actitud motivadora y de gran participación para el desarrollo de las actividades de investigación. ✓ Realiza de manera responsable los procesos para llevar a cabo la investigación científica. ✓ Durante los debates y socialización de resultados, es capaz de asociar las ideas de sus compañeros para complementar el aprendizaje; además de respetar los diferentes puntos de vista u opiniones. ✓ Trabaja en equipo de manera organizada y responsable para realizar las diferentes actividades propuestas; así como también para el pleno reconocimiento de la importancia de los metabolitos secundarios de la especie vegetal.

Proyecto de Investigación

Línea de investigación: *Química de las plantas* (Fitoquímica).

Objetivo: *Facilitar el aprendizaje sobre el aislamiento e identificación de metabolitos secundarios del helecho **Eupodium pittieri**.*

Introducción

La fitoquímica es un campo multidisciplinario, el cual tiene como objeto de estudio los organismos vivos fundamentalmente especies vegetales. Este campo del saber, se nutre directamente del conocimiento Etnobotánico además de la Bioquímica, permitiendo reconocer los procesos metabólicos que dan origen a una megadiversidad estructural, responsables de actividades biológicas como lo predispone la Etnobotánica.

Los productos naturales, han sido ampliamente estudiados por las comunidades indígenas dotando particularmente a las plantas de un interés religioso. En ese sentido, la fitoquímica se encarga de otorgar un soporte científico a dichas actividades de interés biológico e industrial.

El Huila, es un departamento que posee las características propias del trópico, lo que ha generado una amplia diversidad de plantas; no obstante, y pese a la enorme presencia de conocimiento etnobotánico, las actividades biológicas han sido poco estudiadas a nivel científico, razón por la cual, los conocimientos en fitoquímica contribuyen y hacen parte de la línea de investigación en saberes específicos de la Facultad de Educación. De esta manera, se presenta como una oportunidad para vincular a los estudiantes de Licenciatura en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología en un ambiente de aprendizaje sobre aquellos conceptos inherentes a la fitoquímica y lo que conlleva la investigación en esta línea.

De esta manera, el proyecto tiene como propósito brindar un enfoque investigativo-formativo a los estudiantes del programa de licenciatura en Ciencias Naturales y Educación Ambiental en el cual se plantean unas series de actividades, estrategias didácticas a fin de generar un acercamiento con la química de las plantas desde una perspectiva más autónoma como un investigador propio. Ahora bien, desde el punto de vista formativo, esto contribuirá en la apropiación de los conceptos sino también de habilidades y competencias científicas propias de un docente integral de las Ciencias Naturales. Todo esto, en aras de motivar las investigaciones acerca de los potenciales regionales y nacionales de las plantas con potenciales biológicos tomando como ejemplo la especie vegetal *Eupodium pittieri* donde podrán desarrollar habilidades prácticas en el uso de técnicas de reconocimiento, separación e identificación de compuestos naturales, al igual que, lograr la fundamentación general en el tratamiento y obtención de muestras vegetales, drogas crudas, extractos naturales.

Finalmente, se espera que los estudiantes del curso de fitoquímica, reconozcan la importancia de las plantas como fuentes de principios activos de importancia en la búsqueda de nuevos fármacos y los fitomedicamentos.

Metodología

Inicialmente, se conformarán cuatro grupos de tres personas para un total de 12 estudiantes. A cada grupo de trabajo se le asignará un metabolito secundario para realizar su respectiva identificación. Es de mencionar que, los estudiantes contarán con material vegetal obtenido y procesado por los investigadores, disposición de reactivos e instrumentación de laboratorio; además serán guiados por los investigadores del presente proyecto quienes hacen sus veces de “*directores de investigación*”.

Los grupos estarán conformados de la siguiente manera:

Grupo 1: Flavonoides

Grupo 2: Saponinas

Grupo 3: Terpenos y/o Esteroides

Grupo 4: Alcaloides

Las actividades propuestas están diseñadas para llevarse a cabo en un tiempo de cinco semanas. Al finalizar, se realizará un foro que permita la socialización de los procesos teniendo en cuenta la indagación, recolección, interpretación y presentación de datos, así como también, el aporte de cada uno de los mismos en la resolución del problema.

¿Cómo aislar e identificar los metabolitos secundarios de mayor presencia en la especie vegetal *Eupodium pittieri*?



Facultad de Educación

Programa de Licenciatura en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología

Actividad 1. Conociendo las técnicas de extracción de Metabolitos secundarios

Introducción

La separación de moléculas a partir de material vegetal constituye una de las partes fundamentales del trabajo fitoquímico, este frecuentemente implica el aislamiento de los principios activos, los cuales a nivel molecular se encuentran en una mezcla con otros compuestos que poseen propiedades similares a nivel químico.

Objetivos

Reconocer las diferentes técnicas de extracción de metabolitos secundarios a partir del material vegetal.

Emplear una técnica de extracción de metabolitos secundarios haciendo uso de la especie vegetal *Eupodium pittieri*.

¿Qué técnica para la extracción de metabolitos secundarios se puede emplear en la especie vegetal *Eupodium pittieri*?

Preguntas Orientadoras

- ¿Qué técnicas son empleadas en la actualidad para la extracción de metabolitos secundarios?

- ¿Cuáles son los fundamentos físicos y químicos que sustentan la extracción de metabolitos mediante dichas técnicas?
- ¿Qué materiales y reactivos son necesarios para llevar a cabo la realización de dichas técnicas?
- ¿Cuáles son las implicaciones de la diversidad metabólica en la planta?
- Elabora un esquema metodológico que incluya los materiales, reactivos y sus respectivas cantidades.



Facultad de Educación

Programa de Licenciatura en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología

Actividad 2. Empleando técnicas de identificación preliminar de metabolitos secundarios.

Introducción

La identificación preliminar de los tipos de metabolitos secundarios presentes es uno de los pasos más importantes en la investigación fitoquímica es de vital importancia reconocer a nivel cualitativo. De esta manera, permite obtener un punto de partida para el aislamiento e identificación del mismo,

Objetivos

Reconocer cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en los extractos.

Identificar algunas pruebas específicas para metabolitos secundarios empleando la especie vegetal *Eupodium pittieri*.

¿Cómo determinar la especificidad de una prueba cualitativa para el metabolito secundario de interés?

Preguntas Orientadoras

- ¿Cuál es la estructura del metabolito secundario?
- ¿Qué tipo de situación (ej: precipitado, color, olor, espuma) presenta la prueba?
- ¿Cuál es el fundamento de la prueba cualitativa?
- ¿Consideran que es necesario realizar solo una prueba de identificación o es necesario más de una?

- Elabora un esquema metodológico que incluya los materiales, reactivos y sus respectivas cantidades.

Facultad de Educación

Programa de Licenciatura en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología

Actividad 3. Empleando técnicas analíticas para la separación de metabolitos secundarios

Introducción

En la separación del compuesto de interés, es importante conocer en lo posible las características químicas, teniendo en cuenta los datos obtenidos de las pruebas cualitativas y la cantidad disponible de extracto o fracción, ya que se puede trazar una ruta metodológica que favorezca la obtención.

Objetivos

Obtener la ruta metodológica más adecuada para la separación del metabolito secundario de interés empleando la especie vegetal *Eupodium pittieri*.

¿Cómo desarrollar la separación del compuesto de interés?

Preguntas Orientadoras

- Con base a la obtención primaria del compuesto ¿Que polaridad presenta?
- ¿Con cuál disolvente podrías eludir el compuesto?
- ¿Qué metodología se podría emplear?
- Para verificar la presencia luego del proceso experimental de obtención ¿Que se debe realizar?
- Elabora un esquema metodológico que incluya los materiales, reactivos y sus respectivas cantidades a emplear.



Facultad de Educación

Programa de Licenciatura en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología

Actividad 4. Realizando el aislamiento de metabolitos secundarios de interés.

Introducción

La mayor parte de los compuestos presentan similitudes estructurales, en muchos casos se puede obtener diversos compuestos donde solo cambian algunos sustituyentes. Sin embargo, en la identificación no favorece la presencia de una mezcla de compuestos, es por ello que es indispensable aislar el compuesto de mayor interés de tal manera que, nos permita seguir con el proceso de manera correcta.

Objetivos

Obtener la ruta metodológica más adecuada para el aislamiento del metabolito secundario de interés empleando la especie vegetal *Eupodium pittieri*.

¿Cuáles son las implicaciones de la obtención de una mezcla de compuestos?

Preguntas Orientadoras

- ¿Cuál es la técnica que emplea menor cantidad de compuesto y contribuye a la observación cualitativa del compuesto?
- ¿Cómo se puede separar el compuesto de otro con bastante afinidad?
- Para verificar la presencia luego del proceso experimental de obtención ¿Que se debe tener realizar?
- Elabora un esquema metodológico que incluya los materiales, reactivos y sus respectivas cantidades.



Facultad de Educación

Programa de Licenciatura en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología

Actividad 5. Identificando la estructura molecular de los metabolitos secundarios.

Introducción

La determinación estructural actualmente ha tenido gran auge en la búsqueda de nuevos compuestos orgánicos, luego de la comprensión del comportamiento de la luz como ondas o partículas bajo ciertas condiciones, se ha podido reconocer los efectos de la radiación electromagnética en la interacción con la materia. De esta manera, deductivamente se ha logrado definir la composición de las moléculas de interés de acuerdo a la información suministrada por algunas de las regiones del espectro electromagnético.

Objetivos

Elucidar los metabolitos secundarios de la especie vegetal *Eupodium pittieri* empleando técnicas modernas de identificación molecular.

¿Cuáles técnicas se podrían emplear para la determinación estructural de un metabolito secundario?

Preguntas Orientadoras

- Bajo las condiciones actuales ¿Qué equipos aprovechan el análisis de muestras mediante la interacción con la radiación electromagnética? ¿De qué tipo?
- ¿Qué información proporciona la interacción de la muestra con ese tipo de radiación?
- Elabora un esquema metodológico que incluya los equipos, materiales, reactivos y sus respectivas cantidades.
- ¿Cuál será el comportamiento de la muestra con la técnica a emplear?

- Es posible comparar los resultados que se obtengan en el laboratorio ¿Cómo se haría?

Anexo No. 4: Proyecto de investigación elaborado por los estudiantes del grupo flavonoides



**Facultad de Educación
Licenciatura en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología**

**Análisis fitoquímico preliminar e identificación de flavonoides en la especie
vegetal *Eupodium pittieri*.**

Presentan

**Andrés Ronaldo Bahamón Useche
Lina María Segura Casanova**

A los Investigadores Principales

**Ana María Mora López
Aldemar Morales Loaiza
Yilber Alexis Valderrama Córdoba**

Neiva- Huila, Colombia

Agosto, 2019

1. Introducción

En el presente informe de investigación, los autores presentan aquellas consideraciones relacionadas al desarrollo de la propuesta investigativa, en donde, de manera inicial se ilustra un marco teórico que soporte lo desarrollado durante la experiencia investigativa, por su parte, se relacionan unos objetivos que trazan la hoja de ruta a seguir durante el desarrollo del trabajo investigativo.

De otra manera, se incluye una breve reseña que marca la problemática a tratar, por la que se detallará el porqué de la selección del metabolito secundario presente en la especie vegetal de estudio, seguido a ello, se presentan los resultados obtenidos y el respectivo análisis de los mismos, en donde como autores se realizó la contrastación teórica que valide lo obtenidos durante el desarrollo de la experiencia.

Por último, se detallan algunas conclusiones a las que se llegó como autores de la propuesta, en las que se hace hincapié en la importancia del desarrollo del trabajo investigativo desde una mirada disciplinar, así como su aporte al desarrollo profesional de cada uno.

2. Problema de Investigación

En la actualidad, los compuestos de origen natural presentan gran relevancia dada la diversidad de aplicaciones en la industria farmacológica, cosmética, agroquímica entre otras, las cuales son de beneficio para el ser humano. En ese sentido, en el presente trabajo se emplea de manera particular la especie vegetal *Eupodium pittieri*, la cual fue seleccionada a partir de los saberes asociados por una comunidad del municipio de Acevedo (Huila), donde sugieren el uso de este material vegetal para potenciar el crecimiento del vello facial. Es importante mencionar que, aunque es escasa la información asociada a esta especie, los estudios fitoquímicos fortalecen la búsqueda de metabolitos secundarios que respondan a esos potenciales biológicos asociados a la especie vegetal, por lo que, uno de esos metabolitos son los flavonoides.

Los flavonoides se pueden distinguir de muchos otros por su eficiente potencial antioxidante, disminuyendo la actividad de los radicales libres (Procházkova, Bousova, & Wilhelms, 2011). Sumado a ello, se encuentra la gran diversidad metabólica que puede presentar lo que genera la necesidad de conocer compuestos con potenciales obtenidos de fuentes naturales, puesto que, al parecer, el consumo de antioxidantes sintéticos puede estar relacionado con la iniciación de procesos carcinogénicos (Hocman, 1988)

Por esta razón, a partir de la importancia de este grupo de metabolitos secundarios, como autores de la presente propuesta de investigación en el curso de fitoquímica se planteó la siguiente pregunta de investigación: ¿Qué métodos se pueden emplear para el aislamiento e identificación de flavonoides en la especie *Eupodium pittieri*?

3. Objetivos

3.1 Objetivo General

- Identificar flavonoides presentes en la especie de *Eupodium pittieri* mediante técnicas convencionales además de algunas técnicas modernas de identificación.

3.2 Objetivos Específicos

- Establecer una ruta metodológica para la identificación preliminar de flavonoides en la especie vegetal.
- Aislar flavonoides del material vegetal mediante técnicas cromatográficas.
- Determinar la presencia de flavonoides mediante espectroscopia Uv-Vis.

4. Marco Teórico

Para algunos biólogos existe una ciencia que se posiciona en medio de la botánica y la antropología la cual es conocida con el nombre de etnobotánica, la cual en 1896 surge un concepto que permitió remplazar los términos de etnografía botánica y botánica aplicada, los cuales significaban la relación e interacción que existía entre las plantas y el hombre, previamente, en 1970 se inició a considerar la etnobotánica como una disciplina científica la cual tuvo un importante papel en la creación de la sociedad (Carreño Hidalgo, 2016, pág. 9). Por su parte este autor vuelve y resalta que la etnobotánica resulta en el intercambio junto a la articulación de todos aquellos saberes que se recogen en resultados dados por el diálogo entre académicos, sabedores y miembros de la comunidad donde se encuentra la especie vegetal particular (Carreño Hidalgo, 2016, pág. 17). Dada la naturaleza interdisciplinaria de esta, abarca muchas áreas, incluyendo: botánica, química, medicina, farmacología, toxicología, nutrición, agronomía, ecología, sociología, antropología, lingüística, historia y arqueología, entre otras; lo cual permite un amplio rango de enfoques y aplicaciones.

Tal como se ha mencionado en anteriores ocasiones, la etnobotánica junto a la medicina tradicional no posee una presencia como tal en el currículo académico, de manera que su abordaje se limita en aquellas comunidades en donde se posee un vínculo estrecho con las especies vegetales de interés humano, donde allí se encuentra directamente relacionada a su cultura como un pilar de esta, así, en estas zonas es donde la educación con un enfoque en los conocimientos propios de la comunidad posee un valor estratégico. Por su parte, en las demás zonas del país, los conocimientos sobre el tratamiento de patologías comunes mediante el empleo de plantas propias de la región, es llevado a cabo mediante el traspaso de esos conocimientos de

generación a generación en algunas familias o mediante el compartimiento de dichos remedios caseros entre vecinos de las comunidades de todo el país.

Del mismo modo, para las comunidades, las plantas con potencial biológico son un recurso muy importante para los sistemas de salud. Por su parte Bermúdez, Oliveria Miranda y Velázquez (2005) dentro de las definiciones otorgadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS), sostiene que “una planta medicinal es definida como cualquier especie vegetal que contiene sustancias que pueden ser empleadas para propósitos terapéuticos o cuyos principios activos pueden servir de precursores para la síntesis de nuevos fármacos” (pág. 453), es de esta manera que se estima que alrededor del 80 % de la población mundial emplea plantas medicinales para el tratamiento de afecciones así como los diversos empleos que se le pueden dar a estas.

Todas las plantas tienen en su interior alguna característica química importante que las beneficia a ellas, sin embargo, en ocasiones estas características tienen relación con otros individuos, estas relaciones que se pueden generar son: planta-planta, planta-insecto o planta-animal, en esta última relación, el ser humano es uno de los principales beneficiados, dado que los usos que se les ha dado a las diversas especies vegetales ha permitido identificar los compuestos químicos (metabolitos secundarios), encargados de ese potencial atribuido a las especies vegetales, y entre ellos se destacando a un grupo particular, los flavonoides.

Los flavonoides, se encuentran en el grupo de los metabolitos secundarios, estos se pueden hallar en las hojas, en flores y frutos de las plantas; en las hojas como protectores de los rayos UV que produce el sol, en las flores como agentes atrayentes de insectos para que la planta pueda realizar el proceso de la polinización. Y en general se encuentran en toda la planta para protegerla de organismo fitopatógenos e insectos (Cartaya & Reynaldo, 2001, pág. 5).

Los flavonoides son compuestos polifenólicos, de bajo peso molecular y derivados de tres anillos (A, B, C); “en las plantas se encuentran en forma de glicósidos y son los pigmentos amarillos, naranjas, azules y rojos de las flores” (Martino, 2000). Además de tener un bajo peso molecular comparten una estructura en común de difenil-píranos (C6-C3-C6), conformado por dos anillos fenilos (A y B) unidos por un anillo pirano (C), como se muestra en la Ilustración No. 21.

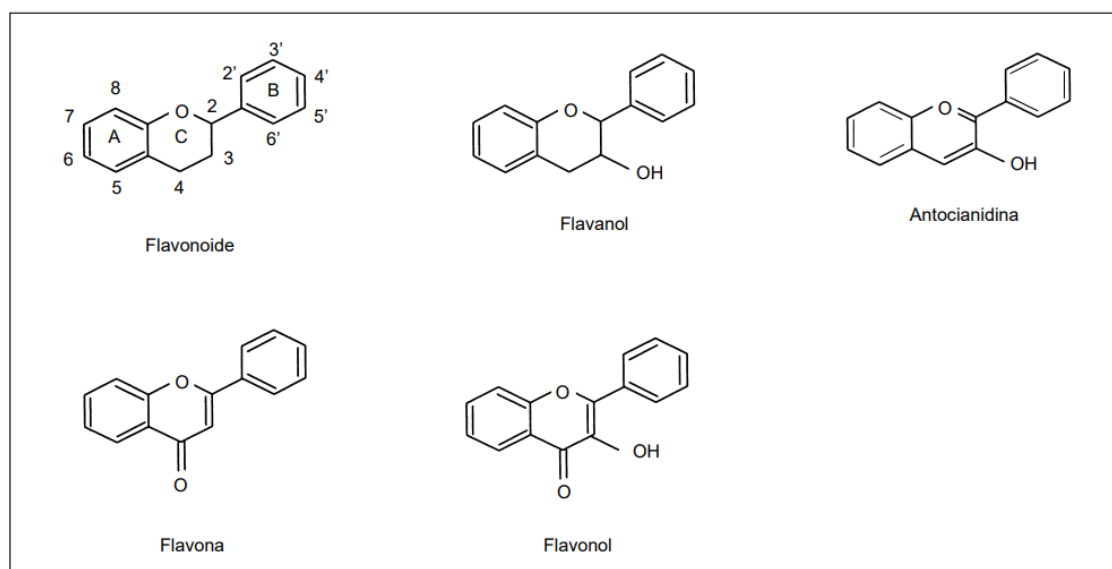


Ilustración No. 21. Estructura general y algunos ejemplos de diferentes flavonoides. Tomado de (Martínez Flórez, González Gallego, Culebras y Tuñón, 2002, pág. 272).

Los anillos están separados en tres y son llamados A, B y C; “en estas moléculas los átomos de carbono son nombrados por un sistema numérico, el cual utiliza números ordinarios para los anillos A y C y números primos para el anillo B” (Cartaya & Reynaldo, 2001, pág. 5).

Los flavonoides en su estado naturales suelen resaltar una estructura en común, la cual posee al menos tres hidroxilos fenólicos y se encuentran generalmente unidos con azúcares en forma de glicósidos, aunque también se presentan con relativa frecuencia como aglícónas libres “1, 2” (Cartaya & Reynaldo, 2001, pág. 5).

A lo largo de la historia la ciencia ha logrado identificar más de 4000 flavonoides diferentes, de los cuales están distribuidos en 12 subclases las cuales son: Chalconas, Flavonas, Flavonoles, Flavanonas, Flavanonoles, Antocianidinas, Catequinas, Epicatequinas, Auronas, Isoflavonas, Pterocarpanos y Rotenoides (Medina Arnaldi, 2012, pág. 11). Estas subclases se clasifican por su estructura atómica. En la Ilustración No. 22 se aprecia su clasificación.

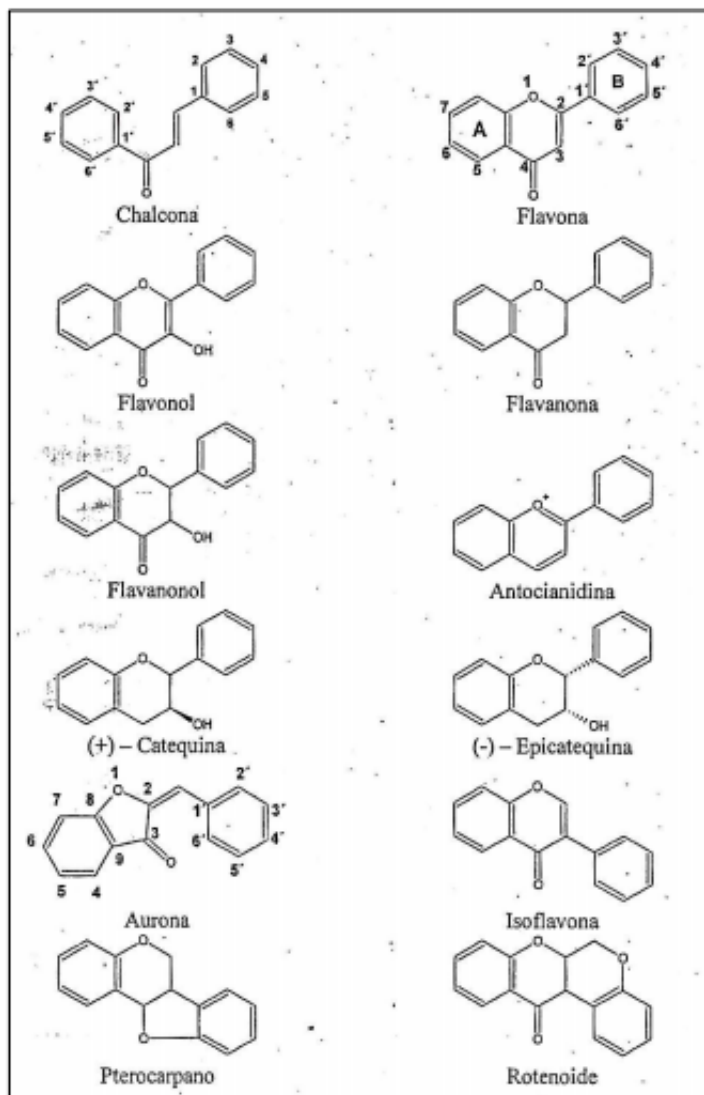


Ilustración No. 22 Diferentes subclases de flavonoides. Tomado de Bedascaburre (2006) citado en (Medina Arnaldi, 2012, pág. 12)

Tal como lo destaca Medina Arnaldi (2012), pág. 13, cada subclase tiene unas características importantes las cuales van de colores rojos intensos para las antocianidinas, en el

caso de las flavonas, flavonoles y auronas son flavonoides que poseen unos colores que van de los rojos a amarillos claros, estos compuestos son sólidos, como también los son los glicósidos y las agliconas, la diferencia es que los primeros son sólidos amorfos y los segundos son cristalinos. Por el lado de la solubilidad aparecen los heterósidos, los cuales son solubles en agua y en alcoholes e insolubles en sustancias orgánicas apolares. En éter, acetato de etilo, metanol y entre otros las geminas son muy solubles, pero insolubles en agua. Un factor importante para poder determinar la solubilidad de los flavonoides está en los sustituyentes hidroxilo o metoxilo que posean (Medina Arnaldi, 2012).

Los diferentes tipos de flavonoides están ligados a unas rutas biosintéticas muy comunes, una de esas rutas se denomina “*ruta del Shikimato*” y la otra es la “*ruta acetato-mevalonato*”, según Escalante, Valdivia y Gosset (2009) en la ruta del shikimato su principal biosíntesis es la de compuestos aromáticos la cual se da tanto para bacterias como para plantas. “El primer paso de esta ruta es la condensación del fosfoenolpiruvato y de la eritrosa-4-fosfato, por la enzima 3-deoxi-D-arabinoheptulosonato-7- fosfato (DAHP) sintasa (DAHPS), para rendir DAHP, el cual es transformado subsecuentemente hasta corismato” (Escalante , Valdivia, & Gosset, 2009).

5. Metodología

A continuación, se esbozan los aspectos metodológicos que se desarrollaron en el proyecto de investigación sobre los temas inherentes a una parte de la bioprospección del helecho *Eupodium pittieri*, especialmente el aislamiento e identificación de metabolitos secundarios en el cual, éste hace hincapié en los flavonoides.

Inicialmente, el material vegetal fue tratado por los directores de investigación que colectaron frondes en estado joven, de la especie vegetal provenientes del municipio de Acevedo-Huila. A partir de ahí, se procedió a realizar búsquedas de diversas técnicas de obtención de compuestos de origen vegetal donde finalmente se encuentra el maceramiento exhaustivo con disolventes orgánicos como la mejor estrategia metodológica para la obtención de extractos, identificación preliminar, aislamiento e identificación de flavonoides mediante una técnica moderna de identificación como la espectroscopia de absorción ultravioleta.

5.1 Preparación de la Materia Prima y del Extracto

Es de mencionar, los aspectos más importantes de la extracción del material vegetal de esta especie, puesto que, como se mencionó, los directores colectaron las frondes de esta pteridofita en horas de la mañana debido a que como nos han mencionado las primeras horas del día favorecen la producción de la diversidad metabólica. El tratamiento posterior es de cuidado en la conservación del material, si es esterilizado, así como secado adecuadamente este material puede perdurar por bastante tiempo. De esta manera, el material que se ha suministrado se encontró en condiciones óptimas para el desarrollo de la metodología de maceración exhaustiva, que consiste en agotar una cuarta parte de material vegetal por cada tres cuartas partes de disolvente orgánico (cloroformo) dejando de 3 días a 5 días en agitación continua cada día. Finalmente, el resultado

del proceso anterior es filtrado y rotaevaporado para reutilizar el disolvente orgánico en los demás procesos.

5.2 Evaluación Fitoquímica Preliminar

Una vez obtenidos los extractos vegetales, se determinó que el método de identificación cualitativa para flavonoides son los ensayos Shinoda y cloruro férrico (FeCl_3) en ese sentido (Dominguez, 1973) afirma que estas pruebas son preliminares para demostrar la presencia de flavonoides por medio de su aromaticidad y la reacción ácida a la cinta de magnesio (Mg), los reactivos necesarios se mencionan en la Tabla No. 29.

Tabla No. 29 Relación de ensayos realizados para determinar la presencia de flavonoides.

Objetivo de identificación	Ensayos	Materiales
Flavonoides	Shinoda	- 1 mL de extracto acuoso
		- 1 mL HCl concentrado
		- 1 pedacito de cinta de Mg o Zn
		- 1 mL de alcohol amílico (agitar y dejar reposar)
	Cloruro Férrico FeCl_3	- 0.5 mL de extracto
		- Unas gotas de cloruro férrico al 10%

5.3 Obtención de Flavonoides Mediante Técnicas Cromatográficas

Durante este proceso investigativo, la cantidad de extracto clorofórmico obtenido de los procesos anteriores permiten la identificación de flavonoides haciendo uso de una cromatografía en columna de tamaño pequeño, la cual consistió en varios pasos, lo primero y más importante fue lavar y secar todos los materiales necesarios para la separación. Luego, la columna cromatográfica se preparó con 2.0 gramos de silica gel disuelto en hexano siendo esta la fase estacionaria. Con todo lo anterior, se cargó la columna con un poco del extracto de *Eupodium pittieri* (2.0 g) con aproximadamente 5 mL de hexano, asimismo, se adiciona con mucho cuidado por las paredes de la columna como se muestra en la Ilustración No.23.



Ilustración No. 23 Preparación de la columna cromatográfica del extracto vegetal.

Una vez inyectada la muestra en la columna cromatográfica, lo siguiente es iniciar el fraccionamiento del extracto. Para ello, se rotula unos frascos pequeños (viales de 50 mL) en la cual se recogieron cantidades aproximadas de 5 a 10 mL aproximadamente. (Ilustración No. 24.) Esto se realiza, según la polaridad de los compuestos que se desean separar, en el caso de los flavonoides se utilizó hexano y cloroformo en diferentes proporciones.



Ilustración No. 24 Frascos limpios y secos para desarrollar la columna cromatográfica.

Obtenidas las fracciones cromatográficas, el siguiente paso consistió en la purificación del compuesto de interés. Por esta razón, teniendo en cuenta que los compuestos aromáticos como

los flavonoides poseen fluorescencia en presencia de luz ultravioleta y para ello lo primero se hace es disponer de las fracciones en una cámara de luz ultravioleta a 302 o 365 nm. (Ilustración No. 25)



Ilustración No. 25 Frascos con posible presencia de flavonoides de la planta Eupodium pittieri revelado en cámara Uv 365nm.

Una vez elegidas las fracciones, se realiza una cromatografía en capa fina que consiste en cortar con mucho cuidado una placa de silica gel de 5 x 10 cm, lo siguiente es trazar una línea en la parte de inferior a 0.5 cm del borde, sobre esta línea se adiciona con ayuda de una micropipeta —hecha con un capilar— gota a gota cada fracción selecciona sobre la línea. Lo siguiente fue preparar en beaker la fase móvil la cual se usa según su polaridad de lo que se desea separar, en el caso de flavonoides se puede usar una solución de 1:1 de hexano-acetona. Después, se coloca con mucho cuidado la placa cromatográfica en un Beaker de 250 mL donde se desarrolló la técnica hasta que el frente del disolvente llegue exactamente a 0.5 cm del borde. (Ilustración No. 26)

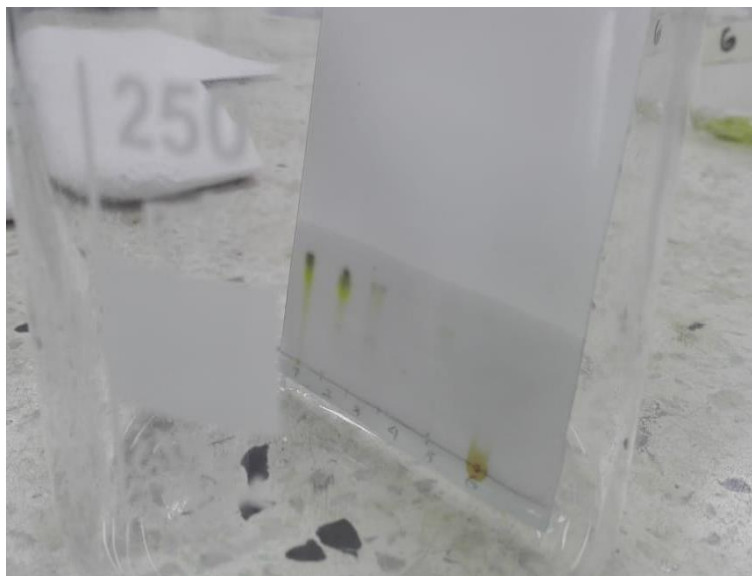


Ilustración No. 26 Cromatografía en capa fina de las fracciones seleccionadas de Eupodium pittieri.

Lo anterior, se realizó con el fin de saber cuál es la fracción utilizadas posiblemente tenga más de los compuestos deseado en nuestro caso los flavonoides; cuando esto se determine, lo siguiente es realizar con una placa preparativa de sílica gel de 10 x 20 cm empleando el mismo procedimiento solo con unas excepciones; la primera, la inserción de la muestra es sobre toda la línea trazada con la solución sin dejar espacio esto con el fin de que sea más cantidad de compuesto a su vez sea eficiente y más fácil separar los compuestos en el futuro. Asimismo, la siguiente consideración es la fase móvil puesto que con el anterior proceso se observa la eficiencia de la fase móvil empleada, en pocas palabras la resolución de las franjas obtenidas indicó sí se necesita aumentar o disminuir la polaridad de la mezcla. Por lo anterior, se explicita que se utilizaron una mezcla de disolventes butanol-hexano-tolueno en proporciones 1:1:2 en la cual se desarrolló la técnica teniendo en cuenta los protocolos necesarios (Ilustración No. 27).



Ilustración No. 27 Cromatografía en capa fina preparativa de la fracción 10.

Finalmente, luego de desarrollar la cromatografía en capa fina preparativa se revelan la placa empleando la cámara de luz Uv- Vis. Enseguida, las franjas reveladas con mejor separación son escogidas para aislar separando la sílica gel de la muestra.

5.4 Identificación Espectroscópica de Flavonoides Mediante Técnicas Modernas

La muestra aislada se maseo con el fin de prever si la cantidad es suficiente para decidir realizar los análisis de espectroscopia IR y espectroscopia UV-Vis, respectivamente.

Es de mencionar que, las técnicas descritas permiten verificar los grupos funcionales, la presencia de insaturaciones en la molécula aislada de esta manera, con la longitud máxima de absorción en el ultravioleta visible permite contrastar con estudios relacionados con el aislamiento de flavonoides.

6. Resultados

En este apartado se presentan los resultados obtenidos mediante el seguimiento de la ruta metodológica propuesta para el aislamiento e identificación de flavonoides presentes en el material vegetal de *Eupodium pittieri*, por lo que se cumple con la rigurosidad científica desde la identificación preliminar, aislamiento e identificación. A continuación, se presentan los resultados obtenidos en la realización de cada etapa propuesta para tal fin.

6.1 Evaluación Fitoquímica Preliminar

Una vez realizada la maceración exhaustiva, se empleó el extracto clorofórmico en la realización de las pruebas químicas cualitativas, mediante cambios como el viraje de color, presencia de precipitados o la producción de espuma se determina que las pruebas resultaron positivas para la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides, respectivamente (Ver Tabla No. 30).

Tabla No. 30 Ensayo realizado en la determinación de flavonoides.

Objetivo de identificación	Reacción	Resultado	Evidencias
Flavonoides	Shinoda	Positivo (coloración rojo purpura)	 Resultado positivo del ensayo de Shinoda

En la prueba de Shinoda, se empleó una pequeña cantidad del extracto clorofórmico en un tubo de ensayo donde se agregaron 1 mL de HCl concentrado además de un pedacito de zinc

luego de acidulado se presenta una reacción burbujeante con una coloración roja anaranjado, y un olor fuerte, determinando así la presencia de flavonoides (Guzman Loayza, 2013).

6.2 Obtención de Flavonoides Mediante Técnicas Cromatográficas

6.2.1 *cromatografía en columna*. La cantidad de extracto obtenido permitió desarrollar una columna cromatográfica de tamaño pequeño ejemplar para la separación de los compuestos de interés. En ese sentido, con las condiciones propuestas se obtuvo una separación de 11 fracciones con un volumen aproximado de 5 a 10 mL. Cada una de ellas, se concentró para desarrollar corridos cromatográficos en capa fina para identificar cualitativamente la pureza de las muestras además de verificar la presencia de colores rojizos/rosados asociados a los flavonoides (Ilustración No. 28).



Ilustración No. 28 Fraccionamiento cromatográfico del extracto de *Eupodium pittieri*..

6.2.2 *cromatografía de capa fina*. Se determinó trabajar con solo 3 fracciones que fueron la 6,7,10, de las 11 recopiladas en la cromatografía de columna, para así poder tener con mayor exactitud el aislamiento de los flavonoides, esta técnica presenta una serie de ventajas frente a otros métodos cromatográficos, ya que es más precisa y eficiente en la utilización de cantidades pequeñas de material vegetal lo que favorece determinar la presencia del compuesto de interés así como las condiciones cromatográficas necesarias para la purificación. Otra ventaja es el tiempo que se necesita para conseguir las separaciones es mucho menor y la separación es generalmente mejor. Según Martínez (2005) citado (Tenorio Domínguez, 2016, pág. 424) en “la solubilidad de los flavonoides depende de la forma en que se encuentran y del número y clase de sustituyentes presentes”. En la placa se aplicó una pequeña cantidad de muestra de las 3 fracciones elegidas, separadas una de otra por toda la placa, para luego correr con la fase móvil hexano-acetona 1:1 ascendiendo la mezcla de disolventes por toda la placa, arrastrando los componentes a lo largo de ella, mejorando la separación (Ilustración No. 29).

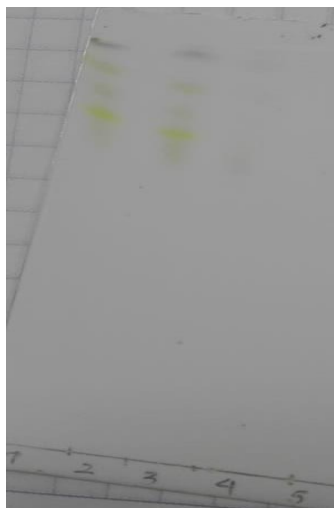


Ilustración No. 29 Corrido cromatográfico en capa fina de las fracciones 6, 7 y 10.

Asimismo, empleando el revelado de la placa en luz ultravioleta en la cámara Uv a dos longitudes de onda las cuales fueron 302 nm y 365 nm se encontró manchas a lo largo de la placa

de color rosado, violeta y azul intenso, respectivamente para insaturaciones como son los flavonoides (Ilustración No. 30).

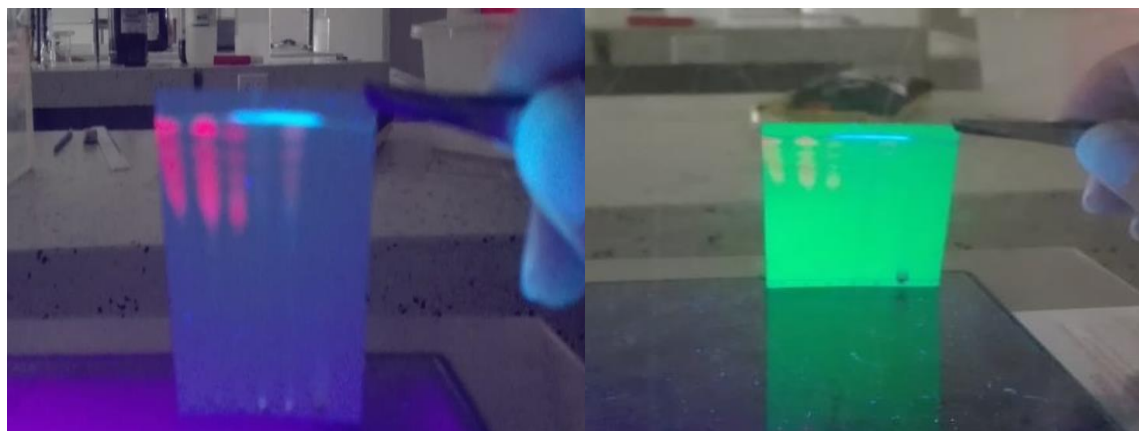


Ilustración No. 30 Revelado de placa en cámara UV a 365nm y 302 nm, respectivamente.

Los corridos cromatográficos y los disolventes utilizados permiten encontrar diversidad de compuestos aromáticos como los flavonoides, en ese sentido, las agliconas altamente hidroxiladas son solubles en solventes altamente polares como etanol, metanol y butanol, no obstante, las poco hidroxiladas son solubles en éter etílico, acetato de etilo y acetona, medianamente polares. Estos compuestos tienen alta capacidad de absorción en la región UV del espectro, por la presencia de sistemas aromáticos conjugados en su composición Martínez, 2005 citado en (Tenorio Domínguez, 2016, pág. 424).

6.2.3 *cromatografía en capa fina preparativa.* La fracción 10 de las tres seleccionadas presentaba una mayor cantidad de muestra para el aislamiento de flavonoides posibles, además, se evidencio solo un par de manchas de compuestos con Rf similar, de modo que, toda la fracción fue puesta en la placa 10 x 20 cm empleando una fase móvil modificada con los solventes de elucidación butanol: hexano: tolueno en proporción 1:1:2 para así asegurar la mejor separación de los posibles flavonoides (Ilustración No. 31).

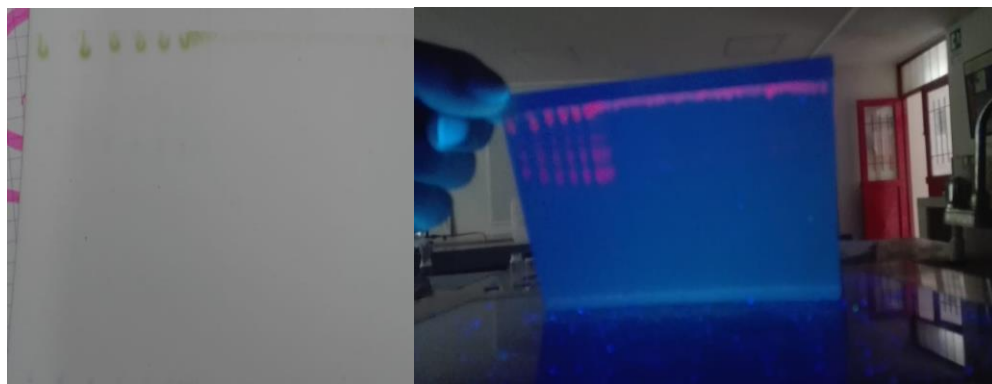


Ilustración No. 31 Resultado de la cromatografía en capa fina preparativa de la fracción No. 10. Revelado en UV 365 nm.

El revelado de la placa fina preparativa, se evidencia dos compuestos de interés por su coloración violeta en la parte superior (muestra B) así como una banda de color azul en la parte inferior de la placa (muestra A). Estas franjas se marcaron, rasparon e aislaron en viales transvasando cada una de ellas a un cono de papel filtro de la silica gel empleado metanol como disolvente. Asimismo, las muestras se revelaron en luz ultravioleta como se muestra en la Ilustración No. 32.



Ilustración No. 32 Compuestos A y B aislados y revelado en luz UV a 365 nm y 302 nm.

Cada una de las muestras presenta una cantidad muy pequeña de muestra, por lo que, se consolida la técnica de espectroscopia UV-Vis como la única viable para identificar mediante los

máximos de absorción los flavonoides en aras de realizar comparaciones en publicaciones científicas.

6.3 Espectroscopia UV- Vis

Las muestras aisladas presentan un comportamiento bastante similar al de los flavonoides, ahora se presenta cada uno de los espectros UV-Vis obtenidos de las muestras con el fin de identificar mediante comparaciones la presencia de flavonoides en el material vegetal de la especie *Eupodium pittieri*. Se empleó el equipo Espectrofotómetro UV-Vis Perkin Elmer Lambda 35 con software UV WinLab para la determinación de la longitud de onda máxima en la absorbancia de los compuestos A y B, aislados haciendo un barrido de 1100 nm hasta los 190 nm (Ilustración No. 33 y No.34).

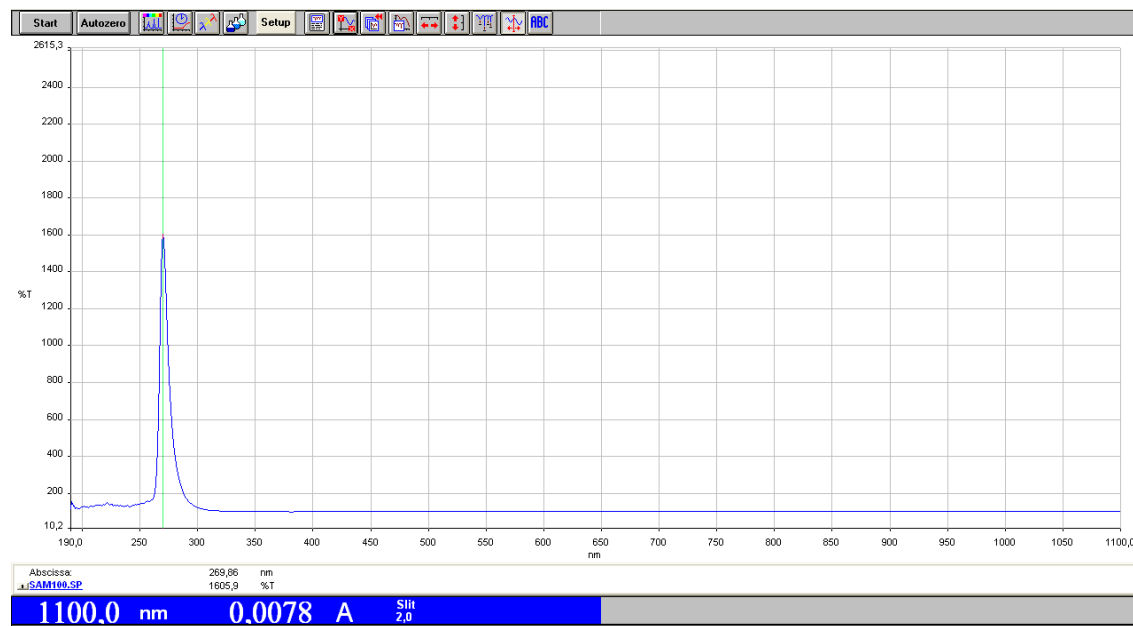


Ilustración No. 33 Espectroscopia de la muestra A. Software UV WinLab.

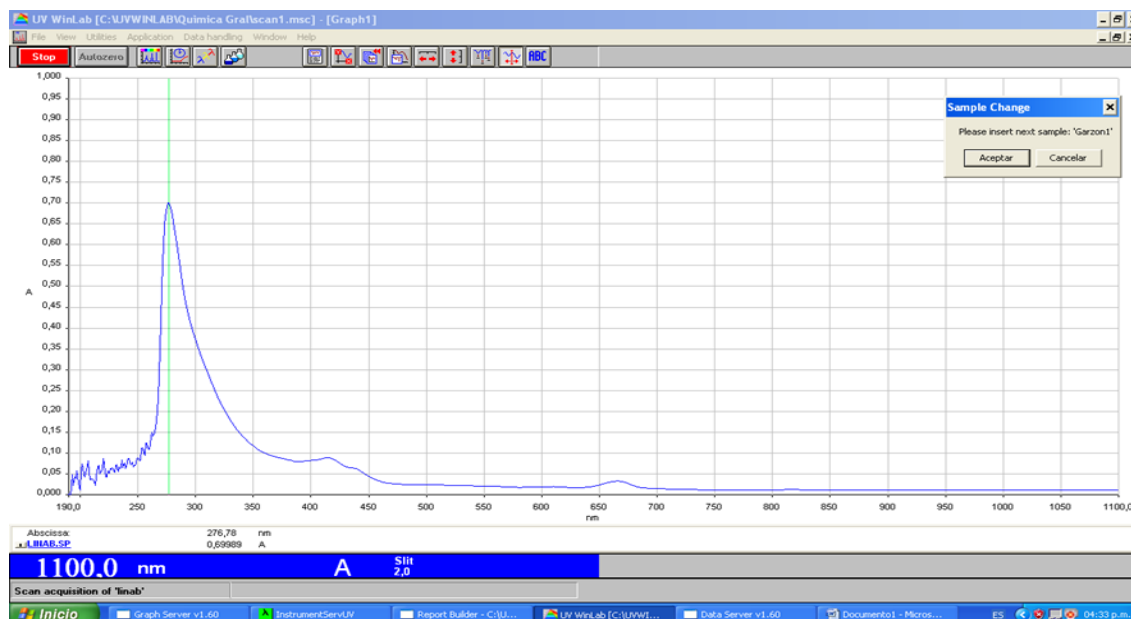


Ilustración No. 34 Espectroscopia de la muestra B. Software UV WinLab.

A partir de los espectros obtenidos de las muestras, además de los resultados de análisis previos permite consolidar los máximos de absorción para las muestras encontrando que la muestra A presenta una $\lambda_{m\acute{a}x} = 269,86$. Asimismo, La muestra B presenta tres máximos de absorción $\lambda_{m\acute{a}x} = 276,78$; el segundo presenta una $\lambda = 410$ por último una $\lambda = 670$, respectivamente.

7. Análisis de Resultados

En el aislamiento e identificación de flavonoides, la prueba de Shinoda y de Cloruro férrico, son pruebas cualitativas que permitieron el reconocimiento que en la estructura base contienen un núcleo benzopirona. Donde en soluciones acuosas o alcohólicas –como nuestro caso, se torna de un color rojizo, indicando la presencia de flavonoides (Colina Ramos, 2016, pág. 24).

Las técnicas de separación como la cromatografía de columna, capa fina y fina preparativa ha obtenido una creciente difusión, la cual representa una de las herramientas más empleadas en los laboratorios analíticos modernos. Estas técnicas de separación han sido empleadas satisfactoriamente para el aislamiento de compuestos de origen natural.

Los compuestos A y B presentaron coloraciones azul y violeta/rosado frente a luz por cámara Uv Vis, respectivamente; estos compuestos logran la separación con la fase móvil butanol: hexano: tolueno (1:1:2) con gran eficiencia en placa cromatográfica (10 x 20 cm). Las coloraciones y las condiciones presentadas son similares a las reportadas por Flores de Macedo, 2013 citado en Bravo Sánchez y Acuña Calle (2015) donde se “atribuye la coloración a la existencia de posibles flavanonas y flavonas sin 5-OH libre, responsables de los tonos celestes y azul fluorescente” (pág. 66), (luz visible y revelado al UV, respectivamente); también se obtuvo la “presencia de flavonoles con un 3-OH libre y con 5-OH libre representarían la coloración roja fluorescente al UV y amarillo opaco a la Luz visible” (Bravo Sánchez & Acuña Calle, 2015, pág. 66).

Asimismo, la identificación empleado la espectroscopia UV-Vis fue determinante en la verificación de los flavonoides en la muestra B, esto gracias al comportamiento con esta energía electromagnética puesto que muchos de los flavonoides, especialmente flavonas y flavanonas,

exhiben 2 bandas de absorción; se observa la presencia de la banda 1 representativa del anillo A de estos compuestos que aparece en un rango de los 650 a 700 nm, y la banda II correspondiente al anillo B entre los 400 y 450 nm (Andersen & Markham, 2006) (Mabry, Markham, & Thomas, 1969) citado en (Martínez García, 2014).

Igualmente, como lo menciona Martínez García (2014) “la intensidad presentada de los máximos de absorción ofrece información respecto a las estructuras y los patrones de oxidación de los sistemas aromáticos de las fracciones A y B” (pág. 79). En ese sentido, los compuestos con dichas conjugaciones como las flavonas y flavononas presentan un mayor grado de oxigenación en su anillo aromático. Mostrando así una banda de absorción mucho más intensa en la II y considerablemente más débil en la banda I, comportamiento muy similar a lo observado en el espectro de absorción para el compuesto presente en la muestra B (Martínez García, 2014, pág. 79).

Por lo anterior, se expone la presencia de otro tipo de metabolito secundario presente en la muestra A, puesto que los patrones presentados a las conjugaciones aromáticas presentadas para los flavonoides no exhiben características estructurales similares. De acuerdo a la longitud de onda máxima de 269,86 nm se asemeja a la posibilidad de haber aislado otro tipo de flavonoides o un alcaloide (Morales León, Arias Cedeño, Torres Rodríguez, Alarcón Zayas, & Sariego Tamayo, 2017).

8. Conclusiones

Los resultados de la estrategia metodológica propuesta, cumple con los objetivos propuestos respecto al aislamiento e identificación de flavonoides del material de la especie vegetal de estudio, empleando ensayos cualitativos preliminares y cromatografía, además del uso de la técnica de espectroscopia de ultravioleta visible UV-Vis, se logró la verificación del compuesto B como posible presencia de flavonoides en el helecho *Eupodium pittieri*, se infiere la posible presencia de flavanonas y/o flavonas con las siguientes características: sin 5-OH libre y flavonoles con un 3-OH libre y con/sin 5-OH libre así como los hidroxilos fenólicos y los sistemas aromáticos, responsables de atribuir la coloración rosada observada en la cámara UV a 365 nm datos corroborados a través de los máximos de absorción en el espectrograma UV-Vis.

La presencia del compuesto en la especie vegetal es un aspecto fundamental en cuanto a las propiedades antioxidantes que presentan, además, con relación al potencial atribuido popularmente sobre la utilización en el crecimiento del vello facial, se puede inferir que la presencia de radicales libres deterioran, como se ha mencionado, por diferentes mecanismos los folículos pilosos se encuentran en la epidermis por lo que, la presencia de flavonoides en esta especie posiblemente sea la que permita prevenir una de las causas que inhibe el crecimiento del vello facial.

Vale la pena mencionar que gracias a la actividad de investigación realizada en el curso de fitoquímica, se logró conocer las diferentes herramientas, técnicas y métodos dedicados al análisis de procesos analíticos de productos farmacéuticos, biomoleculares, polímeros y muchos compuestos orgánicos que permitirán a futuro el desarrollo de nuevas propuestas que favorezcan el reconocimiento del potencial biológico que presenta la flora de nuestra región.

9. Bibliografía

- Andersen, Ø., & Markham, K. (2006). *Flavonoids Chemistry, Biochemistry and Applications*. CRC Press.
- Bermúdez, A., Oliveria Miranda, M., & Velázquez, D. (2005). La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: Una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. *INCI*, 30(8), 453- 459.
- Bravo Sánchez, A., & Acuña Calle, W. (2015). Evaluación fitoquímica y determinación de flavonoides en hojas de *Ficus benjamina* L. *Xilema*, 28, 61- 67.
- Carreño Hidalgo, P. (2016). *La etnobotánica y su importancia como herramienta para la articulación entre conocimientos ancestrales y científicos. Análisis de los estudios sobre las plantas medicinales usadas por las diferentes comunidades del Valle de Sibundoy, Alto Putumayo*. Bogotá: Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Facultad de Ciencias y Educación.
- Cartaya, O., & Reynaldo, I. (2001). Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivos tropicales*, 22(2), 5-14.
- Colina Ramos, A. (2016). *Análisis fitoquímico, determinación cualitativa y cuantitativa de flavonoides y taninos, actividad antioxidante, antimicrobiana de las hojas de "Muehlenbeckia hastulata (J.E.Sm) I.M. Johnst" de la zona de Yucay (Cusco)*. Lima-Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Química e Ingeniería Química.
- Dominguez, X. (1973). *Métodos de investigación fitoquímica*. México: Limusa.
- Escalante, A., Valdivia, A., & Gosset, G. (2009). *Ingeniería de vías metabólicas en Escherichia coli PTS- para la obtención de cepas sobreproductoras de shikimate*. México. : Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis. Instituto de Biotecnología. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Guzman Loayza, D. (2013). *Guía de prácticas de Química Forestal*. Perú: Universidad Nacional Agraria La Molina. Facultad de Ciencias Forestales. Dpto. Industrias Forestales. La Molina.
- Hocman, G. (1988). Chemoprevention of cancer: Phenolic antioxidants (BHT, BHA). *International Journal of Biochemistry*, 20, 639- 651.
- Mabry, T., Markham, K., & Thomas, M. (1969). *The systematic identification of flavonoids*. New York Inc. USA: Springer- Verlag.
- Martínez Flórez, S., González Gallego, J., Culebras, J., & Tuñón, M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*, 17(6), 271-278.

- Martínez García, C. (2014). *Identificación de flavonoides con actividad antioxidante presentes en Alchornea coelophylla*. Pereira: Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnología.
- Martino, V. (2000). Los flavonoides como promisorios agentes preventivos y terapéuticos. *Acta farmacéutica bonaerense*, 19(4), 303- 308.
- Medina Arnaldi, M. (2012). *Flavonoides aislados de propóleos chilenos y bioactividad*. Chile: Universidad Austral de Chile- Facultad de Ciencias.
- Morales León, J., Arias Cedeño, Q., Torres Rodríguez, E., Alarcón Zayas, A., & Sariego Tamayo, O. (2016). Actividad antibacteriana de fracciones obtenidas de las hojas de *Cassia uniflora* frente a *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. *Cubana de Química*, 29(3), 444-455.
- Procházkova, D., Bousova, I., & Wilhelmova, N. (2011). Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*, 82, 513- 523.
- Tenorio Domínguez, M. (2016). Flavonoides extraídos de la cascara de naranja tangelo (*Citrus reticulata* x *Citrus paradisi*) y su aplicación como antioxidante natural en el aceite vegetal sachá inchi (*Plukenetia volubilis*). *Scientia Agropecuaria*, 7(4), 419- 431.

Anexo No.5. *Proyecto de investigación elaborado por los estudiantes del grupo saponinas*



Facultad de Educación
Licenciatura en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología

Tamizaje fitoquímico preliminar e identificación de saponinas en el helecho
Eupodium pittieri.

Presentan

Paula Andrea Castrillón Rodríguez
Ivon Paola Correa Ferreira
Daniel Felipe Trujillo Bahamón

A los Investigadores Principales

Ana María Mora López
Aldemar Morales Loaiza
Yilber Alexis Valderrama Córdoba

Neiva- Huila, Colombia

Agosto, 2019

1. Introducción

En el presente informe de investigación, los autores presentan lo desarrollado durante el desarrollo de la experiencia investigativa sobre la identificación y aislamiento de saponinas presentes en la especie vegetal *Eupodium pittieri*, en ese sentido, se presenta un apartado en donde se plantea la perspectiva por la cual yace el interés por este tipo de metabolitos secundarios, así como el desarrollo de algunos objetivos para lograr su identificación y aislamiento.

Por su parte, se presenta una metodología propuesta a seguir, por la que se hace la extracción preliminar, realización de pruebas cualitativas para su identificación, así como el procedimiento a seguir por medio de técnicas cromatográficas para su aislamiento y algunas técnicas espectroscópicas para el reconocimiento de la naturaleza de estos compuestos químicos.

Por último, se incluye un apartado de resultados y discusión, en donde se ilustra lo obtenido en laboratorio a lo largo de la experiencia, así como la contrastación por medio de soportes teóricos que permitan validar lo encontrado por los autores de la presente propuesta; se finaliza el documento con unas conclusiones preliminares que den razón de lo hallado, así como aspectos inherentes de la realización del trabajo en la formación como licenciados en ciencias naturales.

2. Objetivos

2.1 Objetivo General

- Determinar algunas técnicas adecuadas para el aislamiento de saponinas presentes en el teridofito *Eupodium pittieri*.

2.2 Objetivos Específicos

- Identificar la presencia de saponinas a través de pruebas cualitativas para su identificación preliminar.
- Emplear cromatografía en capa fina y cromatografía en columna para la purificación de algunos compuestos presentes en el extracto del helecho *Eupodium pittieri*.
- Identificar por espectroscopía Uv-Vis la presencia de saponinas en la muestra del helecho *Eupodium pittieri*.

3. Problema de Investigación

Las saponinas son un grupo de metabolitos secundarios que constituyen una gran familia de compuesto; De acuerdo a lo planteado por Heng 2006 citado (Bonilla, Carbajal, Gonzales, Vásquez, & López, 2019, pág. 40) las saponinas estructuralmente son “constituidos por un anillo terpenoide o esteroideal, conocidos como agliconas o sapogeninas, sustituidos por oligosacáridos a través de enlaces glucosídicos que les confieren un carácter anfifílico”. Estos metabolitos, también son denominados heterósidos saponínicos, tienen gran importancia biológica e industrial, ya que en la industria son empleados como excelentes emulsionantes y algunos de ellos se utilizan para la elaboración de detergentes como el jabón. Por otra parte, las saponinas al ser metabolitos secundarios tienen gran interés farmacológico, por su acción terapéutica por tanto “tienen un amplio rango de actividades biológicas, tales como su acción antimicótica, antiviral, antineoplástica, hipocolesterolémica, hipoglicemiante, antitrombótica, diurética, antiinflamatoria, y molusquicidad” (Chang Huerta, Carbonell, & Morales León, 2013, pág. 14); por lo tanto, teniendo en cuenta lo anterior, surge el interés de estudiar estos tipos de metabolitos secundarios, además de que estos se pueden encontrar en gran variedad de plantas, así es como surge el interés de estos metabolitos y su posible presencia en el helecho *Eupodium pittieri*, siendo esta especie la muestra vegetal de estudio para el aislamiento e identificación de los metabolitos de interés; por consiguiente surge la siguiente pregunta de investigación: *¿Cuál es la técnica más adecuada para el aislamiento e identificación de saponinas del teridofito Eupodium pittieri?*

4. Marco Teórico

4.1 Generalidades de Saponinas

Las saponinas, hacen parte de la gran variedad de metabolitos secundarios producidos por las plantas; de acuerdo a lo planteado por Woldemichael y Wink, 2011, citado en (Corilla Flores, 2017, pág. 12) estos compuestos “deben su nombre a esa característica distintiva hacia la formación de espuma, por lo que probablemente su nombre proviene de la planta Saponaria, cuyas raíces se han usado históricamente para formar jabón”. Por su parte, Mejía (2019) afirma que este tipo de metabolitos puede ejercer una amplia actividad biológica y farmacológica, en donde estudios recientes afirman que se destaca el efecto insecticida, anti-inflamatorio, broncolítico, hipo-colesterolémico, entre otros.

Dentro de la naturaleza química de las saponinas, Ahumada, Ortega , Chito y Benítez (2016) mencionan que “estos compuestos se encuentran estructuralmente constituidos por un anillo terpenoide o esteroideal, los cuales son conocidos como agliconas o sapogeninas, sustituidos por oligosacáridos a través de enlaces glucosídicos que les confieren un carácter anfifílico”, tal como se evidencia en la Ilustración No. 35, por su parte Heng et al., (2006) afirman que de acuerdo con el número de sustituciones que presente la estructura, se pueden encontrar agliconas mono, di o triglicosiladas.

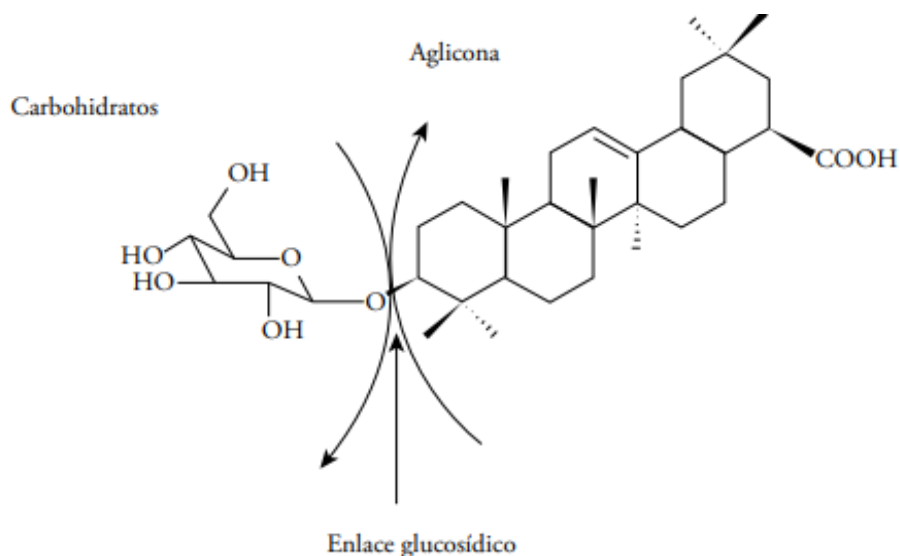


Ilustración No. 35 Estructura general de las saponinas donde se indica el enlace glucosídico entre la aglicona y un glucósido. Tomado de Ahumada, Ortega , Chito y Benítez (2016)

4.2 Pruebas Cualitativas para Saponinas.

Las pruebas cualitativas son uno de los primeros pasos para determinar de manera preliminar la presencia o ausencia de un tipo de metabolito secundario particular en una muestra determinada, en ese sentido Dominguez (1973) afirma que las saponinas y sapogeninas insaturadas o con presencia de varios hidroxilos generan complejos coloreados con varios reactivos ácidos, de manera similar a los esteroides, las saponinas son sensibles a pruebas como Liebermann-Burchard, Salkowski, Cloruro de tionilo y Tricloruro de antimonio, por su parte, las saponinas dan una reacción positiva a pruebas para carbohidratos como la de Molisch (presencia de anillo violeta) o Antrona (Anillo azul - verdoso).

4.3 Técnicas Cromatográficas

Dentro de este aspecto, Dominguez (1973) afirma que, dado el carácter polar, las saponinas resultan en metabolitos adecuados para el empleo de estas técnicas analíticas, el empleo de cromatografía en capa fina se recomienda el empleo de gel de sílice empleando como fase móvil

mezclas de butanol: ácido acético: agua (4:1:1), por lo que como agentes reveladores es común el empleo de vapores de yodo, ácido sulfúrico y otros.

4.4 Espectros de Absorción de Saponinas

Tal como se evidenció en la ilustración No. 35., las saponinas presentan carencia de grupos cromóforos conjugados, por lo que como afirma Dominguez (1973) estos compuestos usualmente no absorben en el ultravioleta, aunque las saponinas que presentan insaturaciones en su estructura dan una señal entre 205-210 nm y se puede encontrar aumento en la intensidad de las señales conforme aumentan el número de radicales alquilo unidos al doble enlace.

5. Metodología

5.1 Extracción de Saponinas

La muestra de material vegetal *Eupodium pittieri* fue adquirida en horas de la mañana en el municipio de Acevedo- Huila donde además fue secada a la sombra. Una vez realizado el proceso de secado fue pulverizado todo el material vegetal dejando este con pedazos de 5 a 10 mm, seguido al horno a 45 °C durante 10 horas por los directores de investigación.

Una vez terminado el proceso de secado y pulverizado se procedió con la identificación de metabolitos secundarios, en este caso las saponinas. Por esta razón, para extraer el tipo de metabolito seleccionado se masearon 5.0 g de muestra llevándose a un tubo de ensayo donde se añadieron 6.0 mL de etanol al 75.0 %. Dejando hervir por 15 minutos, pasado este tiempo se filtró el extracto etanólico con el fin de realizar las pruebas de identificación de saponinas las cuales fueron dos: la primera, la prueba de Lieberman- Buchard y la segunda la prueba de Salkowski. A continuación, se presenta la metodología para realizar cada una de estas pruebas.

5.2 Prueba de Lieberman- Buchard.

Para esta prueba se toma una pequeña cantidad del extracto etanólico de *Eupodium pittieri*, luego se añadió 2.0 mL de anhídrido acético, 2.0 mL de cloroformo y se enfrió a 0 °C con ayuda de una cubeta con hielo. Finalizado el proceso de enfriamiento, se añadió 2 gotas de ácido sulfúrico (H₂SO₄). Al momento de agregar estas dos gotas, si en la muestra se presenta una aparición de una coloración azulada que pasa anaranjado para luego volverse verde, indica una reacción positiva para la presencia de saponinas.

5.3 Prueba de Salkowski.

Se toma una pequeña cantidad del extracto, se añadió 2.0 mL de cloroformo y 2.0 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4). De acuerdo al fundamento de esta prueba, si se presenta una coloración anaranjada, se indica una reacción positiva para saponinas.

Las pruebas anteriormente mencionadas, se ejecutaron con el fin de identificar de manera preliminar la presencia de saponinas en el material vegetal. De esta manera, se continuó con el proceso de separación cromatográfica, por lo que se realizó la extracción de las saponinas presentes en la muestra a través de la cromatografía en columna la cual es una técnica de separación que permite el posterior aislamiento del compuesto de interés.

Terminada la separación, cada fracción obtenida se procede a desarrollar en placas cromatográficas y revelado con una cámara de luz ultravioleta, la cual tiene como finalidad identificar la fase móvil adecuada para hacer la cromatografía en capa fina preparativa para el aislamiento del compuesto de interés.

Con relación a lo anterior, finalmente el compuesto purificado se dispuso a una técnica de identificación estructural empleando un espectrómetro de UV-Vis para la identificación de las saponinas en el material vegetal, para esto se tomó una pequeña muestra producto de la cromatografía en capa fina preparativa al equipo de espectroscopia ultravioleta donde se determinó mediante semejanzas espectrales la presencia del compuesto de interés.

Por lo descrito anteriormente, los autores del presente informe sintetizan la metodología a desarrollar por medio de un diagrama de flujo, tal como se ilustra en la Ilustración No.36.

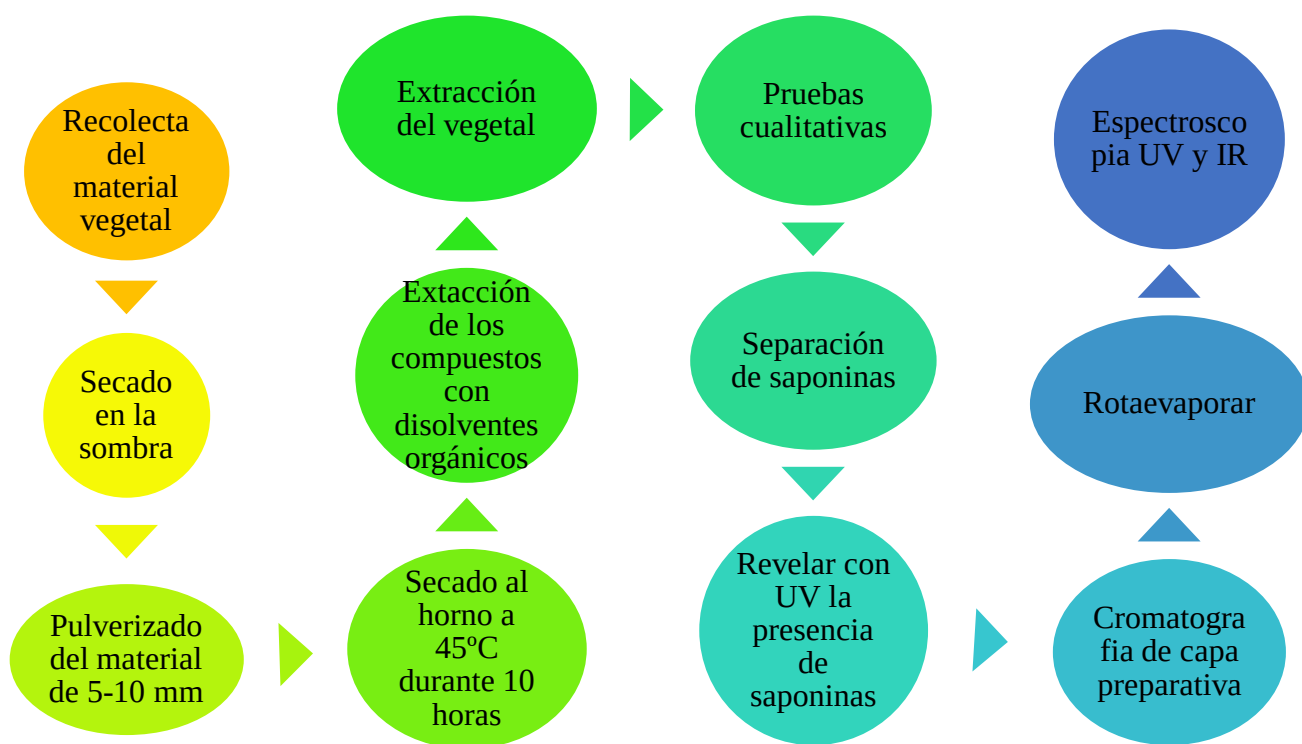


Ilustración No. 36 Diagrama de flujo de la metodología a desarrollar. Esquema realizado por los autores.

6. Resultados y Discusión

En el presente apartado se incluyen los resultados obtenidos durante el desarrollo de la experiencia de investigación, de igual manera, se incluye la discusión de los mismos contrastando con soportes teóricos que permitan validar lo encontrado.

6.1 Obtención del Extracto

De manera inicial, por medio de la realización de la disolución de acetona con 5 gramos de la muestra seca (*Eupodium pittieri*), se realizó el respectivo rotaevaporado y filtrado del material vegetal, de manera que se logró la obtención del extracto vegetal en forma de pasta viscosa presentando una coloración verdosa, tal como se evidencia en la Ilustración No. 37



Ilustración No. 37 Izq) Filtrado del material vegetal. Der) Extracto vegetal posterior a rotaevaporado. Fotos tomadas por los autores.

6.2 Identificación Preliminar de Saponinas

Posterior a la obtención del extracto vegetal, la realización de las dos pruebas cualitativas seleccionadas para la detección de saponinas en la muestra vegetal, consistió en la prueba de Lieberman- Burchard y la prueba de Salkowski, descritas con más detalle en la metodología. Los resultados de la realización de dichas pruebas se presentan en la Tabla No. 31.

Tabla No. 31 Resultados obtenidos por medio de las pruebas de identificación preliminar de saponinas.

Prueba	Reactivos Empleados	Indicador	Resultado Obtenido
Liebermann-Burchard	Extracto vegetal Anhídrido acético Cloroformo Ácido Sulfúrico	Coloración naranja luego verde	
Salkowski	Extracto vegetal Cloroformo Ácido sulfúrico	Coloración naranja	

Los resultados obtenidos previamente concuerdan con lo plasmado por algunos autores de manera teórica, dado que la prueba de Lieberman-Burchard se emplea para la identificación de saponinas, pero también es una de las pruebas más empleadas para esteroides, dado que (Cook, 1961) menciona que cualquier esteroide o triterpenoide con presencia de insaturaciones, pueden dar positivos con esta reacción por medio de la formación de complejos coloreados rosa, violeta, azul o verde, tal como menciona (Foy Valencia, Mac Donald, Cuyos, & Dueñas, 2005). Este último menciona que la Prueba de Salkowski se considera positiva cuando hay un cambio de coloración hacia el amarillo - naranja o el rojo; lo que indica la presencia de esteroides insaturados que permiten la formación de un complejo o un anillo de color rojo.

6.3 Aislamiento de Saponinas por Técnicas Cromatográficas

Por su parte, fue indispensable el reconocimiento de los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto vegetal de estudio, de manera que se procedió al seguimiento de las saponinas por medio de técnicas cromatográficas, de manera que se realizó una cromatografía en columna y una cromatografía en capa fina, tal como se evidencia en la Ilustración No. 38., para poder así, obtener las muestras que contienen el metabolito secundario en cuestión. Las muestras recopiladas a lo largo del aislamiento y las cuales presentaron mayor prospección se evidencian en la ilustración No.38, estas fueron llevadas a una nueva rota evaporación para dejarlas preparadas para análisis espectroscópico.



Ilustración No. 38 Izq) Cromatografía en columna. Der) Cromatografía en placa preparativa. Fotos tomadas por los autores.

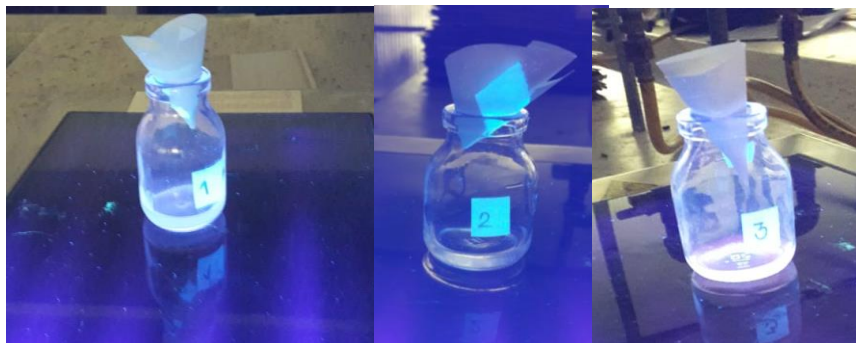


Ilustración No. 39 Identificación de muestras aisladas mediante cámara UV- Vis

6.4 Identificación por Espectroscopia Uv-Vis

Para la obtención de los espectros de las muestras seleccionadas, se utilizó un espectrofotómetro Uv-Vis Perkin Elmer Lambda 35, el cual se encontró a disposición en el laboratorio de Química de la Universidad Surcolombiana, por lo que por medio del software Uv-Winlab se logró la identificación de los espectros de las tres muestras seleccionadas, tal como se evidencia en las siguientes ilustraciones.

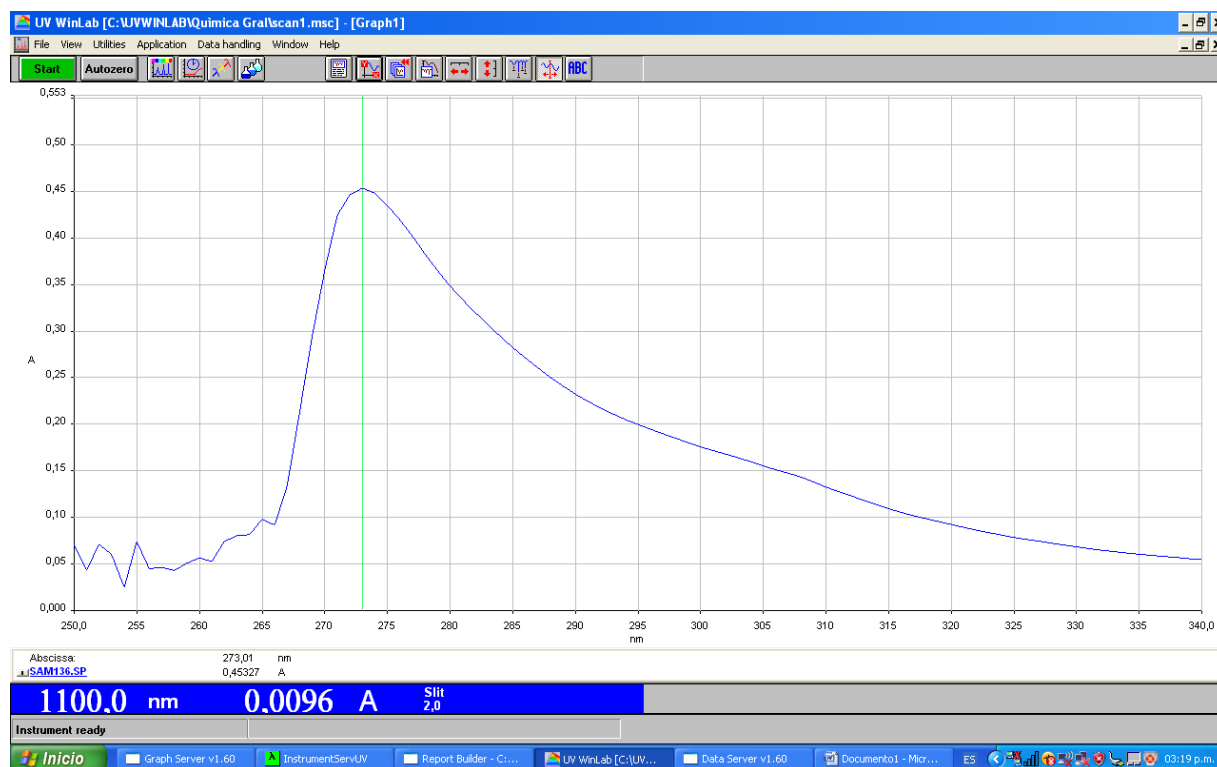


Ilustración No. 40 Espectro de la muestra uno. Máxima absorbancia en 273,01 nm.

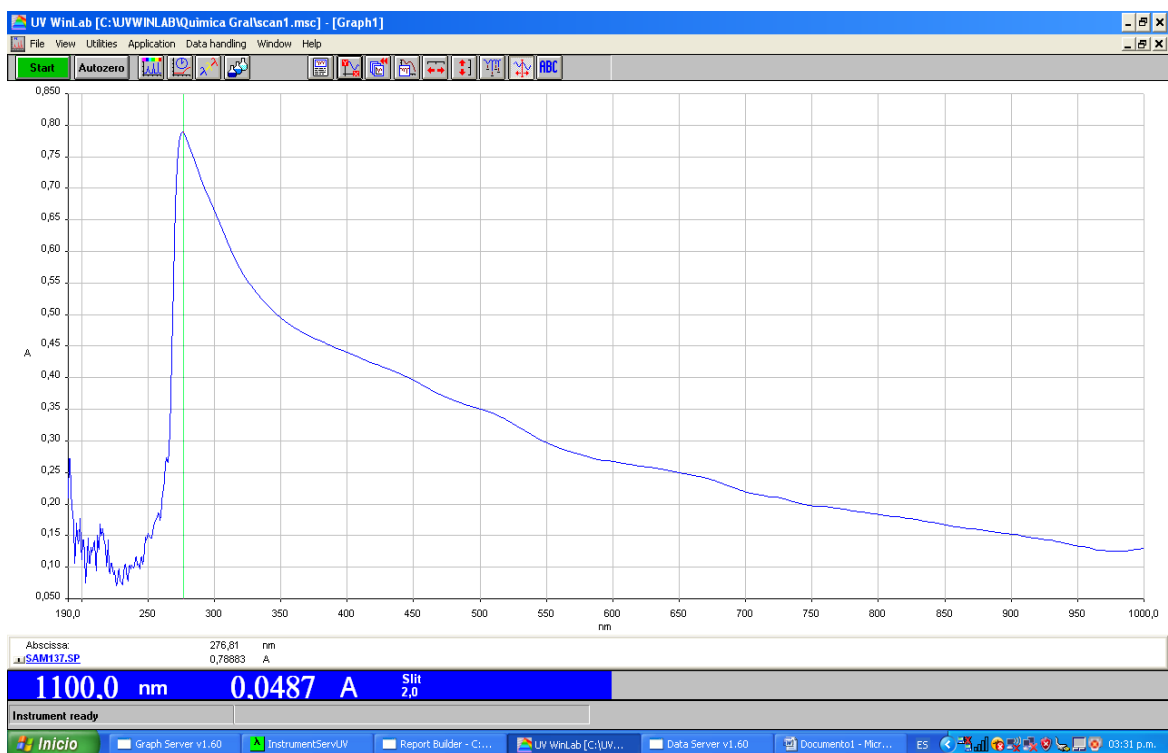


Ilustración No. 41 Espectro Uv-Vis de la muestra dos. Máxima absorbancia en 278,91 nm.

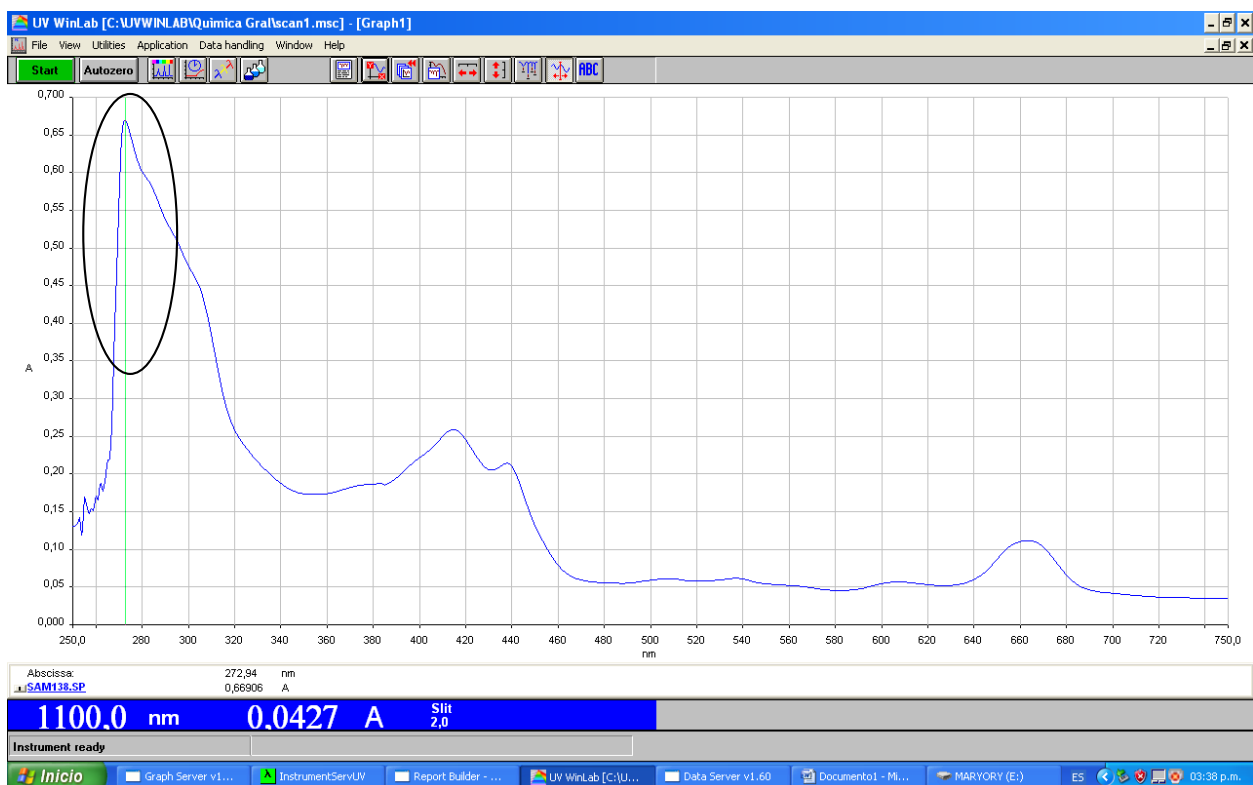


Ilustración No. 42 Espectros Uv-Vis de la muestra tres. Máxima Absorbancia en 272,94 nm.

Respecto a las longitudes de onda de máxima absorbancia, se encontró por medio del espectro obtenido en la ilustración No. 40, que para la muestra No. 1 se halló en 273,01 nm; por su parte, por medio de la Ilustración No.41, para la muestra No. 2 se encontró una longitud de onda de máxima absorbancia de 278,91 nm, y, por último, por medio de la ilustración No.42, en la muestra No. 3, se halló una longitud de onda de 272,94 nm correspondiente a la máxima absorbancia para dicha muestra.

Por lo anterior, se encontró que las longitudes de onda de las tres muestras seleccionadas oscilan entre los 273,01 nm para la muestra No. 1 hasta los 278,91 nm de la muestra No. 2., contrastando con lo planteado por Dominguez (1973) las longitudes de onda encontradas no coinciden con las planteadas para saponinas insaturadas, en donde usualmente generan señales entre los 205-210 nm. Dado que se encontraron señales de absorbancia, es válido afirmar que los compuestos presentes en las tres muestras seleccionadas presentan insaturaciones, de lo contrario no se hubiera obtenido señal alguna en esta región del espectro electromagnético.

De otro modo, se puede afirmar que las pruebas cualitativas empleadas también se aplican para esteroides, tal como afirma Dominguez (1973) es posible que las longitudes de onda encontradas sean de compuestos afines a esta clase de metabolitos. De otra manera, se hace necesario el empleo de otras técnicas espectroscópicas para determinar la naturaleza de los compuestos aislados en las tres muestras, haciendo uso del espectro IR o RMN, sin embargo, dada la capacidad del instrumental con los que se cuenta, no es posible por el momento hacer dicho análisis.

7. Conclusiones

Por medio de las pruebas cualitativas de Liebermann-Burchard y Salkowski, se logró comprobar la posible presencia de saponinas presentes en el helecho *Eupodium pittieri*, dado que se logró encontrar la respectiva formación de los complejos coloreados que indican la presencia de estos compuestos en la muestra del extracto vegetal obtenido.

Por medio de la espectroscopia Uv-Vis se logró comprobar las diversas longitudes de onda de máxima absorbancia, encontrando un rango entre 273,01 nm a los 278,91 nm, los cuales por medio de la contrastación teórica no coinciden con la presencia de saponinas con insaturaciones, dado que estas son las que poseen grupos cromóforos que absorben en esta región del espectro, por ello se hace necesario en el futuro un análisis por medio de otras técnicas que permitan validar la naturaleza de los compuestos aislados.

Mediante el presente estudio se logró fomentar las distintas técnicas fitoquímicas para la extracción e identificación de metabolitos secundarios, que para el presente estudio fueron saponinas, estas son fundamentales para el desarrollo de nuestra formación como Licenciados en Ciencias Naturales, lo que muy seguramente permitirá en el futuro el desarrollo de nuevas investigaciones y la inclusión de estas metodologías en la labor como futuros docentes.

8. Referencias

- Ahumada, A., Ortega, A., Chito, D., & Benítez, R. (2016). Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* willd.): un subproducto con alto potencial biológico. *Colombiana de Ciencias, Químico- Farmacéutica*, 45(3), 438- 469.
- Bonilla, H., Carbajal, Y., Gonzales, M., Vásquez, V., & López, A. (2019). Determinación de la actividad insecticida de la saponina de la quinua (*Chenopodium quinoa*) en larvas de *Drosophila melanogaster*. *Scientia Agropecuaria*, 10(1), 39- 45.
- Chang Huerta, L., Carbonell, Y., & Morales León, J. (2013). Composición fitoquímica de los tallos y hojas de la especie *Solanum nigrum* L. que crece en Cuba. *Cubana de Plantas Medicinales*, 18(1), 10-16.
- Cook, R. (1961). Reactions of steroids with acetic anhydride and sulphuric acid (the liebermann-Burchard test). *Analyst*, 86(1023), 373-381.
- Corilla Flores, D. (2017). *Eficacia de un desinfectante biodegradable a base de residuos de naranja y quinua en el control del crecimiento de Escherichia coli y Staphylococcus aureus*. . Perú: Universidad Nacional del Centro del Perú.
- Dominguez, X. (1973). *Métodos de investigación fitoquímica*. México: Limusa.
- Foy Valencia, E., Mac Donald, D., Cuyos, M., & Dueñas, R. (2005). Extracción, identificación y evaluación de saponinas en *Agaricus bisporus*. *Biotempo*, 5, 31- 36.
- Heng, L., Vincken, J., Hoppe, K., Koningsveld, G., Decroos, K., Gruppen, H., . . . Voragen, A. (2006). Stability of pea DDMP saponin and the mechanism of its decomposition. *Food Chemistry*, 99(2), 326- 334.
- Mejía, J. (2019). *Actividad biológica de la planta Tigridia vanhouttei*. México: Universidad de las Américas Puebla.

Anexo No. 6. *Proyecto de investigación elaborado por los estudiantes del grupo Alcaloides*



Facultad de Educación

Licenciatura en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología

Estrategias Metodológicas para la Identificación de Alcaloides de la especie vegetal *Eupodium pittieri* en la Universidad Surcolombiana

Presentan

Edwin Arrigui Torres

María Camila Barreto

Juan David Loaiza

Maira Alejandra Parra

A los investigadores principales

Ana María Mora López

Aldemar Morales Loaiza

Yilber Alexis Valderrama Córdoba

Neiva, Colombia

Agosto de 2019.

1. Planteamiento del Problema

Los alcaloides son los metabolitos secundarios más abundantes en especies animales y vegetales, y así mismo, contribuyen a diferentes funciones en quienes los procesan para beneficio propio, la complejidad de sus estructuras hace posible su multifuncionalidad y por esto, pueden ser utilizados como analgésicos, anestésicos, curativos o psicotrópicos (Palacios Palacios, 2013), aunque, estos actúan sobre el sistema nervioso central, alterando el orden en este, relajando o exaltando las funciones, por ello, algunos poseen un gran poder adictivo, como la cocaína que es extraída de las hojas de coca qué, con anterioridad fue utilizada como anestésico, pero al causar adicción en los pacientes fue descontinuada de la medicina, aunque actualmente es sintetizada de manera ilegal para dopamiento.

Estas adicciones son mal utilizadas por el ser humano, por lo que se dedica básicamente a hacer dinero a costa de estos ignorando el daño que ofrece al prójimo en vez de aprovechar el potencial médico de algunos alcaloides y reemplazar el tiempo invertido en la extracción de algunos metabolitos secundarios dañinos para el Sistema Nervioso Central – SNC, con la purificación de otros con propiedades medicinales demostrables, esto es importante para la sociedad, ya que la medicina y la farmacología son de las ciencias que más influyen en ello. Se deduce, que una planta puede obtener estos metabolitos dependiendo del potencial biológico que tenga; este es posible debido al estrés ambiental u otros factores que influyan en el comportamiento de las especies para generar estos metabolitos, ya sea por conocimiento empírico o científico. Se conoce como conocimiento empírico a la forma en como las personas sin algún estudio en específico aprenden naturalmente por ensayo y error, contrario al conocimiento científico que va desde la consulta del tema hasta los ensayos biológicos. De esta forma los habitantes del municipio de Acevedo - Huila empíricamente han revelado un mito que

asegura que las frondes de cierta especie de helecho contribuyen al crecimiento del vello facial, siendo este el potencial biológico demostrado, de esta manera, producto de análisis en el grupo de investigación surge la pregunta: ¿Qué estrategias metodológicas pueden utilizarse para la identificación de alcaloides en la planta *Eupodium pittieri*?

2. Objetivos.

2.1 Objetivo General

- Determinar la estrategia metodológica para la identificación de alcaloides en la especie vegetal *Eupodium pittieri*.

2.2 Objetivos Específicos

- Reconocer las diferentes estrategias metodológicas para la identificación cualitativa de alcaloides.
- Diseñar una ruta metodológica para la extracción de alcaloides.

3. Marco Teórico

Los seres vivos, y en especial las plantas, producen metabolitos secundarios los cuales son sintetizados por diferentes rutas metabólicas, estos compuestos de origen natural se originan con el fin de cumplir una función en el organismo aparentemente no vital, pero necesaria para muchos procesos en el ciclo vegetal, es de esta manera que la naturaleza sorprende a quienes se dedican a estudiarla, ya que la generación de estos compuestos poseen diversas particularidades bastante distintivas, para el presente caso, vale la pena resaltar la naturaleza de los alcaloides, los cuales son sustancias producidas por la ruta del ácido shikímico, que según Soto Vasquez (2013) “El ácido shikímico es reconocido como el compuesto punto de partida para un vasto número de sustancias naturales y es un metabolito universal de las plantas superiores y de muchas clases de animales no mamíferos” (pág. 20). Este precursor es necesario para la biosíntesis de los alcaloides, quienes a su vez se reconocen estructuralmente por tener la presencia de Nitrógeno en su estructura química.

De manera general, es necesario reconocer el interés histórico por este grupo de metabolitos secundarios, y es que su historia proviene desde tiempos inmemoriales, donde los aborígenes empleaban los extractos de algunas plantas para defensa de las tribus, medicina o encuentros con sus dioses ancestrales. De acuerdo a lo planteado en la página Vanguardia (2018) “Las civilizaciones antiguas emplearon los extractos de plantas (de raíces, cortezas, hojas, flores, frutillas o semillas) de la misma manera que en la actualidad se utilizan los fármacos”; por ello, desde el fundamento de la medicina fue menester apropiarse de los efectos que causaba cada uno de estos y, cuál era el motivo de su propiedad, allí se aislaron los primeros alcaloides obtenidos de diferentes vegetales, como la morfina aislada de la amapola o la curarina que proviene del

curare. Actualmente, los alcaloides son utilizados en diferentes ámbitos medicinales y culturales, en especial en las drogas actuales como la cocaína y el LSD.

Respecto a las propiedades que posee este tipo de metabolitos secundarios, según Alfaro y Murillo (2010) de manera medicinal se encuentran asociados a propiedades antitumorales, anticancerígenas y preventivas a múltiples enfermedades. Algunos alcaloides conocidos como la escopolamina según Alfaro y Murillo (2010) “se utiliza en pequeñas dosis para el tratamiento de náuseas, mareos, colitis y vómitos”, de manera que es ampliamente utilizada en farmacología y medicina debido a sus efectos sobre el sistema nervioso parasimpático, ya que este “induciendo a la dilatación de las pupilas, la contracción de los vasos sanguíneos, reduciendo las secreciones salivales y estomacales” (Alfaro & Murillo, 2010). Por su parte la cocaína, es un alcaloide que se encuentra en varias especies de solanáceas, como: “la mandrágora, el beleño negro, la belladona y el estramonio; aunque se extrae principalmente de la planta de coca, que pertenece a la familia Eritroxiláceas” (Alfaro & Murillo, 2010). Por otro lado, este autor citando a (Willenborg, 2001) resalta que “hace miles de años esta planta fue considerada sagrada, gracias a sus virtudes; además, sus hojas fueron utilizadas para alimentar, curar y superar el agotamiento”. Ahora bien, es importante destacar que “la cocaína es un estimulante que funciona mediante la modulación de la dopamina al cerebro. Esta sustancia causa efectos inmediatos y a largo plazo gracias a sus propiedades analgésicas y anestésicas” (Alfaro & Murillo, 2010); por eso, desde tiempos antiguos fue aprovechada, incluso en niños, en cirugías de ojos y nariz, pero actualmente es prohibido. Finalmente, otro tipo de alcaloide es la nicotina, de acuerdo a lo planteado por Alfaro y Murillo (2010) “es un alcaloide que se produce en altas cantidades en la planta de tabaco... Su función es actuar como defensa ante los herbívoros, siendo una excelente neurotóxica, en particular contra los insectos, de ahí su utilidad como insecticida”.

Con relación al efecto toxicológico, Palacios Palacios (2013) afirma que “los alcaloides son sustancias que suelen tener actividad farmacológica incluso a dosis muy bajas. Muchos de ellos son sustancias muy tóxicas, por lo que se deben extremar las precauciones cuando se empleen en terapéutica” (pág. 16), como la quimiotaxonomía, en donde se aprecia que las estructuras químicas de los alcaloides son diferentes y a raíz de esto, sus aplicaciones de igual manera son distintas.

Entre los alcaloides que tienen efectos estimulantes del Sistema Nervioso Central (SNC) se destaca según Martínez Lirola, Molero y González Tejero (1997) citado en (Palacios Palacios, 2013) “la cafeína, estricnina como la *Camelia sinensis L.* por la presencia en el a de alcaloides tales como teína, teofilina y teobromina”, Por otro lado, estos mismos autores resaltan los efectos estimulantes del SNV simpático (efedrina), inhibidores del SNV simpático (yohimbina), estimulantes del SNV parasimpático (pilocarpina, eserina), entre otros.

Para la identificación de alcaloides Palacios Palacios (2013), pág. 157, menciona que las pruebas que se utilizan con mayor frecuencia son los reactivos de Mayer, Dragendorff, Wagner, ya que las técnicas de reconocimiento están basadas según Rios Herrera (2012) “la capacidad que tienen los alcaloides en estado de sal (extractos ácidos), de combinarse con el yodo y metales pesados como bismuto, mercurio, tungsteno formando precipitados; estos ensayos preliminares se pueden realizar en el laboratorio o en el campo” (pág. 11). Los reactivos más utilizados para determinar la presencia de alcaloides son: “la solución de yodo-yoduro de potasio (Reactivo de Wagner), mercurio tetrayoduro de potasio (reactivo de Mayer), tetrayodo bismuto de potasio (reactivo de Dragendorff)” (Rios Herrera, 2012).

4. Metodología

Inicialmente, se hace la respectiva colecta del material vegetal. Luego, se hace un ligero lavado de la planta en caso de poseer sustrato adherido a las raíces o tallo se deja secar sobre una lámina de cartón a la sombra libre de humedad, durante un tiempo estimado de 24 a 72 horas hasta determinar que el material vegetal se encuentre deshidratado. El material vegetal seco se pulveriza con un tamaño de partícula de 2 mm a 5 mm, se deposita este material en bolsas de papel periódico previamente elaboradas. Seguidamente, se introduce las bolsas en un horno de secado a una temperatura de 40 °C durante 16 horas, donde se monitorea el peso cada 4 horas hasta obtener un peso constante. Cabe destacar que el proceso anterior fue elaborado por los directores de investigación que coordinan este proyecto.

Luego, se inicia el maceramiento exhaustivo con los disolventes orgánicos en orden de polaridad creciente de la siguiente manera: se inicia con el desengrase de 200 g de material vegetal con 1.5 L de n-Hexano, se tapa y posteriormente se agita el frasco vigorosamente cada día. Luego de 3 días, esta solución (material vegetal + disolvente) se filtra con ayuda de un embudo de vidrio y papel filtro Whattman N° 2. la abertura del frasco es tapada para este proceso con gasa (doble si es necesario) ajustada con un caucho para evitar la caída desmesurada del material sobre la filtración. El filtrado debe ser sometido a rotaevaporación a una temperatura no más de 45 °C con 40-50 rpm, permitiendo obtener la pasta o bien llamado extracto.

Cada extracto obtenido debe ser rotulado y conservado en un lugar fresco o en su defecto en nevera de la siguiente manera: Mencionando la fecha de obtención, tipo de extracto y material empleado y grupo de laboratorio.

Para la identificación de los alcaloides se disponen a hacerse 3 pruebas cualitativas en las cuales se explican a continuación con la preparación del reactivo.

4.1 Dragendorff.

Se preparan dos soluciones la primera consiste en disolver 0.85 g de nitrato de bismuto (BiNO_3) en una mezcla de 10.0 mL de ácido acético glacial y 40.0 mL de agua destilada; la segunda solución consiste en disolver 8.0 g de yoduro de potasio en 20.0 mL de agua destilada. Posteriormente, la solución final se prepara tomando 5.0 mL de la primera, 4.0 mL de la segunda y 100.0 mL de agua destilada. *Este reactivo permanece estable por un año*. La prueba consiste en tomar en un tubo de ensayo 2.0 mg de extracto en Etanol o una pequeña muestra en una placa de porcelana, se agregan 3 gotas del reactivo. La presencia de precipitados de color: rojo, naranja o marrón indica positivo para la presencia de alcaloides.

4.2 Mayer.

El reactivo se prepara tomando 0.1355 g de Cloruro de Mercurio y 2.5 g de Yoduro de Potasio en agua. La solución es aforada a 50 mL con agua destilada, un precipitado blanco o amarillo pardo indicaría la presencia de alcaloides.

4.3 Wagner.

El reactivo se prepara tomando 1.27 g de yodo sublimado, 2.0 g de yoduro de potasio disueltos en 20.0 mL de agua destilada, se afora a 100.0 mL con agua destilada. La prueba consiste en tomar y disolver en un tubo de ensayo 1.0 mg de extracto en 3.0 mL de reactivo, se añade 2 gotas de HCl 10%. Si, se presenta un precipitado floculante de color marrón la prueba es positiva.

A partir del conocimiento de la actividad y las pruebas cualitativas, se obtiene una prospección de la funcionalidad biológica con relación a los compuestos químicos identificados, con ello se realiza una cromatografía como capa fina o capa fina preparativa, la cual según Castellano (2016) se utiliza para “el análisis cualitativo de los productos de una reacción, puesto

que permite conocer de manera rápida y sencilla cuántos componentes hay en una mezcla” su fundamento físico consiste de la separación de los componentes distribuidos en dos fases una estacionaria y una móvil (dirección definida). Su fundamento químico es que dicha separación se da por absorción selectiva en donde produce manchas en los diferentes medios absorbentes. Por ello se tiene en cuenta la tabla de polaridad de disolventes, tal como se evidencia en la Tabla No.

32

Tabla No. 32 Polaridad de disolventes. Tomado de (Jestval, 2012)

Cienytech
Ciencia y Tecnología

Miscibilidades entre disolventes

Índice de polaridad	Disolvente	Viscosidad cP, 20°C	Punto de ebullición °C (1 atm)	Número de miscibilidad (M)	Corte (nm) Lambda
-0.3	N-decano	0.92	174.1	29	
-0.4	Iso-octano	0.50	99.2	29	210
0.0	N-hexano	0.313	68.7	29	
0.0	Ciclohexano	0.98	80.7	28	210
1.7	Éter butílico	0.70	142.2	26	
1.8	Trietilamina	0.38	89.5	26	
2.2	Éter isopropílico	0.33	68.3		210
2.3	Tolueno	0.59	100.6	23	285
2.4	P-xileno	0.70	138.0	24	290
3.0	Benceno	0.65	80.1	21	280
3.3	Éter bencílico	5.33	288.3		
3.4	Cloruro de metileno	0.44	39.8	20	245
3.7	Cloruro de etileno	0.79	83.5	20	
3.9	Alcohol butílico	3.00	117.7		
3.9	Butanol	3.01	177.7	15	
4.2	Tetrahidrofurano	0.55	66.0	17	220
4.3	Acetato de etilo	0.47	77.1	19	260
4.3	1-propanol	2.30	97.2	15	210
4.3	2-propanol	2.35	117.7	15	
4.4	Acetato de metilo	0.45	56.3	15, 17	260
4.5	Metilacetona	0.43	80.0	17	330
4.5	Ciclohexanona	2.24	155.7	28	210
4.5	Nitrobenzeno	2.03	210.8	14, 20	
4.6	Benzonitrilo	1.22	191.1	15, 19	
4.8	Dioxano	1.54	101.3	17	220
5.2	Etanol	1.20	78.3	14	210
5.3	Piridina	0.94	115.3	16	305
5.3	Nitroetano	0.68	114.0		
5.4	Acetona	0.32	56.3	15, 17	330
5.5	Alcohol bencílico	5.80	205.5	13	
5.7	Metoxietanol	1.72	124.6	13	
6.2	Acetonitrilo	0.37	81.6	11, 17	190
6.2	Ácido acético	1.26	117.9	14	
6.4	Dimetilformamida	0.90	153.0	12	
6.5	Dimetilsulfóxido	2.24	189.0	9	
6.6	Metanol	0.60	64.7	12	210
7.3	Formamida	3.76	210.5	3	
9.0	Agua	1.00	100.0		

Se utiliza como revelador los vapores de yodo ya que es el procedimientos más usado y recomendado para el uso en documentos y soportes de papel, ya que tiene la ventaja de no manchar ni dañar el soporte donde se localizan las impresiones en la identificación de alcaloides;

su principal desventaja es que desaparecen rápidamente las impresiones, por lo cual se deben fijar fotográficamente en forma casi inmediata, existiendo la opción de repetir la técnica varias veces (capril, 2015). Para el uso de estos vapores de yodo se debe calentar en un beaker tapado y de ahí se capturan estos vapores para la posterior identificación.

Luego, procede el aislamiento de los compuestos raspando las manchas más puras donde se agregan a un vial con un papel filtro con el fin de separar la sílice del compuesto se agrega cloroformo hasta se solubilice dentro del vial y la sílice pura en el papel filtro.

Por último, para la identificación estructural se realiza la espectroscopia UV-visible, que según Cromtek (2015) esta se utiliza con el fin de:

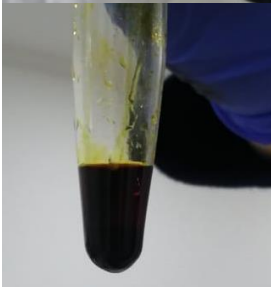
Identificar algunos grupos funcionales de moléculas, y para determinar el contenido y fuerza de una sustancia. Se utiliza de manera general para determinación cuantitativa de los componentes de soluciones de iones de metales de transición y compuestos orgánicos altamente conjugados.

Posterior a ello, se realiza el análisis de las bandas de absorción, dado que los alcaloides aparecen con un máximo de absorción entre 200 y 273 nm, en caso de ser una sola banda de absorción.

5. Resultados.

En la Tabla No.33 se muestran los resultados del análisis fitoquímico preliminar cualitativo de acuerdo a cada uno de los reactivos utilizados para la determinación de alcaloides en la muestra.

Tabla No. 33 Resultados pruebas cualitativas

Reactivo	Resultado	Observaciones	Imagen
Mayer	Negativo (---)	Precipitado verde oscuro.	
Wagner	Positivo (+++)	Precipitado marrón	
Dragendorff	Positivo (+++)	Precipitado anarajado – marrón	

Al realizar la cromatografía de placa como prueba preliminar para determinar el eluyente adecuado para la separación de compuestos en el extracto, se pudo apreciar que, al utilizar hexano, cloroformo y acetona, en proporción 1:1:2, se logró la mejor separación de los compuestos presentes en la muestra, de manera que, al exponer la placa a luz UV a diferentes

longitudes onda se logró observar diferentes puntos fluorescentes que representan la muestra, tal como se evidencia en la Ilustración No. 43.

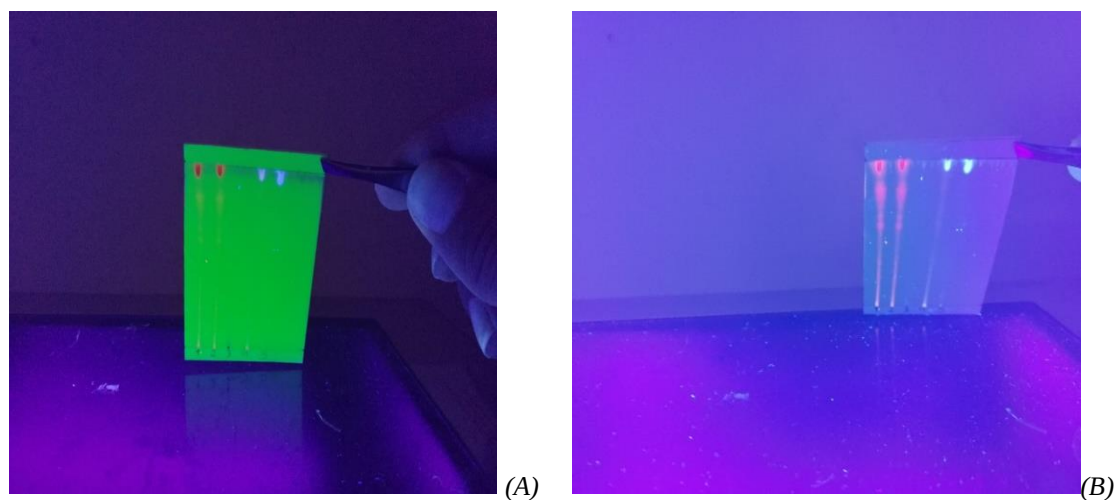


Ilustración No. 43 A) Cromatografía en Capa Fina, revelado cámara UV-Vis a 320 nm. B) Cromatografía en Capa Fina, revelado en cámara Uv-Vis a 360 nm.

Por último, se reveló la placa con yodo, tal como se aprecia en la ilustración No.44, se evidenció una coloración en la marcación 1 – 2 – 3.



Ilustración No. 44 Cromatografía en Capa Fina, revelado con vapor de Yodo resublimado.

Como las manchas que indicaron presencia de alcaloides quedaron muy en la parte superior, se decide cambiar la polaridad de la fase móvil en la CCF utilizando como eluyente hexano, butano y tolueno; se observaron algunas líneas a lo largo de la placa al llevarla a la luz UV, Seguidamente se eligieron dos manchas de la placa cromatográfica, que son las que estaban más aisladas del resto, lo que hace deducir que eran las más purificadas, estas fueron raspadas y pasadas a viales a través de un papel filtro, adicionándoles cloroformo para eliminar el exceso de sílicagel, purificando netamente el extracto alcaloidal. De las dos muestras obtenidas, se procede a realizar el proceso de identificación mediante espectroscopía UV – VIS (ultravioleta – visible), que implica la emisión de fotones en esta región del espectro electromagnético. En este caso, se utilizó un rango de 1100 nm a 190 nm en 1 ciclo; normalmente esta espectrometría puede realizarse hasta 3 ciclos. A continuación, se darán a conocer los resultados de la espectrometría de las 2 muestras correspondientes.

Por medio de la Ilustración No. 45, se relaciona en (A) la placa de Cromatografía de Capa Preparativa que peritió aislar los compuestos, y en (B) se aprecia el espectro obtenido por medio del espectrofotómetro, indicando unos picos de máxima absorbancia de la muestra presente en 276 nm, 413 nm, y 666 nm.

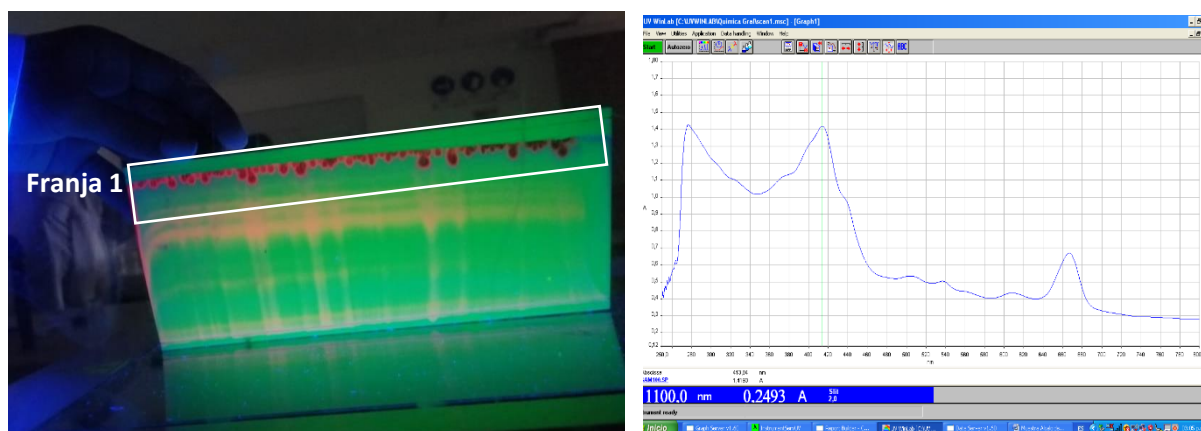
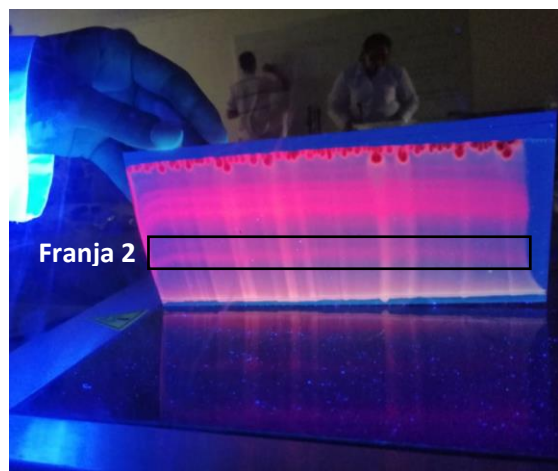
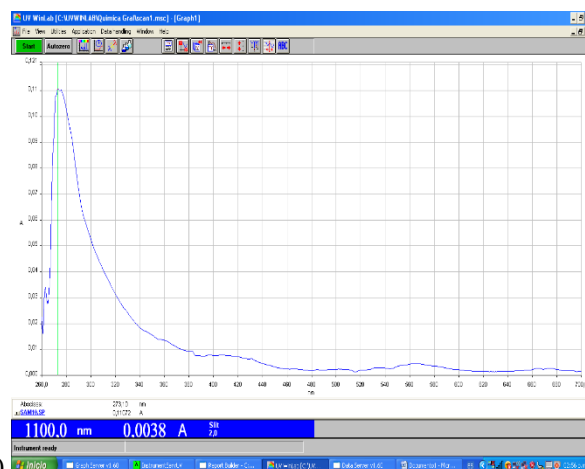


Ilustración No. 45 A) Cromatografía en Placa Preparativa, revelado en cámara UV a 302 nm. B) Espectrograma de la muestra indicando picos de máxima absorbancia a 276 nm, 413 nm y 666 nm.

Por medio de la Ilustración No. 46., se aprecia la segunda banda de importancia en la cromatografía en capa preparativa, la cual se aisló y se llevó a espectroscopía UV-Vis, obteniendo un pico de máxima absorbancia en 273,10 nm.



(A)



(B)

Ilustración No. 46 A) Cromatografía en Placa Preparativa, revelado en cámara UV a 365 nm. B) Espectrograma de la muestra indicando picos de máxima absorbancia a 273 nm.

6. Análisis de Resultados

Por medio de los resultados obtenidos en la tabla No. 33, producto de la realización de las pruebas cualitativas, se logró verificar que, algunos de los reactivos empleados permiten la identificación de alcaloides en general, y otros que detectan grupos de alcaloides con una estructura determinada común y así como específicos para un alcaloide concreto, por lo que se identificó positivo para alcaloide en dos pruebas (Wagner y Dragendorff) y negativo en una (Mayer), dado que tal como afirma Palacios Palacios (2013) esta identificación se basa generalmente en la combinación de alcaloides con metales, que para el caso del Reactivo de Mayer (mercuriyoduro potásico), teóricamente reacciona generando un precipitado blanco, o amarillo claro que es una sal compleja, se obtuvo una reacción negativa, ya que se obtuvo un color verde oscuro; respecto a la prueba con Reactivo de Wagner (yodo-yoduro de potasio) se consideró positiva la reacción del extracto con el compuesto generando un color marrón; y por último el reactivo de Dragendorff (yodobismuto potásico) que relativamente daría un color naranja, dando un resultado positivo dada la formación del respectivo complejo coloreado. Estas reacciones son posibles ya que según Chávez Gonzales y Gutiérrez Condori (2013) “las técnicas de reconocimiento son basadas en la capacidad que tienen los alcaloides en estado de sal (extractos ácidos), de combinarse con el yodo y metales pesados como bismuto, mercurio, tungsteno formando precipitados”; estos ensayos preliminares se pueden realizar en el laboratorio o en el campo. Debido a la similitud estructural a otros metabolitos secundarios se hacen varias pruebas cualitativas para obtener mayor seguridad en la muestra de los posibles alcaloides presentes en el extracto vegetal.

Posteriormente, al ser posible el hallazgo de alcaloides en dicho extracto, tal y como lo afirma Castañeda Gómez, Morales y Valderrama (2018) “Se logró identificar la variedad de

metabolitos secundarios presentes en *E. pittieri*, mediante las distintas pruebas cualitativas. Por lo tanto, alcaloides, terpenos, flavonoides, esteroides, cumarinas y azúcares reductores dieron positivo en los extractos de esta pteridofita”. Es por ello que se procedió a purificar los diferentes componentes presentes en la muestra a través de técnicas cromatográficas, en específico una cromatografía en capa fina, tal como se evidenció en la Ilustración No. 43, la selección adecuada de solventes junto a su proporción permitió ver un número mayor de manchas en la cromatopla, ya que tal como afirma Abbott y Andrews (1970) en la cromatografía en capa fina, el grado de elución de las sustancias depende tanto de su propia polaridad como de la polaridad del eluyente utilizado. Frente a la cámara de luz ultravioleta fue posible la apreciación de colores fucsias, que dan el aseguramiento aún mayor del encuentro de alcaloides en esta especie, como se ve en la siguiente imagen de un aislamiento de Efedrina y otros metabolitos de distintas especies vegetales. Las placas presentadas en la Ilustración No. 47, pertenecen a Rodríguez Pava, Zarate Sanabria y Sánchez Leal (2017).

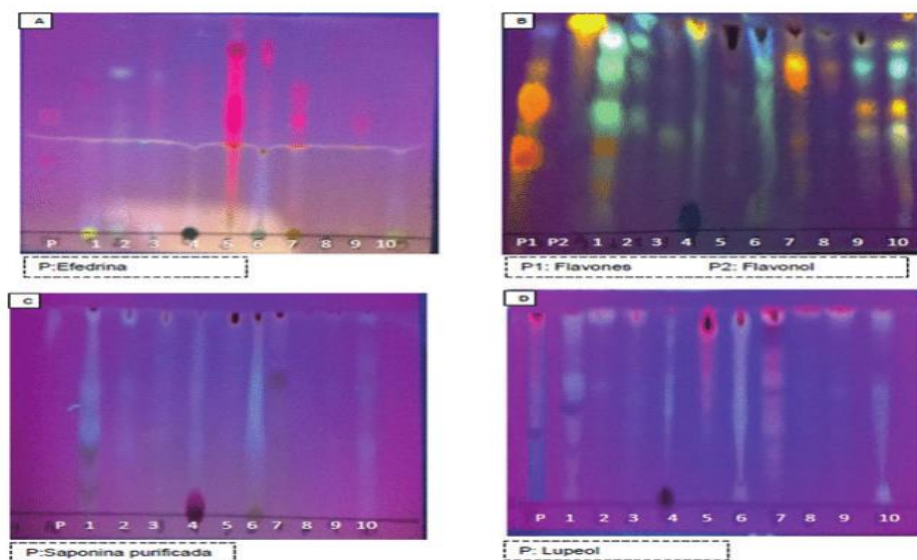


Ilustración No. 47 Capas cromatográficas en cámara de luz ultravioleta. Tomado de (Rodríguez Pava, Zarate Sanabria, & Sánchez Leal, 2017, pág. 123)

Luego, al observar el comportamiento de estos compuestos en el espectrómetro UV-VIS fue posible observar los diferentes máximos de absorción que poseen las dos muestras extraídas de la placa cromatográfica (Ilustraciones No. 45 y 46). Observando los resultados obtenidos en la espectroscopía UV-VIS de cada una de las muestras y teniendo en cuenta a Morales León, Arias Cedeño, Torres Rodríguez, Alarcón Zayas y Sariego Tamayo (2017) donde menciona que “En el espectro UV de F4 aparecen 13 máximos de absorción con distintos valores de absorbancia, por tanto, puede ser una mezcla de varios compuestos” (pág. 449).

Por otro lado, Morales et al., (2017) plantea que en el espectro están delimitadas 2 áreas de absorción, una entre 196 y 422 nm con 4 picos principales ubicados de la zona de absorción de los flavonoides; y la otra entre 522 y 850 nm, con un pico de absorción intenso a 666 nm.

Considerando el resultado del tamizaje fitoquímico, esta señal pudiera corresponder a una cumarina muy conjugada Morales et al., (2017) pues presenta un corrimiento batocrómico que puede estar relacionado con efectos combinados de dobles enlaces adicionales, sustituyentes como el $-NH_2$, efectos del solvente y condensación.

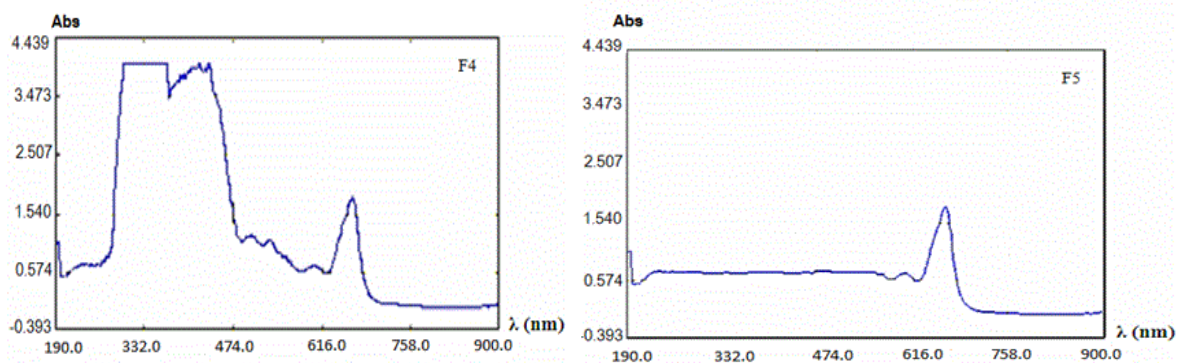


Ilustración No. 48 Espectros UV de las fracciones antibacterianas. Tomado de (Morales León, Arias Cedeño, Torres Rodríguez, Alarcón Zayas, & Sariego Tamayo, 2017, pág. 450)

De esta forma se puede deducir que la muestra 1 es una mezcla de varios compuestos debido a que aparecen tres máximos de absorbancia en el espectro UV-VIS. Asimismo, la

muestra 2 es un posible alcaloide, comparando el comportamiento del posible alcaloide encontrado en esta muestra con la imagen del alcaloide aislado de *Lupinus ballianus* por (Fuentes, Roque, & Tristan, 1997).

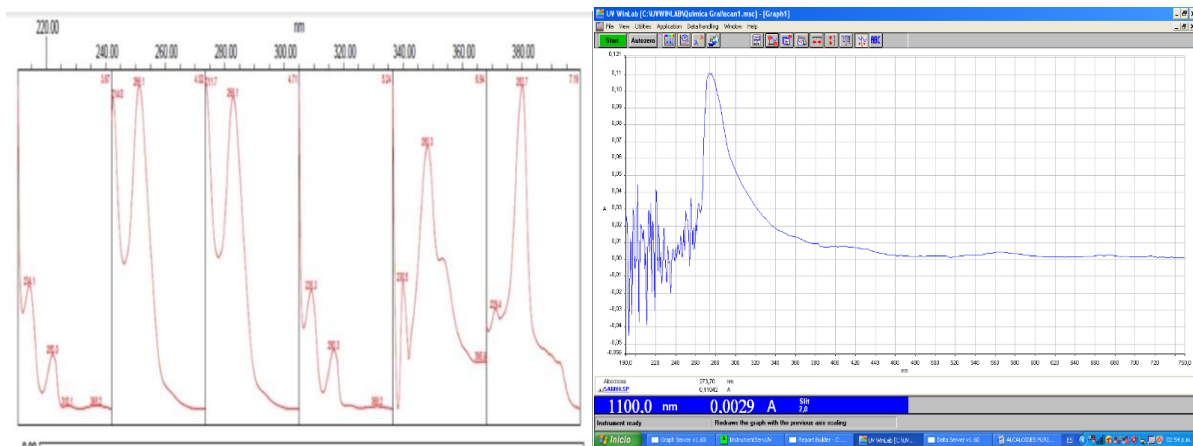


Ilustración No. 49 A) Alcaloide aislado de *Lupinus ballianus*, tomado de Fuentes. 1997. B) Espectro de posible alcaloide presente en *Eupodium pittieri*.

7. Conclusiones.

Se logró verificar que por medio de las pruebas cualitativas se puede lograr la identificación preliminar de alcaloides, pero no permiten determinar la naturaleza química del alcaloide ya que se necesitan métodos más específicos, por lo tanto, solo se puede determinar si existe presencia o no de este metabolito, ya que a partir de este tipo de reacciones, se logró determinar la presencia de alcaloides en el extracto de *Eupodium pittieri*, obteniendo un resultado positivo con el reactivo de Wagner (precipitado café) y Dragendorff (precipitado anaranjado) Los resultados del análisis realizado a la placa cromatografía preparativa se permitieron evidenciar la presencia de alcaloides en la muestra 2 de la misma

Se reconoció que para poder aislar de manera segura alcaloides, se debe utilizar compuestos que tengan poca polaridad en este caso se utilizó hexano, butano y tolueno, ya que, estos compuestos son poco polares y permiten una mejor separación en la placa cromatográfica.

Por medio del desarrollo de la experiencia, se identificó que una parte de las estrategias metodológicas para la identificación de alcaloides se resumen en recolección, pruebas cualitativas, aislamiento por cromatografía e identificación por técnicas espectroscópicas, ya que con ello se confirma la presencia de estos metabolitos secundarios.

Es importante como docentes del área de Ciencias Naturales aprender para compartir este aprendizaje con el alumnado sobre los metabolitos secundarios, ya que, son la parte teóricamente menos fundamental en tanto a funcionalidad en el organismo, pero, observando desde el ámbito de la medicina y la farmacología, estos compuestos y su estructura hacen que el ser humano se interese por el beneficio que traen estos a la vida siempre y cuando se utilicen con sabiduría y por un bien común.

8. Referencias.

- Abbott, D., & Andrews, R. (1970). *Introducción a la Cromatografía*. Madrid: Alhambra.
- Alfaro, S., & Murillo, I. (13 de 12 de 2010). *Alcaloides en Solanáceas*. Obtenido de Usos medicinales de los principales alcaloides presentes en solanáceas: <http://alcaloidesensolanaceas.blogspot.com/2010/12/usos-medicinales-de-los-principales.html>
- Capril, A. (06 de junio de 2015). *Revelador químico gaseoso: vapores de yodo*. Obtenido de Scribd: <https://es.scribd.com/document/260974926/Revelador-Quimico-Gaseoso-Yodo>
- Castañeda Gómez, J., Morales, A., & Valderrama, Y. (2018). Análisis fitoquímico preliminar del helecho *Eupodium pitteri* empleado para el crecimiento del vello facial en Acevedo (Huila) y su evaluación de toxicidad sobre *Artemia Salina*. *Educación y Ciencia*(21), 913- 919.
- Castellano, A. (2 de 11 de 2016). *Cromatografía: Cromatografía en capa fina y en columna*. Obtenido de UB: http://www.ub.edu/oblq/oblq%20castellano/cromatografia_tipus.html
- Chávez Gonzales, L., & Gutiérrez Condori, D. (2013). *Estudio fitoquímico y evaluación de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de Tanacetum vulgare L., "Palma real"*. Lima- Perú: Universidad Wiener.
- Cromtek. (6 de 2 de 2015). *Espectrofotometría UV- VIS*. Obtenido de Ciencias- Analítica- Tecnología: <https://www.cromtek.cl/espectrofotometria-uv-vis/>
- Fuertes, C., Roque, M., & Tristan, M. (1997). Flavonoides y alcaloides de *Lupinus Ballianus* C.P Smith con actividad antibacteriana y antifúngica. *Ciencias e Investigación*, 71- 80.
- Jestval. (29 de diciembre de 2012). *slideshare*. Obtenido de Jestval: <https://es.slideshare.net/jestval/tabla-miscibilidades>
- Martínez Lirola, M., Molero, J., & González Tejero, M. (1997). *Investigaciones etnobotánicas en el Parque Natural de Cabo de Gata- Níjar (Almería)*. España: Almería: Sociedad Almeriense de Historia Natural.
- Morales León, J., Arias Cedeño, Q., Torres Rodríguez, E., Alarcón Zayas, A., & Sariago Tamayo, O. (2017). Actividad antibacteriana de fracciones obtenidas de las hojas de *Cassia uniflora* frente a *Staphylococcus aureus* resistente a la metilicina. *Cubana de Química*, 29(3), 444-455.
- Palacios Palacios, M. (2013). *Texto digital de Farmacognosia y Fitoquímica*. Perú: Universidad Católica "Los Ángeles de Chimbote".
- Rios Herrera, E. (2012). *Determinación de metabolitos secundarios y código de barras de ADN de vitroplantas de Turbinicarpus valdezianus*. México: Universidad Autónoma Agraria.

Rodríguez Pava, C., Zarate Sanabria, A., & Sánchez Leal, L. (2017). Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas frente a patógenos de importancia clínica en Colombia. *NOVA*, 15(27), 119- 129.

Soto Vasquez, M. (12 de 09 de 2013). *Clase de metabolitos secundarios y ruta del ácido shikimico*. Obtenido de Slideshare: <https://es.slideshare.net/maryluz/clase-de-metabolitos-secundarios-y-ruta-de-acido-shikimico-por-qf-maril-roxana-soto-vsquez>

Vanguardia. (09 de 07 de 2018). *Una historia de alcaloides*. Obtenido de <https://vanguardia.com.mx/articulo/una-historia-de-alcaloides>



Facultad de Educación

Licenciatura en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología

**Aislamiento e Identificación de Terpenos y/o Esteroides de la *Vitis tiliifolia*
(Agraz) y de *Eupodium pittieri* (Helecho)**

Presentan

Nehemías Aguirre Ortiz

Michelle Caicedo

Cristian David Camacho Rodríguez

Juan Sebastián Garzón Preciado

Dagoberto Manuel Hernández

A los investigadores principales

Aldemar Morales Loaiza

Ana María Mora López

Yilber Alexis Valderrama

Neiva, Colombia

Agosto de 2019

1. Introducción

El ser humano como parte integral de nuestro planeta y una especie más en ella, ha dependido de la coacción con otras especies naturales para sobrevivir, este tipo de relaciones de uso ha ayudado a crear diferentes actividades como la agricultura, minería y medicina. Es allí donde gracias a la química de las plantas (fitoquímica) y a la obtención de los metabolitos secundarios que son de gran importancia en la industria farmacéutica, debido a sus características beneficiosas en la salud, se ha creado este trabajo para generar aprendizaje sobre el aislamiento e identificación de metabolitos secundarios (Terpenos y/o esteroides) cualitativamente en las especies vegetales *Eupodium Pittieri* y *Vitis Tiliifolia*.

En el presente proyecto se determinarán la presencia de terpenos y esteroides presentes en la *Vitis tiliifolia* (Agraz), y en el helecho *Eupodium Pittieri* mediante pruebas de extracción, determinación de metabolitos secundarios de la planta y su aislamiento e identificación posterior el cual constó de varias etapas metodológicas.

En el presente documento se incluye la etapa de planteamiento de la propuesta investigativa, en donde se definieron aspectos como el marco teórico, problema de investigación junto a la respectiva pregunta problema y objetivos, por medio de lo anterior, se ejecutó la respectiva etapa de muestreo previamente realizada en el municipio de Acevedo de donde se extrajo el helecho; en la etapa de laboratorio se realizó la extracción de los metabolitos, las pruebas cualitativas y su posterior aislamiento e identificación mediante técnicas cromatográficas e identificación por medio de espectroscopia Uv-vis. Realizando de esta manera una ruta metodológica sencilla que permitió evaluar la presencia de estos metabolitos e identificar aspectos relacionados a la naturaleza de los mismos.

2. Planteamiento del Problema

Dentro del campo de la ecología, es importante identificar cualitativamente los metabolitos secundarios que genera una planta para conocer la relación que tiene con el ecosistema, siendo estos compuestos esenciales para algunas funciones específicas en el organismo que las produce, y las cuales también pueden poseer utilidad para el ser humano, y que permite evidenciar la diversidad química de las especies vegetales de nuestra región haciendo uso de la investigación fitoquímica.

Teniendo en cuenta la gran diversidad vegetal desconocida en su mayoría en nuestro departamento y el potencial uso de esta para múltiples sectores humanos incluyendo la farmacología y estética, se plantea en este proyecto evaluar algunos metabolitos secundarios, los terpenos y esteroides, de dos especies vegetales, los cuales hacen parte importante de las plantas en cuestión (el helecho *Eupodium pittieri* y el agraz *Vitis tiliifolia*) esto debido a la poca información científica relacionada con estas dos especies; de esta forma a través del desarrollo de la presente propuesta investigativa se plantea aprender de manera experimental, la identificación cualitativa de metabolitos secundarios presentes en especies vegetales de nuestra región, determinando así la presencia de terpenos y/o esteroides en *Eupodium pittieri* y *Vitis tilifolia*. Con base en las anteriores consideraciones los autores de la presente propuesta formulan la siguiente pregunta de investigación:

¿Qué técnicas experimentales permiten identificar y aislar los terpenos y/o esteroides de *Eupodium pittieri* y *Vitis Tilifolia*?

3. Marco Teórico

La fitoquímica es aquella parte de la química que trata acerca de los productos naturales, los cuales son de origen orgánico e inorgánico y se hallan en la naturaleza, pueden ser aislados o procesados por el hombre, son importantes dado que muchos medicamentos o drogas se han obtenido de ellos. Estos productos como su nombre lo indica provienen de las plantas, las cuales producen dos tipos de metabolitos los primarios (moléculas fundamentales para la vida del organismo) y los metabolitos secundarios (sintetizados a partir de los primarios), estos últimos cumplen una función específica en el organismo que los produce.

Los compuestos químicos sintetizados por las plantas que no son esenciales en ellas, por lo tanto, su ausencia no es letal para el organismo, por lo que según Sepúlveda, Torres, Sandoval, Martínez y Chan (2018) “los metabolitos secundarios tienen diversas funciones relacionadas con las interacciones ecológicas entre la planta y su ambiente” (pág. 81), principalmente se encuentra la defensa de las plantas contra aquellos depredadores, de manera que actúan como atrayentes o repelentes de los animales.

Los metabolitos secundarios han tenido una gran influencia para el aprovechamiento por distintas actividades humanas, es de esta manera que como afirma Gonzalez (2011) “estos compuestos pueden ser utilizados en estudios taxonómicos (quimiosistemática)”, resaltando un ejemplo clásico como las antocianinas y betalainas, dado que estos metabolitos no se ven conjuntamente en una misma especie vegetal, la presencia o ausencia del uno u otro indica la naturaleza química de la especie vegetal en sí. Por otra parte, vale la pena resaltar que los metabolitos secundarios vegetales presentan un gran valor desde el punto de vista social y económico, es por esta razón que la fitoquímica se relaciona con el análisis e identificación de metabolitos y su aplicación en la salud humana.

3.1 Tipos de Metabolitos Secundarios:

Según Milián Domínguez, Iglesias Monroy y Valdés Hernández (2017) *“Los metabolitos secundarios de las plantas pueden ser divididos en 3 grandes grupos, en base a sus orígenes biosintéticos”*. El primer grupo se encuentra Los terpenoides, estos, son derivados del compuesto IPP (Isopentenil difosfato o "5-carbono isopentenil difosfato), los cuales se pueden formar por la vía del ácido mevalónico, de igual manera, se puede mencionar que son un grupo grande de metabolitos con actividad biológica, y se encuentran están distribuidos ampliamente en las plantas con funciones ya sean fisiológicas o con el propósito de formar aceites esenciales. Milián et al., (2017)

El segundo grupo está conformado por los Compuestos Fenólicos como los fenilpropanoides; se conocen más de 8000 compuestos fenólicos los cuales están formados o provienen de la vía del ácido shikímico o de la vía del malonato/acetato Milián et al., (2017). Finalmente, el tercer grupo se encuentran los Compuestos nitrogenados o alcaloides, de los cuales existen alrededor de 12000. Estos se caracterizan por tener uno o más átomos de nitrógeno, y son biosintetizados principalmente a partir de aminoácidos. De acuerdo a lo planteado por Milián et al., (2017) *“Los alcaloides poseen una gran diversidad de estructuras químicas, son fisiológicamente activos en los animales, aún en bajas concentraciones, por lo que son muy usados en medicina. Ejemplos conocidos son la cocaína, la morfina, la atropina...”*, entre otros.

Tomando en cuenta el primer grupo, encontramos los terpenos y esteroides, los primeros según Porter y Spurgeon, (1981) citado en (Palá Paúl, 2002, pág. 28) son llamados también *“isoprenoides o más conocidos como terpenoides o terpenos, son un grupo de productos*

naturales que incluyen todas aquellas sustancias químicas que derivan biosintéticamente del ácido mevalónico (AMV) y que origina el isopentenil pirofosfato”. Por su parte autores como Wallach (1987) citado en (Palá Paúl, 2002) “propuso la clasificación de este grupo de compuestos atendiendo al número de átomos de carbono de estos”, tal como se ilustra por medio de la Tabla No.34. Actualmente esa clasificación es reconocida a nivel mundial y seguida por cuantos trabajan con terpenoides.

Tabla No. 34 Clasificación de terpenos. Tomado de (Wallach , 1987) citado en (Palá Paúl, 2002)

Grupo	No. De átomos de Carbono	No. De unidades de isopreno
Hemiterpenos	5	1
Monoterpenos	10	2
Sesquiterpenos	15	3
Diterpenos	20	4
Sesterpenos	25	5
Triterpenos	30	6
Tetraterpenos	40	8
Politerpenos	5n	n

Dentro de la estructura química de estos compuestos, Palá Paúl (2002) hace referencia que “la unidad estructural básica de los terpenoides es el isopreno, constituido por cinco átomos de carbono” (pág. 30). Su unión sucesiva da lugar a los diferentes tipos de terpenos normalmente conocidos. De esta forma Palá Paúl (2002) rescata que “los compuestos con un sólo isopreno son los hemiterpenos (C5), monoterpenos los de dos (C10), sesquiterpenos los de tres (C15) y así sucesivamente”. De igual forma, se habla de terpenos “regulares” e “irregulares” dependiendo del origen del enlace en el que se procede la formación de los átomos de carbono.

De manera general, Ch y Lock (2001) citado en (Ochoa Amado & Sarmiento Mora, 2018, pág. 21) mencionan que “los triterpenos son terpenos con seis unidades de isopreno, pueden ser tetracíclicos o pentacíclicos con grupos hidroxilo, cetona, aldehído o ácido carboxílico. Por otro lado, es importante destacar la función de los esteroides, ya que según Ege (1998) citado en (Ochoa Amado & Sarmiento Mora, 2018) “Los esteroides son derivados de triterpenos con una

estructura tetracíclica que consta de tres anillos de seis miembros y un anillo de cinco miembros todos fusionados”.

Ahora bien, respecto a los triterpenoides y esteroides, Pergaud y Kuete (2013) citado en (Ochoa Amado & Sarmiento Mora, 2018) afirman que de manera farmacológica estos compuestos “han sido estudiados por su actividad citotóxica, actividad antimicrobiana, anticonceptiva y antiinflamatorios”, es de esta manera que muchas plantas contienen metabolitos secundarios que pueden ser fundamentales para la salud humana por sus características, de ahí que la fitoquímica tenga su campo de acción y empiece a estudiarlas obteniendo estos principios activos con base en una metodología aplicada a la determinada especie vegetal, que para el presente caso son las especies vegetales, la *Vitis tiliifolia* (El agraz, familiar de la uva) y un helecho *Eupodium Pittieri*.

3.2 Descripción de la Especie *Eupodium pittieri*:

Dentro de este aspecto, Méndez y Murillo (2014) mencionan que “es una planta terrestre con rizoma carnoso, erecto; rizoma y base del pecíolo cubiertos con dispersas a abundantes escamas lineares, hasta ca. 7 mm de longitud, margen denticulada” (pág. 132). De igual forma es importante destacar que esta especie presenta hojas dimórficas, pecíolo, con un par de estípulas en la base, de manera elípticas, lámina tripartida... sus esporangios se encuentran fusionados en sinangios abaxiales, elipsoides, pedunculados, dehiscentes en dos valvas; esporangios con dehiscencia longitudinal (Méndez & Murillo, 2014, pág. 132).

Respecto a su distribución, el helecho es una especie neotropical, en Colombia, de acuerdo (Méndez & Murillo, 2014) se encuentra principalmente en la región Andina entre los 1400 y 3000 m de altura, el individuo recolectado fue encontrado en Acevedo Huila.

3.3 Taxonomía

Los aspectos relacionados a este ítem se encuentran consignados en la Tabla No. 35.

Tabla No. 35 Clasificación taxonómica de la especie sometida a estudio *Eupodium pittieri*. Tomado de: Colecciones Científicas del Instituto de Ciencias Naturales (ICN) de la Universidad Nacional de Colombia, por (Hagemann, 2012).

Reino	Plantae
Phylum	Pteridophyta
Clase	Marattiopsida
Orden	Marattiales
Familia	Marattiaceae
Género	Eupodium
Epíteto específico	Pittieri
Autor	(Maxon) Christenh.
Fecha determinación	1 de agosto de 2011

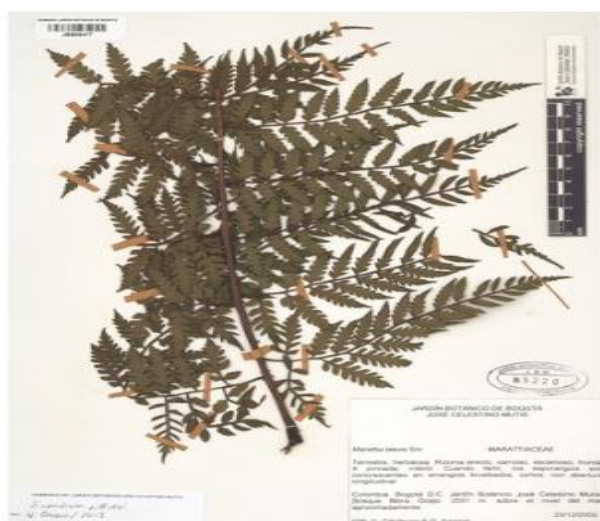


Ilustración No. 50 Hoja y tallo de la especie *E. pittieri*. Tomado de Herbario JBB en línea (2015).

3.4 Descripción de la Especie *Vitis tiliifolia*

El género *Vitis* contiene unas 60 especies de plantas de las que su fruto, la uva, tiene una importancia magnánima desde la Antigüedad (BioEnciclopedia, 2016). El agraz (*Vitis tiliifolia*) es una planta nativa de Colombia que se encuentra entre los 40-1900 m en departamentos como Antioquia, Caquetá, Chocó, Huila, Magdalena, Putumayo y Santander. (Bernal, Galeano, Rodríguez, & Sarmiento, 2011)

Según Chízmar Fernández (2009) “el agraz es una planta nativa que crece en los bosques secos, bosques húmedos a muy húmedos, en elevaciones de 100-1300m”. Se distribuye

geográficamente desde el Sur de México y las Antillas, hasta Colombia; también se puede encontrar frecuentemente en el dosel, en los bordes de los claros, y a lo largo del margen de los lagos y los ríos. Las Flores y frutas se presentan durante todo el año, principalmente durante las estaciones lluviosas secas y tempranas (Croat, 1978).

Vitis tiliifolia, es utilizado en los países donde se encuentra básicamente para el aprovechamiento de su fruto, y según el país y región recibe diferentes denominaciones, en el caso de nuestro país recibe el nombre de Agraz en departamentos como Chocó y Huila, y otros como uva de monte, uva cimarrona, uva de playa, uva silvestre, parra de monte, fuente y bejuco de agua (Bernal, Galeano, Rodríguez, & Sarmiento, 2011). La planta posee dos usos principales uno a nivel alimenticio y otro medicinal. La morfología de la especie vegetal se evidencia en la Ilustración No. 51.



Ilustración No. 51 Detalle de la planta (hojas y tallo) (A) y fruto inmaduro (B) de Vitis tiliifolia. Tomado de (Naturalist, s.f.)

4. Objetivos

4.1 Objetivo General

- Aislar e Identificar algunos terpenos y/o esteroides de la especie *Eupodium pittieri* y *Vitis tiliifolia*.

4.2 Objetivos Específicos

- Evaluar la presencia de terpenos y esteroides de las especies vegetales *Vitis tiliifolia* y *Eupodium pittieri* utilizando pruebas cualitativas
- Aislar los metabolitos y purificarlos mediante las técnicas de cromatografía en capa fina.
- Identificar los metabolitos aislados por medio de espectroscopía ultravioleta

5. Metodología

5.1 Muestreo y Preparación del material

El material vegetal (Fruto en el caso del agraz y frondes en el caso del helecho) se colectaron en dos localidades diferentes en horas de la mañana, la primera en la Reserva de la cuenca del Rio Las Ceibas en Neiva y la segunda en la vereda Copalito, finca La Esperanza del Municipio de Acevedo, ambos en el departamento del Huila, para ello se contó con asesoría de la profesora Hilda Dueñas, directora del herbario SURCO de la Universidad Surcolombiana, se identificó la especie; para la obtención del extracto del agraz se eligieron frutos sanos sin ningún daño aparente y para el helecho frondes jóvenes.

5.2 Secado, Macerado y Extracción de los Metabolitos

Una vez colectado el material (Fruto y frondes según el caso), se maceró, se filtró y posteriormente se guardó en beakers (Ilustración No. 52), luego se realizó la obtención del extracto por medio de solventes orgánicos (hexano, cloroformo, butanol y metanol) de acuerdo con el orden de polaridad (Ilustración No. 53). Posteriormente, el disolvente orgánico se removió mediante rotaevaporación, tal como se evidencia por medio de la Ilustración No. 54.

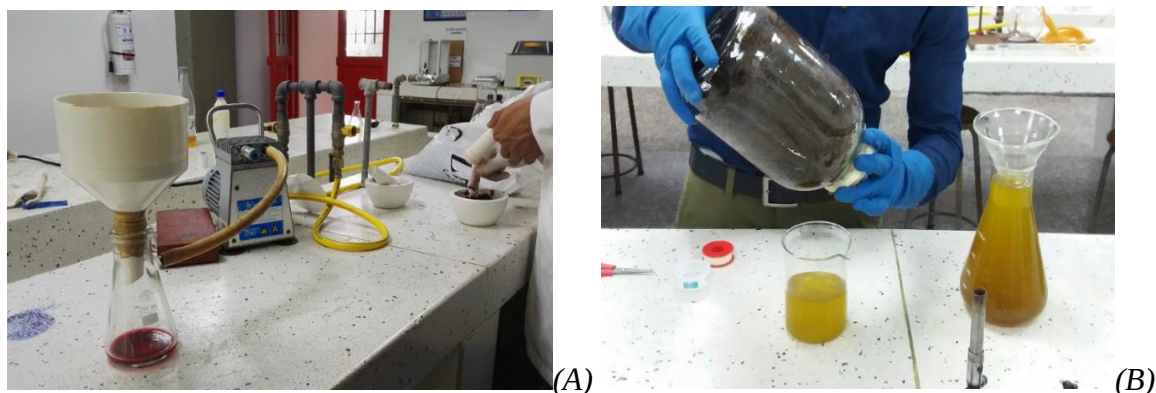


Ilustración No. 52 Maceración y filtración del fruto de agraz (A) y de las frondes del helecho (B)



(A)



(B)

Ilustración No. 53 Obtención del extracto del agraz (A) en butanol, hexano y cloroformo; y del helecho (B) en metanol



Ilustración No. 54 Proceso de rotaevaporado de los extractos vegetales para obtenerlos secos.

5.3 Pruebas cualitativas para la determinación de la presencia o ausencia del metabolito secundario (Terpenos y esteroides)

Para determinar la presencia de Terpenos y esteroides en los diferentes extractos se realizaron las siguientes pruebas cualitativas mediante el empleo de reactivos específicos, tales como:

5.3.1 Reacción de lieberman-burchard: Se colocó 0,5 ml de cada extracto en un crisol o tubo de ensayo, se dejó evaporar hasta sequedad, se dejó enfriar y se adicionaron 2 gotas de cloroformo, luego se adicionó en cada tubo de ensayo gotas de Anhídrido acético seguidos por una gota de ácido sulfúrico concentrado; se observó la coloración de cada tubo

5.3.2 Reacción de salwoski: 0,5 ml del extracto en tubo de ensayo se mezclaron con 1 mL de cloroformo, dejando también deslizar por las paredes del tubo con sumo cuidado 1 mL de ácido sulfúrico del 85%. Se observó la coloración de cada tubo.

5.3.3 Reacción de zlatkis: En un tubo de ensayo o vidrio de reloj, se adicionó 0,5 mL del extracto con una gota de ácido acético glacial, una de cloruro férrico y una gota de ácido sulfúrico concentrado, se observó también la coloración.

Después de la realización de estas pruebas cualitativas se confirmó la presencia o ausencia de los terpenos y esteroides, y con base en esto se procedió al fraccionamiento cromatográfico.

5.4 Purificación del extracto: Fraccionamiento Cromatográfico

Los extractos se fraccionaron por medio de cromatografía en capa fina, dado que inicialmente se necesitaba conocer la polaridad para hacer correr los terpenos y de igual manera realizar su respectivo revelado, por tal motivo se hizo una miniplaca con revelador de Lieberman mezclando 3 mL de cloroformo, 0,5 mL de anhídrido acético y 2 gotas de H_2SO_4 , al comprobar un revelado positivo de terpenos, se realizó una Cromatografía de Capa Fina a nivel preparativo para cada extracto combinando 15 mL de Acetato de etilo con 15 mL de acetona Proporción (1:1), esta fue la fase móvil de la cromatografía, y la fase estacionaria fue la silica gel; se esperó a que cada placa corriera, y haciendo uso de lámpara de UV se definieron las zonas de corrimiento, de esta forma se siguió la pista al revelado de terpenos con el reactivo y el Uv, pasando así a extraer de la placa el componente.

Una vez señaladas las fracciones, se rasparon con microespatulas, este contenido fue filtrado con papel Whattman N. 2 dentro de un beaker, y se le agregó metanol para disolver la fracción pura y separarla de la silica gel, la cual debía quedar en el papel filtro, se hicieron varios lavados para asegurar que no quedara el compuesto en la silica gel y también se decantó, este contenido se pasó a viales que fueron previamente lavados, secado y masados; el evaporamiento del metanol se realizó por medio del calentamiento de plancha a una temperatura inferior a 50°C durante un día o más.

5.5 Identificación de la fracción: Espectrofotometría de Uv

Una vez se obtuvo el extracto seco o en metanol, este pasó a inyectarse en el espectrofotómetro, teniendo en cuenta que el blanco fue el metanol, obteniéndose así los espectros para cada uno, los cuales fueron comparados con bases de datos de espectros para poder dar una aproximación al tipo de molécula estudiada sentando los precedentes acerca de la naturaleza de los compuestos que tenían las plantas analizadas.

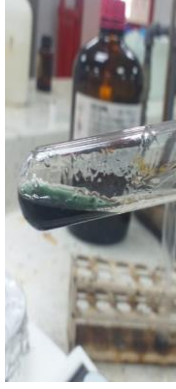
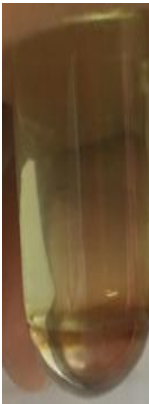
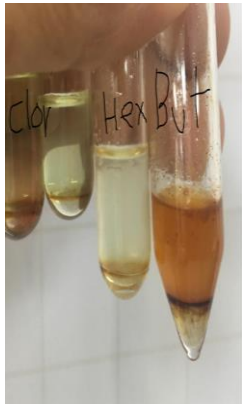
5.6 Inferencia del metabolito con base en las pruebas de actividad biológica

La última parte del procedimiento consistió en evaluar de forma teórica el metabolito encontrado con base en las pruebas de actividad biológica, deduciendo cual sería la mejor a aplicar en el caso de los terpenos o esteroides y explicando el porqué del mismo.

6. Resultados

A continuación, en la Tabla No. 36, se presentan los resultados obtenidos para el Agraz y el Helecho con base en las pruebas cualitativas para terpenos y esteroides. Cabe destacar que para el agraz se tienen 3 extractos (Butanólico, hexano y clorofórmico) mientras que para el Helecho se tuvo solo uno (Metanólico)

Tabla No. 36 Pruebas cualitativas de Terpenos y Esteroides para los extractos de las plantas estudiadas

PRUEBA	Extracto Hexánico del agraz	Extracto Butanólico del agraz	Extracto clorofórmico del agraz	Extracto Metanólico del helecho	Pruebas comparadas
Lieberman-Burchard					
Resultado	Cambió a Amarillo pálido (+++) Presencia de triterpenos saturados o esteroides	Oscurecimiento, (-)	Cambio de coloración a azul o verde (++) Presencia de Esteroides	Cambio de coloración a azul-verdoso (+++) Presencia de Esteroides	Hay Esteroides en el Cloroformo, en el butanol no se comprobó; en el hexano puede haber triterpenos o esteroides es necesaria otra prueba para confirmarlo.
Reacción de Salkowski					
Resultado	Coloración amarilla o roja (+++) Interfase rojiza Positivo a terpenos	Interfase Oscura Presencia de Terpenos (+)	Hay presencia de interfase Rojiza y coloración amarilla (+) Presencia de terpenos	Coloración roja (+++) Interfase rojiza Positivo a terpenos	Hay terpenos

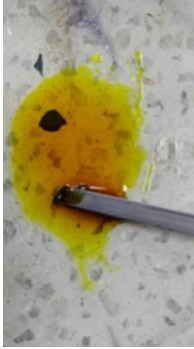
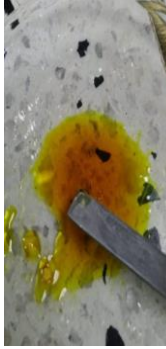
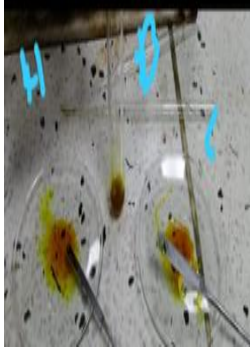
<i>Reacción de Zlatskis</i>					
<i>Resultado</i>	Positivo Para el Colesterol por la presencia del color rojo. (+++)	Positivo para colesterol. (+)	Positivo para colesterol con el Cloroformo (+++)	Positivo para colesterol por la presencia de color rojo (+)	Estas pruebas nos confirman la presencia de terpenos y esteroides en las muestras, en especial el colesterol.

Tabla No. 37 Síntesis de Presencia / Ausencia de Metabolitos secundarios en los Extractos

Metabolito	Extracto Hexánico Agraz	Extracto Butanólico Agraz	Extracto Clorofórmico Agraz	Extracto Metanólico Helecho
Terpenos y Esteroides	Alta Presencia (++++)	Baja Presencia (+)	Moderada Presencia (++)	Alta Presencia (+++)
	Triterpenos y colesterol	Terpenos y colesterol	Terpenos y colesterol	Terpenos, esteroides. Colesterol

6.1 Resultados cromatografía en capa fina, revelada en Uv.

Respecto al aislamiento de terpenos y/o esteroides, inicialmente se presenta las placas cromatográficas elaboradas con el fin de identificar el tipo de polaridad que logra la mejor separación de los metabolitos, tal como se evidencia en las ilustraciones No. 55 y No. 56. Por su parte se muestra el revelado de las placas en cámara Uv-Vis para determinar el arrastre de los compuestos, tal como se evidencia en la Ilustración No. 57.

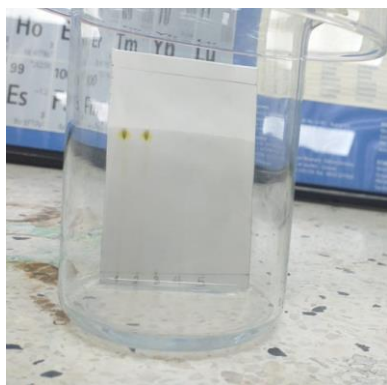


Ilustración No. 55 Cromatografía en capa fina de la muestra del helecho y agraz disuelta en cloroformo y con una fase móvil de 2 mil de: cloroformo, metanol y hexano.

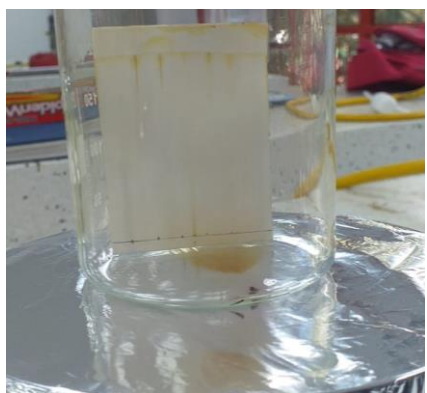


Ilustración No. 56 Cromatografía en capa fina del helecho y agraz revelada en yodo.

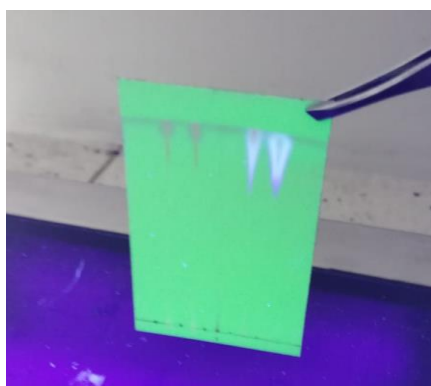


Ilustración No. 57 Cromatografía capa fina del helecho y agraz, revelada en UV

Tal como se mencionó anteriormente, estas pruebas se realizaron para saber el tipo de polaridad que hay en las muestras y la verificación de terpenos y/o esteroides, con esto se realizó de nuevo una cromatografía de capa fina por separado más grande para arrastrar todos los

componentes presentes en las muestras, tal como se evidencia en la Ilustración No. 58. Por medio de la Ilustración No. 59 se evidencia el revelado por medio de cámara Uv-Vis, y, por medio de la Ilustración No.60 se muestra el proceso de raspado de la muestra para su separación de la fase estacionaria, para posteriormente realizar el filtrado y adicionando el respectivo solvente, tal como se muestra en la Ilustración No. 61.

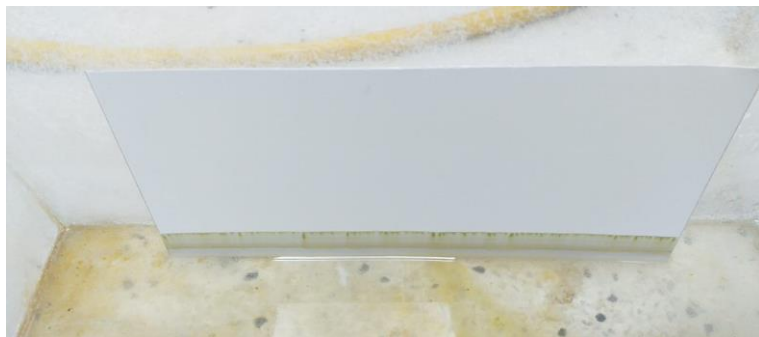


Ilustración No. 58 cromatografía en capa fina del Helecho.



Ilustración No. 59 cromatografía capa fina del Helecho, revelada en UV. Para definir las zonas de corrimiento y continuar con el procedimiento.



Ilustración No. 60 Raspado de la fracción de la cromatografía correspondiente a los terpenos.



Ilustración No. 61 Filtrado de la silica gel con metanol y calentamiento de la muestra.

Una vez secado el compuesto en el vial, se le agregó metanol y se pasó al equipo de espectroscopia Uv-Vis, cabe destacar que el blanco de este UV fue metanol, de esta forma se obtuvieron los respectivos espectros, los cuales se evidencian en las ilustraciones No. 62, No. 63 y No. 64

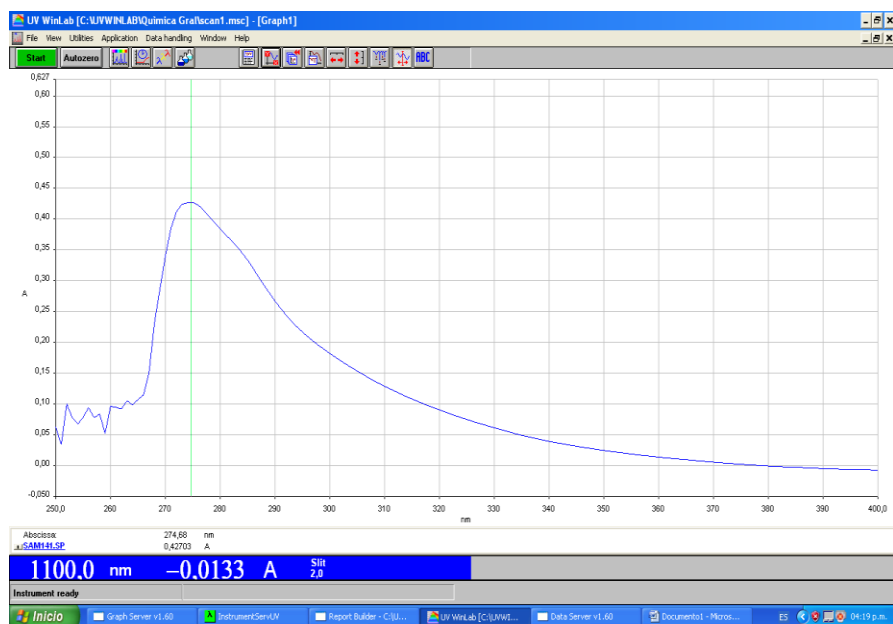


Ilustración No. 62 Espectros de absorción en Uv para el helecho. Máxima absorbancia en 274,68 nm.

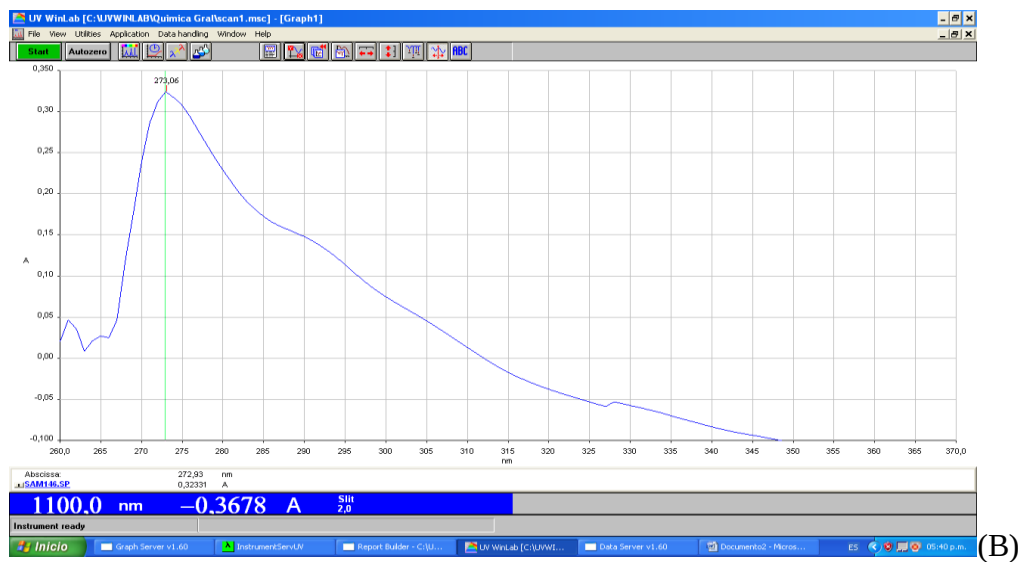
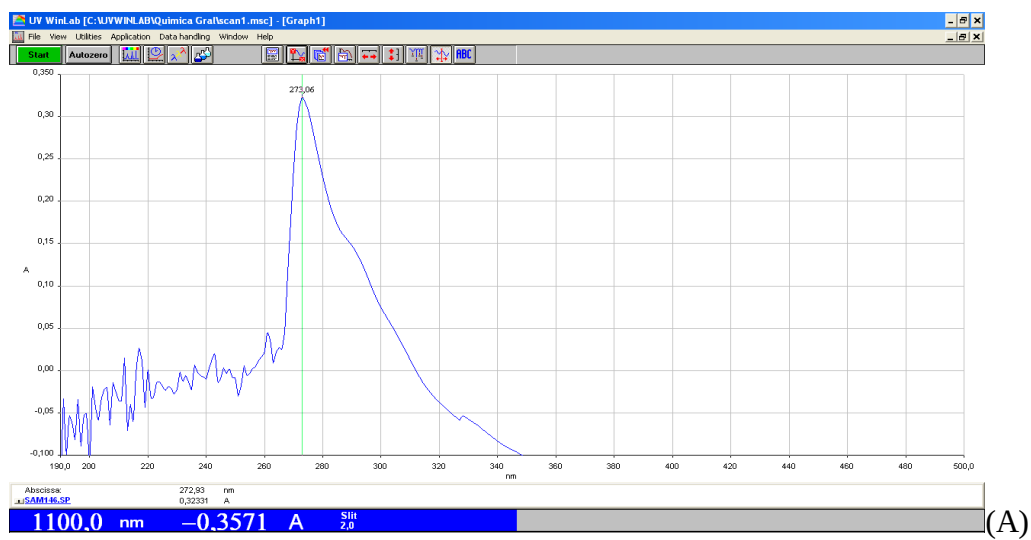


Ilustración No. 63 Espectros de absorción en Uv para el agraz en el extracto Hexánico. Máxima absorbancia obtenida en (A) y (B) 272,93 nm.

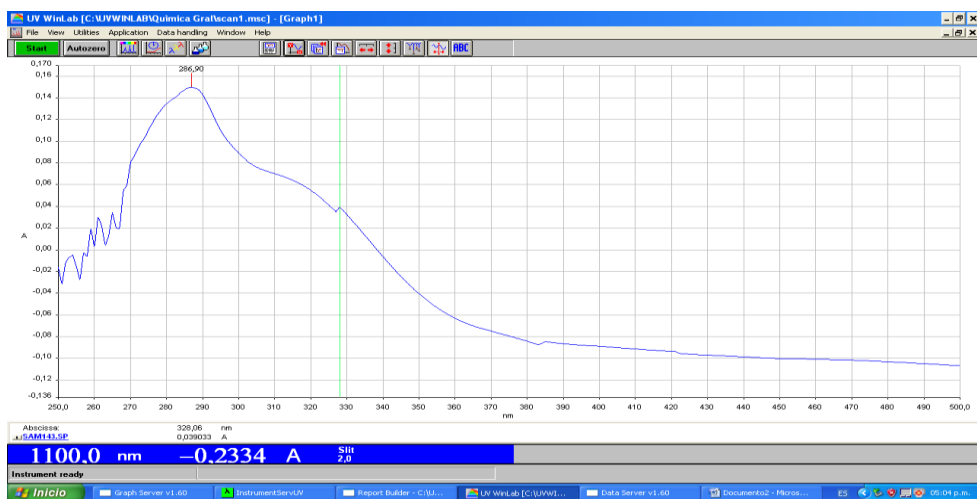
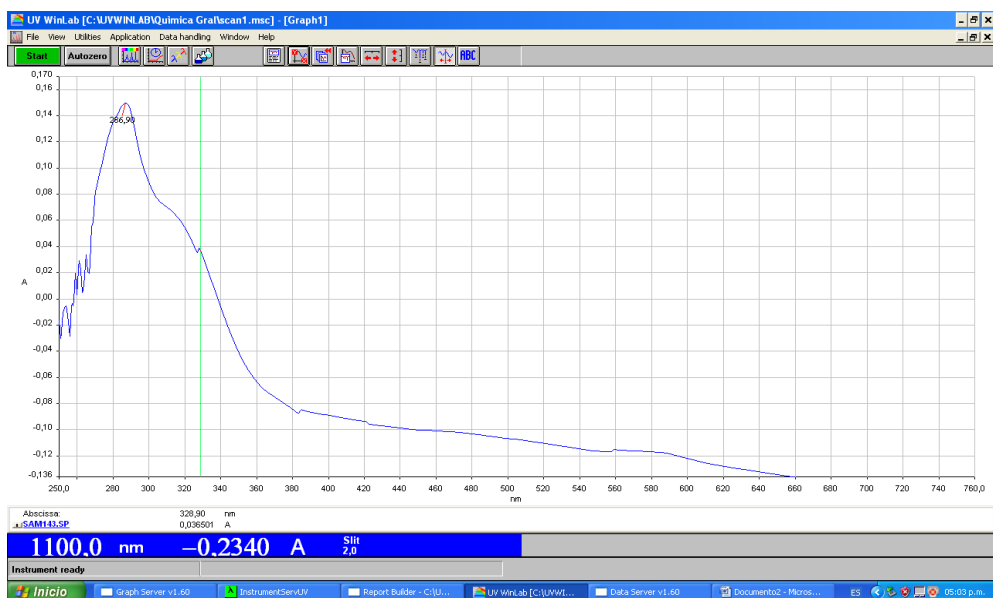


Ilustración No. 64 Espectros de absorción en Uv para el agraz en el extracto butánolico, fracción 3. Máxima absorbancia en 286,90 nm.

7. Discusión de Resultados

De manera inicial, Es importante resaltar que hay adsorbentes que contienen un indicador de fluorescencia para facilitar la identificación de las muestras, ya que si no se usa indicador y los componentes no son coloridos se requerirán otras técnicas (UNAM, 2010). En este orden de ideas, vale la pena mencionar la importancia del revelador de Lieberman junto con rayos ultravioletas con longitudes de onda de 320 y 340 nm, los cuales permitieron identificar cuál de las franjas proporcionada por cromatografía de capa fina, era el compuesto de interés, para este caso terpenos y/o esteroides, de manera que, posteriormente se lograra realizar el debido fraccionamiento de la muestra y aislar el compuesto como se muestra en la Ilustración No. 60. Por lo tanto, el reactivo Lieberman fue de gran ayuda ya que nos permite identificar la presencia de terpenos lo que da un color rosa violácea, esto es debido “al grupo hidroxilo de colesterol al reaccionar con los reactivos y el aumento de la conjugación de la instauración en el anillo fusionado adyacente” (Sandoval , SlideShare, 2013)

Por su parte, es relevante el papel de la radiación UV para la identificación preliminar, tal como afirma Espinosa Ipinza y Rivas Poblete (2011) dado que la fluorescencia visible inducida por UV es una técnica que se utiliza para lograr identificar algunos compuestos químicos, y, esto es posible ya que “la radiación absorbida por el material, los electrones son puestos de forma temporal en un mayor estado de energía, esta energía liberada por los electrones” o fluorescencia es la que nos permite apreciar la diferencia de colores según el compuesto, estas diferencias de color e intensidades fue la que permitió verificar exitosamente la presencia del compuesto buscado (terpenos y/o esteroides) en la placa cromatográfica preparativa, tal como se evidenció en la Ilustración No. 59.

Seguidamente, se contrastarán los espectros obtenidos en laboratorio de algunos terpenos y esteroides con lo plasmado de manera teórica. Teniendo en cuenta que nuestra muestra se encuentra en un rango aproximado de 250 y 300 nm. Establecemos la comparación con algunos rangos similares.

Es de esta manera que, vale la pena resaltar lo afirmado por Martínez (2001) donde resalta que en “el espectro UV los monoterpenos y sesquiterpenos se reconocen sus grupos funcionales y grupos cromóforos, por lo general presentan máximos de absorbancia en 262 nm” (pág. 12). Por su parte, este mismo autor enuncia que los fenilpropanos absorben luz UV con máximos alrededor de 254 nm dependiendo de los grupos cromóforos presentes en la molécula, por lo que algunos ejemplos particulares son el isoeugenol donde su máximo esta entre 260 y 305, el safrol en 286 nm la miristicina en 276 nm, el isosafrol en 264 nm, el ácido trans-cinámico en 273 nm (Martínez , 2001, pág. 22).

Con la anterior información, comparando el espectro obtenido por medio de la Ilustración No. 64 que corresponde con la fracción 3 del extracto butanólico del Agraz, el máximo de absorbancia obtenido de 286,90 nm coincide con lo afirmado por Martínez (2001) con la máxima absorbancia para el safrol con un máximo de absorbancia de 286 nm.

Por su parte, respecto a la muestra obtenida del extracto del helecho *Eupodium pittieri*, el espectro obtenido mediante la Ilustración No. 62, evidencia una máxima absorbancia de 274,68 nm, lo cual comparado con lo afirmado por Martínez (2001) de presentar terpenos la muestra, no corresponde ni a monoterpenos ni sesquiterpenos, ya que supera los máximos de absorbancia para estos compuestos, por lo que el compuesto aislado muy probablemente posea características de fenilpropanos con tendencia al eugenol, tal como muestra la Ilustración No. 65, o a isoeugenol, los cuales presentan máximos de absorbancia entre 260 nm a 305 nm.

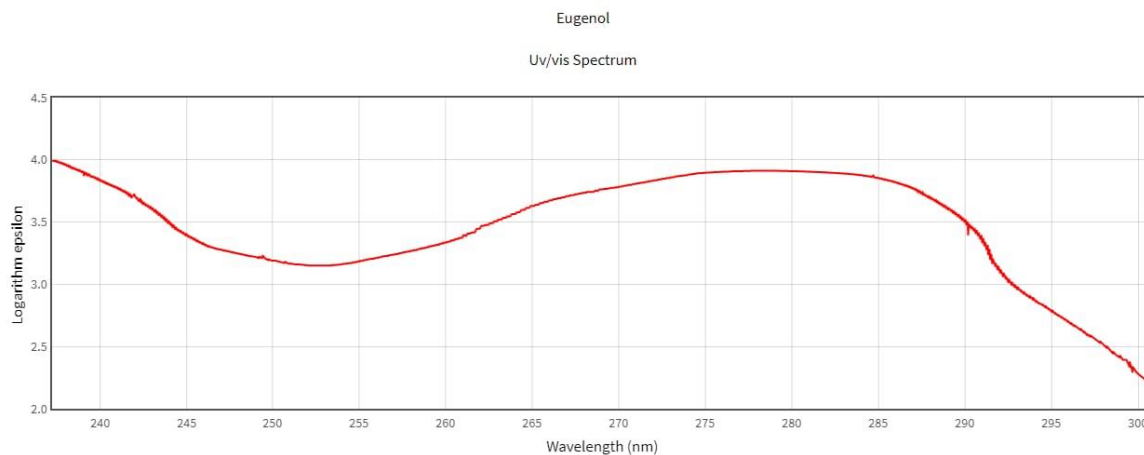


Ilustración No. 65 Espectro UV del eugenol ampliado. Tomado de (NIST, 2016)

Por otro lado, se pudo evidenciar una separación de los compuestos a través de la cromatografía de capa fina como se muestra en la Figura 10. Pues según Abbott y Andrews (1970) todas las técnicas de cromatografía dependen de la distribución de los componentes de la mezcla entre dos fases inmiscibles: una fase móvil (Cloroformo para nuestro caso) que transporta las sustancias que se separan y que progresa en relación con la otra, denominada fase estacionario. Ahora la cromatografía de capa fina nos permite que partir del eluyente, este ascenderá por capilaridad, por la placa y arrastrara los componentes a lo largo de esta, dependiendo de la polaridad de cada uno por lo que nos produce unas manchas como se muestra en la Ilustración No. 60.

8. Conclusiones

Se logró verificar la presencia de terpenos y esteroides en ambas especies vegetales, siendo más indicativas en el helecho según lo obtenido por medio de las pruebas cualitativas empleadas, con esto se demostró que este tipo de pruebas (Liebermang, Salwoski y Zlatskis) son pertinentes para estos tipos de compuestos y se pueden emplear en la investigación de especies vegetales para determinar la diversidad química de estas.

Se logró aislar y purificar terpenos y/o esteroides presentes en las especies vegetales de estudio por medio de cromatografía en capa fina, debido a la poca cantidad del extracto se debió reconocer la polaridad indicada para una correcta separación de los compuestos presentes y así mismo emplear el revelador adecuado para el reconocimiento de un grupo específico que permitió verificar la presencia del metabolito en cuestión, por esta razón para el caso del helecho, se obtuvo solo una fracción de la mezcla del extracto la cual pasó al UV donde se confirmó la similitud de la muestra con terpenos y esteroides.

Por último, la espectroscopia Uv permitió realizar una aproximación al tipo de terpeno o esteroide que podía ser teniendo en cuenta un referente teórico, este tipo de técnica permite comparar las bandas de absorción y a partir de esto identificar la naturaleza del compuesto presente, que para el presente caso dio similar a compuesto de tipo Eugenol.

9. Referencias

- Abbott, D., & Andrews, R. (1970). *Introducción a la Cromatografía*. Madrid: Alhambra.
- Bernal, R., Galeano, G., Rodríguez, A., & Sarmiento, H. (2011). *Nombres comunes de las plantas de Colombia*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
- BioEnciclopedia. (07 de 07 de 2016). *Vitis Vinifera*. Obtenido de <https://www.bioenciclopedia.com/vid/>
- Ch, G., & Lock, O. (2001). Aislamiento y caracterización de un triterpenoide a partir de la gentianella thyrsoidea hooker FABRIS. *Peruana de Química e Ingeniería Química*, 4(1), 30-35.
- Chízmár Fernández, C. (2009). *Plantas comestibles de Centroamérica*. Costa Rica: Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio).
- Croat, T. (1978). *Flora de la isla barro colorado*. Panamá: Instituto de Investigación Tropical Smithsonian.
- Espinosa Ipinza, F., & Rivas Poblete, V. (2011). Fluorescencia visible inducida por radiación UV. Sus usos en conservación y diagnóstico de colecciones. Una revisión crítica. *Conserva*(16), 27- 38.
- Gonzalez, M. (05 de 07 de 2011). *Metabolitos secundarios de las plantas*. Obtenido de La guía: <https://quimica.laguia2000.com/reacciones-quimicas/metabolitos-secundarios-de-las-plantas>
- Hagemann, W. (2012). *Eupodium pittieri (Maxon) Christenh. -Marattiaceae- Taxonomía*. Obtenido de Colecciones Científicas del Instituto de Ciencias Naturales (ICN) de la Universidad Nacional de Colombia: <http://www.biovirtual.unal.edu.co/es/colecciones/detail/205862/index.html>
- Martínez, A. (2001). *Aceites Esenciales*. Medellín: Universidad de Antioquia- Facultad Química Farmacéutica.
- Méndez, C., & Murillo, J. (2014). *Helechos y Lycófitos de Santa María (Boyacá, Colombia)*. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, Instituto de Ciencias Naturales.
- Milián Domínguez, J., Iglesias Monroy, O., & Valdés Hernández, H. (2017). Caracterización fitoquímica de SamaneaSaman (Jacq.) Merr (algarrobo). *Cubana de Ciencias Forestales*, 5(1), 49-61.
- Naturalist. (s.f.). *Bejuco Blanco (Vitis tiliifolia)*. Obtenido de <https://www.inaturalist.org/taxa/286649-Vitis-tiliifolia>

- NIST. (2016). *Libro del Web de Química*. Obtenido de Eugenol:
<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C97530&Mask=400>
- Ochoa Amado, L., & Sarmiento Mora, A. (2018). *Estudio fitoquímico de la especie vegetal Bucquetia glutinosa (L.f) DC. (Melastomataceae) y evaluación de su actividad biológica*. Bogotá: Universidad de Ciencias Aplicadas u Ambientales.
- Palá Paúl, J. (2002). *Contribución al conocimiento de los aceites esenciales del género Eryngium L., en la península Ibérica*. Madrid: Universidad Complutense de Madrid.
- Pergaud, L., & Kuete, V. (2013). Triterpenes and Steroids from the Medicinal Plants of Africa. Medicinal planta research in Africa. *Pharmacology and Chemistry*.
- Sandoval, M. (24 de noviembre de 2013). *Reconocimiento del Colesterol*. Obtenido de Reconocimiento del colesterol: <https://es.slideshare.net/Milisanm/reconocimiento-del-colesterol-quimica>
- Sepúlveda Vázquez, J., Torres Acosta, J., Sandoval Castro, C., Martínez Puc , J., & Chan Pérez, J. (2018). Importancia de los metabolitos secundarios en el control de nematodos gastrointestinales en ovinos con énfasis en Yucatán, México. *Selva Andina Animal Science*, 5(2), 79- 95.
- UNAM. (2010). *Química Orgánica*. Obtenido de Cromatografía en capa fina:
http://organica1.org/1311/1311_6.pdf
- Wallach , O. (1987). Zur kenntnis der terpepe und ätherischen öle. *Liebigs Annalen der Chemie*, 239, 1-54.

Anexo No. 8. Artículo “Análisis fitoquímico preliminar del helecho *Eupodium pittieri* empleado para el crecimiento del vello facial en Acevedo (Huila) y su evaluación de toxicidad sobre *Artemia salina*” Revista Educación y Ciencia. No. 21. Año 2018.



Dirección de Investigaciones



Centro de Investigaciones y Extensión
Facultad de la Educación-Uptc

EDUCACIÓN

Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia
Centro de Investigaciones y Extensión de la
Facultad de Educación –CIEFED

ISSN 0120-7105 – Num.21. Año 2018
Tunja – Boyacá – Colombia

Edición Especial Memorias
IV Congreso de Investigación en
Educación en Ciencias y Tecnología EDUCYT 2018

Y CIENCIA

Analisis fitoquímico preliminar del helecho *Eupodium pittieri* empleado para el crecimiento del vello facial en acevedo (huila) y su evaluacion de toxicidad sobre *artemia salina*

Castañeda-Gómez, Jhon F.

Grupo Químico de Investigación y Desarrollo Ambiental y Semillero de Investigación en Química de la Universidad Surcolombiana SIQUS. Neiva, Huila. Programa de Licenciatura en Ciencias Naturales y Educación Ambiental. Universidad Surcolombiana, Neiva, Huila. jhon.castaneda@usco.edu.co

Morales, L. Aldemar

Grupo Químico de Investigación y Desarrollo Ambiental y Semillero de Investigación en Química de la Universidad Surcolombiana SIQUS. Neiva, Huila. Programa de Licenciatura en Ciencias Naturales y Educación Ambiental. Universidad Surcolombiana, Neiva, Huila. moralesk12.aml@icloud.com

Valderrama, C. Yilber. A

Grupo Químico de Investigación y Desarrollo Ambiental y Semillero de Investigación en Química de la Universidad Surcolombiana SIQUS. Neiva, Huila. Programa de Licenciatura en Ciencias Naturales y Educación Ambiental. Universidad Surcolombiana, Neiva, Huila. caracho27@hotmail.com

Eje temático: Enculturación de la educación científica

RESUMEN

Eupodium pittieri es un helecho de la familia *Marattiaceae* (pteridofita), cuyo material vegetal en estado joven es empleado para el crecimiento del vello facial en el municipio de Acevedo, Huila. Siendo, esta planta empleada por la comunidad huilense para potenciar dicha actividad, en la actualidad, se carece de suficientes y relevantes soportes científicos acerca de su toxicidad y diversidad metabólica. En esta investigación se realizó el análisis fitoquímico preliminar de la especie, a través de la caracterización de los

metabolitos secundarios de los extractos hexánico, clorofórmico y metanólico. Las pruebas cualitativas permitieron establecer la presencia de flavonoides, saponinas, terpenos y/o esteroides y alcaloides en los extractos. Adicionalmente, se realizó la prueba de toxicidad de los crudos con nauplios de *Artemia salina* demostrándose la baja toxicidad del helecho sobre el crustáceo.

Palabras clave: *Eupodium pittieri*, toxicidad, metabolitos secundarios, *Artemia salina*.

INTRODUCCIÓN

Según Budzikiewicz, H., Pereda – Miranda, R., Rosas – Ramírez, D. Castañeda, J. (2010), afirman que la obtención de productos naturales a partir de la investigación de especies vegetales ha permitido conocer la quimiotaxonomía de muchas plantas como una forma de clasificación. En este sentido, *Eupodium pitti*, es un helecho perteneciente a la familia *Marattiaceae* (pteridofita) que suele encontrarse al interior de bosques maduros, sitios sombreados y húmedos de la región andina. En el marco de la medicina tradicional de la comunidad del municipio de Acevedo (Huila), esta especie se emplea para estimular el crecimiento del vello facial. Dentro de la literatura científica, son escasas las investigaciones fitoquímicas orientadas a esta especie, sin embargo, se resalta el trabajo realizado por Ruiz y Silva, (1999), quienes describen los metabolitos secundarios presentes en la flora vascular presente en el archipiélago Juan Fernández en Chile.

Las investigaciones realizadas últimamente, han permitido reconocer la variedad de metabolitos que pueden ser hallados en especies cercanas a la de estudio, destacando el aporte realizado por Cabrera, J. (2014), donde indica la presencia de metabolitos que poseen importancia a nivel medicinal para el control de la diabetes. Por su parte, Lopez, A. Velez, M. Sanchez, M. Bonilla, C. Gallo, P. (2006), comprueban que existe comprobación de la actividad antifúngica de los extractos de *P. aquilinum* en cultivos de fresa y banano.

Por otra parte, Torres, L. Tapia, M. Contreras, A. (2005), enuncian que particularmente muchas especies vegetales pueden causar reacciones adversas a quienes las emplean, por tal motivo, se lleva a cabo evaluaciones con el propósito de determinar, aparte de su acción farmacológica, la toxicidad que presentan las plantas con aplicación medicinal.

La especie *Artemia salina* L. es un camarón minúsculo de cuerpo blando, color pardo y con cierta transparencia a la luz. Los aportes realizados por Pérez, O. Lazo, F. (2010), relacionan la importancia del bioensayo con esta especie, la cual se basa en la posibilidad de causar la muerte de nauplios de este crustáceo que pueden ser

cultivados de manera sencilla. Durante mucho tiempo, esta especie ha sido objeto de estudios toxicológicos caracterizando su fiabilidad y practicidad para la determinación de compuestos naturales y sintéticos.

METODOLOGÍA

Características del Área y Colecta del material

La colecta de material vegetal del helecho *Eupodium pitti* se realizó en Enero de 2018, en el municipio de Acevedo, Huila (1,724522,-75.962772). La colecta tuvo lugar en horas de la mañana, tomando helechos jóvenes, particularmente, las frondes. Posteriormente, la muestra fue secada a la sombra y pulverizada en una trituradora forrajera TRF 60.

Obtención de los extractos

600 g de material vegetal pulverizado se maceraron exhaustivamente con hexano por tres días a temperatura ambiente, luego con cloroformo y finalmente con metanol. Después de cada extracción, los extractos se filtraron y se rotavaporaron, para dar residuos de color oscuro.

Pruebas Químicas

Se realizó la evaluación cualitativa a los extractos secos (hexánico, clorofórmico y metanólico), para detectar la presencia de diversos grupos de metabolitos secundarios en el helecho *Eupodium pitti*; esto, teniendo en cuenta los procedimientos sugeridos por Domínguez, J. A. (1985), para la identificación de Flavonoides, Saponinas, Ácidos grasos, Alcaloides, Fenoles, Coumarinas, Azúcares reductores, Quinonas, Aminoácidos libres, Esteroides y/o Triterpenos.

Prueba de Toxicidad con *Artemia salina*

Método de dilución

Para cada extracto se prepararon soluciones a 200, 500 y 1000 ppm, empleándose como disolvente DMSO al 1% Tween 80 al 1 %. Por lo tanto, el extracto metanólico fue solubilizado con 25 mL de DMSO al 1%; los extractos hexánico y clorofórmico fueron solubilizados en 25 mL de Tween 80 al 1%, cada uno de los mismos preparados en agua con sal marina al 3%.

Efecto de los extractos en *Artemia salina*

Para el ensayo de toxicidad se utilizaron nauplios de *Artemia salina* L. Por lo tanto, en una solución al 3% de sal marina en 1L de agua, se dejaron eclosionar 200 mg de cepa de *A. salina* expuestos a luz blanca durante 24 h. Posteriormente, se tomaron 10 nauplios por pozo, a cada uno se adicionaron 5 mL de cada muestra: dos blancos, Tween 80 al 1% y DMSO al 1%; soluciones de los extractos diluidos a 200 ppm, 500 ppm y 1000 ppm, respectivamente. Durante la evaluación, se registró el número de nauplios muertos cada 10 minutos dentro de la

primera hora y luego por cada hora hasta completar 24 horas.

Concentración Letal Media

Por medio de los datos recopilados durante la evaluación del efecto de los extractos en *A. salina*, se determinó la concentración letal media (CL_{50}) mediante el análisis estadístico probit, utilizando el programa Statgraphics Centurion XVI versión 16.2.04, y el grado de toxicidad como lo indica la Tabla No. 1.

Tabla No. 1. Clasificación de toxicidad según CYTED.

Tipo	Descripción	CL_{50} (ppm)
I	Extremadamente Tóxico	1-10
II	Altamente Tóxico	10-100
III	Moderadamente Tóxico	100-500
IV	Ligeramente Tóxico	500-1000
V	Prácticamente No Tóxico	1000-1500
VI	Relativamente Inocuo	>1500

RESULTADOS

Rendimiento de los extractos

Tal como se ilustra en la Tabla No. 2, se obtuvo un rendimiento del 0,57 %, 0,54% y 0,64% para los extractos hexánico, clorofórmico y metanólico, respectivamente. De esta manera se obtiene 1,76 % como rendimiento total de la planta.

Tabla 2. Rendimiento de los extractos obtenidos por maceración de *Eupodium pittieri*.

Muestra (g)	Disolvente	Extracto obtenido (g)	Rendimiento %
600 (material vegetal)	Hexánico	$3.4498 \pm 0,0001$	0,57
	Clorofórmico	$3.2818 \pm 0,0001$	0,54
	Metanólico	$3,8465 \pm 0,0001$	0,64
Total		$10,5781 \pm 0,0003$	1,76

Metabolitos Secundarios

Los metabolitos secundarios son de especial interés como objetos de estudio, según Sepúlveda, G. Porta, H. Rocha, M. (2003). Éstos, en la mayoría de los casos resultan como respuesta a diversos estímulos del entorno y principalmente como respuesta química ante ataques de organismos; de esta manera, las especies vegetales sintetizan, desarrollan y almacenan compuestos de bajo y alto peso molecular denominados metabolitos secundarios. Estos, son parte trascendental del objeto de estudio y su importancia radica en la evaluación, identificación y aplicabilidad de los mismos.

En la tabla No. 3, se muestran los resultados de las 15 pruebas cualitativas, para la identificación de compuestos químicos en cada extracto, evidenciándose la gran diversidad química presente en el Helecho *Eupodium pittieri*.

Tabla 3. Identificación de metabolitos secundarios del helecho *Eupodium pittieri*.

METABOLITOS	PRUEBA	Extracto Hexánico	Extracto Clorofórmico	Extracto Metanólico
Flavonoides	Shinoda	+++	++	-

Análisis fitoquímico preliminar del helecho *Eupodium pittieri* empleado para el crecimiento del vello facial en acevedo (huila) y su evaluación de toxicidad sobre *artemia salina*

	Zn/HCl	-	+	-
	H ₂ SO ₄	++	-	-
Saponinas	Salkowski	++	-	-
	Burchard	++	+	+++
	Dragendorff	++	+++	+
	Mayer	+	+	++
	Wagner	+++	+	++
Alcaloides	Bouchardat	++	+	+
	Sonnencheins	+	+	+
	FeCl ₃	++	+	-
Fenoles	FeCl ₃	++	+	-
Azúcares reductores	Fehling	++	+	-
Aminoácidos libres	Ninhidrina	-	-	-
Esteroides y/o Triterpenos	Lieberman-Buchard	++	+	+++
Glicósidos	Antrona	++	+	-
Carbohidratos	Molish	-	-	-

+++ Alta Presencia
 ++ Media Presencia
 + Baja Presencia
 - Presencia Negativa

De acuerdo a los resultados del tamizaje fitoquímico, se determinó la presencia de flavonoides en los extractos hexánico y clorofórmico, de acuerdo a las pruebas de Shinoda, Zn/HCl y H₂SO₄; por otra parte, de manera positiva se incluye la presencia de saponinas, alcaloides y esteroides y/o triterpenos en los tres extractos.

Cabe mencionar que se identificó en menor medida la presencia de Fenoles, Azúcares reductores y glucósidos del análisis cualitativo en los extractos hexánico, clorofórmico y metanólico, respectivamente.

Cabe resaltar el trabajo elaborado por Campusano, Y. Fonseca, L. Almeida, M. Fonseca, A. Reytor, N. (2010), quienes reportaron la presencia de ácidos grasos,

cumarinas, alcaloides, saponinas, azúcares reductores, triterpenos y/o esteroides, aminoácidos libres y fenoles y/o Taninos en una especie similar del pteridófito *Pteris vittata* L., especie que particularmente comparte clado con el material empleado como objeto de estudio en nuestra investigación, observándose similitudes entre las dos especies de pteridofitas a nivel de metabolitos secundarios.

Determinación de Toxicidad sobre *Artemia salina*

Para la determinación de la concentración letal media (CL₅₀) de los extractos hexánico, clorofórmico y metanólico de *E. pittieri* frente a *A. salina*, fue empleado el análisis probit por medio del software Statgraphics Centurión XVI. En la figura No. 1., se establece la relación lineal entre el porcentaje de mortalidad de *A. salina*

frente a las concentraciones de los extractos de *E. pittieri* a las 24 horas de exposición. Así, para el extracto hexánico, se establecieron los porcentajes de 40%, 50% y 70% a 200, 500 y 1000 ppm, respectivamente. Para el extracto

clorofórmico, se obtuvieron los porcentajes de 30% (200 ppm), 50% (500 ppm) y 60% (1000 ppm), y, para el extracto metanólico de 20%, 30% y 30%.

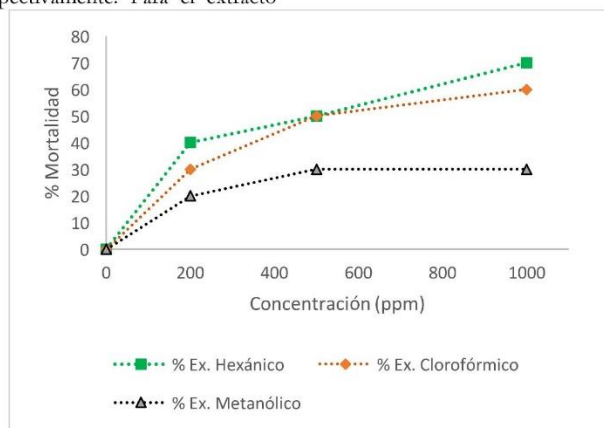


Figura No. 1. Porcentaje de mortalidad de *A. salina* L. en función de la concentración de los extractos de *E. pittieri*.

De igual manera, por medio de los datos obtenidos mediante la regresión, fue posible obtener la gráfica que relaciona el número probit obtenido frente al logaritmo de las concentraciones, tal como se evidencia en la figura No. 2. Cada relación lineal obtenida genera su respectiva ecuación de la recta, así, se destaca lo planteado por Molina, M. Melo, S. (2010), donde por medio de las pendientes de las rectas generadas, se resuelve la ecuación para $y=0,5$ (CL_{50}) y cuyo resultado se aplica el respectivo antilogaritmo, de esta manera se obtiene las concentraciones letales medias para los tres extractos evaluados.

Por último, en la tabla No. 4, se ilustran los datos registrados de la concentración letal media (CL_{50}), con intervalos de confianza al 95%, para los tres extractos analizados, los resultados obtenidos mediante el análisis probit y la respectiva concentración letal media de los extractos con base en la Tabla No. 1. Claramente se evidencia la leve toxicidad de los extractos y sus CL_{50} , contrastado con el índice de toxicidad para productos biológicos de la CYTED; esto, debido que las concentraciones letales medias se encuentran en el rango entre 500 ppm y 1000 ppm respectivamente, permitiendo caracterizar a los extractos como productos levemente tóxicos ($500_{ppm} \geq CL_{50} \leq 1000_{ppm}$).

Análisis fitoquímico preliminar del helecho *Eupodium pittieri* empleado para el crecimiento del vello facial en acevedo (huila) y su evaluación de toxicidad sobre *artemia salina*

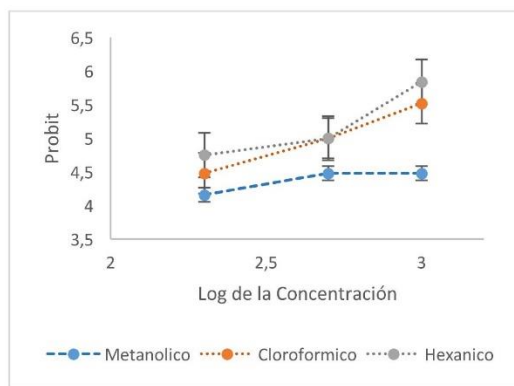


Figura No. 2. Relación lineal entre el valor probit en función de los Logaritmos de las concentraciones de los extractos de *E. pittieri*.

Tabla No. 4. Concentración letal media (CL_{50}) y grado de toxicidad según CYTED, de los extractos de *E. pittieri*.

Extracto	CL_{50} 95% I.C (ppm)	Grado de Toxicidad
Hexánico	794.3	Ligeramente Tóxico
Clorofórmico	791.5	Ligeramente Tóxico
Metanólico	676.0	Ligeramente Tóxico

CONCLUSIONES

Se logró identificar la variedad de metabolitos secundarios presentes en *E. pittieri*, mediante las distintas pruebas cualitativas. Por lo tanto, alcaloides, terpenos, flavonoides, esteroides, cumarinas y azúcares reductores dieron positivo en los extractos de esta pteridofita.

Los valores de concentración letal media, que se estimaron para los extractos hexánico, clorofórmico y metanólico fueron 794.3 ppm, 791.5 ppm y 676.0 ppm respectivamente; destacándose la baja toxicidad de los extractos y los posibles usos como potenciador del vello facial.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Budzikiewicz, H., Pereda – Miranda, R., Rosas – Ramírez, D. Castañeda, J. 2010. *Resin Glycosides from the Morning Glory Family*. Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, SpringerWienNewYork.México D.F., México. Volumen 92., p. 77
- Cabrera, J. 2014. *Determinación de metabolitos secundarios en tres pteridofitos, plantas con interés medicinal*. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú. Tomado de: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/4110>
- CYTED: Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. 2014. Tomado de: <http://www.cytcd.org>
- Campusano, Y. Fonseca, L., Almeida, M. Fonseca, A. Reytor, N. 2010. *Tamizaje fitoquímico de extractos etéreo, alcohólico y acuoso de hojas de Pteris vittata L.* Universidad de Buenos Aires – Argentina. Revista Química Viva. Vol. 9. No. 1. Abril de 2010. Pp. 30-34.
- Domínguez, J. A. (1985). "Métodos de Investigación Fitoquímica". Editorial Limusa. México D.F.
- López, A. Vélez, M. Sánchez, M. Bonilla, C. Gallo, P. 2006. *Evaluación de extractos vegetales para manejo de hongos patógenos en banano y fresa almacenados*. Universidad Nacional de Colombia-Sede Palmira.

- Palmira-Colombia. Tomado de:
<https://search.proquest.com/openview/e2dfa61e8d669a7409fa12c314764b84/1?pq-origsite=gscholar&cbl=2035751>
- Molina, L. Melo, S. (2010). *Importancia del método estadístico para el cálculo de la CE_{50} y CE_{95} de algunos isotiocianatos evaluados contra *Rhizoctonia solani* Kubn.* Universidad Nacional de Colombia. Revista Agronomía Colombiana. Vol. 28. No. 2. Pp. 235-244.
- Osuna-Torres, L. 2005. *Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales: estudio etnobotánico, fitoquímico y farmacológico.* Editorial Universitat de Barcelona. Barcelona – España.
- Pérez, O. Lazo, F. 2010. *Ensayo de Artemia: Útil herramienta de trabajo para ecotoxicólogos y químicos de productos naturales.* Grupo de plagas Agrícolas. Dirección de Protección de plantas. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. La Habana – Cuba. Tomado de:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1010-27522010000100008&script=sci_arttext&tlng=pt
- Sepúlveda Jiménez, G. Porta Ducoing, H. Rocha Sosa, M. 2003. *La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas.* Revista Mexicana de Fitopatología, Vol. 21. No.3. pp. 355-36

Anexo No. 9. Participación en Póster XXXII Congreso Argentino de Química.



Evaluación biológica de los extractos de *Eupodium pittieri*: Un helecho empleado en Colombia para el crecimiento del Vello Facial

Castañeda-Gómez, Jhon F¹., Morales-Loaiza, Aldemar²., Valderrama-Córdoba, Yilber A³.

¹Doctor en Ciencias. Universidad Surcolombiana. Neiva—Colombia. ^{2,3}Licenciado en Formación. Licenciatura en Ciencias Naturales: Física, Química y Biología. Universidad Surcolombiana. Neiva—Colombia.

Introducción

Eupodium pittieri es un helecho de la familia *Marattiaceae* (pteridofita), cuyo material vegetal en estado joven es empleado para el crecimiento del vello facial en el municipio de Acevedo, Huila (Colombia). En la actualidad, no hay suficientes y relevantes soportes científicos acerca de la toxicidad y diversidad de los metabolitos secundarios de esta planta. El objetivo de esta investigación fue realizar el análisis fitoquímico preliminar [1,2], evaluar el efecto biocida sobre *Artemia salina* y el potencial alelopático sobre semillas de *Lactuca sativa* de los extractos obtenidos.

Metodología



Resultados

Metabolitos Secundarios

Mediante las pruebas fitoquímicas, se determinó la presencia de flavonoides en los extractos clorofórmico y metanólico (Tabla 1). Adicionalmente, las pruebas mostraron la presencia de saponinas, alcaloides, esteroides y/o triterpenos en los tres extractos.

METABOLITOS	PRUEBA	Extracto Hexánico	Extracto Clorofórmico	Extracto Metanólico
Flavonoides	Shinoda	-	++	+++
	Zn/HCl	-	+	-
	H ₂ SO ₄	++	-	-
Saponinas	Salkowski	++	-	-
	Burchard	++	+	+++
Alcaloides	Dragendorff	++	+++	+
	Mayer	+	+	++
	Wagner	+++	+	++
	Bouchardat	++	+	+
Fenoles	Sonnencheins	+	+	+
	FeCl ₃	++	+	-
Azúcares reducto-	Fehling	++	+	-
Aminoácidos libres	Ninhidrina	-	-	-
Esteroides y/o Triterpenos	Lieberman-Butchard	++	+	+++
	Glicósidos	++	+	-
Carbohidratos	Molish	-	-	-
+++ Alta Presencia ++ Media Presencia + Baja Presencia - Presencia Negativa				

Toxicidad sobre *Artemia Salina*

Se determinó la concentración letal media (CL50) de 794.3 ppm, 791.5 ppm y 676.0 ppm para los extractos hexánico, clorofórmico y metanólico, determinándose así su bajo potencial biocida [3] (Figura 1).

Conclusiones

Se logró identificar la variedad de metabolitos secundarios presentes en *E. pittieri*, mediante las distintas pruebas cualitativas. Por lo tanto, alcaloides, terpenos, flavonoides, esteroides, cumarinas y azúcares reductores dieron positivo en los extractos de esta pteridofita.

Los valores de concentración letal media para *Artemia salina*, que se estimaron para los extractos hexánico, clorofórmico y metanólico fueron 794.3 ppm, 791.5 ppm y 676.0 ppm respectivamente; destacándose la baja toxicidad de los extractos. Adicionalmente, se observó que el extracto clorofórmico inhibió significativamente la germinación de las semillas de *Lactuca sativa* en comparación con los otros dos extractos a 200 ppm. Finalmente, se logró apreciar que los tres extractos de *Eupodium pittieri* promovieron el crecimiento radicular de las semillas de lechuga a una concentración de 200 ppm y durante 24 horas.

Referencias

- [1] Domínguez, J. A. (1985). "Métodos de Investigación Fitoquímica". Editorial Limusa. México D.F.
- [2] Campusano, Y. Fonseca, L. Almeida, M. Fonseca, A. Reytor, N. 2010. Tamizaje fitoquímico de extractos etéreo, alcohólico y acuoso de hojas de *Pteris vittata* L. Universidad de Buenos Aires – Argentina. Revista Química Viva. Vol. 9. No. 1. Abril de 2010. Pp. 30-34.
- [3] CYTED: Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. 2014. Tomado de: <http://www.cytel.org>



XXXII Congreso Argentino de Química—Marzo 12-15 de 2019 Buenos Aires—Argentina



Toxicidad sobre *Artemia salina*

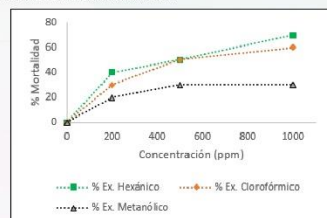


Figura No. 1. Resultados Toxicidad de extractos sobre *A. salina*.

Efecto Alelopático



Se valoró el efecto alelopático de los extractos de *E. pittieri* sobre *L. sativa*, encontrando un potencial promotor del crecimiento radicular, efectuado principalmente por el extracto Hexánico, Metanólico y Clorofórmico, respectivamente.

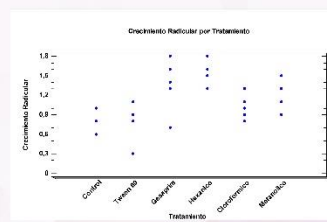


Figura No. 2. Resultados de Crecimiento radicular por tratamiento.

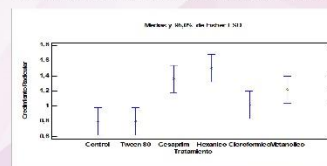


Figura No. 3. Medias Significativas de los tratamientos. I.C. 95%

**Nodo
Huila**

La Red Colombiana de Semilleros de Investigación
RedCOLSI - Nodo Huila

Corporación Unificada Nacional
de Educación Superior
"Vigilada Mineducación"

CERTIFICA QUE:

YILBER VALDERRAMA

1081157662

Participó en calidad de Ponente en el XIV Encuentro Departamental de Semilleros de Investigación desarrollado en la Corporación Unificada Nacional de Educación Superior -CUN-, los días 24 y 25 de mayo de 2018.
Dado en Neiva, a los 25 días del mes de Mayo de 2018.

Carlos Francisco Covalada Polo
Coordinador Nodo Huila

**XIV
ENCUENTRO DEPARTAMENTAL
DE SEMILLEROS DE INVESTIGACIÓN**

**Nodo
Huila**

La Red Colombiana de Semilleros de Investigación
RedCOLSI - Nodo Huila

Corporación Unificada Nacional
de Educación Superior
"Vigilada Mineducación"

CERTIFICA QUE:

ALDEMAR MORALES LOAIZA

1075311145

Participó en calidad de Ponente en el XIV Encuentro Departamental de Semilleros de Investigación desarrollado en la Corporación Unificada Nacional de Educación Superior -CUN-, los días 24 y 25 de mayo de 2018.
Dado en Neiva, a los 25 días del mes de Mayo de 2018.

Carlos Francisco Covalada Polo
Coordinador Nodo Huila

**XIV
ENCUENTRO DEPARTAMENTAL
DE SEMILLEROS DE INVESTIGACIÓN**

Anexo No. 11. Participación en VI Congreso Nacional en Educación en Ciencias y Tecnología.



Anexo No. 12. Participación en II Simposio de Investigación en Biodiversidad.

**El Herbario de la Universidad Surcolombiana, SURCO,
el Grupo de Investigación y Pedagogía en Biodiversidad, GIPB
y el Semillero Mamakiwe**

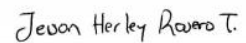
Certifican que:

ANA MARÍA MORA LÓPEZ
Identificado con C.C. No 1.075.310.494
Participó en calidad de Ponente en el

II SIMPOSIO DE INVESTIGACIÓN EN BIODIVERSIDAD
Realizado en la ciudad de Neiva, el 09 y 10 de
diciembre de 2019, con una intensidad de 16 horas


MSc. Hilda del Carmen Dueñas Gómez
Coordinadora del Herbario SURCO


UNIVERSIDAD
SURCOLOMBIANA
HERBARIO SURCO


Mg. Jeison Herley Rosero Toro
Auxiliar del Herbario SURCO


GIPB
GRUPO DE INVESTIGACION Y
PEDAGOGIA EN BIODIVERSIDAD



**El Herbario de la Universidad Surcolombiana, SURCO,
el Grupo de Investigación y Pedagogía en Biodiversidad, GIPB
y el Semillero Mamakiwe**

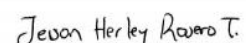
Certifican que:

ALDEMAR MORALES LOAIZA
Identificado con C.C. No 1.075.311.145
Participó en calidad de Ponente en el

II SIMPOSIO DE INVESTIGACIÓN EN BIODIVERSIDAD
Realizado en la ciudad de Neiva, el 09 y 10 de
diciembre de 2019, con una intensidad de 16 horas


MSc. Hilda del Carmen Dueñas Gómez
Coordinadora del Herbario SURCO


UNIVERSIDAD
SURCOLOMBIANA
HERBARIO SURCO


Mg. Jeison Herley Rosero Toro
Auxiliar del Herbario SURCO


GIPB
GRUPO DE INVESTIGACION Y
PEDAGOGIA EN BIODIVERSIDAD



**El Herbario de la Universidad Surcolombiana, SURCO,
el Grupo de Investigación y Pedagogía en Biodiversidad, GIPB
y el Semillero Mamakiwe**

Certifican que:

YILBER ALEXIS VALDERRAMA CORDOBA

Identificado con C.C. No 1.081.157.662
Participó en calidad de Ponente en el

II SIMPOSIO DE INVESTIGACIÓN EN BIODIVERSIDAD

Realizado en la ciudad de Neiva, el 09 y 10 de
diciembre de 2019, con una intensidad de 16 horas

Hilda Del Carmen Dueñas Gómez

MSc. Hilda del Carmen Dueñas Gómez
Coordinadora del Herbario SURCO



UNIVERSIDAD
SURCOLOMBIANA

HERBARIO SURCO



Jeison Herley Rosero Toro

Mg. Jeison Herley Rosero Toro
Auxiliar del Herbario SURCO

