



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**“FENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL  
EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS ECOTIPOS AREQUIPEÑOS DE  
*Ligaria cuneifolia* (LIGA LIGA)”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO  
FARMACEÚTICO**

**AUTORES:**

Bach. GONZALES ESCOBEDO, CRISTINA YSABEL

Bach. PERALTA CCAMA, SONIA RITA

**ASESORA:**

Mg. HERNANDEZ GUERRA, REYNA EMPERATRIZ

**LIMA – PERÚ**

**2021**

## **DEDICATORIA**

A nuestro creador mi Dios, quien siempre está presente en mis buenos y malos momentos que me levanta de cada tropiezo en esta linda carrera universitaria, a mi Suegro Miguel Arce Álvarez quien fue la razón para la elaboración de esta tesis, a mi hogar que son el motor y motivo para seguir adelante a mis seres queridos que hoy nos cuidan desde el cielo y a mis seres amados en esta tierra.

**Cristina**

A las personas más importantes en mi vida; mis padres, esposo, hijos y hermanos, quienes con mucho amor y cariño me inspiraron a seguir adelante, por brindarme su confianza y apoyo incondicional, que ha sido importante para mi formación personal y profesional.

**Sonia**

## **AGRADECIMIENTO**

A mi esposo Miguel Arce Gallegos, quien siempre me dio la fuerza para seguir adelante, por sus palabras y consejos para culminar con una de mis metas.

A la Universidad María Auxiliadora quien me abrió las puertas cuando más lo necesitaba para poder culminar con uno de mis sueños de ser Químico Farmacéutico.

A mi asesora de tesis Reyna Hernández por la paciencia y tiempo dedicado.

Agradezco a mis profesores de mi linda carrera universitaria ya que me enseñaron y compartieron conmigo grandes momentos.

**Cristina**

Primeramente, agradezco a Dios por su infinita bendición, por darme salud y fortaleza para hacer realidad este sueño anhelado.

A la Universidad María Auxiliadora en especial a nuestra asesora Mg. QF Reyna Hernández Guerra por su orientación, motivación, dedicación y apoyo incondicional.

A cada una de las personas que han formado parte de mi vida profesional, en especial a los docentes de la universidad que con sus sabios conocimientos supieron alimentar mi formación profesional de una etapa importante de mi vida.

**Sonia**

## ÍNDICE GENERAL

RESUMEN .....	viii
ABSTRACT .....	ix
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	6
III. RESULTADOS .....	12
IV. DISCUSIÓN.....	19
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	24
ANEXOS .....	28

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Procedimiento de preparación de soluciones de calibración del método para la determinación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. ....	10
<b>Tabla 2.</b> Procedimiento de preparación de las soluciones de calibración para determinar la capacidad antioxidante por el método de DPPH. ....	11
<b>Tabla 3.</b> Absorbancias de las soluciones de calibración para determinar el contenido de fenoles totales por el método Folin-Ciocalteu.....	12
<b>Tabla 4.</b> Contenido de fenoles totales en extractos etanólicos de tallos y hojas de Liga Liga por el método Folin-Ciocalteu.....	13
<b>Tabla 5.</b> Análisis de varianza del contenido de fenoles totales en extractos etanólicos de tallos y hojas de Liga Liga por el método Folin-Ciocalteu.....	14
<b>Tabla 6.</b> Datos de la curva de calibración para determinar la capacidad antioxidante por el método de DPPH utilizando Trólox como referencia.....	15
<b>Tabla 7.</b> Capacidad antioxidante en extractos etanólicos de hojas y tallos de Liga Liga por el método DPPH.....	17
<b>Tabla 8.</b> Análisis de varianza del contenido de la capacidad antioxidante en extractos etanólicos de tallos y hojas de Liga Liga por el método DPPH. ....	17
<b>Tabla 9.</b> Fenoles Totales y Capacidad Antioxidante de Liga Liga Reportadas. ....	20

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Gráfico de calibración para determinar el contenido de fenoles totales por el método Folin-Ciocalteu.....	12
<b>Figura 2.</b> Diagrama de cajas en la comparación del contenido de fenoles totales por el método Folin-Ciocalteu.....	14
<b>Figura 3.</b> Prueba de Tukey de la comparación del contenido de fenoles totales por el método Folin-Ciocalteu.....	15
<b>Figura 4.</b> Gráfico de calibración para determinar el contenido de la capacidad antioxidante por el método DPPH. ....	16
<b>Figura 5.</b> Diagrama de cajas en la comparación de la capacidad antioxidante por el método DPPH. ....	18
<b>Figura 6.</b> Prueba de Tukey de la comparación de la capacidad antioxidante por el método DPPH.....	18
<b>Figura 7.</b> Composición química de <i>Ligaria cuneifolia</i> (Catequina, epicatequina, Catequino-4- $\beta$ -ol y Quercetina).....	22
<b>Figura 8.</b> Composición química de <i>Ligaria cuneifolia</i> (Ácido gálico y Estructura general del flavonol).....	22

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A. Operalización de las variables.....	28
Anexo B. Instrumentos de recolección de datos. ....	29
Anexo C. Clasificación Taxonómica de Ligaria cuneifolia (Liga-Liga). ....	30
Anexo D. Evidencias de Trabajo en Campo.....	32

## RESUMEN

**Objetivo:** La presente investigación tuvo por objetivo principal determinar el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante en dos ecotipos Arequipeños de *Ligaria cuneifolia* (Liga Liga).

**Metodología:** Se recolectaron ecotipos de los distritos de Sabandía y Chiguata que consistieron en hojas y tallos. Los extractos etanólicos de hojas y tallos fueron obtenidos por el método de extracción por Soxhlet.

**Resultados:** Los resultados indican que, el ecotipo Chiguata presentan una concentración de fenoles totales en tallos y hojas  $5.79 \pm 0.11$  y  $9.10 \pm 0.19$  mg AG/L respectivamente y del ecotipo Sabandía en tallo y en hojas  $7.15 \pm 0.16$  y  $9.54 \pm 0.21$  mg AG/L respectivamente. La actividad antioxidante para los extractos etanólicos del ecotipo Chiguata presentan valores en tallo y en hojas  $10.56 \pm 1.0$  y  $17.91 \pm 0.59$  mg Trólox/mL respectivamente y del ecotipo Sabandía en tallo y en hojas  $16.18 \pm 0.45$  y  $16.55 \pm 0.39$  mg Trólox/mL respectivamente.

**Conclusión:** Se encontró que *Ligaria cuneifolia* (Liga Liga) podría poseer mayor cantidad de componentes activos en las hojas que en el tallo.

**Palabras clave.** *Ligaria cuneifolia*; Liga Liga; fenoles totales; Capacidad antioxidante.



## ABSTRACT

**Objective:** The main objective of this research was to determine the content of total phenols and antioxidant capacity in two ecotypes of *Ligaria cuneifolia* (Liga Liga) from Arequipa.

**Methodology:** Ecotypes were collected from the districts of Sabandía and Chiguata consisting of leaves and stems. Ethanolic extracts of leaves and stems were obtained by Soxhlet extraction method.

**Results:** The results indicate that the Chiguata ecotype presents a concentration of total phenols in stems and leaves of  $5.79 \pm 0.11$  and  $9.10 \pm 0.19$  mg AG/L respectively and of the Sabandia ecotype in stem and leaves of  $7.15 \pm 0.16$  and  $9.54 \pm 0.21$  mg AG/L respectively. The antioxidant activity for the ethanolic extracts of the ecotype Chiguata presented values in stem and leaves  $10.56 \pm 1.0$  and  $17.91 \pm 0.59$  mg Trólox/mL respectively and of the ecotype Sabandía in stem and leaves  $16.18 \pm 0.45$  and  $16.55 \pm 0.39$  mg Trólox/mL respectively.

**Conclusion:** It was found that *Ligaria cuneifolia* (Liga Liga) could have a higher amount of active components in the leaves than in the stem.

**Keywords.** *Ligaria cuneifolia*; Liga Liga; total phenols; antioxidant capacity.

## I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad es imprescindible investigar sobre nuevas alternativas terapéuticas para el tratamiento de enfermedades y su prevención, es así que la terapia con plantas medicinales fue siempre una alternativa eficaz desde la antigüedad y más aún en el Perú ya que es un país que tiene amplia flora y fauna; sin embargo la situación problemática comienza por la falta de investigación a profundidad de las propiedades de especies vegetales, que podría contribuir en el campo de la medicina.

Esto debido a que el oxígeno al ser imprescindible para la vida además es fuente de varias enfermedades debido a la producción incontrolada de los radicales libres de oxígeno (RLO) que llegan a dañar a las macromoléculas como los lípidos, carbohidratos, proteínas y ácidos nucleicos que modifican a los procesos celulares.(1) El excedente de radicales libres (RL) llega a romper el equilibrio dando como resultado el estrés oxidativo (EO). Los RL se producen en reacciones metabólicas, exposición a radiaciones ionizantes, la luz ultravioleta, la contaminación al medio ambiente, etc. (2) Entonces, estas especies reactivas del oxígeno (ERO), en particular el radical hidroxilo, es altamente reactivo, y es probable que presente reacciones secundarias útiles o nocivas. (3,4) Los radicales libres producirán sus efectos en función al estado de su sistema neutralizador, la localización y su concentración. (5)

Para neutralizar a las ERO es necesario el consumo de antioxidantes, se sabe que los factores ambientales y la radiación pueden afectar en el comportamiento de la planta (6,7), por ello, las variaciones en las condiciones ambientales podrían influir de dos formas; de manera óptima o perjudicial en cuanto a la concentración de los componentes de una especie vegetal (8). Por lo expuesto en la presente investigación se realizó una comparación en cuanto a la concentración de fenoles totales y actividad antioxidante de dos ecotipos Arequipeños de *Ligaria cuneifolia*. Se considera la siguiente información de base teórica relacionada; *La Ligaria cuneifolia* (R y P) Tiegh. Pertenece a la familia (*Loranthaceae*) de especie hemiparasitaria, y se utiliza en la medicina popular argentina; es conocido como el muérdago argentino. (9,10) *Ligaria cuneifolia* es una planta arbustiva endémico y

se desarrolla espontáneamente en regiones áridas y semiáridas del noroeste de Argentina entre 1800 y 2700 m.s.n.m. (11)

Esta planta está distribuida también en el Perú y está presente en la ciudad de Arequipa, por otro lado, también se le conoce como “liga” y crece principalmente sobre el árbol de algarrobos y también sobre los arbustos entre ellos, las jarillas, retamas, etc. (12) Sus flores presentan características ornitófilas, (13,14) que es un conjunto de rasgos florales con la finalidad de atraer a las aves polinizadoras, especialmente a los picaflores. Su flor es roja, la morfología tubular, de olor característico y presenta abundante néctar alto en sacarosa. (15) Su néctar está ubicado en el fondo del tubo floral. (16)

La composición química de *Ligaria cuneifolia* presenta taninos y flavonoides, dentro de ello se considera a la quercetina, epicatequina, quercetina-3-O-xilosido; catechin-4- $\beta$ -ol; quercetin-3-O- $\alpha$ -arabinoside; dimers of catechin-4- $\beta$ -ol; quercetin-3-O- $\beta$ -arabinoside; oligomers of catechin-4- $\beta$ -ol, quercetin-3-O-rhamnoside; polímeros of catequina-4- $\beta$ -ol; citoquina (Figura 2). (17) Otro estudio revela que posee flavonol y diglicósidos, y ácido gálico. (18)

Se utilizan en medicina tradicional como antibacterianas, hemostáticas y vulnerarias, (19) ya que exhibió actividad inhibitoria significativa contra cepas clínicas de referencia: *Escherichia coli* (MIC = 156  $\mu$ g/mL) y *Staphylococcus aureus* (MIC = 78  $\mu$ g/mL, MBC = 312  $\mu$ g/mL). (20)

De acuerdo a la situación problemática y el marco referencial se dispone de los siguientes antecedentes del estudio a desarrollarse.

Ricco M, et al. (2018) En este artículo científico publicado en la revista Dominguezía (Córdoba Argentina, 2018), determinaron el perfil de polifenoles de especímenes silvestres en diferentes extractos, así también la forma ideal para iniciar sus cultivos *in vitro*. En su análisis fitoquímico se realizaron cromatografías mono-dimensionales dando como resultado la presencia de flavonoides, derivados hidroxicinámicos y proantocianidinas en los extractos de las diferentes partes de la planta. En su análisis cuantitativo los extractos de las hojas presentaron alto contenido de flavonoides en cambio los extractos de las flores presentaron proantocianidinas. (21)

Guija E, et al (2015) En este artículo publicado en la revista científica Scielo, se realizó una evaluación de la técnica 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH). El método es utilizado con la finalidad de determinar la capacidad antioxidante de los

compuestos sintéticos y de alimentos, se utilizó las concentraciones entre 0.037 y 0,200mM de radicales libres y para su evaluación se utilizó los estándares de catequina y epicatequina en una concentración que oscila entre  $6,67 \times 10^{-3}$  y  $2,2 \times 10^{-2}$  mM. Los valores de IC50 para ambos estándares fueron dependientes de la concentración de DPPH, habiéndose observado que el valor anterior aumenta al incrementar la concentración de DPPH. El resultado obtenido de este estudio indica la importancia de la concentración del DPPH para evaluar la capacidad antioxidante. (Lima Perú, 2015). (22)

Dobrecky C, et al. (2014) En este artículo publicado en la revista Dominguezia Argentina, valoraron el contenido de polifenoles en diferentes extractos además de evaluar la relación de estos compuestos con la actividad antioxidante. Para ello, cuantificaron fenoles totales, de ácidos hidroxicinámicos, flavonoides totales y de taninos condensados en las fracciones acetato de etilo, butanólica y acuosa. En estas mismas fracciones se realiza también la determinación de actividad antioxidante total hidrosoluble mediante el método de ABTS y la capacidad antioxidante total liposoluble mediante el método de DPPH. Los resultados obtenidos indicaron que la fracción butanólica presenta mayor capacidad antioxidante mediante el método de DPPH asociado a un mayor contenido de taninos condensados de alto peso molecular, la fracción acetato de etilo presenta mayor contenido de polifenoles, que implica un significativo poder antioxidante liposoluble y mayor capacidad antioxidante mediante el método de ABTS". (23)

Gutiérrez E, Muñoz G. (2014) En su tesis publicada en la Universidad Católica de Santa María Arequipa, determinaron si el extracto y la crema con extracto de las hojas de *Ligaria cuneifolia* (suelda con suelda) presenta efecto antiinflamatorio tópico en ratas con inflamación inducida experimentalmente. Los extractos se obtuvieron mediante el uso de un equipo Soxhlet. En esta extracción se emplearon tres tipos de disolventes, entre ellos; el acetato de etilo, alcohol etílico y benceno; los cuales fueron evaluados mediante una prueba piloto inicial utilizando doce animales de experimentación y fueron repartidos en cuatro grupos incluyendo al grupo control, dio como resultado que presenta mayor cantidad antiinflamatoria el grupo que fue tratado con el extracto etanólico. En la cromatografía de capa fina, se halló los siguientes metabolitos: flavonoides, taninos y terpenos. (24)

Soberón J, et al. (2014) En el artículo publicado en ScienceDirect, se utilizaron métodos de bioautografía y microdilución en caldo para estudiar la actividad antibacteriana de las muestras contra cepas bacterianas. Se alcanzaron las concentraciones inhibitorias mínimas (MIC) y las concentraciones bactericidas mínimas (MBC) de las muestras. Se llevó a cabo un aislamiento e identificación de compuestos activos guiados por actividad antibacteriana para el extracto metanólico de *L. cuneifolia* (LCME). Tanto los extractos metanólicos como los acuosos de *L.cuneifolia* mostraron actividades inhibitoras contra las bacterias fitopatógenas, con MIC que oscilan entre 2,5 y 156  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para LCME. Los compuestos activos de LCME se identificaron como flavonol mono y diglicósidos y ácido gálico. (25)

Arenas C, et al. (2011) En este artículo publicado en la revista ECIPERÚ Perú, justificando su estudio en la “limitada información sobre sus propiedades farmacológicas de la Liga-Liga, procedieron a estudiar a esta especie vegetal preparando un extracto metanólico obteniendo como resultado que el contenido total de polifenoles demostró una significativa cantidad de compuestos bioactivos. La *Ligaria cuneifolia* exhibió una actividad dependiente de la concentración en todas las líneas celulares cancerosas. El extracto metanólico fue más activo en células de cáncer de colon ( $\text{IC}_{50} = 28.14 \text{ mg/ml}$ ). Fueron identificados polifenoles como: quercetina, ácido clorogénico, ácido elálgico y ácido clorogénico glicósido”. (26)

En relación a la justificación se puede mencionar que; el término fenoles o también conocidos como polifenoles presentan estructuras complejas, siendo los antioxidantes de gran importancia en la salud pública ya que están involucrados para prevenir algunas enfermedades y se obtiene mediante el consumo de los productos naturales nutraceuticos. (27,28)

El potencial de los constituyentes antioxidantes de los materiales vegetales para la conservación de la salud y la prevención frente a las enfermedades degenerativas también está generando interés entre los científicos. (29) Los antioxidantes pueden retrasar o inhibir la oxidación de lípidos y otras moléculas al inhibir el inicio o la propagación de reacciones oxidativas en cadena. (30) El efecto antioxidante en especial se debe a componentes fenólicos; ácidos fenólicos, diterpenos fenólicos y

flavonoides, (31) los ácidos fenólicos y los diterpenos fenólicos. (32) Los compuestos fenólicos poseen actividad antioxidante debido a sus propiedades de óxido reducción y pueden presentar una función importante en la absorción y neutralización de radicales libres, la extinción del oxígeno singlete y triplete, o la descomposición de peróxidos. (33) Muchos de estos fitoquímicos poseen capacidades antioxidantes significativas que pueden estar asociadas con una menor incidencia y menores tasas de mortalidad por cáncer en varias poblaciones humanas. (34)

Por otro lado, en cuanto a las actividades antirradicales de varios antioxidantes se determinan en la mayoría de las veces usando el radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) y la banda de absorción a 517nm que desaparece tras la reducción por un compuesto antirradical lo cual permite determinar la actividad antioxidante. (35)

En consecuencia este estudio se justifica ya que tiene como fin evaluar la actividad antioxidante de dos ecotipos de *Ligaria cuneifolia* (Liga Liga) por el método DPPH y la concentración de fenoles totales por método de Folin Ciocalteu y la capacidad antioxidante, ya que servirá para investigaciones futuras que aporten en el campo de la medicina.

El objetivo de estudio es determinar la concentración de fenoles totales y actividad antioxidante de extractos etanólicos de dos ecotipos Arequipeños de *Ligaria cuneifolia* (Liga Liga).

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Enfoque y diseño de investigación

Este trabajo de investigación tiene enfoque cuantitativo, en cuanto al diseño metodológico y la investigación es experimental transversal. Es experimental porque aborda 2 requisitos según Hernández, et al., 2007, p 100. El primero se da por una manipulación intencional de una o más variables independientes en cambio el segundo tiene como requisito medir el efecto que ejerce la variable independiente sobre la dependiente. Será considerada confiable la medición si se mide correctamente el efecto. Es un trabajo prospectivo y se realizó la parte experimental entre los meses de diciembre 2020 a enero del 2021.

### 2.2. Población, muestra y muestreo

#### 2.2.1 Población.

Se cuenta con dos ecotipos, uno ubicado en el distrito de Chiguata y el otro en el distrito Sabandía, las dos localidades pertenecen a la provincia y región de Arequipa a una altura de 2235 m.s.n.m.

#### 2.2.2 Muestra.

Se trabajó con la muestra de tallos y hojas de *Ligaría cuneifolia* (liga liga).

#### 2.2.3. Muestreo.

El muestreo fue de tipo intencional no probabilístico ya que no se tiene una población muy extensa de la especie en estudio.

Llevándose el vegetal al Herbarium Arequipense (HUSA) de la Universidad Nacional San Agustín de Arequipa, donde se realizó la identificación taxonómica (ANEXO C).

El proceso de selección, limpieza, secado, pesado y preparación de la muestra vegetal para la extracción etanólico en equipo de Soxhlet se realizó en el laboratorio clínico LLERENA AMES (ANEXO E1)

#### **2.2.4. Criterio de inclusión.**

En cuanto a los criterios de inclusión fueron; las hojas y tallo con buen aspecto, fresco, no deteriorado y libre de microorganismos como hongos, insectos, etc.

### **2.3. Variable de Estudio**

Fenoles totales y actividad antioxidante de extractos etanólicos de dos ecotipos arequipeños de *ligaria cuneifolia* (liga liga).

#### **2.3.1. Variable Independiente: Extracto Etanólico de dos ecotipos de *ligaria cuneifolia* (LIGA LIGA).**

##### **2.3.1.1. Definición conceptual.**

En el extracto etanólico se extrae los compuestos solubles en etanol.

La *Ligaria cuneifolia* (R y P) Tiegh. Pertenece a la familia (*Loranthaceae*) de especie hemiparasitaria, y se utiliza en la medicina popular. (36,37) *Ligaria cuneifolia* es una planta arbustiva endémico y se desarrolla espontáneamente en regiones áridas y semiáridas. (38)

##### **2.3.1.2. Definición operacional:**

Los extractos fluidos se obtuvieron mediante el uso de un equipo de Soxhlet con etanol de 96°.

#### **2.3.2. Variable dependiente: Fenoles Totales y Actividad antioxidante**

##### **2.3.2.1. Definición conceptual.**

Fenoles totales y actividad antioxidante presentes en los extractos fluidos (etanólicos) de hojas pulverizadas de dos ecotipos de *Ligaria cuneifolia* por los métodos de Folin Ciocalteu y DPPH respectivamente.

##### **2.3.2.2. Definición operacional:**

Las variables dependientes se representaron mediante datos cuantitativos de las lecturas e interpretaciones espectrofotométricas



que se registraron en fichas de registro de datos, los cuales se procedieron y ordenaron en tablas de resultados.

## **2.4. Técnica de instrumento de medición**

Las técnicas que se usó durante la recolección de datos son:

- La observación.
- El registro de lectura de absorbancias a 765nm para cuantificación de fenoles totales.
- El registro de lectura de absorbancias a 517nm para la determinación de la actividad antioxidante.

Los instrumentos para la recolección de datos y la medición de variable son:

- Fichas de observación de campo.
- Ficha de registro de ensayo de fenoles totales (espectrofotométrica).
- Ficha de registro de ensayo de capacidad antioxidante (espectrofotométrica)

Las fichas mencionadas se encuentran en el Anexo B.

- Instrumentos concretos
  - Espectrofotómetro de absorbancia de luz visible marca Thermo Scientific Genesys-150.
  - Balanza analítica
  - Cocinilla eléctrica
  - Equipo Soxhlet.
  - Baño maría marca FAITHFUL.

## **2.5. Procedimiento para recolección de datos**

### **2.5.1. Reactivos, materiales y equipos**

Los reactivos DPPH, ácido gálico, carbonato de sodio, Trólox y Folin-Ciocalteu fueron adquiridos del laboratorio Merck. El etanol de 96° utilizado fue JT Baker. Los materiales de vidrio fueron tipo A. Las lecturas de las absorbancias se realizaron en un espectrofotómetro Thermo Scientific Genesys-150. Se utilizó el baño maría FAITHFUL.

### **2.5.2. Obtención del material vegetal**

El material vegetal fue obtenido de los distritos de Chiguata y Sabandía de la ciudad de Arequipa que consistió en hojas y tallos, los cuales, fueron secados a temperatura ambiente en la sombra durante una semana. Una vez secos estos fueron pulverizados y almacenados en la oscuridad.

### **2.5.3. Obtención del extracto**

Los extractos fueron obtenidos por el método de extracción por Soxhlet pesando 20 gramos de cada pulverizado, que fue llevado empacado en papel filtro a la cámara de extracción del equipo. Posteriormente, se adicionó 250 mL de etanol de 96° y se procedió al proceso de extracción durante 6 horas por cada muestra. Los extractos obtenidos fueron concentrados a Baño María hasta 20 mL, a este extracto en adelante se denominará extracto fluido. Los extractos se analizaron de inmediato y el resto fue almacenado a 4 °C.

### **2.5.4. Preparación de soluciones de calibración del método para la determinación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu**

Para la determinación de los fenoles totales; se prepararon soluciones de calibración a concentraciones de ácido gálico entre 0.5 a 10mg/L a partir de una solución Stock de 50mg/L; de estas soluciones se extraen cantidades diferentes ascendentes y se colocaron en fioles de 10mL, se agregó 250µL del reactivo de Folin-Ciocalteu, se adicionó además 2mL de carbonato de sodio a 7.5% como se muestra en la Tabla 1, esta preparación de soluciones se enrasó con agua destilada, finalmente se calentó a 40°C a baño maría durante 15 minutos y se llevó para la lectura de la absorbancia en un espectrofotómetro a 765nm. Las muestras fueron analizadas midiendo 1 mL del extracto fluido y se procedió de la misma forma que los estándares.

**Tabla 1. Preparación de soluciones de calibración del método para la determinación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu.**

<b>Fiola</b>	<b>Ácido Gálico (50 mg/L) (µL)</b>	<b>F-C (µL)</b>	<b>Carbonato de Sodio 7.5 % (µL)</b>	<b>VF (mL)</b>	<b>Concentración de Acido Gálico (mg/L)</b>
1	100	250	2000	10	0.50
2	250	250	2000	10	1.25
3	500	250	2000	10	2.50
4	1000	250	2000	10	5.00
5	1500	250	2000	10	7.50
6	2000	250	2000	10	10.00

\*AG: ácido gálico, F-C: Folin-Ciocalteu, VF: Volumen de Fiola  
Fuente: Elaboración Propia.

### **2.5.5. Preparación de las soluciones de calibración para determinar la capacidad antioxidante por el método de DPPH**

Para la determinación de la capacidad antioxidante; se prepararon soluciones de calibración a partir de una solución de 10mg/mL de Trólox, de estas soluciones se extraen cantidades diferentes ascendentes y se colocaron en fiolas de 10mL, obteniéndose concentraciones de 0.1 a 1.5 mg/mL, posteriormente se tomaron 10µL de cada solución y se hizo reaccionar con 3 mL de una solución de DDPH de 0.05mg/ mL; la cual fue preparada según las indicaciones del fabricante, al tubo que contenía 0.39 mg se le adicionó 3.9 de etanol al 80% quedando una concentración de 0.1mg/ml, luego se agregó 3.9 de etanol al 80% a la solución madre quedando una concentración de 0.05mg/mL de solución. Finalizada la reacción se dejó en reposo en la oscuridad durante 15 minutos y se leyeron las absorbancias a 517nm en un espectrofotómetro, obteniéndose un absorbancia de 0,970nm para el DPPH. Para el análisis de los extractos se realizaron diluciones 1/10 estas fueron preparadas midiendo 1 mL del extracto fluido en una fiola de 10 mL que fue enrasada con etanol.

**Tabla 2. Preparación de las soluciones de calibración para determinar la capacidad antioxidante por el método de DPPH.**

Fiola	Trólox (10 mg/mL) ( $\mu$ L)	VF (mL)	Concentración final de Trólox (mg/mL)	Tubo de ensayo	DPPH (0.05 mg/mL) (mL)
1	100	10	0.10	10 $\mu$ L	3
2	250	10	0.25	10 $\mu$ L	3
3	500	10	0.50	10 $\mu$ L	3
4	750	10	0.75	10 $\mu$ L	3
5	1000	10	1.00	10 $\mu$ L	3
6	1500	10	1.50	10 $\mu$ L	3

\*AG: ácido gálico, F-C: Folin-Ciocalteu, VF: Volumen de Fiola.  
Fuente: Elaboración Propia.

## 2.6. Métodos de Análisis Estadísticos.

El procesamiento de los datos en la presente investigación se realizó con Microsoft Excel mediante la aplicación de análisis de datos donde se utilizó la prueba F para determinar la homogeneidad de varianzas y la prueba t para determinar si existe diferencia significativa entre la capacidad antioxidante y fenoles totales de tallos y hojas. La probabilidad  $p < 0.05$  fue considerada como diferencia significativa. Además, se realizó las interpretaciones por comparación de los valores de t y F para interpretar la similitud de los tratamientos.

## 2.7. Aspectos éticos

La investigación se elaboró considerando el cuidado del medio ambiente. Asimismo, se toma en cuenta que no se deterioró el medio ambiente para tal efecto.

### III. RESULTADOS

#### 3.1. Concentración de fenoles totales en los extractos etanólicos de hojas y tallos de Liga Liga.

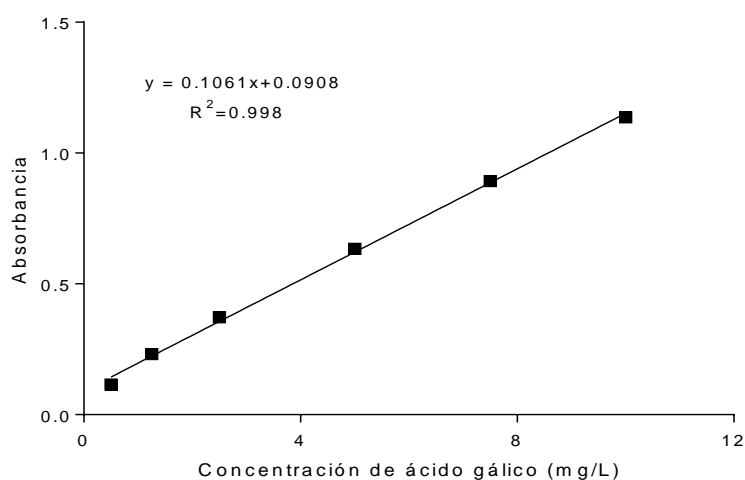
En la Tabla 3 se presenta los resultados luego de leer las absorbancias a las concentraciones de ácido gálico de 0.50, 1.25, 2.50, 5.00, 7.50 y 10.00 mg/L.

**Tabla 3. Absorbancias de las soluciones de calibración para determinar el contenido de fenoles totales por el método Folin-Ciocalteu.**

Concentración de ácido gálico (mg/L)	Absorbancia
0.50	0.115
1.25	0.232
2.50	0.372
5.00	0.634
7.50	0.893
10.00	1.137

Fuente: Elaboración Propia.

En la Figura 1 se presenta el gráfico de calibración donde se observa que, el coeficiente de determinación  $R^2$  es 0.998 el cual es mayor a 0.995 lo cual indica que hay una tendencia lineal entre la concentración de ácido gálico y la absorbancia para las soluciones de calibración preparadas.



**Figura 1. Gráfico de calibración para determinar el contenido de fenoles totales por el método Folin-Ciocalteu**

Fuente: Elaboración Propia.

Asimismo, se observa la ecuación de la recta donde: “y” corresponde a la absorbancia y “x” corresponde a la concentración equivalente a ácido gálico en mg/mL. Reemplazando y despejando la concentración, tenemos la siguiente ecuación:

$$\text{Concentración AG (mg/L)} = \frac{\text{Absorbancia} - 0.0908}{0.1061}$$

Con la ecuación anterior se cuantificó los fenoles totales en los extractos etanólicos de hojas y tallos de Liga Liga.

En la Tabla 4 se observa la concentración calculada de fenoles totales en los extractos etanólicos obtenidos expresada en mg de ácido gálico por L (mg AG/L).

**Tabla 4. Contenido de fenoles totales en extractos etanólicos de tallos y hojas de Liga Liga por el método Folin-Ciocalteu.**

Extracto fluido	Absorbancia	mg AG/L	Fenoles totales mg AG/L ± DE
Tallo-Chiguata	0.704	5.78	5.79 ± 0.11
	0.718	5.91	
	0.694	5.69	
Hojas-Chiguata	1.038	8.93	9.10 ± 0.19
	1.078	9.30	
	1.053	9.07	
Tallo-Sabandía	0.851	7.16	7.15 ± 0.16
	0.832	6.99	
	0.866	7.31	
Hojas-Sabandía	1.109	9.60	9.54 ± 0.21
	1.122	9.72	
	1.079	9.31	

Fuente: Elaboración Propia.

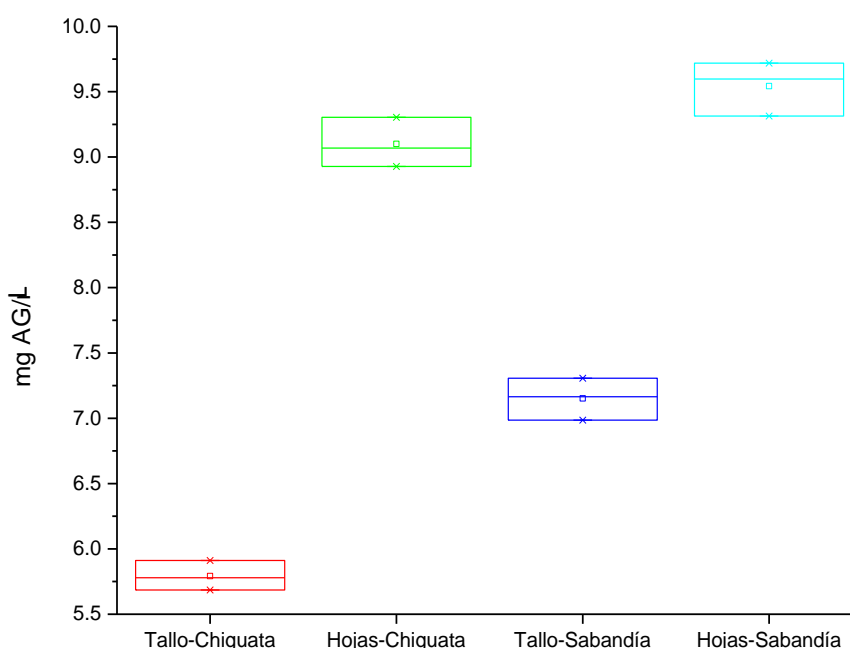
El análisis de varianza ANOVA de una vía, realizado a los datos obtenidos de la Tabla 4 se presentan en la Tabla 5. La probabilidad resultó ser menor a 0.05 lo cual indica que, al menos un grupo difiere significativamente de los demás al 95 % de confianza. Esta interpretación se corrobora con la comparación de los valores de “F” ya que el F crítico es menor que el valor de F experimental (309.46 > 4.07).

**Tabla 5. Análisis de varianza del contenido de fenoles totales en extractos etanólicos de tallos y hojas de Liga Liga por el método Folin-Ciocalteu.**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	27.43	3	9.14	309.47	0.000	4.07
Dentro de los grupos	0.24	8	0.03			
Total	27.67	11				

Fuente: Elaboración Propia.

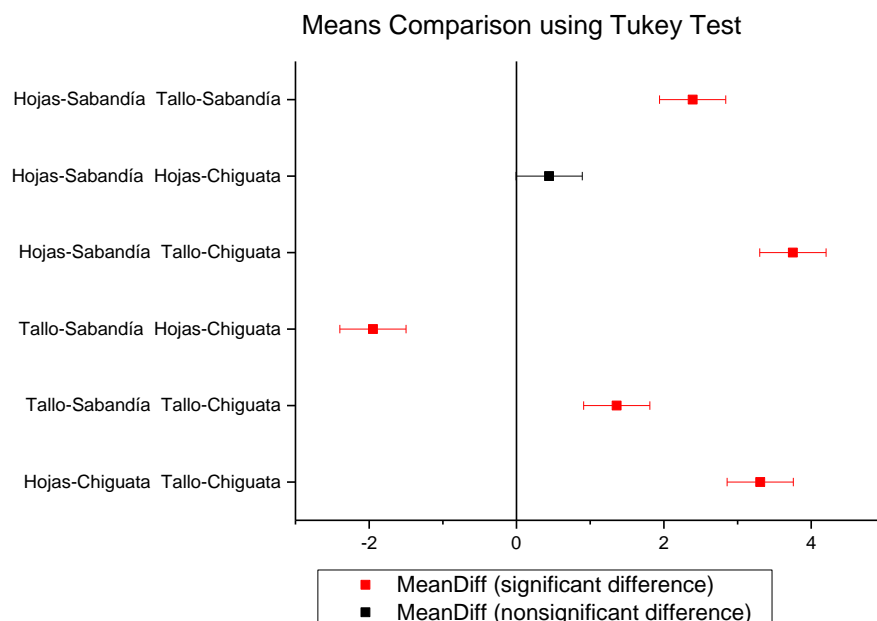
En la Figura 2 se observa el diagrama de cajas donde se confirmó gráficamente la diferencia significativa en al menos un grupo de estudio. También se nota que existe una ligera aproximación entre los valores de mg de AG/mL de hojas de Chiguata y Hojas de Sabandía.



**Figura 2.** Diagrama de cajas en la comparación del contenido de fenoles totales por el método Folin-Ciocalteu.

Fuente: Elaboración Propia.

Posteriormente, se realizó una prueba confirmatoria de Tukey donde se observa que al comparar todos los grupos se encuentra que no hay diferencia significativa entre el contenido de fenoles totales encontrado en los extractos de Hojas de Sabandía y de Chiguata al 95 % de confianza. Figura 3.



**Figura 3.** Prueba de Tukey de la comparación del contenido de fenoles totales por el método Folin-Ciocalteu.

Fuente: Elaboración Propia.

### 3.2. Determinación de la capacidad antioxidante en extractos etanólicos de hojas y tallos de Liga Liga por el método DPPH

En la Tabla 6 se presentan las absorbancias del resultado de hacer reaccionar 10  $\mu$ L de cada solución de calibración con 3 mL de DPPH a las concentraciones de 0.10, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 y 1.50 mg/mL de Trólox.

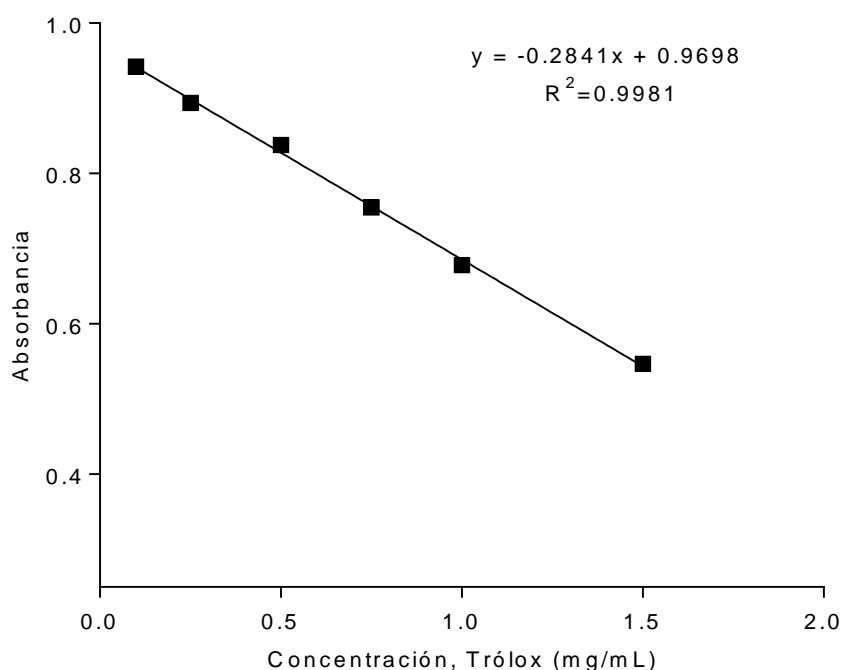
**Tabla 6. Datos de la curva de calibración para determinar la capacidad antioxidante por el método de DPPH utilizando Trólox como referencia.**

Trólox (mg/mL)	Absorbancia
0.10	0.942
0.25	0.894
0.50	0.838
0.75	0.755
1.00	0.678
1.50	0.547

Fuente: Elaboración Propia.



En la Figura 4 se presenta el gráfico de calibración donde se observa que, el coeficiente de determinación  $R^2$  es 0.9981 el cual es mayor a 0.995 lo cual indica que hay una tendencia lineal entre la concentración de trólox y la absorbancia para las soluciones de calibración preparadas.



**Figura 4.** Gráfico de calibración para determinar el contenido de la capacidad antioxidante por el método DPPH.

Fuente: Elaboración Propia.

En la Figura 4 se observa la ecuación de la recta donde: “y” corresponde a la absorbancia y “x” corresponde a la concentración de Trólox en mg/mL. Reemplazando y despejando la concentración, tenemos la siguiente ecuación:

$$\text{Trólox (mg/mL)} = \frac{\text{Absorbancia} - 0.9698}{-0.2841}$$

Con la ecuación anterior se determinó la capacidad antioxidante en los extractos etanólicos de hojas y tallos de Liga Liga.

En la Tabla 7 se observa la capacidad antioxidante en los extractos etanólicos de hojas y tallos expresado en mg de Trólox/mL.

**Tabla 7. Capacidad antioxidante en extractos etanólicos de hojas y tallos de Liga Liga por el método DPPH.**

Extracto fluido	Absorbancia	mg Trólox /mL	mg Trólox /mL corregido	Capacidad antioxidante mg Trólox/mL $\pm$ DE
Tallo-Chiguata	0.649	1.13	11.29	10.56 $\pm$ 1.0
	0.702	0.94	9.43	
	0.658	1.10	10.98	
Hojas-Chiguata	0.442	1.86	18.58	17.91 $\pm$ 0.59
	0.468	1.77	17.66	
	0.473	1.75	17.49	
Tallo-Sabandía	0.496	1.67	16.68	16.18 $\pm$ 0.45
	0.521	1.58	15.80	
	0.513	1.61	16.08	
Hojas-Sabandía	0.511	1.61	16.15	16.55 $\pm$ 0.39
	0.489	1.69	16.92	
	0.499	1.66	16.57	

Fuente: Elaboración Propia.

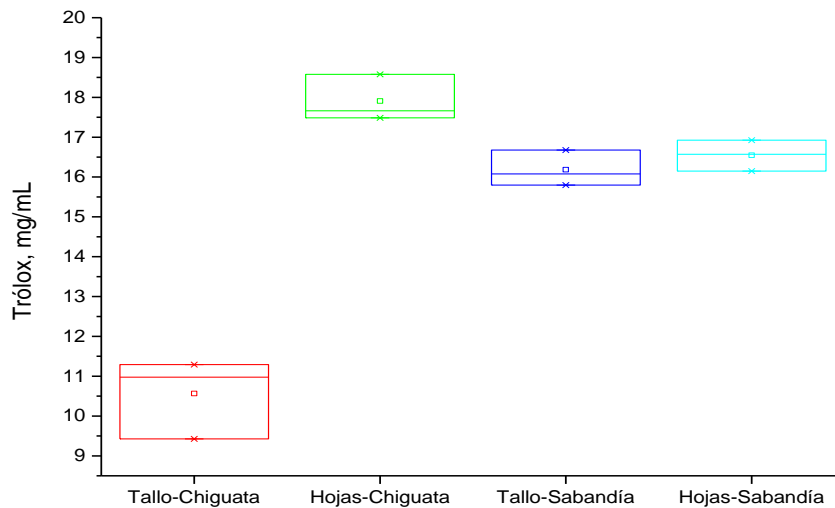
El análisis de varianza ANOVA de una vía, se realizó a los datos obtenidos de la Tabla 7 se presenta en la Tabla 8. La probabilidad resulta ser menor a 0.05 lo cual indica que, al menos un grupo difiere significativamente de los demás al 95 % de confianza. Esta interpretación se corrobora con la comparación de los valores de "F" ya que el F crítico es menor que el valor de F experimental ( $74.64 > 4.07$ ).

**Tabla 8. Análisis de varianza del contenido de la capacidad antioxidante en extractos etanólicos de tallos y hojas de Liga Liga por el método DPPH.**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	94.72	3	31.57	74.64	0.000	4.07
Dentro de los grupos	3.38	8	0.42			
Total	98.11	11				

Fuente: Elaboración Propia.

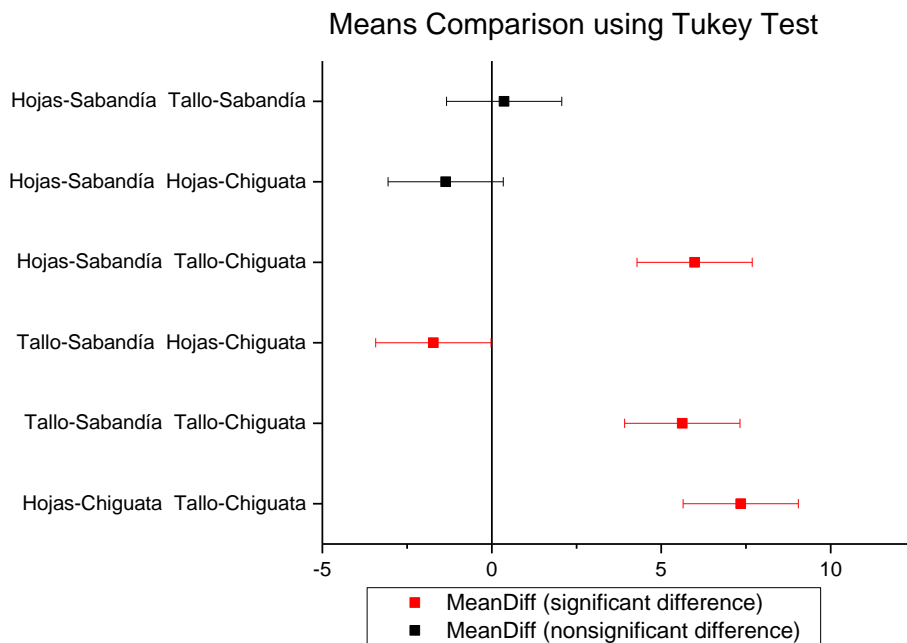
En la Figura 5 se observa el diagrama de cajas donde se confirma gráficamente la diferencia significativa en al menos un grupo de estudio. También se nota que existe una ligera aproximación entre los valores de mg de AG/mL de hojas de Chiguata y hojas de Sabandía.



**Figura 5.** Diagrama de cajas en la comparación de la capacidad antioxidante por el método DPPH.

Fuente: Elaboración Propia.

Posteriormente, se realizó una prueba confirmatoria de Tukey y como resultado se obtiene la Figura 6. Al comparar todos los grupos, se encuentra que, no hay diferencia significativa entre la capacidad antioxidante de los extractos de hojas y tallos de Sabandía, al igual, que las hojas y tallos de Chiguata al 95 % de confianza.



**Figura 6.** Prueba de Tukey de la comparación de la capacidad antioxidante por el método DPPH.

Fuente: Elaboración Propia.

## IV. DISCUSIÓN

### 4.1. Discusión de resultados

En la Tabla 9, se observa que se evaluaron los fenoles totales y capacidad antioxidante en diversos órganos de Liga Liga, tanto en estudios anteriores como el presente estudio. Dobrecky *et al.* en el 2014 (39) evaluaron diferentes extractos encontrando valores de fenoles totales variados y los expresó en mg de ácido tartárico/g, lo cual, indicaría que el tipo de extracto o solvente utilizado influye en la cantidad de fenoles que se pueden extraer notando mayor concentración de fenoles totales en el extracto de acetato de etilo, sin embargo al contrastar estos resultados con la capacidad antioxidante se observa que a pesar que el acetato de etilo extrajo mayor concentración de fenoles totales que el extracto butanólico, este último posee mayor capacidad antioxidante, esto también indicaría que, los metabolitos extraídos por el Butanol poseen mayor capacidad antioxidante pese a tener menor concentración de fenoles totales dando a conocer que los solventes alcohólicos podrían tener ventaja en extraer mayor cantidad de compuestos antioxidantes. En la presente investigación, se encontró que, la capacidad antioxidante no solo depende del solvente, sino también del tipo de órgano de la planta ya que, se encontró valores ligeramente mayores en hojas que en tallos en los extractos etanólicos estudiados. Expresando los valores de Trólox en  $\mu\text{mol Trólox/g}$  se obtiene de que para tallos y hojas de chiguata la capacidad antioxidante es 42.19 y 71.56  $\mu\text{mol Trólox/g}$  respectivamente, en el caso de tallos y hojas de Sabandía valores de 64.65 y 66.12  $\mu\text{mol Trólox/g}$  respectivamente, comparando con los valores encontrados por Dobrecky las hojas y tallos de Sabandía y hojas y tallos de Chiguata presentan mayor capacidad antioxidante que las hojas y tallos de Barreal de San Juan-Argentina estudiado por Dobrecky pese a que en su investigación utilizó tanto hojas como tallos para elaborar un solo extracto de ambos órganos. Esto podría deberse al método de extracción o a las condiciones ambientales donde se desarrollaron estas especies vegetales.

**Tabla 9. Fenoles Totales y Capacidad Antioxidante de Liga Liga Reportadas.**

Órganos utilizados / Procedencia	Solvente/ método	Fenoles totales	Capacidad antioxidante	Referencia	
Hojas y Tallos / Barreal-San Juan-Argentina	Acuoso/Agitación 150 rpm por 24 horas	417.3 ± 130.0 mg AT/g	16 ± 4 µmol Trólox/g	(36)	
	Butanol Agitación 150 rpm por 24 horas	624.0 ± 78.9 mg AT/g	62 ± 6 µmol Trólox/g		
	Acetato de etilo Agitación 150 rpm por 24 horas	796.9 ± 122.2 mg AT/g	45 ± 7 µmol Trólox/g		
Hojas /Chiguata-Arequipa-Perú	Metanol / agitación en un émbolo por 1 minuto	42.065 ± 1.014 mg AG/L	-	(37)	
Hojas y Tallos / Córdoba-Argentina	Acuoso/ Infusión	59.61 ± 1.00 mg AG/L	-	(38)	
		80.22 ± 2.32 mg AG/L	-		
		50.16 ± 5.39 mg AG/L	-		
		73.73 ± 2.65 mg AG/L	-		
		56.35 ± 4.76 mg AG/L	-		
		Etanol 80 %/ ultrasonido durante 30 minutos	75.69 ± 2.20 mg AG/L		-
		67.75 ± 2.44 mg AG/L	-		
		66.68 ± 2.18 mg AG/L	-		
		47.71 ± 2.16 mg AG/L	-		
		Metanol/ ultrasonido durante 30 minutos	56.52 ± 2.79 mg AG/L		-
48.11 ± 2.60 mg AG/L	-				
56.12 ± 5.54 mg AG/L	-				
Hojas/Arequipa	Metanol/Macerado por 24 horas	-	92.94 ± 0.88 g Trólox/100mL	(39)	
Tallos/Chiguata-Arequipa	Etanol/ Soxhlet	5.79 ± 0.11 mg AG/L	10.56 ± 1.00 mg Trólox/mL	Este estudio	
Hojas/Chiguata-Arequipa	Etanol/ Soxhlet	9.10 ± 0.19 mg AG/L	17.91 ± 0.59 mg Trólox/mL		
Tallos/Sabandía-Arequipa	Etanol/ Soxhlet	7.15 ± 0.16 mg AG/L	16.18 ± 0.45 mg Trólox/mL		
Hojas/Sabandía-Arequipa	Etanol/ Soxhlet	9.54 ± 0.21 mg AG/L	16.55 ± 0.39 mg Trólox/mL		

\*AT: ácido tartárico, AG: ácido gálico

Fuente: Elaboración Propia.

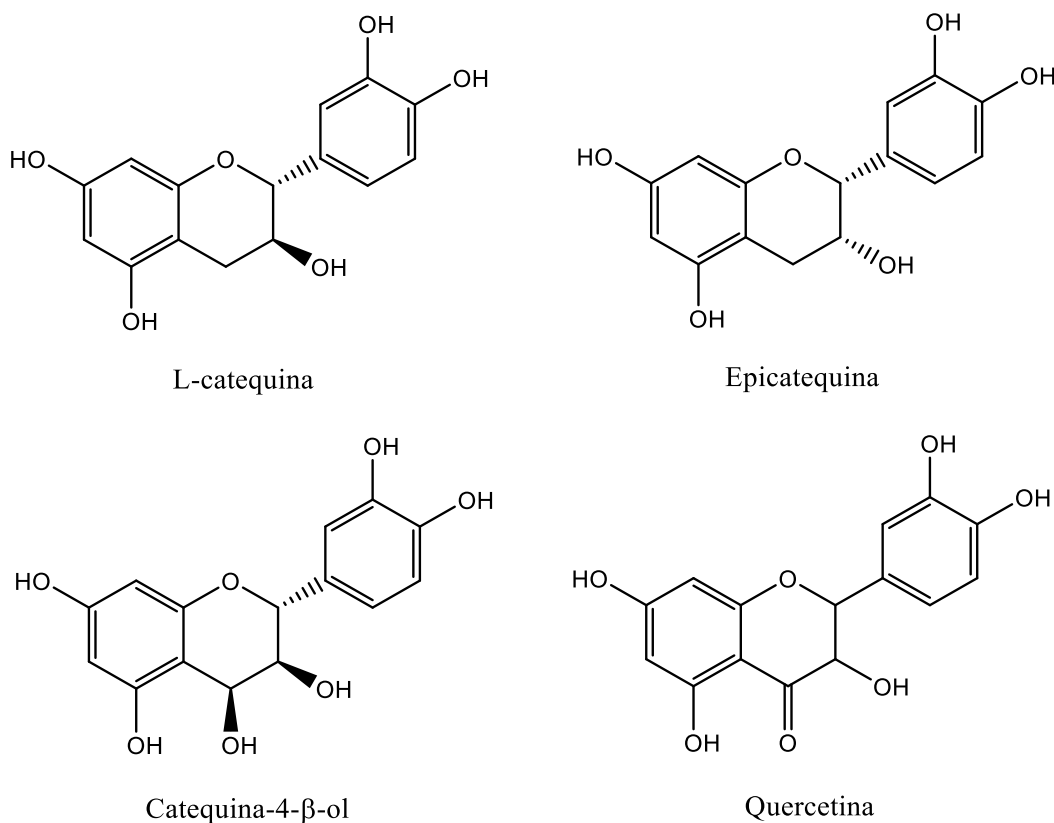
Arenas *et al.* en el 2006 (40) encontraron valores de 92.94 g de Trólox/100 mL en un extracto de hojas obtenido por maceración con metanol. Transformando las unidades del presente estudio a mg Trólox/100 mL se encontró que las hojas de Chiguata y Sabandía poseen una capacidad antioxidante de 1.06 y 1.62 g de Trólox/100mL respectivamente, siendo estos menores a los encontrados por Arenas, esto podría deberse, a factores ambientales o al tipo de extracción ya que Arenas utilizó maceración y en la presente se utilizó Soxhlet. Otra explicación sería que el metanol extrae mejor los componentes antioxidantes de la Liga Liga que el etanol de 96°.

Comparando los resultados del contenido de fenoles totales en la Tabla 9 se observa que otro estudio realizado por Arenas *et al.* (41) encontró concentración de 42.065 mg de AG/L en hojas de Liga Liga obtenidas de Chiguata en el año 2011. El ejemplar estudiado posee 5.79 mg de AG/L que son menores a los obtenidos por Arenas esto podría deberse al tipo de solvente ya que utilizó metanol y en la presente se utilizó etanol.

Por otro lado, Ricco *et al.* en el 2018 (42) realizó diversos ensayos encontrando valores entre 59.61 a 80.22 mg AG/L en extractos acuosos obtenido por infusión, valores entre 56.35 a 75.69 mg AG/L en extractos hidroalcohólicos y valores entre 47.71 a 56.52 mg AG/L en extractos metanólicos obtenidos por ultrasonido durante 30 minutos. En comparación con la presente investigación claramente se obtienen valores menores en comparación con lo encontrado por Ricco, lo cual podría deber al tipo de extracción y solvente utilizado.

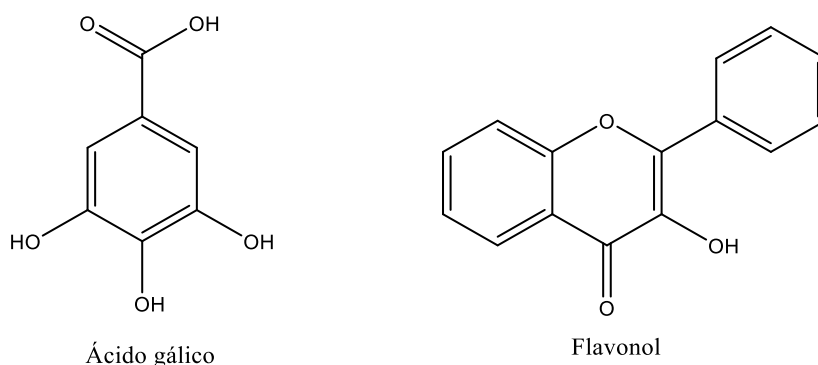
La capacidad antioxidante y concentración de fenoles totales diversas encontrados por los distintos estudios citados y la presente investigación se debería principalmente a la composición de cada ecotipo utilizado ya que el porcentaje de los metabolitos varía de acuerdo a la procedencia de la especie vegetal, además, los métodos y solventes en la extracción pueden extraer porcentajes diferentes de cada componente ya que estos presentan estructuras diferentes como se observa en la Figura 7 y 8, donde se observa, los diferentes componentes encontrados en Liga Liga siendo estos; quercetina, epicatequina, quercetina-3-O-xilosido; catechin-4- $\beta$ -ol; quercetin-3-O- $\alpha$ -arabinoside; dimers of catechin-4- $\beta$ -ol; quercetin-3-O- $\beta$ -arabinoside; oligomers of catechin-4- $\beta$ -ol, quercetin-3-O-rhamnoside; polimeros of

catequina-4- $\beta$ -ol; catequina (Figura\_7). (43) Otro estudio (Figura 8) revela que posee flavonol mono y diglicósidos, y ácido gálico. (44) Estas estructuras podrían ser más afines a algunos solventes y menos afines a otros haciendo que exista diferencia en la composición de cada extracto.



**Figura 7.** Composición química de *Ligaria cuneifolia* (Catequina, epicatequina, Catequina-4- $\beta$ -ol y Quercetina).

Fuente: Fernández T, Marcelo L, Wagner L, Varela B, Ricco R, Hajos S, et al. Study of an Argentine Mistletoe, the hemiparasite *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh. (Loranthaceae). *Journal of Ethnopharmacology*. 1998; 62: p. 25-34



**Figura 8.** Composición química de *Ligaria cuneifolia* (Ácido gálico y Estructura general del flavonol).

Fuente: Soberón J, Sgariglia M, Dip M, Andina M, Sampieri D, Vattuone M. Antibacterial activities of *Ligaria cuneifolia* and *Jodina rhombifolia* leaf extracts against phytopathogenic and clinical bacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2014; 118(5): p. 599-605.

Los extractos etanólicos de hojas y tallos de *Ligaria cuneifolia* (Liga Liga) ecotipo Chiguata presentan una concentración de fenoles totales de  $9.10 \pm 0.19$  y  $5.79 \pm 0.11$  mg AG/L respectivamente y del ecotipo Sabandía  $9.54 \pm 0.21$  y  $7.15 \pm 0.16$  mg AG/L respectivamente. La actividad antioxidante determinada por el método de DPPH dio como resultado que los extractos etanólicos de hojas y tallos del ecotipo Chiguata presentan una capacidad antioxidante de  $17.91 \pm 0.59$  y  $10.56 \pm 1.0$  mg Trólox/mL respectivamente y del ecotipo Sabandía  $16.55 \pm 0.39$  y  $16.18 \pm 0.45$  mg Trólox/mL respectivamente. Se encontró valores ligeramente elevados en hojas en comparación con los tallos.

#### **4.2. Conclusiones**

El estudio realizado nos permite llegar a las siguientes conclusiones;

- Los extractos etanólicos de hojas y tallos de *Ligaria cuneifolia* (Liga Liga) ecotipo Chiguata presentaron una concentración de fenoles totales de  $9.10 \pm 0.19$  y  $5.79 \pm 0.11$  mg AG/L respectivamente y del ecotipo Sabandía  $9.54 \pm 0.21$  y  $7.15 \pm 0.16$  mg AG/L respectivamente.
- La actividad antioxidante determinada por el método de DPPH dio como resultado que los extractos etanólicos de hojas y tallos del ecotipo Chiguata presentan una capacidad antioxidante de  $17.91 \pm 0.59$  y  $10.56 \pm 1.0$  mg Trólox/mL respectivamente y del ecotipo Sabandía  $16.55 \pm 0.39$  y  $16.18 \pm 0.45$  mg Trólox/mL respectivamente. La Liga Liga podría acumular en mayor proporción compuestos fenólicos con mayor capacidad antioxidante elevados en las hojas que en los tallos.

#### **4.3. Recomendaciones**

Se recomienda realizar un tamizaje fitoquímico en el extracto de *Ligaria cuneifolia* (Liga Liga) en diferentes extractos obtenidos por diferentes métodos y solventes para identificar la composición específica de cada extracto resultante.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Roche E, Romero D. "Papel del estrés oxidativo en la expresión de genes: isquemia miocárdica, cerebral, cáncer y otras enfermedades". Barcelona: Medicina clínica. 1995; 104: 468-476.
2. Veiga E, et al. "Radicales libres, formación y daño celular. El sistema antioxidante como protector frente a los radicales libres". Análisis Clínicos. 1997; 22: 201-216.
3. Romero D, et al. "Radicales libres y especies activadas del oxígeno. Química, biología e implicaciones en patología médica I". An Med Intern. 1987; 4: 673-679.
4. Leibovitz B, Siegel B. "Spects of free radical reactions in biological systems". Aging J Gerontol. 1986; 35: p. 45-56.
5. Holgado M, De Luis M, Macías J. "Características de los radicales libres". Rev Esp Geriatr Gerontol. 1994; 29(3): 155-167.
6. Smirnoff N. "The function and metabolism of ascorbic acid in plants". Ann Bot. 1996; 78: 661-669.
7. Jiménez A, et al. "Changes in oxidative processes and components of the antioxidant system during tomato fruit ripening". Planta. 2002; 214: 751-758.
8. Albuquerque M. "Efecto de las condiciones ambientales sobre la conducta agronómica, calidad y capacidad antioxidante de tomate cultivado bajo diferentes materiales de cubierta". Tesis Doctoral. Murcia: Universidad Católica de Murcia; 2015.
9. Domínguez J. "Contribuciones a la materia médica". Buenos Aires: Peuser; 1928.
10. Ratera E, Ratera M. "Plantas de la flora argentina empleadas en Medicina Popular". Buenos Aires: Hemisferio Sur; 1980.
11. Barboza G, et al. "Medicinal plants: a general review and a phytochemical and ethnopharmacological screening of the native argentine flora". Kurtziana. 2009; 34(7): 365.
12. Aranda A. "Flora del Parque Geológico Sanagasta". Serie Ciencias Naturales CRILAR, Córdoba: Brujas; 2014

13. Faegri K, Van Der Pull L. "The principles of pollination ecology". Oxford: Pergamon Press; 1978.
14. Bolten A, Feinsinger P. "Why do hummingbird flowers secrete dilute nectar". *Biotropica*. 1978; 10: 307–309
15. Galetto L, Bernardello L, Juliani H. "Acerca del nectario, néctar y visitantes florales en *Ligaria cuneifolia* (*Loranthaceae*)". *Darwiniana*. 1990; 30: 155–161.
16. Feacchia G, Aranda A. "La liga (*Ligaria cuneifolia*) como recurso alimenticio clave para aves del monte de la provincia de la Rioja". *Nuestras Aves*. 2015; 60: 95-97.
17. Fernández T, et al. "Study of an Argentine Mistletoe, the hemiparasite *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh. (*Loranthaceae*)". *Journal of Ethnopharmacology*. 1998; 62: 25–34.
18. Soberón J, et al. "Antibacterial activities of *Ligaria cuneifolia* and *Jodina rhombifolia* leaf extracts against phytopathogenic and clinical bacteria". *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2014; 118(5): 599-605
19. Ratera E, Ratera M. Op. Cit., p.30.
20. Soberón J, et al. Ibid, p. 599-605.
21. Ricco M, et al. "Análisis de polifenoles e iniciación de cultivos *in vitro* de *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh (*Loranthaceae*) de ejemplares provenientes de la localidad La Población, provincia de Córdoba, Argentina. *Dominguezia*. 2018; 34(1): 53-64.
22. Guija E, Inocente M, Ponce J, Zarzosa E. <sup>1</sup> (2015) En este artículo publicado en la página web [scielo.org.pe](http://scielo.org.pe) Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante (Lima Perú, 2015)
23. Dobrecky C, et al. "Contenido de polifenoles en *Ligaria cuneifolia* y su relación con la capacidad antioxidante". *Dominguezia*. 2014; 30(2): 35-39.
24. Gutiérrez E, Muñoz G. "Efecto antiinflamatorio tópico del extracto y crema de las hojas de *Ligaria cuneifolia* (suelda con suelda) en ratas con inflamación inducida experimentalmente". Tesis de Título Profesional. Arequipa: Universidad Católica de Santa María; 2014.
25. Soberón J, Sgariglia M, Dip M, Andina M, Sampieri D, Vattuone M. Antibacterial activities of *Ligaria cuneifolia* and *Jodina rhombifolia* leaf extracts against

- phytopathogenic and clinical bacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2014; 118(5): p. 599-605.
26. Arenas C, et al. "Identification of individual polyphenols and evaluation of anticancer activity of *Ligaria cuneifolia* (liga -liga). *Revista ECIPEÚ*. 2011; 8(2): p. 158-162.
27. Quideau S, et al. "Plant polyphenols: chemical properties biological activities and synthesis". *Angew Chem Int Ed*. 2011; 50: 586-621.
28. Botero M, et al. "Capacidad reductora de 15 frutas tropicales". *Scientia Technica*. 2007; 33: 295-296.
29. Loliger J. "The use of antioxidants in food. In Auroma O, Auroma O, Halliwell B. *Free radicals and food additives*". London: Taylor and Francis; 1991. p. 129–150.
30. Velioglu Y, et al. "Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products". *Journal of Agricultural Food & Chemistry*. 1998; 46: 4113–4117.
31. Pietta P. "Flavonoids in medicinal plants". In Rice A, Packer L. "Flavonoids in health and disease". New York: Dekker; 1998. p. 61-110.
32. Shahidi F, Janitha P, Wanasundara P. "Phenolic antioxidants". *Critical Reviews of Food Science & Nutrition*; 1992. 31(1): 67–103.
33. Osawa T. "Novel natural antioxidants for utilization in food and biological systems. In Uritani I, García V, Mendoza M. *Postharvest biochemistry of plant food-materials in the tropics*". Tokyo: Japan Scientific Societies Press; 1994. p. 241–251.
34. Velioglu Y, et al. "Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products". *Journal of Agricultural Food & Chemistry*. 1998; 46: 4113–4117.
35. Brand W, Cuvelier M, Berser C. "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity". *LWT - Food Science and Technology*. 1995; 28(1): p. 25-30.
36. Domínguez J. "Contribuciones a la materia médica". Buenos Aires: Peuser; 1928.
37. Ratera E, Ratera M. "Plantas de la flora Argentina empleadas en Medicina Popular". Buenos Aires: Hemisferio Sur; 1980.

38. Barboza G, et al. "Medicinal plants: a general review and a phytochemical and ethnopharmacological screening of the native argentine flora". Kurtziana. 2009; 34(7): 365.
39. Dobrecky C, Moreno E, Garcés M, Lucangioli L, Ricco R, Evelson P, et al. Contenido de polifenoles en *Ligaria cuneifolia* y su relación con la capacidad antioxidante. Dominguezia. 2014; 30(2): p. 35-39.
40. Arenas C, Vera C, Valeriano J, Yáñez J. Identificación de polifenoles individuales y evaluación de la actividad anticancerígena de la *Ligaria*. Revista ECIPERÚ. 2011; 8(2): p. 158-162
41. Arenas C, Muriel O, Zegarra F, Vera C, Torreblanca R, Bellido A, et al. Evaluación de la capacidad antioxidante e inhibición de la peroxidación lipídica por el extracto metanólico de *Ligaria cuneifolia* (Liga-Liga). Veritas. 2006; 10(1): p. 104-112.
42. Ricco M, Bari M, Ricco R, Wagner M, Álvarez M. Análisis de polifenoles e iniciación de cultivos in vitro de *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh (Loranthaceae) de ejemplares provenientes de la localidad La Población, provincia de Córdoba, Argentina. Dominguezia. 2018; 34(1): p. 53-64.
43. Fernández T, Marcelo L, Wagner L, Varela B, Ricco R, Hajos S, et al. Study of an Argentine Mistletoe, the hemiparasite *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh. (Loranthaceae). Journal of Ethnopharmacology. 1998; 62: p. 25–34.
44. Soberón J, Sgariglia M, Dip M, Andina M, Sampieri D, Vattuone M. Antibacterial activities of *Ligaria cuneifolia* and *Jodina rhombifolia* leaf extracts against phytopathogenic and clinical bacteria. Journal of Bioscience and Bioengineering. 2014; 118(5): p. 599-605.

## ANEXOS

### Anexo A. Operalización de las variables.

OPERALIZACIÓN DE LA VARIABLE								
VARIABLE	TIPO DE VARIABLE SEGÚN LA NATURALEZA Y ESCALA DE MEDICIÓN	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	SUBINDICADOR	VALOR FINAL Nº DE ITEMS	UNIDAD
<b>Variable independiente:</b>						Ecotipo Chiguata		20 mL de extracto
Extractos etanólicos de hojas de dos ecotipos de Ligaria cuneifolia.	Según su naturaleza: cuantitativa	Fenoles totales y actividad antioxidante presentes en los extractos fluidos (etanólicos) de hojas pulverizadas de dos ecotipos de Ligaria cuneifolia por los métodos de Folin Ciocalteu y DPPH respectivamente.	Fenoles totales cuantificados por el método de Folin Ciocalteu expresado en miligramos de ácido gálico/L de extracto, así mismo, la capacidad antioxidante determinada por el método de DPPH expresado en kg de planta/ mmol de DPPH	Extractos fluidos obtenidos por el método de Soxhlet	Características organolépticas	Ecotipo Sabandía	2	20 mL de extracto
<b>Variable dependiente:</b>	Escala de medición: Ordinal			Metabolitos secundarios con fenoles totales	Decoración en la solución etanólica cambio en la absorbancia	Ecotipo Chiguata	2	mg AG/L de extracto
Fenoles totales y actividad antioxidante				Metabolitos secundarios con características antioxidantes	Decoración en la solución etanólica cambio en la absorbancia	Ecotipo Sabandía	2	kg de planta/ mmol de DPPH kg de planta/ mmol de DPPH

## Anexo B. Instrumentos de recolección de datos.

### Reporte de ensayo de estandarización (Espectrofotométrica)

Investigador 1:

Investigador 2:

Muestras:

Marca de instrumento:

Modelo instrumento:

N° Serie del Instrumento:

Versión de Software:

Nombre del Método:

Método creado (inicio)

Método actualizado (final)

Parámetros del método de cuantificación

Ecuación

R2

$\lambda$

<b>Estándar</b>	<b>Absorbancia (<math>\lambda</math>)</b>	<b>Concentración (mg/L)</b>
Estándar 1		
Estándar 2		
Estándar 3		
Estándar 4		
Estándar 5		
Estándar 6		

## Anexo C. Clasificación Taxonómica de *Ligaria cuneifolia* (Liga-Liga).

### Anexo C 1. Constancia botánica de *Ligaria cuneifolia* (LIGA LIGA) del distrito de Sabandía.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA  
HERBARIUM AREQUIPENSE (HUSA)



#### CONSTANCIA N°18 -2020-HUSA

El Director del *Herbarium Arequipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

HACE CONSTAR:

Que la muestra del espécimen presentada por Cristina Ysabel Gonzales Escobedo y Sonia Rita Peralta Ccama. Estudiantes en la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica para realizar su investigación sobre "Fenoles totales y actividad antioxidante del extracto etanólico de dos ecotipos arequipeños de *Ligaria cuneifolia* (LIGA LIGA)". La muestra fue traída al Laboratorio de Botánica al estado fenológico fresco, para su determinación en el *Herbarium Arequipense* (HUSA) y corresponde a la siguiente clasificación y especie.

**Reyno:** Plantae  
**División:** Magnoliophyta  
**Clase:** Magnoliopsida  
**Orden:** Santalales  
**Familia:** Loranthaceae  
**Género:** *Ligaria*  
**Especie:** *Ligaria cuneifolia* (Ruiz y Pav.) Tieg

**Ecotipo:** Sabandía

Se expide la presente a solicitud del interesado para los fines que se estimen convenientes.

Arequipa 4 de diciembre del 2020.

  
Mg. Leoncio Mañío Herrera  
DIRECTOR  
*Herbarium Arequipense* (HUSA)

## Anexo C 2. Constancia botánica de *Ligaria cuneifolia* (LIGA LIGA) del distrito de Chiguata.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA  
*HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA)*



### CONSTANCIA N°19 -2020-HUSA

El Director del *Herbarium Arequipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

HACE CONSTAR:


Que la muestra del espécimen presentada por Cristina Ysabel Gonzales Escobedo y Sonia Rita Peralta Ccama. Estudiante en la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica para realizar su investigación sobre "Fenoles totales y actividad antioxidante del extracto etanólico de dos ecotipos arequipeños de *Ligaria cuneifolia* (LIGA LIGA)". La muestra fue traída al Laboratorio de Botánica al estado fenológico fresco, para su determinación en el *Herbarium Arequipense* (HUSA) y corresponde a la siguiente clasificación y especie.

**Reyno:** Plantae  
**División:** Magnoliophyta  
**Clase:** Magnoliopsida  
**Orden:** Santalales  
**Familia:** Loranthaceae  
**Género:** *Ligaria*  
**Especie:** *Ligaria cuneifolia* (Ruiz y Pav. ) Tieg

Ecotipo Chiguata

Se expide la presente a solicitud del interesado para los fines que se estimen convenientes.

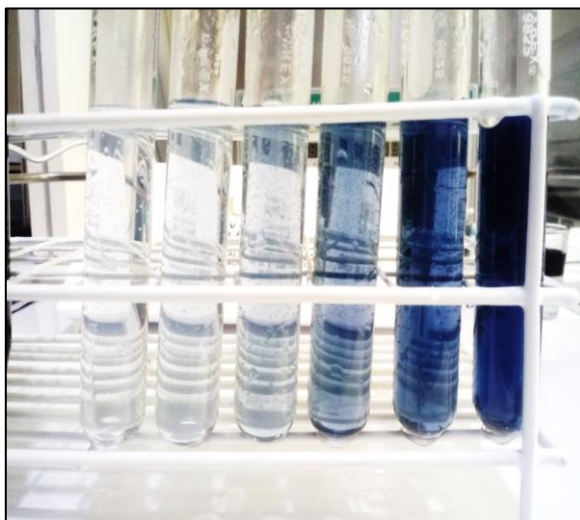
Arequipa 4 de diciembre del 2020.

  
Mg. Leoncio Mariño Herrera  
DIRECTOR  
*Herbarium Arequipense* (HUSA)



## Anexo D. Evidencias de Trabajo en Campo.

### Anexo D.1. Determinación de fenoles totales



## Anexo D.2. Determinación de la capacidad antioxidante



## Anexo E. Documentos para la validación del trabajo experimental

### Anexo E.1. Constancia de uso de Laboratorio.



**LABORATORIO CLÍNICO LLERENA AMES E.I.R.L.**

Q.F. ARTURO LLERENA AMES (CQFA N° 00169) - TM VETI PORTILLA LINARES (CTMP N° 5621)



### **CONSTANCIA DE USO DEL Laboratorio Clínico LLERENA AMES E.I.R.L.**

Conste por el presente documento que las Bachilleres candidatas al Título Profesional de Químico Farmacéutico **SONIA RITA PERALTA CCAMA** y **CRISTINA YSABEL GONZALES ESCOBEDO** de la **UNIVERSIDAD MARIA AUXILIADORA** que están desarrollando su proyecto de tesis titulado **“FENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS ECOTIPOS AREQUIPEÑOS DE *Ligaria cuneifolia* (LIGA LIGA)”**

En donde hicieron el uso de los materiales e instrumentos del laboratorio necesario para la selección de la planta, secado, molienda y extracción del extracto etanólico por el método de Soxhlet de la *Ligaria cuneifolia* (LIGA LIGA) provenientes de dos ecotipos arequipeños del distrito de Sabandia Y Chiguata, en el mes de Diciembre 2020 y Enero 2021, Además el Laboratorio Clínico **LLERENA AMES E.I.R.L.** que se encuentra ubicado en la Av. Cayma 630 2do piso Of. 3 (Edificio Banco Scotiabank) del distrito de Cayma, Arequipa. Cuenta con el certificado de las buenas prácticas de laboratorio en vigencia.

Se otorga la presente constancia para los fines que las interesadas consideren conveniente.

Atentamente



Dr. Q.F. Arturo Sergio Llerena Ames

**ANÁLISIS DE: BIOQUÍMICA, COAGULACIÓN, GENÉTICA, HEMATOLOGÍA, HORMONAS, INMUNOLOGÍA, MARCADORES DE HEPATITIS, MARCADORES TUMORALES, MEDICAMENTOS, MICROBIOLOGÍA, PARÁSITOS, TOXICOLOGÍA, MARCADORES CARDIACOS Y OTROS ESPECIALIZADOS.**

AV. CAYMA 630 2do. Piso OF 3 (EDIF. BANCO SCOTIABANK) ESQUINA AV. CAYMA / AV. EJÉRCITO - CAYMA - AREQUIPA  
TELÉFONOS: 255232 - 259269 - RPC : 959356825 - 959356623 Movistar: 999119964 RPM: #999119964

E-mail: arturollerena@star.com.pe - arturollerenaames@gmail.com  
www.labllerenames.com

**ADN  
PATERNIDAD**

