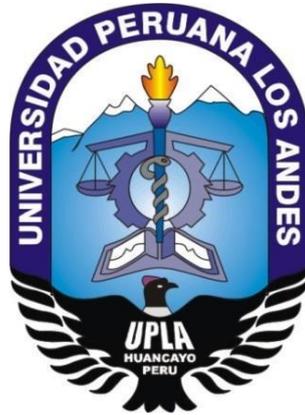


UNIVERSIDAD PERUANA LOS ANDES

Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica



TESIS

- Título** : **EFEECTO DEL MÉTODO EXTRACTIVO SOBRE EL TIPO Y CONCENTRACIÓN DE SUSTANCIAS BIOACTIVAS EN HOJAS DE *Xanthium spinosum***
- Para optar el** : **Título profesional de Químico Farmacéutico**
- Autoras** : **Bachiller Huarcaya Surichaqui Lilian
Bachiller Inga Suazo Solange Rosario**
- Asesor** : **Mg. Q.F. Romero Gálvez Gustavo Adolfo**
- Línea de Investigación institucional** : **Salud y Gestión de la Salud**
- Fecha de Inicio y Culminación** : **Julio 2020 - Julio 2021**

HUANCAYO – PERÚ
2021

DEDICATORIA

A Dios por darnos sabiduría en nuestra carrera profesional de la misma manera a nuestros padres por su apoyo incondicional en nuestra formación académica, por su comprensión y consejos en los momentos de dificultad para no rendirnos y seguir adelante.

Huarcaya Surichaqui Lilian
Inga Suazo Solange Rosario

AGRADECIMIENTO

Nuestros más sinceros agradecimientos para nuestros familiares, docentes universitarios, a la Universidad Peruana los Andes y a todos los que contribuyeron para que se haga posible esta investigación.

INTRODUCCIÓN

El *Xanthium spinosum* es una planta ruderal de nuestra zona central del Perú, es llamada comúnmente “Juan Alonso”. Esta crece normalmente hasta una altura de 60cm con un tallo erecto, con muchas ramas y espinas dorsales trifurcadas amarillentas.

Es muy utilizada en la región Junín como planta medicinal en afecciones hepáticas y del estómago, también cuando se sufre de retención urinaria; debido a sus efectos antiinflamatorio, antibacteriano y antimicótico.

El crecimiento de las investigaciones de los antioxidantes y metabolitos secundarios en las últimas décadas ha ido acrecentándose debido a su gran influencia e importancia en la salud humana, siendo de vital importancia el análisis de las sustancias bioactivas y la capacidad antioxidante.

Existen pocas investigaciones sobre las sustancias bioactivas en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” en la región Junín. Por ello la presente investigación busca contribuir con un estudio sobre las sustancias bioactivas (fenoles, flavonoides y taninos) así como su capacidad antioxidante en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”, donde se determinó las mejores condiciones de solvente, temperatura y dilución para la extracción de estas sustancias bioactivas, lo cual contribuirá a la población de nuestra región.

Es así, que en el Capítulo I se desarrolla el uso del *Xanthium spinosum* "Juan Alonso" en la medicina complementaria en las regiones andinas del Perú, así mismo se desarrolla la delimitación del problema donde las hojas de “Juan Alonso” analizadas fueron recolectadas en base a su madurez y tamaño en el distrito de Ahuac, Provincia de Chupaca, Departamento Junín en el mes de Agosto del 2020, también se expone las justificaciones social, teórica y metodológica. Además se tuvo como objetivo general el determinar el Efecto de los métodos extractivos acuoso y etanólico sobre el tipo y concentración de sustancias bioactivas en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”

En el Capítulo II correspondiente al marco teórico se presentan los antecedentes nacionales e internacionales relacionados a la problemática de la investigación; además, se desarrolla

las bases teóricas del estudio así como la conceptualización de las variables dependientes e independientes con sus respectivas dimensiones.

En el Capítulo III se detalla las hipótesis formuladas y la operacionalización de las variables donde se las define para su posterior análisis.

De la misma manera en el Capítulo IV se especifica la metodología desarrollada, donde se menciona que se utilizó como método general el método científico y explicativo, la investigación fue del tipo aplicada, experimental y transversal, con un nivel de investigación explicativo. Cuya población fueron las plantas provenientes del Distrito de Ahuac, Provincia de Chupaca, región Junín y la muestra fueron las hojas clasificadas por su grado de madurez.

Por último el Capítulo V se exponen todos los resultados, la contrastación de las hipótesis de la investigación, donde se precisa que del análisis fisicoquímico: el promedio de humedad es 7,10%, el promedio de cenizas totales es 10,97%, el promedio de cenizas acidas es 4,85% y el promedio de cenizas solubles es 4,30%; respecto a los resultados de la extracción de sustancias bioactivas se obtuvo: que el método extractivo etanólico es el más eficiente en la extracción de fenoles y flavonoides y el método extractivo acuoso es el más eficiente en la extracción de taninos; respecto a la capacidad antioxidante cuantificado por el método de DPPH se obtuvo que el método extractivo acuoso es el más eficiente.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	iii
CONTENIDO	v
CONTENIDO DE TABLAS	vii
CONTENIDO DE FIGURAS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
CAPÍTULO I	11
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	11
1.1. Descripción de la realidad de la problemática	11
1.2. Delimitación del problema	12
1.3. Formulación del problema	13
1.4. Justificación	13
1.5. Objetivos	15
CAPÍTULO II	16
MARCO TEÓRICO	16
2.1. Antecedentes de estudio	16
2.2. Bases teóricas	22
2.3. Marco Conceptual (variables y dimensiones)	35
CAPÍTULO III	38
HIPÓTESIS	38
3.1. Hipótesis general	38
3.2. Hipótesis específico	38
3.3. Operacionalización de variables (definición conceptual y operacional)	38
CAPÍTULO IV	40
METODOLOGÍA	40
4.1. Método de investigación	40
4.2. Tipo de investigación	40
4.3. Nivel de investigación	41
4.4. Diseño de la investigación	41
4.5. Población y muestra	41
4.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	42

4.7. Técnicas de procesamiento y análisis de datos	44
4.8. Aspectos éticos de la investigación	47
CAPÍTULO V	48
RESULTADOS	48
5.1. Descripción de resultados	48
5.2. Contratación de hipótesis	60
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	67
CONCLUSIONES	70
RECOMENDACIONES	72
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
ANEXOS	80

CONTENIDO DE TABLAS

Tabla 1.	Taxonomía <i>Xanthium spinosum</i> “Juan Alonso”.	23
Tabla 2.	Técnicas e instrumentos de recolección de datos.	42
Tabla 3.	Media del contenido de humedad, cenizas totales, acidas y solubles en hojas <i>Xanthium spinosum</i> “Juan Alonso” (g/100g).	48
Tabla 4.	Media de la concentración de fenoles en hojas <i>Xanthium spinosum</i> “Juan Alonso” en base a los métodos extractivos.	50
Tabla 5.	Media de la concentración de flavonoides en hojas <i>Xanthium spinosum</i> “Juan Alonso” en base a los métodos extractivos.	52
Tabla 6.	Media de la concentración taninos en hojas <i>Xanthium spinosum</i> “Juan Alonso” en base a los métodos extractivos	54
Tabla 7.	Media del rendimiento en hojas <i>Xanthium spinosum</i> “Juan Alonso” en base al porcentaje de peso de materia prima.	56
Tabla 8.	Capacidad antioxidante media en hojas <i>Xanthium spinosum</i> “Juan Alonso” en base al porcentaje de inhibición de los métodos extractivos.	58
Tabla 9.	Tabla de los métodos extractivos acuoso y etanólico.	60
Tabla 10.	Prueba estadística Test Anova-Tukey para la extracción de fenoles (mg AGE/g) según el efecto del método extractivo.	61
Tabla 11.	Prueba estadística Test Anova-Tukey para la concentración de flavonoides (mg QE/g) según el efecto del método extractivo.	62
Tabla 12.	Prueba estadística Test Anova-Tukey para taninos (mg ATE/g) según el efecto del método extractivo.	63
Tabla 13.	Prueba estadística Test Anova-Tukey según el efecto del método extractivo sobre la capacidad antioxidante (% inhibición).	65

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 1.	Estructura básica de los compuestos fenólicos.	25
Figura 2.	Estructura química de los flavonoides.	28
Figura 3.	Estructura química de los taninos.	29
Figura 4.	Comparación de medias mediante Anova.	45
Figura 5.	Comparación gráfica de hipótesis.	46
Figura 6	Diseño experimental empleado.	46
Figura 7	Características fisicoquímicas de <i>Xanthium spinosum</i> "Juan Alonso" (g/100g).	49
Figura 8.	Media de la concentración de fenoles en hojas <i>Xanthium spinosum</i> "Juan Alonso" (mg de AGE/g) en base a los métodos extractivos.	51
Figura 9.	Media de la concentración de flavonoides en hojas <i>Xanthium spinosum</i> "Juan Alonso" (mg de QE/g) en base a los métodos extractivos.	53
Figura 10.	Media de la concentración de taninos en hojas <i>Xanthium spinosum</i> "Juan Alonso" (mg de ATE/g) en base a los métodos extractivos.	55
Figura 11.	Media del rendimiento en hojas <i>Xanthium spinosum</i> "Juan Alonso" (% de peso de materia prima) en base a los métodos extractivos.	57
Figura 12.	Media de la capacidad antioxidante en hojas <i>Xanthium spinosum</i> "Juan Alonso" (% de inhibición) en base a los métodos extractivos.	59

RESUMEN

La planta ruderal “Juan Alonso” es utilizada como planta medicinal en diferentes regiones de la sierra del Perú, existe pocos estudios científicos respecto a su composición fitoquímica, por lo cual la presente investigación determinó las mejores condiciones para la extracción de las sustancias bioactivas en hojas de esta planta. El objetivo general de esta investigación fue determinar el efecto de los métodos extractivos acuoso y etanólico sobre el tipo y concentración de sustancias bioactivas en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”. Se utilizó como método general el método científico y explicativo, la investigación fue del tipo aplicada, experimental y transversal, con un nivel de investigación explicativo. Las hojas de la planta fueron pesadas y clasificadas en 3 grupos respecto a su grado de madurez y eliminando las hojas dañadas en su traslado, seguidamente estas fueron lavadas y desinfectadas con agua potable e hipoclorito de sodio 100ppm, estas hojas desinfectadas fueron oreadas y secadas a 40°C y posteriormente siendo molidas y tamizadas para su almacenamiento y siguiente análisis fisicoquímico (humedad y cenizas) y fitoquímico. Se obtuvo como resultados que el método extractivo etanólico correspondiente a una temperatura de 40°C en una dilución de (1:3) es el más eficiente en la extracción de fenoles y flavonoides brindando un promedio de 255.66 mg de AGE/g y 20,25 mg de QE/g respectivamente; el método extractivo acuoso a temperatura de 40°C en una dilución de (1:3) es el más eficiente en la extracción de taninos con un promedio de 295,26 mg de ATE/g; respecto a la capacidad antioxidante cuantificada por el método de DPPH se obtuvo que el método extractivo acuoso a temperatura de 30°C en una dilución de (1:3) presenta mayor promedio de porcentaje de inhibición 77,08%. Se concluye mediante la aplicación del test de Anova-Tukey en el software InfoStat que el método extractivo compuesto por las dimensiones solvente, dilución y temperatura influyen sobre el tipo y concentración de sustancias bioactivas como fenoles, flavonoides y taninos, también, que el método extractivo influye sobre la capacidad antioxidante en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”.

Palabras clave: *Xanthium spinosum*, método extractivo acuoso, método extractivo etanólico, fenoles, flavonoides, taninos, capacidad antioxidante.

ABSTRACT

The ruderal plant "Juan Alonso" is used as a medicinal plant in different regions of the Peruvian highlands, there are few scientific studies regarding its phytochemical composition, for which the present investigation determined the best conditions for the extraction of bioactive substances in leaves of this plant leaves. The general objective of this research was to determine the effect of aqueous and ethanolic extractive methods on the type and concentration of bioactive substances in leaves of *Xanthium spinosum* "Juan Alonso". The scientific and explanatory method was used as a general method, the research was of the applied, experimental and cross-sectional type, with an explanatory research level. The leaves of the plant were weighed and classified into 3 groups regarding their degree of maturity and removing the damaged leaves in their transfer, then these were washed and disinfected with drinking water and sodium hypochlorite 100ppm, these disinfected leaves were aerated and dried at 40°C and later being ground and sieved for storage and subsequent physicochemical (moisture and ash) and phytochemical analysis. The results were obtained that the ethanolic extractive method corresponding to a temperature of 40°C in a dilution of (1:3) is the most efficient in the extraction of phenols and flavonoids, providing an average of 255.66 mg of AGE/g and 20.25 mg QE/g respectively; the aqueous extractive method at a temperature of 40°C in a dilution of (1:3) is the most efficient in the extraction of tannins with an average of 295.26 mg of ATE/g; Regarding the antioxidant capacity quantified by the DPPH method, the aqueous extractive method was obtained at a temperature of 30°C in a dilution of (1:3), with a higher average percentage of inhibition 77.08%. It is concluded through the application of the Anova-Tukey test in the InfoStat software that the extractive method composed of the solvent, dilution and temperature dimensions influence the type and concentration of bioactive substances such as phenols, flavonoids and tannins, also that the extractive method influences the antioxidant capacity in leaves of *Xanthium spinosum* "Juan Alonso".

Key words: *Xanthium spinosum*, aqueous extract, aqueous extractive method, ethanolic extractive method, phenols, flavonoids, tannins, antioxidant capacity.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad de la problemática

En algunos países, como es el caso de Perú, la medicina tradicional se ha articulado a la medicina complementaria (MC), definida como un amplio conjunto de prácticas de atención de salud que no forman parte de la tradición ni de la medicina convencional de un país dado, ni están totalmente integradas en el sistema de salud predominante.¹

Según los informes del Ministerio de Agricultura de Perú, el 45% de las plantas exportadas proceden de la Amazonía, el 39% de los Andes y el 16% de la Costa del país. El mayor porcentaje de ellas son extraídas de su hábitat natural: 107 especies naturales vs 13 especies cultivadas. Entre ellas, la maca supone la planta bandera de exportación, siendo sus principales mercados Estados Unidos (35.9%) y Hong Kong (8.93%) al 2017². Las tendencias de uso de plantas medicinales en el país indican que casi el 80% de la población conoce el uso de la fitoterapia como recurso medicinal.³

Se ha verificado que el 76% de los asegurados de EsSalud están dispuestos a recibir tratamiento con plantas medicinales⁴, mientras que cerca de 90 000 asegurados por año ya utilizan los servicios de medicina complementaria (MC), enmarcados en los 83 centros de atención de MC que existen en Perú.⁵

La investigación en medicina complementaria (MC) a nivel mundial se concentra en Norte América y el Sudeste Asiático (con 26.94% y 26.39% de publicaciones científicas), seguidos de Europa (22.15%). Por su parte, América Latina realiza un 6.05% de las publicaciones en esta temática. Y son la fitoterapia y la herbolaria las ciencias que acaparan la mayoría de entradas de investigación en MC. ⁶

La Región Central del Perú está situado dentro de las áreas geográficas consideradas centros de biodiversidad mundial, siendo una región mega diversa en lo que respecta a la existencia de recursos de flora y fauna. Destaca significativamente la presencia de plantas como la *Xanthium spinosum* "Juan Alonso" útiles para el hombre, en particular las medicinales, que vienen siendo utilizadas desde los pobladores de la región central.

En este contexto la investigación permite conocer la influencia de los métodos extractivos acuoso y etanólico con respecto a la concentración de los diferentes tipos de sustancias bioactivas (fenoles, flavonoides y taninos) además de su capacidad antioxidante de las hojas de *Xanthium spinosum* "Juan Alonso" de la región Junín.

1.2. Delimitación del problema

Conceptual

El proyecto de investigación pertenece al área de la fitoquímica, donde se evalúa el efecto de los métodos extractivos acuoso y etanólico sobre el tipo y concentración de sustancias bioactivas en hojas de *Xanthium spinosum* "Juan Alonso".

Espacial

Las plantas *Xanthium spinosum* "Juan Alonso" fueron recolectadas en el Distrito de Ahuac, Provincia Chupaca, Departamento Junín.

Temporal

Las plantas *Xanthium spinosum* "Juan Alonso" fueron recolectadas durante el mes de Agosto del 2020 y los procesos de extracción de los compuestos bioactivos

se realizaron en los laboratorios de la “Universidad Nacional del Centro del Perú” de la ciudad de Huancayo entre los meses de Setiembre 2020 a Mayo de 2021.

Social

El proyecto de investigación está orientado en investigaciones en plantas medicinales lo cual contribuirá a la población de nuestra región.

1.3. Formulación del problema

1.3.1. Problema general

¿Cuál es el efecto de los métodos extractivos acuoso y etanólico sobre el tipo y concentración de sustancias bioactivas en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”?

1.3.2. Problemas específicos

1. ¿Cuáles son las características fisicoquímicas en hojas *Xanthium spinosum* "Juan Alonso" de la zona de Ahuac - Chupaca?
2. ¿Cuál es el método extractivo (acuoso o etanólico) que nos permita evidenciar la mayor concentración de los diferentes tipos de sustancias bioactivas en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”?
3. ¿Cuál es el efecto de los métodos extractivos acuoso y etanólico sobre la capacidad antioxidante en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”?

1.4. Justificación

1.4.1. Social

En la actualidad el uso de extractos naturales que presentan una alta concentración de sustancias bioactivas y capacidad antioxidante se incrementan cada vez más, ya que estas sustancias bioactivas naturales previenen muchas enfermedades degenerativas no transmisibles.

El consumo de sustancias sintéticas se asocia a diversos problemas de salud que padece la población del mundo, es por ello que con el presente trabajo de investigación promueve el uso de extractos naturales en beneficio de la salud de la población de la región central del país.

En la presente investigación se tiene como labor principal comprobar los conocimientos ancestrales de uso de las plantas medicinales, determinando los

mejores métodos extractivos para la concentración de sustancias bioactivas y su capacidad antioxidante. De esta forma fomentar nuevas políticas de manejo y aprovechamiento sostenible de plantas medicinales en zona alto andinas que beneficien de manera directa a los pobladores de la zona centro con la utilización y sintetización de sustancias bioactivas en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”.

1.4.2. Teórica

El estudio del Efecto de los métodos extractivos acuoso y etanólico sobre el tipo y concentración de sustancias bioactivas en hojas de *Xanthium Spinosum* “Juan Alonso” contribuye el desarrollo de la investigación experimental, promoviendo al fortalecimiento del acervo de los conocimientos relacionados a la línea de investigación del aprovechamiento de la biodiversidad de la región central del país. Esta investigación se realizó bajo técnicas cuantitativas, de mucha relevancia científico - tecnológico en el ámbito de la salud pública, donde se fomenta el estudio de las diversas plantas medicinales de la región Junín.

1.4.3. Metodológica

El trabajo de investigación propuesto emplea metodología validada para la extracción de sustancias bioactivas en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”, donde se determina la concentración de las sustancias bioactivas y su capacidad antioxidante; cuyos métodos extractivos son conformados por el uso de solventes, temperaturas y dilución.

La concentración de las sustancias bioactivas (fenoles, flavonoides y taninos) y su capacidad antioxidante, se determinó en base a los métodos AOAC, DPPH y Normas Técnicas Peruanas (NTP). Además, para determinar la influencia de los métodos extractivos acuoso y etanólico sobre el tipo y concentración de sustancias bioactivas se utilizó el método estadístico Test Anova - Tukey

Esta metodología determina las mejores condiciones de temperatura y dilución en los métodos extractivos acuoso y etanólico donde se obtiene mayores

concentraciones de fenoles, flavonoides y taninos y a su vez de la mayor capacidad antioxidante en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”, lo cual puede ser empleado para otras investigaciones en plantas medicinales relacionadas a determinar los efectos de los métodos extractivos en la concentración de los diferentes tipos de sustancias bioactivas.

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo General

Determinar el efecto de los métodos extractivos acuoso y etanólico sobre el tipo y concentración de sustancias bioactivas en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”.

1.5.2. Objetivos Específicos

1. Determinar las características fisicoquímicas de humedad y cenizas en hojas *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” de la zona de Ahuac - Chupaca.
2. Determinar el método extractivo (acuoso o etanólico) que nos permita evidenciar la mayor concentración de los diferentes tipos de sustancias bioactivas en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”.
3. Determinar el efecto de los métodos extractivos acuoso y etanólico sobre la capacidad antioxidante en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de estudios

2.1.1. Nacionales

Coavoy I.⁸, desarrolló una investigación sobre la evaluación de la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos de la tuna morada (*Opuntia ficus-indica*) del distrito de San Bartolomé, Huarochirí, Lima. Donde el autor caracterizó físicamente la tuna morada, determinó el rendimiento de la extracción de fenoles totales y la actividad antioxidante de la tuna morada (*Opuntia ficus-indica*) en el tratamiento que contenga mayor contenido de fenoles totales. La investigación concluye que el etanol fue la variable más significativa, influyendo positivamente en la extracción de compuestos fenólicos, porque a mayor concentración de etanol (80%) hubo mayor contenido de éstos. La temperatura también fue significativa para la extracción, obteniendo mayor contenido de fenoles totales al aumentar la temperatura (60°C), además, la interacción de las variables independientes (concentración de etanol y temperatura) fue importante para la extracción, porque a una concentración de etanol elevada, con influencia de la temperatura permite que se extraiga mayor cantidad de fenoles totales. El experimento 4 (60°C y 80% etanol) obtuvo 1002.47 mg ácido gálico/L de muestra, seguido del experimento 2 (40°C y 80% etanol) con 850.29 mg ácido gálico/L de muestra.

Torres A.⁹, realizó la determinación de compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante de extractos de orujo (epicarpo) de *vitis vinifera l. var. italia* y negra criolla de residuos vitivinícolas como fuente de principios bioactivos aprovechables. Arequipa, 2018. Las muestras de residuo vitivinícola fueron obtenidas de la empresa productora de piscos y vinos “Majes Tradición”, de su planta de producción ubicada en el valle de Majes. El residuo obtenido, fue sometido a dos fermentaciones antes de ser desechada, el residuo estaba constituido por orujo (piel), raspón, y pepitas. Se obtuvo residuos de *Vitis vinifera* de dos variedades, variedad italia (uva blanca) y variedad negra criolla (uva roja). El autor nos menciona que la extracción de fenoles totales por maceración en agua - etanol (50%), logro obtener una mejor cantidad de metabolitos secundarios en la extracción por 3 horas a 40°C, en comparación a la extracción por 48 horas a temperatura ambiente, de acuerdo a la prueba de Tukey, los resultados entre métodos de extracción muestran diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$), de la misma forma el mejor rendimiento de extracción de flavonoides se obtuvo por maceración en agua – etanol (50%) por 3 horas a 40°C. y un menor rendimiento para la extracción por 48 h a temperatura ambiente. Según la prueba de Tukey, los resultados muestran diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) en el método de extracción y las variedades. También, nos indica que Los extractos secos que presentan una mejor concentración de fenoles totales son los extraídos por maceración en agua - etanol (50%) por 48 horas a temperatura ambiente, en comparación a la extracción realizada por maceración por 3 horas a 40°C, de acuerdo a la prueba de Tukey, los resultados muestran diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) entre el método de extracción y las variedades. Además, la extracción por maceración con agua – etanol (50%) por 3 horas a 40°C. logro obtener una mejor concentración de flavonoides en los extractos secos en comparación a la extracción por 48 horas a temperatura ambiente, según la prueba de Tukey), los resultados muestran diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) entre el método de trabajo y las variedades.

Vergara A. et al.¹⁰ realizaron estudios sobre la obtención de extractos de hojas de *annona muricata l.* (guanábana) inducidos por su efecto inhibitor de la corrosión. Se determinó que el extracto etanólico presentó un efecto inhibitor de la corrosión 1,5 veces mayor que el extracto acuoso. Entre los extractos estudiados, el extracto etanólico presentó el mayor contenido en fenoles totales (582,99 y 523,34 µg EAG/mL EE), alcaloides (3,76 y 1,52 % lupanina) y flavonoides (1,14 y 0,76 mg quercetina/mL de extracto), pero la menor actividad antioxidante (91,45 y 94,93 % de DPPH). La investigación concluye que los extractos etanólico y acuoso obtenidos presentaron propiedades inhibitoras de la corrosión debido a la presencia de metabolitos secundarios que, según el tamizaje fitoquímico y las cuantificaciones realizadas, están relacionados con la presencia de fenoles, alcaloides y flavonoides, principalmente.

Calcina R.¹¹ establece el estudio sobre el efecto antimicótico *in vitro* de decocciones e infusiones de *Minthostachys setosa* Y *Xanthium catharticum* en diferentes concentraciones sobre *Candida albicans* 2017. Los objetivos fueron determinar la composición fitoquímica cualitativa de alcaloides, fenoles y taninos en biomasa seca de *Minthostachys setosa* y *Xanthium catharticum in vitro* de las decocciones e infusiones en concentraciones de 1, 10, 30, 50 y 100% de *Minthostachys setosa* y *Xanthium catharticum* sobre *Candida albicans*. Se evaluaron la presencia de alcaloides, fenoles y taninos en contenidos leve (+), abundante (++) y muy abundante (+++), posteriormente se evaluó la actividad antimicótica de cada una de las concentraciones en cultivos *in vitro* sobre *Candida albicans*, los cuales poseerán un control positivo (fluconazol). Los resultados fueron: La composición fitoquímica cualitativa en *M. setosa* fue en decocciones fue en alcaloides, fenoles y taninos (++) , y en la infusión los alcaloides (+++), los fenoles y taninos +; en *X. catharticum* las decocciones presentaron alcaloides (+++), fenoles (++) y taninos (+) y la infusión los alcaloides (+++), y fenoles y taninos (+). *Candida albicans* fue resistente a concentraciones de 1 al 30% de las decocciones e infusiones de muña y espina de perro y sensible a las concentraciones de 50 y 100%. Se concluye que los alcaloides fueron los más abundantes en infusión de *M. setosa* y en decocciones e infusión de *X.*

catharticum, y las concentraciones de 50% y 100% ejercieron inhibición en *C. albicans*.

Riveros Z., et al.¹² realizaron un estudio sobre los efectos antihipertensivo del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* HBK “Amor Seco” 2015. Donde el estudio tiene por objetivo determinar el efecto antihipertensivo del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* HBK “amor seco” en ratas con hipertensión inducida. Se utilizaron muestras de *Xanthium catharticum* HBK colectadas en el centro poblado de Mollepata, región Ayacucho. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto se determinaron utilizando pruebas específicas de coloración y precipitación; se evaluaron en contenidos escasa (+), buena (++) y excelente (+++), los resultados indicaron la presencia de alcaloidesen (++) , compuestos fenólicos (++) , flavonoides (+) , saponinas (+) , aminoácidos libres (+++) y antocianidinas (+). El estudio concluye, que, en condiciones experimentales, el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* HBK. “amor seco” evidencia tener moderado efecto antihipertensivo.

2.1.2. Internacionales

Guerrero M. y Pico K.¹³ en la investigación desarrollaron sobre polifenoles totales y actividad antioxidante en extracto acuoso y etanólico de la raíz del churco *Arthrostemma ciliatum pav.* Se realizó un tamizaje fitoquímico preliminar presentando los metabolitos secundarios: fenoles y taninos, flavonoides, quinonas, cumarinas, terpenos, esteroides, saponinas y azúcares reductores. Además, se determinó la concentración de polifenoles totales mediante el método de Folin Ciocalteu y se obtuvo como resultado en extracto etanólico 728.05mgEAG/kg y en extracto acuoso 284.55mgEAG/kg. La actividad antioxidante se determinó mediante el método de DPPH y los resultados en extracto etanólico fueron de 5.76µgEAG/mL y en extracto acuoso de 10.27 µgEAG/mL, donde concluyeron que el extracto etanólico es el que presento un IC50 más bajo por lo tanto mejor actividad antioxidante.

Parra J. ¹⁴ plantearon un estudio sobre evaluación farmacognóstica y fitoquímica de las hojas de escánsel "*Aerva sanguinolenta*" de la ciudad de Machala. El objetivo fue evaluar los parámetros farmacognósticos de la droga seca y fitoquímicos de los extractos acuosos y etanólicos de las hojas de "*Aerva sanguinolenta*". Se lavaron con agua desionizada tipo II, fueron secadas al ambiente y en estufa, se molieron hasta obtener partículas de 1 mm, para determinar los parámetros de control de calidad de la droga seca como el análisis físico-químico de humedad, cenizas totales, cenizas solubles en agua, cenizas insolubles en ácido clorhídrico, sustancias solubles. Los parámetros farmacognósticos obtenidos se encuentran con los siguientes valores: humedad 9.27%, cenizas totales 9.79%, cenizas insolubles en ácido clorhídrico 0.65%, cenizas solubles en agua 7.45%. La sustancia soluble se identificó en extracto acuoso obteniendo 19,87%, extracto alcohólico 16,92%, extracto hidroalcohólico (50:50) 43,44%. Los metabolitos secundarios presentes tanto en el extracto acuoso como alcohólico fueron alcaloides, flavonoides, fenoles, taninos, antocianidina. Se lograron determinar algunos parámetros farmacognósticos de "*Aerva sanguinolenta*" y se determinaron los metabolitos bioactivos presentes en extracto acuoso y etanólico de sus hojas, cuya importancia radica en fomentar el uso de plantas medicinales cultivadas en Ecuador y su posible uso como alternativa para prevenir, tratar y curar los problemas de salud que padece la población.

Amaya C, y Morán C. ¹⁵ en la investigación que realizaron sobre polifenoles totales y actividad antioxidante del aceite esencial y extractos acuoso, etanólico del *Cuminum cyminum*. El objetivo fue evaluar la concentración de polifenoles totales por el método de Folin Ciocalteu en el aceite esencial y el extracto acuoso y etanolico del *Cuminum cyminum* y su incidencia sobre la actividad antioxidante, expresada por la cantidad de muestra que logra la captura del radical DPPH en un 50 % (IC50). Obteniendo como resultados una mayor cantidad de polifenoles el extracto etanólico 0.34% seguido del aceite esencial 0.33% y por último el extracto acuoso 0.26% .Por consiguiente, la capacidad antioxidante expresada en IC50, fue mayor la del extracto acuoso 303,03 mg/100g seguida del extracto

etanólico 414,54mg/100g y con menor actividad el aceite esencial 1250,0mg/100g.

Pardo A. et al.¹⁶ plantearon una revisión de la determinación de compuestos bioactivos y actividad antioxidante de la pulpa de maracuyá (*passiflora edulis*): El objetivo fue evaluar los componentes fisicoquímicos y la capacidad antioxidante in vitro por el método del ABTS+ (Ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico) de los extractos hidroalcohólicos de la pulpa de maracuyá (*Passiflora edulis*) a diferentes concentraciones. Se tomó como muestra una variedad producida en el sector Estero Medina, cantón Santa Rosa (El Oro). Los metabolitos secundarios presentes en el extracto se determinaron utilizando pruebas específicas de coloración y precipitación; se evaluaron en contenidos ausencia (-), evidencia (++) y alta evidencia (+++), En las muestras analizadas con extracto acuoso se observó la presencia de flavonoides (+), fenoles y taninos (-); extracto etanólico flavonoides (+), fenoles y taninos (++) relacionando estos compuestos con la actividad antioxidante. Estos resultados indican que esta fruta puede ser utilizada como base para la formulación de una bebida funcional otorgando beneficios para la salud.

Gaikwad S. et al.¹⁷ realizaron el estudio “Preliminary screening and comparative evaluation of antioxidant potential of medicinally important plant *Xanthium strumarium L.*” relacionado a la evaluación comparativa de potencial antioxidante de la planta medicinal *Xanthium strumarium L.* Se llevó a cabo un estudio detallado de valores extractivos, ensayo fitoquímico y análisis de fluorescencia. El contenido fenólico total de las partes aéreas del material vegetal se determinó utilizando reactivo de Folin-Ciocalteau y Na₂CO₃, donde la concentración de fenol se determinó como equivalente de fenol/g de extracto midiendo la absorción a 650 nm usando una curva estándar precalibrada empleando pirocatecol, el experimento se llevó a cabo por triplicado y los resultados se registraron como media ± SEM en donde se obtuvo en extracto etanólico una presencia de fenoles 0.00634 mg/g (+). Respecto a la determinación de flavonoides totales se utilizó el método del cloruro de aluminio para la determinación del contenido total de

flavonoides de los extractos de la muestra, después de la adición de AlCl_3 , tartrato de sodio - potasio, la absorbancia fue medida a 415nm. La concentración de flavonoide en los extractos de prueba se calculó a partir del gráfico de calibración y se expresó como mg de equivalente de quercetina/g de extracto. El experimento se llevó a cabo por triplicado y los resultados se registraron como media \pm SEM en donde se obtuvo en extracto etanólico una presencia de flavonoides 0.01064 (+) mg de quercetina/g de material. El autor concluye que los resultados del estudio espectrofotométrico demostraron de manera concluyente que el *Xanthium strumarium L.* posee una alta capacidad antioxidante. Se encuentra que la planta es rica en compuestos fenólicos, así como en flavonoides en extractos polares. Esto sería responsable de su alta capacidad antioxidante.

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”

a) Descripción botánica

Planta arbustiva, monoica, que crece hasta una altura de 60 cm pero puede alcanzar hasta 1.2 m, provista de un tallo erecto, muy ramificado, con espinas dorsales trifurcadas de color amarillo característica principal ubicadas en el ángulo entre el tallo de la hoja y el vástago, estas espinas tienen un largo hasta de 25 mm hojas alternas, gruesas, lanceoladas, con peciolo cortos, ápice agudo y márgenes enteros o provistos de 2 lóbulos en la base, son de color verde oscuro en el haz con nervaduras prominentes, y el envés de color pálido con suaves pelos. Los capítulos florales son unisexuales, las flores son pequeñas y discretas, blanco-verdosas y ubicadas axilarmente con las hojas. Las flores más cercanas a la parte superior son principalmente masculinas mientras que las femeninas florecen mucho más abajo y las flores masculinas se presentan en forma de espigas terminales y las femeninas por un involucre cerrado, ovoideo, cubierto de espinas en forma de gancho con dos picos superiores por donde asoman los estilos de sus dos únicas flores.¹⁸

b) Clasificación taxonómica

La muestra vegetal (raíz, tallo, hojas), ha sido estudiada y clasificada como; *Xanthium spinosum*.; y tienen la siguiente taxonomía.

Tabla 1. Taxonomía *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”

Reino:	Vegetal
División:	Angiospermas
Clase:	Dicotiledóneas
Orden:	Compuestas
Familia:	Asteráceas
Género:	<i>Xanthium</i>
Especie:	<i>Xanthium spinosum</i>
Nombres comunes: Abrojo, amor seco, espina de perro, Juan Alonso.	

Fuente: Herbario Nacional de Bolivia, 2015¹⁹

c) Distribución geográfica, hábitat y distribución:

Son principalmente una hierba mala del pasto pero también lo es de cosechas como algodón, caña de azúcar, uvas, soja y maíz. Son transportadas generalmente por las personas o los animales, adheridos a la ropa, piel u otras fibras, por sus espinas ganchosas. Cosmopolita originario de las zonas cálidas templadas del Sur América, indígena del Perú, hoy muy difundida en Europa (Mediterráneo), Norte y Sur África, Estados Unidos y Nueva Zelanda. Crece entre los 1800 - 3200 m.s.n.m., especialmente en suelos modificados, baldíos, potreros, al borde de los caminos, terrenos cultivados, setos y arcenes.²⁰

Ubicación en el Perú:

Planta ruderal de la sierra del Perú, se lo puede enmarcar en la región fitogeográfica neotropical, de la vertiente occidental alto andina, como plaga de los terrenos de cultivos, entre los 2400 – 3500 m.s.n.m.²⁰

d) Usos y aplicaciones

Presenta acción desinflamante y antibacteriana. Algunas experiencias revelan que en la hiperplasia prostática, también actúa como un inhibidor del crecimiento celular.

Se usan en afecciones hepáticas y del estómago, en retención urinaria (como diurético), blenorragia, es también usado como antiinflamatorio del bazo, próstata, riñones, vejiga y vías urinarias, ovario y huesos, antiespasmódico, anti disentérico, antipirético, antiséptico en afecciones de garganta, infecciones urinarias fuertes o crónicas, diurético, antiespasmódico, diarrea, diurético, para tratar infecciones tracto respiratorio, digestivo, antimalárico.²¹

2.2.2. Bioactivos

El término "bioactive" se compone de dos palabras: *bio* y *active*. En etimología: *bio-* del griego (βίο-) "*bios*" [bio-, -bio], se refiere: vida. Y *active* del latín "*activus*", significa: dinámico, lleno de energía, con energía, o involucra una actividad. Esta actividad presenta todos los fenómenos a partir de los cuales se manifiesta una forma de vida, un funcionamiento o un proceso.²²

Los componentes bioactivos son componentes de los alimentos o suplementos dietéticos, distintos de los necesarios para cubrir las necesidades nutricionales básicas, que son responsables de los cambios en el estado de salud. En este caso, es importante entender que los compuestos bioactivos no son nutrientes, incluso si están contenidos en alimentos o sus constituyentes.²³

En las plantas, los nutrientes no se incluyen generalmente en el término "compuesto bioactivo vegetal". Los compuestos vegetales bioactivos típicos se producen como metabolitos secundarios que no son necesarios para el funcionamiento diario de la planta (como el crecimiento), pero que juegan un papel importante en la competencia, defensa, atracción y señalización. Los compuestos bioactivos en las plantas se pueden definir, entonces, como metabolitos vegetales secundarios que provocan efectos farmacológicos o toxicológicos en humanos y animales.²⁴

En general un bioactivo puede definirse como cualquier no nutriente presente en los alimentos y/o vegetales que podrían ejercer un beneficio o efecto tóxico cuando se ingiere. En los últimos años ha habido un creciente interés en los efectos de estos compuestos bioactivos para la salud y el bienestar. Los alimentos vegetales han sido tradicionalmente el foco de investigación sobre bioactivos pero, más recientemente, los alimentos no vegetales se consideran fuentes ricas de compuestos bioactivos, con investigación en curso sobre los posibles efectos sobre la salud de los bioactivos no vegetales.²⁵

2.2.2.1 Compuestos fenólicos

Todos los compuestos que tienen uno o más grupos hidroxilo unidos directamente a un anillo aromático se conocen como compuestos fenólicos. Todo el grupo se basa en la estructura del fenol. Estos son los metabolitos secundarios aromáticos importantes y ampliamente distribuidos presentes en las plantas.²⁶

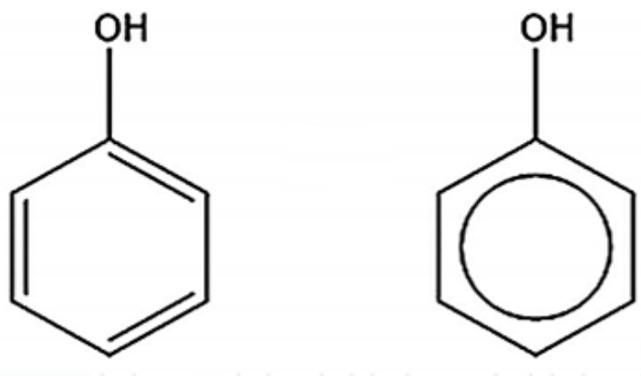


Figura 1. Estructura básica de los compuestos fenólicos ²⁷

a) **Propiedades y beneficios de los compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos son principalmente populares como antioxidantes potenciales, y se ha encontrado que sus efectos antioxidantes generalmente aumentan con la cantidad de contenido fenólico de un alimento o muestra. Se ha informado que tienen efectos anticancerígenos, antidiabéticos, antibacterianos, oculares positivos y gástricos. También se ha informado que tienen efectos protectores contra trastornos cardiovasculares, daño hepático y trastornos neurodegenerativos y ayudan en la prevención de los efectos citotóxicos de las

lipoproteínas de baja densidad oxidadas (LDL) y, en consecuencia, la aterosclerosis.²⁸

Las diferencias estructurales entre los diferentes grupos de polifenoles deciden las propiedades químicas y físicas de los polifenoles. Algunas de estas propiedades también afectan la eficiencia de extracción de los fenoles. Debido a la presencia de un anillo aromático que es una característica común de los polifenoles, el hidrógeno del hidroxilo fenólico es lábil, lo que hace que los fenoles sean ácidos débiles.²⁸

Los compuestos fenólicos cumplen diversas funciones en las plantas: se oxidan rápidamente y actúan como antioxidantes, actúan como inhibidores del crecimiento de las plantas, las semillas acumulan cantidades importantes de fenoles que actúan como filtro para que el oxígeno no llegue al embrión e inhiban su germinación. Los fenoles también se acumulan en la superficie de las hojas, capturando hasta el 90% de la radiación UV.²⁹

b) Clasificación de los compuestos fenólicos

El criterio más importante para clasificar los compuestos fenólicos es el número de carbonos presentes en la molécula. Según este criterio, los compuestos fenólicos se clasifican en fenoles simples, fenoles ácidos, acetofenonas y ácidos fenilacéticos, ácidos hidroxicinámicos, cumarinas, flavonoides, biflavonilos, benzofenonas, xantonas, estilbenos, quinonas y betacianinas. Los lignanos, neolignanos, taninos y flobafenos también pertenecen a este grupo. Estos últimos son polímeros y tienen estructuras más complejas.²⁹

b.1) Fenoles y ácidos fenólicos

Los fenoles libres y los ácidos fenólicos se consideran mejor juntos, ya que generalmente se identifican juntos durante el análisis de la planta. La hidrólisis ácida de los tejidos vegetales libera una serie de ácidos fenólicos solubles en éter, algunos de los cuales son universales en su distribución. Estos ácidos están asociados con la lignina combinada como grupos éster o están presentes en la

fracción insoluble en alcohol de la hoja; alternatively, pueden estar presentes en la fracción soluble en alcohol unida simplemente como glucósidos.³⁰

Los fenoles libres son relativamente raros en las plantas. La hidroquinona es probablemente la más distribuida; otros, como el catecol, el orcinol, el floroglucinol y el pirogalol, se han informado sólo de unas pocas fuentes. Los fenoles simples se incluyen aquí, porque su identificación es importante en relación con la determinación de la estructura de los flavonoides. La degradación alcalina o la escisión reductora de flavonoides y otros fenoles complejos producen, según el patrón de sustitución particular presente, uno o más de los fenoles simples y ácidos fenólicos.³⁰

b.2) Flavonoides

Los flavonoides se caracterizan por una estructura química de fenilbenzopirano. La estructura general incluye un esqueleto C₁₅ (C₆-C₃-C₆) unido a un anillo de cromano (resto benzopirano). El anillo de benzopirano heterocíclico se conoce como anillo C, el anillo aromático condensado como anillo A y el constituyente fenilo como anillo B. El anillo A puede ser de dos tipos: un tipo floroglucinol que está metatrihidroxilado, o un tipo resorcinol que está meta-dihidroxilado. El anillo B puede estar monohidroxilado, orto-dihidroxilado o vecinal-trihidroxilado. El heterociclo central existe más comúnmente en una de tres formas: pirano, pirilio o γ -pirona.³¹

Según la posición del anillo aromático con respecto al resto benzopirano, los flavonoides se pueden agrupar en cuatro clases: flavonoides principales (2-fenilbenzopiranos), isoflavonoides (3-benzopiranos), neoflavonoides (4-benzopiranos) y flavonoides menores. En las plantas, estos compuestos se encuentran en casi todas las especies, generalmente como resultado de sus propiedades de protección contra los rayos UV, por lo que constituyen una protección para la planta. Además, su capacidad para atraer polinizadores está bien establecida.³²

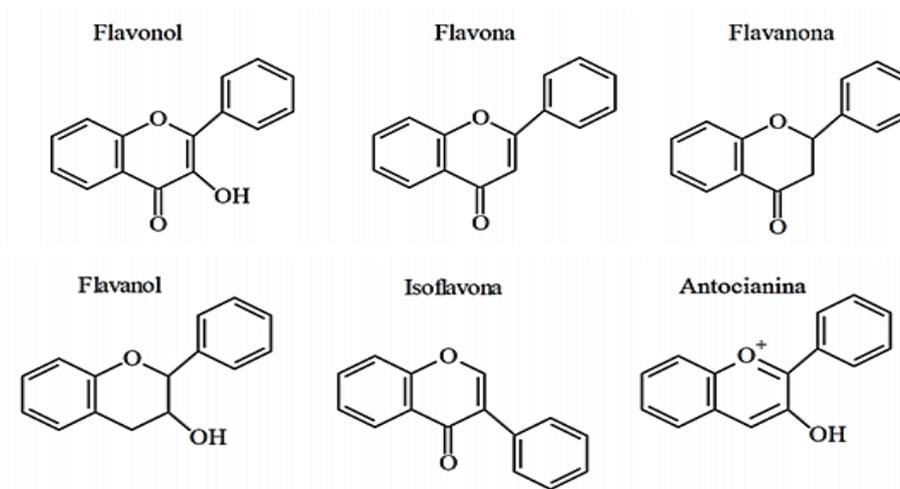


Figura 2. Estructura química de los flavonoides ³³

b.3) Taninos

La denominación de taninos incluye compuestos de dos grupos químicos distintos: taninos hidrolizables (polímeros de ácido elágico o de ácidos gálico y elágico con glucosa) y taninos condensados, que resultan de la condensación de monómeros de flavan-3-ol. unidades.³⁴

Dada su relación con los ácidos fenólicos y los flavonoides, sus propiedades antioxidantes no son una sorpresa: ejercen su actividad antioxidante eliminando radicales libres, quelando metales traza y uniendo proteínas con supresión de su actividad enzimática. La actividad depuradora de los taninos aumenta con un aumento en el número de grupos galóilo y el peso molecular y en presencia de una estructura orto-dihidroxi: los grupos hidroxilo son responsables de las propiedades quelantes y depuradoras de radicales de estos compuestos.³⁴

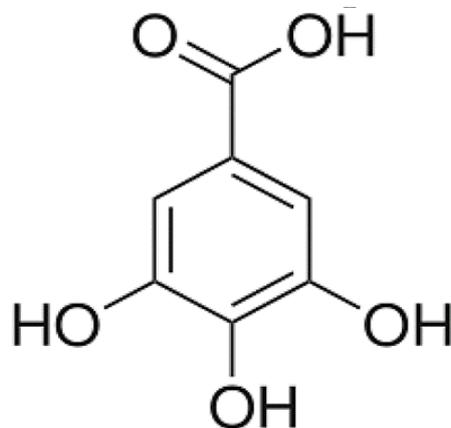


Figura 3. Estructura química de los taninos³⁵

2.2.3. El estrés oxidativo

El cuerpo produce radicales libres constantemente debido al uso regular de oxígeno. Estos radicales libres son responsables del daño celular en el cuerpo y contribuyen a varios tipos de problemas de salud, como enfermedades cardíacas, diabetes, degeneración macular y cáncer.³⁶

El metabolismo implica procesos oxidativos vitales para la supervivencia celular. En el curso de la reducción gradual del oxígeno molecular, se producen una serie de especies reactivas oxigenadas. Las especies reactivas pueden ser radicales libres oxigenados / nitrogenados definidos como especies químicas que poseen un electrón desapareado en la capa de valencia (radical anión superóxido, hidroxil, hidroperoxilo, peroxil, alcoxilo, óxido nítrico, peroxinitrito y dióxido de nitrógeno) o moléculas neutras.³⁷

Los radicales libres generados en el metabolismo aeróbico están implicados en una serie de procesos reguladores como la proliferación celular, la apoptosis y la expresión génica. Cuando se generan en exceso, los radicales libres pueden contrarrestar la capacidad de defensa del sistema antioxidante, dañando las biomoléculas esenciales en la célula al oxidar los lípidos de la membrana, las proteínas celulares, los carbohidratos, el ADN y las enzimas. El estrés oxidativo da como resultado la aparición de compuestos citotóxicos (malonil dialdehído, 4-hidroxinonenal) y altera el equilibrio oxidante - antioxidante (homeostasis redox) que caracteriza el funcionamiento normal de las células.³⁷

2.2.4. Los radicales libres

Es bien sabido que, en el átomo, los electrones están ordenados en sus orbitales de energía, con un número par de ellos en el último nivel, el más externo. Esta distribución le da estabilidad al átomo y una baja posibilidad de reacción con un átomo cercano. Sin embargo, bajo ciertas condiciones, el último nivel de energía puede perder su estabilidad al perder o ganar un electrón. Cuando esto sucede, el último orbital muestra un electrón desapareado, lo que convierte al átomo en un radical libre. Esta característica da como resultado un incremento drástico de su

capacidad para reaccionar con otros átomos y/o moléculas presentes cerca; en el entorno celular, estas moléculas incluyen lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. Cuando se produce una interacción química entre los radicales libres y las moléculas antes mencionadas, pueden producirse cambios en las propiedades estructurales de las macromoléculas, que finalmente afectan su función.³⁸

Es importante mencionar también las especies reactivas de oxígeno (ROS). Este término incluye todas aquellas moléculas reactivas, radicales libres o no, que centran su reactividad en un átomo de oxígeno. A pesar de la delimitación que da la presencia de oxígeno, este título también incluye especies químicas con reactividad química centrada o derivada de átomos distintos del oxígeno. Tal es el caso de especies que contienen nitrógeno o cloro, átomos que son responsables de su reactividad química.³⁸

2.2.5. Los antioxidantes

Antioxidante significa "contra la oxidación". Cualquier sustancia en concentraciones bajas en comparación con la de un sustrato oxidable que retrasa o previene significativamente la oxidación de ese sustrato se denomina antioxidante. Los antioxidantes juegan un papel vital en la preservación de la calidad de los alimentos y el mantenimiento de la salud del ser humano.³⁹

a) Propiedades y beneficios de antioxidantes

La actividad antioxidante tiene relación con la presencia de polifenoles o compuestos fenólicos, debido a la capacidad que tienen dichos compuestos de atrapar, o inhibir la producción de radicales libres. Los flavonoides trabajan principalmente como tampones, y toman radicales libres para la producción del radical flavínico, el cual es mucho menos reactivo, ya que en él los electrones desapareados están más deslocalizados.⁴⁰

Los fenólicos pueden actuar como antioxidantes de varias formas. Los grupos hidroxilo fenólicos son buenos donantes de hidrógeno: los antioxidantes donantes de hidrógeno pueden reaccionar con el oxígeno reactivo y las especies de

nitrógeno reactivo en una reacción de terminación, que rompe el ciclo de generación de nuevos radicales.

Las estructuras fenólicas a menudo tienen el potencial de interactuar fuertemente con las proteínas, debido a sus anillos bencenoides hidrófobos y al potencial de enlace de hidrógeno de los grupos hidroxilo fenólicos.⁴¹

b) Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos también se atribuye a su capacidad para quelar los iones metálicos implicados en la producción de radicales libres. Sin embargo, los fenólicos pueden actuar como prooxidantes al quelar los metales de una manera que mantiene o aumenta su actividad catalítica o al reducir los metales, aumentando así su capacidad para formar radicales libres.⁴²

b.1) Ensayo del radical DPPH

Es el ensayo de capacidad de eliminación de radicales de 2,2'-difeníl-1-picrilhidrazilo (DPPH), el DPPH es muy utilizado en muchos laboratorios del mundo por su sencillez y facilidad para realizarlo.⁴³

El DPPH es un radical orgánico nitrogenado con un electrón deslocalizado, y esta característica le confiere una coloración púrpura, con una absorbancia máxima a 515 nm. El ensayo se basa en la medición de la capacidad de los antioxidantes para reducir la DPPH. Tal reducción se puede medir por la decoloración del color púrpura en su absorbancia.

$$\% \text{ de inhibición del radical DPPH} = ((Abr - Aar) / Abr) \times 100$$

Donde *Abr* es la absorbancia antes de la reacción y *Aar* es la absorbancia después de que ocurrió la reacción.

2.2.6. Características fisicoquímicos

a) Humedad

El contenido de agua de los alimentos es variable. La determinación de agua, normalmente, considera la pérdida de peso que sufre una muestra sometida a desecación en una estufa hasta alcanzar un peso constante a una temperatura ligeramente superior (105°C – 106°C) a la de ebullición del agua.⁴⁴

b) Cenizas

Las cenizas de un alimento son un término analítico equivalente al residuo inorgánico que queda después de calcinar la materia orgánica. Las cenizas normalmente, no son las mismas sustancias inorgánicas presentes en el alimento original, debido a las pérdidas por volatilización o a las interacciones químicas entre los constituyentes.⁴⁵

b.1) Cenizas ácidas

Las cenizas ácido-insolubles son los residuos después de la ebullición de las cenizas totales con ácido clorhídrico diluido. Esta determinación mide la presencia de sílice, especialmente de arena y tierra silíceas.⁴⁶

b.2) Cenizas solubles

Es la diferencia de peso entre las cenizas totales y el residuo remanente después del tratamiento de las cenizas totales con agua. Los valores no deben de ser mayores de 8 a 10%.⁴⁷

2.2.7. Métodos de extracción de bioactivos

Las sustancias bioactivas vegetales se pueden extraer mediante métodos de extracción.

a) Maceración

La maceración se utilizó en la elaboración casera de tónica desde hace mucho tiempo. Se convirtió en una forma popular y económica de obtener aceites esenciales y sustancias bioactivas. Para la extracción a pequeña escala, la maceración generalmente consta de varios pasos. En primer lugar, se usa la trituración de materiales vegetales en partículas pequeñas para aumentar el área de superficie para una mezcla adecuada con el solvente. En segundo lugar, en el

proceso de maceración, se agrega el disolvente apropiado denominado menstro en un recipiente cerrado. En tercer lugar, el líquido se filtra pero el orujo, que es el residuo sólido de este proceso de extracción, se prensa para recuperar una gran cantidad de soluciones ocluidas. El líquido colado obtenido y el exprimido se mezclan y se separan de las impurezas por filtración.⁴⁸

La agitación ocasional en maceración facilita la extracción de dos formas; (a) aumente la difusión, (b) elimine la solución concentrada de la superficie de la muestra para traer nuevo solvente al menstro para un mayor rendimiento de extracción.⁴⁸

Por el uso del solvente el método extractivo por maceración se puede dar de las siguientes formas:

a.1). Método extractivo acuoso

Consiste en concentrar la solución obtenida por maceración para la obtención de extracto acuoso, se tomaron el gr de las hojas trituradas y/o molidas. Posteriormente se llevó a decocción con agua por minutos, luego se mantuvo la muestra en reposo en un recipiente herméticamente cerrado completando y se agregó agua destilada, para la maceración por días.⁴⁹

a.2). Método extractivo etanólico

El extracto etanólico “tiene un olor característico, que se obtiene a partir de materia prima de origen vegetal previamente desecada, se puede realizar por maceración o percolación poniendo en contacto con etanol que podría ser de 70 grados o 90 grados. Los extractos son preparados concentrados de consistencia sólida, líquida o intermedia, derivados generalmente de material vegetal desecado, se obtienen al evaporar parcial o totalmente el disolvente en los líquidos extractivos de origen vegetal.⁵⁰

2.2.8 Métodos espectrofotométricos para la cuantificación de polifenoles

Los métodos espectrofotométricos, especialmente los métodos colorimétricos, se utilizan hoy en día de forma intensiva para la cuantificación de diferentes clases

de polifenoles (contenido fenólico total, contenido de taninos, contenido de flavonoides y antocianinas).⁵¹

a) Determinación del contenido de fenoles

El contenido fenólico total de los extractos de plantas generalmente se determina mediante el método colorimétrico utilizando el reactivo de Folin Ciocalteu. Este método implica la oxidación del ion fenolato acoplado a la reducción del reactivo fosfotúngstico - fosfomolibdico. El cromóforo producido es un complejo fosfotúngstico - fosfomolibdico azul que tiene una absorción máxima en la región de 750 nm. El contenido fenólico total se expresa como el número de equivalentes de ácido gálico, ácido tánico o ácido cafeico utilizados para las curvas de calibración.⁵¹

b) Determinación del contenido de flavonoides

El contenido total de flavonoides y flavonas generalmente se determina utilizando cloruro de aluminio como reactivo. Este método se basa en la formación de un flavonoidaluminio complejo que tiene un máximo de absorción a 510 nm. La rutina o quercetina se utiliza como compuesto de referencia y el contenido total de flavonoides calculado a partir de la curva de calibración del estándar se expresará en mg de equivalentes de rutina.⁵¹

c) Determinación del contenido de taninos

En la literatura se han descrito varios métodos para cuantificar las proantocianidinas (taninos condensados); sin embargo, los más comunes son el ensayo ácido-butanol y el ensayo de vainillina.

Otro método utilizado para la estimación del contenido total de taninos se basa en la adsorción en caseína. El contenido fenólico total de la muestra se determina con el reactivo de Folin Ciocalteu, antes y después del proceso de adsorción. La diferencia entre las absorbancias de la solución inicial y final corresponde a la concentración de taninos adsorbidos en caseína en la muestra.⁵¹

2.3. Marco Conceptual (Variables y Dimensiones)

Xanthium spinosum .- “Juan Alonso”

Es una especie vegetal conocida comúnmente como “amor seco” es una especie autóctona de Sud América, es utilizada en la medicina tradicional principalmente por sus propiedades coleréticos hepáticas, laxantes suaves, cicatrizante de heridas, antiinflamatorio y diurético.⁵²

Extracción

La extracción es el primer paso crucial en el análisis de plantas medicinales, porque es necesario extraer los componentes químicos deseados de los materiales vegetales para su posterior separación y caracterización. Se deben tomar las acciones adecuadas para asegurar que los componentes activos potenciales no se pierdan, distorsionen o destruyan durante la preparación del extracto de muestras de plantas. La selección del sistema de disolvente depende en gran medida de la naturaleza específica del compuesto bioactivo al que se dirige. Se encuentran disponibles diferentes sistemas de disolventes para extraer sustancias bioactivas del producto natural. La extracción de compuestos hidrófilos utiliza disolventes polares como metanol, etanol o acetato de etilo.⁵³

Método extractivo acuoso

Preparación en agua de la sustancia de una planta o alimento que contiene la porción biológica activa sin el residuo celular donde la medición se da en presencia de principios activos bajo indicadores de coloración y precipitación.⁵⁴

Método extractivo etanólico

Permite identificar metabolitos de polaridad variada como: esteroides, alcaloides, flavonoides y taninos.⁵⁵

Sustancias bioactivas

Tipo de sustancia química que se encuentra en pequeñas cantidades en las plantas y ciertos alimentos (como frutas, verduras, nueces, aceites y granos integrales). Las sustancias bioactivas cumplen funciones en el cuerpo que pueden

promover la buena salud. Los ejemplos de sustancias bioactivas (fenoles, flavonoides, taninos, entre otros).⁵⁶

Compuestos fenólicos

Son fotoquímicos que han despertado interés en los últimos años, ya que pueden detener la cadena de radicales libres de reacciones oxidativas por medio de la donación de átomos de hidrógeno de sus grupos hidroxilo, formando radicales libres relativamente estables que no inician o propagan la oxidación de lípidos.⁵⁷

Los compuestos fenólicos serán cuantificados a través de la concentración de fenoles en miligramos de ácido gálico por gramo (mg AGE/g).

Taninos

Son otro grupo importante de polifenoles y usualmente están divididos en dos grupos, los taninos hidrolizables y los taninos condensados. Los taninos hidrolizables son compuestos que contienen un núcleo central de glucosa u otro poliol esterificado con ácido gálico, también llamados galotaninos, o con ácido hexahidroxidifénico, también llamados elagitaninos. Los taninos condensados o proantocianidinas son oligómeros o polímeros que provienen de la esterificación de compuestos fenólicos flavonoides, como las catequinas o flavan-3-oles.⁵⁸

Los taninos serán cuantificados a través de la concentración de taninos en miligramos de ácido tánico por gramo (mg ATE/g).

Flavonoides

Se refiere a un grupo aromático, pigmentos heterocíclicos que contienen oxígeno ampliamente distribuido entre las plantas, constituyendo la mayoría de los colores amarillo, rojo y azul de las plantas y frutas. Siendo que al consumirlos obtengamos de ellos propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas, antitrombóticas, antialérgicas, antitumorales, anticancerígenas y antioxidantes.⁵⁹

Los flavonoides serán cuantificados a través de la concentración de flavonoides en miligramos de quercetina por gramo (mg QE/g).

Antioxidante

Es definido como “una molécula capaz de disminuir o prevenir la oxidación de otras moléculas”, mientras que un antioxidante biológico ha sido definido como “cualquier sustancia que, cuando está presente en concentraciones bajas en comparación a las de un sustrato oxidable, retrasa o previene significativamente la oxidación de ese sustrato”.⁶⁰

Capacidad antioxidante

Es la capacidad de una sustancia para inhibir la degradación oxidativa., para su cuantificación se utiliza generalmente métodos indirectos donde se determina la habilidad del antioxidante para estabilizar algún radical libre, es así que se da el uso de algunos radicales libres metaestables, coloreados, con fuerte absorción en el espectro visible, como herramienta para determinar actividad estabilizadora de radicales libres.⁶¹

La capacidad antioxidante será cuantificada a través del porcentaje de inhibición.

CAPÍTULO III

HIPÓTESIS

3.1. Hipótesis General

El método extractivo acuoso y etanólico influye sobre el tipo y concentración de sustancias bioactivas en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”.

3.2 Hipótesis Específico 3

El método extractivo acuoso y etanólico influye sobre la capacidad antioxidante en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”

3.3. Operacionalización de variables (definición conceptual y operacional)

3.3.1. Variables Independiente:

- **Método extractivo**

- **Definición conceptual**

El método extractivo es la separación de porciones de activos de plantas medicinalmente utilizando disolventes selectivos mediante procedimientos estándar.⁶²

- **Definición operacional**

El método extractivo será el método realizado por las diferentes combinaciones tanto como solvente, dilución y temperatura, donde se tiene las siguientes opciones:

- Solvente: agua y etanol
- Dilución: (1:3) y (1:5)
- Temperatura: 20°C, 30°C y 40°C

3.3.2. Variables dependientes

- **Sustancias bioactivas (fenoles, flavonoides y taninos).**

- **Definición conceptual**

Las sustancias bioactivas son los metabolitos vegetales secundarios que provocan efectos farmacológicos o toxicológicos en el hombre y los animales, donde encontraremos a los fenoles, flavonoides y taninos.⁶³

- **Definición operacional**

Las sustancias bioactivas serán analizadas mediante las concentraciones de fenoles en miligramos de Ácido Gálico por gramo, concentraciones de flavonoides en miligramos de Quercetina por gramo y concentraciones de taninos en miligramos de Ácido Tánico por gramo.

- **Capacidad antioxidante.**

- **Definición conceptual**

La capacidad antioxidante es la medición de las sustancias que contienen vitaminas, minerales y colorantes para inhibir la degradación oxidativa, estos compuestos son quienes inhiben el proceso oxidativo y esta capacidad se debe a sus componentes polifenólicos.⁶⁴

- **Definición operacional**

La capacidad antioxidante será analizada a través del valor del porcentaje de inhibición, el cual será calculado mediante el ensayo DPPH por espectrometría.

CAPÍTULO IV

METODOLOGÍA

4.1. Método de Investigación

La propuesta de investigación compete como método general al método científico, el cual es un conjunto de pasos, técnicas y procedimientos que se emplean para formular y resolver problemas de investigación mediante la prueba o verificación de hipótesis ⁶⁵, como método específico se aplicó el método explicativo, el cual consiste en probar vínculos causales entre variables ⁶⁶.

4.2. Tipo de Investigación

Esta investigación según su finalidad es de tipo aplicada o práctica debido a que se busca la utilización de los conocimientos obtenidos de la ciencia básica para comprender la influencia de determinadas condiciones ⁶⁶, ya que su objetivo es aplicar y utilizar conocimientos adquiridos basados en la investigación para obtener y sistematizar la práctica de la extracción de sustancias bioactivas y la determinación de la capacidad antioxidante en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”, proveniente del Distrito de Ahuac Provincia de Chupaca. Además, el tipo de investigación según la intervención del investigador es de tipo experimental debido a que consiste en la manipulación de una (o más) variable experimental no comprobada, en condiciones rigurosamente controladas, con el fin de describir de qué modo o por qué causa se produce una situación o acontecimiento particular ⁶⁶,

según el número de ocasiones que se mide la variable es de tipo transversal dado que la investigación se desarrolla en un momento tiempo definido ⁶⁶.

4.3. Nivel de Investigación

El trabajo de investigación propuesta es de nivel explicativo, ya que esta busca explicar las condiciones en que se manifiesta un fenómeno y como se relacionan dos o más variables ⁶⁷, considerando que la investigación indaga de modo confiable, la influencia que existe entre los métodos extractivos acuoso y etanólico sobre el tipo y concentración de sustancias bioactivas (fenoles, flavonoides, taninos) y los efectos en la capacidad antioxidante.

4.4. Diseño de la Investigación

El diseño que corresponde a la presente investigación es el diseño experimental debido a que se busca establecer el posible efecto de una causa (método extractivo) que se manipula (solventes, diluciones y temperaturas). ⁶⁷

4.4.1. Diseño Experimental

En base a antecedentes de investigaciones anteriores se consideran los siguientes valores de las variables que afectan en la extracción de sustancias bioactivas por extracción acuoso y etanólico a partir de hojas de *Xanthium spinosum* "Juan Alonso", el diseño detallado se presenta en el (**Anexo 8**).

- a. Solvente : agua y etanol
- b. Temperatura : 20°C, 30°C y 40°C
- c. Dilución S/L : (1:3) y (1:5)

4.4.2. Diseño estadístico

El diseño estadístico corresponde a un diseño completamente al azar a un nivel de significancia de 5% utilizando el software del programa computacional InfoStat, V2020 ⁶⁸ y Microsoft Excel 2016.

4.5. Población y Muestra

- **Población:** Hojas de *Xanthium spinosum* "Juan Alonso" proveniente del Distrito de Ahuac, Provincia de Chupaca.

- **Muestra:** El tamaño de muestra a utilizar es 10 kg hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” provenientes del Distrito de Ahuac, Provincia de Chupaca.
- **Tipo de Muestreo:** Muestreo no probabilístico.
- **Criterio de inclusión:** Seleccionamos las hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” de acuerdo a su grado de madurez.
- **Criterio de exclusión:** Se apartan las hojas secas y aquellas dañadas debido a golpes.

4.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Las técnicas e instrumentos de recolección de datos se muestran en la tabla siguiente:

Tabla 2. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

TÉCNICAS	INSTRUMENTOS	ANÁLISIS REALIZADO	PROCEDIMIENTO	DATOS
Análisis documental	<ul style="list-style-type: none"> • Fichas bibliográficas • Fichas de trabajo • Computadora y sus unidades de almacenaje 	Revisión Bibliográfica	Recolección de información de investigaciones anteriores.	Extracción acuoso y etanólico de sustancias bioactivas; rendimiento, fenoles, flavonoides, taninos y capacidad antioxidante.
Observación	<ul style="list-style-type: none"> • Fichas de Recolección de datos 	Análisis Físico	Selección y determinación de la muestra de hojas de <i>Xanthium spinosum</i> “Juan Alonso”	Pesado de hojas de <i>Xanthium spinosum</i> “Juan Alonso”
		Análisis fisicoquímicos en hojas de <i>Xanthium spinosum</i> “Juan Alonso”	Método recomendado por la AOAC	Humedad y cenizas
		Análisis de perfil fitoquímicos de componentes en hojas de <i>Xanthium spinosum</i> “Juan Alonso”	Métodos químicos cualitativos	Presencia de fitoquímicos.

		Análisis del rendimiento de la extracción de las sustancias bioactivas	Método gravimétrico	Porcentaje de rendimiento de fenoles, flavonoides y taninos
		Análisis de fenoles, flavonoides, taninos y capacidad antioxidante en hojas de <i>Xanthium spinosum</i> “Juan Alonso”	Método folin, cloruro de aluminio y DPPH por espectrofotometría UV/Visible.	Concentración de fenoles, flavonoides, taninos y capacidad antioxidante.

Fuente. Elaboración propia, 2021

Procedimiento de la investigación

- La obtención de hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” se hará una recolección de 10 kg del Distrito de Ahuac, Provincia de Chupaca.
- Técnicas de la caracterización del contenido de fenoles, flavonoides, taninos obtenida a partir de hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”

Cuantificación de flavonoides:

Método recomendado por la AOAC (2014).

Cuantificación de fenoles

Método recomendado por Wosltran (1998)

Cuantificación de taninos

Método recomendado por la AOAC (2014).

Capacidad antioxidante

Método recomendado por la AOAC (2016)

Rendimiento:

Procedimiento gravimétrico por diferencia de pesos en función a la materia prima inicial.

Características fisicoquímicas:

Se determinará de acuerdo a los métodos oficiales establecidos por la AOAC (2008):

- Humedad.

Triturar las hojas seleccionadas en un mortero, tomar 5g de la muestra, realizar el secado a 100°C por 2 horas, seguidamente enfriar a temperatura ambiente por 30 minutos y pesar en la balanza analítica.

- **Cenizas.**

El método se basa en la destrucción de la materia orgánica presente en la muestra por la calcinación y determinación gravimétrica del residuo.

El proceso de incineración se dará a 550°C hasta conseguir cenizas blancas o grisáceas, seguidamente enfriar en la mufla apagada y luego traspasar a desecador y pesar a temperatura ambiente.

4.6.1. Variable de Investigación

- **Variable independiente:**

Método extractivo:

-Solvente: agua y etanol

-Temperatura: 20°C, 30°C y 40°C

-Dilución: S/L (sólido/líquido): (1:3) y (1:5)

- **Variable dependiente:**

- Sustancias bioactivas (fenoles, flavonoides, taninos)

- Capacidad antioxidante

4.7. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

La investigación se desarrolló utilizando métodos de análisis estadístico de las respuestas del proceso de extracción de sustancias bioactivas con el fin de evaluar las características fitoquímicas y su influencia con la capacidad antioxidante en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”

Se empleó específicamente el método estadístico de análisis de varianza del Test Anova de un factor. Además, se realizó la prueba de comparación del Test Tukey para poder agrupar los distintos datos estadísticos con diferencia significativa. El Test de Anova compara la distribución de una variable continua normal en dos o más poblaciones (niveles o categorías) y El Test Tukey es una prueba estadística utilizada general y conjuntamente con Anova, el Test Tukey se usa en experimentos que implican un número elevado de comparaciones.

Análisis de varianza de un factor: diseño completamente aleatorizado (Anova de un factor)

De “ k ” poblaciones se seleccionan muestras aleatorias de tamaño “ n ”. Las “ k ” poblaciones diferentes se clasifican con base en un criterio único, como tratamientos o grupos distintos. En la actualidad el término tratamiento se utiliza por lo general para designar las diversas clasificaciones, ya sean diferentes agregados, analistas, fertilizadores o regiones del país.⁶⁹

Suposiciones e hipótesis del Anova de un solo factor

Se supone que las k poblaciones son independientes y que están distribuidas en forma normal con medias $\mu_1, \mu_2, \dots, \mu_k$, y varianza común σ^2 . Se desean obtener métodos adecuados para probar las hipótesis:⁶⁹

Hipótesis planteadas:

H₀: $\mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_k$ (no existe diferencia significativa entre las medias por los tanto son casi iguales o iguales)

H₁: Al menos dos de las medias no son iguales (existe diferencia significativa en al menos dos de las medias y por lo tanto influencia del tratamiento)

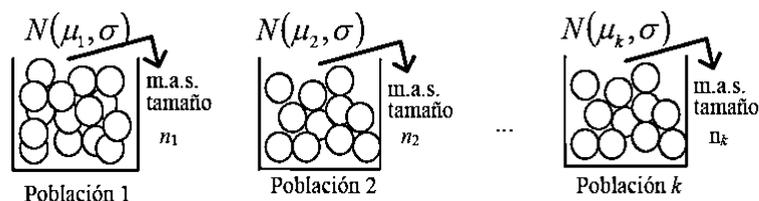


Figura 4. Comparación de medias mediante Anova⁷⁰

Tenemos una muestra aleatoria simple de n_1 observaciones de una población $N(\mu_1, \sigma)$.

Tenemos una muestra aleatoria simple de n_2 observaciones de una población $N(\mu_2, \sigma)$.

Tenemos una muestra aleatoria simple de n_k observaciones de una población $N(\mu_k, \sigma)$.

Las k muestras aleatorias son independientes una de otra.

Nota: La desviación estándar poblacional de cada grupo es igual a σ (homocedasticidad).

⁷⁰

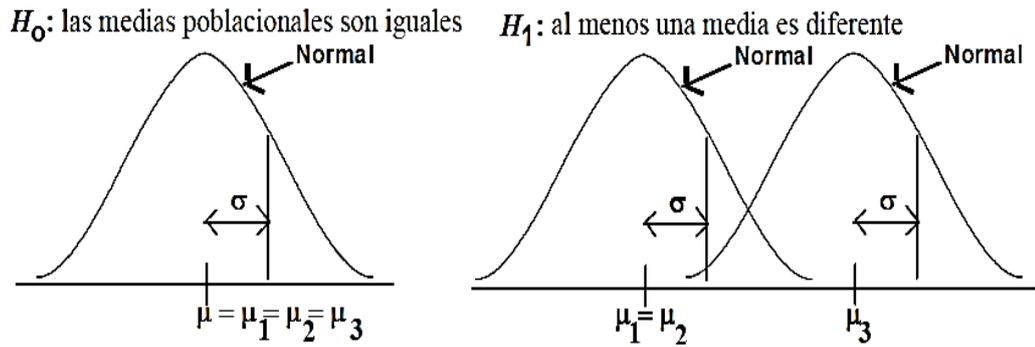


Figura 5. Comparación grafica de hipótesis ⁷⁰

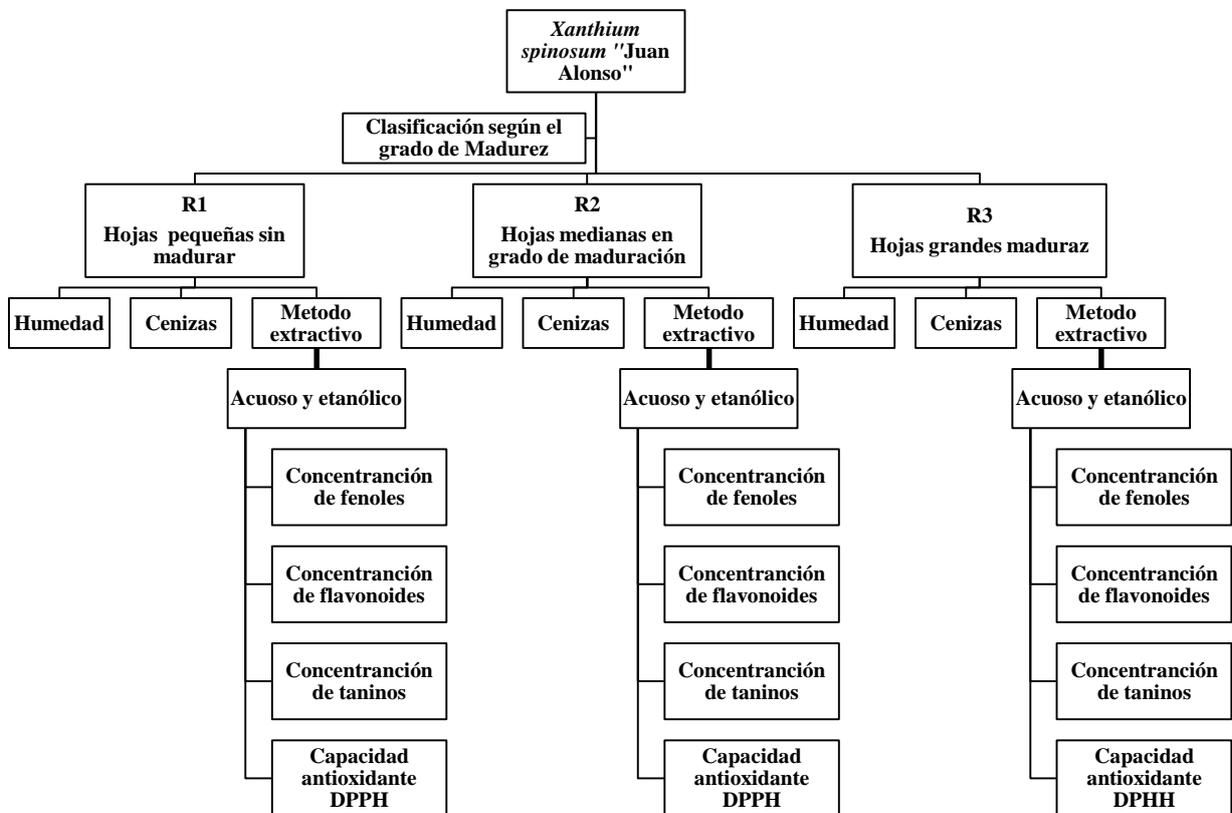


Figura 6. Diseño experimental empleado

Fuente. Elaboración propia, 2021.

4.8. Aspectos éticos de la investigación

Los aspectos éticos de la investigación están basados en los Artículos 27° y 28° del reglamento general de investigación de la Universidad Peruana los Andes. Las normas que están relacionadas de acuerdo al Artículo 27° con la presente investigación son protección al medio ambiente y el respeto de la biodiversidad, responsabilidad y veracidad. Así mismo las normas de comportamiento ético con el Artículo 28° que están relacionados con nuestra investigación son:

- Ejecutar investigaciones pertinentes, originales y coherentes con las líneas de investigación Institucional.
- Proceder con rigor científico asegurando la validez, la fiabilidad y credibilidad de sus métodos, fuentes y datos.
- Asumir en todo momento la responsabilidad de la investigación, siendo conscientes de las consecuencias individuales, sociales y académicas que se derivan de la misma
- Tratar con sigilo la información obtenida y no utilizarla para el lucro personal, ilícito o para otros propósitos distintos de los fines de la investigación.
- Cumplir con las normas institucionales, nacionales e internacionales que regulen la investigación, como las que velan por la protección de los sujetos humanos, sujetos animales y la protección del ambiente.
- Publicar los trabajos de investigación en estricto cumplimiento al Reglamento de Propiedad Intelectual de la Universidad Peruana Los Andes y normas referidas a derecho de autor.

CAPÍTULO V

RESULTADOS

5.1. Descripción de resultados

5.1.1 Resultados referidos a la determinación de las características fisicoquímicas en hojas *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”.

En la tabla 3, se muestran los resultados de las características fisicoquímicas evaluados por métodos recomendados AOAC, relacionados al contenido de humedad y cenizas totales (ácidas y solubles).

Tabla 3. Media del contenido de humedad, cenizas totales, ácidas y solubles en hojas *Xanthium spinosum* "Juan Alonso" (g/100g).

Componentes g/100g	Media (μ)	DesvStand ($\pm\sigma$)
Humedad	7,10	$\pm 0,25$
Cenizas totales	10,97	$\pm 0,40$
Cenizas ácidas	4,85	$\pm 0,05$
Cenizas solubles	4,30	$\pm 0,04$

Fuente. Elaboración propia, 2021.

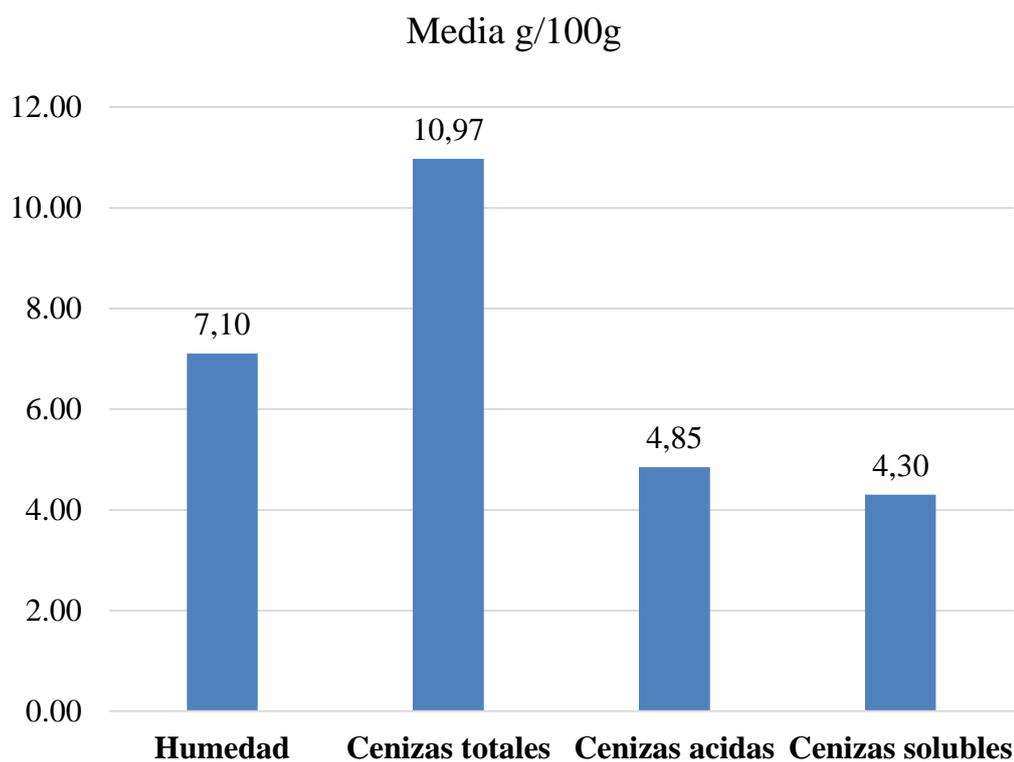


Figura 7. Características fisicoquímicas en hojas *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” (g/100g).

Fuente. Elaboración propia, 2021.

De la Tabla 3 y Figura 7 se muestra que la media de la humedad en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” es 7,10g/100g, la media de las cenizas totales es 10,97g/100g, la media de las cenizas acidas 4,85g/100g y de las cenizas solubles 4,30g/100g.

5.1.2. Resultados referidos a determinar el método extractivo (acuoso o etanólico) que permite la mayor concentración de fenoles en hojas *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”.

La extracción de los fenoles en hojas *Xanthium spinosum* de “Juan Alonso” se muestran en la Tabla 4, en base a la combinación de solvente, dilución y temperatura de los métodos extractivos acuoso y etanólico.

Tabla 4. Media de la concentración de fenoles en hojas *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” en base a los métodos extractivos.

Método Extractivo	Solvente	Dilución	Temperatura (°C)	Fenoles (mg AGE/g)	
				Media (μ)	DesvStand ($\pm\sigma$)
1	Agua	1:3	20	185,88	$\pm 0,61$
2	Agua	1:5	20	173,10	$\pm 1,11$
3	Etanol	1:3	20	206,27	$\pm 0,35$
4	Etanol	1:5	20	197,20	$\pm 2,76$
5	Agua	1:3	30	191,34	$\pm 2,05$
6	Agua	1:5	30	183,39	$\pm 1,06$
7	Etanol	1:3	30	206,27	$\pm 0,35$
8	Etanol	1:5	30	197,20	$\pm 2,76$
9	Agua	1:3	40	215,62	$\pm 6,95$
10	Agua	1:5	40	203,95	$\pm 5,08$
11	Etanol	1:3	40	255,66	$\pm 1,17$
12	Etanol	1:5	40	245,69	$\pm 2,61$

Fuente. Elaboración propia, 2021.

De la Tabla 4 y Figura 8 se obtienen que el método extractivo 11 de solvente etanólico en dilución de (1:3) a una temperatura de 40°C, es el que entrega mayor concentración de media de fenoles en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” con un valor de 255,66 mg de AGE/g.

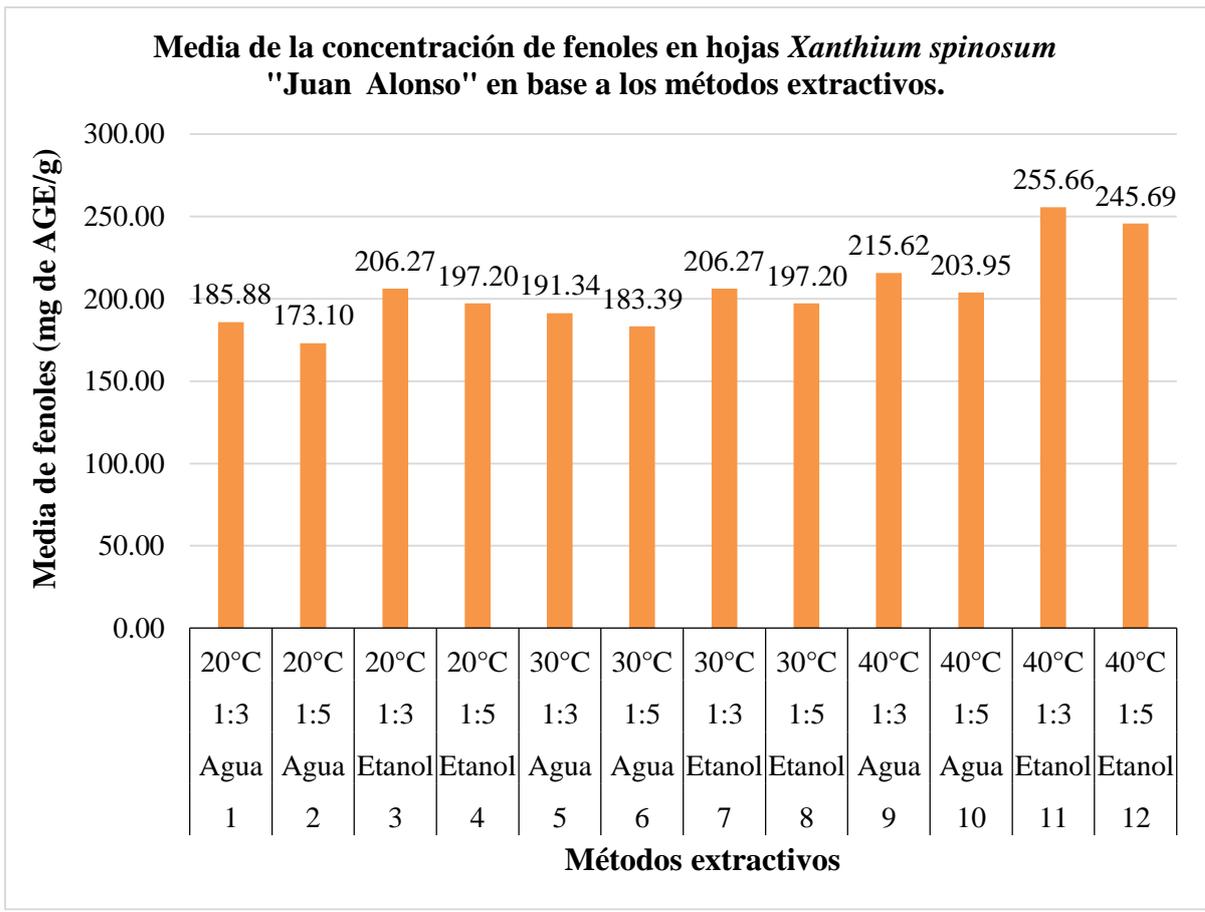


Figura 8. Media de la concentración de fenoles en hojas *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” (mg de AGE/g) en base a los métodos extractivos.

Fuente. Elaboración propia, 2021.

5.1.3. Resultados referidos a determinar el método extractivo (acuoso o etanólico) que permite la mayor concentración de flavonoides en hojas *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”.

La extracción de los flavonoides en hojas *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” se muestran en la Tabla 5, en base a la combinación de solvente, dilución y temperatura de los métodos extractivos acuoso y etanólico.

Tabla 5. Media de la concentración de flavonoides en hojas *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” en base a los métodos extractivos.

Método Extractivo	Solvente	Dilución	Temperatura (°C)	Flavonoides (mg QE/g)	
				Media (μ)	DesvStand ($\pm\sigma$)
1	Agua	1:3	20	12,59	$\pm 0,15$
2	Agua	1:5	20	11,53	$\pm 0,31$
3	Etanol	1:3	20	16,47	$\pm 0,26$
4	Etanol	1:5	20	15,35	$\pm 0,11$
5	Agua	1:3	30	13,99	$\pm 0,56$
6	Agua	1:5	30	12,72	$\pm 0,06$
7	Etanol	1:3	30	16,47	$\pm 0,26$
8	Etanol	1:5	30	15,35	$\pm 0,11$
9	Agua	1:3	40	14,98	$\pm 0,34$
10	Agua	1:5	40	13,54	$\pm 0,30$
11	Etanol	1:3	40	20,25	$\pm 0,44$
12	Etanol	1:5	40	19,49	$\pm 0,46$

Fuente. Elaboración propia, 2021.

De la Tabla 5 y Figura 9 se obtienen que el método extractivo 11 de solvente etanólico en dilución de (1:3) a una temperatura de 40°C, es el que entrega mayor concentración de media de flavonoides totales en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” con un valor de 20,25 mg de QE/g.

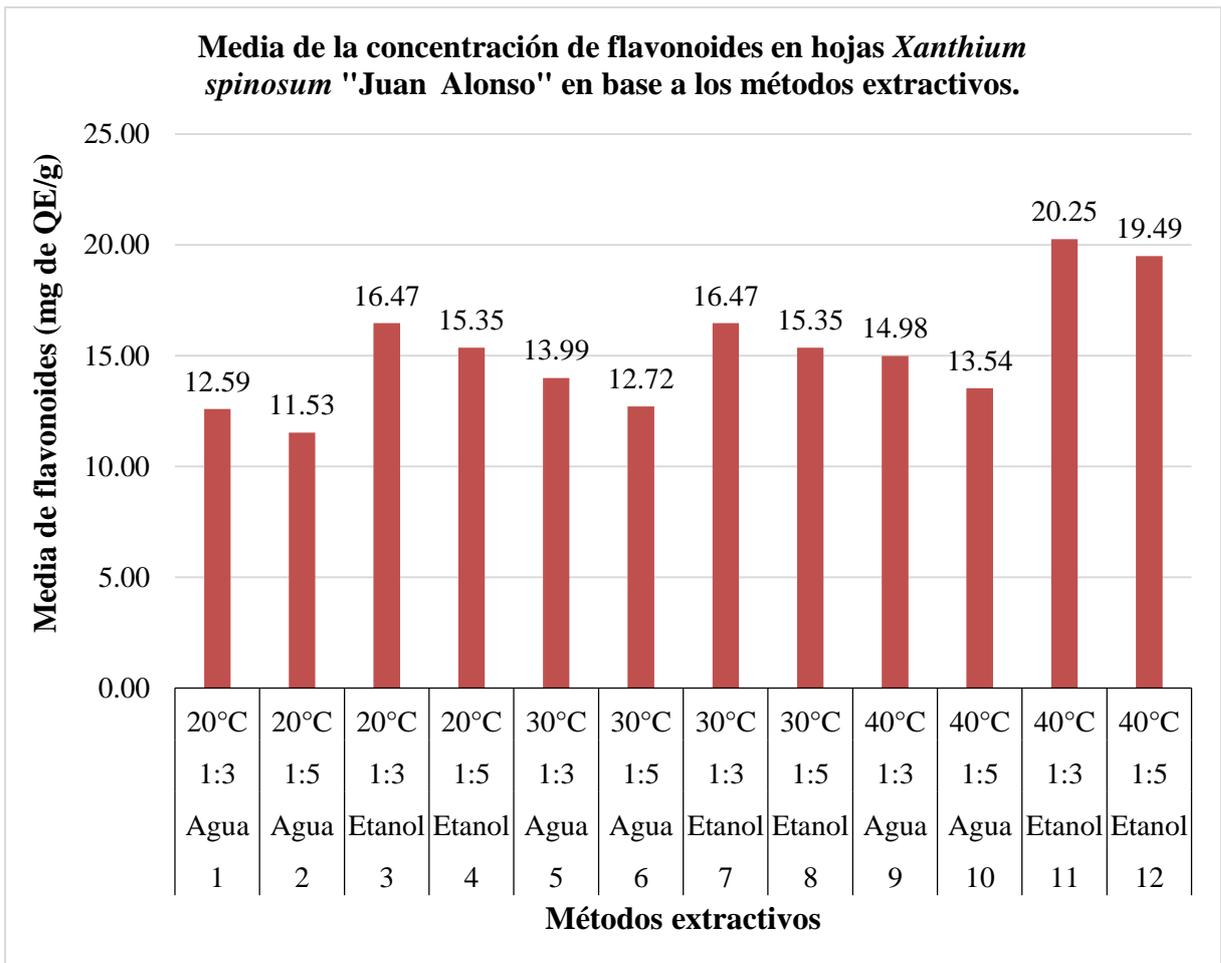


Figura 9. Media de la concentración de flavonoides totales en hojas *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” (mg de QE/g) en base a los métodos extractivos.

Fuente. Elaboración propia, 2021.

5.1.4. Resultados referidos a determinar el método extractivo (acuoso o etanólico) que permite la mayor concentración de taninos en hojas *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”.

La extracción de los taninos en hojas *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” se muestran en la Tabla 6, en base a la combinación de solvente, dilución y temperatura de los métodos extractivos acuoso y etanólico.

Tabla 6. Media de la concentración de taninos en hojas *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” en base a los métodos extractivos.

Método Extractivo	Solvente	Dilución	Temperatura (°C)	Taninos (mg ATE/g)	
				Media (μ)	DesvStand (±σ)
1	Agua	1:3	20	275,05	± 0,89
2	Agua	1:5	20	267,46	± 1,99
3	Etanol	1:3	20	244,04	± 0,53
4	Etanol	1:5	20	237,72	± 1,12
5	Agua	1:3	30	289,16	± 5,56
6	Agua	1:5	30	276,43	± 5,20
7	Etanol	1:3	30	244,04	± 0,53
8	Etanol	1:5	30	237,72	± 1,12
9	Agua	1:3	40	295,26	± 5,55
10	Agua	1:5	40	282,72	± 3,73
11	Etanol	1:3	40	250,78	± 1,41
12	Etanol	1:5	40	245,62	± 0,81

Fuente. Elaboración propia, 2020.

De la Tabla 6 y Figura 10 se obtienen que el método extractivo 9 de solvente acuoso en dilución de (1:3) y a temperatura 40°C, es el que entrega mayor concentración de media de taninos en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” con un valor de 295,26 mg de ATE/g.

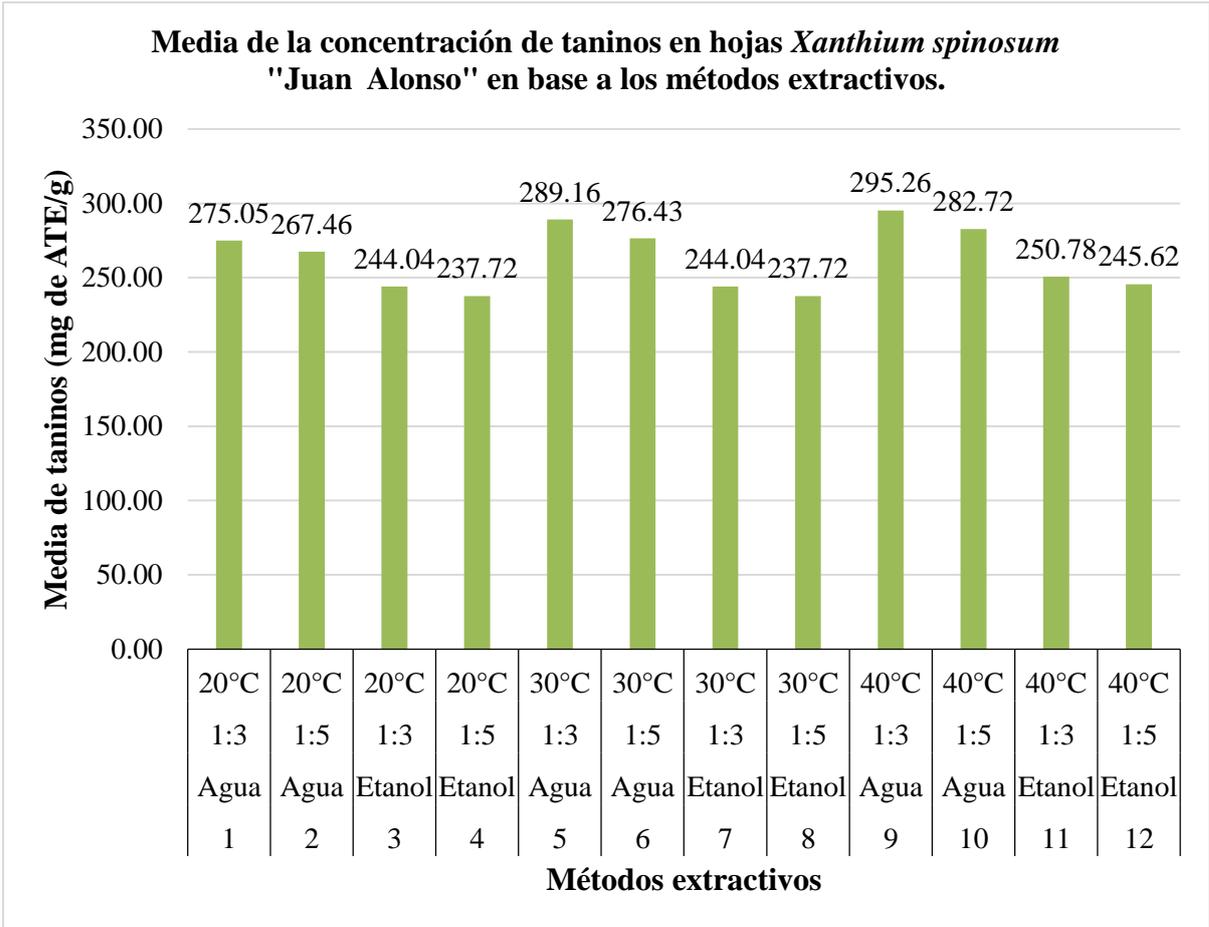


Figura 10. Media de la concentración de taninos totales en hojas *Xanthium spinosum* "Juan Alonso" (mg de ATE/g) en base a los métodos extractivos.

Fuente. Elaboración propia, 2021.

5.1.5. Resultados referidos a la determinación del rendimiento de las sustancias bioactivas ante el método extractivo en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”.

El rendimiento de las sustancias bioactivas en hojas *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” se muestran en la Tabla 7, en base a la combinación de solvente, dilución y temperatura de los métodos extractivos acuoso y etanólico.

Tabla 7. Media del rendimiento en hojas *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” en base al porcentaje de peso de materia prima.

Método extractivo	Solvente	Dilución	Temperatura (°C)	Rendimiento (% de Peso de materia prima)	
				Media (μ)	DesvStand ($\pm\sigma$)
1	Agua	1:3	20	2,64	$\pm 0,08$
2	Agua	1:5	20	2,53	$\pm 0,06$
3	Etanol	1:3	20	3,26	$\pm 0,14$
4	Etanol	1:5	20	2,98	$\pm 0,08$
5	Agua	1:3	30	2,81	$\pm 0,08$
6	Agua	1:5	30	2,65	$\pm 0,05$
7	Etanol	1:3	30	4,62	$\pm 0,34$
8	Etanol	1:5	30	3,88	$\pm 0,03$
9	Agua	1:3	40	3,62	$\pm 0,05$
10	Agua	1:5	40	3,40	$\pm 0,08$
11	Etanol	1:3	40	6,54	$\pm 0,65$
12	Etanol	1:5	40	4,90	$\pm 0,05$

Fuente. Elaboración propia, 2021.

De la Tabla 7 y Figura 11 se obtienen que el método extractivo 11 de solvente etanólico en dilución de (1:3) a una temperatura de 40°C, es el que muestra la mayor media de rendimiento en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” con un valor de 6.54% de peso de materia prima.

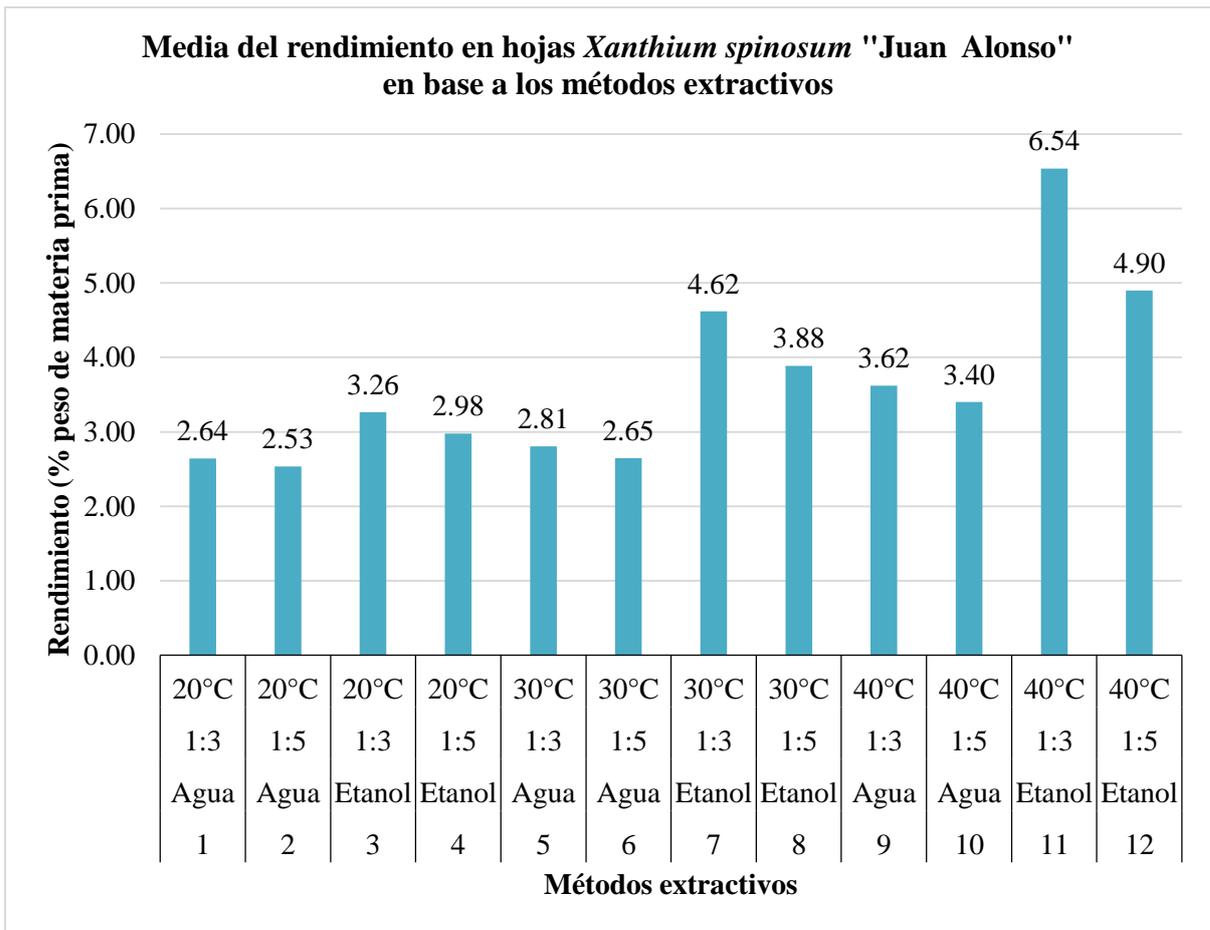


Figura 11. Media del rendimiento en hojas *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” (% de peso de materia prima) en base a los métodos extractivos.

Fuente. Elaboración propia, 2021.

5.1.6. Resultados referidos a la determinación del efecto del método extractivo sobre la capacidad antioxidante en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”.

La capacidad antioxidante en hojas *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” se muestran en la Tabla 8, en base a la combinación de solvente, dilución y temperatura de los métodos extractivos acuoso y etanólico.

Tabla 8. Capacidad antioxidante media en hojas *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” en base al porcentaje de inhibición de los métodos extractivos.

Método extractivo	Solvente	Dilución	Temperatura (°C)	Capacidad antioxidante (% inhibición)	
				Media (μ)	DesvStand ($\pm\sigma$)
1	Agua	1:3	20	53,21	$\pm 1,40$
2	Agua	1:5	20	52,66	$\pm 1,10$
3	Etanol	1:3	20	63,93	$\pm 1,45$
4	Etanol	1:5	20	64,63	$\pm 1,82$
5	Agua	1:3	30	77,08	$\pm 0,77$
6	Agua	1:5	30	68,65	$\pm 1,15$
7	Etanol	1:3	30	66,72	$\pm 1,06$
8	Etanol	1:5	30	73,06	$\pm 2,07$
9	Agua	1:3	40	60,46	$\pm 0,81$
10	Agua	1:5	40	60,58	$\pm 0,92$
11	Etanol	1:3	40	68,66	$\pm 0,72$
12	Etanol	1:5	40	65,27	$\pm 1,02$

Fuente. Elaboración propia, 2021.

De la Tabla 8 y Figura 12 se obtienen que el método extractivo 5 de solvente acuoso en dilución de (1:3) y a una temperatura de 30°C, es el que entrega mayor media de la capacidad antioxidante en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” con un valor de 77.08% de inhibición.

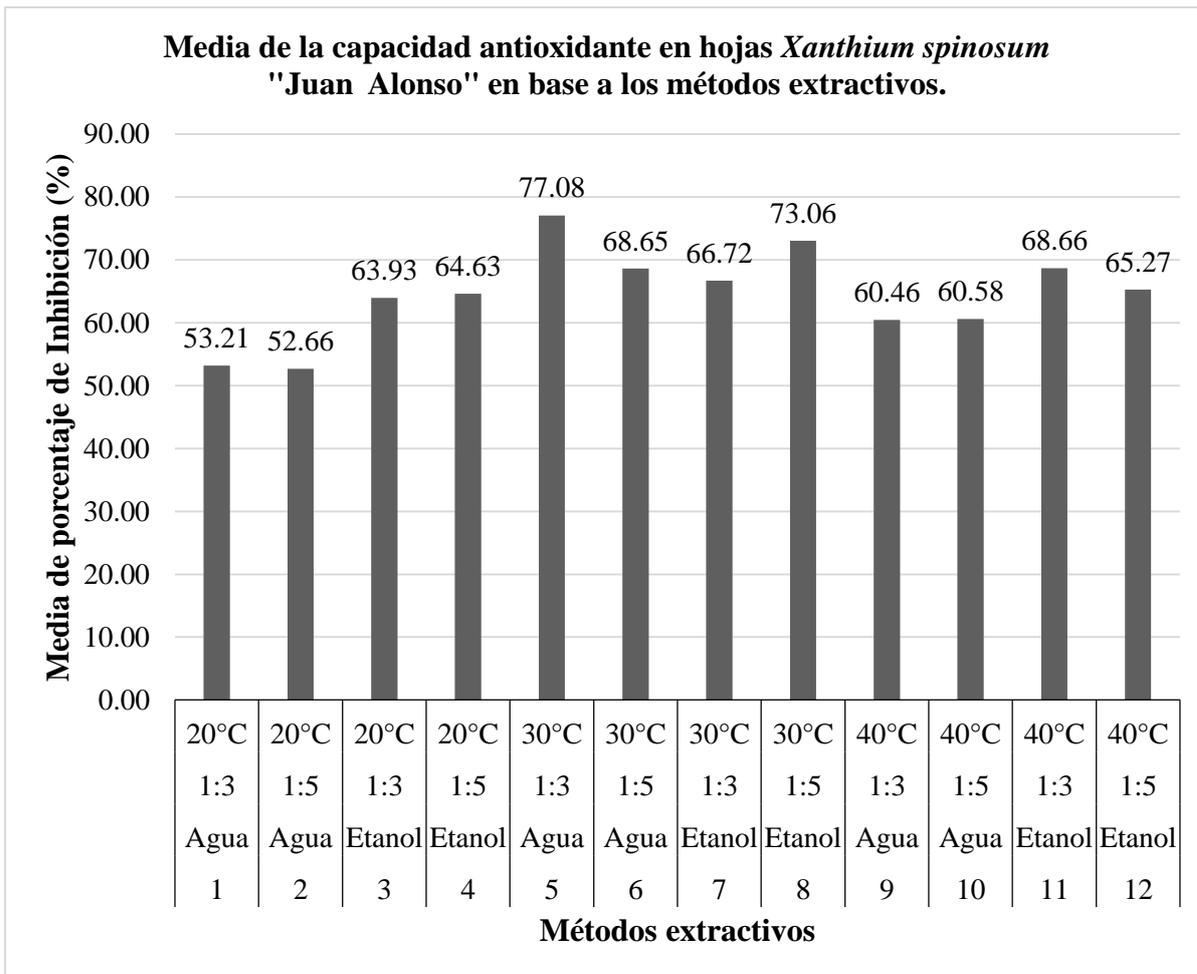


Figura 12. Media de la capacidad antioxidante en hojas *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” (% de Inhibición) en base a los métodos extractivos.

Fuente. Elaboración propia, 2021.

5.2. Contrastación de hipótesis

5.2.1. Planteamiento de la hipótesis general

Para el cálculo estadístico se determinó los diferentes métodos extractivos según el siguiente cuadro:

Tabla 9. Tabla de los métodos extractivos acuoso y etanólico

MÉTODO EXTRACTIVO	TEMPERATURA	SOLVENTE	DILUCIÓN
1	20°C	Agua	1:3
2	20°C	Agua	1:5
3	20°C	Etanol	1:3
4	20°C	Etanol	1:5
5	30°C	Agua	1:3
6	30°C	Agua	1:5
7	30°C	Etanol	1:3
8	30°C	Etanol	1:5
9	40°C	Agua	1:3
10	40°C	Agua	1:5
11	40°C	Etanol	1:3
12	40°C	Etanol	1:5

Fuente. Elaboración propia, 2021.

5.2.1.1 Planteamiento de la hipótesis general

H₀ = El método extractivo acuoso y etanólico no influye sobre la concentración de fenoles en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”.

H₁ = El método extractivo acuoso y etanólico influye sobre la concentración de fenoles en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”.

Tabla 10. Prueba estadística Test Anova - Tukey para la extracción de fenoles (mg AGE/g) según el efecto del método extractivo.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Fenoles (mg AGE/g)	36	0,99	0,99	1,35

Cuadro de análisis de la varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	19533,71	13	1502,59	197,32	<0,0001
Método Extractivo	19491,84	11	1771,99	232,70	<0,0001
Repetición	41,87	2	20,93	2,75	0,0860
Error	167,53	22	7,61		
Total	19701,23	35			

Test:Tukey Alfa	Alfa= 0,05	DMS= 8,19591
	Error: 7,6148	gl: 22

Método extractivo	Medias	n	E.E.					
2	173,10	3	1,59	A				
6	183,39	3	1,59		B			
1	185,88	3	1,59		B			
5	191,34	3	1,59		B	C		
4	197,19	3	1,59			C	D	
8	197,19	3	1,59			C	D	
10	203,95	3	1,59				D	E
3	206,27	3	1,59					E
7	206,27	3	1,59					E
9	215,62	3	1,59					F
12	245,69	3	1,59					G
11	255,66	3	1,59					H

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Fuente: Programa InfoStat

Decisión estadística

Dado que p valor es menor a 0.05 ($p\text{-valor} < 0.0001$) se considera la hipótesis H_1 como verdadera, por lo cual el método extractivo influye en la concentración de los fenoles en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”, de donde se observa que el método extractivo número 11, el cual corresponde a una temperatura de 40°C con el solvente etanólico a una dilución de (1:3), es el más eficiente brindando un promedio de 255.66 mg de AGE/g.

5.2.1.2 Planteamiento de la hipótesis general

H_0 = El método extractivo acuoso y etanólico no influye sobre la concentración de flavonoides en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”.

H_1 = El método extractivo acuoso y etanólico influye sobre la concentración de flavonoides en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”

Tabla 11. Prueba estadística Test Anova - Tukey para la concentración de flavonoides (mg QE/g) según el efecto del método extractivo.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Flavonoides (mg QE/g)	36	0,99	0,99	2,08

Cuadro de análisis de la varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	234,02	13	18,00	179,56	<0,0001
Método Extractivo	233,80	11	21,25	212,01	<0,0001
Repetición	0,22	2	0,11	1,09	0,3547
Error	2,21	22	0,10		
Total	236,22	35			

Test: Tukey Alfa Alfa= 0,05 DMS= 0,94042
Error: 0,1003 gl: 22

Método extractivo	Medias	n	E.E.					
2	11,53	3	0,18	A				
1	12,59	3	0,18		B			
6	12,71	3	0,18		B	C		
10	13,54	3	0,18			C	D	
5	13,99	3	0,18				D	
9	14,98	3	0,18					E
8	15,35	3	0,18					E
4	15,35	3	0,18					E
7	16,47	3	0,18					F
3	16,47	3	0,18					F
12	19,49	3	0,18					G
11	20,25	3	0,18					G

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Fuente: Programa InfoStat

Decisión estadística

Dado que p valor es menor a 0.05 (p-valor < 0.0001) se considera la hipótesis H_1 como verdadera, por lo cual el método extractivo influye en la concentración de los flavonoides en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”, de donde se observa que el método extractivo 12 y 11 que corresponden a una temperatura de 40°C con solvente etanólico y a diluciones de (1:5) y (1:3) respectivamente, son los más eficiente brindándonos promedios de 19,49 y 20,25 mg de QE/g.

5.2.1.3 Planteamiento de la hipótesis general

H_0 = El método extractivo acuoso y etanólico no influye sobre la concentración de taninos en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”.

H_1 = El método extractivo acuoso y etanólico influye sobre la concentración de taninos en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”

Tabla 12. Prueba estadística Test Anova - Tukey para taninos (mg ATE/g) según el efecto del método extractivo.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Taninos (mg ATE/g)	36	0,99	0,98	1,17

Cuadro de análisis de la varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	14718,38	13	1132,18	120,56	<0,0001
Método Extractivo	14698,66	11	1336,24	142,29	<0,0001
Repetición	19,72	2	9,86	1,05	0,3667
Error	206,60	22	9,39		
Total	14924,98	35			

Test:Tukey Alfa Alfa= 0,05 DMS= 9.10157
 Error: 9,3907 gl: 22

Método extractivo	Medias	n	E.E.					
8	237,72	3	1,77	A				
4	237,72	3	1,77	A				
3	244,04	3	1,77	A	B			
7	244,04	3	1,77	A	B			
12	245,62	3	1,77	A	B			
11	250,78	3	1,77		B			
2	267,46	3	1,77			C		
1	275,05	3	1,77			C	D	
6	276,43	3	1,77			C	D	
10	282,72	3	1,77				D	E
5	289,16	3	1,77					E F
9	295,26	3	1,77					F

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Fuente: Programa InfoStat

Decisión estadística

Dado que p valor es menor a 0.05 ($p\text{-valor} < 0.0001$) se considera la hipótesis H_1 como verdadera, por lo cual el método extractivo influye en la concentración de los taninos en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”, de donde se observa que los métodos extractivos 5 y 9 que corresponden a temperaturas de 30°C y 40°C en solvente acuoso a una dilución de (1:3) respectivamente, son los más eficientes brindándonos promedios de 289,16 y 295,26 mg de ATE/g.

Conclusión estadística

Como se observa en las decisiones estadísticas anteriores de los puntos 5.2.1.1, 5.2.1.2 y 5.2.1.3 se comprueba que el método extractivo acuoso y etanólico influye tanto en fenoles, flavonoides y taninos por lo cual se afirma que el método extractivo acuoso y etanólico influye sobre el tipo y concentración de sustancias bioactivas en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”.

5.2.2. Planteamiento de la tercera hipótesis específico

H₀ = El método extractivo acuoso y etanólico no influye sobre la capacidad antioxidante en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”.

H₁ = El método extractivo acuoso y etanólico influye sobre la capacidad antioxidante en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”.

Tabla 13. Prueba estadística Test Anova - Tukey según el efecto del método extractivo sobre la capacidad antioxidante (% Inhibición).

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Capacidad antioxidante (% inhib)	36	0,98	0,97	1,99

Cuadro de análisis de la varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1714,97	13	131,92	79,76	<0,0001
Método Extractivo	1713,50	11	155,77	94,18	<0,0001
Repetición	1,47	2	0,74	0,45	0,6462
Error	36,39	22	1,65		
Total	1751,36	35			

Test:Tukey Alfa	Alfa=	0,05	DMS=	3,81982
	Error:	1,6541	gl:	22

Método extractivo	Medias	n	E.E.					
2	52,66	3	0,74	A				
1	53,21	3	0,74	A				
9	60,46	3	0,74		B			
10	60,58	3	0,74		B			
3	63,93	3	0,74		B	C		
4	64,63	3	0,74			C		
12	65,27	3	0,74			C	D	
7	66,72	3	0,74			C	D	
6	68,65	3	0,74				D	
11	68,66	3	0,74				D	
8	73,06	3	0,74					E
5	77,08	3	0,74					F

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Fuente: Programa InfoStat

Decisión estadística

Dado que p valor es menor a 0.05 (p-valor < 0.0001) se considera la hipótesis H_1 como verdadera, Por lo cual se acepta que el método extractivo acuoso y etanólico influye sobre la capacidad antioxidante en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”, donde se observa que el método extractivo número 5, que corresponde a una temperatura de 30°C en solvente acuoso a una dilución de (1:3) que es el más eficiente brindando un promedio 77.08% de inhibición.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

1. De la extracción de los bioactivos en hojas de *Xanthium Spinosum* se obtuvo la presencia de concentraciones significativas fenoles, flavonoides y taninos, además, que en la tabla 4, tabla 5, tabla 6 y tabla 7 se determina que los bioactivos de mayor concentración son los taninos y fenoles lo cual se contradice con lo obtenido por Calcina R.¹¹ donde se obtuvo que el contenido de fenoles y taninos fue de menor presencia (+).
2. Respecto al rendimiento de los procesos de extracción en hojas de *Xanthium Spinosum* el solvente etanol tuvo mejor media de porcentaje de rendimiento de extracción respecto al solvente agua esto se corrobora con lo obtenido por Riveros Z., et al.¹² quienes determinaron que en medio de extracción hidroalcohólico los taninos y fenoles tienen una concentración abundante (++) y una concentración leve (+) de flavonoides.
3. Del análisis de resultados de las características fisicoquímicas en hojas de *Xanthium Spinosum* de la tabla 3 se determina que la media del contenido de humedad es de 7,10%, media de cenizas totales 10,97%, media de cenizas acidas 4,85% y media de cenizas solubles 4,30% lo cual es corroborado con valores muy similares Parra J.¹⁴ quien obtuvo una media de contenido humedad 9.27%, cenizas totales 9.79%, cenizas insolubles en ácido clorhídrico 0.65%, cenizas solubles en agua 7.45%.

4. Se determinó mediante el test de Anova-Tukey que el método extractivo influye en la determinación de fenoles, además que el mejor método extractivo para la determinación de la concentración de fenoles es el método extractivo etanólico donde a mayor concentración del solvente etanólico mayor concentración de fenoles, esto es corroborado por Coavoy I.⁸ que establece mediante el test de Anova que el método extractivo etanólico influye de manera positiva a la concentración de fenoles, donde nos dice que cuando sea mayor la concentración del solvente etanólico será mayor el contenido de la concentración de fenoles.
5. Según Coavoy I.⁸ la temperatura de extracción influye positivamente en la extracción de fenoles y Torres A.⁹ determina que la temperatura es un factor influyente en la extracción de flavonoides lo cual fue corrobora con el test de Anova-Tukey. Concordamos con lo mencionado por Coavoy I.⁸ y Torres A.⁹ debido a que el método extractivo usado para la determinación de la concentración de fenoles y flavonoides tuvo un comportamiento ascendente con respecto a la dimensión de la temperatura, es decir a mayor temperatura en el método extractivo mayor fue el valor de la concentración de fenoles y flavonoides.
6. Del análisis de resultados del rendimiento del método extractivo sobre la concentración de sustancias bioactivas se determinó que a mayor temperatura de extracción mayor fue el valor del rendimiento lo cual es corroborado por la investigación de Torres A.⁹ quien determino que ha una temperatura más alta de extracción mayor es el rendimiento de la extracción de fenoles y flavonoides.
7. De la capacidad antioxidante se determinó que el método extractivo del solvente acuoso en dilución de (1:3) y a una temperatura de 30°C, es el que entrega mayor media con un valor de 77.08% de inhibición lo cual se corrobora con lo obtenido por Amaya C, y Morán C.¹⁵, donde se obtuvo que la capacidad antioxidante expresada en IC50, fue mayor la del extracto acuoso 303,03 mg/100g seguida del extracto etanólico 414,54mg/100g y con menor actividad el aceite esencial 1250,0mg/100g. Y esto se contradice con lo obtenido por Guerrero M. y Pico K.¹³ quienes concluyeron que la actividad antioxidante en extracto etanólico es de 5.76µgEAG/mL y en extracto acuoso de 10.27 µgEAG/mL, por lo cual el extracto

etanólico es el que presento un IC50 más bajo por lo tanto mejor actividad antioxidante.

8. Gaikwad S.¹⁷ determino mediante el método extractivo etanólico una presencia de fenoles (+) utilizando el reactivo de folin-ciocalteau y Na₂CO₃ y una presencia de flavonoides (+) utilizando el reactivo de de AlCl₃ los cuales serían responsables de su alta capacidad antioxidante, lo cual concuerda con nuestro estudio debido a que la capacidad antioxidante de las hojas de *Xanthium Spinosum* es alto lo cual se puede observar en la figura 12.

CONCLUSIONES

1. De la investigación se concluye que el método extractivo acuoso y etanólico influye sobre el tipo y concentración de sustancias bioactivas en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso”. Esto se comprobó mediante el Test estadístico de Anova - Tukey, donde el método extractivo compuesto por las subvariables solvente, dilución y temperatura tiene influencia sobre la concentración de fenoles, flavonoides y taninos.
2. De la investigación se concluye que la media de la humedad en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” es 7,10g/100g, la media de las cenizas totales es 10,97g/100g, la media de las cenizas acidas 4,85g/100g y de las cenizas solubles 4,30g/100g.
3. De la investigación se concluye que el método extractivo etanólico es el más eficiente en la obtención de las concentraciones de fenoles y flavonoides realizados a una temperatura de 40°C y a una dilución de (1:3). Respecto a la obtención de la concentración de taninos el método extractivo acuoso fue el más eficiente siendo aplicado a una temperatura de 40°C y a una dilución de (1:3).
4. Se concluye que el método extractivo influye sobre la capacidad antioxidante en hojas de *Xanthium Spinosum* “Juan Alonso”, mediante la comprobación del Test Anova - Tukey. El mejor método extractivo para la determinación de la capacidad

antioxidante es el del solvente acuoso a una temperatura de 30°C en dilución de (1:3) obteniendo un resultado de 77,08% de inhibición de DPPH.

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda la publicación de los resultados y las conclusiones obtenidas de la presente investigación para contribuir en el conocimiento relacionado al campo de la fitoquímica de las plantas medicinales de la región Junín.
2. El estudio fue desarrollado con la aplicación del método convencional extractivo por maceración acuoso y etanólico por lo cual se recomienda realizar futuros estudios con la aplicación de métodos de extracción no convencionales, para la comparación de los valores de concentración de las sustancias bioactivas y capacidad antioxidante y así conocer los métodos extractivos más eficientes de sustancias bioactivas en hojas de *Xanthium Spinosum* “Juan Alonso”.
3. La investigación determino la influencia del método extractivo acuoso y etanólico sobre el tipo y concentración de sustancias bioactivas en hojas de *Xanthium spinosum* “Juan Alonso” mediante el método de análisis estadístico Anova - Tukey por ende se recomienda realizar futuros estudios con otros métodos de análisis de varianza múltiple, para corroborar los resultados del presente estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine; 2000.
2. Lecca M. Desarrollo del comercio exterior Agroexportador: Informe Anual 2018, Departamento de Agronegocios de la Sub Dirección de Promoción Internacional de la Oferta Exportable, Promperú, 2019.
3. Tesina: Conocimiento, Aceptación y Uso de los usuarios de Establecimientos de Salud en Lima Metropolitana - Perú- 2010: UNMSM; 2010.
4. Instituto Cuanto, Prisma, 2015.
5. Sistema Estadístico de Salud (SES) e Informes Operacionales MEC a noviembre 2017. Cifras proyectadas a diciembre de 2017.
6. Bernal H., García H., Londoño C., Molano M., Quevedo G., y Vásquez C. Pautas para el conocimiento, conservación y uso sostenible de las plantas medicinales nativas en Colombia. Bogotá, Colombia: Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial; 2011.
7. Silvero - Isidre A., Morínigo - Guayacán S., Meza-Ojeda A., Mongelós - Cardozo M., González - Ayala A. y Figueredo - Thiel S. Toxicidad aguda de las hojas de *Xanthium spinosum* en ratones BALB/C. Rev Peru Med Exp Salud Publica, 2016:113-9.
8. Coavoy I. Evaluación de la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos de la tuna morada (*Opuntia ficus-indica*) del distrito de San Bartolomé, Huarochirí, Lima. [Tesis para obtener el título profesional de Ingeniero de

- alimentos]. Lima, Perú: Facultad de Ingeniería y Arquitectura. Universidad Peruana Unión; 2015.
9. Torres A. Determinación de compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante de extractos de orujo (epicarpo) de *vitis vinífera l. var. italia* y negra criolla de residuos vitivinícolas como fuente de principios bioactivos aprovechables. [Tesis para obtener el título profesional de Biólogo]. Arequipa: Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa; 2018.
 10. Vergara A. et al. Obtención de extractos de hojas de *Annona muricata L.* (Guanábana) inducidos por su efecto inhibidor de la corrosión. Rev. Soc. Quím. Perú, Lima , v. 84, n. 1, p. 119-132, 2018
 11. Calcina R. Efecto Antimicótico in vitro de decocciones e infusiones de *Minthostachys setosa* y *Xanthium catharticum* en diferentes concentraciones sobre *Candida albicans* [Tesis para el título profesional de Licencia en Biología]. Puno: Universidad Nacional del Antiplano de Puno; 2017.
 12. Riveros Z et al. Efecto antihipertensivo del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* HBK “Amor Seco” 2015. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. Perú; 2015.
 13. Guerrero M. y Pico K. Polifenoles totales y actividad antioxidante en extracto acuoso y etanólico de la raíz del churco *Arthrostemma ciliatumpav. ex D. Don.* [Trabajo de titulación presentado como requisito previo para optar por el grado de Químicas y Farmacéuticas]. Ecuador. Universidad de Guayaquil, 2020.
 14. Parra J. Evaluación farmacognóstica y fitoquímica de las hojas de Escánsel (*aerva sanguinolenta*) de la ciudad de Machala. [Tesis para el título profesional de Bioquímico Farmacéutico]. Ecuador. Universidad Técnica de Machala, 2018.
 15. Amaya C, y Morán C. Polifenoles totales y Actividad antioxidante del aceite esencial y extractos acuoso, etanólico del *Cuminum cyminum*. [Trabajo de titulación presentado como requisito previo para optar por el grado de Químicas y Farmacéuticas]. Ecuador. Universidad de Guayaquil, 2019.
 16. Pardo A. et al. Determinación de compuestos bioactivos y actividad antioxidante de la pulpa de maracuyá (*passiflora edulis*). 2017, FACSALUD-UNEMI, 1(1), 5-11.

17. Gaikwad S. et al. Preliminary screening and comparative evaluation of antioxidant potential of medicinally important plant *Xanthium strumarium* L. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 5: 141-144, 2016.
18. Armas SD. Morfo-histotaxonomía y fitogeografía de la especie *Xanthium spinosum* L. “Juan Alonso”. [Tesis para obtener el título profesional de Químico Farmacéutico]. Trujillo: Facultad de Farmacia Universidad Nacional de Trujillo; 1992.
19. Gutiérrez M. Control de Calidad y Evaluación del Efecto Antiinflamatorio de los extractos de *Xanthium spinosum* l. y *Urtica Urens* l. en modelo Murino. ”. [Tesis para obtener el grado de maestría en Farmacia]. La Paz: Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas. Universidad Mayor de San Andrés; 2013.
20. Bathurst B., By Lloyd S. Department of Agriculture – Western Australia. Agriculture Western Australia Farmnote. Technical Officer, Biological Services Unit. 2003.
21. Natural Products Alert (NAPRALERT SM) The board of trustees of the University of Illinois © April 2001. Ethnomedical Information on *Xanthium spinosum*, 2001.
22. Anonymous; Larousse de poche (in french), Les Editions Françaises Inc, 1994:8.
23. Studdert V. et al.; Saunders Comprehensive Veterinary Dictionary (4th Ed). Elsevier Health Sciences UK, 2011: 79.
24. Dudareva N. y Pichersky E. Biochemical and molecular genetic aspects of floral scent. Plant Physiology, 2000, 122(3): 627–633.
25. Danik M. y Jaishree S. A new definition of functional food by FFD: what makes a new definition unique? Functional Foods in Health and Disease, 2015; 5(6):209-223.
26. Vermerris W., Nicholson R. Phenolic compound biochemistry. Springer, Dordrecht, 2006.
27. Rice-Evans C, Miller N, Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends in Plant Science. 1997; 2:152–159. DOI: 10.1016/S1360-1385(97)01018-2.
28. Winny R. y Valérie O. Natural Products Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes. Heidelberg, 2013.

29. González I., González D. y Morera V. Secondary metabolites in plants: main classes, phytochemical analysis and pharmacological activities, 2019.
30. Harborne J. *Phytochemical Methods A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*, 1973.
31. Aron P. y Kennedy J. Flavan-3-ols: Nature, occurrence and biological activity. *Mol. Nutr. Food Res*, 2008, 52, 79-104.
32. Bruneton J. *Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales*; Éditions Tec & Doc: Paris, France, 1999.
33. Piñeiro Z. Desarrollo de nuevos métodos de extracción para el análisis de compuestos de interés enológico [Memoria para optar al Grado de Doctora en Ciencias Químicas]. Puerto Real: Departamento de Química Analítica de la Universidad de Cádiz; 2005.
34. Pereira M., Valentão P. y Pereira J., y Andrade P. Phenolics: From Chemistry to Biology. *Molecules*, 2009.
35. Silva D. A. & Azevedo M. A. 1999. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. *Nutrition Reviews*. 12(1): 5-19.
36. Mamta P., Kshipra M., Garry D. y Mausam V. Antioxidants. *Biotransformation of Waste Biomass into High Value Biochemicals*, 2014; 117-138.
37. Martin G. Los compuestos Fenólicos: Un acercamiento a su biosíntesis, síntesis y actividad biológica. Facultad de Ciencias, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Colombia, 2017.
38. San Miguel-Chávez R. Phenolic Antioxidant Capacity: A Review of the State of the Art. Phenolic Compound – Biological Activity. 2017.
39. Schwag S. y Madhusweta D. Antioxidant Activity: An Overview. *Journal of Food Science & Technology*. Department of Agricultural and Food Engineering, Indian Institute of Technology. India, 2013.
40. Martins, N., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2016). In vivo antioxidant activity of phenolic compounds: Facts and gaps. *Trends in Food Science & Technology*, 48, 1-12.
41. Parr, A.J.; Bolwell, J.P. Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *J. Sci. Food Agric*. 2002, 80, 985-1012.

42. Croft K. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1998, 854, 435-442.
43. Bondet V, Brand-Williams W, Berset C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH. Free radical method. *LWT—Food Science and Technology*. 1997; 30: 609–615. DOI: 10.1006/fstl.1997.0240.
44. Marquez B. Cenizas y grasas, teoría del muestreo, refrigeración y congelación de alimentos: Terminología, definiciones y explicaciones, [Tesis para optar el Título Profesional de: Ingeniera en Industrias Alimentarias]. Arequipa, Perú: Universidad Nacional de San Agustín; 2014.
45. Departamento de alimentos y biotecnología, Facultad de Química, Fundamentos y técnicas de análisis de alimentos, Universidad Nacional Autónoma de México; 2007-2008.
46. Pelaez A. y Polo L. Características farmacognósticas de las hojas de *Artemisia absinthium* “ajenjo” procedente del distrito de Contumaza, provincia de Contumaza, [Tesis para la obtención del título profesional de Químico Farmacéutico] región Cajamarca. Trujillo-Perú. Universidad Nacional de Trujillo; 2016.
47. Ministerio de Economía, Industria y Comercio. Oficina Nacional de Normas y Unidades de Medida, Bebidas alcohólicas destiladas: determinación de cenizas [método gravimétrico]; 2001.
48. Azmir J. et al., Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 2013.
49. Erazo R. Efecto diurético de los extractos etanólico y acuoso de *Ilex guayusa loes* (guayusa) en ratas albinas hembras. [Tesis para la obtención del título profesional de Químico Farmacéutico]. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2020.
50. Carrión A. y García C, Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metódica. Tesis para la obtención del título de Bioquímica y Farmacéutica]. Cuenca, Ecuador: Universidad de Cuenca; 2010.2010:27-31.
51. Ioana I., Irina V., y Valentin I. Analytical methods of phenolic compounds, Phytochemistry, Botany and metabolism of alkaloids, phenolics and terpenes springer-Verlag Berlin Heidelberg 2013, 2061-2080.

52. Alonso J. Tratado de fitofármacos y nutraceuticos. 1ªed. Argentina: Corpus; 2004.
53. Cosa P., Vlietinck A.J., Berghe, D.V., Maes L. Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger in vitro 'proof-of-concept'. J. Ethnopharmacol, 2006; 106: 290–302.
54. Salarar F. y Jaime M. Tamizaje fitoquímico en las hojas frescas de laurelillo [Cordia inermis (Mill.) I. M. Johnst.]. Laboratorio de control de calidad de medicamentos. UNAN-León. Agosto – Octubre 2010, [Tesis para la obtención del título de licenciatura en Química Farmacéutica]. Managua, Nicaragua: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua; 2011.
55. Cruzado L., Gutiérrez D. y Ruiz S. Ensayo químico y efecto de antibiosis in vitro de la miel de abeja sobre microorganismos gram positivos y gram negativos. Rev. Med. Vallejana; 2007, 4(2): 95-109.
56. NCI Dictionary of Cancer Terms, National Cancer Institute, Letter B, 2013. Disponible en la web: <http://www.cancer.gov/dictionary?cdrid=7032782013>.
57. De la Torre, K. Efecto del consumo de aceite de oliva sobre la composición de las lipoproteínas de baja densidad en individuos de diferentes países europeos. [Memoria para optar al Grado de Doctor en Medicamentos, Alimentación y Salud]. Barcelona, España. Universidad de Barcelona; 2007.
58. Vázquez-Flores, A., Alvarez-Parrilla, E., López-Díaz, J.A., Wall-Medrano, A. y De la Rosa, L. Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. tecnociencia Chihuahua, 2012; 7, 84-93.
59. Escamilla C., Cuevas e. y Guevara J. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. Revista de la Facultad de Medicina UNAM, 2009; 52(2): 73-75.
60. Sies, H. "Oxidative stress: Oxidants and antioxidants". Experimental physiology, 1997; 82 (2), 291–295.
61. Londoño J. Antioxidantes: Importancia biológica y métodos para medir su actividad; Corporación Universitaria Lasallista. Colombia, 2012.
62. Azwanida N. A Review on the Extraction Methods Use in medicinal plants, principle, strength and limitation; medicinal & aromatic plants, faculty of agro-based industry, Universiti Malaysia Kelantan, 2015.

63. Aksel B. A brief review on bioactive compounds in plants. In: Bioactive compounds in plants - benefits and risks for man and animals. Oslo: The Norwegian Academy of Science and Letters, 2010: 11-17.
64. Quiñonez S. Caracterización y determinación del contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante del fruto de Sanke *Corryocactus brevistylus*. [Tesis para el título profesional de Ingeniero Industrial]. Huancavelica. Universidad Nacional de Huancavelica. Perú. 2017.
65. Fidias G. El Proyecto de Investigación – Introducción a la metodología científica, Editorial Episteme, 7ma Edición, 2016, Venezuela.
66. Supo F. y Cavero H., Fundamentos teóricos y científicos de la Investigación científica en Ciencias Sociales – como diseñar y formular tesis de maestría y doctorado, Universidad Nacional del Altiplano y Universidad Andina Néstor Cáceres Velásquez, Lima ,2014.
67. Sampieri H. y et al., Metodología de la Investigación, editorial Mc Graw Hill Education, 6ta edición, México, 2014.
68. Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2020. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
69. Walpole R. et al, Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias, 9na edición, University of Texas at San Antonio, Editorial Person, Mexico.2012.
70. Correa G, La estadística y el método Científico, Universidad de Talca – Instituto de Matemática y Física, 2006. Disponible en: <http://dta.ugal.cl/estadistica/>

ANEXOS

ANEXO 1

MATRIZ DE CONSISTENCIA

PROBLEMA	OBJETIVOS	JUSTIFICACIÓN	HIPÓTESIS	VARIABLE	INDICADORES	METODO
<p>GENERAL: Cuál es el efecto de los métodos extractivos acuoso y etanólico sobre el tipo y concentración de sustancias bioactivas en hojas de <i>Xanthium spinosum</i> "Juan Alonso"?</p> <p>Problema específico 1: ¿Cuáles son las características fisicoquímicas de las hojas <i>Xanthium spinosum</i> "Juan Alonso" de la zona de Ahuac - Chupaca?</p> <p>Problema específico 2: ¿Cuál es el método extractivo (acuoso o etanólico) que nos permita evidenciar la mayor concentración de los diferentes tipos de sustancias bioactivas en hojas de <i>Xanthium spinosum</i> "Juan Alonso"?</p> <p>Problema específico 3: ¿Cuál es el efecto de los métodos extractivos acuoso y etanólico sobre la capacidad antioxidante en hojas de <i>Xanthium spinosum</i> "Juan Alonso"?</p>	<p>GENERAL: Determinar el efecto de los métodos extractivos acuoso y etanólico sobre el tipo y concentración de sustancias bioactivas en hojas de <i>Xanthium spinosum</i> "Juan Alonso".</p> <p>Objetivos Específicos 1 Determinar las características fisicoquímicas de humedad y cenizas en hojas <i>Xanthium spinosum</i> "Juan Alonso" de la zona de Ahuac - Chupaca.</p> <p>Objetivo específico 2: Determinar el método extractivo (acuoso o etanólico) que nos permita evidenciar la mayor concentración de los diferentes tipos de sustancias bioactivas en hojas de <i>Xanthium spinosum</i> "Juan Alonso".</p> <p>Objetivo específico 3 Determinar el efecto de los métodos extractivos acuoso y etanólico sobre la capacidad antioxidante en hojas de <i>Xanthium spinosum</i> "Juan Alonso".</p>	<p>SOCIAL: En la actualidad el uso de extractos naturales que presentan una alta concentración de sustancias bioactivas y capacidad antioxidante se incrementan cada vez más, ya que estas sustancias bioactivas naturales previenen muchas enfermedades degenerativas no transmisibles.</p> <p>TEÓRICA: El estudio del Efecto del método extractivo acuoso y etanólico sobre el tipo y concentración de sustancias bioactivas en hojas de <i>Xanthium spinosum</i> "Juan Alonso". Contribuye al desarrollo de la investigación experimental, promoviendo al fortalecimiento del acervo de los conocimientos relacionados a la línea de investigación del aprovechamiento de la biodiversidad de la región central del país.</p> <p>METODOLÓGICA: El trabajo de investigación propuesto emplea metodología validada para la extracción de sustancias bioactivas en hojas de <i>Xanthium spinosum</i> "Juan Alonso", donde se determina la concentración de las sustancias bioactivas y su capacidad antioxidante; cuyos métodos extractivos son conformados por el uso de solventes, temperaturas y dilución. La concentración de las sustancias bioactivas (fenoles, flavonoides y taninos) y su capacidad antioxidante, se determinó en base a los métodos AOAC, DPPH y Normas Técnicas Peruanas (NTP). Además, para determinar la influencia del método extractivo sobre el tipo y concentración de sustancias bioactivas se utilizó el método estadístico TukeY - Anova..</p>	<p>GENERAL: El método extractivo acuoso y etanólico influye sobre el tipo y concentración de sustancias bioactivas en hojas de <i>Xanthium spinosum</i> "Juan Alonso"</p> <p>ESPECÍFICOS 3: El método extractivo acuoso y etanólico influye sobre la capacidad antioxidante en hojas de <i>Xanthium spinosum</i> "Juan Alonso".</p>	<p>VARIABLE INDEPENDIENTE.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Método extractivo acuoso • Método extractivo etanólico <p>VARIABLE DEPENDIENTE:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sustancias bioactivas • Capacidad antioxidante. 	<ul style="list-style-type: none"> • Solvente: agua etanol • Dilución: (1:3) y (1:5) • Temperatura: 20°C, 30°C y 40°C. • Concentración de fenoles • Concentración de flavonoides • Concentración de faninos • Porcentaje de inhibición 	<p>A) Método de Investigación: Científico y Explicativo</p> <p>B) Tipo de Investigación: Aplicada, Experimental y Transversal</p> <p>C) Nivel de Investigación: Explicativo</p> <p>D) Diseño de la Investigación: Experimental</p>

ANEXO 2

MATRIZ DE OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSION	INDICADOR	ESCALA
Independiente Método extractivo (Acuoso y etanólico)	El método extractivo es la separación de porciones de activos de plantas medicinalmente utilizando disolventes selectivos mediante procedimientos estándar.	El método extractivo será el método realizado por las diferentes combinaciones de los indicadores: solvente, dilución y temperatura.	• Solvente	Agua y Etanol	Cualitativo, dicotómico
			• Temperatura	Grados centígrados	Nominal: cuantitativo, discreto
			• Dilución	Relación S/L	Nominal: cuantitativo, dicotómico
Dependiente Sustancias bioactivas y Capacidad antioxidante	Las sustancias bioactivas son los metabolitos vegetales secundarios que provocan efectos farmacológicos o toxicológicos en el hombre y los animales, donde encontraremos a los fenoles, flavonoides y taninos. La capacidad antioxidante es la medición de las sustancias que contienen vitaminas, minerales y colorantes para inhibir la degradación oxidativa, estos compuestos son quienes inhiben el proceso oxidativo y esta capacidad se debe a sus componentes polifenólicos.	Las sustancias bioactivas serán analizadas mediante las concentraciones de fenoles en miligramos de ácido gálico por gramo, concentraciones de flavonoides en miligramos de quercetina por gramo y concentraciones de taninos en miligramos de ácido tánico por gramo. La capacidad antioxidante será analizada a través del valor del porcentaje de inhibición, el cual será calculado mediante el ensayo DPPH por espectrometría.	• Fenoles	Concentración de fenoles	Nominal: cuantitativo, continuos
			• Flavonoides	Concentración de flavonoides	
			• Taninos	Concentración de taninos	
			• Capacidad antioxidante	Porcentaje de inhibición	Nominal: cuantitativo, continuos

ANEXO 3

MATRIZ DE LA OPERACIONALIZACIÓN DEL INSTRUMENTO

VARIABLE	DIMENSIÓN	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	VALOR DE MEDICIÓN
Independiente Método extractivo (Acuoso y etanólico)	Solvente	Agua y Etanol	Cualitativo, Dicotómico	10ml, 100ml
	Temperatura	Grados centígrados	Nominal: Cuantitativo, Discreto	20°C, 30°C y 40°C
	Dilución	Proporción solido/liquido	Nominal: Cuantitativo, Dicotómico	(1:3) y (1:5)
Dependiente Sustancias bioactivas y Capacidad antioxidante	Fenoles	Concentración de fenoles	Nominal: Cuantitativo, Continuos	mg de AGE/g
	Flavonoides	Concentración de flavonoides	Nominal: Cuantitativo, Continuos	mg de QE/g
	Taninos	Concentración de taninos	Nominal: Cuantitativo, Continuos	mg de ATE/g
	Capacidad antioxidante	Porcentaje de inhibición	Nominal: Cuantitativo, Continuos	%

ANEXO 4

FICHA DE RECOLECCIÓN DE LOS RESULTADOS FÍSICOQUÍMICOS DE LAS HOJAS SELECCIONADAS DE *XANTHIUM SPINOSUM* “JUAN ALONSO”

Muestras	HOJAS SELECCIONADAS DE <i>XANTHIUM SPINOSUM</i> “JUAN ALONSO”					
	Peso	Cantidad	Humedad	Cenizas totales	Cenizas acidás	Cenizas solubles
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						

ANEXO 5

FICHA DE RECOLECCIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA EXTRACCIÓN DE SUSTANCIAS BIOACTIVAS EN HOJAS DE *XANTHIUM SPINOSUM* “JUAN ALONSO”

		SUSTANCIAS BIOACTIVAS EN EXTRACTO ACUOSO			SUSTANCIAS BIOACTIVAS EN EXTRACTO ETANÓLICO		
Dilución	T°	FENOLES	FLAVONOIDES	TANINOS	FENOLES	FLAVONOIDES	TANINOS
(1:3) (1:5)	20°C						
	30°C						
	40°C						

PORCENTAJE DE INHIBICIÓN							
Dilución	T°	CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTO ACUOSO			CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTO ETANÓLICO		
(1:3) (1:5)	20°C						
	30°C						
	40°C						

ANEXO 6

CONFIABILIDAD VALIDA DEL INSTRUMENTO

Juicio de Expertos VALIDACION DE INSTRUMENTO

1. Datos generales

- 1.1. Apellido y nombre del Experto: **Gamarra Guzmán Daniela**
- 1.2. Cargo e institución donde labora: **BROLABCENTRO - HUANCAYO.**
- 1.3. Título Profesional: Colegio de Ingenieros: Registro Colegio profesional: **85677**
- 1.4. Grado Académico: **MAGISTER.**
- 1.5. Nombre del Instrumento: **FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS ANALITICOS EFECTO DEL MÉTODO EXTRACTIVO SOBRE EL TIPO Y CONCENTRACIÓN DE SUSTANCIAS BIOACTIVAS EN HOJAS DE XANTHIUM SPINOSUM.**
Bachiller Huarcaya Surichaqui Lilian
Bachiller Inga Suazo Solange Rosario
- 1.6. Instrucciones: Luego de analizar el instrumento y cotejar la investigación con la matriz de consistencia de la presente, le solicitamos que, en base a su criterio y experiencia profesional, valide dicho instrumento para su aplicación.

Nota: Para cada criterio considere la escala de 1 a 5 donde:

1.- Muy poco	2.- Poco	3.- Regular	4.- Aceptable	5.- Muy aceptable					
INDICADORES	CRITERIOS	PUNTUACION							
		1	2	3	4	5			
1.- Claridad	El instrumento esta formulado con un lenguaje apropiado								X
2.- Objetividad	El instrumento evidencia recojo de datos observables						X		
3.- Actualidad	El instrumento se adecua a los criterios científicos y tecnológicos								X
4.- Organización	El instrumento tiene una organización lógica								X
5.- Suficiente	Son suficientes en cantidad y calidad los elementos que conforman el instrumento								X
6.- Intencionalidad	Es adecuado para relacionar las variables en mención						X		
7.- Consistencia	Se basa en aspecto teóricos científicos de la farmacéutica como de la bioquímica								X
8.- Coherencia	Existe coherencia y relación de los items, indicadores, las dimensiones y las variables.								X
9.- Metodología	La estrategia responde al propósito de la problemática de la investigación							X	
10.- Pertinencia	El instrumento muestra a la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al método científico						X		
TOTAL Parcial								16	30
Total									46

II. OPIÓN DE APLICABILIDAD: **Valido, aplicar**

III. PROMEDIO DE VALORACIÓN: **46**

Puntuación


 FIRMA DEL EXPERTO

11-12	No valido, reformular
21-30	No valido, modificar
31-40	Válido, mejorar
41-50	Válido, aplicar

Juicio de Expertos
VALIDACION DE INSTRUMENTO

1. Datos generales

- 1.1. Apellido y nombre del Experto: MERY LUZ BAQUERIZO CANCHUMANYA
- 1.2. Cargo e institución donde labora: DOCENTE UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO DEL PERU.
- 1.3. Título Profesional: INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
- 1.4. Grado Académico: MAGISTER EN CIENCIA E INGENIERIA DE LOS ALIMENTOS
- 1.5. Nombre del Instrumento: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS ANALITICOS EFECTO DEL MÉTODO EXTRACTIVO SOBRE EL TIPO Y CONCENTRACIÓN DE SUSTANCIAS BIOACTIVAS EN HOJAS DE *XANTHIUM SPINOSUM*.
Bachiller Huarcaya Surichaqui Lilian
Bachiller Inga Suazo Solange Rosario
- 1.6. Instrucciones: Luego de analizar el instrumento y cotejar la investigación con la matriz de consistencia de la presente, le solicitamos que, en base a su criterio y experiencia profesional, valide dicho instrumento para su aplicación.

Nota: Para cada criterio considere la escala de 1 a 5 donde:

INDICADORES	CRITERIOS	PUNTUACIÓN				
		1	2	3	4	5
1.- Claridad	El instrumento esta formulado con un lenguaje apropiado					X
2.- Objetividad	El instrumento evidencia recojo de datos observables					X
3.- Actualidad	El instrumento se adecua a los criterios científicos y tecnológicos					X
4.- Organización	El instrumento tiene una organización lógica					X
5.- Suficiente	Son suficientes en cantidad y calidad los elementos que conforman el instrumento					X
6.- Intencionalidad	Es adecuado para relacionar las variables en mención					X
7.- Consistencia	Se basa en aspecto teóricos científicos de la farmacéutica como de la bioquímica				X	
8.- Coherencia	Existe coherencia y relación de los ítems, indicadores, las dimensiones y las variables.					X
9.- Metodología	La estrategia responde al propósito de la problemática de la investigación					X
10.- Pertinencia	El instrumento muestra a la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al método científico					X
TOTAL Parcial					4	45
Total						49

II. OPIÓN DE APLICABILIDAD: *valido, aplicar*

III. PROMEDIO DE VALORACIÓN: *49*

Puntuación

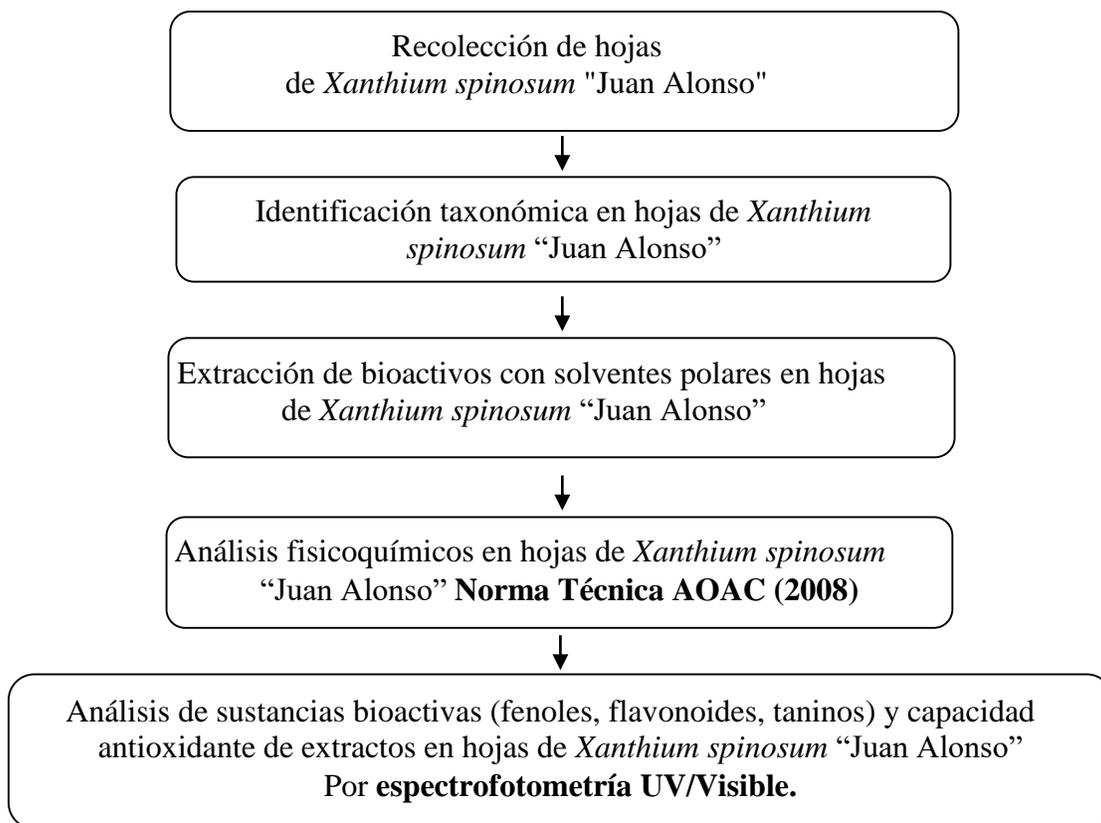


 FIRMA

11-12	No valido, reformular
21-30	No valido, modificar
31-40	Válido, mejorar
41-50	Válido, aplicar

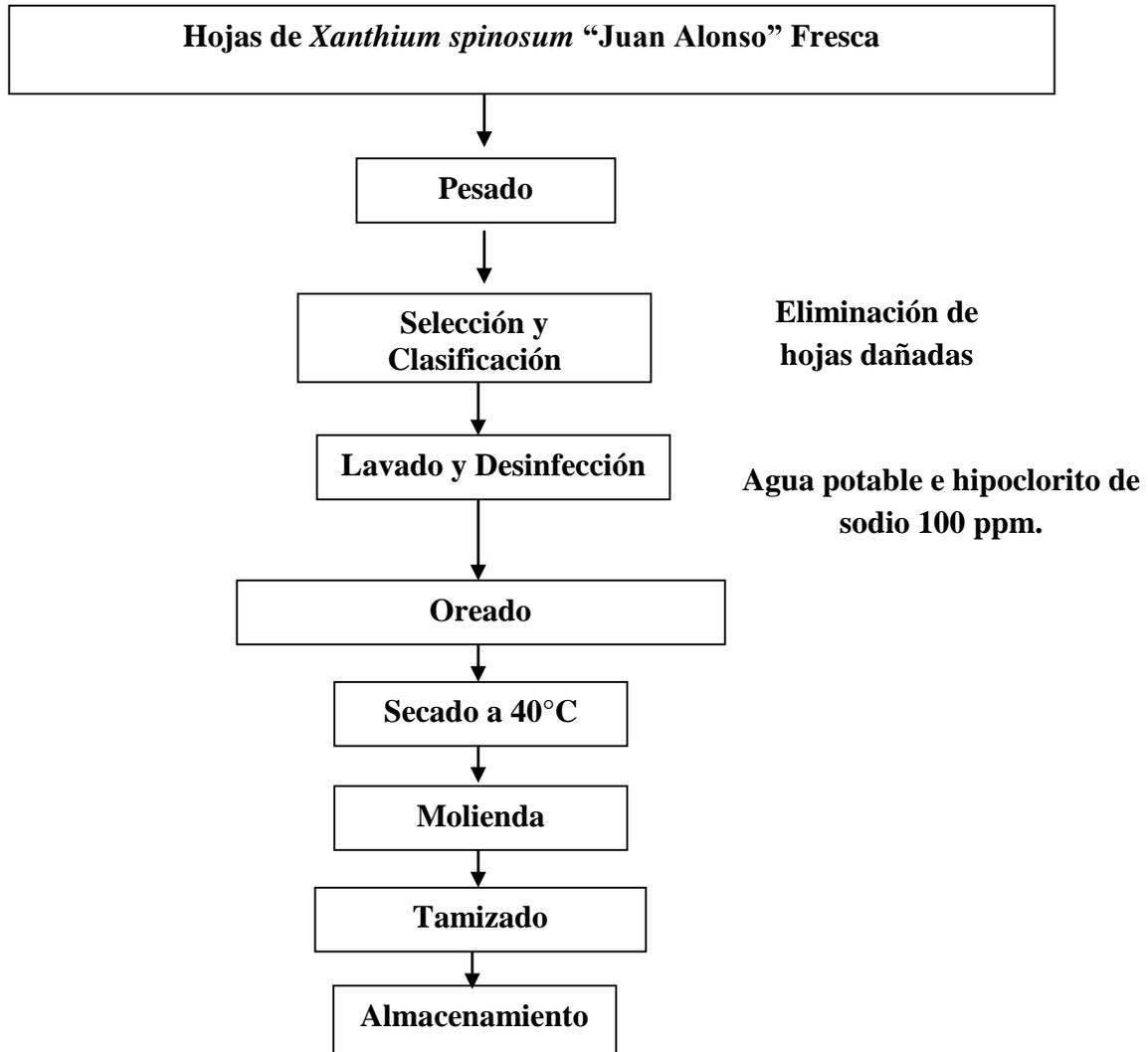
ANEXO 7

ESQUEMA DEL MÉTODO DE LA INVESTIGACIÓN



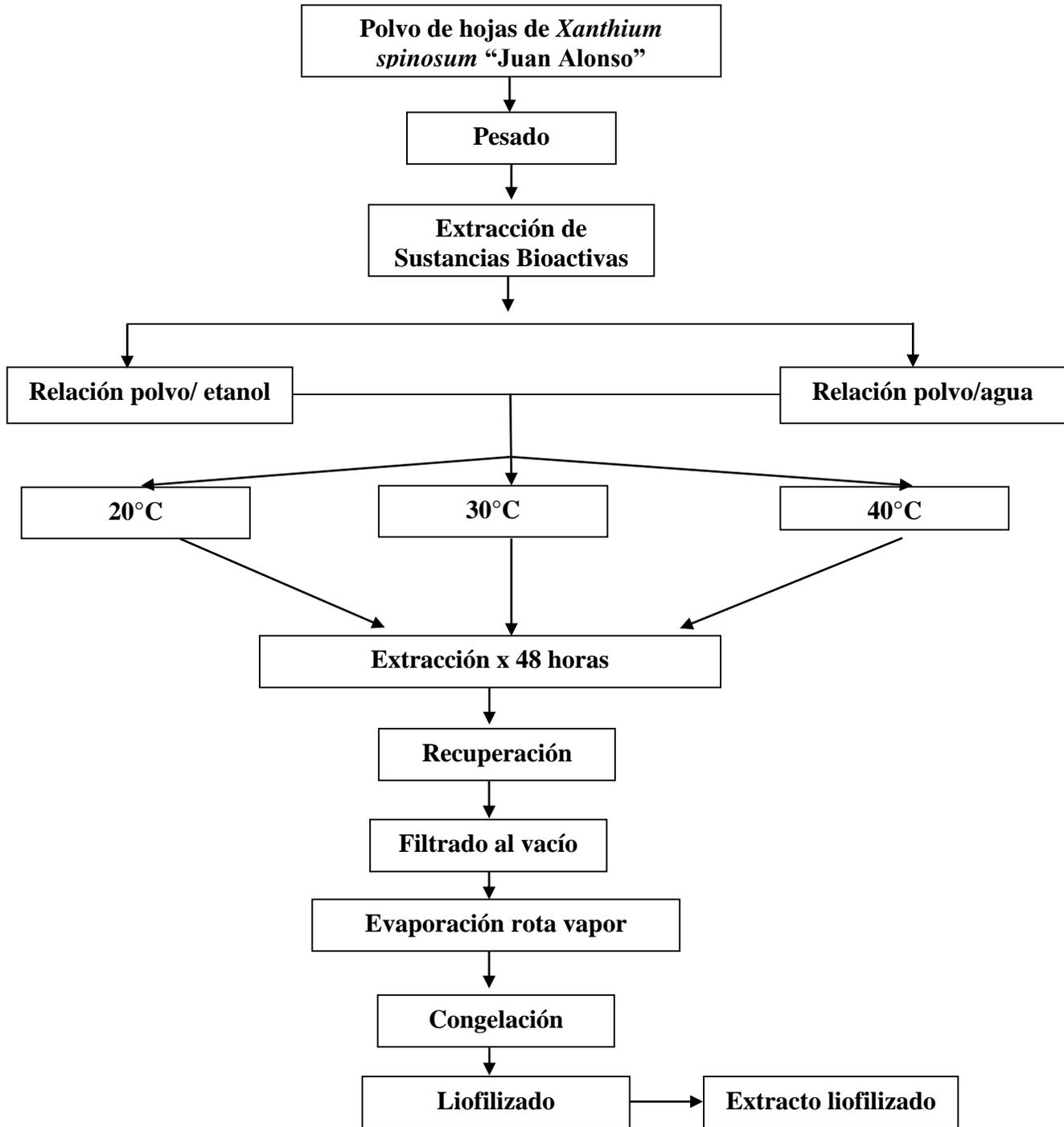
ANEXO 8

PROCESO DE PREPARACIÓN EN HOJAS DE *XANTHIUM SPINOSUM* "JUAN ALONSO"



Esquema Experimental de la obtención de polvo de hojas de *Xanthium spinosum* "Juan Alonso"

ANEXO 9
PROCESO EXPERIMENTAL DE LA EXTRACCIÓN DE SUSTANCIAS
BIOACTIVAS



Esquema general de la obtención de extractos de hojas *Xanthium spinosum* "Juan Alonso"

ANEXO 10

DATA DE LOS RESULTADOS EXPERIMENTALES EN FUNCIÓN A LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS EN HOJAS DE *XANTHIUM SPINOSUM*.

Componentes g/100g	R1	R2	R3	Media	Desv. Stand \pm
Humedad	6,85	7,34	7,12	7,10	$\pm 0,25$
Cenizas totales	10,67	11,42	10,83	10,97	$\pm 0,40$
Cenizas acidas	4,86	4,79	4,89	4,85	$\pm 0,05$
Cenizas solubles	4,31	4,26	4,34	4,30	$\pm 0,04$

ANEXO 11

DATA DE LOS RESULTADOS EXPERIMENTALES EN FUNCIÓN AL CONTENIDO DE HUMEDAD Y MATERIA SECA EN HOJAS DE *XANTHIUM SPINOSUM* (g/100g).

Muestra	Humedad			Materia seca			Promedio humedad	Desv Stand \pm	Promedio materia seca	Desv Stand \pm
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	%		%	
<i>Xanthium spinosum</i>	6,85	7,34	7,12	93,15	92,66	0,25	7,10	$\pm 0,25$	92,90	$\pm 0,25$

ANEXO 12

DATA DE LOS RESULTADOS EXPERIMENTALES EN FUNCIÓN A LOS TRATAMIENTOS Y FACTORES DE ESTUDIO.

Método extractivo	Repetición	Solvente	Dilución	Temperatura (°C)	Fenoles (mg AGE/g)	Flavonoides (mg QE/g)	Taninos (mg ATE/g)	Capacidad antioxidante (% Inhibición)
1	R1	Agua	1:3	20	185,734	12,756	274,123	54,57
1	R2	Agua	1:3	20	186,546	12,457	275,127	53,28
1	R3	Agua	1:3	20	185,345	12,567	275,897	51,78
2	R1	Agua	1:5	20	172,456	11,423	268,432	52,46
2	R2	Agua	1:5	20	174,378	11,284	265,167	51,67
2	R3	Agua	1:5	20	172,458	11,875	268,785	53,84
3	R1	Etanol	1:3	20	206,564	16,745	244,345	63,73
3	R2	Etanol	1:3	20	206,356	16,234	244,356	62,59
3	R3	Etanol	1:3	20	205,879	16,423	243,432	65,47
4	R1	Etanol	1:5	20	197,348	15,321	237,478	64,85
4	R2	Etanol	1:5	20	199,874	15,478	238,943	62,71
4	R3	Etanol	1:5	20	194,363	15,263	236,734	66,32
5	R1	Agua	1:3	30	189,35	13,566	283,452	76,234
5	R2	Agua	1:3	30	191,23	14,632	289,467	77,743
5	R3	Agua	1:3	30	193,45	13,786	294,567	77,258
6	R1	Agua	1:5	30	182,237	12,765	271,234	68,93
6	R2	Agua	1:5	30	184,318	12,648	276,421	67,38

Método extractivo	Repetición	Solvente	Dilución	Temperatura (°C)	Fenoles (mg AGE/g)	Flavonoides (mg QE/g)	Taninos (mg ATE/g)	Capacidad antioxidante (% Inhibición)
6	R3	Agua	1:5	30	183,623	12,732	281,631	69,63
7	R1	Etanol	1:3	30	206,564	16,745	244,345	65,73
7	R2	Etanol	1:3	30	206,356	16,234	244,356	66,59
7	R3	Etanol	1:3	30	205,879	16,423	243,432	67,84
8	R1	Etanol	1:5	30	197,348	15,321	237,478	72,456
8	R2	Etanol	1:5	30	199,874	15,478	238,943	75,356
8	R3	Etanol	1:5	30	194,363	15,263	236,734	71,356
9	R1	Agua	1:3	40	209,456	14,672	297,345	61,378
9	R2	Agua	1:3	40	214,234	14,932	299,472	60,123
9	R3	Agua	1:3	40	223,156	15,345	288,976	59,875
10	R1	Agua	1:5	40	198,347	13,471	278,452	60,37
10	R2	Agua	1:5	40	208,251	13,269	284,35	59,78
10	R3	Agua	1:5	40	205,243	13,867	285,352	61,59
11	R1	Etanol	1:3	40	254,456	20,321	250,456	67,93
11	R2	Etanol	1:3	40	255,734	19,786	249,567	69,37
11	R3	Etanol	1:3	40	256,783	20,654	252,321	68,69
12	R1	Etanol	1:5	40	244,621	18,97	246,316	66,256
12	R2	Etanol	1:5	40	248,659	19,645	245,821	65,328
12	R3	Etanol	1:5	40	243,784	19,859	244,732	64,218

ANEXO 13

CONSTANCIA DE ESTUDIO TAXONÓMICO DE *XANTHIUM SPINOSUM* "JUAN ALONSO".



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la internalización de la Salud"

CONSTANCIA N° 035-USM-2020

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta estéril), recibida de **Lilian Huarcaya Surichaqui y Solange Rosario Inga Suazo**; estudiantes de la Universidad Peruana Los Andes; ha sido estudiada y clasificada como *Xanthium spinosum* (L.) Fourr. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación APG IV (2016):

ORDEN: ASTERALES Link

FAMILIA: ASTERACEAE Bercht. & J. Presl

GENERO: *Xanthium*

ESPECIE: *Xanthium spinosum* (L.) Fourr.

Nombre vulgar: "juan alonso"

Determinada por: Dra. Joaquina Albán Castillo

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente

Lima, 06 de febrero de 2020



Joaquina Albán Castillo

Dra. Joaquina Albán Castillo
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

JAC/dcb

ANEXO 14

AUTORIZACIÓN DEL INGRESO DEL LABORATORIO DE LA UNCP



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO DEL PERU
FACULTAD DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS



"Año de la universalización de la salud"

Huancayo, 29 de enero del 2020

Sta.

Huarcaya Surichaqui Lilian

ASUNTO: SOLICITUD DE SERVICIO DE ANALISIS DE PLANTA MEDICINAL

Por medio de la presente el Laboratorio de Control de Calidad FAIIA-UNCP autoriza el ingreso de muestras de planta medicinal para realizar los análisis químicos correspondientes según lo especificado por la interesada.

Se otorga dicha autorización para fines que estime conveniente.



c.c. Archivo



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO DEL PERU
FACULTAD DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS



"Año de la universalización de la salud"

Huancayo, 29 de enero del 2020

Sta.

Inga Suazo Solange Rosario

ASUNTO: SOLICITUD DE SERVICIO DE ANALISIS DE PLANTA MEDICINAL

Por medio de la presente el Laboratorio de Control de Calidad FAIIA-UNCP autoriza el ingreso de muestras de planta medicinal para realizar los análisis químicos correspondientes según lo especificado por la interesada.

Se otorga dicha autorización para fines que estime conveniente.



Director FCC-FAIIA

c.c. Archivo

ANEXO 15
DECLARACIÓN DE CONFIDENCIALIDAD

Declaración de Confidencialidad

Yo, Huarcaya Surichaqui Lilian, identificada con n° DNI: 48513515 domiciliada en Pje: Fabian S/N Chilca, Huancayo: Egresada de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Peruana los Andes, por el presente:

Declaro mantener la confidencialidad de la información recabada como parte de la investigación. Titulada “Efecto del método extractivo sobre el tipo y concentración de sustancias bioactivas en hojas *Xanthiun spinosum*”, mediante la cual se trabajara con la muestra de hojas recolectadas del distrito de Chupaca, cuyos datos servirán para alcanzar los objetivos propuestos en el estudio.

Huancayo, 10 de Marzo del 2020



Huarcaya Surichaqui Lilian

N° DNI: 48513515

Declaración de Confidencialidad

Yo, Inga Suazo Solange Rosario, identificada con n° DNI: 73048929 domiciliada en Jr: Huancayo n°1289 San Jerónimo de Tunán, Huancayo: Egresada de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Peruana los Andes, por el presente:

Declaro mantener la confidencialidad de la información recabada como parte de la investigación. Titulada “Efecto del método extractivo sobre el tipo y concentración de sustacias bioactivas en hojas *Xanthium spinosum*”, mediante la cual se trabajara con la muestra de hojas recolectadas del distrito de Chupaca, cuyos datos servirán para alcanzar los objetivos propuestos en el estudio.

Huancayo, 10 de Marzo del 2020



Inga Suazo Solange Rosario

N° DNI: 73048929