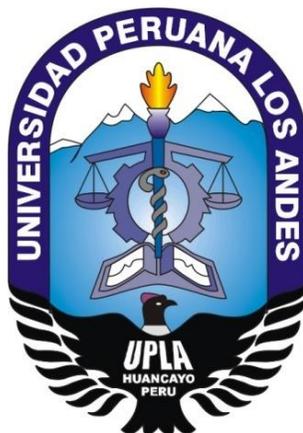


UNIVERSIDAD PERUANA LOS ANDES

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



TESIS

TÍTULO : **ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE *Equisetum arvense* L. “COLA DE CABALLO” EN RELACIÓN AL CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO, FENOLES Y FLAVONOIDES**

Para Optar el : Título profesional de Químico Farmacéutico

Autoras : Bachiller Pacheco Adriano Ivon Yamelit
Bachiller Pérez Esteban Janira Keyko

Asesor : Mg. Q.F. Fiorovich Arcos Ivo Antony

Línea de investigación Institucional : Salud y Gestión de la Salud

Fecha de inicio y término : 1 de marzo del 2020 al 2 de marzo del 2021

Huancayo – Perú 2021

DEDICATORIA

A mis padres Lucia Esteban Chachi y José Luis Pérez Prado, mis hermanos Carolay y Brando; por su esfuerzo y sacrificio, apoyándome para culminar la carrera profesional. A pesar de las dificultades que hubo en el camino siempre han estado conmigo.

Janira Keyko Pérez Esteban

DEDICATORIA

A mis padres Mariza Adriano Mantari y Carlos Pacheco Flores, por su infinito amor, sacrificio y apoyo incondicional que permitieron realizarme como una excelente profesional y persona.

Ivon Yamelit Pacheco Adriano

AGRADECIMIENTO

A Dios, por guiarnos y protegernos en cada paso del camino cotidiano, iluminando nuestras mentes, dándonos las fuerzas suficientes y sabiduría para poder vencer todas las dificultades y obstáculos a lo largo de nuestras vidas.

A la Universidad Peruana Los Andes, por habernos permitido formarnos como buenas profesionales, gracias a todas las personas que fueron partícipes en este proceso, estando presentes de manera directa o indirecta, siendo ustedes los responsables de realizar un pequeño aporte, que el día de hoy se ve reflejado en la culminación de esta investigación.

A nuestros padres, motivo de inspiración durante todo este proceso, apoyándonos día a día. Con su amor y bondad nos permitieron lograr nuestros objetivos.

INTRODUCCIÓN

En este trabajo, en el Capítulo I se presenta todo lo relacionado con el problema de investigación, considerando que muchas enfermedades degenerativas no transmisibles como diabetes mellitus, hipertensión arterial, mal de Parkinson, Alzheimer, polineuropatía alcohólica, intoxicación por oxígeno, isquemia cerebral, cataratas, retinopatía y síndrome de dificultad respiratoria se relacionan con la presencia de radicales libres. Por tal razón se ha formulado como objetivo general determinar la actividad antioxidante de *Equisetum arvense* L. “Cola de Caballo” en relación al contenido de ácido ascórbico, fenoles y flavonoides, pues es muy importante debido a las propiedades que presenta, habiendo necesidad de realizar estudios profundos, ya que se desconocen los beneficios que proporciona en forma adecuada; sobre todo con fines preventivos de este tipo de patologías.

El capítulo II contiene una relación de aquellas investigaciones (internacionales y nacionales) que guardan relación con esta problemática; se concreta en que estos hallazgos experimentales sugieren que *Equisetum arvense* L. tiene efectos antibacterianos sobre bacterias Gram-positivas. En el capítulo III se hace mención de que la hipótesis general plantea que *Equisetum arvense* L. “Cola de Caballo” presenta actividad antioxidante y existe una relación directa con la concentración de ácido ascórbico, fenoles y flavonoides.

Investigadores como Nunes R. y Pasko P.¹ señalan que *Equisetum arvense* L. “Cola de Caballo” es un género de helechos que se distribuyen a nivel mundial y de mayor riqueza en el hemisferio norte. Esta planta que pertenece al género de helechos que presentan ejes longitudinalmente surcados con costillas, por lo general, pronunciadas, con hojas verticiladas reducidas a escamas que forman una vaina y por esporofilos agrupados distalmente en unas estructuras a manera de cono, los estróbilos. La cola de caballo es una planta muy utilizada con acción diurética, sus utilidades curativas son para la osteoporosis, limpieza de heridas, antiviral.

Así mismo, Rivera E. *et al.*² sostienen que es muy importante determinar las propiedades que presentan el género de helecho en estudio como un recurso terapéutico natural y demostrar la necesidad realizar estudios profundos sobre las propiedades antioxidantes ya que muchos desconocen los beneficios proporcionan al consumirlos en forma adecuada, más aún, teniendo en cuenta que muchos padecen de enfermedades degenerativas no trasmisibles y prevenir de la presencia de otras patologías.

CONTENIDO

	Página
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
INTRODUCCIÓN	v
CONTENIDO	vii
CONTENIDO DE TABLAS	x
CONTENIDO DE FIGURAS	xi
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiii
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	
1.1 Descripción de la realidad problemática	1
1.2 Delimitación del problema	2
1.3 Formulación del problema	3
1.3.1 Problema general	3
1.3.2 Problemas específicos	3
1.4 Justificación	3
1.4.1 Social	4
1.4.2 Teórica	4
1.4.3 Metodológica	4
1.5 Objetivos	5
1.5.1 Objetivo general	5
1.5.2 Objetivos específicos	5
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	
2.1 Antecedentes de estudio	6
2.1.1 Internacionales	6
2.1.2 Nacionales	8
2.2 Bases teóricas	
2.2.1 <i>Equisetum arvense</i> L. “Cola de Caballo”	10

2.2.2	Clasificación taxobotánica	10
2.2.3	Composición Química	10
2.2.4	Usos y aplicaciones	12
2.3	Marco conceptual	12
CAPÍTULO III: HIPÓTESIS		
3.1	Hipótesis	
3.1.1	Hipótesis general	15
3.1.2	Hipótesis específicas	15
3.2	Variables	16
3.2.1	Variable independiente	16
3.2.2	Variable dependiente	16
CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA		
4.1	Método de investigación	17
4.2	Tipo de investigación	17
4.3	Nivel de investigación	18
4.4	Diseño de la investigación	18
4.5	Población y muestra	18
4.5.1	Criterios de inclusión	18
4.5.2	Criterios de exclusión	18
4.6	Técnicas e instrumento de recolección de datos	18
4.6.1	Técnicas	18
4.6.2	Instrumento de recolección de datos	19
4.6.3	Procedimientos de la investigación	20
4.7	Técnicas de procesamiento y análisis de datos	22
4.8	Aspectos éticos de la investigación	22
CAPÍTULO V: RESULTADOS		
5.1	Descripción de resultados	24
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS		35
CONCLUSIONES		41

RECOMENDACIONES	43
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
ANEXOS	49
1. Matriz de consistencia	50
2. Matriz de operacionalización de las variables	51
3. Matriz de operacionalización de instrumentos	52
4. Identificación Taxonómica de la especie vegetal	53
5. Fichas de recolección de datos	56
6. Data de procesamiento de datos	59
7. Diagrama experimental para la obtención y extracción acuosa de extracto	63
8. Compromiso de Autoría	69
9. Declaración de Confidencialidad	70
10. Galería fotográfica de recolección de <i>Equisetum arvense</i> L. “Cola de caballo”	71
11. Galería fotográfica de Selección de <i>Equisetum arvense</i> L. “Cola de caballo”	72
12. Galería fotográfica de Secado de <i>Equisetum arvense</i> L. “Cola de caballo”	73
13. Galería fotográfica de Molienda y Extracción de las hojas secas de <i>Equisetum arvense</i> L. “Cola de Caballo”	74

CONTENIDO DE TABLAS

Tabla 1. Sistematización de las técnicas de recolección de datos en la investigación	19
Tabla 2. Identificación del perfil fitoquímico de extractos hidroalcohólicos y acuoso de hojas de <i>Equisetum arvense</i> L. “Cola de Caballo”	25
Tabla 3. Valores del contenido de humedad de las hojas y tallos de <i>Equisetum arvense</i> L. “Cola de Caballo” fresco	26
Tabla 4. Valores del contenido de materia seca de hojas y tallos de <i>Equisetum arvense</i> L. “Cola de Caballo” fresco	26
Tabla 5. Físicoquímicas de extractos fresco y liofilizado de hojas de <i>Equisetum arvense</i> L. “Cola de Caballo”	27
Tabla 6. Actividad antioxidante de extractos de hojas de <i>Equisetum arvense</i> L. “Cola de Caballo”	28
Tabla 7. Contenido de vitamina C en extractos fresco y Liofilizado de hojas de <i>Equisetum arvense</i> L. “Cola de Caballo”	29
Tabla 8. Contenido de fenoles totales de extractos fresco y Liofilizados de en extractos de hojas de <i>Equisetum arvense</i> L. “Cola de Caballo”	31
Tabla 9. Contenido de Flavonoides de extractos fresco y Liofilizado de hojas de <i>Equisetum arvense</i> L. “Cola de Caballo”	33

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 1. Histograma de la Variación de la Actividad Antioxidante de extractos fresco y liofilizado de Cola de caballo	28
Figura 2. Histograma de la Variación del contenido de Vitamina C de extracto fresco y liofilizado de hojas de <i>Equisetum arvense</i> L. “Cola de Caballo”	30
Figura 3. Histograma de la variación del contenido de fenoles totales de extracto fresco y liofilizado de hojas de <i>Equisetum arvense</i> L. “Cola de Caballo”	32
Figura 4. Histograma de la variación del contenido de flavonoides de extracto fresco y liofilizado de hojas de <i>Equisetum arvense</i> L. “Cola de Caballo”	34

RESUMEN

El trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar la actividad antioxidante de *Equisetum arvense* L. “Cola de caballo” en relación al contenido de ácido ascórbico, fenoles y flavonoides. Se realizó la identificación taxonómica de la especie en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Lima); posteriormente se procedió a la extracción hidroalcohólica y acuosa de extractos a partir de las hojas, para luego liofilizar cada tipo de extracto. Se determinó la actividad antioxidante *in vitro* de los extractos por el método ABTS^{•+}; contenido de fenoles, flavonoides y vitamina C. Los resultados evidenciaron que existen concentraciones significativas de fenoles, vitamina C y flavonoides, que según los valores espectrofotométricos se tiene una variabilidad de 245.81 hasta 305.37 mg EAG/g, en flavonoides se tiene desde 27.09 a 35.82 mg/g expresado en rutina, y en vitamina C valores desde 13.8 hasta 13.47 mg/100 g de extracto respectivamente. La actividad antioxidante presentó alto valores desde 1021.03 hasta 1277.03 mg ET/g de extracto. En base a los resultados se demostró que los extractos de *E. arvense* L. “Cola de caballo” tienen actividad antioxidante significativa por lo que las hojas de cola de caballo presentan alta actividades biológicas para diferentes aplicaciones.

Palabras clave: *Equisetum arvense* L., Fenoles, Flavonoides, vitamina C, actividad antioxidante, ABTS^{•+}.

ABSTRACT

The objective of the research work was to determine the determination of the antioxidant activity of *Equisetum arvense* L. "Horsetail" in relation to the content of ascorbic acid, phenols and flavonoids. The taxonomic identification of the horsetail species was carried out in the Natural History Museum of the National University of San Marcos; later, we proceeded to the hydroalcoholic and aqueous extraction of extracts from leaves of *Equisetum arvense* L. and then freeze-drying each type of extract. The in vitro antioxidant activity of the extracts was determined by the ABTS ● + method; content of phenols, flavonoids and vitamin C. The results showed that there are significant concentrations of phenols, vitamin C and flavonoids, which according to the spectrophotometric values have a variability of 245.81 to 305.37 mg EAG / g, in flavonoids it is from 27.09 to 35.82 mg / g expressed in routine, and in vitamin C values from 13.8 to 13.47 mg / 100 g of extract respectively. The antioxidant activity presented high values from 1021.03 to 1277.03 mg ET / g of extract. Based on the results, it was shown that the extracts of *Equisetum arvense* L. "Horsetail" have significant antioxidant activity, which is why horsetail leaves present high biological activities for different applications.

Keywords: *Equisetum arvense* L., Phenols, Flavonoids, vitamin C, antioxidant activity, ABTS ● +.

CAPITULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

Adaramola A. *et al.*³ señalan que muchas enfermedades degenerativas no trasmisibles como diabetes mellitus, hipertensión arterial, mal de Parkinson, Alzheimer, polineuropatía alcohólica, intoxicación por oxígeno, isquemia cerebral, cataratas, retinopatía, síndrome de dificultad respiratoria, enfisema, cáncer de pulmón, cáncer de colon, artritis reumatoide, enfermedades autoinmunes, toxicidad en riñones, etc., se relacionan con la presencia de radicales libres.

Según Paredes E.⁴ los metabolitos secundarios son los antioxidantes que protegen al organismo humano contra enfermedades degenerativas no transmisibles, como consecuencia de estos problemas, hoy en día existen muchos estudios referidos al uso de antioxidantes naturales que se deben incluir en la alimentación cotidiana. El incremento de la utilización de las plantas medicinales con efectos curativos que se observan en todos los mercados del mundo se debe principalmente a los efectos que presentan en los que consumen, ya que son inocuos.

Ricco R. *et al.*⁵ mencionan que el vegetal conocido como “Cola de caballo”, actualmente se exporta a diversos países como Europa y estados Unidos de Norte América, habiéndose incrementado en los últimos tres años. Hoy en día se ha identificado que *Equisetum arvense* L. “Cola de Caballo” tiene muchas propiedades, sin embargo, pese a su bajo costo y altas propiedades favorables para la salud, existe un desconocimiento sobre esta planta que no permite su utilización médica y que se aprovechen sus beneficios.

1.2 DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

El trabajo de investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Bromatología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Peruana los Andes, ubicado en la Ciudad Universitaria de la Urbanización Chorrillos s/n San Carlos, en la provincia de Huancayo (Departamento de Junín).

La planta *E. arvense* L. “Cola de Caballo” utilizada fue recolectada en la Provincia de Jauja por las autoras del proyecto, a la cual se le realizó la identificación taxonómica en los laboratorios del Herbario del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Lima).

Las hojas para la obtención del extracto acuoso en polvo fueron previamente sometidas a un tratamiento de secado y molienda para luego proceder al proceso de extracción sólido-líquido al 10% y 20% p/v en el laboratorio de Bromatología y posterior evaluación de la actividad antioxidante, fenoles, ácido ascórbico y flavonoides.

1.3 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.3.1 Problema general

¿Cuál es la actividad antioxidante y perfil fitoquímico de de *Equisetum arvense* L. “Cola de caballo”?

1.3.2 Problemas específicos

- ¿Cuál es el perfil fitoquímico de *E. arvense* L. “Cola de caballo”?
- ¿Cuáles son los parámetros de obtención de *E. arvense* L. “Cola de caballo”?
- ¿Cuál es la actividad antioxidante del extracto acuoso en polvo por el método ABTS?
- ¿Cuál es el contenido de ácido ascórbico, fenoles y flavonoides de *E. arvense* L. “Cola de caballo” por el método de espectrofotometría UV/Visible?

1.4 JUSTIFICACIÓN

1.4.1 Social

Actualmente la utilización de productos intermediarios saludables es una gran alternativa y tiene gran preferencia por la población a nivel mundial, especialmente el uso de extractos naturales con potencial antioxidante, colorantes y pigmentos naturales, utilizados para prevenir muchas enfermedades degenerativas no transmisibles. El consumo de productos sintéticos, especialmente colorantes, se asocia con problemas de salud que padece la población del mundo, razón por la cual el presente estudio pretende promover el uso de productos naturales en beneficio de la salud de los consumidores.

Por otro lado, la extracción de sustancias fitoquímicas a partir de *E. arvense* L. “Cola de caballo”, permitirá la industrialización de esta planta medicinal andina, nativa del Perú, lo cual impactará positivamente en la economía de familias de procedencia rural, dedicadas al cultivo de esta planta, cuya demanda se incrementaría de acuerdo a la capacidad de producción de las plantas de procesamiento, generando un valor agregado de esta especie vegetal.

1.4.2 Teórica

La investigación se desarrolló sobre una base de conocimientos e información para la industria farmacéutica en lo referente a elementos naturales, como son los fitocomponentes extraídos a partir de *E. arvense* L. “Cola de caballo”, considerando que en la industria

globalizada existe un auge en el uso de este tipo de fuentes naturales como alternativa de materia prima, de tal forma que sirvan como fuente natural de sustancias fitoquímicas, promoviendo a su vez que estos extractos naturales se utilicen con pigmentos aprovechables para la formulación de diversos tipos de extractos naturales. Por otro lado, por sus propiedades antioxidantes para prevenir enfermedades degenerativas no transmisibles le concede mucha importancia en la industria farmacéutica.

1.4.3 Metodológica

Para materializar el desarrollo de esta investigación se utilizaron métodos estandarizados para la extracción de fitocomponentes a partir de *E. arvense* L. “Cola de caballo” para uso potencial en la industria farmacéutica; tales como fenoles totales y su actividad antioxidante en base a métodos AOAC y Normas Técnicas Peruanas (NTP).

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 Objetivo general

Determinar la actividad antioxidante y perfil fitoquímico de de *Equisetum arvense* L. “Cola de caballo”.

1.5.2 Objetivos específicos

- Caracterizar el perfil fitoquímico de *E. arvense* L. “Cola de caballo”
- Identificar los parámetros de obtención del extracto acuoso en polvo.
- Determinar la actividad antioxidante del extracto acuoso en polvo por el método ABTS.
- Cuantificar el contenido de ácido ascórbico, fenoles y flavonoides en el extracto acuoso en polvo de *E. arvense* L. “Cola de caballo” por el método de espectrofotometría UV/Visible.

CAPITULO II

MARCO TEÒRICO

2.1 ANTECEDENTES DE ESTUDIO

2.1.1 Internacionales

Hernández E. *et al.*⁶ referencian que *Equisetum arvense* L. “Cola de caballo” en México se emplea muy frecuentemente como un agente hipoglucemiante para contrarrestar la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), considerando que en ese país es una prioridad en el sector salud.

Carmignan F. *et al.*⁷ investigaron la eficacia de la aplicación de *Equisetum pyramidale* Goldm en forma de hidrogel para la restauración de lesiones cutáneas inducidas en ratas, mediante análisis morfológicos, morfométricos e histológicos en relación a sus componentes principales. El hidrogel que contiene extracto etanólico de *E. pyramidale* al 2% fue eficaz en la regresión de heridas. *E. pyramidale* puede usarse para el tratamiento de heridas intencionales y la curación efectiva puede deberse a un alto contenido de flavonoides.

Álvarez P. *et al.*⁸ menciona que en Europa la especie vegetal *Equisetum arvense* L. “Cola de caballo” se usa en forma tradicional como potente diurético para el tratamiento de edemas.

Alvarce R. *et al.*⁹ realizaron estudios sobre el efecto beneficioso de *Equisetum giganteum* L. contra la formación de biopelículas de *Cándida albicans*. *E. giganteum*, principalmente en concentraciones altas, mostró actividad antimicrobiana frente a los microorganismos: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans*. También demostró actividad antiadherente en biofilms de *C. albicans* en un modelo experimental que es similar a las dentaduras postizas. Además, todas las concentraciones mostraron actividad antiinflamatoria. El extracto no mostró citotoxicidad en contacto con células humanas. Estas propiedades pueden calificar al extracto de *E. giganteum* como alternativa prometedora para el tratamiento y prevención de la candidiasis oral y estomatitis por dentadura postiza.

Muraroto M. *et al.*¹⁰ realizaron una evaluación preliminar de la sílica y otras sustancias químicas constituyentes del té liofilizado de *Equisetum arvense* y la aplicación de sus residuos de biomasa por adsorción de cobre, el objetivo fue caracterizar el té a partir de una forma de manipulación hecha por una farmacia especializada (M) y otros productos naturales bancarios (B). La absorción de biomasa resultante (residuos) se aplicó en la adsorción de iones cúpricos y la máxima capacidad de adsorción (Nfmax de la cola de caballo M y B) fueron 4.4×10^{-4} mol g⁻¹ y 2.6×10^{-4} mol*g⁻¹ respectivamente.

Rajasekhar A., Peddanna K. y Rao C.¹¹ desarrollaron estudios sobre actividad antioxidante y toxicidad aguda *in vitro* del extracto etanólico de tubérculos radiculares de *Asparagus gonoclados*. Los resultados indican que el análisis fitoquímico de extractos etanólicos reveló presencia de fitoesteroles, flavonoides, fenoles, taninos, esteroides, triterpenos y proteínas. La actividad antioxidante del extracto se analizó mediante métodos de DPPH, NO y H₂O₂. El extracto etanólico a la concentración de 100 µg/mL exhibió mayor actividad; concluyendo que dicho extracto posee buenas propiedades antioxidantes y no es tóxico.

Pallag A. *et al.*¹² investigaron sobre la actividad antimicrobiana del extracto de *Equisetum arvense* L. y los mecanismos implicados en los efectos *in vitro* sobre células vasculares endoteliales expuestas al estrés hiperosmótico. Los resultados demostraron que *E. arvense* L. exhibió efectos antibacterianos solo en cocos patógenos Gram-positivos. Las bajas concentraciones de compuestos experimentales ejercen un efecto antioxidante y disminuyen la actividad de la caspasa-8 y también aumentó la expresión de IκB; mientras que, en dosis altas, *E. arvense* L. fue pro oxidante, indujo la apoptosis y disminuyó IL-6 secreción. Se concluye que estos hallazgos experimentales sugieren que *E. arvense* L. tiene efectos antibacterianos en Gram-positivos.

2.1.2 Nacionales

Niquin L.¹³ realizó estudios sobre el efecto gastroprotector de hojas de *Equisetum giganteum* L. (Cola de caballo) en *Rattus norvegicus* var. *albinus* con úlcera inducida. Al evaluar el número de úlceras en estomago de cada espécimen, se encontró en el grupo control positivo un promedio de 10.2 ± 2.3 úlceras, el grupo estándar farmacológico tratado con Ranitidina un promedio de 5.8 ± 1.5 úlceras y el grupo experimental tratado con EHAH de *E. giganteum* con un promedio de 3.3 ± 1.5 úlceras; existiendo diferencia estadística entre los diferentes grupos a través de la prueba ANOVA (p 0.05). Se concluye que el extracto hidroalcohólico de hojas de *E. giganteum* presenta efecto gastroprotector en *R. norvegicus* var. *albinus* con úlcera inducida.

Enciso J.¹⁴ evaluó la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Bixa orellana* (achiote), *Eupatorium triplenerve* (asmachilca), *Physalis peruviana* (aguaymanto) y *Equisetum arvense* (cola de caballo) sobre la proliferación de fibroblastos. Asimismo, analizaron su capacidad antioxidante y contenidos de polifenoles y flavonoides. *B. orellana* y *P. peruviana* mostraron mayor capacidad antioxidante, correspondiéndole a *B. orellana* las mayores concentraciones de polifenoles y flavonoides. Todas las plantas estimularon diferencialmente la proliferación de fibroblastos, siendo mayor en *E. arvense*, moderada en *B. orellana* y *P. peruviana* y baja en *E. triplenerve*.

Villafuerte V.¹⁵ evaluó el efecto hidratante de una crema a base de *Equisetum bogotense* “Cola de Caballo” y *Pyrus communis* “Pera” procedentes del distrito de Quero (Jauja, Junín) y provincia de Caravelí (Arequipa), respectivamente. Se determinó los metabolitos secundarios mediante marcha fotoquímica, obteniendo en el extracto alcohólico de “cola de caballo” antocianinas y mucilagos y en “pera” taninos y flavonoides; mientras que en el extracto acuoso de “cola de caballo” hubo flavonoides y taninos. En las condiciones experimentales realizadas se demostró que la crema a base *E.* y *P. communis* tiene efecto hidratante, además se evidenció que la mezcla de ambas formulaciones presentó mejor comportamiento hidratante a lo largo de todos los momentos de tiempo comparados con el control positivo. Para la frecuencia del tratamiento se evidenció que el tiempo de aplicación cada 12 horas presentó el menor tiempo de absorción en la aplicación de la formulación de la mezcla con un intervalo de 1,90 minutos.

Peláez Y. y Pereda L.¹⁶ realizaron un estudio farmacognóstico de las ramas laterales de *Equisetum giganteum* L. “Cola de Caballo” proveniente del sector Chambuc (Santiago de Chuco, La Libertad). El estudio farmacognóstico comprendió la identificación taxonómica, determinación de parámetros de calidad, e identificación de metabolitos secundarios. Los resultados mostraron que la rama lateral tuvo $20 \pm 0,84$ cm de largo y $0,2 \pm 0,436$ de ancho; forma diagonal con 6-8 ranuras y una cabezuela conteniendo esporas, textura coriácea, superficie rugosa, color verde oscuro, un sabor amargo. Las características físico-químicas fueron: cenizas totales $5,88\% \pm 0,242$; cenizas insolubles en ácido clorhídrico $0,46\% \pm 0,029$; cenizas solubles en agua $3,75\% \pm 0,161$; humedad $7,32\% \pm 0,99$; materias extrañas $0,33\% \pm 0,015$; sustancias solubles en agua $18,02\% \pm 0,934$; en etanol 96°GL $14,08\% \pm 0,693$ y etanol 70°GL $20,65\% \pm 0,926$. Los metabolitos secundarios encontrados fueron: flavonoides, taninos, compuestos fenólicos, esteroides, aminoácidos y azúcares reductores.

2.2 BASES TEÓRICAS

2.2.1 *Equisetum arvense* L. “Cola de caballo”

La planta de *Equisetum arvense* L. “Cola de caballo” es una especie vascular muy antigua, presenta un promedio de 15 especies distribuidas a nivel mundial según Elgorriaga A., Escapa I. y Rothwell G. la hierba medicinal *E. arvense* L., con nombre vulgar de “Cola de caballo”, es una especie pteridofita, sus tallos son aéreos ramificados y verticilios en forma regular; presenta una biometría que miden de 10 a 20 cm de altura. Los tallos infértiles miden de 20 a 80 cm de altura, presentando verticilios o nudillos a partir de los cuales emergen las hojas; ambos crecen en lugares húmedos y con climas templados. Es una planta medicinal que posee características antibacterianas, anti convulsionante, antioxidantes, antiinflamatorias y sedante. En la medicina tradicional se utiliza como diurético.¹⁷

2.2.2 Clasificación taxobotánica

Reino:	Plantae
Sub-reino:	Tracheobionta
División:	Equisotophyta
Clase:	Equisetopsida
Orden:	Equisetales
Familia:	Equisetaceae
Género:	Equisetum
Especie:	arvense
Nombre científico:	<i>Equisetum arvense</i> L.

2.2.3 Composición química

Según Al-Snafi A.¹⁸ los principios inmediatos químicos están representados por los alcaloides especialmente la nicotina y palustrina; fito esteroides; taninos; triterpenoides, compuestos fenólicos y flavonoides (0,6 a 0,9%)¹⁶ mientras que menciona que también contienen proteínas y aminoácidos, saponinas, aceites volátiles. Además de ser rico en minerales como potasio, manganeso, magnesio, sulfuro y un contenido considerable de sílice de 5 a 8%.

Khakestani M., Jafari S. y Zahedi P.¹⁹ sostienen que los principios activos de la cola de caballo están dados por metabolitos secundarios que se aislar de sus tejidos o fracciones vegetales¹⁷, otros investigadores reportan que la planta contiene minerales como son sílice, calcio, magnesio, cromo, hierro, manganeso, potasio; ácidos orgánicos como el málico, salicílico y esquisético; también glucósidos, saponinas, heteróxidos, fitosteroles, flavónicos y taninos.

Por tanto, la planta contiene muchos componentes que poseen efectos protectores y curativos, siendo dos los tipos de principios activos de mayor relevancia: el primero es un amplio conjunto de sustancias minerales, dentro de las cuales la más importante es la sílice; el segundo es una serie de glucósidos que tienen roles coadyuvantes de la sílice y la mayor proporción de sílice se presenta como anhídrido.

Los componentes bioquímicos principales son los siguientes:

- Sales minerales, en especial de sílice, es una de las mejores fuentes de este mineral que nos brinda la naturaleza, potasio, calcio, magnesio y aluminio.
- Vitamina C, carotenoides.
- Flavonoides, glucósidos de kenferol.
- Taninos gálicos.
- Saponósidos, a destacar la equisetonina.
- Ácidos cafeico y ferúlico.
- Polialcoholes carbonados como el manitol, con efectos diuréticos el Inositol.
- Trazas de alcaloides activos como la espermidina, usada en jardinería, la nicotina, etc.
- Esteroles.

Estos componentes le confieren a la cola de caballo cualidades remineralizantes, vitamínicas, diuréticas, depurativas, desintoxicantes, antimicrobianas, antiinflamatorias, vasoconstrictoras a nivel local, cicatrizantes y como eficaz restaurador epidérmico.

2.2.4 Usos y aplicaciones

Se reporta que una de las aplicaciones más importantes de la planta es la actividad anti fúngica, ya que en forma de tintura es muy frecuente su uso por las propiedades antisépticas, y los estudios demuestran el alto potencial antimicrobiano de extractos hidroalcohólicos y aceites esenciales. Esta especie tiene la capacidad de producir sustancias alelopáticas como resultado de su metabolismo. El extracto acuoso afecta al desarrollo del estadio larvario de algunos insectos plagas, impidiendo que estos proliferen, evitando infecciones fungosas en el follaje y los frutos del cultivo.

2.3 MARCO CONCEPTUAL²⁰

2.3.1 Extracción

Unidad de proceso que consiste en la separación de un analito en una unidad experimental o mezcla utilizando medio de sólido/líquido, con disolventes polares, donde se separan los componentes de acuerdo a la naturaleza del solvente, al final se tiene la solución extraída en el solvente y el residuo.

2.3.2 Vitamina C

Fenech M. *et al.*²⁰ señalan que el ácido ascórbico (vitamina C) es una vitamina soluble en agua, es un cristal o polvo blanco o ligeramente amarillo con un ligero ácido gusto. Es un producto antiescorbútico. En exposición a la luz, gradualmente se oscurece en estado seco, es razonablemente estable en el aire, pero en solución se oxida rápidamente. El ácido ascórbico (vitamina C) es libremente soluble en agua; escasamente soluble en alcohol; insoluble en cloroformo, en éter, y en benceno. El nombre químico del ácido ascórbico (vitamina c) es Ácido L-ascórbico (vitamina C). La fórmula empírica es $C_6H_8O_6$ y el peso molecular es 176.13 g/mol.

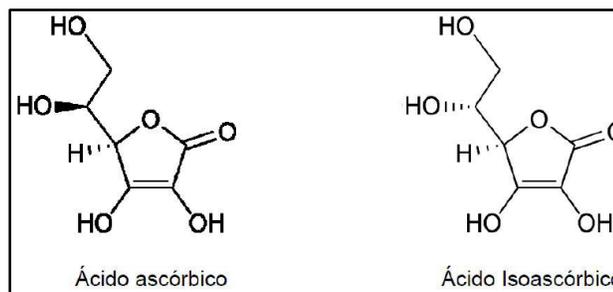
La vitamina C en humanos debe ingerirse para sobrevivir. La vitamina C es un donador de electrones, y esta propiedad explica todas sus funciones conocidas. Como donante de electrones, la vitamina C es un potente antioxidante soluble en agua en humanos. Los efectos antioxidantes de la vitamina C se han demostrado en muchos experimentos *in vitro*.

Enfermedades humanas tales como la aterosclerosis y el cáncer pueden ocurrir en parte por daño oxidativo a los tejidos. Oxidación de lípidos, Las proteínas y el ADN dan como resultado productos de oxidación específicos que se pueden medir en el laboratorio.

Mientras los biomarcadores de oxidación se han medido en humanos, tales ensayos aún no se han validado o estandarizado. y la relación de los marcadores oxidantes con las enfermedades humanas no está clara. Los estudios epidemiológicos muestran que las dietas altas en frutas y verduras están asociadas con un menor riesgo de enfermedad cardiovascular, accidente cerebrovascular y cáncer, y con mayor longevidad. Se desconoce si estos efectos protectores son directamente atribuibles a la vitamina C.

A lo largo de la evolución, varios animales, incluidos los humanos, han perdido la capacidad de sintetizar ácido ascórbico (ascorbato, vitamina C), una molécula esencial en la fisiología de animales y plantas. Además de su papel principal como antioxidante y cofactor en redox reacciones, informes recientes han demostrado un papel importante del ascorbato en la activación de mecanismos epigenéticos que controlan la diferenciación celular, cuya desregulación puede conducir al desarrollo de ciertos tipos de cáncer. Aunque las frutas y verduras constituyen. La principal fuente de ascorbato en la dieta humana, el aumento de su contenido no ha sido un objetivo principal de reproducción, a pesar de la gran variación inter e intraespecífica en ascorbato contenido en cultivos frutales.

Actualmente existe un interés creciente por impulsar el contenido de ascorbato, no solo para mejorar la calidad de la fruta sino también para generar cultivos con niveles elevados tolerancia al estrés. Varios intentos de aumentar el ascorbato en las frutas han logrado bastante buenos resultados, pero, en algunos casos, también se producen efectos perjudiciales en el desarrollo del fruto, probablemente debido a la interacción entre la biosíntesis de ascorbato y componentes de la pared celular.



Fuente: Fenech M. *et al.*

Figura 1. Estructura química del ácido L-ascórbico y ácido isoascórbico

2.3.3 Método del ABTS (ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico)

El radical $ABTS^{\cdot*}$ se produce por la oxidación del ABTS. Esta oxidación puede generarse de forma enzimática, química (dióxido de manganeso, persulfato potásico, radical piróxilo) o electroquímica. El radical catiónico obtenido es un compuesto de color verde-azulado estable con una absorción máxima a 734 nm.

La metodología consiste en controlar la reducción del radical $ABTS^{\cdot*}$ causada por la adición de una muestra que contiene antioxidantes. Esto se realiza determinando la decoloración del ABTS a 734 nm. La absorbancia se compara con la del Trolox (análogo sintético y soluble de la vitamina E) y se expresa como TEAC (capacidad antioxidante equivalente de Trolox).

La ventaja de este ensayo es que puede realizarse tanto en muestras hidrosolubles como liposolubles, eligiendo el disolvente apropiado en cada caso y que proporciona rápidamente los resultados más reproducibles empleando un equipo de laboratorio relativamente común como es el espectrofotómetro, ampliamente utilizado.

CAPITULO III

3.1 HIPOTESIS

No amerita, por tratarse de una investigación de nivel descriptivo.

3.2 VARIABLES

3.2.1 VARIABLE 1:

Perfil fitoquímico de *Equisetum arvense* L. “COLA DE CABALLO”

A. Definición Conceptual: Resultado del análisis cualitativo y cuantitativo de los principales metabolitos que tienen actividad presente en el *Equisetum arvense* L.

“COLA DE CABALLO”

B. Definición Operacional: Se consideraron tres dimensiones que son:

- Ácido ascórbico
- Fenoles
- Flavonoides

3.2.2 VARIABLE 2:

Actividad Antioxidante: *Equisetum arvense* L. “COLA DE CABALLO”

- A. Definición Conceptual: Medida de los efectos de un compuesto antioxidante y se puede usar productos intermedios o finales para valorar su actividad.
- B. Definición Operacional: Se consideraron dos dimensiones que son:
- DPPH
 - ABTS

CAPITULO IV

METODOLOGÍA

4.1 MÉTODO DE INVESTIGACIÓN

El estudio se enmarca en el método científico observacional, ya que se investigó en la planta *Equisetum arvense* L. “Cola de caballo” aspectos importantes que caracterizan el comportamiento de las variables sin llegar a su manipulación deliberada.

4.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN

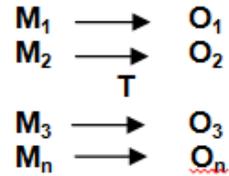
Para Rojas C.²¹ la investigación es de básico, caracterizada porque buscó recopilar datos obtenidos durante el análisis de las variables, los mismos que son presentados de forma rigurosa, organizada y sistemática; que servirán de base para el diseño de posteriores estudios de tipo aplicado.

4.3 NIVEL DE INVESTIGACIÓN

Rojas C.²¹ el trabajo de investigación propuesto corresponde al nivel descriptivo, considerando que se buscó caracterizar los fenómenos relacionados con el comportamiento de las variables sin que sean sometidas a manipulación por parte de las investigadoras.

4.4 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

La investigación correspondió a un diseño no experimental, descriptivo transversal.



Donde:

M = Muestra (Extracto hidroalcohólico)

T = Tiempo (momento de colección de muestras)

O = Observación (Efecto antimicrobiano)

4.5 POBLACIÓN Y MUESTRA

La población estuvo constituida por la producción de *E. arvense* L. “Cola de caballo” proveniente del distrito de Molinos, provincia de Jauja, debido a que se trató de una población infinita, la muestra estuvo conformada por 10 kg de cola de caballo sometido a cuatro repeticiones.

4.5.1 Criterios de inclusión

Solo se utilizaron hojas del tallo de *E. arvense* L. “Cola de Caballo” limpias. La especie empleada en el trabajo de investigación se consideró según la taxonomía certificada del museo de historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

4.5.2 Criterios de exclusión

No se consideró otras especies provenientes de otras zonas. Se descartaron los tallos de “Cola de caballo” deteriorados, con ataques microbianos u hongos.

4.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

4.6.1 Técnica de investigación (general)

Para el desarrollo de este estudio se empleó la técnica de observación, mediante la cual fue posible la recolección de muestras, análisis y registro de datos sobre las características fitoquímicas de *E. arvense* L. “Cola de caballo”.

4.6.2 Técnicas procedimentales (específicas)

La caracterización fitoquímica y actividad antioxidante fueron realizadas mediante el empleo de métodos analíticos cualitativos recomendados por la AOAC, método de espectrofotometría UV/visible y Método ABTS por espectrofotometría UV/Visible, según se detalla en la Tabla 1.

Tabla 1. Sistematización de las técnicas de recolección de datos en la investigación

Técnicas	Instrumentos	Recolección de datos
Observación directa	Ficha de observación	Cantidad de <i>E. arvense</i> L. “Cola de caballo”
Recolección de Información	Información de referencias bibliográficas en artículos científicos indexados, revistas científicas especializadas, libros que abastezca de información valiosa y detallada para enriquecer el presente.	Método de extracción; metabolitos secundarios, ácido ascórbico, fenoles, flavonoides - Contenido de ácido ascórbico, fenoles y flavonoides totales, - Determinación de la actividad antioxidante.
Métodos de extracción acuosa	Método sólido-líquido	Sistema de extracción en contra corriente por contacto en equilibrio
Análisis de perfil fitoquímico de <i>E. arvense</i> L. “Cola de caballo”	Métodos químicos cualitativos	Presencia de metabolitos secundarios
Análisis fisicoquímico de <i>E. arvense</i> L. “Cola de caballo”	Método recomendado por la AOAC	°Brix, acidez, pH; químico proximal
Análisis de ácido ascórbico, fenoles y flavonoides de <i>E. arvense</i> L. “Cola de caballo”	Método espectrofotometría UV/Visible	Contenido de ácido ascórbico, fenoles y flavonoides
Análisis de la actividad antioxidante de <i>E. arvense</i> L. “Cola de caballo”	Método ABTS por espectrofotometría UV/Visible	Actividad antioxidante

Fuente: Elaboración propia.

4.6.3 Instrumentos de recolección de datos

Se emplearon seis fichas de recolección de datos para registrar la información sobre las características fitoquímicas y actividad antioxidante de la especie vegetal bajo estudio:

- Ficha de recolección de datos del Perfil fitoquímico de extracto de Cola de caballo.
- Ficha de recolección de datos de las Características fisicoquímicas de extractos fresco y liofilizado de Cola de caballo.
- Ficha de recolección de datos de la Actividad antioxidante de los extractos de Cola de caballo.
- Ficha de recolección de datos del Contenido de vitamina en extractos fresco y liofilizado de Cola de caballo.
- Ficha de recolección de datos del Contenido de fenoles totales de extractos fresco y liofilizados de Cola de caballo.
- Ficha de recolección de datos del Contenido de flavonoides de extractos fresco y Liofilizados de Cola de caballo.

Por tratarse de instrumentos de campo, que sirvieron para almacenar y organizar los datos procedentes de los análisis de laboratorio y para su manejo exclusivo por parte de las investigadoras; dichos instrumentos no fueron sometidos a pruebas de validez o confiabilidad.

4.6.4 Procedimientos de la investigación

A. Determinación de la actividad antioxidante por ABTS*

En una celda de plástico de volumen reducido 1.5 mL se agregaron 600 μ L del radical ABTS* y se midió la absorbancia inicial a 517 nm, luego se adicionaron 200 μ L de cada extracto de “Cola de caballo” y nuevamente se midió la absorbancia cada 30 segundos durante 10 minutos, midiendo la absorbancia final a la misma longitud de onda 10 minutos después.

B. Determinación de ácido ascórbico

Método recomendado por el departamento de Agricultura de Canadá, utilizando el reactivo 2,6-diclorofenol indofenol y lecturado en un espectrofotómetro UV/visible a una longitud de onda de 520nm.

C. Determinación de fenoles totales

El método consistió en tomar en tubos de prueba 300 μL de extracto acuoso de la planta con 1000 μL del reactivo de Folin-Ciocalteu al 0,25 N y 800 μL de una solución de carbonato de sodio al 7.5% en agua destilada; aforar a 2 500 μL con agua desionizada. se agitó y dejó en reposo por 30 minutos en oscuridad, luego se realizó la lectura en el espectrofotómetro a 765nm y se expresó el contenido de fenoles totales como equivalente de ácido gálico (GAE) en mg por 100 g en b.s. de muestra.

D. Determinación de flavonoides

Método recomendado por Zhishen *et al*; se tomará una alícuota de 250 μL del extracto acuoso en polvo que se mezcla con 1000 μL de agua destilada; luego se añadió 75 μL de NaNO y se dejó reaccionar por 5 minutos. Posteriormente, 75 μL de AlCl al 10% se adicionó 500 μL de NaOH 1 M. La 3 mezcla se centrifugó a 3500 r.p.m. durante 5 minutos. Los flavonoides totales fueron expresados en mg Querc/100 g de muestra a una longitud de onda de 510 nm.

E. Determinación de sólidos solubles

Se determinaron los sólidos solubles o Brix en base a la Norma AOAC.

F. pH

Se determinó de acuerdo al método potencio métrico recomendado por la AOAC.

G. Acidez

Se determinó de acuerdo al método de titulación ácido base propuesto por la AOAC.

H. Rendimiento

Se utilizó el procedimiento gravimétrico por diferencia de pesos en función a la materia prima inicial.

I. Caracterización químico proximal de *Equisetum arvense* L. “Cola de Caballo”

Se determinó de acuerdo a los métodos oficiales establecidos por la AOAC:

- Humedad.- Método que consistió en el secado en estufa a 100 °C hasta peso constante por un tiempo de seis horas.
- Cenizas.- Se sometió a una incineración a 600 °C en el horno mufla por 3 horas y luego pesar la ceniza, liberando totalmente la materia orgánica.
- Proteína total.- Método químico de Kjeldahl que consistirá en la digestión ácida y alcalina; bajo un factor de conversión de nitrógeno a proteínas de 6,25.
- Grasa cruda.- Método gravimétrico de Soxhlet utilizando hexano como solvente por un tiempo de tres horas y sometido a evaporación y luego por diferencia calcular el contenido de grasa.
- Fibra cruda.- Método químico que consistió en la digestión ácida y alcalina a una concentración de 1,25% y posterior incineración y separación de ceniza.
- Carbohidratos totales.- Determinación por diferencia aritmética, una vez concluido la cuantificación de los demás biopolímeros.

4.7 TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

Los datos obtenidos al evaluar los extractos acuosos al 10% y 20% en relación a la actividad antioxidante, fenoles y flavonoides, para el análisis estadístico, fueron procesados en una base de datos creada en el paquete estadístico Statistical Package for Social Sciences (SPSS) versión 23.

4.8 ASPECTOS ÉTICOS DE LA INVESTIGACIÓN

El trabajo de investigación bajo los objetivos planteados tiene una tarea muy urgente como es la de recuperar y promoción su importancia de las plantas medicinales en las comunidades andinas del valle del Mantaro.

Se trata además de la conservación de la especie *Equisetum arvense* L. “Cola de caballo” como una planta medicinal componente de la biodiversidad y de su aprovechamiento como recurso terapéutico eficaz en los programas de auto cuidado y atención primaria en salud y además registrar información relevante y demostrar científicamente sus efectos terapéuticos que servirán como nuevas fuentes de medicamentos y otros beneficios para la población del mundo.

Ayudando a la protección del medio ambiente y el respeto de la biodiversidad Toda investigación debe evitar acciones lesivas a la naturaleza y a la biodiversidad, implica el respeto al conjunto de todas y cada una de las especies de seres vivos y de sus variedades, así como a la diversidad genética. Generando responsabilidad de Los investigadores, docentes, estudiantes y graduados deberán actuar con responsabilidad en relación con la pertinencia, los alcances y las repercusiones de la investigación, tanto a nivel individual e institucional, como social.

Por consiguiente, se tomó como base los aspectos señalados en los artículos 27° y 28° del Reglamento general de Investigación de la Universidad Peruana Los Andes, considerando principalmente aquellos principios como protección al medio ambiente y el respeto a la biodiversidad, responsabilidad y veracidad en relación a la procedencia de datos, alcances y consecuencias de los resultados obtenidos. También su tuvieron en cuenta las normas sobre comportamiento ético, pertinencia de la línea de investigación, rigor científico y confidencialidad, dejando expresa constancia de que no existen conflictos de interés.²²

CAPITULO V

RESULTADOS

5.1 DESCRIPCION DE RESULTADOS

5.1.1 Perfil fitoquímico de *E. arvense* L. “Cola de caballo”

En la Tabla 2, se muestran los resultados de la identificación de metabolitos secundarios (componentes fitoquímicos) en el extracto hidroalcohólico y acuoso de cola de caballo, determinado según las metodologías estandarizados para desarrollar el perfil fitoquímico de extractos de plantas.

En las Tablas 3 y 4 se muestran los resultados del contenido de humedad determinado según la metodología AOAC evaluadas por triplicado.

Tabla 2. Perfil fitoquímico de extractos hidroalcohólicos y acuoso de hojas de *Equisetum arvense* L. “Cola de caballo”

Fitoquímico	Reacción	Extractos	
		Hidroalcohólico	Acuoso
Azúcares reductores	Fehling	-	+
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	++	++
Taninos	Gelatina	+	-
Flavonoides	Shinoda	++	++
Antocianinas y flavonoides catéquicos	Rosenheim	-	-
Aminoácidos	Ninhidrina (0.1% en etanol)	-	-
Triterpenos y/o esteroides	Lieberman- Burchard	-	+
Alcaloides	Dragendorff	-	-
Glicósidos	Baljet	++	-
Cumarinas	NH ₄ OH ó NaOH 10%	-	-
Glucósidos de saponina	Espuma	-	-

Fuente: Elaboración propia

Resultados según intensidad (+) baja evidencia (++) evidencia moderada (-) negativo (+++) alta evidencia

Tabla 3. Valores del contenido de humedad de las hojas y tallos de *Equisetum arvense*

L. “Cola de caballo” fresco

Muestras	R1	R2	R3
1	77.24	76.41	75.28
2	76.62	75.49	77.58
3	73.69	76.84	77.31
4	75.83	77.38	76.47
5	75.93	78.54	77.36
Promedio	75.86	76.93	76.8
Desviación Estándar	1.34	1.01	0.85
Coefficiente de Var.	1.77	1.32	1.11

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4. Contenido de materia seca de hojas y tallos de *Equisetum arvense* L. “Cola de caballo” fresco

Muestras	R1	R2	R3
1	6.76	7.74	7.43
2	7.23	6.89	7.47
3	7.45	6.45	6.78
4	7.37	7.86	7.98
5	6.74	7.36	7.81
Promedio	7.11	7.26	7.49
Desviación Estándar	0.34	0.59	0.46
Coefficiente de Var.	4.75	8.13	6.15

Fuente: Elaboración propia

5.1.2 Parámetros de obtención del extracto acuoso en polvo

En la tabla 5 Se reportan los resultados evaluados de las características fisicoquímicas de extractos de cola de caballo en base a la metodología AOAC, tomando con referencia muestras por triplicado y un promedio final.

Tabla 5. Características fisicoquímicas de extractos fresco y liofilizado de hojas de *Equisetum arvense* L. “Cola de Caballo”

Unidad experimental	Fresco		Liofilizado	
	Media	Desv. St.	Media	Desv. St.
ACIDEZ en % (expresado en ácido succínico)				
Extracto 10% fresco	0.12	0.01	0.13	0.01
Extracto 20% fresco	0.13	0.02	0.16	0.02
pH a 20°C				
Extracto 10% fresco	5.32	0.13	5.63	0.92
Extracto 20% fresco	5.34	0.04	5.53	0.14
Brix a 20°C				
Extracto 10% fresco	2.17	0.49	3.26	0.82
Extracto 20% fresco	2.7	0.1	4.31	0.61

Fuente: Elaboración propia

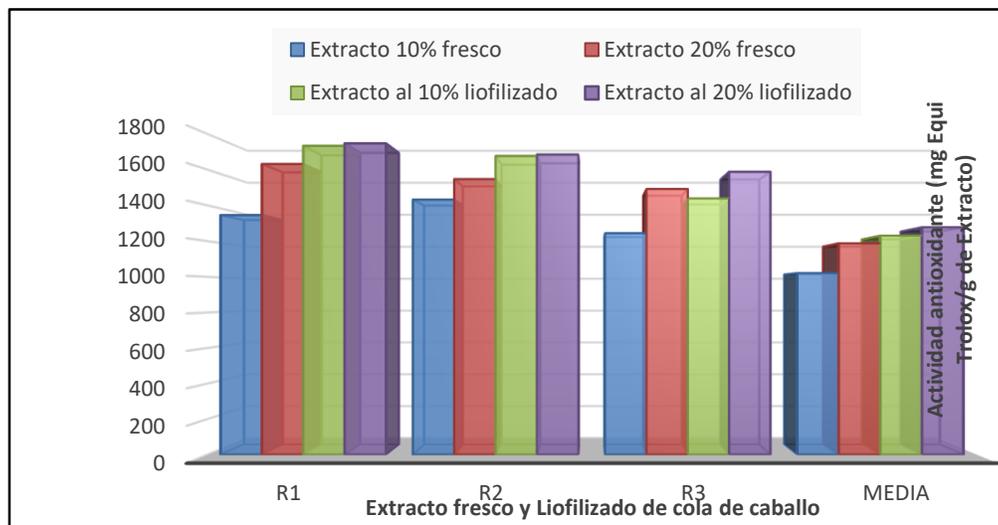
5.1.3 Determinación de la actividad antioxidante del extracto acuoso en polvo por el método ABTS

En la Tabla 6 y la Figura 1 se presentan los resultados de la evaluación de la actividad antioxidante de los extractos fresco y liofilizado de cola de caballo determinado en función a metodologías estandarizados para extractos de plantas vegetales.

Tabla 6. Actividad antioxidante de extractos de hojas de *Equisetum arvense* L. “Cola de Caballo”

Muestra	mg de ET/g de muestra				
	R1	R2	R3	Media	Dstand
Extracto 10% fresco	1345.56	1432.12	1243.81	1021.03	643.55
Extracto 20% fresco	1631.23	1546.72	1491.44	1187.48	871.93
Extracto al 10% liofilizado	1732.64	1676.17	1438.52	1230.25	781.51
Extracto al 20% liofilizado	1746.82	1684.26	1587.49	1277.03	794.37

Fuente: Elaboración propia



Fuente: Datos de la Tabla 6

Figura 1. Histograma de la Variación de la Actividad Antioxidante de extractos fresco y liofilizado de Cola de caballo

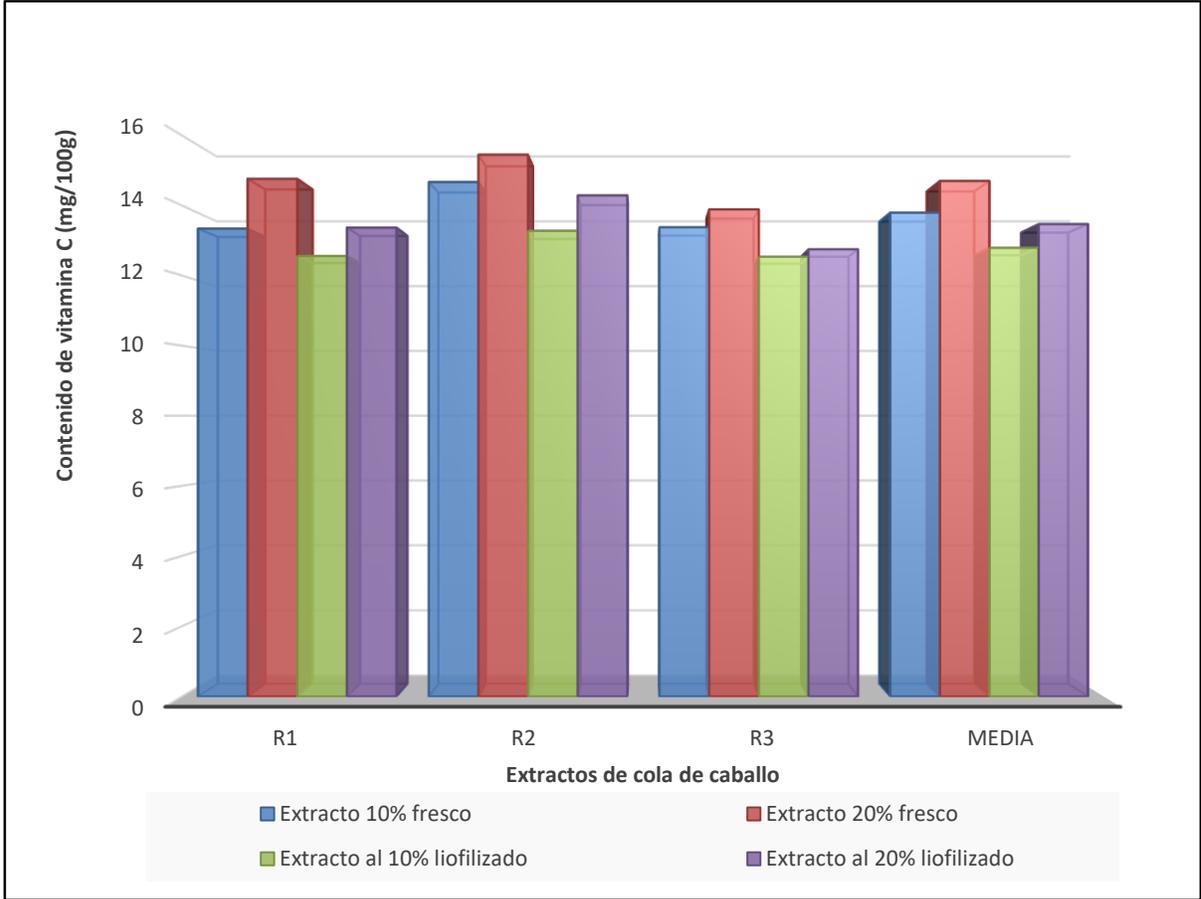
5.1.4 Contenido de ácido ascórbico, fenoles y flavonoides en el extracto acuoso en polvo de *E. arvense* L. “Cola de caballo” por el método de espectrofotometría UV/Visible

En la Tabla 7 y la Figura 2 se presentan los resultados de la evaluación de la vitamina C de los extractos fresco y liofilizado de hojas de *E. arvense* L. “Cola de caballo” determinado en función a metodologías estandarizados para extractos de plantas vegetales.

Tabla 7. Contenido de vitamina C en extractos fresco y liofilizado de hojas de *Equisetum arvense* L. “Cola de Caballo”

Muestra	Contenido en mg ácido ascórbico /100 g de Extracto				
	R1	R2	R3	Media	DesvSt
Extracto 10% fresco	13.34	14.67	13.38	13.8	0.76
Extracto 20% fresco	14.76	15.45	13.89	14.7	0.78
Extracto al 10% liofilizado	12.56	13.28	12.54	12.79	0.42
Extracto al 20% liofilizado	13.37	14.29	12.75	13.47	0.77

Fuente: Elaboración propia



Fuente: Datos de la Tabla 7

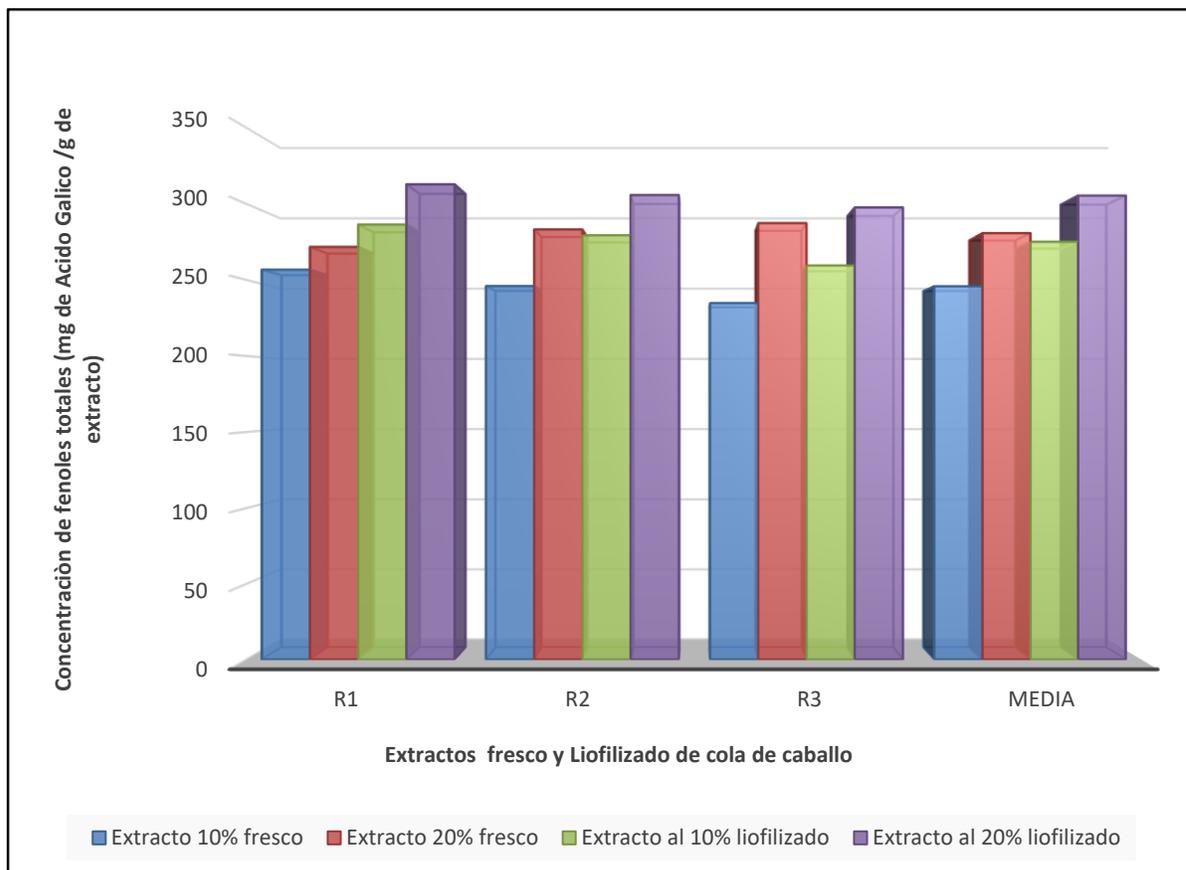
Figura 2 . Histograma de la Variación del contenido de Vitamina C de extracto fresco y liofilizado de hojas de *Equisetum arvense* L. “Cola de Caballo”

En la Tabla 8 y la Figura 3 se presentan los resultados de la evaluación de fenoles totales de los extractos fresco y liofilizado de hojas de *Equisetum arvense* L. “Cola de Caballo” determinado en función a metodologías estandarizados para extractos de plantas vegetales.

Tabla 8. Contenido de fenoles totales de extractos fresco y Liofilizados de en extractos de hojas de *Equisetum arvense* L. “Cola de Caballo”

Muestra	Concentración en mg de ácido GALICO / g de extracto				
	R1	R2	R3	Media	Dstand
Extracto 10% fresco	256.73	245.98	234.73	245.81	11
Extracto 20% fresco	271.65	283.12	287.28	280.68	8.09
Extracto al 10% liofilizado	286.34	279.33	259.45	275.04	13.95
Extracto al 20% liofilizado	312.78	305.76	297.56	305.37	7.62

Fuente: Elaboración propia



Fuente: Datos de la Tabla 8

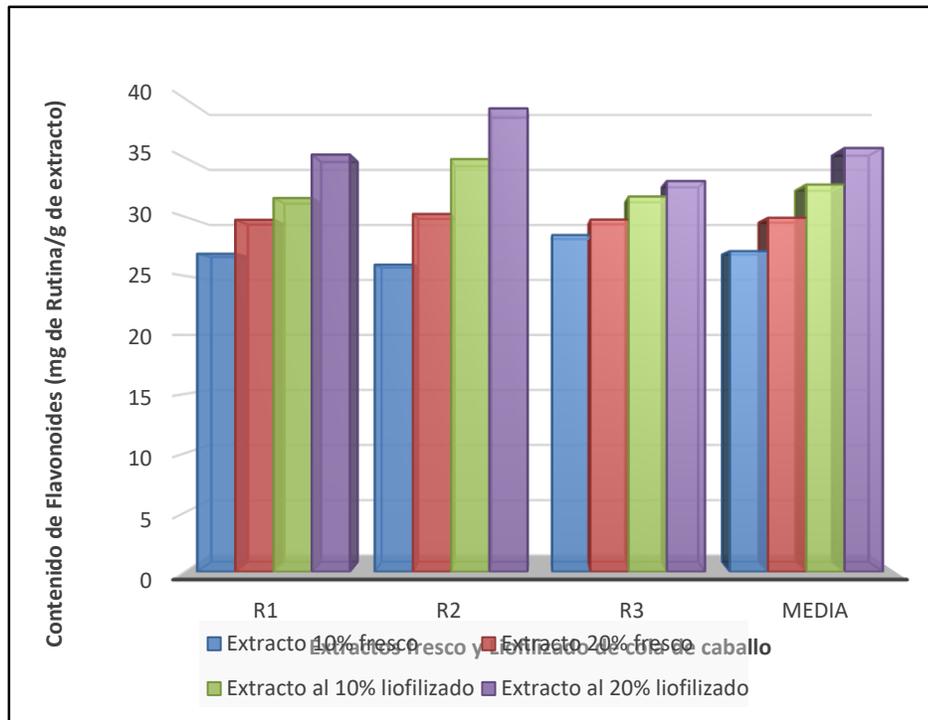
Figura 3. Histograma de la variación del contenido de fenoles totales de extracto fresco y liofilizado de hojas de *Equisetum arvense* L. “Cola de Caballo”

En la Tabla 9 y el Figura 4 se presenta los resultados de la evaluación de flavonoides de los extractos fresco y liofilizado de hojas de *Equisetum arvense* L. “Cola de Caballo” determinado en función a metodologías estandarizados para extractos de plantas vegetales.

Tabla 9. Contenido de Flavonoides de extractos fresco y Liofilizado de hojas de *Equisetum arvense* L. “Cola de Caballo”

Muestra	Expresados en mg de RUTINA /g de extracto				
	R1	R2	R3	Media	Dstand
Extracto 10% fresco	26.87	25.94	28.45	27.09	1.27
Extracto 20% fresco	29.74	30.23	29.76	29.91	0.28
Extracto al 10% liofilizado	31.58	34.88	31.71	32.72	1.87
Extracto al 20% liofilizado	35.26	39.17	33.02	35.82	3.11

Fuente: Elaboración propia



Fuente: Datos de la Tabla 9

Figura 4. Histograma de la variación del contenido de Flavonoides de extracto fresco y liofilizado de hojas de *Equisetum arvense* L. “Cola de caballo”

ANALISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Sobre la investigación del potencial biológico y farmacológico que posee *E. arvense* L. “Cola de caballo” se evidencia baja presencia acuosa de azúcares reductores, una moderada evidencia acuosa de compuestos fenólicos los cuales contienen antioxidantes y demostraron tener un efecto protector frente a las enfermedades cardiovasculares. También contiene taninos, aunque con una baja evidencia hidroalcohólica, estas cumplen una función antiinflamatoria y cicatrizante. A diferencia de otras especies presenta una moderada evidencia hidroalcohólica y acuosa de flavonoides protegiendo así el organismo humano del daño que causan los agentes oxidantes como los rayos ultravioletas, sustancias químicas que se encuentran presentes en los alimentos, etc. Además, los glucósidos encontrados en “Cola de caballo” tienen una acción farmacológica a nivel del sistema cardiovascular y a nivel del aparato digestivo.

Lock O.²³ según investigaciones referentes al análisis fitoquímico indica constituyentes en las ramas laterales de *E. giganteum* L. “cola de caballo”, bajo la extracción que se utilizó según el nivel de polaridad creciente: diclorometano, etanol, agua acida y agua.

Perera W. *et al.*²⁴ por otro lado, en otra investigación obtuvieron extractos utilizando del diclorometano que permitió identificar metabolitos secundarios de muy baja polaridad como, esteroides, triterpenos, quinonas, en dicho extracto con diclorometano se identificó esteroides con el ensayo de Liebermann-Burchard, al presentar una coloración verde azulado.

Sin embargo, en los extractos etanólicos realizados por Ricco R. *et al.*²⁵ se identificó flavonoides, fenoles, taninos y aminoácidos. Mediante la prueba de la cianidina se detectó a los flavonoides que gracias a este metabolito secundario la gran mayoría de plantas presentan propiedades fitoactivas como antioxidantes, antiinflamatorio, antialérgico. Según la prueba del cloruro férrico indica presencia positiva de componentes fenólicos y taninos, en la investigación dio una coloración azul-negruzca lo que corrobora la presencia de taninos hidrolizables. Por último, la prueba de Ninhidrina, para identificar presencia de aminoácidos, dando una reacción de una sustancia coloreada púrpura característico.

Guaycha N. *et al.*²⁶, así como Abreu J. y Miranda M.²⁷ emplearon la extracción acuosa que coadyuvó a la identificación de alcaloides en forma de sal, con ausencia de alcaloides en las ramas laterales de *E. giganteum* L. También en los extractos acuosos se identificaron componentes fenólicos, flavonoides bajo la estructura de heterósidos; azúcares reductores presencia positiva gracias a la prueba de Fehling, considerando que todos los azúcares tienen propiedades polares, evidenciándose un color rojo-ladrillo, siendo resultados similares en la presente investigación.

E. arvense L., en la Tabla 3 muestra un importante contenido de humedad promedio de 76,53%, con una desviación estándar ± 1.07 y un coeficiente de variación de 1,40%, dejando en evidencia el alto contenido de humedad que posee la “Cola de caballo”. Por otro lado, las muestras evaluadas de la misma planta deshidratada, en la Tabla 3, muestran una humedad promedio de 7,29% con una desviación estándar ± 0.46 y un coeficiente de variación de 6,34%.

Sin embargo, los resultados difieren con el estudio de la composición química de las hojas de cola de caballo, desarrollado por Luque C.²⁸ donde reportaron un contenido de humedad de 79,2%; proteínas 0,25%; grasa de 0,16%, cenizas totales de 6,7% y fibra cruda de 3,08% respectivamente. Además, indica que la cuantificación de cenizas totales es un punto crítico para evaluar la calidad de las hierbas medicinales.

En la Tabla 4 se muestra la variación de las características fisicoquímicas de *E. arvense* L. “Cola de caballo” en extracto fresco al 10% con un promedio de 0,12% de acidez con una desviación estándar de ± 0.01 , liofilizado con un promedio de 0,13% de acidez con una desviación estándar de ± 0.01 y en extracto fresco al 20% con un promedio de 0,13% de acidez con una desviación estándar del 0,02 y liofilizado con un promedio de 0,13% de acidez con una desviación estándar de ± 0.02 bajo tres repeticiones.

De igual importancia, un promedio de potencial hidrogenionico (pH) a 20°C de 5,32% en extracto fresco al 10% con una desviación estándar de ± 0.13 , liofilizado con un promedio de 5,63% con una variación estándar de ± 0.92 y en extracto fresco al 20% con un promedio de 5,34% con una desviación estándar de ± 0.04 , liofilizado con un promedio de 5,53% con una desviación estándar de ± 0.14 bajo tres repeticiones. Por último, el contenido de azúcares solubles (°Brix a 20°C) con un promedio de 2,17% en extracto fresco al 10% con una desviación estándar de ± 0.49 , liofilizado con un promedio de 3,26% con una desviación estándar de ± 0.82 y en extracto fresco al 20% con un promedio de 2.7% con una variación estándar de ± 0.1 , liofilizado 4,31% con una desviación estándar de ± 0.61 bajo tres repeticiones. Los resultados obtenidos son diferentes a los reportado por Tona L. *et al.*²⁹

Los resultados indica que el extracto al 10% y 20% estado fresco presenta en promedio de 1340.4967 mg \pm 177.3067 de ET/g de muestra y 1556.4633 mg \pm 193.2395 de ET/g de muestra; mientras los extractos liofilizado al 10% y 20% presentaron 1615.7766 mg \pm 231.0825 y 1672.8566 mg \pm 208.4843 de ET/g de muestra respectivamente.

Estos resultados difieren con las investigaciones de Ricco R. *et al.*⁵ donde reportaron que los extractos obtenidos a partir de las ramas laterales (tallos finos) presentaron una actividad antioxidante de 772 \pm 31 μ mol Trolox/mL, en los tallos entrenudos y tallos basales se detectaron valores de 275 \pm 49 μ mol Trolox/ml y 158 \pm 25 μ mol Trolox/mL, respectivamente.

Bors W. y Michel C.³⁰ llegaron a la conclusión que los taninos condensados (proantocianidinas), flavonoides y derivados hidroxicinámicos, definen a los extractos con alto contenido de polifenoles como agente antioxidante. Por lo que las especies de *E. giganteum*, *E. arvense*, *E. ramosissimum* Desf. y *E. telmateia* Ehrh.

Stajner D. et al.³¹ encontraron elevada actividad antioxidante. Considerando estas referencias, los resultados obtenidos en la investigación evidencian que la especie *E. arvense* L. “Cola de Caballo” presenta una alta actividad antioxidante.

E. arvense L. “Cola de caballo”, según el método recomendado por el departamento de Agricultura de Canadá, utilizando el reactivo 2,6-diclorofenol indofenol, y lecturado en un espectrofotómetro UV/visible a una longitud de onda de 520nm. En la Tabla 7 se muestra el contenido de vitamina C en los resultados del análisis del extracto fresco en la muestra R2 tiene un 15.45 y el extracto liofilizado de la muestra R2 tiene un 14.29 eso indica que el extracto fresco está ligeramente un poco más que el otro.

Los resultados correspondientes en la Tabla 8 muestran el análisis que corresponde a fenoles totales de “Cola de caballo”. El método consistió en tomar en tubos de prueba 300 µL de extracto acuoso de la planta con 1000 µL del reactivo de Folin-Ciocalteau al 0,25 N y 800µL de una solución de carbonato de sodio al 7.5% en agua destilada; aforar a 2 500µL con agua desionizada, agitar y dejar en reposo por 30 minutos en oscuridad y tomar la lectura en el espectrofotómetro a 765nm y se expresó el contenido de fenoles totales como equivalente de ácido gálico (GAE) en mg por 100 g en b.s. de muestra.

El porcentaje del extracto fresco en la muestra R3 tiene 287.28 y el extracto liofilizado en la muestra R2 tiene un 305.76 lo cual indica que el extracto liofilizado es ligeramente mayor que la otra muestra.

Enciso J. *et al.*¹⁴ indican que los extractos hidroalcohólicos son las que presentaron mayor contenido de fenoles en hojas de cola de caballo de 0,64 g ácido gálico/100 g de peso seco de extractos, dicho valor es diferente a lo determinado en la investigación, probablemente se debe a la especie, tipo de solvente y origen de la planta.

En estudios anteriores se determinarían altos contenido de fenoles totales de $17,62 \pm 2,10$ mg ácido tánico/g material seco de *E. giganteum* para los tallos entrenudos y basales, respectivamente (Ricco R. *et al.*⁵). Estos valores difieren a lo obtenido en la investigación considerando que es una especie diferente al que se produce en nuestra región.

Según Enciso J. *et al.*¹⁴ los flavonoides totales son expresados en mg Querc/100 g de muestra a una longitud de onda de 510 nm. De lo expuesto, en la Tabla 9 se observa los resultados del contenido de flavonoides de “Cola de caballo” en extracto fresco de la muestra R2 con 30.23 y el extracto liofilizado de la muestra R1 tiene un 35.26 lo cual indica que el extracto liofilizado tiene un mayor porcentaje que el otro. Sin embargo, existen otros reportes donde indica que el contenido de flavonoides en extractos hidroalcohólicos de cola de caballo es de 11,1 mg de catequina por cada 100g de peso seco.

Winkel-Shirley T. *et al.*³² indican que la gran mayoría de los metabolitos secundarios evaluados presentan concentraciones en mayor cantidad especialmente en ramas laterales, tallos entrenudos y tallos basales respectivamente. Estas diferencias se deben a una mayor complejidad biosintética en las ramas laterales. Ya que a partir de los componentes flavan-3,4-dioles leucocianidina y leucopelargonidina y de los flavan-3-oles catequina, epicatequina y afzelequina se sintetizarán las proantocianidinas.

El contenido de flavonoides en ramas laterales $24,37 \pm 2,65$ mg rutina/g de material seco; en tallos entrenudos de $11,50 \pm 1,50$ mg rutina/g de material seco y de tallos basales de $8,90 \pm 0,30$ mg rutina/g de material seco respectivamente Ricco R. *et al.*⁵. Estos valores difieren significativamente de los determinados en la investigación.

CONCLUSIONES

1. En los extractos acuosos de *E. arvense* L. “Cola de caballo” en estado fresco la actividad antioxidante promedio al 10% fue de 1340.4967 mg±177.3067 de ET/g de muestra y al 20% fue de 1556.4633 mg±193.2395 de ET/g de muestra. En los extractos liofilizados al 10% fue de 1615.7766 mg±231.0825 y al 20% fue de 1672.8566 mg±208.4843 de ET/g de muestra. Los extractos liofilizados al 10 y 20% presentan mayor capacidad antioxidante en comparación a los extractos acuosos en estado fresco.
2. En los extractos acuosos de *E. arvense* L. “Cola de caballo” en estado fresco el contenido promedio de vitamina C al 10% fue de 13,8 mg±0,76 de ácido ascórbico/100g de muestra y al 20% fue de 14,7 mg±0,78 de ácido ascórbico/100g de muestra. En los extractos liofilizados al 10% fue de 12.79 mg±0,42 de ácido ascórbico/100g de muestra y al 20% fue de 13.47 mg ± 0.77 de ácido ascórbico/100g de muestra. Los extractos liofilizados al 10 y 20% presentan valores similares en vitamina C comparado a los extractos acuosos en estado fresco.
3. En los extractos acuosos de *E. arvense* L. “Cola de caballo” en estado fresco la concentración promedio de polifenoles al 10% fue de 245.81mg ±11 de ácido gálico/g de muestra y al 20% fue de 280,68 mg±8,09 de ácido gálico/g de muestra. En los extractos liofilizados al 10% fue de 275.04 mg±13,95 de ácido gálico/g de muestra y

al 20% fue de $305.37\text{mg}\pm 7.62$ de ácido gálico/g de muestra. Los extractos acuosos al 10 y 20% liofilizados presentan valores relativamente altos en fenoles totales comparados a los extractos acuosos en estado fresco, por lo que tienen una relación directa con el incremento de la capacidad antioxidante.

4. En los extractos acuosos de *E. arvense* L. “Cola de caballo” en estado fresco la concentración promedio de flavonoides al 10% fue de $27.09\text{mg}\pm 1.27$ de rutina/g de muestra y al 20% fue de $29,91\text{ mg}\pm 0,28$ de rutina/g de muestra. En los extractos liofilizados al 10% fue de $32.72\text{ mg}\pm 1,87$ de rutina/g de muestra y al 20% fue de $35.82\text{mg}\pm 3.11$ de rutina/g de muestra. Los extractos acuosos al 10 y 20% liofilizados presentan valores relativamente mayores en flavonoides comparados a los extractos acuosos en estado fresco, por lo que tienen una relación directa con el incremento de la capacidad antioxidante.
5. Existe relación directa entre la concentración de antioxidantes como vitamina C, fenoles totales y flavonoides en los extractos acuosos al 10% y 20% en estado fresco y liofilizado y la capacidad antioxidante; a medida que se incrementa la concentración proporcionalmente se incrementa la capacidad antioxidante de los extractos evaluados en *E. arvense* L. “Cola de Caballo”, por lo que se convierte en un recurso vegetal con mucha potencialidad para uso preventivo de diversas enfermedades degenerativas no transmisibles en la población de la región central.

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda la divulgación de los estudios realizados del presente trabajo de investigación, en forma de artículo científico en revistas indexadas relacionadas al tema, presentación en coloquios y congresos científicos.
2. Se recomienda realizar estudios con métodos diferentes de extracción con la finalidad de hacer las comparaciones de la actividad antioxidante en relación al contenido de vitamina C, fenoles y flavonoides.
3. Proponer investigaciones sobre la actividad antioxidante presente en *Equisetum arvense* L. “Cola de Caballo”, para demostrar la utilidad y eficacia en el organismo como solución a los problemas de sobrepeso.
4. Se recomienda realizar estudios de encapsulados de extractos acuosos a partir de “Cola de caballo” con la finalidad de proponer nuevas formas de aprovechamiento de esta planta medicinal.
5. Realizar estudios comparativos de las propiedades fitoquímicas de “Cola de caballo” en relación al origen y especie producidas en la región central del Perú.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Nunes R, Pasko P, Tyszka-Czochara M, Szewczyk A, Szlosarczyk M & Carvalho I. Antibacterial, antioxidant and anti-proliferative properties and zinc content of five south Portugal. herbs. *Pharmaceutical Biology*, 2017; 55(1):114–123
2. Rivera E, Ocampo Y, Castro J, Barrios L, Diaz F, Franco A. Screening of plants used in Colombian traditional medicine revealed the anti-inflammatory potential of *Physalis angulata* calyces. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2018; 19(1):43-54
3. Adaramola A, Onigbinde O, Shokunbi. Physiochemical properties and antioxidant potential of *Persea americana* seed oil. *Chemistry International*. 2016; 2(3):168-175.
4. Paredes E. Determinación de la actividad antioxidante de cuatro plantas nativas del Ecuador. Quito: Universidad Central del Ecuador; 2018.
5. Ricco R, Agudelo I, Garces M, Evelson P, Marcelo L, Wagner L, Alberto A. Gurni A, Polifenoles y actividad antioxidante en *Equisetum giganteum* L. (Equisetaceae). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 2017; 10 (4):325–332.

6. Hernández E, Aguilar A, Aguilar L, Román R, Chávez A, García M, *et al.* Studies on hypoglycemic activity of Mexican medicinal plants. *Proc West* 2018; 45:118-24
7. Carmignan F, Matias R., Carollo, A, Dourado, D, Fermiano H, and Bastos O. Efficacy of application of *Equisetum pyramidale* Goldm. hydrogel for tissue restoration of induced skin lesions in Wistar rats. *Braz. J. Biol.* 2020;80(1):12-22
8. Álvarez P, Masferrer J, Eneriz A, De Araoz D. Hipopotasemia extrema por cola de caballo. Servicio de Medicina Interna. Hospital Comarcal de Valdeorras. (2016); *Galicia Clin* 2016; 71 (2): 56-58
9. Alavarce R, Saldanha L, Almeida N, Porto V, Dokkedal A, Lara L. The beneficial effect of *Equisetum giganteum* L. against Candida Biofilm Formation: New Approaches to Denture Stomatitis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. The National Center for Biotechnology Information. (2015); doi: 10.1155/2015/939625.
10. Muraroto M, Barbosa F, Oliveira D, Leonardo L, Nakamura A, Ribeiro D. Preliminary evaluation of the silica and others chemical constituents of the lyophilized tea of *Equisetum arvense* and application of its biomass wastes for copper adsorption. *International Journal of Chemistry* (2018); Vol. 10, No. 3. p87.
11. Rajasekhar A, Kotha P, Chippada R. *In vitro* anti-oxidant activity and acute toxicity, of ethanol extract of root tubers of *Asparagus gonocladus*. *International Journal of Biology Research*. 2018; 3(4):52-56.
12. Pallag A, Filip G, Olteanu D, Clichici S, Baldea I, Jurca T, Micle O, Vicaş L, Marian E, Sorişău O, Cenariu M, Mureşan M. *Equisetum arvense* L. extract induces antibacterial activity and modulates oxidative stress, inflammation, and apoptosis in endothelial vascular cells exposed to hyperosmotic stress. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2018; doi:10.1155/2018/3060525.

13. Niquin L. Efecto gastroprotector de hojas de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo) en *Rattus norvegicus* var. *albinus* con úlcera inducida [Tesis]. Chimbote: Universidad Católica los Ángeles Chimbote; 2019.
14. Enciso J, Amiel J, Guija E, Fukusaki A, Reategui O, Amiel d, “et al”. Actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de cuatro plantas medicinales y estimulación de la proliferación de fibroblastos. *Rev Soc Quím.* 2010; 76(1):73-79.
15. Villafuerte M. Efecto hidratante de crema a base de (*Equisetum bogotense* y *Pyrus communis*) en piel irritada de conejos (*Oryctolagus cuniculus*) [Tesis]. Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2018.
16. Peláez Y, Pereda L. Estudio farmacognóstico de las ramas laterales de Equisetum L. “cola de caballo” proveniente del sector Chambuc provincia de Santiago de Chuco, región La Libertad [Tesis]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2018.
17. Elgorriaga A, Escapa I, Rothwell G, Tomescu A. Origin of Equisetum: Evolution of horsetails (Equisetales) within the major euphyllophyte clade Sphenopsida. *American Journal of Botany.* 2018; 105(8):DOI: 10.1002/ajb2.1125
18. Al-Snafi, A. The pharmacology of *Equisetum arvense* - A review. *IOSR Journal of Pharmacy (IOSRPHR).* 2017; 07(02):31-42.
19. Khakestani, M, Jafari S, Zahedi P, Bagheri R, Hajiaghaee R. Physical, morphological, and biological studies on PLA/nHA composite nanofibrous webs containing *Equisetum arvense* herbal extract for bone tissue engineering. *Journal of Applied Polymer Science.* 2017; 134(39):doi.org/10.1002/app.45343

20. Fenech M, Amaya I, Valpuesta V, Botella M. Vitamin C Content in Fruits: Biosynthesis and Regulation. *Front. Plant Sci.* 2019: doi.org/10.3389/fpls.2018.02006
21. Rojas C. Tipos de Investigación científica: Una simplificación de la complicada incoherente nomenclatura y clasificación REDVET. *Revista Electrónica de Veterinaria.* 2015; 16(1):1-14.
22. UPLA. Reglamento general de Investigación. Huancayo: Universidad Peruana Los Andes – Vicerrectorado de Investigación; 2019.
23. Lock O. Investigación Fitoquímica. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú; 1998.
24. Perera W, Gonzales L, Payo A. Metabolitos secundarios y actividad antimicrobiana. *Pluchea carolinensis* [internet]. 2006 [Fecha de acceso: 10 de julio del 2017]; Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0034-75152006000200007
25. Ricco R, Agudelo I, Garcés M, Evelson P, Wagner P, Gurni A. Polifenoles y actividad antioxidante en *Equisetum giganteum* L. (Equisetaceae). 2011,10 (4):325 – 332. [Fecha de acceso: 20 de agosto del 2017]. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/282769487_Polifenoles_y_actividad_antiox
idante en *Equisetum giganteum* L Equisetaceae.
26. Guaycha N, Jaramillo C, Cuenca S, Tocto J, Márquez I. Estudios farmacognósticos y toxicológicos preliminares de hojas, tallo y raíz de moringa (*Moringa oleífera* L.). 2017, 10(22):60-68. [Fecha de acceso 05 de agosto de 2018]. Disponible en:
<http://ojs.unemi.edu.ec/index.php/cienciaunemi/article/view/459/363>

27. Abreu J, Miranda M. Estudio farmacognóstico de *Bromelia pinguin* L. (piña de ratón). 2000, 34(3):181-186. [Fecha de acceso 05 de agosto de 2018]. Disponible en: https://kipdf.com/plantas-medicinales-estudio-farmacognosticode-bromelia-pinguin-l-pia-de-raton-i_5ae9b93e7f8b9a8b798b465f.html
28. Luque C. Determinación de polifenoles totales y aceptabilidad sensorial de una infusión a base de muña (*Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb.), Cola de caballo (*Equisetum arvense* L.), Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) y Saborizada con maracuyá (*Passiflora edulis*) [Tesis]. Tacna: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann; 2016.
29. Tona L, Kambu K, NNgimbi B, Cimanga K, et al. Antiamoebic and phytochemical screening of some Congolese medicinal plants, *Journal of Ethnopharmacology*. 2008. 61:57-65.
30. Bors W, Michel C. Chemistry of the antioxidant effect of polyphenols. *Ann NY Acad Sci*. 2002; 9(7):57-69.
31. Stajner D, Popović B, Canadanović-Brunet J, Boza P. 2006. Free radical scavenging activity of three *Equisetum* species from Fruska gora mountain. *Fitoterapia*. 2006; 77(7-8):601-604.77
32. Winkel-Shirley T. Biosíntesis de flavonoides: un modelo colorido de genética bioquímica, biología celular y biotecnología. *Revista. Med. Planta Physiol* 2003. 2001 jun;126(2): 485-93.doi: 10.1104/pp.126.2.485

ANEXOS

ANEXO 1

MATRIZ DE CONSISTENCIA

TITULO: ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE *Equisetum arvense* L. “COLA DE CABALLO” EN RELACION AL CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO, FENOLES Y FLAVONOIDES

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	FORMULACIÓN DE OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
<p>Problema general ¿Cuál es la actividad antioxidante y perfil fitoquímico de <i>Equisetum arvense</i> L. “Cola de caballo”?</p> <p>Problemas específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> • ¿Cuál es el perfil fitoquímico de <i>E. arvense</i> L. “Cola de caballo”? • ¿Cuáles son los parámetros de obtención de <i>E. arvense</i> L. “Cola de caballo”? • ¿Cuál es la actividad antioxidante del extracto acuoso en polvo por el método ABTS? • ¿Cuál es el contenido de ácido ascórbico, fenoles y flavonoides de <i>E. arvense</i> L. “Cola de caballo” por el método de espectrofotometría UV/Visible? 	<p>Objetivo general Determinar la actividad antioxidante y perfil fitoquímico de <i>Equisetum arvense</i> L. “Cola de caballo”.</p> <p>Objetivos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> • Caracterizar el perfil fitoquímico de <i>E. arvense</i> L. “Cola de caballo” • Identificar los parámetros de obtención del extracto acuoso en polvo. • Determinar la actividad antioxidante del extracto acuoso en polvo por el método ABTS. • Cuantificar el contenido de ácido ascórbico, fenoles y flavonoides en el extracto acuoso en polvo de <i>E. arvense</i> L. “Cola de caballo” por el método de espectrofotometría UV/Visible. 	<p style="text-align: center;">No amerita</p>	<p style="text-align: center;">Perfil fitoquímico de <i>Equisetum arvense</i> L. “cola de caballo”</p> <p style="text-align: center;">Actividad antioxidante de <i>Equisetum arvense</i> L. “cola de caballo”</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Método de investigación Científico observacional. 2. Tipo de investigación Básico. 3. Nivel de investigación Descriptivo. 4. Diseño de la investigación No experimental, descriptivo transversal. 5. Población y muestra Población constituida por la producción de <i>E. arvense</i> L. “Cola de caballo” proveniente del distrito de Molinos, provincia de Jauja, debido a que se trató de una población infinita, la muestra estuvo conformada por 10 kg de cola de caballo sometido a cuatro repeticiones. 6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos <ol style="list-style-type: none"> 6.1 Técnica de investigación (general): Observación. 6.2 Técnicas procedimentales (específicas): Métodos analíticos cualitativos recomendados por la AOAC, método de espectrofotometría UV/visible y Método ABTS por espectrofotometría UV/Visible. 6.3 Instrumentos de recolección de datos: Seis fichas de recolección de datos para registrar la información sobre las características fitoquímicas y actividad antioxidante de la especie vegetal bajo estudio. Por tratarse de instrumentos de campo, que sirvieron para almacenar y organizar los datos procedentes de los análisis de laboratorio y para su manejo exclusivo por parte de las investigadoras; dichos instrumentos no fueron sometidos a pruebas de validez o confiabilidad. 6.4 Procedimientos de la investigación <ul style="list-style-type: none"> • Determinación de la actividad antioxidante por ABTS* • Determinación de ácido ascórbico • Determinación de fenoles totales • Determinación de flavonoides • Determinación de sólidos solubles • pH • Acidez • Rendimiento • Caracterización químico proximal

				<p>7. Técnicas de procesamiento y análisis de datos Los datos obtenidos al evaluar los extractos acuosos al 10% y 20% en relación a la actividad antioxidante, fenoles y flavonoides, para el análisis estadístico, fueron procesados en una base de datos creada en el paquete estadístico Statistical Package for Social Sciences (SPSS) versión 23.</p> <p>8. Aspectos éticos de la investigación Se tomó como base los aspectos señalados en los artículos 27° y 28° del Reglamento general de Investigación de la Universidad Peruana Los Andes, considerando principalmente aquellos principios como protección al medio ambiente y el respeto a la biodiversidad, responsabilidad y veracidad en relación a la procedencia de datos, alcances y consecuencias de los resultados obtenidos. También se tuvieron en cuenta las normas sobre comportamiento ético, pertinencia de la línea de investigación, rigor científico y confidencialidad, dejando expresa constancia de que no existen conflictos de interés.</p>
--	--	--	--	---

ANEXO 2

MATRIZ DE OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLES	DIMENSIÓN	INDICADOR	ESCALA
<p align="center">VARIABLE INDEPENDIENTE</p> <p>Perfil fitoquímico de <i>Equisetum arvense</i> L. “cola de caballo”</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Ácido ascórbico • Fenoles • Flavonoides 	<p>mg de ácido ascórbico /100 g de muestra</p> <p>mg de ácido gálico/100 g muestra</p> <p>Mg de quercetina/100g muestra</p>	<p>Intervalo: Cuantitativo</p>
<p align="center">VARIABLE DEPENDIENTE</p> <p>Actividad Antioxidante: <i>Equisetum arvense</i> L. “cola de caballo”</p>	<ul style="list-style-type: none"> • DPPH • ABTS 	<p>% de Inhibición de radical mg TROLOX/100 g de muestra</p>	<p>Intervalo: Cuantitativo</p>

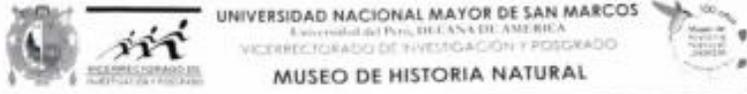
ANEXO 3

MATRIZ DE OPERACIONALIZACIÓN DE INSTRUMENTOS

DIMESIÓN	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	INDICADORES	ITEM	INDICE
Características fisicoquímicas y bromatológicas	Método que determina los componentes del extracto acuoso de cola de caballo.	-Acidez (%) -Humedad (%)	-Ac. Predominante -Pérdida de peso	Ac. Cítrico 60-95%
Actividad antioxidante total	Determinación de la capacidad antioxidante del extracto acuoso de cola de caballo.	-Capacidad antioxidante	% de Inhibición de radical DPPH	Radical libre
Concentración de vitaminas C	Determinación del contenido de vitamina C en extracto acuoso de cola de caballo.	Vitamina C	mg de ácido ascórbico /100 g de muestra	Ácido ascórbico
Concentración de polifenoles totales	Determinación del contenido de polifenoles totales del extracto acuoso de cola de caballo.	Polifenoles totales	mg de ácido gálico/100 g muestra	3 a más subunidades fenólicas
Concentración de flavonoides	Determinación del contenido de flavonoides en extracto acuoso de cola de caballo.	Quercetina	Mg de quercetina/100g muestra	quercetina

ANEXO 4

IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LA ESPECIE VEGETAL



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

"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

CONSTANCIA N° 227-USM-2019

EL JEFE 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 **Janira Keyko Perez Esteban e Ivon Yamelit Pacheco Adriano**; de la Universidad Peruana Los Andes, ha sido estudiada y clasificada como: ***Equisetum bogotense*** Kunth; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de -PPG (2016):

DIVISION: EMBRYOPHYTA
CLASE: POLYPODIOPSIDA
SUBCLASE: EQUISETIDAE
ORDEN: EQUISETALES
FAMILIA: EQUISETACEAE
GENERO: Equisetum
ESPECIE: *Equisetum bogotense* Kunth

Nombre vulgar: "Cola de caballo"
Determinado por: Dra. Blanca León

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



Lima, 17 de julio de 2019



Mg. Asunción Cano Echevarría
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

Av. Armadillo 1256, Jesús María
Apto. 14-6434, Lima 14, Perú

Teléfono
619-7980 extos 5701, 5703, 5704

E-mail: masamba@usm.mil.pe
<http://museo.his.usm.mil.pe>

ANEXO 5

FICHAS DE RECOLECCION DE DATOS

Ficha de recolección de datos del perfil fitoquímico de extracto de Cola de Caballo

Fitoquímico	Reacción	Resultado	
		Hidroalcohólico	Acuoso
Azúcares reductores	Fehling		
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico		
Taninos	Gelatina		
Flavonoides	Shinoda		
Antocianinas y flavonoides catéquicos	Rosenheim		
Aminoácidos	Ninhidrina (0.1% en etanol)		
Triterpenos y/o esteroides	Lieberman- Burchard		
Alcaloides	Dragendorff		
Glicósidos	Baljet		
Cumarinas	NH ₄ OH ó NaOH 10%		
Glucósidos de saponina	Espuma		

Ficha de recolección de las características fisicoquímicas de extractos fresco y liofilizado de Cola de Caballo

ACIDEZ en % (expresado en ácido succínico)	fresco					liofilizado					
	Muestra	R1	R2	R3	Media	DesvSt	R1	R2	R3	Media	DesvSt
Extracto 10% fresco											
Extracto 20% fresco											
pH a 20°C											
Extracto 10% fresco											
Extracto 20% fresco											
brix a 20°C											
Extracto 10% fresco											
Extracto 20% fresco											

Ficha de recolección de datos de la actividad antioxidante de los extractos de Cola de Caballo

Muestra	mg de ET/g de muestra				
	R1	R2	R3	Media	Dstand
Extracto 10% fresco					
Extracto 20% fresco					
Extracto al 10% liofilizado					
Extracto al 20% liofilizado					

Ficha de recolección de datos del contenido de vitamina en extractos fresco y Liofilizado de Cola de Caballo

Muestra	Contenido en mg ácido ascórbico /100 g de Extracto				
	R1	R2	R3	Media	DesvSt
Extracto 10% fresco					
Extracto 20% fresco					
Extracto al 10% liofilizado					
Extracto al 20% liofilizado					

Ficha de recolección de datos del contenido de fenoles totales de extractos fresco y Liofilizados de Cola de Caballo

Muestra	Concentración en mg de ácido GALICO / g de extracto				
	R1	R2	R3	Media	Dstand
Extracto 10% fresco					
Extracto 20% fresco					
Extracto al 10% liofilizado					
Extracto al 20% liofilizado					

Ficha de recolección de datos del contenido de Flavonoides de extractos fresco y Liofilizado de Cola de Caballo

Muestra	Expresados en mg de RUTINA /g de extracto				
	R1	R2	R3	Media	Dstand
Extracto 10% fresco					
Extracto 20% fresco					
Extracto al 10% liofilizado					
Extracto al 20% liofilizado					

ANEXO 6

DATA DE PROCESAMIENTO DE DATOS

Fitoquímico	Reacción	Resultado	
		Hidroalcohólico	Acuoso
Azucares reductores	Fehling	-	+
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	++	++
Taninos	Gelatina	+	-
Flavonoides	Shinoda	++	++
Antocianinas y flavonoides catéquicos	Rosenheim	-	-
Aminoácidos	Ninhidrina (0.1% en etanol)	-	-
Triterpenos y/o esteroides	Lieberman-Burchard	-	+
Alcaloides	Dragendorff	-	-
Glicósidos	Baljet	++	-
Cumarinas	NH ₄ OH ó NaOH 10%	-	-
Glucósidos de saponina	Espuma	-	-
Muestras	R1	R2	R3
1	77.24	76.41	75.28
2	76.62	75.49	77.58
3	73.69	76.84	77.31
4	75.83	77.38	76.47
5	75.93	78.54	77.36
Promedio	75.86	76.93	76.8
Desviación Estándar	1.34	1.01	0.85
Coefficiente de Var.	1.77	1.32	1.11

Muestras	R1	R2	R3	
1	6.76	7.74	7.43	
2	7.23	6.89	7.47	
3	7.45	6.45	6.78	
4	7.37	7.86	7.98	
5	6.74	7.36	7.81	
Promedio	7.11	7.26	7.49	
Desviación Estándar	0.34	0.59	0.46	
Coficiente de Var.	4.75	8.13	6.15	
Unidad experimental	Fresco		liofilizado	
ACIDEZ en % (expresado en ácido succínico)				
	Media	DesvSt	Media	DesvSt
Extracto 10% fresco	0.12	0.01	0.13	0.01
Extracto 20% fresco	0.13	0.02	0.16	0.02
pH a 20°C				
Extracto 10% fresco	5.32	0.13	5.63	0.92
Extracto 20% fresco	5.34	0.04	5.53	0.14
Brix a 20°C				

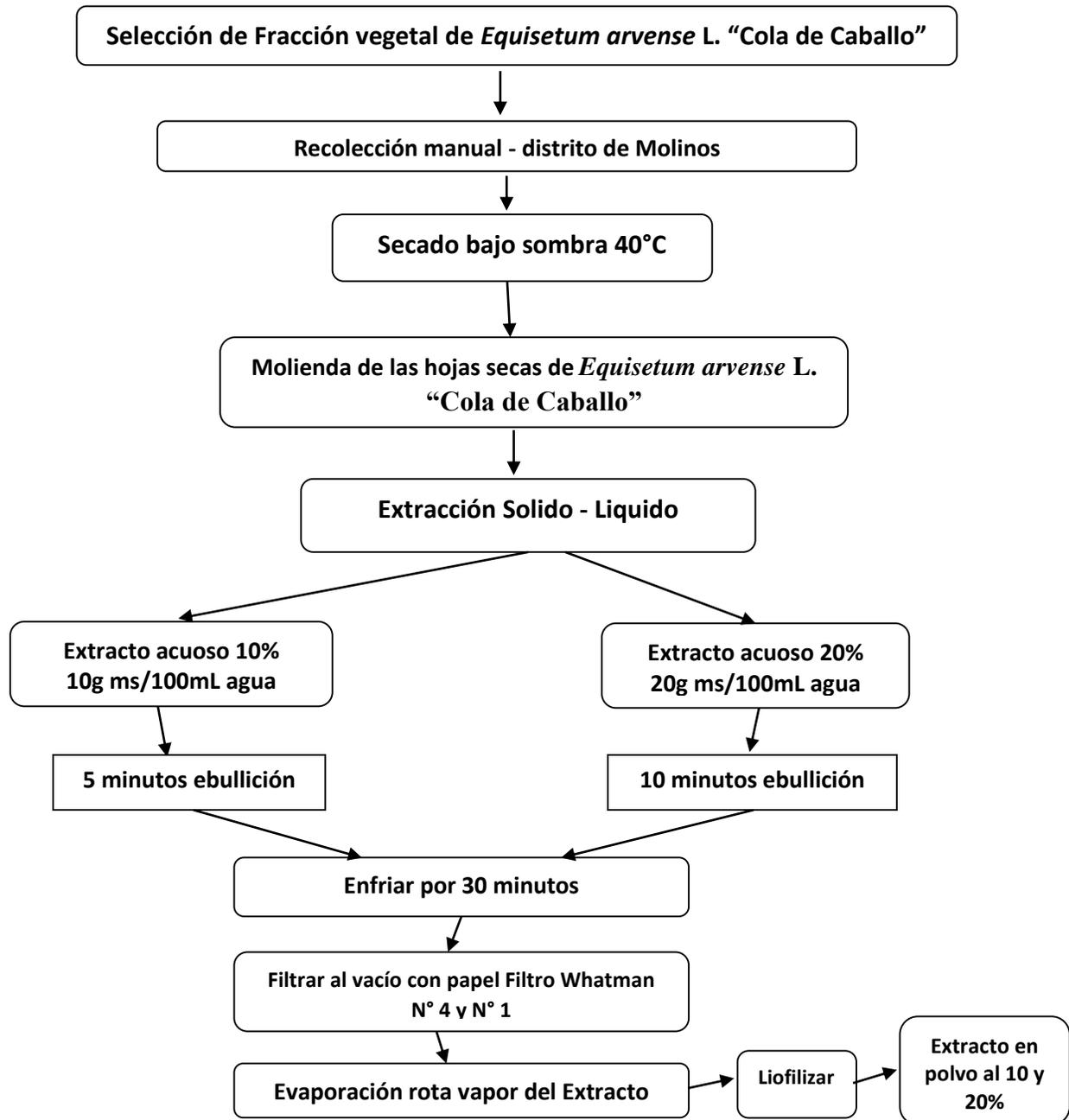
Extracto 10% fresco	2.17	0.49	3.26	0.82	
Extracto 20% fresco	2.7	0.1	4.31	0.61	
Muestra	mg de ET/g de muestra				
	R1	R2	R3	Media	Dstand
Extracto 10% fresco	1345.56	1432.12	1243.81	1021.03	643.55
Extracto 20% fresco	1631.23	1546.72	1491.44	1187.48	871.93
Extracto al 10% liofilizado	1732.64	1676.17	1438.52	1230.25	781.51
Extracto al 20% liofilizado	1746.82	1684.26	1587.49	1277.03	794.37

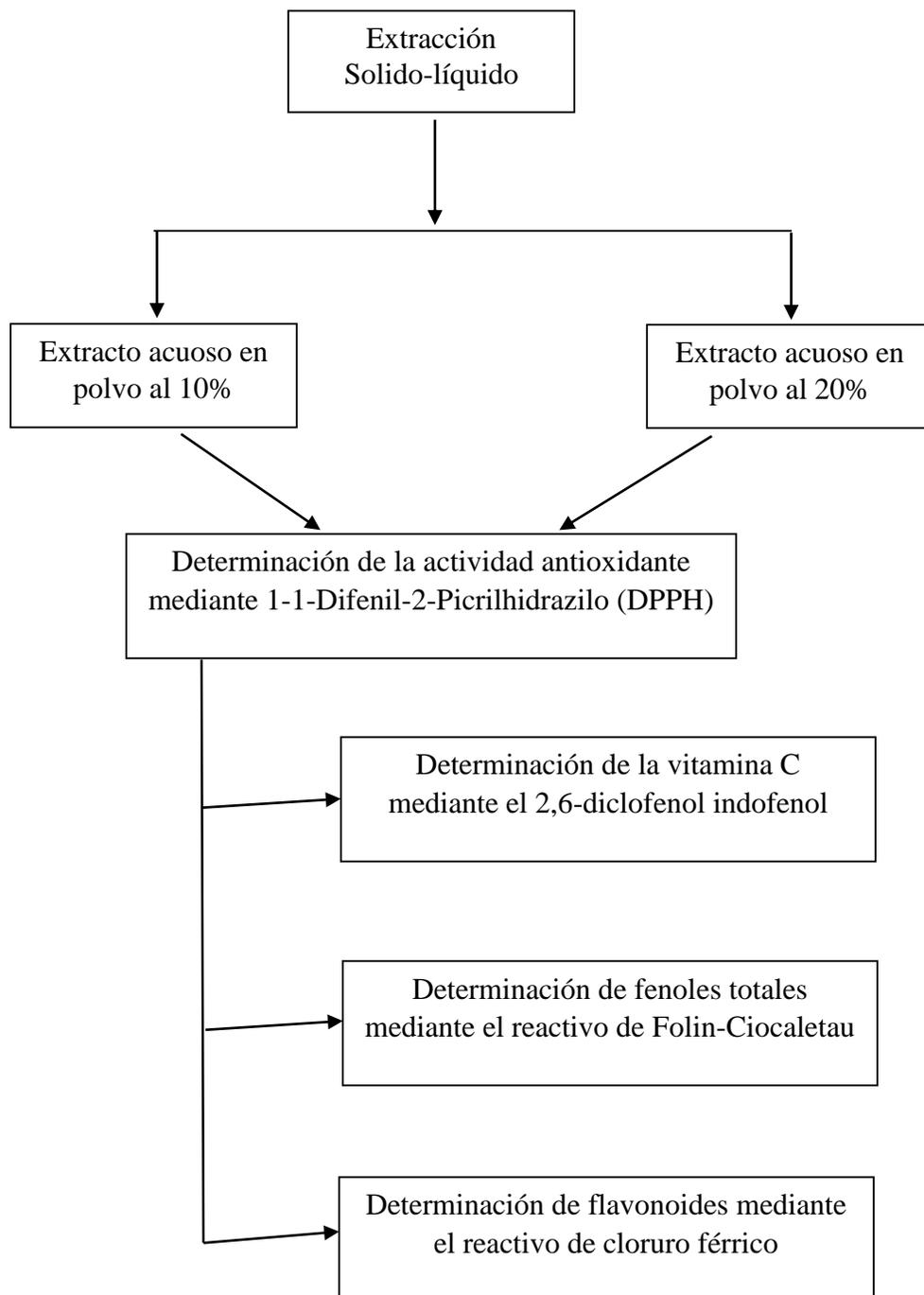
Muestra	Contenido en mg ácido ascórbico /100 g de Extracto				
	R1	R2	R3	Media	DesvSt
Extracto 10% fresco	13.34	14.67	13.38	13.8	0.76
Extracto 20% fresco	14.76	15.45	13.89	14.7	0.78
Extracto al 10% liofilizado	12.56	13.28	12.54	12.79	0.42
Extracto al 20% liofilizado	13.37	14.29	12.75	13.47	0.77

Muestra	Concentración en mg de ácido GALICO / g de extracto				
	R1	R2	R3	Media	Dstand
Extracto 10% fresco	256.73	245.98	234.73	245.81	11

ANEXO 7

DIAGRAMA EXPERIMENTAL PARA LA OBTENCIÓN Y EXTRACCIÓN ACUOSA DE EXTRACTO EN POLVO DEL *Equisetum arvense* L. "COLA DE CABALLO"





ANEXO 8

COMPROMISO DE AUTORIA

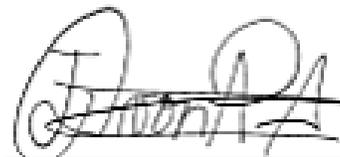
COMPROMISO DE AUTORIA

En la fecha nosotros(as): Janira Keyko Perez Esteban, identificada con DNI N° 70302259 domiciliado en la Av. Caminos del Inca S/N San Agustín de Cajas; Ivon Yamelit Pacheco Adriano. Identificado con DNI N° 73304590, domiciliado en la Calle unión – Florida S/N Chilca – Huancayo, ambas egresadas de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Peruana Los Andes nos COMPROMETEMOS a asumir las consecuencias administrativas y/o penales que hubiera lugar si en la elaboración de nuestro estudio de investigación titulado “ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE *Equisetum orwense* L. “COLA DE CABALLO” EN RELACIÓN AL CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO, FENÓLES Y FLAVONOIDEOS . se haya considerado datos: falsificación, plagio, auto plagio, etc. declaramos bajo juramento que este trabajo de investigación es de nuestra autoría, los datos presentados serán reales y se respetarán las normas internacionales de citas y referencias de las fuentes consultadas.

Huancayo, 22 de Febrero del 2021



Bach. Janira Perez Esteban
DNI N° 70302259



Bach. Ivon Pacheco Adriano
DNI N° 73304590

ANEXO 9

DECLARACIÓN DE CONFIDENCIALIDAD

COMPROMISO DE CONFIDENCIALIDAD

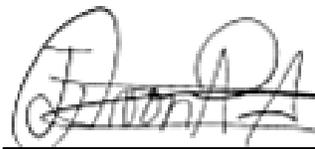
En la fecha nosotros(as): Janira Keyko Pérez Esteban, identificada con DNI N° 70302259 domiciliado en la Av. Caminos del Inca 5/N San Agustín de Cajas; Ivon Yamelit Pacheco Adriano. Identificado con DNI N° 73304590, domiciliado en la Calle Unión – Florida S/N Chilca – Huancayo, ambas egresadas de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Peruana Los Andes:

DECLARAMOS mantener la confidencialidad de la información recabada como parte de la investigación titulado "ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE *Equisetum arvense* L. "COLA DE CABALLO" EN RELACIÓN AL CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO, FENOLES Y FLAVONOIDES", a través de la cual se trabajará con la muestra de cola de caballo en la Universidad Peruana Los Andes, cuyos datos solo servirán para alcanzar los objetivos propuestos en el estudio.

Huancayo, 22 de Febrero del 2021



Bach. Janira Pérez Esteban
DNI N° 70302259



Bach. Ivon Pacheco Adriano
DNI N° 73304590

ANEXO 10
GALERIA FOTOGRAFICA
RECOLECCIÓN DE *Equisetum arvense* L. “COLA DE CABALLO” - DISTRITO DE
JAUJA - MOLINOS



Fuente propia

ANEXO 11

SELECCIÓN DE *Equisetum arvense* L. “COLA DE CABALLO”



Fuente propia

ANEXO 12

SECADO Y PESADO DE LA MUESTRA *Equisetum arvense* L. “COLA DE CABALLO”



PESADO DE LA MUESTRA DE CABALLO

Equisetum arvense L. “COLA DE CABALLO”



Fuente propia

ANEXO 13

MOLIENDA Y EXTRACCIÓN DE LAS HOJAS SECAS DE *Equisetum arvense* L. “COLA DE CABALLO”



EXTRACCIÓN DEL COMPONENTE *Equisetum arvense* L. “COLA DE CABALLO”



Fuente propia