

UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC
FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



Tesis

Polifenoles totales y capacidad antioxidante de extractos de hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*) con diferentes métodos de extracción, Oropesa – Antabamba

Presentado por:

Nora Rene Huamanñahui Hilario
Sandra Flor Chipana Vargas

Para optar el título de Ingeniero Agroindustrial

Abancay, Perú

2024



UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



TESIS

**Polifenoles totales y capacidad antioxidante de extractos de hojas de “Anccoripa”
(*Senecio canescens*) con diferentes métodos de extracción, Oropesa – Antabamba**

Presentado por **Nora Rene Huamanñahui Hilario** y **Sandra Flor Chipana Vargas**,
para optar el título de Ingeniero Agroindustrial.

Sustentado y aprobado el 12 de diciembre de 2024, ante el jurado evaluador:

Presidente:



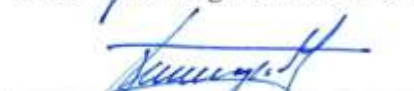
Dr. Juan Silver Barreto Carbajal

Primer miembro:



M Sc. Victor Hugo Sarmiento Casavilca

Segundo miembro:



Ing. Ruth Mery Ccopa Flores

Asesor:



Ing. Jorge Beltrán Mendoza Cáceres

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD
N° 087-2025

La Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, a través de la Unidad de Investigación de la Facultad de Ingeniería declara que, la Tesis intitulada: **Polifenoles totales y capacidad antioxidante de extractos de hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*) con diferentes métodos de extracción, Oropesa - Antabamba**, presentado por las Bachs. **Nora Rene Huamanñahui Hilario y Sandra Flor Chipana Vargas**, para optar el Título de Ingeniero **Agroindustrial**; ha sido sometido a un mecanismo de evaluación y verificación de similitud, a través del Software de TURNITIN, siendo el índice de similitud **ACEPTABLE de (19%)** por lo que, cumple con los criterios de originalidad establecidos por la Universidad.

Abancay, 03 de abril del 2025



Dr. Lintol Contreras Salas
DIRECTOR(E) DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION
FACULTAD DE INGENIERIA

C. c.
Archivo
REG. N° 267

Agradecimiento

A la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, por brindarnos una formación académica de calidad y por el apoyo constante durante todo nuestro desarrollo. Gracias por proporcionar el entorno ideal para aprender y crecer profesionalmente.

*A nuestro asesor **Ing. Jorge Beltrán Mendoza Cáceres**, por su invaluable orientación, paciencia y compromiso a lo largo de este proyecto. Sus conocimientos y consejos han sido fundamentales para el éxito de este trabajo.*

*Al **Ing. Justo Flavio Arias Motta**, por su apoyo constante y paciencia a lo largo de este proceso. Su experiencia y conocimientos contribuyeron de manera significativa al desarrollo de la tesis.*



Dedicatoria

A mis queridos padres, Néstor y Anita, con todo mi amor y gratitud, por haberme brindado cada día las herramientas, el respaldo y el amor necesarios para perseguir y alcanzar mis metas. Su apoyo incondicional y constante ha sido el pilar fundamental de cada uno de mis logros.

A mi hermana Evelin, por ser siempre ese abrazo seguro, esa voz que me alienta en los momentos de duda y esa presencia constante que me cuida con todo su amor y dedicación de hermana mayor. Gracias por ser mi apoyo incondicional, por compartir conmigo tanto amor y por estar a mi lado en cada paso de este camino.

A mi sobrina Keren Thaisa, quien, con su ternura e inocencia llena mis días de felicidad.

A mi compañero de vida, Juan Carlos, por ser mi apoyo en este camino de esfuerzo y dedicación; por cada abrazo en los momentos de incertidumbre; por cuidar de mí cuando el cansancio parecía vencerme; y por celebrar conmigo cada pequeño logro. Esta tesis no solo representa mi trabajo y dedicación, sino también el reflejo del amor y la motivación que me has brindado.

Sandra Flor Chipana Vargas



Dedicatoria

Porque lo más importante es mi familia.

*A mi querida familia, mis padres **Nicolasa y Alberto**, que día a día me alentaron a continuar en este proceso, que cada obstáculo era parte de crecer y que la perseverancia siempre rinde frutos, a ustedes les dedico este logro importante para mí, gracias.*

*A mis queridos hermanos, **Luis, Suker y Samy**, sus palabras de aliento y su apoyo incondicional, hacen que mis días sean un regalo, éste logro también es de ustedes hermanos, gracias.*

Me lo dedico a mí y a Sandra, mi compañera y amiga, porque nos lo merecemos por todo el esfuerzo que nos demandó, por las noches de desvelo y sobre todo por no rendirnos, gracias.

Nora Rene Huamanñahui Hilario



Polifenoles totales y capacidad antioxidante de extractos de hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*) con diferentes métodos de extracción, Oropesa – Antabamba

Línea de investigación: Caracterización, desarrollo de procesos e innovación en la agroindustria.

Esta publicación está bajo una Licencia Creative Commons



ÍNDICE

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
RESUMEN	2
ABSTRACT	4
CAPÍTULO I	6
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	6
1.1 Descripción del problema	6
1.2 Enunciado del Problema	7
1.2.1 Problema general	7
1.2.2 Problemas específicos	7
1.2.3 Justificación de la investigación	7
CAPÍTULO II	9
OBJETIVOS E HIPÓTESIS	9
2.1 Objetivos de la investigación	9
2.2.1 Objetivo general	9
2.2.2 Objetivos específicos	9
2.2 Hipótesis de la investigación	9
2.2.1 Hipótesis general	9
2.2.2 Hipótesis específicas	10
2.3 Operacionalización de variables	10
2.3.1 Variables dependientes	10
2.3.2 Variables independientes	10
CAPÍTULO III	12
MARCO TEÓRICO REFERENCIAL	12
3.1 Antecedentes	12
3.2 Marco teórico	13
3.2.1 Plantas medicinales	13
3.2.2 Anccoripa (<i>Senecio canescens</i>)	13
3.2.2.1 Descripción botánica de la planta	13
3.2.2.2 Clasificación taxonómica	14
3.2.2.3 Ubicación geográfica y hábitat	14
3.2.2.4 Composición química	15
3.2.2.5 Usos tradicionales	15



3.2.3	Método de extracción de extractos vegetales	15
3.2.3.1	Usos tradicionales	15
3.2.3.2	Extracción con maceración	16
3.2.4	Solventes	16
3.2.5	Solventes	17
3.2.5.1	Ácidos fenólicos	18
3.2.5.2	Flavonoides	18
3.2.5.3	Estilbenos	20
3.2.5.4	Lignanós	20
3.2.5.5	Métodos para determinar polifenoles	20
3.2.6	Antioxidantes	21
3.2.6.1	Clasificación de los antioxidantes	21
3.2.6.2	Función de los antioxidantes	22
3.2.6.3	Mecanismos de los antioxidantes	22
3.2.7	Capacidad antioxidante	22
3.2.7.1	Método para determinar capacidad antioxidante	22
3.3	Marco conceptual	23
CAPÍTULO IV		25
METODOLOGÍA		25
4.1	Tipo y nivel de investigación	25
4.1.1	Tipo de investigación	25
4.1.2	Nivel de investigación	25
4.2	Diseño de la investigación	25
4.2.1	Soxhlet en caliente	25
4.2.2	Maceración pasiva	27
4.3	Población y muestra	28
4.3.1	Población	28
4.3.2	Muestra	29
4.4	Procedimiento	30
4.4.1	Determinación de humedad, materia seca y ceniza	31
4.4.2	Obtención de extractos	33
4.4.3	Determinación de polifenoles totales y capacidad antioxidante	36
4.5	Técnica, instrumentos, materiales y equipos	39
4.5.1	Técnica	39
4.5.2	Instrumentos de recolección de datos	39
4.5.3	Materiales	39
4.5.4	Equipos	40
4.5.5	Reactivos	41

4.5.6	Solventes	41
4.5.7	Otros materiales	41
4.6	Análisis estadístico	41
CAPÍTULO V		42
RESULTADOS Y DISCUSIONES		42
5.1	Análisis de resultados	42
5.1.1	Contenido de la humedad, materia seca y ceniza de las hojas de “Anccoripa” (<i>Senecio canescens</i>)	42
5.1.2	Determinación del contenido de polifenoles totales (PFT) y capacidad antioxidante (CA) en el método Soxhlet en caliente	42
5.1.2.1	Determinación de polifenoles totales (PFT)	42
5.1.2.2	Determinación de capacidad antioxidante (CA)	44
5.1.3	Determinación del contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante por el método maceración pasiva	45
5.1.3.1	Determinación del contenido de polifenoles totales (PFT)	45
5.1.3.2	Determinación de capacidad antioxidante (CA) de polifenoles totales obtenidos mediante el método maceración pasiva	47
5.1.4	Comparación del contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante en los métodos Soxhlet caliente y maceración pasiva	49
5.1.4.1	Comparación del contenido de polifenoles totales	49
5.1.4.2	Comparación de la capacidad antioxidante	50
5.2	Contrastación de hipótesis (si corresponde)	50
5.2.1	Método Soxhlet en caliente	50
5.2.2	Método maceración pasiva	51
5.2.3	Método de extracción	51
5.3	Discusión	52
CAPÍTULO VI		57
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		57
6.1	Conclusiones	57
6.2	Recomendaciones	57
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		59
ANEXOS		63



ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1 — Variables independientes y dependientes	11
Tabla 2 — Diseño experimental, extracción por Soxhlet en caliente	26
Tabla 3 — Diseño experimental, extracción por maceración pasiva	28
Tabla 4 — Humedad, ceniza y materia seca de hojas de “Anccoripa”(<i>Senecio canescens</i>) por cada 100 g	42
Tabla 5 — Polifenoles totales (mg EAG/100 g b.s)	43
Tabla 6 — Capacidad antioxidante CA ($\mu\text{g ET/g b.s}$) de polifenoles totales	44
Tabla 7 — Polifenoles totales (mg EAG/100 g b.s)	46
Tabla 8 — Capacidad antioxidante CA ($\mu\text{g ET/g b.s}$) mediante el método de maceración pasiva	48
Tabla 9 — Concentración de ácido gálico	64
Tabla 10 — Concentración de Trolox	65
Tabla 11 — Resultados de polifenoles totales (mg EAG/100 g b.s) mediante el método soxhlet	66
Tabla 12 — Capacidad antioxidante CA ($\mu\text{g ET/g b.s}$) de polifenoles totales mediante el método Soxhlet	66
Tabla 13 — Resultados de polifenoles totales (mg EAG/100 g b.s) mediante el método maceración pasiva	67
Tabla 14 — Resultados de capacidad antioxidante CA ($\mu\text{g ET/g b.s}$) de polifenoles totales mediante el método maceración pasiva	68
Tabla 15 — Resumen del modelo	70
Tabla 16 — Análisis de varianza (Anova) de los promedios de los polifenoles totales PFT (mg EAG/100 g b.s) entre el tipo de solvente y la relación materia prima solvente mediante el método soxhlet en caliente	70
Tabla 17 — Comparaciones por parejas de Tukey: Solvente*Relación materia prima solvente	71
Tabla 18 — Resumen del modelo	71
Tabla 19 — Análisis de varianza (Anova) de los promedios de la capacidad antioxidante CA ($\mu\text{g ET/g b.s}$) entre el tipo de solvente y la relación materia prima solvente mediante el método soxhlet en caliente	72
Tabla 20 — Comparaciones por parejas de Tukey: Solvente*Relación materia prima solvente	72
Tabla 21 — Resumen del modelo	73
Tabla 22 — Análisis de varianza (Anova) de los promedios de los polifenoles totales PFT (mg eag/100 g b.s) entre el tipo de solvente, la relación materia prima solvente y tiempo de maceración en el método de maceración pasiva	73
Tabla 23 — Comparaciones por parejas de Tukey: Solvente*Relación materia prima solvente*Tiempo de maceración	74
Tabla 24 — Resumen del modelo	75



Tabla 25 — Análisis de varianza (anova) de los promedios de la capacidad antioxidante (μg ET/g b.s) entre el tipo de solvente, la relación materia prima solvente y tiempo de maceración en el método de maceración pasiva	75
Tabla 26 — Comparaciones por parejas de tukey: Solvente*Relación materia prima solvente*Tiempo	75
Tabla 27 — Análisis de Varianza (ANOVA) de los promedios de los Polifenoles totales PFT (mg EAG/100 g b.s) entre los métodos de extracción Soxhlet en caliente y maceración pasiva	76
Tabla 28 — Comparaciones por parejas de Tukey: Método de extracción*Tipo de solvente*Relación materia prima solvente	77
Tabla 29 — Análisis de varianza (Anova) de los promedios de la capacidad antioxidante entre los métodos de extracción soxhlet en caliente y maceración pasiva	78

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 — “Anccoripa” (<i>Senecio canescens</i>)	14
Figura 2 — Esquema de la ruta biosintética de los polifenoles en las plantas.	18
Figura 3 — Estructuras básicas de los flavonoides	19
Figura 4 — Estructura química de las isoflavonas	19
Figura 5 — Reacción entre el DPPH y la sustancia antioxidante	23
Figura 6 — Población de plántulas de “Anccoripa” (<i>Senecio canescens</i>) en su entorno natural, en las altitudes del distrito de Oropesa, provincia de Antabamba	29
Figura 7 — Muestra de hojas de “Anccoripa” (<i>Senecio canescens</i>)	29
Figura 8 — Proceso de extracción de polifenoles totales y capacidad antioxidante en los extractos de hojas de “Anccoripa”(<i>Senecio canescens</i>)	30
Figura 9 — Acondicionamiento de las hojas de “Anccoripa” (<i>Senecio canescens</i>)	31
Figura 10 — Obtención de los extractos de hojas de “Anccoripa” (<i>Senecio canescens</i>) mediante el método Soxhlet en caliente	33
Figura 11 — Obtención de los extractos de hojas de “Anccoripa” (<i>Senecio canescens</i>) mediante el método de maceración pasiva	35
Figura 12 — Comparación de resultados en la extracción de polifenoles totales mediante el método Soxhlet en caliente	43
Figura 13 — Comparación de resultados en la capacidad antioxidante mediante el método Soxhlet en caliente	45
Figura 14 — Comparación de resultados en la extracción de polifenoles totales mediante el método maceración pasiva	47
Figura 15 — Comparación de resultados en la capacidad antioxidante mediante el método maceración pasiva	49
Figura 16 — Curva patrón de ácido gálico para la determinación de polifenoles totales por el método de Folin Ciocalteu	64
Figura 17 — Curva patrón de Trolox para la determinación de la capacidad antioxidante por el método de DPPH	65
Figura 18 — Gráfica de distribución normal de residuo	70
Figura 19 — Gráfica de distribución normal de residuo	71
Figura 20 — Gráfica de probabilidad de residuos	73
Figura 21 — Gráfica de distribución normal de residuo	74
Figura 22 — Gráfica de distribución normal de residuo	76
Figura 23 — Gráfica de distribución normal de residuo	78
Figura 24 — Anccoripa (<i>Senecio canescens</i>)	79
Figura 25 — Picado de las hojas de Anccoripa (<i>Senecio canescens</i>)	79
Figura 26 — Extracción de extractos por el método Soxhlet en caliente	80
Figura 27 — Extracción de extractos mediante el método maceración pasiva	80
Figura 28 — Reacción de ácido gálico y folin	81
Figura 29 — Muestras patrón listas para ser leídas en el espectrofotómetro	81
Figura 30 — Preparación de muestras para la determinación de capacidad antioxidante	82
Figura 31 — Muestras patrón Trolox listas para ser leídas en el espectrofotómetro	82



Figura 32 — Muestras de solución patrón en las cubetas	83
Figura 33 — Lecturas de las muestras en el espectrofotómetro	83



INTRODUCCIÓN

El Perú, por su geografía diversa, es reconocido como un centro global de biodiversidad y se clasifica como un país megadiverso, rico en recursos de flora y fauna. Entre estos recursos, se destacan las plantas beneficiosas para el ser humano, especialmente las alimenticias y medicinales, que han sido utilizadas desde la época preincaica y continúan siendo relevantes en la actualidad. En los últimos años, ha aumentado el interés por investigar las propiedades de las plantas medicinales, enfocándose en aquellas que contienen polifenoles y poseen actividad antioxidante, debido a sus efectos positivos en la prevención de diversas enfermedades.

La "Anccoripa" (*Senecio canescens*) es una especie herbácea nativa que se desarrolla en las regiones altoandinas, específicamente a altitudes superiores a 4,727 m.s.n.m. Esta planta se caracteriza por sus propiedades beneficiosas para la salud, que incluyen actividades antiinflamatorias, analgésicas y antioxidantes, lo que la convierte en un objeto de estudio relevante para futuras aplicaciones tecnológicas.

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo determinar el contenido total de polifenoles y la capacidad antioxidante en extractos metanólicos y etanólicos de las hojas de "Anccoripa" (*Senecio canescens*), recolectadas en el distrito de Oropesa, provincia de Antabamba, a una altitud de 3,636 m.s.n.m. Se emplearon dos métodos de extracción: Soxhlet en caliente y maceración pasiva.

En el método de extracción Soxhlet en caliente, se utilizaron dos solventes (metanol al 80 % y etanol al 75 %) y dos relaciones de materia prima a solvente (1/15 y 1/20). El análisis estadístico correspondiente a este método se llevó a cabo utilizando un diseño experimental completamente al azar (DCA) con un arreglo factorial 2×2 .

Por otro lado, en el método de extracción por maceración pasiva, se emplearon los mismos solventes (metanol al 80 % y etanol al 75 %), así como dos relaciones de materia prima a solvente (1/15 y 1/20) y tres tiempos de maceración (3, 6 y 9 días). El análisis estadístico para este método también se realizó mediante un diseño experimental DCA, con un arreglo factorial $2 \times 2 \times 3$.



RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar el contenido de polifenoles totales y evaluar la capacidad antioxidante en extractos de hojas de "Anccoripa" (*Senecio canescens*), provenientes del distrito de Oropesa, provincia de Antabamba, utilizando diferentes métodos de extracción: Soxhlet en caliente y maceración pasiva.

Para la extracción de polifenoles totales y la evaluación de la capacidad antioxidante mediante el método Soxhlet en caliente, se analizaron dos factores: tipo de solvente (metanol al 80 % y etanol al 75 %) y relación materia prima-solvente (1/15 y 1/20). El tratamiento que utilizó etanol al 75 % y la relación materia prima-solvente de 1/20 permitió obtener un contenido de polifenoles totales de 4806.76 ± 43.71 mg de equivalente de ácido gálico (EAG)/100 g de materia seca, siendo este el valor más alto en comparación con los demás tratamientos. En cuanto a la capacidad antioxidante, el tratamiento con metanol al 80 % y la relación materia prima-solvente de 1/20 resultó en una capacidad antioxidante de 2725.80 ± 13.66 μ g de equivalentes de trolox (ET)/g de biomasa seca, destacándose como el valor más favorable entre los tratamientos evaluados en este método.

Para la extracción de polifenoles totales y la evaluación de la capacidad antioxidante mediante el método de maceración pasiva, se consideraron los siguientes factores: tipo de solvente (etanol al 75 % y metanol al 80 %), relación materia prima-solvente (1/15 y 1/20) y tiempo de maceración (3, 6 y 9 días). El tratamiento con etanol al 75 %, relación materia prima-solvente de 1/20 y un tiempo de maceración de 6 días resultó en un contenido de polifenoles totales de 5138.24 ± 43.71 EAG/100 g de biomasa seca, siendo este el valor más alto en comparación con los demás tratamientos. Respecto a la capacidad antioxidante, el tratamiento con metanol al 80 %, relación materia prima-solvente de 1/20 y un tiempo de maceración de 3 días proporcionó una capacidad antioxidante de 2722.38 ± 13.66 μ g ET/g de biomasa seca, destacándose nuevamente como el valor más elevado en comparación con los demás tratamientos en este método.

Al comparar ambos métodos de extracción, se concluye que el método Soxhlet en caliente favorece la extracción de metabolitos con capacidad antioxidante, mientras que el método de maceración pasiva es más eficiente para la extracción de polifenoles totales, según la



comparación estadística de los resultados obtenidos y la interacción de los factores y niveles analizados en esta investigación.

Palabras clave: *Anccoripa, polifenoles totales, capacidad antioxidante, Folin-Ciocalteu, DPPH.*



ABSTRACT

The present research aimed to determine the total polyphenol content and evaluate the antioxidant capacity of leaf extracts from "Anccoripa" (*Senecio canescens*) from the Oropesa district, Antabamba province, using different extraction methods: hot Soxhlet and passive maceration.

For the extraction of total polyphenols and the evaluation of antioxidant capacity using the hot Soxhlet method, two factors were analyzed: solvent type (80% methanol and 75% ethanol) and raw material-solvent ratio (1/15 and 1/20). The treatment using 75% ethanol and a raw material-solvent ratio of 1/20 yielded a total polyphenol content of 4806.76 ± 43.71 mg of gallic acid equivalent (GAE)/100 g of dry matter, the highest value compared to the other treatments. Regarding the antioxidant capacity, the treatment with 80% methanol and the raw material-solvent ratio of 1/20 resulted in an antioxidant capacity of 2725.80 ± 13.66 μ g of trolox equivalents (TE)/g of dry biomass, standing out as the most favorable value among the treatments evaluated in this method.

For the extraction of total polyphenols and the evaluation of the antioxidant capacity by the passive maceration method, the following factors were considered: type of solvent (75% ethanol and 80% methanol), raw material-solvent ratio (1/15 and 1/20) and maceration time (3, 6 and 9 days). The treatment with 75% ethanol, raw material-solvent ratio of 1/20 and a maceration time of 6 days resulted in a total polyphenol content of 5138.24 ± 43.71 EAG/100 g of dry biomass, being this the highest value compared to the other treatments. Regarding antioxidant capacity, treatment with 80% methanol, a 1/20 raw material-to-solvent ratio, and a 3-day maceration period provided an antioxidant capacity of 2722.38 ± 13.66 μ g TE/g of dry biomass, again standing out as the highest value compared to the other treatments in this method.

Comparing both extraction methods, it is concluded that the hot Soxhlet method favors the extraction of metabolites with antioxidant capacity, while the passive maceration method is more efficient for the extraction of total polyphenols, according to the statistical comparison of the results obtained and the interaction of the factors and levels analyzed in this study.



Keywords: *Anccoripa, total polyphenols, antioxidant capacity, Folin-Ciocalteu, DPPH.*



CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción del problema

A nivel global, el uso de la medicina alternativa basada en especies herbáceas es una práctica común, con aproximadamente el 80 % de la población utilizándola, siendo las plantas medicinales las más prevalentes (SALAZAR, 2022). La planta "Anccoripa" (*Senecio canescens*) se encuentra en el distrito de Oropesa, provincia de Antabamba, a una altitud de 4,727 m.s.n.m. Esta especie se desarrolla de forma natural entre los meses de febrero y octubre, en cantidades que son proporcionales a las condiciones geográficas favorables para su crecimiento vegetativo.

El consumo de las hojas de "Anccoripa" se realiza generalmente en forma de infusiones por un pequeño porcentaje de la población local, mientras que una gran parte desconoce las ventajas potenciales de esta planta. La falta de conocimiento sobre las características fitoquímicas de "Anccoripa" limita su aprovechamiento y su posterior aplicación para mejorar las condiciones de vida de la comunidad.

La investigación presentada en este estudio tiene como objetivo facilitar la adecuada aplicación de las propiedades de "Anccoripa", así como generar valor económico en la región donde se desarrolla, promoviendo su uso alternativo. Esta planta y sus propiedades son parte integral de la biodiversidad de un área geográfica específica.

Los métodos de extracción, los tipos de solventes, la relación materia prima-solvente y el tiempo de maceración evaluados en este estudio son fundamentales para la extracción y cuantificación de los polifenoles totales y la capacidad antioxidante de "Anccoripa". Esta investigación busca proporcionar información científica que optimice la extracción de estos metabolitos y su capacidad antioxidante, contribuyendo así al conocimiento y uso sostenible de esta valiosa especie.



1.2 Enunciado del Problema

1.2.1 Problema general

¿Cuál es el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante en extractos de hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*) provenientes del distrito de Oropesa, provincia de Antabamba, con diferentes métodos de extracción?

1.2.2 Problemas específicos

- ¿Cuál es el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante en extractos de hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*) por el método Soxhlet en caliente?
- ¿Cuál es el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante en extractos de hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*) por el método maceración pasiva?
- ¿Cuál es el método de extracción que permite obtener el mayor contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante en extractos de hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*)?

1.2.3 Justificación de la investigación

La provincia de Antabamba, ubicada en el departamento de Apurímac, alberga una amplia variedad de especies vegetales, muchas de las cuales poseen propiedades medicinales, gracias a un ecosistema favorable para su desarrollo. Entre estas especies destaca el "Anccoripa" (*Senecio canescens*), que se encuentra en el distrito de Oropesa, a una altitud notablemente superior al nivel del mar. Sin embargo, actualmente existen pocos reportes de investigación que aborden las propiedades botánicas y fitoquímicas de esta planta.

Este estudio tiene un impacto social significativo, ya que los resultados contribuirán al bienestar de los habitantes de la región, promoviendo la valoración del consumo de "Anccoripa" en función de sus propiedades fitoquímicas. Estas propiedades son actualmente utilizadas por diversas instituciones que prestan servicios de salud pública en Perú (ESSALUD, 2016).



Desde una perspectiva económica, la investigación se fundamenta en el uso de equipos disponibles en los laboratorios de química orgánica y análisis de productos agroindustriales de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial. Los costos asociados a reactivos químicos, insumos y materiales diversos hasta la publicación final fueron asumidos por los tesisistas.

En términos tecnológicos, la universidad cuenta con equipos adecuados que facilitaron la realización de esta investigación, en la que se emplearon métodos y procedimientos analíticos estandarizados para determinar el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de los metabolitos derivados de "Anccoripa".

El aspecto ambiental de este estudio implicó una cuidadosa gestión de los residuos generados durante el análisis. El método espectrofotométrico utilizado no incluye reactivos que tengan impactos negativos significativos en el ambiente, y todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con el reglamento de gestión de residuos del laboratorio.

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo determinar el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de "Anccoripa" (*Senecio canescens*) mediante dos métodos de extracción: Soxhlet en caliente y maceración pasiva. Además, los resultados obtenidos servirán como base para iniciar futuras investigaciones relacionadas con esta especie, dado que existe una escasa información disponible en nuestro país.



CAPÍTULO II

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1 Objetivos de la investigación

2.2.1 Objetivo general

Determinar el contenido polifenoles totales y la capacidad antioxidante en extractos de hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*) provenientes del distrito de Oropesa, provincia de Antabamba, con diferentes métodos de extracción.

2.2.2 Objetivos específicos

- Determinar el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante en extractos de hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*) por el método Soxhlet en caliente.

- Determinar el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante en extractos de hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*) por el método maceración pasiva.

- Determinar el método de extracción que permite obtener el mayor contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante en extractos de hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*).

2.2 Hipótesis de la investigación

2.2.1 Hipótesis general

Los diferentes métodos de extracción influyen en el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante en extractos de hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*) provenientes del distrito de Oropesa, provincia de Antabamba.



2.2.2 Hipótesis específicas

- El método Soxhlet en caliente influye en el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante en extractos de hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*).
- El método maceración pasiva influye en el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante en extractos de hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*).
- El contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante varía de acuerdo al método de extracción Soxhlet en caliente y maceración pasiva usados.

2.3 Operacionalización de variables

2.3.1 Variables dependientes

- Método de extracción: Soxhlet en caliente y maceración pasiva.
- Solvente de extracción: Metanol 80 % y etanol 75 %
- Relación materia prima-solvente: 1/15 (1 g de materia prima por 15 mL de solvente) y 1/20 (1 g de materia prima por 20 mL de solvente)
- Tiempo de maceración: 3, 6 y 9 días.

2.3.2 Variables independientes

- Polifenoles totales expresado en mg EAG/100 g b.s
- Capacidad antioxidante expresados en $\mu\text{g ET/g b.s}$



Tabla 1 — Variables independientes y dependientes

Variable	Mediciones	Indicadores	Índice	
Variables independientes	Método de extracción	Soxhlet en caliente		Adimensional
		Maceración pasiva	3 días	Adimensional
			6 días	
			9 días	
	Solvente	Etanol 75 %		mL
		Metanol 80%		mL
	Relación materia prima – solvente	1/15		g/ mL
		1/20		g/ mL
Variables dependientes	Polifenoles totales	Contenido de polifenoles totales	mg EAG/100 g b.s	
	Capacidad antioxidante	Capacidad de absorción de radicales libres DPPH	µg ET/g b.s	

CAPÍTULO III

MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

3.1 Antecedentes

- a) AGUILAR et al. (2020), desarrollaron una investigación denominada “Capacidad antioxidante de extractos obtenidos de las hojas de *Senecio rufescens* DC”. Este estudio tuvo como objetivo determinar el contenido de fenoles totales del extracto metanólico y etanólico de las hojas mediante diferentes métodos: DPPH, ABTS y FRAP. Para la extracción de extractos usaron el método de maceración con etanol y metanol al 80 % y una relación materia prima-solvente 1/10, determinando el contenido de fenoles totales $149,81 \pm 5,02$ GAE/g de extracto y su capacidad antioxidante $529,80 \pm 14,30$ $\mu\text{mol ET/g}$ de extracto.

- b) CARBAJAL et al. (2018), realizaron una investigación titulada “Evaluación del efecto antiinflamatorio y analgésico del extracto de *Culcitium canescens* (humb. & bonpl.) “wira” en animales de experimentación”. Utilizaron el método de extracción por percolación, usando solventes de diferentes polaridades como etanol 96 %, cloroformo y éter de petróleo; también maceraron con etanol al 96% durante 24 horas; en sus resultados llegaron a la conclusión de que el extracto obtenido con etanol (solvente polar) tuvo un mayor porcentaje de rendimiento, ya que tiene la capacidad de solubilizar la mayor cantidad de compuestos.

- c) FIGUEROA (2019), determinó la “capacidad antioxidante de las hojas de *Senecio canescens* (wira wira)”, mediante el método del radical DPPH; la obtención de sus extractos se desarrolló con metanol al 80%, cuyo resultado fue 69.39 ± 3.69 mM de Trolox /g de muestra seca, concluyendo que el extracto metanólico de las hojas de *Senecio canescens* (wira wira) posee contenido de polifenoles y capacidad antioxidante, considerando una especie de alto interés.

- d) VARGAS (2018), en su investigación, se determinó el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante de las hojas de tres especies del género *Senecio*: *S. adenophylloides* Sch. Bip., *S. graveolans* Weed y *S. collinus* DC. El contenido de



fenoles totales fue determinado mediante el método de Folin-Ciocalteu, y la actividad antioxidante se evaluó utilizando el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Las hojas de las especies fueron sometidas a un proceso de extracción con etanol al 80 % en un equipo Soxhlet. Entre las especies analizadas, *S. adenophylloides* Sch. Bip. mostró el mayor contenido de fenoles totales ($63,076 \pm 0,25$ mg EAG/g de muestra seca) y presentó la mayor capacidad de secuestro de radicales libres DPPH.

- e) SÁNCHEZ et al. (2015), determinaron el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante en extracto etanólico de las hojas y flores de *Chuquiraga spinosa* Less “huamanpinta”. Estas hojas y flores fueron maceradas en etanol al 96% durante 7 días con 5 minutos de agitación diaria y una relación materia prima-solvente de 1/5; el contenido de polifenoles totales lo desarrollaron por el método Folin Ciocalteu y la capacidad antioxidante mediante el método de DPPH. El contenido de polifenoles totales en hojas fue $51,8 \pm 1,27$ mg EAG/g de extracto y en las flores fue de $354,2 \pm 1,9$ mg EAG/g de extracto.

3.2 Marco teórico

3.2.1 Plantas medicinales

Son plantas que producen sustancias activas con efectos medicinales potencialmente beneficiosos o perjudiciales para los organismos vivos. Estas sustancias activas son subproductos del metabolismo vegetal secundario y no existen en forma pura en las plantas mismas, sino como complejos cuyos componentes interactúan y se refuerzan entre sí en sus efectos sobre los seres vivos. Debido a que estas sustancias activas presentan un equilibrio físico dentro de la planta y el organismo, son más fáciles de asimilar por el cuerpo y no tienen efectos adversos (QUESADA, 2008).

3.2.2 *Ancoripa* (*Senecio canescens*)

3.2.2.1 Descripción botánica de la planta

La planta es perenne y tiene un tallo recto de unos 40 cm de largo con una roseta de hojas en el suelo. Las hojas son elípticas de unos 18 cm de largo y 5 cm de ancho, densamente lanosas por ambos lados. Son enteras, subuladas, puntiagudas y obtusas en el ápice. El extremo del tallo del espécimen solo tiene un pedúnculo, que debe medir 6-8 cm de ancho, y el fruto se conoce como aquenio (HOSCOBEK, 2017).





Figura 1 — “Anccoripa” (*Senecio canescens*)

3.2.2.2 Clasificación taxonómica

Según RAMÍREZ et al. (2020), la Anccoripa se clasifica taxonómicamente de la siguiente manera.

Reino: Plantae

Clase: Magnoliopsida

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: Senecio

Nombre científico: *Senecio canescens*

Nombre común: Anccoripa, wira wira

3.2.2.3 Ubicación geográfica y hábitat

La especie del género *Senecio canescens* crece en casi todas las zonas ecológicas y hábitats del Perú, pero su mayor diversidad se encuentra en los hábitats andinos, que están expuestos en los pajonales de los departamentos de Ancash, Apurímac, Cusco, Pasco, Puno, Huánuco, Huancavelica, Junín, La Libertad, Lima y Tacna, todos ellos situados entre los 3500 y 5000

metros sobre el nivel del mar (BELTRAN et al., 2015). En la región de Apurímac, se encuentra en las provincias de Antabamba, Grau, Aymaraes y Cotabambas. Conocida con los nombres de "wira wira", "oreja de conejo", "Anccoripa" y "wila wila", esta planta se utiliza con fines medicinales.

3.2.2.4 Composición química

El *Senecio canescens* es una planta rica en sustancias beneficiosas. Entre sus componentes, encontramos carbohidratos, como los azúcares reductores, que son esenciales para su crecimiento. Además, contiene una variedad de compuestos más complejos, como alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides, esteroides, triterpenos y saponinas. Estos últimos son especialmente interesantes por sus posibles propiedades medicinales (QUISPE et al., 2014).

3.2.2.5 Usos tradicionales

El *Senecio canescens* es una planta que se utiliza por vía tópica. Para esto se usa la parte de las hojas de la planta, y su forma de preparación es a partir de infusiones de las mismas. Se utiliza para contrarrestar afecciones respiratorias, así como por sus propiedades analgésicas, antibacterianas, antiinflamatorias y aclaradoras de la piel (RAMÍREZ et al., 2020).

3.2.3 Método de extracción de extractos vegetales

La pre extracción y la extracción son el punto de partida del estudio de las plantas medicinales; esta técnica es fundamental para la preparación de extractos en el procesamiento de los componentes bioactivos de los materiales vegetales que son extraídos a partir de diferentes métodos (AZWANIDA, 2015).

3.2.3.1 Usos tradicionales

El procedimiento de extracción Soxhlet es un método utilizado para separar los componentes solubles de una muestra mediante un disolvente. Posteriormente, las muestras se lavan con cartuchos calientes, lo que facilita la extracción de los compuestos de interés. Este procedimiento se repite hasta que los analitos se eliminan completamente de la muestra y se concentran en el cartucho (JAIME, 2021).

3.2.3.2 Extracción con maceración

La maceración es un proceso de extracción sólido-líquido, haciendo que el material vegetal entre en contacto prolongado con el disolvente, que debe molerse o pulverizarse para aumentar su superficie de contacto con el disolvente. El poder de extracción del disolvente disminuye con el tiempo que el disolvente está en contacto con el material vegetal; para este tipo de extractos, es mejor proteger el recipiente de extracción de la luz solar, ya que ésta puede descomponer las sustancias fotolábiles (ANGULO et al., 2023).

3.2.4 Solventes

Los solventes son sustancias químicas capaces de disolver otras sustancias para generar una solución, sin causar alteraciones químicas en estas. Hay una amplia variedad de disolventes, tales como el agua y compuestos orgánicos simples (como alcoholes, ácidos e hidrocarburos), cada uno utilizado según las propiedades específicas del soluto que se busca disolver (RECINOS, 2004).

Una característica de los solventes es la polaridad, la cual establece la variación en la carga eléctrica entre las diferentes secciones de una molécula. Esta es la distinción esencial entre los solventes, puesto que estos definen una línea de base desde la cual se pueden categorizar los solventes, y constituye la diferencia esencial entre estos. Por otro lado, se clasifican en polares y no polares (RECINOS, 2004).

a) Solventes polares

Son compuestos cuyas moléculas presentan una distribución asimétrica de las nubes electrónicas, lo que significa que sus polos positivos y negativos están espaciados una determinada distancia y hay un dipolo que está presente en todo momento (MORALES, 2013).

b) Solventes no polares

Suelen ser sustancias orgánicas; por lo general, no tienen polos positivos ni negativos en sus moléculas, ya que la distribución de la nube electrónica es simétrica en sus moléculas y no se pueden considerar como dipolos permanentes (COVA, 2018). Esta clase de disolventes incluye el tetracloruro de carbono, el cloroformo, el benceno, el hexano,



el tolueno, el xileno, el dietil éter, las cetonas y el ciclohexano (GUARDADO et al., 2009).

3.2.5 Solventes

En la naturaleza, se encuentran diversos compuestos cuya estructura molecular se caracteriza por la presencia de uno o más anillos fenólicos. A estos compuestos se les conoce como polifenoles. Su origen principal está en las plantas, que los producen en grandes cantidades como parte de su metabolismo secundario. Algunos de ellos son esenciales para las funciones fisiológicas de las plantas, mientras que otros intervienen en mecanismos de defensa frente a situaciones de estrés y distintos estímulos (como el hídrico o el luminoso) (QUIÑONES et al., 2011).

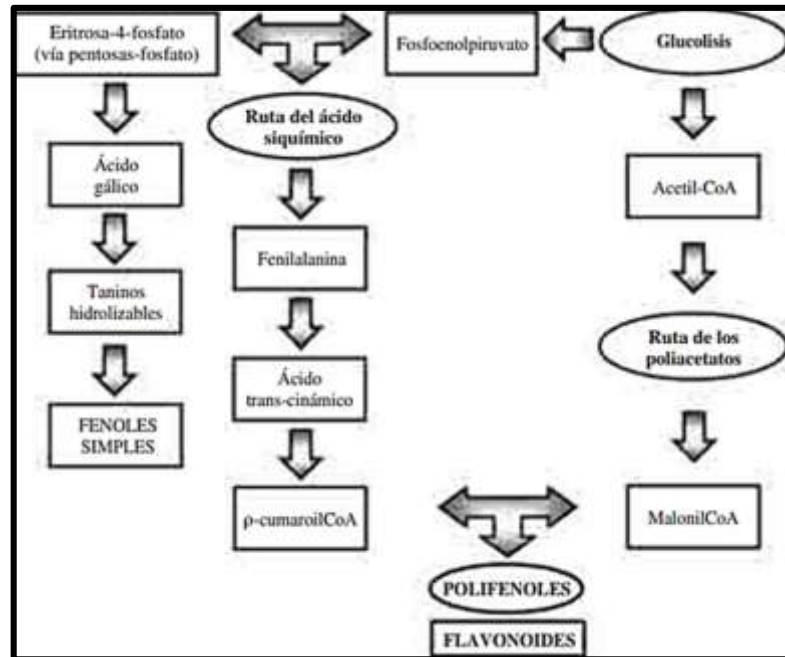
La producción de polifenoles, como parte del metabolismo secundario en las plantas, se lleva a cabo mediante dos rutas metabólicas principales: la vía del ácido siquímico y la vía de los poliacetatos (TOCHE et al., 2017).

La ruta del ácido siquímico, influenciada por la luz, comienza en los plastos con la condensación de la eritrosa-4-fostato y el fosfoenolpiruvato. Tras varias transformaciones, se obtiene el ácido siquímico, del cual derivan algunos fenoles.

Esta ruta puede continuar con la formación de fenilalanina, un aminoácido esencial, que, mediante la acción de la enzima fenilalanina amonioliasa, se convierte en ácido trans-cinámico. Luego, el ácido trans-cinámico se transforma en ácido ρ -cumárico, que, a través de la acción de la CoA-ligasa, se convierte en ρ -cumaroilCoA, precursor de los fenoles vegetales (PALAZÓN et al., 2001).

La vía de los poliacetatos se inicia con acetilCoA y, mediante una serie de condensaciones, se forman los poliacetatos. Estos pueden transformarse en ácidos grasos a través de procesos de reducción, o bien, mediante ciclación, dar lugar a una amplia variedad de compuestos aromáticos, incluyendo quinonas y otros metabolitos que se producen a través de rutas mixtas (PALAZÓN et al., 2001).





Fuente: QUIÑONES et al., 2011

Figura 2 — Esquema de la ruta biosintética de los polifenoles en las plantas.

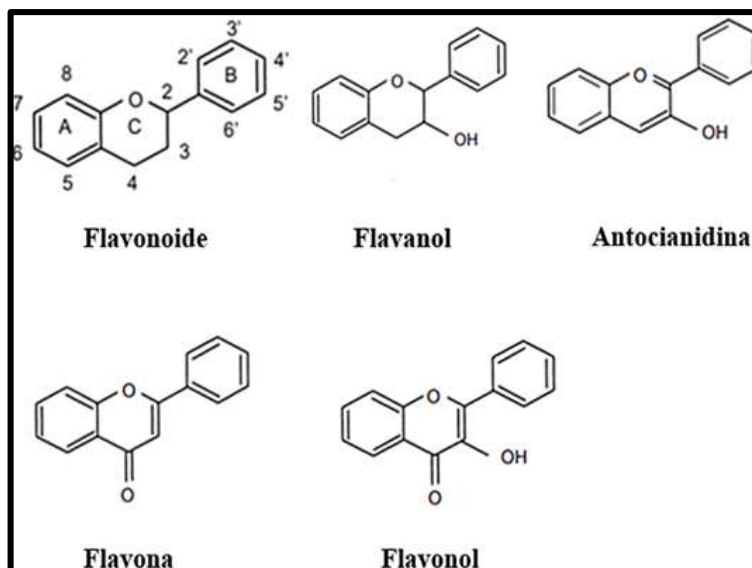
3.2.5.1 Ácidos fenólicos

Esta clase de compuestos se distingue por la presencia de un anillo aromático, un grupo carboxílico y un grupo hidroxilo en su estructura química. Para sintetizar los ácidos fenólicos se utiliza la ruta fenilpropanoide, que comienza con la fenilalanina producida a lo largo de la ruta del ácido shikímico (RODRÍGUEZ, 2008).

3.2.5.2 Flavonoides

Se trata de pigmentos vegetales naturales que se encuentran en una gran variedad de frutas, verduras y plantas. Protegen al organismo de los agentes oxidantes, como los contaminantes de la dieta, la radiación UV y el medio ambiente. Dado que el organismo no puede producir estos compuestos de forma natural, sólo pueden obtenerse mediante la ingestión de alimentos o suplementos (GONZÁLEZ et al., 2020).



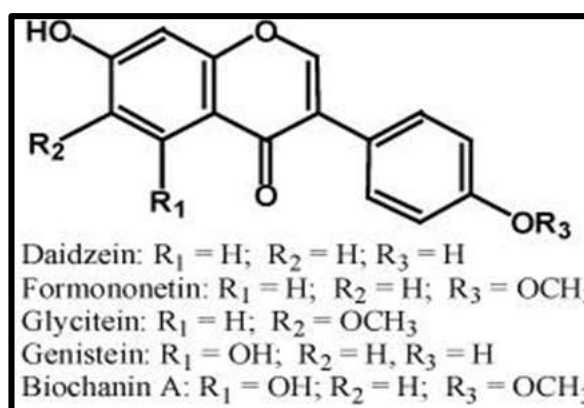


Fuente: GONZÁLEZ et al., 2020

Figura 3 — Estructuras básicas de los flavonoides

a) Isoflavona

Las isoflavonas poseen una estructura química similar con el estradiol y tienen un ligero efecto estrogénico. Se encuentran en frutas, verduras, cereales y legumbres; estas últimas tienen la mayor concentración (MATTHIES et al., 2008).



Fuente: TSAO, 2010

Figura 4 — Estructura química de las isoflavonas

b) Flavonoles y proantocianidinas

Los flavanoles y las proantocianidinas son sustancias presentes en una extensa diversidad de plantas, frutas y vegetales. Los flavanoles del tipo



flavan-3-ol son los más comunes en los alimentos en forma de polímeros (proantocianidinas o taninos), oligómeros (procianidinas) o monómeros (catequinas). Las principales sustancias químicas que se encuentran en las frutas son la epicatequina y la catequina. Las dos fuentes más comunes de catequinas son el vino y el chocolate (QUIÑONES et al., 2011).

c) **Antocianidina**

Las antocianidinas son pigmentos vegetales que se encuentran principalmente en forma de compuestos glicosídicos conocidos como antocianinas. Las tres antocianidinas más frecuentes son la cianidina, la delfinidina y la pelargonidina. Las antocianinas tienen un color que depende del pH, volviéndose rojas en condiciones ácidas y azules en las básicas (TSAO, 2010).

3.2.5.3 **Estilbenos**

Los estilbenos son un grupo de polifenoles que tienen como característica la existencia de un núcleo de 1,2-difeniletileno. El resveratrol es uno de los más destacados, y está presente en varias fuentes naturales, como las uvas y el vino de color rojo (SISEROL et al., 2016).

3.2.5.4 **Lignanos**

Se caracterizan por estar formados por dos unidades de fenilpropano, que, a pesar de sus diversas estructuras, están unidas por sus átomos centrales. Los compuestos se pueden encontrar en todas las briofitas y helechos, así como en plantas superiores, donde desempeñan importantes funciones fisiológicas, principalmente con fines defensivos (ARAGÓN et al., 2005).

3.2.5.5 **Métodos para determinar polifenoles**

a) **Método de Folin – Ciocalteu**

El método de Folin-Ciocalteu se usa para determinar el contenido de agentes fenólicos; este utiliza espectroscopia ultravioleta y una reacción colorimétrica. El reactivo Folin-Ciocalteu se compone de una mezcla de molibdato sódico y wolframato sódico en ácido fosfórico y reacciona



con los compuestos fenólicos presente en la muestra. Después de esto, se produce el ácido fosfomolibdotúngstico (de color amarillo), al ser reducido por los compuestos fenólicos. Este complejo se reduce a óxidos coloreados (azul) mediante transferencia de electrones, que tiene una absorbancia máxima a 765 nm que se cuantifica por espectrofotometría (VARGAS, 2020).

3.2.6 Antioxidantes

Un antioxidante es una sustancia que tiene la capacidad de prevenir o disminuir el proceso de oxidación en otras moléculas (RAMÍREZ et al., 2020). La oxidación es una reacción química de transferencia de electrones que puede producir radicales libres, los cuales comienzan reacciones en cadena que dañan las células. Los antioxidantes terminan estas reacciones quitando intermedios del radical libre e inhiben otras reacciones de oxidación oxidándose ellos mismos (GUTTERIDGE et al., 2015).

3.2.6.1 Clasificación de los antioxidantes

Los antioxidantes se clasifican en endógenos, que se producen en el propio organismo por las células, y exógenos, que se encuentran en la naturaleza y forman parte fundamental de los alimentos. (CRIADO et al., 2009).

Los antioxidantes endógenos, tanto enzimáticos como no enzimáticos, son generados por las células. Las tres principales enzimas antioxidantes son el glutatión peroxidasa (GPX), la superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa (CAT). Estas enzimas desempeñan un papel crucial al prevenir el daño celular causado por los radicales libres y el estrés oxidativo, actuando de manera conjunta para proteger las células (POWERS et al., 2014).

Los antioxidantes exógenos se consumen a través de los alimentos y se encuentran en su mayor parte en frutas y verduras. Entre estos antioxidantes se encuentran los flavonoides, los fenoles, la vitamina C, el betacaroteno, los taninos y la vitamina E, etc. Estos antioxidantes también actúan principalmente como eliminadores de radicales libres (RAMÍREZ, 2004).



3.2.6.2 Función de los antioxidantes

Los antioxidantes tienen varias funciones esenciales en el cuerpo, principalmente relacionadas con la protección contra el daño causado por los radicales libres y el estrés oxidativo. Al neutralizar los radicales libres y reducir el daño celular, los antioxidantes desempeñan un papel clave en la prevención de diversas enfermedades crónicas, el envejecimiento prematuro y el mantenimiento de la salud general (ZAMORA, 2007).

3.2.6.3 Mecanismos de los antioxidantes

Los antioxidantes funcionan de diversas formas, incluyendo la prevención de los RL (sistema de prevención), la inhibición de su acción (sistema de eliminación) y otros promueven el sistema de reparación, que contribuye a la reconstrucción de las estructuras biológicas deterioradas. Cada antioxidante actúa de manera específica, puede intervenir en diferentes etapas del ciclo oxidativo y posee afinidad por uno o más radicales libres (CRIADO et al., 2009).

3.2.7 Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se refiere a la capacidad de una sustancia para contrarrestar los radicales libres y evitar el daño oxidativo en las células. La eficacia de un alimento en este aspecto depende tanto de la cantidad como de la calidad de los antioxidantes que contiene. Su calidad antioxidante se relaciona con su habilidad para eliminar agentes oxidantes, mientras que la cantidad se evalúa en función del contenido de vitamina C, vitamina E, carotenoides y compuestos fenólicos (FORBES et al., 2020).

3.2.7.1 Método para determinar capacidad antioxidante

a) Método DPPH

El DPPH es un método ampliamente utilizado en la bioquímica de plantas para detectar radicales libres y proporciona un enfoque analítico. Implica utilizar este método para determinar la composición de los componentes de la planta. El enfoque se basa en la medición espectrofotométrica de la alteración en la concentración de DPPH después de la reacción con un antioxidante. El radical DPPH^o de color

violeta se transforma en DPPH-H de color amarillo pálido. Este cambio de color está ligado a una disminución de la absorbancia, que depende de la cantidad de muestra y de antioxidante presente (PEKAL et al., 2013).

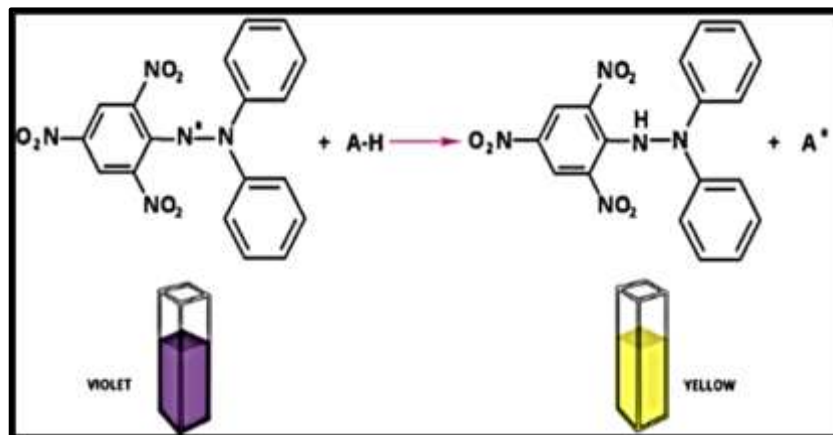


Figura 5 — Reacción entre el DPPH y la sustancia antioxidante

El 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo se clasifica como radical libre estable debido a su deslocalización. Esta deslocalización además intensifica el particular color violeta intenso del radical, que se absorbe en metanol a 517 nanómetros. Cuando la solución DPPH* reacciona con un sustrato antioxidante que dona un átomo de hidrógeno, el color se desvanece. Mediante monitoreo espectrofotométrico, los parámetros de las propiedades antioxidantes se determinan midiendo el cambio de color (DENG, et al., 2011).

3.3 Marco conceptual

- a) **Polifenoles:** Son moléculas naturales del metabolismo secundario de las plantas. Estos compuestos presentan una estructura molecular caracterizada por la presencia de uno o varios anillos fenólicos (QUÍÑONES et al., 2011).
- b) **Antioxidantes:** Son sustancias químicas que poseen la habilidad de prevenir la oxidación de diferentes compuestos. Estas reacciones pueden afectar tanto al organismo humano como a los alimentos, provocando cambios fisiológicos severos que pueden originar varias enfermedades (ZAMORA, 2007).

- c) **Radicales libres:** Se conoce como radicales libres a las moléculas que poseen un electrón desapareado en su orbital más externo (ZARZOSA et al., 2015).
- d) **DPPH:** 2,2-difenil-1-picrilhidracilo, es un compuesto químico que se utiliza en la determinación de actividad antioxidante, los cuales se caracterizan por su capacidad para captar radicales libres (CASTAÑEDA et al., 2008).
- e) **Folin-Ciocalteu:** Se emplea para cuantificar los compuestos fenólicos en productos vegetales. Se basa en la forma en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu a un pH básico, produciendo una coloración azul que se puede detectar espectrofotométricamente a 765 nm. Este reactivo, que contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico, interacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra (GARCÍA et al., 2015).
- f) **Alcohol:** Son compuestos orgánicos que derivan de los hidrocarburos al reemplazar uno o más grupos hidroxilo por una cantidad igual de átomos de hidrógeno (GONZÁLEZ et al., 2020).



CAPÍTULO IV

METODOLOGÍA

4.1 Tipo y nivel de investigación

4.1.1 Tipo de investigación

El estudio, según su objetivo y en función de sus variables, corresponde a un tipo de investigación básica (HERNÁNDEZ et al., 2014).

4.1.2 Nivel de investigación

El trabajo de investigación es de nivel correlacional, ya que se establece la relación entre las variables utilizando un análisis estadístico para determinar si existe una correlación significativa entre las variables (HERNÁNDEZ et al., 2014).

4.2 Diseño de la investigación

Para la obtención de extractos de hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*) se caracterizó las propiedades fisicoquímicas, determinando su humedad, materia seca y ceniza, que son las condiciones en las cuales se trabajó con esta especie.

El trabajo de investigación, se desarrolló por dos métodos de extracción para la obtención de extractos, que a continuación se detalla el diseño experimental empleado para cada método de extracción, los cuales corresponden a un DCA; para el método Soxhlet en caliente con un arreglo factorial 2×2 detallado en la Tabla 2, y para el método maceración pasiva con arreglo factorial de 2×2×3 detallado en la Tabla 3.

4.2.1 Soxhlet en caliente

El diseño experimental mostrado en la tabla 2, corresponde a un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial de 2x2; cuyos factores de estudio son el tipo de solvente (metanol 80 % y etanol 75 %) y la relación materia prima-solvente (1/15 y 1/20), haciendo un total de 4 tratamientos con tres repeticiones, lo que se traduce en 12 unidades de observación.



El modelo estadístico para el método Soxhlet en caliente, está representada en la siguiente ecuación:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijkl}$$

En donde:

Y_{ijk} : Es la respuesta, compuestos bioactivos de los tratamientos.

μ : Es un parámetro común a todos los tratamientos denominado media global.

τ : Es el efecto del primer factor, tipo de solvente.

β : Es el efecto del segundo factor, relación materia prima solvente.

$(\tau\beta)_{ij}$: Es el efecto de interacción de los dos factores, tipo de solvente y relación materia prima solvente.

ε_{ijk} : Es la componente aleatoria del error.

Los datos fueron expresados como el promedio \pm desviación estándar ($\bar{X} \pm SD$) a un nivel de significancia de 95 % .

Tabla 2 — Diseño experimental, extracción por Soxhlet en caliente

Tratamientos	Tipo de solvente	Relación materia prima-solvente	Unidades de observación
T1	Etanol 75 %	1/15	r1
			r2
			r3
T2	Etanol 75 %	1/20	r1
			r2
			r3
T3	Metanol 80 %	1/15	r1
			r2
			r3
T4	Metanol 80 %	1/20	r1
			r2
			r3



4.2.2 Maceración pasiva

El diseño experimental mostrado en la tabla 3, corresponde a un diseño completamente al azar (DCA) con un arreglo factorial de $2 \times 2 \times 3$; cuyos factores de estudio son el tipo de solvente (metanol 80 % y etanol 75 %), relación materia prima-solvente (1/15 y 1/20) y el tiempo de maceración (3, 6 y 9 días), tal como se muestra en la tabla 4, habiendo un total de 12 tratamientos con tres repeticiones, lo que se traduce en 36 unidades experimentales.

El modelo estadístico para el método maceración pasiva, está representada en la siguiente ecuación:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + \gamma_k + (\tau\beta)_{ij} + (\tau\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\tau\beta\gamma)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

En donde:

Y_{ijk} : Es la respuesta, compuestos bioactivos de los tratamientos.

μ : Es un parámetro común a todos los tratamientos denominado media global.

τ : Es el efecto del primer factor, tipo de solvente.

β : Es el efecto del segundo factor, relación materia prima solvente.

γ : Es el efecto del tercer factor, tiempo de maceración.

$(\tau\beta)_{ij}$: Es el efecto de interacción entre los factores uno y dos.

$(\tau\gamma)_{ik}$: Es el efecto de interacción entre los factores uno y tres.

$(\beta\gamma)_{jk}$: Es el efecto de interacción entre los factores dos y tres.

$(\tau\beta\gamma)_{ijk}$: Es el efecto de interacción de los tres factores.

ε_{ijkl} : Es la componente aleatoria del error.

Los datos fueron expresados como el promedio \pm desviación estándar ($\bar{X} \pm SD$) a un nivel de significancia de 95 % .

Tabla 3 — Diseño experimental, extracción por maceración pasiva

Tratamientos	Tipo de solvente	Relación materia prima-solvente	Tiempo de maceración	Unidades de observación
T1	Etanol 75 %	1/15	3 días	r1
				r2
				r3
T2	Etanol 75 %	1/15	6 días	r1
				r2
				r3
T3	Etanol 75 %	1/15	9 días	r1
				r2
				r3
T4	Etanol 75 %	1/20	3 días	r1
				r2
				r3
T5	Etanol 75 %	1/20	6 días	r1
				r2
				r3
T6	Etanol 75 %	1/20	9 días	r1
				r2
				r3
T7	Metanol 80 %	1/15	3 días	r1
				r2
				r3
T8	Metanol 80 %	1/15	6 días	r1
				r2
				r3
T9	Metanol 80 %	1/15	9 días	r1
				r2
				r3
T10	Metanol 80 %	1/20	3 días	r1
				r2
				r3
T11	Metanol 80 %	1/20	6 días	r1
				r2
				r3
T12	Metanol 80 %	1/20	9 días	r1
				r2
				r3

4.3 Población y muestra

4.3.1 Población

Para la investigación, la población de estudio fue la “Anccoripa” (*Senecio canescens*) que crece en condiciones naturales, tomados del distrito de Oropesa,

provincia de Antabamba, departamento de Apurímac, teniendo una población por conveniencia de 5 kg recolectadas en el mes de julio y guardadas bajo condiciones ambientales hasta su estudio.



Figura 6 — Población de plántulas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*) en su entorno natural, en las altitudes del distrito de Oropesa, provincia de Antabamba

4.3.2 Muestra

La muestra fue obtenida mediante la técnica de muestreo por conveniencia, ya que el tamaño de la muestra fue definido a criterio de los investigadores de acuerdo a lo requerido para la ejecución de los diferentes ensayos consistentes en la extracción de metabolitos, la determinación de polifenoles totales y capacidad antioxidante, el cual consistió en recolectar hojas de “Anccoripa” en buen estado.

Se tomó 1 kg de muestra al azar para la extracción por el método Soxhlet en caliente y maceración pasiva, muestras que fueron acondicionadas para el desarrollo de los ensayos propuestos.



Figura 7 — Muestra de hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*)

4.4 Procedimiento

En la figura 8 se muestra el procedimiento general para la obtención de extractos metanólicos y etanólicos mediante los métodos de extracción: Soxhlet en caliente y maceración pasiva, para la extracción de polifenoles totales y la determinación de capacidad antioxidante.

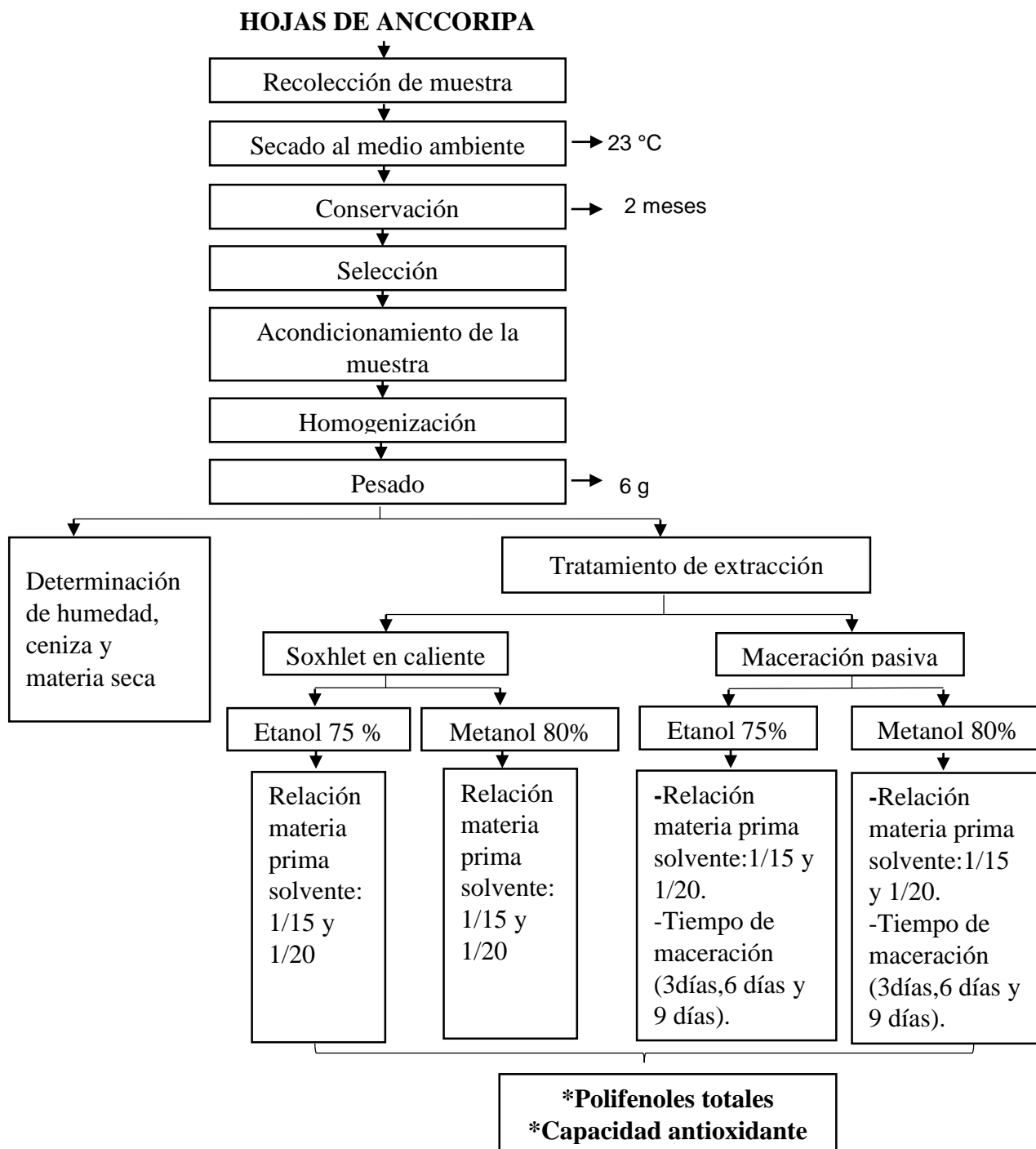


Figura 8 — Proceso de extracción de polifenoles totales y capacidad antioxidante en los extractos de hojas de “Anccoripa”(*Senecio canescens*)

1. **Recolección de muestra:** Se recolectó la muestra “Anccoripa” fresca de forma manual en bolsas plásticas, evitando que éstas tuvieran daño mecánico, en las alturas del distrito de Oropesa, perteneciente a la provincia de Antabamba.
2. **Secado al medio ambiente:** La muestra fue secada en condiciones ambientales.
3. **Conservación:** La muestra seca se almacenó envuelta en papel kraft hasta su posterior análisis.
4. **Selección:** Se seleccionaron las hojas en buen estado, desechando las hojas maltratadas, podridas y materias extrañas.
5. **Acondicionamiento de la muestra:** Las hojas de “Anccoripa” fueron acondicionadas a tamaños que permitan la extracción por el método Soxhlet en caliente y maceración.



Figura 9 — Acondicionamiento de las hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*)

6. **Homogenización:** Las muestras de hojas de “Anccoripa” triturada se homogenizaron, de tal manera de tener una muestra representativa.
7. **Pesado:** Las hojas de “Anccoripa” picada y homogenizada se pesó en una balanza analítica para las diferentes pruebas.

4.4.1 Determinación de humedad, materia seca y ceniza

Se determinó la humedad, materia seca y ceniza de las hojas de “Anccoripa”.

➤ **Humedad**

La humedad se determinó por el método de desecación por estufa.

El contenido de humedad de la muestra se calculó por diferencia de peso y se expresa en % de humedad (gramos de agua / 100 g de muestra seca).

Para determinar el % de humedad, se pesó la placa Petri en una balanza analítica, anotando el resultado; seguidamente se adicionó 4 g de la muestra y se registró el peso; posteriormente se ubicó la muestra en la estufa a 105 °C por aproximadamente 3 horas hasta que el peso sea constante; finalmente se aplicó la siguiente fórmula:

$$\% H = \left(\frac{W1 - W2}{W1} \right) \times 100$$

Donde:

W1 = Masa de la muestra original expresada en gramos (g)

W2 = Masa de la muestra seca expresada en gramos (g)

H = Contenido de humedad expresada en porcentaje (%)

➤ **Materia seca**

Se determinará el % materia seca por la siguiente fórmula:

$$\% M. S = \left(\frac{\text{Peso final muestra}}{\text{Peso inicial muestra}} \right) \times 100$$

Donde:

M.S = Cantidad materia seca expresada en porcentaje (%)

➤ **Ceniza**

Para determinar la ceniza se necesitaron crisoles de porcelana de un peso conocido, en el cual se calcinó 2 g de la muestra pesada y picada en trozos pequeños; posteriormente, se colocó la muestra incinerada en una mufla a 600 °C por un tiempo de 6 horas para determinar el residuo de la calcinación. Al terminar el tiempo programado, se retiró y se colocó en una campana de desecación hasta su enfriamiento; luego se procedió a pesar y registrar su peso final y por la diferencia, se determinó el contenido de cenizas.



$$\% \text{ Ceniza} = \left(\frac{P - P1}{M} \right) \times 100$$

Donde:

P = Masa del crisol con la ceniza expresada en gramos (g)

P1 = Masa del crisol vacío expresa en gramos (g)

4.4.2 Obtención de extractos

- En esta etapa, se han obtenido los extractos de hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*) mediante el método Soxhlet en caliente.

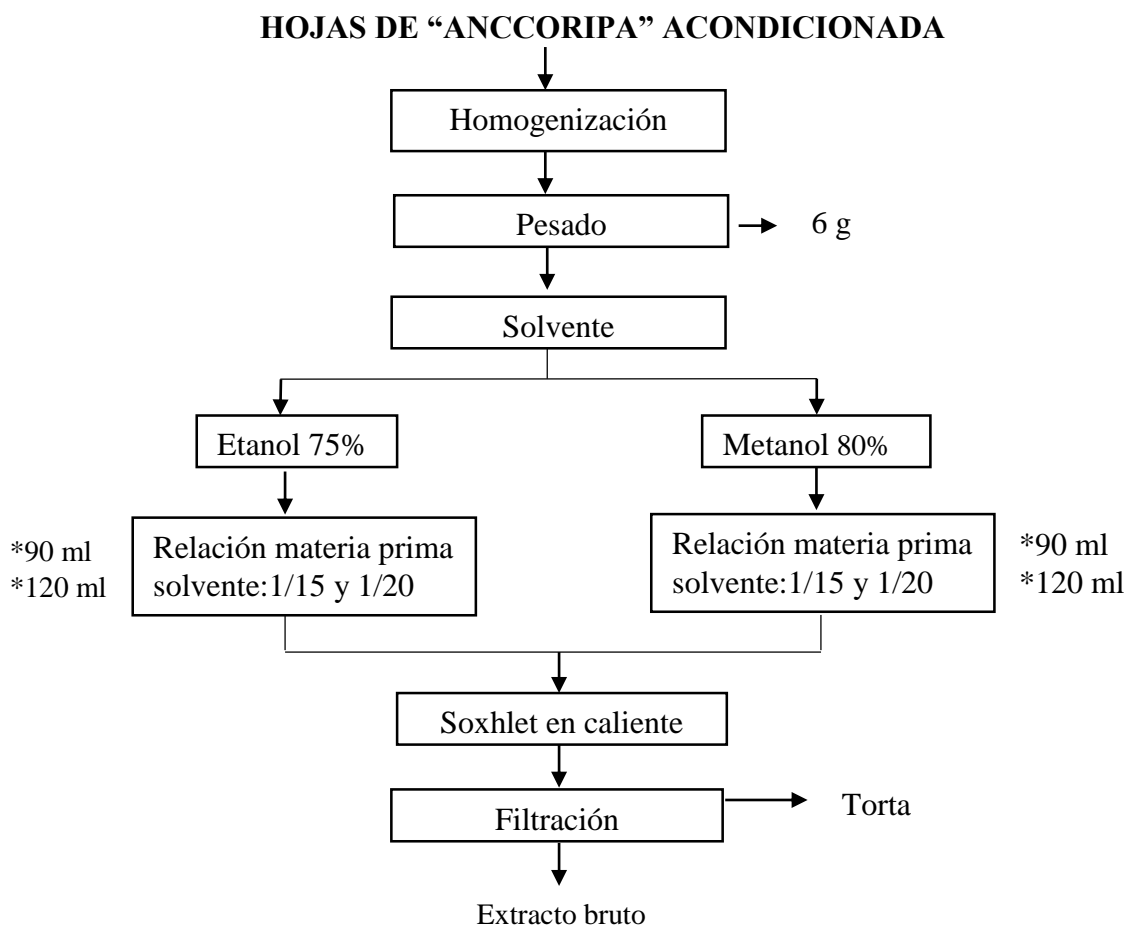


Figura 10 — Obtención de los extractos de hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*) mediante el método Soxhlet en caliente



1. **Homogenización:** Se llevó a cabo la homogenización de la muestra de hojas trituradas de "Anccoripa".
2. **Pesado:** Se pesó 6 g de la muestra homogenizada en una balanza analítica para luego colocarla en el interior del dedal del equipo Soxhlet.
3. **Extracción:** Para la extracción mediante el método Soxhlet, se dividió en dos partes. En la primera extracción, los solventes se depositaron en los vasos del equipo: etanol en una relación 1/20 (6 g de muestra con 120 mL de etanol 75 %) y metanol en una relación 1/20 (6 g de muestra con 90 mL de metanol 75 %); en la segunda extracción, los solventes se depositaron en los vasos del equipo: etanol en una relación 1/15 (6 g de muestra con 90 mL de etanol 75 %) y metanol en una relación 1/15 (6 g de muestra con 90 mL de metanol 80 %).
4. **Filtración:** Los extractos logrados a través del método Soxhlet en caliente fueron filtrados y guardados en botellas de vidrio de tonalidad ámbar a temperatura de refrigeración para su estudio.

- Obtención de los extractos de hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*) mediante el método de maceración pasiva.

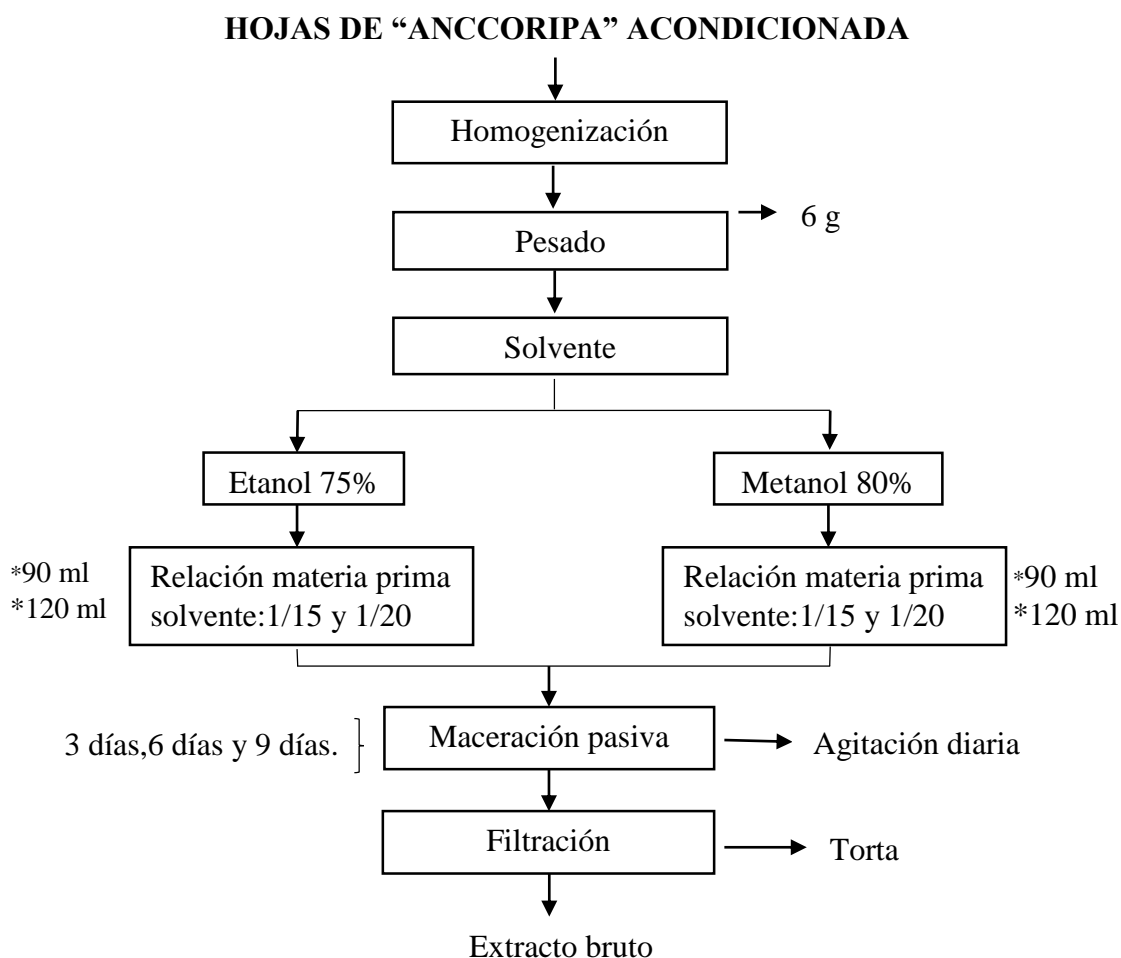


Figura 11 — Obtención de los extractos de hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*) mediante el método de maceración pasiva

- 1. Homogenización:** La muestra acondicionada hojas de “Anccoripa” picada se procedió a homogenizar.
- 2. Pesado:** La muestra homogenizada se pesó 6 g en una balanza analítica para luego colocarla en el interior de los matraces de una capacidad de 250 mL.
- 3. Maceración:** Para este procedimiento se colocó la muestra en el interior de un matraz de capacidad de 250 mL con el solvente requerido por el método.



Las maceraciones se desarrollaron en tres tiempos diferentes: 3 días, 6 días y 9 días, con agitación diaria por 4 horas; los matraces fueron cerrados herméticamente y se colocaron en una caja negra tapada el tiempo requerido por el método.

Maceración en tres días: Etanol en una relación 1/15 y 1/20 (6 g de muestra con 90 mL de etanol 75 % y 6 g de muestra con 120 mL de etanol 75 %) y metanol en una relación 1/15 y 1/20 (6 g de muestra con 90 mL de metanol 80 % y 6 g de muestra con 120 mL de metanol 80 %).

Maceración en seis días: Etanol en una relación 1/15 y 1/20 (6 g de muestra con 90 mL de etanol 75 % y 6 g de muestra con 120 mL de etanol 75 %) y metanol en una relación 1/15 y 1/20 (6 g de muestra con 90 mL de metanol 80 % y 6 g de muestra con 120 mL de metanol 80 %).

Maceración en nueve días: Etanol en una relación 1/15 y 1/20 (6 g de muestra con 90 mL de etanol 75 % y 6 g de muestra con 120 mL de etanol 75 %) y metanol en una relación 1/15 y 1/20 (6 g de muestra con 90 mL de metanol 80 % y 6 g de muestra con 120 mL de metanol 80 %).

- 4. Filtración:** Los extractos obtenidos se filtraron en papel filtro con ayuda de un embudo de vidrio y fueron almacenados en botellas de vidrio de color ámbar hasta su posterior análisis.

4.4.3 Determinación de polifenoles totales y capacidad antioxidante

➤ **Determinación de polifenoles totales por el método Folin Ciocalteu y curva de calibración**

Para el procedimiento se realizó una dilución del extracto; se tomó 1 mL del extracto y se añadió 10 mL del solvente utilizado en su extracción (metanol o etanol).

De la muestra diluida se tomó 125 μ L en un tubo de ensayo rotulado, se añadió 125 μ L de Folin Ciocalteu y se dejó reposar 5 a 8 minutos.



Transcurrido el tiempo, se adicionaron 3.5 mL de agua destilada y 2.5 mL de una solución de carbonato de sodio, agitando vigorosamente. Se dejó en reposo por 60 minutos en un ambiente oscuro y a temperatura ambiente.

Pasado el tiempo de 60 minutos de reposo, se realizó la lectura de las absorbancias en el espectrofotómetro a 750 nm.

La determinación de polifenoles totales se realizó mediante la siguiente ecuación:

$$PFT \left(\frac{mg \text{ ácido gálico}}{100 g} \right) = \frac{\left[\frac{Abs_{muestra} - A}{B} \right] \times V \times FD \times 100}{1000}$$

Donde:

PFT: Polifenoles totales

Abs_{muestra}: Absorbancia de la muestra

A: Intercepto

B: Pendiente

V: Volumen de extracto

FD: Factor de dilución

Curva de calibración

Para la elaboración de la curva de calibración se utilizó ácido gálico. Se preparó una dilución de ácido gálico con una concentración de 1000 mg EAG/L, la cual representa la solución madre; a partir de esta dilución se prepararon diferentes concentraciones de ácido gálico, tomando volúmenes de 50 mg EAG/L, 100 mg EAG/L, 200 mg EAG/L, 300 mg EAG/L, 400 mg EAG/L y 500 mg EAG/L en tubos de ensayo, los cuales se completaron a un volumen de 1000 mg EAG/L con agua destilada.

Luego se tomó 125 µL de los estándares de calibración y 125 µL de Folin Ciocalteu y se dejó reposar 5 a 8 minutos.



Transcurrido el tiempo, se le adicionó 3.5 mL de agua destilada y 2.5 mL de la solución de carbonato de sodio y agitando vigorosamente, se dejó en reposo 60 minutos en un ambiente oscuro y a temperatura ambiente.

Pasado el tiempo de 60 minutos de reposo, se realizó la lectura de las absorbancias en el espectrofotómetro a 750 nm de longitud de onda (Ver anexo 1).

➤ **Determinación de capacidad antioxidante por el método de DPPH y Curva de calibración**

Para el procedimiento se preparó DPPH 0.1 mM, se pesó 9.858 mg de DPPH y luego se agitó con una píldora hasta su dilución completa con metanol 80 %. Posteriormente se afora en una fiola de 250 mL con metanol 80 %.

En un tubo de ensayo se agregó 220 µL de muestra con 2.8 mL de DPPH y se mantuvo en un lugar oscuro y a temperatura ambiente por 30 minutos.

Transcurrido el tiempo de reposo, se realizó la lectura de absorbancia en el espectrofotómetro a 517 nm de longitud de onda.

Para desarrollar los cálculos de la capacidad antioxidante se utilizó la siguiente fórmula:

$$TEAC\ DPPH \left(\frac{\mu M\ ET}{g} \right) = \left(\frac{ABS_{muestra} - A}{B} \right) \times V$$

Donde:

TEAC: Capacidad Antioxidante Equivalente Trolox

ABS_{muestra}: Absorbancia de la muestra

A: Intercepto

B: Pendiente

V: Volumen de extracto

Curva de calibración

Para el procedimiento se preparó Trolox, en el cual se pesó 25 mg con 100 mL de metanol 80 %.



Se colocó en tubos de ensayo 50 μM ET/g, 100 μM ET/g, 200 μM ET/g, 400 μM ET/g y 600 μM ET/g de la solución y se adicionó a cada uno 2.8 mL de DPPH y se reposó durante 30 minutos en un ambiente oscuro y a temperatura ambiente.

Transcurrido el tiempo, se realizó la lectura de absorbancia en un espectrofotómetro a 517 nm de longitud de onda (Ver anexo 1).

4.5 Técnica, instrumentos, materiales y equipos

4.5.1 Técnica

Todos los ensayos se realizaron por triplicado para obtener resultados veraces; estos resultados fueron sometidos a tratamientos estadísticos. En la presente investigación se determinó la humedad, materia seca y ceniza de las hojas de “Anccoripa” en las cuales se trabajó con la muestra, como también se determinaron polifenoles totales y la capacidad antioxidante de los extractos de las hojas de “Anccoripa”.

4.5.2 Instrumentos de recolección de datos

- Ficha de recolección de datos
- Buscadores académicos

4.5.3 Materiales

- Vasos precipitados 50 mL, 100 mL, 250 mL
- Matraz Erlenmeyer 250 mL de capacidad
- Fiola de 50 mL, 250 mL
- Pipetas de 1mL, 2 mL, 5mL y 10mL
- Micropipetas de 100-1000 μl de capacidad
- Placas Petri
- Crisoles
- Tubos de ensayo de 5 mL y 15 mL
- Gradilla



- Pinzas
- Varilla de vidrio
- Propipeta
- Probeta de 50mL, 100mL y 250mL
- Embudo de vidrio
- Botellas de 150 mL color ambar
- Pizetas
- Papel Watman N° 40

4.5.4 Equipos

- Espectrofotómetro marca PG Instruments Ltd, modelo T80+UV/VIS Spectrometer
- Espectrofotómetro marca THERMO SCIENTIFIC, modelo Genesys 10S UV-VIS spectrophotometer G10S, voltaje 240VAC
- Destilador Soxhlet marca BUCHI Labortechnik AG, 9230 Flawil / Switzerland, tipo B – 811, serie 1000193576, voltaje 230VAC, frecuencia 50 /60 Hz, fuerza 1250 W, fabricada 2015, Made in SWITZERLAND
- Balanza analítica marca Sartorius, modelo Antris224-1S, USA
- Estufa marca MENMERT, modelo UN 30, Alemania
- Mufla marca THERM CONCEPT, tipo KLE 05/11, Tmax 1100°C, voltaje 230V 1/N/PE, fuerza 1,5 kW, frecuencia 50/60Hz, serie 1502103, peso 30kg año 2015
- Refrigeradora marca BOSCH, modelo KDN42BW121/03, voltaje 220VAC
- Destilador de agua marca ELGA, modelo Pc210EVBPM1, voltaje 155VAC
- Agitador magnético marca CAT, modelo M6, serie 60266-00-0156, tipo D-79219 Staufen



4.5.5 Reactivos

- Acido gálico (Spectrum Chemical Mfg. Corp, EE. UU)
- Folin-Ciocalteu (Merck KGaA, Alemania)
- Carbonato de sodio (Merck KGaA, China)
- Trolox (Merck)
- 2,2 – diphenuy - 1 - picryl - hidrazyl - hydrate (DPPH) (Sigma Aldrich)

4.5.6 Solventes

- Metanol 80 %
- Etanol 75 %
- Agua destilada

4.5.7 Otros materiales

- Papel aluminio
- Papel toalla
- Marcadores de tinta indeleble
- Parafilm

4.6 Análisis estadístico

Los resultados se interpretaron en función a las hipótesis de investigación, con un nivel de significancia del 5 %, usando para el método Soxhlet en caliente un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2×2 , y para el método de maceración pasiva un diseño completamente al azar con arreglo factorial $2 \times 2 \times 3$.

El análisis de varianza (ANOVA) y el ranking de Tukey se desarrolló con el programa Software estadístico Minitab 21 y hojas de cálculo Microsoft Excel 16.

CAPÍTULO V

RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1 Análisis de resultados

5.1.1 Contenido de la humedad, materia seca y ceniza de las hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*)

En la Tabla 4, se muestran el contenido de humedad, materia seca y ceniza de las hojas de “Anccoripa”.

Tabla 4 — Humedad, ceniza y materia seca de hojas de “Anccoripa”(Senecio canescens) por cada 100 g

Composición (%)	Valor ($\bar{X} \pm SD$)
Humedad	8.49 \pm 0.21
Materia seca	91.51 \pm 0.21
Ceniza	7.58 \pm 0.14

5.1.2 Determinación del contenido de polifenoles totales (PFT) y capacidad antioxidante (CA) en el método Soxhlet en caliente

5.1.2.1 Determinación de polifenoles totales (PFT)

En la Tabla 5, se muestran los resultados obtenidos de la determinación de polifenoles totales en los 4 tratamientos, expresados en media y desviación estándar ($\bar{X} \pm SD$).

El valor más alto del contenido de polifenoles totales se obtiene con el tratamiento 2: etanol 75 % y la relación materia prima-solvente 1/20 (4806.76 \pm 49.28 mg EAG/100 g b.s); mientras que el tratamiento 4: metanol 80 % y la relación materia prima-solvente 1/20 (3142.10 \pm 38.38 mg EAG/100 g b.s) es el valor más bajo con respecto a los demás tratamientos, como se detalla en la Tabla 5.

El estadístico R-cuadrado ajustado del modelo fue de 99.71%.



Tabla 5 — Polifenoles totales (mg EAG/100 g b.s)

Tratamientos	Tipo de solvente	Relación materia prima-solvente	PFT (mg EAG/100 g b.s)
T1	Etanol 75 %	1/15	4359.09 ± 26.35
T2	Etanol 75 %	1/20	4806.76 ± 49.28
T3	Metanol 80 %	1/15	3697.96 ± 21.68
T4	Metanol 80 %	1/20	3142.10 ± 38.38

PFT: Miligramos equivalente de ácido gálico por 100 gramos de muestra en base seca

Gráficamente los resultados del contenido de polifenoles totales se muestran en la Figura 12, donde se observa la influencia del tipo de solvente y la relación materia prima solvente.

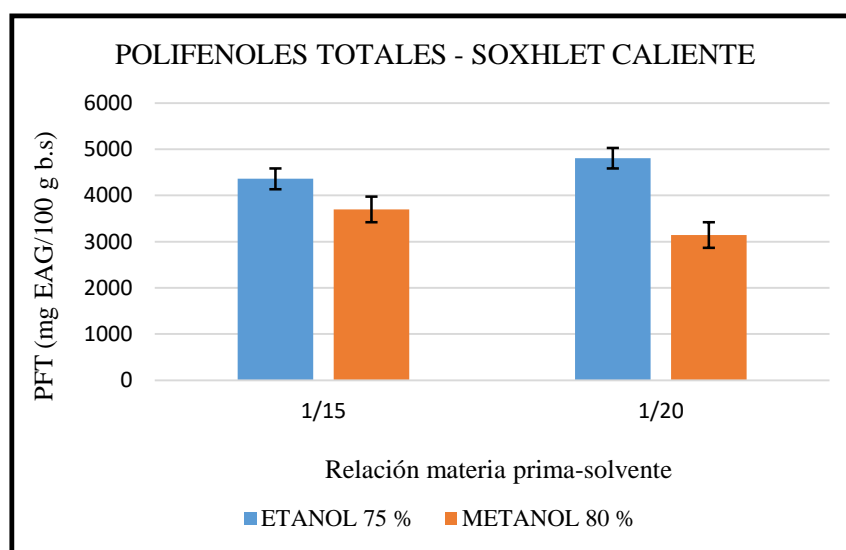


Figura 12 — Comparación de resultados en la extracción de polifenoles totales mediante el método Soxhlet en caliente

El Anexo 3, muestra el Análisis de Varianza (ANOVA) del contenido de polifenoles totales, el cual indica que existe diferencia significativa en la interacción del tipo de solvente y relación materia prima solvente en todos los tratamientos, siendo el p-valor 0.000 menor a 0.05.

Al aplicar la comparación de medias por el test Tukey, se observa que el T2 (etanol 75 % y la relación materia prima-solvente 1/20) presentó el mayor contenido de polifenoles totales, mientras que el T4 (metanol 80 % y la relación materia prima-solvente 1/20) presentó el menor contenido de polifenoles totales (Ver anexo 3).

5.1.2.2 Determinación de capacidad antioxidante (CA)

En la Tabla 6, se muestran los resultados obtenidos de la capacidad antioxidante en los 4 tratamientos, expresados en media y desviación estándar ($\bar{X} \pm SD$).

El valor más alto de capacidad antioxidante se obtiene con el tratamiento 4: metanol 80 % y la relación materia prima-solvente 1/20 ($2725.79 \pm 13.66 \mu\text{g ET/g b.s}$); mientras que el tratamiento 1: solvente etanol 75 % y relación materia prima-solvente 1/15 ($1928.24 \pm 18.88 \mu\text{g ET/g b.s}$), es el valor más bajo con respecto a los demás tratamientos, como se detalla en la Tabla 5.

El estadístico R-cuadrado ajustado del modelo estadístico es de 99.84%.

Tabla 6 — Capacidad antioxidante CA ($\mu\text{g ET/g b.s}$) de polifenoles totales

Tratamientos	Tipo de solvente	Relación materia prima-solvente	CA ($\mu\text{g ET/g b.s}$)
T1	Etanol 75 %	1/15	1928.24 ± 18.88
T2	Etanol 75 %	1/20	2541.39 ± 15.65
T3	Metanol 80 %	1/15	1959.83 ± 9.23
T4	Metanol 80 %	1/20	2725.79 ± 13.66

CA: Capacidad antioxidante; $\mu\text{g ET/g b.s}$: Microgramo equivalente de Trolox por gramo de muestra en base seca.

Gráficamente, los resultados de capacidad antioxidante se muestran en la Figura 13, donde se observa la diferencia de los tratamientos en la determinación de capacidad antioxidante.

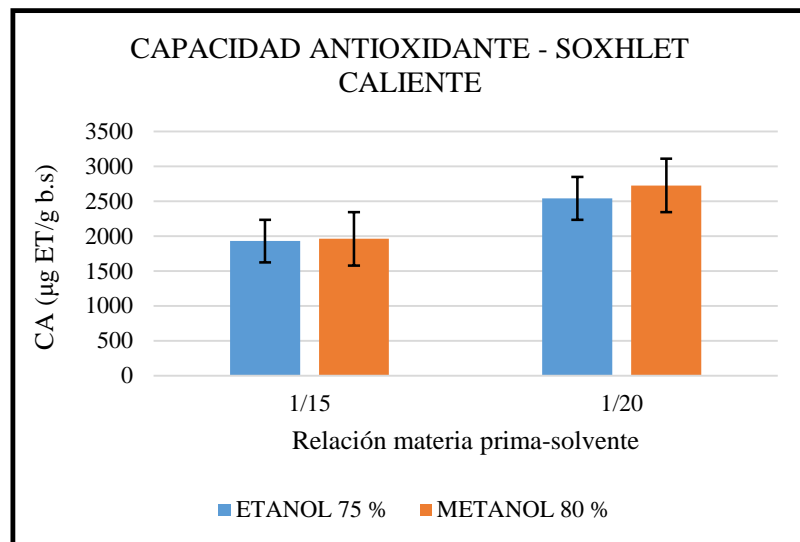


Figura 13 — Comparación de resultados en la capacidad antioxidante mediante el método Soxhlet en caliente

El Anexo 4, muestra el Análisis de Varianza (ANOVA) de la capacidad antioxidante, el cual indica que existe diferencia significativa en la interacción del tipo de solvente y relación materia prima solvente en todos los tratamientos, siendo el p-valor 0.000 menor a 0.05.

Al aplicar la comparación de medias por el test Tukey, se observa que el T4 (metanol 80 % y la relación materia prima-solvente 1/20) presentó mayor capacidad antioxidante, mientras que el T1 (etanol 75 % y la relación materia prima-solvente 1/15) presentó menor capacidad antioxidante (Ver anexo 4).

5.1.3 Determinación del contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante por el método maceración pasiva

5.1.3.1 Determinación del contenido de polifenoles totales (PFT)

En la Tabla 7, se muestran los resultados de la determinación de polifenoles totales en los 12 tratamientos, expresados en media y desviación estándar ($\bar{X} \pm SD$).

El valor más alto del contenido de polifenoles totales se obtiene con el tratamiento 5: etanol 75 %, relación materia prima-solvente 1/20 y tiempo de maceración 6 días (5138.24 ± 43.71 mg EAG/100 g b.s.); mientras que el resultado más bajo está representado con el tratamiento

9: metanol 80 %, relación materia prima-solvente 1/15 y tiempo de maceración 9 días (3594.14 ± 20.63 mg EAG/100 g b.s), que es el valor más bajo con respecto a los demás tratamientos, como se detalla en la Tabla 7.

El estadístico R-cuadrado ajustado del modelo estadístico es de 99.49%.

Tabla 7 — Polifenoles totales (mg EAG/100 g b.s)

Tratamientos	Tipo de solvente	Relación materia prima-solvente	Tiempo de maceración	PFT (mg EAG/100 g b.s)
T1	Etanol 75 %	1/15	3 días	4345.43 ± 37.56
T2	Etanol 75 %	1/15	6 días	4465.63 ± 12.52
T3	Etanol 75 %	1/15	9 días	4413.73 ± 42.06
T4	Etanol 75 %	1/20	3 días	4741.19 ± 31.55
T5	Etanol 75 %	1/20	6 días	5138.24 ± 43.71
T6	Etanol 75 %	1/20	9 días	4803.12 ± 51.64
T7	Metanol 80 %	1/15	3 días	3848.21 ± 36.96
T8	Metanol 80 %	1/15	6 días	3676.10 ± 25.04
T9	Metanol 80 %	1/15	9 días	3594.14 ± 20.63
T10	Metanol 80 %	1/20	3 días	4030.89 ± 22.75
T11	Metanol 80 %	1/20	6 días	4464.36 ± 25.24
T12	Metanol 80 %	1/20	9 días	4070.96 ± 16.69

PFT: Polifenoles totales; mg EAG/100 g b.s: Miligramos equivalente de ácido gálico por 100 gramos de muestra en base seca.

Gráficamente los resultados del contenido de polifenoles totales se muestran en la Figura 14, donde se observa la diferencia de los tratamientos en la extracción de polifenoles totales.

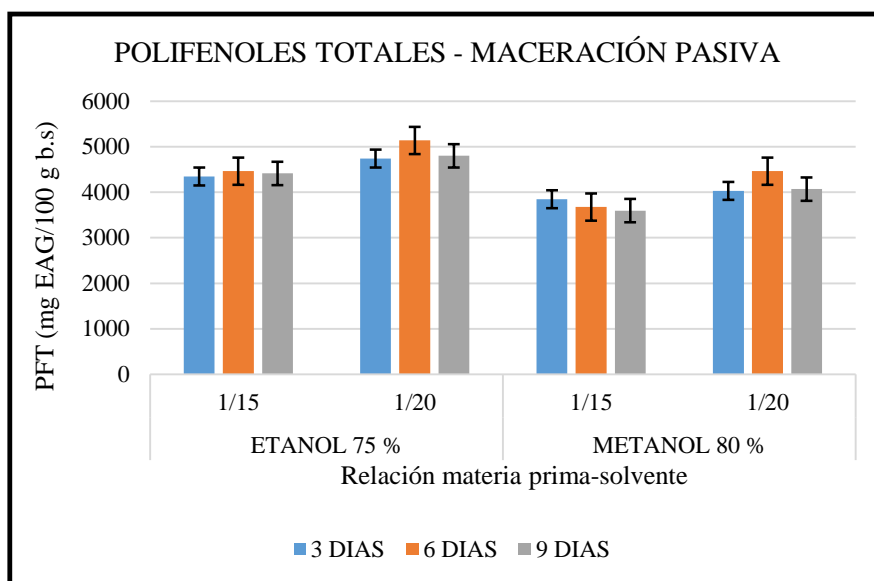


Figura 14 — Comparación de resultados en la extracción de polifenoles totales mediante el método maceración pasiva

En el Anexo 5, muestra el Análisis de Varianza (ANOVA) del contenido de polifenoles totales, el cual indica que existe diferencia significativa en la interacción del tipo de solvente, relación materia prima-solvente y el tiempo de maceración en todos los tratamientos, siendo el p-valor 0.000 menor a 0.05.

Al aplicar la comparación de medias por el test Tukey, se observa que el T5 (etanol 75 %, relación materia prima-solvente 1/20 y tiempo de maceración 6 días) presentó el mayor contenido de polifenoles totales, mientras que el T9 (metanol 80 %, relación materia prima-solvente 1/15 y 9 días) presentó el menor contenido de polifenoles totales (Ver anexo 5).

5.1.3.2 Determinación de capacidad antioxidante (CA) de polifenoles totales obtenidos mediante el método maceración pasiva

En la Tabla 8, se muestran los resultados obtenidos de la capacidad antioxidante en los 12 tratamientos, expresados en media y desviación estándar ($\bar{X} \pm SD$).

El valor más alto de capacidad antioxidante se obtiene con el tratamiento 10: metanol 80 %, relación materia prima-solvente 1/20, y tiempo de maceración 3 días ($2722.38 \pm 13.66 \mu\text{g ET/g b.s.}$); mientras que en el

tratamiento 8: metanol 80 %, relación materia prima-solvente 1/15 y tiempo de maceración 6 días ($1888.11 \pm 15.37 \mu\text{g ET/g b.s}$), es el valor más bajo con respecto a los demás tratamientos, como se detalla en la Tabla 8.

El estadístico R-cuadrado ajustado del modelo estadístico es de 99.82%.

Tabla 8 — Capacidad antioxidante CA ($\mu\text{g ET/g b.s}$) mediante el método de maceración pasiva

Tratamientos	Tipo de solvente	Relación materia prima-solvente	Tiempo de maceración	CA ($\mu\text{g ET/g b.s}$)
T1	Etanol 75 %	1/15	3 días	1992.27 ± 10.35
T2	Etanol 75 %	1/15	6 días	1960.68 ± 12.63
T3	Etanol 75 %	1/15	9 días	1952.14 ± 6.78
T4	Etanol 75 %	1/20	3 días	2605.13 ± 16.14
T5	Etanol 75 %	1/20	6 días	2545.94 ± 18.81
T6	Etanol 75 %	1/20	9 días	2593.75 ± 12.93
T7	Metanol 80 %	1/15	3 días	1925.68 ± 21.33
T8	Metanol 80 %	1/15	6 días	1888.11 ± 15.37
T9	Metanol 80 %	1/15	9 días	1956.41 ± 16.47
T10	Metanol 80 %	1/20	3 días	2722.38 ± 13.66
T11	Metanol 80 %	1/20	6 días	2578.95 ± 15.65
T12	Metanol 80 %	1/20	9 días	2659.77 ± 7.11

CA: Capacidad antioxidante; $\mu\text{g ET/1g b.s}$: Microgramo equivalente de Trolox por gramo de muestra en base seca.

Gráficamente, los resultados de capacidad antioxidante se muestran en la Figura 15, donde se observa la diferencia de los tratamientos en la capacidad antioxidante.

El Anexo 6, muestra el Análisis de Varianza (ANOVA) de las medias de la capacidad antioxidante, el cual indica que existe diferencia significativa en la interacción del tipo de solvente, relación materia prima-solvente y tiempo de maceración en todos los tratamientos, siendo el p-valor 0.000 menor a 0.05.

Al aplicar la comparación de medias por el test Tukey, se observa que el T10 (metanol 80 %, relación materia prima-solvente 1/20 y tiempo de maceración 3 días) presentó mayor capacidad antioxidante, mientras que el T8 (metanol 80 %, relación materia prima-solvente 1/15 y tiempo de maceración 6 días) presentó menor capacidad antioxidante (Ver anexo 6).

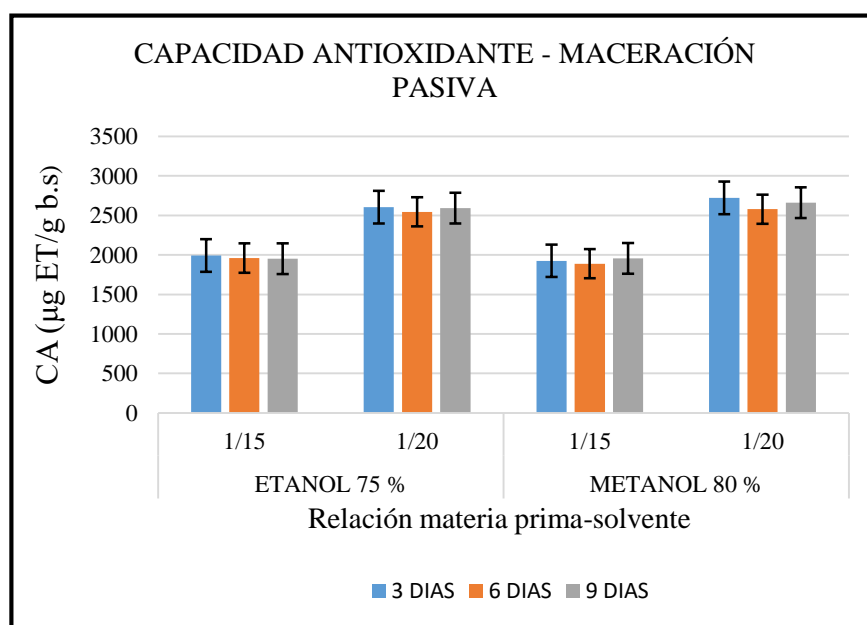


Figura 15 — Comparación de resultados en la capacidad antioxidante mediante el método maceración pasiva

5.1.4 Comparación del contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante en los métodos Soxhlet caliente y maceración pasiva

5.1.4.1 Comparación del contenido de polifenoles totales

El Anexo 7, el Análisis de Varianza (ANOVA) de las medias de los polifenoles totales (mg EAG/100 g b.s), indicaron que existe diferencia significativa entre el método Soxhlet caliente y maceración pasiva, siendo el p-valor 0.000 menor a 0.05.

Al aplicar la comparación de medias por el test Tukey, se observa que el método con maceración pasiva (etanol 75 %, relación materia prima-solvente 1/20) presentó la mayor cantidad polifenoles totales (Ver anexo 7).



5.1.4.2 Comparación de la capacidad antioxidante

El Anexo 8, el Análisis de Varianza (ANOVA) de las medias de la capacidad antioxidante ($\mu\text{g ET/g b.s}$), indicaron que no existe diferencia significativa entre el método Soxhlet caliente y maceración pasiva, siendo el p-valor 0.104 mayor a 0.05.

5.2 Contrastación de hipótesis (si corresponde)

Hipótesis general: Los diferentes métodos de extracción influyen en el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante en extractos de hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*) provenientes del distrito de Oropesa, provincia de Antabamba.

5.2.1 Método Soxhlet en caliente

Hipótesis específica 1

- El método Soxhlet en caliente influye en el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante en extractos de hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*).

Ho: En el método Soxhlet en caliente, no influyen el tipo de solvente (metanol 80 % y etanol 75 %) y la relación materia prima solvente (1/15 y 1/20) en el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante.

Ha: En el método Soxhlet en caliente, influye el tipo de solvente (metanol 80 % y etanol 75 %) y la relación materia prima solvente (1/15 y 1/20) en el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante.

Nivel de significancia: $\alpha = 0.05$

$$p\text{-valor} < 0.05$$

Se rechaza la Ho, si $p\text{-valor} < \alpha$, y se acepta la Ha.

De acuerdo a los resultados obtenidos, existe una diferencia significativa en el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante, en la interacción del tipo de solvente y la relación materia prima solvente. Siendo el p-valor menor a 0.05, por tanto, se acepta la Ha y se rechaza la Ho (Ver anexo 3).



5.2.2 Método maceración pasiva

Hipótesis específica 2

- El método maceración pasiva, influye en el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante en extractos de hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*).

Ho: En el método maceración pasiva, no influye el tipo de solvente (metanol 80 % y etanol 75 %), la relación materia prima solvente (1/15 y 1/20) y el tiempo de maceración (3, 6 y 9 días) en el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante.

Ha: En el método maceración pasiva, influye el tipo de solvente (metanol 80 % y etanol 75 %), la relación materia prima solvente (1/15 y 1/20) y el tiempo de maceración (3, 6 y 9 días) en el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante.

Nivel de significancia: $\alpha = 0.05$

$$p\text{-valor} < 0.05$$

Se rechaza la Ho, si $p\text{-valor} < \alpha$, y se acepta la Ha.

De acuerdo a los resultados obtenidos, existe una diferencia significativa en el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante, en la interacción del tipo de solvente, la relación materia prima solvente y el tiempo de maceración. Siendo el p-valor menor a 0.05, por tanto, se acepta la Ha y se rechaza la Ho (Ver anexo 5).

5.2.3 Método de extracción

Hipótesis específica 3

- El contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante varía de acuerdo al método de extracción Soxhlet en caliente y maceración pasiva.

Ho: Entre el método Soxhlet en caliente y maceración pasiva, no hay diferencia significativa en el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante.

Ha: Entre el método Soxhlet en caliente y maceración pasiva, existe diferencia significativa en el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante.

Nivel de significancia: $\alpha = 0.05$

p-valor < 0.05

Se rechaza la H_0 , si p-valor < α , y se acepta la H_a .

De acuerdo a los resultados obtenidos, existe una diferencia significativa en el contenido de polifenoles totales, entre el método de extracción Soxhlet en caliente y maceración pasiva. Siendo el p-valor menor a 0.05, por tanto, se acepta la H_a y se rechaza la H_0 (Ver anexo 7). Por otro lado, en la capacidad antioxidante, no existe una diferencia significativa, siendo el p-valor mayor a 0.05(Ver anexo 8).

5.3 Discusión

- **Tipo de solvente**

Según los resultados obtenidos en esta investigación, se observa una diferencia significativa en la extracción de polifenoles totales y en la determinación de la capacidad antioxidante al utilizar diferentes solventes. En el estudio se emplearon etanol al 75 % y metanol al 80 %, los cuales presentan distintas polaridades, siendo el metanol más polar que el etanol. Esta característica de polaridad se ha relacionado con la eficacia en la extracción de compuestos polares, como los polifenoles; en este sentido, se ha establecido que, a mayor polaridad del solvente, más favorable es la extracción de polifenoles (BEDOYA et al., 2022).

Los hallazgos indican que la extracción más eficiente de polifenoles totales se logró utilizando etanol, mientras que la determinación de la capacidad antioxidante fue más efectiva con metanol. Esta discrepancia puede atribuirse a la presencia de un polifenol en particular en los extractos de las hojas de "Anccoripa", el cual posee una mayor capacidad antioxidante y, por ende, una mayor polaridad en comparación con otros polifenoles presentes.

En un estudio llevado a cabo por Türkmen et al., (2006), se reportó que el tipo de disolvente utilizado para la extracción tiene un impacto significativo en el contenido

de polifenoles y la actividad antioxidante en extractos obtenidos con solventes menos polares.

En conclusión, la capacidad antioxidante está estrechamente relacionada con la polaridad del solvente utilizado, dado que los tratamientos en los que se obtuvo una mayor capacidad antioxidante se realizaron con metanol. Estos resultados subrayan la importancia de seleccionar adecuadamente el tipo de solvente para optimizar la extracción de compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes.

- **Relación materia prima solvente**

Los resultados obtenidos en esta investigación indican que la mayor extracción de polifenoles totales y la determinación de la capacidad antioxidante se lograron con una relación materia prima-solvente de 1:20 (m/v). Esta configuración se considera óptima, ya que favorece la transferencia de masa. Valdés et al., (2015) explican que una mayor relación entre materia prima y solvente beneficia las variables de respuesta, dado que, a mayor proporción, se optimiza la capacidad extractiva de los solventes y se evita la saturación prematura del mismo. Como consecuencia, se logra una mayor concentración del analito de interés, en este caso, la extracción de polifenoles totales y la determinación de la capacidad antioxidante.

Es importante señalar que el comportamiento de esta relación podría seguir aumentando, lo que sugiere que la condición óptima podría encontrarse en valores superiores a los evaluados. Por lo tanto, sería pertinente realizar estudios adicionales que incluyan más niveles de investigación para identificar el valor óptimo de capacidad extractiva.

- **Tiempo de maceración**

Los datos obtenidos en relación con el tiempo de maceración indican que tanto la extracción de polifenoles totales como la capacidad antioxidante se desarrollan de manera más efectiva en un tiempo de maceración reducido. Aunque se podría suponer que un aumento en el tiempo de maceración incrementaría la cantidad de polifenoles extraídos y mejoraría la capacidad antioxidante, Soria (2016) señala que existe un punto de saturación. Al prolongar el tiempo de maceración más allá de este punto, no se observa un aumento significativo en la cantidad de polifenoles, ya que un tiempo excesivo de maceración puede llevar a la degradación de algunos compuestos antioxidantes. Estos hallazgos destacan la importancia de optimizar tanto la relación

materia prima-solvente como el tiempo de maceración para maximizar la extracción de compuestos bioactivos.

- **Método Soxhlet**

Vargas (2018) comparó el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante en tres especies del género *Senecio*: *S. adenophylloides* Sch. Bip., *S. graveolans* Weed y *S. collinus* DC. La extracción se llevó a cabo utilizando un equipo Soxhlet con metanol al 80 %, obteniendo los siguientes resultados: el contenido de fenoles totales en *S. adenophylloides* Sch. Bip. fue de $63,07 \pm 0,25$ mg de equivalente de ácido gálico (EGA)/g de droga seca; en *S. graveolans* Weed, $40,55 \pm 1,01$ mg EGA/g de droga seca; y en *S. collinus* DC, $30,47 \pm 0,45$ mg EGA/g de droga seca. En cuanto a la capacidad antioxidante, los resultados fueron: *S. adenophylloides* Sch. Bip. ($498,07 \pm 2,99$ $\mu\text{mol/g}$ de muestra seca), *S. graveolans* Weed ($398,76 \pm 1,91$ $\mu\text{mol/g}$ de muestra seca) y *S. collinus* DC ($355,70 \pm 9,7$ $\mu\text{mol/g}$ de muestra seca). En contraste, en el presente estudio se evaluó la extracción de polifenoles totales y la capacidad antioxidante mediante el método Soxhlet en caliente. Se obtuvieron resultados para polifenoles totales con metanol al 80 % y una relación materia prima-solvente de 1:15, que presentó $3697,96 \pm 21,68$ mg EAG/100 g de materia seca. El tratamiento con etanol al 75 % y la relación materia prima-solvente de 1:20 permitió la máxima extracción de polifenoles totales, alcanzando $4806,76 \pm 43,71$ mg EAG/100 g de materia seca. Respecto a la capacidad antioxidante, el tratamiento con metanol al 80 % y una relación materia prima-solvente de 1:20 resultó en la máxima capacidad antioxidante, con un valor de $2725,80 \pm 13,66$ μg de extracto total (ET)/g de materia seca.

- **Maceración pasiva**

Los resultados obtenidos mediante el método de maceración pasiva, utilizando una relación materia prima-solvente de 1:20 y un tiempo de maceración de 6 días con etanol al 75 %, mostraron un contenido de polifenoles totales de $5138,24 \pm 43,71$ mg EAG/100 g de materia seca. En el caso del uso de metanol al 80 %, se obtuvo un contenido de $4464,36 \pm 25,24$ mg EAG/100 g de materia seca. Estos resultados superan los reportados por Aguilar (2023), quien estudió la capacidad antioxidante de extractos de hojas de *Senecio rufescens* mediante el método de maceración, utilizando una relación materia prima-solvente de 1:10 y agitación magnética durante 8 horas. Con etanol al 80 %, reportó $125,03 \pm 6,15$ mg GAE/g de extracto de fenoles totales, y con metanol, $64,5 \pm 1,17$ mg GAE/g de extracto. Esto sugiere que la extracción óptima de polifenoles totales en el método de maceración se logra con etanol como solvente.



Asimismo, Aguilar et al. (2020) determinaron la capacidad antioxidante del extracto metanólico de las hojas de *Senecio rufescens*, obteniendo un valor de $529,80 \pm 14,30$ μ moles ET/g de extracto en el ensayo de DPPH. En contraste, en la presente investigación, los resultados de la capacidad antioxidante del método de maceración pasiva con el extracto metanólico, considerando factores como el tipo de solvente (metanol al 80 %), la relación materia prima-solvente (1:20) y el tiempo de maceración (3 días), fueron de $2722,38 \pm 13,66$ μ g ET/g de materia seca.

Por otro lado, los resultados obtenidos en el método de maceración pasiva, con una relación materia prima-solvente de 1:20 y un tiempo de maceración de 6 días utilizando metanol al 80 %, fueron de $4464,36 \pm 25,24$ mg EAG/100 g de materia seca. Estos datos difieren de los obtenidos por Palomino et al. (2023), quienes determinaron el contenido de compuestos fenólicos en un extracto metanólico de *Senecio oreophyton* J. (chachacoma blanca) mediante el método de maceración con una relación materia prima-solvente de 1:5 durante 15 días, reportando un contenido de fenoles totales de 382,71 mg equivalente de ácido gálico/g de extracto. Estos resultados sugieren que el tiempo de maceración en la especie *Senecio* tiene un efecto significativo en la determinación del contenido de polifenoles totales.

En la investigación llevada a cabo por García (2023), se determinó el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante de extractos de hojas de *Senecio nutans* Sch. Bip. ("wiska taya") mediante maceración durante un periodo de 15 días, utilizando como solvente alcohol al 96 % y una agitación periódica para optimizar la extracción de metabolitos. Los resultados mostraron un contenido de fenoles totales de $620,68 \pm 4,30$ mg GAE/g de extracto, mientras que la capacidad antioxidante, expresada en μ moles ET/g de muestra, fue de $800,11 \pm 2,53$.

En el estudio realizado por Huamani (2020), se investigaron las hojas de *Senecio nutans*, conocidas como "chachacoma". El método para obtener el extracto fue la maceración con alcohol al 96 %, reportando un contenido de polifenoles totales de 67,9 mg EAG/100 g de extracto seco. En comparación con los resultados obtenidos en esta investigación, el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de los extractos estudiados son considerablemente más bajos en comparación con los de *Senecio canescens*. En el presente estudio, los resultados para polifenoles totales indicaron que el tratamiento con etanol al 75 %, una relación materia prima-solvente de 1:20 y un tiempo de maceración de 6 días permitieron la máxima extracción, alcanzando $5138,24 \pm 43,71$ mg EAG/100 g de materia seca.



Los solventes empleados (etanol al 75 % y metanol al 80 %), los métodos de extracción (Soxhlet en caliente y maceración pasiva), los tiempos de maceración (3, 6 y 9 días) y las relaciones materia prima-solvente (1:15 y 1:20) utilizados en la presente investigación influyen significativamente en la extracción de polifenoles totales y en la posterior determinación de la capacidad antioxidante en la muestra de *Senecio canescens* obtenida del distrito de Totorá Oropesa, provincia de Antabamba.



CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

El mayor contenido de polifenoles totales en el método Soxhlet en caliente de extractos de hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*) se desarrolló con el tratamiento T2 (4806.7606 ± 43.7111 mg EAG/100 g b.s.) cuyo valor es el más alto en comparación a los tratamientos T1, T3 y T4, y cuya capacidad antioxidante con el T4 (2725.7950 ± 13.6597 μ g ET/g b.s.) siendo el valor más alto en comparación a los tratamientos T1, T2 y T3.

El mayor contenido de polifenoles totales en el método maceración pasiva de extractos de hojas de “Anccoripa” (*Senecio canescens*) fue con el tratamiento T5 (5138.2363 ± 43.7111 EAG/100 g b.s.) en comparación a los tratamientos T1, T2, T3, T4, T6, T7, T8, T9, T10, T11 y T12; la capacidad antioxidante más alta se desarrolló con el tratamiento T10 (2722.3801 ± 13.6597 μ g ET/g b.s.) siendo el valor más alto en comparación a los demás tratamientos (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T11 y T12).

Respecto a los métodos de extracción Soxhlet en caliente y maceración pasiva, el método de maceración pasiva permite la mayor extracción de polifenoles totales en comparación al método Soxhlet en caliente; por otro lado, el método Soxhlet en caliente y maceración pasiva estadísticamente son iguales, por lo que el uso de uno u otro método nos permitirán la misma capacidad antioxidante.

6.2 Recomendaciones

- Realizar investigaciones utilizando los métodos DPPH y Folin Ciocalteu en otras áreas de la especie (*Senecio canescens*) tales como raíces, hojas y flores, con el fin de determinar la cantidad de polifenoles totales y capacidad antioxidante.
- Determinar cómo el periodo vegetativo afecta el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de las hojas de “Anccoripa”.



- Es necesario continuar el estudio de aislamiento y purificación de cada uno de los tipos de polifenoles que presentan mayor capacidad antioxidante para poder formularlos como posibles fármacos en un futuro, ya que las sustancias naturales presentes en los extractos analizados pueden ser responsables del efecto antioxidante.
- Realizar una comparación fitoquímica del “Anccoripa” (*Senecio canescens*) en estado fresco y seco.
- Incentivar la conservación y uso responsable de esta especie, ya que es un recurso natural prometedor.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILAR FELICES, Enrique Javier. 2023. Actividad antiinflamatoria, capacidad antioxidante y toxicidad de compuestos fenólicos del extracto hidroalcohólico de hojas de *Senecio rufescens* DC. Lima : Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2023.

ANGULO, MAITE y CEDEÑO, Josselyn . 2023. Evaluación de dos métodos de extracción a partir de tres plantas silvestres por dos tipos de cromatografía. Calceta : Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, 2023.

ARAGÓN, Zulma, DUQUE, Beatriz y BOLUDA, Carlos. 2005. Lignanos (1): estructura y funciones en las plantas. España : Universidad de la Laguna, 2005. 1576-0952.

AZWANIDA, N. N. 2015. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. s.l. : Med Aromat Plants, 2015. 2167-0412.

BEDOYA, Juan, y otros. 2022. Extracción de antioxidantes de los arándanos (*Vaccinium corymbosum*): efecto de solventes verdes sobre polifenoles totales, capacidad antioxidante y comportamiento electroquímico. Medellín : TecnoLógicas, 2022. 2256-5337.

BELTRAN, Hamilton y ROQUE, José . 2015. El género *Senecio* L. (Asteraceae-Senecioneae) en el departamento de Lima, Perú. Lima : Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2015. 2413-3299.

Capacidad antioxidante de extractos obtenidos de las hojas de *Senecio rufescens* DC. AGUILAR, ENRIQUE, BONILLA, PABLO y ENCISO, Edwin. 2020. 4, Ayacucho : Revista de la Sociedad Química del Perú, 2020, Vol. 86. 1810-634X.

CARBAJAL, Catherine y RAMÍREZ, Ingrid. 2018. Evaluación del efecto antiinflamatorio y analgésico del extracto *Culcitium canescens* (HUMB & BONPL) "VIRA VIRA" en animales de experimentación. Arequipa : Universidad Católica de Santa María, 2018.

CASTAÑEDA, Benjamín , IBÁÑEZ, Lucy y RAMOS, Eva. 2008. Evaluación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas. Lima : Horiz Med, 2008. 2227-3530.

COVA, Viviana. 2018. Soluciones acuosas. Argentina : Universidad Nacional del Litoral, 2018.

CRIADO, Carolina y Moya, Manuel. 2009. Vitaminas y Antioxidantes. Madrid : Departamento de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid, 2009.

DENG, Jing , CHENG, Wangyuan y YANG, Guangzhong. 2011. A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. s.l. : Food Chemistry, 2011. 0308-8146.

ESSALUD. 2016. Guía metodológica de preparados fitofarmacéuticos. Lima, Perú : s.n., 2016. Estructura química de compuestos fenólicos del extracto etanólico de hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts "panisara". TOCHE, Analucía, y otros. 2017. 3, Lima : Revista Peruana Medicina Integrativa, 2017, Vol. 2. 2415 - 2692.



FIGUEROA ALVARADO, Teresa Hilda. 2019. Capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en las hojas de *Senecio canescens* (wira wira). Universidad Católica los Angeles Chimbote. Trujillo, Perú : Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, 2019.

FORBES, Tamara, y otros. 2020. Capacidad antioxidante total de la dieta vs. balance redox. Ecuador : Revista de Ciencias de la Salud QhaliKay, 2020. 2588-0608.

GARCÍA, Alfredo. 2023. Capacidad antioxidante de extractos de hojas de *Senecio nutans* Sch. Bip. “wiska taya”. Ayacucho, 2021. Ayacucho : Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, 2023.

GARCÍA, Eva, FERNÁNDEZ, Isabel y FUENTES, Ana. 2015. Determinación de polifenoles totales por el método de FolinCiocalteu. España : Universidad Politécnica de Valencia, 2015.

GONZÁLEZ, Héctor, HERNANDEZ, José de Jesús y HENDRIK, Jan. 2020. Metanol: tolerancias y exigencias en las normas para mezcal y bebidas de agave. Chile : RIVAR (Santiago), 2020. 0719-4994.

GUARDADO, BRENDA LISSETT y MIRANDA, Rene Francisco. 2009. Elaboración de una guía practica para determinar la solubilidad de las sustancias basándose en el tipo de enlace químico y de acuerdo a la posición de los elementos en la tabla periódica. El Salvador : Universidad de el Salvador, 2009.

GUTTERIDGE, John MC y BARRY, Halliwell. 2015. Radicales libres en biología y medicina. Inglaterra, Reino Unido : Oxford Academic, 2015. 9780191802133.

HERNÁNDEZ, Roberto, FERNÁNDEZ, Carlos y BAPTISTA, María del Pilar. 2014. Metodología de la investigacion. México D.F. : McGRAW-HILL, 2014. 978-1-4562-2396-0.

HOSCOBEK, Ladislav. 2017. BOTANY.cz. [En línea] 27 de 10 de 2017. [Citado el: 29 de 07 de 23.] <https://botany.cz/cs/senecio-macrocephalus/>.

HUAMANI, Cristhian. 2020. Estudio fotoquímico de polifenoles totales y determinación de la actividad antioxidante por tres diferentes métodos del extracto etanólico de las partes aéreas de *Senecio nutans* “Chachacoma”. Ica : Universidad Nacional San Luis Gonzaga, 2020.

JAIME, María José. 2021. Revisión bibliográfica sobre nuevas técnicas de obtención de extractos a partir de sustratos vegetales. Badajoz : Universidad de Extremadura, 2021.

MATTHIES, Anastasia, y otros. 2008. Conversion of Daidzein and Genistein by an Anaerobic Bacterium Newly Isolated from the Mouse Intestine. s.l. : Applied and Environmental Microbiology, 2008. 4847–4852.

MORALES, Xochitl. 2013. Los disolventes en la química verde. México : Instituto Politécnico Nacional, 2013.

PALAZÓN, J., CUSIDÓ, R. M. y MORALES, C. 2001. Metabolismo y significación biológica de los polifenoles del vino. España : Revista de Enología Científica y Profesional, 2001. 1697-4123.



PALOMINO, Zuly y TABOADA, María. 2023. Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante del extracto metanólico de las partes aéreas de *Senecio oreophyton* j. (chachacoma blanco). Lima : Universidad María Auxiliadora, 2023.

PEKAL, Anna y PYRZYNSKA, Krystyna. 2013. Application of free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) to estimate the antioxidant capacity of food samples. s.l. : Analysis Methods, 2013. 4288-4295.

POWERS, Scott K. y SOLLANEK, Kurt J. 2014. Ejercicio de resistencia y suplementación con antioxidantes: ¿Tiene sentido o no? Florida : s.n., 2014. Vol. 27, 137, págs. 1-4.

QUESADA, Alonso. 2008. Las plantas medicinales. Costa Rica : Revista Biocenosis, 2008.

QUIÑONES, M., MIGUEL, M. y ALEIXANDRE, A. 2011. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. Madrid : Nutrición Hospitalaria, 2011. 1699-5198.

QUISPE, Richard y RAMÍREZ, Ernesto. 2014. Determinación de la actividad antiinflamatoria e identificación del flavonol en el extracto etanólico de las hojas de *Senecio canescens* (H.B.K) Cuatrecasas "huila huila". Lima, Perú : Universidad Wiener, 2014.

RAMÍREZ, Ingrid María. 2004. Efecto de la administración oral de extractos vegetales con actividad antioxidante, sobre los niveles sanguíneos de glutatión peroxidasa en la rata. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala : 2004.

RAMÍREZ, Kenedy, y otros. 2020. *Culcitium canescens* Humb. & Bonpl.(Asteraceae): una revisión etnobotánica, etnofarmacológica y fitoquímica. Trujillo-Lima : Ethnobotany Research & Applications, 2020.

RECINOS, Gustavo Adolfo. 2004. Evaluación del rendimiento de concretos obtenidos en la secuencia extractiva por lixiviación mediante técnica Soxhlet con tres solventes (hexano, etanol y agua) a partir de frutos de arrayán (*Myrica cerifera* L.). Guatemala : Universidad de San Carlos de Guatemala, 2004.

RODRÍGUEZ, Ricardo. 2008. Caracterización de ácidos fenólicos y flavonoides presentes en hojas de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.). San Luis Potosí, México : Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., 2008.

SALAMANCA, Mónica y SANCHEZ, Marilly. 2009. Extracción y caracterización de la oleorresina del orégano (*Origanum vulgare*). Pereira : Universidad Tecnológica de Pereira, 2009.

SALAZAR, Alberto. 2022. Necesidad de inclusión de la enseñanza de medicina no convencional en la medicina convencional para la región de Sudamérica. Lima : Universidad de San Martín de Porres, 2022. 1727-558X.

SÁNCHEZ LLAMOSAS, Miguel Jesús y ANICAMA PARIONA, Nataly Esther. 2015. Contenido de polifenoles totales y actividad antioxidante in vitro del extracto etanólico de hojas y flores de *Chiricaya spinosa* Less "huamanpinta". Universidad Nacional "San Luis Gonzaga" de Ica, Ica, Perú : 2015.

SISEROL, J. Antoni, y otros. 2016. Role of Natural Stilbenes in the Prevention of Cancer. España : Oxidative medicine and cellular longevity, 2016. 3128951.



SORIA, Alberto. 2016. Influencia de tratamientos de pulsos eléctricos de alto voltaje en el nivel de polifenoles en la elaboración de vino tinto a distintas temperaturas de maceración . Zaragoza : Universidad Zaragoza, 2016.

TSAO, Rong. 2010. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. s.l. : Nutrients, 2010. 1231-1246.

TURKMEN, Nihal, SARI, Ferda y VELIOGLU, Sedat. 2006. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin–Ciocalteu methods. s.l. : Food Chemistry, 2006. 0308-8146.

VALDÉS, Geidy, CRUZ, Luis y COMET, Raidel. 2015. Influencia de las condiciones de operación en la extracción de polifenoles a partir de hojas de Moringa oleifera Lam. La Habana : Revista CENIC. Ciencias Químicas, 2015. 1015-8553.

VARGAS, Cristian. 2020. Determinación y cuantificación de compuestos fenólicos en flores de taraxacum officinale, mediante HPLC-DAD-MS y ensayos colorimétricos UV-VIS. Bogotá D.C. : Universidad de Los Andes, 2020.

VARGAS, Hada Edith. 2018. Contenido de flavonoides y fenoles totales en hojas de tres especies de género Senecio y determinación de su actividad antioxidante in vitro. Ayacucho, 2017. Ayacucho : Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga, 2018.

ZAMORA, Juan Diego. 2007. Antioxidantes: Micronutrientes en lucha por la salud. Santiago, Chile : Revista Chilena de Nutrición, 2007. 07161549.

ZARZOSA, Edwin, y otros. 2015. Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. Lima : Horiz Med, 2015.



ANEXOS



Anexo 1 — Curvas de calibración para determinar polifenoles totales y capacidad antioxidante

Tabla 9 — Concentración de ácido gálico

Concentración	Absorbancia a 750
mg EAG/L	nm
50	0.128
100	0.245
200	0.459
300	0.691
400	0.917

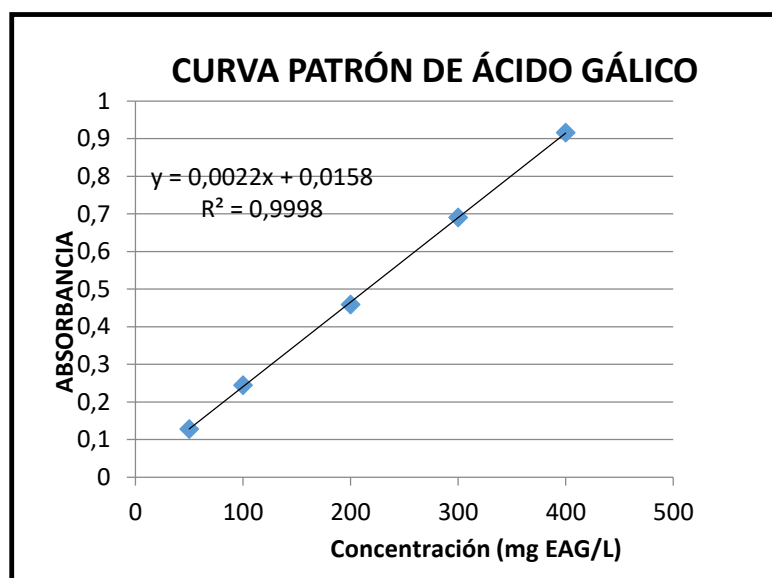


Figura 16 — Curva patrón de ácido gálico para la determinación de polifenoles totales por el método de Folin Ciocalteu



Tabla 10 — Concentración de Trolox

Concentración	Absorbancia a 517
$\mu\text{M ET/g}$	nm
50	0.860
100	0.810
200	0.615
400	0.295
600	0.023

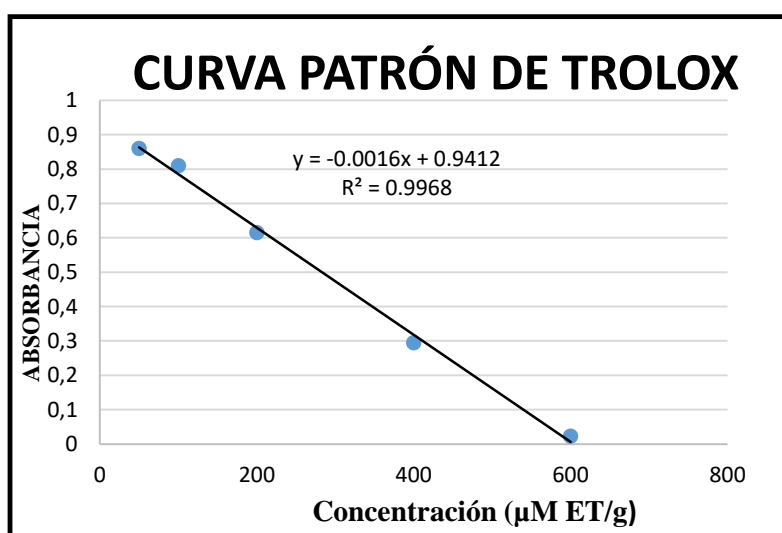


Figura 17 — Curva patrón de Trolox para la determinación de la capacidad antioxidante por el método de DPPH

Anexo 2 — Resultados de polifenoles totales y capacidad antioxidante mediante el método soxhlet en caliente y maceración pasiva

Tabla 11 — Resultados de polifenoles totales (mg EAG/100 g b.s) mediante el método soxhlet

Tratamientos	Tipo de solvente	Relación materia prima-solvente	PFT (mg EAG/100 g b.s)
T1	Etanol 75 %	1/15	4370,01
	Etanol 75%	1/15	4329,04
	Etanol 75%	1/15	4378,21
T2	Etanol 75%	1/20	4810,40
	Etanol 75%	1/20	4854,11
	Etanol 75%	1/20	4755,76
T3	Metanol 80%	1/15	3681,56
	Metanol 80%	1/15	3722,54
	Metanol 80%	1/15	3689,76
T4	Metanol 80%	1/20	3138,45
	Metanol 80%	1/20	3182,17
	Metanol 80%	1/20	3105,67

Tabla 12 — Capacidad antioxidante CA ($\mu\text{g ET/g b.s}$) de polifenoles totales mediante el método Soxhlet

Tratamientos	Tipo de solvente	Relación materia prima-solvente	CA($\mu\text{g ET/g b.s}$)
T1	Etanol 75%	1/15	1913,72528
	Etanol 75%	1/15	1921,40886
	Etanol 75%	1/15	1949,58201
T2	Etanol 75%	1/20	2558,46356
	Etanol 75%	1/20	2537,97399
	Etanol 75%	1/20	2527,72921
T3	Metanol 80%	1/15	1967,51038

	Metanol 80%	1/15	1949,58201
	Metanol 80%	1/15	1962,38799
T4	Metanol 80%	1/20	2725,795
	Metanol 80%	1/20	2712,13529
	Metanol 80%	1/20	2739,4547

Tabla 13 — Resultados de polifenoles totales (mg EAG/100 g b.s) mediante el método maceración pasiva

Tratamientos	Tipo de solvente	Relación materia prima-solvente	Tiempo de maceración	PFT (mg EAG/100 g b.s)
T1	Etanol 75%	1/15	3 días	4353,62
	Etanol 75%	1/15	3 días	4304,45
	Etanol 75%	1/15	3 días	4378,21
T2	Etanol 75%	1/20	3 días	4451,97
	Etanol 75%	1/20	3 días	4476,56
	Etanol 75%	1/20	3 días	4468,36
T3	Metanol 80%	1/15	3 días	4402,80
	Metanol 80%	1/15	3 días	4460,17
	Metanol 80%	1/15	3 días	4378,21
T4	Metanol 80%	1/20	3 días	4777,62
	Metanol 80%	1/20	3 días	4722,98
	Metanol 80%	1/20	3 días	4722,98
T5	Etanol 75%	1/15	6 días	5181,95
	Etanol 75%	1/15	6 días	5138,24
	Etanol 75%	1/15	6 días	5094,53
T6	Etanol 75%	1/20	6 días	4843,19
	Etanol 75%	1/20	6 días	4744,84
	Etanol 75%	1/20	6 días	4821,33
T7	Metanol 80%	1/15	6 días	3812,70
	Metanol 80%	1/15	6 días	3886,46
	Metanol 80%	1/15	6 días	3845,48

T8	Metanol 80%	1/20	6 días	3697,96
	Metanol 80%	1/20	6 días	3648,78
	Metanol 80%	1/20	6 días	3681,56
T9	Etanol 75%	1/15	9 días	3575,02
	Etanol 75%	1/15	9 días	3616,00
	Etanol 75%	1/15	9 días	3591,41
T10	Etanol 75%	1/20	9 días	4012,68
	Etanol 75%	1/20	9 días	4056,39
	Etanol 75%	1/20	9 días	4023,60
T11	Metanol 80%	1/15	9 días	4449,79
	Metanol 80%	1/15	9 días	4449,79
	Metanol 80%	1/15	9 días	4493,50
T12	Metanol 80%	1/20	9 días	4089,17
	Metanol 80%	1/20	9 días	4056,39
	Metanol 80%	1/20	9 días	4067,32

Tabla 14 — Resultados de capacidad antioxidante CA ($\mu\text{g ET/g b.s}$) de polifenoles totales mediante el método maceración pasiva

Tratamientos	Tipo de solvente	Relación materia prima-solvente	Tiempo de maceración	CA ($\mu\text{g ET/g b.s}$)
T1	Etanol 75%	1/15	3 días	1990,56114
	Etanol 75%	1/15	3 días	1982,87755
	Etanol 75%	1/15	3 días	2003,36712
T2	Etanol 75%	1/20	3 días	2623,34718
	Etanol 75%	1/20	3 días	2599,44268
	Etanol 75%	1/20	3 días	2592,61283
T3	Metanol 80%	1/15	3 días	1918,84767
	Metanol 80%	1/15	3 días	1949,58201
	Metanol 80%	1/15	3 días	1908,60288
T4	Metanol 80%	1/20	3 días	2708,72036
	Metanol 80%	1/20	3 días	2736,03978



	Metanol 80%	1/20	3 días	2722,38007
T5	Etanol 75%	1/15	6 días	1954,7044
	Etanol 75%	1/15	6 días	1952,14321
	Etanol 75%	1/15	6 días	1975,19397
T6	Etanol 75%	1/20	6 días	2565,29341
	Etanol 75%	1/20	6 días	2544,80385
	Etanol 75%	1/20	6 días	2527,72921
T7	Metanol 80%	1/15	6 días	1888,11332
	Metanol 80%	1/15	6 días	1872,74615
	Metanol 80%	1/15	6 días	1903,48049
T8	Metanol 80%	1/20	6 días	2596,02776
	Metanol 80%	1/20	6 días	2565,29341
	Metanol 80%	1/20	6 días	2575,53819
T9	Etanol 75%	1/15	9 días	1944,45962
	Etanol 75%	1/15	9 días	1954,7044
	Etanol 75%	1/15	9 días	1957,2656
T10	Etanol 75%	1/20	9 días	2578,95312
	Etanol 75%	1/20	9 días	2599,44268
	Etanol 75%	1/20	9 días	2602,85761
T11	Metanol 80%	1/15	9 días	1975,19397
	Metanol 80%	1/15	9 días	1944,45962
	Metanol 80%	1/15	9 días	1949,58201
T12	Metanol 80%	1/20	9 días	2667,74123
	Metanol 80%	1/20	9 días	2654,08152
	Metanol 80%	1/20	9 días	2657,49645

Anexo 3 — Análisis estadístico de resultados de polifenoles totales por el método soxhlet en caliente

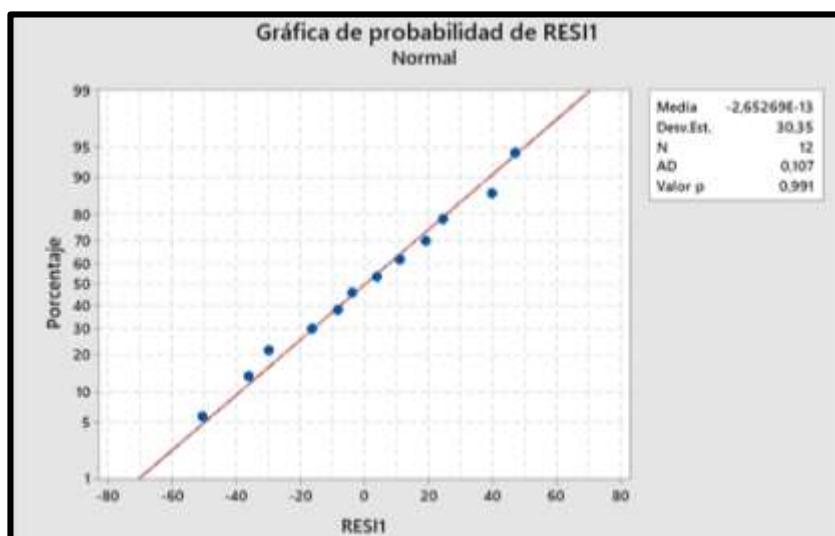


Figura 18 — Gráfica de distribución normal de residuo

Tabla 15 — Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad.(pred)
35.5852	99.79%	99.71%	99.53%

Tabla 16 — Análisis de varianza (Anova) de los promedios de los polifenoles totales PFT (mg EAG/100 g b.s) entre el tipo de solvente y la relación materia prima solvente mediante el método soxhlet en caliente

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Solvente	1	4056985	4056985	3203.79	0.000
Relación materia prima solvente	1	8778	8778	6.93	0.030
Solvente*Relación materia prima solvente	1	755309	755309	596.47	0.000
Error	8	10130	1266		
Total	11	4831203			



Tabla 17 — Comparaciones por parejas de Tukey: Solvente*Relación materia prima solvente

Tratamientos	Solvente*Relación materia prima solvente	N	Media	Agrupación			
T2	Etanol 75% 1/20	3	4806,76	A			
T1	Etanol 75% 1/15	3	4359,09		B		
T3	Metanol 80% 1/15	3	3697,96			C	
T4	Metanol 80% 1/20	3	3142,10				D

Anexo 4 — Análisis estadístico de resultados de capacidad antioxidante por el método soxhlet

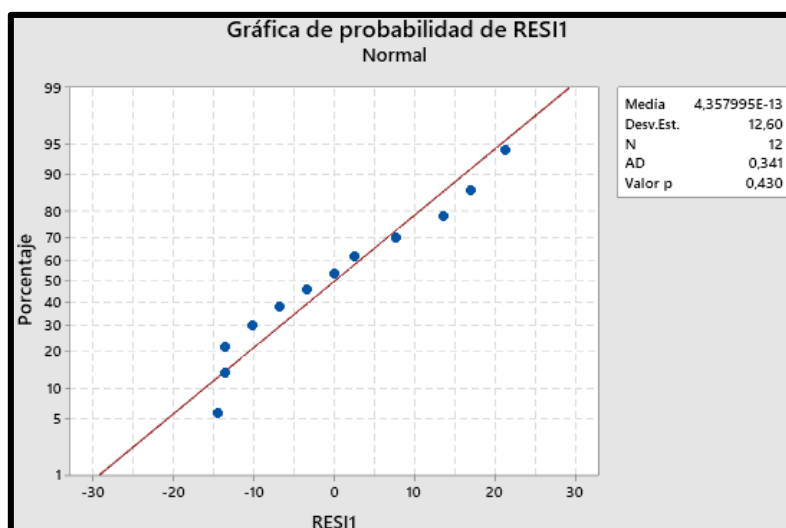


Figura 19 — Gráfica de distribución normal de residuo

Tabla 18 — Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
14.7747	99.88%	99.84%	99.73%



Tabla 19 — Análisis de varianza (Anova) de los promedios de la capacidad antioxidante CA ($\mu\text{g ET/g b.s}$) entre el tipo de solvente y la relación materia prima solvente mediante el método soxhlet en caliente

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Solvente	1	34990	34990	160.29	0.000
Relación materia prima solvente	1	1426476	1426476	6534.68	0.000
Solvente*Relación materia prima solvente	1	17515	17515	80.24	0.000
Error	8	1746	218		
Total	11	1480727			

Tabla 20 — Comparaciones por parejas de Tukey: Solvente*Relación materia prima solvente

Tratamientos	Solvente*relación materia prima solvente	N	Media	Agrupación		
T4	Metanol 80% 1/20	3	2725,79	A		
T2	Etanol 75% 1/20	3	2541,39		B	
T3	Etanol 80% 1/15	3	1959,83			C
T1	Etanol 75% 1/15	3	1928,24			C

Anexo 5 — Análisis estadístico de resultados de polifenoles totales por el método maceración pasiva

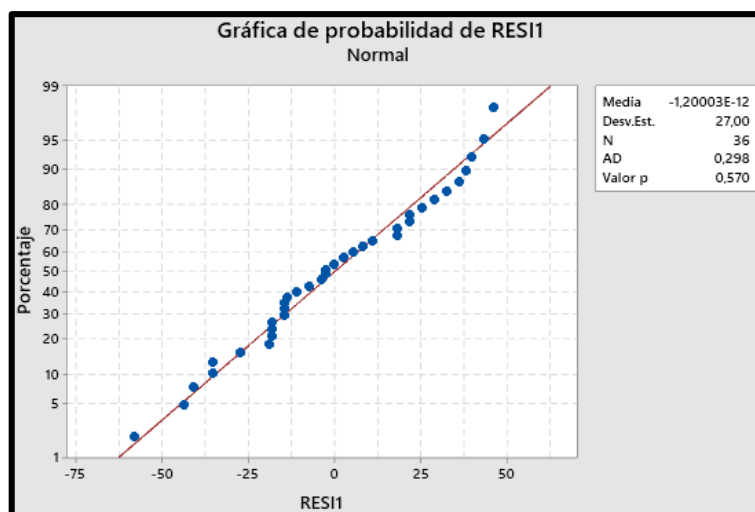


Figura 20 — Gráfica de probabilidad de residuos

Tabla 21 — Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
32,6089	99,65%	99,49%	99,22%

Tabla 22 — Análisis de varianza (Anova) de los promedios de los polifenoles totales PFT (mg eag/100 g b.s) entre el tipo de solvente, la relación materia prima solvente y tiempo de maceración en el método de maceración pasiva

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Solvente	1	4457739	4457739	4192,20	0,000
RMPS	1	2110499	2110499	1984,78	0,000
Tiempo	2	339237	169618	159,51	0,000
Solvente*RMPS	1	25	25	0,02	0,879
Solvente*Tiempo	2	47943	23972	22,54	0,000
RMPS*Tiempo	2	303770	151885	142,84	0,000
Solvente*RMPS*Tiempo	2	49794	24897	23,41	0,000
Error	24	25520	1063		
Total	35	7334527			



Tabla 23 — Comparaciones por parejas de Tukey: Solvente*Relación materia prima solvente*Tiempo de maceración

Tratamiento	Solvente*Relación materia prima solvente*Tiempo	N	Media	Agrupación					
T5	Etanol 75% 1/20 6 días	3	5138,24	A					
T6	Etanol 75% 1/20 9 días	3	4803,12		B				
T4	Etanol 75% 1/20 3 días	3	4741,19		B				
T2	Etanol 75% 1/15 6 días	3	4465,63			C			
T11	Metanol 80% 1/20 6 días	3	4464,36			C			
T3	Etanol 75% 1/15 9 días	3	4413,73			C	D		
T1	Etanol 75% 1/15 3 días	3	4345,43				D		
T12	Metanol 80% 1/20 9 días	3	4070,96					E	
T10	Metanol 80% 1/20 3 días	3	4030,89					E	
T7	Metanol 80% 1/15 3 días	3	3848,21						F
T8	Metanol 80% 1/15 6 días	3	3676,10						G
T9	Metanol 80% 1/15 9 días	3	3594,14						G

Anexo 6 — Análisis estadístico de resultados de capacidad antioxidante por el método maceración pasiva

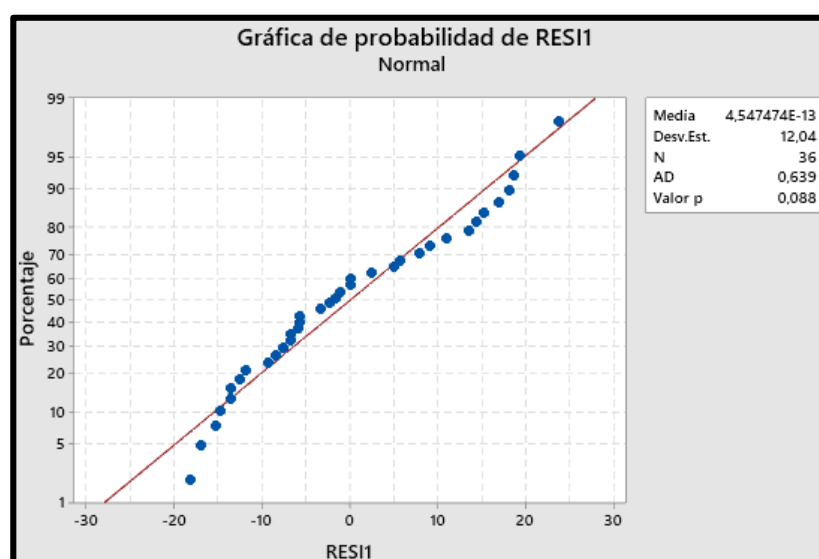


Figura 21 — Gráfica de distribución normal de residuo

Tabla 24 — Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad.(ajustado)	R-cuad.(pred)
14,5434	99,88%	99,82%	99,72%

Tabla 25 — Análisis de varianza (anova) de los promedios de la capacidad antioxidante ($\mu\text{g ET/g b.s}$) entre el tipo de solvente, la relación materia prima solvente y tiempo de maceración en el método de maceración pasiva

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Solvente	1	3778	3778	17,86	0,010
RMPS	1	559989	559989	2647,57	0,000
Tiempo	2	5541	2770	13,10	0,000
Solvente*RMPS	1	1798	1798	8,50	0,000
Solvente*Tiempo	2	52321	26160	123,68	0,000
RMPS*Tiempo	2	3512478	1756239	8303,32	0,000
Solvente*RMPS*Tiempo	2	4736	2368	11,20	0,000
Error	24	5076	212		
Total	35	4145717			

Tabla 26 — Comparaciones por parejas de tukey: Solvente*Relación materia prima solvente*Tiempo

Tratamientos	Solvente*Relación materia prima solvente*Tiempo	N	Media	Agrupación					
T10	Metanol 80% 1/20 3 días	3	2722,38	A					
T12	Metanol 80% 1/20 9 días	3	2659,77		B				
T4	Etanol 75% 1/20 3 días	3	2605,13			C			
T6	Etanol 75% 1/20 9 días	3	2593,75			C			
T11	Metanol 80% 1/20 6 días	3	2578,95			C	D		
T5	Etanol 75% 1/20 6 días	3	2545,94				D		
T1	Etanol 75% 1/15 3 días	3	1992,27					E	

T2	Etanol 75% 1/15 6 días	3	1960,68					E	F
T9	Metanol 80% 1/15 9 días	3	1956,41					E	F
T3	Etanol 75% 1/15 9 días	3	1952,14					E	F
T7	Metanol 80% 1/15 3 días	3	1925,68					F	G
T8	Metanol 80% 1/15 6 días	3	1888,11						G

Anexo 7 — Análisis estadístico de resultados de polifenoles totales por el método soxhlet en caliente y maceración pasiva

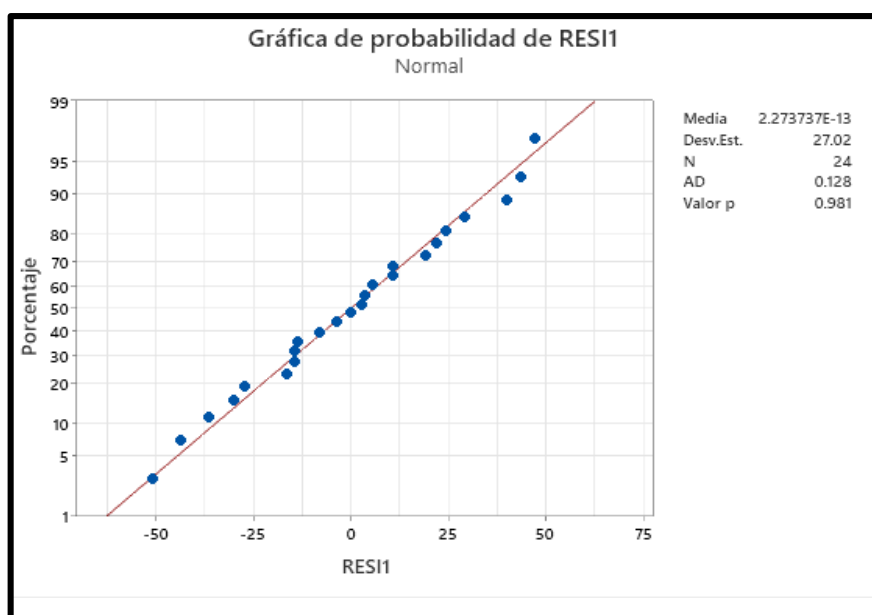


Figura 22 — Gráfica de distribución normal de residuo

Tabla 27 — Análisis de Varianza (ANOVA) de los promedios de los Polifenoles totales PFT (mg EAG/100 g b.s) entre los métodos de extracción Soxhlet en caliente y maceración pasiva

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Método de extracción	1	1133296	1133296	1079.79	0,010
Tipo de solvente	1	5384273	5384273	5130.05	0,000
RMPS	1	686149	686149	653.75	0,000
Método de extracción*Solvente	1	278889	278889	265.72	0,000
Método de extracción *RMPS	1	923214	923214	879.62	0,000
Solvente*RMPS	1	295625	295625	281.67	0,000



Método de extracción *Solvente*RMPS	1	469716	469716	447.54	0,000
Error	16	16793	1050		
Total	23	9187955			

Tabla 28 — Comparaciones por parejas de Tukey: Método de extracción*Tipo de solvente*Relación materia prima solvente

Método de extracción*Tipo de solvente*Relación materia prima-Solvente	N	Media	Agrupación					
			A	B	C	D	E	F
Maceración pasiva * Etanol 75 %* 1/20	3	5138.24	A					
Soxhlet en caliente * Etanol 75 % *1/20	3	4806.76		B				
Maceración pasiva * Etanol 75 %* 1/15	3	4465.63			C			
Maceración pasiva * Metanol 80 % *1/20	3	4464.36			C			
Soxhlet en caliente * Etanol 75 % *1/15	3	4359.09				D		
Soxhlet en caliente* Metanol 80 % *1/15	3	3697.96					E	
Maceración pasiva * Metanol 80 %* 1/15	3	3676.10					E	
Soxhlet en caliente * Metanol 80 % *1/20	3	3142.10						F



Anexo 8 — Análisis estadístico de resultados de capacidad antioxidante por el método soxhlet caliente y maceración pasiva.

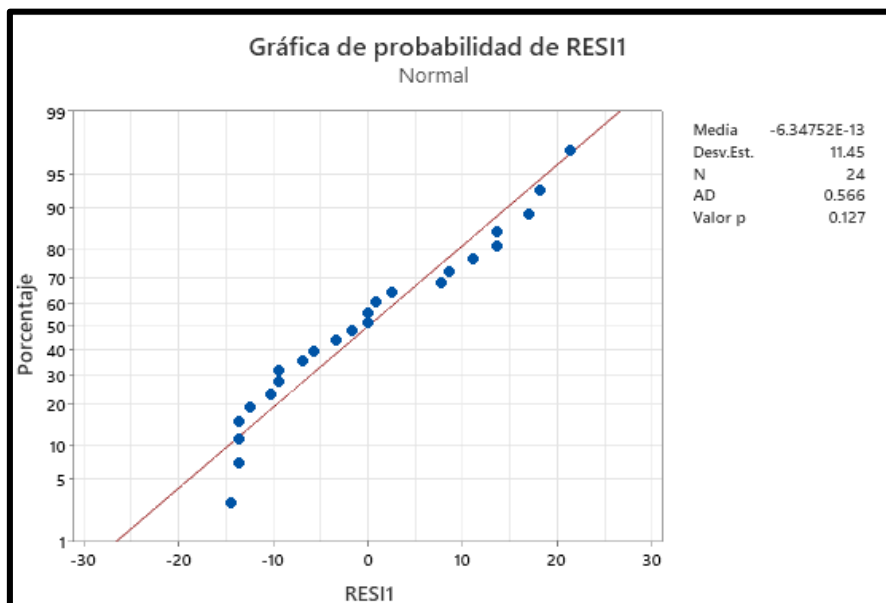


Figura 23 — Gráfica de distribución normal de residuo

Tabla 29 — Análisis de varianza (Anova) de los promedios de la capacidad antioxidante entre los métodos de extracción soxhlet en caliente y maceración pasiva

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Método de extracción	1	2554	2554	13.55	0,002
Tipo de solvente	1	25149	25149	133.39	0,000
RMPS	1	2932382	2932382	15553.82	0,000
Método de extracción *Solvente	1	11226	11226	59.55	0,000
Método de extracción *RMPS	1	545	545	2.89	0,108
Solvente*RMPS	1	44463	44463	235.84	0,000
Método de extracción *Solvente*RMPS	1	562	562	2.98	0,104
Error	16	3017	189		
Total	23	3019898			



Anexo 9 — Panel fotográfico



Figura 24 — Anccoripa (*Senecio canescens*)



Figura 25 — Picado de las hojas de Anccoripa (*Senecio canescens*)



Figura 26 — Extracción de extractos por el método Soxhlet en caliente



Figura 27 — Extracción de extractos mediante el método maceración pasiva



Figura 28 — Reacción de ácido gálico y folin



Figura 29 — Muestras patrón listas para ser leídas en el espectrofotómetro



Figura 30 — Preparación de muestras para la determinación de capacidad antioxidante



Figura 31 — Muestras patrón Trolox listas para ser leídas en el espectrofotómetro

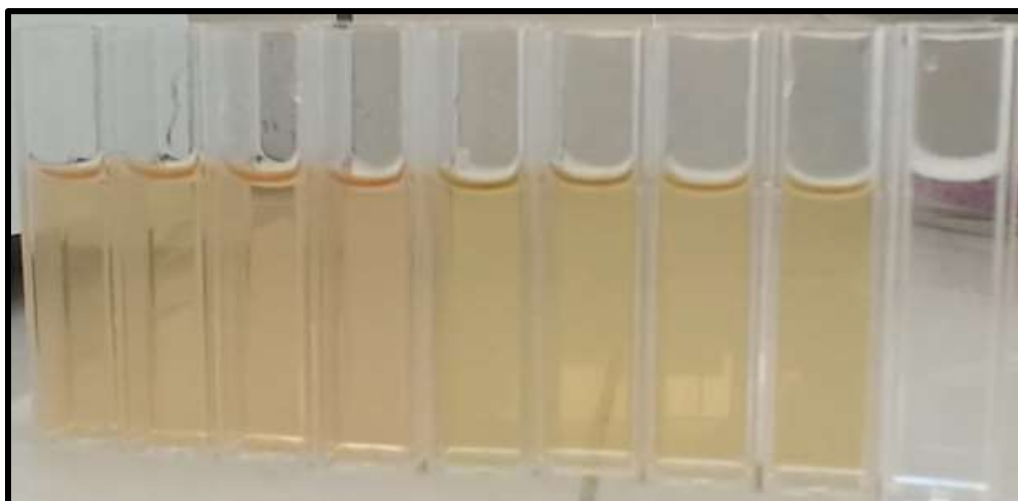


Figura 32 — Muestras de solución patrón en las cubetas



Figura 33 — Lecturas de las muestras en el espectrofotómetro