

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO



Facultad de Ciencias de la Salud

“DR. WILMAN RUIZ VIGO”

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

**IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN
CIANOBACTERIAS PRESENTES EN LAS AGUAS TERMALES
“LOS PEROLITOS” DEL DISTRITO DE BAÑOS DEL INCA –
CAJAMARCA**

María Teresa de Jesús Carmen Alquizar

Nilda Yuliza Chávez Vásquez

Asesor(a):

Mg. Q.F. Patricia Roxana Burga Chávez

Cajamarca – Perú

Agosto– 2020

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO



Facultad de Ciencias de la Salud

“DR. WILMAN RUIZ VIGO”

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

**IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN
CIANOBACTERIAS PRESENTES EN LAS AGUAS TERMALES “LOS
PEROLITOS” DEL DISTRITO DE BAÑOS DEL INCA –
CAJAMARCA**

Tesis presentada en cumplimiento parcial de los requerimientos para optar el Título
Profesional de Químico Farmacéutico

Bach. María Teresa de Jesús Carmen Alquizar

Bach. Nilda Yuliza Chávez Vásquez

Asesor(a): Mg. Q.F. Patricia Roxana Burga Chávez

Cajamarca– Perú

Agosto– 2020

COPYRIGHT © 2020 by
MARÍA TERESA DE JESÚS CARMEN ALQUIZAR
NILDA YULIZA CHÁVEZ VÁSQUEZ
Todos los derechos reservados

PRESENTACIÓN

SEÑORES MIEMBROS DEL JURADO EVALUADOR:

En consideración y dando cumplimiento al Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, dejamos a vuestro elevado criterio el siguiente trabajo de investigación intitulado:

IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN CIANOBACTERIAS PRESENTES EN LAS AGUAS TERMALES LOS PEROLITOS DEL DISTRITO DE BAÑOS DEL INCA – CAJAMARCA

Con el cual aspiramos obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico. Es propicia la oportunidad para expresar nuestro sincero agradecimiento a nuestra Alma máter y a toda la plana docente, que con su aptitud y buen interés cooperaron a nuestra formación profesional.

Señores miembros del Jurado, dejamos a su disposición la presente tesis para su evaluación y sugerencias.

Cajamarca, agosto del 2020.

Carmen Alquizar María Teresa de Jesús
BACH. EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Chávez Vásquez Nilda Yuliza
BACH. EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO

Facultad de Ciencias de la Salud

“DR. WILMAN RUÍZ VIGO”

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

**APROBACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

**Identificación de metabolitos secundarios en cianobacterias presentes en las aguas
termales “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca – Cajamarca**

JURADO EVALUADOR

**Mg. Q.F. Alex Silva Araujo
(PRESIDENTE)**

**Mg. Q.F. Miriam Del Pilar Sangay Julcamoro
(MIEMBRO)**

**Mg. Q.F. Patricia Roxana Burga Chávez
(VOCAL)**

DEDICATORIA

A Dios por permitirme y darme la fortaleza desde el principio de llegar hasta la fecha de hoy para culminar mi carrera profesional y a mis Padres, **María Elena y Oscar Alberto** por su apoyo incondicional que con su amor infinito han hecho de mí una persona con valores, respeto y sobre todo amar a mi carrera.

Dedico esta tesis A mi gran amiga, **Becky Noemí Plasencia Narro** por apoyarme cuando más lo necesité, por extender su mano en momentos difíciles y por el amor brindado cada día y a una persona particular **Yhon David Márquez Sangay** que me dio su apoyo incondicional, por estar conmigo en todo momento en este gran paso.

A toda mi familia porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento hicieron de mí una gran persona y de otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas, de verdad mil gracias, siempre los llevare en mi corazón.

María Teresa de Jesús

DEDICATORIA

A Dios, por darme vida, salud y sabiduría a lo largo de estos años de estudio.

A mis padres, Rafael Chávez Ortiz y Teonila Vásquez Huamán, porque siempre me apoyaron incondicionalmente en la parte moral y económica, sin ellos no hubiera sido posible lograr esta meta.

A mis familiares, a mi esposo Julio Cesar; por la ayuda que me ha brindado ha sido sumamente importante, estuviste a mi lado incluso en los momentos y situaciones más tormentosas, siempre ayudándome. No fue sencillo culminar con éxito esta tesis, sin embargo, siempre me motivaste y confiaste en mí, me decías que lo lograría. A ti mi más grande bendición, Erick Fabricio mi hijo quien es mi motor y motivo para seguir adelante.

Nilda Yuliza

AGRADECIMIENTOS

A Dios por la vida y la salud que nos ha brindado, permitiéndonos cumplir con nuestras metas.

A la universidad privada Antonio Guillermo Urrelo, nuestra alma máter en cuyas aulas quedan recuerdos a lo largo de nuestra formación académica guiado por una excelente planadocente quienes nos brindaron su tiempo y sus conocimientos desinteresadamente. Mg. Q.F. Patricia Burga Chávez; nuestra asesora, Dra.Q.F. Martha Adriana Sánchez Uceda, Mg Q.F. Fredy Martos Rodríguez, Mg. Ing. Francisco Montoya Quino y alMg. Q.F. Jair Ríos Ñontol, por su apoyo incondicional durante la elaboración del presente trabajo de investigación.

María Teresa de Jesús y Nilda Yuliza

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue identificar los metabolitos secundarios de las cianobacterias presentes en las aguas termales de “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca – Cajamarca. Las muestras se recolectaron con ayuda de un rastrillo, todas aquellas que se encontraron flotando en las fosas de las aguas termales; para la selección de la muestra se tomaron en cuenta los criterios de inclusión y exclusión. Se procedió a secar la muestra en calaminas galvanizadas (limpias y estériles), cubiertas con papel molde, se colocó sobre ellas las algas previamente seleccionadas y desinfectadas con hipoclorito de sodio al 0,05 %, en seguida se ubicaron en un ángulo de 45°. Las muestras secas fueron llevadas al laboratorio Multifuncional de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, donde se pulverizaron con ayuda de un mortero y pilón; luego fueron pasadas por un tamiz número 20 a fin de obtener un polvo fino. Para la elaboración del extracto etanólico se pesó en una balanza analítica 20 g de polvo de cianobacterias y se maceró con 100 mL de etanol de 96° durante 3 días. Finalmente se realizaron distintos ensayos de coloración con el fin de poder identificar los metabolitos secundarios presentes en dichas cianobacterias como, por ejemplo: Ensayo de cloruro férrico (-), ensayo de Shinoda (-), ensayo de Baljet (+), ensayo de Liebermann-Burchard (+++), ensayo de Borntrager (+), ensayo de Keller y Killiani (+++), ensayo de Dragendorff (+), ensayo de Mayer (+) y el ensayo de espuma (+).

Palabras claves: “Los Perolitos”, Baños del Inca, Cajamarca, cianobacterias, metabolitos secundarios.

ABSTRACT

The objective of the investigation was to identify the secondary metabolites of the cyanobacteria present in the thermal waters of "Los Perolitos" in the district of Baños del Inca - Cajamarca. The samples were collected with the help of a rake, all those found floating in the hot spring pits; for the selection of the sample, the inclusion and exclusion criteria were taken into account. The sample was dried in galvanized calamine (clean and sterile), covered with mold paper, the algae previously selected and disinfected with 0.05% sodium hypochlorite were placed on them, then they were placed at an angle of 45°. The dried samples were taken to the Multifunctional Laboratory of the Antonio Guillermo Urrelo Private University, where they were pulverized with the help of a mortar and pylon; they were then passed through a number 20 sieve in order to obtain a fine powder. To prepare the ethanolic extract, 20 g of cyanobacterial powder was weighed on an analytical balance and macerated with 100 mL of 96 ° ethanol for 3 days. Finally, different staining tests were carried out in order to be able to identify the secondary metabolites present in said cyanobacteria, such as: Ferric chloride test (-), Shinoda test (-), Baljet test (+), Liebermann test -Burchard (+++), Borntrager test (+), Keller and Killiani test (+++), Dragendorff test (+), Mayer test (+) and the foam test (+).

Keywords: "Los Perolitos", Baños del Inca, Cajamarca, cyanobacteria, secondary metabolites.

INDICE

PRESENTACIÓN	iii
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO.....	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
INDICE.....	x
LISTA DE TABLAS	xiii
LISTA DE FIGURAS	xiv
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. Antecedentes teóricos de la investigación	5
2.2. Bases teóricas.....	8
2.2.1. Metabolitos secundarios.....	8
2.2.2. Cianobacterias	33
2.2.3. Algas de los Baños del Inca – Cajamarca.....	43
2.2.4. Extracto etanólico	46
III. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	48
3.1. Unidad de análisis, universo y muestra	48

3.1.1.	Unidad de análisis.....	48
3.1.2.	Universo.....	48
3.1.3.	Muestra.....	48
3.2.	Métodos de investigación.....	49
3.2.1.	De acuerdo al fin que se persigue	49
3.2.2.	Según el diseño de contrastación de la hipótesis.....	49
3.3.	Técnicas de investigación	49
3.3.1.	Recolección y transporte de las muestras.....	49
3.3.2.	Identificación botánica	50
3.3.3.	Método de colecta (selección y acondicionamiento de la muestra)	50
3.3.4.	Secado, pulverizado y tamizado de la muestra	50
3.3.5.	Preparación del extracto	51
3.4.	Instrumentos, equipos, materiales y reactivos	56
3.4.1.	Instrumentos	56
3.4.2.	Equipos	56
3.4.3.	Materiales de laboratorio.....	57
3.4.4.	Reactivos.....	57
3.5.	Técnicas de análisis de datos.....	58
3.6.	Aspectos éticos de la investigación	58
IV.	RESULTADOS.....	59

V. DISCUSIÓN.....	64
VI. CONCLUSIONES	72
VII. RECOMENDACIONES	73
VIII.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
ANEXOS	85

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Metabolitos secundarios con sus respectivos reactivos de identificación.....	11
Tabla 2: Clasificación del Phylum Cyanobacteria (División Cyanophyta).....	42
Tabla 3: Tipos de agua y su acción terapéutica	45
Tabla 4: Resultados del estudio fitoquímico del extracto etanólico de las cianobacterias presentes en las aguas termales "Los Perolitos" del distrito de Baños del Inca – Cajamarca.....	62

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Rutas biosintéticas generales para la formación de metabolitos en plantas.....	9
Figura 2: Estructuras químicas de los compuestos fenólicos simples	12
Figura 3: Estructura general de los flavonoides	13
Figura 4: Estructura química de las lactonas	13
Figura 5: Estructura química del esteroI.....	15
Figura 6: Estructura química de las quinonas.....	16
Figura 7: Estructura general de los glucósidos cardiotónicos	17
Figura 8: Estructura química de la cafeína (alcaloide).....	18
Figura 9: Estructura química de las saponinas	19
Figura 10: Reacción de cloruro férrico (para identificar fenoles y taninos).....	21
Figura 11: Reacción de Shinoda (para identificar flavonoides)	24
Figura 12: Reacción de Baljet (para identificar lactonas)	25
Figura 13: Reacción de Liebermman – Bouchardat (para identificar esteroides)	26
Figura 14: Reacción de Borntrager (para identificar quinonas)	28
Figura 15: Reacción de Keller y Killiani (para identificar alcaloides).....	29
Figura 16: Reacción de Dragendorff (para identificar alcaloides)	30
Figura 17: Reacción de Mayer (para identificar alcaloides)	31
Figura 18: Reacción de Espuma (para identificar saponinas)	32

Figura 19: Morfología de las algas	34
Figura 20: Estructura de la clorofila, diferencia entre clorofila a y b.....	34
Figura 21: Estructura de las cianobacterias	38
Figura 22: Cianobacterias de “Los Perolitos” de Baños del Inca (1-4 <i>Chroococcus turgidus</i> , 5-7 <i>Chroococcus turgidus</i> var. <i>Thermalis</i> , 8-13 <i>Gloeotheca linearis</i>).....	42
Figura 23: Cianobacterias de “Los Perolitos” de Baños del Inca (1-3 <i>Oscillatoria animalis</i> , 45 <i>Oscillatoria chalybea</i> var. <i>Genuina</i> , 6 <i>Oscillatoria okeni</i> , 7-9 <i>Microcoleus chthonoplastes</i> , 10 <i>Oscillatoria planctonica</i>).....	43

I. INTRODUCCIÓN

Las cianobacterias son conocidas también como algas verdes-azules, su aparición data de hace 3600 millones de años, mediante estas algas se lograron conocer los procesos de fotosíntesis, cambiaron la historia y la evolución de la vida en el planeta; debido a su capacidad para generar oxígeno, cambió la atmósfera y por ende las condiciones para el desarrollo de formas de vida más complejas. Estas cianobacterias son extremadamente resistentes y adaptables; crecen de manera constante y se han desarrollado en casi todos los tipos de hábitat. Una de ellas son las fuentes termales, estos son lugares con un hábitat microbiológico casi desconocida; en la actualidad los tratamientos con bases microbiológicas han cobrado gran importancia gracias a que son muy útiles para poder combatir diferentes problemas patológicos, como es el caso de enfermedades reumáticas, bronquiales, tratamiento de la piel y desórdenes nerviosos.^{1,2,4}

En el Perú, especialmente en las regiones andinas, existen distintos tipos de hábitats acuáticos tales como ríos, arroyos, lagos, lagunas, pantanos y manantiales, donde la humedad existente en sus orillas favorece la formación de “natas” conocidos como algas, estas presentan diferente morfología y color, el cual varía entre el verde claro y verde oscuro. Una gran parte de ellas corresponden a la división Cyanophyta que forma parte del fitoplancton; dentro de esta división se encuentran la Familia *Nostocaceae* y *Oscillatoriaceae*.³



En la ciudad de Cajamarca visitar el Complejo Turístico– Baños del Inca y observar la presencia de cianobacterias dentro de “Los Perolitos” de las aguas termales que pueden sobrevivir temperaturas elevadas, estas algas se han adaptado a diferentes condiciones que permite su adecuado crecimiento. Además, se observa que los habitantes utilizan la termoflora de forma empírica en el tratamiento del acné, reumatismo y como revitalizantes y se colocan fragmentos de estas “natas” con fines terapéuticos, pero lamentablemente nunca se ha realizado un seguimiento del tratamiento. Estas fuentes termales son lugares con un hábitat microbiológico casi desconocida, en la actualidad los tratamientos con bases microbiológicas y patológicas han cobrado gran importancia gracias a que son muy útiles para poder combatir diferentes problemas patológicos, como es el caso de enfermedades reumáticas, bronquiales, tratamiento de la piel, desórdenes nerviosos.⁴

La finalidad con la que se realiza este proyecto de investigación es poder contribuir con la poca información acerca de la gran diversidad de termoflora existente en las aguas termales de “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca – Cajamarca, por tal motivo es necesario como primer paso identificar la presencia de metabolitos secundarios de las cianobacterias existentes, lo cual servirá como base para estudios y aplicaciones posteriores con importancia científica, de esta forma se estará contribuyendo no sólo con la industria farmacéutica sino también con el cuidado de la salud de los turistas, los pobladores aledaños y de todos los Cajamarquinos, podrán utilizarlo para distintos fines terapéuticos con fundamento científico.

Por lo antes mencionado se formuló el siguiente problema de investigación:

¿Cuáles son los metabolitos secundarios presentes en las cianobacterias de las aguas termales “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca – Cajamarca?

Planteándose a continuación los siguientes objetivos:

- **Objetivo general:**

- Identificar metabolitos secundarios en cianobacterias presentes en las aguas termales “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca – Cajamarca.

- **Objetivos específicos:**

- Determinar la presencia de compuesto fenólicos en las cianobacterias de “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca – Cajamarca.
- Determinar la presencia de flavonoides en las cianobacterias de “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca– Cajamarca.
- Determinar la presencia de lactonas en las cianobacterias de “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca– Cajamarca.
- Determinar la presencia de esteroides en las cianobacterias de “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca– Cajamarca.
- Determinar la presencia de quinonas en las cianobacterias de “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca– Cajamarca.
- Determinar la presencia de glucósidos cardiotónicos (desoxiazúcares) en las cianobacterias de “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca– Cajamarca.
- Determinar la presencia de alcaloides en las cianobacterias de “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca– Cajamarca.

- Determinar la presencia de saponinas en las cianobacterias de “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca– Cajamarca.

Ante lo cual se postuló la siguiente hipótesis:

Las cianobacterias presentes en las aguas termales de “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca – Cajamarca presentan lactonas, esteroides y/o triterpenos, quinonas, glucósidos cardiotónicos (desoxiazúcares), alcaloides y saponinas.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes teóricos de la investigación

Sánchez L (2018)⁵, Realizó su trabajo de investigación titulado "Evaluación fitoquímica y capacidad antioxidante in vitro de extracto etanólico del municipio de *Nostoc* (Cushuro). *Nostoc* es una cianobacteria que puede permanecer latente hasta que las primeras lluvias lo hidraten. Con extracto etanólico de la comuna *Nostoc* (Cushuro), metabolitos secundarios como triterpenos y esteroides (prueba de Lieberman-Burchard), saponinas (prueba de espuma), compuestos fenólicos (prueba de cloruro férrico), flavonoides fueron demostrados por análisis fitoquímicos. Prueba de Shinoda) y antocianidinas (prueba de antocianidina). Asimismo, determinaron la concentración de compuestos fenólicos por el método Folin-Ciocalteu, exhibiendo $2,562 \pm 0.051$ mg de ácido gálico equivalente (EAG) por gramo de muestra seca.

Alcántara F, Copia L (2010)⁶, llevaron a cabo la tesis titulada "Formulación de un gel a base de algas perolíticas (Baños del Inca - Cajamarca), y su evaluación en pacientes con acné vulgar". Con el objetivo de crear un gel a base de algas de "Los Perolitos" Baños del Inca, y evaluar su efecto en el tratamiento del acné juvenil. Produjeron un extracto etanólico a base de algas, así como varias formulaciones piloto y pruebas piloto (permitieron evaluar variables tales como: irritación, quemaduras y / o alergias a uno de sus componentes). Como resultado de las "pruebas piloto", los voluntarios no informaron

ningún efecto adverso y aquellos con acné informaron una mejora en la gravedad de esta afección durante el período de prueba.

Flores X, Rosa I, Díaz M et al (2019)⁷, en su estudio titulado “Cianobacterias acidotermófilas del Complejo Termal Copahue, Neuquen, Argentina”, presentan descripciones de las 11 especies identificadas pertenecientes a nueve géneros entre ellas tenemos a: *Chroococcidiopsis*, *Chroococcus*, *Kamptonema*, *Komvophoron*, *Leptolyngbya*, *Mastigocladus*, *Oscillatoria*, *Phormidium* y *Spirulina* recolectadas en diez sitios de muestreo. Cinco especies: *Chroococcus membraninus*, *Chroococcidiopsis thermalis*, *Spirulina gracilis*, *Phormidium thermobium* y *Komvophoron jovis*, son citadas por primera vez en Argentina. La laguna Los Callos fue el lugar con mayor diversidad, donde se registró, ocho especies de cianobacterias. Todas las estudiadas son utilizadas, ya sea mediante la aplicación directa de las natas o por la utilización de sus componentes activos, en las aguas y en los fangos.

Ruiz A, Axpucá E (2014)⁸, en Guatemala, llevaron a cabo un estudio sobre "Determinación de metabolitos secundarios y cianotoxinas producidas por cianobacterium *lyngbya* sp. y su relación con la calidad del agua del lago de Atitlán". El objetivo principal de este estudio fue determinar los metabolitos secundarios y las cianotoxinas producidas por la cianobacteria *Lyngbya* sp. que ha sido aislado y cultivado en el laboratorio. Para esto, aislaron y cultivaron la cianobacteria *Lyngbya* sp. Muestras de fitoplancton de cinco sitios geográficos en el Lago de Atitlán. Además, determinaron la presencia de metabolitos secundarios y cianotoxinas, al realizar un examen

fitoquímico, encontrando la presencia de flavonoides, saponinas y antraquinonas en los extractos analizados.

Fuenmayor G, Jonte L, Rosales N, Morales E (2009)⁹, en su estudio titulado "Crecimiento de la cianobacteria marina *Oscillatoria sp.* MOF-06 versus pH en cultivos discontinuos". Planearon evaluar el contenido de crecimiento, pigmento, carbohidratos, exopolisacáridos y proteínas en la cianobacteria marina *Oscillatoria sp.* a pH 6, 7, 8 y 9 en cultivos discontinuos. La concentración de proteínas y carbohidratos también aumentó con el pH, en el siguiente orden de control > 9 > 8 > 7 > 6. En contraste, *Oscillatoria* produjo más exopolisacáridos a pH entre 6 y 8. Estos resultados demuestran que la cianobacteria marina *Oscillatoria sp.* MOF-06 aumenta la producción de biomasa, clorofila, proteínas y carbohidratos en condiciones alcalinas.

Aldave A (2013)⁴, en su libro titulado “Algas” menciona que el plancton termal de los Baños del Inca – Cajamarca, constituye una fuente que permite la presencia y distribución de más de 25 especies de algas verde-azuladas o Cyanophyta, comúnmente llamadas “natas”.

Trabelsi L, Mnari A, Abdel M y Aleya L (2016)³⁹, realizaron una investigación titulada “Propiedades terapéuticas en las aguas termales de Túnez: primera evidencia de compuestos fenólicos en la cianobacteria *Leptolyngbya sp.* biomasa, polisacáridos capsulares y polisacáridos liberadores”. El principal objetivo de estudio fue investigar el potencial antioxidante de la cianobacteria termófila *Leptolyngbya sp.* y determinar sus componentes fitoquímicos y su perfil fenólico. Según el método, Extracto Metanólico

de Biomasas estas cianobacterias contienen gran cantidad de fenoles (139 ± 1.2 mg/g), flavonoides (34.9 ± 0.32 mg CEQ/g), carotenoides (2.03 ± 0.56 mg/g) y vitamina C (15.7 ± 1.55 mg/g). El estudio demostró que la cianobacteria *Leptolyngbya* sp. posee abundantes productos antioxidantes naturales que pueden tener efectos profilácticos y terapéuticos sobre muchos tipos de enfermedades.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios son aquellos compuestos químicos derivados del metabolismo primario de las plantas, estos cumplen diferentes funciones que no son vitales en ellas, pero son los encargados de protegerlas de depredadores herbívoros, virus, hongos y las bacterias. Estos son compuestos indispensables como principios activos en la elaboración de fármacos o fitofármacos.^{16,17}

Según Ochoa S, Sarmiento J (2018); mencionan que “existen alrededor de 170.000 metabolitos de origen vegetal, lo que recomienda el estudio de nuevas especies vegetales para contribuir en la investigación de nuevos compuestos”.¹⁶

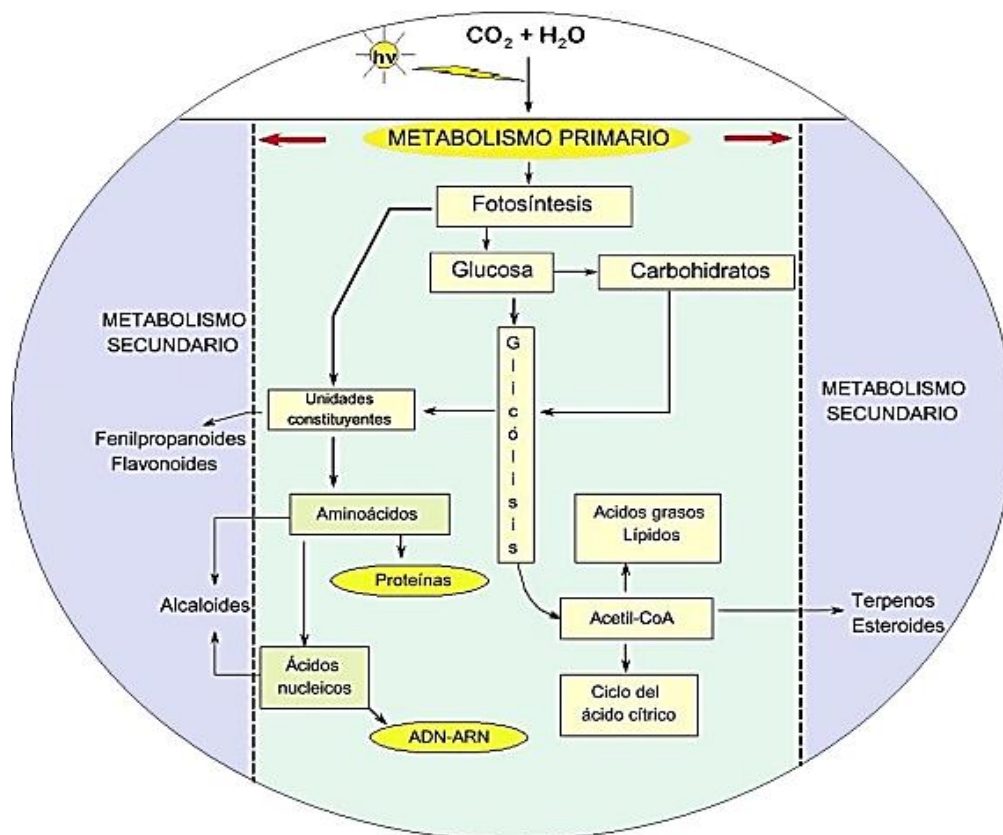


Figura 1: Rutas biosintéticas generales para la formación de metabolitos en plantas.

Fuente: Toledo M. Estudio fitoquímico, evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de la corteza de “*triumfettasemitriloba*” jacq (motecepo) y análisis de parámetros reológicos del mucílago. Tesis para optar título de Químico. Lima, Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.³⁵

2.2.1.1. Clasificación de los metabolitos secundarios

Sánchez K, Perdomo E (2018), afirman que los metabolitos secundarios se pueden “clasificar dentro de cinco grupos, de acuerdo con su base biosintética: fenilpropanos, acetogeninas, terpenoides, esteroides y alcaloides”.²⁰

Otros autores mencionan que los compuestos secundarios de plantas de interés comercial se han incluido en tres categorías principales de

acuerdo con sus vías biosintéticas: terpenos, compuestos fenólicos y compuestos de nitrógeno. Los terpenos se forman por polimerización de unidades de isopreno y esteroides, se dividen en seis grupos: monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, tetraterpenos y esteroides, entre los que se encuentran los carotenos, glucósidos cardiotónicos, taxol, entre otros. Los compuestos fenólicos incluyen ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides y taninos. Los compuestos nitrogenados son principalmente alcaloides y glucósidos cianogénicos. Los alcaloides son un grupo diverso de compuestos con casi 4.000 estructuras conocidas. Estos son fisiológicamente activos en humanos (cocaína, nicotina, morfina) y de gran interés en la industria farmacéutica. Por otro lado, los glucósidos cianogénicos se consideran probablemente los metabolitos secundarios que tienen la relación más alta en las funciones de defensa. Además, también tenemos glucósidos de cardenolida (digitoxina, digoxina), diterpenos, sabores, flavonoides, quinina; productos utilizados como pigmentos y en perfumería, como antocianinas, betalinas y productos utilizados con fines químicos y agroquímicos, como proteasas, vitaminas, lípidos, aceites, látex.^{8,15,17,42}

2.2.1.2. Identificación preliminar de metabolitos secundarios

Respecto a los metabolitos secundarios más resaltantes encontramos a los terpenos, compuestos fenólicos, glucósidos y alcaloides, dichos metabolitos se identificarán mediante pruebas de coloración y precipitación.⁷

Metabolitos	Reactivos de identificación
Compuestos fenólicos	FeCl ₃
Flavonoides	Shinoda FeCl ₃ HCl Alcohol amílico
Lactonas	Baljet Acido pícrico Hidróxido de sodio
Esteroides	Liebermman-Bouchardat Cloroformo Anhídrido acético Ácido sulfúrico
Quinonas y antraquinonas	NaOH 5% Borntranger Cloroformo
Glucósidos cardiotónicos (desoxiazúcares)	Keller y Killiani Ácido acético Cloruro férrico Ácido sulfúrico
Alcaloides	Dragendorff Mayer Wagner
Saponinas	Prueba de la espuma

Tabla 1: Metabolitos secundarios con sus respectivos reactivos de identificación.

Fuente: Toledo M. Estudio fitoquímico, evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de la corteza de “*triumfettasemitriloba*” jacq (motecepo) y análisis de parámetros reológicos del mucílago. Tesis para optar título de Químico. Lima, Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.³⁵

a) Compuestos fenólicos: Los compuestos fenólicos, polifenoles o fenilpropanoides derivan todos ellos del fenol, un anillo aromático con un grupo hidroxilo, químicamente los compuestos fenólicos son un grupo muy diverso que comprende desde moléculas sencillas como los ácidos fenólicos, hasta polímeros complejos como los taninos condensados y la lignina.

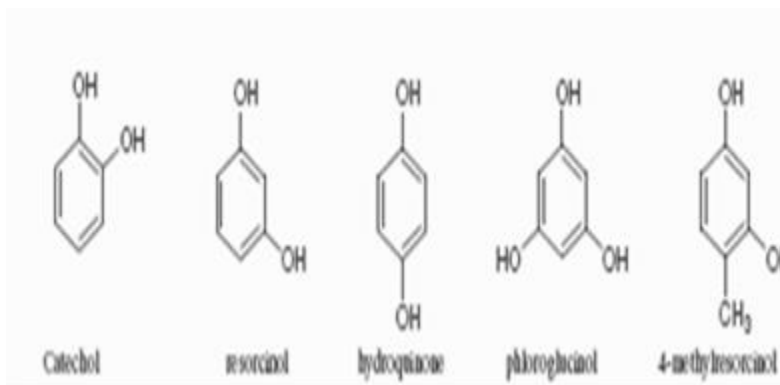


Figura 2: Estructuras químicas de los compuestos fenólicos simples.

Fuente: Peñarrieta J, Tejada L, Mollinedo P et al. Phenolic compounds in food: Clasificación de compuestos fenólicos presentes en alimentos. 2014 Dic; 31(2): pp. 34.⁴³

b) Flavonoides: Su naturaleza es fenólica, se caracterizan por la presencia de 2 anillos aromáticos de benceno unidos por un puente de 3 átomos de carbono, su estructura general es C6-C3-C6. Otra literatura menciona que consta de tres anillos: benzopirano 2-fenilo, un anillo dihidroxilado fenólico en las posiciones 5 y 7 (denominado A), un segundo anillo generalmente monohidroxifenólico (denominado B), que también puede contener grupos metoxi (O-CH₃) como sustituyentes y el anillo C, que puede ser un anillo heterocíclico con oxígeno pirano, pirilio o pirona. Los flavonoides tienen propiedades tales como: antialérgico, antiulceroso, antiinflamatorio, antiplaquetario y diurético.^{17,43,46}

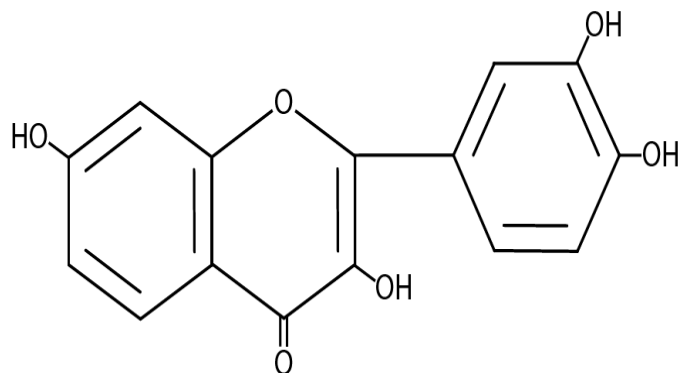


Figura 3: Estructura general de los flavonoides.

Fuente: Martos A. Estudio de la complejación de flavonoides con metales de interés biológico aplicando técnicas de modelización molecular. Trabajo de fin de grado. Universidad de Jaén.^{42,43}

- c) Lactonas:** Son compuestos orgánicos fenólicos de tipo éster cíclico de ácidos hidroxicarboxílicos, se forma como producto de la condensación de un grupo alcohol con un grupo ácido carboxílico en una misma molécula. Las estructuras más estables de las lactonas son los miembros con 5 anillos (gamma-lactonas) y los de 6 anillos (delta-lactonas). Las gamma-lactonas son tan estables que, en presencia de ácidos diluidos a temperatura ambiente, estos de inmediato sufren una esterificación espontánea y ciclación sobre la lactona mientras que las beta-lactonas tienen que ser preparadas por métodos especiales. En farmacia son utilizadas como antiespasmódico, sedante nervioso, antitumoral e hipolipidémico.⁴⁴

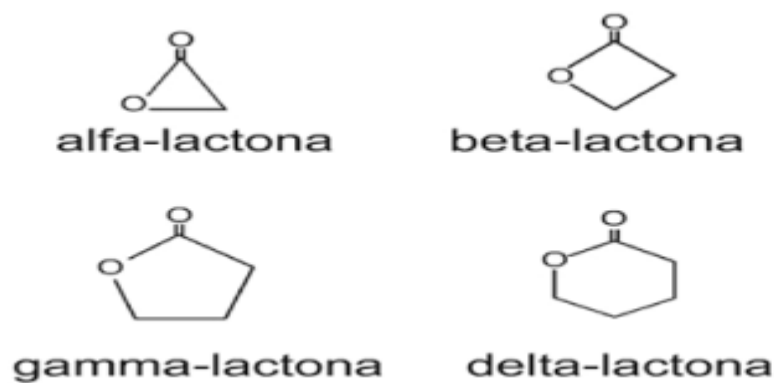


Figura 4: Estructura química de las lactonas.

Fuente: Gualo N. Síntesis de lactonas bicíclicas vía trifluorometansulfonato de 1- acetales de bis(trimetilsilil) cetenas. Tesis para optar grado de maestría en ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.⁴⁴

d) Esteroides: Casi todos los esteroides vegetales se llaman esteroides. Todos contienen un anillo de ciclopentano perhidrofenantreno y un grupo hidroxilo (grupo alcohol) en el carbono 3. La mayoría de los esteroides naturales o esteroides insaturados tienen una cadena lateral de 8 a 10 átomos de carbono y un doble enlace en C-5. Los esteroides naturales conocidos tienen las siguientes características estructurales: los dobles enlaces en el anillo están presentes principalmente en C-5, C-7, C-8 y C-9, los dobles enlaces en la cadena lateral están principalmente presentes en C-22 y con menos frecuencia en C-24 y C-25. Además de los grupos metilo 18, 19, 21, 26 y 27, es común encontrar grupos metilo en C-24, menos común en C-4, la cadena lateral contiene grupos alquilo

(metilo, etilo, isopropilo, propilo), etc.) principalmente en C-

24.^{21,45,46}

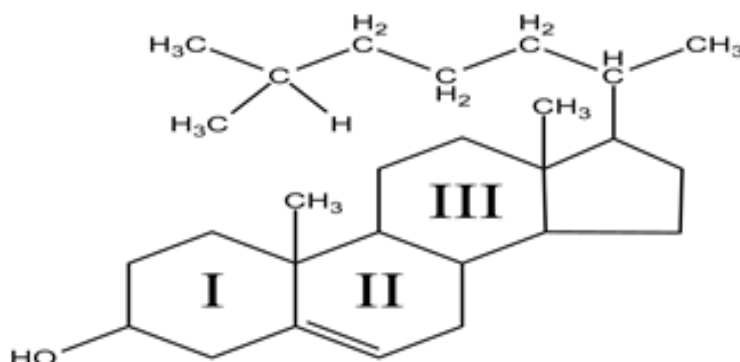


Figura 5: Estructura química del estero.

Fuente: Santizo I. Identificación de familias de metabolitos secundarios en *Myrica cerífera*. Informe para optar título de Químico Biólogo. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala.⁴⁵

- e) **Quinonas:** Son compuestos fenólicos que se caracteriza por un anillo diona. Pueden ser clasificadas como ubiquinonas, con la coenzima Q10 (coenzyme Q10) como un ejemplo típico, antraquinonas cuando tienen dos anillos fenólicos en la estructura de quinona, como la emodin y naftoquinonas (poco frecuentes) que tienen un solo anillo aromático ligado al anillo conjugado por un grupo cetona doble. Se ha demostrado que las quinonas poseen propiedades redox y la coenzima Q10 es considerada un potente antioxidante.^{17,43}

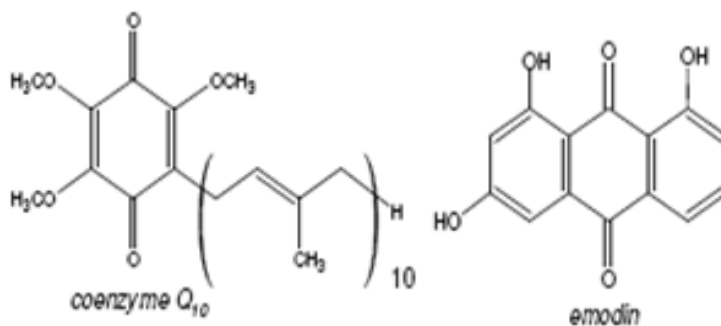


Figura 6: Estructura química de las quinonas.

Fuente: Peñarrieta J, Tejada L, Mollinedo P et al. Phenolic compounds in food: Clasificación de compuestos fenólicos presentes en alimentos. 2014 Dic; 31(2): pp. 34.⁴³

f) Glucósidos cardiotónicos: Los glicósidos o glucósidos cardiotónicos poseen una estructura esteroidal que se caracterizan por llevar en el C-17 un anillo de lactona no saturado, los cardenólidos tienen específicamente un anillo pentagonal con un doble enlace conjugado con el grupo carbonilo; como parte de la denominada glicona, incluyen en la posición 3 moléculas de azúcar como sustituyentes, siendo las más comunes, la glucosa y los 6-desoxiazúcares(ramnosa,mucosa,digitalosa y thevetosa).^{16,47}

Estas moléculas constituyen los principios activos de muchas plantas y su actividad farmacológica se debe fundamentalmente a la parte no glucídica. Los glucósidos cardiotónicos también se denominan digitálicos, debido al nombre de la especie. Son sustancias que actúan en el músculo

Chemical structure of a steroid with numbered carbons (1-23) and rings labeled A, B, C, and D. The structure includes an RO group at C3, a hydrogen at C10, a hydroxyl group at C14, and a side chain at C17. The side chain consists of a five-membered ring with an oxygen atom, a double bond between C20 and C21, and a carbonyl group at C22.

R = β -D-Glucose

R = β -D-Digitalose

R = α -L-Rhamnose

R = α -L-Thevetose

Fuente: Amaringo F, Hormaza A, Arias M. Thevetin B: Cardiotonic glycoside predominant in *Thevetia peruviana*. Medellín- Colombia. 2011, pp: 299-310.⁴⁷

17

nitrógeno. Estos se pueden clasificar de acuerdo a su estructura, actividad u origen. En la industria farmacéutica los alcaloides son de gran importancia gracias a sus diversas actividades farmacológicas tales como: Estimulación circulatoria respiratoria, actividad hipotensora, antitumoral y analgésica.^{16,17,42}

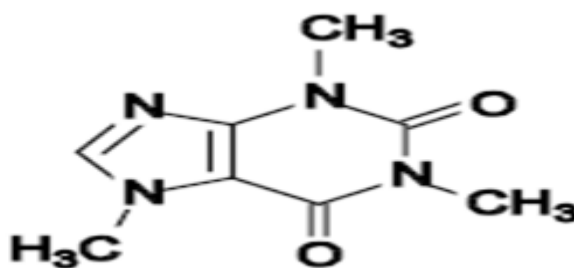


Figura 8: Estructura química de la cafeína (alcaloide).

Fuente: Rojas L, Jaramillo C, Lemus M. Métodos Analíticos para la Determinación de Metabolitos Secundarios de Plantas [Internet]. Ecuador: Samanta Cabezas; 2015.¹⁷

h) Saponinas: Las saponinas tienen la fórmula general ($C_nH_{2n-8}O_{10}$), tienen una estructura que contiene dos partes: glucone y aglucone. La parte de glucone está compuesta de azúcares simples de 1 a 5 unidades; mientras que la parte de aglucona conocida como sapogenina tiene una estructura principal similar a un triterpeno (C 30) o similar a los esteroides (C 27). La diferencia entre ellos es que el tipo de esteroide ha eliminado 3 de sus radicales metilos y tiene un sistema policíclico característico de esterano; Algunos de los triterpenos no tienen un esterano y retienen los radicales

metilos en su estructura. Son compuestos glucosídicos coloidales solubles en agua que contienen espuma cuando se agita la solución acuosa. Además, exhiben actividad biológica como: antifúngico, espermicida, hemolítico, cicatrizante, citotóxico, cardiovascular, expectorante, etc.^{17,26,27,46}

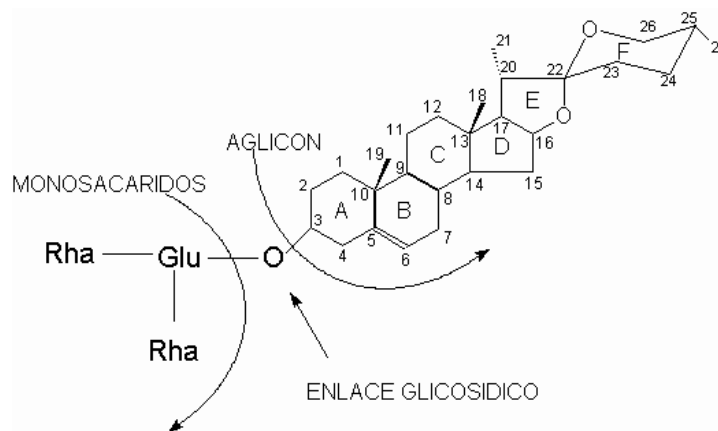


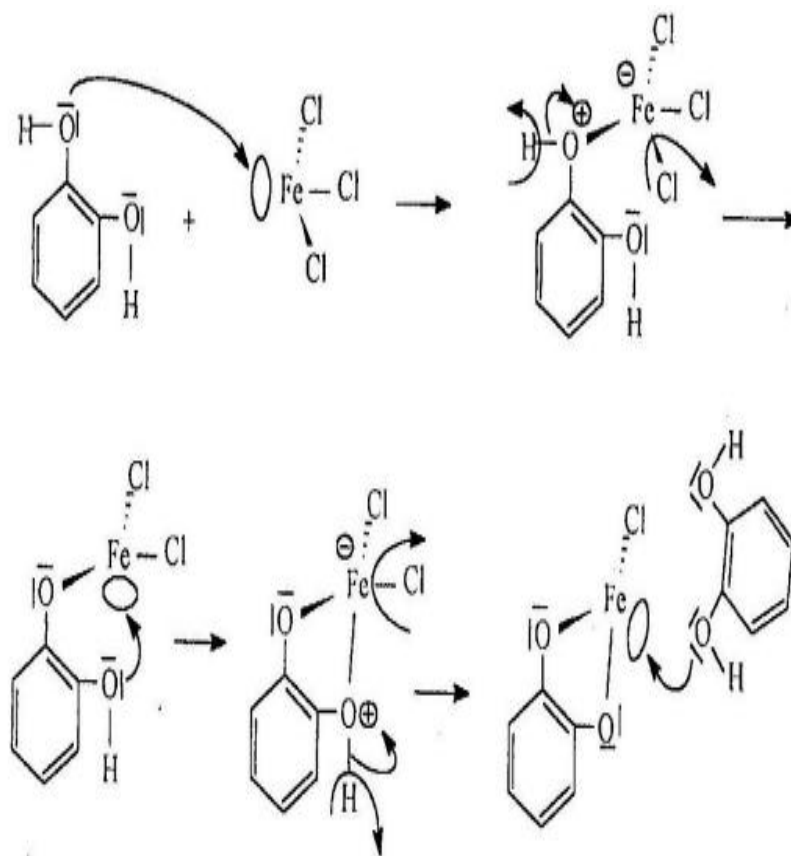
Figura 9: Estructura química de las saponinas.

Fuente: Avalos A, Pérez E. metabolismo secundarios de las plantas. Investigación en Salud [Internet]. 2009, Ene. [Citado el 06 de Jun. Del 2020]; 2(3): pp. 119-145.⁴⁶

2.2.1.3.Reacciones de coloración y precipitación

Las reacciones de coloración se basan en el movimiento de electrones generados por sustancias ácidas, básicas o sales, cuando un electrón gana energía es excitado y sube de nivel, mientras que las reacciones de precipitación se basan en un intercambio del anión voluminoso del reactivo en acción, que reemplaza a los aniones pequeños de las sales de los metabolitos secundarios, que tengan esta característica.^{33,50}

a) Reacción de cloruro férrico: Es un tipo de reacción ácido-base de lewis, teniendo como donador de electrones a los hidroxilos del catecol del tanino, existiendo la formación de cargas parciales para la posterior eliminación de átomos de hidrógeno y cloruro hasta llegar a la formación de un complejo de color verde oscuro, sugiere la presencia de taninos no hidrolizables.^{34,50}



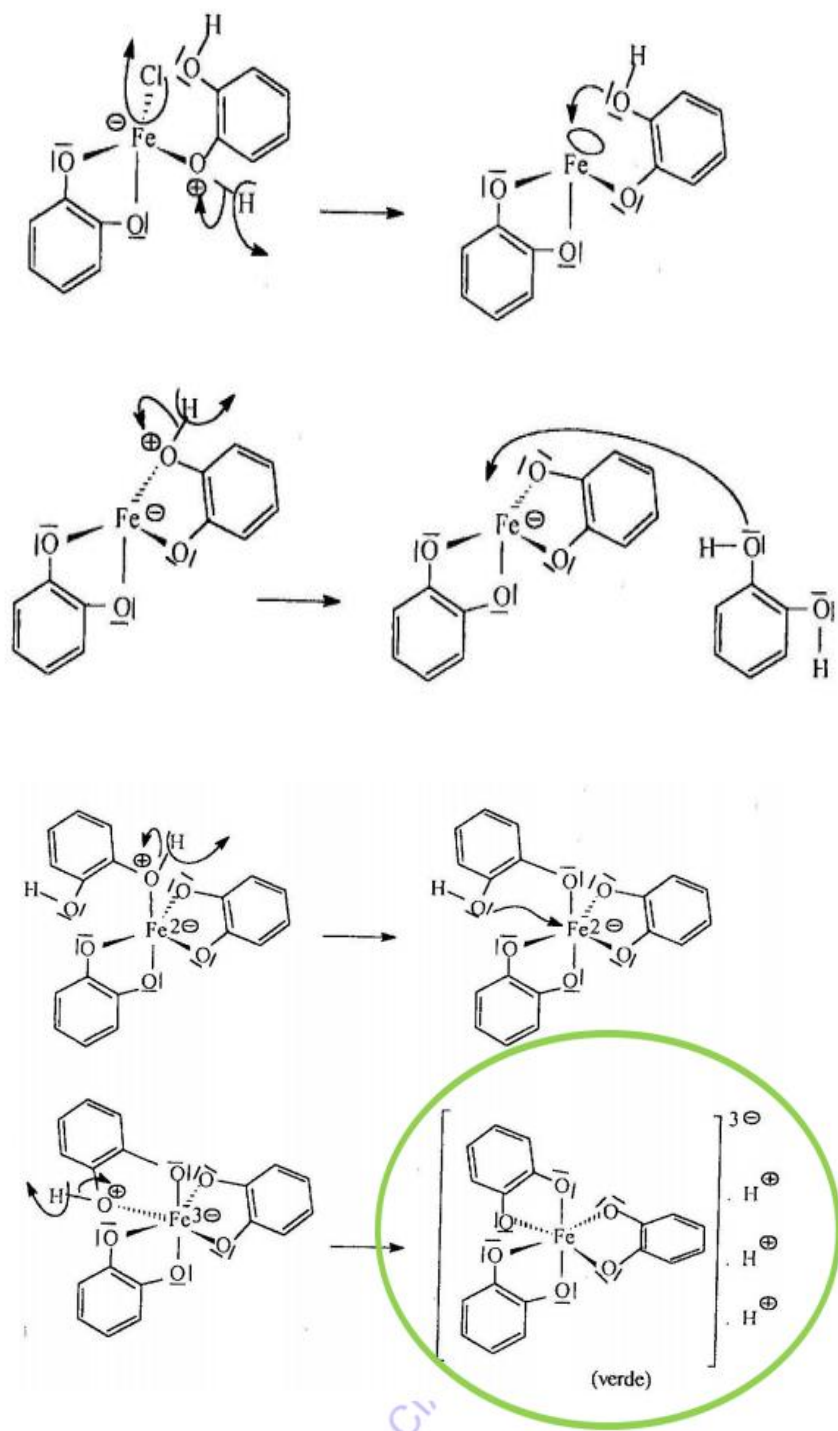
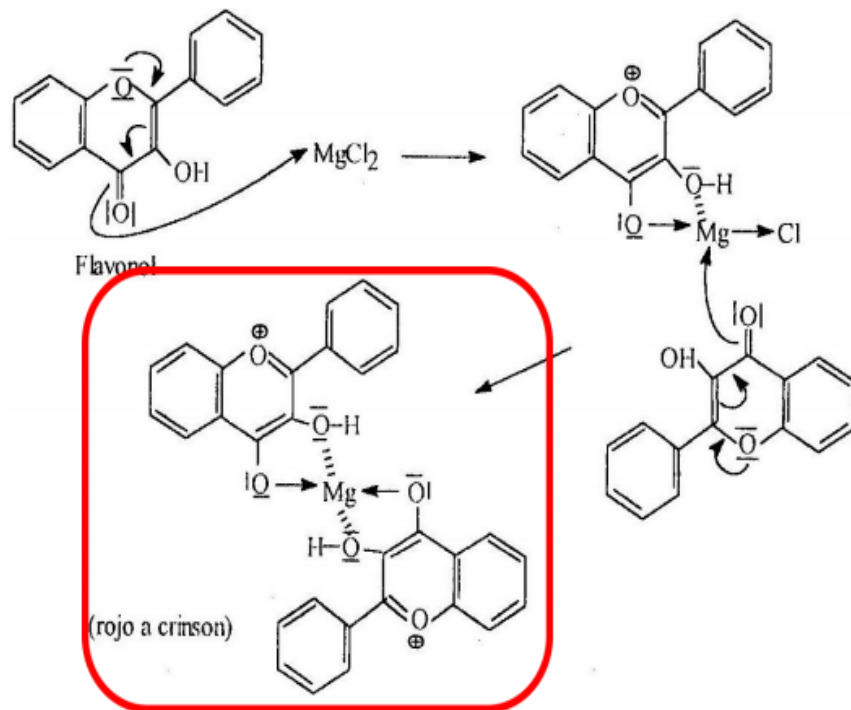
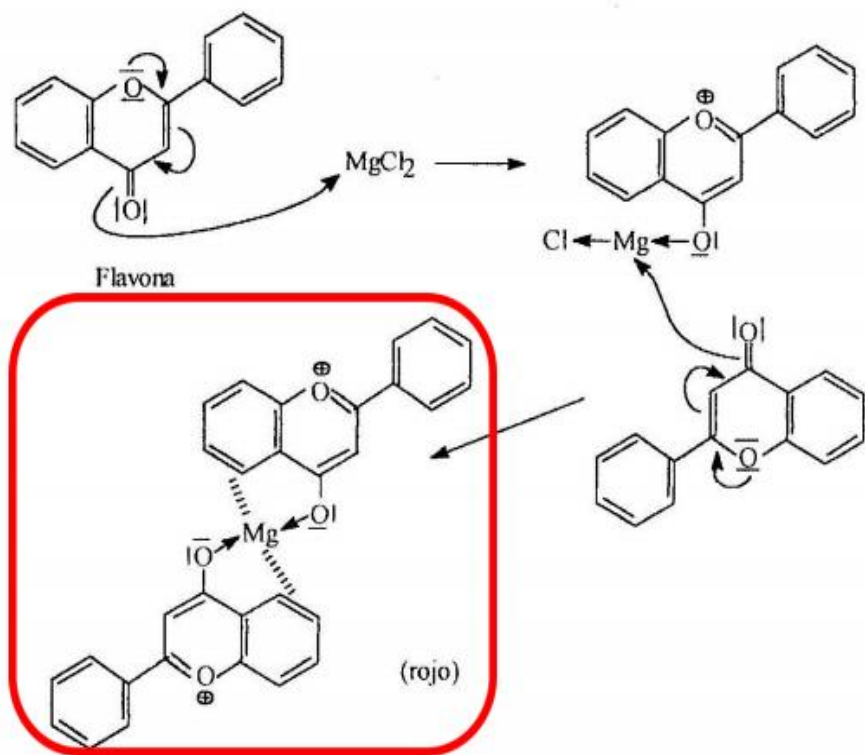


Figura 10: Reacción de cloruro férrico (para identificar fenoles y taninos).

Fuente: Alayo N, Guevara L. Identificación preliminar de fitoconstituyentes en las inflorescencias de *Bejaria Aestuans* L. (purum - rosa). Tesis para obtener bachiller en Farmacia y Bioquímica. Trujillo, Perú. Universidad Mayor de Trujillo.³⁴

b) Reacción de Shinoda: En esta reacción, el magnesio metálico es oxidado por el ácido clorhídrico concentrado, dando como productos al hidrógeno molecular, que es eliminado en forma de gas y el cloruro de magnesio, es el que forma complejos con los flavonoides dando coloraciones características. El magnesio divalente, actúa sobre el grupo carbonilo de dos flavonas, produciendo una coloración roja, este aumento de intensidad es debido a que el magnesio divalente intensifica la coloración por estar doblemente coordinado. En los flavonoles el magnesio divalente presenta dos enlaces de coordinación fuertes y dos débiles; los primeros son formados por los oxígenos de los grupos carbonilos y los segundos por los hidroxilos de la posición 3, de esta manera la intensidad aumenta como dando como resultado una coloración que va desde rojo a crimson. Respecto a las flavonas el magnesio divalente produce un movimiento de electrones π y electrones n en el anillo de la cromona, el cual produce una coloración que va desde crimson a magenta.^{34,50,51}



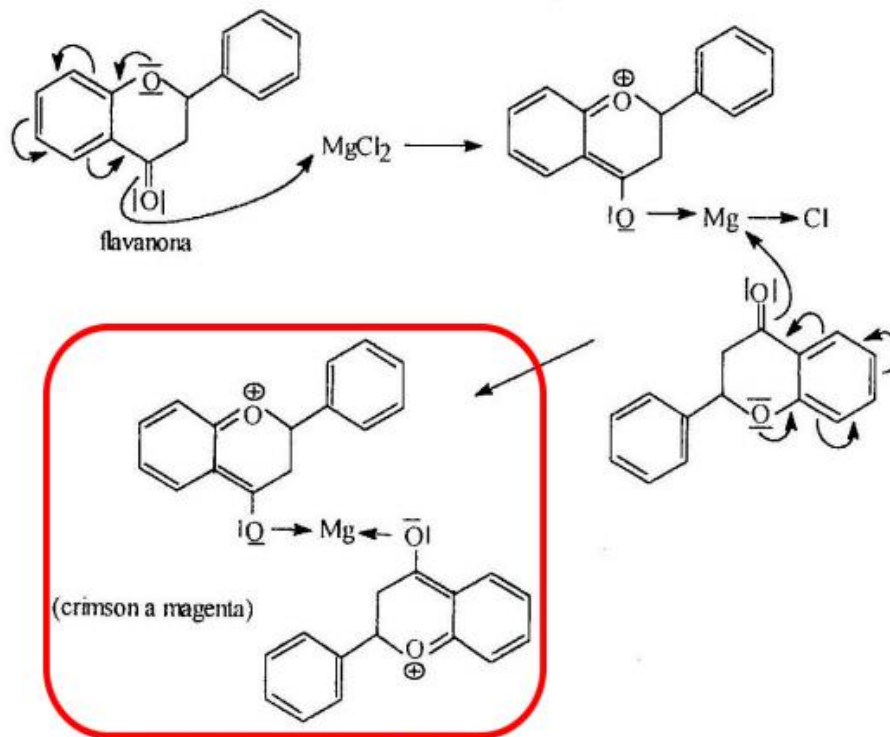


Figura 11: Reacción de Shinoda (para identificar flavonoides).

Fuente: Alayo N, Guevara L. Identificación preliminar de fitoconstituyentes en las inflorescencias de *Bejaria Aestuans* L. (purum - rosa). Tesis para obtener bachiller en Farmacia y Bioquímica. Trujillo, Perú. Universidad Mayor de Trujillo.³⁴

- c) **Racción de Baljet:** Esta coloración es posible gracias a que el ácido pícrico reacciona en medio básico con la formación de una molécula de agua, llegando a formar así el picrato de sodio que es el que reacciona con el grupo carbonilo de la lactona insaturada de 5 miembros, lo que permite la ruptura del anillo lactónico con la posterior formación de un complejo de color rojo ladrillo.^{34,50}

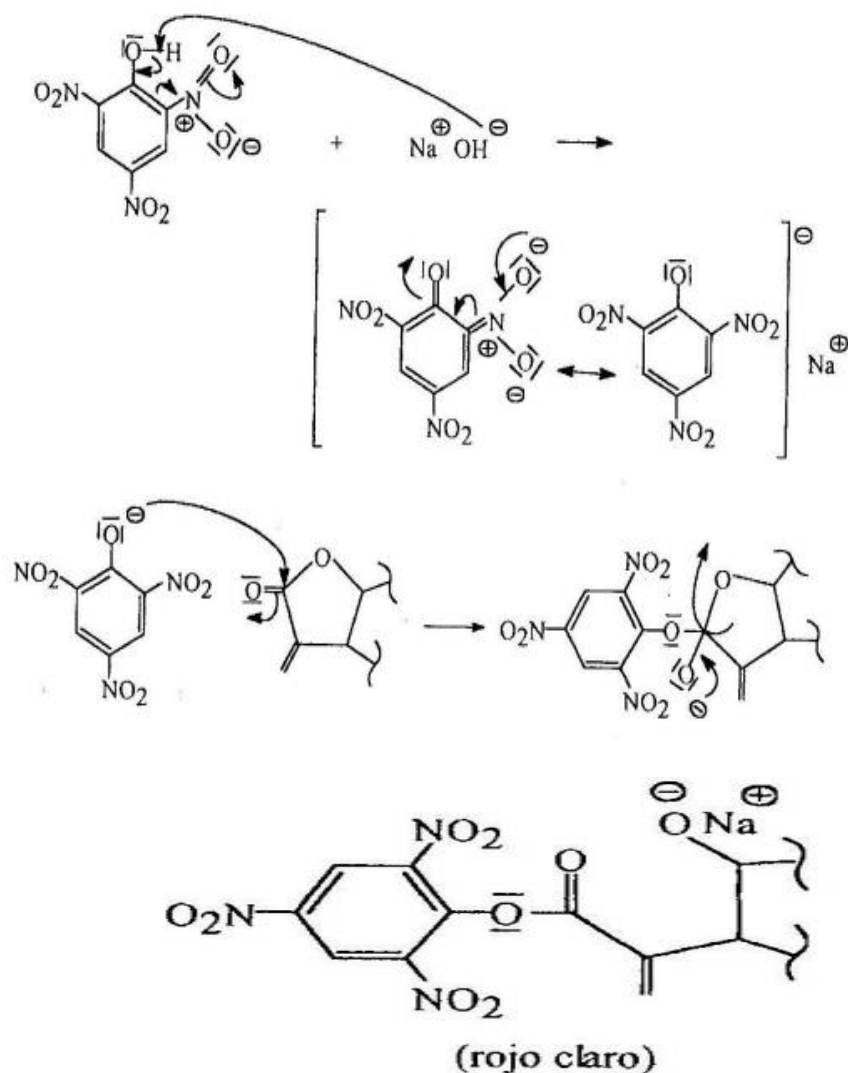


Figura 12: Reacción de Baljet (para identificar lactonas).

Fuente: Alayo N, Guevara L. Identificación preliminar de fitoconstituyentes en las inflorescencias de *Bejaria Aestuans* L. (purum - rosa). Tesis para obtener bachiller en Farmacia y Bioquímica. Trujillo, Perú. Universidad Mayor de Trujillo.³⁴

d) Reacción de Liebermman – Bouchardat: La reacción debe realizarse en medio absolutamente anhidro, ya que, al existir moléculas de agua, estas reaccionan con el anhídrido acético, anulando de esta manera la formación de un agente oxidante, muy

necesario para la efectividad del ensayo en mención. El Cloroformo solubiliza a la muestra, favoreciendo la captación de algunas moléculas de agua presentes, debido a que es un solvente inmiscible, que absorbe el agua y el ácido sulfúrico, reacciona con el anhídrido acético, dando lugar a la liberación de hidrogeniones, los cuales catalizan la dimerización del triterpeno inicial y además, la generación de Trióxido de azufre, el agente oxidante que promoverá una deslocalización generalizada y con ello la generación de un compuesto coloreado.^{34,50,51}

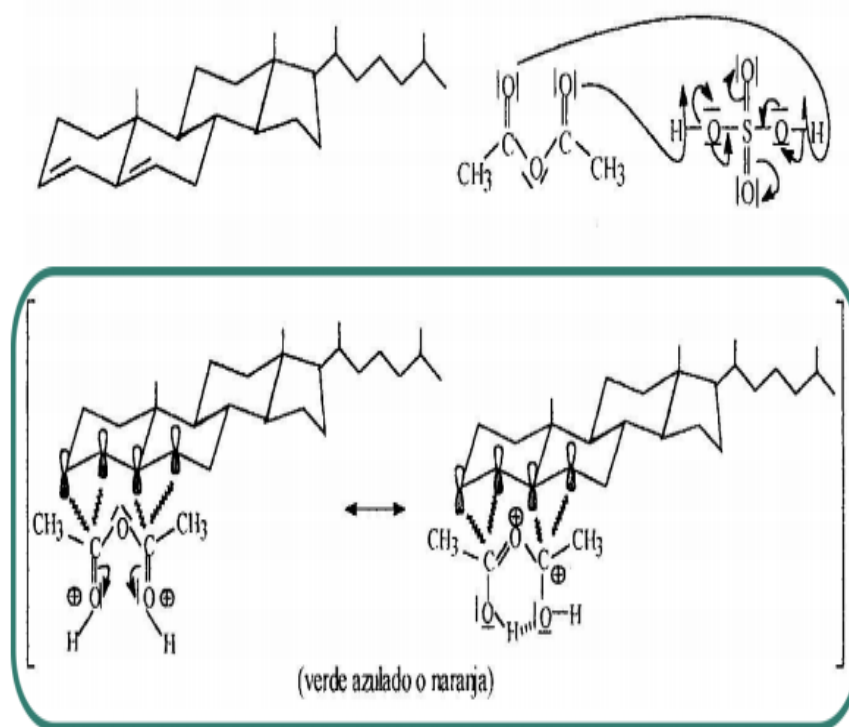
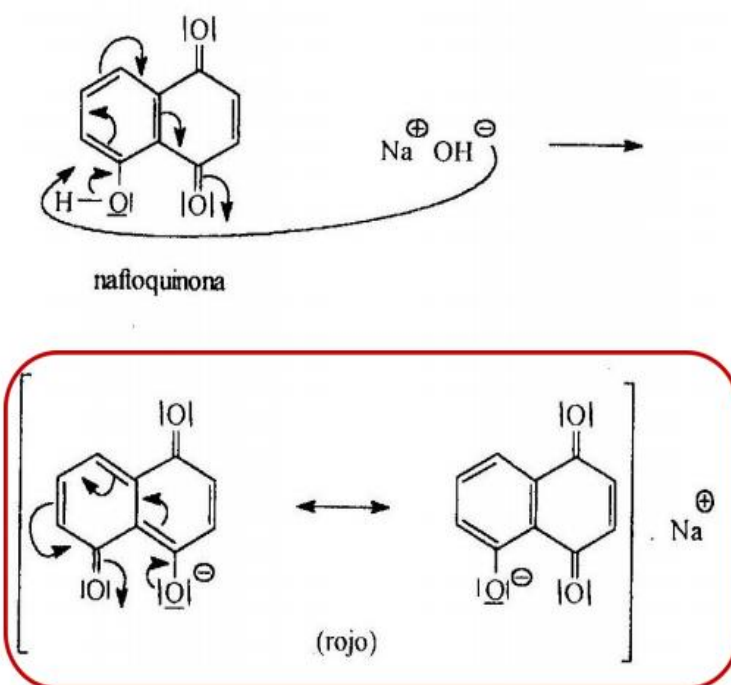


Figura 13: Reacción de Liebermmman – Bouchardat (para identificar esteroides).

Fuente: Alayo N, Guevara L. Identificación preliminar de fitoconstituyentes en las inflorescencias de *Bejaria Aestuans* L. (purum - rosa). Tesis para obtener bachiller en Farmacia y Bioquímica. Trujillo, Perú. Universidad Mayor de Trujillo.³⁴

e) **Reacción de Borntrager:** Esta reacción produce una coloración roja cuando el hidróxido de sodio reacciona con uno de los grupos hidroxilo, tanto de las antraquinonas como de las naftoquinonas ya que la coloración depende de la cantidad de electrones deslocalizados en movimiento.⁵⁰



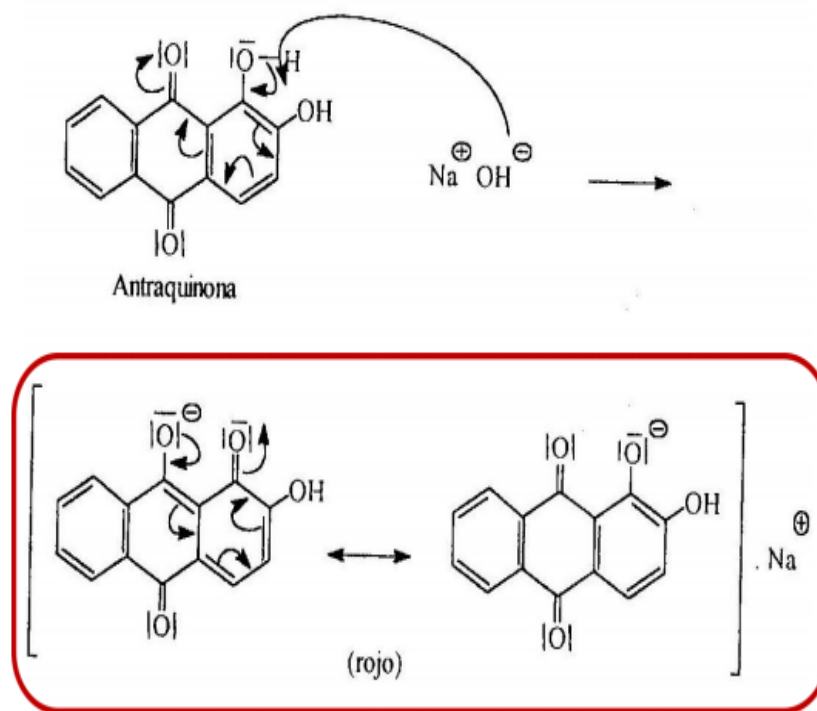


Figura 14: Reacción de Borntrager (para identificar quinonas).

Fuente: Alayo N, Guevara L. Identificación preliminar de fitoconstituyentes en las inflorescencias de *Bejaria Aestuans* L. (purum - rosa). Tesis para obtener bachiller en Farmacia y Bioquímica. Trujillo, Perú. Universidad Mayor de Trujillo.³⁴

- f) Reacción de Keller y Killiani:** Para realizar la identificación de los azúcares, hay dos tipos de reacciones, las generales, destinadas a detectar la presencia de azúcar y las específicas de determinados azúcares, como los 2desoxiazúcares, que responden a la reacción de Keller – Killiani. En la zona de contacto de los dos líquidos se produce un anillo que se colorea de color rojo pardo.^{30,41}

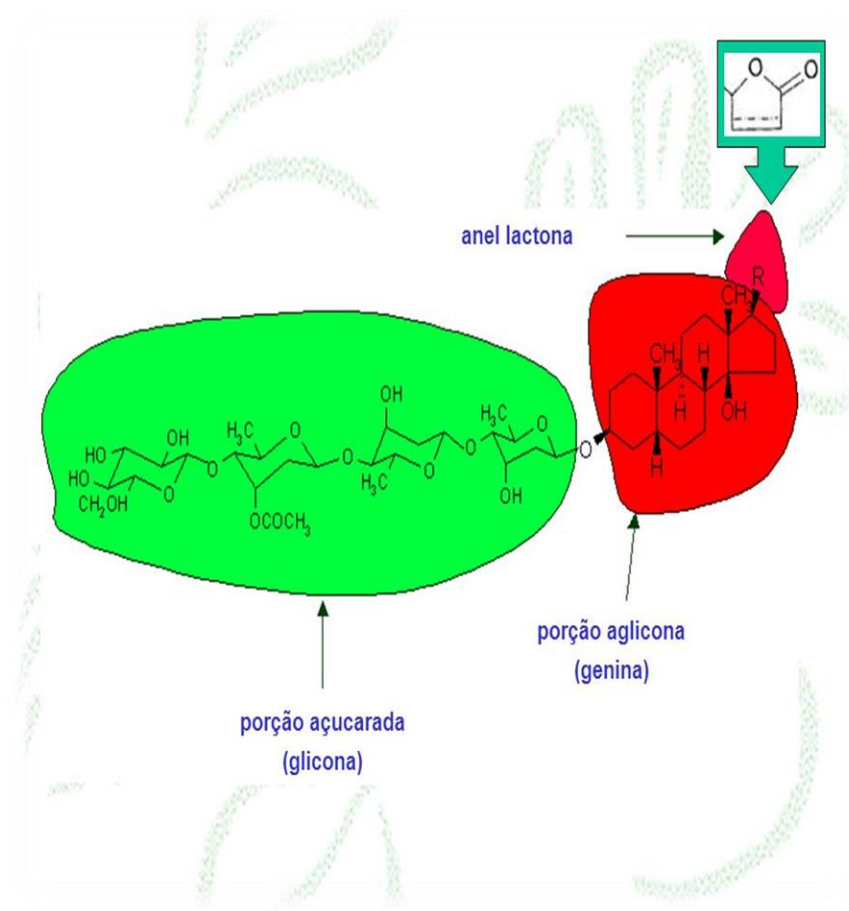


Figura 15: Reacción de Keller y Killiani (para identificar alcaloides).

Fuente: Delporte C. Productos Naturales. 2010. Disponible desde: file:///C:/Users/HUGO/Downloads/cl_sem12_F_2010_cardiot_Modo_de_compartibilidad_.pdf.⁵²

g) Reacción de Dragendorff: Esta reacción produce sales de los alcaloides precipitados coloreados; el bismuto presenta una geometría octaédrica y una carga formal de -2, en su esfera de coordinación (anión voluminoso) para interactuar electrostáticamente con dos moléculas de alcaloide protonadas.^{16,34,50,51}

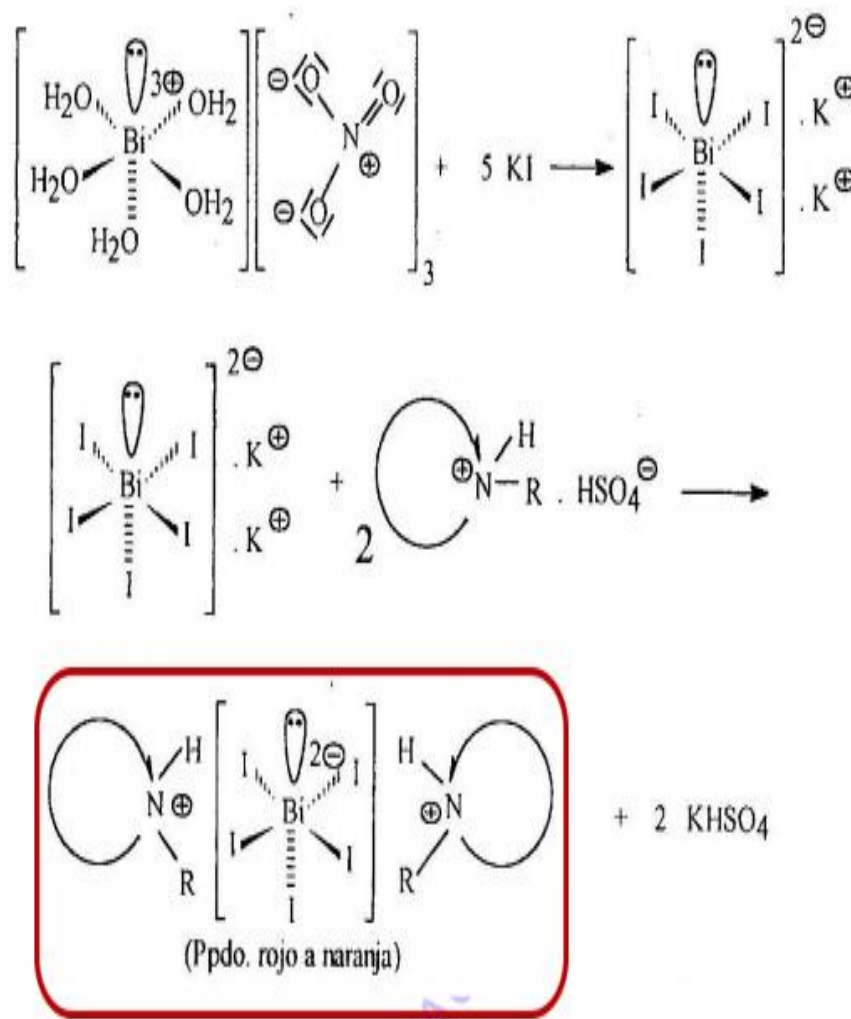


Figura 16: Reacción de Dragendorff (para identificar alcaloides).

Fuente: Alayo N, Guevara L. Identificación preliminar de fitoconstituyentes en las inflorescencias de *Bejaria Aestuans* L. (purum - rosa). Tesis para obtener bachiller en Farmacia y Bioquímica. Trujillo, Perú. Universidad Mayor de Trujillo.³⁴

h) Reacción de Mayer: Esta reacción presenta como metal de coordinación al mercurio (Hg^{2+}), el cual forma una coordinación tetraédrica, con una carga formal, en su esfera de -2; interactuando de manera semejante al reactivo anterior.^{34,50,51}

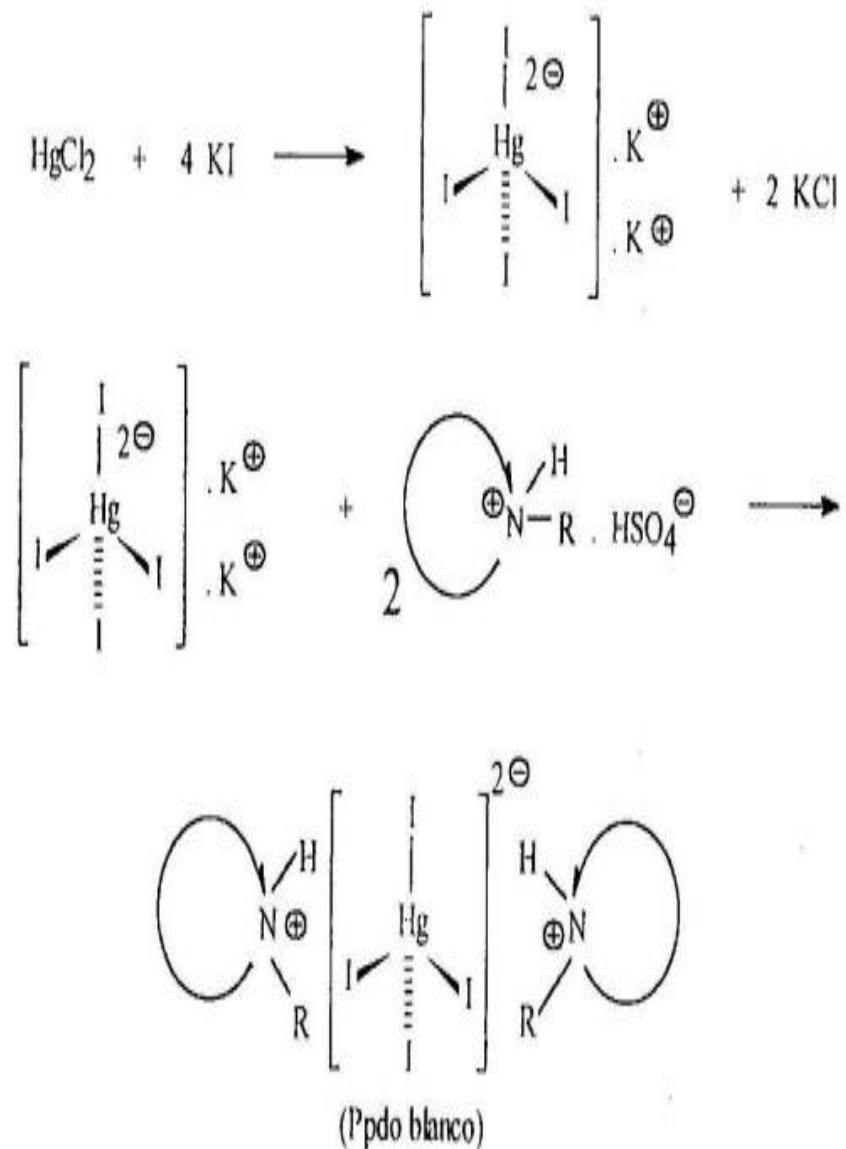


Figura 17: Reacción de Mayer (para identificar alcaloides).

Fuente: Alayo N, Guevara L. Identificación preliminar de fitoconstituyentes en las inflorescencias de *Bejaria Aestuans* L. (purum - rosa). Tesis para obtener bachiller en Farmacia y Bioquímica. Trujillo, Perú. Universidad Mayor de Trujillo.³⁴

- i) **Reacción de Espuma:** La muestra es sometida a agitación constante por 15 segundos y se deja en reposo 15 minutos notándose la formación de espuma, debido a que las saponinas disminuyen la tensión superficial del agua. Son por lo tanto tensioactivos naturales.

Debido a la agitación se forma espuma y al reposar el nivel de espuma desciende. Se considera espuma persistente, si transcurridos los 15 minutos, la espuma tiene una altura superior al centímetro.^{50,51}

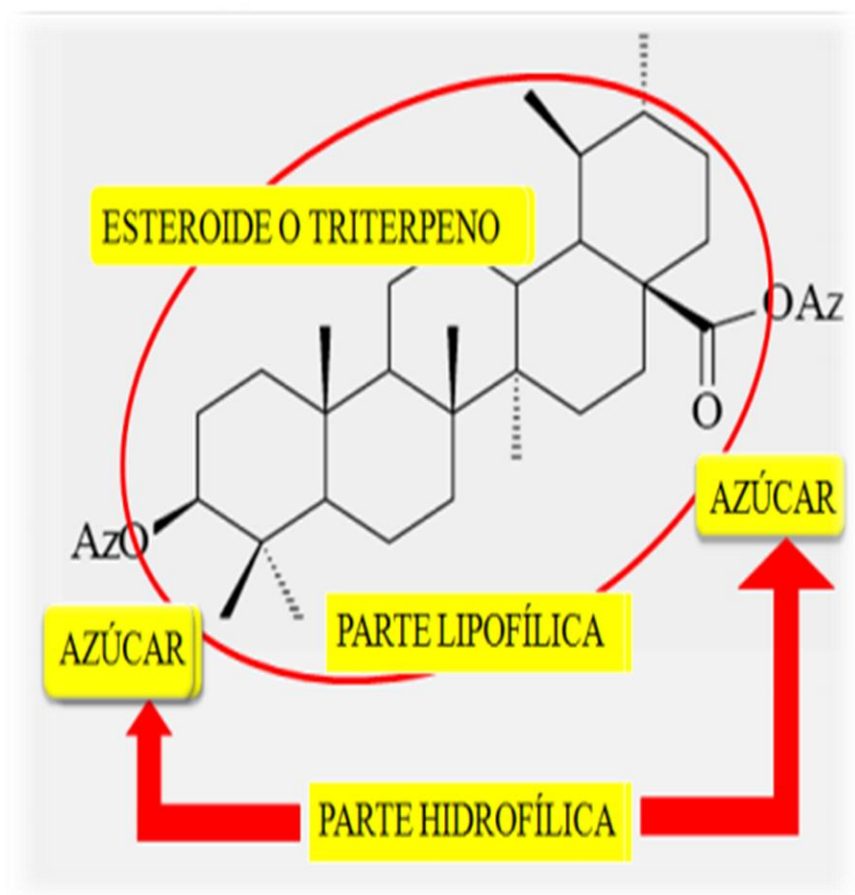


Figura 18: Reacción de Espuma para identificar saponinas.

Fuente: Alayo N, Guevara L. Identificación preliminar de fitoconstituyentes en las inflorescencias de *Bejaria Aestuans* L. (purum - rosa). Tesis para obtener bachiller en Farmacia y Bioquímica. Trujillo, Perú. Universidad Mayor de Trujillo.³⁴

2.2.2. Cianobacterias

2.2.2.1. Generalidades de las cianobacterias

Las cianobacterias son llamadas también *Cyanophyta*, *Cyanoprokaryota* o algas verde-azules: Algas unicelulares, coloniales o filamentosas. Las células de las cianobacterias tienen un tamaño entre 5 – 20 μm ; estas se distribuyen en diferentes hábitats tales como: terrestres, marinos, aguas termales (80 °C), desiertos, lagos, regiones volcánicas y lugares helados, soportan temperaturas que llegan hasta 90 °C, además; pueden vivir asociados con hongos, protozoos y plantas.^{10,11}

Determinadas condiciones ambientales como: La acumulación de residuos orgánicos o el aumento de temperatura van a favorecer su crecimiento desencadenando una proliferación masiva o floración, dando lugar a modificación de la calidad del agua. Estas cianobacterias realizan fotosíntesis y emiten oxígeno debido a que contienen una sola forma de clorofila “a” y todas poseen pigmentos biliprotéicos como el caso de las ficobilinas que funcionan como pigmentos accesorios de la fotosíntesis. Las ficocianinas son azules y tienen un máximo de absorción de la luz a unos 625 nm y junto con la clorofila “a” (verde) brindan a estas su color característico verde - azulado.¹⁰

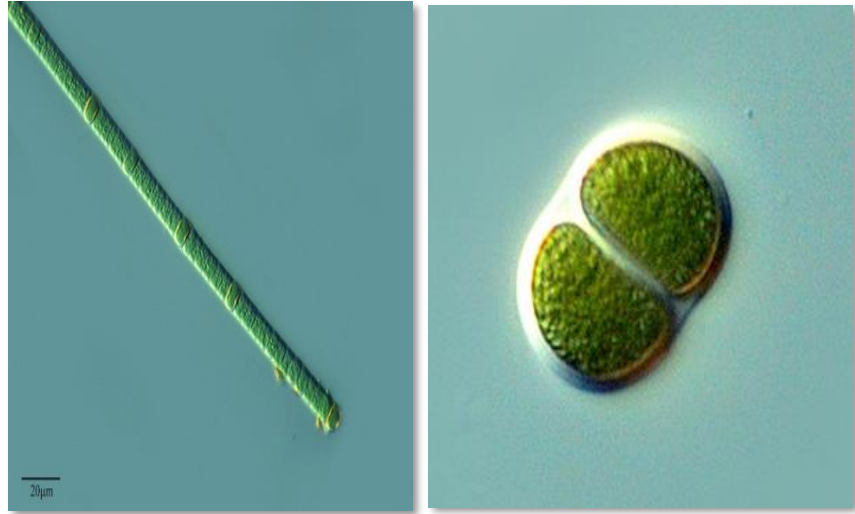


Figura 19: Morfología de las algas.

Fuente: Dowd M. Morfología de las algas. [Internet]. Actualizado el 22 de marzo del 2019. [Citado el 06 de Jun. del 2020]. Disponible desde: <https://sciencing.com/morphology-algae-8493664.html>. 6 de junio de 2020.⁴⁸

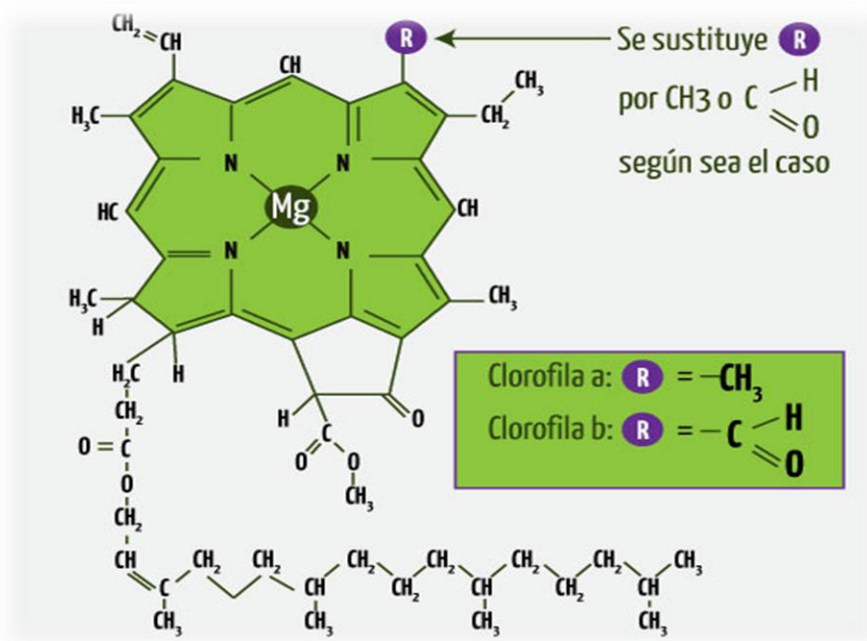


Figura 20: Estructura de la clorofila, diferencia entre clorofila a y

b.

Fuente: Ministerio de Educación y Cultura de España. Principales pigmentos vegetales. 2017. [Citado el 06 de Jun. del 2020]. Disponible desde: <https://hpmonarb.blogspot.com/2017/08/pigmentos-en-las-plantas.html>.⁴⁹

2.2.2.2. Clasificación de las cianobacterias

Se conoce más de 2000 especies de cianobacterias, entre ellas se percibe sólo una división Cyanophyta y una clase Cyanophyceae; la gran diferencia que existe es entre las cianobacterias con clorofila a y b, y las con o sin ficobiliproteínas. El sistema de clasificación se modifica continuamente debido al aporte de nuevos datos que provienen de diferentes fuentes moleculares, etiológicas, fisiológicas y bioquímicas. Según su forma de reproducción se distribuyen en 5 grandes grupos: Unicelulares, pleurocapsaleanos, *oscillatorias*, *nostocales* y ramificadas. Sin embargo, según el autor Solano J (2017) menciona que “actualmente hay 24 géneros entre ellas tenemos: *Chroococcus*, *Synechococcus*, *Anabaena*, *Spirulina*, *Nostoc*, *Oscillatoria*”.^{1,10,11}

A lo largo de la historia, la clasificación de las cianobacterias ha ido variando en función de las diversas aportaciones científicas que se iban proponiendo y la historia evolutiva de estos macroorganismos ha sido durante mucho tiempo algo que no se lograba conocer con claridad.

a) Clasificación según BOURRELLY 1970 - LEE, 1999¹²

- **Orden *Chroococcales*:** Unicelulares o agregados con una matriz gelatinosa fuera de la pared.
- **Orden *Nostocales* (*Oscillatoriales*):** Presencia de heterocitos y acinetos. Sin ramificación verdadera.

b) Clasificación según WHITTON and POTTS 2000, reorganizada por CASTENHOLZ and WATERBURY 1989

No filamentosas

- **Orden *Chroococcales*:** Unicelulares o agregados con una matriz gelatinosa fuera de la pared.

Filamentosas

- **Orden *Oscillatoriales*:** Tricomas sin heterocistos, con ramificaciones falsas.
- **Orden *Nostocales*:** Presencia de heterocistos y acinetos.

c) Clasificación según KOMAREK et al (2003-2005)

- **Orden *Chroococcales*:** Unicelulares o coloniales.
- **Orden *Oscillatoriales*:** Tricomas sin heterocistos, con ramificaciones falsas.
- **Orden *Nostocales*:** Presencia de heterocistos y acinetos. Con ramificaciones reales.

d) Clasificación según LEE (2008)

- **Orden *Chroococcales*:** Unicelulares o coloniales incluidas en una matriz gelatinosa.
- **Orden *Oscillatoriales*:** Filamentosas.
- **Orden *Nostocales*:** Filamentoso con heterocistos.

Es evidente que ciertos órdenes y familias siguen siendo cuestionadas y requieren más revisiones, por eso la clasificación debe ser reevaluada, corregida y cambiada continuamente.

2.2.2.3. Estructura y composición^{11,14,24}

- Son procariotas y autótrofas.
- No tienen núcleo realy son más grandes que las bacterias.
- Carecen de flagelos y cloroplastos.
- Su pared celular de mureína es semejante al de las bacterias gran negativasy en su interior se observa una zona incolora la cual contiene ADN, su contorno es coloreado donde se encuentran los ribosomas dispersos y los tilacoides, dentro de ellos se encuentran las clorofilas y pigmentos fotosintéticos (carotenos y xantofilas).
- Secretan una sustancia mucilaginosa que les brinda defensa contralos depredadores, porque puede ser tóxica. Por otro lado, reúne grupos de células que forman filamentos (cianobacterias filamentosas).
- Se caracterizan por que contienen vesículas de gas en su citoplasma, estas vesículas se encargan de mantener en flotación a las cianobacterias para que de este modo logren ubicarse en la zona de máxima iluminación.
- Su membrana plasmática presenta ácidos grasos con dos o más enlaces dobles en la cadena hidrocarbonada a diferencia de los demás procariotas que poseen ácidos grasos saturados.
- Se caracterizan por presentar estructuras capaces de retener gases y nitrógeno.

- Algunas de las especies de cianofitas liberan toxinas, por lo que pueden causar serios daños en la salud humana, incluso la muerte (*Microcystis aeruginosa*).

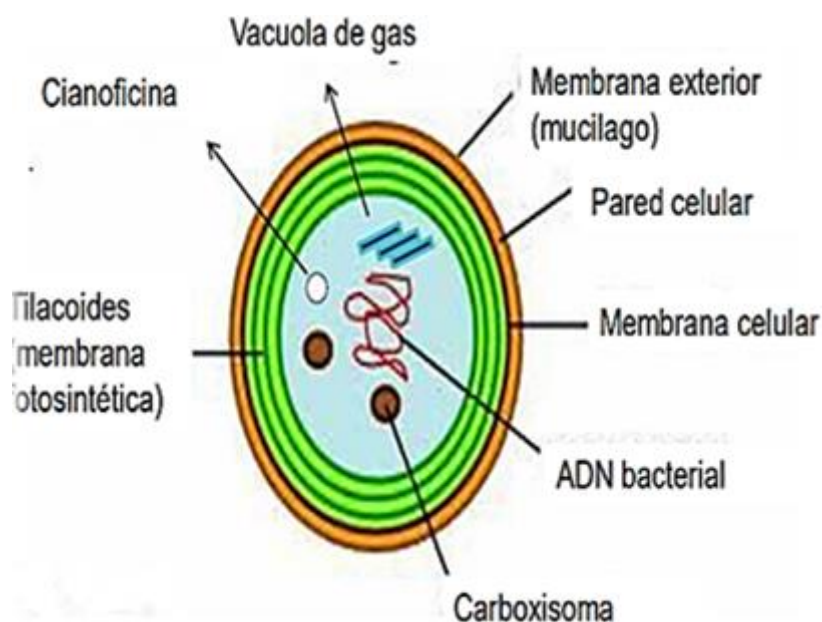


Figura 21: Estructura de las cianobacterias.

Fuente: Parra O, Almanza V. Taxonomía y morfología de los principales géneros y especies de Cianobacterias productoras de toxinas. 2014.³⁶

2.2.2.4. Usos y aplicaciones

Las cianobacterias tienen propiedades antibióticas, antimicrobiana y anticancerígenas; algunas de ellas contienen proteínas como la cyanovirina-N, la cual se encuentra bajo investigación ya que su aplicación como agente antiviral muestra actividad contra el VIH. Existen especies que contienen aminoácidos, vitaminas, enzimas y ácidos grasos poliinsaturados, otras son perjudiciales debido a que tienen una capacidad de generar cianotoxinas las cuales producen

alteraciones de las características físicas de agua debido a la liberación de metabolitos volátiles.¹

Las especies de mayor importancia son: *Spirulina* sp., *Oscillatoria* sp., *Anabaena* sp., y *Microcystis* sp., las cuales poseen un alto porcentaje de proteínas y son usadas en la fabricación de dietas para diferentes organismos incluyendo el hombre. Además, son utilizadas en la elaboración de cremas anti edad, reparan y regeneran la piel (capacidad de estimular la producción de colágeno); como emolientes y para la irritación.^{11,13}

En la industria química según Solano J (2017); afirma que se usan para la “elaboración de vitaminas, de colorantes naturales para alimentos de animales y de humanos por sus pigmentos como: betacaroteno, luteína, fitol, aminoácidos, polisacáridos, glicerol, enzimas, fosfolípidos, ácidos grasos esenciales y prostaglandinas”.¹¹

2.2.2.5. Metabolitos bioactivos¹⁸

Las cianobacterias producen gran cantidad de metabolitos de interés terapéutico: Antivirales, antitumorales, inhibidores enzimáticos, protectores de luz UV, entre otros efectos. Se considera que la mayoría de los metabolitos secundarios de las cianobacterias se describen y constituyen uno de los grupos de bacterias más prometedores en la búsqueda de nuevos productos bioactivos.^{5,11}

La familia de las cianobacterias son pequeños péptidos cíclicos de síntesis ribosomal que se dan por modificaciones postraduccionales. Las moléculas muestran un potencial farmacológico muy importante que

son los fármacos antipalúdicos, antitumorales, antimicrobicos que afectan a la polimerización de la tubulina de agentes infecciosos y se aíslan de distintas especies del género *Nostoc*, entre otros. Muchos géneros de cianobacterias tienen alto potencial antitumoral, son una buena fuente de vitaminas, por ejemplo 20 g de *Spirulina* aportan toda la vitamina B12 requerida en un día, así como el 70% de B1 (tiamina), el 50% de B2 (riboflavina) y el 12% de B3 (niacina). Además, la *Spirulina* es rica en tocoferol (vitamina E); lo cual se considera a esta especie de gran importancia para la salud de la población.^{5,23}

2.2.2.6. Componentes químicos^{5,11}

- a) Pigmentos relacionados con la fotosíntesis:
 - Clorofila a (clorofila a y b en algunas).
 - Ficobilinas (ficoeritrina y ficocianina).
 - Alloficocianina.
 - Betacaroteno.
 - Xantofilas.
- b) Productos de reserva:
 - Cianoficina: Constituye una reserva nitrogenada.
 - Volutina: Constituye una reserva fosfatada.
 - Almidón de cianofíceas.
- c) Algunas cianobacterias tienen la capacidad de convertir el nitrógeno gaseoso en amonio.

2.2.2.7. Taxonomía

A lo largo de los años se ha ido dando muchas polémicas que están relacionadas con la clasificación de las cianobacterias. En el siglo XIX se desarrolló un sistema taxonómico en donde las cianobacterias fueron consideradas parte de la flora y de los organismos vegetales; de esta forma se les clasifica según sus características morfológicas, para posteriormente crear manuales detallados y completos que incluyen más de 2000 especies diferentes. En la tabla 2 se presenta un resumen de los órdenes, familias y algunos géneros del phylum cianobacteria, de acuerdo a la clasificación presentada por el National Center of Biotechnology Information (NCBI).¹³

Orden/Familia	Género
Chroococcales	Chroococcus, Gloeotheca, Halothece, Microcystis, Synechococcus, Synechocystis, Merispormedia,
Nostocales	
Nostocaceae	
Rivulariaceae	Anabaena, Nodularia, Nostoc,
Seytonemataceae	Calothrix, Gloeotrichia
Oscillatoriales	Oscillatoria, Pseudoanabaena, Spirulina
Pleurocapsales	Chroococcidiopsis, Dermocapsa
Prochlorophytes	
Prochloraceae	
Prochlorococcaceae	
Prochlorothrichaceae	

Stigonematale	Chlorogloeopsis, Fischerella, Hapalosiphon, Mastigocladus, Umezakia
----------------------	---

Tabla 2: Clasificación del Phylum Cyanobacteria (División Cyanophyta).

Fuente: Pérez J. Caracterización de las Secuencias Ribosomales 16s (ADNr) de Cianobacterias Asociadas a Eventos de Toxicidad. Tesis para optar grado de Maestro en Ciencias. La paz. Centro de Investigaciones Biológicas del Norte, SC.¹³

En Cajamarca, Aldave A (1989) fue el que clasificó taxonómicamente las 25 especies de cianobacterias verde-azules, tres especies de *Chroococcus*, destacando por su abundancia *Chroococcus turgidus*-var. *thermalis*, una especie de *Anacystis* (*Anacystis elebens*), ocho especies de *Oscillatoria* (*Oscillatoria chalybea* var. *genuina*, *Oscillatoria okeni*, *Oscillatoria planctónica*, *Oscillatoria prínceps* y *Oscillatoria animalis*), dos especies de *Lyngbya* (*Lyngbya martesiana*, *Lyngbya aestuarii*) y una especie de *Microcoleus* (*Microcoleus chthonoplastes*).^{4,6}

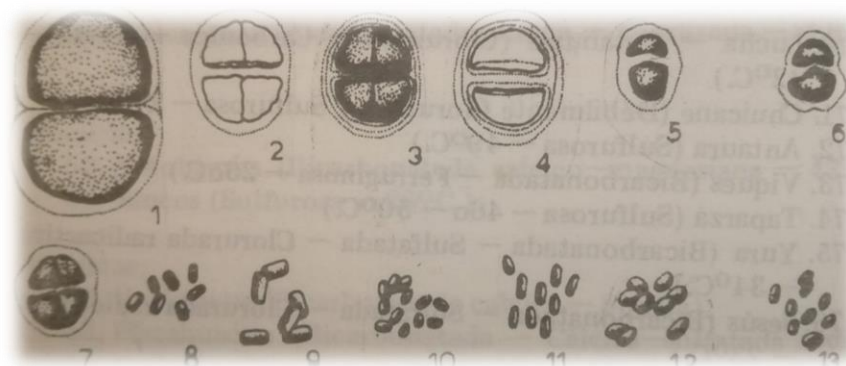


Figura 22: Cianobacterias de “Los Perolitos” de Baños del Inca (1-4 *Chroococcus turgidus*, 5-7 *Chroococcus turgidus* var. *Thermalis*, 8-13 *Gloeothoece linearis*).

Fuente: Aldave A. Algas. 1° ed. Trujillo: Copyright; 1989. Capítulo 4. Algas y aplicaciones dermatológicas del plancton termal (Baños de Inca- Cajamarca); 274-281.⁴

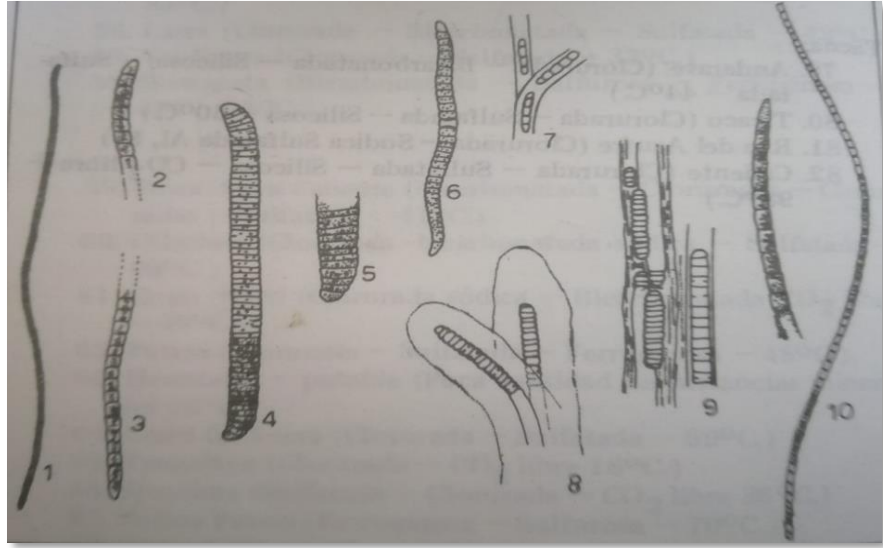


Figura 23: Cianobacterias de “Los Perolitos” de Baños del Inca (1-3 *Oscillatoria animalis*, 4-5 *Oscillatoria chalybea* var. *Genuina*, 6 *Oscillatoria okeni*, 7-9 *Microcoleus chthonoplastes*, 10 *Oscillatoria planctonica*).

Fuente: Aldave A. Algas. 1° ed. Trujillo: Copyright; 1989. Capítulo 4. Algas y aplicaciones dermatológicas del plancton termal (Baños de Inca–Cajamarca); 274-281.⁴

2.2.3. Algas de los Baños del Inca – Cajamarca

En el plancton termal de los Baños del Inca – Cajamarca existen más de 25 especies de cianobacterias, algas verde-azul o Cyanophyta, las cuales son llamadas natas. Es realmente grandioso visitar los Baños de Inca y poder observar la existencia decianobacterias microscópicas en los “manantiales”, “ojos de agua”, “los perolitos”, “pozos artificiales”, dichas cianobacterias resisten altas temperaturas y según sus condiciones ecológicas permiten la proliferación de algas verde-azuladas.^{4,6}

Según Aldave A (1989), refiere que al realizar la “determinación de la solubilidad en diferentes disolventes presenta; en alcohol el 21.40 g %, en agua el 0.05 g %,

en éter sulfúrico el 0.05 g %, en cloroformo el 0.00 g % y en bencina el 0.00 g %”.⁴

Es por ello que en el presente trabajo de investigación emplearemos el alcohol (etanol) para realizar un extracto etanólico de cianobacterias de las aguas termales de “Los Perolitos” de distrito de Baños del Inca– Cajamarca. Además, este autor en su libro “ALGAS”, registra el uso tradicional que se le daba a dichas cianobacterias ahora olvidadas, recurso olvidado que puede facilitar la búsqueda de tecnologías para optimizar su aprovechamiento.

2.2.3.1. Propiedades de las cianobacterias

En Cajamarca, se aplicaban las cianobacterias con fines terapéuticos desde hace años para el tratamiento de acné, es por ello que las autoras Alcántara F, Copia L (2010) elaboraron un gel a base de cianobacterias y reportan efectos descongestionantes, antisépticos, queratoplásticos, queratolíticos y disolventes de grasa en pacientes con acné vulgar. Sin embargo, con propiedades reumáticas y como revitalizante no se ha realizado un seguimiento del tratamiento es por ello que existe una información incompleta con respecto a estos tratamientos. Al visitar los Baños de Inca no es muy común observar que las personas se someten a una terapia termal colocándose fragmento de la flora termal como hace muchos años lo realizaban, hoy en día ya no le dan la debida importancia.^{4,9}

2.2.3.2. Propiedades de las aguas termales

Las aguas minero medicinales en función de la composición química pueden realizarse diversas clasificaciones. Según los autores Castillo G, Zavala D y Carrillo M (2011), “los clasifican tomando en cuenta su composición química y atendiendo a sus acciones terapéuticas”.¹⁵

Las propiedades terapéuticas de las aguas termales, según la terminología hidrotermal, poseen interesantes propiedades con numerosos beneficios en balneoterapia y terapéutica dermatológica; aunque algunas aplicaciones comerciales carecen de una justificación científica adecuada.

Tipo de agua	Acción terapéutica
Sulfuradas	Antialérgicas, desintoxicantes, antirreumáticas.
Cloruradas	Anticatarrales, antiinflamatorias.
Sulfatadas	Colagogas, purgantes.
Cálcicas	Antialérgicas, sedantes, antiinflamatorias.
Ferruginosas	Antianémicas y reconstituyentes.
Radioactivas	Equilibradoras sedantes
Oligométicas	Diuréticas

Tabla 3: Tipos de agua y su acción terapéutica.

Fuente: Catunta R. Diseño de un complejo turístico termal-recreacional y de descanso, para incrementar el flujo turístico en los baños termales de putina - ticaco, provincia de tarata, Tacna. Tesis para optar título profesional de Arquitecto. Tacna, Perú. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.³⁷

Los Baños del Inca – Cajamarca, se abastecen de aguas termales con temperaturas superiores a 70 °C, que para el agrado de la sociedad se han diseñado pozas en los que el agua caliente se mezcla con agua fría. Sus aguas son ricas en Na, K, Li, Ca, Sr, Fe, Mg y Si, con cualidades terapéuticas para enfermedades como: Reumáticas, bronquiales, tratamiento de la piel y desórdenes nerviosos.^{4,15}

2.2.4. Extracto etanólico

El extracto etanólico es una solución que presenta un olor peculiar, que se obtiene a partir de materia prima desecada, ya sea por maceración o percolación en contacto con alcohol etílico (alcohol de 96°), posteriormente se elimina su solvente por un método físico. Estos procesos pueden ser sometidos a determinadas operaciones para eliminar algunos de sus componentes y así mejorar la calidad del producto deseado.³¹

2.2.4.1. Pasos para la elaboración del extracto³²

- Recolección de la muestra.
- Pretratamiento: Limpieza y sacado de la muestra.
- Reducción de tamaño: Se toma la muestra seca y se muele.
- Extracción: Se pesa en gramos una determinada cantidad de muestra y se deposita en recipientes, se adiciona el etanol hasta cubrir completamente la muestra, se agita y se tapa.
- Reposo: Se deja reposar durante un periodo de 2 a 14 días, agitando el contenido ocasionalmente.
- Obtención del extracto: El producto se filtra, se envasa, pesa y se almacena.

2.2.4.2. Condiciones de almacenamiento del extracto

Debe almacenarse a temperatura ambiente, protegido de la luz. En recipientes herméticos (vidrio, ámbar), de pequeño volumen (≈ 10 ml), dependiendo del método o métodos de análisis cuantitativo que se utilizarán. Para garantizar la apertura de un solo contenedor.³¹

III. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Unidad de análisis, universo y muestra

3.1.1. Unidad de análisis

Extracto etanólico de las cianobacterias obtenidas de las aguas termales de “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca – Cajamarca.

3.1.2. Universo

Todas las especies de cianobacterias obtenidas de las aguas termales de “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca – Cajamarca.

3.1.3. Muestra

La muestra se conformó por 2 kg de cianobacterias que fueron recolectadas aleatoriamente de las aguas termales de “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca – Cajamarca.

3.1.3.1. Criterios de inclusión

- Cianobacterias termófilas presentes en las aguas termales de “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca – Cajamarca.
- Cianobacterias flotantes.
- Cianobacterias de color verde.
- Cianobacterias vivas.

3.1.3.2. Criterios de exclusión

- Cianobacterias maltratadas.

- Cianobacterias que se encontraban en las profundidades de las aguas termales de “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca – Cajamarca.
- Cianobacterias de distinta coloración.
- Cianobacterias que se encontraron impregnadas con residuos transportados por el aire (pelos, hojas, palos, etc.)

3.2. Métodos de investigación

3.2.1. De acuerdo al fin que se persigue

La investigación de acuerdo al fin que persigue fue de tipo **básica**, pues su objetivo fue buscar el conocimiento a través de la recolección y evaluación de información, de tal forma que se profundizó cada vez los conocimientos ya existentes.

3.2.2. Según el diseño de contrastación de la hipótesis

La investigación fue de tipo **experimental**, pues se manipuló por lo menos una de las variables en estudio con la finalidad de contrastar la hipótesis; por lo que, también estuvo basada en un procedimiento diseñado y guiado por una metodología estandarizada.

3.3. Técnicas de investigación

3.3.1. Recolección y transporte de las muestras

La muestra se recolectó de las aguas termales de Baños del Inca – Cajamarca que se encuentra entre las coordenadas: N 9208500 E 781500, localizada al SE – Cajamarca. Con la ayuda de un rastrillo se recogió aproximadamente 2 kg de cianobacterias (algas) que se encontraban flotando en las aguas termales de “Los Perolitos” del distrito de los Baños del Inca – Cajamarca, estas se colocaron en un

cooler y se transportaron hasta el laboratorio Multifuncional de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo para el respectivo análisis.^{6,22}

3.3.2. Identificación botánica

Para la identificación y las verificaciones taxonómicas correspondientes las muestras se observaron en el microscopio con el apoyo de un experto en botánica/biología, de la siguiente manera:

- Con una lanceta se cortó de la muestra una pequeña porción de cianobacterias (algas).
- Se colocó en una lámina portaobjetos y se cubrió con una lámina cubreobjetos.
- Se llevó al microscopio para la visualización de sus características morfológicas, tanto a 10X, 40X y 100X.⁴
- Se logró identificar tres especies de cianobacterias: *Anacystis dimidiata*, *Cocchloris stagnina* y *Oscillatoria princeps*.

3.3.3. Método de colecta (selección y acondicionamiento de la muestra)

Luego de la recolección, transporte y verificación taxonómica se seleccionaron las cianobacterias tomando en cuenta los criterios de inclusión y exclusión, inmediatamente se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 0,05%.

3.3.4. Secado, pulverizado y tamizado de la muestra

Para secar la muestra se utilizó una calamina galvanizada la cual fue desinfectada con hipoclorito de sodio al 0,05% y cubierta con papel molde, esta se instaló en un ángulo de 45°, se colocó sobre ella las cianobacterias previamente seleccionadas durante 2 días bajo sol y a temperatura ambiente para que pierdan humedad. Luego se procedió a llevarlas a una habitación con ventilación para continuar secándose

bajo sombra, por un período de 3 días. La muestra seca se pulverizó con la ayuda de un mortero y pilón (limpio y estéril), ya en polvo se pasó la muestra por el tamiz número 20.⁶

3.3.5. Preparación del extractoetanólico

Se pesó 20 g de cianobacterias (algas) pulverizada en una balanza analítica y posteriormente se maceró en 100 mL de etanol de 96° durante 3 días. Cumplido el período de maceración se procedió a filtrar el contenido, empleando papel filtro de velocidad semirápida; con el contenido anterior se realizaron los ensayos de coloración y precipitación.^{6,15, 16,17}

3.3.6. Preparación de los reactivos

3.3.6.1. Hipoclorito de sodio al 0,05%

- En una probeta se midió 75 mL de hipoclorito de sodio.
- Luego se vertió en un balde de 6000 mL y se aforó con agua destilada c.s.p.
- Se almacenó para su posterior uso.

3.3.6.2. Cloruro férrico al 1%

- En una balanza analítica se pesó 0,1 g de FeCl_3 .
- Luego se agregó en una fiola de 10 mL, se aforó con agua destilada y se agitó.
- Finalmente se almacenó en un frasco ámbar para su posterior uso.

3.3.6.3. Reactivo de Baljet

- Se pesó en la balanza analítica 0,1 g de ácido pícrico, luego se agregó en una fiola de 10 mL y se aforó con alcohol de 95°.

- Se pesó en la balanza analítica 1 g de NaOH, se agregó en una fiola de 10 mL y se aforó con agua destilada.
- Finalmente se mezcla las dos soluciones anteriores y se almacena en un frasco ámbar para su posterior uso.

3.3.6.4.Reactivo de Dragendorff

- Se pesó 70 mg de KI y 70 mg de subnitrato de bismuto.
- Luego se agregó los reactivos en una fiola de 10 mL.
- A la fiola se agregó agua destilada aproximadamente hasta 5mL.
- Seguidamente con una micropipeta se agregó 10 μ L de HClq.p.
- Finalmente se aforó con agua destilada hasta 10 mL y se procedió a almacenar en un frasco ámbar para su posterior uso.

3.3.6.5.Reactivo de Mayer

- Se pesó 13,5 mg de HgCl_2 y 40 mg de KI.
- Agregar los reactivos pesados anteriormente en una fiola de 10 mL.
- Luego se aforó con agua destilada hasta 10 mL.
- Finalmente se agregó en un frasco ámbar y se almacenó para su posterior uso.

3.3.6.6.Reactivo de Keller

- Se midió en una pipeta 5 mL de ácido acético.
- Luego se vertió en una fiola de 10 mL.
- Seguidamente se agregó 30 μ L de FeCl_3 9%.
- Finalmente se agitó y almacenó en un frasco ámbar para su posterior uso.

3.3.6.7.Reactivo de Killiani

- Se midió en una pipeta 5 mL de ácido sulfúrico.
- Luego se vertió en una fiola de 10 mL.
- Seguidamente se agregó 30 μ L de FeCl_3 9%.
- Finalmente se agitó y almacenó en un frasco ámbar para su posterior uso.

3.3.6.8.Determinación de los metabolitos secundarios

La presente determinación se llevó a cabo mediante los ensayos de reacciones de coloración y precipitación.

a) Identificación de compuestos fenólicos

- **Ensayo de cloruro férrico:** En un tubo de ensayo se colocó 1 mL de extracto etanólico, se adicionó 2 mL de agua destilada, posteriormente se agregó 2 mL de cloruro férrico al 1 %. La presencia de compuestos fenólicos se observa si su color es verde oscuro presencia de taninos catéquicos, si es azul oscuro presencia de taninos gálicos, si es negro presencia de los 2 tipos de taninos y si es color rojo vino presencia de compuestos fenólicos en general.^{33,34}

b) Identificación de flavonoides

- **Ensayo de shinoda:** Se midió en una pipeta 1 mL de extracto etanólico y se diluyó con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado; a la dilución anterior se colocó un pedacito de cinta de magnesio metálico. Una vez producida la reacción se esperó durante un

lapso de 5 minutos, seguidamente se adicionó 1 mL de alcohol amílico, se mezclaron las fases y luego se dejó reposar hasta que se separen completamente. Se considera un resultado positivo cuando el alcohol amílico se coloree de amarillo, anaranjado, carmelita o rojo intenso en todos los casos.¹⁶

c) Identificación de compuesto lactónicos

- **Ensayo de Baljet:** Permite reconocer en un extracto etanólico (lactonas). En un tubo de ensayo se colocó 1 mL de extracto etanólico, en seguida se añadió 1 mL del reactivo de Baljet, se considera un resultado positivo la presencia de una coloración o precipitado rojo (++ y +++) respectivamente.^{16,34}

d) Identificación de esteroides y/o triterpenos

- **Ensayo de Liebermann - Burchard:** En un tubo de ensayo se colocó 1 mL de extracto etanólico y se evaporó por completo el solvente alcohólico en un baño de agua, en seguida se agregó 1 mL de cloroformo. Posteriormente se añadió 1 mL de anhídrido acético y se procedió a mezclar bien. Se dejó caer de II a III gotas de ácido sulfúrico concentrado por las paredes del tubo sin agitar. Si el ensayo es positivo presenta un cambio rápido de coloración, el cual vira de un rosado-azulado a verde-intenso y al final de la reacción se observa un verde oscuro-negro.^{16,23, 34}

e) Identificación de Quinonas

- **Ensayo de Borntrager:** Para el presente ensayo, se adicionó 1 mL de extracto etanólico en un tubo de ensayo; luego se procedió

a evaporar el solvente en baño de agua y al residuo se agregó 1 mL de cloroformo. En seguida se añadió 1 mL de hidróxido de sodio al 5%. Finalmente se agitó, mezclando ambas fases y se dejó reposar hasta su posterior separación. Si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado se considera (++) o si es rojo se considera (+++).^{16,34}

f) Identificación de glucósidos cardiotónicos (desoxiazúcares)

- **Reacción de Keller y Killiani:** Se procedió a colocar en un tubo de ensayo 1 mL del extracto etanólico; se adicionó 2 mL del reactivo de Keller, luego se agregó por las paredes del tubo 2 mL del reactivo de Killiani. Si la reacción es positiva, en la zona de contacto de los dos líquidos se produce un anillo que se colorea de color rojo pardo.²⁹

g) Identificación de alcaloides

- **Ensayo de Dragendorff:** Se colocó 1 mL de extracto etanólico en un tubo de ensayo, luego se procedió a evaporar el solvente en baño de agua, posteriormente el residuo se disolvió en 1 mL de ácido clorhídrico al 1%. Con la solución acuosa ácida se realizó el ensayo, en seguida se incorporó III gotas del reactivo de Dragendorff, si existe: Opalescencia se considera (+), turbidez definida (++) , precipitado (+++).^{16,34}
- **Ensayo de Mayer:** Para el presente ensayo se adicionó 5 mL de extracto etanólico en un tubo de ensayo y se evaporó el solvente en baño de agua; luego se agregó 5 mL de ácido clorhídrico al 1%.

A continuación, se añadió una pizca de cloruro de sodio en polvo, se agitó y filtró utilizando papel filtro. Después se incorporó III gotas de la solución reactiva de Mayer; si se observa: Opalescencia (+), turbidez definida (++), precipitado coposo (+++).^{16,34}

h) Identificación de saponinas

- **Ensayo de espuma:** En un tubo de ensayo se colocó 1 mL de extracto etanólico; luego se adicionó 5 mL de agua destilada y se agitó por un período de 5 a 10 minutos. Si se observa la formación de espuma en la parte superior del líquido a una altura de 2 mm y persistente por más de 2 minutos la reacción es positiva.³⁴

Poder tensoactivo: La tensión superficial disminuye mediante la disolución en agua caliente, mediante la agitación se formará una espuma abundante. La reacción es positiva cuando la espuma permanece 15 minutos o más y es $> \text{ó} = 0,5 \text{ cm}$.¹⁷

3.4. Instrumentos, equipos, materiales y reactivos

3.4.1. Instrumentos

- Ficha de recolección de datos.

3.4.2. Equipos

- Balanza analítica.
- Cocina eléctrica.
- Refrigeradora.

3.4.3. Materiales de laboratorio

Materiales de vidrio y otros de uso común en el Laboratorio Multifuncional de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo.

3.4.4. Reactivos

- Cloroformo.
- Hidróxido de sodio al 5%.
- Hidróxido de sodio.
- Cloruro férrico al 1%.
- Anhídrido acético.
- Ácido sulfúrico concentrado.
- Etanol 96°.
- Cloruro de sodio en polvo.
- Ácido clorhídrico al 1%.
- Ácido clorhídrico concentrado.
- Alcohol amílico.
- Agua destilada.
- Carbonato de sodio.
- Yoduro de potasio.
- Subnitrato de bismuto.
- Ácido pícrico.
- Bicloruro de mercurio.
- Ácido acético.
- Cinta de magnesio metálico.

- Papel filtro de velocidad semirápida.

3.5. Técnicas de análisis de datos

Por ser un estudio descriptivo en el que no se relacionan las variables, no se realizaron pruebas estadísticas, sólo se presenta un registro fotográfico de los resultados y gráficos con ayuda del programa Microsoft Excel 2016.

3.6. Aspectos éticos de la investigación

En el presente trabajo de investigación se realizó la identificación de los metabolitos secundarios de las cianobacterias de “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca – Cajamarca. El avance de la ciencia y la tecnología; pueden ser sentidos como dificultad para la investigación, de esta manera estamos en la obligación de proporcionar una información comprensible relacionada con la naturaleza, la duración, el propósito y el método utilizado.

En el estudio se obtuvieron buenos resultados para la comunidad Cajamarquina; como investigadores seremos los responsables de los principios según la ley de Aprovechamiento Sostenible de las Plantas Medicinales que tiene por objetivo regular y promover el aprovechamiento de las plantas medicinales en armonía con el interés ambiental, social, sanitario y económico de la Nación; además, de ser empleadas con fines científicos mencionando que el Ministerio de Salud a través del Instituto Nacional de Medicina Tradicional (INMETRA), con la participación de las universidades y organismos vinculados a la materia, son los encargados de la investigación y divulgación de los usos farmacológicos, toxicológicos, clínicos y formas de consumo adecuados de las mismas.

IV. RESULTADOS

Identific./Ensayo	Resultados
Compuestos fenólicos (Cloruro férrico)	
Flavonoides (Shinoda)	
Compuestos lactónicos (Baljet)	

Esteroides y/o
triterpenos
(Liebermann
Bouchardat) —



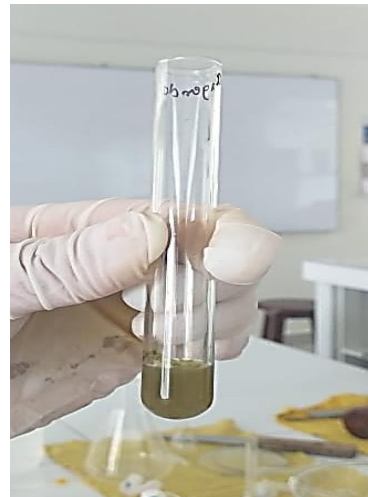
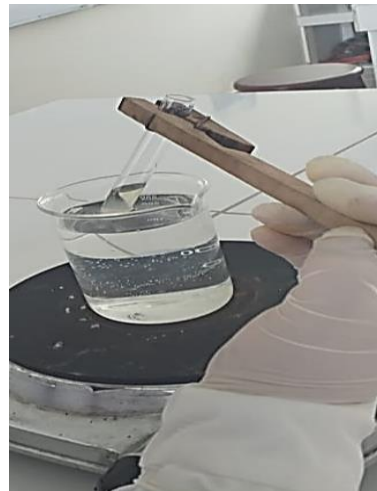
Quinonas
(Bornträger)



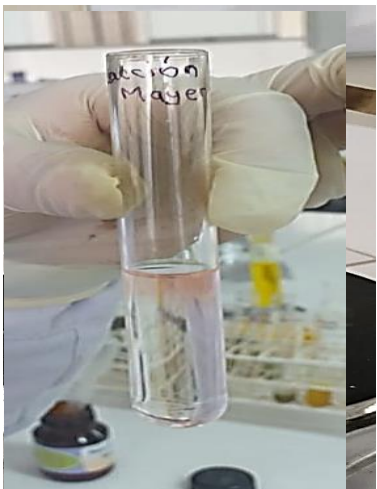
**Glucósidos
cardiotónicos
desoxiazúcares**
(Keller y Killiani)



Alcaloides
(Dragendorff)



Alcaloides
(Mayer)



Saponinas

(Espuma)



Tabla 4: Resultados del estudio fitoquímico del extracto etanólico de las cianobacterias presentes en las aguas termales "Los Perolitos" del distrito de Baños del Inca – Cajamarca.

Identifica	Ensayo	Se debe observar	Identifi cación	Inten sidad
Compuestos fenólicos	Cloruro férico	Coloración azul oscuro – verde oscuro	-	-
Flavonoides	Shinoda	Coloración amarilla– anaranjada - roja intenso	-	-
Lactonas	Baljet	Coloración o precipitado rojo	+	++
Esteroides	Lieberman- Bouchardat	Viraje de color de azul a verde	+	+++
Quinonas	Borntrager	Separación de fases - coloración roja	+	+

Glucósidos	Keller y	Aparición de anillo color rojo pardo	+	+++
cardiotónicos	Killiani			
Alcaloides	Dragendorff	Turbidez	+	++
Alcaloides	Mayer	Opalescencia	+	+
Saponinas	Espuma	Aparición de espuma que persiste	+	+

Leyenda:

IDENTIFICACIÓN:

(+) Positivo
(-) Negativo

INTENSIDAD:

(+) Baja
(++) Moderada
(+++) Alta

V. DISCUSIÓN

En la presente investigación se identificó los metabolitos secundarios de las cianobacterias presentes en las aguas termales de “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca–Cajamarca, se realizó un extracto etanólico al 20 % p/v de cianobacterias; estas han sido apreciadas por sus usos empíricos desde hace muchos años, debido a que la terapéutica termal se determina mediante la cantidad de Azufre (S) terapéutico, lo cual presentan propiedades descongestionantes, antiséptica, queratoplásticas, queratolíticas y parasitcidas.⁴

Antes de iniciar la valoración o cuantificación, de uno o más principios activos de una droga, es necesario realizar una identificación de metabolitos secundarios, que nos va a permitir determinar de forma cualitativa los principales grupos o constituyentes químicos de una droga, a partir del cual se pueda hacer las extracciones y/o análisis de interés de los investigadores.^{5,38}

La identificación de los metabolitos secundarios de las cianobacterias empezó con la obtención del extracto etanólico (Anexo 10), lo cual se realizó un fraccionamiento para la ejecución de los diferentes ensayos fitoquímicos. En la tabla 4 podemos observar los resultados de la identificación de los metabolitos del extracto etanólico de las cianobacterias presentes en las aguas termales del distrito de Baños de Inca – Cajamarca. A partir de los hallazgos encontrados, aceptamos la hipótesis científica que establece que los metabolitos secundarios de las cianobacterias presentes en “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca – Cajamarca son: Lactonas, esteroides, triterpenos, quinonas, glucósidos cardiotónicos, alcaloides y saponinas.

La identificación de lactonas en el extracto etanólico se llevó a cabo con el reactivo de Baljet tal como se muestra en la tabla 4 se identificó escasamente (+) la presencia de lactonas. En esta reacción el ácido pícrico reacciona con el NaOH en una reacción ácido-base, formando picrato de sodio y agua. El picrato de sodio posee un átomo de oxígeno reactivo el cual se une al carbono carbonílico de la lactona mediante un enlace covalente, el anillo lactónico se abre y se forma un complejo coloreado de color rojo ladrillo.

Los resultados encontrados en la presente investigación con respecto a los compuestos fenólicos no guardan relación con la investigación realizada por los autores **Trabelsi L, Mnari A, Abdel M y Aleya L (2016)**³⁹ ya que estos reportan presencia de compuestos fenólicos en su estudio realizado en las aguas termales de Túnez a la cianobacteria *Leptolyngbya sp*, la diferencia de resultados se debió al tipo de solvente utilizado en la extracción, tal cual mencionan **Diem Q, Hounng L, et al (2013)**⁵⁴ que la obtención de fenoles de una muestra vegetal mejora cuando el porcentaje de agua aumenta en el solvente, a diferencia del utilizado en la presente investigación (etanol de 96°). Los compuestos fenólicos, polifenoles o fenilpropanoides derivan de un grupo fenol (un anillo aromático con un grupo hidroxilo). Desde el punto de vista de la estructura química, son un grupo muy diverso que comprende desde moléculas sencillas como los ácidos fenólicos hasta polímeros complejos como los taninos y la lignina. Para la identificación de estos compuestos se usa el ensayo de cloruro férrico, este permite reconocer fenoles y taninos; las estructuras polifenólicas contienen grupos -OH en su estructura, estos al ser muy nucleofílicos atacan al átomo de hierro del FeCl₃, formando un enlace oxígeno-hierro eliminándose un átomo de cloro. El movimiento electrónico que se produce en el polifenol conlleva a que otro -OH de la misma molécula reaccione con el hierro, formando así un

complejo y eliminándose un átomo de cloro; el hierro nuevamente forma enlaces con otras moléculas polifenólicas perdiendo finalmente sus dos átomos de cloro, de esta manera se forma un complejo polifenol-hierro de color verde oscuro, sugiriendo la presencia de taninos no hidrolizables.^{35,45}

La no presencia (-) de flavonoides de la presente investigación no contrasta con los resultados obtenidos por **Ruiz A y Axpucac E (2014)**⁸, quienes reportan presencia de flavonoides en su trabajo de investigación realizado a la cianobacteria *lyngbyasp*; además, **Sánchez L (2018)**⁵ también afirma presencia de flavonoides en su investigación elaborada a la cianobacteria *Nostoc commune*. Algunos flavonoides se han encontrado en cianobacterias, tanto en forma libre como en glucósidos, por lo cual su solubilidad depende de la forma en que se encuentren, del número y clase de sustituyentes que presentes. La diferencia de resultados se debió al tipo de solvente utilizado tal cual lo muestra **Ferreira O y Pinho S (2012)**⁵⁵, quienes investigaron la solubilidad del flavonoide S-hesperidina y encontraron que la solubilidad de este flavonoide sigue el orden (de mayor a menor): acetona, metanol, etanol, acetato de etilo y acetonitrilo; además que la temperatura entre 25°C y 40°C influye en la solubilidad, esto contrasta con lo encontrado por **Chebil L, Humeau C, et al (2007)**⁵⁶ quienes evaluaron la solubilidad de quercetina, isoquercetina, hesperidina y naringenina a temperaturas de 40, 50 y 70°C, encontrando que la solubilidad es mayor con alcohol terc-amílico cuando la temperatura aumenta.

Los glicósidos, antocianidinas y los sulfatos son solubles en agua y alcohol. Las agliconas de los flavonoides altamente hidroxilados son solubles en alcohol (etanol, metanol y n-butanol), mientras que las poco hidroxilados lo son en solventes orgánicos apolares como éter etílico, acetato de etilo y acetona. El ensayo de Shinoda permite reconocer la presencia

de flavonoides en el extracto etanólico. En esta reacción el HCl oxida al magnesio metálico para formar $MgCl_2$, este a su vez es atacado por el radical -OH nucleofílico del carbono 4 del flavonoide, para formar un complejo flavonoide-Mg-Cl. Dicho complejo es atacado por un -OH de otro flavonoide, eliminándose el átomo de cloro, de esta manera el magnesio metálico une moléculas de flavonoides para formar un complejo coloreado, el cual depende del tipo de flavonoides.^{34,35,45,46}

En nuestro estudio se encontró gran cantidad (+++) de compuestos esteroideos, estos resultados guardan relación con lo que sostiene **Sánchez L (2018)**⁵ que obtuvo del extracto etanólico realizado a la cianobacteria *Nostoc commune*, al cual se le hizo algunos ensayos, obteniendo como resultados metabolitos secundarios tales como: Triterpenos y esteroides (ensayo de Lieberman - Burchard). Los esteroides son derivados de los triterpenos con una estructura tetracíclica que consta de tres anillos de seis miembros y un anillo de cinco miembros todos unidos. Las estructuras que presentan el grupo alcohol en los esteroides son conocidas como esteroides. Los triterpenos son compuestos de 30 átomos de carbonos producidos por ciclación del escualeno. Se hallan tanto en forma libre como asociada con azúcares (saponinas), poseen una estructura tetracíclica o pentacíclica. Farmacológicamente los triterpenos presentan propiedades tales como: actividad citotóxica, actividad antimicrobiana, anticonceptiva, antiinflamatorios, antivirales y anticatarrales. El ensayo de Liebermann-Burchard consiste en una reacción donde el ácido sulfúrico reacciona con el ácido acético, produciendo un compuesto intermediario reactivo, debido a la deslocalización electrónica. Este compuesto muy reactivo reacciona con el núcleo esteroideo del triterpeno, formando un complejo triterpeno-ácido acético ciclado. El compuesto final proporciona el color característico a este ensayo.^{5,16,30,40}

Según los autores **Ruiz A, Axpuaca E (2014)**⁸ en su investigación de la cianobacteria *lyngbya sp* reportan presencia de compuestos derivados de las quinonas (antraquinonas); así como se observa en los resultados del presente estudio, estos metabolitos secundarios son compuestos carbonílicos α - β insaturados, los cuales se clasifican en benzoquinonas, naftoquinonas o antraquinonas. Las antraquinonas son quinonas tricíclicas, las cuales pueden tener funciones hidroxílicas en su estructura en diversas posiciones, por ejemplo: si poseen dos grupos OH en las posiciones 1 y 2, tienen propiedades colorantes; si éstos se encuentran en las posiciones 1 y 8, su efecto es laxante; las naftoquinonas son utilizadas para el tratamiento de la tos. Se identifican por medio de la prueba de Borntrager, que se fundamenta en la hidrólisis de los enlaces glicosídicos, liberando así los núcleos antraquinónicos, estos son atacados por un nucleófilo fuerte como NaOH; la antraquinona pierde protones y esto genera una deslocalización de electrones que se movilizan por resonancia en toda la molécula, a su vez, se forma compuestos de coordinación con sodio, originando así, la coloración roja característica de este ensayo.^{8,16,40}

En la presente investigación se reafirma los datos de las autoras **Alcántara F, Copia L (2010)**⁶ que en su investigación sobre las algas de “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca – Cajamarca reportan efecto sobre el acné juvenil. Este efecto en relación con nuestra investigación es debido a que se logró identificar presencia de alcaloides que son compuestos nitrogenados, reaccionan con los ácidos para formar sales. Las plantas producen los alcaloides mediante un proceso metabólico y constituyen sustancias de reserva capaces de proveer nitrógeno. En la industria farmacéutica los alcaloides han sido importantes debido a las diferentes actividades farmacológicas que presentan como, por ejemplo, reducen la presión sanguínea, estimulan la circulación y la respiración; algunos

de ellos son antitumorales, analgésicos y antiinflamatorios. Para la identificación de los alcaloides se utilizó el reactivo de Mayer ya que este precipita la mayoría de los alcaloides en medio ácido favoreciendo la formación de precipitados cristalinos de color blanco. Cuando el yoduro de potasio reacciona con el bicloruro de mercurio forma un precipitado rojo de yoduro de mercurio, este compuesto reacciona con los grupos amino de los alcaloides, de tal manera que une a los alcaloides entre sí con el átomo de mercurio entre ambas estructuras. De esta manera el complejo formado es de color blanco y se precipita hacia el fondo del tubo de ensayo.^{6,16,17}

Mientras que en el ensayo de Dragendorff el subnitrato de bismuto reacciona con KI, formando yoduro de bismuto. Este compuesto reacciona con los grupos amino de los alcaloides produciendo la unión de los alcaloides con el bismuto entre ambas estructuras, esto origina el color naranja y hace que el complejo precipite hacia el fondo del tubo de ensayo.¹⁶

En el presente estudio se observa escasa presencia de saponinas (+), esto se debe a que el etanol inhibe el índice de espuma, de acuerdo con **Ahumada A y Ortega A, et al (2016)**⁵⁷ afirman que las saponinas no resisten cambios bruscos de pH, valores muy ácidos o básicos generan la ruptura de los enlaces O-glucosídicos, se confirma el reporte de **Sánchez L (2018)**⁵, en su trabajo de investigación reporta presencia escasa de saponinas; son compuestos glucosídicos, coloidales hidrosolubles que producen espuma cuando se agita la solución acuosa, la formación de la espuma es debido a que disminuyen la tensión superficial del agua y son por lo tanto tensioactivos naturales. Muchos de estos glucósidos tienen la fórmula general ($C_nH_{2n-8}O_{10}$), poseen una estructura que contiene dos partes: glucona y aglucona. La parte glucona está compuesta por azúcares simples de 1 a 5 unidades; mientras que la parte aglucona, conocida como sapogenina, la cual tiene un

esqueleto de tipo triterpénico (C₃₀) o de tipo esteroidal (C₂₇). Por lo general, las saponinas ejercen una poderosa acción hemolítica porque interaccionan con el colesterol de la membrana de los eritrocitos. El poder hemolítico es característico de las saponinas tipo triterpénicas, pero varía según los sustituyentes de la estructura. Las saponinas con alto poder hemolítico resultan muy tóxicas si se administran por vía intravenosa, porque contactan directamente con la sangre, mientras que por vía oral y tópica su toxicidad es muy baja lo que se relaciona con los resultados de **Alcántara F, Copia L (2010)⁶, Aldave A (2013)⁴** y de **Flores X, Rosa I, Díaz M et al (2019)⁷** ya que mencionan que se puede aplicar directamente por vía tópica las cianobacterias.^{6,8,17,27}

En este estudio se identificó gran cantidad de glicósidos cardiotónicos (+++); este resultado es acorde con lo que reportan los autores **De Jesús M y Miranda A (2015)⁵⁶** sobre el uso de las cianobacterias (algas) como fuente potencial de compuestos bioactivos, de alto valor y con fines terapéuticos en la medicina; estas pueden cumplir un rol importante en la prevención de enfermedades cardiovasculares (tiene la capacidad de modular el funcionamiento del corazón actuando directamente sobre la contractilidad del músculo cardíaco y sobre la circulación aurícula – ventrículo). Dichos compuestos son un grupo de esteroides de 23 o 24 carbonos unidos a una azúcar que normalmente se encuentra en la posición 3, solubles en alcohol. Su acción terapéutica depende tanto del tipo y número de unidades de azúcar como de la estructura del aglicón, que posee una lactona α , β insaturada en posición 17. Son necesarias ciertas características estructurales para que los glicósidos cardiotónicos posean actividad sobre el músculo cardíaco las cuales son: Grupo OH en posición β en C-14, la unión cis entre los anillos A, B y entre los anillos C y D, la unión trans entre los anillos B y C, una lactona α , β insaturada en el

C-17 β y un residuo azucarado sobre el OH β de C-3. Los glucósidos cardiotónicos se identifican con los reactivos de Keller y Killiani, esta reacción es específica para los 2-desoxiazúcares, se origina una coloración de amarillo o rojo (anillo esteroideo en la zona de contacto) cuando reacciona con ácido acético, FeCl₃ y ácido sulfúrico.¹⁷

VI. CONCLUSIONES

- Se logró identificar los metabolitos secundarios en cianobacterias presentes en las aguas termales “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca -Cajamarca.
- Se concluye que en la investigación realizada sobre las cianobacterias de las aguas termales de “Los Perolitos” del distrito de Baños de Inca – Cajamarca no presentan compuestos fenólicos (ensayo de cloruro férrico dio negativo) y flavonoides (ensayo de Shinoda dio negativo).
- En la investigación realizada sobre las cianobacterias presentes en las aguas termales “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca – Cajamarca se determinó presencia de lactonas (ensayo de Baljet se observó un precipitado rojo +).
- Se encontró presencia de esteroides y/o triterpenos (ensayo Liebermman – Bouchardat se observó un color verde +++).
- Se registró presencia de quinonas (ensayo de Borntrager se observó una separación de fases +).
- Se encontró presencia de glucósidos cardiotónicos (ensayo de Keller y Killiani se observó un anillo de color rojo pardo +++).
- Se identificó presencia de alcaloides (ensayo de Dragendorff se observó opalescencia + y Mayer se observó un precipitado +).
- Se logró identificar presencia de saponinas (ensayo de espuma +).

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar nuevos estudios a diferentes concentraciones del extracto etanólico de las cianobacterias presentes en las aguas termales de “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca – Cajamarca.
- Se recomienda realizar extractos hidroalcohólicos de las cianobacterias presentes en las aguas termales de “Los Perolitos” del distrito de Baños del Inca – Cajamarca.
- Realizar estudios para identificar proteínas y carbohidratos en las cianobacterias presentes en las aguas termales de “Los Perolitos” del distrito de Baños de Inca – Cajamarca.
- En los próximos trabajos de investigación se debería continuar con el estudio de las cianobacterias de las aguas termales de los Baños del Inca – Cajamarca ya que; la información existente es limitada.
- Se debería realizar extracciones con solventes orgánicos a las cianobacterias que se encuentran en “Los Perolitos” de los Baños de Inca – Cajamarca.
- Se recomienda realizar una valoración y cuantificación de los metabolitos secundarios que se citan en los resultados de esta investigación.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ministerio de Salud de la Nación. Las cianobacterias como determinantes ambientales de la salud. Ed. 2017. ISBN 978-950-38-0255-7. Buenos aires – Argentina. Pp. 9-15. Disponible desde: http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000334cnt-Ciano_2017.pdf
2. Menéndez S. Cianobacterias esenciales en la historia y el futuro del planeta. [Publicado el 3 de Abr. del 2010]. [Citado el 24 de Ene. del 2020]. Disponible desde: https://elpais.com/sociedad/2010/04/01/actualidad/1270072808_850215.html
3. Ruiz W. Importancia de las cyanophytas. Investigación en algas cianofitas. Internet]. 2019, May. [Citado el 27 de Oct. del 2019]; 20(2): pp. 241. Disponible desde: <http://revistas.upagu.edu.pe/index.php/PE/article/view/637/578>
4. Aldave A. Algas. 1° ed. Trujillo: Copyright; 1989. Capítulo 4. Algas y aplicaciones dermatológicas del plancton termal (Baños de Inca- Cajamarca); 274-281.

5. Sánchez L. Evaluación fitoquímica y capacidad antioxidante in vitro del extracto etanólico de *Nostoc commune* (*Cushuro*). Tesis para obtener el título profesional de licenciado en nutrición. Trujillo, Perú. Universidad Cesar Vallejo
6. Alcántara F, Cópia L. Formulación de un gel, a base de algas de Los Perolitos (Baños del Inca – Cajamarca), y su evaluación en pacientes con acné vulgar. Tesis para optar título profesional de Químico Farmacéutico. Cajamarca, Perú. Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo.
7. Flores X, De la Rosa I, Díaz M et al. Cianobacterias ácido-termófilas del complejo termal copahue, neuquén, argentina. DARWINIANA, nueva serie 7(1): 39-56. 2019. [revista en línea]. [Internet]. [Citado el 31 de Oct. del 2019]; 32. Disponible desde: <http://www.ojs.darwin.edu.ar/index.php/darwiniana/article/view/834>
8. Ruiz A y Axpuaca E. Determinación de metabolitos secundarios y cianotoxinas producidos por la cianobacteria *Lyngbya* sp. y su relación con la calidad del agua del Lago de Atitlán. [Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia]. Tesis para obtener el grado de Químicos. Guatemala.
9. Fuenmayor G, Jonte L, Rosales N, Morales E. Crecimiento de la cianobacteria marina *Oscillatoria* sp. MOF-06 en relación al pH en cultivos discontinuos. Rev.

- Soc. Ven. Microbiol. [Internet]. 2009. [Citado el 27 de Ene. del 2020]; Disponible desde: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562009000100005&lng=es
10. Aguilera A, Echenique R. Las cianobacterias como determinantes ambientales de la salud. [Internet]. Argentina: Hansen; 2017. Capítulo 2, Cianobacterias nocivas de ambientes acuáticos continentales: taxonomía y ecología; [Citado el 29 de Ene. del 2020]; Pp. 27-39. Disponible desde: http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000334cnt-Ciano_2017.pdf
 11. Solano J. Evaluación del potencial antibacteriano en extractos lipofílicos de cianobacterias y microalgas cultivadas a partir de muestras de agua recolectadas en el sector el Cajas. Tesis para obtener el título de Bioquímico Farmacéutico. Cuenca, Ecuador. Universidad de Cuenca.
 12. Consejo Federal de Entidades de Servicios Sanitarios (COFES). Cianobacterias. [Citado el 02 de Feb. del 2020]. Disponible desde: http://www.cofes.org.ar/descargas/relas/3_jornada/5_1_Cianobacterias.pdf
 13. Pérez J. Caracterización de las Secuencias Ribosomales 16_s (ADN_r) de Cianobacterias Asociadas a Eventos de Toxicidad. Tesis para optar grado de Maestro en Ciencias. La paz. Centro de Investigaciones Biológicas del Norte, SC.
 14. Lara M. Relación entre la dinámica poblacional del Perifiton y la calidad del agua en los ríos Grande y Porcón de Cajamarca, 2008 - 2009. Tesis para optar grado académico de Doctor en Ciencias. Cajamarca, Perú. Universidad Nacional de Cajamarca.

15. Castillo G, Zavala D, Carrillo M. Análisis fitoquímico: Una herramienta para develar el potencial biológico y farmacológico de las plantas. Investigación en salud. Revista en línea [Internet].2011. [Citado 24 de Oct. del 2019]; 1(1): pp. 1. Disponible desde: <http://www.eumed.net/rev/tlatemoani/24/analisis-fitoquimico.html>
16. Ochoa S, Sarmiento J. Estudio fitoquímico de la especie vegetal *Bucquetia glutinosa* (l.f.) dc. (*melastomataceae*) y evaluación de su actividad biológica. [Trabajo de grado para optar para el título de Químico Farmacéutico]. Bogotá D. C.
17. Rojas L, Jaramillo C, Lemus M. Métodos Analíticos para la Determinación de Metabolitos Secundarios de Plantas [Internet]. Ecuador: Samanta Cabezas; 2015. [Citado el 29 de Nov. del 2019]. Disponible desde:

<file:///C:/Users/LUCANO/Downloads/20%20METODOS%20ANALITICOS%20PARA%20LA%20DETERMINACION%20DE%20METABOLITOS%20SECUNDARIOS%20DE%20PLANTAS.pdf>
18. Peleato M. Las cianobacterias: cooperación versus competencia. Discurso de ingreso leído; 2011; Zaragoza. [Citado el 02 de Feb. del 2020]. Disponible desde: <http://www.raczar.es/webracz/ImageServlet?mod=publicaciones&subMod=discursos&archivo=PeleatoD.pdf>
19. Universidad Nacional de la Patogenia San Juan Bosco. Cianobacterias. Facultad de Ciencias Naturales. Botánica General. 2016. Disponible desde:

<http://www.fcn.unp.edu.ar/sitio/botanicageneral/wp-content/uploads/2016/03/Cianobacterias.pdf>

20. Sánchez K, Perdomo E. Identificación de metabolitos secundarios en *Critoniellaacuminata* (Kunth) R.M. King y H. Rob. determinación de su actividad antioxidante y citotóxica. Tesis para obtener título de Químico. Bogotá, Colombia. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (U.D.C.A).
21. Sierra M, Barros R, Gómez D, et al. Productos Naturales: metabolitos secundarios y aceites esenciales. [Internet]; 2018. [Citado el 06 de Ene. del 2020]. Disponible desde: file:///C:/Users/Downloads/Ebook_Productos_Naturales_Final.pdf
22. Chávez L. Composición química y actividad antioxidante in vitro del extracto acuoso de *Nostocsphaericum* (Cushuro), laguna Cushurococha-Junín. [Tesis Para optar el Título Profesional de Licenciada en Nutrición]. Lima, Perú 2014.
23. Ortega J. Evaluación fitoquímica y capacidad antioxidante in vitro del extracto etanólico de *nostoccommune*(cushuro). [Tesis para obtener el título profesional de licenciado en nutrición]. Trujillo, 2018.
24. Castellanos I. Elementos de Botánica. Quinta Edición, Editorial Obispo 530, Minerva La Habana 1960. [Citado el 10 de Feb. del 2020]. Disponible desde: <https://www.ecured.cu/Cianobacteria>
25. Rezanka T, Palyzavá A, Sigler K. Isolation and identification of siderophores produced by cyanobacteria. Investigación en Salud [Internet]. 2018, Feb. [Citado el 12 de Feb. del 2020]. 63(5): pp. 569-579. Disponible desde:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Identification+of+secondary+metabolites+in+cyanobacteria+of+hot+springs>

26. Occidental Chemical Chile. Manual cloruro férrico. Santiago, Chile. 1999.
Disponible en:
https://www.oxychile.cl/rps_oxychile_v56/OpenSite/Oxy%20Espa%C3%B1ol/Productos%20y%20Servicios/Cloruro%20F%C3%A9rrico/20080408143356/ManualCloruroF%C3%A9rrico_OFICIAL.pdf
27. Colina A. Análisis fitoquímico, determinación cualitativa y cuantitativa de flavonoides y taninos, actividad antioxidante, antimicrobiana de las hojas de “*Muehlenbeckia hastulata* (J.E.Sm) I.M. Johnst” de la zona de Yucay (Cusco). [Tesis para optar el título profesional de Químico]. Lima – Perú. Disponible desde:
https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/7121/Colina_ra.pdf?sequence=1
28. Equipo de Botanical – online, 28 marzo 2019. [Citado el 12 Feb. del 2020].
Disponible desde: <https://www.botanical-online.com/medicina-natural/catequinas-propiedades-caracteristicas>
29. Sánchez A, Gallardo Y, Ríos J. Guía de práctica: “Farmacognosia y Farmacomórfica”, UPAGU, Cajamarca – Perú, 2015.
30. Canepa F. Evaluación química del fruto de "Charán" (*Caesalpinia paipai*), provenientes de Motupe, Lambayeque. Tesis para optar título de Ingeniero Forestal. Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima – Perú.

31. Ruiz M. Efecto del extracto etanólico de *Azadirachta indica* (NEEM) sobre la viabilidad in vitro de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Tesis para obtener el título profesional de Cirujano Dentista. Piura, Perú. Universidad Cesar Vallejo.
32. Gonzales A. Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas. Trabajo final. Bogotá, Colombia. Universidad Nacional de Colombia. [Citado el 13 de Feb. del 2020]. Disponible desde: <http://www.bdigital.unal.edu.co/1173/1/angelaandreagonzalezvilla.2004.pdf>
33. Muñoz F. Guía de prácticas de laboratorio de química: “Identificación de grupos funcionales y taninos naturales”, Universidad de los Andes, Mérida - Venezuela, 2016.
34. Alayo N, Guevara L. Identificación preliminar de fitoconstituyentes en las inflorescencias de *Bejaria Aestuans* L. (purum - rosa). Tesis para obtener bachiller en Farmacia y Bioquímica. Trujillo, Perú. Universidad Mayor de Trujillo.
35. Toledo M. Estudio fitoquímico, evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de la corteza de “*triumfetta semitriloba*” jacq (motecepo) y análisis de parámetros reológicos del mucílago. Tesis para optar título de Químico. Lima, Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
36. Parra O, Almanza V. Taxonomía y morfología de los principales géneros y especies de Cianobacterias productoras de toxinas. 2014. Disponible desde: <http://www.eula.cl/fonis/wp-content/uploads/2014/06/OParra-VA-tarde-10-oct.pdf>.
37. Catunta R. Diseño de un complejo turístico termal - recreacional y de descanso, para incrementar el flujo turístico en los baños termales de Putina - Ticaco,

- provincia de Tarata, Tacna. Tesis para optar título profesional de Arquitecto. Tacna, Perú. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.
38. Lock O. Investigación Fitoquímica. Métodos de Estudios de Productos Naturales. Lima: Fondo Editorial PUCP; 1994.
39. Trabelsi L, Mnari A, Abdel M y Aleya L. Therapeutic properties in Tunisian hot springs: first evidence of phenolic compounds in the cyanobacterium *Leptolyngbya* sp. biomass, capsular polysaccharides and releasing polysaccharides. *Investigación en Salud*. 2016, Dic. [Citado el 27 Ene. del 2020]; 16(1): pp. 155. Disponible desde: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=phytochemical+study+of+thermophilic+cyanobacteria>
40. Tello P. Evaluación de la concentración mínima inhibitoria de los extractos hidroalcohólicos obtenidos a partir de la hoja, tallo y raíz de *Petiveria alliacea* L. Sobre *Staphylococcus epidermis*, *Pseudomona aeruginosa* y *Candida albicans*. [Tesis para optar título de Magíster en Tecnología y Control de Medicamentos]. Universidad Central del Ecuador. 2015.
41. Castillo E y Córdova M. Identificación de esteroides en *Asclepias curassavica* (Señorita viborana), *Calotropis procera* (Matacoyote), *Thevetia ahouai* (Huevos de gato) y *Thevetia peruviana* (Chilca). [Tesis para optar grado de licenciada en Química y Farmacia]. Universidad del Salvador. 2015.
42. Martos A. Estudio de la complejación de flavonoides con metales de interés biológico aplicando técnicas de modelización molecular. Trabajo de fin de grado. Universidad de Jaén.

43. Peñarrieta J, Tejada L, Mollinedo P et al. Phenolic compounds in food: Clasificación de compuestos fenólicos presentes en alimentos. 2014 Dic; 31(2): pp. 34.
44. Gualo N. Síntesis de lactonas bicíclicas vía trifluorometansulfonato de 1- acetales de bis(trimetilsilil) cetenas. Tesis para optar grado de maestría en ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.
45. Santizo I. Identificación de familias de metabolitos secundarios en *Myrica cerífera*. Informe para optar título de QuímicoBiólogo. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala.
46. Avalos A, Pérez E. metabolismo secundarios de las plantas. Investigación en Salud [Internet]. 2009, Ene. [Citado el 06 de Jun. del 2020]; 2(3): pp. 119-145. Disponible desde: https://eprints.ucm.es/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf
47. Amaringo F, Hormaza A, Arias M. Thevetin B: Cardiotonic glycoside predominant in *Thevetia peruviana*. Medellin- Colombia. [Internet], 2011. [Citado el 06 de Jun. del 2020]. Disponible desde: <file:///C:/Users/HUGO/Downloads/Dialnet-ThevetinBGlicosidoCardiotonicoPredominanteEnThevet-4322956.pdf>
48. Dowd M. Morfología de las algas. [Internet]. Actualizado el 22 de marzo del 2019. [Citado el 06 de Jun. del 2020]. Disponible desde: <https://sciencing.com/morphology-algae-8493664.html>. 6 de junio de 2020.
49. Ministerio de Educación y Cultura de España. Principales pigmentos vegetales. 2017. [Citado el 06 de Jun. del 2020]. Disponible desde: <https://hpmonarb.blogspot.com/2017/08/pigmentos-en-las-plantas.html>.

50. Carranza D, Huayanay J. Dterminacion de metabolitos secundarios del tallo de *Croton alnifolius* L. (*Tunga*). Informe de trabajo de investigación. Universidad Nacional de Trujillo. 2009.
51. Flores A, Prieto E. Estudio Farmacognóstico y Fitomuímico del Rizoma de *Zingiber officinales Roscoe* “JENGIBRE” de la Ciudad de Chanchamayo – Región Junín- Perú. Trabajo de investigación. Universidad Nacional de Trujillo. 2007.
52. Delporte C. ProductosNaturales. 2010. Disponible desde: <file:///C:/Users/HUGO/Downloads/cl sem12 F 2010 cardiot Modo de compatibilidad .pdf>
53. Diem Q, Houng L, et al. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. Investigacion en Salud. [Internet]; 2014 [Citado el 22 Jul. Del 2020]; 22: pp. 296-302. Disponible desde: <file:///C:/Users/HUGO/Downloads/1-s2.0-S1021949813001348-main%20.pdf>.
54. Ferreira O, Pinho P. Solubility of Flavonoids in Pure Solvents. Investigación en Salud [Internet]; 2012 Oct. [Citado el 22 de Jul. del 2020]; pp.6586-6589. Disponible desde: <file:///C:/Users/HUGO/Downloads/ferreira2012.pdf>

55. Chebil L, Humeau C, et al. Solubility of Flavonoids in Organic Solvents. *Investigación en Salud*. [Internet]; 2007, Nov. [Citado el 25 de Jul. del 2020]; 52: pp. 1552-1556. Disponible desde: <file:///C:/Users/HUGO/Downloads/chebil2007%20.pdf>
56. De Jesús M, Miranda A. Microalgae for the prevention of cardiovascular disease and stroke. *Life Sciences* [Publicación en línea]; 2015, Mar. [Citado 12 de Ag. del 2020]; 125: 32-41. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S002432051400767X>
57. Ahumada A, Ortega A et al. Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): un subproducto con alto potencial biológico. *Investigación en Salud*. [Internet]; 2016, Nov. [Citado el 12 de Ag. Del 2020]; 45(3): pp. 438-469. Disponible desde: <http://dx.doi.org/10.15446/rcciquifa.v45n3.62043>

ANEXOS

ANEXO 1

PREPARACIÓN DE UNA SOLUCIÓN DE HIPOCLORITO DE SODIO AL 0.05%

Fórmula: $(V_1) (C_1) = (V_2) (C_2)$

Donde:

V_1 = Volumen inicial

C_1 = Concentración inicial

V_2 = Volumen final

C_2 = Concentración final

$$V_1 = V_2 * C_2 / C_1$$

$$V_1 = 6000 \text{ mL} * 0,05\% / 4\%$$

$$V_1 = 75 \text{ mL de hipoclorito de sodio al } 4\%$$

Entonces se necesitó 75 mL de hipoclorito de sodio al 4% para la respectiva solución y de aguas destilada se utilizó c.s.p. 6000 mL.

ANEXO 2

PREPARACIÓN DE UNA SOLUCIÓN DE CLORURO FÉRRICO AL 1 %

$$\begin{array}{ccccc} 10 \text{ mL} & \text{————} & 1\text{g} & \text{————} & 100 \text{ mL} \\ & & X & \text{————} & 10 \text{ mL} \end{array}$$

$$X = 0,1 \text{ gcloruro férrico.}$$

Necesito 0,1 g de cloruro férrico, aforar a 10 mL en agua destilada.

ANEXO 3

PREPARACIÓN DEL REACTIVO DE BALJET 20 ML

- 1 g de ácido pícrico aforar con etanol de 95%
- 10 g de hidróxido de sodio en 100mL de agua destilada y mezclar en partes iguales.
- 1 g-----100mL

X-----10mL

X = 0,1 g de ácido pícrico.

- Preparar alcohol de 95°

$$C_1V_1=C_2V_2$$

$$96^\circ * V_1 = 95^\circ * 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 9,895839 \text{ mL}$$

V₁ = 9,9 mL de alcohol de 96° aforar a 10 mL en agua destilada.



Entonces pesamos 0,1 g de ácido pícrico y aforamos a 10 mL con alcohol de 95°.

- 10 g-----100 mL

X-----10mL (agua destilada)

X = 1g NaOH aforar a 10 mL de agua destilada.



MEZCLAR la solución de ácido pícrico en alcohol de 95° + la solución de NaOH en agua destilada (total 20 mL).

ANEXO 4

PREPARACIÓN DE LA REACCIÓN DE KELLER Y KILLIANI

- 5 mL ácido acético
- 30 µl cloruro férrico al 9% (Keller)
- 5 L ácido sulfúrico
- 30 µl cloruro férrico al 9% (Killiani)

- 9g-----100mL

X-----10mL

X = 0,9 g de cloruro férrico aforar a 10 mL en agua destilada.

- 50 mL de ácido acético-----10mL

- 50/10-----5mL ácido acético.

- 50/10-----5 mL de ácido sulfúrico.

0,03mL FeCl₃ ----- 1 µl /1000 mL

X = 30 µl de FeCl₃ más 5 mL de ácido acético (Reactivo de Keller)

X = 30 µl de Fe Cl₃ más 5 mL de ácido sulfúrico (Reactivo de Killiani)

ANEXO 5

PREPARACIÓN DEL REACTIVO DE DRANGERFORT

- Yoduro de potasio 7g-----1000mL de agua destilada

X-----10mL de agua destilada

X = 0,07 g de yoduro de potasio.

- HCl q.p 20 g----- 1000 mL

X----- 10 mL

X = 0,2 gts de HCl q.p

 gts----- 1 mL

0,2 gts-----X

X = 0,01 mL x 1000 µl/1 mL

X = 10 µl de HCl q.p

- Subnitrato de bismuto 7 g----- 1000 mL

X ----- 10 mL

X = 0,07 g de Subnitrato de bismuto.



MEZCLAR: 0,07 g de yoduro de potasio + 10 µl de HCl q.p + 0,07 g de Subnitrato de bismuto y aforar a 10 mL.

ANEXO 6

PREPARACIÓN DE REACTIVO DE MAYER

- Biclورو de Mercurio 1,35g-----1000mL agua destilada

X -----10mL agua destilada

X= 0,0135g bicloruro de mercurio

- Yoduro de potasio 4,0g-----1000mL agua destilada

X-----10mL agua destilada

X= 0,04 g yoduro de potasio



MEZCLAR: 0,0135g de bicloruro de mercurio + 0,04 g de yoduro de potasio y aforar a 10 mL en agua destilada.

ANEXO 7

PREPARACIÓN DE UNA SOLUCIÓN DE CARBONATO DE SODIO

106g NaCO₃-----1Mili-----1000mL

X-----2,5x10⁻³M-----1000mL

X =265,10⁻³g-----1000mL

Y-----50mL

$$Y = 13,25 \text{ g} \times 10^{-3}$$

$$Y = 0,01325 \text{ g} \times 1000 \text{ mg/1g}$$

Y =13,25 mg de NaCO₃ aforar a 50 mL en agua destilada.

ANEXO 8

PREPARACIÓN DE UNA SOLUCIÓN DE NaOH AL 5%

5g-----100 mL

X-----10 mL

X = 0,5 g de NaOH aforar a 10 mL en agua destilada.

ANEXO 9

Preparación de una solución de HCl al 1%

1 mL HCl-----100mL agua destilada

X-----10mL

X = 0,1 mL de HCl aforar a 10 mL en agua destilada.

ANEXO 10

GALERÍA FOTOGRÁFICA



Fotografía 1. Aguas termales de “Los Perolitos” de Baños Inca-Cajamarca.



Fotografía 2. Recolección de las cianobacterias.



Fotografía 3. Selección de la muestra



Fotografía 4. Preparación del hipoclorito de sodio al 0.05%.



Fotografía 5. Secado de las cianobacterias bajo el sol.



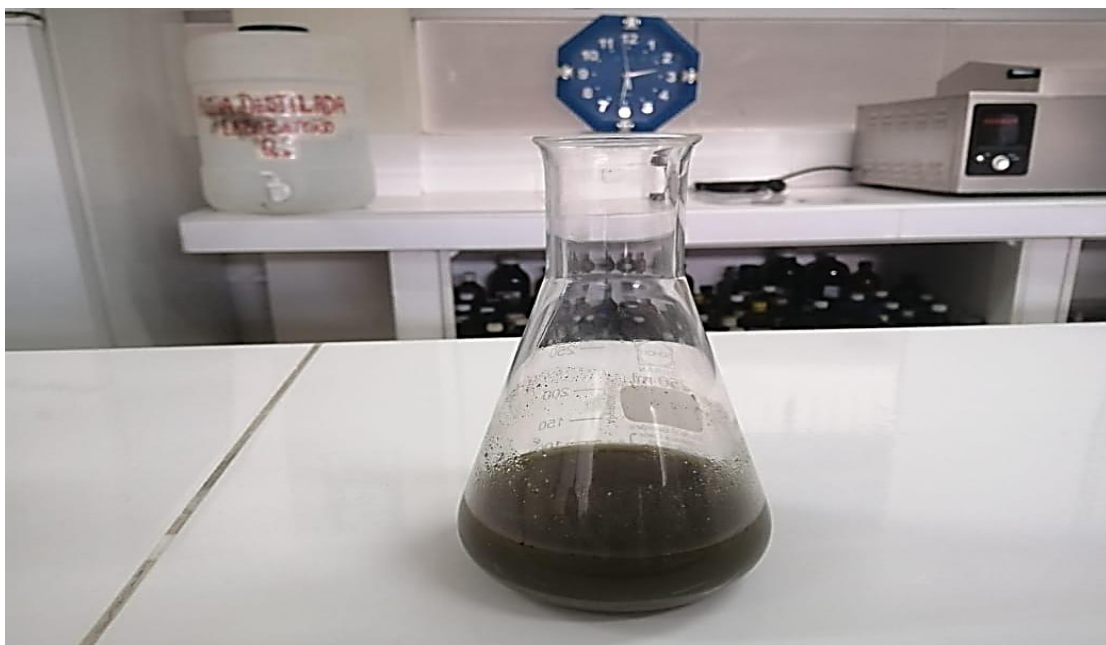
Fotografía 6. Secado de las cianobacterias bajo la sombra en un ambiente ventilado.



Fotografía 7. Pulverizado de la muestra con ayuda de un mortero y pilón.



Fotografía 8. Pasamos la muestra por el tamiz número 20.



Fotografía 9. Extracto alcohólico al 20 % de cianobacterias.

Pesamos 20 g de cianobacterias, aforamos a 100 mL con alcohol de 96°, poner un tapón al matraz y envolverlo con papel molde, posteriormente dejamos macerar durante 3 días agitando el contenido ocasionalmente.



Fotografía 10. Filtrar el extracto alcohólico.



Fotografía 11. Extracto alcohólico al 20 % de cianobacterias.



Fotografía 12. Todos los ensayos realizados.