



FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

ÁCIDOS GRASOS EN EL LIQUEN PSILOPARMELIA DENOTATA POR
CROMATOGRAFÍA DE GASES

Línea de investigación:

Botánica y productos naturales

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Química

Autor:

Sánchez Sánchez, Francisco Emiliano

Asesor:

Barreto Yaya, Danilo Arturo

(ORCID: 0000-0002-9074-0680)

Jurado:

Salvador Salazar, Martha

Lezama Vigo, Elmer

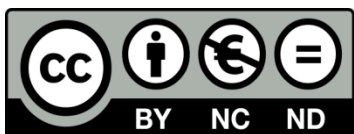
Castañeda Pérez, Luz

Lima - Perú

2022

Referencia:

Sánchez, F. (2022). *Ácidos grasos en el líquen psiloparmelia denotata por cromatografía de gases*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Federico Villarreal]. Repositorio Institucional UNFV. <https://repositorio.unfv.edu.pe/handle/20.500.13084/6342>



Reconocimiento - No comercial - Sin obra derivada (CC BY-NC-ND)

El autor sólo permite que se pueda descargar esta obra y compartirla con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se puede generar obras derivadas ni se puede utilizar comercialmente.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>



Universidad Nacional
Federico Villarreal

VRIN | VICERRECTORADO
DE INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICAS

**ÁCIDOS GRASOS EN EL LIQUEN *PSILOPARMELIA DENOTATA* POR
CROMATOGRAFÍA DE GASES**

Línea de investigación:

Botánica y Producto naturales

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Química

Autor:

Sánchez Sánchez, Francisco Emiliano

Asesor:

Barreto Yaya, Danilo Arturo

Jurados:

Salvador Salazar, Martha

Lezama Vigo, Elmer

Castañeda Pérez, Luz

Lima – Perú

2022

Dedicatoria

*A mis padres Francisco y Elsa por brindarme su
cariño infinito y apoyo en la culminación de mi
carrera*

*A mi esposa Hilda, por su amor, paciencia y apoyo en
todo momento.*

A Giovely y Zahir, mis dos grandes amores.

AGRADECIMIENTO

Al Dr. Fernando Carraco Solis, por su gran apoyo en el desarrollo y revisión de esta tesis.

Al M. Sc. Danilo Barreto Yaya, por la asesoría brindada, consejos y sugerencia para el desarrollo de este proyecto.

Al M. Sc. Rodolfo Pumachagua Huertas por el apoyo en las sugerencias y revisión de este trabajo

Al Dr. Nino Castro Mandujano por la información brindada para este estudio.

A los docentes y personal técnico del laboratorio de química experimental que de una u otra forma me brindaron su apoyo.

A mis hermanos José, Anderson y Yanet, por su gran apoyo y motivación.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	1
1.1.	Descripción y formulación del problema	2
1.2.	Antecedentes	4
1.3.	Objetivos	6
1.4.	Justificación	6
II.	MARCO TEÓRICO.....	7
2.1.	Bases teóricas sobre la investigación.....	7
2.1.1.	<i>Liquenes</i>	9
2.1.2	ÁCIDOS GRASOS	23
2.1.3.	Técnica de separación	26
III.	MÉTODO.....	30
3.1.	Tipo de investigación.....	30
3.2.	Ámbito temporal y espacial.....	30
3.3.	Variables.....	30
3.4.	Población y muestra.....	30
3.4.1.	<i>Población</i>	30
3.4.2.	<i>Muestra</i>	30
3.4.2.	<i>Muestreo</i>	31
3.5.	Instrumentos.....	31

3.6.	Procedimientos.....	32
3.6.1.	<i>Procesamiento de la muestra</i>	32
3.7.	Análisis de datos.	34
3.7.1	<i>Análisis de ácidos grasos GC-FID.</i>	34
IV.	RESULTADOS	37
4.1	Identificación y cuantificación de ácidos grasos.....	37
V.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	40
VI.	CONCLUSIONES.....	43
VII.	RECOMENDACIONES.....	44
VIII.	REFERENCIAS	45
IX.	ANEXOS	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Asociaciones entre un hongo y alga para formar los líquenes.	7
Figura 2. Especies de líquenes:	8
Figura 3. Compuestos alimenticios a base de líquenes: caramelos de liquen de Islandia (A), Té de liquen de <i>Üsnea</i> (B).	20
Figura 4. Fotografía de <i>Psiloparmelia denotata</i>	23
Figura 5. Esquema básico de un cromatógrafo de gases.....	29
Figura 6. Secado de la solución etérea en atmosfera de nitrógeno.....	34
Figura 7. Cromatograma de los estándares FAME MIX	37
Figura 8. Cromatograma de análisis de ácidos grasos en <i>Psiloparmelia denotata</i>	38

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Compuestos químicos reportados en especies de líquenes, parte I</i>	10
Tabla 2. <i>Compuestos químicos reportados en líquenes, Parte II</i>	11
Tabla 3. <i>Compuestos químicos reportados en líquenes, Parte III</i>	12
Tabla 4. <i>Compuestos químicos reportados en líquenes, Parte IV</i>	13
Tabla 5. <i>Compuestos liquénicos sintetizados mediante la ruta del acetato polimalonato.</i>	15
Tabla 6. <i>Compuestos liquénicos sintetizados mediante la ruta del ácido mevalónico.</i>	16
Tabla 7. <i>Compuestos liquénicos sintetizados mediante la ruta del ácido shikímico.</i>	17
Tabla 8. <i>Compuestos liquénicos sintetizados mediante la ruta del ácido shiquimico</i>	18
Tabla 9. <i>Ácidos grasos saturados en especies liquénicas, parte I</i>	24
Tabla 10. <i>Ácidos grasos saturados de especies liquénicas, Parte II</i>	25
Tabla 11. <i>Ácidos grasos insaturados en especies liquénicas.</i>	26
Tabla 12. <i>Condiciones instrumentales de cromatografía.</i>	36
Tabla 13. <i>Contenido de ácidos grasos en el liquen Psiloparmelia denotata</i>	39

TABLA DE ANEXOS

Anexo A. <i>Cromatograma 2</i>	51
Anexo B. <i>Contenido de ácidos grasos en la muestra 2</i>	52
Anexo C. <i>Cromatograma 3</i>	52
Anexo D. <i>Contenido graso de ácidos grasos en la muestra 3</i>	53
Anexo E. <i>Cromatograma 4</i>	53
Anexo F. <i>Contenido de ácidos grasos en la muestra 4</i>	54
Anexo G. <i>Certificado de composición del estándar FAME MIX</i>	55

Resumen

Objetivo: Analizar mediante cromatografía de gases con detector FID (GC-FID), el contenido de ácidos grasos del líquen *Psiloparmelia denotata*. **Materiales y métodos:** las muestras del líquen *Psiloparmelia denotata* fue colectada en el distrito de Muquiyauyo, provincia de Jauja región Junín, en el mes de febrero del año 2017. La extracción se realizó empleando una mezcla de CH₂Cl: MeOH (1:1), durante 72 horas, los ácidos grasos fueron liberados luego de una saponificación con KOH (0.5N) a 55°C por 20 min, se neutralizo con HCL (1:1), se lavó con éter de petróleo y se secó en una atmosfera de nitrógeno. La esterificación se realizó empleando HClO₄ en MeOH, a 55° por 5 min. Se realizó la extracción de esteres metílicos con éter de petróleo para posteriormente realizar el análisis mediante GC-FID, empleando un estándar FAME MIX conteniendo 37 Ácidos grasos esterificados. **Resultados:** Luego de comparar los tiempos de retención obtenidos a partir de los estándares FAME MIX, se identificaron 14 ácidos grasos: 7 Saturados, 5 monoeno, 1 dieno y 1 trieno. Los ácidos grasos insaturados linoleico, linolénico y oleico se encuentran en mayor cantidad relativa en la especie en estudio. **Conclusiones:** tomando en cuenta nuestros resultados y comparándolos con estudios realizados en otras especies, podemos mencionar que el contenido de ácidos graso insaturados se encuentran en niveles largamente superiores con respecto ácidos grasos saturados.

Palabras claves: líquenes, ácidos grasos, cromatografía de gases.

Abstract

Objective: To analyze by gas chromatography with FID detector (GC-FID), the fatty acid content of the lichen *Psiloparmelia denotata*. **Materials and methods:** the samples of the lichen *Psiloparmelia denotata* were collected in the district of Muquiyauyo, province of Jauja, Junín region, in February 2017. The extraction used a mixture of CH₃Cl: MeOH (1:1), during 72 hours, fatty acids were released after saponification with KOH (0.5N) at 55°C for 20 min, neutralized with HCL (1:1), washed with petroleum ether and dried under nitrogen atmosphere. . Esterification was performed using HClO₄ in MeOH, at 55° for 5 min. Extraction of methyl esters was carried out with petroleum ether to later carry out the analysis by GC-FID, using a FAME MIX standard containing 37 esterified fatty acids. **Results:** After comparing the retention times obtained from the FAME MIX standards, 14 fatty acids were identified: 7 Saturated, 5 monoene, 1 diene and 1 triene. Linoleic, linolenic and oleic unsaturated fatty acids are found in greater relative quantity in the species under study. **Conclusions:** taking into account our results and comparing them with studies carried out in other species, we can mention that the content of unsaturated fatty acids is at much higher levels compared to saturated fatty acids.

Keywords: lichens, fatty acids, gas chromatography.

I. INTRODUCCIÓN

Durante los últimos 25 años, la globalización, el desarrollo económico, la industrialización, el crecimiento de las zonas urbanas, los efectos del cambio climático entre otros, han cambiado drásticamente el estilo de vida y dieta de las personas, especialmente en los países en vías de desarrollo donde se vienen produciendo importantes cambios socioeconómicos. Las mejoras en el estándar de vida de las personas muestran un contraste con los hábitos y condiciones no saludables, lo cuales traen como resultado la prevalencia de diversas enfermedades crónicas (FAO, 2012). Bajo esta perspectiva, los productos naturales se vienen convirtiendo en una alternativa frente a los problemas que vienen generando (Castro, 2002).

Los líquenes, son organismos complejos conformados mediante la simbiosis de hongos (micobionte) y algas (ficobionte). Mientras las algas proporcionan los productos fotosintéticos, los hongos son los responsables de abastecer al simbiote con agua y sales minerales (Castro, 2004). Desde la antigüedad, los líquenes desempeñaron un papel muy importante en la alimentación de animales y humanos, la producción de colorantes, propiedades medicinales, alimenticias entre otras hacen que su importancia siga vigente al día de hoy (Illana, 2009). El interés científico de las especies liquénicas radica en su composición, pues se ha reportado una gran variedad de compuestos liquénicos, pero también metabolitos primarios como ácidos grasos insaturados omega 3 (ω -3) y omega 6 (ω -6) indispensables en la dieta humana (Hanus – Temina et al., 2008).

Trabajos previos como los realizados por Yusuf (2020) resalta la importancia económica de las diferentes especies liquénicas usadas en el sector alimenticio o medicinal, ya sea como suplementos alimenticios, colorantes alimenticios, saborizantes etc. Menciona como ejemplo al líquen *Usnea florida*, la cual se comercializa en EEUU en presentaciones de extracto crudo, en

polvo y capsulas, los cuales se consumen vía oral como té. Este producto se comercializa en el estado de Florida bajo el nombre de “Té de musgo de liquen de *Usnea*”.

En el Perú existe una gran variedad de especies de líquenes, la *Psiloparmelia denotata* abunda en los andes peruanos y fue clasificada por primera vez en el año 1981 al ser encontrada en el valle de Santa Eulalia provincia de Huarochirí, departamento de Lima (Helix y Nash, 1992). Los estudios realizados hasta el momento no permiten conocer la composición de ácidos grasos, por tal motivo el objetivo de esta investigación es el análisis de ácidos grasos en esta especie.

1.1. Descripción y formulación del problema

En la sociedad globalizada e industrializada de la actualidad una gran cantidad de personas viven aceleradas sin saber a dónde han ido ni a donde van, necesitan hacer todo de forma inmediata como si no existiese el mañana, la prisa por realizar las actividades cotidianas ha ocasionado el incremento de hábitos alimenticio inadecuados que a la larga atentan contra su salud. Desde hace algunas décadas los expertos en salud y nutrición señalan que los hábitos alimenticios son parte esencial en la prevención de enfermedades y el cuidado de la salud y están relacionados con el sobrepeso, la diabetes, las enfermedades cardiovasculares, presión arterial y algunos tipos de cáncer, por lo que tienen la mayor prevalencia en morbilidad y mortalidad de las personas (Freidin, 2016).

Carrillo - Dalmau et al. (2011), señala que en una sociedad moderna e industrializada los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados son componentes claves de una dieta sana para prevenir enfermedades cardiovasculares, especialmente en niños. Aires – Capdevila et al. (2005) indica que la ingesta de una mayor cantidad de ácidos grasos esenciales(estos no pueden ser sintetizados por el organismo humano) en la dieta alimenticia produce una importante mejora en

la salud, debido a que se encuentran formando parte de la estructura de la membrana celular y además son precursores en la síntesis de prostaglandinas, involucradas en diversos procesos biológicos, también hace mención en la importancia que tienen estos ácidos grasos en diferentes funciones del organismo tales como: desarrollo óptimo de la vista, actividad antiinflamatoria, tratamiento del asma, protección de la piel, mantenimiento y funcionamiento de las mucosas, prevención de problema cardiovasculares, reducción del colesterol y triglicéridos, reducción de la presión arterial además de estabilizar eléctricamente la contracción del musculo cardiaco disminuyendo el riesgo por muerte súbita por arritmia, entre otros. Los ácidos grasos ω -6 y ω -3 son necesarios para el proceso de crecimiento y desarrollo de capacidades funcionales de las personas, por ello su ingesta es de suma importancia nutricional (Cabezas - Hernández et al., 2016).

La revisión de la literatura, nos permite conocer la presencia de ácidos grasos en una gran variedad de especies liquénicas recolectadas a nivel mundial, así tenemos por ejemplo en la especie *Evernia mesomorpha* and *Parmelia sp.* Se identificaron a los ácidos grasos linoleico, Oleico, araquidónico y otros (Yanamoto y Watanave, 1974). También se realizó el análisis de ácidos grasos en los líquenes *Cetraria delisei*, *Lobaria pulmonaria*, *Tormentosa estereocaulón* y *usnea hirtal*, encontrando en total cinco ácidos grasos (palmítico, esteárico, oleico, linoleico y linolenico) (Solberg, 1987). También se conoce que diversos lugares del mundo se emplean especies de líquenes como parte de su dieta alimenticia (Illana, 2009).

La literatura reporta que en el Perú a la fecha se han realizado el análisis de ácidos grasos en cuatro especies de líquenes, estos reportes fueron realizados por: Castro (2021) reportó en el liquen *E trulla* al acido palmítico, linoleico, Cis- oleico y esteárico como los más abundantes; Calla (2018) indica la identificación de ácido araquídico, palmitoleico y láurico como lo más abundante en la especie *Stereocaulon glareosum (Sav.) H. Magn*; Zelada y Pastor (2012) menciona que en el

liquen *Usnea durietzii* pudo identificar 6 ácidos grasos entre los cuales están el ác. Palmítico, esteárico, Cis- oleico y linolénico; finalmente Castro (2004) identifico a los ácidos araquídico, behénico, láurico y otros, presentes en el liquen *Psiloparmelia distincta*.

En el Perú se han reportado cerca de 1800 especies de líquenes (Calla, 2018), sin embargo, los reportes referentes a su composición química y en especial a los ácidos grasos son escasos. Los pobladores del distrito Muquiyaayo emplean como infusión el liquen *Psiloparmelia denotata* para el tratamiento de la gripe, la ausencia de investigaciones científicas referentes al análisis químico en esta especie, dificulta su explotación como recurso en otras áreas de interés. Cabe resaltar que en esta especie líquénica solamente se tiene identificado al ácido Úsnico como compuesto líquénico (Castro, 2010), por lo que es necesario analizar que ácidos grasos se encuentran presentes en este liquen ya que es parte de la dieta de algunas comunidades.

1.2. Antecedentes

Castro (2021), empleando cromatografía de gases con detector FID, consiguió determinar 17 ácidos grasos presentes en el liquen *Everniopsis Trulla*, en dicho análisis el ácido palmítico y ácido linoleico fueron los que se reportados en mayor cantidad.

Carrero - Oróstegui et al. (2018), revisó 64 investigaciones relacionadas con el papel que desempeña la ingesta de ácidos grasos omega-3 y omega 6 en el tratamiento de la Artritis Reumatoide, concluyendo que estos ácidos grasos producen un alivio significativo en la inflamación, dolor y rigidez de las articulaciones, por lo que recomienda preparar formulas alimenticias en las cuales se incluya fuentes de ácidos graso omega-3 y omega-6.

Calla (2018), realizó un estudio del extracto metanólico del líquen *Stereocaulon glareosum* identificando mediante CG-FID 16 ácidos grasos, 7 de los cuales corresponden a ácidos grasos insaturados.

Arantes – Iacomini et al. (2005), investigó el líquen *Teloschistes flavicans* en el estado de Paraná, Brasil. Para lo cual realizó la recolección de esta especie en los meses de verano e invierno, además durante 6 meses realizó su cultivo a diferentes temperaturas. En las muestras recolectadas observo que durante el verano los ácidos grasos se encontraban saturados pero en invierno aumentaba la concentración de ácidos grasos insaturados, especialmente del ácido oleico que paso de 0% a 12.5 y linoleico de 0% a 39.3%. Para el cultivo a diferentes temperaturas también pudo observar que la concentración de ácidos grasos insaturados aumenta con la disminución de la temperatura (de 23 a 18°C en 6 meses), lo cual coincide con lo reportado por Dembitsky (1992) para decenas de especies, con una variación de temperatura de -7°C a 23°C. El autor señala además que el porcentaje de ácidos grasos insaturados (durante el invierno) alcanzo un total de 60%.

Vu - Catheline et al. (2016), empleó la cromatografía de gases (CG) para la determinación de ácidos grasos en 16 especies de líquenes mediante 5 métodos de extracción. Los resultados obtenidos muestran una concentración de hasta 71.6 % de ácidos grasos insaturados y 50.75% de ácidos grasos esenciales.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Analizar por cromatografía de gases el contenido de ácidos grasos del líquen *Psiloparmelia denotata*.

1.3. 2. Objetivos específicos

- Extraer los ácidos grasos presentes en el líquen *Psiloparmelia denotata*.
- Determinar las condiciones experimentales para realizar el análisis por cromatografía de gases en el líquen *Psiloparmelia denotata*.
- Determinar el perfil de ácido graso del extracto lipídico del líquen *Psiloparmelia denotata* por cromatografía de gases

1.4. Justificación

Desde tiempos remotos el ser humano ha buscado permanentemente nuevas fuentes de alimentación y los líquenes han formado parte no solo de su dieta alimenticia sino también de sus animales domésticos. Los avances en la investigación biológica y química a puesto de manifiesto las diversas aplicaciones de los compuestos de productos naturales para mejorar la calidad de vida de las personas (Illana, 2009). Los ácidos grasos son compuestos químicos involucrados en diversas dietas alimenticias y están asociados a aspectos esenciales de la salud (FAO, 2012). Es por ello que en este trabajo se busca dar a conocer por primera vez a la comunidad científica la presencia de ácidos grasos tales como ác. Linoleico, ác. Linolénico y ác. Oleico en el líquen *Psiloparmelia denotata*, así mismo dejar evidencia del potencial nutricional (debido al contenido de ácidos grasos esenciales) para el ser humano de esta especie simbiótica, dado que la investigación en estos organismos es poco frecuente en nuestro país.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Bases teóricas sobre la investigación.

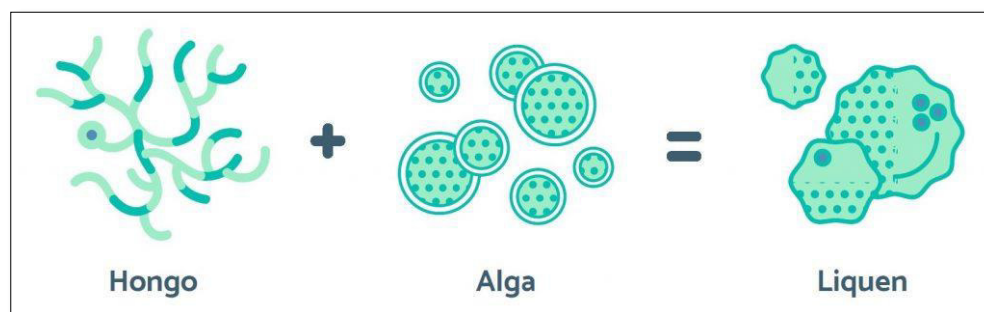
2.1.1. Líquenes

El término “líquen”, quiere decir costra y fue empleado por Teofrasto de Ereso para nombrar a los vegetales que crecían en la corteza de los árboles (olivos) y tenían ese aspecto, en la actualidad se sigue empleando este término para nombrar a algunas plantas terrestres y en ciencias médicas para dar nombre a un conjunto de enfermedades a la piel (Carballal - Porcel et al., 2014).

Los líquenes son organismos complejos formados por la asociación entre un hongo(micobionte) y un organismo fotosintético, el cual puede ser un alga verde(cloroficea) o una cianobacteria (fotobionte), la estructura resultante es un organismo completamente nuevo, diferente al hongo, la cianobacteria o el alga por separado (Illana, 2012). Ver la figura 1

Figura 1

Asociaciones entre un hongo y alga para formar los líquenes.



Nota: Tomado de Liquencity.org

El hongo tiene como función proteger al alga de la radiación solar, absorber los contaminantes y proporcionarle agua y minerales. El alga se encarga de sintetizar los azúcares y abastecer de vitaminas y alimentos al micobionte (Velasco, 2020). Cabe resaltar que las definiciones modernas consideran a los líquenes como hongos liquenizados (Vaillant, 2014). En la figura 2 puede observar algunas especies de líquenes.

Figura 2

Especies de líquenes: *Cetraria islandica* (A), *Evernia prunastri* (B), *Vulpicida canadensis* (C), *Cetrelia braunsiana*(D).



Nota: Tomado de Fernández (2017)

2.1.1.1 Características de los líquenes. Los líquenes pueden crecer en condiciones realmente extremas, se lo puede encontrar en climas cálidos como en muy fríos, en lugares húmedos hasta muy secos, desde el nivel del mar hasta los 7400 msnm. Sin embargo, sin importar donde crezcan y a pesar de su adaptabilidad ecológica son muy sensibles a los cambios ecológicos de su hábitat (Boustie y Grube, 2005).

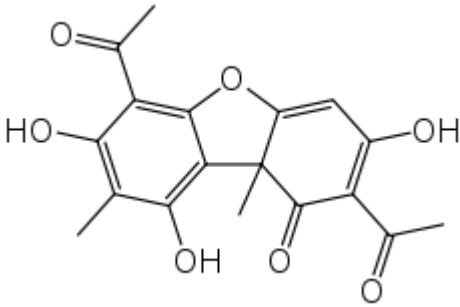
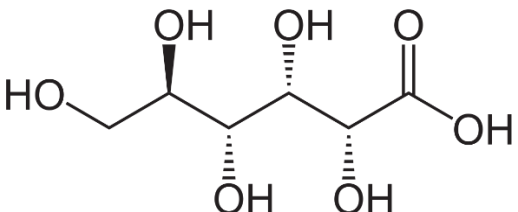
Los líquenes son organismos simbióticos que no poseen movilidad propia en ninguna parte de su ciclo de vida, por lo que sus esporas se dispersan por medio del viento o la lluvia, no tienen tejidos verdaderos, sus talos están formados por “un conjunto de células originadas de una espora y que al dividirse forman una hifa (filamento de células fúngicas), el conjunto de hifas forma una masa denominada micelio” (Liberatore - Calvelo et al, 2012). En la actualidad existen alrededor de veinte mil especies de líquenes, sin embargo, en su formación solamente intervienen aproximadamente 100 especies de fotobiontes, mientras que alrededor del 99% de los micobiontes son de la especie Ascomycota. (Vaillant, 2014).

2.1.1.2 Composición química de líquenes. Los líquenes tienen dos grupos principales de compuestos químicos: los metabolitos primarios y los metabolitos secundarios. Los primeros son intracelulares y se encuentran en las paredes celulares y el citoplasma, son imprescindibles para la sobrevivencia de las células y generalmente involucra a proteínas, aminoácidos, polioles, vitaminas y polisacáridos, son sintetizados tanto por el alga como por el hongo y la mayoría son solubles en agua, por lo que pueden ser extraídos en agua caliente. Los segundos son extracelulares, llamados también “compuestos liquénicos”. La mayoría de estos compuestos son policíclicos que tienen grupos fenólicos en su estructura química, todas estas moléculas son sintetizadas por el micobionte, sin embargo, el fotobionte es responsable de aportar los átomos de carbono en forma de polioles o carbohidratos tipo glucosa para su síntesis, no son indispensables

para la sobrevivencia del organismo, pero juegan un papel fundamental como mecanismo de defensa e interacción de los simbiontes con el medio ambiente. Mayoritariamente son compuestos apolares y solo pueden extraerse con solventes orgánicos (Fernández, 2017). Dentro los metabolitos secundarios se encuentran compuestos como cromonas, ácido púlvico, antraquinona, xantonas, ácidos grasos, lactonas, aminoácidos, macrocíclicas, esteroides, aromáticos monocíclicos, terpenoides, y carotenoides (Velasco, 2020). En la tabla 1, 2, 3 y 4 se muestran compuestos químicos encontrados en diversas especies liquénicas.

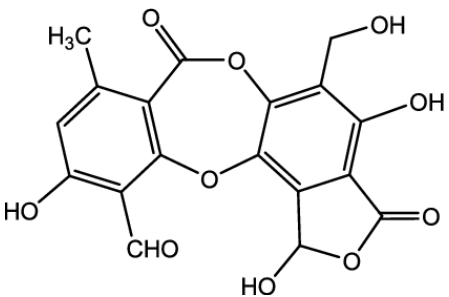
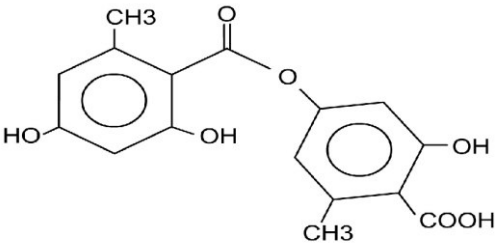
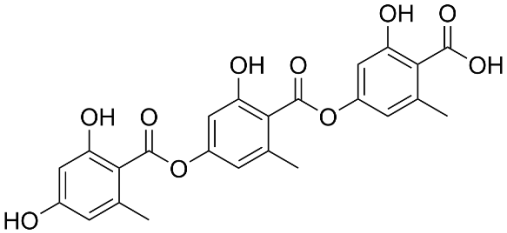
Tabla 1

Compuestos químicos reportados en especies de líquenes-Parte I.

Compuesto liquénico	Especie liquénica	Referencia
 <p>Ácido Úsnico</p>	<i>Stereocaulon glareossum</i>	(Calla, 2018)
	<i>Flavoparmelia caperata</i>	(Castro, 2010)
	<i>Umbilicaria calvescens</i>	(Ramos, 2018)
	<i>Umbilicaria calvescens</i>	(Cóndor, 2018)
 <p>Ácido glucónico</p>	<i>Stereocaulon glareossum</i>	(Calla, 2018)

Nota: Tomado de Calla (2018), Ramos (2018), Cóndor (2018) y Castro (2010)

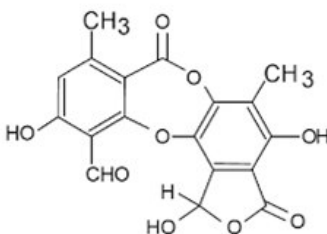
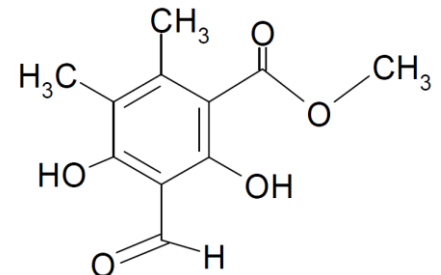
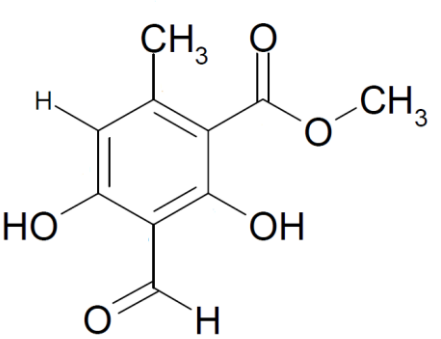
Tabla 2*Compuestos químicos reportados en líquenes- Parte II*

Compuesto líquénico	Especie líquénica	Referencia
 <p>Ácido zalazínico</p>	<i>E. trulla</i> <i>Parmelia sulcata</i> <i>Usnea durietzii</i>	(Castro, 2010) (Candan, 2007) (Zelada, 2012)
 <p>Ácido lecanórico</p>	<i>E. trulla</i> <i>Umbilicaria calvescens</i>	(Castro, 2020) (Cóndor, 2018)
 <p>Ácido girofórico</p>	<i>E. trulla</i>	(Castro, 2020)

Nota: Tomado de Castro (2020), Cóndor (2018), Zelada (2012), Castro (2010) y Candan(2007)

Tabla 3

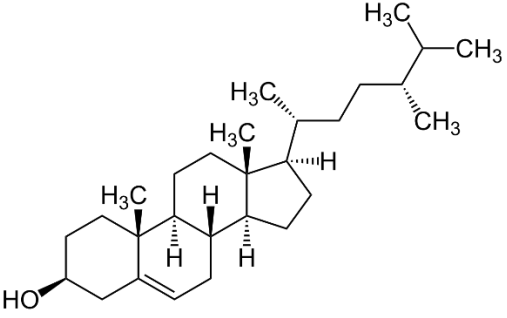
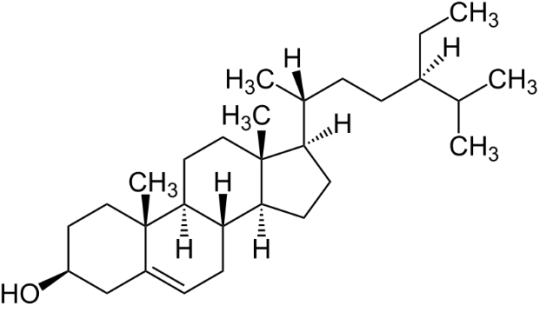
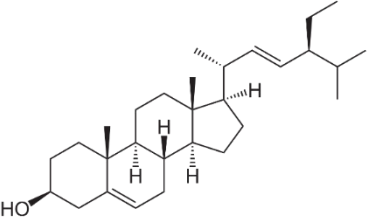
Compuestos químicos reportados en líquenes – Parte III

Compuesto líquénico	Especie líquénica	Referencia
 <p>Ácido norstictico</p>	<i>E. trulla</i>	(Castro, 2010)
 <p>Lobarielina</p>	<i>Stereocaulon strictum</i>	(Perico, 2011)
	<i>Lobariella pallida</i>	(Perico, 2011)
	<i>Stereocaulon strictum</i>	(Perico, 2018)
	<i>Lobariella pallida</i>	(Perico, 2018)
<i>Hematomato de metilo</i>		

Nota: tomado de Perico (2018), Perico (2011) y Castro (2010)

Tabla 4

Compuestos químicos reportados en líquenes – Parte IV

Compuesto líquénico	Especie líquénica	Referencia
 <p>Campesterol</p>	<i>E. trulla</i>	(Castro, 2021)
 <p>β-sitosterol</p>	<i>E. trulla</i>	(Castro, 2021)
 <p>Estigmasterol</p>	<i>E. trulla</i>	(Castro, 2021)

Nota: Tomado de Castro (2021)

2.1.1.3 Rutas biosintéticas. Se han reportado más de 800 metabolitos secundarios identificados exclusivamente en líquenes sintetizado a partir de 3 rutas biosintéticas: La vía del acetato polimalonato es la que da origen a la mayoría de metabolitos secundarios, la ruta del ácido shikímico y vía del ácido mevalónico.

A. Ruta del acetato polimalonato. La mayoría de los compuestos líquénicos son sintetizados por esta ruta, metabolitos secundarios producidos por los líquenes son sintetizados por esta ruta, mediante la cual se forman xantonas, derivado de antraquinonas, cromonas y ácidos alifáticos de cadenas largas, como los ácidos grasos y compuestos aromáticos derivados del ácido orselínico. Los ácidos alifáticos sintetizados mediante esta ruta se pueden dividir en γ -lactonas, diácidos grasos y triácidos grasos. Los ácidos grasos (AG) son ácidos carboxílicos de cadena alifática o ramificada con entre 4 – 28 átomos de carbono, pueden ser con o sin dobles enlaces. Cuando no tienen dobles enlaces se llaman ácidos grasos saturados e insaturados cuando tienen por lo menos un doble enlace en la cadena de carbono (Huneck y Yoshimura, 1996)

Los compuestos aromáticos identificados en los líquenes derivan del ácido orselínico, se forman por la unión de dos o tres unidades fenólicas del tipo fenólicas de tipo orcinol o β -orcinol, a través de enlaces éster (dépsidos, tridépsidos), éter (difeniléter, depsidona, dibenzofurano, ácido úsnico) y carbono-carbono (depsona) (Calla, 2018). Algunos compuestos químicos producidos por esta vía se muestran en la tabla 5.

Tabla 5

Compuestos liquénicos sintetizados mediante la ruta del acetato polimalonato.

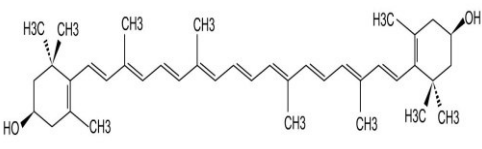
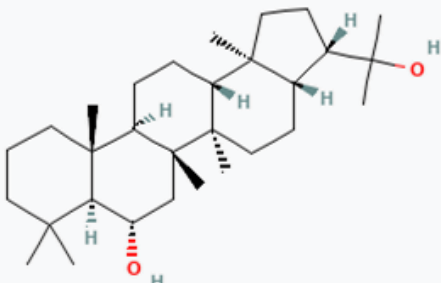
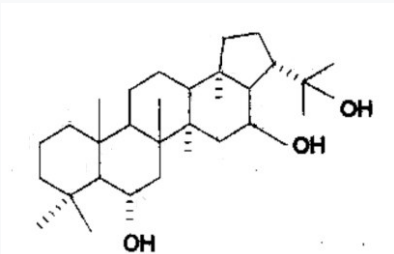
Especie liquénica	Especie liquénica	Referencia
Ácido roccélico	<i>Leproloma membranaceum</i>	(Huneck ,1996)
Ácido orselínico	<i>Pseudocyphellaria crocata</i>	(Huneck ,1996)
Ácido β -orselínico	<i>Pseudevernia furfuracea</i>	(Huneck ,1996)
Ácido Úsnico	<i>Ramalina calicaris</i>	(Honda, 1999)
Liquen xantona	<i>Lecidella stigmatea</i> <i>Hypotrachyna formosana</i>	(Huneck ,1996)
Ácido picroliquénico	<i>Pertusaria amara</i>	(Huneck ,1996)
Ácido sekikaico	<i>Ramalina boulhautiana</i>	(Huneck ,1996)
Ácido girofórico	<i>Lasallia pustulata</i>	(Huneck ,1996)
Pulvinamida	<i>Pseudocyphellaria crocata</i>	(Huneck ,1996)
Ácido vulpínico	<i>Letharia vulpina</i>	(Huneck ,1996)
Ácido virensico	<i>Bryoria tortuosa</i>	(Huneck ,1996)
ácido didímico	<i>Cladonia floerkeana</i>	(Huneck ,1996)
Ácido micareico	<i>Micareea prasina</i>	(Huneck ,1996)
Ácido ácido lecanórico	<i>Hypocenomyce scalaris</i> <i>Parmotrema tinctorum</i>	(Huneck ,1996)
Siphulin	<i>Siphula ceratites</i>	(Huneck ,1996)

Nota: Tomado de Honda (1999) y Huneck (1996)

B. Ruta del ácido mevalónico. Mediante esta ruta se sintetizan metabolitos como terpenoides, terpenos, esteroides y carotenoides, como por ejemplo fitoterol, ergosterol, zeorina, β -caroteno y luteína (Huneck, 1999). La tabla 6 muestra algunos compuestos químicos producidos por esta vía.

Tabla 6.

Compuestos líquénicos sintetizados mediante la ruta del ácido mevalónico.

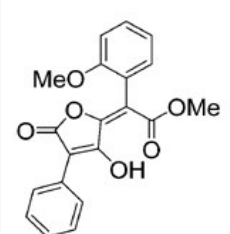
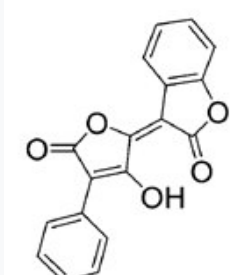
Especie líquénica	Especie líquénica	Referencia
	<i>Ophioparma ventosa</i> <i>Pleurosticta acetabulum</i>	(Huneck ,1996)
Zeaxantina		
	<i>Lecanora muralis</i> <i>Parmelia leucotyiza</i>	(Huneck ,1996)
Zeorina		
	<i>Lecanora muralis</i>	(Honda,1999)
Leucotilina		

Nota: Tomado de Honda (1999) y Huneck (1996)

C. Ruta del ácido shikímico. Los compuestos liquénicos sintetizados mediante esta ruta son los derivados del ácido pulvínico, poseedores de una unidad cromófera por lo que se caracterizan por ser de pigmentación amarilla o naranja. Por esta vía también se sintetizan los compuestos liquénico de micoporinas y aminoácidos del tipo micoporina (MAAs), estos constituyentes son polares, de bajo peso molecular y solubles en agua y protegen al simbiote de la radiación UV. Otro compuesto sintetizado mediante la ruta del ácido shikímico es la escitonemina, el cual es un compuesto dimérico, que contiene un anillo indol y unidades fenólicas, es soluble en lípidos (Müller, 2001). La tabla 7 muestra los compuestos químicos producidos por esta vía.

Tabla 7

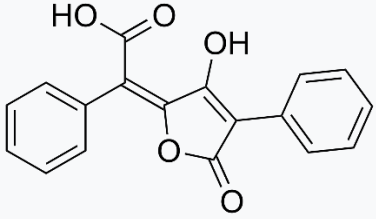
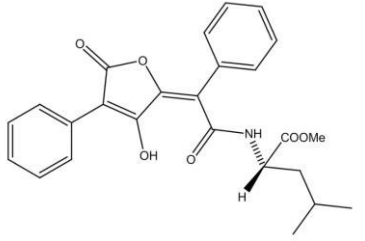
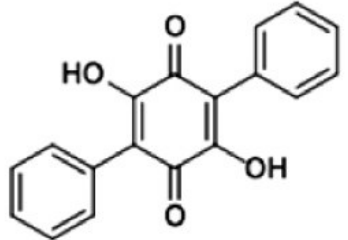
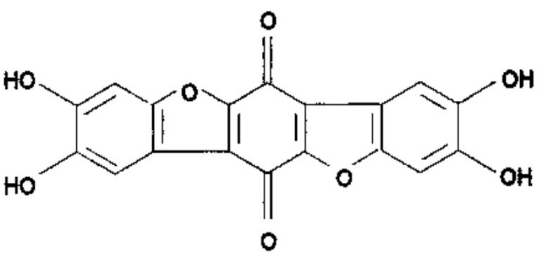
Compuestos liquénicos sintetizados mediante la ruta del ácido shikímico.

Compuesto químico	Especie liquénica	Referencia
 <p>Ácido leprapínico</p>	<i>Chrysothrix chlorina</i>	(Honda, 1999)
 <p>Calicina</p>	<i>Pseudocyphellaria aurata</i>	(Honda, 1999)

Nota: Tomado de Honda (1999)

Tabla 8

Compuestos líquénicos sintetizados mediante la ruta del ácido shiquímico

Especie líquénica	Especie líquénica	Referencia
 <p data-bbox="402 621 613 659">Ácido pulvínico</p>	<p data-bbox="841 478 1084 548"><i>Pseudocyphellaria coronata</i></p>	<p data-bbox="1182 478 1382 516">(Huneck 1996)</p>
 <p data-bbox="443 940 578 978">Epanorina</p>	<p data-bbox="870 806 1084 844"><i>Letraria vulpina</i></p>	<p data-bbox="1174 806 1386 844">(Palacios, 2019)</p>
 <p data-bbox="399 1262 621 1299">Ácido polipórico</p>	<p data-bbox="878 1094 1065 1163"><i>Rhizocarpum geographicum</i></p>	<p data-bbox="1187 1094 1373 1131">(Honda 1999)</p>
 <p data-bbox="402 1667 618 1705">Ácido telefórico</p>	<p data-bbox="854 1486 1084 1524"><i>Bryoria fremontii</i></p>	<p data-bbox="1187 1486 1373 1524">(Honda 1999)</p>

Nota: tomado de Palacios et al., (2019), Honda (1999) y Huneck (1996)

2.1.1.4 Usos y aplicaciones de los líquenes. Desde tiempos remotos hasta la actualidad, los líquenes han estado presentes en la vida cotidiana de diversas culturas cumpliendo funciones tales como:

A. *Función ecológica.* Los líquenes son pionero en la colonización de lugares rocosos y con escasa vegetación, por lo que para desarrollarse tienen que preparar su propio sustrato, el cual lo obtienen mediante la degradación superficial de las rocas y que servirá además para el desarrollo de otras plantas. Las especies que se encuentran formando simbiosis con cianobacterias (algas verde-azuladas) tienen la capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico enriqueciendo principalmente los suelos de las regiones boreales y bosques templados (Coutiño y Montañez, 2000).

B. *Uso como Bioindicadores.* Los líquenes son organismos con la capacidad de adaptarse a condiciones extremas de temperatura y humedad, sin embargo, son extremadamente sensibles a los cambios de sus condiciones ecológicas preferidas y difícilmente se desarrollan fuera de sus hábitats nativos. Debido a la ausencia de cutícula protectora los líquenes absorben lo contaminante presentes en el agua de lluvia y en el aire, tales como óxidos metálicos, dióxido de azufre, entre otros. El estudio de los bioindicadores liquénicos permite diagnosticar el nivel de contaminación en ecosistema urbanos, rurales y urbano-rurales identificando las posibles causas responsables del deterioro ambiental (Lara, 2020).

C. *Uso comestible.* Desde tiempos muy remotos los líquenes jugaron un papel muy importante en la alimentación de las poblaciones de Europa, Asia, América y el Ártico. En Islandia el líquen *C. islandica* se emplea para preparar la receta “fjallagrasamj” la cual consiste en añadir

esta especie a la leche con azúcar, también se usa como ingrediente en la preparación de los caramelos “Soprano lozenges” recomendados para oradores, docentes y cantantes. En Turquía se usó *evernia prunastri* para hacer gelatina. En Rusia los monjes de un monasterio usaron *Lobaria pulmonaria* en la preparación de cerveza, durante la segunda guerra mundial los rusos usaron *Alectoria ochroleuca*, *Cetraria islandica*, *Cladonia mitis*, *Usnea barbata*, *Cladonia alpestris* y *Cetraria nivalis* para extraer azúcar mediante hidrólisis, obteniendo desde un 71% hasta un 82% de rendimiento. En India usa *Parmotrema perlatum* en la preparación de Garm Masala. En Japón es muy común el consumo de *Umbilicaria esculenta* (iwataque) el cual luego de hervirlo, añadir vinagre y pasta de sesamo se sirve con ensalada. En China se envasa y comercializa *T. vermicularis*, bajo la denominación de “snow tea” (Illana, 2009).

En la figura 3 se muestran productos alimenticios elaborados a base de líquenes.

Figura 3

Compuestos alimenticios a base de líquenes: caramelos de líquen de Islandia (A), Té de líquen de *Usnea* (B).



Nota: Tomado de sawes.com & Terravita.com

En lugares de clima frío (tundras), los líquenes cubren grandes extensiones por lo que ciertos ejemplares sirven de alimento a la vida animal, incluso algunas regiones nórdicas los líquenes son empleados en la alimentación de animales domésticos debido al elevado contenido de liquenina, un polisacárido empleado también en la elaboración de pan (Coutiño y Montáñez, 2000).

D. Uso medicinal. En la antigüedad los líquenes fueron empleados con fines medicinales para el tratamiento de la rabia, la ictericia incluso para el tratamiento contra la caída de cabello. Actualmente el uso de líquenes se ha extendido a la industria farmacéutica, la literatura reporta el uso de extractos liquénicas en el tratamiento de enfermedades estomacales, inflamación leve de la faringe, esplenomegalia, dolencias respiratorias, usados en el tratamiento del cáncer, artritis, diabetes, infecciones a la piel, epilepsia, vejiga, asma, cortes y quemaduras en la piel, entre otras. También se emplean como cicatrizantes, fitopatógenos, antisépticos, pigmentantes, protectores de rayos UV (Vasudeo y Lew, 2012).

Es importante resaltar que existen dos compuestos liquénicos que tienen el mayor número de investigaciones, estos son el Ácido Úsnico y la Atranorina.

El ácido Úsnico, fue aislado por primera vez en 1844 del género *Úsnia*, al cual debe su nombre, sin embargo, también se encuentra presente en otras especies. La importancia del ácido Úsnico radica en su elevada acción antibiótica, antitumoral y acción inhibitoria sobre el VIH. Se emplea en la elaboración de cremas para el tratamiento de quemaduras (Coutiño y Montáñez, 2000; Lara, 2020)

Respecto a la Antranorina, esta fue aislada de *Parmelia tiliácea* y se caracteriza por poseer actividad antiinflamatoria, la cual al ser evaluada alcanzó un efecto antiinflamatorio de 75,78% frente a 83,85% de la aspirina, a concentraciones de 200 ppm (Lara, 2020).

E. Uso industrial. Los líquenes son usados actualmente en diversos sectores industriales debido principalmente a la gran variedad de metabolitos secundarios que poseen. En la industria de perfumería los líquenes se usan como fuentes aromáticas o como fijadores de aroma, mayoritariamente son dos las especies usadas: *Evernia prunastri* y *Pseudevernia furfurácea*, la primera se recolecta de robles y la segunda de las coníferas de pinos y cedros. Anualmente en el Macizo Central Francés se recolectan aproximadamente entre 2000 y 2500 toneladas al año, estas especies fueron exportadas desde Europa hacia EE.UU. Durante el año 2002 en la provincia de Ifrane de marruecos se colecto 50000kg de líquenes, mientras que entre los años 1983-1984 en los bosques de Uttarakhand Hills de la india se recolectaron 750 toneladas (Illan, 2016).

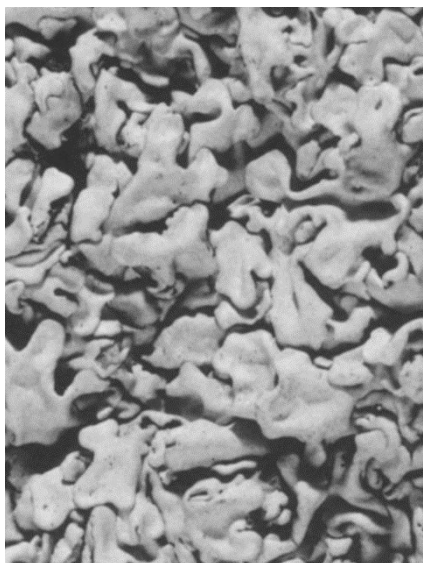
En la industria cosmética los líquenes son usados para la elaboración de champú y acondicionadores (*Cetraria islandica*), desodorantes (*Usnea barbata* y *Cetraria islandica*), dentífricos (*Cetraria islandica*), cremas exfoliantes y anti-celulíticas (*Cetraria islandica*), cremas rejuvenecedoras (*Cetraria nivalis*), productos de manicure y pedicura (*Cetraria islandica*), entre otros (Lara, 2020).

2.1.1.5 Psiloparmelia denotata. Esta especie fue descubierta por Elix y Nash (1981) en 1981, en el valle del rio Santa Eulalia, al nor oeste del distrito de Carampoma, provincia de Huarochiri, departamento de lima. El talo es de color verdoso pálido, adosado o débilmente adosado a las rocas con un diámetro de 5 a 10cm. De lóbulo alargados (0.1 a 0. mm de ancho.) e imbricados convirtiéndose en una estera gruesa. Esta especie también fue reportada por los mismos descubridores en Cusco, Puno y Salta (Argentina). El estudio botánico preliminar para esta especie reporta lo compuestos de: Ácido úsnico, atranonina, cloroatranonina, ácido ionotanico entre otros.

La bibliografía reporta el análisis químico cuantitativo de ácido úsnico realizado por Castro (2010), no evidenciándose otros estudios químicos respecto de esta especie.

Figura 4

Fotografía de Psiloparmelia denotata



Nota: tomado de Helix & Nash (1992)

2.1.2 Ácidos grasos en líquenes

Investigaciones realizadas en especies liquénicas de diferentes partes del mundo consiguieron identificar el contenido de diversos ácidos grasos tanto saturados como insaturados. Los ácidos grasos son ácidos carboxílicos, generalmente monocarboxílicos, con cadenas de hidrocarburo, que tienen la forma RCO_2H . El grupo R es una cadena larga de carbonos, no ramificada, con un número par de átomos de carbono, pudiendo ser saturada (enlaces simples) o contener uno o más dobles enlaces (insaturaciones). El grupo carboxilo de la cadena constituye la región polar y la cadena R la región apolar de la molécula. Los ácidos grasos se clasifican según la longitud de la cadena de carbonos, la presencia de los dobles enlaces y la configuración de los mismos.

2.1.2.1 Ácidos Grasos Saturados en líquenes. Los ácidos grasos saturados (AGS) son ácidos grasos sin insaturaciones o dobles enlaces en su cadena hidrocarbonada. Son obtenidos de una dieta a partir de grasas de origen animal (carnes, leche y derivados) y vegetales (coco, cacao) (Carrero - Oróstegui et al., 2018).

En la Tabla 9 y 10 se muestran los AGS reportados en especies líquénicas.

Tabla 9

Ácidos grasos saturados en especies líquénicas – Parte I

Ácido Graso saturado	Especie líquénica	Referencia
Ác. Caprílico.	<i>E. trulla</i>	(Castro, 2021)
Ácido cáprico.	<i>E. trulla</i>	(Castro, 2021)
	<i>E. trulla</i>	(Castro, 2021)
Ác. Láurico.	<i>Stereocaulon glareosum</i>	(Calla, 2018)
	<i>Psiloparmelia dictinta</i>	(Castro, 2004)
Ác. Tridecanoico.	<i>E. trulla</i>	(Castro, 2021)
Ac. Mirístico.	<i>E. trulla</i>	(Castro, 2021)
	<i>Teloschistes flavicans</i>	(Arantes, 2005)
Ác. Pentadecanoico.	<i>E. trulla</i>	(Castro, 2021)
	<i>Stereocaulon glareosum</i>	(Calla, 2018)
	<i>Teloschistes flavicans</i>	(Arantes, 2005)
Ác. plamítico	<i>E. trulla</i>	(Castro, 2021)
	<i>Stereocaulon glareosum</i>	(Calla, 2018)
	<i>Teloschistes flavicans</i>	(Arantes, 2005)
	<i>Psiloparmelia dictinta</i>	(Castro, 2004)
Ác. esteárico	<i>E. trulla</i>	(Castro, 2021)
	<i>Stereocaulon glareosum</i>	(Calla, 2018)
	<i>Teloschistes flavicans</i>	(Arantes, 2005)
	<i>Psiloparmelia dictinta</i>	(Castro, 2004)
	<i>Úsnea durietzii</i>	(Zelada, 2012)
Ác. heptadecanoico	<i>E. trulla</i>	(Castro, 2021)
	<i>Teloschistes flavicans</i>	(Arantes, 2005)
	<i>Úsnea durietzii</i>	(Zelada, 2012)
Ác. behénico	<i>E. trulla</i>	(Castro, 2021)
	<i>Teloschistes flavicans</i>	(Arantes, 2005)
	<i>Stereocaulon glareosum</i>	(Calla, 2018)

Nota: Tomado de Castro (2021), Calla (2018), Zelada (2012), Arante (2005) y Castro (2004).

Tabla 10*Ácidos grasos saturados de especies líquénicas Parte II*

Ácido Graso saturado	Especie líquénica	Referencia
Ác. Lignosérico	<i>E. trulla</i>	(Castro, 202)
	Teloschistes flavicans	(Arantes, 2005)
	Stereocaulon glareosum	(Calla, 2018)
	<i>Psiloparmelia dictinta</i>	(Castro, 2004)
Ácido tricosanoico	<i>Stereocaulon glareosum</i>	(Calla, 2018)
Ác. Araquidico.	<i>Psiloparmelia dictinta</i>	(Castro, 2004)
	<i>Stereocaulon glareosum</i>	(Calla, 2021)
Ác. heneicosanoico	<i>E. trulla</i>	(Castro, 2021)

Nota: tomado de Castro (2021), Calla (2018), Arantes (2005) y Castro (2004)

2.1.2.2 Ácidos grasos insaturados. Los ácidos grasos insaturados (AGI) son aquellos que contienen uno o más dobles enlaces en tu cadena de carbono. Los AGI son de dos tipos, monoinsaturados (AGMI), los que tienen un solo doble enlace y poliinsaturados (AGPI) que contienen dos o más enlaces dobles. Estos ácidos grasos pertenecen a diferentes familias, y se definen por la ubicación del primer doble enlace en la cadena de carbono del grupo metilo, son identificados por la letra ω . Según esta clasificación los principales AGI son ω -3, ω -6 y ω -9 (Carrero - Oróstegui et al., 2018).

En la tabla 11 se muestran los ácidos insaturados presentes en diversas especies de líquenes.

Tabla 11

Ácidos grasos insaturados en especies líquénicas.

Especie líquénica	Especie líquénica	Referencia
Ác. linoleico	<i>E. trulla</i>	(Castro, 2021)
	Teloschistes flavicans	(Arantes, 2005)
	Úsnea durietzii	(Zelada, 2012)
	Stereocaulon glareosum	(Calla 2018)
Ác. linolenico	<i>E. trulla</i>	(Castro,2021)
	Stereocaulon glareosum	(Calla 2018)
Ác. Cis - Oleico	<i>E. trulla</i>	(Castro,2021)
	Teloschistes flavicans	(Arantes, 2005)
	Úsnea durietzii	(Zelada, 2012)
	Stereocaulon glareosum	(Calla 2018)
Ác. palmitoleico	<i>E. trulla</i>	(Castro,2021)
	Stereocaulon glareosum	(Calla 2018)
Ác. tetracosenoico	Teloschistes flavicans	(Arantes, 2005)
Ác. Palmitoleico.	Úsnea durietzii	(Zelada, 2012)
Ác. Cis-13-erucico	Stereocaulon glareosum	(Calla 2018)
Ác. eicosenoico	Stereocaulon glareosum	(Calla 2018)
Ác. trans 9 elaidico	Stereocaulon glareosum	(Calla 2018)

Nota: Castro (2021), Calla (2018), Zelada (2012), Arante (2005)

2.1.3 *Técnica de separación*

2.1.3.1 Cromatografía de gases (GC - FID). La cromatografía de gases (GC) es la denominación abreviada de “cromatografía -gas-liquido” (CGL) y es una técnica empleada para separar los componentes de una muestra mediante su vaporización, la separación ocurre dado a que el analito se reparte entre una fase gaseosa móvil y una fase estacionaria líquida contenida en una columna. La elución de la muestra se lleva a cabo empleando un flujo de gas inerte como fase móvil. En este tipo de cromatografía la fase móvil no interactúa con las moléculas de la muestra, pues tiene como única función transportar el analito a lo largo de la columna. En la cromatografía de gases se emplea aun gas inerte como fase móvil (Helio o Nitrógeno), y como fase estacionaria un líquido de elevado punto de ebullición retenido en la superficie de un soporte sólido granular inerte, formando una película fina (Walton y Reyes, 1983). El poder de resolución de las columnas

es proporcional a la velocidad de transferencia de masa, la cual es favorecida por la difusión en el seno de los gases que es miles de veces más rápida que en los líquidos. Además, la baja viscosidad de los gases respecto de los líquidos le permite desplazarse más rápidamente a lo largo de una columna rellena, otorgándole a la GC la ventaja de la rapidez sobre otras técnicas (Skoog y Holler et al., 2018).

La GC como toda técnica tiene sus limitaciones, en este caso se exige que las muestras sean gases o líquidos volátiles, pero que existan en estado gaseoso a la temperatura de la columna. Ello significa que los iones metálicos no pueden ser analizados por GC a menos que se los transforme en compuestos volátiles. Compuestos orgánicos como los aminoácidos, los carbohidratos y los ácidos grasos no pueden ser analizados directamente, por lo que se recurre a diversas técnicas para transformarlos en ésteres y poder facilitar su análisis.

Los componentes básicos para un equipo de análisis por cromatografía de gases detallan a continuación y se presentan en la fig.5.

A. Sistema de gas de arrastre. En la GC el gas empleado como fase móvil se llama gas acarreador y químicamente debe ser inerte. Comúnmente el gas más empleado es el Helio, pero también son usados el Hidrogeno, el Nitrógeno y el argón. Los gases son mezclados en recipientes a presión por lo que requieren medidores de presión y fluxómetros para medir el flujo de gas.

B. Sistema de inyección de muestra. Es el lugar en el cual se introduce la muestra para entrar en contacto con el gas portador. Generalmente las muestras empleadas se encuentran en fase líquida por lo que su inyección se realiza usando microjeringas calibradas que atraviesan un disco de silicona que se vuelve a cerrar una vez retirada la aguja. Cabe resaltar que el sistema de inyección debe estar a una temperatura mayor que la columna.

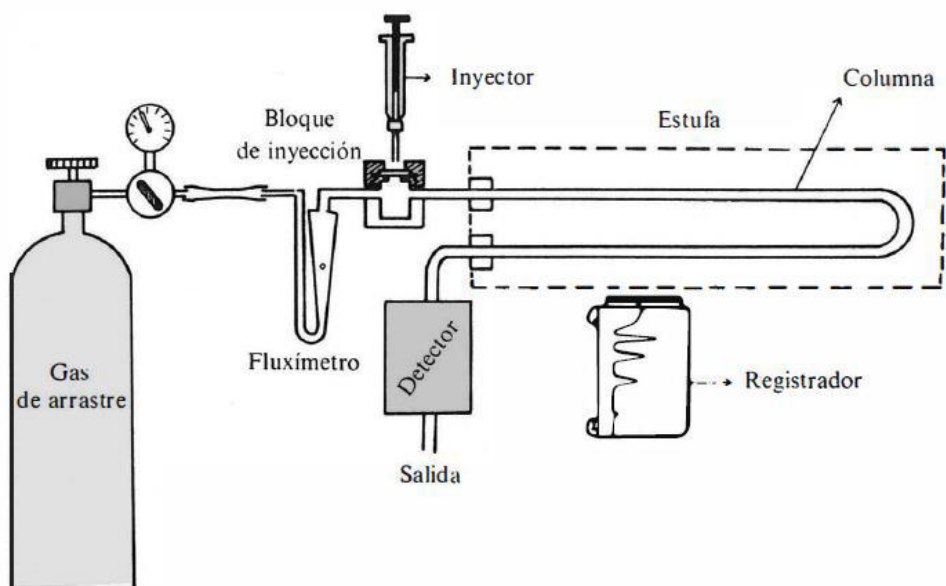
C. Columna de separación. Es el componente más importante de un GC, actualmente las columnas capilares son las más empleadas por ser las más eficientes, están hechas de acero inoxidable, vidrio, sílice fundida o teflón, tienen una longitud que va desde los 2 m hasta los 60m y son colocadas en el interior de un horno con temperatura controlada. En su interior las columnas están rellenas por la fase estacionaria constituida por un sólido granular recubierto por un líquido no volátil.

D. Detector. Para medir la composición química que trae consigo el gas portador que sale de la columna es necesario emplear un método que detecte cualquier componente diferente al gas de arrastre. Los detectores deben cumplir ciertas características como alta sensibilidad, buena estabilidad, temperatura desde 25°C a 400°C, no debe destruir la muestra entre otros. El detector de ionización (FID) es el más utilizado en GC. En este tipo de detectores el efluente de la columna se dirige hacia una pequeña flama de Hidrogeno-aire, pirolizando los compuestos orgánicos y produciendo iones y electrones, la función del detector es controlar la corriente producida por estos portadores de carga al llegar al colector. Los detectores de ionización por flama presentan una elevada sensibilidad y bajo ruido.

E. Sistema de registro. Es un accesorio que permite observar los resultados del análisis mediante la obtención automática de curvas como al que se muestran en la figura 5. El sistema de registro está conectado al detector de tal manera que recibe una señal en forma de corriente eléctrica que aumenta o disminuye cuando el sustrato pasa por el detector.

Figura 5

Esquema básico de un cromatógrafo de gases.



Nota: tomado de walton & Reyes (2005).

III. MÉTODO

3.1. Tipo de investigación.

El presente trabajo emplea el tipo de investigación básica, orientada a obtener más información de la composición química del líquen *Psiloparmelia denotata*.

3.2. Ámbito temporal y espacial.

La presente investigación fue realizada entre los meses febrero del 2017 y julio del 2019 en el distrito de Muquiyauyo, provincia de Jauja, región Junín y la ciudad de Lima. Para este trabajo se consideraron investigación a partir del año 1992 en adelante.

3.3. Variables.

Las variables identificadas en esta investigación, son los ácidos grasos.

3.4. Población y muestra.

3.4.1. Población

La población tomada en esta investigación, está conformada por la especie *psiloparmelia denotata*, la cuales crecen en los cerros del distrito de Muquiyauyo, de la provincia de Jauja, departamento de Junín.

3.4.2. Muestra

Se colectaron 10 piezas de líquenes (rupícolas), incluyendo a aquellos con Talos fijos sobre el sustrato (rocas) y de lóbulos hidratados. Se excluyeron aquellos líquenes cuyos lóbulos se encontraban con talos fuera del sustrato y con lóbulos y superficies deshidratados o dañados. Cada una de las piezas tenía una masa aproximada de 100 g.

3.4.2. *Muestreo*

El método empleado fue el muestreo por grupos o conglomerados debido a que los líquenes se encuentran naturalmente agrupados, mediante muestreo por conveniencia, según criterio del investigador (tamaño, color, etc.).

3.5. Instrumentos

3.5.1 *Equipos.*

- Balanza analítica.
- Campana extractora.
- Plancha de calentamiento.
- Cromatógrafo de gases

3.5.2 *Reactivos.*

- KOH
- NaSO₄
- CHCl₃
- MeOH
- HCl
- HClO₄
- Eter de petróleo
- Agua Ultra pura.
- Uso de patrones de Ácidos Grasos - FAME.

3.5.3 Materiales y equipos de protección personal.

- Soporte universal.
- Balón esmerilado.
- Fiolas.
- Agitador magnético.
- Matraces.
- Vasos de precipitado.
- Pipetas
- Termómetro

3.6. Procedimientos.

3.6.1. Procesamiento de la muestra

3.6.1.1 Toma de muestra. La especie *Psiloparmelia denotata* fue colectada en distrito de Muquiyauyo, provincia de Jauja, departamento de Junín entre los 3400 y 4200 msnm durante el mes de febrero del 2017, se colectaron 10 muestras que crecen en la superficie de las rocas. Las especies colectadas (rupícolas) se escogieron entre las que tenían mejor apariencia morfológica en los Talos (Textura, lóbulos en buen estado, buena adherencia al sustrato), se cortaron con una navaja y se guardaron en una bolsa de papel estraza.

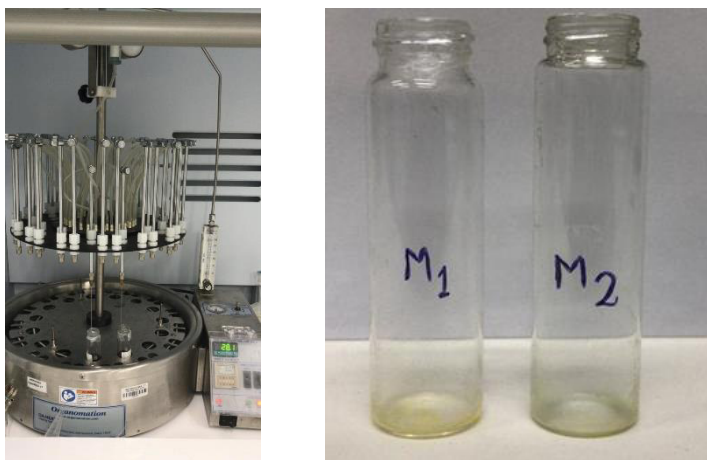
3.6.1.2 Tratamiento de la muestra. Los Talos de las 10 unidades de muestras de liquen fresco fueron limpiadas y secadas en una estufa a 40 °C durante de tres días, luego el material se mezcló y homogenizo. Para facilitar la impregnación de los solventes durante la extracción se procedió a romper la estructura celular para lo cual fue necesario pulverizar la muestra, ello se realizó en un mortero y se tamizó en una malla de 20 μm para luego ser almacenadas en frascos de vidrio estériles y de color ámbar.

3.6.1.3 Extracción de ácidos grasos En un balón de destilación se pesaron se pesaron 100 g de muestra del líquen *Psiloparmelia denotata* (Obtenida en el paso anterior) se dejó en reposo por 72 horas a temperatura de ambiente para luego recoger el concentrado. Seguidamente se volvió a añadir 250 mL de CHCl_3 -MeOH (1:1) empleado como solvente, repitiendo el proceso por tres veces. Finalmente se obtuvo un extracto total de 750mL el cual se llevó a concentración empleando un rotavapor buchi 110, obteniéndose 12.5 g de extracto metanólico.

3.6.1.4 Esterificación de ácidos grasos. Del extracto orgánico CHCl_3 -MeOH (1:1) se tomó 200 mg por duplicado y con cada una de ellas se realizó lo siguiente: se colocan los 200mg en un balón de destilación de 50 mL, se saponifican añadiendo 10 mL de una solución de KOH al 0,5 N, en baño de agua maría a 55°C, durante 20 minutos (Castro, 2004). Luego de la saponificación de los ácidos grasos se procedió a la neutralización mediante la adición de 5 mL de HCl diluido (1:1), y posterior extracción con 10 mL de éter de petróleo empleando una pera de decantación de 100 mL. Este extracto etéreo se lavó con 10 mL de agua mediante agitación en la misma pera de decantación, luego la solución etérea resultante se lavó con con sulfato de sodio anhidro, para finalmente realizar la concentración en atmósfera de N_2 . El extracto obtenido se re disolvió con 10 mL de HClO_4 al 5% en Metanol, luego se calentó por 5 minutos a 55°C para la liberación de los ésteres grasos, los cuales fueron extraídos con 10 mL de éter de petróleo y se secaron en atmósfera de nitrógeno. Los ésteres metílicos quedaron listos para el análisis de por GC.

Figura 6

Secado de la solución etérea en atmósfera de nitrógeno.



Nota: elaboración propia.

3.7. Análisis de datos.**3.7.1 Análisis de ácidos grasos GC-FID.**

El análisis de los ácidos grasos esterificados disueltos en éter de petróleo provenientes de *Psiloparmelia denotata*, fue realizado empleando un cromatógrafo de gases Shimadzu, modelo 2010, con columna de sílica fundida de 75mX0.18mmX0.14um a 140 °C de temperatura, con detector de ionización de flama (FID) y modo de inyección: Split a 6,25 mL/min, la temperatura del inyector fue de 260°C se empleó el Helio como gas de arrastre, con un tiempo de corrida de 45min y un volumen de inyección de 1μL. Los ácidos grasos esterificados fueron identificados, comparando sus tiempos de retención con los tiempos de retención del estándar FAME Mix (Fig 13) inyectado bajo las mismas condiciones que la muestra líquénica y detectados mediante FID. La Identificación y cuantificación de los ácidos grasos esterificados por GC-FID, fueron realizados empleando el Software GC Solution (SHIMADZU, versión 2.44.00), los resultados obtenidos se expresaron en mg AG por g de extracto esterificado según la siguiente formula:

$$C_{s\ AG} = \frac{A_{s\ Mta}}{A_{s\ Std}} \times \frac{W_{std}}{W_{mta}} \times \frac{1}{200}$$

El valor porcentual relativo de cada AG con respecto al total se determinó utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \ AG = \frac{C_{s\ AG}}{\Sigma C_{s\ AG}} \times 100$$

Donde:

Cs AG: es la concentración de AG en mg por gramo de extracto.

As Mta: Área de la muestra observada en el cromatograma.

As Std: Área del estándar (FAMEs MIX) observada en el cromatograma.

W std: Peso del estándar utilizado (FAMEs MIX)

W mta: Peso de la muestra utilizada

% AG: Porcentaje de ácido graso

Cs AG: concentración de ácido graso (mg/g)

Σ Cs AG: concentración total de ácidos grasos (mg/g).

Tabla 12*Condiciones instrumentales de cromatografía.***Condiciones instrumentales de CG-FID**

CG FID	Cromatógrafo de gases Shimadzu
Detector	FID
Columna	75mX0.18mmX0.14um
Temperatura de columna	140°C
Temperatura del Inyector	260°C
Temperatura de detector	260°C
Gas portador	He
Flujo de He	20mL/sec
Volumen de inyección	1µL
Split	100:1

Nota: Elaboración propia.

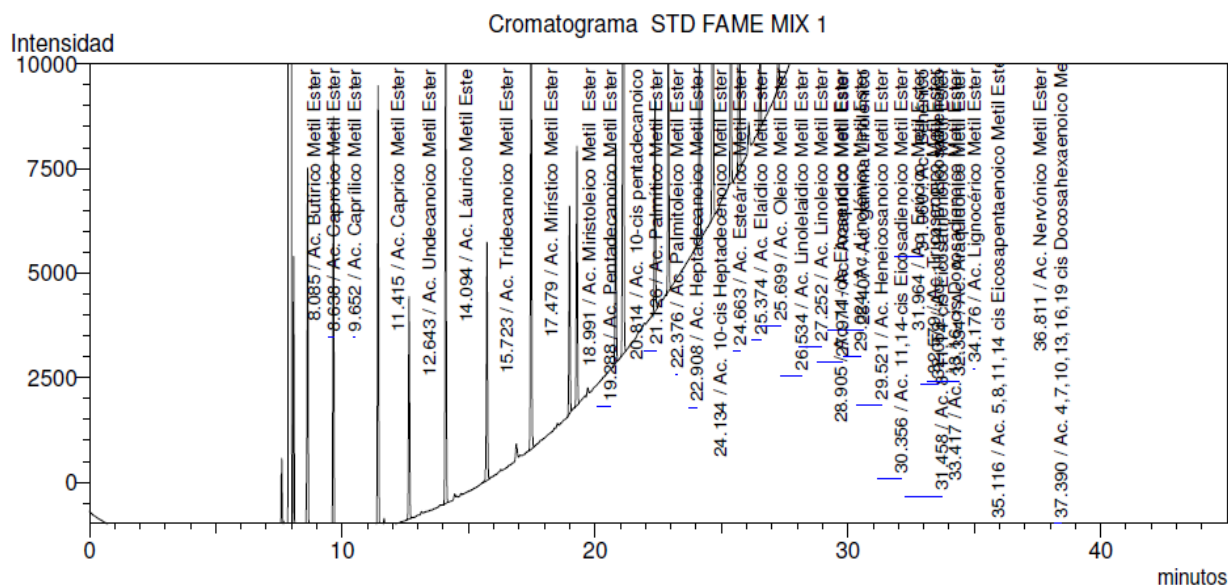
IV. RESULTADOS

4.1 Identificación y cuantificación de ácidos grasos.

La identificación y cuantificación de ácidos grasos de la especie de líquene en estudio se realizó por comparación de los tiempos de retención y las áreas de los cromatogramas de las muestras, con los cromatogramas del Estándar FAME Mix utilizado para este estudio y que fueron obtenidas a partir de las lecturas en un equipo GC-FID. Como resultado de estos ensayos se obtuvieron el cromatograma para los correspondientes estándares (Figura 8) y el cromatograma para los ácidos grasos de la muestra en estudio Figura 7 y 8. Los ácidos grasos identificados mediante GC se puede observar en la tabla 13.

Figura 7

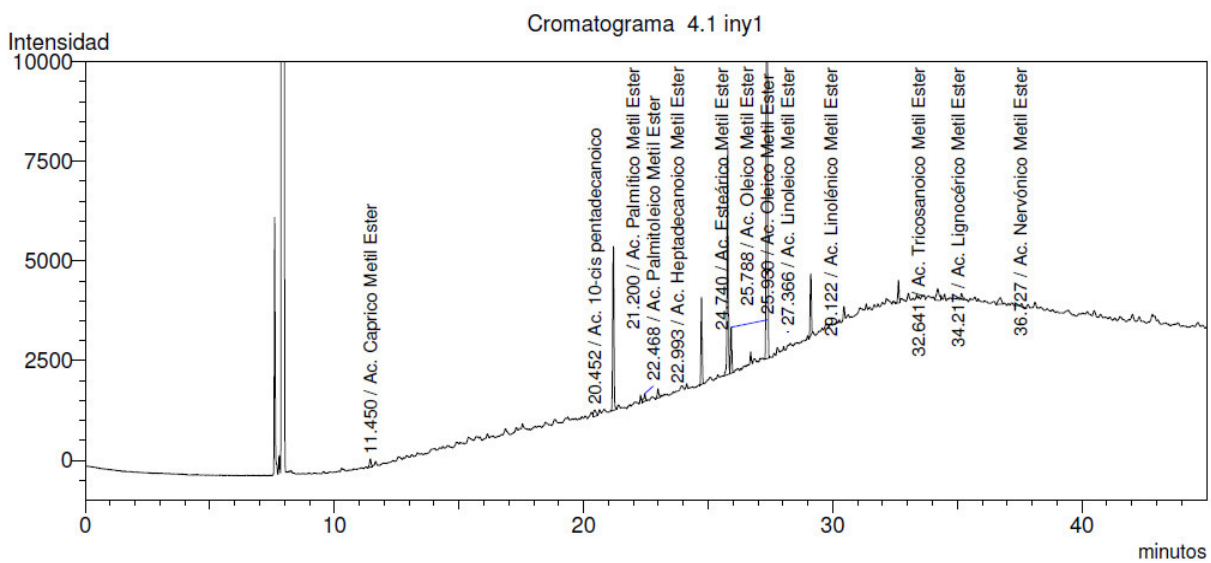
Cromatograma de los estándares FAME MIX



Nota: obtenido de cromatógrafo Shimadzu

Figura 8

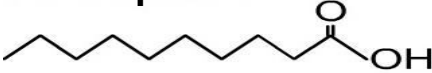
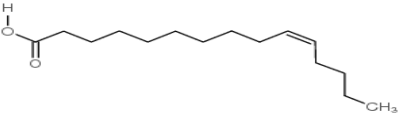
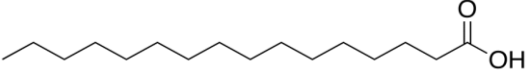
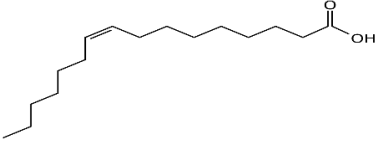

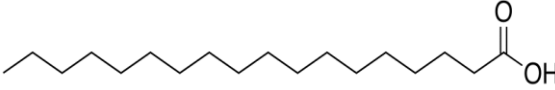
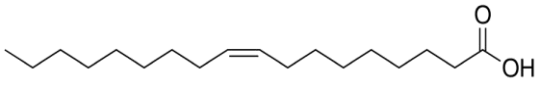
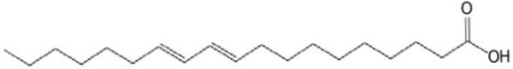
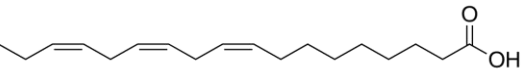
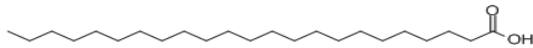
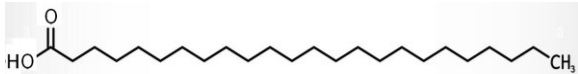
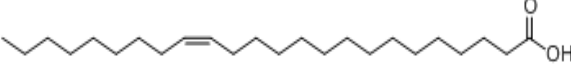
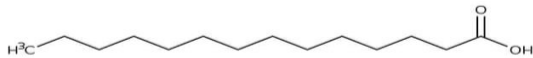
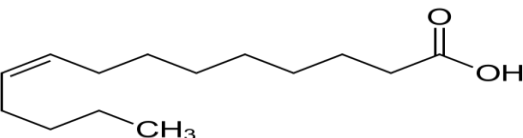
Cromatograma de análisis de ácidos grasos en Psiloparmelia denotata.



Nota: obtenido de cromatógrafo Shimadzu

Tabla 13

Contenido de ácidos grasos en el líquen *Psiloparmelia denotata*.

Ácido Graso	Estructura Química	Cantidad relativa %
Ác. cáprico		0.15
Ác. 10 – Cis pentadecanoico		0.47
Ác. palmítico		4.63
Ác. palmitoleico		0.44
Ác. heptadecanoico		0.35
Ác. esteárico		2.22
Ác. Oleico		8.34
Ác. linoleico		66.17
Ác. linolénico		10.75
Ác. tricosanoico		0.60
Ác. lignocérico		0.58
Ác. nervónico		5.30
Ác. Mirístico		0.80
Ác. Miristoleico		0.46

Nota: elaboración propia

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Para la extracción de ácidos grasos se eligió una mezcla de CHCl_3 -MeOH (1:1) como solventes debido a que permiten una mejor extracción (Vu - Catheline et al., 2016), los ácidos grasos generalmente se encuentran enlazados a polisacáridos y proteínas formando la estructura de diversas membranas biológicas (Rodríguez, 1987), por lo que la proporción de metanol en el sistema de solvente CHCl_3 -MeOH (1:1) penetra en la estructura biológica y rompe los enlaces de asociaciones complejas liberando los ácidos grasos, los cuales son disueltos en la mezcla de solventes empleados. Además, la baja polaridad de la mezcla de solventes CHCl_3 -MeOH (1:1) disminuye la solubilidad de los metabolitos polares presentes en la muestra liquénica, reduciendo la cantidad de metabolitos indeseados en el extracto liquénico.

También, mediante la saponificación con Hidróxido de potasio (KOH) y las condiciones suaves de temperatura (55°C), se evitó la degradación de ácidos grasos lábiles y la formación de compuestos no deseados que pudiesen presentar interferencias durante el análisis por cromatografía de gases (Gutnikov, 1995). Mediante la conversión de los ácidos grasos en esteres metílicos se consiguió disminuir el punto de volatilización, lo cual permitió su lectura mediante cromatografía CG. El empleo de BF_4 en la conversión suele formar interferencias, especialmente cuando la muestra contiene ácidos grasos inusuales o AG de cadena corta (Shantha y Napolitano, 1992), por lo que en su lugar se empleó el HClO_4 empleado por Castro (2020).

La cromatografía de gases permitió un análisis completo y detallado de Ácidos Grasos, se eligió esta técnica por ser ampliamente utilizada, sensible, de alta resolución capaz de detectar concentraciones de ppb (Vu - Catheline et al., 2016). el detector de Ionización de flama (GC-FID) fue elegido por la respuesta que brindan ante todos los compuestos orgánicos y la columna

de sílice fundida empleada permitido reducir la reactividad frente a los compuestos del analito mientras que sus dimensiones favorecen considerablemente la resolución de las señales esperadas (Shantha y Napolitano, 1992). El empleo del estándar FAME MIXs escogido contenía 37 ácidos grasos esterificados (como se indica en la figura 13 y Anexo G), lo cual permitió comparar los tiempos de retención e identificar los Ácidos grasos presentes, esto está respaldado por investigaciones realizadas en diversas especies de líquenes (Vu - Catheline et al., 2016).

Los perfiles de los ácidos grasos identificados en esta especie de líquenes eran los esperados para los AG principales, es decir, un elevado contenido de C18:2 (n-6), C18:3 (n-3) y C18:1 (n-9) con cantidades relativas de 66.17, 10.75 y 8.34 % respectivamente. Los resultados de nuestra investigación están respaldados por lo reportado en otras investigaciones de ácidos grasos en líquenes. VU – Catheline et al. (2016), al analizar el perfil de ácidos grasos para 15 especies de líquenes encontró que catorce de estas especies contenían mayoritariamente ácido linoleico (C18:2 n-6) en cantidades relativas mayores que van desde el 17 al 52% siendo la especie *Stereocaulon alpinum* la que contenía un 52.22%, en el mismo estudio se reportó que diez especies líquénicas contenían ácido oleico (C18:1) en cantidades relativas de entre 15 y 30% la cantidad más abundante de este ácido se encontró en *Stereocaulon vesuvianum* con 28.44%, también se reporta que en tres de estas especies se identificó C18:3 (n-3) con cantidades relativas de 10.13 (*Stereocaulon pileatum*), 9.9 (*Lichina pygmaea*) y 17.60% (*Collema cristatum var. marginale*). Hanus – Temina et al. (2008) reportó C18:3 (n-3) en cantidades relativas de 35.87, 30.19 y 29.70% para las especies *Crataegus sinaicus*, *Pinus halepensis* y *Quercus calliprinos* respectivamente, el estudio también indica que la cantidad de (C18:1) para estas especies esta entre 6.98 y 8.14%, mientras que el ácido graso (C18:2 n-6) se encuentra entre 5.94 y 8.57% para las mismas especies. Dembitsky - Rezanka et al. (1992), reportó C18:3 (n-3) en cantidades relativas de 13.76 % para la

especie *Evernia mesomorpha*, 21.32% en *Evernia prunastri* y 14.4% en el líquen *Lecanoraceae aspicilla*, así mismo reporto el hallazgo de los ácidos oleico y linoleico en cantidades similares a las encontradas en esta investigación.

Con respecto a la proporción de ácidos grasos insaturados y ácidos grasos saturados, estos muestran la proporción (9:1), esta relación es la más alta reportada y guarda relación respecto a que en diversas especies, las cantidades relativas de ácidos grasos insaturados supera ampliamente a las cantidades de los ácidos grasos saturados. Hanus –Temina et al. (2008) quien realizó el estudio del líquen *Ramalina lacera* que crecían en sustratos diferentes (*Crataegus sinaicus*, *pinus halepensis* y *quercus calliprinos*), encontró que los ácidos grasos insaturados triplicaban en cantidad a los ácidos grasos saturados. Castro (2021), reporto que en el líquen *Everniopsis trulla* los ácidos grasos insaturados y los saturados representan cantidades semejantes. La variación de la relación de AG insaturados y saturados en líquenes, podría estar relacionado con las condiciones ambientales del hábitat (temperatura, altitud, estación del año, radiación, etc.) donde estos se desarrollan. Arante – Iacomini et al. (2005), indica que los líquenes tienden a incrementar la producción de ácidos grasos insaturados cuando se encuentran en lugares de baja temperatura o en épocas lluviosas. En la bibliografía no existe estudios que indiquen si la síntesis de ácidos grasos es realizada por el fotobionte o micobionte de la asociación simbiótica, un estudio en este campo podría dar luces acerca de la variación en la relación de ácidos grasos insaturados y saturados.

VI. CONCLUSIONES

La técnica de extracción con la mezcla de solventes de CH₃Cl: MeOH (1:1), permitió extraer los principales ácidos grasos reportados en la literatura, lo cual demuestra su efectividad.

Las condiciones experimentales empleadas permitieron el análisis de ácidos grasos como metilésteres, demostrando la presencia de 14 ácidos grasos mediante GC-FID, después de comparar los tiempos de retención obtenidos con los tiempos de retención de los estándares FAME MIX.

En base a los resultados obtenidos, y luego de realizar la comparación con otras investigaciones de análisis de ácidos grasos en líquenes podemos mencionar que los ácidos grasos insaturados se encuentran en niveles largamente superiores a los ácidos grasos saturados, debido a factores ecológicos a los cuales los líquenes se encuentran expuestos, como altitud, clima, temperatura, entre otros.

VII. RECOMENDACIONES

Realizar un estudio metabolómico de este líquen, permitiendo un mayor conocimiento de los metabolitos que componen su estructura.

Evaluar si el líquen *Psiloparmelia denotata* puede considerarse como una potencial fuente nutricional. Previo a su estudio de toxicidad.

Realizar investigaciones respecto de la actividad antimicrobiana del extracto de líquen *Psiloparmelia denotata*.

VIII. REFERENCIAS

- Aires, D., Capdevila, N. y Segundo, M. (2005). Ácidos grasos esenciales. *Ofarm*, 24(4), 96-102.
<https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-acidos-grasos-esenciales-13073447>
- Arantes – Reis, R., Iacomini, M., James - Gorin, P., Mera de Sousa, L., Grube, M., Cortes - Cordeiro, L. y Lanzi - Sasaki, G. (2005). Fatty acid composition of the tropical lichen *Teloschistes flavicans* and its cultivated symbionts. *FEMS Microbiology Letters*, 247, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.04.023>.
- Boustie, J. y Grube, M (2005). Lichens a promising source of bioactive secondary metabolites. *Plant Genetic Resources*, 3(2), 273–287. <https://doi.org/10.1079/PGR200572>
- Cabezas – Zavala, C., Hernández - Torres, B., y Vargas – Zarate, M. (2016). Aceites y grasas: efectos en la salud y regulación mundial. *Rev. Fac. Med*, 64(4), 761-768.
<http://dx.doi.org/10.15446/revfacmed.v64n4.53684>.
- Calla, E. (2018). *Estudio químico del extracto metanólico del liquen stereocaulon glareosum (sav.) h. magn.* [Tesis de Post Grado, Pontificia Universidad Católica del Perú]. Repositorio Institucional PUCP. <https://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/handle/20.500.12404/12497>
- Candan, M., Yılmaz, M., Tay, T., Erdem, M., y Özdemir – Türk, A. (2007). Antimicrobial Activity of Extracts of the Lichen *Parmelia sulcate* and its Salazinic Acid Constituent. *Zeitschrift für Naturforsch C*. 62, 619-621. <https://doi.org/10.1515/znc-2007-7-827>.
- Carballal, R., Casares - Porcel, M., Gutiérrez. L., y García - Rowe, J. (2014). *Introducción a los líquenes*. Proyecto Andalucía., 157 -158.
<https://www.researchgate.net/publication/259638914>

- Carrero, C., Oróstegui, M., Ruiz – Escorcía, L., y Aldana, E. (2018). Papel de las grasas esenciales en los procesos inflamatorios asociados a la artritis reumatoide. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 37(3), 306-313.
https://www.revistaavft.com/images/revistas/2018/avft_3_2018/20_papel_grasas_esenciales.pdf.
- Carrillo - Fernandez, L., Dalmau - Serra, J., Martínez – Álvarez, J., Solà - Alberich, R., y Pérez - Jimenez, F., (2011). Grasas de la dieta y salud cardiovascular. *Nutr. clín. diet. Hosp*, 31(2), 6-5. <https://doi.org/10.1016/j.aprim.2010.12.003>.
- Castro - González, M. (2002). Ácidos grasos omega 3: beneficios y fuentes. *Interciencia*, 27(3), 128-136. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33906605>.
- Castro - Mandujano, O. (2010). Aislamiento del ácido úsnico de *Flavoparmelia caperata* y su determinación cuantitativa por espectroscopía uv, en diez líquenes. *Rev Soc Quím Perú*, 76 (4), pp. 389-399. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v76n4/a09v76n4.pdf>.
- Castro - Mandujano, O., y Álvarez - Bautista, J. (2021). Análisis de ácidos grasos y esteroides del líquen everniopsis trulla. *Bolivian Journal of chemistry*, 38(3), 104-112.
<https://doi.org/10.34098/2078-3949.38.3>.
- Castro, O. (2004). *Estudio fitoquímico del líquen Psiloparmelia distincta (Nyl.) Hale*. [Tesis de Post Grado, Pontificia Universidad Católica del Perú]. Repositorio Institucional PUCP.
<https://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/handle/20.500.12404/93>
- Castro, O. (2020). *Estudio fitoquímico del líquen Everniopsis trulla y preparación de una crema protectora solar a base de quitosano con el extracto del líquen*. [Tesis de Post Grado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. Repositorio Institucional UNMSM Perú.
<https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/16743>

- Coutiño, B. y Montañez, A. (2000). Los Líquenes. *Ciencia*, 59, 64-65.
<http://www.revistas.unam.mx/index.php/cns/article/view/11730/11053>.
- Dembitsky, V. (1992). Lipids of lichens. *Lipid Res*, 31(4), 373-397. [https://doi.org/10.1016/0163-7827\(92\)90002-Z](https://doi.org/10.1016/0163-7827(92)90002-Z).
- Dembitsky, V., Rezanka, T. y Bychek, I. (1992). Fatty acids and phospholipids from lichens of the order lecanorales. *Phytochemistry*, 31(3), 851-853. [http://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)80027-C](http://doi.org/10.1016/0031-9422(92)80027-C).
- Dembitsky, V., Rezanka, T. y Bychek, I. (1992). Lipid composition of some lichens. *Phytochemistry*, 31(5), 1617-1620. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)83117-H](https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)83117-H)
- Elix, J. y Nash, T. (1992). A Synopsis of the Lichen Genus *Psiloparmelia* (Ascomycotina, Parmeliaceae). *The briologist*, 95(4), 377-391. <https://doi.org/10.2307/3243562>
- FAO. (2012). *Grasas y ácidos grasos en nutrición humana*. FAO.
<https://www.fao.org/3/i1953s/i1953s.pdf>.
- Fernández, C. (2017). *Estudio con criterios filogenéticos del potencial neuroprotector de líquenes parmeliáceos: mecanismos de acción de sus metabolitos secundarios*. [Tesis de Post Grado, Universidad Complutense de Madrid]. Repositorio Institucional Universidad Complutense de Madrid. <https://eprints.ucm.es/id/eprint/46016/>
- Freidin, B. (2016). Alimentación y riesgos para la salud: visiones sobre la alimentación saludable y prácticas alimentarias de mujeres y varones de clase media en el Área Metropolitana de Buenos Aires. *Salud colectiva*, 12(4), 519-536. <https://doi.org/10.18294/sc.2016.913>.
- Gutnicov, G. (1995). Fatty acid profiles of lipid samples. *Journal of Chromatography B*, 671, 71-89. [https://doi.org/10.1016/0378-4347\(95\)00116-Z](https://doi.org/10.1016/0378-4347(95)00116-Z)

- Hanus, L., Temina, M. y Dembitsky, V. (2008). Biodiversity of the chemical constituents in the epiphytic lichenized ascomycete *ramalina lacera* grown on difference substrates *crataegus sinaicus*, *pinus halepensis*, and *quercus calliprinos*. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 152(2), 203–208. <https://doi.org/10.5507/bp.2008.031>.
- Honda, N. y Vilegas, W. (1999). A química dos liquens. *Química Nova*, 21(6), 110-125. <https://doi.org/10.1590/S0100-40421999000100018>
<https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13073447>
- Huneck, S. (1999). The Significance of Lichens and Their Metabolites. *Natur wissenschaften review article*, 86, 559–570. <https://doi.org/10.1007/s001140050676>.
- Huneck, S. y Yoshimura I. (1996). *Identification of Lichen Substances*. Springer-Verlag Berlin <https://doi.org/10.1007/978-3-642-85243-5>
- Illana – Esteban, C. (2009). Líquenes comestibles. *Bol. Soc. Micol. Madrid*, 33, 273-282. <https://core.ac.uk/reader/58908329>
- Illana - Esteban, C. (2012). Líquenes usados en Medicina Tradicional. *Bol. Soc. Micol. Madrid*, 36, 163-174. Recuperado de <https://core.ac.uk/download/pdf/58909477.pdf>.
- Illana – Esteban, C. (2016). Líquenes usados en perfumería. *Bol. Soc. Micol. Madrid*, 40, 217-223. https://www.researchgate.net/publication/311101953_LIQUENES_USADOS_EN_PERFUMERIA
- Lara, A. (2020). *Aplicaciones de los líquenes para el ser humano*. [Trabajo de fin de Grado, Universidad Complutense de Madrid]. Repositorio Institucional Universidad Complutense de Madrid. España. <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/LARA%20CARRIO%20AYUSO.pdf>

- Liberatore, S., Calvelo, S. y Passo, A (2012). Biodiversidad Liqueenes de Argentina. Consejo Federal de Inversiones.
- Mohd Y. (2020). *Productos derivados de líquenes: extracción y aplicaciones*. Wiley.
- Müller, K. (2001). Pharmaceutically relevant metabolites from lichens. *Appl Microbiol Biotechnol* (2001) 56:9–16. <https://doi.org/10.1007/s002530100684>.
- Palacios - Moreno J., Rubio, C., Quilhot, W., Cavieres, M., De la Peña, E., Quiñones, N., Díaz, H., Carrión, F., Henríquez - Roldan, C., y Weinstein - Oppenheimer, Epanorin, a lichen secondary metabolite, inhibits proliferation of MCF- 7 breast cáncer cells *C. Biol Res*, 52(55), 1-11. <https://doi.org/10.1186/s40659-019-0261-4>
- Perico, L. (2018). *Antioxidantes de los líquenes *Stereocaulon strictum* (Stereocaulaceae) y *Lobariella pallida* (Lobariaceae) y determinación de su potencial citotoxicidad*. [Tesis de Grado, Universidad Nacional de Colombia]. Repositorio institucional de la Universidad Nacional de Colombia. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/20131>
- Ramos - Chavez, J., y Condor - Cuyubamba, E. (2018). Aislamiento del ácido lecanórico y ácido úsnico del liquen *umbilicaria calvescens* Nyl. *Rev Soc Quím Perú*. 84(2). <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v84n2/a04v84n2.pdf>
- Ramos, J. (2018). *Estudio químico del liquen *Umbilicaria calvescens* Nyl*. [Tesis de pre Grado, Universidad Nacional de Ingeniería]. Repositorio institucional de la UNI. <http://cybertesis.uni.edu.pe/handle/uni/14754>
- Rodriguez, J. (1987). Manual de prácticas de Bioquímica. Monterrey N.L.
- Shantha, N. y Napolitano, G (1992). Gas chromatography of fatty acids. *Journal of Chromatography A*, 624, 37-51. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(92\)85673-H](https://doi.org/10.1016/0021-9673(92)85673-H)

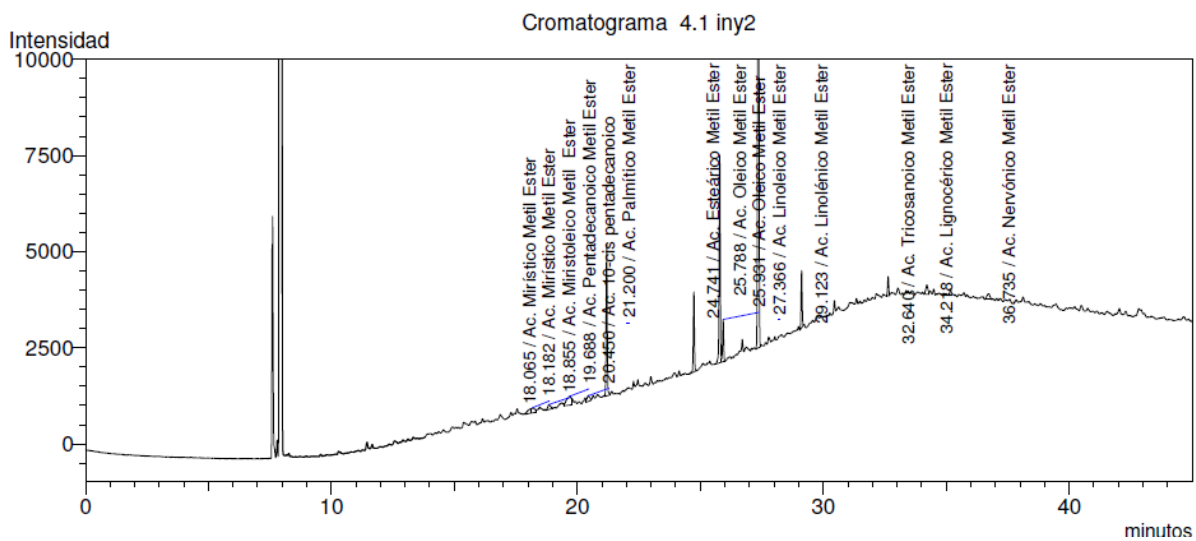
- Skoog, D., Holler, F. y Crouch, S. (2019). *Principios de análisis instrumental*. (7ma Ed.) CENGAGE.
- Solberg, Y. (1987). Constituents of the lichens *cestraria delisei*, *lobaria pulmonaria*, *stereocaulon tomentosum* and *usnea hirta*. *Journal. Hattori Bot. Lab*, 63, 357-366. https://www.jstage.jst.go.jp/article/jhbl/63/0/63_357/_pdf
- Vaillant - Flores, D. (2014). Los líquenes, una alternativa para el control de fitopatógenos. *Fitosanidad*, 18(1), 51-57. <https://www.redalyc.org/pdf/2091/209131412009.pdf>
- Vasudeo, V y Lew, P. (2012). Biopharmaceutical potential of lichens. *Pharmaceutical Biology*, 50(6), 778–798. <https://doi.org/10.3109/13880209.2011.633089>
- Velasco, N. (2020). *Aislamiento y elucidación estructural de los metabolitos bioactivos del liquen Usnea aurantiacoatra y su actividad antibacteriana*. [Tesis de pre Grado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. Repositorio institucional de la UNMSM. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/16031>
- Vu, T., Catheline, D., Delmail, D., Boustie, J., Legrand, P. & Lohézic-Le Dévéhat, F. (2016). Gas chromatographic analysis to compare the fatty acid composition of fifteen lichen species, with a focus on *Stereocaulon*. *The Lichenologist*, 48(4), 323–337. <https://doi.org/10.1017/S0024282916000141>.
- Walton, H. y Reyes, J. (1983). *Análisis instrumental moderno*. Reverté.
- Yamamoto, Y. y Watanabe, A. (2005). Fatty Acid Composition of Lichens and their phico - and Mycobionts. *J. Gen. Appl. Microbiol*, 20, 83-86. <https://doi.org/10.2323/jgam.20.83>
- Zelada, B. y Pastor de Abram, A. (2012). Estudio Fitoquímico de *Úsnea durietzii* MOT (USNEACEAE). *Rev Soc Quím Perú*, 78 (4), 264-276. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v78n4/a06v78n4.pdf>.

IX ANEXOS

Anexo A

Figura 9

Cromatograma 2



Anexo B

Tabla 14

Tabla de ácidos grasos en la muestra 2

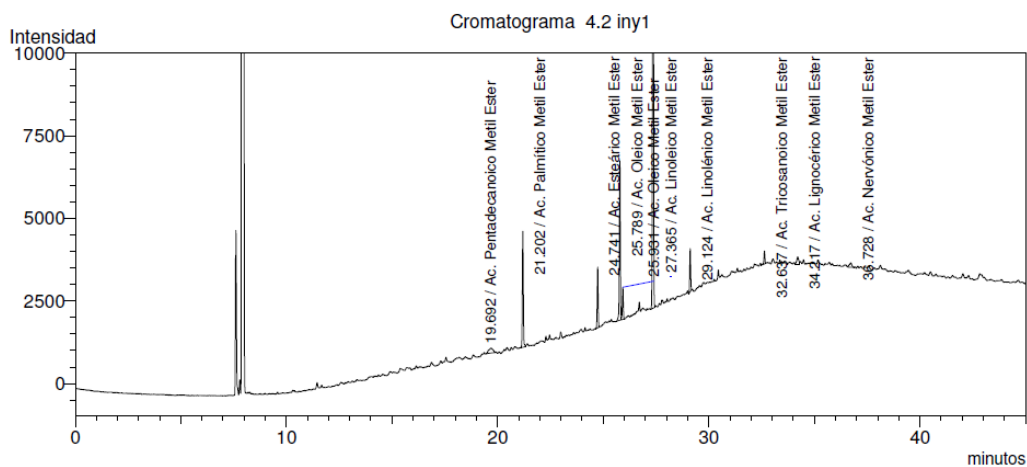
Nombre del ácido graso	Cantidad relativa en el liquen %
Ác. mirístico	0,87
Ác. miristoleico	0,46
Ác. pentadecanoico	1,15
Ác. 10 – Cis pentadecanoico	0,50
Ác. Palmítico	4,63
Ác. esteárico	2. 26
Ác. Oleico	8, 21
Ác. linoleico	65,00
Ác. linolénico	10,70
Ác. tricosanoico	0,49
Ác. lignocérico	0, 44
Ác. nervónico	5, 29

Nota: elaboración propia

Anexo C

Figura 10

Cromatograma 3



Anexo D

Tabla 15

Contenido de ácidos grasos en la muestra 3

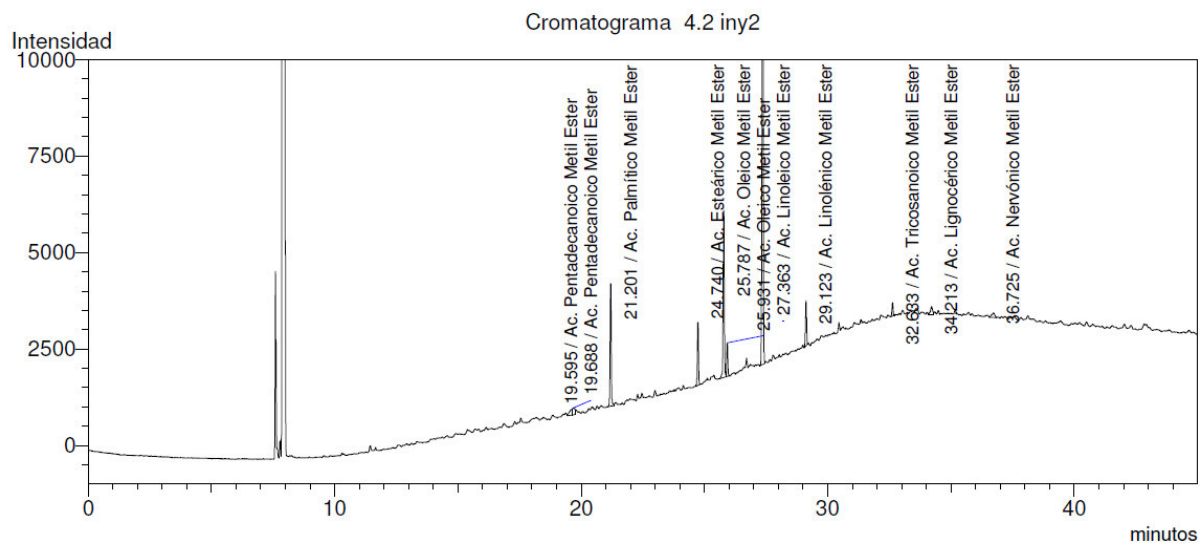
Nombre del ácido graso	Cantidad relativa en el liquen %
Ác. pentadecanoico	0,83
Ác. Palmítico	4,82
Ác. esteárico	2,29
Ác. Oleico	8,47
Ác. linoleico	67,01
Ác. linolénico	10,90
Ác. tricosanoico	0,44
Ác. lignocérico	0,48
Ác. nervónico	4,76

Nota: Elaboración propia

Anexo E

Figura 11

Cromatograma 4



Anexo F**Tabla 16***Contenido de ácidos grasos en la muestra 4.*

Nombre del ácido graso	Cantidad relativa en el líquen %
Ác. pentadecanoico	1,11
Ác. Palmítico	4,85
Ác. esteárico	2,22
Ác. Oleico	8,38
Ác. linoleico	66,60
Ác. linolénico	10,88
Ác. tricosanoico	0,43
Ác. lignocérico	0,45
Ác. nervónico	5,08

Nota: elaboración propia

Anexo H

Figura 13

Certificado de composición del estándar FAME MIX.- Parte II

