

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Actividad antioxidante *in vitro* del extracto
hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum
tuberosum* Ruíz & Pavón “mashua negra” de cuatro
zonas productoras de la región Ayacucho, 2017.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA

PRESENTADO POR:
Bach. VÍLCHEZ PILLACA, Paulina

AYACUCHO - PERÚ

2018

Dedico este trabajo a Dios,
por haberme dado la vida y
permitirme el haber llegado
a este momento tan
importante de mi vida.

A mi madre por su apoyo
incondicional. Mis hermanas
que fueron mis guías a lo
largo de mi vida.

En especial para mi esposo
que me apoyo
incondicionalmente.

AGRADECIMIENTOS

A mi *alma mater* la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por permitirme realizar y culminar mi carrera.

A la Facultad de Ciencias de la Salud, y en especial a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica y a los docentes de nuestra grandiosa y prestigiosa casa superior por habernos inculcado conocimientos y valores en el transcurso de nuestra formación profesional.

A mi asesor Dr. Emilio Ramírez Roca, por su colaboración y apoyo profesional.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURA	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	viii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes de estudio	3
2.2. <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruíz & Pavón	5
2.3. Radicales libres	6
2.4. Estrés oxidativo	7
2.5. Daño oxidativo a biomoléculas	8
2.6. Antioxidantes	11
III. MATERIALES Y MÉTODOS	13
3.1. Lugar de ejecución	13
3.2. Población y muestra	13
3.2.1. Población	13
3.2.2. Muestra	13
3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos	14
3.3.1. Procedimiento para la recolección de muestra	14
3.3.2. Secado, molienda y tamizaje.	14
3.3.3. Preparación del extracto hidroalcohólico	14
3.3.4. Identificación fitoquímica	14
3.3.5. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos	15
3.3.6. Determinación del contenido de Fenoles totales	15
3.3.7. Determinación de la actividad antioxidante	15
3.4. Diseño experimental	17
3.5. Análisis estadístico	18
IV. RESULTADOS	19
V. DISCUSIÓN	27
VI. CONCLUSIONES	33
VII. RECOMENDACIONES	35
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
IX. ANEXOS	41

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruíz & Pavón “mashua negra” del centro poblado de Anchacchuasi. Ayacucho 2018	21
Tabla 2. Metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruíz & Pavón “mashua negra” del centro poblado de Corazón de Ñaupás. Ayacucho 2018	22
Tabla 3. Metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruíz & Pavón “mashua negra” del distrito de Tambo. Ayacucho 2018	23
Tabla 4. Metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruíz & Pavón “mashua negra” del distrito de Anco. Ayacucho 2018	24
Tabla 5. Parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruíz & Pavón “mashua negra” de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho. Ayacucho, 2018	25
Tabla 6. Contenido de fenoles totales del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruíz & Pavón “mashua negra” de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho. Ayacucho, 2018	26

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Actividad antioxidante <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruíz & Pavón “mashua negra” de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho. Ayacucho 2018.	27
Figura 2. Concentración de inhibición del radical libre DPPH del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruíz & Pavón “mashua negra”. Ayacucho 2018	28

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Certificado de descripción taxonómica de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruíz & Pavón “mashua negra”. Ayacucho, 2018	43
Anexo 2. Flujograma de procedimientos del extracto hidroalcohólico de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruíz & Pavón “mashua negra”. Ayacucho, 2018.	44
Anexo 3. Métodos de análisis fisicoquímico del extracto hidroalcohólico de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruíz & Pavón “mashua negra”. Ayacucho, 2018	45
Anexo 4. Resultados de la identificación fitoquímica de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruíz & Pavón “mashua negra”. Ayacucho, 2018	46
Anexo 5. Procedimiento de la obtención del extracto hidroalcohólico de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruíz & Pavón “mashua negra”. Ayacucho 2018	47
Anexo 6. Determinación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruíz & Pavón “mashua negra”. Ayacucho 2018	48
Anexo 7. Análisis de varianza de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruíz & Pavón “mashua negra”. Ayacucho 2018	49
Anexo 8. Comparaciones múltiples de la prueba de Duncan de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruíz & Pavón “mashua negra”. Ayacucho 2018. Ayacucho 2018	50
Anexo 9. Comparaciones múltiples de la prueba de Duncan de la CI50 del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruíz & Pavón “mashua negra”. Ayacucho 2018	51
Anexo 10. Matriz de consistencia	52

RESUMEN

Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de un sustrato oxidable, actuando como donador de electrones (agente reductor). El objetivo fue determinar la actividad antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra” de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho, ejecutado en los laboratorios de Farmacia y Bioquímica durante los meses de Enero a Mayo del 2018. El tipo de investigación es básica experimental. Los tubérculos se recolectaron del Centro poblado de Anchacchuasi, Centro poblado de Corazón de Ñaupas, distrito de Tambo, distrito de Anco. Para la determinación de la actividad antioxidante se utilizó el método del consumo de radical DPPH por las muestras, mediante la disminución de la absorbancia de las soluciones a diferentes concentraciones. Se dividieron ocho grupos con tres repeticiones cada una. Grupo I: blanco: 0.3 ml muestra + 2.7 mL Etanol 50°, Grupo II: reacción: 0.3 mL muestra + 2.7 mL DPPH, Grupo III, IV, V: extracto hidroalcohólico de 150, 200, y 250 µg/mL respectivamente, Grupo VI, VII y VIII: trolox: 150, 200, y 250 µg/mL respectivamente. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico fueron taninos, aminos, flavonoides, lactonas, saponinas, glicósidos cardiotónicos, antocianinas, quinonas, esteroides. El pH: Anco 6; Anchacchuasi 6.2; Vinchos 6.3; Tambo 6. Soluble en agua, etanol, metanol e insoluble en cloroformo. El contenido de fenoles totales en Tambo, Anco, Anchacchuasi, Vinchos fueron: 29.45; 7.56; 12.78; 10.52 mg Eq AG/gr ext. respectivamente. La actividad antioxidante en Tambo, Anco, Anchacchuasi, Vinchos (92.5; 91.8; 90.8; 89.6 µg/mL respectivamente) estas difieren estadísticamente del Trolox (96.0 µg/mL) ($p < 0.05$). Se concluye que el extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón presenta actividad antioxidante.

Palabras clave: *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón, actividad antioxidante.

I. INTRODUCCIÓN

El envejecimiento biológico, sus causas y tratamientos, han sido objeto de interés desde que la especie humana fue consciente de lo perecedero de su existencia y de su inevitable limitación en el tiempo. No se conoce en forma cierta el mecanismo íntimo por el cual se envejece; aunque se han delimitado mecanismos y factores que influyen en dicho proceso vital.¹

El ñu es un cultivo andino subutilizado con potencialidades para su uso en la alimentación y en la industria farmacéutica debido a su capacidad antioxidante y la presencia de glucosinolatos. Sin embargo, por su bajo consumo estaría afrontando posibles problemas de pérdida de variabilidad.²

Sus tubérculos presentan altos contenidos de metabolitos primarios y secundarios que les confiere propiedades antibióticas, antioxidantes insecticidas, nematocidas, anticancerígenas y diuréticas.³

Todos los seres vivos que utilizan el oxígeno para obtener energía, liberan radicales libres, lo cual es incompatible con la vida a menos que existan mecanismos celulares de defensa que los neutralice. A estas defensas se las denomina Antioxidantes. Los niveles bajos de los mismos, o la inhibición de las enzimas antioxidantes causan estrés oxidativo y pueden dañar o matar las células.¹

Este trabajo se orienta a determinar, *in vitro*, la actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de los tubérculos de la “mashua negra”, para dar sustento científico a las supuestas bondades terapéuticas atribuidas popularmente.

Por tal motivo se planteó el presente trabajo de investigación teniendo en cuenta los siguientes objetivos:

Objetivo general:

Determinar la actividad antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra” de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho.

Objetivos específicos:

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra” de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho.
- Evaluar los parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra” de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho.
- Determinar la cuantificación de fenoles totales del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra” de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho.
- Evaluar la actividad antioxidante de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra” de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de estudio

Cutimbo y col.⁴, realizaron un estudio: Evaluación de la eficacia de antioxidantes de Isaño (*Tropaeolum tuberosum Ruiz & Pavón*) en la oxidación de aceite de soya. Se cuantificó los compuestos fenólicos y capacidad antioxidantes del extracto antioxidante de isaño. Luego se evaluó la eficacia del extractos antioxidante de Isaño añadiendo concentraciones de compuestos fenólicos a 100, 300 y 600 ppm en muestras de aceite, las muestras se almacenaron durante 15 días a 55°C, en las mismas condiciones se evaluó un antioxidante sintético (BHT) y una muestra sin antioxidante. Las muestras fueron analizadas a los 0, 7 y 15 días el índice de peróxido y la capacidad antioxidante en las muestras de aceite de soya. Los resultados mostraron mayor eficacia de los extractos antioxidantes de isaño a 100, 300 y 600 ppm en comparación al BHT y muestra sin antioxidante en la oxidación de aceite de soya. Presentando mayor efecto protector los genotipos ARB 5241 y ARV 5366 a concentración de 300 ppm.

Chirinos y col.⁵, realizaron un estudio: Propiedades antioxidantes de los extractos fenólicos de mashua (*Tropaeolum tuberosum*) contra el daño oxidativo utilizando ensayos biológicos in vitro. Los extractos purificados de mashua (PME) de cuatro genotipos diferentes de mashua de color se analizaron para la prevención del daño oxidativo. Se analizaron tres ensayos in vitro de daño oxidativo a estructuras biológicas ricas en ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), como LDL y eritrocitos: ensayo de TBARS inducido por AAPH y ensayo de dienos conjugados inducidos por Cu²⁺ para la oxidación de LDL y hemólisis oxidativa inducida por AAPH de eritrocitos. Además, se evaluó la capacidad antioxidante de ORAC, fenólicos totales (TP), flavonoides totales (TFA) y antocianinas totales (TA). En presencia de 5 µM de equivalentes de ácido gálico

(GAE), las inhibiciones de la oxidación de LDL para la PME variaron del 29.1% al 34.8% y del 51.8% al 58.1% cuando se realizaron los ensayos de TBARS y dienos conjugados, respectivamente. La PME inhibió la hemólisis de los eritrocitos dentro del rango 20.8-25.1%. Por lo tanto, los extractos fenólicos de mashua son capaces de captar radicales peroxilo, así como iones metálicos redox quelantes in vitro. ORAC y LDL protección (TBARS y dienos conjugados ensayos) mostraron buenas correlaciones con el TP y TFA, lo que sugiere que estos compuestos tienen una buena capacidad para proteger las moléculas de LDL en las condiciones empleadas. Por el contrario, la inhibición de la hemólisis no mostró ninguna correlación con los ensayos fenólicos evaluados (TP, TA, TFA) ni con ninguno de los ensayos de LDL oxidativa evaluados, lo que sugiere una acción específica de algunos compuestos no evaluados presentes en el PME. Los resultados de este estudio indican que los extractos de polifenoles de mashua mostraron buenas propiedades antioxidantes contra el daño oxidativo en estructuras biológicas ricas en AGPI. Las propiedades antioxidantes mostradas podrían aplicarse en el campo de la industria alimentaria o cosmética.

Chirinos y col.⁶, realizaron un estudio: Perfiles fenólicos de los tubérculos andinos mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón): Identificación por HPLC-DAD y evaluación de su actividad antioxidante. Se realizó cromatografía líquida de alto rendimiento cualitativa con detección de matriz de diodos (HPLC-DAD) para caracterizar compuestos fenólicos no antocianina en tres genotipos de mashua de diferentes colores. También se evaluó la contribución de la actividad antioxidante ORAC en los tubérculos relacionados con el tipo de compuestos fenólicos presentes. Los compuestos fenólicos se analizaron separándolos en cuatro fracciones principales: fracción I obtenida por medio de una partición líquido-líquido con acetato de etilo y fracciones II, III y IV obtenidas por elución en una columna Sephadex LH-20. La fracción I reveló la presencia de ácido gálico, galocatequina, procianidina B2 y epigalocatequina. Otros compuestos fenólicos tales como derivados de ácido hidroxicinámico e hidroxibenzoico, derivados de rutina y / o miricetina también estaban presentes en la fracción I. La fracción II estaba compuesta principalmente por epicatequina, hidroxicinámico y derivados de ácido hidroxibenzoico. La Fracción III presentó principalmente antocianinas para los tubérculos mashua de color púrpura y los derivados de rutina, ácido hidroxicinámico y ácido hidroxibenzoico para el genotipo de color amarillo. La fracción IV estaba compuesta de

proantocianidinas. La hidrólisis alcalina y ácida de las diferentes fracciones reveló la presencia de galocatequina, epicatequina, ácido p-cumárico, ácido o-cumárico, ácido cinámico, ácido protocatecúico, rutina y quercetina como los principales restos fenólicos presentes. Las fracciones de proanthocyanidin fueron los principales contribuyentes a la actividad antioxidante ORAC de los tubérculos mashua para dos de los tres genotipos (34.7-39.2%). Los resultados obtenidos en el presente estudio confirman que los tubérculos de mashua constituyen una fuente prometedora de compuestos fenólicos antioxidantes y que potencialmente podrían considerarse como un alimento funcional con efectos beneficiosos para la salud.

2.2. *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón “mashua negra”

2.2.1. Clasificación taxonómica *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón “mashua negra”

División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Sub clase	:	Rosidae
Orden	:	Brassicales
Familia	:	tropaeolaceae
Género	:	<i>Tropaeolum</i>
Especie	:	<i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruíz & Pavón
Nombre Vulgar	:	“mashua negra”.

Fuente: Constancia emitida por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

2.2.2. Descripción botánica

La mashua es una planta anual, herbácea, glabra en todas sus partes, de crecimiento inicialmente erecto que luego varía a semiprostrado y trepadora ocasionalmente mediante los pecíolos táctiles. Las hojas son alternas, brillantes en el haz y más claras en el envés, peltadas con entre tres y cinco lóbulos. Las flores de mashua son solitarias, zigomorfas que nacen en las axilas de las hojas. El fruto es un esquizocarpo, formado de tres mericarpos uniseminados indehiscentes. La semilla botánica es viable.⁷

2.2.3. Distribución y habitat

La mashua, conocida también como “añu”, “isaño” o “cubio”. Su hábitat de distribución natural se extiende desde Colombia hasta el norte de Argentina, entre los 2400 hasta los 4300 msnm, y desde hace algunas décadas se cultiva también en algunas regiones de Nueva Zelanda y Canadá. Las mayores áreas de siembra se encuentran en Perú y Bolivia, donde generalmente se cultiva en asociación con otros tubérculos.⁸

2.2.4. Propiedades y usos medicinales

Tienen propiedades medicinales potenciales para la industria, tradicionalmente son utilizados como antibacteriales, insecticidas, nematocidas. Las poblaciones indígenas y de escasos recursos utilizan al isaño para tratamientos antiinflamatorios de la próstata, ya que tiene la propiedad de reducir los niveles de testosterona, se le atribuye propiedades curativas para el hígado y riñones, ayuda a mejorar los dolores genitourinarias y es excelente para combatir la anemia.⁹

2.2.5. Composición química

Los tubérculos de la mashua tienen un elevado contenido de proteínas (mayores a los de la papa, la oca y el olluco), carbohidratos, fibra, ácido ascórbico (vitamina C) y calorías. También contienen una elevada concentración de glucosinolatos aromáticos que al ser hidrolizados se transforman en isotiocianatos, compuestos químicos responsables de otorgar el típico sabor picante a los tubérculos. Los isotiocianatos son conocidos por sus propiedades antibióticas, insecticidas, nematocidas, anticancerígenas y diuréticas, lo que contribuye a sustentar el uso tradicional de la mashua en la medicina folclórica de los Andes.⁸

2.3. Radicales libres

Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado o libre, por lo que son muy reactivos ya que tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón que necesita, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una verdadera reacción en cadena que destruye nuestras células. La vida media

biológica del radical libre es de microsegundos, pero tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que esté a su alrededor provocando un gran daño a moléculas, membranas celulares y tejidos. Los radicales libres no son intrínsecamente deletéreos; de hecho, nuestro propio cuerpo los produce en cantidades moderadas para luchar contra bacterias y virus.¹⁰

Estas acciones se dan constantemente en las células de nuestro cuerpo, proceso que debe ser controlado con una adecuada protección antioxidante. Un antioxidante es una sustancia capaz de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres mediante la liberación de electrones en nuestra sangre, los que son captados por los radicales libres.¹⁰

2.4. Estrés oxidativo

Especies reactivas del oxígeno (ERO) es el término que se aplica colectivamente a las moléculas radicales y no radicales que son agentes oxidantes y/o son fácilmente convertidos a radicales. En la última década se han acumulado evidencias que permiten afirmar que los radicales libres y el conjunto de especies reactivas que se les asocian juegan un papel central en nuestro equilibrio homeostático, que es el normal funcionamiento de los mecanismos de regulación que conservan el estado normal fisiológico de los organismos. En mamíferos son muchos los procesos fisiopatológicos causados por estas especies tales como los mecanismos patogénicos asociados a virus, bacterias, parásitos y células anormales, constituyendo un mecanismo de defensa del organismo frente a estos agresores. Cuando el aumento del contenido intracelular de ERO sobrepasa las defensas antioxidantes de la célula se produce el estrés oxidativo, a través del cual se induce daño a moléculas biológicas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos.¹⁰

2.4.1. ERO (Especies reactivas del oxígeno)

El oxígeno es una molécula básicamente oxidante, hasta el punto que en las células que lo utilizan para su metabolismo es el principal responsable de la producción de especies reactivas del oxígeno (ERO). Sin embargo, no todas las especies oxidantes tienen un origen endógeno; la existencia de factores exógenos, como la radiación solar, toxinas fúngicas, pesticidas o xenobióticos, pueden incrementar su nivel. En condiciones normales, las células metabolizan la mayor parte del oxígeno (O₂) con la formación de agua sin formación de intermediarios tóxicos, mientras que un pequeño porcentaje (entorno al 5%)

forman tres intermediarios altamente tóxicos, dos de los cuales son literalmente radicales libres (el anión superóxido y el hidroxilo). En situaciones en las que exista una mayor actividad metabólica (etapas del crecimiento, desarrollos activos o procesos inflamatorios) ocurre una mayor demanda tisular de O_2 y parte de él se metaboliza, generándose un alto número de sustancias oxidantes. La segunda gran fuente de ERO también es endógena y está constituida por el metabolismo de las células defensivas tales como los polimorfonucleares, los monocitos sensibilizados, los macrófagos y los eosinófilos. Para que éstas puedan cumplir su misión, están dotadas de diversas proteínas así como de vías metabólicas que generan varias especies químicamente agresivas como peróxido de hidrógeno, radicales superóxido e hidroxilo, cuyo fin último es lesionar y destruir elementos extraños. En condiciones normales estas especies reactivas son producidas y utilizadas en compartimentos celulares como los lisosomas que, aunque en el interior de los fagocitos, no tienen por qué dañar a las células siempre y cuando los mecanismos antioxidantes de éstas funcionen adecuadamente.¹⁰

2.5. Daño oxidativo a biomoléculas

Son muchas las especies oxigénicas que actúan como oxidantes biológicos. La capacidad de cada radical o especie oxigénica reactiva viene determinada, desde el punto de vista químico, por cuatro características básicas, como son: reactividad, especificidad, selectividad y difusibilidad. El oxígeno es el mayor reductor, la simple adición de un protón da lugar a la formación de HO_2 , convirtiéndose en un agente oxidante muy activo, selectivo y específico. El O_2 no es particularmente reactivo con lípidos, glúcidos o ácidos nucleicos y exhibe reactividad limitada con determinadas proteínas. Esta evidencia constata que el O_2 reacciona con proteínas que contienen metales en su grupo prostético. El OH, sin embargo, reacciona con cualquier molécula que tenga cerca, sin especificidad alguna y el peligro radica en la importancia funcional del compartimento celular en el que se origina o la molécula a la que ataque. Así pues, si ataca al DNA puede producir o generar graves alteraciones. Por el contrario, si la producción del radical tiene lugar en un entorno como el plasma y la molécula dañada es una enzima que se encuentra presente en gran cantidad, el daño biológico real será prácticamente imperceptible. Los tres componentes con mayor capacidad de difusión son $O_2 < H_2O_2 < OH$, capaces de reaccionar con

moléculas que se encuentran alejadas del lugar de origen incluso con capacidad de atravesar membranas celulares.¹¹

Las especies oxigénicas reactivas producen diversas acciones sobre el metabolismo de los principios inmediatos, que pueden ser el origen del daño celular, así actúan:

1. Sobre los lípidos poliinsaturados de las membranas produciendo pérdida de fluidez y lisis celular como consecuencia de la peroxidación lipídica. La peroxidación lipídica se inicia tras la abstracción de un átomo de hidrogeno en la cadena hidrocarbonada de los ácidos grasos poliinsaturados, cuya estructura vinilo-metano representa la diana y lugar de iniciación del proceso peroxídico. En un ambiente aerobio se produce interacción del radical carbonilo (R.) con el O₂ dando lugar a la formación del ROO. Posteriormente puede sustraer un nuevo H (reacción secuencial) y puede dar lugar al ROOH que por descomposición formará el radical alcoxilo (RO). A este primer proceso acontece una serie de reacciones de propagación y terminación para dar finalmente productos más estables, como el malondialdehído (MDA) y otros productos carbonados que son eliminados de las células.¹¹

2. Sobre la molécula de colesterol, produciendo hidroperóxidos de colesterol y oxisteroles que están implicados en la aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares.¹¹

3. Sobre los glúcidos, actúan alterando las funciones celulares tales como las asociadas a la actividad de las interleuquinas y la formación de prostaglandinas, hormonas y neurotransmisores.¹¹

4. Sobre las proteínas produciendo inactivación y desnaturalización.¹¹

5. Sobre los ácidos nucleicos mediante la modificación de bases produciendo mutagénesis y carcinogénesis. Por otra parte, el organismo también utiliza a los radicales libres para la destrucción de bacterias y patógenos invasores.¹¹

2.5.1. Defensa antioxidante

No cabe duda que todos los sistemas biológicos en ambientes oxigenados han desarrollado mecanismos de defensa, tanto a nivel fisiológico como bioquímico.

1. A nivel fisiológico: El sistema microvascular, cuya función es mantener los niveles tisulares de O₂, siempre dentro de presiones parciales relativamente bajas.¹¹

2. A nivel bioquímico: La defensa antioxidante puede ser enzimática, no enzimática así como sistemas reparadores de moléculas.¹¹

2.5.2. Sistema enzimático

Los organismos aerobios han desarrollado enzimas antioxidantes tales como: superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx) y DT-diaforasa. La SOD es la responsable de la reacción de dismutación del O₂ a H₂O₂, que una reacción posterior catalizada por la catalasa o GPx detoxificará formando H₂O y O₂. La catalasa se encuentra principalmente en los peroxisomas, y su principal función es eliminar el H₂O₂ generado en la beta-oxidación de los ácidos grasos, mientras que la GPx degradará el H₂O₂ citoplasmático. La DT-diaforasa, cataliza la reducción de quinona a quinol y participa en la reducción de drogas de estructura quinónica.¹¹

2.5.3. Sistema no enzimático

Las células utilizan una serie de compuestos antioxidantes o "scavengers", como son: vitamina E, vitamina C, beta-caroteno, ferritina, ceruloplasmina, selenio, glutatión reducido (GSH), manganeso, ubiquinona, zinc, ácido úrico, flavonoides, como más representativos e importantes. Siendo en la actualidad de especial importancia los flavonoides extraídos de determinados alimentos. Su acción dependerá en ocasiones de la interacción directa de la especie reactiva para rendir complejos estables o de menor reactividad, mientras que en otras ejerce de cosustrato en la acción catalítica de algunas enzimas, por ejemplo el GSH es el mayor tiol citosólico que puede actuar de "scavenger" del OH o cosustrato de la GPx.¹¹

En definitiva todos estos antioxidantes provienen de la dieta directa o indirectamente.¹¹

2.5.4. Sistemas reparadores

Directo: Reducción de los grupos (S-S) de los aminoácidos azufrados de las proteínas por enzimas específicos como la disulfuro reductasa y la sulfóxido reductasa.¹¹

Indirecto: En primer lugar se reconoce el daño molecular siendo éste eliminado o degradado, y en segundo lugar se sintetiza la parte eliminada. Esto ocurre tanto en las proteínas oxidadas y peróxidos lipídicos de las cadenas carbonadas como en las oxidaciones del DNA y RNA.¹¹

2.6. Antioxidantes

Son sustancias que cuando están presentes retardan o inhiben la oxidación de sustratos susceptibles al ataque de las ERO. Los agentes antioxidantes exógenos son aquellos que se ingieren a través de la alimentación y desde el punto de vista práctico son los más importantes de todos, ya que son los únicos que pueden ser introducidos al organismo de forma voluntaria por cada persona, en función de sus conocimientos sobre el tema, la disponibilidad de alimentos en un momento dado y la voluntad e interés que tenga de consumir una dieta saludable.¹²

Las concentraciones de antioxidantes que presente la alimentación de cada individuo dependerá en gran medida de cuan balanceada y correcta sea la misma, así como de la forma como se prepare y el nivel de nutrimentos que contenga al momento de ser ingerida.¹²

2.6.1. Mecanismos y defensas antioxidantes

Los efectos biológicos de las ERO son controlados en los seres vivos por una gama de mecanismos fisiológicos de defensa antioxidante, que involucran a un complejo grupo de procesos, todos encaminados a evitar el exceso de oxidación a nivel celular, que es en definitiva, el que causa los trastornos. Con el paso del tiempo el proceso se hace crónico y se produce entonces el deterioro de los tejidos, los órganos y luego del organismo completo, con lo que deviene la enfermedad. A la larga lo que los seres vivos necesitan es mantener un equilibrio interno correcto entre el nivel de ERO y el de antioxidantes, siendo la enfermedad el resultado final del desajuste o del desequilibrio.¹²

Existen diversos sistemas de defensa que participan directamente, para en todo momento tratar de lograr el equilibrio antes mencionado. Dichos sistemas son: enzimas antioxidantes, enzimas que eliminan y/o separan las moléculas que han sido oxidadas y sustancias antioxidantes específicas. El principal sistema enzimático de defensa antioxidante está compuesto por cuatro enzimas: superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, glutatión reductasa y catalasa.¹²

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio del Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga durante los meses de enero a mayo del 2018.

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

Constituida por *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra” provenientes del distrito de Vinchos, Centro poblado de Anchacchuasi (3400 msnm), provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho. Del distrito de Vinchos, Centro poblado de Corazón de Ñaupas (3400 msnm), provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho. Del distrito de Tambo (3500 msnm), Anexo de Usmay, provincia La Mar, departamento de Ayacucho. Del distrito de Anco, Comunidad Nueva Jerusalén (3700 msnm), provincia La Mar departamento de Ayacucho.

Todas que cumplan con ciertos criterios: los tubérculos no estén maltratados, los tubérculos estén libre de plaguicidas.

3.2.2. Muestra

Constituida por 2 kg de tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra”, recolectadas del Distrito de Vinchos, Centro poblado de Anchacchuasi. Por otro lado 2 kg de tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra”, recolectadas del Distrito de Vinchos, Centro poblado de Corazón de Ñaupas. También 2 kg de tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz

& Pavón “mashua negra”, recolectadas del Distrito de Tambo, Anexo de Usmay. Por último 2 kg de tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra”, recolectadas del Distrito de Anco, Comunidad Nueva Jerusalén. En todos los casos se realizó un muestreo por conveniencia,

Una parte de la planta recolectada se llevó al *Herbarium Huamangensis* para su respectiva identificación y su clasificación botánica. (Anexo 1)

3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos

3.3.1. Procedimiento para la recolección de muestra

Los tubérculos fueron acopiados en temporada de cosecha en el mes de Enero, del Centro poblado de Anchacchuasi y Centro poblado de Corazón de Ñaupas del distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho. También del distrito de Tambo (Anexo de Usmay), y del distrito de Anco, (Comunidad Nueva Jerusalén), provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho.

3.3.2. Secado, molienda y tamizaje

Los tubérculos se lavaron con abundante agua, una vez limpios y secos se cortaron en finas rodajas y se llevaron a una bandeja dispuesta en una sola capa para evitar retención de agua y fermentación. Se llevó a la estufa a unos 45°C, durante 24 horas. Una vez secas, se redujeron de tamaño con un mortero y un pilón, las muestras molidas fueron recuperadas del mortero y se procedió a tamizarlos.

3.3.3. Preparación del extracto hidroalcohólico

Se obtuvo aproximadamente 250 g de muestra seca y molida de los tubérculos, se llevó a maceración en frascos de color ámbar por tres días aproximadamente en alcohol de 50°C; se cubrió a la muestra por 1 cm de diferencia. Durante el proceso se agitó periódicamente para que el alcohol se distribuya homogéneamente en la muestra y finalmente se filtró el residuo. Los extractos fueron envasados en frascos de vidrio de color ámbar, herméticamente cerrados y bajo refrigeración hasta el día de su análisis.

3.3.4. Identificación fitoquímica

Para determinar el perfil fitoquímico se empleó el método de análisis cualitativo de ensayo a la gota, el cual consiste en someter al extracto vegetal, según la

polaridad, a reactivos específicos que generan compuestos coloreados o precipitados, según el tipo de metabolito secundario presente.¹³

3.3.5. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico

El extracto hidroalcohólico obtenido, se evaluaron los parámetros fisicoquímicos propuesto por Miranda¹⁴ tales como:

- Determinación del pH.
- Determinación de solubilidad.¹⁴ (Anexo 3)

3.3.6. Determinación del contenido de fenoles totales: Método Folin-Ciocalteu

Fundamento: Es un método para determinar los compuestos fenólicos totales utilizando el reactivo Folin-Ciocalteu (solución de ácido fosfomolibdico y ácido fosfowolfrámico). Los compuestos fenólicos son oxidados a fenolatos, por el reactivo Folin-Ciocalteu en medio alcalino, formando un complejo de molibdeno-tungsteno de color azul el cual puede ser monitoreado mediante espectrofotometría. Los resultados son expresados generalmente en mg equivalentes de ácido gálico.¹⁵

Procedimiento:

Se tomó 100 µL de las muestras convenientemente diluidas, 500 µL del reactivo Folin-Ciocalteu 1:10, 400 µL de una solución de carbonato de sodio al 7,5%. Se mezcló en un tubo de ensayo y se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 30 minutos. Luego se midió la absorbancia de las muestras a una longitud de onda de 765 nm utilizando el espectrofotómetro. El contenido de fenoles totales se expresará en miligramos de equivalentes de ácido gálico (GAE) por gramo de material vegetal seco, a partir de una curva de calibración del estándar ácido gálico de 10 a 60 µg/mL.

3.3.7. Determinación de la actividad antioxidante: Método DPPH

Fundamento: Se realizará la evaluación cuantitativa de la actividad antioxidante siguiendo la metodología descrito por Sousa¹⁶, con modificaciones menores, el seguimiento del consumo de radical DPPH por las muestras, mediante la disminución de la absorbancia de las soluciones a diferentes concentraciones.

Estas mediciones se harán en UV-Vis a una longitud de onda de 515 nm, se usará el ácido gálico como control positivo.¹⁶

Procedimiento:

Se procedió a preparar 50 mL de la solución madre DPPH en etanol 96° a una concentración de 40 mg/mL, se conservó en el refrigerador y protegió de la luz, se realizó diluciones de 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5, 1 µg/mL. La curva de calibración se construyó a partir de los valores de absorbancia obtenidos a 515 nm de todas las soluciones (1 a 40 µg/mL), medidas en una cubeta de vidrio con el camino óptico de 1cm y teniendo como “blanco” el etanol.

El extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón y el control positivo (trolox) en etanol 50°, fueron diluidos a concentraciones de 250, 200, 150, 100, 50 y 25 mg/mL. Las medidas de absorbancia de las mezclas de reacción (0,3 mL de solución de muestra y 2,7 mL de la solución madre de DPPH a la concentración de 40 µg/mL) se realizaron a 515 nm a 1, 5 y 10 minutos, cada 10 minutos hasta 1 hora. Se utilizó una mezcla de etanol (2,7 mL) y 0,3 del extracto como blanco.

1. A partir de la curva de calibración de la ecuación y los valores de tiempo absorbancia de 30 minutos se determinó la concentración de DPPH (µg/mL) para el trolox y los extractos de “mashua negra”

$$x = \frac{(y - b) - a}{b}$$

2. Se determinó el porcentaje de DPPH restante (%DPPH_{REM}), de acuerdo a la ecuación:

$$\%DPPH_{REM} = \left[\frac{DPPH_{T=30}}{DPPH_{T=t_0}} \right] \times 100$$

Donde:

DPPH_{T=30} : Concentración de DPPH en el medio después de la reacción con el extracto.

DPPH_{T=t₀} : Concentración inicial de DPPH

3. Los valores de absorbancia a todas las concentraciones ensayadas se convirtieron en porcentaje de actividad antioxidante (%AA), que se determinó por la ecuación:

$$\%AA = \frac{\{[Abs_{control} - (Abs_{muestra} - Abs_{blanco})] \times 100\}}{Abs_{control}}$$

Donde:

$Abs_{control}$: absorbancia inicial de la solución metanólica de DPPH,

$Abs_{muestra}$: absorbancia de la reacción del DPPH con la muestra.

4. La concentración requerida para el 50% de inhibición del radical libre DPPH (CI50) será calculada mediante la ecuación exponencial de la concentración del extracto y trolox vs $\%DPPH_{REM}$.

$$y = y_0 + Ae^{R_0x}$$

$$CI50 = \frac{(\ln \frac{50 - y_0}{A})}{R}$$

3.4. Diseño experimental

El diseño que se empleó, es el diseño de postprueba únicamente y grupo control.

Simbólicamente y de forma abreviada corresponde a:

$$\begin{array}{ccc} \mathbf{RG}_n & \mathbf{X}_n & \mathbf{O}_n \\ \mathbf{RG}_c & \text{----} & \mathbf{O}_c \end{array}$$

Donde **RG** corresponde a los tratamientos, **X**, es el experimento, **O**, es la observación y (----) el blanco.¹⁷

Grupo	Repeticiones	Tratamiento
I	3	Blanco: 0.3 ml muestra + 2.7 mL Etanol 50°
II	3	Reacción: 0.3 ml muestra + 2.7 mL DPPH
III	3	Extracto hidroalcohólico 150 µg/mL
IV	3	Extracto hidroalcohólico 200 µg/mL
V	3	Extracto hidroalcohólico 250 µg/mL
VI	3	Trolox 150 µg/mL
VII	3	Trolox 200 µg/mL
VIII	3	Trolox 250 µg/mL

3.5. Análisis estadístico

Los resultados se expresan en cuadros y gráficos. La diferencia significativa que existe entre los tratamientos son evaluados a través del Análisis de Varianza (ANOVA) con un nivel de significancia estadística de 0.05. Las comparaciones entre cada tratamiento se hicieron a través de la prueba de Duncan (para ello se utilizó el programa SPSS versión 21).

IV. RESULTADOS

Tabla 1. Metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra” del centro poblado de Anchacchuasi. Ayacucho 2018

Metabolitos secundarios	Reactivos y/o reacciones	Resultados	Observaciones
Taninos del tipo pirocatecólicos	Tricloruro férrico	+++	Coloración verde intensa
Flavonoides	Shinoda	+++	Coloración carmelita o rojo
Saponinas	Espuma	+++	Formación de espuma por más de dos minutos
Aminas	Ninhidrina	+	Azul violeta
Antocianinas	Antocianidinas	+++	Coloración roja en la fase amilica
Esteroides	Lieberman-Burchard	+++	Coloración verde oscuro
Quinonas	Borntrager	++	Coloración roja en la fase alcalina
Alcaloides	Mayer	+	Presencia de opalescencia
Alcaloides	Dragendorff	+	Presencia de opalescencia
Alcaloides	Wagner	+	Presencia de opalescencia

Leyenda:

Escasa: (+)

Regular: (++)

Abundante: (+++)

Tabla 2. Metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra” del centro poblado de Corazón de Ñaupas. Ayacucho 2018

Metabolitos secundarios	Reactivos y/o reacciones	Resultados	Observaciones
Taninos del tipo pirocatecólicos	Tricloruro férrico	++	Coloración verde intensa
Flavonoides	Shinoda	+++	Coloración carmelita o rojo
Saponinas	Espuma	+++	Formación de espuma por más de dos minutos
Aminas	Ninhidrina	+	Azul violeta
Lactona	Baljet	+++	Coloración rojo vinagre
Glicósidos cardiotónicos	Kedde	++	Coloración violeta
Antocianinas	Antocianidinas	+++	Coloración roja en la fase amilica
Esteroides	Lieberman-Burchard	++	Coloración verde oscuro
Quinonas	Borntrager	++	Coloración roja en la fase alcalina
Alcaloides	Mayer	+	Presencia de opalescencia
Alcaloides	Dragendorff	+	Presencia de opalescencia
Alcaloides	Wagner	+	Presencia de opalescencia

Leyenda:

Escasa: (+)

Regular: (++)

Abundante: (+++)

Tabla 3. Metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra” del distrito de Tambo. Ayacucho 2018

Metabolitos secundarios	Reactivos y/o reacciones	Resultados	Observaciones
Taninos del tipo pirocatecólicos	Tricloruro férrico	+++	Coloración verde intensa
Flavonoides	Shinoda	++	Coloración carmelita o rojo
Saponinas	Espuma	+++	Formación de espuma por más de dos minutos
Aminas	Ninhidrina	+	Azul violeta
Antocianinas	Antocianidinas	+++	Coloración roja en la fase amilica
Quinonas	Lieberman-Burchard	+++	Coloración verde oscuro
Alcaloides	Wagner	++	Presencia de turbidez
Alcaloides	Dragendorff	++	Presencia de turbidez
Alcaloides	Mayer	++	Presencia de turbidez

Leyenda:

Escasa: (+)

Regular: (++)

Abundante: (+++)

Tabla 4. Metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra” del distrito de Anco. Ayacucho 2018

Metabolitos secundarios	Reactivos y/o reacciones	Resultados	Observaciones
Taninos del tipo pirocatecólicos	Tricloruro férrico	+++	Coloración verde intensa
Flavonoides	Shinoda	+++	Coloración carmelita o rojo
Saponinas	Espuma	+++	Formación de espuma por más de dos minutos
Aminas	Ninhidrina	+	Azul violeta
Antocianinas	Antocianidinas	+++	Coloración roja en la fase amílca
Esteroides	Lieberman-Burchard	+++	Coloración verde oscuro
Quinonas	Borntrager	++	Coloración roja en la fase alcalina
Alcaloides	Mayer	+	Presencia de opalescencia
Alcaloides	Dragendorff	++	Presencia de turbidez
Alcaloides	Mayer	+	Presencia de opalescencia

Leyenda:

Escasa: (+)

Regular: (++)

Abundante: (+++)

Tabla 5. Parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón “mashua negra” de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho. Ayacucho, 2018

Parámetros	Ensayo	Resultados			
		Anco	Tambo	Vinchos	Anchacch uasi
Organolépticos	Color	Morado	Morado	Morado	Morado
	Olor	Sui géneris	Sui géneris	Sui géneris	Sui géneris
	Sabor	Amargo	Amargo	Amargo	Amargo
Solubilidad	Agua	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble
	Etanol	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble
	Metanol	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble
	Cloroformo	Insoluble	Insoluble	Insoluble	Insoluble
pH	Potenciometría	6	6	6.3	6.2

Tabla 6. Contenido de fenoles totales del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra” de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho. Ayacucho, 2018

<i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruíz & Pavón	Fenoles totales
Tambo	29.45 mg Eq AG/gr ext.
Anco	7.56 mg Eq AG/gr ext.
Anchacchuasi	12.78 mg Eq AG/gr ext.
Vinchos	10.52 mg Eq AG/gr ext.

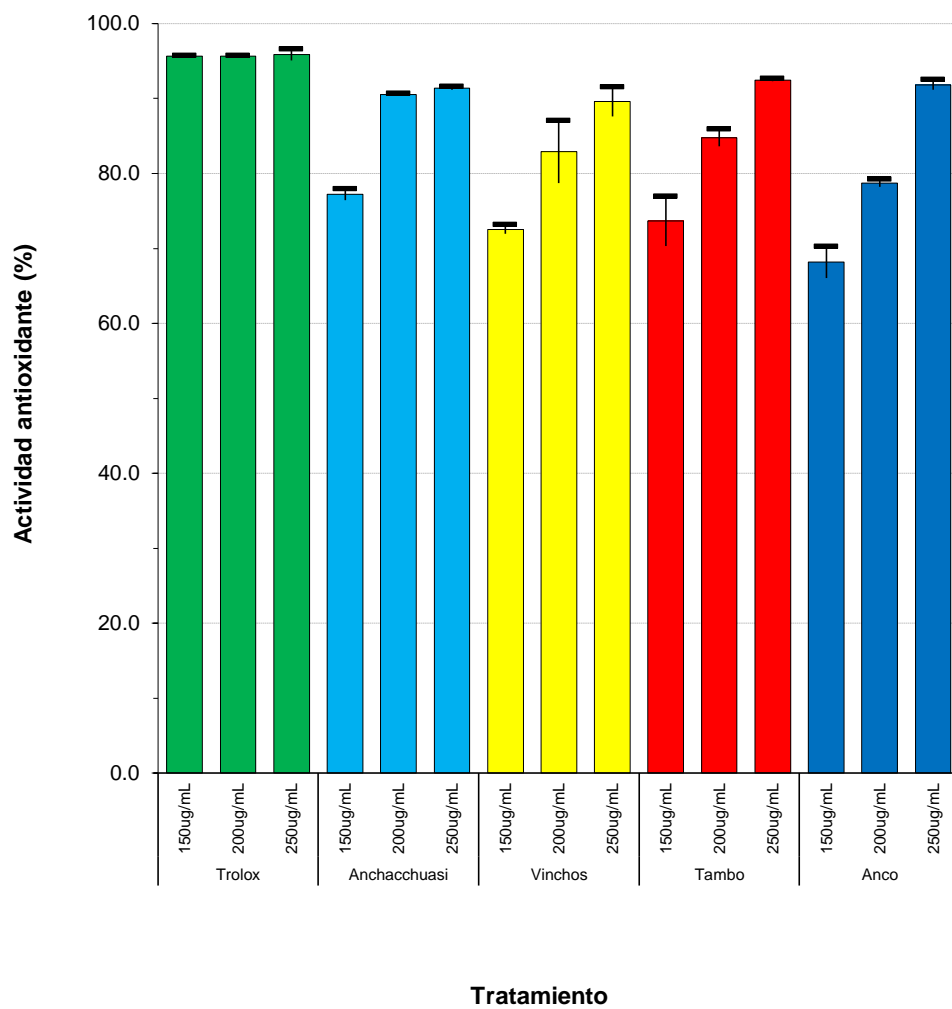


Figura 1. Actividad antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra” de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho. Ayacucho 2018.

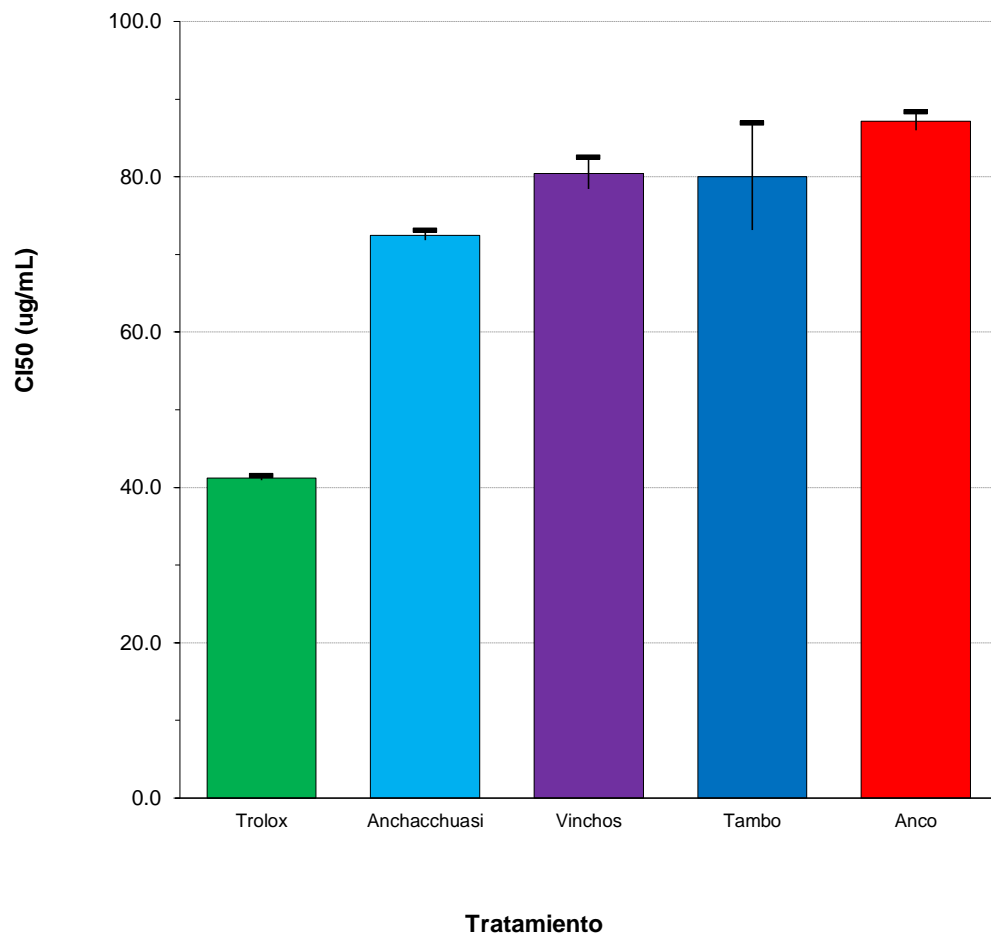


Figura 2. Concentración de inhibición del radical libre DPPH del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra”. Ayacucho 2018

V. DISCUSIÓN

La organización mundial de la salud mediante un informe, estima que más de la mitad de habitantes de la tierra confían en las medicinas tradicionales para resolver sus principales necesidades de salud como resultado de circunstancias históricas y creencias culturales.¹⁸

El uso de las plantas medicinales data desde la antigüedad ya que consta en diversos testimonios históricos pertenecientes a diversas civilizaciones y culturas. Estos recursos curativos vegetales están agrupados por categorías terapéuticos, de acuerdo a sus efectos farmacológicos.¹⁹

Los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra” contiene isotiocianatos, presentes como glucosinolatos, los cuales les confiere un sabor picante. También presentan un alto contenido de compuestos antioxidantes, como fenólicos, antocianinas, carotenoides y capacidad antioxidante comparados a otros tubérculos andinos.²⁰

La tabla 1, 2, 3 y 4, muestran los resultados de la identificación fitoquímica del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra” de cuatro zonas productoras de la región (Anchacchuasi, Vinchos, Tambo, Anco) como: taninos, saponinas, flavonoides, aminas, antocianinas, esteroides, quinonas, alcaloides. Inostroza y col.²¹ demostraron la presencia de muchos metabolitos secundarios destacando una cantidad apreciable de antocianinas, flavonoides, fenoles, taninos en el estudio: Actividad antioxidante de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón (mashua) y su aplicación como colorante para yogur.

La que más destaca de la identificación fitoquímica es la presencia de antocianinas por la presencia de la coloración roja en la fase amilíca. Presencia

de flavonoides por la coloración roja. Taninos del tipo pirogalotánicos También la presencia de saponinas por la formación de espumas por más de dos minutos.

Pérez y col.²² nos menciona que los flavonoides y antocianinas presentan propiedades farmacológicas, incluyendo la actividad inhibidora de enzimas (hidrolasas, ciclooxigenasas, fosfatasa alcalina, ATP-asas, liasas, hidroxilasas, transferasas, oxidoreductasas y kinasas). Por otra parte nos menciona que los taninos son polifenoles hidrosolubles, buenos antioxidantes naturales, en el trabajo: Estudio fitoquímico preliminar de plantas medicinales del norte del Perú.

La tabla 5, muestra los parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra” de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho. Presentan un color morado, olor sui géneris, sabor amargo. Por otra parte soluble en agua, etanol y metanol e insoluble en cloroformo. Presenta un pH, en el extracto hidroalcohólico de Anco, Tambo, Vinchos, Anchacchuasi (6; 6; 6.3; 6.2 respectivamente). Taipe²³ nos menciona que los valores de pH aumentaron después del secado de 6.09 a 6.39 y después de la cocción a 6.78 para la variedad amarillo zapallo y para la variedad negra aumento después del secado de 6.29 a 6.65 y después de la cocción a 6.98 en el estudio: Fenoles totales y actividad antioxidante en mashua (*Tropaeolum tuberosum*) en estado fresco, soleado y cocido de las variedades amarillo zapallo y negra.

Taipe nos menciona que un aumento de pH ocurre debido a la reducción de la acidez; esta relación entre pH y acidez no siempre puede ser directa, teniendo en cuenta que el pH interactúa con otros factores en el tubérculo como el tejido, sales, temperatura y potencial redox, entre otros.²³

La tabla 6, nos muestra el contenido de fenoles totales en el extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra” de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho. Esta nos muestra que en Tambo, Anco, Anchacchuasi, Vinchos presentan 29.45; 7.56; 12.78; 10.52 mg Eq AG/gr ext. respectivamente. La zona de Tambo presenta mayor cantidad de fenoles totales a comparación de las demás. Aillón²⁴ nos menciona que *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra” presenta 0.7 mg/mL de concentración de fenoles totales en el trabajo: Estudios de actividad antioxidante en fracciones provenientes de dos plantas medicinales ecuatorianas: extracto hidroalcohólicos de Mashua *Tropaeolum tuberosum* (Ruiz

& Pavón) tropaeolacea y aceite esencial de congona *Paperomia inaequalifolia* (Ruiz & Pavón) *piperaceae*.

Por su parte Jurado y col.²⁵ nos menciona que el extracto etanólico procedente de Huánuco presentó mayor contenido de compuestos fenólicos expresados como $149,3 \pm 1,62$ mg/Eq de ácido gálico/100 g de fruto a comparación de Junín, Ancash, Cajamarca con ($144,4 \pm 0,97$; $127,9 \pm 0,79$; $106 \pm 0,48$ mg/Eq de ácido gálico/100 g de fruto respectivamente) en el estudio: Evaluación del contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de los frutos de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) de diferentes lugares del Perú.

Para determinar la actividad antioxidante se empleó el método de DPPH (2,2-difenil-1-picrihidracilo) que nos permite evaluar la actividad de sustancias frente al radical libre estable 2,2-difenil-1-picrihidracilo (DPPH) en una solución metanólica que tiene un color violeta intenso que se pierde progresivamente cuando se añade la muestra que contiene antioxidantes. La cuantificación por lo general se realiza empleando soluciones patrón de Trolox.

Este método es probablemente es más eficiente que el ABTS en reacción con donantes de átomos de hidrógeno. Sin embargo, el DPPH no reacciona con flavonoides que contengan grupos $-OH$.²⁶

En la Figura 1, nos muestra el porcentaje de actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra” de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho. Esta nos muestra que el distrito de Tambo presenta mayor actividad antioxidante con 92.5 $\mu\text{g/mL}$, respecto a Anco, Anchacchuasi, Vinchos con (91.8 ; 90.8 ; 89.6 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente). Inostroza y col.²¹ nos menciona que la actividad antioxidante de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón (mashua) presenta a los 60 minutos $15.8 \pm 0,3$ de actividad antioxidante equivalente a Trolox ($\mu\text{mol TE/g}$ peso muestra), este es superior a los 30 minutos con $14,2 \pm 0,2$ de actividad antioxidante equivalente a Trolox ($\mu\text{mol TE/g}$ peso muestra). En el estudio: Actividad antioxidante de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón (mashua) y su aplicación como colorante para yogur.

Reátegui y col.²⁷ nos menciona que la actividad antioxidante de *Physalis angulata* L. (bolsa mullaca), utilizando el método de DPPH reportó que a concentración de $10,000$ $\mu\text{g/mL}$, se obtuvo un porcentaje de inhibición de 87.416 %, con una concentración inhibitoria (IC_{50}) = 5460 $\mu\text{g/mL}$ respecto a las demás

concentraciones, en el estudio: Actividad antioxidante *in vitro* determinación de polifenoles totales de raíz de *Physalis angulata* L. (bolsa mullaca), Iquitos- 2013.

La figura 2, muestra el porcentaje de inhibición (CI50) del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra” de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho. Esta nos muestra que el distrito de Anco presenta un valor alto con 87.2 µg/mL, respecto a los demás Anchacchuasi, Tambo, Vinchos (72.4; 80.0; 80.5 µg/mL respectivamente) y el Trólox con 41.2 µg/mL. Reátegui y col.²⁷ nos menciona que los valores obtenidos expresados en porcentaje de inhibición con su desviación estándar para cada concentración trabajada del extracto etanólico de raíz de *Physalis angulata* L. presenta en la concentración de 10,000 µg/mL (87.416 ± 1.593). Este dato es superior a las demás concentraciones de 1250, 2500 y 5000 µg/mL (16.819 ± 0.427 ; 30.689 ± 1.557 ; 46.180 ± 0.998 respectivamente). En el estudio: Actividad antioxidante *in vitro*, determinación de polifenoles totales de raíz de *Physalis angulata* L. (bolsa mullaca), Iquitos-2013.

La inhibición de los radicales libres DPPH, es determinado por la decoloración de la solución de violeta a amarillo, el cual es medido por espectrofotometría a 517nm. A medida que hay un mayor secuestro de los radicales libres por un antioxidante, la absorbancia disminuye.²⁷

Cuenca²⁸, nos menciona que el IC50 es el índice de concentración necesario para reducir en un 50% la concentración inicial de DPPH, con el fin de tener un parámetro de referencia para comparar las capacidades de diferentes antioxidantes. Existe una concentración constante de DPPH por lo cual aunque se incrementa la concentración del extracto habrá un límite de decoloración.

Este estudio se orientó a la revaloración de la mashua como un producto andino de alta calidad que ofrece un enorme potencial, no solamente como fuente de antioxidantes o como recurso para la industria alimentaria o farmacéutica, sino que su cultivo se intensifique y se convierta en una actividad económica que mejore la calidad de vida de las poblaciones productoras.

Se logró determinar que el extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón “mashua negra” presenta actividad antioxidante.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón “mashua negra” de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho presenta actividad antioxidante *in vitro*.
2. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón “mashua negra” son los taninos, aminas, flavonoides, lactonas, saponinas, glicósidos cardiotónicos y antocianinas
3. El extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón “mashua negra” presentan un color morado, olor sui géneris y sabor amargo. Soluble en agua, etanol, metanol y un pH ácido.
4. El contenido de fenoles totales del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón “mashua negra” fueron en Anco, Vinchos, Tambo y Anchacchuasi 7.56; 10.52; 29.45; 12.78 mg Eq AG/gr ext. respectivamente.
5. El extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón “mashua negra” presentan una actividad antioxidante *in vitro* en Tambo, Anco, Anchacchuasi, Vinchos 92.5; 91.8; 90.8; 89.6 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente, estas difieren estadísticamente ($p < 0.05$) del Trolox (96.0 $\mu\text{g/mL}$).

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar la formulación de una forma farmacéutica semisólida del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón “mashua negra” para su empleo como antioxidante.
2. Realizar estudios de toxicidad de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón “mashua negra”.
3. Realizar aislamiento y purificación de los compuestos químicos presentes en el extracto para determinar la capacidad antioxidante de cada uno de ellos.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alomar M. Antioxidantes: captadores de radicales libres o sinónimo de salud. Diciembre 2016. [Acceso el 10 de Junio 2018]. Disponible en: <https://www.soarme.com/archivos/1324143195.pdf>
2. Quispe C, Mansilla R, Chacón A, Blas R. Análisis de la variabilidad morfológica del “Añu” *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón procedente de nueve distritos de la región Cusco. Universidad Nacional Agraria La Molina. Ecología aplicada 14(2). Julio, 2015. Lima, Perú. [Acceso el 11 de Junio del 2018]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1726-22162015000200013&lng=es&nrm=iso&tlng=es
3. Morillo A, Morillo Y, Leguizamo M. Diversidad genética de ibias (*Oxalis tuberosa* Molina) y cubios (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) en Boyacá. Revista temas agrarios. Volumen 21(1). Enero- Junio, 2016. [Acceso el 12 de Junio del 2018]. Disponible en: <http://revistas.unicordoba.edu.co/index.php/temasagrarios/article/view/869>
4. Cutimbo M, Aro J, Tipacti Z. Evaluación de la eficacia de antioxidantes de Isaño (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) en la oxidación de aceite de soya. Artículo original. Rev. Investig. Altoandin. Vol.18. Núm. 2:143-150. Abril-Junio, 2016. [Acceso el 13 de Junio del 2018]. Disponible en: <http://huajsapata.unap.edu.pe/ria/index.php/ria/article/view/195>
5. Chirinos R, Campos D, Warnier M, Pedreschi R, Rees J., Larondelle Y. Propiedades antioxidantes de los extractos fenólicos de mashua (*Tropaeolum tuberosum*) contra el daño oxidativo utilizando ensayos biológicos in vitro. Química analítica. Elsevier. Vol.111, Núm. 1. Pág.98-105. Noviembre, 2008. [Acceso el 14 de Junio del 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608003361>
6. Chirinos R., Campos D., Costa N., Arbizu C., Pedreschi R., Larondelle Y. Perfiles fenólicos de los tubérculos andinos mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón): Identificación por HPLC-DAD y evaluación de su actividad antioxidante. Química de alimentos. Elsevier. Vol.106, Núm. 3. Pág.1285-1298. Febrero 2008. [Acceso el 14 de Junio del 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881460700708X>
7. Barrera V., Tapia C., Monteros A. Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003). Raíces y Tubérculos Andinos: Alternativas para la conservación y uso sostenible en el Ecuador. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). Lima- Perú. 2004. [Acceso el 15 de Junio del 2018]. Disponible en: <http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/Ra%C3%ADces%20y%20Tub%C3%A9rculos%20Alternativas%20para%20el%20uso%20sostenible%20en%20Ecuador.pdf>
8. Manrique I., Arbizu C., Vivanco F., Gonzales R., Ramírez C., Chávez O., Tay D., Ellis D. *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. Catálogo de la colección de germoplasma de mashua conservada en el Centro Internacional de la Papa (CIP). Centro internacional de la papa. Lima-Perú. Noviembre, 2014. [Acceso el 15 de Junio del 2018]. Disponible en: <https://cgspace.cgiar.org/bitstream/handle/10568/65110/78185.pdf?sequence=2>

9. Aruquipa R, Trigo R, Bosque H, Mercado G, Condori J. El Isaño (*Tropaeolum tuberosum*) un cultivo de consumo y medicina tradicional en Huatacana para el beneficio de la población boliviana. Vol. 3(2):146-151. Facultad de Agronomía, UMSA. Julio-Diciembre, 2017. [Acceso el 16 de Junio del 2018]. Disponible en: http://www.revistasbolivianas.org.bo/pdf/riarn/v3n2/v3n2_a04.pdf
10. Avello M, Suwalsky M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea* 494. II semana. 161-172. Agosto, 2009. [Acceso el 17 de Junio del 2018]. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/atenea/n494/art10.pdf>
11. Valls V. El papel antioxidante de los alimentos de origen vegetal. *Vitaminas y polifenoles*. Facultad de Medicina. Universidad de Valencia. Octubre, 2009. [Acceso el 16 de Junio del 2018]. Disponible en: http://revista.nutricion.org/hemeroteca/revista_agosto_03/Funcionales/vegetales, vitaminas, polifenoles.pdf
12. Lima L. Estrés oxidativo y antioxidantes: Actualidades sobre los antioxidantes en los alimentos. Investigadora Titular del Centro Nacional de Medicina Natural y Tradicional. Universidad de la Habana, Cuba. Octubre, 2004. [Acceso el 17 de Junio del 2018]. Disponible en: http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/estres_oxidativo_y_antioxidantes.pdf
13. Pérez F., León G., Rodríguez F., Vásquez L. Estudio fitoquímico preliminar de plantas medicinales del norte del Perú. *Pueblo cont.* 22(2) 2011. [Acceso el 18 de Junio del 2018]. Disponible en: <https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=12&ved=0ahUKEwiAgKrQ6fvbAhWI2IMKHbsBC4kQFghaMAs&url=http%3A%2F%2Fjournal.upao.edu.pe%2FPuebloContinente%2Farticle%2Fdownload%2F435%2F400&usq=AOvVaw3qZMTDX6NhNtaNJ80jdaCI>
14. Miranda M, Cuellar A. *Manual de Prácticas de Laboratorio, Farmacognosia y Productos Naturales*. Cuba: Instituto de Farmacia y Alimentos; 2000.
15. Ojeda M. Determinación de la capacidad antioxidante del aceite híbrido de palma en diferentes estados de maduración. Pontificia Universidad Javeriana. Mayo, 2014. [Acceso el 19 de Junio del 2018]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/16066/GomezSalgueroDaniela2014.pdf?sequence=1>
16. Sousa C., Silva HR, Vieira-Jr GM., Ayres MCC., Costa C da., Araújo DS., et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quím Nova*. 2007; 30(2):351–355. [Acceso el 10 de Junio del 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/qn/v30n2/20.pdf>
17. Hernández S., Fernández C., Baptista L. *metodología de la investigación*. Cuarta edición. México DF. McGraw-Hill interamericana, 2006.
18. OMS. *Estrategia de la OMS sobre la medicina tradicional 2002 – 2005*, Organización Mundial de la Salud Ginebra. Suiza. 2002. [Acceso el 05 de Marzo del 2018]. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/67314/1/WHO_EDM_TRM_2002.1_spa.pdf
19. Angulo P. *La medicina tradicional en el desarrollo de Fitomedicamentos*. Primera edición. Editorial del mar EIRL. 2004.


20. Calsin M., Aro J., Tipacti Z. Evaluación de la eficacia de antioxidantes de Isaño (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz&Pavón) en la oxidación de aceite de soya. Rev. Investig. Altoandin. 2016; Vol. 18 Nro. 2: 143 – 150. [Acceso el 19 de Junio del 2018]. Disponible en: <https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&ved=0ahUKEwiHusXBtZDcAhUBmuAKHZHmAE0QFgg6MAI&url=https%3A%2F%2Fdialnet.unirioja.es%2Fdescarga%2Farticulo%2F5560555.pdf&usq=A0vVaw3dznqtuVmhBzeYByoSFqpl>
21. Inostroza L., Castro A., Hernández E., Carhuapoma M., Yuli R., Collado A., Córdova J. Actividad antioxidante de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón (mashua) y su aplicación como colorante para yogur. Universidad Mayor de San Marcos. Ciencia e Investigación 18(2):83-9. 2015. [Acceso el 17 de Junio del 2018]. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/13615>
22. Pérez F., León G., Rodríguez F., Vásquez L. Estudio fitoquímico preliminar de plantas medicinales del norte del Perú. Pueblo cont. 22(2) 2011. [Acceso el 18 de Junio del 2018]. Disponible en: <http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/1592/Taipe%20Quispe%20-%20TESIS%20%282%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
23. Taípe L. Fenoles totales y actividad antioxidante en mashua (*Tropaeolum tuberosum*) en estado fresco, soleado y cocido de las variedades amarillo zapallo y negra. Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo, Perú 2017. [Acceso el 19 de Junio del 2018]. Disponible en: <http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/1592/Taipe%20Quispe%20-%20TESIS%20%282%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
24. Aillón C. Estudios de actividad antioxidante en fracciones provenientes de dos plantas medicinales ecuatorianas: extracto hidroalcohólicos de Mashua *Tropaeolum tuberosum* (Ruiz & Pavón) tropaeolacea y aceite esencial de congona *Paperomia inaequalifolia* (Ruiz & Pavón) *piperaceae*. Universidad Politécnica Salesiana sede Quito. Enero, 2014. [Acceso el 20 de Junio del 2018]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/9903/1/QT08034.pdf>
25. Jurado B., Mercedes I., Villareal L., Ramos E., Calixto M., Hurtado P., Acosta K. Evaluación del contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de los frutos de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) de diferentes lugares del Perú. Rev Soc Quím Perú. 82(3) 2016. [Acceso el 20 de Junio del 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v82n3/a03v82n3.pdf>
26. Leyva D. Determinación de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en licores y fruto de mora. Universidad tecnológica de la Mixteca. Huajuapán de León, Oaxaca, México. Setiembre, 2009. [Acceso el 21 de Junio del 2018]. Disponible en: http://jupiter.utm.mx/~tesis_dig/10876.pdf
27. Reátegui P., Ramírez J. Actividad antioxidante *in vitro*, determinación de polifenoles totales de raíz de *Physalis angulata* L. (bolsa mullaca), Iquitos-2013. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Iquitos, Perú. 2014. [Acceso el 22 de Junio del 2018]. Disponible en:

http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3679/Paola_Tesis_Titulo_2014.pdf?sequence=1&isAllowed=y

28. Cuenca M. Determinación de la actividad antioxidante de especies medicinales de la provincia de Loja y Zamora Chinchipe. Universidad Técnica particular de Loja. Ecuador, 2015. [Acceso el 25 de Junio del 2018]. Disponible en:
<http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/11569/1/Cuenca%20Alvarado%20Marco%20Inicio.pdf>

ANEXOS

Anexo 1. Certificado de descripción taxonómica de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón "mashua negra". Ayacucho, 2018



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE "SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA"

C E R T I F I C A

Que, la Bachiller en Farmacia y Bioquímica Srta. Paulina, VILCHEZ PILLACA, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis. Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988 y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ROSIDAE
ORDEN	:	GERANIALES
FAMILIA	:	TROPAEOLACEAE
GENERO	:	Tropaeolum
ESPECIE	:	<i>Tropaeolum tuberosum</i> R. & P.
N.V.	:	"mashua negra"

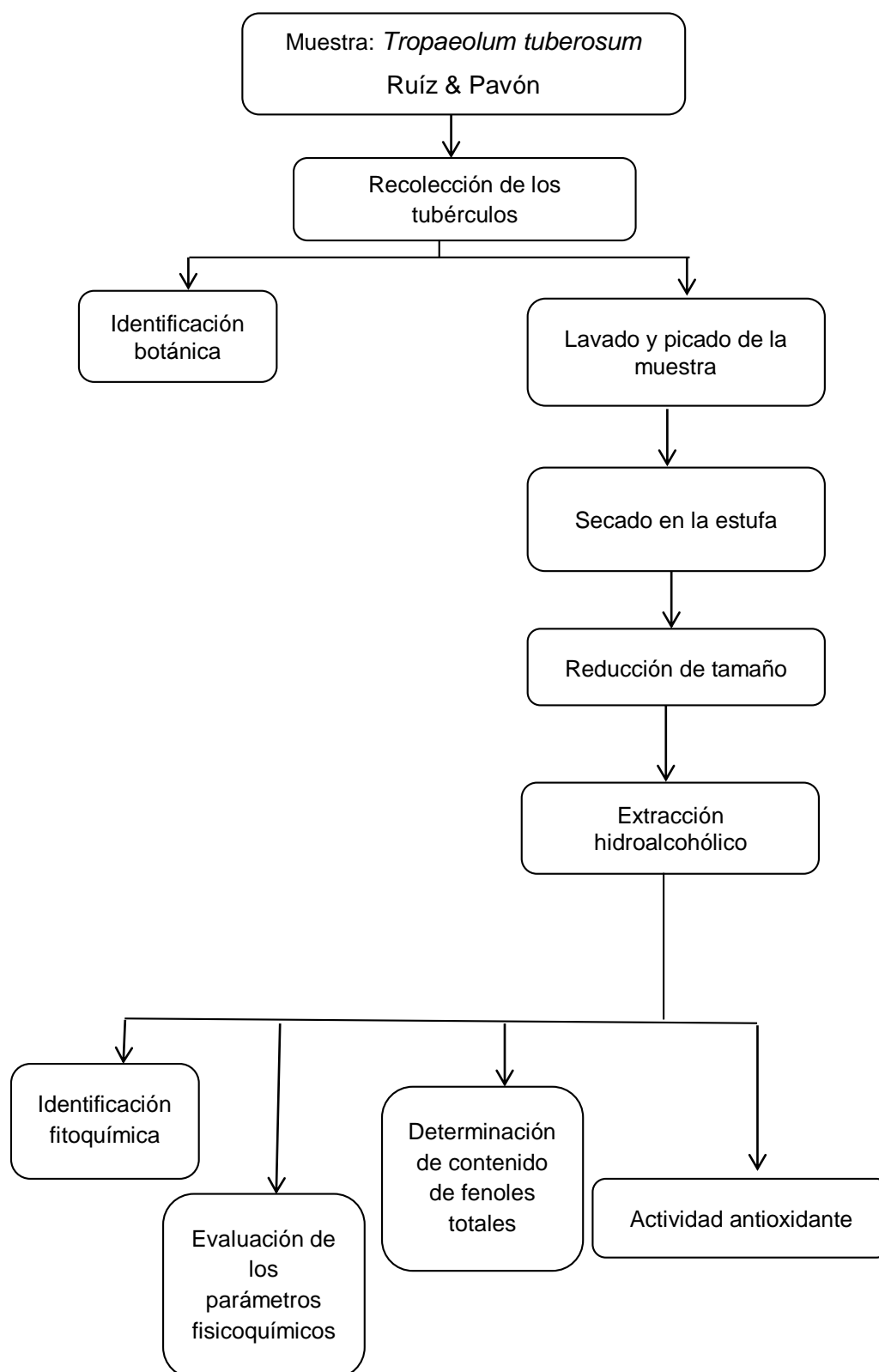
Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 11 de Setiembre del 2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

E. Laura Guzmán Medina
JEFE

Anexo 2. Flujograma de procedimientos del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón “mashua negra”. Ayacucho, 2018.



Anexo 3. Métodos de análisis fisicoquímico del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra”. Ayacucho, 2018

Determinación de la solubilidad	Determinación del pH
Se pesará un gramo de muestra y se vaciará en un tubo de ensayo, luego se adicionará 1ml de solvente (agua, alcohol y cloroformo), agitará y se observará, en caso de no disolverse se aumentará el disolvente.	Se preparará una solución reguladora de pH, para rango de 0-7 preparada de la siguiente forma: 2,5 g de bitartrato de potasio para 250 ml de agua (pH = 3,5). Una vez preparada la solución reguladora se ajustará al equipo al rango en que se utilizará la determinación. Luego se determinará el pH de la muestra.

Anexo 4. Resultados de la identificación fitoquímica de *Tropaeolum tuberosum*
Ruíz & Pavón "mashua negra". Ayacucho, 2018



Anexo 5. Procedimiento de la obtención del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra”. Ayacucho 2018



Anexo 6. Determinación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra”. Ayacucho 2018



Anexo 7. Análisis de varianza de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra”.
Ayacucho 2018

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3631,9	14,0	259,4	385,6	0,0
Dentro de grupos	20,2	30,0	0,7		
Total	3652,1	44			

Si: Sig. < 0,05: Por lo menos uno de los tratamientos es diferente al resto

Anexo 8. Comparaciones múltiples de la prueba de Duncan de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra”. Ayacucho 2018. Ayacucho 2018

Tratamiento	N	Subconjuntos homogéneos %AA										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Anco 150 µg/mL	3	68,2										
Vinchos 150 ug/mL	3		72,6									
Tambo 150µg/mL	3		73,6									
Anchacchuasi 150 µg/mL	3			77,2								
Ancco 200 µg/mL	3				78,7							
Vinchos 200 µg/mL	3					82,9						
Tambo 200 µg/mL	3						84,7					
Vinchos 250 µg/mL	3							89,6				
Anchacchuasi 250 µg/mL	3							90,8	90,8			
Anchacchuasi 200 µg/mL	3								91,1	91,1		
Ancco 250 µg/mL	3								91,8	91,8		
Tambo 250 µg/mL	3									92,5		
Trolox 150 µg/mL	3										95,6	
Trolox 200 µg/mL	3										95,6	
Trolox 250 µg/mL	3										96,0	
Anchacchuasi 250 µg/mL		1,00	0,12	1,00	1,00	1,00	1,00	0,09	0,14	0,06	0,64	

Anexo 9. Análisis de varianza de la Concentración de inhibición del radical libre DPPH (CI50) del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón “mashua negra”. Ayacucho 2018

Tratamiento	Suma de cuadrados	GI	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3944,0	4	986,0	382,8	6,9 x 10 ⁻¹¹
Dentro de grupos	25,8	10	2,6		
Total	3969,8	14			

Si: Sig. < 0,05: Por lo menos uno de los tratamientos es diferente al resto

Anexo 10. Comparaciones múltiples de la prueba de Duncan de la CI50 del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón “mashua negra”. Ayacucho 2018

Tratamiento	N	Subconjuntos homogéneos %AA			
		1	2	3	4
Trox	3	41,2			
Anchacchuasi	3		72,4		
Tambo	3			80,0	
Vinchos	3			80,5	
Ancco	3				87,2
Sig.		1,00	1,00	0,76	1,00

Anexo 11

Matriz de consistencia

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	MARCO TEÓRICO	METODOLOGÍA
Actividad antioxidante <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón "mashua negra" de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho, 2017.	¿Tendrá actividad antioxidante <i>in vitro</i> el extracto hidroalcohólico de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón "mashua negra" de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho?	<p>General:</p> <ul style="list-style-type: none"> Determinar la actividad antioxidante <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón "mashua negra" de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho. <p>Específico:</p> <ul style="list-style-type: none"> Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón "mashua negra" de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho. Evaluar los parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón "mashua negra" de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho. Determinar la cuantificación de fenoles totales del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón "mashua negra" de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho. Evaluar la actividad antioxidante de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón "mashua negra" de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho. 	Los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón "mashua negra" de cuatro zonas productoras de la región Ayacucho tienen actividad antioxidante <i>in vitro</i> .	<p>Variable Independiente:</p> <p>Extracto hidroalcohólico de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón "mashua negra".</p> <p>Indicador:</p> <p>Concentraciones de, 150, 200 y 250 µg/mL.</p> <p>Variable Dependiente:</p> <p>Actividad antioxidante.</p> <p>Indicador:</p> <p>Porcentaje de Actividad antioxidante (% AA).</p>	<p><i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón</p> <p>Clasificación taxonómica</p> <p>Descripción botánica</p> <p>La mashua es una planta anual, herbácea, glabra en todas sus partes, de crecimiento inicialmente erecto que luego varía a semiprostrado y trepadora ocasionalmente mediante los pecíolos táctiles.</p> <p>Hábitat</p> <p>Usos medicinales</p> <p>Composición química</p> <p>Radicales libres</p> <p>Estrés oxidativo</p> <p>Antioxidantes</p>	<p>Nivel de investigación</p> <p>Básica-Experimental</p> <p>Población: Especie de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón "mashua negra", del distrito de Vinchos, Centro poblado de Anchacchuasi (3400 m.s.n.m.), provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho. Especie de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón "mashua negra", del distrito de Vinchos, Centro poblado de Corazón de Naupas (3400 m.s.n.m.), provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho. Especie de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón "mashua negra", del distrito de Tambo (3500 m.s.n.m.), Anexo de Usmay, provincia La Mar, departamento de Ayacucho. Especie de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón "mashua negra", del distrito de Anco, Comunidad Nueva Jerusalén (3700 m.s.n.m.), provincia La Mar departamento de Ayacucho. Todas que cumplan con ciertos criterios: las hojas no estén maltratadas, las hojas estén libre de plaguicidas.</p> <p>Muestra: 2 kg de tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón "mashua negra", recolectadas del Distrito de Vinchos, Centro poblado de Anchacchuasi. Por otro lado 2 kg de tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón "mashua negra", recolectadas del Distrito de Vinchos, Centro poblado de Corazón de Naupas. También 2 kg de tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón "mashua negra", recolectadas del Distrito de Tambo, Anexo de Usmay. Por último 2 kg de tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón "mashua negra", recolectadas del Distrito de Anco, Comunidad Nueva Jerusalén.</p> <p>Diseño experimental</p> <p>Las concentraciones elaboradas serán sometidas al efecto antioxidante, cada uno con tres repeticiones para cada grupo.</p> <p>Análisis estadístico</p> <p>Los resultados se expresan en cuadros y gráficos. La diferencia significativa que existe entre los tratamientos son evaluados a través del Análisis de Varianza (ANOVA) con un nivel de significancia estadística de 0.05. Las comparaciones entre cada tratamiento se hicieron a través de la prueba de Duncan (SPSS versión 21).</p>