

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**Actividad antioxidante del extracto etanólico del
germinado de cuatro variedades de *Chenopodium
quinoa* Willd, “quinua”. Ayacucho 2015.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

Presentado por el:

Bach. CÉSAR HUAMÁN, Wilder Rofer

AYACUCHO - PERÚ

2016

A mis padres y a mi hermano, por los
gratos momentos que pasamos cuando
estamos todos juntos.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, mi Alma Mater, por acogerme y brindarme una formación profesional.

A los amigos que durante los inicios fueron de apoyo mutuo e inolvidables momentos.

A la Facultad de Ciencias de la Salud y en especial a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, forjadora de profesionales competentes, de calidad humana y por haberme dado la oportunidad de lograr esta noble profesión.

Un reconocimiento especial al Mg. Q.F. Enrique Aguilar Felices y Q.F. Roxana León Aronés, por su generosidad al brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia que hicieron posible el desarrollo y culminación de esta investigación.

A aquellas personas que directa o indirectamente han contribuido en la materialización del presente trabajo.

De todos ellos me considero deudor no solo por su estímulo, a veces por la franca crítica merecida al trabajo, sino también por la visión y perspectiva que sólo un verdadero experto puede aportar.

ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes del estudio	3
2.2. Antecedentes generales de la especie	5
2.3. Antioxidantes y radicales libres	7
2.4. Los compuestos fenólicos	11
III. MATERIAL Y MÉTODOS	15
3.1. Ubicación del trabajo de investigación	15
3.2. Definición de la población y muestra	15
3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos	15
3.3.1. Obtención del germinado	15
3.3.2. Preparación del extracto etanólico	15
3.3.3. Determinación del contenido de fenoles totales	16
3.3.4. Determinación de la capacidad antioxidante	16
3.4. Análisis de datos	18
IV. RESULTADOS	19
V. DISCUSIÓN	23
VI. CONCLUSIONES	29
VII. RECOMENDACIONES	31
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
IX. ANEXOS	39

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Clasificación de compuestos fenólicos de las plantas	13
Tabla 2. Certificado de identificación botánica de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua”.	40
Tabla 3. Análisis de varianza factorial del porcentaje de la capacidad secuestradora del DPPH del extracto etanólico de cuatro variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua”.	54
Tabla 4. Análisis de varianza factorial del contenido de fenoles totales del extracto etanólico del germinado de cuatro variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua”.	55
Tabla 5. Prueba de Tukey para fenoles totales (mg%) del extracto etanólico del germinado de cuatro variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua”.	56
Tabla 6. Porcentaje de capacidad secuestradora del DPPH del extracto etanólico del germinado de cuatro variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua”.	57
Tabla 7. Contenido de compuesto fenólicos totales presentes en el extracto etanólico del germinado de cuatro variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua”.	58
Tabla 8. Matriz de consistencia.	59

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Ejemplos de estructuras de compuestos fenólicos.	12
Figura 2. Secuestramiento del DPPH (radical libre) por un compuesto fenólico (secuestrador de radical libre).	17
Figura 3. Porcentaje de actividad secuestradora del radical libre DPPH del extracto etanólico de cuatro variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua".	20
Figura 4. Porcentaje de fenoles totales presentes del extracto etanólico de cuatro variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua".	21

ÍNDICE DE ANEXOS

		Página
Anexo 1.	Certificado de identificación botánica de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua”.	40
Anexo 2.	Flujograma de procedimiento de cuantificación de compuestos fenólicos totales y determinación de actividad antioxidante de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua”.	41
Anexo 3.	Fotografías de semillas de las cuatro variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua roja” (a), “quinua negra” (b), “quinua amarilla” (c), “quinua blanca” (d).	42
Anexo 4.	Fotografías del germinado de las semillas de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua roja” (a), “quinua negra” (b), “quinua amarilla” (c), “quinua blanca” (d).	43
Anexo 5.	Fotografía de los germinados deshidratados y triturados de cuatro variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua roja” (a), “quinua negra” (b), “quinua amarilla” (c), “quinua blanca” (d).	44
Anexo 6.	Extracción etanólica mediante aparato soxleth de las cuatro variedades de semillas germinadas deshidratadas y trituradas de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua roja” (a), “quinua negra” (b), “quinua amarilla” (c), “quinua blanca” (d).	45
Anexo 7.	Fotografías de los extractos secos de los germinados de las semillas de cuatro variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua”.	46
Anexo 8.	Reactivos usados en la evaluación de la actividad antioxidante del germinado de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd, metanol para la disolución del extracto seco (a), Reactivo DPPH (b).	47
Anexo 9.	Muestras diluidas para realizar la prueba de actividad antioxidante a tres diferentes concentraciones.	48
Anexo 10.	Preparación por triplicado para evaluar la actividad antioxidante del germinado de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua roja” (a) y “quinua negra” (b), de derecha a izquierda (100 µg/mL, 50 µg/mL, 10 µg/mL).	49

Anexo 11.	Preparación por triplicado para evaluar la actividad antioxidante del germinado de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua amarilla” (a) y “quinua blanca” (b), de derecha a izquierda (100 µg/mL, 50 µg/mL, 10 µg/mL).	50
Anexo 12.	Reactivos usados en la cuantificación del contenido de fenoles totales del germinado de cuatro variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.	51
Anexo 13.	Preparación después de agregar los reactivos correspondientes para determinar fenoles totales de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua” (a) y la identificación de fenoles totales con cloruro férrico (b).	52
Anexo 14.	Curva de calibración con el ácido caféico como estándar a longitud 550 nm.	53
Anexo 15.	Análisis de varianza factorial del porcentaje de la capacidad secuestradora del DPPH del extracto etanólico de cuatro variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. “quinua”.	54
Anexo 16.	Análisis de varianza factorial del contenido de fenoles totales del extracto etanólico del germinado de cuatro variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. “quinua”.	55
Anexo 17.	Prueba de Tukey para fenoles totales del extracto etanólico del germinado de cuatro variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. “quinua”.	56
Anexo 18.	Porcentaje de capacidad secuestradora del DPPH del extracto etanólico del germinado de cuatro variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua”.	57
Anexo 19.	Contenido de compuesto fenólicos totales presentes en el extracto etanólico del germinado de cuatro variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua”	58
Anexo 20.	Matriz de consistencia.	59

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue determinar la capacidad antioxidante del *Chenopodium quinoa Willd*, “quinua” y así como cuantificar según el contenido de fenoles totales. La actividad antioxidante se midió mediante el método de captación del radical libre (DPPH) de cuatro variedades de quinua a concentraciones: 100 µg/mL, 50 µg/mL y 10 µg/mL de las cuales resaltamos que a 100 µg/mL los resultados fueron 98,3%, 86,8%, 85,8% y 84,9% para la quinua negra, amarilla, roja y blanca respectivamente. Para la concentración siguiente fue 86,1%, 76,6%, 71,2% y 68,4% para las cuatro variedades respectivamente y a 10µg/mL se obtuvo un promedio de 52,9%, 47,3%, 45,5%, 31,7% en el orden mencionado anteriormente; del cual resaltamos que en las cuatro variedades la variedad negra collana reporta mayor capacidad antioxidante. El contenido de fenoles totales se midió utilizando el reactivo Folin-Ciocalteu y se expresa en “mg equivalente de ácido caféico por 100g de extracto seco”; siendo la quinua amarilla la de mayor cantidad de compuestos fenólicos con 325.448 mg, la quinua roja con 276.876 mg, seguida de la quinua negra 266.210 mg y la quinua blanca con 254.019 mg presenta menor cantidad. Concluyéndose que son estadísticamente diferentes para las cuatro variedades de quinua.

Palabras claves: *Chenopodium quinoa Willd*, quinua, actividad antioxidante, DPPH.

I. INTRODUCCIÓN

El Perú es un país megadiverso en el reino vegetal, en las zonas andinas, es un centro originario de una gran cantidad de especies alimenticias, medicinales con un interés por investigar las propiedades de un sinfín de vegetales endémicas y domesticas por culturas originarias de estas zonas, podemos mencionar por ejemplo a la quinua, como la planta emblema que ha formado parte en la cultura peruana andina. La gran variedad de sus especies fueron utilizadas por los antiguos pueblos, tanto en el territorio peruano como en países vecinos alto andino. La quinua constituye un producto de excepcionales cualidades nutritivas, cuyo cultivo se adapta fácilmente a las nuevas exigencias de los mercados por ser un alimentos de origen orgánico, por ello existen el interés de los agricultores, empresas agroindustriales, instituciones públicas y privadas, nacionales e internacionales.

En los últimos años, la prevención del cáncer con el consumo de frutas, cereales y vegetales se ha ido relacionando, siendo el punto focal de la investigación científica. Este interés se debe a la búsqueda específica de los compuestos contenidos en vegetales que proporcionan beneficios a la salud del consumidor. Contienen estos alimentos vitaminas, minerales y fibra; también son fuente rica en compuestos bioactivos conocidos como fitoquímicos. Los compuestos fenólicos son sustancias que estando en bajas concentraciones en los alimentos pueden prevenir algunos de los procesos implicados en el desarrollo de cáncer y enfermedades cardiovasculares. Sin embargo, la evidencia de su papel en la prevención de otras enfermedades degenerativas requiere de un mayor soporte científico no sólo mediante estudios in vitro, sino in vivo.

Los germinados de la quinua o de otro cereal proveen múltiples beneficios nutricionales y terapéuticos a quienes los consumen ya que las vitaminas, minerales, proteínas, carbohidratos, ácidos grasos y enzimas, aumentan y se encuentran más disponibles transformándose en una de la mejores fuentes de

antioxidantes, controlando la proliferación de radicales libres, especies altamente reactivas de oxígeno y nitrógeno que pueden favorecer la alteración genética del ADN sobre la piel y el intestino, contribuyendo al incremento del riesgo de contraer cáncer o reducir la funcionalidad de las células del hígado, una característica propia del envejecimiento.

El presente trabajo pretende determinar la actividad antioxidante y comparación de los compuestos fenólicos en cuatro variedades de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua roja, quinua negra, quinua amarilla y quinua blanca” a partir del germinado de las semillas, de esta manera incentivar a la población peruana otra nueva alternativa al consumo del germinado, donde se aprovecha un mayor porcentaje de enzimas y antioxidantes que este producto puede ofrecer en la prevención del cáncer y el envejecimiento prematuro.

Por consiguiente, se planteó el presente trabajo de investigación los siguientes objetivos:

Objetivo general

- Determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico del germinado de las variedades de *Chenopodium quinoa* Willd, “quinua”

Objetivos específicos

- Cuantificar el contenido de compuestos fenólicos totales del germinado de cuatro variedades de *Chenopodium quinoa* W., “quinua”.
- Evaluar la capacidad antioxidante de las cuatro variedades del germinado de *Chenopodium quinoa* W., “quinua”.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

Repo R. et al., investigaron los compuestos antioxidantes fenólicos y selenio en los granos de la quinua blanca (*chenopodium quinoa willd*). El resultado obtenido fue el contenido de selenio supera los valores de 0.01 – 0.50 mg Se/Kg y la capacidad antioxidante través del ensayo DPPH reporta un valor inferior de 0.25 ± 0.02 µmol ET/g muestra.¹

Choque M., se determinó la composición de los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de los cereales nacionales andinos, logrando evaluar el mayor contenido de compuestos fenólicos fue la quinua de la variedad pasankalla (139, 94 mg ácido gálico/100 g); entre otros cereales, tales como kañiwa (85, 71 mg ácido gálico/100 g); y en muestras de con (30, 41 mg ácido gálico/100 g). La mayor capacidad antioxidante medida por el radical DPPH en las muestras fue el de la quinua variedad pasankalla (2400, 55 µg trolox/g).²

2.1.1. Sucinta historia del cultivo de la quinua

La quinua, (*Chenopodium quinoa Willd*), es un grano de la familia Chenopodiaceae que crece en la región alto andina de Perú, hasta los 4000 m.s.n.m. en los Andes, aunque su difusión se incrementa a partir de los 2500 m.s.n.m. Se produce en las zonas andinas de Argentina, Bolivia, Chile, Colombia y Ecuador. Bolivia es el primer productor mundial seguido de Perú. Se le denomina pseudocereal porque no pertenece a la familia de las gramíneas en la que están los cereales. Por coherencia científica denominamos a la quinua y a la cañihua “granos andinos”. Debido a su alto contenido de almidón sus usos son similares a los de un cereal.³

Es uno de los cultivos más antiguos de la región andina, con aproximadamente 3500 años a.c; en cuya domesticación y conservación han participado culturas como la civilización del imperio inca. Se han encontrado hallazgos arqueológicos de Perú en las tumbas de indígenas, este hecho demostró que el cultivo de esta

planta data de épocas aún más antiguas. Fue cultivada en la región centro-andina por las culturas precolombinas y sus granos han sido utilizados en la dieta de las poblaciones de distintas regiones incaico.⁴

2.1.2. Sucinta historia del tema de los antioxidantes

Los radicales libres son agentes tóxicos, generadores de patologías, postulados básicos:

- Los radicales libres constituyen un mecanismo molecular común de daño cuando los animales de experimentación son sometidos a altas presiones de oxígeno y a radiaciones ionizantes.
- El desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes produce efectos tóxicos.
- La producción de radicales libres es un fenómeno continuo con implicaciones en el envejecimiento y la carcinogénesis.⁵

Todos los seres vivos que utilizan el oxígeno para la generación de energía liberan radicales libres, lo que es incompatible con la vida a menos que existan mecanismos de defensa contra estas especies. Esta defensa se realiza a través de los antioxidantes y considera a cualquier sustancia que en concentraciones normales, posee una afinidad mayor que cualquier otra molécula para interacciones con un radical libre.⁶

El antioxidante al entrar en interacción química con el radical libre le capta carga electrónica, debilita su acción y en algunos casos como la vitamina E, puede regenerar la forma primitiva en forma similar a la acción de otros antioxidantes.⁷

La clasificación de los antioxidantes se divide en:

1. Exógenos o antioxidantes que ingresan a través de la cadena alimentaria. La vitamina E y C, el β -caroteno, flavonoides y licopeno; son encontrados en nuestra flora, y por esa razón son las fuentes naturales más ricas en sustancias antioxidantes, muchas conocidas por la medicina popular y valorizadas desde el punto de vista científico. También los oligoelementos como Zn, Se, Mn, Fe, etc., encontrados en las plantas se necesita incorporarlos en la dieta, pues forman parte del núcleo activo de las enzimas antioxidantes.
2. Endógenos que son sintetizados por la célula como las enzimas glutatión oxidas, superóxido dismutasa.⁸

Los alimentos tienen propiedades antioxidantes cuando son capaces de neutralizar la acción oxidante de una entidad molecular inestable, los radicales libres, sin perder su propia estabilidad electroquímica. Son un grupo amplio de

compuestos: vitamina, compuestos fenólicos, minerales, colorantes naturales y enzimas.⁹

Los radicales libres son productos naturales intermediarios del metabolismo que dentro de la homeostasis metabólica normal son regulados por la acción de una serie de enzimas y vitaminas como la superóxido dismutasa y la glutatión peroxidasa, aparte del efecto de algunas vitaminas (C y E) y oligoelementos, como el zinc y el selenio.⁶

2.1.3. Origen y distribución

La quinua, botánicamente fue descrita por primera vez por Wildenow en 1778, como una especie nativa de sud américa, teniendo como centro de origen a los andes de Perú y Bolivia.¹⁰

Ampliamente cultivada en toda la región andina, se la encuentra desde Colombia (Pasto), hasta el norte de Argentina (Jujuy y Salta) y Chile (Antofagasta), encontrado quinuas en la región de Concepción y que constituyen el grupo de quinuas del nivel del mar, la distribución altitudinal varía desde el nivel del mar en Chile hasta los 4000 metros en Perú y Bolivia, existiendo así quinuas de costa, valles, valles interandinos, puno y altiplano.¹¹

La quinua ha permitido considerar cuatro grandes grupos según las condiciones agroecológicas donde se desarrollan características botánicas, agronómicas y de diferentes adaptaciones. Estos grupos de quinua son de: valles interandinos, altiplano, salares y nivel del mar.¹²

2.2. Antecedentes generales de la especie

2.2.1. Taxonomía

Según el sistema de clasificación de Cronquist. 1988.¹³ de la especie se ubica en la siguiente categoría taxonómica:

REINO : PLANTAE
DIVISIÓN : MAGNOLIOPHYTA
CLASE : MAGNOLIOPSIDA
ORDEN : CARYOPHYLLALES
FAMILIA : CHENOPODIACEAE
GÉNERO : *Chenopodium*
ESPECIE : *Chenopodium quinoa* Willd
N.V. : “quinua”

Sinonimia: quinua, quinoa, arrocillo, trigo inca, kinua (en quechua), quinhua (en mapuche) y arroz del Perú.

2.2.2. Descripción botánica

La quinua es una planta anual, dicotiledónea, usualmente herbácea que alcanza unas alturas hasta 3 metros, erectas, muy ramificadas desde la base, farinosas en las partes tiernas.¹⁴

- Hojas: anchas y poliformes; pecioladas y compuestas algo gruesas, de 25-140 mm longitud por 18-72 mm lateral, según posición: las inferiores rómbicas a rómbico-ovales, variablemente sinuosas, las superiores subdeltoideo lanceoladas, enteras o con dos lóbulos laterales; pecíolo de 24-57 mm longitud.¹⁴
- Tallo: central, robusto y tiene forma cilíndrica y ramificada, cada tallo de la planta termina en una inflorescencia, comprende hojas lobuladas y quebradizas.¹⁴
- Flores: pequeñas, carecen de pétalos, hermafroditas, sésiles y dispuestas en glomérulos agrupados en racimos compactos, piramidales.¹⁴ Cáliz de 5 sépalo, fructífero con las piezas libres en la mitad superior; estambres 5; estigmas 2-3. modioliforme, de 2,1-2,2 mm de diámetro por 1,2 mm. Generalmente son bisexuales y se autofertilizan. Forman inflorescencia en forma de panoja o racimo.¹⁴
- Fruto: aquenios de forma cilíndrica lenticular de 1,8-2,0 mm de diámetro, está cubierto de un delgado pericarpio membranáceo algo farinoso de color blanco amarillento adherido a la testa seminal que contiene 4% de saponinas.¹⁴
- Semilla: horizontal, cilíndrico lenticular con brote truncado de 1,7-1,9 mm de diámetro por 0,8-0,9 mm; tegumento alveolado, con las celdillas no separadas por un fino surco de color castaño oscuro, algo lustroso. 250 a 500 semillas por panoja, circundando al cáliz, el cual tiene el mismo color que la planta.¹⁴
- Raíz: pivotante y son muy fibrosas.¹⁴

2.2.3. Distribución de la especie

La quinua es también conocida como “arrocillo”, trigo inca, kinua (en quechua), quinhua (en mapuche) y arroz del Perú.¹⁵ Es netamente sudamericana (Andes de Colombia, Perú, Ecuador, Chile, Bolivia), y se cultiva desde hace unos 3000 a 5000 años. Hay variedades de *Chenopodium* parientes de la quinua, que como el *Chenopodium album* se cultivan en zonas asiáticas desde los Himalayas, hasta Vietnam.¹⁵

2.2.4. Usos y aplicaciones de la especie

El grano de la quinua es un alimento rico, muy completo y de fácil digestión y posee los 10 aminoácidos esenciales para el consumo humano.¹⁶ Tradicionalmente los granos de quinua se tuestan y con ellos se produce harina. También pueden ser cocidos, añadidos a las sopas, usados como cereales, pastas e inclusive se fermentan para obtener cerveza y chicha de quinua, bebida blanca tradicional de los Andes.¹⁶ Cuando se cuece toma un sabor similar a la nuez.¹⁶ La harina de quinua es producida y comercializada en Perú, Bolivia y Colombia, sustituyendo muchas veces a la harina de trigo, enriqueciendo así a sus derivados como ser panes, tortas y galletas.¹⁷

2.2.5. Semilla

Determina cuatro clases, en las que el tamaño de los granos de quinua se define por la longitud de su diámetro.⁴ Clase especial: tamaño de los granos extra grande (mayores a 2.2 mm), clase primera: tamaño grande (entre 1.75 a 2.2 mm), clase segunda: tamaño de granos medianos (de 1.35 a 1.75 mm) y por último clase tercera: tamaño granos pequeños (menores a 1.35 mm).⁴ Se pueden encontrar formas cónicas, cilíndricas y elipsoidales, con un borde afilado o redondeado pertenecientes a quinuas cultivadas y silvestres respectivamente, aunque se ha identificado una cuarta forma a la que se llamó lenticular.¹⁸

2.2.6. Medicinales

La quinua es considerada ancestralmente también como una planta medicinal por la mayor parte de los pueblos tradicionales andinos.⁴ Entre sus usos más frecuentes se pueden mencionar el tratamiento de abscesos, hemorragias, luxaciones y cosmética.¹⁹ La quinua también contiene altas cantidades de magnesio, que ayuda a relajar los vasos sanguíneos, y que es utilizada para tratar la ansiedad, diabetes, osteoporosis y migraña, entre otras enfermedades.¹⁹

2.3. Antioxidantes y radicales libres

2.3.1. Antioxidantes

Se dice que los alimentos tienen propiedades antioxidantes cuando son capaces de neutralizar la acción oxidante de una entidad molecular inestable, los radicales libres, sin perder su propia estabilidad electroquímica.⁹ Los radicales libres son productos naturales intermediarios del metabolismo que dentro de la homeostasis metabólica normal son regulados por la acción de una serie de enzimas y vitaminas como la SOD-superóxido dismutasa y la GPX glutatión peroxidasa, aparte del efecto de algunas vitaminas (C y E) y oligoelementos,

como el zinc y el selenio. Al radical libre, producto de estrés de diferentes tipos, condiciones anormales de radiación, etc., se les atribuye ser causantes de los procesos de envejecimiento y de varias otras enfermedades.⁹

Los antioxidantes, por lo tanto, son un grupo amplio de compuestos: vitaminas, compuestos fenólicos, minerales, colorantes naturales y enzimas. Muchos de los antioxidantes se encuentran en alimentos vegetales, por lo que se recomienda con efecto beneficioso incluir frutas, legumbres, tubérculos, verduras y hortalizas o cereales integrales en nuestra dieta.²⁰ Millones de radicales libres bombardean diariamente nuestras células.²⁰ El hecho de que necesiten tantos años para causar daños mayores se debe a la eficacia homeostática de los sistemas enzimáticos que para neutralizarlos produce nuestro propio organismo.²¹ Nuestro sistema de protección inmunitaria está luchando contra los radicales libres en todo momento.²⁰

El problema para el organismo humano se produce cuando tiene que tolerar de forma continua en exceso de radicales libres, los cuales aparte de ser producidos por el metabolismo normal son generados por varios factores que actúan sobre o penetran en nuestro cuerpo.²¹ Las tensiones sociales, las presiones políticas y emocionales, la contaminación ambiental, la polución industrial y acústica, el humo del tabaco, los herbicidas, pesticidas, el consumo de ciertas grasas, etc., son algunos de los factores que incrementan excesivamente la generación de radicales libres.²⁰ Este exceso supera la resistencia (capacidad de reponer su homeostasis) metabólica y no puede ya ser eliminado por el cuerpo.²⁰

Los radicales libres no sólo dañan las membranas de las células, sino que llegan a destruir y mutar la información genética de las células (ácidos nucleídos), facilitando así el camino para que se desarrollen diversos tipos de enfermedades. La acción de los radicales libres está ligada al cáncer así como al daño causado en las arterias por el colesterol "malo" LDL (Low Density Lipoprotein Cholesterol), lo que relaciona directamente a las especies reactivas con las enfermedades cardiovasculares.²¹ Existen cada vez más pruebas de la intervención de los radicales libres y de otras moléculas reactivas en los procesos patológicos.²¹ La principal evidencia proviene de estudios epidemiológicos que muestran correlaciones estadísticas entre la incidencia de patologías y la presencia insuficiente por concentraciones bajas de nutrientes antioxidantes en el plasma sanguíneo o alimentos.²² Los antioxidantes ceden a

los radicales libres sus propios electrones salvando así nuestras células de sufrir daño. Entre los antioxidantes por excelencia encontramos al β -caroteno, la vitamina C, la vitamina E, y el selenio.⁹

2.3.2. Sistema de protección antioxidante

Los antioxidantes son compuestos que retrasan la oxidación de otras moléculas inhibiendo la propagación oxidativa. El antioxidante al reaccionar con el radical libre cede un electrón, se oxida y se transforma en un radical libre no tóxico.²³

2.3.3. Clasificación de los antioxidantes

- Exógenos: vitamina E, Vitamina C, Beta caroteno, Compuestos fenólicos.
- Endógenos: Glutatión peroxidasa, catalasa, Coenzima Q, Acido tioctico, subperoxido dismutasa.
- Cofactores: Cobre, Zinc, Manganeso, Hierro, Selenio.^{9, 24}

2.3.2. Radicales libres y lipoperoxidación

Los radicales libres son moléculas que en su estructura atómica presentan un electrón impar o desapareado en el orbital externo, esto lo hace muy inestable, extraordinariamente reactivo y de vida efímera, con una enorme capacidad para combinarse inespecíficamente con carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos donde rompe enlaces de estas moléculas para poder estabilizarse, formando un radical libre a la molécula usada.⁶ Cumplen numerosas funciones útiles en el organismo (de hecho, nuestro propio cuerpo los fabrica en cantidades moderadas para luchar, por ejemplo, contra las infecciones), pero en cantidades excesivas tienen el potencial de dañar nuestras células y el material genético allí contenido. Los principales radicales libres que se originan son los derivados de la respiración aeróbica y se denominan especies reactivas de oxígenos (ERO), cuyas principal fuente son las mitocondrias, los lisosomas, los peroxisomas, la membrana nuclear, citoplasma y del retículo endoplasmático, lo cual puede conducir a mutación y muerte celular.²⁴

La lipoperoxidación es la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados que induce disfunción de los organelos que puede culminar en daño estructural.²⁵ Puede ocurrir por vía enzimática o no enzimática; en la no enzimática las especies reactivas de oxígeno (ERO) inician el daño oxidativo en los lípidos resultantes propagan el proceso de la peroxidación.⁷

2.3.3. Formación de los radicales libres

- a) Fuentes endógenas: los radicales libres son elaborados continuamente como producto del metabolismo normal de cada célula e inactivados por un

conjunto de mecanismo (unos enzimáticos y otros de atrapamiento). Al elevarse las concentraciones fisiológicas de las especies reactivas de oxígeno (ROS) pueden acarrear importantes alteraciones funcionales.

- b) Fuentes exógenas: los radicales libres se producen como respuesta a la contaminación ambiental, radiación ionizante, luz ultravioleta, ciertas drogas, toxinas fúngicas, pesticidas o xenobioticos, reactivos, solventes industriales, componentes del tabaco, hiperoxia, algunas enfermedades como: diabetes, procesos inflamatorios, fenómenos de isquemia.⁶

2.3.4. Especies reactivas del oxígeno (ERO)

Son moléculas muy reactivas, tienen una vida media corta, por lo que actúan cercano al sitio en que se forma. Su gran reactividad se debe a que poseen electrones desapareados que les hace reaccionar con otras moléculas orgánicas en procesos de óxido-reducción.

Las principales especies reactivas del oxígeno son:

- Radical hidroxilo (HO^\bullet)
- Peróxido de hidrogeno (H_2O_2)
- Anión superóxido (O_2^\bullet)
- Oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$)
- Peróxido (ROO^\bullet).²⁵

2.3.5. El estrés oxidativo en la salud humana

El estrés oxidativo es un desequilibrio entre la producción de las especies reactivas de oxígeno/nitrógeno y la defensa o detoxificación de los mismos que lleva a una variedad de cambios fisiológicos y bioquímicos que ocasiona el deterioro y muerte. Es en estas condiciones que los radicales libres al ser producidos en exceso bajo ciertas circunstancias anormales como inflamación, isquemia, la presencia de iones catalíticos (Ej. Fe^{+2}), etc., o cuando disminuyen los niveles de enzimas antioxidantes, o por ambos procesos simultáneamente.²⁴

Depende no solo de la agresividad química del propio oxidante, sino también de la cantidad de estos y del tiempo de exposición, así como del tipo de tejido que sufra el efecto y la eficacia de las defensas antioxidantes existentes. En condiciones fisiológicas, en el organismo existe un equilibrio entre las sustancias oxidantes (radicales libres) y las defensas antioxidantes. Cuando se produce una mayor producción de sustancias oxidantes, los sistemas antioxidantes del organismo disminuye y aparece el denominado estrés oxidativo.²⁶

Hay evidencias que relacionan el daño oxidativo en células y tejidos con la etiología de varias enfermedades, incluyendo ciertos tipos de cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares (aterosclerosis), inflamatorias y neurodegenerativas (Parkinson y Alzheimer).²⁷ También está comprometido en enfermedades autoinmunes, incluyendo las reumáticas y el lupus eritematoso sistémico. El SIDA crea una sobreproducción de radicales libres que empeora la evolución de la enfermedad.²⁸

Estas especies reactivas de oxígeno o nitrógeno provocan daños acumulativos en moléculas afectando el funcionamiento del organismo; como proteínas, lípidos, hidratos de carbono y ácidos nucleicos, y alteran los procesos celulares, como la funcionalidad de las membranas, la producción de enzimas y la respiración celular.²⁹ No obstante, el organismo posee sus propios mecanismos de defensa para hacer frente a la acción de las especies oxidantes (por ejemplo, síntesis de glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa). Las defensas antioxidantes pueden verse desbordadas por la excesiva generación de radicales libres procedentes del oxígeno.³⁰

2.4. Los compuestos fenólicos

El término compuestos fenólicos engloba a todas aquellas sustancias que poseen varias funciones fenol, nombre popular del hidroxibenceno, unido a estructuras aromáticas o alifáticas. Únicamente, algunos compuestos fenólicos de la familia de los ácidos fenoles no son polifenoles, sino monofenoles.³¹

Son considerados metabolitos secundarios, producidos en respuesta a agentes agresores como la radiación ultravioleta, temperatura, patógenos, etc. Químicamente poseen en su estructura anillos bencénicos asociados a uno o más sustituyentes hidroxilos en forma de éster, éter, heterósidos, etc., en diferentes posiciones y combinados con unidades de azúcar. De acuerdo al número de anillos aromáticos y a los elementos ligados a estos, los compuestos fenólicos se dividen en diferentes grupos: ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos y ligninas.^{32, 33}

Son relativamente polares y tienden a ser solubles en agua, pueden ser detectados por el intenso color verde, azul o negro, que producen cuando se les agregan una solución acuosa o alcohólica al 1 por ciento de cloruro férrico.³⁴

2.4.1. Estructura química y clasificación de los compuestos fenólicos

Estructuralmente los compuestos fenólicos están constituidos por un anillo aromático bencénico, de 1 o más grupos OH, incluyendo derivados funcionales.

Su naturaleza varía desde moléculas simples, como los ácidos fenólicos, hasta compuestos altamente polimerizados como los taninos.³⁵

Según su estructura química tenemos 2 grupos:

a) No flavonoides

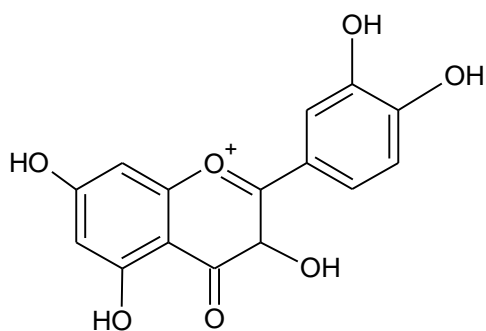
- Fenoles no carboxílicos: C₆, C₆-C₁, C₆-C₃.
- Ácidos fenoles: derivados del ácido benzoico C₆-C₁ y derivados del ácido cinámico C₆-C₃.

b) Flavonoides (C₆-C₃-C₆)

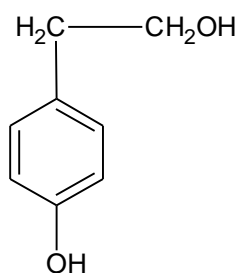
Formados por 2 grupos bencénicos unidos por un puente tricarbonado.

Subgrupos:

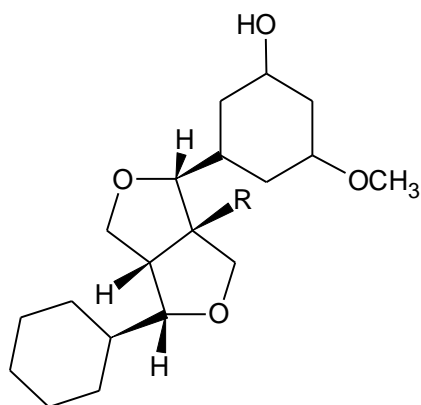
- Antocianos.
- Flaonas, flavononas, flavanoles y flavanoles.
- Flavanoles, taninos condensados y lignanos.³¹
-



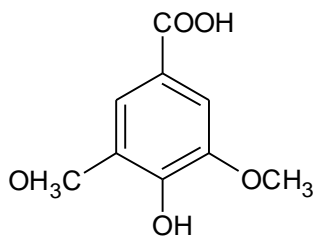
Apigenina



Tirosol



Lignano



Ácido siringico

Figura 1: Ejemplos de estructuras de compuestos fenólicos.³¹

Tabla 1. Clasificación de compuestos fenólicos de las plantas.

Clase	Estructura
Fenoles simples, benzoquinonas	C ₆
Acidos hidroxibenzoicos	C ₆ – C ₁
Acetofenonas, Acidos fenilacéticos	C ₆ – C ₂
Acidos hidroxicinámicos, Fenilpropanoides	C ₆ – C ₃
Naptoquinonas	C ₆ – C ₄
Xantonas	C ₆ – C ₁ – C ₆
Antraquinonas	C ₆ – C ₂ – C ₆
Flavonoides, Isoflavonoides	C ₆ – C ₃ – C ₆
Lignanós, Neolignanós	(C ₆ – C ₃) ₂
Biflavonoides	(C ₆ – C ₃ – C ₆) ₂
Ligninas	(C ₆ – C ₃) _n
Taninos condensados	(C ₆ – C ₃ – C ₆) _n

Fuente: clasificación de fenoles.³⁶

2.4.2. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos

La capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos se debe principalmente a sus propiedades reductoras y estructura química; frente a los radicales libres actúan en la etapa de iniciación como en la etapa de propagación del proceso oxidativo.³⁷

Los compuestos fenólicos pueden actuar como antioxidante mediante 2 mecanismos principales.

- Como anti-radicalarios: pueden actuar como donantes de átomos de hidrógeno o electrones en reacciones que rompen el ciclo de generación de nuevos radicales libres, anticipando las reacciones de terminación.
- Como quelantes de metales: Esta acción requiere la presencia de grupos hidroxilos cercanos en el anillo aromático. De este modo, los α -dihidroxifenoles son secuestradores efectivos de iones metálicos e inhiben la generación de radicales libres por la reacción de Fenton. Además de los citados, es importante considerar la protección frente a la oxidación de las grasas.

Los antioxidantes fenólicos se emplean para proporcionar bases de hidrógeno y de esta manera, inactivar el radical libre que inicia la reacción en cadena de autooxidación. Actúan típicamente como inhibidores de radicales peróxido (RO₂⁻), alcoxi (RO⁻) y alquilo (R⁻) debido a su acción reductor.³⁸

Los compuestos fenólicos atrapan radicales libres, previniendo que éstos se unan y dañen las moléculas de ácido desoxiribonucleico (DNA), un paso crítico en la iniciación de los procesos carcinogénicos.³⁷

Los antioxidantes son compuestos que impiden o retrasan la oxidación de otras moléculas a través de la inhibición de la propagación de la reacción de oxidación.¹⁸

Una de las principales propiedades de los compuestos fenólicos es su potencial antioxidante que se considera como la actividad biológica responsable de inhibir la oxidación biomolecular.³⁷

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del trabajo de investigación

El presente trabajo de investigación se desarrolló entre los meses de setiembre y octubre del 2015, en el Laboratorio de Farmacognosia, de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencia de la Salud, de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.2. Definición de la población y muestra

Población: Los germinados de las semillas de cuatro variedades correspondientes de *Chenopodium quinoa* Willd, “quinua roja”, “quinua negra”, “quinua amarilla”, “quinua blanca”, las cuales proceden de la provincia de Sucre del departamento de Ayacucho, excepto la variedad de quinua blanca donde fue adquirido en la INIA-Ayacucho.

Muestras: cinco gramos del germinado de las semillas de cuatro variedades de *Chenopodium quinoa* Willd, “quinua”. Se tomó aquellos germinados que poseía la radícula ≥ 2 mm

3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos

3.3.1. Obtención del germinado

Las semillas se lavaron en agua potable y desinfectado por 2 minutos en hipoclorito de sodio al 2% posteriormente se llevó a remojo por 6 horas, en frascos de color ámbar y fuera de la luz. Luego del remojo, las semillas se lavó con agua desinfectado y se escurrió, para ser ubicadas sobre los coladores de plástico, previamente limpias y desinfectadas para continuar con la fase de germinación, se practicó fuera de la luz, se humedeció las semillas cada 8 horas.³⁹

3.3.2. Preparación del extracto etanólico

El proceso de la germinación se detuvo cuando la radícula del germinado tenía el tamaño mayor a 2 mm y se procedió a deshidratar los germinados, para ello se procedió a cubrir con papel y almacenó en un lugar seco a una temperatura

de 25 – 27 °C fuera del alcance de la luz solar; posteriormente se molieron en un mortero hasta su pulverización. Las muestras secas y molidas se sometieron a extracción de 100mL de solución alcohólica de 96° mediante el aparato de soxhlet. Los extractos se concentraron a sequedad en un rotavapor a temperatura menor de 40°C. Los residuos secos se disolvieron con metanol para la determinación de la capacidad antioxidante y para la cuantificación de los compuestos fenólicos se disolvieron con agua destilada.

3.3.3. Determinación del contenido de fenoles totales

El contenido de fenoles totales se determinó por el método colorimétrico de Palomino L. et al ⁴⁰, con algunas modificaciones.

Procedimiento:

- Se transfirió 1 mL del extracto de cada muestra, en una fiola de 25 mL que contengan 9 mL de agua destilada.
- Seguidamente se agregó 1 mL de reactivo Folin-Ciocalteu diluido con agua destilada (1:9).
- Se agitó y luego se dejó en reposo por 5 minutos.
- Posteriormente se adicionó 10 mL de carbonato de sodio al 7 %, y se aforó con agua destilada a 25 mL.
- Después de 90 minutos en la oscuridad a temperatura de ambiente se procedió a realizar la lectura a una longitud de onda de 550 nm.
- Se realizó la curva de calibración, se usó soluciones de ácido caféico entre 100 – 500 ug/ml, preparadas a las mismas condiciones antes mencionadas.
- Se preparó el blanco a las mismas condiciones que la muestra problema usando 1 mL de agua destilada

3.3.4. Determinación de la capacidad antioxidante

Para la determinación de la capacidad antioxidante de las cuatro variedades de *Chenopodium quinoa* W., se utilizó en método de actividad secuestradora del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH).⁴¹

Fundamento

El radical libre y estable 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), es un indicador para medir la capacidad de secuestro de cualquier compuesto con actividad antioxidante. Su mecanismo de reacción consiste en la sustracción de un átomo de hidrógeno proveniente de un donador (compuesto fenólico) para generar el compuesto difenilpicrilhidrazina y una especie radical (radical fenoxil). La reacción de ensayo químico in vitro, desarrolla un cambio del DPPH que tiene un

electrón desapareado y es de color azul violáceo a amarillo por la reacción con las sustancia antioxidante, pudiendo cuantificarse la reacción espectrofotométricamente a longitud de onda de 517 nm por diferencia de absorbancia con la que se determina la capacidad del antioxidante. La reducción del DPPH sigue la siguiente reacción:

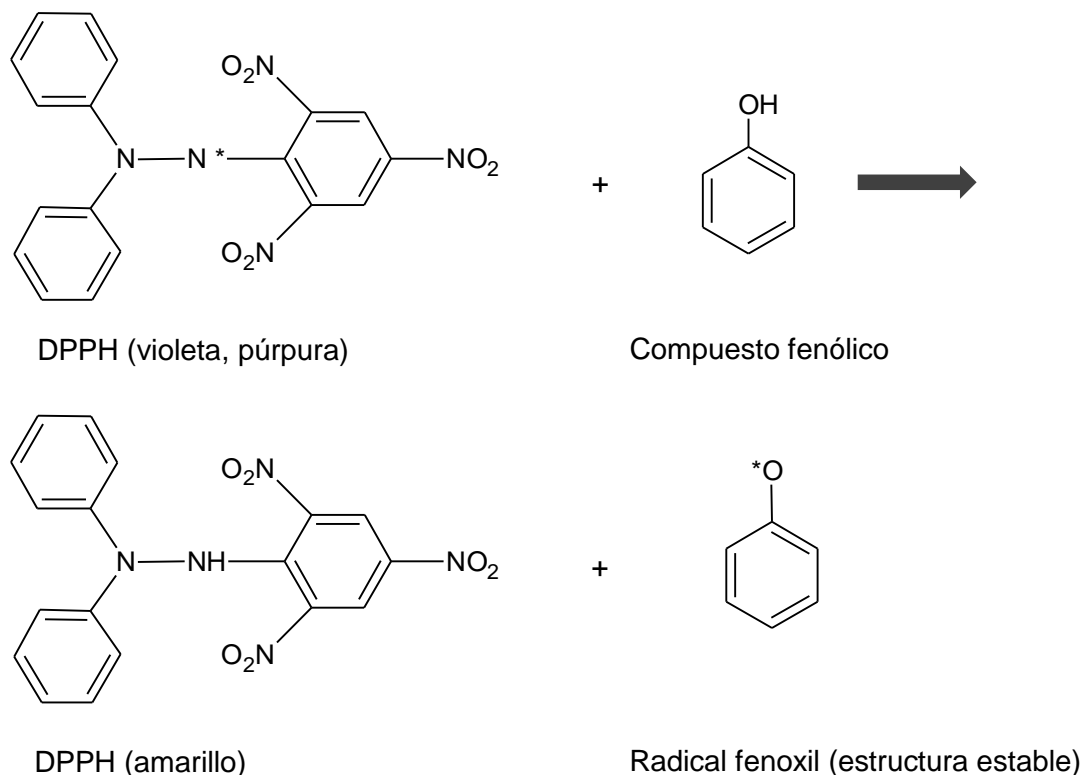


Figura 2: Secuestro del DPPH (radical libre) por un compuesto fenólico (secuestrador de radical libre).⁴²

La actividad secuestradora de radicales libres es expresada como una concentración efectiva a 50% (CE 50; la concentración de sustancia de prueba requerida para reducir la absorbancia de la solución blanco de DPPH en 50%).

Procedimiento

1. Se preparó una solución de DPPH en metanol a 20 µg/ml.
2. Se preparó una solución metanólica de los extractos en una concentración 300 µg/ml (solución A).
3. Se preparó un blanco con metanol: agua (2:1) para ajustar el espectrofotómetro a cero.
4. Se preparó un blanco de muestra con 0,75 mL de la solución A y 1,5 mL de metanol.

5. Se preparó un patrón de referencia estándar con 1,5 mL de DPPH y 0,75 mL de metanol.
6. La muestra con 0,75 mL de solución A y 1,5 mL de DPPH, obteniéndose una concentración final de 100 µg/ml, se dejó a temperatura ambiente por 5 minutos y se procedió a la lectura de la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro.
7. Luego se hicieron las lecturas de las absorbancia del patrón de referencia (1) y del blanco de la muestra (4).
8. La dilución de la solución A (2) con metanol en una proporción de 1:2 (solución B) para obtener una concentración final de 50 µg/ml y en una proporción de 1:10 (solución C) para poder obtener una concentración final de 10 ug/ml.
9. Con estas soluciones B y C se procedió igual a lo establecido en los puntos 6 y 7.
10. El cálculo de la capacidad de coloración (capacidad antioxidante de radicales libres) se realizó empleando la siguiente formula.

Calculo de la capacidad antioxidante:

$$\% \text{Capacidad Antioxidante} = \frac{A1 - (A2 - A3)}{A1} \times 100$$

Dónde:

A1: es la absorbancia del patrón de referencia.

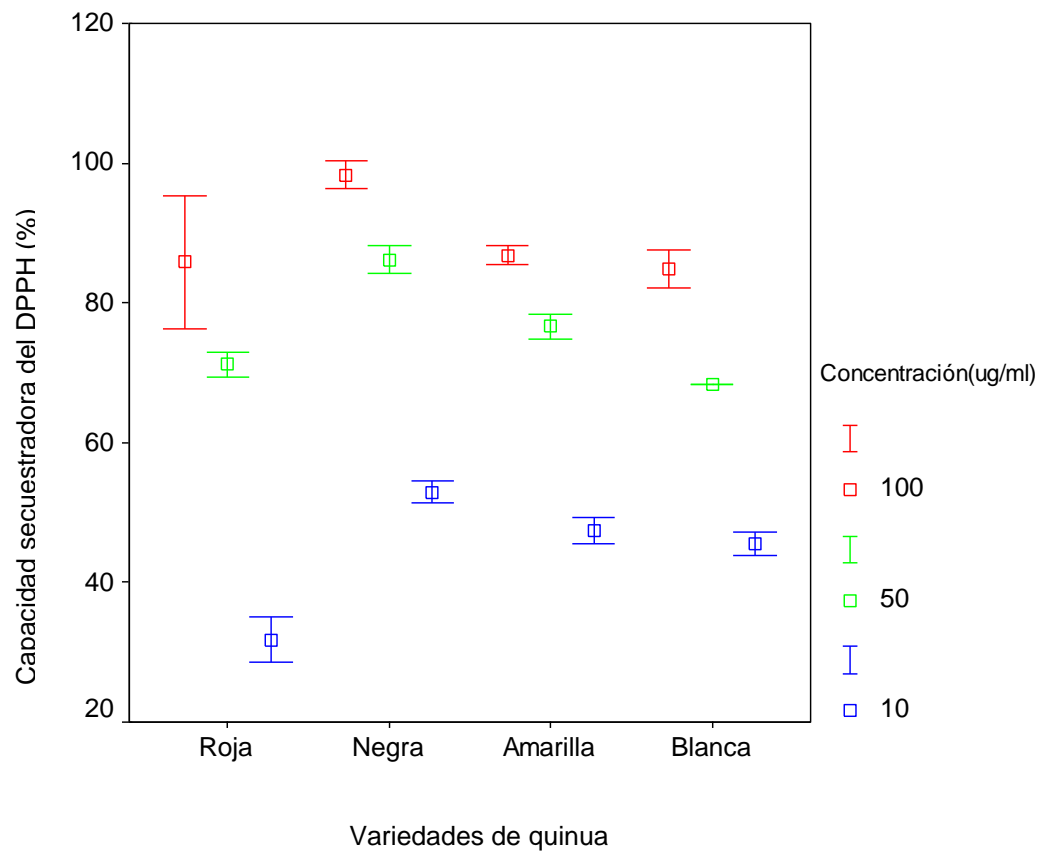
A2: es la absorbancia de la muestra

A3: es la absorbancia del blanco de la muestra

3.4. Análisis de datos

Los datos que se obtuvieron de la evaluación de los estudiados fueron procesados en una base de datos con el paquete estadístico SPSS 21. Se determinó la media y desviación estándar, y se representaron mediante gráficos en forma de histograma y barras de error. Los resultados fueron procesados por un análisis de Varianza (ANOVA) y las diferencias a un nivel de confianza de 95% (p<0,05), y la prueba de Tukey.

IV. RESULTADOS



P<0.05

Figura 3: Porcentaje de actividad secuestradora del radical libre DPPH del extracto etanólico de cuatro variedades de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua".

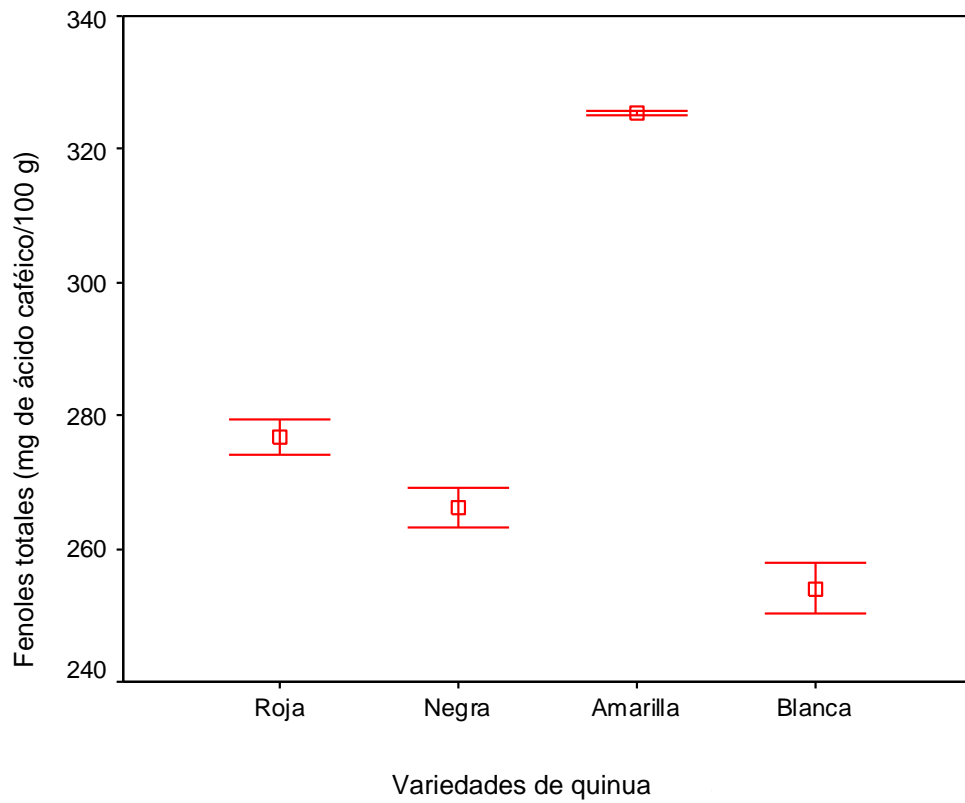


Figura 4: fenoles totales presentes del extracto etanólico de cuatro variedades de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua".

V. DISCUSIÓN

La presente investigación determina la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos en los germinados de cuatro variedades de "*Chenopodium quinoa* Willd "quinua", pertenecen la variedad de quinua negra collana, quinua roja o pasankaya, (en el anexo 3 se observa que aun contiene la testa que lo recubre de un color blanquecino), la quinua amarilla marangani, y quinua blanca Junín (ver anexo 3), esta última le fue adicionada una sustancia polvorienta para prevenir la formación de hongos o se malogren, razón por la cual se aprecia de una coloración rosada ya que fue obtenido en la INIA, que a diferencia con las demás variedades que fueron traídos de la provincia de Sucre.

Según el anexo 4, la germinación de estas semillas iniciaron en un tiempo no mayor de 6 horas, sumergido en agua potable y ambiente oscuro, sin embargo se tuvo una dificultad en la germinación de la quinua amarilla marangani, donde la germinación empezó al quinto día de remojo. Algunas publicaciones recomiendan controlar la salinidad, el PH y la temperatura del agua donde va remojarse.^{44, 45}

Para el estudio de la actividad antioxidante se empleó el espectrofotómetro UV visible con ensayos de laboratorio mediante el radical libre DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo).

En el anexo 8, 9, 10, 11 se diluyó con metanol el extracto seco en tres diferentes concentraciones: 100%, 50%, 10%. La prueba o barrido espectral se realiza por triplicado, separando cada concentración en tres tubos de ensayo diferentes, con su respectivo blanco de la solución, para realizar un barrido espectral con la finalidad de determinar cuantitativamente el porcentaje de captación del DPPH y así, evaluar la capacidad antioxidante. Durante el contacto del DPPH y la solución se observó la decoloración del DPPH de violáceo a transparente (ver anexo 10, 11); la intensidad del color varió de acuerdo a la concentración, cuando mayor la concentración de la muestra, mayor la apreciación de

transparencia. Esto se debe a que el radical libre DPPH tiene un electrón desapareado y es de color violeta, cuando reacciona con los compuestos fenólicos dona un átomo de hidrogeno, decolorándose así mismo.^{46, 47}

Si bien es cierto existen diferentes métodos para evaluar la actividad antioxidante, ya sea *in vitro* o *in vivo*, el método del DPPH *in vitro* permite tener una idea aproximada de lo que ocurre en situaciones complejas *in vivo*.⁴¹ este método presenta una excelente estabilidad en ciertas condiciones por presentar un radical libre que puede obtenerse directamente sin una preparación previa, mientras que otros tienen que ser generadoras tras una reacción que puede ser química, enzimática o electroquímica.⁴⁹

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituye un amplio grupo de sustancias químicas, con diferentes estructuras y propiedades químicas y actividad biológica comprobada, engloba más de ocho mil compuestos distintos. Como antioxidante, los polifenoles pueden proteger las células contra el daño oxidativo y por lo tanto limitar el riesgo de varias enfermedades degenerativas asociadas al estrés oxidativo causado por los radicales libres.⁴⁸

Algunas investigaciones con referencia a la muestra vegetal, *Chenopodium quinoa* Willd, indica que desde el punto de vista químico los reportes de la composición química de la quinua dan a conocer la presencia de las saponinas y flavonoides glucosilados así como 2-flavonol-glucósidos. El mayor grupo de metabolitos secundarios aislados pertenece a la familia de los flavonoides.⁴³

Los germinados se consideran alimentos funcionales por ser alimentos pre digerido que facilitan su asimilación y aprovechamiento de nutrientes en el organismo; con la germinación se incrementa el contenido de antioxidantes y además se obtienen nuevas características organolépticamente agradables; proporcionan cantidades importantes de fibra. Su consumo actúa sobre el metabolismo humano, conduciendo a una regeneración del torrente sanguíneo y de los procesos digestivos, por ser alimentos vivos que, como tales, contienen enzimas activas. Los germinados proveen múltiples beneficios nutricionales y terapéuticos a quienes los consumen ya que las vitaminas, minerales, proteínas, carbohidratos, ácidos grasos y enzimas se encuentran más disponibles.³⁸ En consecuencia de los fenómenos de germinación se puede asegurar cambios benéficos en sus componentes, mejorando su valor nutritivo e inclusive eliminando sustancias tóxicas, por lo tanto se reportan diferencias en la

composición químico nutricional entre la semilla de quinua y el germinado, tal como lo afirman Rojas et al.⁵⁰

En el anexo 13, figura b, se realizó una prueba de rutina donde se verificó la presencia de compuestos fenólicos, dando positivo con el cloruro férrico, según lo indicado por (Lock de Ugaz).³⁴

Según el análisis de varianza nos determinó que existe diferencia estadísticamente significativa entre la capacidad secuestradora del extracto etanólico del germinado de las cuatro variedades de *Chenopodium quinoa*, quiere decir que los valores obtenidos de la significancia (p) son menores a $\alpha=0,05$ ($p<0,05$), (ver anexo 15, tabla 3); los promedios a concentración de 100 μ g/mL para la variedad negra presentó una mayor actividad antioxidante (98.3%), seguida de la variedad amarilla (86.8%), luego la variedad roja (85.8%) y finalmente la variedad blanca (84.9%); a concentración de 50 μ g/mL la variedad que presentó mayor actividad antioxidante fue nuevamente la negra (86.1%), seguida de la variedad amarilla (76.6%), la variedad roja un (71.2%) y la variedad blanca un (68.4%), a concentración de 10 μ g/mL, la variedad negra tuvo un promedio de (52.9%), seguida de la variedad amarilla (47.3%), luego la variedad blanca (45.5%) y finalmente la variedad roja presentó la menor actividad (31.7%) de todas las variedades. Así mismo se determinó una alta capacidad antioxidante entre las concentraciones de 50 μ g/mL y 100 μ g/mL para las cuatro variedades de quinua, también observamos que la variedad negra collana a concentración de 100 μ g/mL fue la que presentó la mayor actividad antioxidante, tal como se observa en el resultado (figura 3), se evidenció que a concentración de 10 μ g/mL para la variedad negra, amarilla y blanca presentó tener una ligera capacidad antioxidante, pero la quinua roja está por debajo del parámetro establecido del 50% de capacidad inhibitoria o secuestramiento del radical libre DPPH para poder afirmar la efectividad del antioxidante; estos resultados estarían indicando que cuanto mayor es la concentración del extracto etanólico del germinado de quinua, tiene mayor capacidad antioxidante y es dependiente de la concentración.

Para el contenido de fenoles totales el análisis de varianza determinó que existe diferencia estadísticamente significativa ($p<0,05$) en respecto al contenido de fenoles totales presentes en el extracto etanólico del germinado de las cuatro variedades de *Chenopodium quinoa*. El contenido de fenoles totales se expresa como mg equivalente de ácido caféico /100 g de extracto seco. La quinua

amarilla mostró contener la mayor cantidad de compuestos fenólicos (325.448) y la quinua roja (276.876), seguida de la negra (266.210); finalmente la quinua blanca (254.019) es la que presentó la menor cantidad de compuestos fenólicos. En la prueba de Tukey se demostró que la cantidad de fenoles totales entre cada muestra son estadísticamente diferentes para toda las variedades.

De acuerdo a lo señalado y citando más adelante a algunos autores podemos determinar que el responsable del efecto antioxidante del extracto etanólico del germinado de las variedades de *Chenopodium quinoa* Willd son principalmente los compuestos fenólicos, sin embargo se esperaba que la quinua negra y roja presentara mayor capacidad antioxidante por la coloración de las semillas, pero fue desplazada por la quinua amarilla, puedo deducir que existen otros metabolitos secundarios y vitaminas que maximizan las propiedades antioxidantes en la quinua amarilla como lo mencionaremos más adelante.

Velioglu Y. et al.⁵¹ Menciona que los antioxidantes naturales puede ser compuestos fenólicos como: tocoferoles (vitamina E), flavonoides y ácidos fenólicos, compuestos de nitrógeno (alcaloides, derivados de la clorofila, aminoácidos y aminos) o carotenoides, como también el ácido ascórbico.

Carciochi et al. (2014)⁵², identificó la composición de metabolitos secundarios presentes en la semilla de quinua, dando como resultado para compuestos fenólicos a flavonoides: isovitexina*, miricetina, quercetina, kaempferol, Isohamnetina, rutina, orientina, vitexina, morina. hesperidina, neohesperidina. Y en ácidos fenólicos: caféico, felúrico*, p-hidroxibenzoico, vainillínico, gálico, cinámico, protocatechuico, p-cumárico. La isovitexina y el felúrico fueron encontrados solamente en los germinados de quinua. Miranda et al. (2012)⁵³, menciona la presencia de vitamina E y vitamina C en la semillas de quinua.

Brend et al. (2012)⁵⁴ los contenidos de compuestos fenólicos, flavonoides y la actividad antioxidante se han encontrado entre semillas de quinua de 2 colores (rojo y amarillo); las rojas presentaron mayores contenidos de los compuestos bioactivos y mayor actividad. Tang et al. (2015)⁵⁵ encontraron que las semillas de quinua negras y rojas poseen mayor concentración de fenólicos y actividad antioxidante que las semillas blancas.

En la investigación de Brend, determina que la quinua roja exhibe mayor actividad antioxidante y así mismo un mayor contenido de compuestos bioactivos (compuestos fenólicos) a comparación de la quinua amarilla, considero que esta investigación no concuerdan con los resultados de mi investigación, sin

embargo podría decir que las semillas de quinua amarilla pueda estar influenciado por el genotipo, el medio geográfico, la altitud, el suelo, etc, donde le favoreció para obtener estos resultados.

Carciochi et al., (2014).⁵² La cantidad de compuestos fenólicos en muestras de semillas está fuertemente influenciada por el genotipo (variedad/cultivar), el suelo, las condiciones ambientales, el estado de madurez a la cosecha y las condiciones de almacenamiento poscosecha.

En resultados obtenidos por Brend et al. (2012)⁵⁴, sugieren que la actividad antioxidante en semillas de quinua también deriva de proteínas y otros compuestos no fenólicos, y en el mismo sentido, Gorinstein et al. (2007)⁵⁶ expresaron que los principales antioxidantes en pseudocereales son polifenoles, pero también las proteínas juegan un rol en la actividad antioxidante general; y por otra parte, Tang et al. (2014)⁵⁵ revelaron que compuestos lipofílicos contribuyen significativamente a la actividad antioxidante.

Gorinstein et al. (2007)⁵⁶ en semillas de quinua informaron un valor para antocianinas de 96,4 mg de cianidina-3-glucósido equivalente/100 g peso seco, y Paško et al. (2009)⁵⁷ un valor de 120,4 mg de cianidina-3-glucósido equivalente/100 g peso seco. En semillas de quinua negra y roja, Tang et al. (2014)⁵⁵ en lugar de antocianinas identificaron betanina e isobetanina (betacianinas de las betalaínas).

El contenido de fenólicos totales en semillas de quinua determinado por Miranda et al. (2011)⁵⁸ en 6 ecotipos chilenos varió de 14,22 a 65,53 mg ácido gálico/100 g de materia seca; el ecotipo Faro presentó el mayor contenido y a su vez el mejor resultado en actividad antioxidante (menor valor IC50 con 461,89 µg/mL); los autores citan que factores genéticos, procesos agrotécnicos y condiciones medioambientales pueden influenciar la presencia de compuestos fenólicos y generar variación en la capacidad antioxidante.

Ayala, C.¹⁷, correlaciona la actividad antioxidante en extracto alcohólico de *Chenopodium quinoa* a sus constituyentes de grupo flavona, isoflavonas, polifenoles. Podemos afirmar que la capacidad secuestradora del DPPH (%) tiene una correlación a la cantidad de fenoles totales (mg%), donde a mayor cantidad de compuestos fenólicos es más eficaz la capacidad antioxidante.

Paško et al. (2009)⁵⁷, midieron la actividad antioxidante en semillas de quinua, el contenido de 187 polifenoles totales para quinua fue determinado (3,75 mg ácido gálico equivalente/g peso seco); para todos los métodos de actividad

antioxidativa usados hubo correlación entre la capacidad antioxidante y los polifenoles totales. En base a resultados de polifenoles totales y los potenciales antioxidantes estudiados en cereales y pseudocereales por Gorinstein et al. (2007)⁵⁶, estos autores ofrecen soporte la investigación que muestran que alto contenido de polifenoles totales incrementa el potencial antioxidante y hay una correlación lineal entre el contenido de fenólicos y el potencial antioxidante.

Choque M. (2013)¹, investigó los compuestos antioxidantes fenólicos y selenio en los granos de la quinua blanca (*Chenopodium quinoa willd*). El resultado obtenido fue el contenido de selenio supera los valores de 0.01 – 0.50 mg Se/Kg y la capacidad antioxidante través del ensayo DPPH reporta un valor inferior de $0.25 \pm 0.02 \mu\text{mol/g}$ de muestra seca.¹ El reactivo estándar que se utilizó fue un análogo soluble en agua de la vitamina E “Trolox” (6-hidroxi-2, 5, 7, 8 - ác. tetrametilcroman-2-carboxílico) soluble en agua; indican de esta manera la capacidad de eliminar a los radicales libres.

Repo et al. (2012)², se determinó la composición de los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de los cereales nacionales andinos como la quinua (*Chenopodium quinoa Willd*), Kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) y kiwicha (*Amaranthus caudatus*), logrando evaluar el contenido de compuestos fenólicos fue la quinua de la variedad pasankalla el mayor (139,94 mg ácido gálico/100 g), la mayor capacidad antioxidante medida por el radical DPPH en las muestras fue el de la quinua variedad pasankalla (2400,55 μg trolox/g).

Escamilla (2009)⁵⁹, ensayaron en los cereales andinos los compuestos puros de *Chenopodium quinoa W.* los compuestos puros que muestran acción antioxidante, también presentes en extracto hidroalcohólico de quinua, kiwicha, el cual obtuvieron un porcentaje de 93-96.9%, en orden ascendente según sus concentraciones.

En consecuencia de lo mencionado y en base al análisis estadístico se puede afirmar que a una mayor concentración del extracto etanólico de *Chenopodium quinoa Willd.* “quinua” tiene una alta actividad antioxidante y la variedad negra collana tiene la mayor actividad antioxidante.

VI. CONCLUSIONES

1. Se determinó que el extracto etanólico del germinado de cuatro variedades de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua” presenta actividad antioxidante.
2. Los compuestos fenólicos totales presentes en el extracto etanólico del germinado de cuatro variedades de *Chenopodium quinoa* Willd, “quinua”, la variedad negra collana contiene el mayor porcentaje de compuestos fenólicos con 353.6 mg%.
3. La evaluación de la capacidad antioxidante del extracto etanólico del germinado de cuatro variedades de *Chenopodium quinoa* Willd, “quinua” mostró que la de 100µg/mL de concentración reporta mayor capacidad antioxidante con 98.3%.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar un estudio comparativo entre extracto etanólico del germinado de *Chenopodium quinoa Willd* y los compuestos fenólicos aislados del germinado, de este modo determinar si existen otros metabolitos con propiedades antioxidativa.
2. Evaluar el efecto cicatrizante del extracto etanólico del germinado de quinua, se sugiere evaluar otras propiedades farmacológicas, por la presencia y buena cantidad de compuestos fenólicos.
3. Empezar un proyecto de comercialización de germinados de quinua como una nueva opción, por el aumento de alimentos funcionales y nutracéuticos para la prevención del cáncer y enfermedades degenerativas.
4. Realizar un estudio comparativo para diferenciar la cantidad de compuestos fenólicos y actividad antioxidante entre los germinados de quinua y las semillas sin germinar.
5. Continuar con el estudio del presente trabajo de investigación cuantificando y elucidando los principios activos y componentes nutricionales existentes en el germinado de quinua y correlacionarlo con las actividades que le atribuyen.
6. Promover su uso a nivel nacional y difundir las diferentes informaciones que las investigaciones realizaron de este producto andino.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Repo R. y Encina Ch. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de cereales andinos: quinua (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) y kiwicha (*Amaranthus caudatus*). Rev. Soc. Quim. Perú. [revista en internet]. 2008. [acceso 28 de febrero 2015]. 74:2 (85-99). Disponible en: <http://sqperu.org.pe/wp-content/uploads/2009/09/revista-sociedad-quimica-N74-n2-PDF.pdf>
2. Choque M. Cuantificación de los compuestos antioxidantes fenólicos y selenio en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd). [tesis de grado en internet]. Facultad de Agronomía. Universidad Mayor de San Andrés. La Paz-Bolivia. 2013. Disponible en: <http://bibliotecadigital.umsa.bo:8080/rddu/bitstream/123456789/4165/1/T-1838.pdf>
3. Instituto Nacional de Investigación Agraria. Importancia del cultivo de quinua hacia el año internacional 2013. Cusco, ministerio de agricultura; 2013.
4. Bonifacio, A. y H. Gandarillas. Origen de las variedades de quinua Huaranga, Chucapaca y Kamiri. En: V Congreso Internacional de Sistemas Agropecuarios Andinos. 10-15 de mayo, Puno, Perú. UNA-PUNO, CORDEPUNO, INIPA, PISA, CIID-CANADA. Puno, Perú. pp. 143-147.
5. Devagasayam TPA y et al. Free Radicals and Antioxidants in human Heal: Current Status and Future Prospects. J Assoc Physicians India. 2006
6. Rodríguez J, Menéndez J, Trujillo Y. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. Rev Med Milit; "Dr. Luís Díaz Soto" Cuba [Revista en internet]. 2008 [Acceso 24 de junio de 2015]. 2005; 30(1): 36-44. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revista/mil/vol30_1_01/mil07100.pdf
7. Konigsberg M. Compilador. Radicales libres y estrés oxidativo. Aplicaciones médicas. México: El manual Moderno; 2008. P. 63
8. Nagai T.; Sakai, M.; Inoue, R.; Inoue, H. y Suzuki, N. 2001. "Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis". Food Chemistry. v. 75, p. 237-240.
9. Starke-Reed, P. Antioxidantes. Nutrición del instituto nacional de estudios sobre el envejecimiento. Maryland, Estados Unidos. 2007
10. Hellin, J., y Higman S. 2001, Quinoa and rural livelihoods in Bolivia, Peru and Ecuador, Quito Ecuador.
11. Cárdenas, Gary. 1999. Selección de cultivares de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) por su resistencia a la sequía. Tesis de Ing. Agro. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. Escuela profesional y Académica de Agronomía. Arequipa, Perú. P. 95
12. Jacobsen S. E. 2003. The Worldwide Potential for Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). Food Reviews International 19:167-177.
13. Cronquist A. An integrated system of classification of flowering plants. Edit. Columbia University Press. New York; 1988.
14. Brack A. Diccionario Enciclopédico de plantas útiles del Perú – Cusco. Centro de Estudios Regionales Andinas "Bartolomé de las casas". Lima – Perú. 1999
15. Cárdenas M. 1944, Descripción preliminar de las variedades de *Chenopodium quinoa* de Bolivia. Revista de Agricultura. UMSS (Bol.) p. 13 – 26.
16. Torrez M, Guzman A, Carvajal R. Valoración nutricional de 10 variedades de Quinoa *Chenopodium quinoa* Willd del altiplano boliviano. BIOFARBO. [Revista en internet]. 2012 [Acceso 19 de febrero de 2015]. p. 13 - 26. Disponible en: <http://www.ops.org.bo/textocompleto/rnbiofa20021010.pdf>

17. Ayala, C. Efecto de localidades en el contenido de proteínas en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.). Tesis Ing. Agro. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional Técnica del Altiplano. Puno, Perú. 1997 p.
18. Cayoja M. 1996. Caracterización de variables continuas y discretas del grano de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) del banco de germoplasma de la Estación Experimental de Patacamaya. Tesis Ing. Agr. Oruro.
19. Pardo Arquero V. P. 2004. La importancia de las vitaminas en la nutrición de personas que realizan actividad físico deportiva. Revista Internacional de Medicina y Ciencias de la Actividad Física y el Deporte vol. 4 (16) pp. 233-242
20. Garcia L., Gracia L.V., Rojo M., Sánchez E. 2001. Plantas con propiedades Antioxidantes. Rev Cubana Invest Biomed. [revista en internet] 2000. [acceso 15 de julio 2015]; 20(3): 231-5.
21. Flores, J. 2000. Farmacología humana. 3era edición. Masson. Barcelona. España.sp.
22. Murray, R. Mayes, P. Granner, D. y Rodwell, V. 1997. Bioquímica de harper. Manual moderno. 14 Edición. México, D.F. p 678.
23. Céspedes T, Sanchez D. algunos aspectos sobre el estrés oxidativo, el estado antioxidante y la terapia de suplementación. Rev. Cubana Cardiol. [revista en internet] 2000. [acceso 10 de julio 2015]; 14(1): 55-60. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/car/vol14_1_00/car08100.pdf
24. Criado C, Moya M. Vitaminas y antioxidantes. Servicio de medicina Interna y urgencias. Ed Sanidad y ediciones, S.L. Barcelona actuaciones el medico; 2009.
25. Venero J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Rev Cub. Med. Milit. [revista en internet] 2008. [acceso 11 de julio 2015]; 30(1): 15-20. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/mil/vol31_2_02/MIL09202.pdf
26. Sies H. "Oxidante stress: oxidants and antioxidants" Angew Chem. Int. editorial engl Canadá. 2007
27. Hansberg-Torres W. Biología de las especies de oxígeno reactivas. En: el mensaje bioquímico. México: Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de México; 2002:19-54
28. Angulo P. Prado M. Radicales libres, Estrés Oxidativo y Cáncer, Rol de los productos Naturales. 2da edición. Editorial del Mar EIRL. Lima
29. Issa A.Y.; Volate, S.R. y Wargovich, M.J. 2006. "The role of phytochemicals in inhibition of cancer and inflammation: New directions and perspectives". Journal of Food Composition and Analysis. v. 19, n. 5, p. 405-419.
30. Elejalde Guerra J.I. 2001. Oxidative stress, diseases and antioxidant treatment. Anales de Medicina Interna. Vol. 18 (6). p. 326-335.
31. Creus G. Compuestos Fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. Ámbito Farmacéutico Nutrición (Cataluña – España). [Revista en internet]. 2004. [Acceso el 24 de marzo de 2015]. Vol.23 Núm.06. Disponible en: <http://www.eumed.net/rev/tlatemoani/08/rgc.html>
32. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las Drogas y Sustancias Medicamentosas. Ediciones Omega. Barcelona. 2000.
33. Villar del Fresno M. Farmacognosia General. Editorial Síntesis. Madrid. 1999.
34. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de los productos naturales. Fondo editorial de la pontificia Universal Católica del Perú. Lima 1994
35. Balasundram N.; Sundram, K. Samman S. Phenolic Compounds in Plants and Agriindustrial by Products: Antioxidant Activity, Occurrence and Potential Uses. Food Chemistry. [Revista en internet]. 2009 de abril. [acceso en 13

- febrero 2013]. V. 99 (1). P. 191 - 203. 191-203. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3892484/>.
36. Decker E. Measuring antioxidant effectiveness in food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Food Chemistry. [Revista en internet]. 2012 ede agosto. [acceso 13 febrero 2013]. Vol. 53, 10. p. 4303 - 4310. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf058012x>
 37. Cubero Nuria, Momferer Albert, Villalta Jordi. "Aditivos alimentarios". Ediciones Mundi 2002. Prensa. Madrid. [libro en internet]. Disponible en: http://books.google.com.pe/books/about/Aditivos_alimentarios.html?id=G6JFPgAACAAJ&redir_esc=y
 38. Hoyos L. Efecto de la germinación sobre el contenido de hierro y calcio en Amaranto, Quinoa, Gandul y Soya. *Rev. Bio. Agro*. [Revista en internet]. 2011. [Acceso 25 de marzo de 2015]. Vol. 9, N° 1. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1692-5612011000100007&script=sci_arttext
 39. González et al. Altitudinal and seasonal variation of protective and photosynthetic pigments in leaves of the world's highest elevation trees *Polylepis tarapactana* (Rosaceae). *Acta Oecol* 32:36-41. 2007
 40. Palomino L. et al. Determinación del contenido de fenoles y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento de Antioquia (Colombia). *Rev. de la Facultad de Química Farmacéutica*. [Revista en internet]. 2009. [Acceso 25 de marzo de 2015]. V 16. N° 3. 2009. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/1698/169813261013.pdf>
 41. Suarez Cunza, Silvia. Curso de bioquímica vegetal. Maestría en recursos vegetales y terapéuticos. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. 2003.
 42. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenyl hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Sangklanakaran J. sci. technol*. [Revista en internet]. 2003. [Acceso 25 de marzo de 2015]; 26(2): 211-219. Disponible en: <http://rdo.psu.ac.th/sjstweb-old/journal/26-2/07-DPPH.pdf>
 43. Ruales J, Nair BM. Saponins, phytic acid, tannins and protease inhibitors in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) seeds. *Food Chemistry*. [Revista en internet]. 1993 de octubre [acceso febrero de 2015]. 48: 137-43. Disponible en: [http://www.researchgate.net/publication/222204905_Saponins_phytic_acid_tannins_and_protease_inhibitors_in_quinoa_\(Chenopodium_quinoa_Willd\)_seeds._Food_Chem](http://www.researchgate.net/publication/222204905_Saponins_phytic_acid_tannins_and_protease_inhibitors_in_quinoa_(Chenopodium_quinoa_Willd)_seeds._Food_Chem)
 44. Chilo G, et al. Efecto de la temperatura y salinidad sobre la germinación y crecimiento de plántulas de dos variedades de *Chenopodium quinoa*. *AGRISCIENTIA*. [Revista en internet]. 2009 [acceso 12 de marzo de 2015]. VOL. XXVI (1): 15-22. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1668-298X200900100003
 45. Boero C, González J. Prado F. Germinación de diferentes variedades de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) bajo distintas condiciones de salinidad y PH. *Agrochimica*. [Revista en internet]. 1992 [acceso 12 de marzo de 2015]. Vol XXXVI N° 1-2: 101-108. Disponible en: <http://www.condesan.org/publicacion/libro14/cap3.15.htm>
 46. Castañeda B, et al. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Horizonte medico* [Revista en internet]. 2008 [acceso 12 de marzo de 2015]. Vol. 8 N° 1. Disponible en: <http://www.medicina.usmp.edu.pe/horizonte/2008-I/Art4-Vol8-N1.pdf>


47. Gutiérrez M, et al. Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimento animal. Simposio de metrología. [Revista en internet]. 2008 [acceso 12 de marzo de 2015]. Vol. 1(1). Disponible en: http://www.cenam.mx/simposio2008/sm_2008/memorias/M2/SM2008-M220-1108.pdf
48. Martínez S, et al. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Rev. Nutr. [Revista en internet]. 2002 [acceso 12 de marzo de 2015]. 17 (6): 271-278. Disponible en: http://www.recursosdeenologia.com/docs/2002/2002_los_flavonoides_propiedades-y-acciones-antioxidantes.pdf
49. Mendis E, et al. Antioxidant properties of a radical scavenging peptide purified from enzymatically prepared fish skin gelatine hydrolysate. Journal of Agricultural and Food Chemistry. [Revista en internet]. 2005 [acceso 12 de marzo de 2015]. Chicago. Vol. 53, N° 3, P 581-587. Disponible en: http://www.researchgate.net/publication/8046896_Antioxidant_Properties_of_a_Radical-Scavenging_Peptide_Purified_from_Enzymatically_Prepared_Fish_Skin_Gelatin_Hydrolysate
50. Rojas Ch, et al. Efecto de la germinación sobre el contenido y digestibilidad de proteínas en semillas de amaranto, quinua, soya y guandul. Fac. Cienc. Agrop. [Revista en internet]. 2010 [acceso 14 de marzo de 2015]. Vol 8 N° 1. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v9n1/v9n1a07.pdf>
51. Velioglu Y. et al. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. Journal of Agricultural and Food Chemistry. [Revista en internet]. 1998 [acceso 01 de noviembre de 2015]. Canada 46(10):4113-4117. Disponible en: http://www.researchgate.net/publication/215523945_Antioxidant_Activity_and_Total_Phenolics_in_Selected_Fruits_Vegetables_and_Grain_Products
52. Carciochi et al. Changes in phenolic composition and antioxidant activity during germination of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd). International Food Research Journal. [Revista en internet]. 2014 [acceso 01 de noviembre de 2015]. 21(2):767-773. Disponible en: [http://www.ifrj.upm.edu.my/21%20\(02\)%202014/47%20IFRJ%2021%20\(02\)%202014%20Carciochi%20527.pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/21%20(02)%202014/47%20IFRJ%2021%20(02)%202014%20Carciochi%20527.pdf)
53. Miranda et al. Nutritional aspects of six quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) ecotypes from three geographical areas of Chile. Chilean Journal of Agricultural Research. [Revista en internet]. 2012 [acceso 01 de noviembre de 2015] Chile 72(2):175-181. Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/chiljar/v72n2/at02.pdf>
54. Brend, Y. et al. Total phenolic content and antioxidant activity of red and yellow quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds as affected by baking and cooking conditions. Food and Nutrition Sciences. [Revista en internet]. 2012 [acceso 01 de noviembre de 2015]. Israel. 3(8):1150-1155. Disponible en: file:///C:/Users/User/Downloads/FNS20120800014_30913007.pdf
55. Tang, Y. et al. Characterisation of phenolics, betanins and antioxidant activities in seeds of three *Chenopodium quinoa* Willd. genotypes. Food Chemistry. [Revista en internet]. 2014 [acceso 01 de noviembre de 2015]. China 166:380-388. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25053071>
56. Gorinstein, Sh. Et al. The total polyphenols and the antioxidant potentials of some selected cereals and pseudocereals. European Food Research and Technology. [Revista en internet]. 2007 [acceso 01 de noviembre de 2015]. 225(3-4):321-328. Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.1007/s00217-006-0417-7#page-1>

57. Paško P. et al. Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. Food Chemistry. [Revista en internet]. 2009 [acceso 01 de noviembre de 2015]. Poland. 115(3):994- 998. Disponible en: http://www.researchgate.net/publication/222426069_Anthocyanins_total_polyphenols_and_antioxidant_activity_in_amaranth_and_quinoa_seeds_and_sprouts_during_their_growth._Food_Chem
58. Miranda, M. et al. Physico-chemical analysis, antioxidant capacity and vitamins of six ecotypes of Chilean quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). Procedia Food Science. [Revista en internet]. 2011 [acceso 01 de noviembre de 2015]. Chile. Volumen 1. 1439-1446. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211601X11002148>
59. Escamilla, C. Cuevas, E. Guevarra, J. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. Revista de la Facultad de Medicina UNAM. Vol. 52 N°. 2 Marzo-abril 2009. Medigraphic. Artemisa en línea.

ANEXOS

Anexo 1

Tabla 2. Certificado de identificación botánica de *Chenopodium quinoa* Willd "quinua".



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, el Bach. en Farmacia y Bioquímica, **Sr. Wilder Rofer, CÉSAR HUAMÁN**,
ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.
Dicha muestra ha sido determinada según el Sistema de Clasificación de
Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	CARYOPHYLLIDAE
ORDEN	:	CARYOPHYLLALES
FAMILIA	:	CHENOPODIACEAE
GENERO	:	Chenopodium
ESPECIE	:	<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.
VARIEDAD	:	Blanca, Amarilla, Roja y Negra
N.V.	:	"quinua"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado
para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 04 de Noviembre del 2015



UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS
Biga. Laura Aucasime Medina
JEFE

Anexo 2

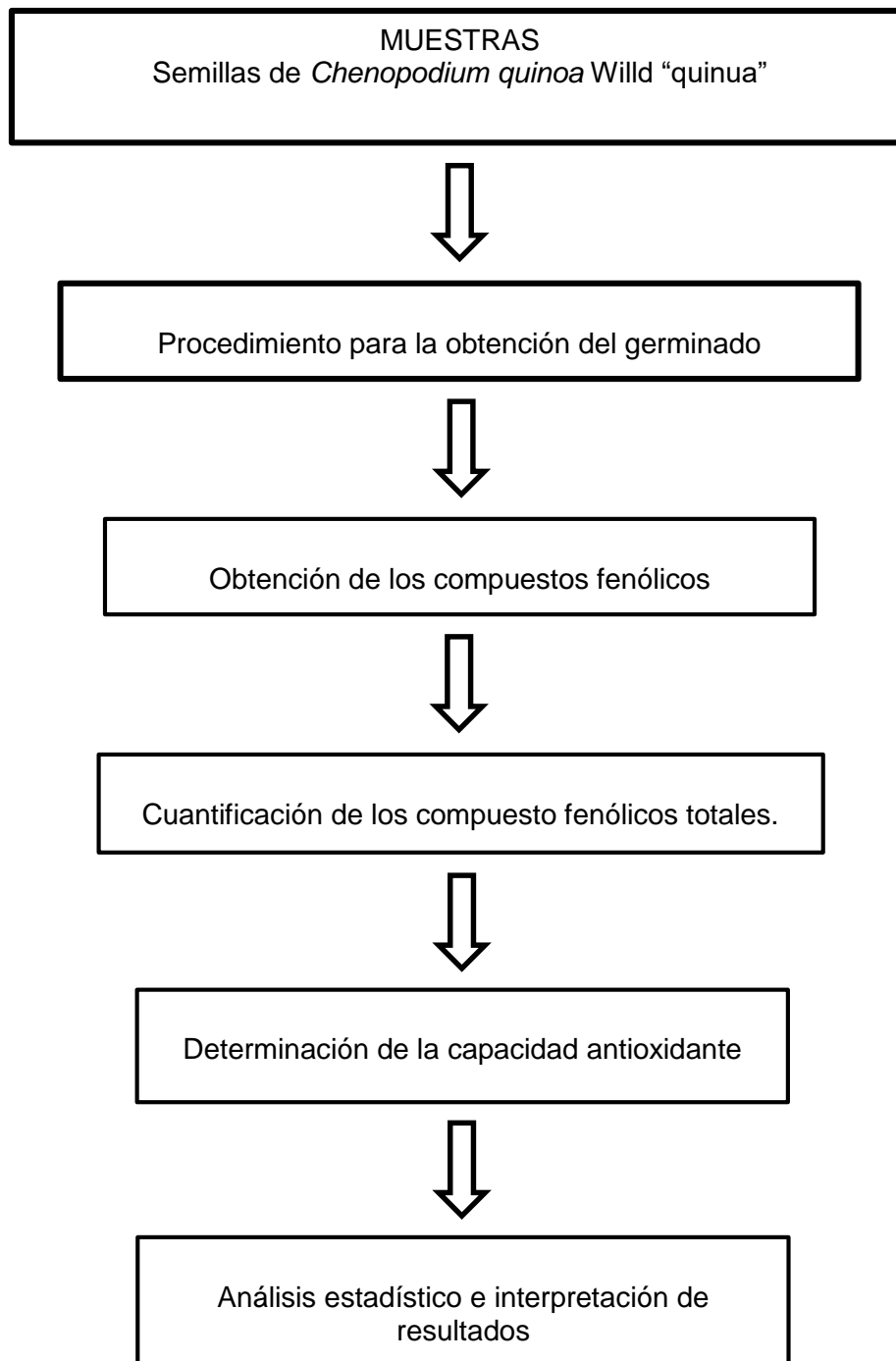


Figura 5. Flujograma del procedimiento de cuantificación de compuestos fenólicos totales y la determinación de actividad antioxidante de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua".

Anexo 3

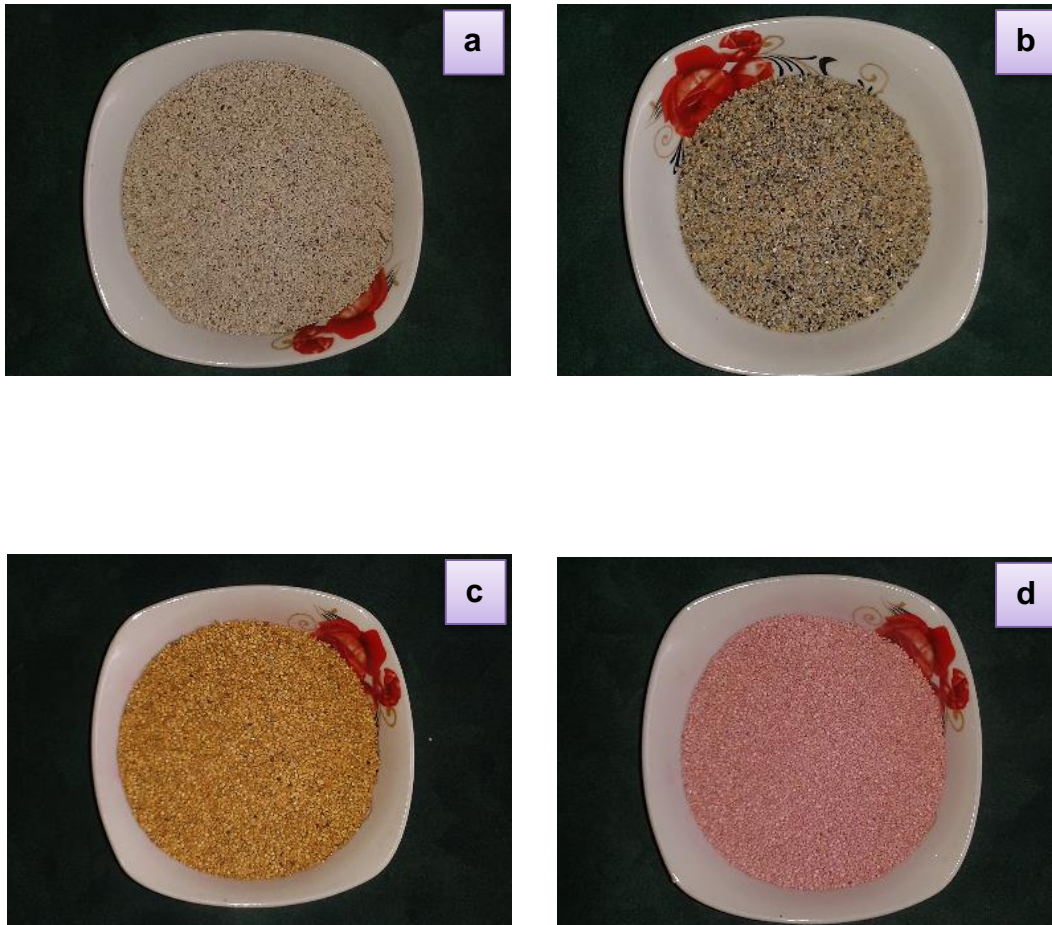


Figura 6. Fotografías de semillas de las cuatro variedades de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua roja” (a), “quinua negra” (b), “quinua amarilla” (c), “quinua blanca” (d).

Anexo 4



Figura 7. Fotografías del germinado de las semillas de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua roja” (a), “quinua negra” (b), “quinua amarilla” (c), “quinua blanca” (d).

Anexo 5

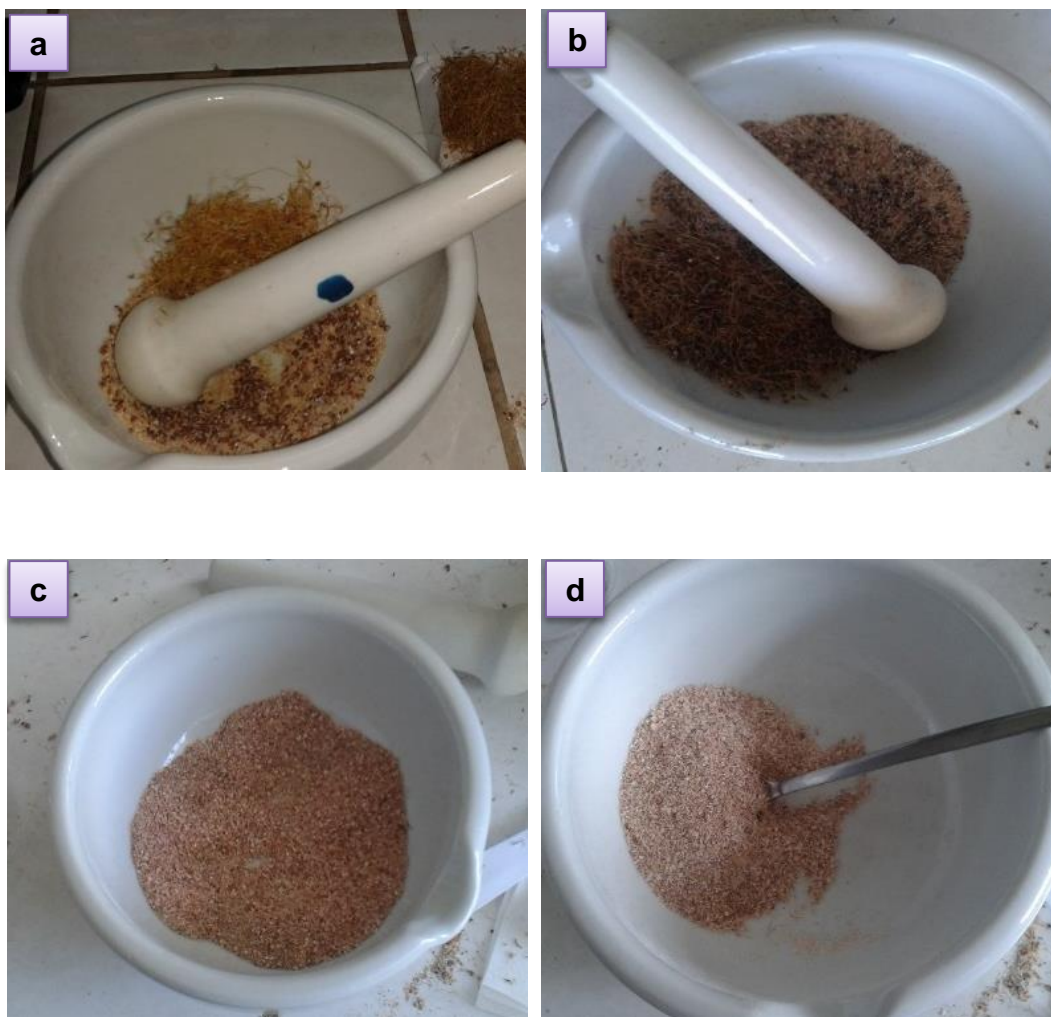


Figura 8. Fotografía de los germinados deshidratados y triturados de cuatro variedades de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua roja” (a), “quinua negra” (b), “quinua amarilla” (c), “quinua blanca” (d).

Anexo 6

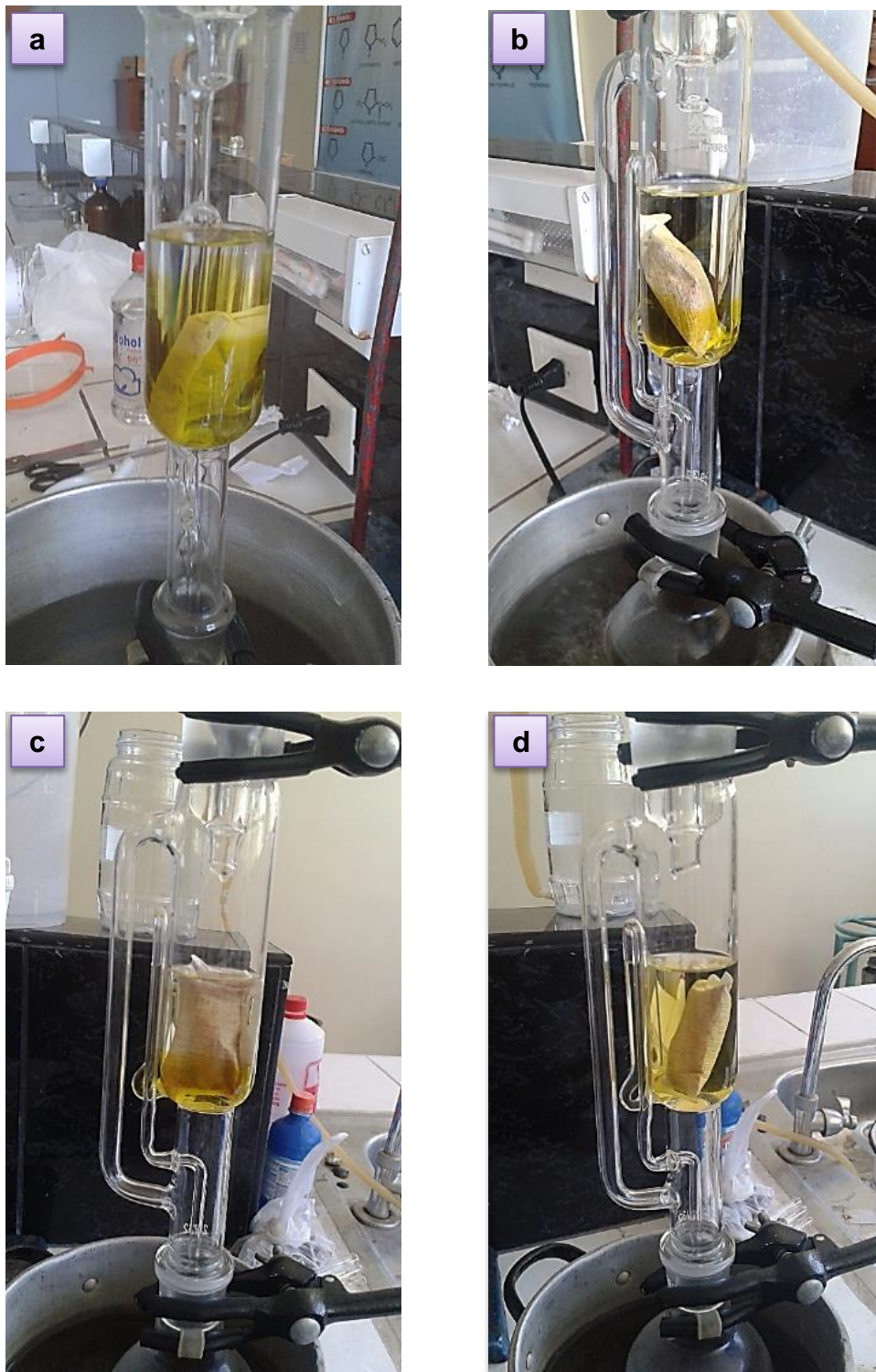


Figura 9. Extracción etanólica mediante aparato soxleth de las cuatro variedades de semillas germinadas deshidratadas y trituradas de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua roja” (a), “quinua negra” (b), “quinua amarilla” (c), “quinua blanca” (d).

Anexo 7

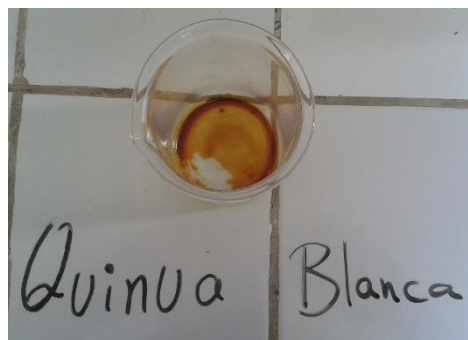
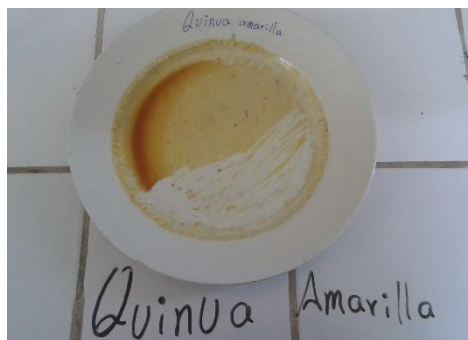


Figura 10. Fotografías de los extractos secos de los germinados de las semillas de cuatro variedades de *Chenopodium quinoa* Willd "quinua"

Anexo 8



Figura 11. Reactivos usados en la evaluación de la actividad antioxidante del germinado de *Chenopodium quinoa* Willd, metanol para la disolución del extracto seco (a), Reactivo DPPH (b).

Anexo 9



Figura 12. Muestras diluidas para realizar la prueba de actividad antioxidante a tres diferentes concentraciones.

Anexo 10

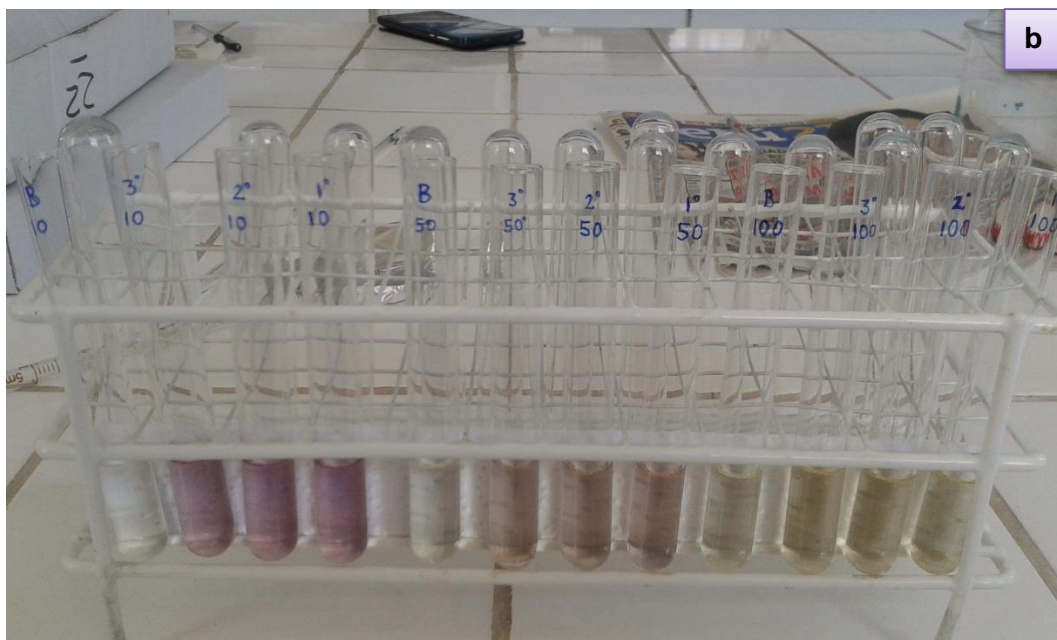
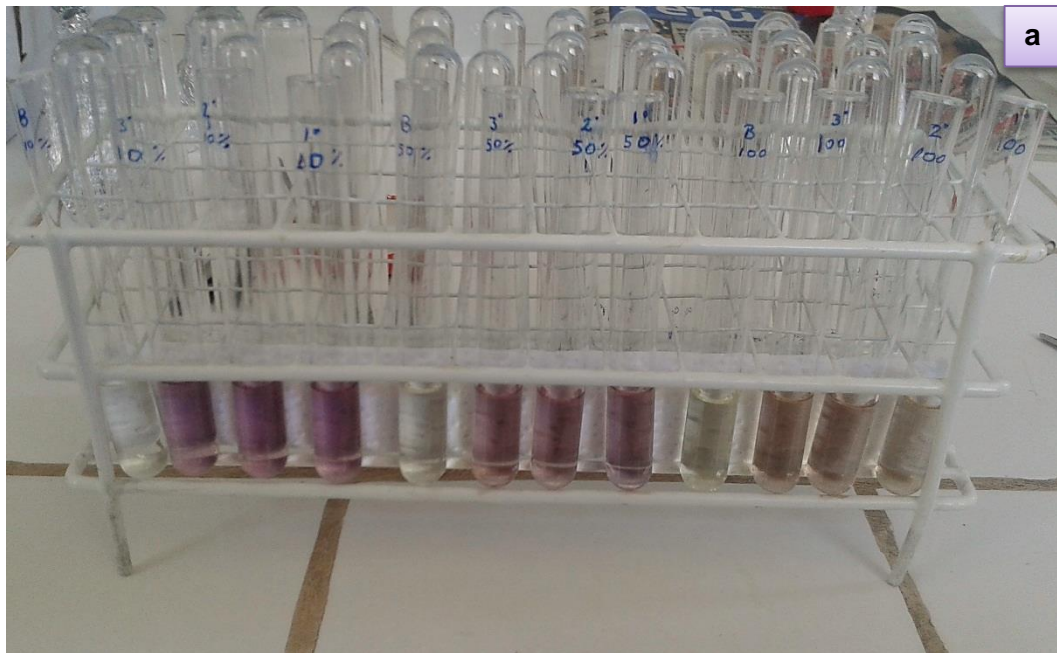


Figura 13. Preparación por triplicado para evaluar la actividad antioxidante del germinado de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua roja” (a) y “quinua negra” (b), de derecha a izquierda (100 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$).

Anexo 11

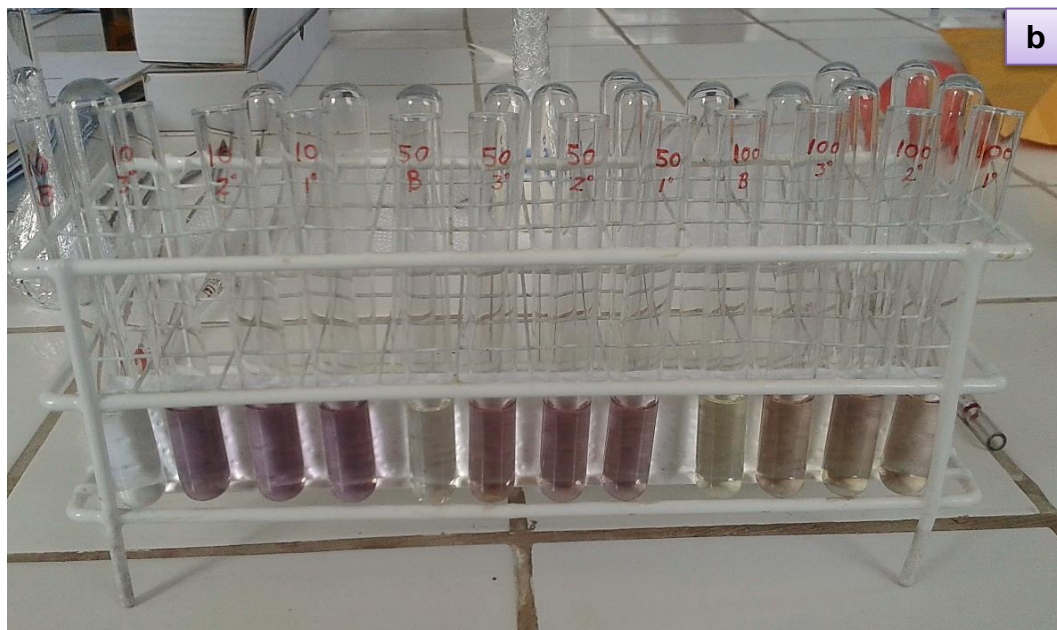
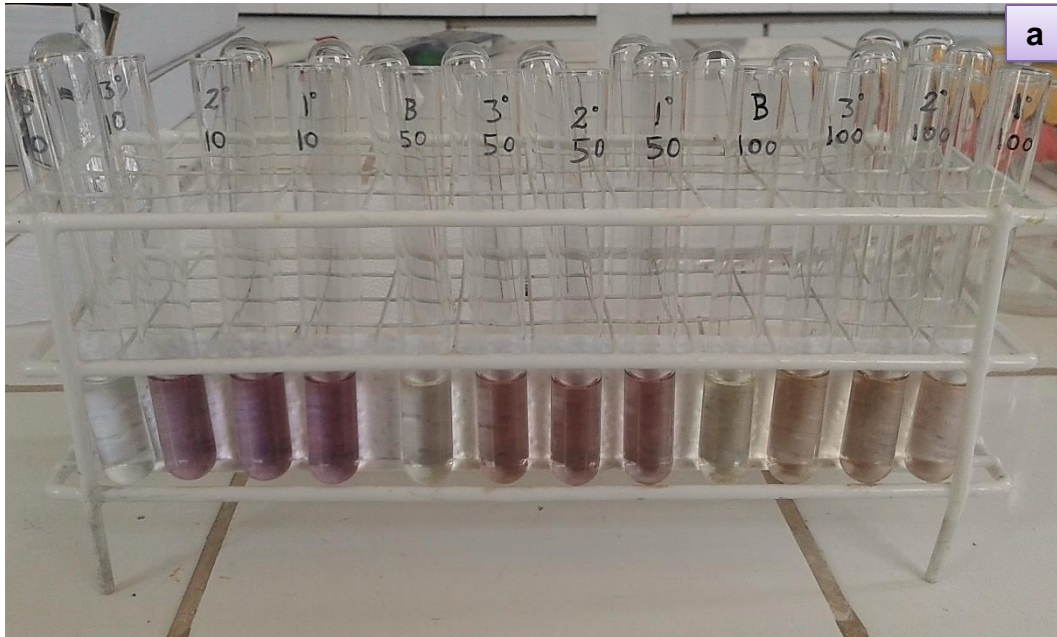


Figura 14. Preparación por triplicado para evaluar la actividad antioxidante del germinado de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua amarilla” (a) y “quinua blanca” (b), de derecha a izquierda (100 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$).

Anexo 12



Figura 15. Reactivos usados en la cuantificación del contenido de fenoles totales del germinado de cuatro variedades de *Chenopodium quinoa* Willd.

Anexo 13

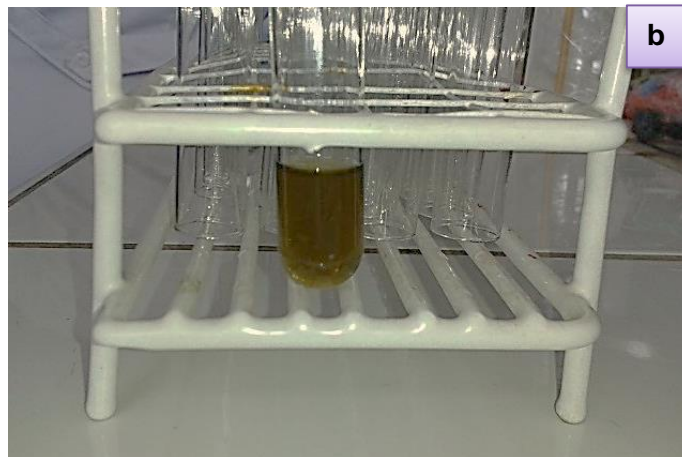


Figura 16. Preparación después de agregar los reactivos correspondientes para determinar fenoles totales de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua” (a) y la identificación de fenoles totales con cloruro férrico (b).

Anexo 14

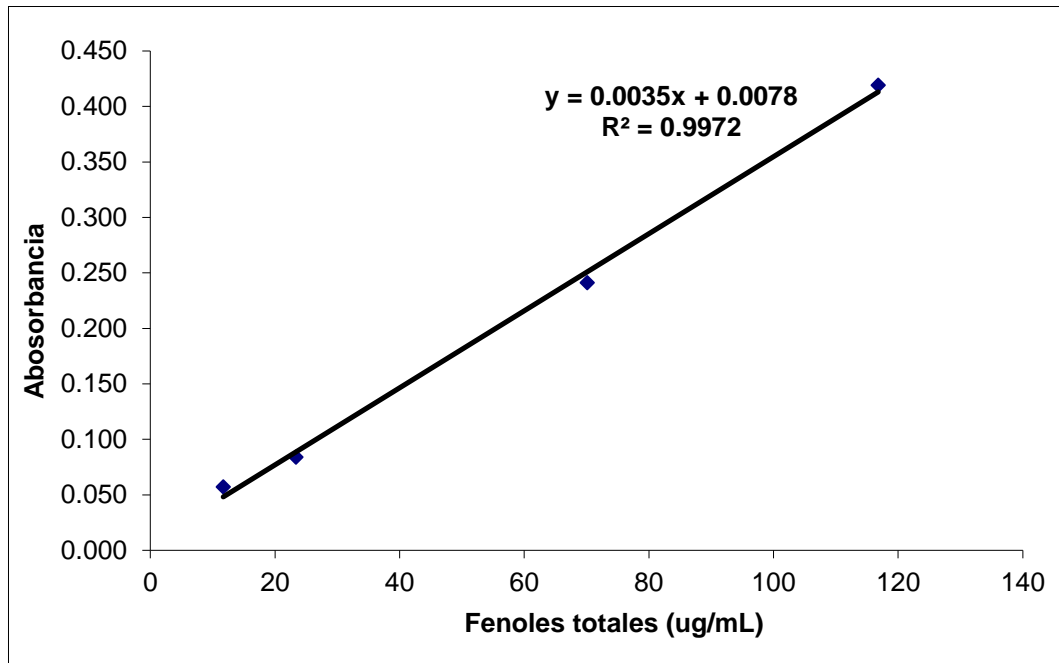


Figura 17. Curva de calibración con el ácido caféico como estándar a longitud de onda de 550 nm.

Anexo 15

Tabla 3. Análisis de varianza factorial del porcentaje de la capacidad secuestradora del DPPH del extracto etanólico de cuatro variedades de *Chenopodium quinoa* Willd. “quinua”.

ANOVA^{a,b}

			Método único				
			Suma de cuadrados	gl	Media Cuadrática	F	Sig
Capacidad secuestradora del DPPH (%)	Covariables	Concentración (µg/mL)	11917.127	1	11917.127	372.596	.000
	Efectos principales	Variedades	1324.314	3	441.438	13.802	.000
	Modelo		13241.441	4	3310.360	103.500	.000
	Residual		991.504	31	31.984		
	Total		14232.946	35	406.656		

a. Capacidad secuestradora del DPPH (%) por variedades con Concentración (µg/mL)

b. Todos los efectos Introducidos simultaneamente.

*($p < 0.05$ se rechaza H_0) Las medias de los grupos son diferentes.

Anexo 16

Tabla 4. Análisis de varianza factorial del contenido de fenoles totales del extracto etanólico del germinado de cuatro variedades de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua".

ANOVA

		Suma de		Media		
		cuadrados	gl	cuadrática	F	Sig.
Fenoles totales (mg de ácido caféico/100 g)	Inter-grupos	11755.248	3	3918.416	1301.184	.000
	Intra-grupos	36.137	12	3.011		
	Total	11791.385	15			

Anexo 17

Tabla 5. Prueba de Tukey para fenoles totales del extracto etanólico del germinado de cuatro variedades de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua".

HSD de Tukey					
Subconjunto para alfa = .05					
Variedades	N	1	2	3	4
Blanca	4	254.0190			
Roja	4		276.8760		
Amarilla	4			325.4478	
Negra	4				266.2098
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Anexo 18

Tabla 6. Porcentaje de capacidad secuestradora del DPPH del extracto etanólico del germinado de cuatro variedades de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua”.

	Roja	Negra	Amarilla	Blanca
100µg/mL	90.2	98.6	86.2	83.6
	83.4	99.0	87.2	85.6
	83.8	97.4	87.0	85.4
Promedio	85.8	98.3	86.8	84.9
50 µg/mL	70.4	86.6	75.8	68.4
	71.8	86.6	76.8	68.4
	71.4	85.2	77.2	68.4
Promedio	71.2	86.1	76.6	68.4
10 µg/mL	30.4	53.2	47.0	45.8
	31.8	52.2	46.8	44.8
	33.0	53.4	48.2	46.0
Promedio	31.7	52.9	47.3	45.5

Longitud de onda: 517 nm.

Valores mostrados en (%)

Anexo 19

Tabla 7. Contenido de compuesto fenólicos totales presentes en el extracto etanólico del germinado de cuatro variedades de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua”

	Roja	Negra	Amarilla	Blanca
Ensayo 1	276.686	265.829	325.829	251.543
Ensayo 2	278.971	264.114	325.257	253.257
Ensayo 3	274.971	268.686	325.257	257.257
Promedio	276.876	266.210	325.448	254.019
Desviación estándar	1.639	1.886	0.269	2.394

Longitud de onda: 550 nm.

Los fenoles totales expresados en (mg de ácido caféico/100 g)

Anexo 20

Tabla 8. Matriz de consistencia.

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÒRICO	HIPOTESIS	VARIABLES	METODOLOGIA
Actividad antioxidante del extracto etanólico del germinado de cuatro variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd, "quinua". Ayacucho - 2015.	<ul style="list-style-type: none"> ¿Cuál de las concentraciones la actividad antioxidante es más eficaz del germinado de cuatro variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd, "quinua"? ¿Cuál de las cuatro variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd tiene mayor actividad antioxidante? 	<p>Objetivo general Determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico del germinado de las variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd, "quinua"</p> <p>Objetivos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> Cuantificar el contenido de compuestos fenólicos totales del germinado de cuatro variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> W., "quinua". Evaluar la capacidad antioxidante de las cuatro variedades del germinado de <i>Chenopodium quinoa</i> W., "quinua". 	<p>Se determinó la composición de los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de los cereales andinos, logrando evaluar el mayor contenido de compuestos fenólicos fue la quinua de la variedad roja (139,94 mg ácido gálico/100 g); y La mayor capacidad antioxidante medida por el radical DPPH en las muestras fue el de la quinua variedad roja (2400,55 µg trolox/g).^[2]</p> <p>Los germinados se consideran alimentos funcionales por ser alimentos predigeridos que facilitan su asimilación y aprovechamiento de nutrientes en el organismo; se incrementa el contenido de antioxidantes.</p>	<ul style="list-style-type: none"> La mayor concentración tiene una alta actividad antioxidante del extracto etanólico de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua". La variedad negra collana tiene mayor actividad antioxidante. 	<p>Variable Independiente: Compuesto fenólico del germinado de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.</p> <p>Indicador: Extracto metanólico a concentraciones de: 10µg/mL, 50µg/mL, 100µg/mL.</p> <p>Variable dependiente: Actividad antioxidante</p> <p>Indicador: Porcentaje de captación del radical libre DPPH.</p>	<p>Tipo de investigación: Experimental - Analítico. Población: Germinados de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua".</p> <p>Tipo de muestreo: por conveniencia.</p> <p>Muestra: cinco gramos de germinado de las cuatro variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.</p> <p>Unidad experimental: compuestos fenólicos del extracto etanólico del germinado de la quinua.</p> <p>Diseño Metodológico</p> <p>Obtención del germinado: La obtención del germinado se determinaron por el método de González et al.³⁹</p> <p>Obtención del extracto etanólico: Las muestras secas se pulverizaron en un mortero luego sometidas a extracción con 100mL etanol 96°, utilizando el soxhlet. Los extractos se concentraron a sequedad en un rotavapor. Los extractos secos obtenidos fueron disueltos en metanol para la actividad antioxidante y para la cuantificación de los compuestos fenólicos se disolvieron en agua destilada.</p> <p>Cuantificación de los compuestos fenólicos: Se determinaron por el método de Palomino L. et al.⁴⁰</p> <p>Determinación de la capacidad antioxidante: fueron determinados según la referencia bibliográfica de, Suarez C. Silvia.⁴¹</p> <p>Análisis de datos: Análisis de Varianza (ANOVA), a un nivel de confianza de 95% (p<0,05) y la prueba de Tukey.</p>