

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA

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



**Contenido de fenoles totales, antocianinas y
actividad antioxidante del extracto atomizado de las
flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha”,
Ayacucho- 2018.**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

Bach. PALOMINO VERGARA, Ruth

AYACUCHO - PERÚ

2018

A Dios, que con su amor infinito me regala tanto en esta vida.

Y de forma muy especial a mi familia por su apoyo incondicional.

A mi madre, por ser el pilar más importante en mi vida y por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional en esta etapa tan importante de mi vida profesional.

A mis amigas, por regalarme su infinita amistad y por animarme a seguir y cumplir mis objetivos.

AGRADECIMIENTOS

A mi *alma mater*, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, forjadora de mi formación profesional, a través de la facultad de Ciencias de la Salud y la Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica.

A mi asesor, el Mg. Q.F. ARONES JARA, Marco Rolando, asesor principal del presente trabajo de investigación, quién de manera incondicional estuvo presente en toda la conducción del presente trabajo y por haberme proporcionado su asesoría y experiencia para el desarrollo de la investigación.

Al Ing. Jesús J PANIAGUA SEGOVIA, por el apoyo en la conducción del presente trabajo de investigación.

Del mismo modo, quiero dar las gracias a todas las personas que estuvieron presentes y de alguna forma me apoyaron en esta etapa tan importante de mi vida y cuyos esfuerzos se materializaron en este informe.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xvii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes del estudio	3
2.3. Compuestos fenólicos	6
2.3.1. Flavonoides	8
2.4. Antocianinas	10
2.5. Estrés oxidativo	13
2.6. Antioxidantes	14
2.7. Proceso de atomización	18
III. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1. Ubicación	21
3.2. Población y muestra	21
3.2.1. Población	21
3.2.2. Criterios de inclusión y exclusión	21
3.2.3. Muestra	21
3.2.4. Unidad de análisis	21
3.2.5. Sistema de muestreo	21
3.3. Métodos instrumentales para la recolección de datos	21
3.3.1. Recolección y preparación de la muestra	21
3.3.2. Obtención del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum</i>	22
3.3.3. Identificación de compuestos químicos del extracto atomizado	22
3.3.4. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del atomizado	22
3.3.5. Determinación de contenido de fenoles totales	24
3.3.6. Determinación de la concentración de antocianinas	24
3.3.7. Determinación de la actividad antioxidante	25
3.4. Tipo y diseño de investigación	28
3.4.1. Tipo de investigación	29
3.4.2. Diseño de investigación	29
3.5. Análisis de datos	29
IV. RESULTADOS	31

V. DISCUSIÓN	41
VI. CONCLUSIONES	49
VII. RECOMENDACIONES	51
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
IX. ANEXO	61

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Mecanismos de acción de algunos antioxidantes (fuente determinación de actividad antioxidante de extractos y fracciones de Hojas de <i>Chromolaena perglabra</i> (B. L. Robinson) R.M. King & H. Robinson.)	17
Tabla 2.	Clasificación de los modelos de ensayo <i>in vitro</i> según su modo de reacción ET	18
Tabla 3.	Clasificación de los modelos de ensayo <i>in vitro</i> según su modo de reacción HAT	18
Tabla 4	Identificación de metabolitos secundarios del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”. Ayacucho, 2018	33
Tabla 5.	Características fisicoquímicas del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”. Ayacucho, 2018	34
Tabla 6.	Contenido de Fenoles totales del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”. Ayacucho, 2018	35
Tabla 7.	Contenido de antocianinas totales del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”. Ayacucho, 2018	36
Tabla 8	Concentración media inhibitoria (IC _{50%}) de la actividad antioxidante atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”. Ayacucho, 2018.	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Imagen de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana (fuente propia)	6
Figura 2	Clasificación de los compuestos fenólicos	7
Figura 3	Estructura básica de los flavonoides	9
Figura 4	Tipos de flavonoides. Los flavonoides se diferencian en los sustituyentes del anillo C, mientras que los compuestos individuales, dentro de cada uno de estos grupos, se distinguen por la diferente sustitución de los anillos A y B	9
Figura 5	Estructura y sustituyentes de las antocianinas	11
Figura 6	Estructuras de las antocianinas a diferentes pHs.	12
Figura 7	Mecanismo de reacción para el ensayo ABTS	19
Figura 8	Reacción involucrada en el ensayo FRAP	20
Figura 9	Porcentaje de actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”. Ayacucho, 2018	37
Figura 10	Porcentaje de actividad antioxidante por el método de ABTS del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”. Ayacucho, 2018	38
Figura 11	Porcentaje de actividad antioxidante por el método de FRAP del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”. Ayacucho, 2018	39

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.	Flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana	63
Anexo 2	Certificado de clasificación taxonómica	64
Anexo 3	Flujograma del procedimiento experimental del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudini</i> Triana “qihwncha”	65
Anexo 4	Procedimiento de la obtención del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”. Ayacucho 2018	66
Anexo 5	Evaporación del alcohol mediante el uso de rotavapor del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”. Ayacucho 2018	67
anexo 6.	Procedimiento para la obtención de un polvo fino por medio del secado por aspersión del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”. Ayacucho 2018	68
Anexo 7	Resultados de la identificación fitoquímica del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> T. Ayacucho 2018	69
Anexo 8.	Cuantificación de fenoles totales extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> T. Ayacucho 2018	70
Anexo 9.	Cuantificación de antocianinas totales del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> T. Ayacucho 2018	71
Anexo 10	Determinación de la actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> T “qihwncha”. Ayacucho 2018	72
Anexo 11	Determinación de la actividad antioxidante por el método de ABTS del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> T “qihwncha”. Ayacucho 2018	73
Anexo 12	Flujograma del procedimiento para la preparación de los reactivos del método FRAP.	74
Anexo 13	Flujograma del procedimiento para la determinación de la actividad antioxidante del trolox por el método FRAP	75
Anexo 14	Procedimiento para la determinación de la actividad	

	antioxidante por el método de FRAP del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> T. Ayacucho 2018	76
Anexo 15	Análisis de varianza de la actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> T. Ayacucho 2018	77
Anexo 16	Comparaciones múltiples de Duncan de las medias de actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> T. Ayacucho 2018	78
Anexo 17	Análisis de varianza de la actividad antioxidante por el método de ABTS del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> T. Ayacucho 2018	79
Anexo 18	Comparaciones múltiples de Duncan de las medias de actividad antioxidante por el método de ABTS del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> T. Ayacucho 2018	80
Anexo 19	Análisis de varianza de la actividad antioxidante por el método de FRAP del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> T. Ayacucho 2018	81
Anexo 20	Comparaciones múltiples de Duncan de las medias de actividad antioxidante por el método de FRAP del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> T. Ayacucho 2018	82
Anexo 21	Concentración media inhibitoria de la actividad antioxidante del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”. Ayacucho, 2018.	83
Anexo 22	Prueba de T de Student de la concentración media inhibitoria de la actividad antioxidante según el método DPPH del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”. Ayacucho, 2018.	84
Anexo 23	Prueba de T de Student de la concentración media inhibitoria de la actividad antioxidante según el método ABTS del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”. Ayacucho, 2018.	85

Anexo 24	Prueba de T de Student de la concentración media inhibitoria de la actividad antioxidante según el método FRAP del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”. Ayacucho, 2018	86
Anexo 25	Matriz de consistencia	87

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se ejecutó en los laboratorios del Área de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, en el Centro de Desarrollo, Análisis y control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF).

El objetivo fue determinar el contenido de fenoles totales, antocianinas y actividad antioxidante del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha”. En tal sentido, se recolectó dichas flores en la comunidad de Huaraca a 3800 m.s.m del distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho. Los metabolitos principales presentes en el extracto atomizado fueron: flavonoides, taninos, antocianinas, cumarinas, cardiotónicos, quinonas y saponinas. Así mismo, presenta una coloración fucsia, olor *suí generis*, sabor ácido; posee un aspecto de polvo fino. El contenido de fenoles totales fue de 216.0 mg. EAG/g.EA. Mientras el contenido de las antocianinas fue 75,47 mg/100 g de cianidina. Finalmente se determinó la actividad antioxidante del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha”, mediante el método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo), ABTS•+ [del ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)] y FRAP (Poder de reducción antioxidante del hierro). La concentración inhibitoria 50 (CL₅₀) del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha” sobre el radical DPPH, ABTS y FRAP fueron de (80,6 ± 0,85* ug/mL; 244,6 ± 3,93* ug/mL y 64,8 ± 3,09* ug/mL) respectivamente. Finalmente se concluye que, el extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha” presenta compuestos bioactivos con propiedades antioxidante.

Palabras claves: *Brachyotum naudinii* Triana, fenoles, antocianinas, antioxidante, DPPH, ABTS, FRAP.

I. INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales han acompañado la evolución del hombre históricamente y han estado ligadas a la forma de curar ancestralmente. Es por ello que forman parte de lo que ahora se conoce como medicina tradicional¹. Este es el caso del Bosque de Piedras de la comunidad de Waraca, provincia de Vinchos; que, sin la intervención humana, tiene una gama de plantas propias del lugar, que sin duda alguna poseen propiedades benéficas para la salud. Por otro lado, se debe tener en cuenta que las flores de algunas plantas poseen compuestos con acción terapéutica y, por esta razón, podrían ser considerados alimentos funcionales por sus compuestos bioactivos². Además, estos compuestos se asocian con la prevención de enfermedades crónicas degenerativas que, en los últimos tiempos, están en aumento entre la población². Por otro lado, el interés por los pigmentos antocianos en investigaciones científicas se han incrementado en los últimos años, debido no sólo al color que confieren a los productos que las contienen sino a su probable papel funcional en la reducción de las enfermedades coronarias, cáncer, diabetes, efectos antiinflamatorios, mejoramiento de la agudeza visual y comportamiento cognitivo; estos efectos terapéuticos positivos, están asociados con sus propiedades antioxidantes³. Químicamente las antocianinas son glucósidos de las antocianidinas⁴. Actualmente, el estudio de antioxidantes naturales tiene un importante impacto científico y económico⁵, en tal sentido, nuestro país tiene un abundante riqueza en cuanto a las plantas silvestres con potentes efectos antioxidantes y pigmentos naturales que bien podrían ser utilizadas en la industria dermocosmética y en la industria alimentaria. Como antioxidantes, los polifenoles se consideran compuestos bioactivos que pueden proteger a las células contra el daño oxidativo ya que pueden eliminar especies RSO, donar hidrogeno, inhibir la enzima lipooxigenasa y quelar metales de transición que desempeñan un papel vital en el inicio de este tipo de reacciones y captar los

radicales libres por lo tanto limitar el riesgo de varias enfermedades degenerativas asociadas al estrés oxidativo⁶. Por otro lado, el estrés oxidativo surge en sistemas biológicos después de una prolongada exposición a oxidantes, o a una disminución de la capacidad antioxidante del sistema, o a ambas; y está frecuentemente asociado con la generación de radicales libres como las especies reactivas oxigenadas (EROs), las cuales están fuertemente implicadas en la patología de enfermedades como el cáncer, enfermedades cardíacas, arterosclerosis; enfermedades cerebrales y el envejecimiento prematuro, entre otras⁷. Es así que, en los últimos años, los antioxidantes naturales provenientes de plantas han sido frecuentemente usados en diferentes campos de la industria farmacéutica como preservantes en alimentos y en medicina⁷. *Brachyotum naudinii* Triana, conocido vulgarmente como “qihwncha” es una planta silvestre que abunda en zonas alto andinas, principalmente en la comunidad de Waraca. Dicha planta no cuenta con estudios, por lo tanto, éste sería el primer trabajo realizado para la comunidad científica. Es así que se decidió llevar a cabo su estudio en los laboratorios de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, cuyos resultados fueron plasmados en este informe, como resultado de un estudio minucioso y descriptivo. Para lo cual se plantearon los siguientes objetivos.

Objetivo general:

Determinar el contenido de fenoles totales, antocianinas y actividad antioxidante del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha”, Ayacucho- 2018

Objetivos específicos:

- Determinar los metabólicos principales del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudini* Triana “qihwncha”.
- Evaluar los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudini* Triana “qihwncha”.
- Cuantificar fenoles totales del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudini* Triana “qihwncha”.
- Cuantificar las antocianinas del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudini* Triana “qihwncha”.
- Determinar la actividad antioxidante del extracto atomizado las flores de *Brachyotum naudini* Triana “qihwncha”.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

Hasta la actualidad no se ha encontrado ningún trabajo de investigación farmacológico ni químico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana, pero si se reportaron algunos trabajos de investigación sobre algunas de las 71 especies del mismo género.

Ibáñez et al⁵., realizaron un estudio cuyo título es “Búsqueda de Colorantes Naturales en el Valle de Zongo con Posibles Propiedades Antioxidantes y/o Fotoprotectoras” en el año 2016; donde se estudiaron once plantas las cuales fueron colectadas en el Valle de Zongo, siguiendo un criterio de colecta organoléptico y químico-taxonómico para encontrar especies con propiedades colorantes y fotoprotectoras. Entre ellos mencionan a *Brachyotum microdon*, *Monnina bridgesii* y *Souroubea fragilis*; donde estas especies presentan prometedores atributos como colorantes. Además, *B. microdon*, *Rumex acetosella* y *Fuchsia boliviana* muestran importantes absorciones en la región de UV-B mientras que *S. fragilis*, *Orthaea boliviensis*, *Senecio floccosus* y *Baccharis pentlandii* poseen absorciones en UV-A y UV-B. Una serie de ensayos fitoquímicos fueron realizados para conocer el perfil de metabolitos secundarios en las especies colectadas.

Torres⁸, realizó un estudio en el año 2015, cuyo título es “Etnobotánica y Bioprospección en Páramos y Bosques de Neblina del Norte Peruano: Conocimiento Tradicional Para La Ciencia e Innovación”, donde se realizó una investigación participativa en los páramos (3,000 a 3,600 msnm) y bosques de neblina (2,400 a 2,900 msnm) de Ayabca y Huancabamba, donde se ha implementado por acuerdos de Asamblea de las Comunidades Campesinas que han demandado esta investigación. El registro de conocimientos etnobotánicos implicó la identificación de 95 personas reconocidas en sus conocimientos expertos en el uso de plantas. El análisis fitoquímico muestra la importante presencia de compuestos fenólicos, taninos, cumarinas, flavonoides, esteroides

y saponinas, resultados coherentes con el efecto ambiental propio de los páramos que registra gran radiación ultravioleta por exposición y altitud. Más del 50% de las especies seleccionadas por los expertos locales poseen 70% o más de las principales sustancias bioactivas analizadas en un tamizaje fitoquímico orientados a este tipo de análisis de propiedades medicinales y otras vinculadas a la salud.

Finalmente el estudio concluye que, la planta “pega pega” (*Acaena ovalifolia*), es la especie más promisoría por mostrar importante actividad analgésica, antibacteriana y antioxidante, además en pequeñas dosis, es decir en mínimas cantidades de la planta; seguida de “zarcilleja” (*Brachyotum sp*) como antibacteriana y antioxidante, “Chupicaure” (*Muehlenbeckia hastulata*) como antioxidante y analgésico y con niveles elevados de actividad antibacteriana y antioxidante la hoja de la especie más consumida como bebida el “lanche” (*Mirciantes raphaloides*) y del fruto silvestre más consumido por niños, la “ushpa” (*Permetia prostrata*)

Parra y Aarez¹., en el año 2013; realizaron una investigación cuyo título es “Evaluación del Efecto Antiinflamatorio de los Extractos (*Miconia pseudocentrophora*, *Brachyotum ledifolium*, *Fuchsia loxensis*) en ratas (*Rattus norvegicus*)”. El trabajo de investigación se realizó en el Bioterio, Laboratorio de fitoquímica - Facultad de Ciencias- ESPOC. La metodología utilizada en la preparación de extractos fue primero por maceración del vegetal fresco con etanol concentrado a un 1/8 del volumen refrigerado, los sub extractos obtenidos por extracción con cloroformo, eliminado el solvente, los residuos obtenidos se analizaron las propiedades físicas y químicas, la aplicación por vía oral a *Rattus Novergicus* en seis lotes por triplicado para cada vegetal, previo a la inducción de edema plantar por carragenina 0,5%, la disminución de la medida plantar en cm² indica efectividad. Los resultados obtenidos fueron: *Brachyotum ledifolium*, humedad 49%; cenizas 4,07; rendimiento Extracto 78,6%; líquido transparente; verde amarillento herbal; ligeramente dulce; pH 14,18; Índice refracción 1.355, densidad 0,91 g/mL; metabolitos, Flavonoides, alcaloides, quinonas, triterpenos; la actividad antiinflamatoria 39.27%

Arellano et al⁹. En el año 2015; realizaron un estudio titulado “Evaluación de los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de tres colores de pétalos de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.)”, donde se evaluó el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en tres colores de pétalos de mastuerzo

(*Tropaeolum majus* L.). Los pétalos de los colores de mastuerzo rojo, anaranjado y amarillo se secaron a temperatura ambiente; luego se acondicionaron para la extracción de sus componentes bioactivos, los que se cuantificaron mostrando diferencia significativa ($p < 0,05$) entre colores. La mayor concentración de fenoles totales se encuentra en el color anaranjado, seguido por el rojo y el amarillo (917,05; 799,35 y 442,02 mg AGE/g de muestra). Con respecto a la capacidad antioxidante por los métodos DPPH y ABTS, el mayor contenido se encuentra en el color anaranjado, seguido por el rojo y amarillo (3928,226; 3286,163 y 2500,887 $\mu\text{M TE/g}$ de muestra), (622,92; 608,15 y 587,01 $\mu\text{M TE/g}$ de muestra). Agudo¹⁰, realizó un estudio cuyo título es “Técnicas para la determinación de compuestos antioxidante en alimentos” en el año 2010; donde mencionan que, los métodos de determinación de la actividad antioxidante se basan en distintos sistemas generadores de radicales libres. Dichos radicales reaccionarían con la muestra y en virtud de la capacidad antioxidante de esta se inhibiría la generación de los primeros. Así, lo que se determina realmente es el efecto antioxidante ya que la actividad antioxidante no se puede medir de forma directa. Lo ideal sería medir la actividad antioxidante de cada componente de la muestra por separado, sin embargo, y sobre todo en el caso de muestras naturales, es muy difícil determinar el número y concentración de los compuestos antioxidantes presentes en la muestra. Así mismo, menciona los diferentes métodos tales como: DPPH, ASTS, FRAP y ORAC.

2.2. Aspectos botánicos de *Brachyotum naudinii* Triana. “qihwncha”

2.2.1. Clasificación sistemática

Según el Sistema de Clasificación de Cronquist A. de 1988 (**Anexo 3**) es como sigue:

DIVISIÓN	: MAGNOLIOPHYTA
CLASE	: MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	: ROSIDAE
ORDEN	: MYRTALES
FAMILIA	: MELASTOMATACEAE
GÉNERO	: <i>Brachyotum</i>
ESPECIE	: <i>Brachyotum naudinii</i> Triana.
N. V.	: “qihwncha”

Fuente: Certificado emitido por el *Herbarium Huamangensis* – 2018

2.2.2. Descripción botánica

Arbusto de hasta 1.5 m de alto, con follaje ralo, usualmente con varios tallos generados desde la base. Hojas simples y opuestas, de tamaño pequeño, se caracteriza por tener tres nervios paralelos e impresos; también, pelos diminutos. Flores solitarias o en pequeños grupos, pero muy vistosas de color rojo vivo hasta morado, con la corola grande y llamativa; son péndulas y tubulares. Frutos globosos, pequeños de color oscuro ha morado negruzco, con varias semillas diminutas¹¹.



Figura 1. Imagen de *Brachyotum naudinii* Triana (fuente propia)

2.2.3. Descripción geográfica

Zona andina entre 3000 – 4500 msnm, muchas veces en lugares inhóspitos y sometidos a heladas¹¹.

2.3. Compuestos fenólicos

Químicamente los compuestos fenólicos son sustancias que poseen un anillo aromático, con uno o más grupos hidroxilo incluyendo derivados funcionales (ésteres, metil ester, glicósidos, etc.). La naturaleza de los polifenoles varía desde moléculas simples como los ácidos fenólicos hasta compuestos altamente polimerizados, como los taninos. Se presentan en las plantas en forma conjugada con uno o más residuos de azúcar unidos a los grupos hidroxilos, aunque en algunos casos se pueden producir uniones directas entre una molécula de azúcar y un carbono aromático. Por ello, la forma más común de encontrarlos en la naturaleza es la forma de glicósidos, siendo solubles en agua y en solventes orgánicos. Los azúcares asociados a los polifenoles pueden ser

monosacáridos, disacáridos o incluso oligosacáridos. Los compuestos a los que se encuentran unidos con más frecuencia son: D- glucosa, D-galactosa, D-arabinosa, L-ramnosa, D-xilosa y ácidos D-glucorónico y D-galacturónico. También pueden encontrarse unidos a ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas, lípidos, y a otros compuestos fenólicos.¹² Así mismo, los compuestos fenólicos o polifenoles son sustancias orgánicas que constituyen una de las principales clases de metabolitos secundarios de las plantas, donde desempeñan diversas funciones fisiológicas. Poseen un anillo benceno hidroxilado, los cuales agrupan un amplio intervalo de sustancias que difieren en el número de átomos de carbono, que las constituyen en conjunto con el esqueleto fenólico básico, además del número y posición de los sustituyentes hidroxilo. Su clasificación se observa en la Figura 2^{13,14}

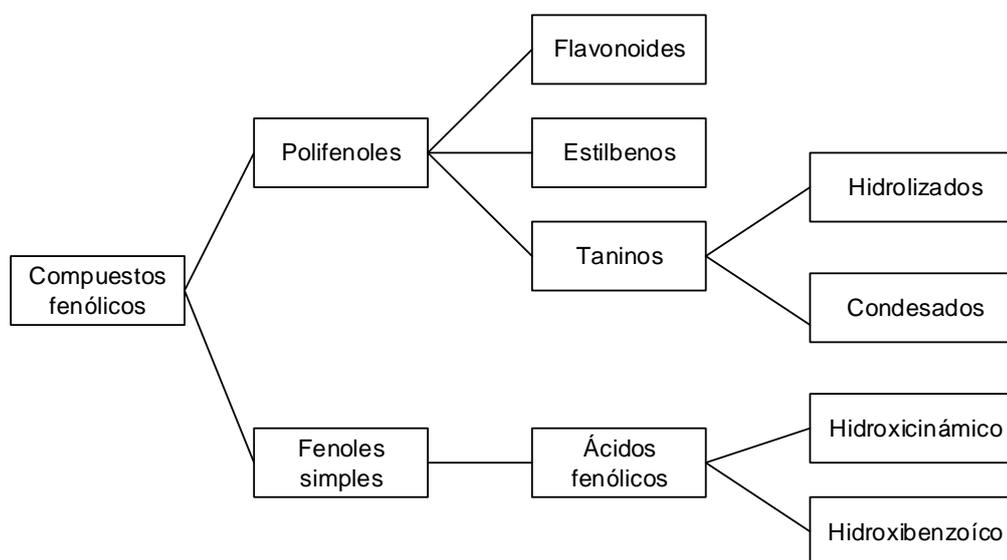


Figura 2. Clasificación de los compuestos fenólicos. ^{13,14}

La actividad antioxidante se debe a la presencia del ortodiol o catecol en la estructura de los diversos compuestos, esto les da la capacidad de quelar metales, interceptar radicales libres y modular la actividad enzimática¹⁴.

Algunos de los principales efectos biológicos que les confieren actividad antioxidante son:

- Suprimen la oxidación de lipoproteínas de baja densidad.
- Presentan antagonismo hacia receptores carcinogénicos.
- Modulan la secreción de las citocinas, así como la expresión de las cinasas proteicas en la proliferación de tumores.

- Inducen la expresión de enzimas anticarcinogénicas o inhiben la inducción de enzimas promotoras de cáncer.
- Tienen propiedades antiinflamatorias, antibacterianas y antifúngicas.

La mayoría de los polifenoles presentes en alimentos están en sus formas conjugadas, los fenoles libres se encuentran únicamente en tejidos muertos.

Los flavonoides que incluyen a las flavanonas, flavonoles y taninos condensados, funcionan como quelantes de metales, atrapan radicales libres, inhiben la xantina- oxidasa asociada a la formación de especies reactivas del oxígeno y la proliferación de células cancerígenas en pulmones, estómago y colon, además, previenen enfermedades coronarias. Los flavonoles se distribuyen en sus formas sin conjugar lo que les da una significancia metabólica¹⁴.

Según Márquez, los compuestos fenólicos se pueden agrupar en diferentes clases dependiendo de su estructura química básica, describiéndose a continuación aquellas con mayor interés nutricional:¹²

2.3.1. Flavonoides

Las plantas superiores sintetizan una amplia variedad de compuestos fenólicos durante su crecimiento y desarrollo, entre ellos, los flavonoides. Estos compuestos productos de la ruta biocinética del ácido fenilpropanoico, intervienen en los vegetales en la formación de pigmentos, en la protección frente a la radiación ultra violeta, en la defensa durante la interacción planta-patógeno y, posiblemente, modificando la acción de distintas hormonas vegetales (auxinas y citoquinas). Se ha demostrado, además, que los flavonoides de las plantas causan la activación de los genes bacterianos implicados en la formación de nódulos (*Rhizobium*) y en la transformación de plantas (*Agrobacterium*)¹⁵.

2.3.1.1. Importancia y clasificación

Los flavonoides son compuestos fenólicos, metabolitos secundarios producidos por las plantas. Se encuentran en vegetales, semillas, frutas y en bebidas como vino y cerveza. Se han identificado más de 5,000 flavonoides diferentes, están presentes en los vegetales y protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la contaminación ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, entre otros. El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos. Así

mismo, los flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos, son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6). Las distintas clases de flavonoides se diferencian en los sustituyentes del anillo C (Figura 4), mientras que los compuestos individuales, dentro de cada uno de estos grupos, se distinguen por la diferente sustitución de los anillos A y B¹⁶.

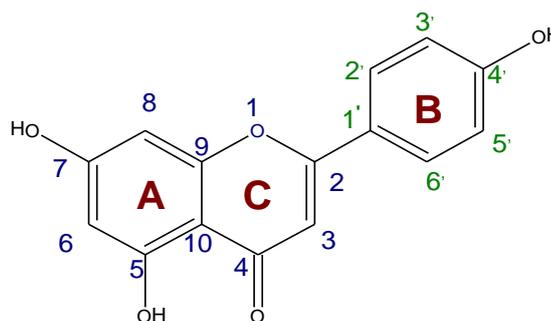


Figura 3. Estructura básica de los flavonoides

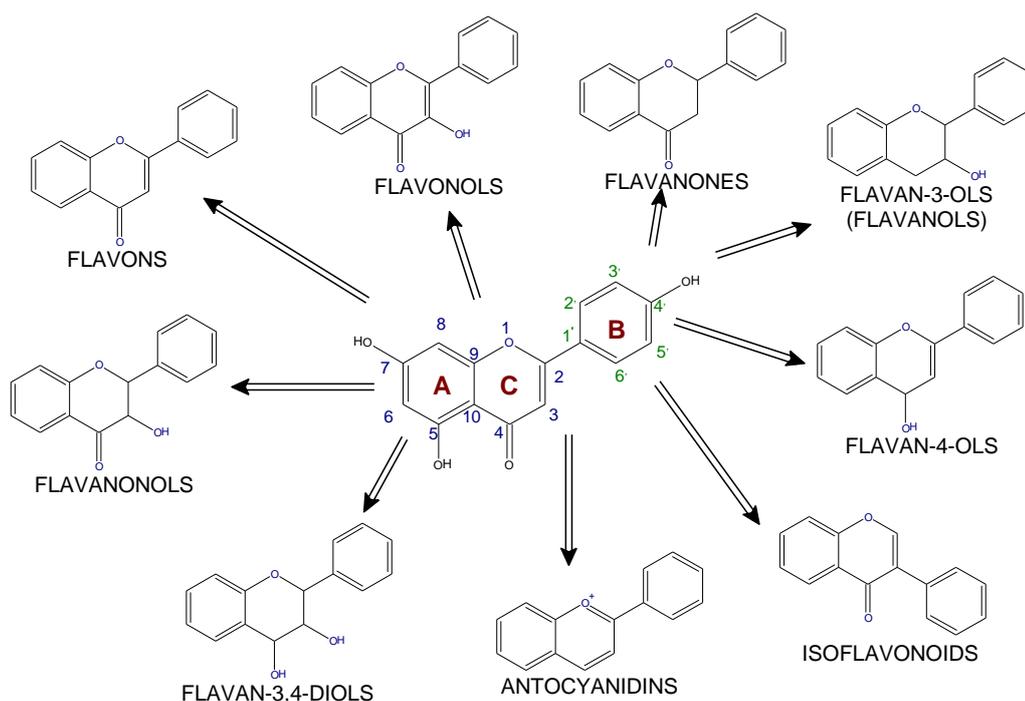


Figura 4. Tipos de flavonoides. Los flavonoides se diferencian en los sustituyentes del anillo C, mientras que los compuestos individuales, dentro de cada uno de estos grupos, se distinguen por la diferente sustitución de los anillos A y B¹⁶.

2.4. Antocianinas.

El termino antocianina fue utilizado por Marquat en 1835 para designar a los pigmentos azules de las flores. Más tarde se descubrió que no solo el color azul,

sino que también el purpura, violeta, magenta, y que todos los tonos de rojo, rosado, escarlata, que aparecen en muchas flores, frutos y algunas hojas y raíces de plantas, se deben a pigmentos químicamente similares a las antocianinas de Marquat¹⁷.

En 1913, Willstätter y Everest propusieron que el término antocianina se aplicara para el glicosido y el de antocianidina para la aglicona¹⁷.

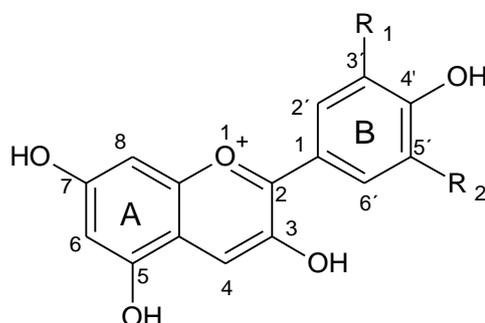
La palabra antocianina deriva del griego anthos (flor) y kyanos (azul oscuro). Las antocianinas son las responsables de los colores rojos, azulados o violetas de la mayoría de los frutos o flores, es el pigmento más importante, después de la clorofila, que es visible al ojo humano.⁸ Las antocianinas representan los principales pigmentos solubles en agua visibles al ojo humano. Pertenecen al grupo de los flavonoides y su estructura básica es un núcleo de flavón, el cual consta de dos anillos aromáticos unidos por una unidad de tres carbonos. El nivel de hidroxilación y metilación en el anillo "B" de la molécula determina el tipo de antocianidina, que es la aglicona de la antocianina. Aunque se han descrito doce diferentes antocianidinas, las más comunes en plantas son: pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina y malvidina. Las tres primeras son más frecuentes en frutos, en tanto que el resto lo son en flores. En las plantas las antocianidinas no se acumulan como tal, sino en su forma glucosilada; esto es, unidas a algún azúcar y en cuyo caso se denominan antocianinas. El azúcar presente en la molécula les confiere una gran solubilidad y estabilidad, generalmente se une a la antocianidina en la posición 3 del grupo fenólico, pero puede también hacerlo en las posiciones 5 y 7.

Con base en el número de azúcares presentes en su estructura, las antocianinas se clasifican en: monoglucósidos (un azúcar), diglucósidos (dos azúcares) y triglucósidos (tres azúcares). Los tipos de azúcares presentes pueden ser: monosacáridos, disacáridos o trisacáridos. Los monosacáridos más comunes son: pentosas como arabinosa y xilosa, o bien hexosas, de las cuales la D-glucosa es la más frecuente, aunque también pueden estar presentes galactosa o ramnosa. Los disacáridos más frecuentes son gentobiosa, soforosa, sambubiosa y rutinosa⁴.

2.4.1. Estructura de las antocianinas y color

Las antocianinas son glucósidos de antocianidinas, pertenecientes a la familia de los flavonoides, compuestos por dos anillos aromáticos A y B unidos por una

cadena de 3 C. Variaciones estructurales del anillo B resultan en seis antocianidinas conocidas (Fig. 5).¹⁸



Aglicona	Sustituyentes		λ máx (nm) Espectro visible
	R1	R2	
Pelargonidina	H	H	494 (naranja)
Cianidina	OH	H	506 (naranja-rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (azul-rojo)
Peonidina	OCH ₃	H	506 (naranja-rojo)
Petunidina	OCH ₃	OH	508 (azul-rojo)
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃	510 (azul-rojo)

Figura 5: Estructura y sustituyentes de las antocianinas¹⁸

El color de las antocianinas depende del número y orientación de los grupos hidroxilo y metoxilo de la molécula. Incrementos en la hidroxilación producen desplazamientos hacia tonalidades azules mientras que incrementos en las metoxilaciones producen coloraciones rojas. En la naturaleza, las antocianinas siempre presentan sustituciones glicosídicas en las posiciones 3 y/o 5 con mono, di o trisacáridos que incrementan su solubilidad. Dentro de los sacáridos glicosilantes se encuentran la glucosa, galactosa, xilosa, ramnosa, arabinosa, rutinosa, soforosa, sambubiosa y gentobiosa. Otra posible variación en la estructura es la acilación de los residuos de azúcares de la molécula con ácidos orgánicos. Los ácidos orgánicos pueden ser alifáticos, tales como: malónico, acético, málico, succínico u oxálico; o aromáticos: p-coumárico, caféico, ferúlico, sinápico, gálico, o p-hidroxibenzóico. Stintzing et al., 2002, demostraron que el tipo de sustitución glicosídica y de acilación producen efectos en el tono de las antocianinas; es así como sustituciones glicosídicas en la posición 5 al igual que acilaciones aromáticas, producen un desplazamiento hacia las tonalidades púrpura¹⁸.

2.4.2. Factores que alteran la estabilidad de las antocianinas

Existen diversos factores que influyen en la estabilidad de las antocianinas. La estructura de éstas puede verse afectada en cualquier etapa de un proceso tecnológico, como por ejemplo un proceso de extracción de antocianinas de un material vegetal, como así también durante un tratamiento térmico o durante el almacenamiento de un producto que las contiene. A continuación, se exponen los factores más relevantes que afectan a la estabilidad de las antocianinas.

a) Efecto del pH. Este es uno de los factores más importantes. Las antocianinas son más estables en un medio ácido que en un medio neutro o alcalino. En medio ácido la forma predominante es la del ión flavilio, el cual da el color rojo, cuando esta es sometida a pH básico o alcalino, el ión flavilio es susceptible al ataque nucleofílico por parte del agua, produciéndose la pseudobase carbinol, esto es a pH 4.5 y seguido se forma la chalcona, las dos formas son incoloras. Conociendo esto, las antocianinas tienen su máxima expresión de color a pH ácidos (pH=1), y su forma incolora se produce a pH neutros o alcalinos, debido a esta característica

se utilizan a las antocianinas a pH ácido o ligeramente neutro en la industria alimenticia. En la Figura 6 se muestra el comportamiento de la antocianina a diferentes pH's¹⁹.

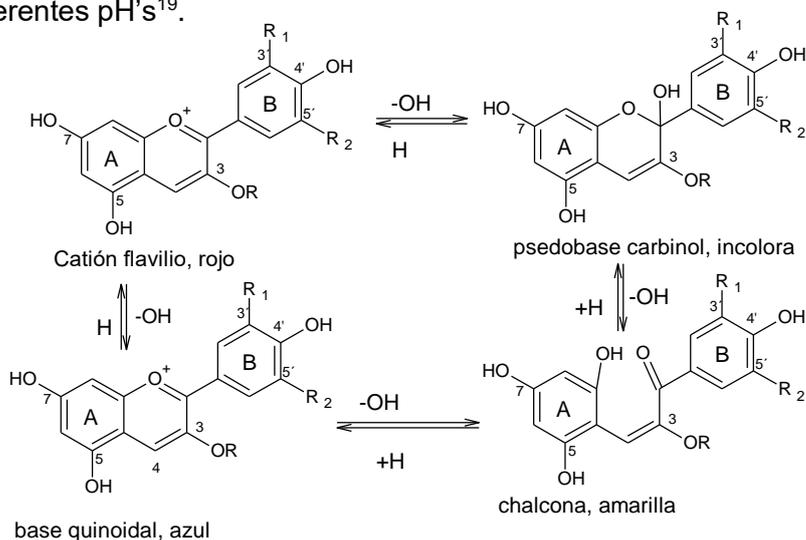


Figura 6. Estructuras de las antocianinas a diferentes pH's (Fuente: Giusti y Wrolstad, 2001).

b) Efecto de la temperatura. La antocianina es destruida por el calor durante el procesamiento y almacenamiento. Un incremento logarítmico en la destrucción de la antocianina ocurre con un incremento en la temperatura. Timberlake y Henry en 1986 observaron que el equilibrio entre las estructuras es endotérmico,

en una dirección de izquierda a derecha: Base quinoidal - Cation flavilio - Pseudobase carbinol - Chalcona. A altas temperaturas el equilibrio cambia hacia chalconas. El retorno de chalconas a flavilio es lento ¹⁹.

2.5. Estrés oxidativo

El daño o estrés oxidativo se ha definido como la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen un desbalance entre las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas especies químicas, ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de especies reactivas del oxígeno. Todo esto trae como consecuencia alteraciones de la relación estructura-función en cualquier órgano, sistema o grupo celular especializado; por lo tanto, se reconoce como mecanismo general de daño celular, asociado con la fisiopatología primaria o la evolución de un número creciente de entidades y síndromes de interés médico-social, involucrado en la génesis y en las consecuencias de dichos eventos²⁰.

2.5.1. Estrés oxidativo y rol de los antioxidantes en la salud

Durante los últimos años, el estrés oxidativo ha sido implicado en el desarrollo de diferentes patologías, como diabetes y enfermedades cardiovasculares. Este estrés oxidativo se produce cuando existe un desbalance entre la generación de especies reactivas del oxígeno (ERO) y los sistemas de defensa antioxidante de nuestro organismo, los cuales se ven sobrepasados. Las ERO contribuyen al envejecimiento celular, mutagénesis, carcinogénesis y enfermedades coronarias, posiblemente a través de la desestabilización de membranas, daño al ADN y oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL)²¹. Un antioxidante es una sustancia capaz de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres, los cuales, al ser átomos o grupos de átomos con un electrón desapareado, son muy reactivos ya que tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica²¹.

2.5.2. Radicales libres

Desde el punto de vista químico los radicales libres son todas aquellas especies químicas, cargadas o no, que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración espacial que genera gran inestabilidad, señalado por el punto situado a la derecha del símbolo. Son muy reactivos, tienen una vida media corta, por lo que actúan cercano al sitio en que se forman. Desde el punto de vista molecular son

pequeñas moléculas ubicuas y difusibles que se producen por diferentes mecanismos entre los que se encuentran la cadena respiratoria mitocondrial, la cadena de transporte de electrones a nivel microsomal y en los cloroplastos, y las reacciones de oxidación, por lo que producen daño celular (oxidativo), al interactuar con las principales biomoléculas del organismo. Los radicales libres del oxígeno tienen una función fisiológica en el organismo como la de participar en la fagocitosis, favorecen la síntesis de colágeno, favorecen la síntesis de prostaglandinas, activan enzimas de la membrana celular, disminuyen la síntesis de catecolaminas por las glándulas suprarrenales, modifican la biomembrana y favorecen la quimiotaxis. Existe un término que incluye a los radicales libres y a otras especies no radicalarias, pero que pueden participar en reacciones que llevan a la elevación de los agentes prooxidantes: Especies Reactivas del Oxígeno (ERO)¹⁷

Las principales especies reactivas del oxígeno o sustancias prooxidantes son:

Radical hidroxilo (HO•)²⁰.

- Peróxido de hidrógeno (H₂O₂)
- Anión superóxido (O⁻²)
- Oxígeno singlete (1O₂)
- Óxido nítrico (NO)
- Peroxilo (ROO•)
- Semiquinona (QH)
- Ozono O₃

La capacidad que tenga cada radical libre para actuar como agente oxidante está determinada por factores como su reactividad, especificidad, selectividad y difusibilidad. Son responsables del daño oxidativo de macromoléculas biológicas como el DNA, lípidos, carbohidratos y proteínas. Participan en los mecanismos fisiopatológicos de muchas enfermedades, como algunos tipos de cáncer, diabetes, patologías cardiovasculares, procesos reumáticos, patologías gastroentéricas, afecciones broncopulmonares o procesos neurodegenerativos. También están implicados en procesos fisiológicos como el envejecimiento, el daño causado por el ejercicio físico agotador y otros¹⁰.

2.6. Antioxidantes

En un sistema biológico, los antioxidantes pueden definirse como compuestos capaces de retrasar significativamente o inhibir la oxidación de otras moléculas cuando están presentes en concentraciones bajas en comparación con el

sustrato oxidable. El sustrato oxidable puede ser cualquier molécula presente en materiales biológicos y alimentos, incluyendo carbohidratos, ADN, lípidos y proteínas. Los antioxidantes pueden actuar de formas distintas; son capaces de disminuir la concentración de oxígeno, prevenir la formación de la reacción en cadena secuestrando los radicales de iniciación, unión a los iones metálicos catalizadores y descomposición de los productos primarios de oxidación; además, previenen la unión a proteínas, la mutación del ADN y el daño a tejido²².

2.6.1. Mecanismo de acción de los antioxidantes:

- Previniendo la formación de ROS.
- Interceptando el ataque de ROS.
- Secuestrando los metabolitos reactivos y convirtiéndolos en moléculas menos reactivas.
- Facilitando la reparación del daño causado por ROS.
- Manteniendo un ambiente favorable para la actuación de otros antioxidantes.
- Amplificando la resistencia de las dianas biológicas sensibles al ataque de ROS²³.

2.6.2. Antioxidante primario

Los antioxidantes primarios son aquellos que previenen la formación de nuevas “Especies Reactivas de Oxígeno” (ERO) y las transforman en otras menos perjudiciales antes de que reaccionen. En este grupo se destacan las enzimas superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPX), ferritina, ceruloplasmina de tipo ferroxidasa y catalasa²⁴.

2.6.3. Antioxidante secundario

Capturan los radicales y evitan las reacciones en cadena. Algunos ejemplos de ellos son la vitamina E y C, β -caroteno y sustancias endógenas con capacidad antioxidante, entre las que se encuentran el glutatión urato, bilirrubina, ubiquinona, albúmina y ácido úrico²⁴.

2.6.4. Antioxidante terciario

Los antioxidantes terciarios son los encargados de la reparación de las biomoléculas dañadas. Se incluyen las enzimas endonucleasa apurínica/apirimidínica y polimerasa β , reparadoras del ADN y la metionina sulfóxido reductasa²⁴.

2.6.5. Beneficios que se obtienen de una dieta rica en polifenoles.

Son numerosos los estudios que han mostrado que los polifenoles poseen propiedades antioxidantes, inhibiendo la peroxidación lipídica y captando

radicales libres hidroxilo, supéroxido y alcoxi. Protegen de la oxidación a las lipoproteínas de baja densidad (LDL) desempeñando un papel clave en la prevención del aterosclerosis. También pueden prevenir la trombosis, inhibiendo la agregación plaquetaria, la permeabilidad y fragilidad capilar. Son considerados reguladores del sistema inmune y como antiinflamatorios, probablemente debido a la modulación del metabolismo del ácido araquidónico, reduciendo los niveles de tromboxano. Modulan la actividad enzimática de la ciclooxigenasa, lipoxigenasa, fosfolipasa A2, hialuronidasa, e inhiben la acción de la angiotensina convertasa, mieloperoxidasa (que produce el hipoclorito y otros prooxidantes) y xantinoxidasa (que produce los radicales superóxido). Hay que destacar el potencial anticarcinógeno, ya que pueden estimular el bombeo de ciertos agentes cancerígenos hacia el exterior de las células o bien activar a las enzimas de detoxificación¹⁰.

2.6.6. Clasificación de los antioxidantes

Con respecto al mecanismo de acción, los antioxidantes se pueden dividir en los siguientes siete grupos.

Tipo de antioxidante	Mecanismo de acción	Ejemplo de antioxidante
Los antioxidantes que rompen las cadenas por reacción con radicales peroxilo	Estos son compuestos reductores con relativamente enlaces O-H y enlaces N-H débiles, que reaccionan fácilmente con los radicales peroxilo para la formación de radicales intermedios de baja actividad.	Fenoles Naftoles Hidroquinonas Aminofenoles Diaminas
Los antioxidantes que rompen las cadenas por reacción con radicales alquilo.	Estos son compuestos, que aceptan fácilmente los radicales alquilo. Estos antioxidantes son eficaces en concentraciones muy bajas de di-oxígeno y en polímeros sólidos.	Quinonas Nitronas Radicales estables nitroxilo y nitrocompuestos carotenoides
Antioxidantes que descomponen hidroperóxido.	Estos son compuestos que reaccionan con hidroperóxidos sin la formación de radicales libres.	Sulfuros Fosfitos Carbamatos Algunos complejos de metales

				Proteínas Aminoácidos
Antioxidantes desactivan metales.	que	Ligando metálicos inactivos	compuestos a compuestos	Óxidos de hidroperóxidos Diaminas Hidroxiácidos
Cadena cíclica, terminación por los antioxidantes.		En otras palabras, la terminación de la cadena se produce como un proceso cíclico catalítico (los antioxidantes se regeneran en las reacciones de terminación de la cadena). La terminación de la cadena múltiple puede tener lugar, por ejemplo, en los polímeros.		aminas aromáticas, los radicales nitroxilo, y compuestos que poseen metales de valencia variable
Los inhibidores de la		Algunos antioxidantes pueden interactuar		Antraceno

Tabla 1. Mecanismos de acción de algunos antioxidantes (fuente determinación de actividad antioxidante de extractos y fracciones de Hojas de *Chromolaena perglabra* (B. L. Robinson) R.M. King & H. Robinson.)²⁵

2.6.7. Medición de la actividad antioxidante

Existen numerosos métodos para medir la capacidad antioxidante de los compuestos, los que se clasifican en dos categorías: La primera, mide la inhibición de la oxidación en un sistema modelo por monitoreo a los cambios asociados usando medios físicos, químicos o instrumentales²⁶. La segunda, involucra a los ensayos captadores de radicales, los cuales incluyen métodos basados en mecanismos de transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) o transferencia de electrones (ET). Los ensayos ORAC (capacidad de absorber radical oxígeno) y TRAP (parámetro antioxidante que atrapan los radicales totales), son los mejores métodos utilizados para medir el HAT. Los ensayos TEAC (capacidad antioxidante equivalente a Trolox), FRAP (poder antioxidante reductor férrico) y el DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracil) representan a los métodos basados en ET²⁶.

Ensayos basados en la reacción por transferencia de electrones (ET).

Tabla 2. Clasificación de los modelos de ensayo *in vitro* según su modo de reacción ET²⁷.

ENSAYO	CATEGORÍA
ácido 2,2´azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS ^{•+})	Ensayos basados en la transferencia de electrones (ET)
1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH)	
Poder de reducción antioxidante del hierro (FRAP)	
N, N- dimetil-p- fenilendiamina (DMPB)	
Capacidad de reducción antioxidante del cobre (CUPRAC)	

Ensayos basados en la reacción por transferencia de átomos de hidrógeno (HAT)

Tabla 3. Clasificación de los modelos de ensayo *in vitro* según su modo de reacción HAT²⁷.

ENSAYO	CATEGORÍA
Capacidad de absorción del radical oxígeno (ORAC)	Ensayos basados en la transferencia de átomos de hidrógeno (HAT)
Parámetro antioxidante de captura de radicales (TRAP)	
Inhibición de la oxidación del ácido linoleico	
Inhibición de la oxidación de los lípidos de baja densidad (LDL)	

2.6.7.1. Método ABTS

El método ABTS se basa en la capacidad de captura que tiene el anión radical ABTS^{•+} [del ácido 2,2´-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)] de vida larga. El ABTS^{•+} es oxidado por los radicales peróxido u otros oxidantes a su forma de radical catión ABTS^{•+} de color intenso. La capacidad antioxidante de los compuestos de prueba se mide como inhibición óptica complementaria a la absorbancia (disminución del color), al reaccionar directamente con el radical ABTS^{•+}. Los resultados de los compuestos analizados se expresan como equivalentes de trolox²⁸.

El método permite expresar los resultados de acuerdo a la capacidad del antioxidante para donar un hidrógeno y estabilizar al radical ABTS. La decoloración que la solución de ABTS experimenta en la reacción, se compara con la decoloración hecha por un antioxidante patrón derivado de la vitamina e

conocido como trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-acido carboxílico), mediante una curva de calibración. Por esta razón el resultado se expresa como capacidad antioxidante en equivalentes trolox o TEAC (del inglés: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)²².

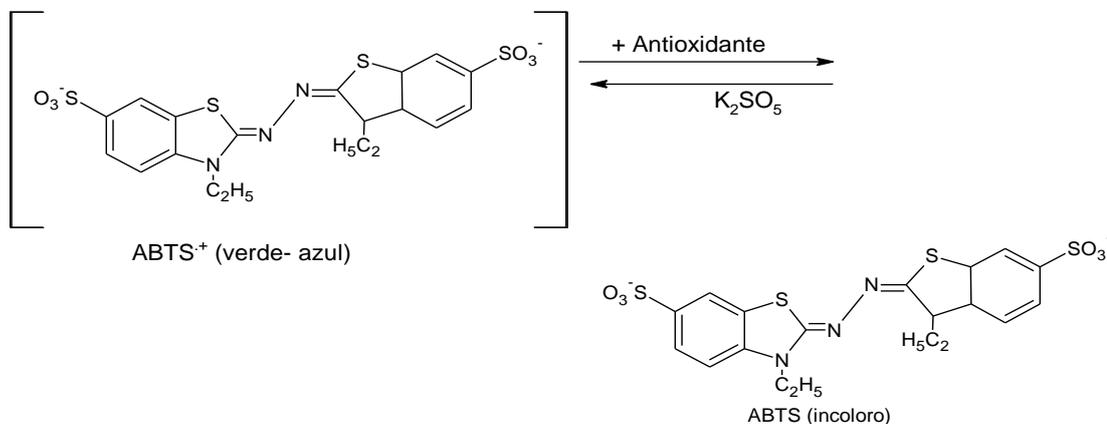


Figura 7. Mecanismo de reacción para el ensayo ABTS²⁹

2.6.7.2. Método FRAP

Se basa en el poder que tiene una sustancia antioxidante para reducir el Fe³⁺ a Fe²⁺ que es menos antioxidante. El complejo férrico-2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) incoloro es reducido al complejo ferroso coloreado²³.

Se mide la densidad óptica (DO) del Fe²⁺. Así, cuanto más antioxidante es la sustancia objeto de estudio, mayor es la reducción y mayor concentración de Fe²⁺ y más alta la señal de absorbancia. El complejo va a poder ser reducido por productos con potenciales redox menores a 0.7 V (potencial redox del Fe³⁺ - TPTZ)²³.

Debido a que el potencial redox del Fe³⁺ - TPTZ es comparable con el del ABTS se pueden analizar compuestos similares con ambos métodos, aunque las condiciones de la reacción sean distintas. El mecanismo del FRAP es de transferencia de electrones, a diferencia de otros métodos donde se produce captura de radicales libres, según esto, el FRAP puede ser útil, en combinación con otros métodos, en la determinación de la capacidad antioxidante de productos que contengan distintos tipos de antioxidantes²³.

La reacción mide la reducción del complejo férrico-2,4,6, tripiridil-s-triazina (TPTZ), en la cual el hierro férrico (Fe³⁺ - TPTZ) se reduce a ión ferroso a bajo pH, causando la formación de un complejo ferroso-tripiridil-triazina coloreado (Fe²⁺ -TPTZ), que absorbe a²² una longitud de onda de 593 nm²⁹.

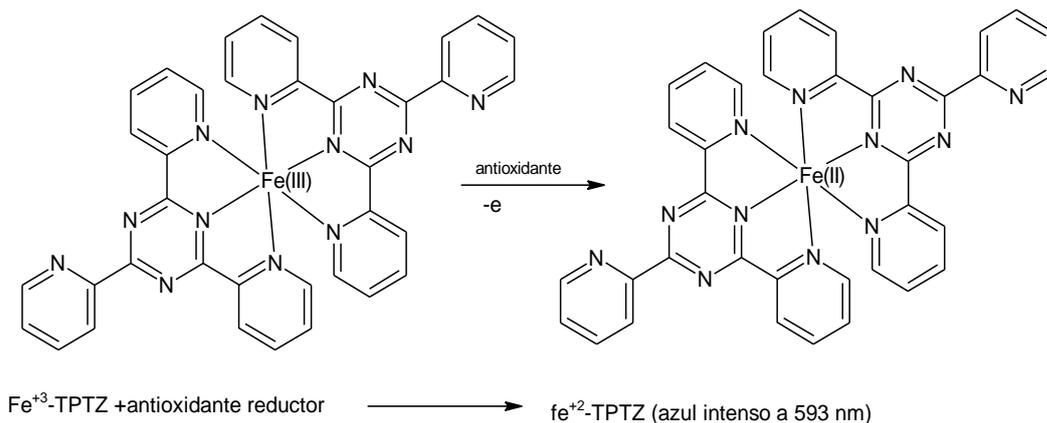


Figura 8. Reacción involucrada en el ensayo FRAP²⁹

El patrón utilizado para comparar los resultados será el trolox.

2.7. Proceso de atomización

El proceso de secado por atomización es una operación básica que consiste en la transformación de una suspensión o disolución en un material seco particulado, mediante la atomización del primero en un medio caliente y seco. El secado por atomización de gotas es utilizado en muchas aplicaciones industriales de los sectores cerámico, químico, alimentario, farmacéutico. Cada proceso industrial y uso posterior del polvo atomizado obtenido requiere de unas propiedades determinadas, que sean óptimas para la aplicación en cuestión³⁰.

2.7.1. Ventajas del proceso de secado por aspersión

- La evaporación de agua enfría el contenido de las partículas permitiendo usar varias temperaturas de aire de secado sin afectar las cualidades del producto.
- Proceso continuo y constantemente controlado
- Homogeneidad de productos
- Excelente presentación de los productos
- Tiempos de secado cortos.
- Secado de materiales termosensibles, exponiéndolos a tiempos cortos.
- El producto final es un polvo fluido y soluble³¹

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

El presente trabajo investigación, se llevó a cabo en el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF) de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.2. Población y muestra.

3.2.1. Población

Flores de *Brachyotum naudini* Triana "qihwncha", que crecen en zonas andinas, del centro poblado de Huaraca, distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho.

3.2.2. Criterios de inclusión y exclusión.

Se tomó en consideración las flores de "qihwncha", que estén en buen estado excluyendo las que estén dañadas o en mal estado.

3.2.3. Muestra

98 g de Flores de *Brachyotum naudini* Triana "qihwncha",

3.2.4. Unidad de análisis

Extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudini* Triana "qihwncha",

3.2.5. Sistema de muestreo

Libre por conveniencia.

3.3. Métodos instrumentales para la recolección de datos

3.3.1. Recolección y preparación de la muestra.

Se recolectaron al azar las flores de *Brachyotum naudini* Triana "qihwncha" en horas de la mañana, luego fueron lavadas y secadas a temperatura ambiente, en un lugar con buena ventilación, cambiando el papel de soporte y removiendo el vegetal para evitar su descomposición, por un periodo de 7 días. Luego se procedió a seleccionar los pétalos para su posterior molienda.

3.3.2. Obtención del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudini* Triana "qihwncha"

Se seleccionó las flores de *Brachyotum naudini* Triana "qihwncha" cerciorándose de que no tuvieran daño en las flores, que sean de similar tamaño y color.

Una cantidad de 98 g de muestra se sometieron a maceración con 1500 mL de etanol al 70° acidulado con ácido cítrico a pH 3,18, se homogenizó por 30 min en un vortex para luego macerar durante 24 h. a tempera ambiente. Transcurrido este tiempo se homogenizó nuevamente y fueron filtradas al vacío, el sobrenadante se concentró en un rotavapor a 60°C durante 8 min³².

Finalmente se atomizó para obtener un polvo fino utilizando el atomizador Mini Spray Dryer B-290 y el producto obtenido se envasó en un recipiente herméticamente cerrado, ya que el extracto atomizado es muy higroscópico³³.

De esta manera, se obtuvo un total de 34 g de muestra solida (polvo fino).

3.3.3. Identificación de compuestos químicos del extracto atomizado

La identificación de los diferentes compuestos químicos del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudini* Triana "qihwncha", fueron realizadas siguiendo los procedimientos de Olga Lock de Ugaz³⁴.

3.3.4. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado.

Una vez obtenido el extracto atomizado, se evaluaron los parámetros físico - químicos, que a continuación se señala.

a) Determinación de las características organolépticas

Color: Se colocó la muestra en un tubo de ensayo hasta las tres cuartas partes y se obtuvo el color, la transparencia, la presencia de partículas y la separación en capas³³.

Olor: Se tomó una tira de papel secante de aproximadamente 1 cm de ancho por 10 cm de largo e introdujo en un extremo de la muestra del ensayo.

Determinando si corresponde con las características del producto. Los términos para describir los olores de la droga son: aromático, aliáceo, alcanforado, nauseabundo, desagradable, a especia, etc³³.

Sabor: Se tomó una cantidad suficiente y se colocó en una luna reloj, luego hacer contacto con la lengua y determinar el tipo de sabor (dulce, amargo, ácido, salino, astringente, punzante, nauseabundo, aromático, etc)³³.

Aspecto: Se tomó cantidad suficiente de muestra y se colocó en una luna de reloj, se observó y se determinó el aspecto de la muestra³³.

b) Determinación de la solubilidad

Para determinar la solubilidad de extracto seco se pesó un gramo de muestra y se vació en un tubo de ensayo, el cual se le adicionó 1 mL de disolvente (agua, alcohol o cloroformo), agitar y observar, en caso de no disolverse aumentar el disolvente a 10 mL, así sucesivamente para 30 mL, 100 mL, 1 L y más de 10 L.³⁵

c) Determinación de pH

La medición del pH se llevó a cabo mediante el pH-metro de mesa, para ello se preparó una solución reguladora de pH, para rango de 0-7. Una vez preparada la solución reguladora, se ajustó el equipo al rango en que se realizó la determinación. Posteriormente se determinó el valor del pH de la muestra³⁵.

d) Determinación del contenido de humedad

Se pesó 2 g. de la muestra de ensayo con desviación permisible de 5 mg y se transfirió a una cápsula de porcelana previamente tarada y desecada, seguidamente se desecó a 105 oc durante tres horas. La cápsula se colocó en la desecadora donde se deja enfriar a temperatura ambiente y se pesa, colocándose nuevamente en la estufa durante una hora, volviéndose a pesar, hasta obtener una masa constante³⁵.

$$Hg = \frac{M2 - M1}{M2 - M} \times 100$$

Dónde:

Hg = Pérdida en peso por desecación (%)

M = Masa de la cápsula vacía (g)

M1 = Masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g)

M2 = Masa de la cápsula con la muestra de ensayo (g)

100= Factor matemático.

e) Determinación del contenido de cenizas.

Se pesó no menos de 2 g ni más de 3 g de la muestra de ensayo, con una desviación permisible de 5 mg en un crisol de porcelana o platino previamente tarado. Se calienta suavemente la muestra de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar y posteriormente incinere en una mufla a una temperatura de 700 a 750°C, si no se señala otra temperatura en la norma específica, durante dos horas. Se enfría el crisol en una desecadora y se pesa, repitiéndose el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difieran en más de cinco mg por g para obtener la masa constante los intervalos entre calentamiento y pesada son de 30 min. Si el residuo presenta trazas de carbón, se le añaden unas gotas de solución de peróxido de hidrógeno concentrado, ácido nítrico o

solución de nitrato de amonio al 10 % m/v y se calienta hasta evaporar los solventes. Al enfriar el crisol el residuo es de color blanco o casi blanco.³⁵

Cálculo:

$$C = \frac{M2 - M1}{M2 - M} \times 100$$

Dónde:

C = porcentaje de cenizas totales en base hidratada

M = masa del crisol vacío (g)

M1 = masa del crisol con la porción de ensayo (g)

M2 = masa del crisol con la ceniza (g)

100 = factor matemático

3.3.5. Determinación de contenido de fenoles totales

La determinación de contenido de fenoles totales se realizó mediante el método de espectrofotometría de Folin-Ciocalteu, para lo cual se utilizó el ácido gálico como el compuesto fenólico de referencia³⁶.

Este método se fundamenta en su carácter reductor y seguida neutralización. Consiste en la mezcla de la muestra a analizar y el reactivo de Folin-Ciocalteu, el cual tiene la capacidad de reaccionar con los compuestos polifenólicos, dando como resultado un cambio de coloración de amarillo a azul, y su intensidad depende del contenido de fenoles presentes en la muestra. En seguida se mide esta coloración en el espectrofotómetro³⁷.

Procedimiento: Se tomaron 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 mezclaron en un tubo de ensayo y se deja reaccionar a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se medirá la absorbancia de las muestras a una longitud de onda de 765 nm utilizando un espectrofotómetro. El contenido de fenoles totales se expresa 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/mL³⁷.

El extracto obtenido anteriormente contiene la antocianina de interés, pero a su vez contiene interferencias para su análisis tales como fenólicos, azúcares y ácidos por lo que para eliminarlas se utilizó el siguiente método:³²

3.3.6. Determinación de la concentración de antocianinas mediante el método pH diferencial

Para la obtención de la concentración de la antocianina se utilizó el método de pH diferencial. La antocianina experimenta una transformación reversible con los

cambios de pH manifestado por un llamativo cambio en la absorbancia. La forma oxonium predomina a pH 1 y el hemiacetal a pH 4.5. El pH diferencial es un método basado en esta reacción, y permite una rápida y exacta medida de la antocianina total, incluso en la presencia de pigmentos degradados polimerizados y de otros compuestos interferentes. Este método fue utilizado primero por Fuleki y Francis (1968) para medir el contenido de antocianina en arándano³².

Materiales

- Buffer pH1 (0.025 M Cloruro de Potasio)
- Buffer pH4.5 (0.4 M Acetato de Sodio)
- Celdas de cuarzo para UV- Visible
- Agua destilada
- Espectrómetro de UV-Visible
- Pigmento
- Pipeta
- El método se describe en la Figura 9.
- Para la obtención de la concentración de antocianina se utiliza la fórmula de pH diferencial:

$$A = (A_{\lambda \text{ vis-max}} - A_{\lambda 700})_{\text{pH1}} - (A_{\lambda \text{ vis-max}} - A_{\lambda 700})_{\text{pH 4.5}}$$

En donde $A_{\lambda \text{ vis-max}}$ es la lectura del pico más alto a pH 1 y pH 4.5, y $A_{\lambda 700}$ es la lectura a 700 nm, tanto para pH 1 como pH 4.5 Para calcular la concentración en la muestra original se sigue la siguiente fórmula:

$$\text{Antocianina monomérica (mg L}^{-1}\text{)} = (A * \text{Peso molecular} * \text{FD} * 1000) / (\epsilon * 1)$$

A = Es la absorbancia antes calculada

FD = Es el factor de dilución

ϵ = El coeficiente de extinción molar

3.3.7. Determinación de la actividad antioxidante

3.3.7.1. Método de radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)

Se realizó la evaluación cuantitativa de la actividad antioxidante siguiendo la metodología descrito por Sousa et al., (2007), 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 realizaron en UV-Vis a una longitud de onda de 515 nm, se utilizó el Trolox como control positivo³⁸.

Los resultados se pueden expresar como IC_{50%} de captación, % de actividad antirradicalaria, o equivalentes a trolox o equivalentes a vitamina C (cuando es comparado con estándares)

Procedimiento

Se procede a preparar 50 mL de la solución madre DPPH en etanol 96° a una concentración de 40 mg/mL, posteriormente se mantiene en refrigeración y protegido de la luz, se realizaron diluciones de 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5, 1 µg/mL. La curva de calibración se construye 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.³⁸

El extracto etanólico de las flores de *Brachyotum naudini* Triana “qihwncha”, y el control positivo (trolox) en etanol 96°, 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 blanco³⁶.

Cálculos:

- Calcular el porcentaje de actividad antioxidante

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

Donde:

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

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

- Calcular la concentración media inhibición de la actividad antioxidante, de la ecuación lineal del porcentaje de actividad antioxidante versus concentración Trolox y extractos atomizados, utilizando el software Excell³⁸.

3.3.7.2. Método del Radical 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS)

Preparación de la solución madre de ABTS: Se preparó una solución madre de ABTS (7Mm), para ello se pesó exactamente 0,09601 g de ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt, 98%) y se disolvió en 25 ml de agua bidestilada³⁹.

Preparación de la solución de per sulfato de potasio: Se preparó una solución de per sulfato de potasio (2,45Mm), para ello se pesó 0,0165 g de $K_2S_2O_8$ y se disolvió en 25mL de agua destilada³⁹.

Preparación del radical ABTS^{•+}

En un frasco ámbar, se colocó 3 mL de la solución madre ABTS (7 mM) y 3 mL de la solución de Per sulfato de Potasio $K_2S_2O_8$ (2,45 mM), se homogenizó y se cubrió con papel aluminio. La solución se incubó de 12 a 16 horas a temperatura ambiente ($\pm 25^\circ C$) antes de su utilización.

La solución tiene un periodo de uso de 2 días en refrigeración.

Una vez formado el radical ABTS^{•+} se diluyó con etanol 96° hasta obtener un valor de absorbancia comprendido entre 0,70 ($\pm 0,02$) a 754 nm (longitud de onda de máxima absorción)³⁹.

Procedimiento

Se colocó 20 uL de las soluciones de los extractos a concentraciones de 50 a 250ug/mL en tubos de vidrio y se harán reaccionar con 980 uL del radical ABTS^{•+}.

Se mide la densidad óptica de la mezcla de reacción al minuto 6 a 734 nm, los ensayos se realizaron por triplicado.

Se construyó la curva de calibración con Trolox a concentraciones de 50 a 250ug/mL, y se determinó el porcentaje de inhibición utilizando la siguiente ecuación:²³

Cálculos:

- Calcular el porcentaje de actividad antioxidante

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

Donde:

Abs_{control}: absorbancia inicial de la solución de ABTS

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

- Calcular la concentración media inhibición de la actividad antioxidante, de la ecuación lineal del porcentaje de actividad antioxidante versus concentración Trolox y extractos atomizados, utilizando el software Excel

3.3.7.3. Método poder reductor antioxidante Férrico (FRAP)

Este ensayo se basa en el poder de un compuesto o extracto para reducir la 2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina (TPTZ). Un antioxidante potencial puede reducir el

ion férrico (Fe^{3+}) a ion ferroso (Fe^{2+}); esta última forma un complejo azul ($\text{Fe}^{2+}/\text{TPTZ}$), cuya absorbancia se lee a 590 nm, La reacción debe llevarse a cabo en condiciones ácidas (pH 3,6) para conservar la solubilidad del hierro. El poder reductor está relacionado con el grado de hidroxilación y la conjugación en los fenoles⁴⁰.

Desarrollo del método

Solución de ácido clorhídrico HCl 40 mM. Se diluye 535 uL de HCl (37%) en 100 mL de agua destilada.

Solución TPTZ 10 mM. Se pesó 0,0312 g del reactivo TPTZ y se disolvió en un matraz de 10 mL con HCl 40 mM.

Solución de cloruro férrico 20 mM. Se pesó 0,1352g de cloruro férrico, se disolvió en 25 mL de agua destilada.

Tampón acetato 0,3 mM; pH 3,6 para 250 mL. Se disolvió 0,00615 g de acetato de sodio en 200 mL de agua destilada. Ajustar el PH a 3,6 utilizando HCl 40 mM y completar hasta los 250 mL con agua destilada⁴⁰.

Preparación de solución de trabajo diario FRAP

Mezclar 25 mL del tampón acetato 0,3 mM, 2,5 mL de 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine 10 mM preparado en HCl 40 mM y 2,5 mL de cloruro férrico 20 mM. Esta preparación debe mantenerse durante todo el proceso en baño maría a 37°C

Procedimiento

Se colocó 20 uL de las soluciones de los extractos a concentraciones de 50 a 250 ug/mL en tubos de vidrio y se hacen reaccionar con 980 uL de la solución de trabajo.

Se medirá la densidad óptica de la mezcla de reacción al minuto 30 a 593 nm, los ensayos se realizarán por triplicado²³.

Cálculos

- Calcular el porcentaje de actividad antioxidante

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

Donde:

Abs_{control}: absorbancia inicial de la solución de FRAP,

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

- Calcular la concentración media inhibición de la actividad antioxidante, de la ecuación lineal del porcentaje de actividad antioxidante versus concentración Trolox y extractos atomizados, utilizando el software Excel³⁸.

3.4. Tipo y diseño de investigación

3.4.1. Tipo de investigación

Descriptivo³⁷. Porque, describe todos los fenómenos ocurridos durante su tratamiento. Así mismo, analiza e interpreta ciertos fenómenos que presenta las flores de *Brachyotum naudini* T.

3.4.2. Diseño de investigación

Diseño descriptivo simple³⁹.

$$M - O$$

Donde:

M: muestra

O: información (observaciones)⁴¹.

3.5. ANÁLISIS DE DATOS

Los datos obtenidos fueron procesados y analizados mediante el programa Microsoft Excel y el Software OriginPro. Para identificar diferencias significativas de las muestras fueron evaluadas mediante el análisis de varianza (ANOVA), comparaciones múltiples del Duncan y t-Student para muestras independientes, donde fueron evaluados los valores de CI_{50} entre el trolox y las muestras, con un nivel de confianza de 95% (para ello se utilizó el programa SPSS versión 19.0)⁴².

IV. RESULTADOS

Tabla 4. Identificación de metabolitos secundarios del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha”. Ayacucho, 2018

Metabolitos secundarios	Ensayos	Resultados	Observaciones
Flavonoides	Shinoda	++	Coloración rojo- rosado
Antocianinas	Antocianidina	++	Coloración fucsia y naranja transparente
Fenoles y/o Taninos	Cloruro Férrico	+++	Coloración azul oscuro (tipo piragalotánicos)
Cumarinas	Baljet	+	Se observó un precipitado y cambio de coloración a marrón oscuro
Cardiotónicos	Kedde	++	Coloración violácea en la parte inferior
Quinonas	Borntrager	+++	Fase superior presentó un color rojo y la fase acuosa transparente
Saponinas	Espuma	+++	Formación de espumas

Leyenda:

(+): Poco / leve

(++): Regular / moderado

(+++): Abundante / intensa

Tabla 5. Características fisicoquímicas del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha”. Ayacucho, 2018

Parámetros	Ensayos	Resultados
Organoléptico	Color	Fucsia
	Olor	<i>Sui generis</i>
	Sabor	Ácido
	Aspecto	Polvo
Solubilidad	Agua	Altamente soluble
	Metanol	Soluble
	Acetona	Insoluble
	Cloroformo	Poco soluble
	Butanol	Insoluble
	Etanol	Poco soluble
pH	Extracto hidroalcohólico	3,18
Humedad	Perdida por desecación	0,0305%
Cenizas totales	Cenizas totales	8,085%
Rendimiento	Solidos totales	37,08%

Tabla 6. Contenido de Fenoles totales del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha”. Ayacucho, 2018

Muestra	X
M1	215,7 +/-2,11
M2	221,5 +/-1,90
M3	210,7 +/-5,29
X	216,0 +/-1,55 mg EAG/ g, EA

Tabla 7. Contenido de antocianinas totales del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha”. Ayacucho, 2018

Muestra	Total de antocianinas(mg/100g de cianidina)
M1	75,47
M2	76,31
M3	74,64
X	75,47 +/-2,07

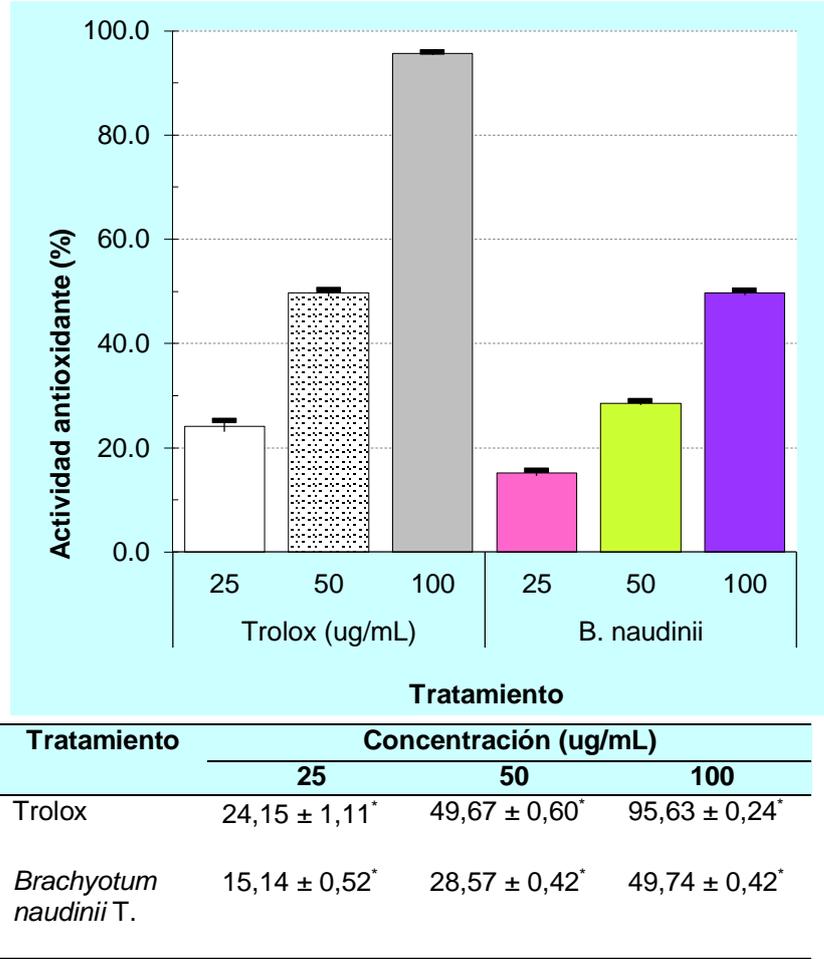
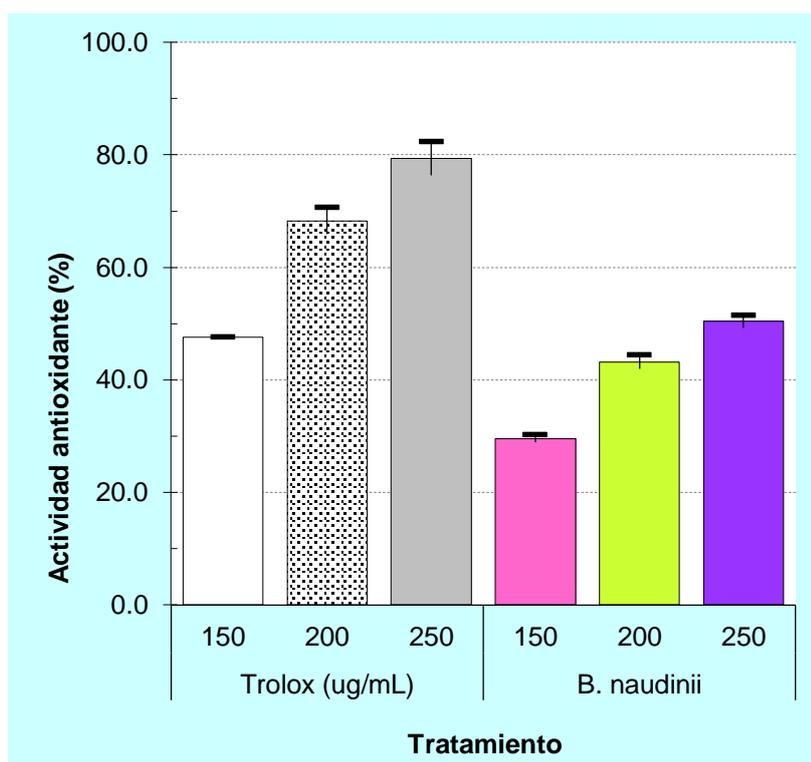
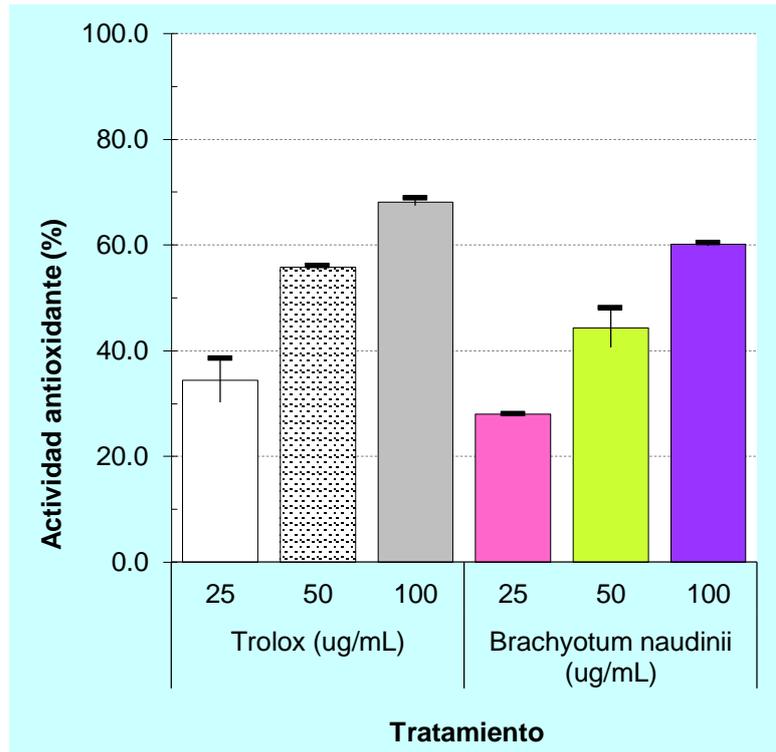


Figura 9. Porcentaje de actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha”. Ayacucho, 2018



Tratamiento	Concentración (ug/mL)		
	150	200	250
Trolox	47,59 ± 0,00*	68,25 ± 2,38*	79,37 ± 2,98*
<i>Brachyotum naudinii</i> T.	29,59 ± 0,63*	43,18 ± 1,22*	50,37 ± 1,10*

Figura 10. Porcentaje de actividad antioxidante por el método de ABTS del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha”. Ayacucho, 2018.



Tratamiento	Concentración (ug/mL)		
	25	50	100
Trolox	34,41 ± 4,10	55,74 ± 0,32	68,12 ± 0,71
<i>Brachyotum naudinii</i> T.	28,00 ± 0,00	44,36 ± 3,70	60,11 ± 0,22

Figura 11. Porcentaje de actividad antioxidante por el método de FRAP del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha”. Ayacucho, 2018.

Tabla 8. Concentración media inhibitoria (IC_{50%}) de la actividad antioxidante atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha”. Ayacucho, 2018.

Método	Trolox (ug/mL)	<i>B. naudinii</i> T
DPPH	38,1 ± 0,19*	80,6 ± 0,85*
ABTS	152.1 ± 2,67*	244,6 ± 3,93*
FRAP	47,6 ± 3,14*	64,8 ± 3,09*

V. DISCUSIÓN

La biodiversidad es el banco de moléculas bioactivas que demanda la industria de los productos farmacológicos, cosmeceúticos, nutricosméticos, fitocosméticos, de perfumes, fragancias, sabores, aromas, alimentos bifuncionales, plantas biocidas, repelentes y de pigmentos naturales⁸.

En tal sentido, las plantas constituyen un recurso valioso en los sistemas de salud de los países en vía de desarrollo. Aunque no existen datos precisos para evaluar la extensión del uso global de plantas medicinales, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que más del 80 % de la población mundial utiliza diariamente la medicina tradicional para satisfacer sus necesidades en la salud, y que gran parte de los tratamientos tradicionales implica el uso de extractos de plantas o sus principios activos²⁴.

Mediante el análisis fitoquímico se pudo determinar cualitativamente la presencia de flavonoides, compuestos fenólicos y/o taninos, antocianinas, cumarinas, cardiotónicos, quinonas y saponinas. Resultando positivo para estos metabolitos y negativo para alcaloides, los triterpenos y/o esteroides y azúcares reductoras por lo que este extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* T “qihwncha”. presenta un alto contenido de compuestos fenólicos que le otorgan propiedades terapéuticas para la salud, el cual se puede observar en la tabla 3. Ibáñez et al⁵. Demostraron la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas y antraquinonas en las flores de *Brachyotum microdon*, los cuales le confieren el poder antioxidante y fotoprotector.

En las flores de *Brachyotum naudinii* T “qihwncha” la que más destaca son los flavonoides, fenoles, taninos del tipo pirogalotánicos, antocianinas, quinonas, cardiotónicos y finalmente la presencia de saponinas por más de 10 min. Perez., et al.⁴³ nos mencionan que los flavonoides, antocianinas y taninos también pueden usarse como una fuente natural de antioxidantes, para combatir problemas tumorales y cáncer. Así mismo, indica que las quinonas poseen

según la dosis acciones variables como laxantes purgantes. Por otro lado, los flavonoides y antocianinas presentan propiedades farmacológicas, incluyendo la actividad inhibidora de enzimas (hidrolasas, ciclooxigenasas, fosfatasa alcalina, cAMP fosfodiesterasas, ATP-asas, liasas, hidroxilasas, transferasas, oxidoreductasas y kinasas), antiinflamatoria, anticancerígena, antibacteriano, antitumoral y antiviral. Además, los taninos son polifenoles hidrosolubles, astringentes tanto por vía tópica como interna, Antidiarreicos, antioxidantes naturales, antisépticos y vasoconstrictores. Los cardiotónicos tienen acción inotrópica positiva, es decir, incrementan las fuerzas de contracción del músculo cardíaco. Finalmente nos indica que, las saponinas tienen actividad antimicrobiana y contra infecciones del tracto urinario; todo ello menciona en su trabajo de investigación: Estudio fitoquímico preliminar de plantas medicinales del norte del Perú. En tal sentido, las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha” nos presenta un gran potencial como colorante natural y antioxidante por sus propiedades descritas en líneas arriba y sobre todo por los polifenoles.

En la tabla 4, muestra las características fisicoquímicas del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha”. Donde presenta un color fucsia, olor *sui géneris*, sabor ácido y posee un aspecto de polvo fino. Por otro lado, es soluble en metanol y agua, y presenta un pH de 3,18

Del mismo modo, presenta cenizas totales en un 8,085%, la humedad en un 0,0305% y el rendimiento en un 37,08% el cual indica que las flores de *Brachyotum naudinii* tiene un alto potencial de rendimiento, es decir, de los 98 g de pétalos se obtiene un 36,34 g de extracto atomizado. Según Kuklinski⁴⁴, la solubilidad depende de la forma en que se encuentran; las agliconas libres, son insolubles en agua, poco solubles en mezclas hidroalcohólicas y solubles en disolventes orgánicos ya sean polares o apolares. Por su parte, los Heterósidos son solubles en agua y mezclas hidroalcohólicas e insolubles en disolventes orgánicos apolares.

El procedimiento de Folin-Ciocalteu es un método ampliamente utilizado y proporciona una estimación rápida y útil del contenido de fenoles en extractos vegetales⁶. Como se puede observar en la tabla 5, presenta los resultados del contenido de fenoles totales en el extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha”, donde se determinó que dicha muestra presenta fenoles totales, expresados en ácido gálico por gramo de extracto de 216.0 mg. EAG/g.EA ($p < 0,05$). En la misma línea de investigación Gracia M⁴⁵.

en su estudio cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales, reporta que la flor de manita presenta fenoles totales, expresados en ácido gálico por gramos de extracto, de 221.481 ± 0.630 .

Tarhan et al.,⁴⁶ en las flores de *Curcubita* pepo señalan valores de 189 mg AGE/g de muestra cuyos valores se encuentran muy por debajo de los resultados obtenidos; el cual se debe a la diferencia de colores de pétalos, pero que evidencian la presencia de compuestos fenólicos.

Por su parte, Arellano et al.,¹⁰ en su trabajo de investigación evaluación de los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de tres colores de pétalos de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.), nos menciona que el Contenido de fenoles totales, en los tres colores (amarillo, anaranjado y rojo) es de $442,02 \pm 5,09$; $917,05 \pm 10,36$; $799,35 \pm 10,77$ respectivamente.

Muchas de estas flores contienen en sus pétalos componentes saludables. Esta funcionalidad se debe sobre todo a su capacidad antioxidante que se relacionan con su compuesto fenólico¹⁰.

En la tabla 6, se muestra el contenido de antocianinas totales del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana "qihwncha". Ayacucho, 2018, donde el contenido de antocianinas totales de la muestra es de 75,47 mg/100 g de cianidina, el cual le confiere una coloración rosado fucsia.

A comparación con otras flores, las flores de *Brachyotum naudini* T, presenta una cantidad baja de antocianinas que bien puede ser influenciado por su inestabilidad.

Así mismo, la baja cantidad encontrada de antocianinas puede ser por el tipo de extracción que se realizó a la muestra.

Zapata⁴⁷; menciona que, el método de extracción debe ser el más adecuado para cada aplicación concreta. Así, en el caso de las antocianinas, se debe maximizar la extracción de pigmentos, minimizar los compuestos adjuntos extraídos y limitar la degradación o alteración del estado natural del extracto. El conocimiento de los factores involucrados en su estabilidad y de los mecanismos de degradación es sumamente vital para una eficiente extracción, purificación y uso de las antocianinas como colorantes de alimentos. En su estudio: Obtención de extracto de antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria.

Por otro lado, el uso de microencapsulante es un factor que afecta de manera directa en el contenido de antocianinas; en el presente estudio no se empleó

ningún polímero. Por ello, una de las causas para obtener una baja cantidad de antocianinas es la falta de uso de microencapsulante.

Guevara et al⁴⁸; mencionan que, el micro encapsulado favorece la conservación de sabores, aromas y compuestos como acidulantes, antioxidantes y vitaminas, así como algunos alimentos y materiales incluyendo aceites y microorganismos. Así mismo, la ME ayuda a proteger a distintos nutrientes y conservar compuestos bioactivos o antioxidantes en frutas y vegetales, por lo que se han realizado numerosos estudios donde utilizan esta técnica para la conservación de los compuestos mencionados.

Por su parte, Avendaño y Acevedo⁴⁹; mencionan que, la técnica de microencapsulación en las industrias alimentaria y farmacéutica, es un método alternativo que se utiliza para incrementar la estabilidad de compuestos con actividad biológica y preservar su actividad antioxidante en condiciones ambientales adversas de calor, luz y humedad en el almacenamiento y procesamiento. En su estudio: Proceso de microencapsulación de colorantes naturales presentes en la fresa (*Fragaria vesca*).

Por otro lado, Arrazola et al⁵⁰; evaluaron pigmentos microencapsulados de antocianinas, mediante el secado por aspersión con 30 % de maltodextrina y 180 °C, los cuales presentaron buenas propiedades fisicoquímicas, con menores contenidos de humedad (3.43 %) y actividad de agua (0.26) y mayores porcentajes de solubilidad (93.61 %).

Entre los métodos más aplicados para la determinación de la capacidad antioxidante están el ABTS y DPPH ambos presentan buena estabilidad en ciertas condiciones, aunque también muestran diferencias. El DPPH es un radical libre que puede obtenerse directamente sin una preparación previa, mientras que el ABTS tiene que ser generado tras una reacción que puede ser química, enzimática, o también electroquímica⁵¹.

La evaluación de la capacidad antioxidante se realizó utilizando el reactivo 2, 2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), de acuerdo a lo realizado por Brand-Williams². Así mismo, se utilizó el método de ABTS y FRAP.

La actividad antioxidante es un parámetro que mide el grado en que el compuesto antioxidante evita que su sustrato se oxide. Si el valor es cercano a 100, la actividad del compuesto en cuestión es alta².

En la figura 9, se presenta los resultados de la actividad antioxidante del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana "qihwncha", evaluado

según el método DPPH. Para ello se tomaron diferentes concentraciones de 25 ug/mL, 50 ug/mL y 100 ug/mL, donde dicha muestra presentó una actividad antioxidante de $15,14 \pm 0,52\%$; $28,57 \pm 0,42\%$ y $49,74 \pm 0,42\%$ respectivamente. Mientras, que el Trolox, a las mismas concentraciones presentó una actividad antioxidante de $24,15 \pm 1,11\%$; $49,67 \pm 0,60\%$ y $95,63 \pm 0,24\%$ respectivamente ($p < 0,05$). Así, la mayor inhibición de las flores se observó a 100ug/ml con 49.74%

Solomón et al⁵². sugieren que la capacidad antioxidante se debe a la pigmentación, ya que en el caso de algunos frutos se presenta mayor actividad cuando tienen coloraciones oscuras. Coincidentemente las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha” presenta una coloración fucsia oscura por las antocianinas, el cual de alguna manera tuvo influencia en la capacidad antioxidante.

Así mismo, Pineda et al⁵³; mencionan que la capacidad antioxidante depende del tipo y concentración de los antioxidantes involucrados. En las condiciones en que se encuentran varios de estos compuestos, el cual presentan diferente capacidad antioxidante. En el estudio: Capacidad antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos.

Lara et al.,² reporta que, la mayor inhibición (%DPPH) se observó con flores de dalia de color púrpura y guinda (24 %), y los valores más bajos se registraron en las flores color morado, rojo y blanco (17 %). En comparación con las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha” presenta menor porcentaje de inhibición. En la figura 10, se presenta los resultados de la actividad antioxidante del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana, evaluados según el método ABTS. Se puede observar que el porcentaje de actividad antioxidante de dicha muestra a las concentraciones de 150 ug/mL, 200 ug/mL y 250 ug/mL fueron de $29,59 \pm 0,63\%$; $43,18 \pm 1,22\%$ y $50,37 \pm 1,10\%$ respectivamente. Mientras, que el Trolox, a las mismas concentraciones presentó una actividad antioxidante de $47,59 \pm 0,00\%$; $68,25 \pm 2,38b\%$ y $79,37 \pm 2,98\%$ respectivamente ($p < 0,05$). Comparando con el Trolox, se puede observar que, a todas las concentraciones, presenta actividad antioxidante con un $20\% \pm$ de diferencia, el cual significa que, a una concentración de 250 ug/mL de muestra se puede inhibir el 50% de los radicales libres.

Al respecto, Kuskoski et al⁵⁴. Nos mencionan que, entre los métodos utilizados para determinar la capacidad de un antioxidante para captar radicales libres, el radical ABTS•+ es uno de los más aplicados, al considerarse un método de elevada sensibilidad, práctico, rápido y muy estable.

Por otro lado, si la capacidad antioxidante de los extractos atomizados se debe a la presencia de ácidos fenólicos, flavonoides y otro tipo de polifenoles, como se reporta generalmente en la literatura⁵⁵, se debe tener en cuenta que el DPPH es más selectivo que el ABTS•+ y, a diferencia de este último, no reacciona con los flavonoides carentes de grupos hidroxilo en el anillo B, ni con ácidos aromáticos que contengan un solo grupo hidroxilo. Este hecho explica los valores de porcentaje de actividad antioxidante inferiores en el método DPPH con respecto al ABTS.

Ensayo FRAP (ferric reducing/antioxidant power): este método evaluó la capacidad antioxidante de una muestra de acuerdo con su capacidad para reducir el hierro férrico (Fe^{+3}) presente en un complejo con la 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) hasta la forma ferrosa (Fe^{+2}), que tuvo un máximo de absorbancia a una longitud de onda entre 590-595 nm⁷.

En la figura 11, se presenta los resultados de la actividad antioxidante del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana, evaluados según el método FRAP. Se puede observar que el porcentaje de actividad antioxidante de dicha muestra a las concentraciones de 25 ug/mL, 50 ug/mL y 100 ug/mL fueron de $28,00 \pm 0,00\%$; $44,36 \pm 3,70\%$ y $60,11 \pm 0,22\%$ respectivamente. Mientras, que el Trolox, a las mismas concentraciones presentó una actividad antioxidante de

$34,41 \pm 4,10 \%$; $55,74 \pm 0,32\%$ y $68,12 \pm 0,71\%$ respectivamente ($p < 0,05$).

Comparando la muestra con el Trolox, la actividad antioxidante de la muestra es menor con tan solo 8,01% (100 ug/m) lo que significa que a la misma concentración puede inhibir los radicales libres igual que el Trolox. Por este método se observó la mayor actividad antioxidante con respecto a la captadora de los radicales DPPH• y ABTS•+.

Si bien estos ensayos valoran la capacidad de transferencia electrónica, el pH bajo el cual se realizan las mediciones es diferente, el ensayo FRAP requiere de un pH ácido, mientras que el ensayo de ABTS se realiza a un pH cercano al neutro⁵⁶. Al incrementarse el pH del medio, los grupos ionizables donan radical

hidrógeno a un determinado valor de pka, e implícitamente permiten la transferencia de electrones más fácilmente⁵⁶.

Otros factores que contribuyen a la diferencia observada entre los ensayos es el uso de diferentes estándares y la reactividad del mono catión radical ABTS^{•+}. Asimismo, el método FRAP evalúa la capacidad de diversos compuestos, como los flavonoides, de atrapar el radical u oxidante, debido principalmente a la presencia de un grupo catecol en el anillo B del flavonoide, un grupo hidroxilo en el anillo C y una doble ligadura en los carbonos 2, 3 del anillo C⁵⁶.

En ese sentido, las flores de *Brachyotum naudini* presenta propiedades antioxidantes a través de las tres técnicas empleadas en el presente estudio y cabe destacar que el método FRAP nos ofrece mayor porcentaje de actividad antioxidante. A demás, la actividad antioxidante está estrechamente relacionada con el contenido de los polifenoles, los cuales, se consideran compuestos bioactivos que pueden proteger a las células contra el daño oxidativo ya que pueden eliminar especies RSO, donar hidrogeno, inhibir la enzima lipooxigenaza y quelar metales de transición que desempeñan un papel vital en el inicio de este tipo de reacciones y captar los radicales libres por lo tanto limitar el riesgo de varias enfermedades degenerativas asociadas al estrés oxidativo⁶.

De acuerdo al parámetro, bajos valores de IC₅₀ reflejan una alta actividad para inhibir radicales libres⁵⁷, en tal sentido, en la tabla 7 nos muestra la concentración media inhibitoria de la actividad antioxidante del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha”. Ayacucho 2018; donde la concentración media inhibitoria por los métodos DPPH, ABTS y FRAP fueron (80,6 ± 0,85* ug/mL; 244,6 ± 3,93* ug/mL y 64,8 ± 3,09* ug/mL) respectivamente. A comparación con el trolox que fue de 38,1 ± 0,19* ug/mL; 152.1 ± 2,67* ug/mL y 47,6 ± 3,14* ug/mL.

El extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha” es estadísticamente diferente en los tres métodos con un intervalo de confianza de 95% y una significancia menor a 0,05

Torres⁸. Nos muestra que, el análisis de la actividad antioxidante de *Brachyotum Sp* “zarcilleja” y otras familias, son especies ricas en compuestos fenólicos, el cual dio como resultado una significativa actividad expresada en menos de 1 mg de la planta para lograr la inhibición del 50% de radicales libres, lo que expresa alto poder antioxidante de cinco de las seis especies analizadas. Estos resultados expresan que especies como “zarcilleja”, “payana” “pega pega” y

“chupicaure” (*Mehulembeckia* sp) requieren menos de 0.8 mg para ejercer su actividad antioxidante lo que señala que son especies muy eficientes ya que se requiere pequeñas cantidades de la planta.

VI. CONCLUSIONES

- Los metabólicos principales de las flores de *Brachyotum naudini* Triana "qihwncha" son: los flavonoides, taninos, antocianinas, cumarinas, cardiotónicos, quinonas y saponinas.
- El extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana "qihwncha", presenta un color fucsia, olor *sui géneris*, sabor ácido, posee un aspecto de polvo fino; es soluble en metanol y agua y presenta un pH de 3,18
- La cantidad de fenoles totales del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudini* Triana "qihwncha", es de 216.0 mg equivalentes al ácido gálico.
- El contenido de las antocianinas presentes en el extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudini* Triana "qihwncha", es de 75,47 mg/100 g de cianidina.
- El extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudini* Triana "qihwncha" presenta actividad antioxidante, donde la concentración media inhibitoria por los métodos DPPH, ABTS y FRAP fueron ($80,6 \pm 0,85^*$ ug/mL; $244,6 \pm 3,93^*$ ug/mL y $64,8 \pm 3,09^*$ ug/mL) respectivamente. A comparación con el trolox que fue de $38,1 \pm 0,19^*$ ug/mL; $152,1 \pm 2,67^*$ ug/mL y $47,6 \pm 3,14^*$ ug/mL. Por otro lado, el porcentaje de actividad antioxidante por el método DPPH a diferentes concentraciones de 25 ug/mL, 50 ug/mL y 100 ug/mL, dicha muestra presentó una actividad antioxidante de $15,14 \pm 0,52\%$; $28,57 \pm 0,42\%$ y $49,74 \pm 0,42\%$, respectivamente. Mientras que el Trolox, a las mismas concentraciones, presentó una actividad antioxidante de $24,15 \pm 1,11\%$; $49,67 \pm 0,60\%$ y $95,63 \pm 0,24\%$, respectivamente. Mientras que el porcentaje de actividad antioxidante por el método ABTS a las concentraciones de 150 ug/mL, 200 ug/mL y 250 ug/mL fueron de $29,59 \pm$

0,63%; $43,18 \pm 1,22\%$ y $50,37 \pm 1,10\%$, respectivamente. Mientras, que el Trolox, a las mismas concentraciones presentó una actividad antioxidante de $47,59 \pm 0,00\%$; $68,25 \pm 2,38\%$ y $79,37 \pm 2,98\%$, respectivamente. Finalmente, por el método FRAP a las concentraciones de 25 ug/mL, 50 ug/mL y 100 ug/mL fueron de $28,00 \pm 0,00\%$; $44,36 \pm 3,70\%$ y $60,11 \pm 0,22\%$ respectivamente. Mientras que el Trolox, a las mismas concentraciones, presentó una actividad antioxidante de $34,41 \pm 4,10\%$; $55,74 \pm 0,32\%$ y $68,12 \pm 0,71\%$, respectivamente.

VII. RECOMENDACIONES

Es recomendable realizar estudios más profundos a través de otros métodos adicionales sobre el extracto más activo, teniendo en cuenta la estabilidad de las antocianinas.

Puede ser útil promover una mayor investigación para relacionar la actividad antioxidante y la cantidad de compuestos fenólicos con otras actividades importantes, como, por ejemplo, la actividad antiinflamatoria, antibacteriana que está relacionada con otras especies como el *Brachyotum microdon* y *B. ledifolium*, ya que en otros estudios sugieren una correlación entre la actividad antioxidante y la actividad antiinflamatoria.

Para la obtención de antocianinas, es recomendable utilizar un polímero como la malto dextrosa al momento de pulverizar, para fines de conservación y estabilidad de las mismas. Actualmente, el microencapsulado es una técnica que se emplea frecuentemente, ya que el concentrado de microencapsulado de antocianinas se puede emplear en la elaboración de alimentos funcionales y productos nutraceuticos.

Por otro lado, realizar un estudio de optimización de la obtención de extractos de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha”, con la finalidad de aprovechar el gran potencial y rendimiento que muestra dicha planta.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alvarez P, Fernanda P. Evaluación del efecto antiinflamatorio de los extractos (*Miconia pseudocentrophora*, *Brachyotum ledifolium*, *Fuchsia loxensis*) en ratas (*Rattus norvegicus*) [Internet] [tesis]. [Ecuador]: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2014 [citado 31 de julio de 2018]. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/3084>
2. Lara C, Martín B, Osorio D, Barrera N, Sánchez L, Bautista B. Actividad antioxidante, composición nutrimental y funcional de flores comestibles de dalia. *Revista Chapingo Serie horticultura*. abril de 2014;20(1):101-16.
3. Alfaro S. Temperatura de secado y concentración de carragenina en las características físicas y antocianinas del extracto atomizado del mastuerzo (*tropaeolum majus*) [Internet]. 2016. Disponible en: http://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNCP_4ae0f116dc842f8dcf89f521cb2af0ef/Details
4. Aguilera O, Reza V, Chew M, Meza V. Propiedades funcionales de las antocianinas. *BIOtecnia*. 30 de agosto de 2011;13(2):16.
5. Ibáñez C, Afonso L, E K, Tapia Y, Lizarazu J, et al. Búsqueda de colorantes naturales en el valle de Zongo con posibles propiedades antioxidantes y/o fotoprotectoras. *Investigación & Desarrollo*. 2016;1(16):5-24.
6. Marín L. Utilización de flores de caléndula (*Calendulae flos*) en salsa para carnes [Internet] [tesis]. [Bogotá]: Universidad de Colombia; 2009 [citado 1 de noviembre de 2018]. Disponible en: <http://bdigital.unal.edu.co/2428/1/107400.2009.pdf>
7. Mesa, Gaviria C, Cardona F, Vega J, Trujillo S, Rojano B. Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de algunas especies del género *Calophyllum* [Internet]. 2010 [citado 13 de septiembre de 2018]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962010000200003
8. Torres F. Etnobotánica y bioprospección en páramos y bosques de neblina de del norte peruano: conocimiento tradicional para la ciencia e innovación. agosto 2015 [Internet]. [citado 25 de julio de 2018]; Disponible en:

https://paramos.portalces.org/publicaciones/peru/25_IM_RevistaCientificaEnnovacionAgraria_InnovaNorte_N5_Ag2015_MonograficoParamos.pdf

9. Arellano L, Herrera R, Quispe S, Espinoza S, Veliz S, Orihuela V. Evaluación de los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de tres colores de pétalos de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.). Revista de la Sociedad Química del Perú. octubre de 2015;81(4):319-27.
10. Medina L. Técnicas para la determinación de compuestos antioxidante en alimentos. :8.
11. Paz C. Guía de identificación de las plantas comunes del derecho de vía del ducto de Perú LNG. junio 2012. 2012;46.
12. Córdova C, Aliaga L, Juliana M. Identificación De Antocianinas Y Carotenoides En Flores De Mastuerzo (*Tropaeolum Majus*) Por Cromatografía En Capa Fina [Tesis]. [Huancayo]: Universidad Nacional Del Centro Del Perú; 2015.
13. Martínez Dotor J, Martínez L, Xóchitl L. Efecto del procesamiento en el contenido de Compuestos Fenólicos y las propiedades antioxidantes de diferentes variedades de Frijol (*Phaseolus Vulgaris* L) Mexicano [Internet] [tesis]. universidad autonoma del estado de mexico; 2013 [citado 31 de julio de 2018]. Disponible en: <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/14379>
14. Villanueva E. Contenido de betalaínas .y determinación de la actividad antioxidante de accesiones de *Chenopodium quinoa* Willd. «quinua» del distrito de Tambillo - Ayacucho 201 [Internet] [tesis]. [Ayacucho]: Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga; 2015 [citado 3 de julio de 2018]. Disponible:http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/977/Tesis%20B733_Vil.pdf?sequence=1&isAllowed=y
15. Villar del Fresno A. Farmacognosia General. Vol. 1. síntesis; 209 p.
16. Garfias L, Antonio M. Determinación de la actividad biológica de flavonoides y su identificación por electroforesis capilar en plantas medicinales [Internet] [tesis]. [México]: Instituto Politécnico Nacional Unidad Profesional

- Interdisciplinaria de Biotecnología; 2017 [citado 31 de julio de 2018]. Disponible en: <http://tesis.ipn.mx:8080/xmlui/handle/123456789/23529>
17. Lock O. Colorantes Naturales. Vol. 1. pontificia universidad catolica del Perú; 1997. 77 p.
 18. Garzón G. Las Antocianinas Como Colorantes Naturales Y Compuestos Bioactivos: Revisión. 2008 [Internet]. [citado 24 de julio de 2018]; Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/G_Garzon/publication/262446085_Anthocyanins_As_Natural_Colorants_And_Bioactive_Compounds_A_Review/links/572a124d08aef5d48d30c3c1/Anthocyanins-As-Natural-Colorants-And-Bioactive-Compounds-A-Review.pdf
 19. Cortés G, Rafael F. Actividad antiproliferativa de antocianinas de maiz azul y rojo de la raza mixteco en la línea celular de cáncer de próstata DU145 [Internet] [tesis]. [veracruz]: Universidad Veracruzana; 2015 [citado 31 de julio de 2018]. Disponible en: <http://cdigital.uv.mx/handle/123456789/46741>
 20. García R. Evaluación in vitro/in vivo de propiedades antioxidantes de clones promisorios de papa criolla (*Solanum phureja*) [Internet] [masters]. Universidad Nacional de Colombia; 2011 [citado 31 de julio de 2018]. Disponible en: <http://bdigital.unal.edu.co/8675/>
 21. Valenzuela P. Evaluación de La actividad antioxidante y determinación del contenido de fenoles totales y flavonoides de hojas de diferentes genotipos de *Ugni molinae* turcz. [Internet] [Tesis]. [Santiago- Chile]: Universidad De Chile; 2015 [citado 12 de septiembre de 2018]. Disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/134044/Evaluacion-de-la-actividad-antioxidante-y-determinacion-del-contenido-de-fenoles-totales-y-flavonoides.pdf;sequence=1>
 22. Domínguez P, Patricia X. Análisis de compuestos fenólicos y valoración de la bioactividad de extractos de testa de *Jatropha curcas* L. no tóxica [Internet] [tesis]. [Mexico]: Instituto Politécnico Nacional Unidad Profesional Interdisciplinaria De Biotecnología; 2014 [citado 31 de julio de 2018]. Disponible en: <http://tesis.ipn.mx:8080/xmlui/handle/123456789/13161>

23. Universidad Autónoma de Nuevo León, México, Rivas-Morales C, Oranday-Cárdenas MA, Verde-Star MJ. Investigación en plantas de importancia médica [Internet]. 1.^a ed. OmniaScience; 2016 [citado 31 de julio de 2018]. Disponible en:<http://www.omniascience.com/monographs/index.php/monograficos/issue/view/34>
24. Ruiz G, Rocío L. Evaluación de la Actividad Antioxidante en los Extractos Obtenidos por CO₂ Supercrítico de dos Especies Vegetales Plantago Major (Plantaginaceae) y Arnica Montana L (Asteraceae) [Internet] [tesis]. Universidad Distrital Francisco José De Caldas; 2017 [citado 31 de julio de 2018]. Disponible en: <http://repository.udistrital.edu.co/handle/11349/5617>
25. Robinson H, Rodríguez A. Determinación de actividad antioxidante de extractos y y fracciones de hojas de *Chromolaena perglabra* (B. L. Robinson) R.M. King & H. Robinson. [tesis]. Universidad De Ciencias Aplicadas Y Ambientales U.D.C.A.; 2015.
26. Jacqueline A. Estudio químico y de actividad antioxidante de la *Bauhinia guianensis* var. *kuntiana* Aubl. [Internet]. [LIMA-PERÚ]: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2013. Disponible en: <http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/handle/123456789/4794>
27. Fajardo R. Determinación de actividad antioxidante de extractos de hojas de *Diplostegium Phylloides* (Kunth) Wedd [Internet] [Tesis]. [Bogotá]: Niversidad De Ciencias Aplicadas Y Ambientales U.D.C.A.; 2016 [citado 20 de julio de 2018]. Disponible en: <http://repository.udca.edu.co:8080/jspui/bitstream/11158/591/1/Determinaci%C3%B3n%20de%20actividad%20antioxidante%20Displostephium%20phylloide.pdf>
28. Lecoña U, Victoria I. Evaluacion de la capacidad antioxidante y determinacion de compuestos fenolicos a partir de extractos de frutas de los valles de La Paz [Internet] [tesis]. 2014 [citado 31 de julio de 2018]. Disponible en: <http://repositorio.umsa.bo/handle/123456789/4148>

29. Huamán C. "Capacidad antioxidante, compuestos fenólicos, carotenoides y antocianinas de 84 cultivares de [Internet] [Tesis]. [Lima-Perú]: Universidad Nacional Agraria La Molina; 2016 [citado 12 de julio de 2018]. Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/2844/Q04-H833-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
30. Mondragón R, Julia J, Barba A, Jarque J. El proceso de secado por atomización: formación de gránulos y cinética de secado de gotas. Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio. 31 de agosto de 2013;52(4):159-68.
31. Cima industries. Secado Por Aspersión. [citado 12 de septiembre de 2012]; Disponible en: <http://www.cimaindustries.com/wp-content/uploads/assets/pdf/es/farmaceutica/secador.pdf>
32. Figueroa R, Tamayo J, González S, Moreno G, Vargas L. Actividad antioxidante de antocianinas presentes en cáscara de pitahaya (*Hylocereus undatus*). Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha [Internet]. 2011 [citado 31 de julio de 2018];12(1). Disponible en: <http://www.redalyc.org/resumen.oa?id=81318808007>
33. Tineo W. Desarrollo de una formulacion de crema abase del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl."wawillay". Ayacucho [tesis]. [Ayacucho]: Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga; 2016.
34. Lock O. Investigación fitoquímica y Métodos en el estudio de productos naturales. 1edic. Lima-Perú: pontificia universidad catolica del Perú; 1994. 3-19 p.
35. Miranda M. Métodos de análisis de drogas y extractos. La Habana - Cuba; Universidad de la Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos; 2002.
36. Apaza C, Edith R, Figueroa Huayllapuma T. Efecto de la adición de goma arábica y maltodextrina en el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante en extracto de sancayo (*Corryocactus brevistylus*) liofilizado. Universidad Nacional de San Agustín [Internet]. 12 de octubre de 2017

- [citado 31 de julio de 2018]; Disponible en: <http://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/145446>
37. Gómez S. Determinación de la capacidad antioxidante del aceite de híbrido de palma en diferentes estados de maduración^ [Internet] [tesis]. [Bogotá]: Pontificia Universidad Javeriana; 2015 [citado 31 de julio de 2018]. Disponible en: <http://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/16066>
 38. Sousa C, Silva H, Vieira-J, Ayres M, Costa C, Araujo D, et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova*. abril de 2007;30(2):351-5.
 39. Aguilar M. "Evaluación De La Actividad Antioxidante De Las Hojas Y Frutos De La Feijoa (*Acca sellowiana*)". 2015. :121.
 40. Guerrero M. Alcaloides totales y actividad antioxidante de extractos metanólicos de hojas de *Ipomoea murucoides* (c asahuate) [Internet]. 2012 [citado 1 de agosto de 2018]. Disponible en: <http://studyres.es/doc/1235207/casahuate---universidad-tecnol%C3%B3gica-de-la-mixteca>
 41. Violeta C. Guía de diseño y desarrollo de tesis UCV [Internet]. Education presentado en; 22:20:40 UTC [citado 5 de octubre de 2018]. Disponible en: <https://www.slideshare.net/VICADAL/gua-de-diseo-y-desarrollo-de-tesis-ucv>
 42. Hernández Sampieri R, Fernández Collado C, Baptista Lucio P. Metodología de la investigación [Internet]. 2014 [citado 22 de septiembre de 2018]. Disponible en: <http://www.e-libro.com/ayuda>
 43. Perez, Fredy, Guillermo L, Rodriguez F, Vásquez L. Estudio fitoquímico preliminar de plantas medicinales del norte del Perú - PDF [Internet]. [citado 8 de octubre de 2018]. Disponible en: <https://docplayer.es/74468500-Estudio-fitoquimico-preliminar-de-plantas-medicinales-del-norte-del-peru.html>
 44. Kuklinski C. farmacognosia. 1° edición. Vol. 1. España: Omega; 2000.
 45. Alejandro G. Cuantificación De Fenoles Y Flavonoides Totales En Extractos Naturales. Universidad Autónoma De Querétaro. 2007;4.

46. Tarhan L, Kayali H, Urek R. In vitro antioxidant properties of Cucurbita pepo L. male and female flowers extracts. *Plant Foods Hum Nutr.* junio de 2007;62(2):49-51.
47. Zapata L. obtención de extracto de antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria [Internet] [<http://purl.org/dc/dcmitype/Text>]. Universitat Politècnica de València; 2014 [citado 23 de octubre de 2018]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=90187>
48. Guevara J, Fuentes J, González O, Guevara L. Microencapsulación de algunos compuestos bioactivos mediante secado por aspersión. 2007;5:11.
49. Avendaño P, Acevedo B. Proceso de microencapsulación de colorantes naturales presentes en la fresa (*Fragaria vesca*). *Revista Ontare.* 17 de septiembre de 2015;2(2):7.
50. Arrazola G, Herazo I, Alvis A. Microencapsulación de Antocianinas de Berenjena (*Solanum melongena* L.) mediante Secado por Aspersión y Evaluación de la Estabilidad de su Color y Capacidad Antioxidante. *Información tecnológica.* 2014;25(3):31-42.
51. Arnao M. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. *Trends in Food Science & Technology.* noviembre de 2000;11(11):419-21.
52. Solomon A, Golubowicz S, Yablowicz Z, Grossman S, Bergman M, Gottlieb HE, et al. Antioxidant Activities and Anthocyanin Content of Fresh Fruits of Common Fig (*Ficus carica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* octubre de 2006;54(20):7717-23.
53. Pineda D, Salucci M, Lázaro R, Maiani G. Capacidad antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos. :8.
54. Kuskoski E, Asuero A, Troncoso A, Mancini-Filho J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa

- de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. diciembre de 2005;25(4):726-32.
55. Palomino G , García P, Gil G, Rojano BA, Durango R. Determinación del contenido de fenoles y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento de antioquia (Colombia). *Vitae*. septiembre de 2009;16(3):388-95.
56. Muñoz V, Rivas D, Loarca P, Mendoza D, Reynoso C, Ramos G. Comparación del contenido fenólico, capacidad antioxidante y actividad antiinflamatoria de infusiones herbales comerciales. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*. junio de 2012;3(3):481-95.
57. Villanueva T, Condezo H, Asquiere E. Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante, en la cáscara de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) McVaugh). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. mayo de 2010;30:151-60.

IX. ANEXO

Anexo 1. Flores de *Brachyotum naudinii* Triana.



Anexo 2. Certificado de clasificación taxonómica



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 Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fito medicamentos "Marco A. Garrido Malo", 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	:	MYRTALES
FAMILIA	:	MELASTOMATACEAE
GENERO	:	Brachyotum
ESPECIE	:	<i>Brachyotum naudinii</i> Triana.
N.V.	:	"qihwncha"

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

Ayacucho, 2 de Junio del 2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE
LA PATAGONIA DEL SUR
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

Jefe

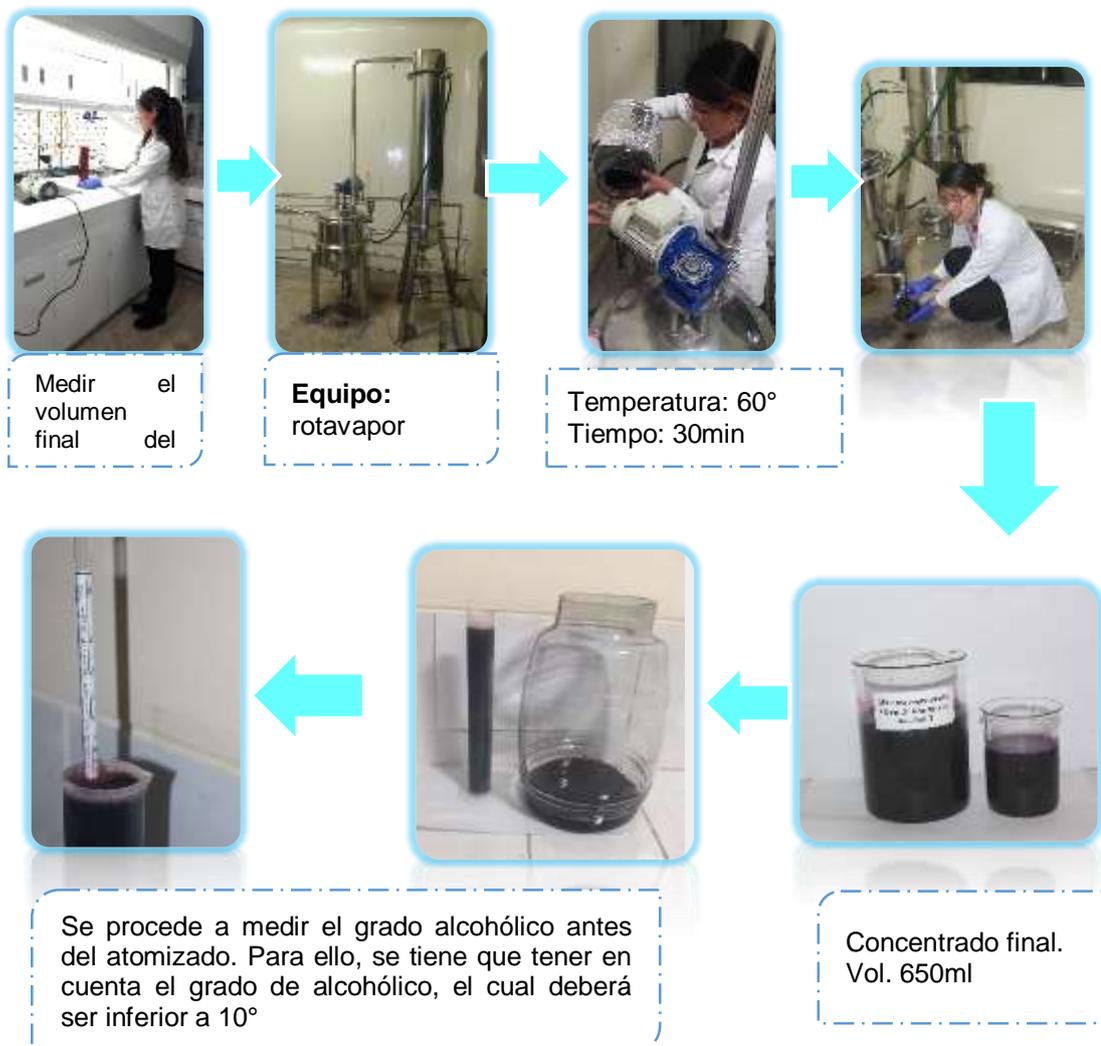
Anexo 3. Flujograma del procedimiento experimental del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum nudini* Triana “qihwncha”



Anexo 4. Procedimiento de la obtención del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha”. Ayacucho 2018



Anexo 5. Evaporación del alcohol mediante el uso de rotavapor del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha”. Ayacucho 2018



anexo 6. Procedimiento para la obtención de un polvo fino por medio del secado por aspersión del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana "qihwncha". Ayacucho 2018



Equipo: atomizador BUCHI Mini Spray Driver B290 del Centro de Desarrollo y Análisis y control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos.

Dependiendo de la muestra, la T° se puede manipular a 110°



De esta manera se obtiene un polvo fino



La muestra concentrada se atomizó por 3 horas

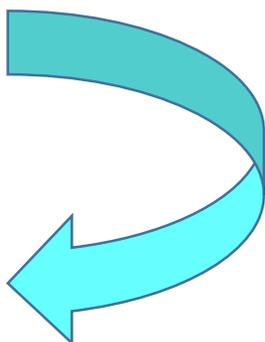


Los extractos atomizados se colocan en tubos con tapa hermética y se procede a su respectivo pesaje.



Peso de la muestra sólida: **34 g**
• almacenar en un desecador por su alta higroscopicidad.

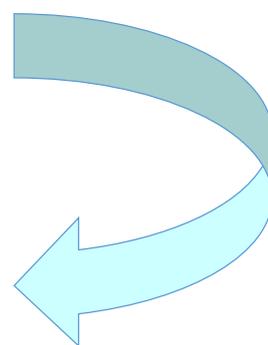
Anexo 7. Resultados de la identificación fitoquímica del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* T. Ayacucho 2018



Anexo 8. Cuantificación de fenoles totales extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* T. Ayacucho 2018



Anexo 9. Cuantificación de antocianinas totales del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* T. Ayacucho 2018



Se preparó las diluciones respectivas para cuantificar las antocianinas.



Coloración a pH 1

Coloración a pH 4,5

Anexo 10. Determinación de la actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* T “qihwncha”. Ayacucho 2018



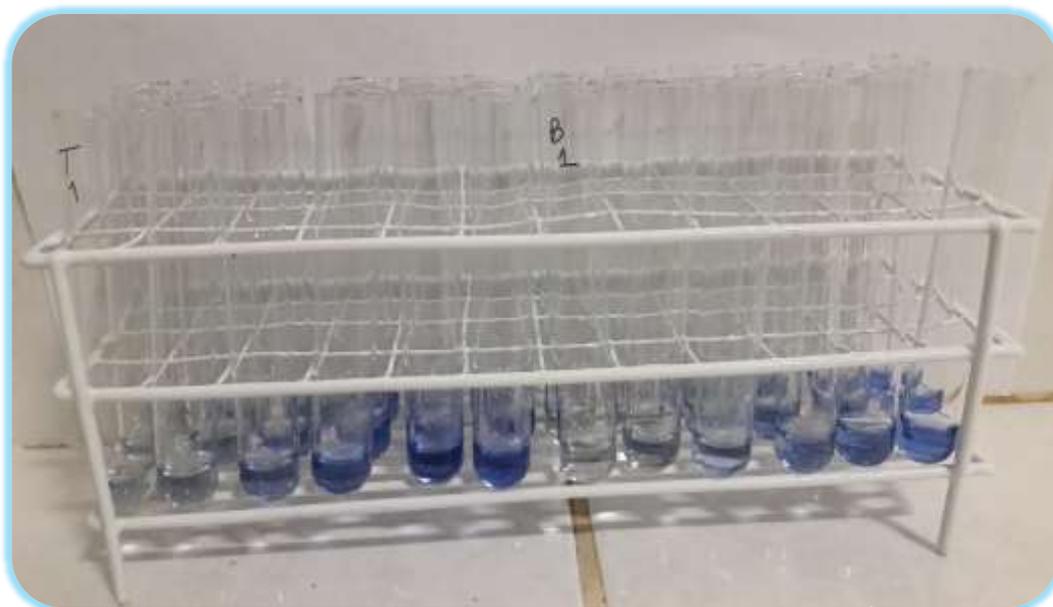
Extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* T “qihwncha”



%AA del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* T “qihwncha”

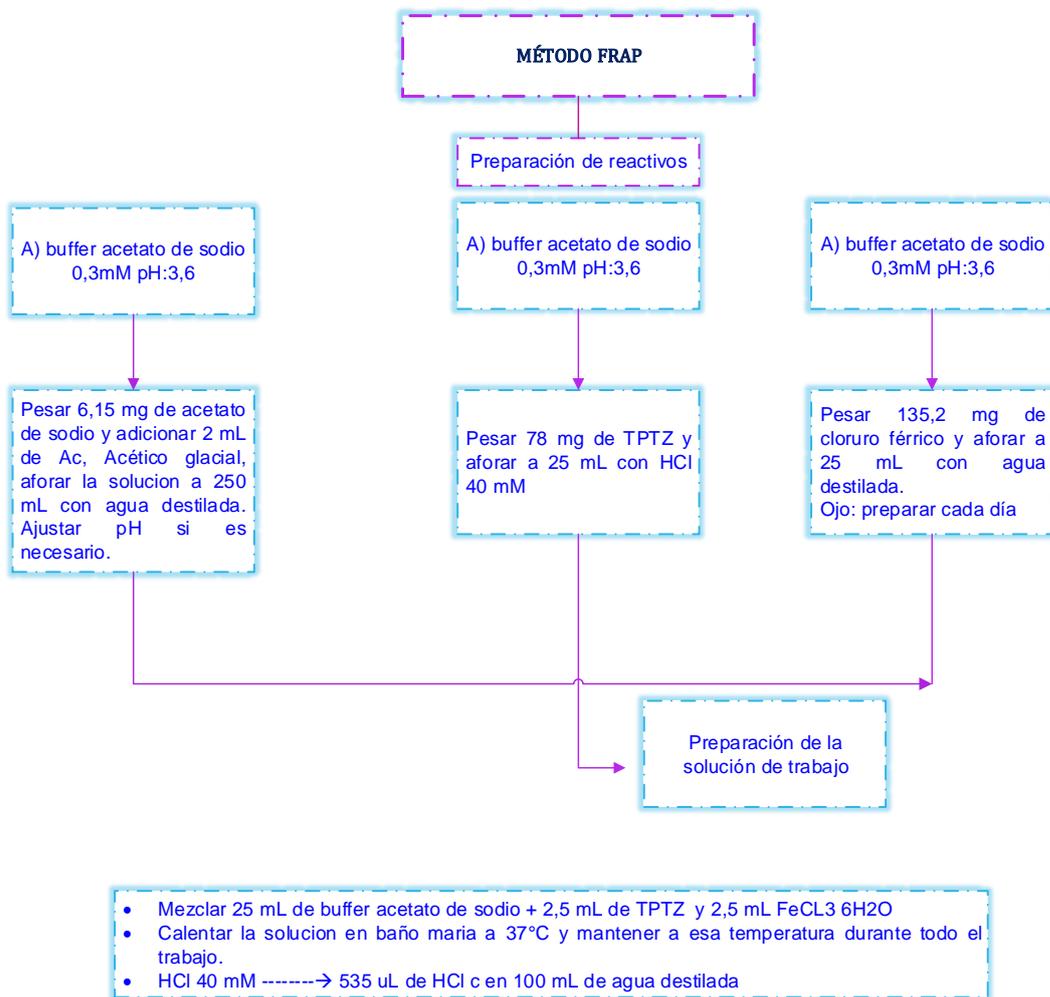
E.A. [ug/ml]	Blanco	%AA	S	%CV	+/-	LS	LI
25	0,000	15,14	0,211	1,395	0,52	15,67	14,62
50	0,006	28,57	0,168	0,587	0,42	28,99	28,15
100	0,004	49,74	0,168	0,337	0,42	50,16	49,33
150	0,007	68,59	0,270	0,393	0,67	69,26	67,91
200	0,003	81,98	0,607	0,740	1,51	83,49	80,47
250	0,006	89,38	0,128	0,143	0,32	89,70	89,06

Anexo 11. Determinación de la actividad antioxidante por el método de ABTS del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* T. Ayacucho 2018

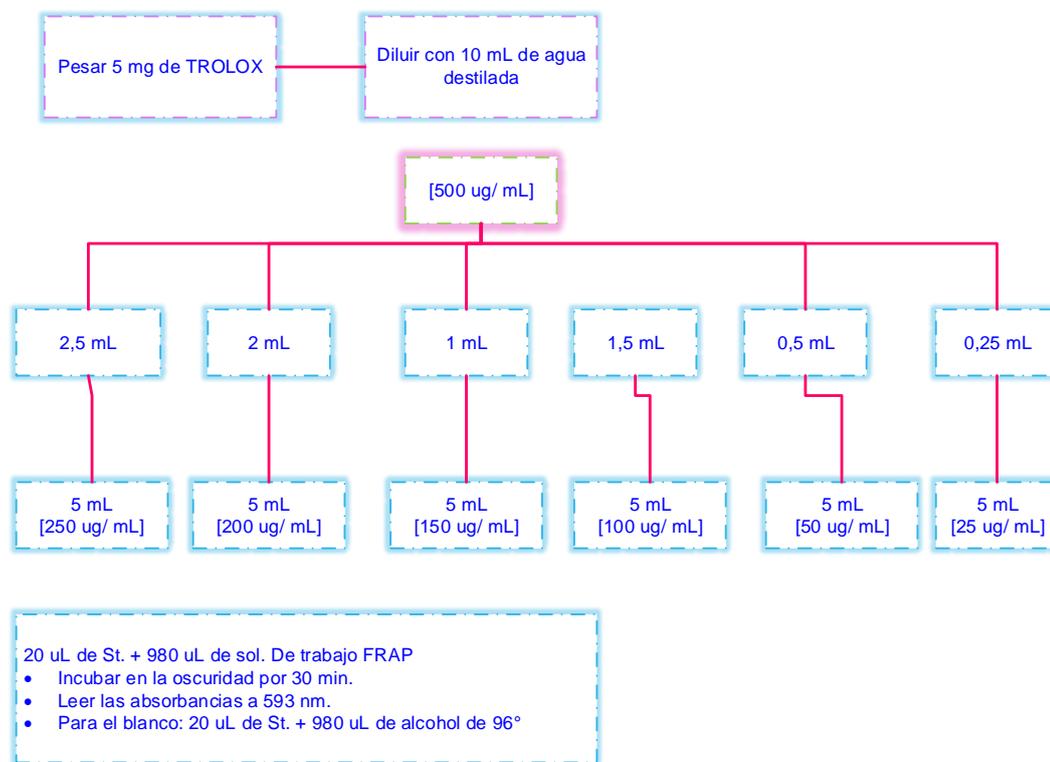


E.A. [ug/ml]	Blanco	%AA	S	%CV	+/-	LS	LI
25	0,003	6,95	0,374	5,384	0,93	7,88	6,02
50	0,002	9,75	0,441	4,529	1,10	10,84	8,65
100	0,001	20,49	0,283	1,380	0,70	21,19	19,79
150	0,000	29,59	0,255	0,861	0,63	30,22	28,95
200	0	43,18	0,490	1,134	1,22	44,39	41,96
250	0	50,37	0,441	0,876	1,10	51,47	49,28

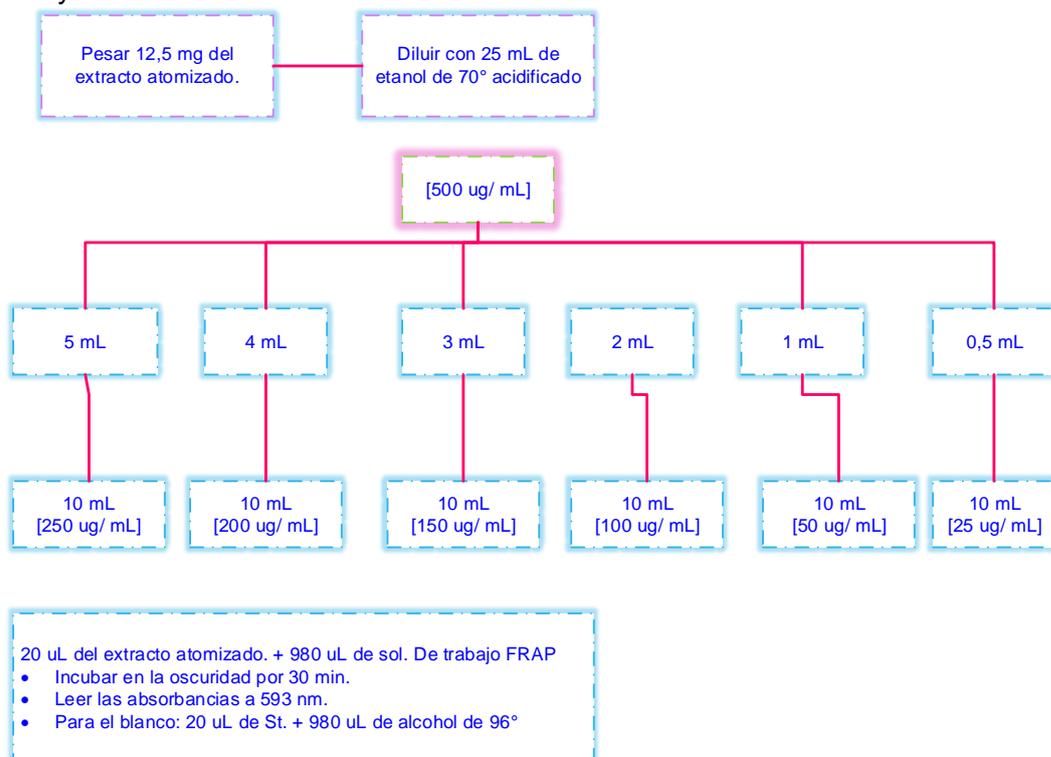
Anexo 12. Flujograma del procedimiento para la preparación de los reactivos del método FRAP.



Anexo 13. Flujograma del procedimiento para la determinación de la actividad antioxidante del trolox por el método FRAP.



Anexo 14. Procedimiento para la determinación de la actividad antioxidante por el método de FRAP del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* T. Ayacucho 2018



Anexo 15. Análisis de varianza de la actividad antioxidante por el método de

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	12586,2	5,0	2517,2	27182,3	6,9 x 10 ⁻²⁴
Dentro de grupos	1,1	12,0	0,1		
Total	12587,3	17			

DPPH del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* T. Ayacucho 2018

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

Anexo 16. Comparaciones múltiples de Duncan de las medias de actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* T. Ayacucho 2018

Tratamiento	N	Subconjuntos homogéneos %AA				
		1	2	3	4	5
B_naudinii 25 ug/mL	3	15,1				
Trolox 25 ug/mL	3		24,2			
B_naudinii 50 ug/mL	3			28,6		
Trolox 50 ug/mL	3				49,7	
B_naudinii 100 ug/mL	3				49,7	
Trolox 100 ug/mL	3					95,6
Sig.	0	1,000	1,000	1,000	0,793	1,000

Anexo 17. análisis de varianza de la actividad antioxidante por el método de ABTS del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* T. Ayacucho 2018

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	4825,9	5,0	965,2	1351,5	4,5 x 10 ⁻⁶
Dentro de grupos	8,6	12,0	0,7		
Total	4834,4	17			

Anexo 18. Comparaciones múltiples de Duncan de las medias de actividad antioxidante por el método de ABTS del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* T. Ayacucho 2018

Tratamiento	N	Subconjuntos homogéneos %AA					
		1	2	3	4	5	6
B_naudinii 150ug/mL	3	29,6					
B_naudinii 200 ug/mL	3		43,2				
Trolox 150 ug/mL	3			47,6			
B_naudinii 250 ug/mL	3				50,4		
Trolox 200 ug/mL	3					68,2	
Trolox 250 ug/mL	3						79,4
Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

Anexo 19. Análisis de varianza de la actividad antioxidante por el método de FRAP del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* T. Ayacucho 2018

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3623,6	5,0	724,7	574,6	7,5 x 10 ⁻¹⁴
Dentro de grupos	15,1	12,0	1,3		
Total	3638,7	17			

Anexo 20. Comparaciones múltiples de Duncan de las medias de actividad antioxidante por el método de FRAP del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* T. Ayacucho 2018

Tratamiento	N	Subconjuntos homogéneos %AA					
		1	2	3	4	5	6
Brachyotum naudinii 25 ug/mL	3	28,0					
Trolox 25 ug/mL	3		34,4				
Brachyotum naudinii 50 ug/mL	3			44,4			
Trolox 50 ug/mL	3				55,7		
Brachyotum naudinii 100 ug/mL	3					60,1	
Trolox 100 ug/mL	3						68,1
Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

Anexo 21. Concentración media inhibitoria de la actividad antioxidante del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha”. Ayacucho, 2018.

Repetición	DPPH		ABTS		FRAP	
	Trolox	<i>B_naudinii</i>	Trolox	<i>B_naudinii</i>	Trolox	<i>B_naudinii</i>
x	38,1*	80,6*	152,1*	244,6*	47,6*	64,8*
s	0,078	0,340	1,073	1,582	1,262	1,243
+/-	0,19	0,85	2,67	3,93	3,14	3,09
%cv	38,1	80,6	0,71	0,65	2,65	1,92

Anexo 22. Prueba de T de Student de la concentración media inhibitoria de la actividad antioxidante, según el método DPPH del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha”. Ayacucho, 2018.

	Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
								Inferior	Superior
Se asumen varianzas iguales	15,45	0,0171	-13,46	4	0,000176214	-39,76333333	2,95	-47,96	-31,56
No se asumen varianzas iguales			-13,46	2,001	0,0055	-39,76333333	2,95	-52,46	-27,06

Anexo 23. Prueba de T de Student de la concentración media inhibitoria de la actividad antioxidante según, el método ABTS del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha”. Ayacucho, 2018.

	Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
	F	Sig.	T	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
								Inferior	Superior
Se asumen varianzas iguales	0,90	0,3964	-68,42	4	2,73345E-07	-92,51333333	1,35	-96,27	-88,76
No se asumen varianzas iguales			-68,42	3,516	0,0000	-92,51333333	1,35	-96,48	-88,55

Anexo 24. Prueba de T de Student de la concentración media inhibitoria de la actividad antioxidante según, el método FRAP del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana “qihwncha”. Ayacucho, 2018.

	Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
								Inferior	Superior
Se asumen varianzas iguales	0,00	0,9724	-13,72	4	0,000163476	-17,18333333	1,25	-20,66	-13,71
No se asumen varianzas iguales			-13,72	3,999	0,0002	-17,18333333	1,25	-20,66	-13,71

Anexo 25

Matriz de consistencia

TÍTULO: Con Contenido de fenoles totales, antocianinas y actividad antioxidante del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii*

Triana “qihwncha”, Ayacucho- 2018.

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVO	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	DISEÑO METODOLÓGICO
Contenido de fenoles totales, antocianinas y actividad antioxidante del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”, Ayacucho- 2018.	¿Cuánto será el Contenido de fenoles totales, antocianinas y actividad antioxidante del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha” ?	<p>Objetivo general</p> <ul style="list-style-type: none"> Determinar el contenido de fenoles totales, antocianinas y actividad antioxidante del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”, Ayacucho- 2018^o <p>Objetivos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> Determinar los metabólicos principales del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”. Evaluar los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”. Cuantificar fenoles totales del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”. Cuantificar las antocianinas del extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”. Determinar la actividad antioxidante del extracto atomizado las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”. 	<p>Descripción botánica de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”, Arbusto de hasta 1.5 m de alto, con follaje ralo, usualmente con varios tallos generados desde la base. Hojas simples y opuestas, de tamaño pequeño, se caracteriza por tener tres nervios paralelos e impresos; también, pelos diminutos. Flores solitarias o en pequeños grupos, pero muy vistosas de color rojo vivo hasta morado, con la corola grande y llamativa; son péndulas y tubulares.</p> <p>COMPUESTOS FENÓLICOS Químicamente los compuestos fenólicos son sustancias que poseen un anillo aromático, con uno o más grupos hidroxilo incluyendo derivados funcionales (ésteres, metil ésteres, glicósidos, etc).</p> <p>ANTOCIANINAS. ANTIOXIDANTES Los antioxidantes son componentes protectores que consisten en un arreglo enzimático y nutrientes esenciales (como vitaminas, pigmentos) cuya función principal es prevenir la formación de radicales libres e interceptar los que ya se han generado.</p>	<p>H^o: el extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”, tienen compuestos fenólicos y antocianinas, con actividad antioxidante.</p> <p>Hⁱ: el extracto atomizado de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”, no tienen compuestos fenólicos y antocianinas, con actividad antioxidante.</p>	<p>a. Variable independiente Antocianinas Polifenoles totales Indicador Equivalentes de ciandina (mg/ g) Equivalentes de ácido gálico (mg/g)</p> <p>b. Variable dependiente: Actividad antioxidante</p> <p>Indicadores Porcentaje de inhibición (%), TEAC</p>	<p>Nivel de investigación Básico- experimental</p> <p>Población: Flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”, que crecen en zonas andinas, del centro poblado de Huaraca, distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho.</p> <p>Muestra: 98 g de Flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana “qihwncha”,</p> <p>Diseño de investigación M-O Donde: M: muestra O: información (observaciones).</p> <p>Análisis de datos Los datos obtenidos fueron procesados y analizados mediante el programa Microsoft Excel y el Software OriginPro. Para identificar diferencias significativas de las muestras fueron evaluadas mediante el análisis de varianza (ANOVA), comparaciones múltiples del Duncan y t-Student para muestras independientes, donde fueron evaluados los valores de CI50 entre el trolox y las muestras, con un nivel de confianza de 95% (para ello se utilizó el programa SPSS versión 19.0)</p>

