

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN  
CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Actividad antioxidante y citoprotectora del extracto  
acuoso de tres morfotipos de *Solanum* spp. "papa  
nativa" *in vitro*. Lima - 2014.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICA

PRESENTADO POR:

ZARABIA CUSI, Mary Herlinda

AYACUCHO - PERÚ

2015

## ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

R.D. N° 300 – FC de la S-UNSCH – 2015

**Bach: Mary Herlinda Zarabia Cusi**

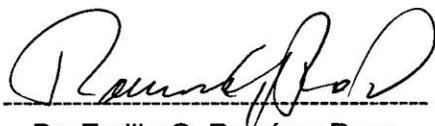
En la ciudad de Ayacucho, siendo las diez de la mañana del día viernes dieciocho de diciembre del año dos mil quince en el auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas, reunidos los docentes bajo la presidencia del doctor Emilio German Ramírez Roca y la asistencia de los miembros doctor Jhony Aldo Tinco Jayo, Mg. Gilmar Peña Rojas, Mg. Maricela López Sierralta quien además actuará como secretaria docente, para recepcionar la sustentación de tesis: "Actividad antioxidante y citoprotectora del extracto acuoso de tres morfotipos de *Solanum* spp. "papa nativa" *in vitro*. Lima - 2014" presentado por la Bachiller Mary Herlinda Zarabia Cusi, quien pretende optar el Título Profesional de Químico Farmacéutica.

El Decano apertura el acto solicitando a la Doctora Silvia Suarez Cunza, docente de la UNMSM y asesora del trabajo de investigación que acompañe a los jurados en la mesa de honor, luego el sustentante realiza la exposición del trabajo de investigación en el tiempo correspondiente de cuarenta y cinco minutos luego del cual los miembros del jurado proceden a realizar las observaciones, aclaraciones y preguntas que crean conveniente.

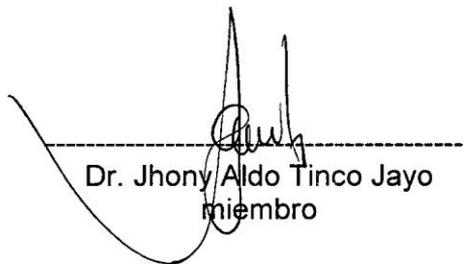
Luego el decano solicita a la sustentante y público en general que abandonen el auditorio dejando a los miembros del jurado calificador para que puedan deliberar y realizar la calificación correspondiente:

JURADOS	Texto	Exposición	Respuestas	Promedio
Dr. Emilio G. Ramírez Roca	19	19	19	19
Dr. Jhony Aldo Tinco Jayo	19	20	19	19
Mg. Gilmar Peña Rojas	17	18	18	18
Mg. Maricela López Sierralta	19	19	19	19
		Promedio Total		19

De la evaluación la sustentante obtiene en promedio de DIECINUEVE (19) de lo cual dan fe los miembros estampando su firma al pie de la presente. Culmina el acto de sustentación siendo la una de la tarde.



Dr. Emilio G. Ramírez Roca  
Presidente – miembro



Dr. Jhony Aldo Tinco Jayo  
miembro



Dr. Gilmar Peña Rojas  
Miembro



Mg. Maricela López Sierralta  
Miembro - Secretaria Docente(e)

## **DEDICATORIA**

A Jesucristo, mi padre.

A mi madre, por su inmenso amor, y  
mis hermanos Ángel, Ruth y José.

## AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, *mi alma mater*.

A la Facultad de Ciencias de la Salud. A la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, porque en ella guardo recuerdos maravillosos, docentes que me guiaron y forjaron durante el transcurso de mi carrera profesional.

Al Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición "Alberto Guzmán Barrón" de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por permitirme ejecutar la presente investigación.

Al Instituto Nacional de Innovación Agraria de Ayacucho, por facilitarme las muestras de *Solanum* spp. "papa nativa".

A mi asesor interno, el doctor Emilio Ramírez Roca, por su apoyo y orientación incondicional en el presente trabajo.

A mi asesora externa, la doctora Silvia Suarez Cunza, por su aceptación, valioso tiempo y gran orientación durante el desarrollo de la investigación.

A mi amiga Aydé Almirón, y a todas aquellas personas quienes me brindaron su amistad, colaboración, apoyo y sugerencias antes, durante y después de la ejecución de la tesis, contribuyendo de gran manera a alcanzar esta meta.

## ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE DE TABLAS .....	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	vii
RESUMEN.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	3
2.1. Antecedentes.....	3
2.2. Fundamento teórico.....	6
2.2.1 <i>Solanum</i> spp. "papa nativa".....	6
2.2.2 Radical libre.....	12
2.2.3 Antioxidantes.....	16
2.2.4 Antioxidantes naturales.....	19
2.2.5 Estrés oxidativo.....	23
2.2.6 Determinación de la capacidad antioxidante <i>in vitro</i> .....	25
III. MATERIAL Y MÉTODOS.....	35
3.1. Ubicación.....	35
3.2. Diseño metodológico.....	35
3.2.1. Población.....	35
3.2.2. Muestra.....	35
3.2.3. Unidad experimental.....	35
3.3. Diseño experimental.....	36
3.3.1. Selección y traslado de la muestra.....	36
3.3.2. Deseccación y molienda de la muestra.....	36
3.3.3. Obtención de sólidos solubles (ss).....	36
3.3.4. Determinación de las propiedades físicas.....	37
3.3.5. Ensayos químicos.....	38
3.3.6. Ensayo biológico <i>in vitro</i> : inducción de estrés oxidativo.....	45
3.4. Análisis estadístico.....	47
IV. RESULTADOS.....	49
V. DISCUSIÓN.....	57
VI. CONCLUSIONES.....	69
VII. RECOMENDACIONES.....	71

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	73
ANEXOS .....	79

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
<b>Tabla 1.</b> Clasificación taxonómica de la papa.....	8
<b>Tabla 2.</b> Criterios de clasificación de los diferentes grupos de papa según sus características.....	9
<b>Tabla 3.</b> Adaptaciones de la composición bioquímica de la papa moderna y nativa.....	11
<b>Tabla 4.</b> Clasificación de los radicales libres.....	14
<b>Tabla 5.</b> Clasificación de los modelos de ensayo <i>in vitro</i> según su modo de reacción SET o HAT.....	26
<b>Tabla 6.</b> Protocolo de DPPH•.....	39
<b>Tabla 7.</b> Protocolo de ABTS**.....	41
<b>Tabla 8.</b> Protocolo del reactivo Folin-Ciocalteau (FCR).....	43
<b>Tabla 9.</b> Protocolo del $AlCl_3$ .....	44
<b>Tabla 10.</b> Protocolo de lipoperoxidación inducida.....	46
<b>Tabla 11.</b> Protocolo de TBARS.....	47
<b>Tabla 12.</b> Color del tubérculo y pulpa de tres morfotipos de papas nativas del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Ayacucho - 2015.....	51
<b>Tabla 13.</b> Propiedades físicas de tres morfotipos de papas nativas del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Ayacucho. Lima – 2015.....	52
<b>Tabla 14.</b> Parámetros antioxidantes del extracto acuoso de tres morfotipos de papas nativas del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Ayacucho. Lima 2015.....	55

## ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
<b>Figura 1.</b>	Contenido de fenoles en 14 alimentos.....	5
<b>Figura 2.</b>	El átomo de oxígeno pierde un electrón y queda como radical libre.....	13
<b>Figura 3.</b>	Distintos criterios de clasificación.....	17
<b>Figura 4.</b>	Mecanismo de reacción de las enzimas antioxidantes.....	18
<b>Figura 5.</b>	Ejemplos de estructuras de compuestos fenólicos.....	20
<b>Figura 6.</b>	Estructura del fenol.....	20
<b>Figura 7.</b>	Estructura básica de los flavonoides.....	21
<b>Figura 8.</b>	Estructura de la quercetina resaltando los grupos implicados en su actividad antioxidante.....	22
<b>Figura 9.</b>	Enfermedades y daños causados por las ERO.....	23
<b>Figura 10.</b>	Esquema resumen de las reacciones principales de la peroxidación lipídica.....	24
<b>Figura 11.</b>	Estructura del DPPH• antes y después de la reacción con el antioxidante.....	28
<b>Figura 12.</b>	La Oxidación del ABTS por el persulfato de potasio genera el radical catión ABTS <sup>•+</sup> , luego la reacción con un compuesto antioxidante.....	29
<b>Figura 13.</b>	Reacción de quelación del ion Al <sup>3+</sup> con los flavonoides.....	32
<b>Figura 14.</b>	Reacción de condensación del ácido tiobarbitúrico y el malondialdehído.....	33
<b>Figura 15.</b>	Reacción de Haber-Weiss/Fenton.....	34
<b>Figura 16.</b>	Porcentaje de captación del radical DPPH• por el extracto acuoso en µg/mL de tres morfotipos de papas nativas del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Ayacucho. Lima – 2015.....	53
<b>Figura 17.</b>	Porcentaje de captación del radical ABTS <sup>•+</sup> por el extracto acuoso en µg/mL de tres morfotipos de papas nativas del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Ayacucho. Lima – 2015.....	54
<b>Figura 18.</b>	Niveles de MDA en µmol/g hígado de los tratamientos con y sin lipoperoxidación (LP) frente al extracto acuoso de tres morfotipos de papas nativas del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Ayacucho. Donde, a: p≤0,000001 con respecto al grupo LP. Lima – 2015.....	56

## ÍNDICE DE ANEXOS

	<b>Página</b>
<b>Anexo 1.</b> Organigrama de los ensayos ejecutados.....	81
<b>Anexo 2.</b> Tabla de corrección de temperatura (grados brix).....	82
<b>Anexo 3.</b> Curva de calibración con trolox para el ensayo de DPPH*.....	83
<b>Anexo 4.</b> Curva de calibración con trolox para el ensayo de ABTS**.....	83
<b>Anexo 5.</b> Tabla del protocolo de la curva estándar del ácido gálico (AG)..	84
<b>Anexo 6.</b> Curva de calibración del ácido gálico (AG).....	84
<b>Anexo 7.</b> Protocolo de la curva estándar de la quercetina dihidratada (QD).....	85
<b>Anexo 8.</b> Curva de calibración del ácido gálico (AG).....	85
<b>Anexo 9.</b> Tabla de correlación de Pearson de los parámetros de capacidad antioxidante para valores de TEAC ABTS**, TEAC DPPH*, polifenoles (PLF) y flavonoides (FLV) del extracto acuoso de tres morfotipos de papas nativas del Instituto Nacional de innovación Agraria (INIA), Ayacucho. Lima – 2015	86
<b>Anexo 10.</b> Tabla de la diferencia de medias de malondialdehído (MDA) producido por la lipoperoxidación en homogenizado de hígado (HH) de rata holtzman según tratamientos, utilizando la prueba estadística "t" de datos apareados. Lima – 2015.....	87
<b>Anexo 11.</b> Glosario.....	89
<b>Anexo 12.</b> Matriz de consistencia.....	90

## RESUMEN

La papa además de su gran valor energético y nutricional es fuente de metabolitos secundarios con actividad antioxidante que pueden ayudar a prevenir enfermedades producidas por el estrés oxidativo. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad antioxidante y citoprotectora del extracto acuoso de tres morfotipos de *Solanum* spp "papa nativa" *in vitro*, procedentes del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) - Ayacucho. Se ejecutó en el Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. El tipo de investigación es básico - experimental. Se midió la capacidad antioxidante, se cuantificó polifenoles y flavonoides, y se determinó la capacidad de citoprotección. Se preparó extractos acuosos, se determinó su densidad así como sólidos solubles. La capacidad antioxidante se determinó mediante la captación de radicales DPPH\* y ABTS\*\*. Los polifenoles se determinaron con el reactivo Folin – Ciocalteau y los flavonoides con AlCl<sub>3</sub>. La capacidad de citoprotección, en homogenizado de hígado de rata de raza holtzman inducida a lipoperoxidación, fue medida por la reacción de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) por el método espectrofotométrico. Los resultados según los ensayos químicos para DPPH\* fueron IC<sub>50</sub> entre 387,6 – 459 µg/mL y TEAC<sub>DPPH\*</sub> entre 2,2 – 2,60 µg/mg sólidos solubles (ss); para ABTS\*\* fueron IC<sub>50</sub> entre 186,1 – 292,2 µg/mL y TEAC<sub>ABTS\*\*</sub> entre 9,3 – 14,6 µg/mg ss. El contenido de polifenoles totales estuvo en el rango de 11,67 - 22,94 µg EAG/mg ss; y flavonoides entre 4,58 - 6,64 µg EQD/mg ss. Según el ensayo biológico en la prueba de TBARS el grupo inducido a lipoperoxidación con el sistema Fe<sup>+2</sup>/ascorbato fue altamente significativa en comparación al grupo control sin el sistema Fe<sup>+2</sup>/ascorbato (p<0,000001). La lipoperoxidación fue disminuida significativamente por los extractos (p<0,005), evidenciando la citoprotección. Conclusión: el extracto acuoso de los tres morfotipos de papas nativas presentó actividad antioxidante y efecto citoprotector *in vitro*.

**Palabras clave:** *Solanum* spp. "papa nativa", antioxidante, citoprotección, lipoperoxidación, DPPH\*, ABTS\*\*, TBARS.

## I. INTRODUCCIÓN

Las tendencias mundiales de la alimentación, en los últimos años, indican un interés acentuado de los consumidores hacia ciertos alimentos que, además de contener nutrientes, contengan sustancias fisiológicamente activas que cumplan, al igual que los nutrientes esenciales, una función beneficiosa en la reducción de ciertas enfermedades.<sup>1</sup>

El estrés oxidativo ha sido asociado en el desarrollo de numerosas enfermedades crónicas y en el proceso del envejecimiento.<sup>2</sup> La incapacidad del cuerpo humano para neutralizar la acción de los radicales libres a los que está expuesto diariamente, genera en el hombre, la necesidad de consumir alimentos con propiedades antioxidantes.<sup>3</sup> Entre dichos alimentos se encuentra la papa, la cual es una de las plantas más conocidas y cultivadas como producto básico de la canasta familiar a nivel mundial, ocupa el quinto lugar en cuanto a consumo humano y cuarto lugar en cuanto al valor de producción, después del maíz, el trigo y el arroz;<sup>4</sup> en nuestro país el consumo promedio es de 85 kg/por habitante al año.<sup>5</sup>

Perú forma parte del geocentro andino del origen y domesticación del cultivo de papa que data desde hace 6000 a 10000 años a.C.<sup>6</sup> Hoy en día, en la región andina del país (como Ayacucho) aún existen una amplia biodiversidad de cultivares nativos concentrados en microcentros del país, mantenidos por familias campesinas conservacionistas.<sup>7</sup> Además, los tubérculos nativos presentan un potencial nutricional, nutracéutico y comercial prometedor ya que el interés del consumidor de papas pigmentadas, de aspecto atractivo y novedoso, se ha incrementado notablemente en estos últimos años debido a su contenido de compuestos con actividad antioxidante como vitamina C, carotenos, antocianinas, compuestos fenólicos y micronutrientes minerales.<sup>3,4,8-11</sup>

Por tanto la papa (sobre todo las nativas) debería ser aprovechada porque el auge de su producción, consumo y divulgación constituyen una oportunidad para mejorar la calidad de vida del poblador andino que vive en zonas de pobreza y extrema pobreza.<sup>10</sup>

A nivel nacional e internacional existen muchos estudios que evalúan la actividad antioxidante de papas mejoradas.<sup>3,4</sup> Sin embargo el estudio de las especies nativas es escaso, puesto que solo existen reportes de investigaciones de papas nativas del sur y selva peruana.<sup>10, 12</sup>

Bajo esta perspectiva, el presente estudio de investigación consistió en analizar tres morfotipos de *Solanum* spp. "papa nativa". Para el cual se planteó los siguientes objetivos:

General:

- Evaluar la actividad antioxidante y citoprotectora del extracto acuoso de tres morfotipos de *Solanum* spp. "papa nativa" *in vitro*.

Específicos:

- Determinar la capacidad antioxidante total del extracto acuoso de tres morfotipos de *Solanum* spp. "papa nativa" empleando el radical DPPH\*.
- Determinar la capacidad antioxidante total del extracto acuoso de tres morfotipos de *Solanum* spp. "papa nativa" empleando el radical catiónico ABTS\*\*.
- Determinar el contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de tres morfotipos de *Solanum* spp. "papa nativa".
- Determinar el contenido de flavonoides en el extracto acuoso de tres morfotipos de *Solanum* spp. "papa nativa".
- Evaluar la actividad citoprotectora del extracto acuoso de tres morfotipos de *Solanum* spp. "papa nativa" mediante la prueba de TBARS.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes.

Numerosos estudios científicos han identificado las características morfológicas y genéticas de las papas nativas.<sup>10</sup> En cuanto a los compuestos fitoquímicos de carácter antioxidante de la papa nativa reportando la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas, vitamina C y micronutrientes minerales como Fe, Cu, Zn y Se.<sup>8,10</sup> Sin embargo hasta la fecha dichos reportes son escasos frente a la gran biodiversidad de morfotipos de papas nativas.

Actualmente existen diversos trabajos a nivel nacional e internacional sobre la actividad antioxidante y citoprotectora de la papa en general, siendo un tema de mucha importancia se procederá a mencionar alguna de ellas.

A nivel nacional:

Suárez *et al.*<sup>10</sup> (2014), realizó estudios en papas nativas procedentes de la ciudad de Andahuaylas. Preparó extractos hidroalcohólicos y determinó la densidad aparente, sólidos extraíbles, cuantificó polifenoles por el reactivo de Folin-Ciocalteu, micronutrientes minerales mediante la absorción de masa atómica (Cu, Fe, Zn, Se y Mn), así como la capacidad antioxidante a través de los radicales DPPH• y ABTS••. Concluyendo que todas las muestras de papas

nativas contenían polifenoles y micronutrientes minerales que explicarían la actividad antioxidante.

Ramírez *et al.*<sup>8</sup> (2014), realizó el estudio del efecto del extracto acuoso de la papa nativa *Solanum tuberosum* "puca simi", procedente de la ciudad de Andahuaylas, sobre enzimas de detoxificación de fase II. Determinando la marcha fitoquímica de taninos, aminoácidos libres, flavonoides, compuestos fenólicos y saponinas. Además empleó ratas, al cual le suministró el extracto a diferentes concentraciones y cuantificó niveles de proteínas totales, bilirrubina total, malondialdehído (MDA) y hematocrito; así como la actividad de las enzimas glutatión s-transferasa (GST) y uridin difosfato-glucoroniltransferasa (UDP-GT). Concluyó que el extracto acuoso de la papa nativa "puca simi" contiene metabolitos secundarios que protegen la lipoperoxidación e incrementa de manera significativa la actividad de la UDP - GT.

A nivel internacional:

En Colombia García A.<sup>4</sup> (2011), ejecutó una evaluación *in vitro/in vivo* de las propiedades antioxidantes de clones promisorios de papa criolla (*Solanum phureja*). Determinó ácido clorogénico, ácido ascórbico, fenoles totales, capacidad antioxidante *in vitro* a través de las pruebas de FRAP, ABTS<sup>•+</sup>, DPPH<sup>•</sup>, ORAC y la captación de los radicales hidroxilo, superóxido y peróxido. Además evaluó el estatus antioxidante de la papa en un modelo de hepatotoxicidad inducido por CCl<sub>4</sub> en ratas y la suplementación de materiales de papa como aditivo nutracéutico en sistemas de alimentación de pollos de engorde, realizando las pruebas de FRAP y TBARS. Confirmando la actividad antioxidante *in vitro/in vivo* de clones de *Solanum phureja* a concentraciones experimentales y su efecto hepatoprotector e inhibidor de la peroxidación lipídica.

Brown *et al.* (2003, 2005), Reyes *et al.* (2005), André *et al.* (2007), Fuenzalida N. (2008), observaron que la capacidad antioxidante se debía al contenido de compuestos fenólicos (principalmente las antocianinas) que presentaban las papas de pulpa roja y púrpura, mostrando 2 a 3 veces más actividad antioxidante que las papas de pulpa amarilla que contienen carotenoides principalmente. Además los tubérculos con piel presentaban mayor actividad antioxidante que los tubérculos sin piel.<sup>13</sup>

Al-Saikhan *et al.*<sup>13</sup> (1995), consideró que la papa presentaba mayor actividad antioxidante que el pimiento, zanahoria y cebolla, pero menor al brócoli. Chun *et al.*<sup>4</sup> (2005), concluyó que las papas son la tercera fuente más importante de fenoles totales después de las manzanas y naranjas. Además Navarré *et al.*<sup>4</sup> (2011), concluyó que las papas contenían mayor cantidad de fenoles totales frente a los otros alimentos como tomates, guisantes, cebollas y otros (figura 1).

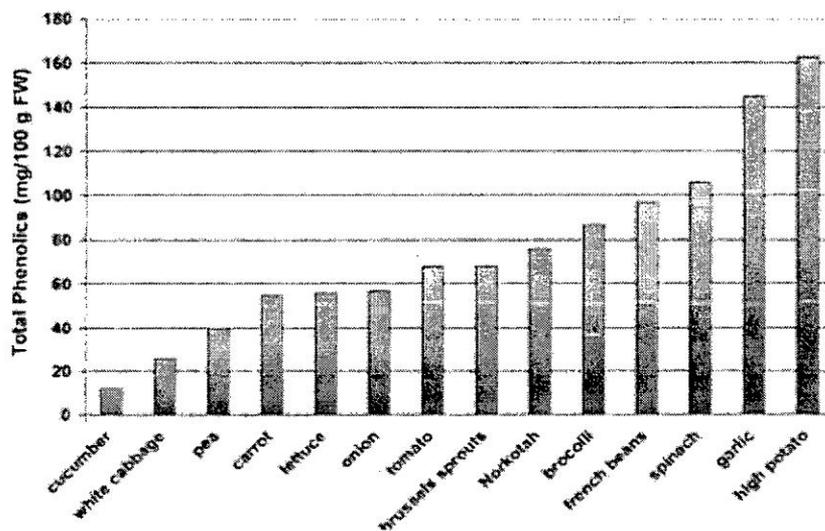


Figura 1. Contenido de fenoles totales en 14 alimentos, Navarré *et al.*<sup>4</sup> (2011).

## 2.2. Fundamento teórico

### 2.2.1 *Solanum* spp. “papa nativa”

La papa se encuentra entre los cuatro cultivos alimenticios más importantes del mundo, junto al trigo, arroz y el maíz. Una papa de tamaño mediano contiene alrededor de la mitad de los requerimientos diarios de vitamina C de una persona adulta. Otros cultivos de primera necesidad como el arroz o el trigo no poseen este elemento. La papa es muy baja en grasa, con sólo el 5% del contenido de grasa del trigo y una cuarta parte de las calorías del pan. La papa produce entre 2 a 4 veces más nutrientes que el arroz y el trigo, además el 85 % de la planta es comestible, tiene numerosas propiedades nutritivas y un elevado rendimiento por hectárea que permite obtener una producción de energía digestible diaria comparable con los cereales.<sup>14</sup>

#### 2.2.1.1. Origen

Las primeras papas cultivadas probablemente fueron seleccionadas entre 6.000 y 10.000 años atrás, al norte del lago Titicaca, en los Andes del sur de Perú. Allí, se cree que se originó la primera papa domesticada que habría dado origen al grupo de *Solanum andigena* (papa de los Andes), este a su vez es considerada, desde el punto de vista genética, como el más estrechamente relacionado al grupo *Solanum chilotanum*, conocido colectivamente como *Solanum tuberosum*.<sup>15</sup>

La difusión de la papa desde los andes hacia el resto del planeta parece una aventura, pero comenzó con una tragedia. Los conquistadores llegaron a América en busca de tesoro, pero el verdadero tesoro que llevaron de regreso a Europa fue el tubérculo. La primera constancia del cultivo de la papa en Europa data de 1565, en las Islas Canarias de España. Al poco tiempo, en Europa se puso de moda hacer regalos exóticos de estos tubérculos, de la corona española al Papa de Roma, luego al nuncio apostólico en la ciudad de Mons, y de ahí a un

botánico famoso de Viena, Carolus Clusius, que introdujo la papa en Holanda (al principio solo se cultivó como especie ornamental por sus flores). No obstante hubo países como Rusia Italia y Francia, donde la papa fue muy resistida y hasta despreciada porque para ellos era casi irracional consumir un producto que crecía debajo de la tierra, incluso la llamaban "manzana del diablo", "venenosa", etc. Sin embargo, fue el agrónomo, farmacéutico militar francés Antoine Parmentier la persona que sugirió al Rey Luis XVI impulsar el cultivo de dicho tubérculo, luego de haber sobrevivido tres años como prisionero de guerra consumiendo papa. A partir de allí, esta planta logró expandirse por toda Europa, Asia y África.<sup>16</sup>

Actualmente la mayor producción de este tubérculo está liderada por China, seguido de la India, Estados Unidos y Rusia. El Perú se posiciona en el décimo octavo lugar, por encima de Brasil.<sup>17</sup>

#### **2.2.1.2. Descripción botánica**

Se trata de una planta herbácea, de tallo erecto. Sus raíces son fibrosas y muy ramificadas. Las hojas son compuestas y presentan de 7 a 9 folíolos. Las flores están formadas por un único pistilo y cinco estambres. El color de la flor puede ser blanco, lila, moradas e incluso violetas, presentando distintas intensidades según el cultivar. Los tubérculos son tallos modificados que constituyen los principales órganos de almacenamiento.<sup>18</sup>

#### **2.2.1.3. Descripción taxonómica**

La taxonomía de las especies silvestres y cultivadas de papa continúa siendo notablemente compleja, genera controversias y actualmente sigue siendo refinada. Por tanto, se hace necesario establecer un acuerdo entre taxónomos para desarrollar un sistema de clasificación estable y única.<sup>6</sup>

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación 2008 (FAO, 2008) la papa se ubica en la siguiente categoría taxonómica.

**Tabla 1.** Clasificación taxonómica de la papa

Reino	Plantea
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Genero	Solanum
Especie	<i>Solanum tuberosum</i>
Nombre Común	"papa"

Fuente: Vásquez *et al.* 2012

#### **2.2.1.4. Descripción geográfica**

La distribución de las diferentes especies de papa es muy amplia en los Andes y en general en el mundo entero. Abarca no solamente casi todas las latitudes y continentes, sino igualmente un rango de altura que va desde el nivel del mar hasta 4500 msnm, pero en general se desarrolla en lugares de temperaturas bajas propias de la zona altoandinas.<sup>19, 20</sup>

En el Perú se distribuye en 19 de los 24 departamentos, constituyendo la base de la alimentación del poblador. La sierra peruana concentra el 96% de la superficie sembrada de papa, Puno es el departamento con mayor producción, seguido de Huánuco, Cusco, Cajamarca y Ayacucho (ubicada en el octavo lugar).<sup>14, 17</sup>

#### **2.2.1.5. Clasificación**

Perú tiene la mayor diversidad de papa en el mundo, al contar con ocho especies nativas domesticadas y 2301 variedades de las más de cuatro mil que existen en Latinoamérica. Asimismo, nuestro país posee 91 de las 200 especies que crecen en forma silvestre en casi todo nuestro continente.<sup>17</sup>

Las variedades de papa en el Perú pueden clasificarse de una manera práctica de acuerdo a su origen, color y uso del tubérculo. Así, el ministerio de agricultura clasifica a las papas, según su origen, en nativas y modernas. Las variedades nativas se siembran en las zonas altoandinas, sometidos a un proceso de selección empírica a través de miles de años por parte de los agricultores y la presión de la naturaleza (climas extremos, plagas, enfermedades y otros), mientras las variedades modernas conocidas también como mejoradas, híbridas o blancas, resultan del cruce de dos o más especies.<sup>21, 22</sup>

**Tabla 2.** Criterios de clasificación de los diferentes grupos de papa según sus características.

CRITERIOS	GRUPOS	CARACTERÍSTICAS
Por su origen	Nativas	Harinosas, se consume cocidos
	Modernas	Menos harinosas, se consume cocidos y fritos
Por su color	Blancos	Cascara blanquecina, crema o cremosa
	De color	Cascara color rojo, rojizo, morado o negro
Por su uso	Amargas	Para elaborar moraya o tunta
	Amarillas	Para sopas, papillas o puré
	Industriales	Para hojuelas (chips), fritos, otros.

Fuente: Martínez FA, 2009.

#### 2.2.1.6. *Solanum* spp. “papa nativa”

Las papas nativas son cultivadas exclusivamente en las zonas alto andinas de 3000 – 4200 msnm, como resultado de un proceso de domesticación, selección y conservación ancestral, cuyas condiciones climáticas y agroecológicas son particularmente extremas permitiendo que los tubérculos adopten una gran diversidad genética, morfológica y fitoquímica.<sup>7, 9</sup> Las formas del tubérculo se tipifican como redondeadas, ovaladas, alargadas (con contorno regular o irregular) y otras. En cuanto al color las papas nativas tienen colores variables de piel y de pulpa, donde muchas de ellas son amarillas/blancas, encontrándose incluso algunos con pigmentos morados, rojos y hasta azules.<sup>13</sup>

El Centro Internacional de la Papa (CIP) mantiene en custodia 4732 variedades, de las cuales 2700 corresponden al Perú. Esta rica biodiversidad constituye desde hace cuarenta años la fuente primordial para la generación de nuevas variedades resistentes a enfermedades severas como el tizón tardío y, actualmente estas variedades nativas son la base para la generación de variedades con concentraciones altas de vitamina C, micronutrientes esenciales y antioxidantes. La necesidad de revalorar y generar conocimientos científicos de estas variedades nativas desde el punto de vista nutricional y de salud es importante e impostergable.<sup>7</sup>

#### **2.2.1.7. Composición química**

La calidad del tubérculo de papa está íntimamente relacionada con su composición química<sup>13</sup> (tabla 3), además es variable y está controlada principalmente por factores genéticos dados por el cultivar, factores ambientales como: localidad, clima, suelo, agua, prácticas culturales y por la madurez de los tubérculos. La cocción y el almacenamiento también afectan la composición química de la papa y como consecuencia, su valor nutricional.<sup>23</sup>

La papa es el cultivo que produce una gran cantidad de alimento nutricional por unidad de tiempo, agua y área, en climas muy adversos que cualquier otro cultivo mayor; hasta un 85% de la planta es comestible comparado con el de 50% de los cereales, convirtiéndola en una fuente muy importante para la alimentación. La papa contiene proteína de alto valor biológico (análogo al de los cereales y es muy alto en comparación con otras raíces y tubérculos), cantidades significativas de vitamina C (ácido ascórbico y dehidroascórbico que mejoran la absorción del Fe) y otras vitaminas hidrosolubles: tiamina (vitamina B1) y vitamina B6. El contenido de minerales representa el 1,1 % en los tubérculos de papa, siendo el potasio (K) el de mayor abundancia, el fósforo (P), cloro (Cl), azufre (S), magnesio (Mg), hierro (Fe) y zinc (Zn) están presentes en

cantidades moderadas. También proporciona oligoelementos esenciales como manganeso (Mn), cromo (Cr), selenio (Se) y molibdeno (Mo).<sup>23</sup>

**Tabla 3.** Composición bioquímica de la papa.<sup>13</sup>

<b>Nutriente</b>	<b>Cantidad (%)</b>
Agua (g)	63,2 – 86,9
Sólidos totales (g)	13,1 – 36,8
Ceniza (g)	0,44 – 1,9
Fibra cruda (g)	0,17 – 3,48
Carbohidratos totales (g)	13,3 – 30,53
Proteína (nitrógeno total 6,25) (mg)	0,7 – 4,6
Materia grasa (g)	0,02 – 0,2
Vitamina C (mg)	1,0 – 54,0
Compuestos fenólicos (mg)	5,0 – 646
Glicoalcaloides (Solanina) (mg)	0,2 – 41
Ácidos orgánicos (g)	0,4 – 1,0
Azúcares reductores (g)	0,0 – 5,0

Fuente: Fuenzalida NC, 2008.

Las papas nativas son efectivamente diferentes a las variedades mejoradas en color, sabor, formas, y ciertamente en contenido y calidad nutricional.<sup>13</sup>

#### **2.2.1.8. Acción farmacológica**

Los ambientes adversos a los que se encuentran expuestas los tubérculos desencadenan estrés oxidativo, generando especies reactivas de oxígeno que perjudican la pared celular y las proteínas, ocasionándoles daños irreparables e incluso muerte de los organismos. En respuesta a dicho daño las papas nativas han desarrollado sistemas de defensa mediante la producción de pigmentos naturales antioxidantes que tienen beneficios potenciales para la salud.<sup>1</sup> Se ha comprendido como ayuda en el tratamiento de afecciones del hígado (hepatoprotector) y cálculos renales, se las emplea también para combatir el reumatismo, la artritis y para bajar la presión arterial. Las hojas de la planta son utilizadas como antiespasmódicos y en aplicaciones locales para las hemorroides. El jugo concentrado de papa es empleado en pacientes con

dispepsia, acidez estomacal, úlceras y gastritis, su proteinasa inhibidora II para reducir el peso.<sup>24</sup> Además la proteína aislada de papa demostró la actividad inhibitoria de hidrolasas como la enzima convertidora de angiotensina (ECA) con un impacto benéfico para la salud cardiovascular; el polvo liofilizado de cascara de papa y/o tubérculo con cascara contiene sustancias con alto poder antioxidante que ha mostrado una mayor inhibición de la carcinogénesis,<sup>4</sup> con evidencia de un efecto dosis dependiente en la multiplicidad de esta patología; el tubérculo administrado en forma de cataplasma vía tópica tiene efecto cicatrizante sobre quemaduras<sup>25</sup> y neuroprotectoras.<sup>8</sup>

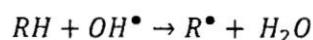
### 2.2.2 Radical libre

Los radicales libres (RL) son moléculas que en su estructura presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración espacial que genera una alta reactividad e inestabilidad.<sup>26</sup>

Los radicales libres pueden llevar a cabo uno de los siguientes tipos de reacciones:

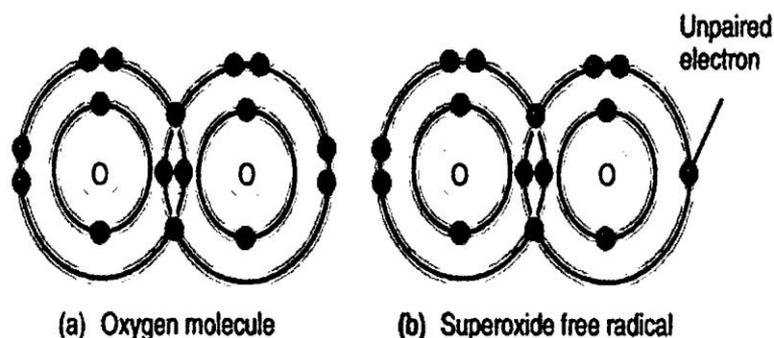
- Ceder su electrón desapareado (radical reductor).
- Aceptar un electrón de la molécula estable para estabilizar el electrón desapareado (radical oxidante).
- Unirse a una molécula estable.

En cualquiera de los tres casos, la situación resultante es la génesis de otro radical químicamente agresivo:



Esto lo hace muy inestable, extraordinariamente reactivo y de vida efímera, con una enorme capacidad de participar en diversas reacciones de óxido reducción con biomoléculas integrantes de la estructura celular: carbohidratos, lípidos,

proteínas, ácidos nucleicos y derivados, produciendo daño en la célula e incluso muerte celular.<sup>26, 27</sup>



**Figura 2.** El átomo de oxígeno pierde un electrón y queda como radical libre.

#### 2.2.2.1. Símbolo del radical libre

Generalmente son identificados mediante un punto, el cual es colocado como superíndice en el ángulo derecho de la fórmula química del mismo, lo cual significa que el electrón no tiene pareja.<sup>4</sup>

#### 2.2.2.2. Clasificación del radical libre

Los radicales libres de importancia biológica se clasifican en: especies reactivas de oxígeno (ERO) y nitrógeno (ERN), así como metales de transición.

Las especies reactivas (ERO y ERN) incluyen a los radicales libres y a otras especies no radicalarias que están estrechamente relacionados con la producción de radicales libres por ser sus precursores (tabla 4).<sup>4, 28</sup>

Los metales de transición (Fe, Mn, Co, Ni y Cu) tienen la característica de llegar a ser estables por sí mismos sin necesidad de reaccionar con otro elemento, esto es, cuando a su último nivel de energía le faltan electrones para estar completo lo utiliza de los niveles o subniveles internos, con lo cual logra su estabilidad, a este fenómeno se llama transición electrónica. La mayoría de los metales tienen electrones desapareados y precisamente gracias a esta transición pueden existir en forma de radical libre.<sup>28</sup> Sin embargo muchas veces

se comportan como pro oxidantes, transformando moléculas oxidantes en otras formas aún más reactivas.<sup>27</sup>

**Tabla 4.** Clasificaciones de las especies reactivas.

Precursor de Radicales		Radicales	
<b>ERO</b>			
Peróxido de hidrogeno	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Superóxido	O <sub>2</sub> <sup>•</sup>
Acido hipocloroso	HOCl	Hidroxilo	OH <sup>•</sup>
Ozono	O <sub>3</sub>	Peroxilo	RO <sub>2</sub> <sup>•</sup>
Singlete de Oxigeno	<sup>1</sup> O <sub>2</sub> <sup>•</sup>	Alcoxilo	RO <sup>•</sup>
		Hidroperóxido	HO <sub>2</sub> <sup>•</sup>
<b>ERN</b>			
Acido nitroso	HNO <sub>2</sub>	Óxido nítrico	NO <sup>•</sup>
Tetróxido dinitrógeno	N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	Dioxido de nitrógeno	NO <sub>2</sub> <sup>•</sup>
Trióxido dinitrógeno	N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>		
Peroxinitrito	ONOO		
Ácido peroxinitroso	ONOOH		
Catión nitroso	NO <sub>2</sub>		
Peroxinitrito alquilo	ROONO		

Fuente: Fuenzalida NC, 2008.

### 2.2.2.3. Especies reactivas de oxígeno

Las ERO son RL o precursores de RL, altamente reactivos, que están asociados a las condiciones de vida aerobia, representan la fuerza motriz para el mantenimiento del metabolismo y viabilidad celular, al mismo tiempo que entraña un peligro potencial debido a las especiales características paramagnéticas de este gas, responsable de la formación de intermediarios parcialmente reducidos y dotados de una alta reactividad.<sup>29</sup>

La mayoría de las células y organismos de nuestro planeta se enfrentan a ambientes con agresores oxidativos. Todo inicia con el empleo del oxígeno como la molécula oxidante final del metabolismo aeróbico. Ello hace que las células mantengan una alta concentración de productos oxidantes del metabolismo, especies reactivas de oxígeno y en muchas ocasiones radicales libres. Numerosas reacciones en las células implican oxidaciones, en principio todas las degradaciones para obtener energía y muchas reacciones del metabolismo intermediario.

Las ERO y ERN, son un subgrupo de moléculas oxidantes, que como su nombre lo indica son altamente reactivas. Otro subgrupo son los radicales libres que no solo tienen alta reactividad y capacidad oxidativa, sino que adicionalmente pueden generar reacciones oxidativas en cadena. Los radicales libres en particular y las especies reactivas en general participan en algunas funciones biológicas y se encuentran involucradas en diversas patologías.<sup>28</sup>

Entre las funciones biológicas las ERO participan en la fagocitosis, reacciones inflamatorias, favorecen la síntesis de colágeno y prostaglandinas, activan enzimas de la membrana celular, proliferación celular, diferenciación celular, favorecen la quimiotaxis, entre otras; y las ERN participan en la neurotransmisión y neuroregeneración del sistema nervioso, vasodilatación, así como en procesos de agregación plaquetaria y coagulación sanguínea.<sup>4, 28</sup>

#### **2.2.2.4. Fuente de las especies reactivas de oxígeno**

En general, las moléculas oxidantes pueden ser de origen exógeno o endógeno. La acción de las moléculas oxidantes de origen exógeno se relacionan directamente con su lugar de entrada al organismo.<sup>27</sup> Por ejemplo, radiaciones (ultravioleta, X, infrarrojo), sustancias químicas ambientales (ozono, nitrógeno, metales pesados, etc.), y las infecciones bacterianas (bacterias, parásitos, virus, etc.).<sup>30</sup>

Las moléculas oxidantes de origen endógeno son generadas exclusivamente en el metabolismo y se han dividido en tres grupos según su origen. Un grupo corresponde a aquellas moléculas oxidantes generadas en la cadena transportadora de electrones dentro de las mitocondrias. Un segundo grupo corresponde a las moléculas oxidantes que provienen de actividades enzimáticas, como es el caso de la xantina oxidasa y óxido nítrico sintasa. El tercer grupo de moléculas oxidantes es producido en la respiración celular de las células inflamatorias (neutrófilos, monocitos o macrófagos), las cuales utilizan el

sistema de la NADPH oxidasa generando directamente al ión superóxido, a pesar de ser una enzima se considera como un grupo aparte dada su importancia en los procesos inflamatorios.<sup>27</sup>

#### **2.2.2.5. Factores de producción de especies reactivas de oxígeno**

Los factores pueden ser químicos (aumento de metales de transición, xenobióticos, componentes del tabaco), drogas (paracetamol, CCl<sub>4</sub>, furosemida, adriamicina), físicos (radiaciones ultravioleta, hiperoxia), orgánicos y metabólicos (dieta hipercalórica, dieta insuficiente y/o excedente en antioxidantes, diabetes, procesos inflamatorios y traumatismos, ejercicios extenuantes).<sup>26</sup>

#### **2.2.3 Antioxidantes**

El sistema defensivo, denominado sistema antioxidante (AO), corresponde a un amplio conjunto de moléculas de distinto origen, que actúan en pequeñas concentraciones como un sistema coordinado y balanceado que protege a los tejidos y fluidos corporales de la acción de ERO/ERN producidos fisiológicamente o como respuesta a infecciones, cuadros inflamatorios y diversas enfermedades, de manera que se mantenga el equilibrio entre dichas especies reactivas y los antioxidantes.<sup>27, 29</sup>

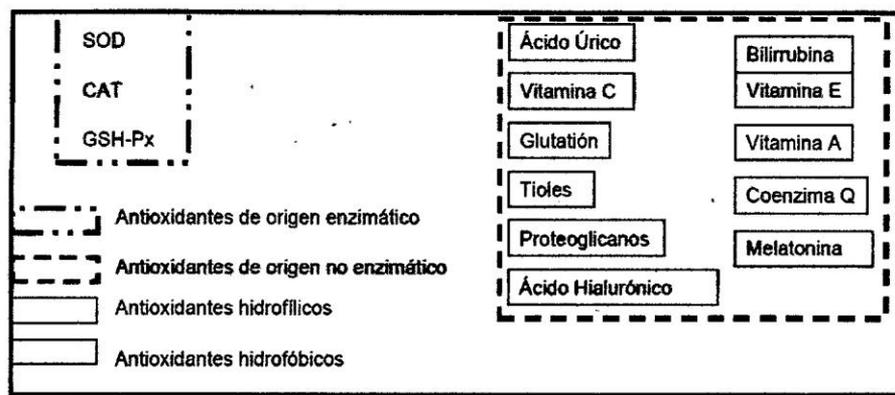
Los AO pueden ejercer su acción defensiva a través de tres mecanismos distintos.

- Previene la generación de moléculas oxidantes, principalmente a nivel de la cadena transportadora de electrones.
- Inactivando o transformando a las especies reactivas en moléculas menos reactivas, capaces de reaccionar con otros AO generándose moléculas químicamente estables (es el más importante cuantitativamente).

- Limitando el efecto nocivo de las moléculas oxidantes, ya que pueden romper o reparar proteínas oxidadas, inactivar lípidos o material nuclear alterado y disminuyendo la propagación del daño.<sup>27</sup>

### 2.2.3.1. Clasificación de antioxidantes

Las sustancias antioxidantes se han clasificado de acuerdo a su naturaleza química en sistema enzimático y no enzimático; las cuales pueden actuar tanto en el espacio intracelular como en el extracelular.



**Figura 3.** Distintos criterios de clasificación.<sup>27</sup>

- **Sistema enzimático.** Son un complejo enzimático de defensa que puede incluir a la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GSH-Px o GPx). La SOD permite la disminución del ion superóxido en peróxido de hidrogeno y cuya acumulación se evita por el sistema CAT/GPx (en presencia del glutatión reducido (GSH)), transformándolo en oxígeno molecular, agua y glutatión oxidado (GSSH). La DT-diaforasa, cataliza la reducción de la ubiquinona (coenzima Q) en su forma reducida ubiquinol, el cual impide que los EROs desencadenen la lipoperoxidación de membrana y además participa en el reciclaje de la vitamina E. además participa en la reducción de drogas con estructura quinónica.<sup>31</sup>



zinc, manganeso y magnesio forman parte de la estructura molecular de algunas de las enzimas antioxidantes.<sup>27, 29</sup>

#### **2.2.4 Antioxidantes naturales**

Numerosos estudios en nutrición humana, demuestran una estrecha correlación entre el consumo de frutas y verduras y la menor incidencia de enfermedades crónicas degenerativas, debido a su bajo contenido en colesterol y a la presencia de vitaminas, fibras, antioxidantes naturales y minerales.<sup>12</sup> Además demuestran que los efectos beneficiosos se deben fundamentalmente por las propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas que presentan los polifenoles, ya que presentan efectos favorables en enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas, en la prevención y tratamiento de distintos tipos de cáncer y, en general, en todas aquellas enfermedades donde el estrés oxidativo tuviera un papel importante.<sup>32</sup>

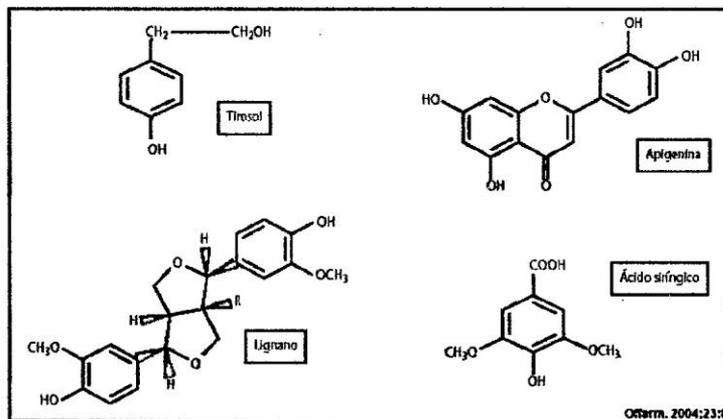
Diversos estudios ponen de manifiesto que los polifenoles presentan mayor poder antioxidante combinados que de forma aislada. Esta afirmación justifica el estudio de la actividad antioxidante de los extractos del tubérculo *Solanum* spp. "papa nativa".<sup>31</sup>

##### **2.2.4.1. Compuestos fenólicos**

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

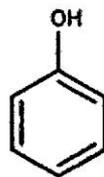
Son uno de los principales metabolitos secundarios de las plantas y su presencia en el reino animal se debe a la ingestión de éstas. La síntesis de estos compuestos son regulados genéticamente, tanto a nivel cualitativo como cuantitativo, aunque a este nivel también existen factores ambientales. Además,

actúan como fitoalexinas (las plantas heridas secretan fenoles para defenderse de posibles ataques fúngicos o bacterianos) y contribuyen a la pigmentación de muchas partes de las plantas (por ejemplo, los antocianos son los responsables del color rojo, naranja, azul, púrpura o violeta que encontramos en las pieles de las frutas y hortalizas). Por otro lado, cuando los fenoles son oxidados, dan lugar a las quinonas que dan un color pardo que muchas veces es indeseable.<sup>33</sup>



**Figura 5.** Ejemplos de estructuras de compuestos fenólicos.<sup>33</sup>

**Estructura:** Comprende aproximadamente 8000 compuestos y todos ellos poseen una estructura en común: un anillo fenol- un anillo aromático que lleva al menos un sustituyente hidroxilo.<sup>33</sup>



**Figura 6.** Estructura del fenol.<sup>33</sup>

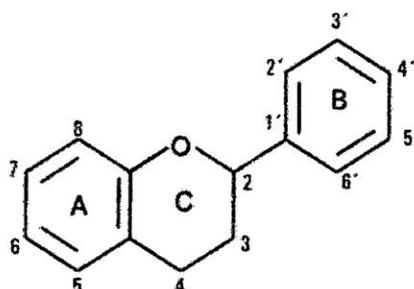
**Clasificación:** Según su estructura, los polifenoles se pueden clasificar en dos grandes grupos:

- Flavonoides como: flavononas, flavonas, isoflavonas, flavonoles, flavan-3-oles, pro antocianidinas y antocianos.

- No flavonoides como: fenoles no carboxílicos ( $C_6$ ,  $C_6-C_1$ ,  $C_6-C_3$ ), ácidos fenoles (derivados del ácido benzoico  $C_6-C_1$ ) y derivados del ácido cinámico ( $C_6-C_3$ ).

#### 2.2.4.2. Flavonoides

Su estructura básica (flaván) consta de dos grupos fenilo (A y B) unidos por un puente de tres carbonos que forma un anillo heterocíclico oxigenado (anillo C). Los átomos de carbono presentes en los anillos C y A se numeran del 2 al 8 y los del anillo B desde el 2' al 6'. Esta estructura básica permite una multitud de patrones de sustitución y variaciones en el anillo C.

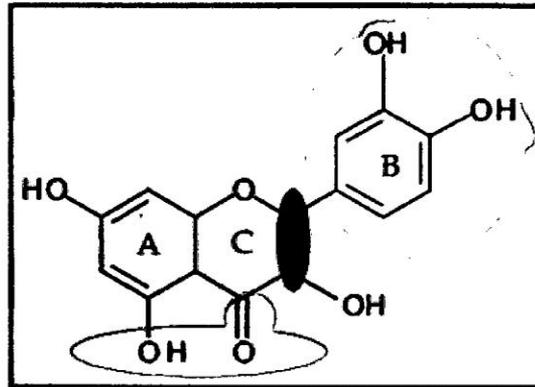


**Figura 7.** Estructura básica de los flavonoides.<sup>33</sup>

Las diferencias entre los diversos grupos de flavonoides se establecen por el grado de aromaticidad (dobles enlaces conjugados), el patrón de hidroxilación (orden y número), el tipo de sustituciones (glicosilación, metilación, sulfatación, etc.) y el grado de polimerización de sus estructuras.

Los flavonoides presentan mayor o menor capacidad antioxidante en función del número y posición de sus grupos hidroxilo unidos a las estructuras de anillo. Los compuestos de naturaleza flavonoide presentan una serie de características estructurales que permiten valorar, a priori, su posible función antioxidante: i) presencia de un grupo catecol (3', 4'-dihidroxi) en el anillo B (amarillo); ii) presencia de un doble enlace insaturado entre  $C_2$  y  $C_3$  en el anillo C (rojo) y; iii) presencia de un grupo hidroxilo en  $C_3$  en el anillo C. También es importante la

presencia de la función 4 – oxo (verde) en el anillo C, capaces de unir iones de metales de transición como el hierro o el cobre. Como ejemplo de compuesto flavonoide que reúne todas estas propiedades químicas descritas tenemos el flavonol quercetina.<sup>32</sup>

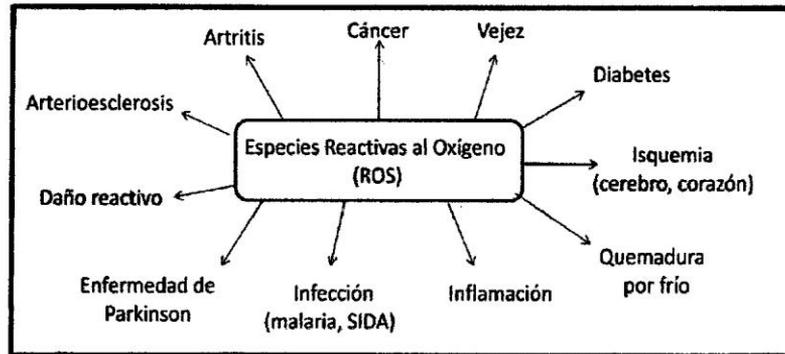


**Figura 8.** Estructura de la quercetina resaltando los grupos implicados en su actividad antioxidante.<sup>32</sup>

A través de numerosas investigaciones se ha evaluado la actividad antioxidante de los flavonoides frente a los RL generados durante la peroxidación lipídica, ya sea enzimática o no enzimática. Existen estudios basados en la medición de la producción de malondialdehído (MDA) a través del ensayo de sustancias reactivas con el ácido tiobarbitúrico (TBARS), casi todos los resultados coinciden en los flavonoides cosustituyentes dihidroxilicos en posiciones 3' y 4' en el anillo B son más activos y éste en efecto es potenciado por la presencia de un doble enlace entre los carbonos 2 y 3, un grupo OH libre en la posición 3 y un grupo carbonilo en la posición 4; como sucede con la quercetina. Al mismo tiempo se evidencia que las agliconas de los flavonoides se muestran más potentes en sus acciones antilipoperoxidación que sus correspondientes glicósidos.<sup>29</sup>

### 2.2.5 Estrés oxidativo

Se define como el estado en el cual el nivel de ERO sobrepasa las defensas AO del organismo, como resultado de un desequilibrio entre los sistemas de formación y eliminación de especies reactivas del oxígeno, son implicados en la etiología de diferentes enfermedades degenerativas.<sup>29</sup>



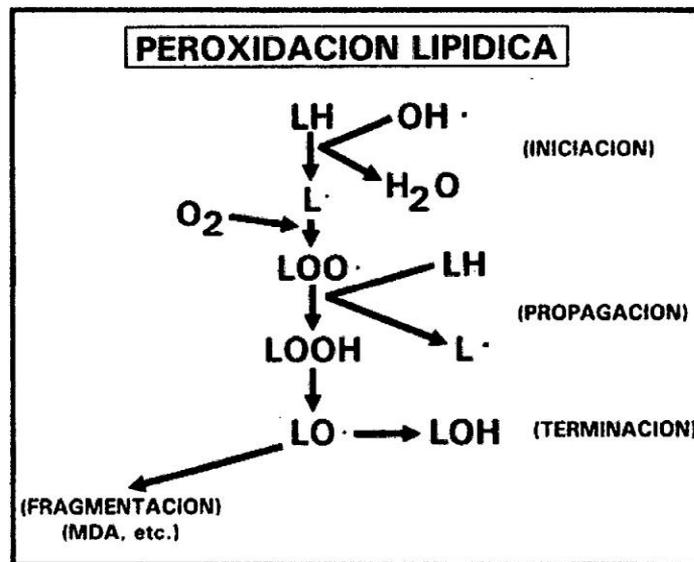
**Figura 9.** Enfermedades y daños causados por las ERO.<sup>29</sup>

Una vez que se ha desequilibrado el sistema hacia las moléculas pro-antioxidantes, cualquier componente celular se puede afectar por el daño oxidativo, pudiéndose oxidar el ADN, los lípidos, las proteínas y los carbohidratos celulares. Ahora bien, el orden exacto en que se afectan va a depender de factores como el origen, ubicación intracelular, propiedades químicas de las macromoléculas y reactividad de las moléculas oxidantes.

La oxidación del ADN puede llevar a mutaciones y a rupturas de las hebras. La oxidación de las proteínas puede inducir a disfunciones enzimáticas, y finalmente la oxidación de los lípidos puede llevar a la lipoperoxidación de las membranas plasmáticas iniciando una cadena de reacciones que pueden comprometer la integridad celular. Los lípidos son las macromoléculas más lábiles y se afectarían con mayor frecuencia.<sup>27</sup>

### 2.2.5.1. Peroxidación lipídica

El proceso de peroxidación lipídica (LP) ocurre en tres etapas bien definidas: iniciación, propagación y terminación. Una vez iniciada el proceso de reacción toma forma de "cascada".<sup>34</sup>



**Figura 10.** Esquema resumen de las reacciones principales de la peroxidación lipídica.<sup>34</sup>

El daño oxidativo de los lípidos se inicia cuando un RL de  $\text{OH}^\bullet$  se une a un carbono metilénico de la cadena alquilo de un ácido graso o lípido intacto (LH), dando origen a un radical lipídico alquil ( $\text{L}^\bullet$ ), el cual en presencia de oxígeno origina el radical lipídico peroxil ( $\text{LOO}^\bullet$ ) que daña al lípido intacto de la membrana celular, desorganizándolo, destruyéndolo y originando más  $\text{L}^\bullet$ . Los hidroperóxidos lipídicos (LOOH) formados previamente origina al radical lipídico alcoxil ( $\text{LO}^\bullet$ ) que se puede reducir a hidróxido lipídico (LOH) estable y/o generar fragmentos de malondialdehído (MDA) y el 4-hidroxinonanal (4-HNE) con carácter tóxico que daña de forma indirecta la funcionalidad de las membranas celulares, pues al degradarse originan nuevos RL.<sup>27</sup>

### **Factores que promueven la peroxidación lipídica**

Los factores que influyen en la magnitud de la lipoperoxidación son: La naturaleza cualitativa y cuantitativa del agente inicializador, los contenidos de la membranas en ácidos grasos poliinsaturados y su accesibilidad, la tensión de oxígeno, la presencia de hierro, el contenido celular de antioxidantes (betacarotenos, alfatocoferoles, glutatión) y la activación de enzimas que pueden hacer terminar la cadena de reacción como es el caso de la glutatión peroxidasa (GSH-Prx).<sup>35</sup>

El hierro es un estimulador de la peroxidación lipídica, pudiendo participar en las reacciones de iniciación o propagación. De acuerdo con esto, la desferroxiamina es un potente inhibidor de la peroxidación lipídica estimulada por hierro. La peroxidación inducida por hierro se estimula mediante bajas concentraciones de un reductor como el ascorbato (peroxidación no enzimática), o tiene lugar en la participación de NADPH como reductor y de cadenas de transporte electrónico como la microsomal (peroxidación enzimática).<sup>34</sup>

#### **2.2.6 Determinación de la capacidad antioxidante *in vitro*.**

El creciente interés por los posibles efectos beneficiosos de los antioxidantes ha hecho que se desarrollen una gran cantidad de métodos para determinar la capacidad antioxidante de extractos de alimentos.

Sin embargo, en la práctica se realizan muchos modelos de prueba *in vitro* (tabla 5) para evaluar la actividad antioxidante de la muestra de interés.<sup>36</sup>

Esto se debe a que los antioxidantes pueden ejercer su acción mediante mecanismos muy diversos (pueden suprimir la generación de los primeros radicales que inician el daño oxidativo, capturar radicales libres, quelar metales, formar complejos, reducir algunos compuestos, inducir la actividad de sistemas biológicos antioxidantes y en un mismo alimento puede haber mezclas de

diferentes antioxidantes con distintos mecanismos de acción y entre los que, además, se pueden establecer reacciones sinérgicas, por lo que serán necesarios distintos análisis para poder considerarlas posibles mecanismos de acción de todos los antioxidantes presentes en un alimento.<sup>4</sup>

**Tabla 5.** Clasificación de los modelos de ensayo *in vitro* según su modo de reacción SET o HAT.<sup>36</sup>

ENSAYO	CATEGORIA
Acido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulforico (ABTS <sup>••</sup> )	Ensayos basados en la transferencia de electrones (SET)
1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH <sup>•</sup> )	
Poder de reducción antioxidante de hierro (FRAP)	
N,N-dimetil-p-fenilendiamina (DMPD)	
Capacidad de reducción antioxidante del cobre (CUPRAC)	Ensayos basados en la transferencia de átomos de hidrogeno (HAT)
Capacidad de absorción del radical oxígeno (ORAC)	
Parámetro antioxidante de captura de radicales (TRAP)	
Inhibición de la oxidación de lípidos de baja densidad (LDL)	
Inhibición de la oxidación del ácido linoleico	

Fuente: Tobar del Rio, 2013.

### 2.2.6.1. Reacciones SET (Single Electron Transfer) y reacciones HAT (Hidrogen Atom Transfer)

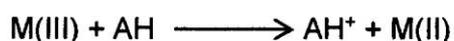
Existen una gran cantidad de mecanismos por los que los antioxidantes alimentarios ejercen su acción, entre aquellos compuestos que reaccionan directamente con los radicales libres pueden ser los polifenoles, que detienen el proceso en cadena de oxidación lipídica, esta reacción se puede llevar a cabo por dos posibles vías: reacciones de transferencia de un átomo de hidrogeno (HAT) o de transferencia de un electrón (SET), aspectos que se deben tener en cuenta al seleccionar varios métodos de medida de capacidad antioxidante.

En las reacciones HAT, la reacción sería de este tipo, siendo X<sup>•</sup> el radical libre y AH el antioxidante:



El nuevo radical formado es mucho más estable que el inicial.

Por el contrario, en las reacciones SET el antioxidante transfiere un electrón para reducir un compuesto, incluyendo metales, carbonilos y radicales, y serían reacciones de este tipo, siendo de nuevo X• el radical libre y AH el antioxidante:



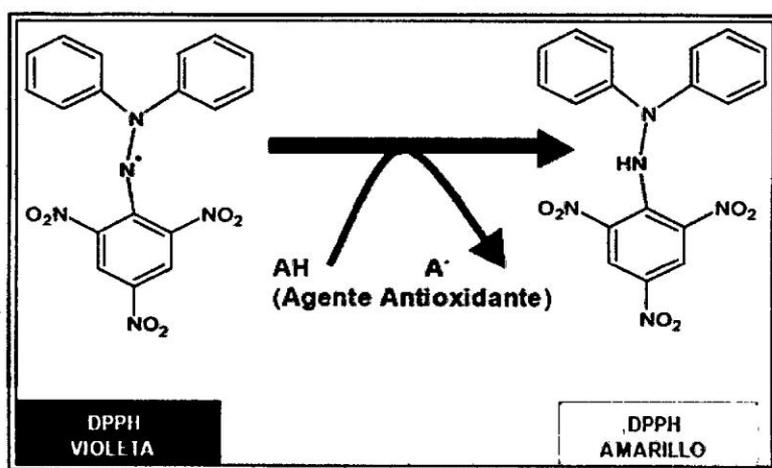
En principio, estas reacciones dependen mucho más del disolvente que las HAT. Sin embargo, se ha visto que el disolvente puede ejercer una influencia clara en el ORAC y la prueba de ABTS<sup>•+</sup>, a pesar de ser métodos HAT, estas reacciones son también dependientes del pH. Son métodos muy sensibles al ácido ascórbico y al ácido úrico, que juegan un papel importante en el mantenimiento del estatus redox del plasma. Algunos elementos traza y contaminantes (sobre todo metales) pueden interferir con estos métodos, resultando en una alta variabilidad y una baja reproducibilidad y consistencia de los resultados. Las reacciones HAT vienen determinadas por la entalpía de disociación, de manera que un compuesto que la tuviera baja facilitaría la abstracción del átomo de H. Así mismo, se ha observado que ciertos aspectos estructurales, como la presencia de un grupo hidroxilo en posición orto o la posible formación de enlaces intermoleculares entre distintos sustituyentes, pueden contribuir a reducir la entalpía de disociación, facilitando la formación de un radical estable.<sup>4</sup>

#### **2.2.6.2. Ensayo del DPPH• (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)**

El DPPH• es una sustancia de fórmula molecular C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> con peso molecular de 394,32 g/mol. El mecanismo de reacción de este método no está aun totalmente claro. Se pensaba que era un mecanismo simultáneamente SET y HAT. Sin embargo, un trabajo ha sugerido que el mecanismo fundamental es SET, y que la reacción de tipo HAT tendría una escasa contribución, dado que

se produce lentamente en disolventes que son fuertes aceptadores de H, como el metanol o el etanol.<sup>4</sup>

La molécula de DPPH<sup>•</sup> es conocida como un radical libre estable debido a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula completa, por lo cual la molécula no se dimeriza, como es el caso de la mayoría de los radicales libres. La deslocalización del electrón también intensifica el color violeta intenso típico del radical en metanol a 517 nm. Cuando la solución de DPPH<sup>•</sup> reacciona con los antioxidantes (donan un átomo de electrón o hidrógeno), el color violeta se desvanece conforme transcurre el tiempo de incubación de 20 a 30 minutos (ver figura 11). El cambio de color es monitoreado espectrofotométricamente y es utilizado para la determinación de los parámetros para las propiedades antioxidantes.<sup>1,36</sup>



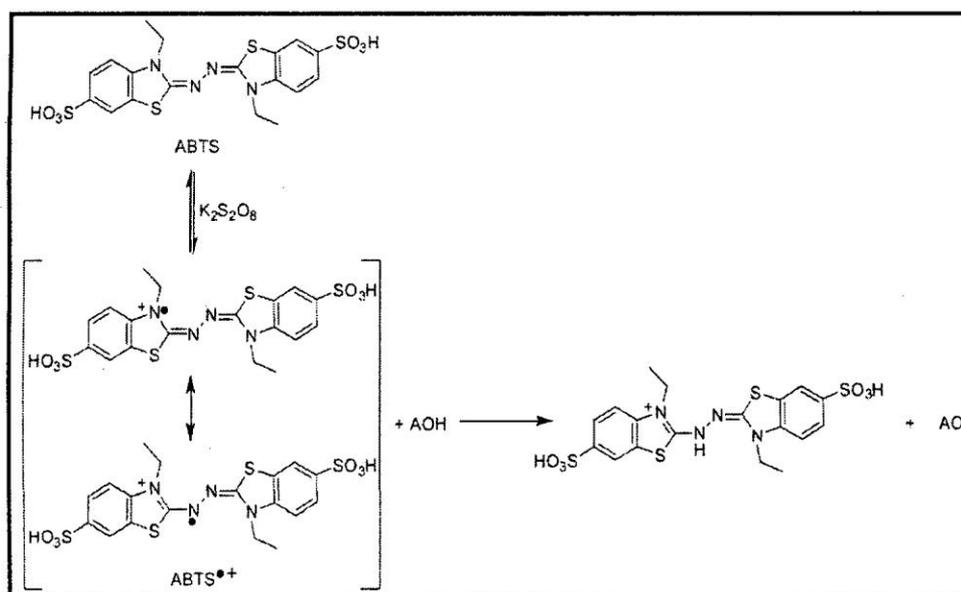
**Figura 11.** Estructura del DPPH<sup>•</sup> antes y después de la reacción con el antioxidante.<sup>1</sup>

Este método no es específico para ningún antioxidante en concreto, sino que evalúa la capacidad antioxidante global de la muestra, por lo que ha sido ampliamente utilizado para determinar la habilidad de neutralizar radicales libres de numerosos compuestos procedentes de los alimentos.<sup>4</sup>

### 2.2.6.3. Ensayo de ABTS<sup>•+</sup> (Acido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6 sulfónico).

El ABTS<sup>•+</sup> es una sustancia de formula molecular C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S<sub>4</sub> con peso molecular de 514,62 g/mol. Se trata de una reacción SET, basada en la capacidad de los antioxidantes para capturar el radical catiónico ABTS<sup>•+</sup>.

El radical catiónico ABTS<sup>•+</sup> es un cromóforo que se genera por una reacción de oxidación y cuya longitud máxima de absorción es 734 nm. La técnica mejorada para la preparación de la solución estable del cromóforo ABTS<sup>•+</sup> verde azulado, se realiza a través de la reacción entre ABTS y un agente oxidante como persulfato de potasio, K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>. Algunas bibliografías también refieren al dióxido de magnesio como un agente oxidante del ABTS. La adición de los antioxidantes al radical pre formado (ABTS<sup>•+</sup>) lo reduce a ABTS. De esta manera el grado de decoloración como porcentaje de inhibición del radical catión ABTS<sup>•+</sup> está determinado en función de la concentración y el tiempo; así como del valor correspondiente usando el Trolox como estándar, bajo las mismas condiciones.<sup>31, 37</sup>



**Figura 12.** La Oxidación del ABTS por el persulfato de potasio genera el radical catión ABTS<sup>•+</sup>, luego la reacción con un compuesto antioxidante.<sup>37</sup>

#### **2.2.6.4. Coeficiente de inhibición al 50%.**

El coeficiente de Inhibición al 50% (IC<sub>50</sub>) mide la efectividad de un compuesto para inhibir una actividad biológica y/o bioquímica (Joshi *et al.* 2010), esto es, la concentración de los extractos vegetales activos necesarios para disminuir en un 50% la concentración inicial del radical DPPH\*. Así un valor de IC<sub>50</sub> bajo, está directamente asociado con una actividad antioxidante alta (Zhu *et al.* 2011)<sup>36</sup> debido a que se necesita menor cantidad de extracto para evitar la oxidación.

#### **2.2.6.5. TROLOX (6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid).**

Sustancia de fórmula molecular C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>O<sub>4</sub> con masa molecular de 250,29 g/mol. Es un análogo de la vitamina E soluble en agua y se utiliza en aplicaciones biológicas o bioquímicas para reducir el estrés oxidativo o daño. La capacidad antioxidante de trolox (TEAC) es una medida de fuerza antioxidante basado en trolox, expresado en unidades llamado trolox equivalentes (TE). Debido a las dificultades para medir componentes antioxidantes individuales de una mezcla compleja, trolox equivalencia se utiliza como referencia para la capacidad antioxidante de los alimentos, suplementos.<sup>38</sup>

Además permite realizar comparaciones con otras investigaciones del porcentaje de captación de radicales libres, puesto que los protocolos seguidos por los diferentes investigadores para la determinación de la actividad antioxidante varían las condiciones (proporciones de los reactivos, concentraciones y tiempos de medición).<sup>36</sup>

#### **2.2.6.6. Cuantificación de compuestos fenólicos.**

La determinación de fenoles totales no está directamente relacionada con la medición de actividad antioxidante, pero puede ser útil para tales estudios, en especial si se combinan con métodos para medir actividad antioxidante.<sup>31</sup>

La cuantificación e identificación de los componentes fenólicos en la dieta ha despertado un gran interés por su importancia nutricional, lo que ha hecho que cada día sean más los datos que se pueden encontrar en la bibliografía científica sobre el perfil fenólico de los alimentos. Además, la gran diversidad de compuestos fenólicos dispersos en los tejidos vegetales, así como sus diferentes estructuras químicas, han traído consigo la necesidad de desarrollar un gran número de técnicas analíticas para su identificación y cuantificación.

Dentro de las técnicas analíticas para la cuantificación y/o identificación de compuestos fenólicos se encuentran las técnicas cromatográficas como son la cromatografía de capa fina (TCL), la cromatografía de gases (CG) y la de líquidos de alta resolución (HPLC), y también se encuentran las técnicas espectrofotométricas. Los métodos espectrofotométricos no son nuevos en el campo de la química analítica y hasta hoy en día son usados frecuentemente para la determinación de polifenoles. Entre este tipo de técnicas, los métodos usados comúnmente para determinar polifenoles son: el ensayo de la vainillina y el ensayo de Folin- Ciocalteau.<sup>31</sup>

#### **Contenido de polifenoles por el reactivo de Folin-Ciocalteau (FCR).**

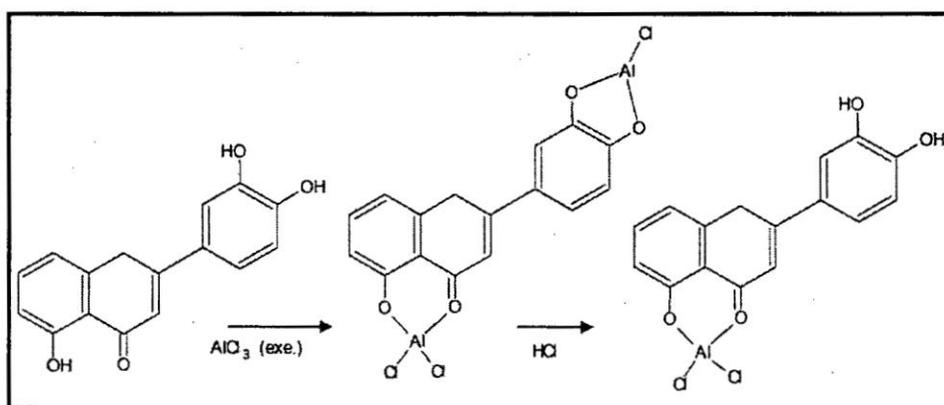
Es uno de los métodos más antiguos para determinar el contenido de fenoles totales, además es muy utilizado por su simplicidad, por la disponibilidad comercial del reactivo y por ser un procedimiento ya estandarizado<sup>31, 36</sup>. Sin embargo, este reactivo no sólo mide los fenoles totales, sino que reaccionará con cualquier sustancia reductora. En consecuencia, el reactivo mide la capacidad reductora total de una muestra, no sólo el nivel de compuestos fenólicos.<sup>36</sup>

El reactivo está constituido por una mezcla de ácido fosfotúngstico ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) y ácido fosfomolibdico ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) que se reduce, por la oxidación de los fenoles, en una mezcla de óxidos azules de tungsteno ( $W_8O_{23}$ ) y de molibdeno

( $\text{Mo}_8\text{O}_{23}$ ). La reacción ocurre en medio alcalino, donde los fenoles son ionizados completamente a su forma fenolato y pueden ser fácilmente oxidados por el reactivo Folin -Ciocalteu, observándose el cambio de coloración desde amarillo (heteropolianión molibdotungstosfórico) a un color azulado (molibdotungstosfato) a medida que los agentes oxidantes son reducidos. Este complejo azul posee una absorción máxima en torno a 765 nm, cuya intensidad es proporcional al porcentaje de compuestos fenólicos, es decir depende de la cantidad y tipo de fenoles presentes; y además del pH de las soluciones implicadas. El cambio de color es monitoreado por un espectrómetro y convertido en equivalente de ácido gálico, usando una curva estándar de este ácido.<sup>31, 36</sup>

#### 2.2.6.7. Cuantificación de los flavonoides.

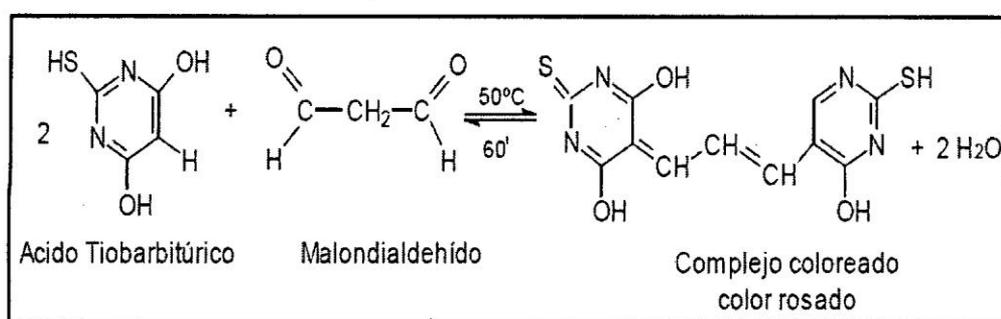
El  $\text{AlCl}_3$  anhidro forma quelatos con flavonoides orto-dihidroxisilados, 3-hidroxisilados y 5-hidroxisilados en medio básico. Estos quelatos presentan una colocación rosada indicando la presencia de flavonoides. Los valores de flavonoides totales son expresados en valores de mg del flavonoide empleando como estándar equivalente por gramo de muestra.<sup>39</sup>



**Figura 13.** Reacción de quelación del ion  $\text{Al}^{3+}$  con los flavonoides.<sup>39</sup>

### 2.2.6.8. Prueba de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS).

El malonildialdehído (MDA) es un aldehído de bajo peso molecular que se forma durante la descomposición de endoperóxidos en las últimas etapas de la lipoperoxidación (LP). La metodología del TBARS consiste en la reacción entre el MDA y el ácido tiobarbitúrico (TBA). En medio ácido y a alta temperatura dos moléculas de TBA reaccionan con una molécula de MDA, formando un complejo coloreado en una relación de 1:2 MDA: TBA, que puede ser medido fluorimétrica o colorimétricamente a 532nm.<sup>27</sup>

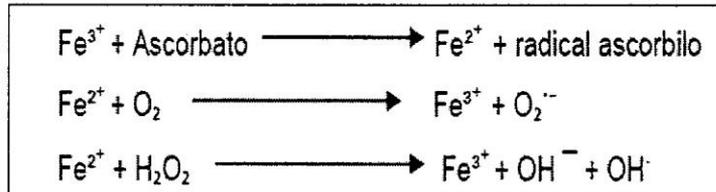


**Figura 14.** Reacción de condensación del ácido tiobarbitúrico y el malondialdehído.<sup>27</sup>

El hierro es un estimulador de la peroxidación lipídica, pudiendo participar en las reacciones de iniciación o propagación. De acuerdo con esto, la desferroxiamina es un potente inhibidor de la peroxidación lipídica estimulada por hierro. La peroxidación lipídica inducida por hierro es estimulada mediante bajas concentraciones de un reductor como ascorbato (peroxidación no enzimática), o tiene lugar con la participación de NADPH como reductor y de cadenas de transporte electrónico como la microsomal (peroxidación enzimática). La peroxidación lipídica puede también ser estimulada por el oxígeno singlete, el ozono, o radicales halógenos.<sup>34</sup>

Se realizaron ensayos de LP utilizando el sistema Fe<sup>+3</sup>/ascorbato como agente generador de estrés oxidativo. En la figura 15 se muestra que esta reacción se basa en la capacidad del Fe<sup>+2</sup> para reaccionar con radicales libres de baja

citotoxicidad, como el  $\text{H}_2\text{O}_2$ , convirtiéndolo en otros radicales más reactivos, como el  $\text{OH}^\bullet$ , capaz de generar daño celular. El ascorbato participa como agente reductor del  $\text{Fe}^{+3}$  permitiendo que la reacción de Fenton se comporte como autocatalítica, aumentando así, el daño a las moléculas biológicas.<sup>27</sup>



**Figura 15.** Reacción de Haber-Weiss/Fenton.<sup>27</sup>

### **III. MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **3.1. Ubicación**

El presente trabajo de investigación se ejecutó en el Laboratorio María Villavicencio del Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, durante los meses de octubre del 2014 a julio del 2015.

#### **3.2. Diseño metodológico**

##### **3.2.1. Población**

*Solanum* spp. “papa nativa” del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Ayacucho.

##### **3.2.2. Muestra**

Tres morfotipos de *Solanum* spp “papa nativa” del Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA) – Ayacucho, de códigos 380,34; 304183, 600 y 303912, 602 tomados por conveniencia en número de cinco unidades por cada morfotipo.

##### **3.2.3. Unidad experimental.**

Homogenizado de hígado de rata de raza Holtzman en edad adulta de peso entre 200 y 419 g, donados por el bioterio de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.

### **3.3. Diseño experimental.**

Para alcanzar los objetivos propuestos, se utilizaron diversos ensayos que incluyen su propio procedimiento, el cual se indica en cada ensayo (anexo1).

#### **3.3.1. Selección y traslado de la muestra.**

Las muestras de *Solanum* spp. "papa nativa", fueron donados por el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) de Ayacucho. Dichos tubérculos pertenecían a la cosecha de junio – 2014, los cuales eran almacenados como semilla para el próximo sembrío en condiciones controladas por la institución. El traslado de las muestras a la ciudad de Lima fue por vía terrestre en el mes de diciembre, dentro de una bolsa de papel con sus respectivos códigos. Fueron trasladados al laboratorio, e inmediatamente se preservó en refrigeración a 5C° hasta su uso después de una semana.

#### **3.3.2. Desección y molienda de la muestra.**

Cada tubérculo fue lavado con suficiente agua potable, enjuagado con agua bidestilada, se secó la superficie con papel toalla e inmediatamente se eliminó los brotes. Luego por cada morfotipo se tomó tres tubérculos, los cuales fueron pesados (en promedio 20 g por variedad), cortados en rodajas finas y depositados en placas petri. Finalmente fueron expuestas a calor en la estufa a 37 C° por aproximadamente cuatro días hasta peso constante.

Los pequeños trozos del tubérculo seco fueron sometidos a molienda, en un mortero pírex, con el fin de obtener partículas homogéneas (diámetro del tamiz 250 µm). Finalmente se almacenó en frascos de polietileno, herméticamente sellados a temperatura aproximada de 5 C° hasta su empleo.

#### **3.3.3. Obtención de sólidos solubles (ss).**

##### **3.3.3.1. Extracto acuoso al 20%.**

Se pesó cinco gramos de pulverizado de papa, por cada morfotipo, para un volumen de 25 mL de agua bidestilada, el cual fue sometido a agitación

constante por aproximadamente 24 horas en baño maría con agitación a 37 C°, fue centrifugado a 7000 rpm por 20 minutos, se filtró el sobrenadante con papel whatman y se obtuvo el extracto líquido por cada morfotipo.

#### **3.3.3.2. Sólidos solubles (ss).**

El extracto obtenido se vertió en placas petri, fue llevado a estufa a temperatura de 37 C° por aproximadamente 24 horas para su evaporación. Finalmente se procedió con el raspado del extracto seco obtenido, el cual fue almacenado en frascos de vidrio de color ámbar, herméticamente cerrado y conservado en refrigeración hasta su análisis.

#### **3.3.4. Determinación de las propiedades físicas.**

##### **3.3.4.1. Densidad aparente.**

Para determinar la densidad aparente de cada morfotipo se procedió a pesar un mililitro del extracto acuoso al 20% por triplicado.

Los valores fueron determinados por la siguiente fórmula:

$$Densidad_{aparente} = \frac{Peso (g)}{Volumen (mL)}$$

##### **3.3.4.2. Sólidos solubles**

**Fundamento:** se basa en la medición de la densidad aparente, dada por la concentración de sólidos disueltos en suspensión, empleando para el efecto un equipo de refractómetro con escala de grados brix. Esta escala es un sistema de medición específica que representa el porcentaje en peso de solutos en solución de agua destilada a 293 K (20°C)<sup>40</sup>.

**Procedimiento:** Para determinar la cantidad de sólidos solubles presentes en el extracto acuoso al 20%, se procedió según el manual de manejo del refractómetro digital (marca Pocket Pal), de sensibilidad 0.01 brix con termómetro incluido.

Los datos obtenidos se expresan en grados brix a temperatura registrada para cada muestra. Dichos datos fueron corregidos según la tabla de corrección (anexo 2).

La lectura de brix corregida <sup>40</sup> representa el porcentaje en peso de solutos en solución de agua destilada a 293 K (20° C), expresada en tanto por cien (Zs).

$$Bx = Z_s 100 = \left[ \frac{g \text{ solidos solubles}}{g \text{ fraccion liquida}} \right] \times 100$$

Dónde:

Bx: brix

Zs: fracción líquida de la muestra

La composición de sólidos solubles puede ahora referirse, en términos de fracciones másicas, respecto a la composición global (fracción líquida + matriz sólida) mediante la expresión:

$$X_s = \frac{Z_s X_w}{(1 - Z_s)} = \frac{g \text{ sólido soluble}}{\text{gramos totales}}$$

Dónde:

Xs: fracción másica de sólidos solubles (g/g)

Zs: porcentaje sólidos solubles en la fase líquida

Xw: fracción másica de agua (g/g)

### 3.3.5. Ensayos químicos.

A continuación se detalla los ensayos realizados para el alcance de los objetivos específicos. Los extractos para cada muestra fueron representados como: Ext.Mf1 (308,34), Ext.Mf2 (304183, 600) y Ext.Mf3 (303912,602). Los resultados fueron expresados como el promedio de tres repeticiones independientes por morfotipo en cada ensayo.

### 3.3.5.1. Capacidad antioxidante total mediante captación del radical libre

#### DPPH<sup>•</sup> (1,1- difenil-2-picrylhidrazilo).

Para determinar la capacidad antioxidante, se procedió según el método descrito por Joyeux *et al.*<sup>41</sup> con modificaciones.

**Fundamento:** El método consiste en la reducción del radical DPPH<sup>•</sup> (que tiene un electrón desapareado) por acción de los antioxidantes de la muestra. Dicha reacción de óxido reducción se visualiza por el cambio de coloración del violeta intenso del DPPH<sup>•</sup> a una coloración amarillo pálido del DPPH-H reducido. Asimismo, dicha decoloración se monitoriza a través de la medición de absorbancias por el espectrofotómetro a una  $\lambda = 517$  nm. La diferencia de absorbancias, permite obtener el porcentaje de captación de radicales libres.<sup>36</sup>

#### Procedimiento:

**Preparación del reactivo:** La solución stock se preparó disolviendo DPPH<sup>•</sup> en etanol puro a concentración de 20mg% (0,51mM). Luego se conservó protegido de la luz y en frío hasta 15 días. Ajustar la absorbancia de la solución a  $0,6 \pm 0,02$  a 517 nm antes de cada uso.

**Preparación de la muestra:** La solución stock para cada morfotipo se obtuvo al reconstituir los sólidos solubles en agua bidestilada. Se realizaron diluciones hasta obtener las concentraciones requeridas (concentración máxima de 1,8 mg/mL, 1,2 mg/mL y 1,5 mg/mL por morfotipo).

**Tubos de reacción:** Fue realizado conforme al siguiente protocolo.

**Tabla 6.** Protocolo de DPPH<sup>•</sup>.

Tubo	DPPH <sup>•</sup> mL	H <sub>2</sub> O mL	Etanol mL	Ext.Mf/estándar mL
Blanco de DPPH <sup>•</sup>	-	0,4	0,8	-
DPPH <sup>•</sup>	0,8	0,4	-	-
Muestra	0,8	-	-	0,4
Blanco de muestra	-	-	0,8	0,4
Mezclar e incubar en oscuridad por 30 minutos a temperatura ambiente				

Luego realizar las lecturas de las absorbancias en el espectrofotómetro a  $\lambda$  de 517 nm, previa calibración del equipo con el blanco de DPPH•.

El porcentaje de inhibición del radical DPPH• se determinó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{Cap}_{\text{DPPH}\bullet} = \frac{(\text{Abs. control} - \text{Abs. muestra})}{\text{Abs. control}} \times 100$$

Dónde:

$\% \text{Cap}_{\text{DPPH}\bullet}$  = Porcentaje de captación y/o inhibición del DPPH•

Abs.control = Absorbancia del DPPH•

Abs.muestra = Absorbancia de la muestra

El índice de captación al 50% ( $\text{IC}_{50 \text{ DPPH}\bullet}$ ) se calculó gráficamente, concentración vs % de captación (anexo 3).

El antioxidante sintético de referencia fue trolox (concentración 0.15  $\mu\text{M}$ ).

Los resultados de  $\text{TEAC}_{\text{DPPH}\bullet}$  se expresan en ( $\mu\text{g}/\text{mg ss}$ ) y se determinaron con la siguiente formula.

$$\text{TEAC}_{\text{DPPH}\bullet} = \frac{\text{IC}_{50 \text{ TROLOX}}}{\text{IC}_{50 \text{ DPPH}\bullet}} = \frac{\mu\text{g trolox}}{\text{mg ss}}$$

### **3.3.5.2. Capacidad antioxidante total mediante captación del radical catiónico ABTS•• (Acido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6- sínfónico)**

Para determinar la capacidad antioxidante por este método, se procedió según el método descrito por Joyeux *et al.*<sup>41</sup> con modificaciones.

**Fundamento:** El método consiste en monitorear el grado de decoloración por espectrofotométrica a  $\lambda$  de 734 nm, para ello se debe obtener el radical ABTS••, mediante la oxidación del reactivo de ABTS con persulfato de potasio. Dicho radical presenta un intenso color verde azulado, el cual frente a un antioxidante

(molécula estabilizadora) se decolora. La diferencia de absorbancias, permite obtener el porcentaje de captación de radicales libres.<sup>36</sup>

**Procedimiento:**

**Preparación del reactivo:** La solución stock del radical catiónico de ABTS<sup>•+</sup> (2,45mM), se obtuvo mediante la disolución en agua bidestilada de 0,95g del reactivo ABTS (7mM), luego se agregó 0,0033g de persulfato de potasio (activa y oxida al ABTS), llevando a un volumen final de 5mL, se dejó estabilizando la reacción toda la noche (16 h aproximadamente) en oscuridad a temperatura ambiente. Esta solución puede conservarse hasta 15 días en estas condiciones. Ajustar la absorbancia de la solución a  $0,7 \pm 0,02$  a 734 nm antes de cada uso.

**Preparación de la muestra:** La solución stock (30mg/mL) para cada morfotipo se obtuvo al reconstituir los sólidos solubles en agua bidestilada. A partir de la solución stock se tomaron alícuotas, necesarios para obtener concentraciones máximas de 20 mg/mL, 17,5 mg/mL y 15 mg/mL por morfotipo.

**Tubos de reacción:** Los respectivos tubos de reacción se realizaron conforme al siguiente protocolo.

**Tabla 7.** Protocolo de ABTS<sup>•+</sup>

<b>Tubo</b>	<b>ABTS<sup>•+</sup> μL</b>	<b>Agua μL</b>	<b>Ext.Mf/estándar μL</b>
Blanco de ABTS <sup>•+</sup>	-	1000	-
ABTS <sup>•+</sup>	980	20	-
Muestra	980	-	20
Blanco de muestra	-	980	20

mezclar e incubar en oscuridad por siete minutos a temperatura ambiente

Las lecturas de las absorbancias en el espectrofotómetro se realizaron a  $\lambda$  de 734 nm, con previa calibración del equipo con el blanco de ABTS<sup>•+</sup>.

El porcentaje de captación de ABTS<sup>•+</sup> se calculó con la fórmula siguiente:

$$\% \text{ Cap.}_{ABTS^{•+}} = \frac{(\text{Abs. control} - \text{Abs. muestra})}{\text{Abs. control}} \times 100$$

Dónde:

%Cap.  $ABTS^{\bullet+}$  = Porcentaje de captación del radical catiónico  $ABTS^{\bullet+}$

Abs. Control = Absorbancia del  $ABTS^{\bullet+}$

Abs. Muestra = Absorbancia de la muestra luego de 7 minutos.

Se calculó el índice de captación al 50% ( $IC50_{ABTS^{\bullet+}}$ ) gráficamente, concentración vs % de captación (anexo 4).

El antioxidante sintético de referencia fue trolox (concentración 0.15  $\mu$ M).

Los resultados de  $TEAC_{ABTS^{\bullet+}}$  se expresan en ( $\mu$ g trolox/mg ss) y se determinaron con la siguiente formula.

$$TEAC_{ABTS^{\bullet+}} = \frac{IC50_{TROLOX}}{IC50_{ABTS^{\bullet+}}} = \frac{\mu g \text{ trolox}}{mg \text{ ss}}$$

### 3.3.5.3. Cuantificación de polifenoles totales.

Se realizó conforme el procedimiento de la organización internacional de estandarización (ISO) 14502-1 con modificaciones, utilizando el reactivo Folin-Ciocalteu (FCR).

**Fundamento:** Este método se basa en el cambio de coloración del FCR que está constituido por una mezcla de ácidos fosfomolibdico/fosfotúngstico, el cual es reducido a una mezcla de óxidos azules de tungsteno/molibdeno por acción de los compuestos fenólicos. De hecho, el ensayo mide la capacidad de reducción del FCR, al complejo azul que es monitoreado espectrofotométricamente a una longitud de onda de 760 nm.<sup>36</sup>

**Procedimiento:**

**Preparación del reactivo:** Se preparó los siguientes reactivos:

- El FCR se diluyó en proporción de 1:3 en agua bidestilada.
- Carbonato de sodio al 20% en agua bidestilada.

- Solución stock de Ácido Gálico (AG) de concentración 400 µg/mL en etanol. Para el protocolo de la curva estándar, se realizó una dilución 1:4 a la solución stock de AG en etanol (100 µg/mL) (Anexo 5 y 6).

**Preparación de la muestra:** La solución stock (1,5mg/mL) por morfotipo se obtuvo al pesar los sólidos solubles, luego diluirlos en agua bidestilada. No fue necesario realizar diluciones adicionales.

**Batería de reacción:** El procedimiento fue realizado conforme al siguiente protocolo.

**Tabla 8.** Protocolo del reactivo Folin-Ciocalteu (FCR).

Tubo	Blanco µL	AG* µL	Muestra µL
AG [100 µg/ml]	-	100	-
H <sub>2</sub> O <sub>bidest</sub>	100	-	-
FCR	150	150	150
Ext.Mf	-	-	100
Homogenizar y después de 5 minutos adicionar			
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	150	150	150
H <sub>2</sub> O <sub>bidest</sub>	600	600	600
Mezclar y dejar en reposo a temperatura ambiente por 30 minutos			

\*AG: ácido gálico; Ext.Mf: extracto de sólidos solubles por morfotipo.

La lectura de las absorbancias fueron realizados en el espectrofotómetro a λ de 760 nm. El contenido total de fenoles se expresan en concentración promedio de equivalentes a ácido gálico (EAG (µg/mg ss) con la siguiente formula.

$$EAG = \frac{1}{m} (A_{m,p}) (f \cdot d) = \frac{mg \text{ de AG}}{mg \text{ de ss}}$$

Dónde:

EAG = equivalentes de ácido gálico

1/m = pendiente (ecuación de curva de ácido gálico y=mx+b)

A<sub>m,p</sub> = absorbancia de la muestra

F.d = factor de dilución que es igual a 1/[concentración del extracto]

#### 3.3.5.4. Determinación de flavonoides.

La cuantificación de flavonoides se realizó siguiendo el procedimiento descrito por Stalikas <sup>42</sup> con modificaciones

**Fundamento:** El método se basa en la formación de un complejo quelante entre el tricloruro de aluminio ( $AlCl_3$ ) anhidro y los flavonoides en medio básico, dando una coloración rosada, el cual es medido espectrofotométricamente a  $\lambda = 432 \text{ nm}$ .<sup>39</sup>

**Procedimiento:**

**Preparación del reactivo.** Los reactivos preparados fueron:

- Tricloruro de aluminio ( $AlCl_3$ ) al 2,5 % en etanol puro.
- Solución estándar de Quercetina dihidratada (QD) de concentración 500  $\mu\text{g/mL}$  en etanol puro. Para el protocolo de la curva estándar, se realizó una dilución 1:5 a la solución stock de QD en etanol de concentración 100  $\mu\text{g/mL}$  (Anexo 7 y 8).

**Preparación de la muestra:** Se reconstituyó los sólidos solubles por cada morfotipo en agua bidestilada obteniendo una concentración de trabajo de 1.5mg/mL.

**Batería de reacción:** El procedimiento se siguió conforme al siguiente protocolo.

**Tabla 9.** Protocolo del  $AlCl_3$ .

Tubo N°	Blanco	QD	Muestra
	$\mu\text{L}$	$\mu\text{L}$	$\mu\text{L}$
QD[100ug/ml]	-	100	-
Etanol puro	900	800	800
$AlCl_3$ al 20%	100	100	100
Ext.Mf	-	-	100

Mezclar y dejar en reposo a temperatura ambiente por 30 minutos

\*QD: quercetina dihidratada; Ext.Mf: extracto soluble por cada morfotipo

Luego se llevó al espectrofotómetro y se leyó a  $\lambda = 432 \text{ nm}$ .

El contenido total de los flavonoides se expresaron en equivalentes de quercetina dihidratada (EQD) en unidades de  $\mu\text{g}$  QD/mg de extracto soluble.

$$EQD = \frac{1}{M} (A_{m.p}) (F.d) = \frac{\mu\text{g de QD}}{\text{mg de muestra}}$$

Dónde:

$1/m$  = pendiente (ecuación de curva de QD, donde  $y = mx+b$ )

$A_{m.p}$  = absorbancia de la muestra

$F.d$  = factor de dilución que es igual a  $1/[\text{concentración del extracto soluble}]$

### 3.3.6. Ensayo biológico *in vitro*: inducción de estrés oxidativo.

Se trabajó con la metodología de Cytel<sup>43</sup> con modificaciones. Todos los ensayos fueron realizados por triplicado de manera independiente

**Preparación de reactivos:** Los reactivos preparados fueron los siguientes.

- Solución de Buffer fosfato salino (BPS) de PH = 7,4.
- Solución stock de ácido ascórbico (AA), 10 mM. La solución de trabajo fue diluido con agua destilada hasta 0,02 mM.
- Sulfato ferroso ( $\text{FeSO}_4$ ), 2 mM.
- Solución de ácido tricloro acético (TCA) al 10% en agua bidestilada.
- Solución de ácido tiobarbiturico (TBA) al 0,67% en HCl 0,25% caliente.

**Preparación de la muestra:** La solución de trabajo (24 mg/mL) por morfotipo se obtuvo al pesar los sólidos solubles, luego diluirlos en agua bidestilada.

**Homogenizado de hígado (HH):** se realizó la decapitación de las ratas hotlzman para realizar la extracción del hígado, el cual se perfundió con solución KCl (0,154M) en frío. Luego fue troceado en pesos requeridos (0,42 g aproximadamente) y envueltas en papel aluminio. Se mantuvo congelado  $-20\text{ C}^\circ$  hasta su procesamiento.

Se descongeló el trozo de hígado a temperatura ambiente, fue lavado, homogenizado con un homogenizador y resuspendido en solución BPS isotónico hasta obtener una concentración del cinco por ciento. Todos los procedimientos mencionados se realizaron manteniendo las muestras en baño de hielo.

**Protocolo de inducción.** La inducción de estrés oxidativo se realizó conforme al siguiente procedimiento:

**Tabla 10.** Protocolo de lipoperoxidación (LP) inducida

<b>Grupo</b>	<b>HH μL</b>	<b>AA μL</b>	<b>FeSO<sub>4</sub> μL</b>	<b>Ext.Mf μL</b>	<b>BPS μL</b>
Control	900	-	-	-	120
LP	900	45	15	-	60
LP- Ext.Mf	900	45	15	60	-
Ext.Mf	900	-	-	60	60

\*HH: homogenizado de hígado; AA: ácido ascórbico; BPS: buffer fosfato salino; Ext. Mf: extracto soluble por morfotipo (24mg/mL);

Dejarnos reaccionar a temperatura ambiente por 30 minutos

### 3.3.6.1. Prueba de TBARS (reacción de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico).

La peroxidación lipídica fue identificada utilizando el método de TBARS, siguiendo el procedimiento descrito por Bueje y Aust<sup>44</sup> con modificaciones.

**Fundamento:** La metodología del TBARS consiste en hacer reaccionar el MDA incoloro generado en la lipoperoxidación con el ácido tiobarbitúrico (TBA) en medio ácido y a altas temperaturas, formando un complejo coloreado en una relación de 1:2 MDA: TBA, el cual es medido colorimétricamente a 532nm.<sup>27</sup>

**Procedimiento:** Luego de los 30 minutos de incubación la reacción fue detenida por precipitación al agregar TCA conforme al protocolo siguiente.

**Tabla 11.** Protocolo de TBARS

<b>Grupo</b>	<b>Control μL</b>	<b>Estrés μL</b>	<b>Tratado μL</b>	<b>BM.Mf μL</b>
HHt	300	300	300	300
TCA 10%	600	600	600	600
Someter a baño hirviendo por 15 minutos// enfriar con agua de caño				
TBA 0.67%	900	900	900	900
Volumen total	1800	1800	1800	1800

\*HHi: homogenizado de hígado con tratamiento

Luego fue sometido a baño maría hirviendo por 30 minutos, se enfrió en baño de hielo, se centrifugó a 7000 rpm por 10 minutos y se retiró el sobrenadante para realizar las lecturas de absorbancias en el espectrofotómetro a  $\lambda = 535$  nm.

La concentración de MAD, fue determinado con la siguiente fórmula. Hígado.

$$MDA = \frac{A * V_{total-MDA}}{\epsilon + b * C_{HH} * V_{HHT}} = \frac{\mu mol MDA}{g hígado}$$

Dónde:

A = absorbancia

$\epsilon$  = absortividad a 535 nm ( $11.56 * 10^5 M^{-1} cm^{-1}$ )

b = diámetro de la celda (1cm)

$C_{HH}$  = concentración del HH (5%)

$V_{HHi}$  = volumen del HH sometido a protocolo de inducción

$V_{total-MDA}$  = volumen total por tubo del protocolo TBARS.

### 3.4. Análisis estadístico.

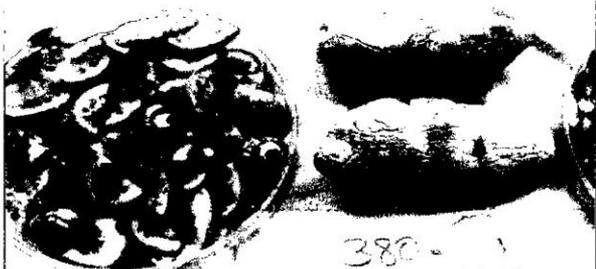
El análisis se compone de dos tipos: descriptivo y análisis inferencial expresados en figuras y tablas.

Las tablas y figuras contienen los valores de media  $\pm$  desviación estándar entre repeticiones y las diferencias significativas para datos apareados según sea el caso.

Los resultados obtenidos de los parámetros de capacidad antioxidante del TEAC<sub>DPPH</sub><sup>\*</sup>, TEAC<sub>ABTS</sub><sup>\*\*</sup>, polifenoles y flavonoides fueron sometidos a evaluación estadística de Pearson con el fin de establecer la correlación de dependencia entre ellas. Mientras que los resultados obtenidos de la lipoperoxidación inducida en el método TBARS, fueron analizados por la prueba "t" para datos apareados con el fin de determinar las diferencias significativas entre los distintos grupos de trabajo. Ambos análisis se evaluaron con un 95% de nivel de confianza ( $p < 0,05$ ). Los programas utilizados para este análisis fueron Stata 2013 y IBM SPSS versión 22, 2014.

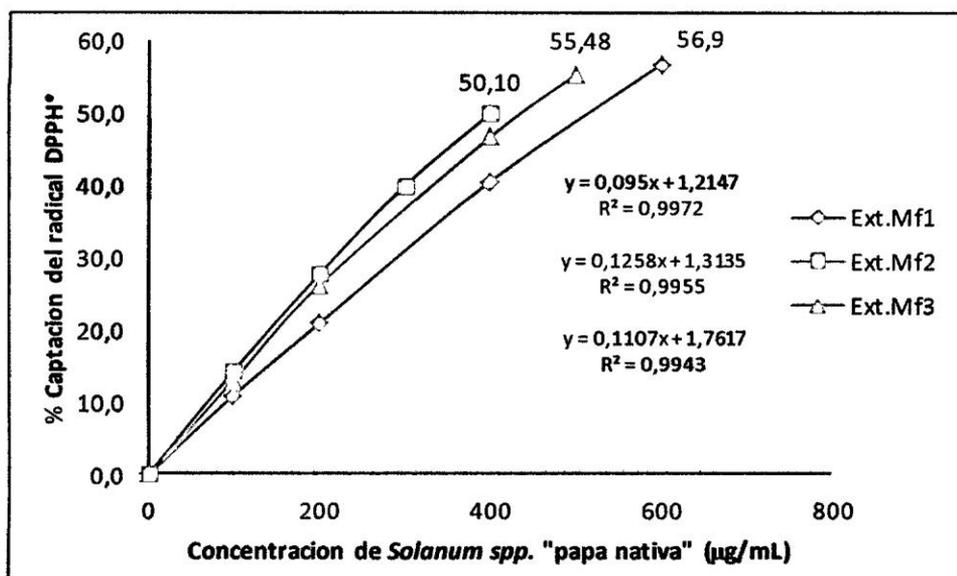
#### **IV. RESULTADOS**

**Tabla 12.** Color del tubérculo y pulpa de los tres morfotipos de papas nativas del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Ayacucho - 2015.

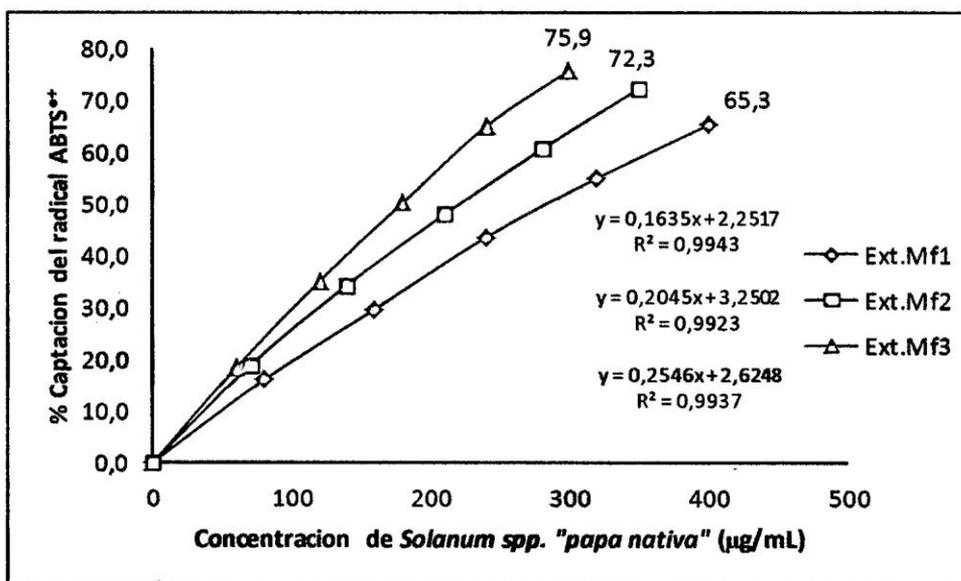
Morfotipo	Código	Imagen
Mf1	380,34	
Mf2	Mf304183,600	
Mf3	Mf303912,602	

**Tabla 13.** Propiedades físicas de tres morfotipos de papas nativas del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Ayacucho. Lima - 2015.

<b>Morfotipo Mf</b>	<b>Código N°</b>	<b>Densidad g/mL</b>	<b>Sólidos solubles mg/mL</b>
Ext.Mf1	380,34	1,008	51 ± 0,500
Ext.Mf2	304183,600	1,011	46 ± 0,473
Ext.Mf3	303912,602	1,013	60 ± 3,544



**Figura 16.** Porcentaje de captación del radical DPPH\* por el extracto acuoso en µg/mL de tres morfotipos de papas nativas del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Ayacucho. Lima – 2015.

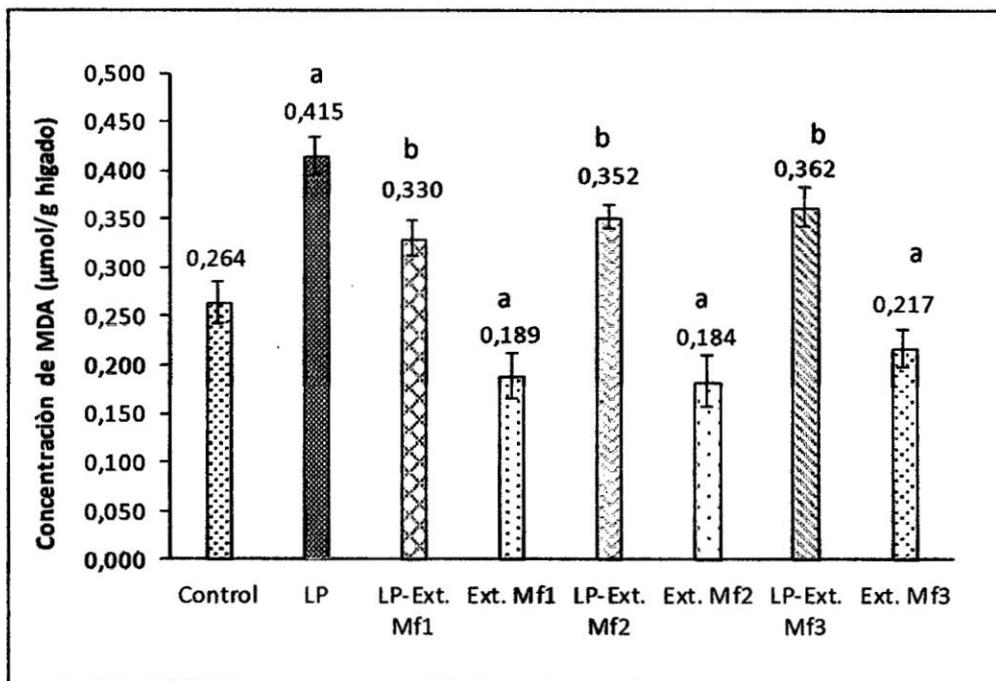


**Figura 17.** Porcentaje de captación del radical catiónico ABTS<sup>•+</sup> por el extracto acuoso en µg/mL de tres morfotipos de papas nativas del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Ayacucho. Lima – 2015.

**Tabla 14.** Parámetros antioxidantes del extracto acuoso de tres morfotipos de papas nativas del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Ayacucho. Lima 2015.

Morfotipo (Mf)	Código N°	IC <sub>50</sub> (μg ss/mL) <sup>a</sup>		(μg TEAC/mg ss) <sup>a</sup>		Polifenoles	Flavonoides	Relación (%) EAG/EQD
		DPPH*	ABTS**	DPPH*	ABTS**	(μg EAG/mg ss) <sup>a</sup>	(μg EQD/mg ss) <sup>a</sup>	
Ext.Mf1	380,34	459,2 ± 18	292,2 ± 10	2,2 ± 0,0001	9,3 ± 0,0003	11,67 ± 0,008	6,64 ± 0,017	57
Ext.Mf2	304183,600	387,6 ± 23	228,7 ± 5	2,6 ± 0,0002	11,9 ± 0,0003	22,94 ± 0,053	5,22 ± 0,005	23
Ext.Mf3	303912,602	436,1 ± 24	186,1 ± 2	2,3 ± 0,0001	14,6 ± 0,0001	16,47 ± 0,038	4,58 ± 0,006	28

\*ss: sólidos solubles; TEAC: actividad antioxidante equivalente a trolox; EAG: equivalente de ácido gálico; EQD: equivalente a quercetina dihidratada; <sup>a</sup> Datos expresados en media ± desviación estándar entre repeticiones (n = 3).



**Figura 18.** Niveles de MDA en  $\mu\text{mol/g}$  hígado de los tratamientos con y sin lipoperoxidación (LP) frente al extracto acuoso de tres morfotipos de papas nativas del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Ayacucho. Donde, a:  $p \leq 0,000001$  con respecto al grupo LP. Lima - 2015

## V. DISCUSIÓN

Las condiciones extremas de estrés a las que está expuesta la papa nativa permiten que generen metabolitos secundarios con actividad antioxidante que juegan un rol de protección para la planta. Pero además proporciona nutrientes energéticos y al mismo tiempo antioxidantes que pueden ayudar en la prevención y tratamiento de diversas enfermedades crónicas no transmisibles (principales causantes de muerte a nivel nacional y mundial), mejorando la calidad de vida del consumidor.<sup>45</sup>

Los tres morfotipos de papas nativas se caracterizaron por su peculiar forma e intensidad de color (tabla 12). Numerosos estudios en cuanto a forma y color de piel y pulpa del tubérculo de papa, reportan la relación entre la coloración y compuestos fenólicos (antocianina) que influyen en la actividad antioxidante de la papa, demostrando además que en la piel del tubérculo existen más compuestos fenólicos que otorgan mayor actividad antioxidante frente a la pulpa sin piel.<sup>3,4,36</sup>

En la tabla 13 se observa a los extractos acuosos de los tres morfotipos de papas nativas presentaron rangos de cantidad de sólidos solubles entre 46 - 60 mg/mL, cuyas densidades oscilan entre 1,008 - 1,013 g/mL. El Ext.Mf3 (303912,602) exhibió la mayor cantidad de sólidos solubles y densidad aparente.

Suarez *et al.*<sup>10</sup> en su investigación de extracto hidroalcohólico de papas nativas procedentes de Andahuaylas, mediante el método gravimétrico, reportó valores de sólidos solubles entre 20,6 - 44 mg/mL y densidad aparente entre 0,844 a 0,984 g/mL, que al ser comparados con los resultados obtenidos en éste estudio son menores. Esto podría deberse a la metodología utilizada o a la composición y calidad bioquímica de la papa que es variable, puesto que está controlada principalmente por factores genéticos, factores ambientales (localidad, clima, suelo, agua), prácticas culturales, madurez de los tubérculos, cocción y el almacenamiento.<sup>23</sup>

La evaluación de la actividad antioxidante se realizó utilizando los radicales DPPH• y ABTS•+ y los resultados se observan en la figura 16, 17 y tabla 14. Los tres morfotipos de papas nativas mostraron actividad antioxidante en los modelos químicos ensayados; indicando que todos los morfotipos presentan diferentes mecanismos de acción para erradicar a los radicales libres. Además se visualiza que la actividad antioxidante aumenta conforme incrementa la concentración del extracto (figuras 16 y 17). Este hecho coincide con Soto *et al.*<sup>3</sup> quien afirma que los porcentajes de inhibición son directamente proporcionales a las concentraciones evaluadas.

En la tabla 14 se puede observar que el Ext.Mf2 (304183,600) reveló mejor capacidad de captación de los radicales DPPH•, mientras que por el método ABTS•+ el Ext.Mf3 (303912, 602) exhibe la mejor captación de dichos radicales; esto porque ambos morfotipos muestran un bajo valor de índice de captación de radicales al 50% (IC<sub>50</sub>) y un alto valor de actividad antioxidante equivalentes al trolox (TEAC).

Estudios previos en papas en general demuestran el comportamiento y el nivel de efectividad de este trabajo.

Soto *et al.*<sup>3</sup> realizó un licuado acuoso de los tubérculos (cruda con cascara) de *Solanum tuberosum*, obtuvo un liofilizado, el cual fue reconstituido y sometido a prueba de DPPH\*, reportando rangos de IC<sub>50</sub> entre 1,7% - 48,7%. Valores muy superiores a los reportados en este trabajo (IC<sub>50</sub> entre 0,03876% - 0,04572%), demostrando que las papas nativas poseen una buena capacidad de captación de radicales libres.

Resultados opuestos fueron reportados por Tobar, J.<sup>36</sup> quién en su investigación de 30 plantas de la ecorregión de Colombia incluyó una planta perteneciente a la familia de *Solanum acerifolium*, tomó las partes aéreas, lo sometió a maceración continua y obtuvo el extracto hidroalcohólico. El resultado por el método DPPH\*, indicó un IC<sub>50</sub> de 141,3 µg/mL, siendo éste valor menor al obtenido en ésta investigación (IC<sub>50</sub> de 387,6 µg/mL), esto podría deberse a la metodología de extracción y/o parte de la planta utilizada, demostrando que la parte aérea de la familia *solanácea* contiene mayor actividad antioxidante que los tubérculos.

Arnao *et al.*<sup>46</sup> en su investigación básica, obtuvo extracto seco a partir de la infusión acuosa (2% p/v) de hojas y raíces del yacón, observó que el IC<sub>50</sub> para DPPH\* del extracto acuoso de raíz fue mayor comparado con la hoja, demostrando que las raíces tenían menor capacidad antioxidante, éste comportamiento es similar al tubérculo de papa y las partes aéreas de la misma.

En los resultados del TEAC<sub>DPPH\*</sub> se puede observar que el morfotipo más destacado es el Ext.Mf2 (304183,600) con valor de 2,6 µg TEAC/mg ss. Mientras que para el ABTS\*\* es el Ext.Mf3 (303912, 602) con 14,6 µg TEAC/mg ss.

En las mismas condiciones experimentales pero para extractos hidroalcohólicos de papas nativas Suarez *et al.*<sup>10</sup> reporta valores del TEAC<sub>DPPH</sub><sup>\*</sup> entre 1,28±0,06 – 2,34±0,14 mmol/100g ss y TEAC<sub>ABTS</sub><sup>\*\*</sup> entre 18,5±0,92 – 35,6±1,78 mmol/100g ss; que al compararlo con los obtenidos en ésta investigación (TEAC<sub>DPPH</sub><sup>\*</sup> en rango de 0,879 – 1,039 mmol/100g ss y TEAC<sub>ABTS</sub><sup>\*\*</sup> entre 3,716 – 5,833 mmol/100g ss) evidentemente es bajo debido al tipo de extracción (acuosa) con que se trabajó.

García A.<sup>4</sup> al analizar el extracto hidroalcohólico de clones de papa criolla cocida (*Solanum phureja*) liofilizada, reporta valores de equivalentes a trolox (ET) para el método de DPPH<sup>\*</sup> entre los rangos 21,14 - 198,17 µg ET/g BS y para el método de ABTS<sup>\*\*</sup> 70,54 - 101,58 µg ET/g BS respectivamente. Siendo dichos valores casi 100 veces más bajos comparados con los reportados por esta investigación (TEAC<sub>DPPH</sub><sup>\*</sup> 2200 – 2600 µg ET/g BS y TEAC<sub>ABTS</sub><sup>\*\*</sup> 9300 – 14600 µg ET/g BS). Muchas investigaciones reportan que las papas cocidas respecto a las crudas presentan baja capacidad antioxidante, debido al proceso de cocción que experimentan<sup>3,4</sup>, esto sumado a las características propias de la papa criolla.

En Bolivia en el 2011, Peñarrieta<sup>4</sup> trabajó con muestras de chuño por el método de ABTS<sup>\*\*</sup> y reportó valores entre 0,4 – 2,27 µmol ET/g, que al compararlo con los obtenidos en esta investigación (37, 16 – 58,53 µmol/g ss), son aproximadamente 30 veces más que dichos valores. Esto probablemente por tratarse de muestras secas de papa y otros factores como técnica de extracción, variedad, etc.

Sin embargo los resultados reportados por Xu<sup>9</sup> en 2009, realizada en diversos genotipos del extracto hidroalcohólico de cascara de papa, a través del método ABTS<sup>\*\*</sup> entre 6800-11000 µmol ET/g, siendo valores muy altos a los obtenidos

en esta investigación (37,16 – 58,33  $\mu\text{mol ET/g ss}$ ). Los motivos se deben al medio de extracción y a la muestra de cascara de papa solamente, ya que diversas investigaciones demuestran que la cáscara de papa es notablemente superior en actividad antioxidante en comparación al tubérculo con pulpa.<sup>3, 4</sup>

Es importante mencionar que en este trabajo se reporta la actividad antioxidante de la papa completa, por tanto los valores van a ser menores en relación a la actividad de la cáscara sola.

En base a las investigaciones antes mencionadas se puede afirmar que el potencial de captación de los radicales libres del extracto acuoso de *Solanum* spp. "papa nativa" son promisorias.

En la cuantificación de polifenoles el Ext.Mf2 (304183,600) presentó mayor concentración de fenoles totales de entre los valores 11,67 – 22,47  $\mu\text{g EAG/mg ss}$  (tabla 14).

Suarez *et al.*<sup>10</sup> observó valores de polifenoles entre 23,99 – 49,52 mg EQD/g ss de papas nativas. Siendo dichos valores mayores a los obtenidos en este estudio, debido al medio de extracción.

Otras investigaciones como la de García A.<sup>4</sup> reporta valores que varían entre 237,64 - 340,031 mg EAG/100g de B.S. Resultados similares reporta Ramos *et al.*<sup>12</sup> en extractos de metanol al 50% del pulverizado de "sachapapa morada", 166,10 $\pm$ 1,52 mg EAG/100g. Al compararlos con el presente trabajo (1167 – 2294 mg EAG/100 g ss), dichos valores son muy inferiores debido a que la muestra es cocida (para el primero caso) o por la metodología de extracción utilizada (para el segundo caso), sin embargo no se descarta la influencia de las propiedades químicas de cada muestra.

Kähkönen *et al.*<sup>12</sup> reporta el contenido de polifenoles en otros alimentos como cebolla roja un valor de 300 mg GAE/100 g de muestra seca, zanahoria 60 mg/100 g, avena 30 mg/ 100 g, centeno 130 mg/ 100 g, cebada 40 mg/100 g y tomate 200 mg/100 g. Doroteo *et al.* (47) reporta valores de maíz morado  $33,2 \pm 3,40$  mg ácido gálico/ g extracto hidroalcohólico, uña de gato  $17,3 \pm 0,01$ mg/ g, yacón  $12,8 \pm 0,02$  mg/ g y maca  $9,3 \pm 0,01$  mg/ g. Al comparar dichos valores con los de la presente investigación (11,67 – 22,94 mg EAG/ g ss), se observa que solo es superado por el maíz morado, aunque podría influir bastante la metodología de extracción.

Además Navarré<sup>4</sup> en el 2011, realizó la investigación del contenido de fenoles totales en 14 alimentos e incluyó a la papa y reportó valores entre 200 - 110 mg EAG/100g, concluyendo que la papa reportaba mayores concentraciones de polifenoles en comparación a los otros vegetales como pepino, repollo blanco, alberga, zanahoria, lechuga, tomate, col de brúcela, brócoli, frijoles frescos, espinaca y ajo (tabla 1). Así mismo Al-Saikhan *et al.*<sup>13</sup> (1995), consideró que la papa presentaba mayor actividad antioxidante que el pimiento, zanahoria y cebolla, pero menor al brócoli. Chun *et al.*<sup>4</sup> (2005), Concluyó que las papas son la tercera fuente más importante de fenoles totales después de las manzanas y naranjas

En comparación a los trabajos antes mencionados, la papa nativa de este estudio reportó valores muy superiores (1167-2294 mg EAG/100g), por lo que se podría deducir que las papas nativas presentan valores de polifenoles promisorios frente a algunos vegetales y frutas e incluso a la papa misma de algunas investigadores antes mencionadas, pero no mayor al maíz morado.

La tabla 14 muestra los valores de la cuantificación de los flavonoides, donde el Ext.Mf1 (380,34) exhibe la mayor cantidad de flavonoides de entre los valores 4,58 – 6,64 µg EQD/mg ss.

Los valores obtenidos en este trabajo son comparables a los reportados por Arnao *et al.*<sup>46</sup> en extracto de hojas de yacón, cuyo valor es 4,67 mg EQD/g muestra seca. Mientras Ramos *et al.*<sup>12</sup> en muestras de "shachapapa" morada reportó valores de 27, 63 ± 2, 69 mg EQD/100g de muestra seca, el cual en comparación a este trabajo es muy bajo (458 – 664 mg QD/100 ss).

Sin embargo en el mismo estudio de Doroteo *et al.*<sup>47</sup> los valores de flavonoides para maíz morado fue 48,40 ± 0,03 mg quercetina/ g extracto etanólico, uña de gato 79,39 ± 0,04 mg/ g, yacón 27,21 ± 0,00 mg/ g y maca 14,66 ± 0,00 mg/ g. en comparación al presente trabajo (4,58 – 6,64 mg EQD/ g ss), dichos valores son superiores, donde el método de extracción podría ser una de las razones.

Muchos reportes han mostrado una cercana relación entre el contenido de fenoles y la actividad antioxidante de las plantas. Sin embargo, no se puede considerar que la actividad antioxidante se deba solo a la presencia de compuestos fenólicos, puesto que en su composición química pueden existir otros metabolitos secundarios que debido a su estructura contribuyan a su eficacia antioxidante.<sup>4,10</sup>

El contenido de compuestos de carácter antioxidante de la papa presenta compuestos fenólicos (en su mayoría ácido fenólicos), flavonoides (catequina y epicatequina), antocianinas, carotenoides (principalmente xantófilas como luteína, zexantina y violaxantina) vitamina C y micronutrientes minerales como Fe, Cu, Zn y Se.<sup>8, 10, 48</sup>

En el análisis de correlación entre TEAC<sub>ABTS</sub>\*\* y flavonoides se observa una correlación fuerte pero inversa, es decir, a medida que aumenta una variable, la otra disminuye. Si se compara los resultados con los obtenidos en la literatura, se puede ver que estos no concuerdan, ya que se han encontrado correlaciones positivas.<sup>10</sup> Sin embargo, se puede deducir que este resultado no es erróneo, ya que la correlación de TEAC<sub>DPPH</sub>\* y flavonoides sigue la misma tendencia de una correlación negativa. La literatura también reporta correlación negativa entre capacidad antioxidante total y antocianinas monoméricas, donde además el aumento de los compuestos antioxidantes tiene relación directa con el proceso de maceración.<sup>45</sup> Las papas nativas tienen antocianinas<sup>11</sup> y es probable que por la misma razón se tenga esta correlación inversa. Las antocianinas son parte de los flavonoides, es probable que las papas nativas tengan como componente principal a las antocianinas por lo que los resultados se reflejan en esta correlación inversa.

Los polifenoles más allá de sus propiedades antioxidantes, presentan varias acciones terapéuticas, como cardioprotectoras, hepatoprotectoras, anticancerígenas y neuroprotectores.<sup>8</sup>

Durante el proceso del daño oxidativo, en la célula se alteran una serie de biomoléculas como el ADN, proteínas y lípidos. El daño oxidativo de los lípidos se denomina lipoperoxidación (LP).<sup>27</sup>

El presente trabajo demuestra la citoprotección del extracto acuoso de *Solanum* spp. "papa nativa" frente a la lipoperoxidación inducida con el sistema Fe<sup>2+</sup>/ascorbato en homogenizado de tejido hepático de rata de raza holtzman. Dicha inducción permitió el aumento del malondialdehído (MDA), el cual fue

identificado y evidenciado por la aparición del color rojo rosado con la metodología de TBARS.

En la figura 18, se evidencia los valores promedio de los cuatro grupos experimentales de la concentración de MDA en presencia/ausencia del sistema  $\text{Fe}^{+2}$ /ascorbato, así como en presencia/ausencia del extracto acuoso de papa nativa.

El grupo control está constituido por homogenizado de hígado en ausencia del sistema  $\text{Fe}^{+2}$ /ascorbato. Este grupo muestra el daño preexistente del hígado, motivo por el cual se puede observar niveles de MDA, ya que está probado que el hígado posee mayor capacidad de respuesta frente a la agresión tóxica en comparación a cualquier otro órgano, debido a su función clave como vía primaria de desintoxicación. Así mismo, dicha función del hígado puede ser la causa de su propia lesión, ya que en la biotransformación de sustancias tóxicas pueden generarse metabolitos, en ocasiones más tóxicas que las sustancias de partida, los que en ocasiones pueden producir lesiones hepatocelulares.<sup>49</sup>

En la misma grafica se observa al grupo LP, el cual incluye al homogenizado de hígado expuesto al sistema  $\text{Fe}^{+2}$ /ascorbato responsable de la lipoperoxidación, donde se evidencia el aumento del estrés oxidativo (expresado en niveles de MDA) en un 57% en comparación al grupo control. El proceso se basa en la capacidad del  $\text{Fe}^{+2}$  para reaccionar con precursores de radicales de baja citotoxicidad, como el  $\text{H}_2\text{O}_2$ , convirtiéndolo en radicales más reactivos, como el  $\text{OH}^\bullet$ , capaz de generar daño celular. El ascorbato participa como agente reductor del  $\text{Fe}^{+3}$  en  $\text{Fe}^{+2}$  permitiendo que la reacción de Fenton (figura 15) se comporte como autocatalítica, aumentando así, el daño en cascada a los ácidos grasos insaturados conllevando a la aparición de trastornos morfológicos y

fisiológicos la membrana del hepatocito, permitiendo al mismo tiempo la liberación del MDA.<sup>27</sup>

El grupo LP-Ext.Mf consta del homogenizado de hígado expuesto al sistema  $Fe^{+2}$ /ascorbato mas alícuotas del extracto acuoso de papa nativa. El extracto evidencia su carácter hepatoprotector por medio de los compuestos fenólicos y flavonoides identificados y cuantificados previamente, los cuales actúan estabilizando y/o inhibiendo a los radicales libres producidos como producto de la lipoperoxidación, evitando de esta forma el aumento de MDA.<sup>49</sup> Los tres morfotipos de papas nativas en estudio exhibieron el descenso de lipoperoxidación (MAD), sin embargo el Ext.Mf1 (380,34) mostró mayor disminución de MDA con un 32% de descenso (figura 18).

El grupo Ext.Mf consta del homogenizado de hígado frente al extracto acuoso de papa nativa. Aquí podemos observar la acción del extracto sobre estrés preexistente del homogenizado de hígado que exhibe niveles de MDA, frente al cual los compuestos fenólicos, sobre todo los flavonoides, actúan estabilizando los radicales libres preexistentes y evidenciando la disminución de los niveles de MDA entre 18 al 30% respecto al grupo control.

Por tanto mediante la prueba de TBARS, se afirma que el grupo LP, que fue injuriado a estrés oxidativo, fue significativamente alto al compararlo con el grupo control (figura 18 y anexo 9). Y el efecto citoprotector o antilipoperoxidación de los tratamientos con los extractos de papas nativas (LP-Ext.Mf1, 2 y 3) puede observarse de manera significativa al compararlo con el grupo LP.

Este resultado nos sugiere que el extracto acuoso del *Solanum* spp. "papa nativa" demostró una fuerte inhibición de la peroxidación lipídica inducida por el complejo  $Fe^{+2}$ /ascorbato.

Los resultados obtenidos son comparables con Ramírez *et al.*<sup>8</sup> quien utilizó el método de TBARS *in vivo* y concluyó que el extracto acuoso de papa nativa "puca simi" incrementa de manera significativa la actividad de la UDP-glucuroniltransferasa, enzima responsable de la protección hepática, demostrando así, el carácter citoprotector de la papa nativa.

Sandoval *et al.*<sup>48</sup> en su investigación sobre el tocosh utilizó el método de TBARS *in vivo*, donde concluyó que el tocosh de *Solanum tuberosum* "papa" tuvo efecto citoprotector y antioxidante.

Así mismo, García A.<sup>4</sup> reportó el efecto hepatoprotector de las papas criollas frente a la toxicidad causada por CCl<sub>4</sub>.

Los antioxidantes fenólicos tienen un gran poder destructor de radicales libres, al ser componentes biológicamente activos, son los principales agentes que pueden donar oxígeno a los radicales libres y de esta forma romper la cadena de la oxidación lipídica en el primer paso de iniciación. Este elevado potencial de los compuestos fenólicos para la neutralización de radicales se puede deber a sus grupos hidroxilo fenólicos.

La actividad del extracto acuoso de *Solanun* spp. "papa nativa" podría deberse a la presencia de glucósidos fenólicos. Sin embargo el mecanismo exacto de actuación sólo se puede determinar tras la caracterización detallada de las fracciones activas del extracto.<sup>49</sup>

La alta capacidad antioxidante de la papa está relacionada por su composición química global, también por su cantidad y calidad de antioxidantes, la que a su vez estaría en función con el contenido de flavonoides y su mejor eficacia en la prevención y neutralización de los radicales libres.<sup>49</sup> Además diversas

investigaciones reportan la función protectora de los flavonoides frente al daño oxidativo como la lipoperoxidación.<sup>29</sup>

Es importante resaltar que el estudio está basado en un extracto, lo que puede llevar a proponer que algunos de los metabolitos fenólicos del extracto de papa también podrían exhibir semejante o mejor comportamiento.<sup>8</sup>

Finalmente, bajo éste modelo experimental y en las condiciones del estudio se puede concluir que el *Solanum* spp. "papa nativa" posee capacidad antioxidante y citoprotector, en un modelo *in vitro*, muy promisorio; con lo cual se podría considerar como una alternativa en la defensa antioxidante y citoprotectora, considerando la posibilidad de su uso en bien de la salud.

## VI. CONCLUSIONES

1. Se determinó la capacidad antioxidantes del extracto acuoso de los tres morfotipos de papas nativas empleando el radical DPPH\*. Donde el extracto del morfotipo Ext.Mf (304183, 600) presentó mayor capacidad de captación de los radicales DPPH\*, con un IC<sub>50</sub> de  $387,6 \pm 23 \mu\text{g/mL}$  ss y un TEAC de  $2,6 \pm 0,0002 \mu\text{g/mg}$  ss.
2. Se determinó la capacidad antioxidante del extracto acuoso de los tres morfotipos de papas nativas empleando el radical ABTS\*\*. Donde el extracto Ext.Mf (303912, 602) presentó mayor capacidad de captación de los radicales ABTS\*\*, con un IC<sub>50</sub> de  $186,1 \pm 2 \mu\text{g/mL}$  ss y un TEAC de  $14,6 \pm 0,0001 \mu\text{g/mg}$  ss.
3. Se confirma la cuantificación de los polifenoles y flavonoides del extracto acuoso de los tres morfotipos de papas nativas. El mayor contenido de polifenoles presentó la muestra Ext.Mf (304183, 600) con  $22,94 \pm 0,053 \mu\text{g EAG/mg}$  ss. Mientras que el morfotipo Ext.Mf (380, 34) exhibió el mayor contenido de flavonoides con  $6,64 \pm 0,017 \mu\text{g EQD/mg}$  ss.
4. Se evaluó la actividad citoprotectora mediante la prueba de TBARS en el extracto acuoso de los tres morfotipos de papas nativas. La muestra Ext.Mf (380, 34) presentó una alta significancia ( $p < 0,0001$ ), al disminuir en un

32% la lipoperoxidación en comparación al grupo LP sometido al sistema  $Fe^{+2}$ /ascorbato.

5. Los polifenoles, flavonoides y posiblemente las antocianinas justifican el potencial antioxidante y citoprotectora del extracto acuoso de los tres morfotipos de *Solanum* spp. "papa nativa", frente a los radicales DPPH $\cdot$  y ABTS $\cdot\cdot^+$ , así como frente al reactivo TBARS.

## VII. RECOMENDACIONES

1. Preparar el homogenizado de hígado al momento de realizar el método TBARS, ya que su congelación ocasiona la formación de precipitados que pueden alterar la reproducibilidad del ensayo.
2. Seguir realizando estudios adicionales por medio de otros métodos y otras técnicas de aislamiento e identificación estructural de los principios activos presentes en estos extractos estudiados, además sería muy interesante determinar el carácter pro oxidante y toxicidad en sistemas *in vivo* en condiciones de consumo.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Castañeda CB, Ramos LL, Ibáñez VL. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Revista Horizonte Medico*. 2008 julio; 8(1): p. 56-70.
2. García FJ. Evaluación *in vitro* e *in vivo* de la funcionalidad de un producto rico en antioxidantes. Tesis doctoral. Murcia - España: Facultad de Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos; 2005.
3. Soto M, Ruesta J, Merejildo R. Capacidad antioxidante *in vitro* de cuatro variedades de tubérculos de *Solanum tuberosum* L. "papa" (cruda y cocida, con y sin cascara) frente al DPPH\*. *Revista Farmaciencia*. 2014 Junio; 2(1): p. 4-5.
4. García A. Evaluación *in vitro/in vivo* de propiedades antioxidantes de clones promisorios de papa criolla (*Solanum pureja*). Tesis doctoral. Bogotá - Colombia: Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Farmacia; 2011.
5. El comercio. Consumo percapita anual de papa se incrementó a 85 kg. [Online].; 2014 [cited 2015 septiembre lunes. Available from: <http://elcomercio.pe/economia/peru/consumo-per-capita-anual-papa-se-incremento-85-kilos-noticia-1731367>.
6. Rodríguez LE. Teorías sobre la clasificación de las papas cultivadas (*Solanum* L. sect. *petota dumort*). Una revisión. *Agronomía Colombia*. 2009 noviembre; 27(3): p. 305 - 312.
7. Fonseca C, Burgos G, Rodríguez F, Muñoa L, Ordinola M. Catálogo de variedades de papa nativa con potencial para la seguridad alimentaria y nutricional de Apurímac y Huancavelica. Papa CLDL, editor. Lima - Peru; 2014.
8. Ramírez E, Suarez S. Efecto del extracto acuoso de la papa nativa *Solanum tuberosum* "puca simi" sobre enzimas de detoxificación de fase II. *Ciencia e Investigación*. 2014; 17(1): p. 43 - 48.
9. Villacres E, Peña W, Cuesta X, Espín N. Efecto del procesamiento en el contenido de glicoalcaloides de papas nativas (*Solanum spp*). encuesta por, Andrade J, Yañez E, Reinoso I. I congreso Internacional de Investigación y Desarrollo de Papas Nativas. Quito - Ecuador: Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria; 2010. p. 62.
10. Suarez S, Ale N, Trabucco J, Sanabria O. Polifenoles, micronutrientes minerales y potencial antioxidante de papas nativas. *Rev Soc Química Perú*. 2012 mayo; 80(2): p. 108 - 113.
11. Condori M, Cuevas E, Antezana A, Hildebrandb S, Winterhalterb P. Caracterización de las antocianinas de una variedad de papa roja Boliviana (*Solanum tuberosum* L). Tesis. Cochabamba Bolivia: Universidad Mayor de

San Simon, Facultad de Ciencias y Tecnología; 2008.

12. Ramos Escudero F, Muños AM, Alvarado - Ortiz C, Yañez J. Antocianinas, polifenoles, actividad antioxidante de sachapapa morada (*Dioscoria trifida*) y evaluación de lipoperoxidación en suero humano. Rev Soc Quím Perú. 2010; 76(1): p. 61 - 72.
13. Fuenzalida NC. Determinación de la cantidad de fenoles totales y la actividad antioxidante de papas nativas pigmentadas. Tesis. Valdivia - Chile: Universidad Austral de Chile, Departamento de Agronomía; 2008..
14. Ministerio de Agricultura y Riesgo. Papa principales aspectos socioeconómicos Lima - Perú; 2013.
15. Rodríguez E. Origen y evolución de la papa cultivada. Una revisión. Agronomía Colombiana. 2010 marzo; 28(1): p. 9 - 17.
16. FAO. Papa. [Online].; 2008 [cited 2015 noviembre domingo. Available from: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/011/i0500s/i0500s02.pdf>.
17. Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI). Producción de papa creció 45%. [Online].; 2014 [cited 2015 noviembre domingo. Available from: <http://www.inei.gov.pe/prensa/noticias/produccion-de-papa-crecio-45-7582/>.
18. Agrolanzarote. Fichas técnicas de cultivo de la papa. [Online].; 2012 [cited 2015 noviembre sabado. Available from: [http://www.agrolanzarote.com/sites/default/files/Agrolanzarote/02Productos/documentos/agrolanzarote.\\_ficha\\_papas.pdf](http://www.agrolanzarote.com/sites/default/files/Agrolanzarote/02Productos/documentos/agrolanzarote._ficha_papas.pdf).
19. Diaconia. Manejo integrado del cultivo de papa. Manual. Huánuco: Asociación Evangélica Luterana de Ayuda para el Desarrollo Comunal; 2011. Report No.: 978-612-45956-6-0.
20. Centro Internacional de la Papa. La papa tesoro de los andes, de la agricultura a la cultura. 1st ed. Graves C, editor. Lima - Perú: Metrocolor S.A; 2007.
21. Martínez A. Conociendo la cadena de papa en Ayacucho Perú S, editor. Ayacucho; 2007.
22. Martínez FA. Característica morfológica e inventario de conocimientos colectivos de variedades de papas nativas (*Solanum tuberosum*) en la provincia de Chimborazo. Tesis. Riobamba - Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Departamento de Ingeniería Agronómica; 2009.
23. Gabriel J, Botello R, Casazola J, Vera R, Rodriguez F, Angulo A. Revalorización de las papas nativas de Bolivia (*Solanum tuberosum* L.) como fuente de hierro y zinc. Journal of the Selva Andina Research Society. 2014; 5(1): p. 3-12.

24. Vlachojannis JE, Cameron M, Chrubasik S. Medicinal of use potato-derived products: a systematic review. *Phytother Res.* 2010; 24(2): p. 159-62.
25. Briones S, Cabrera B, Calderón S, Carranza K, Carranza V, Gusmán LJ. Efecto de los tubérculos sobre quemaduras de segundo grado inducidas en *Rattus rattus var. albinus*. In *Cres.* 2014; 5(1): p. 71-79.
26. Carhuapoma M. Estudio de la composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de *Luma chequen* (Molina) A. Gray "Arayan". Tesis. Lima: Universidad Nacional Mayor San Marcos, Departamento de Farmacia y Bioquímica; 2006.
27. Contesse B. Evaluación de la peroxidación in vitro, a travez de las reacciones del MBTH y TBARS. Tesis. Santiago: Universidad de Chile, Ciencias Biológicas Animales; 2010.
28. Quintanar MA, Calderón JC. La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. *REB.* 2009; 28(3): p. 89-101.
29. Carrillo AN. Actividad antioxidante de *Satureja macrostema*. Tesis. México: Instituto Politécnico Nacional, Departamento de ciencias biológicas; 2009.
30. Córdova D, Dardon R, González J, Menéndez M. Determinación y cuantificación de la actividad antioxidante de especies nativas y su posible fuente para el desarrollo de nutracéuticos. Tesis. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Departamento de bioquímica; 2009.
31. Martínez JB. Evaluación de la actividad antioxidante de extractos orgánicos de semillas de *Heliocharpus terebinthinaceus*. Tesis. Huajuapán de León: Universidad Tecnológica de la Mixteca, Departamento de Ingeniería de alimentos ; 2007.
32. Mercader MT. Encapsulación de flavonoles en ciclodextrinas. Efecto en su actividad antioxidante. Tesis. Murcia: Universidad Católica San Antonio, Departamento de Tecnología de la Alimentación y Nutrición; 2010.
33. Mendoza F. Caracterización nutracéutica y actividad antioxidante del polen de diferentes colmenas de abeja (*apis mellifera*) de la empresa APICARE, Riobamba. Tesis. Riobamba - ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Departamento de Farmacia yBioquímica; 2014.
34. Barja de Quiroga G. Radicales Libres y Antioxidantes. Sumario. Madrid - España: Universidad Complutense de Madrid, Biología animal II; 1997.
35. Venereo JR. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cubana Med Milit.* 2002; 31(2): p. 126 - 133.
36. Tobar del Río J. Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la ecoregión cafetera. Tesis. Pereira - Colombia: Universidad Tecnológica de Pereira, Departamento de

Tecnología; 2013. Report No.: 1088277675.

37. Oliveira S, Alves G, Rodríguez C, Alves- Silva T, Silva-Sobral E, Aparecida O. Evaluation of antiradical assays used in determinig the antioxidant capacity of pure compounds and plant extracts. *Quim. Nova.* 2014 febrero; 37(3): p. 497 - 503.
38. Re R, Pellegrini N, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol. Med.* 1999; 26: p. 1231-1237.
39. Alvarez O. Evaluación de la actividad antioxidante y actividad antiradical del extracto metanólico de *Ardisia* sp. Informe técnico de residencia profesional. México: Instituto tecnológico, Departamento de Ingeniería Química Bioquímica; 2013.
40. Torres JD. Optimización de las condiciones de operación de tratamientos osmóticos destinados al procesado mínimo de mango. Tesis doctoral. Valencia - España: Universidad Politécnica de Valencia, Departamento Tecnológico de Alimentos; 2007.
41. Joyeux M, Lobstein A, Anton A, Mortier F. Comparative antilipoperoxidant, antinecrotic and scavenging properties of terpenes and biflavones from Ginkgo and some flavonoids. *Planta med.* 1995; 61(2): p. 126 - 129.
42. Stalikas CJ. Extraction, separation, and detection for phenolic acids and flavonoids. *J.Sep.Sci.* 2007; 30: p. 3268-95.
43. Cyted. Manual de técnicas de investigación. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo ; 1995.
44. Bueje JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in enzymology.* 1978; 52(1): p. 302- 310.
45. Aguilar T, De Bruijn J, Loyola C, Vidal L, Melín P. Comparación de la capacidad antioxidante de mostos y vinos tintos del valle del Itata, Chile. Chillán, Chile: Universidad de Concepción, Departamento de Agroindustrias; 2014.
46. Arnao I, Suarez S, Orè R, Valdivieso R, Oriondo R, Trabucco J. Evaluación de la capacidad antioxidante de extractos acuosos de hojas/raiz de yacón (*Smallanthus sonchifolius*). *An Fac med.* 2011; 72(1): p. S16.
47. Doroteo VH, Díaz C, Terry C, Rojas R. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante *in vitro* de 6 plantas peruanas. *Rev Soc Quím Perú.* 2013; 79(1): p. 13 - 20.
48. Sandoval M, Tenorio J, Tinco A, Calderón S. Efecto antioxidante y citoprotector del tocosh de *Solanum tuberosum* "papa" en la mucosa gastrica

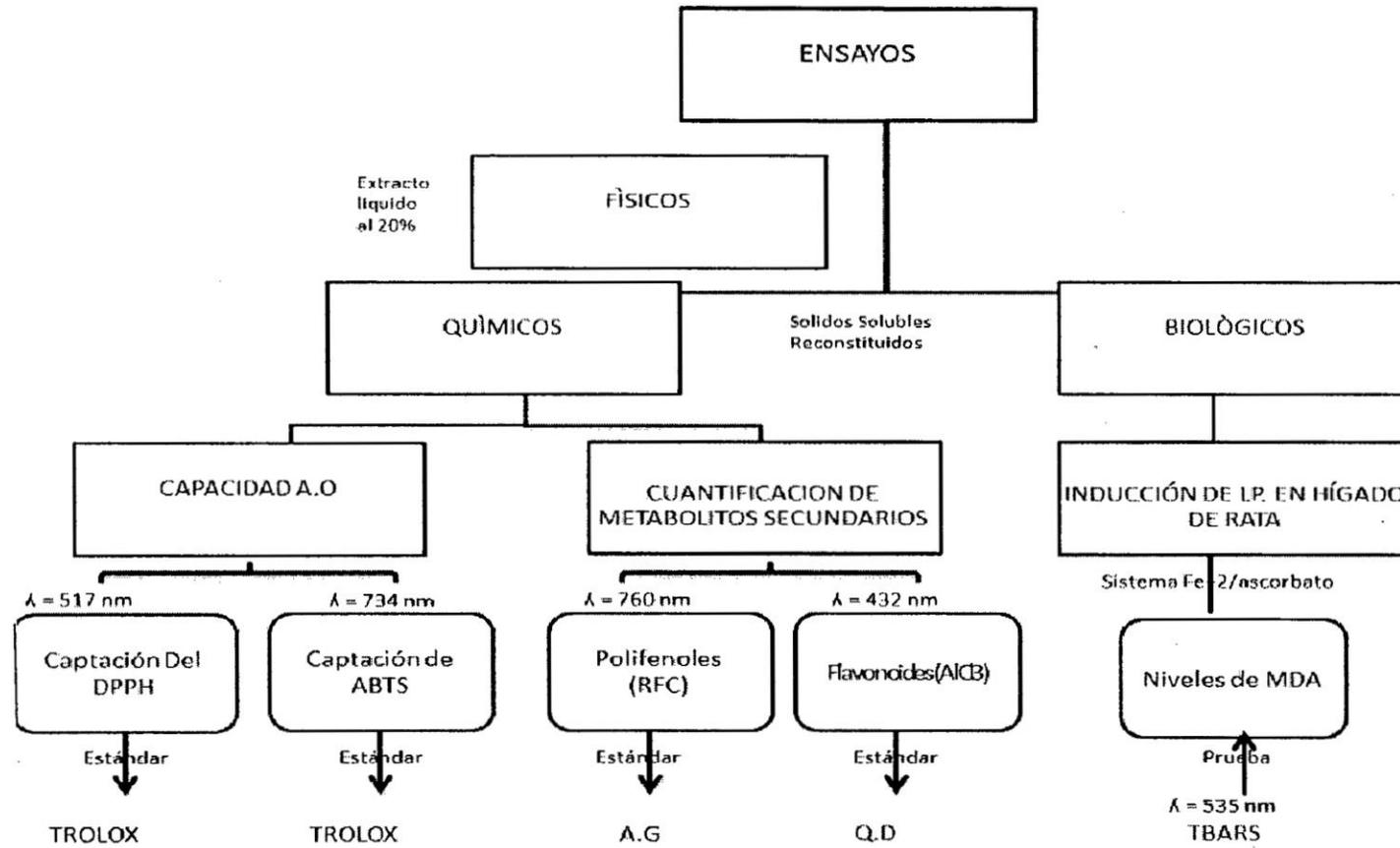
de animales de experimentación. An Fac Med. 2015; 76(1): p. 15 - 20.

49. Castillo EF, Castillo SF, Reyes CE. Estudio fitoquímico de *Plukenetia volubilis* L. y su efecto antioxidante en la lipoperoxidación inducida por  $Fe^{+3}$ /ascorbato en hígado de *rattus* var. *albinus*. UCV - scientia. 2010 junio; 2(1).

## **IX. ANEXOS**

# Anexo 1.

Organigrama de los ensayos ejecutados.

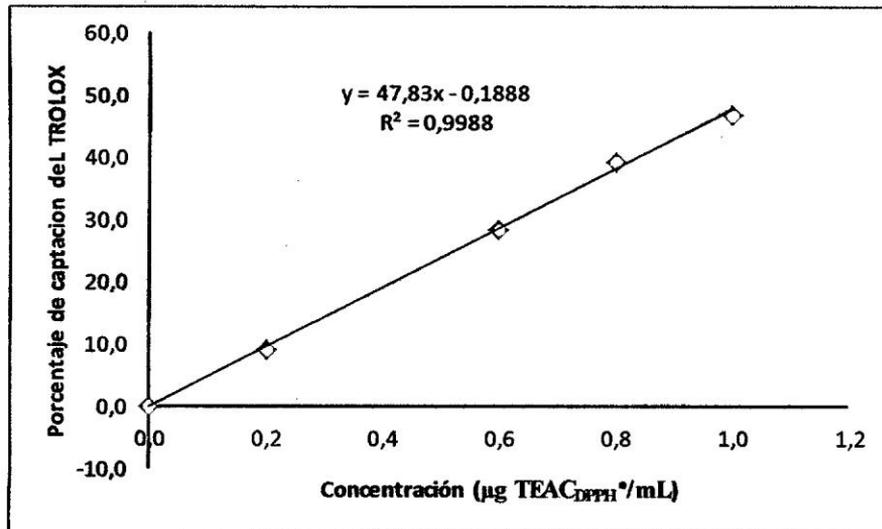


## Anexo 2.

Tabla de corrección de temperatura (grados brix)

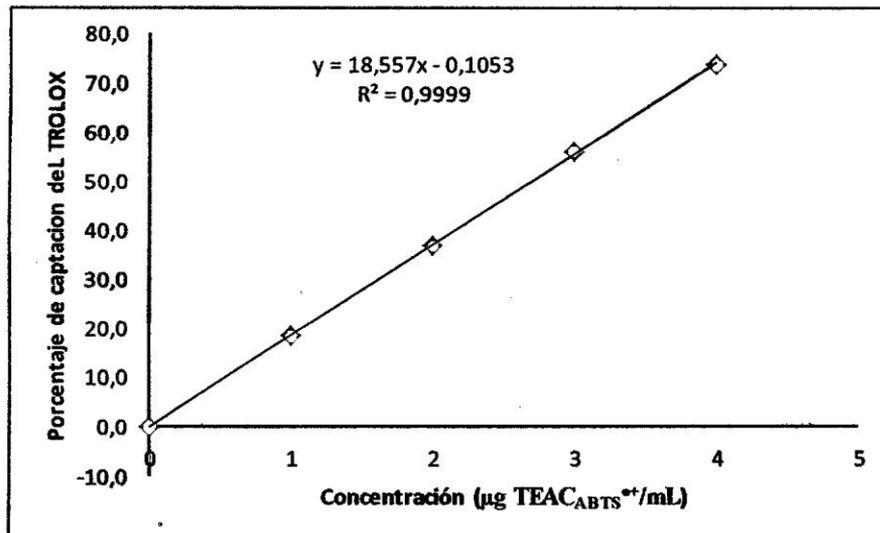
Temperatura ° C		Grados Brix														
		0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70
10	A restar	0.50	0.54	0.58	0.61	0.64	0.66	0.68	0.70	0.72	0.73	0.74	0.75	0.76	0.78	0.79
11		0.46	0.46	0.53	0.55	0.58	0.60	0.62	0.64	0.65	0.66	0.67	0.68	0.69	0.70	0.71
12		0.42	0.45	0.48	0.50	0.52	0.54	0.56	0.57	0.58	0.59	0.60	0.61	0.61	0.63	0.63
13		0.37	0.40	0.42	0.44	0.46	0.48	0.49	0.50	0.51	0.52	0.53	0.54	0.54	0.55	0.55
14		0.33	0.35	0.37	0.39	0.40	0.41	0.42	0.43	0.44	0.45	0.45	0.46	0.46	0.47	0.48
15		0.27	0.29	0.31	0.33	0.34	0.34	0.35	0.36	0.37	0.37	0.38	0.39	0.39	0.40	0.40
16		0.22	0.24	0.25	0.26	0.27	0.28	0.28	0.29	0.29	0.30	0.30	0.31	0.31	0.32	0.32
17		0.17	0.18	0.19	0.20	0.21	0.21	0.21	0.22	0.22	0.23	0.23	0.23	0.23	0.24	0.24
18		0.12	0.13	0.13	0.14	0.14	0.14	0.14	0.15	0.15	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16	0.16
19		0.06	0.06	0.06	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
20		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
21	A sumar	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	
22		0.13	0.13	0.14	0.14	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	
23		0.19	0.20	0.21	0.22	0.22	0.23	0.23	0.23	0.23	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	
24		0.26	0.27	0.28	0.29	0.30	0.30	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.32	0.32	0.32	
25		0.33	0.35	0.36	0.37	0.38	0.38	0.39	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	
26		0.40	0.42	0.43	0.44	0.45	0.46	0.47	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	
27		0.48	0.50	0.52	0.53	0.54	0.55	0.55	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	
28		0.56	0.57	0.60	0.61	0.62	0.63	0.63	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	
29		0.64	0.66	0.68	0.69	0.71	0.72	0.72	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	
30			0.72	0.74	0.77	0.78	0.79	0.80	0.80	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81

### Anexo 3.



Curva de calibración con trolox para el ensayo de DPPH\*

### Anexo 4.



Curva de calibración con trolox para el ensayo de ABTS\*+

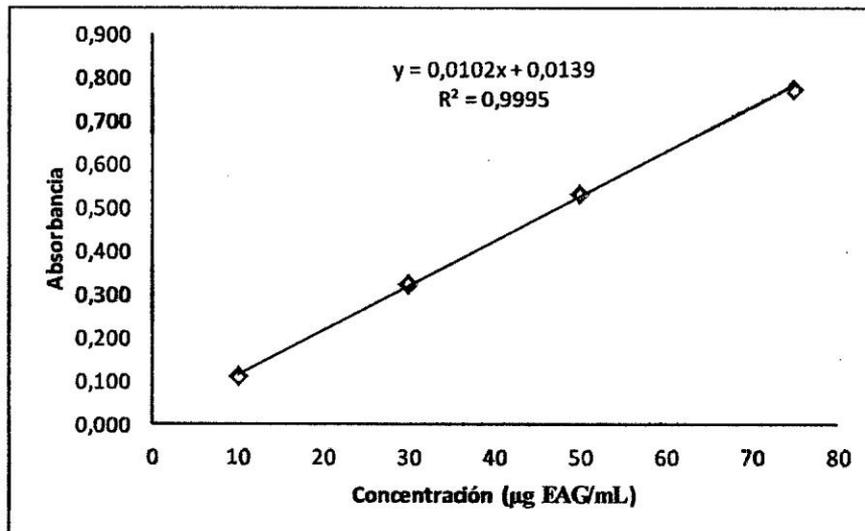
### Anexo 5.

Tabla del protocolo de la curva estándar del ácido gálico (AG).

Tubo N°	AG [100ug/ml] MI	H <sub>2</sub> O <sub>bdest</sub> mL	Concentr tubo $\mu$ L/MI
1	100	900	10
2	300	700	30
3	500	500	50
4	750	250	75

Luego llevamos al espectrofotómetro a  $\lambda = 760$  nm

### Anexo 6.



Curva de calibración del ácido gálico (AG).

### Anexo 7.

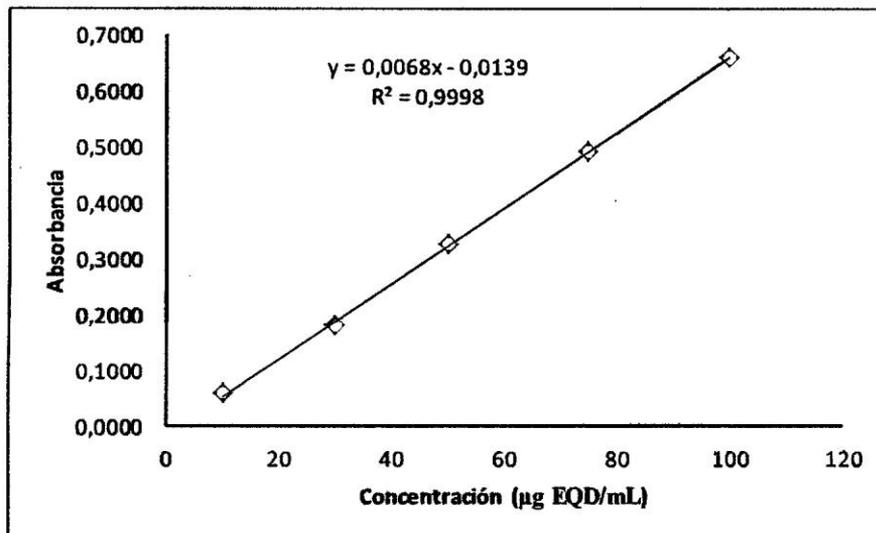
Protocolo de la curva estándar de la quercetina dihidratada (QD).

Tubo N°	QD [100µg/ml] µL	Etanol µL	Concentr. tubo µL/MI
1	100	900	10
2	300	700	30
3	500	500	50
4	750	250	75
5	1000	-	100

Llevar al espectrofotómetro a  $\lambda = 432 \text{ nm}$

\*QD: Quercetina dihidratada.

### Anexo 8.



Curva de calibración del ácido gálico (AG).

### Anexo 9.

Tabla de correlación de Pearson de los parámetros de capacidad antioxidante para valores de TEAC ABTS<sup>\*\*</sup>, TEAC DPPH<sup>\*</sup>, polifenoles (PLF) y flavonoides (FLV) del extracto acuoso de tres morfotipos de papas nativas del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Ayacucho. Lima – 2015.

		DPPH <sup>*</sup>	ABTS <sup>**</sup>	PLF	FLV
<b>DPPH<sup>*</sup></b>	Correlación de Pearson	1	,230	,981	-,442
	Sig. (bilateral)		,853	,125	,709
	N	3	3	3	3
<b>ABTS<sup>**</sup></b>	Correlación de Pearson	,230	1	,414	-,975
	Sig. (bilateral)	,853		,728	,144
	N	3	3	3	3
<b>PLF</b>	Correlación de Pearson	,981	,414	1	-,608
	Sig. (bilateral)	,125	,728		,584
	N	3	3	3	3
<b>FLV</b>	Correlación de Pearson	-,442	-,975	-,608	1
	Sig. (bilateral)	,709	,144	,584	
	N	3	3	3	3

### Anexo 10.

Tabla de la diferencia de medias de malondialdehído (MDA) producido por la lipoperoxidación en homogenizado de hígado (HH) de rata holtzman según tratamientos, utilizando la prueba estadística "t" de datos apareados. Lima - 2015.

Grupo	Media μmol MDA/g Hig.	Desviación estándar	"t"	Significancia (p)
Control	0,2640	0,0219		
LP	0,4147	0,0201	12,4181 <sup>a</sup>	p<0,000001
LP-Ext. Mf1	0,3298	0,0186	7,594 <sup>b</sup>	p<0,0001
LP-Ext. Mf2	0,3521	0,0121	6,536 <sup>b</sup>	p<0,0001
LP-Ext. Mf3	0,3624	0,0209	4,418 <sup>b</sup>	p<0,005
Ext. Mf1	0,1886	0,0231	5,802 <sup>a</sup>	p<0,001
Ext. Mf2	0,1836	0,0270	5,665 <sup>a</sup>	p<0,001
Ext. Mf3	0,2173	0,0197	3,883 <sup>a</sup>	p<0,005

Control: HH en ausencia de Fe<sup>+3</sup>/ascorbato; Lipoperoxidación (LP); Ext. Mf: extracto acuoso (24 mg/mL) de los morfotipos 1, 2 y 3; a: con respecto al grupo control; b: comparación con respecto al grupo LP.

## Anexo 11.

### GLOSARIO

**AA:** Ácido Ascórbico

**ABTS:** Acido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfonico

**DPPH:** 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo

**Abs:** Absorbancia

**AG:** Ácido Gálico

**QD:** Quercetina Dihidratada

**AlCl<sub>3</sub>:** Tricloruro de Aluminio

**AO:** Actividad Antioxidante

**BPS:** Buffer Fosfato Salino

**CAT:** Catalasa

**CG:** Cromatografía de Gases

**CIP:** Centro de Investigación de La Papa

**EAG:** Equivalente a Ácido Gálico

**ECA:** Enzima Convertidora de Angiotensina

**ERN:** Especies Reactivas de Nitrógeno

**ERO:** Especies Reactivas de Oxígeno

**EQD:** Equivalentes de Quercetina Dihidratada

**Ext. Mf:** Extracto de Sólidos Solubles por Morfotipos

**FRAP:** Poder de reducción antioxidante de hierro

**FCR:** Reactivo Folin – Ciocalteu

**GST:** Glutathión S – Transferasa

**GSH – P<sub>x</sub> – GPS:** Glutathión Peroxidasa

**GR:** Glutathión Reductasa

**HAT:** Hidrogen Atom Transfer

**SET:** Single Electrón Transfer

**HH:** Homogenizado de Hígado

**HPLC:** Lípidos de Alta Resolución

**IC<sub>50</sub>:** Coeficiente de Inhibición al 50%

**LP:** Lipoperoxidación

**MDA:** Malondialdehido

**ORAC:** Capacidad de absorción del radical oxígeno

**RL:** Radicales Libres

**SOD:** Superóxido Dismutasa

**SS:** Sólidos Solubles

**TBA:** Ácido Tiobarbitúrico

**TBARS:** Sustancias Reactivas con el Ácido Tiobarbitúrico

**TCA:** Ácido Tricloruro Acético

**TCL:** Cromatografía de Capa Fina

**TEAC:** Actividad Antioxidante Equivalente a Trolox

**TROLOX:** 6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid

**UDP – GT:** Uridin Difosfato – Glucuroniltransferasa

**Anexo 12.**  
**MATRIZ DE CONSISTENCIA.**

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
Actividad antioxidante y citoprotectora del extracto acuoso de tres morfotipos de <i>Solanum</i> spp. "papa nativa" <i>in vitro</i> . Lima - 2014.	¿Tendrá Actividad antioxidante y citoprotectora el extracto acuoso de los tres morfotipos de <i>Solanum</i> spp. "papa nativa" <i>in vitro</i> ?	<p><b>Objetivo general :</b> Evaluar la actividad antioxidante y citoprotectora del extracto acuoso de tres morfotipos de <i>Solanum</i> spp. "papa nativa" <i>in vitro</i>.</p> <p><b>Objetivos específicos:</b> -Determinar la capacidad antioxidante total del extracto acuoso de tres morfotipos de <i>Solanum</i> spp. "papa nativa" empleando el radical DPPH*. -Determinar la capacidad antioxidante total del extracto acuoso de tres morfotipos de <i>Solanum</i> spp. "papa nativa" empleando el radical ABTS**. -Determinar el contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de tres morfotipos de <i>Solanum</i> spp. "papa nativa". -Determinar el contenido de flavonoides totales en el extracto acuoso de tres morfotipos de <i>Solanum</i> spp. "papa nativa". -Evaluar la actividad citoprotectora del extracto acuoso de tres morfotipos de <i>Solanum</i> spp. "papa nativa" mediante la prueba de TBARS.</p>	<p>Muchos estudios científicos han identificado las características morfológicas y genéticas de las papas nativas. En cuanto a los compuestos fitoquímicos de carácter antioxidante de la papa nativa reportan la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas, vitamina C y micronutrientes minerales como Fe, Cu, Zn y Se. Sin embargo hasta la fecha dichos reportes son escasos frente a la gran biodiversidad de morfotipos de papas nativas.</p> <p>Actualmente existen diversos trabajos a nivel nacional e internacional sobre la actividad antioxidante y citoprotectora de la papa en general, siendo un tema de mucha importancia procederé a mencionar alguna de ellas.</p> <p>A nivel nacional: Suárez <i>et al.</i> (2014), realizó estudios en papas nativas procedentes de la ciudad de Andahuaylas. Preparó extractos hidroalcohólicos y determinó la densidad aparente, sólidos extraíbles, cuantificó polifenoles y micronutrientes minerales, captación de los radicales DPPH* y ABTS**. Concluyó que todas las muestras de papas nativas contenían polifenoles y micronutrientes minerales que explicarían la actividad antioxidante.</p> <p>Ramírez <i>et al.</i> (2014), realizó estudios del efecto del extracto acuoso de la papa nativa <i>Solanum tuberosum</i> "puca simi", procedentes de la ciudad de Andahuaylas sobre enzimas de decodificación de fase II. Determinó cualitativamente taninos, aminoácidos libres, flavonoides, compuestos fenólicos y saponinas. Empleó ratas, al cual le suministró el extracto a diferentes concentraciones y cuantificó niveles de MDA, entre otros. Concluyó que el extracto acuoso de la papa nativa "puca simi" contiene metabolitos secundarios que protegen la lipoperoxidación e incrementa de manera significativa la actividad de la UDP -glucuroniltransferasa.</p>	El extracto acuoso de tres morfotipos de <i>Solanum</i> spp. "papa nativa" presenta actividad antioxidante y citoprotectora <i>in vitro</i> .	<p><b>Variable independiente:</b> El extracto acuoso de <i>Solanum</i> spp. "papa nativa"</p> <p>Homogenizado de hígado.</p> <p><b>Indicadores:</b> Concentración del extracto acuoso AL 20%.</p> <p>Concentración del homogenizado de hígado al 5%.</p> <p><b>Variable dependiente:</b> Actividad antioxidante, cuantificación de polifenoles y flavonoides, y propiedad citoprotectora del extracto acuoso de <i>Solanum</i> spp. "papa nativa".</p> <p><b>Indicadores:</b> - Decoloración del DPPH* y ABTS**. - Concentración de polifenoles, flavonoides y MDA.</p>	<p><b>Tipo:</b> Básico - experimental.</p> <p><b>Población:</b> <i>Solanum</i> spp. "papa nativa" del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) de Ayacucho.</p> <p><b>Muestra:</b> 6 unidades de tuberculo por cada morfotipo de <i>Solanum</i> spp. "papa nativa".</p> <p><b>Unidad experimental:</b> Homogenizado de hígado de rata.</p> <p><b>Análisis estadístico:</b> Prueba estadístico "t", con el programa SPSS.</p>

# Actividad antioxidante y citoprotectora del extracto acuoso de tres morfotipos de *Solanum* spp. “papa nativa” *in vitro*.

## Antioxidant and cytoprotective activity of aqueous extract of three morphotypes of *Solanum* spp. "Pope native" *in vitro*.

Mary Herlinda Zarabia Cusi<sup>1</sup>, Emilio Ramírez Roca<sup>1</sup>, Silvia Suarez Cunza<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, Perú. <sup>2</sup>Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición, Facultad de Medicina Humana, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

### RESUMEN

La papa además de su gran valor energético y nutricional es fuente de compuestos con actividad antioxidante. El objetivo fue evaluar la actividad antioxidante y citoprotectora del extracto acuoso de tres morfotipos de *Solanum* spp. “papa nativa” *in vitro*, procedentes del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) - Ayacucho. Diseño: básico - experimental. Institución: Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. Se preparó extractos acuosos, se determinó su densidad y sólidos solubles. Se midió la capacidad antioxidante por captación de radicales DPPH\* y ABTS\*\*, se cuantificó polifenoles con el reactivo Folin - Ciocalteu y los flavonoides con AlCl<sub>3</sub>. Además se midió la capacidad de citoprotección por la reacción de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS). Los resultados para DPPH\* fueron IC<sub>50</sub> entre 387,6 - 459 µg/mL y TEAC<sub>DPPH\*</sub> entre 2,2 - 2,60 µg/mg sólidos solubles (ss); para ABTS\*\* fueron IC<sub>50</sub> entre 186,1 - 292,2 µg/mL y TEAC<sub>ABTS\*\*</sub> entre 9,3 - 14,6 µg/mg ss. El contenido de polifenoles totales estuvo entre 11,67 - 22,94 µg EAG/mg ss; y flavonoides entre 4,58 - 6,64 µg EQD/mg ss, y según la prueba de TBARS el grupo inducido a lipoperoxidación con Fe<sup>+2</sup>/ascorbato fue altamente significativa en comparación al grupo control, sin Fe<sup>+2</sup>/ascorbato (p<0,000001). La lipoperoxidación fue disminuida significativamente por todos los extractos (p<0,005). Conclusión: el extracto acuoso de los tres morfotipos de papas nativas presentó actividad antioxidante y efecto citoprotector *in vitro*.

**Palabras clave:** *Solanum* spp. “papa nativa”, antioxidante, citoprotección, lipoperoxidación, DPPH\*, ABTS\*\*, TBARS.

### SUMMARY

The Pope and his great energy and nutritional value is source of compounds with antioxidant activity. The objective was to evaluate the antioxidant activity and cytoprotective of the aqueous extract of three morphotypes of *Solanum* spp. "native potatoes" *in vitro*, from the National Institute for Agrarian Innovation (INIA) - Ayacucho. Design: basic - experimental. Institution: Center of research in Biochemistry and nutrition of the Faculty of medicine human of the Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Peru. Prepared aqueous extracts, its density and soluble solids were determined. By radical DPPH\* y ABTS\*\* scavenging antioxidant capacity was measured, was quantified with the reagent Folin - Ciocalteu polyphenols and flavonoids with AlCl<sub>3</sub>. In addition cytoprotection capacity was measured by the reaction of reactive species (TBARS) thiobarbituric acid to. The results for DPPH\* were IC<sub>50</sub> Between 387,6 - 459 µg/mL y TEAC<sub>DPPH\*</sub> Between 2,2 - 2,60 µg/mg soluble solids(ss); for ABTS\*\* were IC<sub>50</sub> Between 186,1 - 292,2 µg/mL y TEAC<sub>ABTS\*\*</sub> Between 9,3 - 14,6 µg/mg ss. The content of total polyphenols was Between 11,67 - 22,94 µg EAG/mg ss; and flavonoids Between 4,58 - 6,64 µg EQD/mg ss, and according to the TBARS test group induced to lipoperoxidación with Fe<sup>+2</sup>/ascorbate it was highly significant in comparison to the control group, no Fe<sup>+2</sup>/ascorbate (p<0,000001). The lipoperoxidación was significantly diminished by all the extracts (p<0,005). Conclusion: the aqueous extract of the three morphs of native potato presented antioxidant activity and *in vitro* cytoprotective effect.

**Palabras clave:** *Solanum* spp. "native", antioxidant, cytoprotective, lipoperoxidación, DPPH\*, ABTS\*\*, TBARS.

## INTRODUCCIÓN

Las tendencias mundiales de la alimentación, en los últimos años, indican un interés acentuado de los consumidores hacia ciertos alimentos que, además de contener nutrientes, contengan sustancias fisiológicamente activas que cumplan, al igual que los nutrientes esenciales, una función beneficiosa en la reducción de ciertas enfermedades.<sup>1</sup>

El estrés oxidativo ha sido asociado en el desarrollo de numerosas enfermedades crónicas y en el proceso del envejecimiento<sup>2</sup>. La incapacidad del cuerpo humano para neutralizar la acción de los radicales libres a los que está expuesto diariamente, genera en el hombre, la necesidad de consumir alimentos con propiedades antioxidantes<sup>3</sup>. Entre dichos alimentos se encuentra la papa, la cual es una de las plantas más conocidas y cultivadas como producto básico de la canasta familiar a nivel mundial, ocupa el quinto lugar en cuanto a consumo humano y cuarto lugar en cuanto al valor de producción, después del maíz, el trigo y el arroz<sup>4</sup>; en nuestro país el consumo promedio es de 85 kg/por habitante al año.<sup>5</sup>

Perú forma parte del geocentro andino del origen y domesticación del cultivo de papa que data desde hace 6000 a 10000 años a.C.<sup>6</sup>. Hoy en día, en la región andina del país (como Ayacucho) aún existen una amplia biodiversidad de cultivares nativos concentrados en microcentros del país, mantenidos por familias campesinas conservacionistas<sup>7</sup>. Además, los tubérculos nativos presentan un potencial nutricional, nutraceutico y comercial prometedor ya que el interés del consumidor de papas pigmentadas, de aspecto atractivo y novedoso, se ha incrementado notablemente en estos últimos años debido a su contenido de compuestos con actividad antioxidante como vitamina C, carotenos, antocianinas, compuestos fenólicos y micronutrientes minerales.<sup>3,4,8-11</sup>

Por tanto la papa (sobre todo las nativas) debería ser aprovechada porque el auge de su producción, consumo y divulgación constituyen una oportunidad para mejorar la calidad de vida del poblador andino que vive en zonas de pobreza y extrema pobreza.<sup>10</sup>

A nivel nacional e internacional existen muchos estudios que evalúan la actividad antioxidante de papas mejoradas<sup>3,4</sup>. Sin embargo el estudio de las especies nativas es escaso, puesto que solo existen reportes de investigaciones de papas nativas del sur y selva peruana.<sup>10,12</sup>

Bajo esta perspectiva el presente estudio de investigación pretende evaluar la actividad antioxidante y citoprotectora del extracto acuoso de la papa nativa *in vitro*, mediante la capacidad de captación del radical DPPH\* y ABTS\*, la cuantificación del polifenoles totales y flavonoides, así como la determinación de niveles de malonildialdehído (MDA) en la lipoperoxidación inducida en homogenizado de hígado de rata.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizó tres morfotipos de papa nativa que fueron donados por el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) – Ayacucho, perteneciente a la cosecha de junio 2014, codificados como 380, 34; 304183.600 y 303912.602. Las muestras fueron transportadas vía terrestre al laboratorio de Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina de la UNMSM por vía terrestre en bolsas de papel. Los reactivos fueron de la casa Sigma-Aldrich y Merck.

**Preparación de la muestra:** Los tubérculos fueron cortadas y secadas en estufa a 37°C con circulación permanente de aire, finalmente fueron molidas hasta obtener un polvo fino. Se preparó un macerado al 20% con agua bidestilada por 24 h en baño maría a 37°C con agitación constante. El extracto se centrifugó a 7000 rpm por 20 minutos en una centrifuga

refrigerada (4 °C) de rotor fijo SS34, marca Sorvall RC2-B, se filtró y luego se evaporó a 40°C hasta obtener el extracto seco que fueron almacenados en un frasco de vidrio color ámbar, herméticamente sellados, y conservados en refrigeración hasta su análisis.

**Determinación de la densidad aparente:** Se pesó un mililitro de extracto filtrado por triplicado, en una balanza analítica marca Sartorius, sensibilidad 0,1 mg.

**Determinación de sólidos solubles:** se determinó la cantidad de sólidos solubles utilizando el refractómetro digital manual de marca Poket Pal con sensibilidad 0,01 brix con termómetro incluido, según el procedimiento descrito por su manual.

### Ensayos químicos *in vitro*

Todas las lecturas se realizaron por duplicado en tres determinaciones independientes.

### Capacidad antioxidante total frente al radical DPPH\* (1,1-difenil-2-picrylhidrazilo).

Se realizó según el método descrito por Joyeux *et al.*<sup>13</sup> con modificaciones.

**Preparación del reactivo.** Se prepara una solución stock de DPPH\* en metanol a concentración de 20mg%. Se almacenó a 4 °C protegido de la luz. Se ajustó la absorbancia de la solución a  $0,6 \pm 0,02$  a 517 nm antes de su uso.

**Preparación del extracto.** Los sólidos solubles se reconstituyeron en agua bidestilada a diferentes concentraciones (por cada muestra) de manera que produjera un porcentaje de captación del radical libre DPPH\* entre 50-80%.

Se midieron 0,4mL de cada concentración del extracto y se le adicionaron 0,8mL del DPPH\*, luego se homogenizaron. Las lecturas se realizaron a 517 nm después de 30 minutos a temperatura ambiente alejada de la luz. Los resultados se expresan en Índice de Captación al 50% (IC<sub>50</sub>) y en Capacidad Antioxidante Equivalente al Trolox (TEAC<sub>DPPH\*</sub>).

### Capacidad antioxidante total frente al radical catión ABTS\*+ (Acido 2,2'-azino-bis (ácido-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico).

#### Procedimiento:

El procedimiento se realizó según el método descrito por Joyeux *et al.*<sup>13</sup> con modificaciones.

**Preparación del reactivo.** Se preparó una solución stock de ABTS\*+, para el cual se disolvió el reactivo ABTS en agua bidestilada (7mM) y se activó con persulfato de potasio (2,45mM). Se almacenó a 4 °C protegido de la luz. Se ajustó la absorbancia de la solución a  $0,7 \pm 0,02$  a 532 nm antes de su uso.

**Preparación del extracto.** Los sólidos solubles se reconstituyeron en agua bidestilada a diferentes concentraciones (por cada muestra) de manera que produjera un porcentaje de captación del radical libre ABTS\*+ entre 50-80%.

Se midieron 20µL de cada concentración del extracto y se le adicionaron 980µL del ABTS\*+, luego se homogenizaron. Las lecturas se realizaron a 532 nm por 7 minutos a temperatura ambiente alejada de la luz. Los resultados se expresan en Índice de Captación al 50% (IC<sub>50</sub>) y en Capacidad Antioxidante Equivalente al Trolox (TEAC<sub>ABTS\*+</sub>).

**Cuantificación de polifenoles totales.**

Se realizó conforme al procedimiento descrito por la Organización Internacional de Estandarización (ISO) 14502-1.

Usando el reactivo de Folin - Ciocalteau y como estándar el ácido gálico (AG). Cada tubo se preparó con 100 µL de ácido gálico o extracto y 150 µL de carbonato de sodio que se añade a 150µL del reactivo Folin-Ciocalteau diluido 3 veces con agua bidestilada. Se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 30 minutos. La lectura se realizó en espectrofotómetro a 760 nm y los resultados se expresan en equivalentes de ácido gálico (EAG).

**Cuantificación de flavonoides.**

Se realizó según el método descrito por Stalikas (14), con modificaciones.

Se usó el reactivo de tricloruro de aluminio (AlCl<sub>3</sub>) y como estándar la Quercetina dihidratada (QD). Cada tubo se preparó con 100 µL de Quercetina dihidratada y 100 µL de tricloruro de aluminio diluido en etanol absoluto a 2,5%. La lectura se hizo en espectrofotómetro a 432 nm. Se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 30 minutos y los resultados se expresan en equivalente de quercetina dihidratada (EQD)

**Ensayo biológico in vitro**

La inducción del estrés oxidativo se realizó según el procedimiento de Cytel. (15)

Se realizó la decapitación de las ratas hotlzman para realizar la extracción del hígado, el cual se perfundió con solución KCl (0,154M) en frío. Se mantuvo congelado -20 C° hasta su procesamiento.

Se preparó el homogenizado de hígado (HH) al 5% en buffer fosfato salino (BPS). Todos los procedimientos fueron realizados manteniendo las muestras en baño de hielo.

**Inducción de lipoperoxidación (LP):**

**Grupo control:** 900 µL de HH más 120 µL BPS.

**Grupo LP:** al tubo control se adiciona alícuota de ácido ascórbico y sulfato ferroso.

**Grupo LP-Ext.Mf:** al grupo LP se adiciona 60 µL del extracto acuoso por cada morfotipo.

**Grupo Ext.Mf:** Extracto de concentración 24mg/mL por cada morfotipo.

Luego de 30 minutos de incubación a temperatura ambiente se determinó la peroxidación lipídica (MDA) por el método colorimétrico de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS). Según el procedimiento descrito por Bueje y Aust.<sup>16</sup>

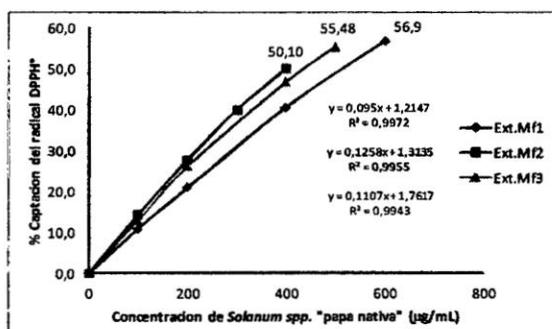
**RESULTADOS**

**Tabla 11.** Color del tubérculo y pulpa de tres morfotipos de papas nativas del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Ayacucho - 2015.

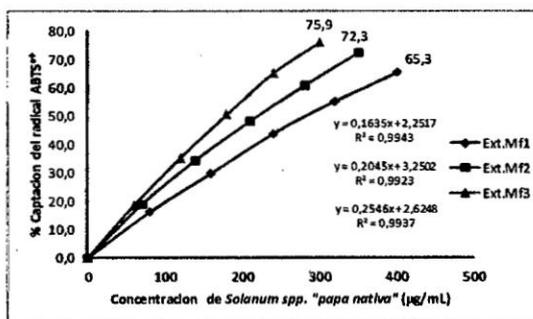
Morfotipo	Código	Imagen
Mf1	380,34	
Mf2	Mf304183,600	
Mf3	Mf303912,602	

**Tabla 2.** Propiedades físicas de tres morfotipos de papas nativas del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Ayacucho. Lima - 2015.

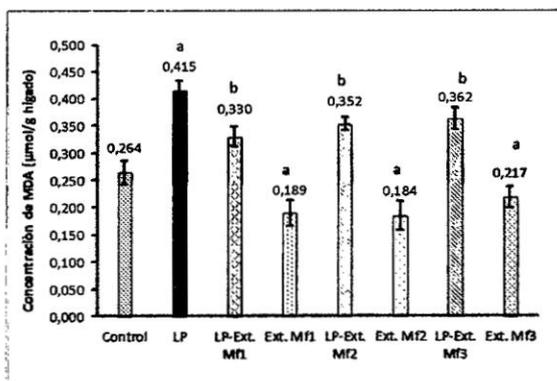
Morfotipo	Código	Densidad	Sólidos solubles
Mf	Nº	g/mL	mg/mL
Ext.Mf1	380,34	1,008	51 ± 0,500
Ext.Mf2	304183,600	1,011	46 ± 0,473
Ext.Mf3	303912,602	1,013	60 ± 3,544



**Figura 11.** Porcentaje de captación del radical DPPH\* por el extracto acuoso en µg/mL de tres morfotipos de papas nativas del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Ayacucho. Lima – 2015.



**Figura 2.** Porcentaje de captación del radical cationico ABTS\* por el extracto acuoso en µg/mL de tres morfotipos de papas nativas del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Ayacucho. Lima – 2015.



**Figura 32.** Niveles de MDA en µmol/g hígado de los tratamientos con y sin lipoperoxidación (LP) frente al extracto acuoso de tres morfotipos de papas nativas del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Ayacucho. Donde, a: p≤0,000001 con respecto al grupo LP. Lima - 2015

**DISCUSIÓN**

Las condiciones extremas de estrés a las que está expuesta la papa nativa permiten que genere metabolitos secundarios con actividad antioxidante que juegan un rol de protección para la planta. Pero además proporciona nutrientes energéticos y al mismo tiempo antioxidantes que pueden ayudar en la prevención y tratamiento de diversas enfermedades crónicas no transmisibles (principales causantes de muerte a nivel nacional y mundial), mejorando la calidad de vida del consumidor.<sup>17</sup>

**Tabla 3. Parámetros antioxidantes del extracto acuoso de tres morfotipos de papas nativas del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Ayacucho. Lima 2015.**

Morfotipo	Código	IC <sub>50</sub> (µg ss/mL) <sup>a</sup>		(µg TEAC/mg ss) <sup>a</sup>		Polifenoles	Flavonoides	Relación (%)
(Mf)	N°	DPPH*	ABTS**	DPPH*	ABTS**	(µg EAG/mg ss) <sup>a</sup>	(µg EQD/mg ss) <sup>a</sup>	EAG/EQD
Ext.Mf1	380,34	459,2 ± 16	292,2 ± 10	2,2 ± 0,0001	9,3 ± 0,0003	11,67 ± 0,006	6,64 ± 0,017	57
Ext.Mf2	304183,600	387,6 ± 23	228,7 ± 5	2,6 ± 0,0002	11,9 ± 0,0003	22,94 ± 0,053	5,22 ± 0,005	23
Ext.Mf3	303912,602	436,1 ± 24	186,1 ± 2	2,3 ± 0,0001	14,6 ± 0,0001	16,47 ± 0,038	4,58 ± 0,006	28

<sup>a</sup>ss: sólidos solubles; TEAC: actividad antioxidante equivalente a trolox; EAG: equivalentes de ácido gálico; EQD: equivalente a quercetina dihidratada; \* Datos expresados en media ± desviación estándar entre repeticiones (n = 3).

Los tres morfotipos de papas nativas se caracterizaron por su peculiar forma y color (tabla 1). Numerosos estudios en cuanto a forma y color de piel y pulpa del tubérculo de papa, reportan la relación entre la coloración y compuestos fenólicos (antocianina) que influyen en la actividad antioxidante de la papa, demostrando además que en la piel del tubérculo existen más compuestos fenólicos que le otorgan mayor actividad antioxidante frente a la pulpa sin piel.<sup>3,4,18</sup>

Los extractos acuosos de los tres morfotipos de papa nativa presentaron rangos de cantidad de sólidos solubles entre 46 - 60 mg/mL, cuyas densidades oscilan entre 1,008 - 1,013 g/mL (tabla 2). El Ext.Mf3 (303912, 602) exhibió mayor cantidad de sólidos solubles y densidad aparente.

Suarez *et al.*<sup>10</sup> en su investigación del extracto hidroalcohólico de papas nativas procedentes de Andahuaylas, mediante el método gravimétrico, reportó valores de sólidos solubles entre 20,6 - 44 mg/mL y densidad aparente entre 0,844 a 0,984 g/mL, que al ser comparados con los resultados obtenidos en éste estudio, son menores. Esto podría deberse a la metodología utilizada o a la composición y calidad bioquímica de la papa que es variable, puesto que está controlada principalmente por factores genéticos, factores ambientales (localidad, clima, suelo, agua), prácticas culturales, madurez de los tubérculos, cocción y almacenamiento.<sup>19</sup>

La evaluación de la actividad antioxidante se realizó utilizando radicales DPPH\* y ABTS\*\* y los resultados se exhiben en la figura 1, 2 y tabla 3. Los tres morfotipos de papas nativas mostraron actividad antioxidante en los modelos químicos ensayados; indicando que todos los morfotipos presentan diferentes mecanismos de acción para erradicar los radicales libres. Además se visualiza que la actividad antioxidante aumenta conforme incrementa la concentración del extracto (figuras 1 y 2). Este hecho coincide con Soto *et al.*<sup>3</sup> quien afirma que los porcentajes de inhibición son directamente proporcionales a las concentraciones evaluadas.

En la tabla 3 se observa que el Ext.Mf2 (304183,600) revela mejor capacidad de captación de radicales DPPH\*, mientras que por el método ABTS\*\* el Ext.Mf3 (303912, 602) exhibe la mejor captación de dichos radicales; esto porque ambos morfotipos muestran un bajo valor de índice de captación de

radicales al 50% (IC50) y un alto valor de actividad antioxidante equivalentes al trolox (TEAC).

Estudios previos en papas en general demuestran el comportamiento y el nivel de efectividad de este trabajo.

Soto *et al.*<sup>3</sup> realizó un licuado acuoso de los tubérculos (cruda con cascara) de *Solanum tuberosum*, obtuvo un hofilizado, el cual lo reconstituyó y lo sometió a prueba de DPPH\*, reportando rangos de IC<sub>50</sub> entre 1,7% - 48,7%.

Valores muy superiores a los reportados en este trabajo (IC<sub>50</sub> entre 0,03876% - 0,04572%), demostrando que las papas nativas poseen una buena capacidad de captación de radicales libres.

Resultados opuestos fueron reportados por Tobar J.<sup>18</sup> quien en su investigación de 30 plantas de la ecorregión de Colombia incluye una planta perteneciente a la familia de *Solanum acerifolium*, tomó las partes aéreas, lo sometió a maceración continua y obtuvo el extracto hidroalcohólico. El resultado por el método DPPH\*, indica un IC<sub>50</sub> de 141,3 µg/mL, siendo éste valor menor al obtenido en esta investigación (IC<sub>50</sub> de 387,6 µg/mL), esto podría deberse a la metodología de extracción y/o parte de la planta utilizada, demostrando que la parte aérea de la familia *solanácea* contiene mayor actividad antioxidante que los tubérculos.

Araoz *et al.*<sup>20</sup> en su investigación básica, obtuvo extracto seco a partir de la infusión acuosa (2% p/v) de hojas y raíces del yacón, observó que el IC<sub>50</sub> para DPPH\* del extracto acuoso de raíz fue mayor comparado con la hoja, demostrando que las raíces tenían menor capacidad antioxidante, éste comportamiento es similar al tubérculo de papa y las partes aéreas de la misma.

En los resultados del TEAC<sub>DPPH\*</sub> se puede observar que el morfotipo más destacado es el Ext.Mf2 (304183,600) con valor de 2,6 µg TEAC/mg ss. Mientras que para el ABTS\*\* es el Ext.Mf3 (303912, 602) con 14,6 µg TEAC/mg ss.

En las mismas condiciones experimentales pero para extractos hidroalcohólicos de papas nativas, Suarez *et al.*<sup>10</sup> reporta valores del TEAC<sub>DPPH\*</sub> entre 1,28±0,06 - 2,34±0,14 mmol/100g ss y TEAC<sub>ABTS\*\*</sub> entre 18,5±0,92 - 35,6±1,78 mmol/100g ss; que al compararlo con los obtenidos en ésta investigación (TEAC<sub>DPPH\*</sub> en rango de 0,879 - 1,039 mmol/100g ss y TEAC<sub>ABTS\*\*</sub> entre 3,716 - 5,833 mmol/100g ss) evidentemente es bajo debido al tipo de extracción (acuosa) con que se trabajó.

García A.<sup>4</sup> al analizar el extracto hidroalcohólico de clones de papa criolla cocida (*Solanum phureja*) liofilizada, reportó valores de equivalentes a trolox (ET) para el método de DPPH\* entre rangos 21,14 - 198,17 µg ET/g BS y para el método de ABTS\*\* 70,54 - 101,58 µg ET/g BS respectivamente. Siendo dichos valores casi 100 veces más bajos que los reportados por esta investigación (TEAC<sub>DPPH\*</sub>

2200 – 2600 µg ET/g BS y TEAC<sub>ABTS</sub>\*\* 9300 – 14600 µg ET/g BS). Muchas investigaciones reportan que las papas cocidas respecto a las crudas presenta baja capacidad antioxidante, debido al proceso de cocción que experimentan,<sup>3,4</sup> esto sumado a las características propias de la papa criolla.

En Bolivia en el 2011, Peñarrieta<sup>4</sup> trabajó con muestras de chuño por el método de ABTS\*\*, reportando valores entre 0,4 – 2,27 µmol ET/g, que al compararlo con los valores obtenidos en esta investigación (37,16 – 58,53 µmol/g ss), son aproximadamente 30 veces más que dichos valores. Esto probablemente por tratarse de muestras secas de papa y otros factores como técnica de extracción, variedad, etc.

Sin embargo los resultados reportados por Xu en 2009,<sup>4</sup> realizada en diversos genotipos del extracto hidroalcohólico de cascara de papa, presentó actividad ABTS\*\* entre 6800-11000 µmol ET/g, siendo valores muy altos a los obtenidos en esta investigación (37,16 – 58,33 µmol ET/g ss). Los motivos se deben al medio de extracción y a la muestra (solo cascara de papa), ya que diversas investigaciones demuestran que la cascara de papa es notablemente superior en actividad antioxidante al tubérculo con pulpa.<sup>3,4</sup>

Es importante mencionar que en este trabajo se reporta la actividad antioxidante de la papa completa, por tanto los valores van a ser menores en relación a la actividad de la cascara sola.

En base a las investigaciones antes mencionadas se puede afirmar que el potencial de captación de los radicales libres del extracto acuoso de *Solanum spp.* “papa nativa” son promisorias.

En la cuantificación de polifenoles el Ext.Mf2 (304183,600) presentó mayor concentración de fenoles totales de entre los valores 11,67 – 22,47 µg EAG/mg ss (tabla 3).

Suarez *et al.*<sup>10</sup> quién observó valores de polifenoles entre 23,99 – 49,52 mg EQD/g ss de papas nativas. Siendo dichos valores mayores a los obtenidos en este estudio, debido al medio de extracción.

Otras investigaciones como la de García A.<sup>4</sup> reporta valores que varían entre 237,64 – 340,031 mg EAG/100g de B.S. Resultados similares reportó Ramos *et al.*<sup>12</sup> quién al realizar estudios en extracto metanólico al 50% del pulverizado de “sachapapa morada”, informa valores entre 166,10±1,52 mg EAG/100g. Al compararlos con el presente trabajo (1167 – 2294 mg EAG/100 g ss) dichos valores son muy inferiores, esto por tratarse de muestras cocidas (para el primero caso) o por la metodología de extracción utilizada (para el segundo caso), sin embargo no se descarta la influencia de las propiedades químicas en cada muestra.

Kähkönen *et al.*<sup>12</sup> reporta el contenido de polifenoles en otros alimentos como cebolla roja un valor de 300 mg GAE/100 g de muestra seca, zanahoria 60 mg/100 g, avena 30 mg/100 g, centeno 130 mg/100 g, cebada 40 mg/100 g y tomate 200 mg/100 g. Doroteo *et al.*<sup>21</sup> reporta valores para maíz morado entre 33,2 ± 3,40 mg ácido gálico/ g de extracto hidroalcohólico, uña de gato 17,3 ± 0,01mg/ g, yacón 12,8 ± 0,02 mg/ g y maca 9,3 ± 0,01 mg/ g. Los valores del presente trabajo (11,67 – 22,94 mg EAG/ g ss) solo es superado por el maíz morado, aunque podría influir bastante la metodología de extracción, ya que no es muy claro en la mención de su procedimiento de extracción.

Además Navarré<sup>4</sup> en el 2011, realizó la investigación del contenido de fenoles totales en 14 alimentos e incluyó a la papa y reportó valores entre 200 – 110 mg EAG/100g, concluyendo que la papa presentó mayores concentraciones

de polifenoles en comparación a los otros vegetales como pepino, repollo blanco, alberga, zanahoria, lechuga, tomate, col de brúcela, brócoli, frijoles frescos, espinaca y ajo. Así mismo Al-Saikhan *et al.*<sup>22</sup> (1995), consideró que la papa presentaba mayor actividad antioxidante que el pimiento, zanahoria y cebolla, pero menor al brócoli. Chun *et al.*<sup>4</sup> (2005) Concluyó que las papas son la tercera fuente más importante de fenoles totales después de las manzanas y naranjas

En comparación a los trabajos antes mencionados, la papa nativa de este estudio reportó valores muy superiores (1167-2294 mg EAG/100g), por lo que se podría deducir que las papas nativas presentan valores de polifenoles promisorios frente a algunos vegetales y frutas e incluso a la papa misma de algunas investigaciones antes mencionadas, pero no mayor al maíz morado.

En la cuantificación de los flavonoides el Ext.Mf1 (380,34) exhibe la mayor cantidad de flavonoides de entre los valores 4,58 – 6,64 µg EQD/mg ss (tabla 3).

Los valores obtenidos de papa para este trabajo son comparables con los reportados por Arnao *et al.* (20) en extracto de hojas de yacón, cuyo valor es 4,67 mg EQD/g muestra seca. Mientras Ramos Escudero *et al.*<sup>12</sup> en muestras de “sachapapa” morada reportó valores de 27,63±2,69 mg EQD/100g de muestra seca, el cual en comparación a este trabajo es muy bajo (458 – 664 mg QD/100 ss).

Sin embargo en el mismo estudio de Doroteo *et al.* (21), los valores de flavonoides para maíz morado fue 48,40 ± 0,03 mg quercetina/g extracto etanólico, uña de gato 79,39 ± 0,04 mg/g, yacón 27,21 ± 0,00 mg/g y maca 14,66 ± 0,00 mg/g en comparación al presente trabajo (4,58 – 6,64 mg EQD/ g ss) son superiores, donde el método de extracción podría ser una de las razones.

Muchos reportes han mostrado una cercana relación entre el contenido de fenoles y la actividad antioxidante de las plantas. Sin embargo, no se puede considerar que la actividad antioxidante se deba solo a la presencia de compuestos fenólicos, puesto que en su composición química pueden existir otros metabolitos secundarios que debido a su estructura contribuyan a su eficacia antioxidante.<sup>4,10</sup>

El contenido de compuestos de carácter antioxidante de la papa está relacionada con los compuestos fenólicos (en su mayoría ácido fenólicos), flavonoides (catequina y epicatequina), antocianinas, carotenoides (principalmente xantofilas como luteína, zexantina y violaxantina) vitamina C y micronutrientes minerales como Fe, Cu, Zn y Se.<sup>8,10,23</sup>

Los polifenoles más allá de sus propiedades antioxidantes, presentan varias acciones terapéuticas, como cardioprotectoras, hepatoprotectoras, anticancerígenas y neuroprotectores.<sup>8</sup>

Durante el proceso del daño oxidativo, en la célula se alteran una serie de biomoléculas como el ADN, proteínas y lípidos. El daño oxidativo de los lípidos se denomina lipoperoxidación (LP).<sup>24</sup>

El presente trabajo demuestra la citoprotección del extracto acuoso de *Solanum spp.* “papa nativa” frente a la lipoperoxidación inducida con el sistema Fe<sup>+2</sup>/ascorbato en homogenizado de tejido hepático de rata de raza holtzman. Dicha inducción permitió el aumento del malondialdehído (MDA), el cual fue identificado y evidenciado por la aparición coloración por la metodología de TBARS.

En la figura 3, se evidencia los valores promedio de los cuatro grupos experimentales de la concentración de MDA en presencia/ausencia del sistema  $Fe^{2+}$ /ascorbato, así como en presencia/ausencia del extracto acuoso de papa nativa.

El grupo control está constituido de homogenizado de hígado en ausencia del sistema  $Fe^{2+}$ /ascorbato. Este grupo muestra el daño preexistente del hígado, motivo por el cual se puede observar niveles de MDA, pues está probado que el hígado posee mayor capacidad de respuesta frente a la agresión tóxica en comparación a cualquier otro órgano, debido a su función clave como vía primaria de desintoxicación. Así mismo, dicha función del hígado puede ser la causa de su propia lesión, ya que en la biotransformación de sustancias tóxicas pueden generarse metabolitos, en ocasiones más tóxicas que las sustancias de partida, los que en ocasiones pueden producir lesiones hepatocelulares.<sup>25</sup>

En la misma grafica se observa al grupo LP, el cual incluye al homogenizado de hígado expuesto al sistema  $Fe^{2+}$ /ascorbato responsable de la lipoperoxidación, donde se evidencia el aumento del estrés oxidativo (expresado en nivel de MDA) en un 57% en comparación al grupo control. El proceso se basa en la capacidad del  $Fe^{2+}$  para reaccionar con precursores de radicales de baja citotoxicidad, como el  $H_2O_2$ , convirtiéndolo en radicales más reactivos, como el  $OH^{\bullet}$ , capaz de generar daño celular. El ascorbato participa como agente reductor del  $Fe^{+3}$  en  $Fe^{+2}$  permitiendo que la reacción de Fenton se comporte como autocatalítica, aumentando así, el daño en cascada a los ácidos grasos insaturados conllevando a la aparición de trastornos morfológicos y fisiológicos la membrana del hepatocito, permitiendo al mismo tiempo la liberación del MDA.<sup>24</sup>

El grupo LP-Ext.Mf consta del homogenizado de hígado expuesto al sistema  $Fe^{2+}$ /ascorbato mas alícuotas del extracto acuoso de papa nativa. El extracto evidencia su carácter hepatoprotector por medio de los compuestos fenólicos y flavonoides identificados y cuantificados previamente, los cuales actúan estabilizando y/o inhibiendo a los radicales libres producidos como producto de la lipoperoxidación, evitando de esta forma el aumento de MDA.<sup>25</sup> Los tres morfotipos de papas nativas en estudio exhibieron el descenso de lipoperoxidación (MAD), sin embargo el Ext.Mf1 (380,34) mostró mayor disminución de MDA con un 32% de descenso (figura 3).

El grupo Ext.Mf consta del homogenizado de hígado frente al extracto acuoso de papa nativa. Aquí podemos observar la acción del extracto sobre el estrés preexistente del homogenizado de hígado que muestra niveles de MDA, frente al cual los compuestos fenólicos, sobre todo los flavonoides, actúan estabilizando los radicales libres preexistentes y evidenciando la disminución de los niveles de MDA entre 20 al 30% respecto al grupo control.

Por tanto mediante la prueba de TBARS, se afirma que el grupo LP, que fue injuriado a estrés oxidativo, fue significativamente alto al compararlo con el grupo control (figura 2). Y el efecto citoprotector o antilipoperoxidación de los tratamientos con los extractos de papas nativas (LP-Ext.Mf1, 2 y 3) puede observarse de manera significativa al compararlo con el grupo LP.

Este resultado nos sugiere que el extracto acuoso del *Solanum* spp. "papa nativa" demostró una fuerte inhibición de la peroxidación lipídica inducida por el complejo  $Fe^{2+}$ /ascorbato.

Los resultados obtenidos son comparables con Ramírez *et al.*<sup>8</sup> quien utilizó el método de TBARS *in vivo* y concluyó

que el extracto acuoso de papa nativa "puca simi" incrementaba de manera significativa la actividad de la UDP-glucuronil transferasa, enzima responsable de la protección hepática, demostrando así, el carácter citoprotector de la papa nativa.

Sandoval *et al.*<sup>23</sup> en su investigación sobre el tocosh utilizó el método de TBARS *in vivo*, donde concluyó que el tocosh de *Solanum tuberosum* "papa" tuvo efecto citoprotector y antioxidante.

Así mismo, García A.<sup>4</sup> reportó el efecto hepatoprotector de las papas criollas frente a la toxicidad causada por  $CCl_4$ .

Los antioxidantes fenólicos tienen un gran poder destructor de radicales libres, al ser componentes biológicamente activos, son los principales agentes que pueden donar oxígeno a los radicales libres y de esta forma romper la cadena de la oxidación lipídica en el primer paso de iniciación. Este elevado potencial de los compuestos fenólicos para la neutralización de radicales se puede deber a sus grupos hidroxilo fenólicos.

La actividad del extracto acuoso de *Solanum* spp. "papa nativa" podría deberse a la presencia de glucósidos fenólicos. Sin embargo el mecanismo exacto de actuación sólo se puede determinar tras la caracterización detallada de las fracciones activas del extracto.<sup>25</sup>

La alta capacidad antioxidante de la papa está relacionada no solo por su composición química global, sino con la cantidad y calidad de antioxidantes, la que a su vez estaría en función con el contenido de flavonoides y su mejor eficacia en la prevención y neutralización de los radicales libres.<sup>25</sup> Además diversas investigaciones reportan la función protectora de los flavonoides frente al daño oxidativo como la lipoperoxidación.<sup>26</sup>

Es importante resaltar que el estudio está basado en un extracto, lo que puede llevar a proponer que algunos de los metabolitos fenólicos del extracto de papa también podrían exhibir semejante o mejor comportamiento.<sup>8</sup>

Finalmente, bajo éste modelo experimental y en las condiciones del estudio se puede concluir que el *Solanum* spp. "papa nativa" posee capacidad antioxidante y citoprotectora en un modelo *in vitro* muy promisorio; con lo cual se podría considerar como una alternativa en la defensa antioxidante y citoprotectora, con posibilidades de su uso en bien de la salud.

## CONCLUSIONES

Los polifenoles, flavonoides y probablemente las antocianinas, justifican el potencial antioxidante y citoprotectora del extracto acuoso de los tres morfotipos de *Solanum* spp. "papa nativa", frente a los radicales DPPH $^{\bullet}$  y ABTS $^{\bullet+}$ , así como su efecto antilipoperoxidación en la prueba de TBARS.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Castañeda CB, Ramos LL, Ibáñez VL. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Revista Horizonte Médico*. 2008 julio; 8(1): p. 56-70.
2. García FJ. Evaluación *in vitro e in vivo* de la funcionalidad de un producto rico en antioxidantes. Tesis doctoral. Murcia - España: Facultad de Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos; 2005.
3. Soto M, Ruesta J, Merejildo R. Capacidad antioxidante *in vitro* de cuatro variedades de tubérculos de *Solanum tuberosum* L "papa" (cruda y cocida, con y sin cascara) frente al DPPH. *Revista Farmaciencia*. 2014 Junio; 2(1): p. 4,5.
4. García A. evaluación *in vitro/in vivo* de propiedades antioxidantes de clones promisorios de papa criolla (*Solanum pureja*). Tesis doctoral. Bogotá - Colombia: Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Farmacia; 2011.
5. El comercio. Consumo percapita anual de papa se incrementó a 85 kg. [Online].; 2014 [cited 2015 septiembre lunes]. Available from: HYPERLINK "http://elcomercio.pe/economia/peru/consumo-percapita-anual-papa-se-incremento-85-kilos-noticia-1731367" http://elcomercio.pe/economia/peru/consumo-percapita-anual-papa-se-incremento-85-kilos-noticia-1731367 .
6. Rodríguez LE. Teorías sobre la clasificación de las papas cultivadas (*Solanum* L. sect. *petota dumort.*). Una revisión. *Agronomía Colombia*. 2009 noviembre; 27(3): p. 305 - 312.
7. Fonseca C, Burgos G, Rodríguez F, Muñoz L, Ordinola M. Catálogo de variedades de papa nativa con potencial para la seguridad alimentaria y nutricional de Apurímac y Huancavelica Papa CIDL, editor. Lima - Peru; 2014.
8. Ramírez E, Suarez S. Efecto del extracto acuoso de la papa nativa *Solanum tuberosum* "puca simi" sobre enzimas de detoxificación de fase II. *Ciencia e Investigación* 2014. 2014; 17(1): p. 43 - 48.
9. Villacres E, Peña W, Cuesta X, Espín N. Efecto del procesamiento en el contenido de glicoalcaloides de papas nativas (*Solanum spp*). In Cuesta X, Andrade J, Yañez E, Reinoso I. I congreso Internacional de Investigación y Desarrollo de Papas Nativas. Quito - Ecuador: Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria; 2010. p. 62.
10. Suarez S, Ale N, Trabucco J, Sanabria O. Polifenoles, micronutrientes minerales y potencial antioxidante de papas nativas. *Rev Soc Química Perú*. 2012 mayo; 80(2): p. 108 - 113.
11. Condori M, Cuevas E, Antezana A, Hildebrandt S, Winterhalter P. Caracterización de las antocianinas de una variedad de papa roja Boliviana (*Solanum tuberosum* L). Tesis. Cochabamba Bolivia: Universidad Mayor de San Simón, Facultad de Ciencias y Tecnología; 2008.
12. Ramos Escudero F, Muñoz AM, Alvarado - Ortiz C, Yañez J. Antocianinas, polifenoles, actividad antioxidante de sachapapa morada (*Dioscoria trifida*) y evaluación de lipoperoxidación en suero humano. *Rev Soc Quím Perú*. 2010; 76(1): p. 61 - 72.
13. Joyeux M, Lobstein A, Anton A, Mortier F. Comparative antilipoperoxidant, antinecrotic and scavenging properties of terpenes and biflavones from Ginkgo and some flavonoids. *Planta med*. 1995; 61(2): p. 126 - 129.
14. Stalikas CJ. Extraction, separation, and detection for phenolic acids and flavonoids. *J.Sep.Sci*. 2007; 30: p. 3268-95.
15. Cytel. Manual de técnicas de investigación. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. 1995.
16. Bueje JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in enzymology*. 1978; 52(1): p. 302- 310.
17. Agilar T, De Brujin J, Loyola C, Vidal L, Melín P. Comparación de la capacidad antioxidante de mostos y vinos tintos del valle del Itata. Chillán, Chile: Universidad de Concepción, Departamento de Agroindustrias; 2014.
18. Tobar del Río J. Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la ecoregión cafetera. Tesis. Pereira - Colombia: Universidad Tecnológica de Pereira, Departamento de Tecnología; 2013. Report No.: 1088277675.
19. Gabriel J, Botello R, Casazola J, Vera R, Rodríguez F, Angulo A. Revalorización de las papas nativas de Bolivia (*Solanum tuberosum* L.) como fuente de hierro y zinc. *Journal of the Selva Andina Research Society*. b julio. 2014; 5(1): p. 3-12.
20. Arnao I, Suarez S, Oré R, Valdivieso R, Oriondo R, Trabucco J. Evaluación de la capacidad antioxidante de extractos acuosos de hojas/raíz de yacón (*Smallanthus sonchifolius*). *An Fac med*. 2011; 72(1): p. S16.
21. Doroteo VH, Díaz C, Terry C, Rojas R. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante *in vitro* de 6 plantas peruanas. *Rev Soc Quím Perú*. 2013; 79(1): p. 13 - 20.
22. Fuenzalida NC. Determinación de la cantidad de fenoles totales y la actividad antioxidante de papas nativas pigmentadas. Tesis. Valdivia - Chile: Universidad Austral de Chile, Departamento de Agronomía; 2008.
23. Sandoval M, Tenorio J, Tinco A, Calderon S. Efecto antioxidante y citoprotector del tocoshde *Solanum tuberosum* "papa" en la mucosa gástrica de animales de experimentación. *An Fac Med*. 2015; 76(1): p. 15 - 20.

24. Contesse B. Evaluación de la peroxidación *in vitro*, a través de las reacciones del MBTH y TBARS. Tesis. Santiago: Universidad de Chile, Ciencias Biológicas Animales; 2010.
25. Castillo EF, Castillo SF, Reyes CE. Estudio fitoquímico de *plukenetia volubilis* L. y su efecto antioxidante en la lipoperoxidacion inducida por  $Fe^{+3}$ /ascorbato en hígado de *rattus var. albinus*. UCV -scientia. 2010 junio; 2(1).
26. Alonso - Carrillo N. Actividad antioxidante de *Satureja macrostema*. Tesis. México: Instituto politecnico Nacional, Departamento de ciencias biológicas; 2009.