

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTOBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA



Actividad antioxidante de cuatro variedades de
Amaranthus caudatus L."Kiwicha". Ayacucho-2014.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICA

PRESENTADO POR LA:

Bach. YANGALI AYALA, Nitma

Ayacucho – Perú

2015

Acta de Sustentación De Tesis

R.D.N° 270-2014-UNSCH-FCB-D

Bach. Yangali Ayala, Nitma

En la ciudad de Ayacucho, siendo las diez y quince minutos de la mañana, del día treinta de diciembre del año dos mil catorce, en el auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, reunidas los profesores Msc cesar Isaías Magallanes Magallanes como presidente en calidad de está ejerciendo el cargo Decano encargado de la Facultad e integrado el jurado evaluador por los profesores Dr. Emilio German Ramírez Roca, Blga Sonia Haydee palomino felices, Mg. Enrique Javier Aguilar felices y Mg Roberta Brita Anaya Gonzales y como secretario docente Blgo Elbert Hermosa Valdivia, con la finalidad de decepcionar en acto público la sustentación de tesis titulada Actividad antioxidante de cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha" Ayacucho- 2014, presentado por la Bachiller en Farmacia y Bioquímica Yangali ayala , Nitma, quien pretende de optar el título profesional de Químico Farmacéutica.

Con la finalidad de dar inicio a la sustentación de la tesis, y constatada la documentación sustentada y contándose en orden, el señor decano encargado y presidente del jurado evaluador, da la autorización para que la sustentante puede dar inicio con su exposición en un tiempo no mayor a cuarentaicinco minutos. Inmediatamente la señorita sustentante da inicio a su exposición, en forma bastante clara, inicialmente presenta sus agradecimiento a la universidad, docentes y compañeros de estudios, así como a sus familiares.

Concluida la sustentación realizada, el presidente del jurado evaluador, invita a los docentes puedan realizar las preguntas o aclaraciones que crean necesarias; a las mismas que la sustentante da respuesta en forma satisfactoria.

Terminado esta parte el señor presidente del jurado evaluador, invita a la sustentante y público asistente, para que puedan desocupar el auditorio en forma momentánea con la finalidad de que los miembros del jurado evaluador puedan realizar las discusiones necesarias, así como realizar la calificación respectiva, dando el siguiente resultado.

Miembro jurado	exposición	pregunta	promedio
Msc. César Isaías Magallanes Magallanes	16	15	16
Dr. Emilio German Ramírez Roca	17	17	17
Blga. Sonia Haydee Palomino Felices	18	17	18
Mg. Enrique Javier Aguilar Felices	17	17	17
Mg. Roberta Brita Anaya Gonzales	16	16	16
		Promedio	17

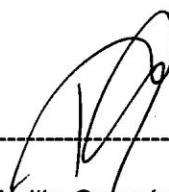
De la calificación que realizaron los miembros del jurado evaluador, se obtuvo la nota promedio de diecisiete (17), la misma que es aprobatoria, invitándose a la sustentante y público asistente, para que puedan ingresar al auditorio con la finalidad de dar a conocer

la nota resultante en forma pública, así como impone la medalla en reconocimiento a la nueva profesional, así como realizar la juramentación respectiva.


Culminando la exposición con la firma al pie del presente acta, por parte de los miembros del jurado evaluador dando la conformidad al acto, siendo las doce con cinco minutos del día.



Msc. Cesar Isaias Magallanes Magallanes




Dr. Emilio Germán Ramírez Roca



Blga. Sonia Haydee Palomino Felices



Mg. Enrique Javier Aguilar Felices



Mg. Roberta Brita Anaya González



Blgo Elbert Hermoza Valdivia

Con mucho amor y cariño a mis padres:
Joel y María. A mis dos hermanos: Joel
y David, por ser parte de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, *Alma Mater* forjadora de excelentes profesionales al servicio de la sociedad y del país.

A la Facultad de Ciencias Biológicas y en especial a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica y a sus docentes por sus enseñanzas y dedicación, con el objeto de transmitir conocimientos e inculcar valores, para mantener siempre en alto el nombre de la profesión y servir a la sociedad.

Al Mg. Enrique Aguilar Cólides y la Q.F. Roxana León Arones, asesores del presente trabajo de investigación quienes me brindaran su valiosa colaboración y acertada dirección en el desarrollo de este trabajo de investigación.

Asimismo, expreso mi gratitud a Pelayo Quispe Fernández y a todas aquellas personas que de una u otra forma me brindaran su apoyo, sugerencias y consejos durante la realización del presente trabajo de investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vii
RESUMEN	Viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes del problema	3
2.2. <i>Amaranthus caudatus</i> L. "kiwicha"	4
2.2.1. Clasificación sistemático	4
2.2.2. Descripción botánica	5
2.2.3. Composición química	6
2.2.4. Usos y propiedades medicinales	7
2.3. Compuestos fenólicos y clasificación	8
2.3.1. Ácidos fenólicos	9
2.4. Flavonoides	10
2.5. Radicales libres	11
2.6. Estrés oxidativo	16
2.7. Antioxidantes	17
III. MATERIALES Y METÓDOS	19
3.1. Ubicación	19
3.2. Materiales	19
3.2.1. Población	19
3.2.2. Muestra	19
3.3. Diseño metodológico	20
3.4. Análisis estadístico	22
IV. RESULTADOS	23
V. DISCUSIÓN	29
VI. CONCLUSIONES	33
VII. RECOMENDACIONES	35
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	37
ANEXOS	43

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Características importantes de la variedad taray de <i>Amaranthus caudatus</i> L. "kiwicha"	5
Tabla 2. Características importantes de la variedad morocho ayacuchano de <i>Amaranthus caudatus</i> L. "kiwicha"	6
Tabla 3. Características fundamentales de la variedad Oscar Blanco y centenario de <i>Amaranthus caudatus</i> L. "kiwicha"	6
Tabla 4. Composición química de <i>Amaranthus Caudatus</i> L. "kiwicha".	7
Tabla 5. Antioxidantes enzimáticos	18
Tabla 6. Antioxidantes no enzimáticos	18
Tabla 7. Determinación cualitativa de metabolitos secundarios presentes en el extracto metanólico de cuatro variedades de <i>Amaranthus caudatus</i> L. "kiwicha".	25

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estructura química de fenoles simples	9
Figura 2. Estructura química de ácidos fenólicos.	10
Figura 3. Estructura química de ácidos cinámicos.	10
Figura 4. Estructura básica del esqueleto flavonólico	11
Figura 5. Formación del radical libre hidroxilo	13
Figura 6. Determinación de fenoles totales de cuatro variedades de <i>Amaranthus caudatus</i> L. "kiwicha".	26
Figura 7. Capacidad secuestradora de radicales libres de DPPH en extractos de cuatro variedades de <i>Amaranthus caudatus</i> L. "kiwicha".	27

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Constancia de <i>Herbarium Huamangensis</i> de la UNSCH.	45
Anexo 2. Fotografía del Tamizaje fitoquímico con cloruro férrico y ninhidrina	46
Anexo 3. Flujograma de cuantificación de fenoles de <i>Amaranthus caudatus</i> L. "kiwicha".	47
Anexo 4. Cuatro variedades de <i>Amaranthus caudatus</i> L. "kiwicha".	48
Anexo 5. Reactivos para determinar los fenoles totales.	49
Anexo 6. Determinación de fenoles totales <i>Amaranthus caudatus</i> L. "kiwicha".	50
Anexo 7. Preparación de los estándares de ácido cafeico.	51
Anexo 8. Curva de calibración de ácido caféico.	52
Anexo 9. Extracto y determinación con DPPH de <i>Amaranthus caudatus</i> L. "kiwicha".	53
Anexo10. Determinación de la actividad antioxidante de <i>Amaranthus caudatus</i> L. "kiwicha".	54
Anexo 11. Promedio de la actividad antioxidante de <i>Amaranthus caudatus</i> L. "kiwicha".	55
Anexo 12. Varianza del porcentaje de actividad antioxidante	56
Anexo 13. Curva espectral del extracto de <i>Amaranthus caudatus</i> L. "kiwicha".	57
Anexo 14. Curva espectral del extracto de <i>Amaranthus caudatus</i> L. "kiwicha".	58
Anexo 15. Curva espectral de estándares que contienen compuestos fenólicos.	59
Anexo 16. Matriz de consistencia	61

RESUMEN

Los radicales libres son responsables de muchos procesos patológicos, involucrado en la aparición de enfermedades como el cáncer, la hipertensión, la diabetes, entre otras. Estos son neutralizados por los antioxidantes. Los compuestos fenólicos de origen natural han demostrado ser potentes antioxidantes, por eso es importante la búsqueda de fuentes de compuestos fenólicos. El *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha", contiene compuestos fenólicos, por tanto, el presente trabajo de investigación se realizó con el objetivo de determinar la actividad antioxidante de las variedades taray, morocho ayacuchano, centenario y Oscar Blanco, proporcionadas por el Instituto Nacional de Investigación y Experimentación Agraria – Ayacucho. La investigación se realizó en el Laboratorio de Farmacognosia del Área Académica de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de agosto a noviembre del 2014. Los compuestos fenólicos fueron extraídos por soxhlet, cuantificados por el método de Folin – Ciocalteu y la actividad antioxidante por el método de la actividad secuestradora del (1.1- difenil-2 picril hidrazilo), las diferencias de actividad fueron contrastadas por el análisis de varianza. La variedad taray mostró mayor contenido de compuestos fenólicos con un 80,69 mg%, seguido de morocho ayacuchano con 79,72 mg%, centenario con 64,12 mg% y Oscar Blanco 54,42 mg% respectivamente. Las variedades morocho ayacuchano y taray mostraron mejor actividad antioxidante con un 42% y 38,9 % de capacidad secuestradora respectivamente. Se concluye que las variedades morocho ayacuchano y taray de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha" tuvieron mejor actividad antioxidante que las variedades centenario y Oscar Blanco.

Palabras clave: *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha", actividad antioxidante, radical libre, compuestos fenólicos, flavonoides.

I. INTRODUCCIÓN

La participación de radicales libres es cada día más creciente en patologías de interés médico-social. Por causas ambientales (radiación), así como por la ingesta de algún contaminante o incluso como consecuencia de nuestro propio metabolismo, surgen algunas moléculas que nos puedan provocar daño. A estas se le conoce como especies reactivas de oxígeno (EROs) y especies reactivas de nitrógeno (ERNs), algunas tienen el carácter químico de ser radicales libres (RL), cuyas entidades bioquímicas en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración espacial que genera una alta inestabilidad con una enorme capacidad para combinarse con la diversidad de moléculas integrantes de la estructura celular: carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y derivados de cada uno de ellos, provocando importantes alteraciones funcionales¹. El estrés oxidativo está causado por un desequilibrio entre la producción de radicales libres y las defensas antioxidantes del organismo responsables de la detoxificación de dichos radicales². Los fenoles poseen un amplio espectro de actividades bioquímicas como antioxidantes, antimutagénica, anticancerígenos. Los tres grupos más importantes son los flavonoides, los ácidos fenólicos y los polifenoles; siendo el primero uno de los más estudiados³. Además los compuestos fenólicos son metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas y actúan como agentes protectores frente a patógenos, siendo secretados como mecanismo de defensa a condiciones de estrés; tales como infecciones, radiaciones UV, entre otros. La investigación sobre la inhibición de éstos, es de mucha importancia para poder ayudar a un mejor tratamiento de las enfermedades relacionadas con la generación de radicales libres.

Una de las alternativas para sustituirlos son los fenoles y compuestos fenólicos presentes en *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha". Es una planta comúnmente cultivada durante el tiempo de los incas y otras culturas anteriores en el Perú. Las variedades de interés son: Oscar Blanco, taray, centenario y morocho ayacuchano. La "kiwicha" junto a otros granos andinos como la "quinua" y la "cañihua" constituyen la fuente natural de proteína vegetal económica; son altamente nutritivos y se caracterizan por su alto contenido de proteínas de calidad (14%- 22%)⁴ y compuestos fenólicos.

Por lo que se planteó los siguientes objetivos:

Objetivo general

Evaluar la capacidad antioxidante de cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha".

Objetivo específico

Cuantificar fenoles totales de las cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha".

II. MARCO TEÓRICO

1.1. ANTECEDENTES

Vishwa *et al.* (2014), realizaron el análisis fitoquímico de *Amaranthus hybridus* y *Amaranthus caudatus*. Reportando en el extracto etanólico de *Amaranthus hybridus* taninos, esteroides, flavonoides, tri-terpenos, azúcares reductores y en el extracto con acetato de etilo, esteroides y flavonoides. En el extracto etanólico de *Amaranthus caudatus* se hallaron saponinas, taninos, esteroides, flavonoides, triterpenos, aminoácidos, azúcares reductores y los resultados negativos a alcaloides, glucósidos cardíacos y con acetato de etilo fue positivo para saponinas y glucósidos cardíacos⁵.

Garrido *et al.* (2013), determinaron fenoles, flavonoides totales y actividad antioxidante en hojas de *Lampaya medicinalis* F. Phil, mediante el método Folin Ciocalteu, en la muestra por maceración en metanol (LM-M), obtuvieron mayor concentración de fenoles ($5807,9 \pm 340,0$ mg equivalentes de ácido gálico/100g muestra seca), en la muestra por decocción (LM-Dx), presentó mayor concentración de flavonoides ($136,0 \pm 5,5$ mg equivalentes de quercetina / 100g muestra seca) y los mejores resultados para el método de DPPH fueron de los extractos LM-M y LM- Dx ($CI_{50}=24,9 \pm 3,6$ y $24,1 \pm 2,7$ ug/ mL, respectivamente⁶.

Palomino *et al.* (2009), determinaron el contenido de fenoles totales por el método de Folin – Ciocalteu y la actividad antioxidante por el método del 1,1 – difenil–2–picril–hidrazilo (DPPH) del extracto etanólico de propóleos. Reportaron que los compuestos fenólicos están en el rango de $22,11 \pm 0,54$ y $75,22 \pm 1,35$ mg de ácido gálico/g de extracto etanólico de propóleos y la actividad antioxidante varía entre $455,50 \pm 7,80$ y $1,09 \pm 17,30$ μ mol de Trolox/g (TE/g) del extracto etanólico de propóleos respectivamente⁷.

Castañeda *et al.* (2008), evaluaron la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas, por el método del radical 2,2- difenil -1-picril hidrazilo (DPPH), obteniendo para “canela” 97.59%, “lagarto caspi” 99,76%, “camu camu”

98,09%, "muña" 92,41%, "hiporuro" 100,57%, "yacón", 95,55% y "maca" 88,21%, en comparación de ácido ascórbico (vitamina c) que presentó una actividad antioxidante en promedio de 92,82%⁸.

Repo *et al.* (2008), determinaron la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de cereales andinos: "quinua" (*Chenopodium quinoa*), "kañiwa" (*Chenopodium pallidicaule*) y "kiwicha" (*Amaranthus caudatus*), reportando mayor contenido de fenoles en "quinua" en la variedad PIQ031046 (139,94 mg ácido gálico/100g); en "kañiwa" fue la variedad "leghepito" (85,71 mg ácido gálico/100g) y "kiwicha" fue el de la variedad A00254 (30,41 mg ácido gálico/100g). La mayor capacidad antioxidante en la fracción hidrofílica medida por el radical DPPH en la "quinua" fue la variedad PIQ031046 (2400,55 µg Trolox /g), en la "kañiwa" fue la variedad puka "kañiwa" (1509,80 µg Trolox /g), y en la "kiwicha" fue la variedad A0011 (660,37 µg Trolox /g)³.

2.2. *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha"

2.2.1. Clasificación Sistemática

Según criterio de clasificación de Cronquist. A. 1988

División	: Magnoliophita
Clase	: Magnoliopsida
Sub clase	: Caryophyllidae
Orden	: Caryophyllales
Familia	: Amaranthaceae
Género	: <i>Amaranthus</i>
Especie	: <i>Amaranthus caudatus</i> L.
Nombre vulgar	: "kiwicha", "achita"

Fuente: Constancia emitida por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (Anexo1).

2.2.2. Descripción botánica

Esta es una planta dicotiledónea que alcanza gran desarrollo y elevada altura en los suelos fértiles, llegando en algunos casos hasta 2,6 m. Su ciclo vegetativo varía entre 120 a 170 días, dependiendo de la variedad y de los factores agroambientales y cultivares utilizados. Las hojas son simples, enteras con

nervaduras pronunciadas en el envés, de formas variables desde lanceoladas, elípticas y romboidales; la longitud varía entre 6,5 cm a 14 cm; la coloración del haz es variable de acuerdo al ecotipo, verde intenso, rojo o púrpura; el peciolo es largo y también de variados colores. La inflorescencia, llamada también panoja, sin flor terminal, de crecimiento apical, es grande y de colores variados como: amarillo, rojo, púrpura, dorado, toma diferentes actitudes frente al tallo: las flores masculinas se hallan en los dicasios primarios, aunque también en los secundarios, con dos tépalos externos y tres internos. El tallo es generalmente fibroso, con fibras elásticas y esponjosas, que le permiten ceder sin romperse a la presión de vientos fuerte; el color varía de acuerdo al ecotipo, entre el verde claro y el encarnado. La raíz principal de la planta puede alcanzar una profundidad de 180cm. El fruto es un pixidio (una capsula de dehiscencia transversal). Las semillas son elípticas redondeadas (lenticulares), lisas, de borde convexo o afilado, opaco o semitranslucido, de color diferente según el ecotipo: negro, castaño, blanco, blanco rosado, blanco amarillento y dorado, de 1,0 a 1,3 mm de espesor. Un gramo de semilla contiene aproximadamente de 800 a 1600 semillas⁹. Las variedades más conocidas de *Amaranthus Caudatus* L. "kiwicha".

Tabla 1. Características fundamentales de la variedad taray:

Altura de planta a la floración	: 150 cm
Forma de la inflorescencia apical	: Panoja
Color de la inflorescencia	: Rojo
Color de semilla	: Amarillo claro
Tipo de cubierta	: Opaca
Forma de semilla	: Redonda
Días a la floración	: 120
Peso de mil semillas	: 1.10 g
Capacidad de reventado de la semilla	: 97%

Fuente: Estrada y Gutiérrez⁹.

Tabla 2. Características fundamentales de la variedad morocho Ayacuchano

Habito de crecimiento	:erecto
Color de la inflorescencia	:rosado crema
Color de tallo a la madurez	:rosado claro
Longitud de panoja	: 40 a 60 cm
Color de semilla	:amarillo claro
Tipo de cubierta	:translucida
Forma de semilla	:ovoide
Días a floración	: 95
Altura de la planta	:220 cm

Fuente: Estación Experimental Agraria Canaan Ayacucho¹⁰.

Tabla 3. Características fundamentales de la variedad Oscar Blanco y centenario

Variedad	oscar blanco	centenario
Color de inflorescencia	rojo	verde
Apariencia	Granos pequeños esférico	Granos pequeños esférico
Color de grano	Crema	crema
Sabor	Característico del producto	Característico del producto
olor	Característico del producto	Característico del producto
humedad	12,0% Max	12,0% Max
saponina	Libre	libre

Fuente: Especificaciones técnicas- harina de kiwicha¹¹.

2.2.3. Composición química

El *Amaranthus caudatus*, presenta metabolitos secundarios como: fenoles, saponinas, taninos, flavonoides, Triterpenoides, azúcares reductores, y aminos).^{5,12,13}. Los metabolitos primarios son: magnesio, zinc, cobre y manganeso, incluyendo la vitamina A, vitamina K, vitamina B6, vitamina C, y folato, así como minerales de la dieta. Los compuestos de amaranto pueden mejorar el crecimiento y el desarrollo humano, mejorar la salud en general, y

reforzar la respuesta inmune a combatir las enfermedades producto de radicales libres^{9, 12}.

Tabla 4. Composición química de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha" por 100g de parte comestible y en base seca⁹.

Características	Contenido (g /100 g)
Proteína	12 – 19
Carbohidratos	71,8
Lípidos	6,1- 8,1
Fibra	3,5- 5,0
Cenizas	3,0- 3,3
Energía	391
Calcio	130- 164
Fosforo	530
Potasio	800
Vitamina C	1,5

Otros: Hierro, tiamina, riboflavina, niacina, ácido ascórbico.

Fuente: Estrada y Gutiérrez⁹.

2.2.4. Usos y propiedades medicinales

La "kiwicha" es especialmente benéfica para la gente con necesidades continuas o frecuentes de proteínas y de calcio, como mujeres embarazadas, mujeres lactantes, o niños, o aquellos que desempeñan trabajos físicos pesados¹⁴.

La infusión de la panoja de esta especie se utiliza como astringente para inhibir las hemorragias vaginales. En la región de Piura (Perú) se considera que la "kiwicha" es buena para los bronquios y especialmente para tratar tuberculosis y problemas de los pulmones. En Venezuela, donde la "kiwicha" es conocida como hierba "caracas" o "pira" favorece el desarrollo mental: se toman dos tazas de una infusión fuerte al día o se comen las hojas con las ensaladas¹⁵.

En Ecuador se utiliza la infusión de las hojas y/o inflorescencia como antidiarreico y antihelmíntico, en forma de gargarismo se indica en amigdalitis y sangrado de encías. En las Islas Canarias se utiliza la infusión de las partes aéreas como diurético¹⁴.

2.3. COMPUESTOS FENÓLICOS

Los compuestos fenólicos son sustancias químicas con estructura que consiste en un núcleo aromático con al menos un sustituyente hidroxílico libre o sustituido. Se diferencian de otros compuestos, que también poseen esta estructura fenólica (monoterpenos), en su origen biosintético¹⁶.

Los compuestos fenólicos, constituyen una de las principales clases de metabolitos secundarios de los vegetales, con diversas funciones fisiológicas. Entre otros, intervienen en el crecimiento y reproducción de las plantas y en los procesos defensivos, (patógenos, depredadores, incluso radiación ultravioleta). Comprenden desde moléculas simples como los ácidos benzoicos hasta polímeros complejos como las ligninas. Dentro de cada familia, el número de compuestos fenólicos existentes, serán más o menos variado. Por ejemplo, se conocen más de 400 flavonoides diferentes, distribuidos en diversas subfamilias¹⁷.

2.3.1. CLASIFICACION DE COMPUESTOS FENÓLICOS

Los compuestos fenólicos presentan un numeroso grupo ampliamente distribuido en la naturaleza. Son componentes importantes en la dieta humana, el consumo promedio de fenoles en los países europeos se estima en 23 mg/día. Existe un interés creciente en los compuestos fenólicos debido a su efecto contra algunas enfermedades como ciertos cánceres y desordenes cardíacos derivados de su poderosa actividad antioxidante¹⁸.

Los compuestos fenólicos poseen una estructura química especialmente adecuada para ejercer una acción antioxidante actuando como captores de radicales libres neutralizando peligrosas especies reactivas de oxígeno e iones metanólicos quelantes. Además, debido a su reactividad, forman polímeros, encentrándose en la mayoría de los casos combinadas con un ácido orgánico; un azúcar¹⁶.

Al clasificar los compuestos fenólicos según su complejidad química, encontramos los siguientes grupos:

- Fenoles simples
- Ácidos fenólicos
- Acetofenonas y ácidos fenil acéticos
- Cumarinas
- Benzofenonas y estilbenos
- Xantonas

- Flavonoides

Como consecuencia de la gran variedad de compuestos fenólicos presentes en la naturaleza, las propiedades y aplicaciones de los fenoles varían, existiendo algunos con efectos tóxicos sobre los organismos vivos y otros con efectos beneficiosos para la salud¹⁶.

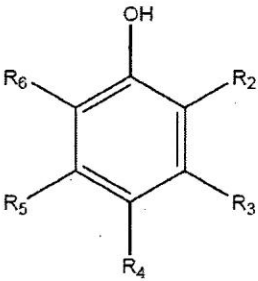
Fenoles simples; C ₆	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	
	H	H	H	H	H	Fenol
	H	Cl	H	H	H	3-clorofenol
	H	H	Cl	H	H	4-clorofenol
	H	CH ₃	H	H	H	m-cresol
	H	H	CH ₃	H	H	p-cresol
	Cl	H	Cl	H	H	2,4-diclorofenol
	NH ₂	H	H	H	H	2-nitrofenol
	H	H	NH ₂	H	H	4-nitrofenol

Figura 1. Estructura química de fenoles simples¹⁶.

2.3.2. ACIDOS FENÓLICOS

La estructura química de este grupo de compuestos fenólicos consta de un anillo aromático y un grupo hidroxílico comunes a todos los compuestos fenólicos y de un grupo carboxílico. A diferencia del grupo anterior, dentro de éste se encuentran muchos compuestos con interés terapéutico, son los derivados del ácido benzoico (C6-C1) y del ácido cinámico (C6-C3). Los derivados del ácido cinámico son abundantes en la naturaleza en forma libre (ácido cumárico, ácido caféico) o esterificados con azúcares (ácido cafeil-tartárico), ácido quínico (ácido clorogénico), etc. Los derivados del ácido benzoico son abundantes en la naturaleza fundamentalmente en forma libre, como ácidos (ácido vanílico, ácido gálico) o aldehídos (vanillina, anisaldehído). Entre las plantas medicinales que poseen ácidos fenólicos se encuentran la equinácea con propiedades inmunostimulantes y la alcachofa con actividad colerética¹⁶.

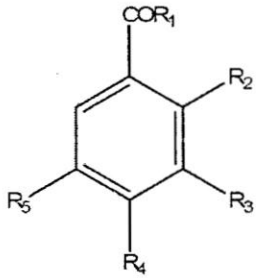
Ácidos Benzoicos; C ₆ -C ₁	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	
	OH	H	OH	OH	OH	Ácido gálico
	OH	OH	H	H	H	Ácido salicílico
	OH	H	OH	OH	H	Ácido protocatéquico
	OH	H	OCH ₃	OH	H	Ácido vanílico
	OH	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	Ácido siringico
	H	H	OCH ₃	OH	H	Vanillina
	H	H	H	OCH ₃	H	Anisaldehído

Figura 2. Estructura química de ácidos fenólicos¹⁶.

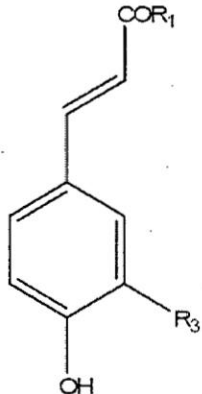
Ácidos Cinámicos; C ₆ -C ₃	R ₁	R ₃	
	OH	OH	Ácido caféico
	OH	H	Ácido p-cumárico
	OH	OCH ₃	Ácido ferúlico
	Ácido tartárico	OH	Ácido cafeil-tartárico
	Ácido quínico	OH	Ácido clorogénico

Figura 3. Estructura química de ácidos cinámicos¹⁶.

2.4. FLAVONOIDES

Los flavonoides, uno de los dos grandes grupos de compuestos fenólicos junto con los ácidos fenólicos, son un grupo extenso de compuestos derivados del benzo-γ-pirano. Poseen varios grupos hidroxilos enlazados a estructuras anulares, C₆-C₃-C₆, designadas como A, B y C (Fig. 4.). Dependiendo del grado de oxidación y de sustitución del anillo pirano central pueden subdividirse en flavonas, flavonoles, flavononas, isoflavonas, flavanos y antocianinas. El anillo pirano puede ser abierto (chalconas) y reciclado en un anillo furano (auronas)¹⁹.

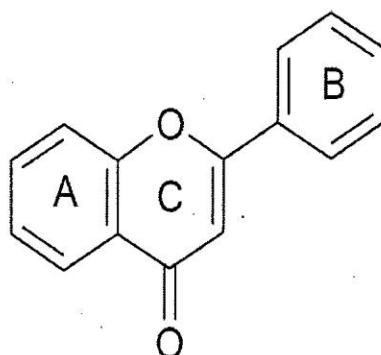


Figura 4. Estructura básica del esqueleto flavonólico¹⁹.

Está comprobado que los flavonoides son importantes para el desarrollo y buen funcionamiento de las plantas al protegerlas contra agentes agresores externos, como la radiación UV, microorganismos, animales herbívoros y del medio ambiente. Pueden actuar como señalizadores químicos, indicando a los insectos que planta es apropiada para su alimentación, o simplemente guiándolos y facilitando así la polinización¹⁹.

En su relación con el hombre, se utilizan para tratar enfermedades relacionadas con procesos inflamatorios y desordenes cardiovasculares debido a la actividad que ejercen sobre el sistema circulatorio mejorando la circulación periférica, la movilización del colesterol y disminuyendo la fragilidad capilar. Algunos flavonoides pueden presentar actividad hepática protectora, antialérgica, antitrombótica, anticancerígena, antibacteriana, antifúngicas, e incluso pueden ejercer efectos inhibidores sobre algunas enzimas¹⁹.

Otra de las propiedades de los flavonoides es su capacidad para contribuir a las propiedades de los alimentos, como el sabor o la dulzura. Utilizados en la industria de los cosméticos por su actividad desodorante y reductora de la hiperpigmentación causada por la vejez¹⁹.

2.5. RADICAL LIBRE

Se considera radical libre o especie reactiva de oxígeno aquella molécula que en su estructura atómica presenta un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración que genera una alta inestabilidad²⁰.

La vida biológica media del radical libre es de microsegundos. Tienen la capacidad de reaccionar con todo lo que este a su alrededor provocando un gran daño a las moléculas e integrantes de la estructura celular: carbohidratos,

lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y derivados de cada uno de ellos, cuando éstas son atacadas por radicales libres, se altera su estructura molecular. Tales reacciones pueden causar una cascada de radicales libre atacando y dañando otras moléculas aledañas, continuando así una reacción en cadena. Los radicales libres no son intrínsecamente malos, de hecho, nuestro propio cuerpo los fabrica en cantidades moderadas para luchar contra bacterias y virus, que son neutralizados fácilmente por nuestro propio organismo, por enzimas (como la catalasa o la superóxido dismutasa). El problema para nuestras células, se produce cuando se da un exceso sostenido (durante años) de radicales libre en nuestro sistema²¹.

También puede ser producto por contaminaciones externos que penetran en nuestro cuerpo como: la contaminación atmosférica, el humo del tabaco, los herbicidas, pesticidas o ciertas grasas son algunos ejemplos de elementos que generan radicales libres que ingerimos o inhalamos. Los científicos creen que los radicales libres también podrían contribuir en muchas enfermedades y a la aceleración de los signos de envejecimiento. Entre los radicales libres tenemos a los derivados del oxígeno, al radical alcoxilo (RO·), peróxido (ROO·), óxido nítrico (NO·) y al ozono (O₃)²².

2.5.1. ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO (ERO) Y NITRÓGENO (ERN)

El oxígeno es indispensable para los organismos aeróbicos, pero a su vez es potencialmente tóxico para todos los seres vivos. El oxígeno molecular (O₂) tiene dos electrones no apareados en su orbital externo, su reactividad resulta de esta propiedad biradical. Debido a su labilidad química, puede dar origen a ERO, que engloban radicales libres como el anión superóxido (O₂⁻), el anión peróxido (O₂²⁻), el radical perhidroxilo (HO₂·), el radical hidroxilo (H₂O₂·), el oxígeno singulete (¹O₂), el ozono y el ácido hipocloroso (HClO)²³.

2.5.2. PRODUCCIÓN BIOLÓGICA DE RADICALES LIBRES DERIVADOS DEL OXÍGENO.

El oxígeno es un elemento imprescindible para la vida, pero es fuente de radicales libre, que si no se neutralizan de forma adecuada pueden tener efectos deletéreos sobre la función celular²³.

Los radicales libres son producidos por funciones celulares normales o bien pueden ser inducidos por diferentes factores ambientales o fisiológicos como son: las radiaciones ionizantes, radiación ultravioleta, ejercicio físico extenuante, o por descenso de la capacidad de los sistemas endógenos antioxidantes.

Dentro de estos radicales libres se incluyen el radical hidroxilo (OH), el anión superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), y el óxido nítrico (NO). Estas especies, debido a su alta reactividad química, pueden conducir a la peroxidación de lípidos, oxidación de algunas enzimas, oxidación y degradación proteica, así como daño mutagénico al ácido desoxirribonucleico (ADN)²⁴.

En condiciones normales las células metabolizan la mayor parte del oxígeno (el 95-98%) hasta agua, sin formación de intermediarios tóxicos, mediante la vía de reducción tetravalente²³.

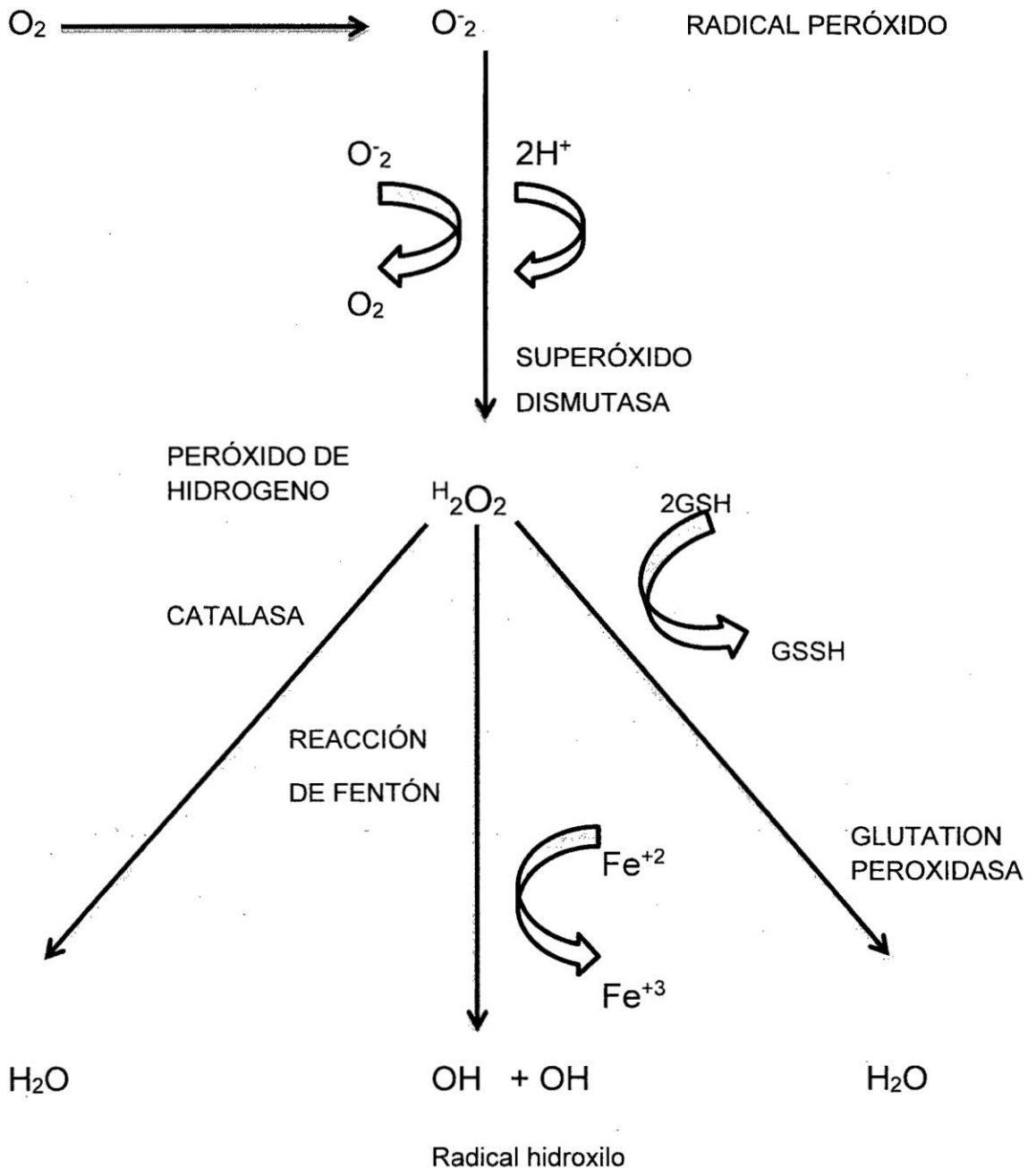


Figura 5. Formación del radical libre hidroxilo²³.

La reducción tetravalente del oxígeno en la mitocondria para producir agua mediante la cadena de transporte de electrones es relativamente segura; no obstante, la reducción univalentes de oxígeno genera EROs, siendo los principales el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el radical aniónico superóxido ($O_2^{\cdot-}$), oxígeno singulete (1O_2), óxido nítrico (NO^{\cdot}), peróxido (ROO^{\cdot}), peroxinitrilo ($ONOO^{\cdot}$) y el radical hidroxilo (OH^{\cdot}), este último extremadamente reactivo¹.

2.5.3. EFECTO DE LOS RADICALES LIBRES EN EL ORGANISMO

Los radicales libres también tienen importantes efectos fisiológicos como la regulación de la respuesta inmunológica de defensa (inactivación de virus y eliminación de bacterias y hongos), en señales de traducción etc., por lo que debemos considerar que son benéficos o tóxicos dependiendo de su concentración y de los mecanismos antioxidantes que los producen. Cuando la formación de radicales libres excede la capacidad de defensa ante ellos, falla el "balance oxidativo" y se produce daño a las moléculas biológicas. El ataque a los grupos funcionales de las proteínas, provoca oxidación de aminoácidos y modificación de las proteínas como fragmentos y agregación²⁵.

1. Protectora

La descarga respiratoria de los fagocitos en actividad, no llena una necesidad energética; sino que está dirigida a la producción de metabolitos de oxígeno, alguno de estos verdaderos radicales, destinados a destruir a las bacterias invasoras fagocitadas, gracias a su poderosa actividad oxidante²¹.

En efecto la infección está comúnmente asociada a la inflamación y este último tipo de daño pueden estar relacionados no sólo con las fuerzas atacantes, sino también, con la actividad de las células defensoras.

2. Injuriante

El anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$) y el radical hidroxilo (OH^{\cdot}), junto con el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) como intermediario entre ambos que no es un radical en sentido estricto. Estos tres metabolitos y particularmente el OH^{\cdot} , son altamente reactivos, por lo tanto tóxicos, fijándose a los componentes estructurales básicos de las células como:

a. Proteínas

Los radicales libres de oxígeno pueden afectar alguna de los residuos de aminoácidos de las proteínas. Se ha descrito que pueden modificar el grupo imidazol o los grupos sulfhidrilo, los que serían de importancia para que diversas enzimas ejerzan acción catalítica, dando lugar a alteraciones enzimáticas de las

permeabilidades iónicas de membrana y la traducción de señales intercelulares e intracelulares y comprometen la función celular. Así tenemos, la disminución consecuentemente de la actividad de $\text{Na}^+ / \text{K}^+\text{ATPasa}^{26}$.

b. Ácidos nucleicos

La intensidad del daño que los radicales libres pueden ocasionar al ADN difiere en razón de la localización de éste, ya que el ADN que se encuentre en la mitocondria está más expuesto a la acción de los radicales libres, debido a que no dispone de las proteínas que podrían ejercer una acción protectora, conforme sucede con el ADN nuclear²⁶.

Los radicales libres derivados del oxígeno y en particular el OH^\bullet , son capaces de fijarse con extraordinaria avidéz a la purina y pirimidina, constitutivas de las bases de ADN, alterando su estructura y produciendo daños importantes en el ADN que puede ser por:

- Rotura y alteración de las bases por hidroxilación particularmente a través del H_2O_2 por la reacción de Fenton. El radical OH^\bullet , sólo o en presencia de H_2O_2 , también produce rotura del ADN.
- Producción de entrecruzamiento entre bandas de ADN; dando lugar a la producción de tumores y enfermedades autoinmunes^{26, 27}.

c. Carbohidratos

Los radicales libres pueden afectar la vía glucolítica por inactivación de la gliceroaldehído-3- fosfato deshidrogenasa y disminución de N- acetil cisteína (NAC^\bullet). La relación de los radicales libres con los azúcares es muy interesante tanto desde el punto de vista bioquímico como clínico; puesto que, existe una enfermedad en la que gran parte de los daños estructurales y síntomas clínicos se pueden explicar por la relación entre los radicales libres, azúcares y proteínas, como es la diabetes.

La glucosa es capaz de autooxidarse y generar radicales libres. Para que esto sucede es absolutamente necesaria la presencia de un metal de transición (cobre y hierro), que catalice la reacción $\text{O}_2^{\bullet -} \longrightarrow \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{OH}^\bullet$, con la ayuda del oxígeno²⁸.

d. Lípidos

Los fosfolípidos de las membranas contienen una gran cantidad de ácidos grasos poli insaturados, muy vulnerables a la peroxidación⁸. Se inicia con la participación de un radical libre que da origen a otros radicales libres. Estos derivan de los lípidos y dan lugar a una reacción en cadena, evento que podría

tener una duración considerable dándose cambios estructurales y rotura de la bicapa constitutiva de todas las membranas celulares; pero este proceso, de propagación es más corto, gracias a la presencia de antioxidantes en la célula²⁸.

a. ESTRÉS OXIDATIVO

En condiciones fisiológicas, en el organismo existe un equilibrio entre las sustancias oxidantes (radicales libres) y las defensas antioxidantes. Cuando se produce un desequilibrio por una mayor producción de sustancias oxidantes, los sistemas antioxidantes del organismo disminuyen y aparece el denominado estrés oxidativo que se caracteriza, por un desequilibrio del balance oxidantes /antioxidantes, a favor de los primeros. Debido a que las defensas no son completamente eficientes, es probable que la formación incrementada de radicales libres en el cuerpo aumente el daño celular. El término de estrés oxidativo se emplea frecuentemente para referirse a este efecto. Si ocurre estrés leve, visualmente los tejidos responden mediante la producción de defensas antioxidantes extras; sin embargo, un estrés oxidativo severo puede originar injuria celular y la muerte².

b. ENFERMEDADES IMPLICADOS POR LA FORMACIÓN DE RADICALES LIBRES

La formación de radicales libres produce el estrés oxidativo y como resultado de este las lesiones tisulares, que están vinculados con más de 100 enfermedades del ser humano y de los animales. En particular parecen ser especialmente susceptibles al daño oxidativo: el pulmón, corazón e hígado por la respiración y el metabolismo, aunque si existe la suficiente cantidad de radicales libres puede lesionar cualquier tejido¹.

Los radicales libres no solamente pueden lesionar directamente los tejidos y producir disfunción orgánica, sino cada vez está más claro en los estudios *in vitro* que los radicales libres también pueden modificar el ADN y producir mutaciones que aumenten el potencial carcinogénico². Entre los procesos y enfermedades tenemos al envejecimiento, procesos broncopulmonares, cardiopatía isquémica, arteriosclerosis, artritis reumatoidea, enfermedades cardiovasculares, enfermedades degenerativas (Alzheimer, Parkinson), cataratas, ulceración gástrica, inflamación, promoción de tumor y cáncer. También está comprometida la diabetes y el sida que crean una sobre producción de radicales libres que empeoren la evolución de la enfermedad²⁴.

Si la enfermedad es producida por exceso relativo de radicales libres debemos disminuirlo, tomando estrategias terapéuticas para establecer el balance oxidantes / antioxidantes y es razonable considerar a los antioxidantes como una clase de agentes terapéuticos.

c. ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes son sustancias químicas que se caracterizan por impedir o retrasar la oxidación de diversas sustancias principalmente de los ácidos grasos cuyas reacciones se producen tanto en los alimentos como en el organismo humano, en el cual puede provocar alteraciones fisiológicas importantes desencadenantes de diversas enfermedades. Otra de las funciones de los antioxidantes es facilitar el uso fisiológico del oxígeno por parte de las mitocondrias celulares, ayudando a reducir los efectos del estrés oxidativo y la falta de oxígeno, formando complejos que mitigan las reacciones productoras de radicales oxidantes también conocidos como radicales libres (moléculas inestables de alta energía con electrones desapareados en sus órbitas exteriores, que tienden a reaccionar con otros compuestos) y por consiguiente desempeñando una función fundamental en la prevención de las enfermedades crónicas no transmisibles. Las sustancias antioxidantes se han clasificado en dos principales sistemas, el sistema enzimático y el sistema no enzimático; también conocidos como endógenos y exógenos respectivamente, los cuales pueden actuar tanto en el espacio intracelular como en el extracelular. El sistema no enzimático está integrado principalmente por sustancias como las vitaminas A, E, C, carotenoides y los minerales selenio y zinc. Se ha documentado científicamente en muchos casos que los antioxidantes son potenciadores de la salud y que su utilización supone entre otras cosas la prevención de enfermedades crónicas y no transmisibles como algunos tipos de cáncer y enfermedades cardiovasculares entre otras, de ahí la importancia del consumo de alimentos con un alto contenido de sustancias antioxidantes como las frutas y vegetales²⁹. Los antioxidantes podemos agrupar:

Tabla 5. Antioxidantes enzimáticos

Antioxidante	Ubicación Celular	Función Fisiológica
Superóxido dismutasa	Citoplasma (SOD-1) Mitocondria (SOD-2) Extracelular (SOD-3)	Dismutación de radicales superóxido.
Glutación peroxidasa	Citoplasma y mitocondria	Elimina el peróxido de hidrógeno y los hidroperóxidos orgánicos.
Catalasa	Citoplasma y mitocondria	Elimina peróxido de hidrógeno.

Tabla 6. Antioxidantes no enzimáticos.

Antioxidante	Función Fisiológica
Vitamina E	Capta los radicales libres en membrana evitando la lipoperoxidación.
Vitamina C	Efecto eliminador de radicales y recicla la vitamina E. Ambas vitaminas C Y E trabajan como antioxidantes.
Glutación	Tiene varios efectos en la defensa antioxidante celular.
Ácido lipoico	Antioxidante eficaz y sustituto eficaz del glutación.
Carotenoides	Antioxidante de lípidos.
Ubiquinonas	Efectos de gran utilidad como antioxidante.
Co Q 10	
Fenoles	Son compuestos con gran actividad antioxidante presentes en frutas, cereales, y hojas de diversas plantas.

Fuente: Clasificación de los antioxidantes²⁴.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. UBICACIÓN

El trabajo de investigación se desarrolló en el Laboratorio de Farmacognosia "Jack Harrison Thiel", del Área Académica de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de agosto a noviembre del 2014.

3.2. MATERIALES

3.2.1. Población:

Cuatro variedades taray, Oscar Blanco, morocho ayacuchano, centenario de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha" que crece en la provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, en el Instituto Nacional de Innovación y Experimentación Agraria (INIA). A una altitud de 2 500- 2 600 msnm.

3.2.2. Muestra

Un kilogramo de cuatro variedades identificados como: taray, Oscar Blanco, morocho ayacuchano, centenario, de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha".

3.2.3. Obtención de la muestra

La obtención de las cuatro variedades identificados como: taray, Oscar Blanco, morocho ayacuchano, centenario de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha", fueron adquiridas del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA); y se almacenó adecuadamente hasta el momento de su procesamiento.

Preparación del extracto metanólico

Se pesaron cinco gramos de cada variedad de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha" previamente molida. Seguidamente fueron sometidas a extracción metanólica, utilizando el aparato soxhlet. Los extractos fueron concentrados en baño maría para luego cuantificar el contenido de fenoles totales el resto del extracto fueron sometidas a la estufa a 40 °C. Después de dos días se obtuvo extracto seco, los cuales se utilizaron para el screening fitoquímico y para evaluar la actividad antioxidante.

3.3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.3.1 Tamizaje fitoquímico

Una vez obtenido el extracto metanólico se realizaron las pruebas pertinentes para la identificación cualitativa de los principales grupos de metabolitos secundarios, directamente sobre el extracto de la planta con reacciones simples específicas de coloración y precipitación³¹.

3.3.2. Cuantificación de contenido de fenoles totales por el método del Folin-Ciocalteu.

Fundamento:

El ensayo de los fenoles totales se realizó por el método de Folin ciocalteu. Donde la oxidación de los fenoles, presentes en la muestra, causa la aparición de una coloración azulada, y se cuantifica por espectrofotometría en base a una recta patrón de ácido cafeico^{17, 18}.

Procedimiento:

1. Transferir un mL del extracto obtenido de cada muestra, en una Fiola de 25 mL que contenga 9 mL de agua destilada.
2. Seguidamente se agregó un mL de reactivo Folin ciocalteu (grado analítico Merck).
3. Se agitó y luego se dejó en reposo por cinco minutos.
4. Posteriormente se adicionó 10 mL de carbonato de sodio al 7%, y se aforó con agua destilada a 25 mL.
5. Después de 90 min en la oscuridad a temperatura de ambiente se procedió a realizar la lectura a una longitud de onda de 550 nm.
6. Para realizar la curva de calibración se usó soluciones de ácido cafeico a concentraciones entre 100-500 µg/ml, preparadas a las mismas condiciones antes mencionadas.
7. Se preparó el blanco a las mismas condiciones que la muestra problema usando un mL de agua destilada.
8. Una vez concluido con el procedimiento se obtuvo las absorbancias a una longitud de onda de 550 nm de los cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha", seguidamente se calculó mediante la curva de calibración del ácido cafeico (Anexo 8), dando como resultado en microgramos por mililitro (ug/mL), siendo estos resultados transformados en miligramos por mililitro (mg/mL) y para determinar el porcentaje fue multiplicado por 100 es de esta manera que los resultados en general fueron

expresadas en miligramos por ciento (mg%) en 5 gramos de muestra para cada variedad de *Amaranthus caudatus*, como podemos observar en la (Figura 6).

3.3.3. Evaluación de la actividad antioxidante

Se utilizó el método de actividad secuestradora del radical libre (1,1- difenil-2 picril hidrazilo)³.

Fundamento:

Uno de los métodos para determinar la capacidad antioxidante es aquel que emplea al radical libre DPPH (1,1- difenil-2- picril hidrazilo), el cual por su estabilidad, es destruido solamente por antioxidantes, de tal manera que el menor compuesto destructor será el mejor antioxidante, La técnica del DPPH que tiene un electrón desapareado y es de color Azul- Violeta, se basa en la desaparición de dicho color hacia el amarillo pálido por la reacción con la sustancia antioxidante, pudiendo cuantificarse la reacción espectrofotométricamente a 519 nm por diferencia de absorbancias, con la que se determina la capacidad del antioxidante^{15, 21}.

Procedimiento:

1. Una solución de DPPH (1,1-difenil-2-picril hidrazilo) en metanol de 20 mg/L.
2. Una solución metanólica de los extractos en una concentración 300 ug/mL (solución A).
3. Un blanco con metanol: agua (2:1) para ajustar el espectrofotómetro a cero.
4. Un blanco de muestra con 0,75 mL de muestra (sol. A) y 1,5 mL de metanol.
5. Un patrón de referencia (estándar) con 1,5 mL de DPPH y 0,75 mL de agua destilada.
6. La muestra con 0,75 mL de solución A y 1,5mL de DPPH, obteniéndose una concentración final de 100 ug/mL, se dejó a temperatura ambiente por cinco minutos y se procedió a la lectura de la absorbancia a 519 nm en un espectrofotómetro (Spectronic 20 D+).
7. Luego se hicieron: las lecturas de las absorbancias del patrón de referencia (1) y del blanco de la muestra (4).
8. La dilución de la solución A (2) con metanol en una proporción de 1:2 (solución B) para obtener una concentración final de 50 ug/mL y en una proporción de 1:10 (solución C) para obtener una concentración final 10ug/mL.

9. Con estas soluciones B y C se procedió igual a lo establecido en los puntos 6 y 7.
10. El cálculo de la capacidad de coloración (capacidad antioxidante de radicales libres) se realizó empleando la siguiente fórmula.

Calculo de la capacidad antioxidante:

$$\% \text{ Actividad secuestradora del DPPH} = \left[\frac{1 - (A_2 - A_3)}{A_1} \right] \times 100$$

A₁: absorbancia del patrón de referencia.

A₂: absorbancia de la muestra.

A₃: absorbancia del blanco de la muestra.

3.4. ANÁLISIS DE DATOS

Los resultados se expresarán en gráficos en forma de histogramas. Las diferencias entre medias fueron contrastadas mediante el análisis de varianza (ANOVA), a un nivel de confianza de 95% (p < 0.05).

IV. RESULTADOS

Tabla 7. Determinación cualitativa de metabolitos secundarios presentes en el extracto metanólico de cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha". Ayacucho-2014.

Metabolito Secundario	Ensayo	Variedades			
		Oscar Blanco	taray	centenario	morocho ayacuchano
Fenoles/taninos	Cloruro férrico	++	++	++	++
Aminas libres	Ninhidrina	+++	+++	+++	+++
Saponinas	espuma	++	++	++	++

Leyenda:

- (-) Ausente
- (+) Escasa
- (++) Buena
- (+++) Excelente

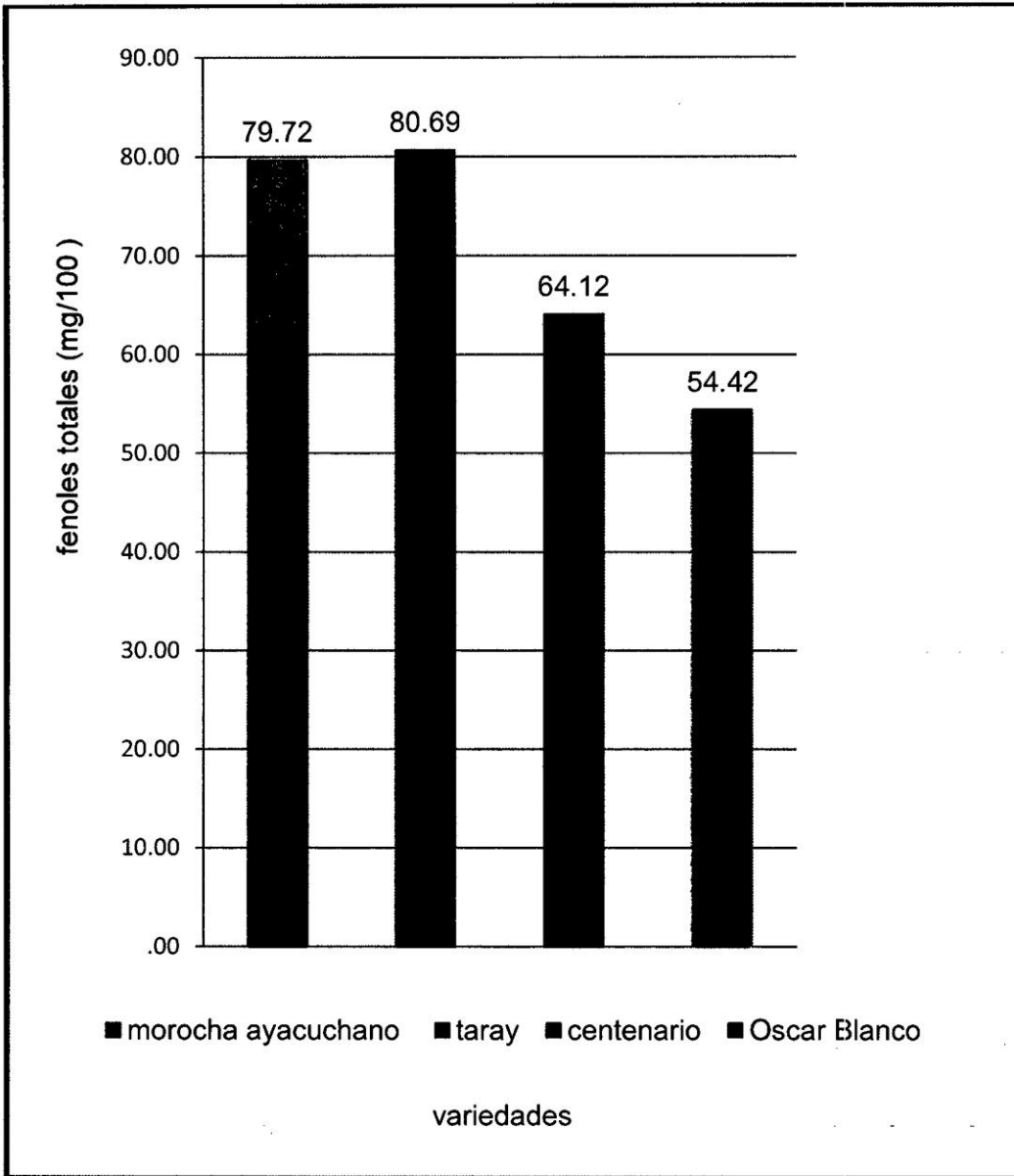


Figura 6. Determinación de fenoles totales por el método Folin ciocalteu de cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha ". Ayacucho -2014.

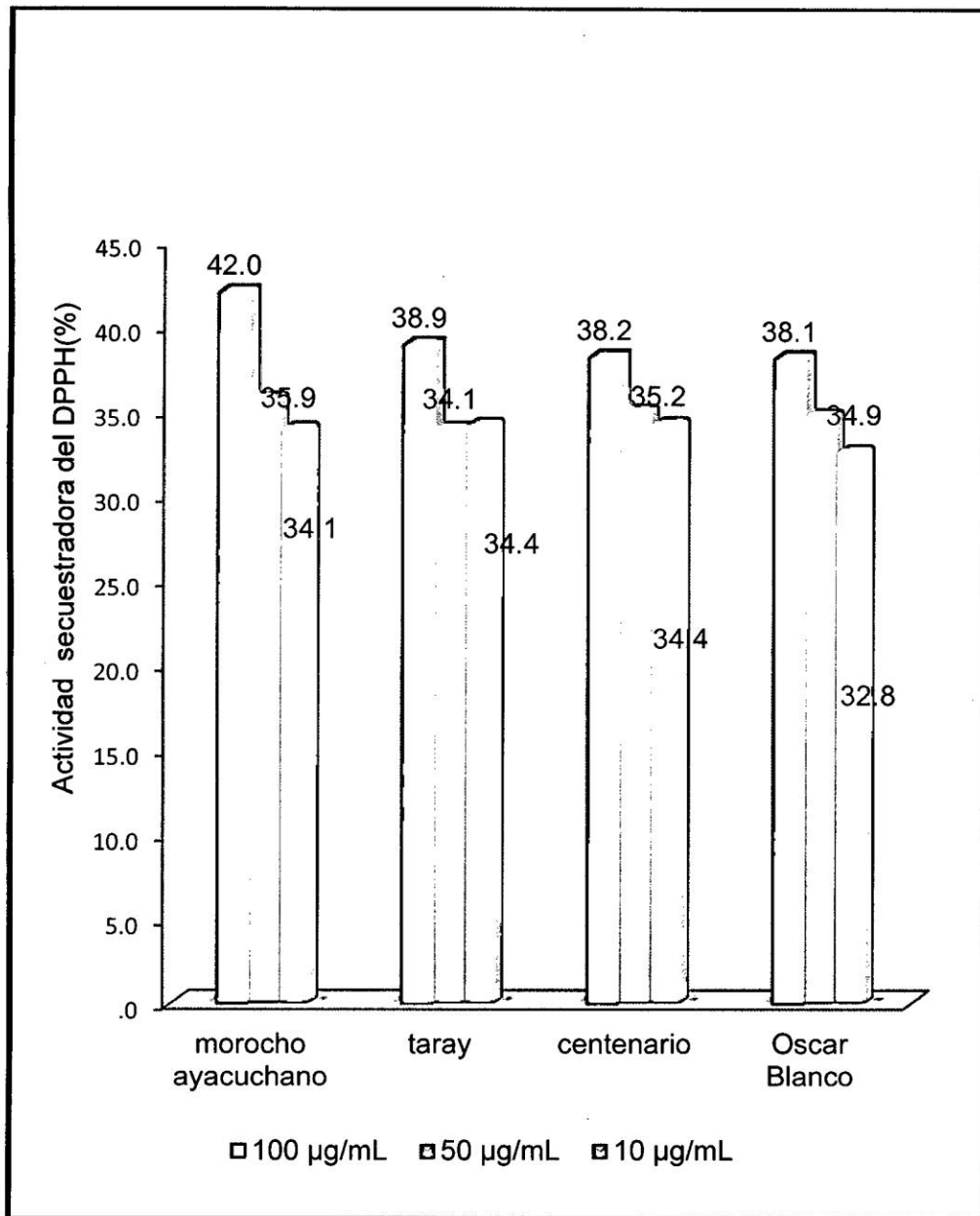


Figura 7. Capacidad secuestradora de radicales libres de DPPH en extractos de cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha ". Ayacucho -2014.

V. DISCUSIÓN

Según la Tabla 7 y Anexo 2, demostramos que el ensayo con cloruro férrico fue positivo con una escala de buena (++), identificando la presencia de fenoles, con el ensayo con Ninhidrina también fue positivo dando una coloración azul violáceo con una calificación de excelente (+++), así mismo para el ensayo de saponinas es positivo con una escala de buena (++), en las cuatro variedades del fruto de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha".

Se utilizó el reactivo cloruro férrico basado en el método de Miranda y Cuellar 2000, para realizar comparaciones con extracto de la muestra y estándares tales como: ácido salicílico, ácido benzoico y vainillina. Dando como resultado la formación de un complejo amarillo, igual al del ácido benzoico (Anexo 2)³¹. mediante el análisis de la curva espectral del extracto de las cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha", se observó a una longitud de 265 nm – 275 nm la presencia de compuestos fenólicos o fenoles derivados del ácido benzoico, este resultado es en comparaciones con la curva espectral de estándares tales como: ácido salicílico, vainillina y ácido benzoico, podemos observar en el (Anexo 13)(Anexo 14) y (Anexo 15).

Almajano 2009, afirma que los resultados varían en función de la especie, variedad y parte del vegetal considerado (frutas, semillas, brotes hojas, etc.) horas de exposición solar, grado de maduración, condiciones de cultivo y la procedencia de la muestra¹⁷.

Los estudios de tamizaje fitoquímico en "beterraga" y "kiwicha", los cuales son previos a las determinaciones cualitativas de los metabolitos secundarios, son importantes porque marcan las pautas para las determinaciones posteriores, tal como publican: Ortiz (2010)¹⁵.

Vishwa *et al.* 2014, realizaron estudios de investigación donde analizaron el tamizaje fitoquímico de dos plantas de *Amaranthus hybridus* y *Amaranthus caudatus*. Encontraron metabolitos secundarios como: saponinas, taninos,

esteroides, flavonoides, triterpenos, aminoácidos, azúcares reductores y los resultados negativos a alcaloides, glucósidos cardíacos en el extracto etanólico de *Amaranthus caudatus* fitoconstituyente y en el extracto con acetato de etilo de *Amaranthus caudatus* fueron positivos para saponinas, glucósidos cardíacos y resultados negativos al resto de los fitoconstituyente⁵.

Hiremath 2012, realizaron estudios del Tamizaje fitoquímico preliminar donde revela la presencia de hidratos de carbono, glucósidos, saponinas, proteínas, aminoácidos, taninos y compuestos fenólicos en diferentes extractos de hojas de *Amaranthus caudatus*. Estos resultados muestran que la planta tiene un número de componentes químicos, que pueden ser responsables para muchas acciones farmacológicas¹³.

En la Figura 6. Podemos observar una gráfica de histogramas donde se muestra el porcentaje de fenoles totales presentes en cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha". El mayor porcentaje de fenoles se encontró en la variedad taray con (80,69mg%), seguido por la variedad morocho ayacuchano con (79,72mg%), la variedad centenario con (64,12 mg%) y el menor porcentaje de fenoles tiene la variedad oscar blanco (54,42 mg%). El porcentaje de fenoles totales presentes en las variedades de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha", fue en 5 gramos de cada muestra respectivamente.

Según Repo y Encina, el 2008, determinaron compuestos fenólicos de cereales andinos: "quinoa" (*Chenopodium quinoa*), "kañiwa" (*Chenopodium pallidicaule*) y "kiwicha" (*Amaranthus caudatus* L.). El mayor contenido de compuestos fenólicos en las quince muestras de "quinua" fue el de la variedad PIQ031046 (139,94 mg ácido gálico/100g); en las once muestras de "kañiwa" fue el de la variedad "leghepito" (85,71 mg ácido gálico / 100g) y en las cinco muestras de "kiwicha" fue el de la variedad A00254 (30,41 mg ácido gálico/100g). comparando con estos resultados, podemos afirmar que el % de fenoles totales en *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha" analizadas en este trabajo de investigación y en otros , fueron más bajos en comparación de "quinua" y kañiwa"³.

Enujiugha *et al*, 2011, al realizar estudios en hojas de calabaza (*Telfairia occidentalis*) y amaranto (*Amaranthus caudatus*), llegaron a una conclusión que el uso de etanol como disolvente para extraer los componentes bioactivos fue más eficiente que el uso de agua destilada, especialmente para fenoles totales y flavonoides. El contenido de fenoles totales, flavonoides, saponinas y alcaloides fueron mayores en el extracto de la hoja de *Amaranthus caudatus* que en el

Extracto de hoja de *Telfairia occidentalis*; mientras que el contenido de taninos condensados fue mayor en *Telfairia occidentalis*. La captación de radicales libres fue mayor en extracto de hoja de *Telfairia occidentalis* que la de *Amaranthus caudatus* y la variación de la capacidad secuestradora de radicales libres fue entre 81 % a 89 % para *Telfairia occidentalis* y para *Amaranthus caudatus* varió de 67 % a 74 %, siendo comparaciones con en el presente trabajo de investigación la cantidad de fenoles totales fue entre 80,69 % de la variedad taray y el menor fue de la variedad de oscar blanco con 54,42 %¹².

En la Figura 7. Observamos el porcentaje de capacidad secuestradora de radicales libres, obtenidos mediante el esquema del (Anexo 10). Donde el extracto metanólico de la variedad morocho ayacuchano, presentó alto porcentaje con (42,00%) a una concentración de 100ug/mL, a 50 ug/mL tiene (35,90%) y a 10 ug/mL tiene (34,10%) de capacidad de inhibición del radical libre DPPH, seguida del –taray con (38,90%) a una concentración de 100ug/mL, y el centenario tiene (38,20%) a una concentración de 100 ug/mL y el menor es el Oscar Blanco con (38,10%) a una concentración de 100ug/mL y a una concentración de 50 ug/mL tiene (34,90%) y a 10 ug/mL tiene (32,80%), mediante el análisis de varianza se expresa la diferencia por concentraciones a un nivel de confianza de 95%($p < 0,05$) verificar en el (Anexo 12).

Ortiz 2010, al realizar estudios sobre la determinación de la actividad antioxidante de raíz de *Beta vulgaris* L. "beterraga", fruto de *Opuntia ficus indica* L. Mill. "tuna" y flores de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha". Las flores de "kiwicha", presentaron alto porcentaje de inhibición del radical libre DPPH (85,65%), seguido de la "beterraga" (48,56%) y la "tuna" (42,53%) a concentración de 100 ug/mL¹⁵. Estos estudios de investigación nos demuestran que el porcentaje de la capacidad secuestradora de radicales libres pueden variar según: el método, la muestra de interés, la cantidad de muestra, el solvente usado y entre otras características¹⁵.

Repo y Encina, el 2008, realizaron estudios de investigación y determinaron la capacidad antioxidante medida por el radical DPPH en compuestos hidrofílicos y lipofílicos. Esta investigación de cereales andinos como: "quinoa", "kañiwa" y "kiwicha". Tiene compuestos fenólicos y actividad antioxidante. Sin embargo la mayor actividad antioxidante en la fase hidrofílica medida por el radical DPPH en las quince muestras de quinua fue el de la variedad PIQ031046 (2400,55 µg Trolox /g), en la "kañiwa" fue la variedad "puka kañiwa" (1509,80 µg Trolox /g), y

en la "kiwicha" fue la variedad A0011 (660,37 μg Trolox /g)³. Evaluando este trabajo de investigación podemos decir que el porcentaje de la capacidad secuestradora de radicales libres es menor en la variedad "kiwicha" en comparación con la "quinua" y "kañiwa", sin embargo todo estos cereales andinos de estudio tienen actividad antioxidante dando como una opción para erradicar la generación de radicales libres y contrarrestar muchas enfermedades patológicas que causan mucho daño a nivel mundial.

En los alimentos los compuestos fenólicos, se presentan conjugados con azúcares, como la glucosa, galactosa, arabinosa, ramosa, xilosa o los ácidos glucorónicos y galacturónicos. También pueden unirse con ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminoácidos y lípidos^{18,32}. El método utilizado para determinar la actividad antioxidante fue por la actividad secuestradora del radical libre DPPH, que nos da confianza y seguridad en los resultados en comparación con otros métodos, ya que es un radical estable, estandarizado y es el más usado actualmente: (Franco E, y, Kuskoski E)^{33,34}.

En su aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos; que la actividad antioxidante es dependiente de la concentración del extracto y la mejor respuesta obtenida, teniendo en cuenta los disolventes aplicados, es una concentración próxima a 0,04 g/mL, y los tiempos de medida empleados son 30 y 60 minutos^{33,34}.

En la actualidad, este grupo de compuestos de origen vegetal, presentan un gran interés nutricional, por su contribución, al mantenimiento de la salud humana. De hecho desde 1990, diversas Organizaciones Internacionales, en el ámbito de la nutrición, recomiendan el consumo de cereales como la "kiwicha", "quinua", "kañiwa", para asegurar una adecuada ingesta de antioxidantes y prevenir enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo.

VI. CONCLUSIONES

1. Al determinar la actividad antioxidante en extracto metanólico de cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L. "Kiwicha", se encontró en morocho ayacuchano 42,0 %, taray 38,9 %, centenario 38,2 % y Oscar Blanco; 38,1 % a una concentración de 100 µg/mL y a una concentración de 50 µg/mL el mayor porcentaje de capacidad secuestradora del radical libre es en morocho ayacuchano con 35,9 % en comparación de taray que tiene 34,1 %.
2. Al cuantificar los fenoles totales en cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha" se encontró en taray 80,69 mg%, en comparación a morocho ayacuchano que tienen 79,72 mg% y el menor porcentaje de fenoles totales fue en Oscar Blanco con 54,42 mg%.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios que permitan identificar y cuantificar los compuestos que se extraen junto a los fenoles, de las variedades de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha".
2. Comparar el contenido de fenoles totales de las cuatro variedades estudiadas de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha". provenientes de diversas áreas geográficas.
3. Cuantificar la actividad antioxidante de las variedades estudiadas de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha". provenientes de diversas áreas geográficas.
4. Realizar ensayos *in vivo* para demostrar la actividad antioxidante de las variedades de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha".

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Valdez A, Mendoza V. Estrés Oxidativo, Diabetes Mellitus y Enfermedad Periodontal. Una revisión sistemática. *Tip. Revista Especializada en Ciencias Químico- Biológicas* [revista en internet]* 2004 [acceso 06 de diciembre del 2012]; 7(2):103-108. Disponible en :
<http://www.redalyc.org/pdf/432/43270206.pdf>.
2. Valdecantos M, Pérez P, Alfredo J. Obesidad y estrés oxidante: papel de la suplementación con antioxidantes de la dieta. Departamento de Ciencias de la Alimentación Fisiología y Toxicología Universidad de Navarra. *Revista de Investigación Clínica*. [revista en internet]*2009. [acceso 06 de diciembre del 2012]; 61 (2):127-139. Disponible en :
http://www.artemisaenlinea.org.mx/acervo/pdf/revista_investigacion_clinica/Obesidad%20y%20estres.pdf.
3. Repo R, Encina Ch. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de cereales andinos: "quinua" (*chenopodium quinoa*), "kañiwa" (*Chenopodium Pallidacaule*) y kiwicha (*Amaranthus Caudatus*). *Revista Sociedad Químico Perú*. [revista en internet]*2008. [acceso 02 de diciembre del 2012]; 74:(2) 85-99. Disponible en:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-34X2008000200004.
4. Mandujano R. Estudios preliminares de los pigmentos presentes en cascara de pitaya (*stenocereus stellatus*) de la región Mixteca. [monografía en internet]. México 2006 [acceso 08 de diciembre 2012]. disponible en:
http://jupiter.utm.mx/Tesis_dig/9816.pdf.
5. Viswa G, Paul M. Comparative study on phytochemical parameters of *Amaranthus caudatus* and *Amaranthus hybridus*. Department of Industrial Biotechnology, Bharath University, Chennai, India. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, [revista en internet]. china 2014 [acceso 05 de noviembre 2014], 6 (3):1462-1465. Disponible en: www.jocpr.com
6. Garrido G, Ortiz M, Pozo P. Fenoles y flavonoides totales y actividad antioxidante de extractos de hojas de *Lampaya medicinalis* F. Phil. Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias, Universidad Católica del Norte, Angamos 0610, Antofagasta, Chile. [revista en internet]* 2012. [acceso 28 de octubre del 2014]; 1(1):30-38. Disponible en:
<http://jppres.com/jppres>.

7. Palomino L, García C, Gil G, Rojano B, Durango D. Determinación del contenido de fenoles y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento de Antioquia (Colombia). VITAE, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia, Medellín. [revista en internet]*2009 [acceso 29 de octubre de 2014] 16 (3): 388-395. disponible en:
http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S012140042009000300013&script=sci_arttext.
8. Castañeda B, Ramos E, Ibáñez L. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. Revista Horizonte Medico. [revista en internet]*2008 julio [acceso 08 de junio de 2013] 8 (1). disponible en:
http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/rev_academia/2008_n1/pdf/a11v15n1.pdf
9. Estrada R, Gonza V, Gutiérrez J. Instituto Nacional de Innovación Agraria. Programa Nacional de Innovación Agraria en cultivos Andinos. Estación Experimental Agraria Andenes cusco. Editorial imprenta Fénix calle Carmen Kijllu 268- cusco: 2011.p.2-39.
10. Ministerio de agricultura INIA (Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria). Estación Experimental Agraria Canaán Ayacucho. Folleto informativo de kiwicha- INIA 413 "morocho ayacuchano.
11. Especificaciones técnicas-kiwicha orgánica. Pág. ½. [monografía en internet]*2014. [Acceso 01 de noviembre del 2014]; Disponible en: [file:///C:/Users/hpamd/Downloads/ET_KIWICHA%20\(ESP\)%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/hpamd/Downloads/ET_KIWICHA%20(ESP)%20(1).pdf)
12. Enujiugha N, Oluwole F, Talabi Y, Okunlola I. Selected Bioactive Components in Fluted Pumpkin (*Telfairia occidentalis*) and Amaranth (*Amaranthus caudatus*) Leaves. Department of Food Science and Technology, Federal University of Technology, Akure. Department of Biological Sciences, Afe Babalola University, Ado-Ekiti, Nigeria. Department of Crop, Soil and Pest Management, Federal University of echnology, Akure. [Artículo en internet]*2011. [Acceso 5 de noviembre del 2014]; Disponible en: <file:///C:/Users/hpamd/Downloads/Bioactive%20components.pdf>
13. Hiremath U. Evaluation of physicochemical & phytochemical parameters of *Amaranthus caudatus* leaves. International research journal of pharmacy. Nargund College of pharmacy, Bangalore, Karnataka, India. [Artículo en internet]*2012. [Acceso 5 de noviembre del 2014]; 3(2); Disponible en:

http://www.irjponline.com/admin/php/uploads/857_pdf.pdf

14. Lock O. Investigación Fitoquímico: Métodos en el estudio de Productos Naturales. Pontificia Universidad Católica del Perú. Fondo Editorial.[revista en internet]* 1994. [acceso 06 de diciembre del 2012].disponible en:
http://agendaquimica.blogspot.com/2011/04/investigacion-en-productos-naturales_25.html
15. Ortiz M. Extracción de betalainas y determinación de la actividad antioxidante de Raíz de Beta Vulgaris L. "beterraga", fruto de Opuntia ficus indica L. Mill. "tuna" y flores de *Amaranthus Caudatus* L. "kiwicha". Ayacucho-2010. Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico. UNSCH. [Tesis]. [acceso 25 de octubre del 2012].
16. Paniagua M. Biosensores Amperométricos de tirosinasa para la determinación de compuestos fenólicos en medios acuosos y no acuosos. U Universidad complutense de Madrid. Facultad de farmacia departamento de química física II. [tesis en internet]*2008.[acceso 06 de setiembre del 2014].disponible en: <http://eprints.ucm.es/8131/1/T30542.pdf>.
17. Almajano M. Determinación de la actividad antioxidante de las Bayas de Goji. Consorcio Escola Industrial de Barcelona. BIO-ENER S.L. [artículo en internet]*2009. [acceso 19 de octubre del 2014].disponible en: [file:///C:/Users/hpamd/Downloads/actividad-antioxidante-de-las-bayas-de-goji%20\(4\).pdf](file:///C:/Users/hpamd/Downloads/actividad-antioxidante-de-las-bayas-de-goji%20(4).pdf).
18. Paladino C. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (*Vitis vinifera* L.). Universidades nacionales de Cuyo. Facultad de ciencias agrarias – Uncuyo. [tesis de Maestría en internet]*2009. [acceso 19 de octubre del 2014].disponible en: http://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/2627/tesispaladino.pdf.
19. Gracia M. cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. Universidad autónoma de Querétaro. [Artículo en internet]*. [Acceso 28 de octubre del 2014]; 1-4.Disponible en:
http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias2007/56_1UAQGarciaNava.pdf.
20. Hernández D. Evolución y Radicales libres. Rev. Med. Inst Mex Seguro Soc. [revista en internet]* 2007 [acceso 06 de diciembre del 2013]; 45(5):477-484.Disponible en:
http://edumed.imss.gob.mx/edumed/rev_med/pdf/gra_art/A40.pdf.

21. Bautista W. Actividad antioxidante por captación de radicales libres en extractos de *Solanum Radicans* L.f. "Nuchcu", *Ligaria Cuneifolia* (R&P) Van Tieghem "Tullma" y *Lavatera Arbórea* L. "Malva". Tesis para obtener el Título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho. [Tesis]. [acceso 25 de octubre del 2012]; 2002.
22. Castellanos G, Alcalá D. Antioxidantes en Dermatología. Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica (DCMQ). [revista en internet]*2010. [acceso 06 de diciembre del 2012]; 8 (4): 272- 277. Disponible en : http://www.escolaeims.com/pdf/revision/antioxidantes_en_dermatologia%20.pdf
23. Maldonado O, Jiménez E, Guapillo M, Ceballos G, Méndez E. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico- degenerativas. Revista. Medica UV, [revista en internet]*2010. [acceso 06 de diciembre del 2012]; 33- Disponible en: http://www.uv.mx/rm/num_anteriores/revmedica_vol10_num2/articulos/radicales.pdf.
24. López A, Fernando C, Lazarova Z, Bañuelos R, Hugo S. Antioxidantes, Un paradigma en el tratamiento de enfermedades. Revista Anacem. [revista en internet]* 2012. [acceso 06 de diciembre del 2012]; 6(1):48-53). Disponible en: http://revista.anacem.cl/pdf/vol6/anacem_revistavol6N1.pdf.
25. Olgún G, Meléndez G, Zúñiga A, Pasquetti A. Antioxidantes y aterosclerosis. Revista de endocrinología y nutrición [revista en internet]* 2004 octubre- diciembre [acceso 06 de diciembre del 2012]; 12 (4)199-206. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/endoc/er-004/er044d.pdf>.
26. Rodríguez K, Céspedes E. Estrés oxidativo y envejecimiento. Rev. Cubana. Invest. Biomed. [revista en internet]* 1999. [acceso 06 de diciembre del 2012]; 18 (2):67-76. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol18_2_99/ibi01299.htm
27. Arriagada E. Fisiopatología, Instituto Biológico de la Salud. [monografía en internet]; 2010 [acceso 06 de noviembre del 2012]. Disponible en: <http://www.institutobiologico.com/seminarios/stop%20a%20envejecimiento.htm>
28. Mayor R. Estrés oxidativo y sistema de defensa antioxidante. Rev. Inst. Med. Trop. [revista en internet]* 2010. [acceso 06 de diciembre del 2012]; 5 (2):23-29. Disponible en: <http://scielo.iics.una.py/pdf/imt/v5n2/v5n2a05.pdf>.

29. Zamora J. Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal, Sistema de Información Científica. Revista Chilena de Nutrición, ISSN. Programa de Maestría en Nutrición Humana Universidad de Costa Rica. marzo 2007. [acceso 06 de noviembre del 2014]; 34(1); Disponible en: <http://scielo.iics.una.py/pdf/imt/v5n2/v5n2a05.pdf>.<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=46934102>
30. Fajardo S, Criollo P. Valor nutritivo y funcional de la harina de Amarantho (*amaranthus hybridus*) en la preparación de galletas". Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Químicas. Escuela de Bioquímica y Farmacia Cuenca – Ecuador. Tesis previa a la obtención del título de Bioquímico Farmacéutico. [Tesis].2010. [Acceso 8 de noviembre del 2014]; disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2422/1/tq1013.pdf>
31. Miranda M, Cuellar A. Manual de prácticas de Laboratorio de Farmacognosia y productos naturales. Universidad de la habana. Instituto de Farmacia y Alimentos Cuba.2000.
32. Bartolo D. influencia de la temperatura de tostado sobre el contenido de compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante de la cañihua (*Chenopodium pallidicaule Aellen*).Universidad Peruana Unión. Facultad de ingeniería y arquitectura EAP de ingeniería de alimentos. [Artículo en internet]*2014. [Acceso 26 de octubre del 2014]; 2-36. Disponible en: <file:///C:/Users/hpamd/Downloads/144-542-2-PB.pdf>.
33. Franco M. Caracterización parcial del pigmento rojo del futo de la jotilla (Escontria Chiotilla); una cactácea Subexplotada.Tesis para obtener el grado de maestría en biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana. México. [tesis doctoral]* 2004. [acceso 08 de diciembre del 2012]; Disponible en :<http://148.206.53:231/UAMI11759.pdf>
34. Kuskoski E, et al. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas. [revista en internet]* 2005 [acceso 06 de diciembre del 2012]; 25(4): 726-732.Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612005000400016.
35. Martínez O. síntesis de derivados tipo éster de ácido cafeico y estudio de su comportamiento electroquímico en medios apróticos. Universidad

veracruzana. Facultad de Química Farmacéutica Biológica .Unidad de servicios de apoyo en resolución analítica. [Tesis para acreditar la experiencia recepcional de la carrera de Químico Farmacéutico Biológico]. [acceso 29 de octubre del 2014]; Vera cruz ,setiembre 2013.Disponible en :<http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/34190/1/martinezmora.pdf>

36. Singletón V, Rossi A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Vitic.1965; 16:144-158.

ANEXOS

Anexo1. Constancia emitida por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.



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

C E R T I F I C A

Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, Srta. Nitma, YANGALY AYALA, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	CARYOPHYLLIDAE
ORDEN	:	CARYOPHYLLALES
FAMILIA	:	AMARANTHACEAE
GENERO	:	Amaranthus
ESPECIE	:	<i>Amaranthus caudatus</i> L.
N.V.	:	"kiwicha", "achita"

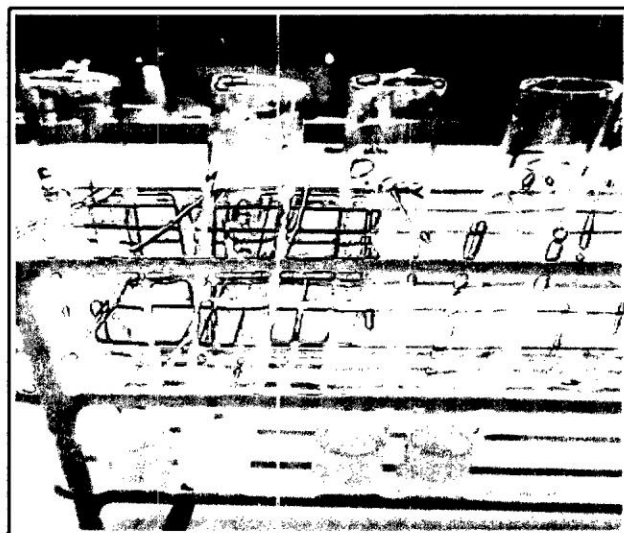
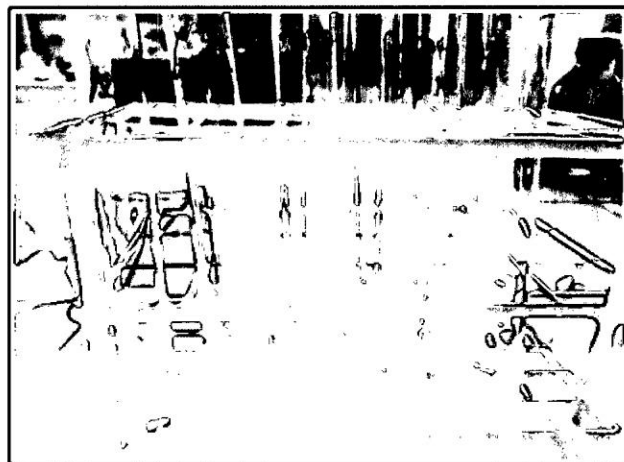
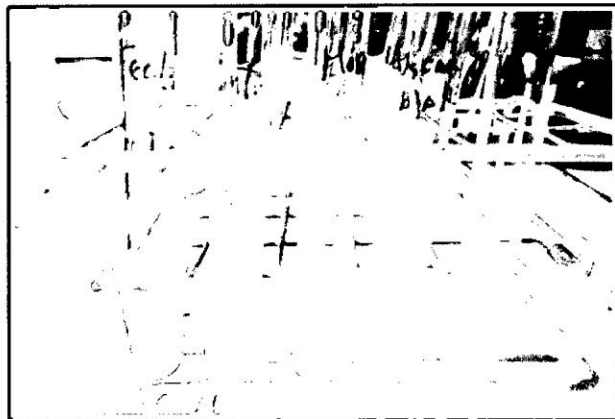
Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 12 de Julio del 2013

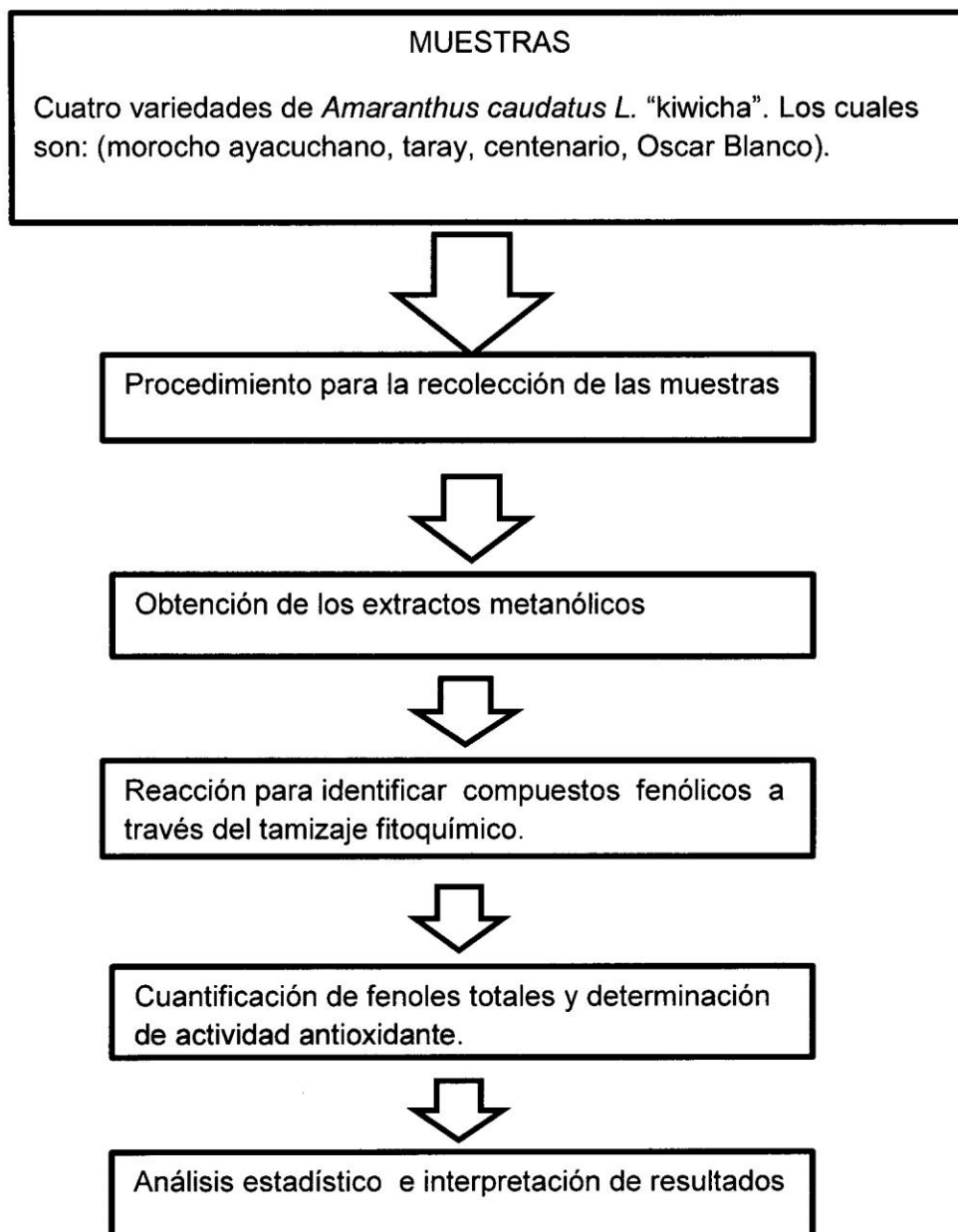
UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

Dña. Laura Rocío Medina
JEFE

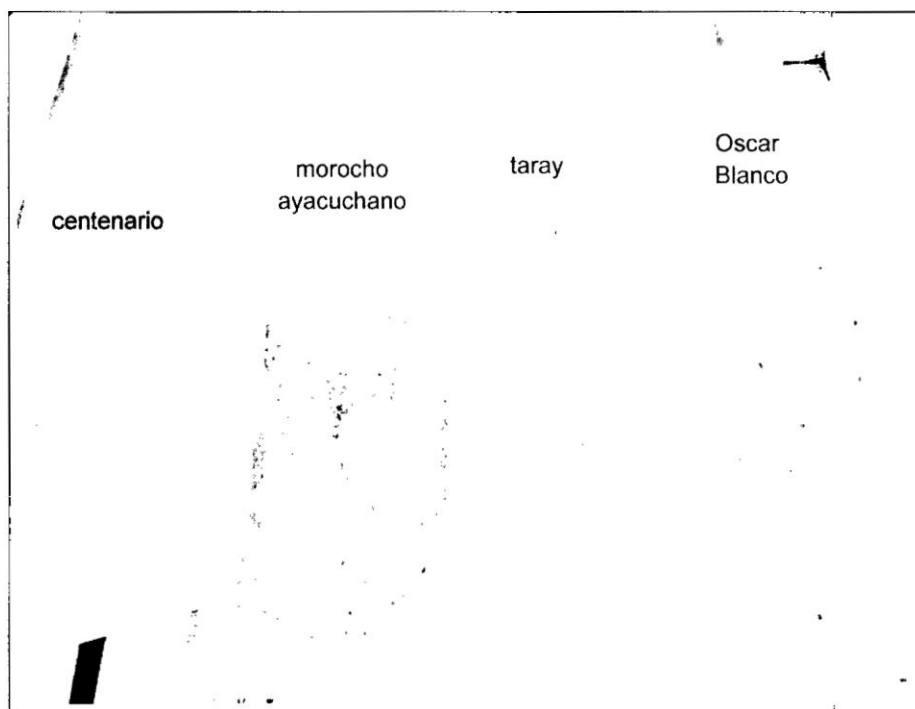
Anexo 2. Tamizaje fitoquímico con cloruro férrico y ninhidrina en extractos de *Amaranthus caudatus* L. kiwicha. Ayacucho-2014.



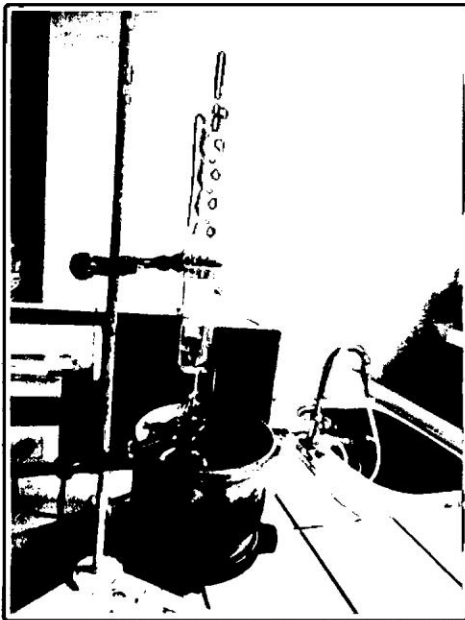
Anexo 3. Flujograma del procedimiento de cuantificación de fenoles en cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha". Ayacucho-2014.



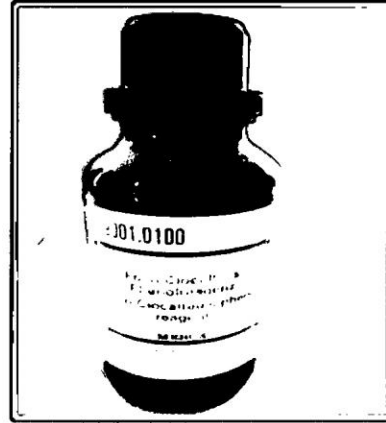
Anexo 4. Cuatro Variedades de *Amaranthus caudatus* L. "Kiwicha. Ayacucho-2014.



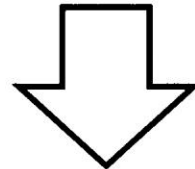
Anexo 5. Extracto y reactivos que se usó para determinar los fenoles totales en cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha". Ayacucho-2014.



Extracción mediante el método soxhlet.

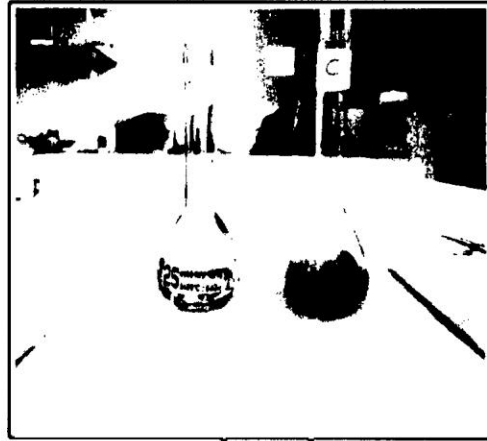


Reactivo Folin ciocalteu

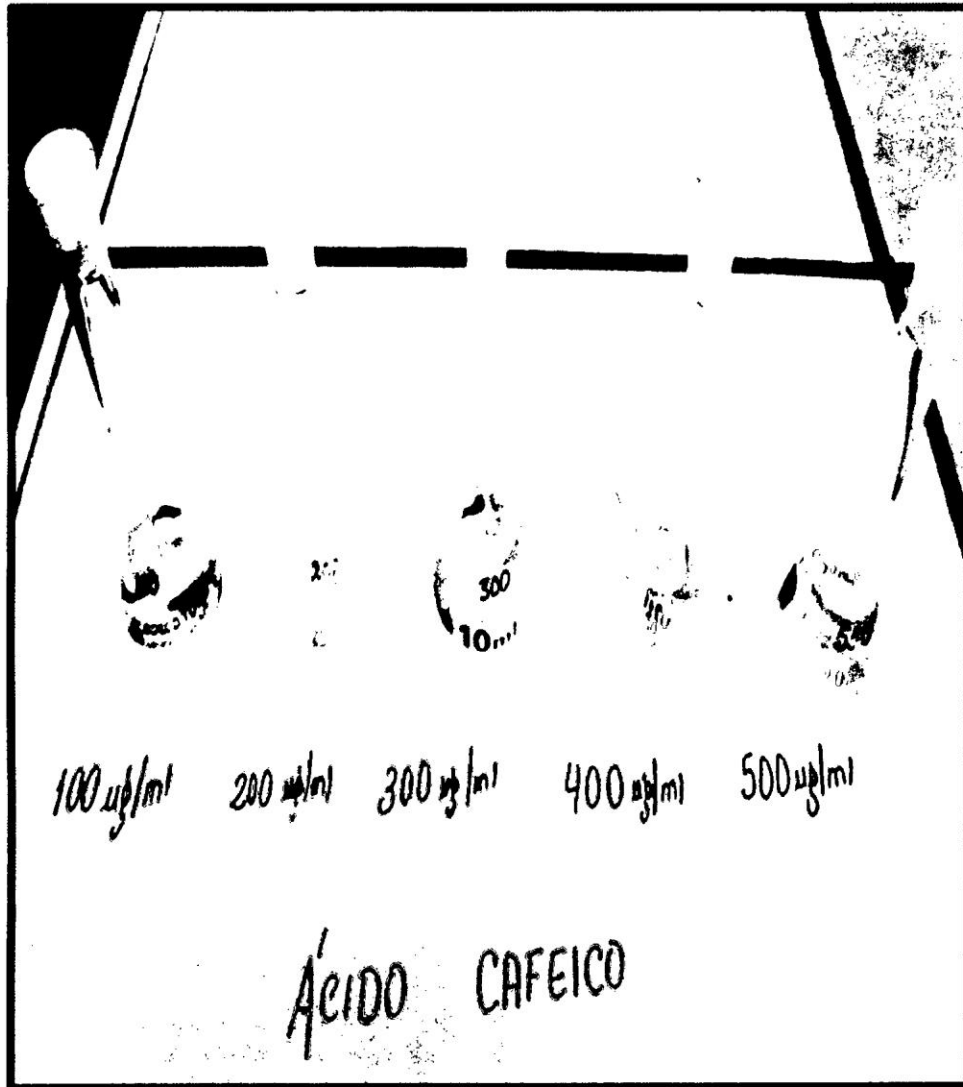


Carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 7%.

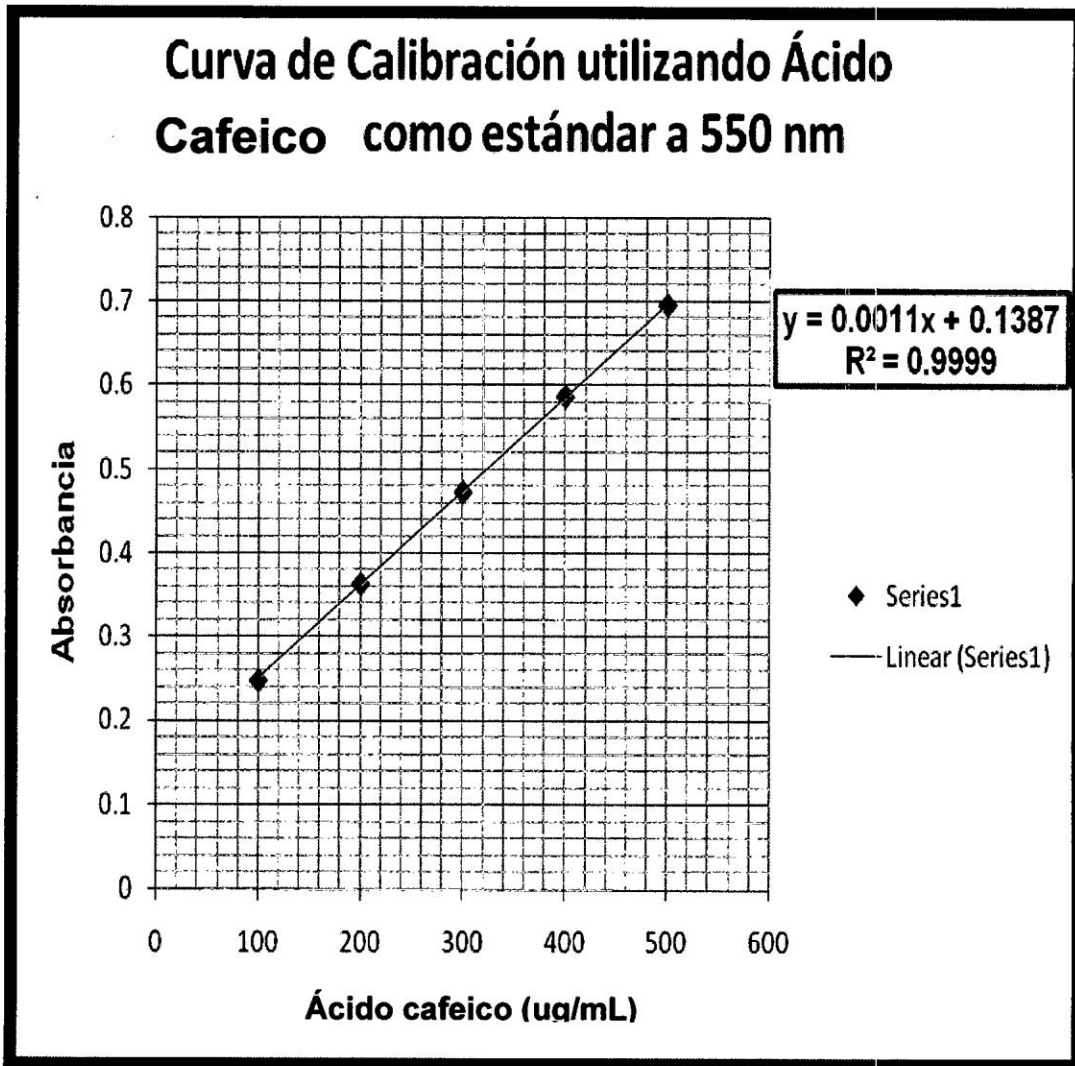
Anexo 6. Esquema fotográfica de la determinación de fenoles totales en cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha". Ayacucho-2014.



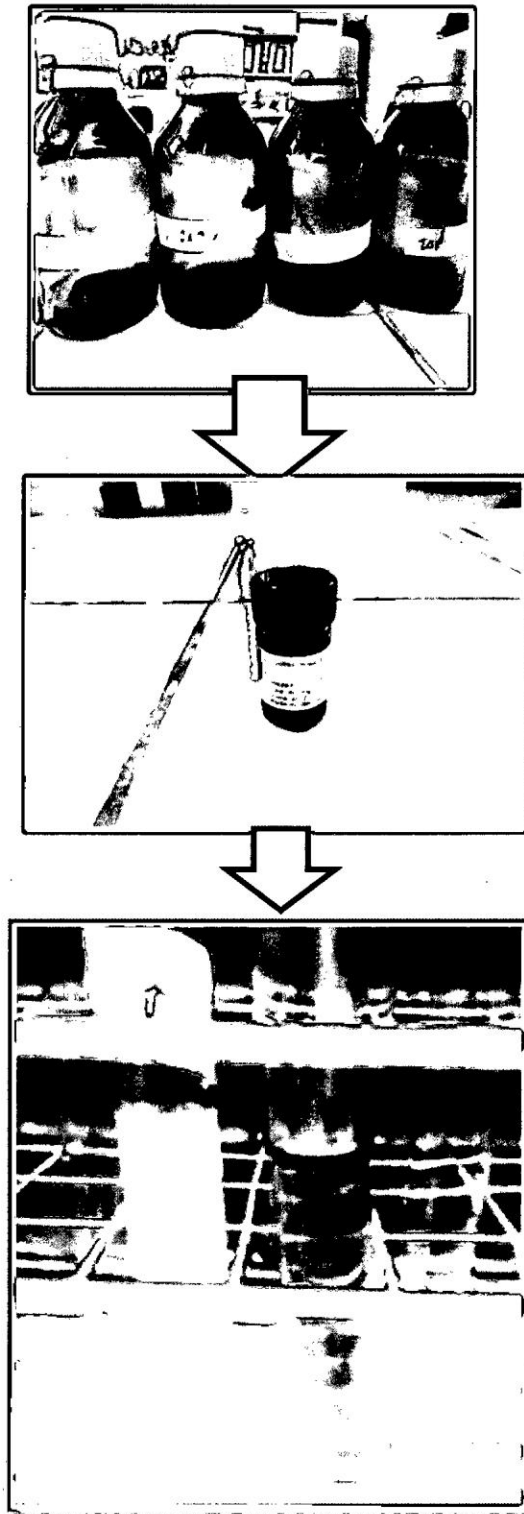
Anexo 7. Preparación de los estándares de Ácido caféico a diferentes concentraciones.



Anexo 8. Curva de calibración utilizando ácido caféico como estándar a 550 nm.
Ayacucho -2014.



Anexo 9. Extracto con DPPH de cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha". Ayacucho-2014.



Anexo 10. Esquema para la determinación de la actividad antioxidante de radicales libres en cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha". Ayacucho-2014.

mL	muestra	blanco de muestra	estándar	blanco
Extracto	0.75	0.75		
DPPH	1.50		1.50	
Metanol		1.5	0.75	1.50
Agua				0.75

Anexo 11. Promedio de la actividad antioxidante en cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha". Ayacucho-2014.

Concentración	Morocho ayacuchano	Taray	Centenario	Oscar Blanco
100 µg/mL	42,0	38,9	382	38,1
50 µg/mL	35,9	34,1	35,2	34,9
10 µg/mL	34,1	34,4	34,4	32,8

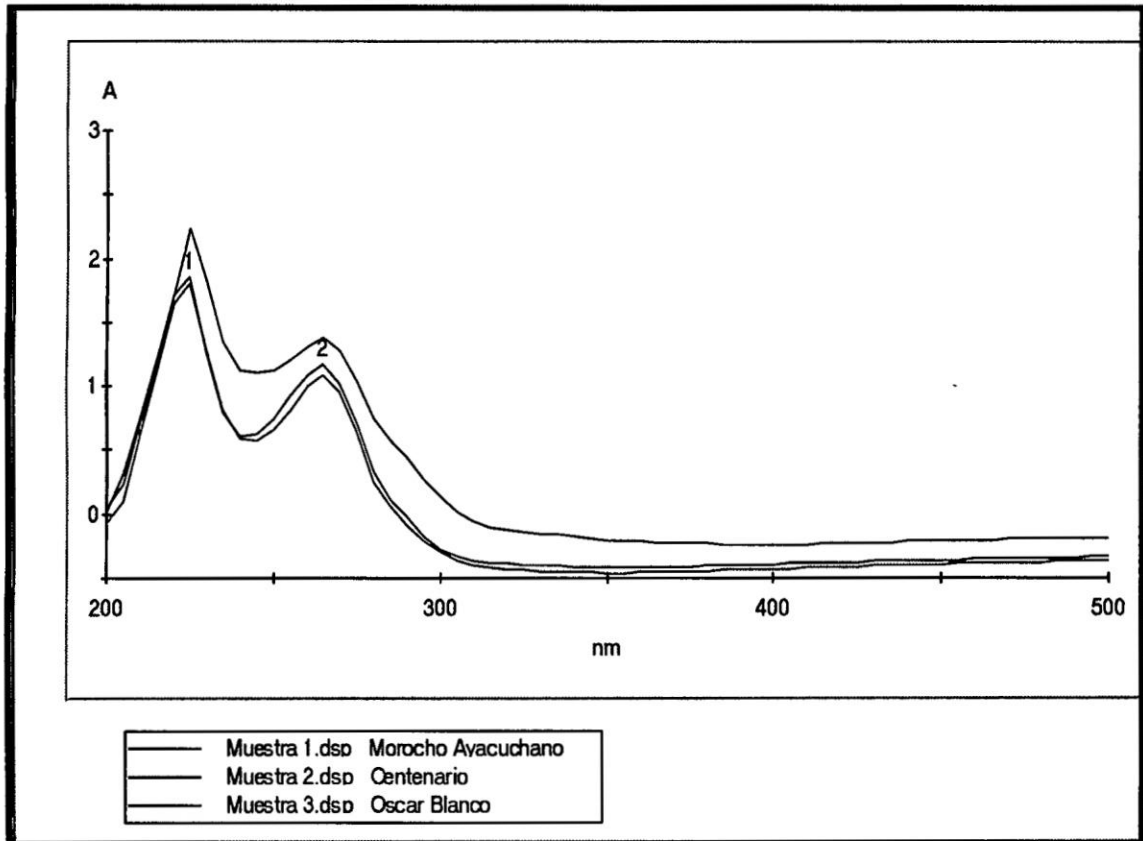
Anexo 12. Análisis de varianza del porcentaje de actividad antioxidante en cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha". Ayacucho-2014.

ANOVA ^{a,b}			Metódo único				
			Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Capacidad secuestradora del DPPH (%)	Covariables	Concentración (ug/ml)	174,960	1	174,960	69,633	.000
	Efectos principales	tratamientos	21,115	3	7,038	2,801	.056
	Modelo		196,075	4	49,019	19,509	.000
	Residual		77,891	31	2,513		
	total		273,966	35	7,828		

a. Capacidad secuestradora del DPPH(%) por tratamientos con concentración (ug/ml)

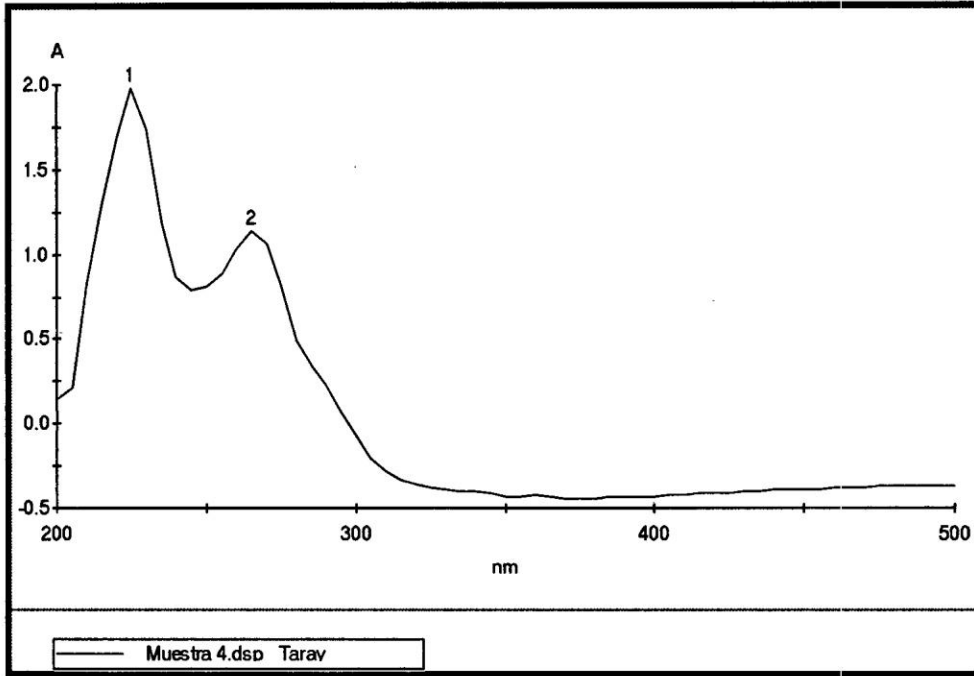
b. Todos los efectos introducidos simultáneamente.

Anexo 13. Curva espectral del extracto de *Amaranthus caudatus* L. kiwicha. Ayacucho-2014.



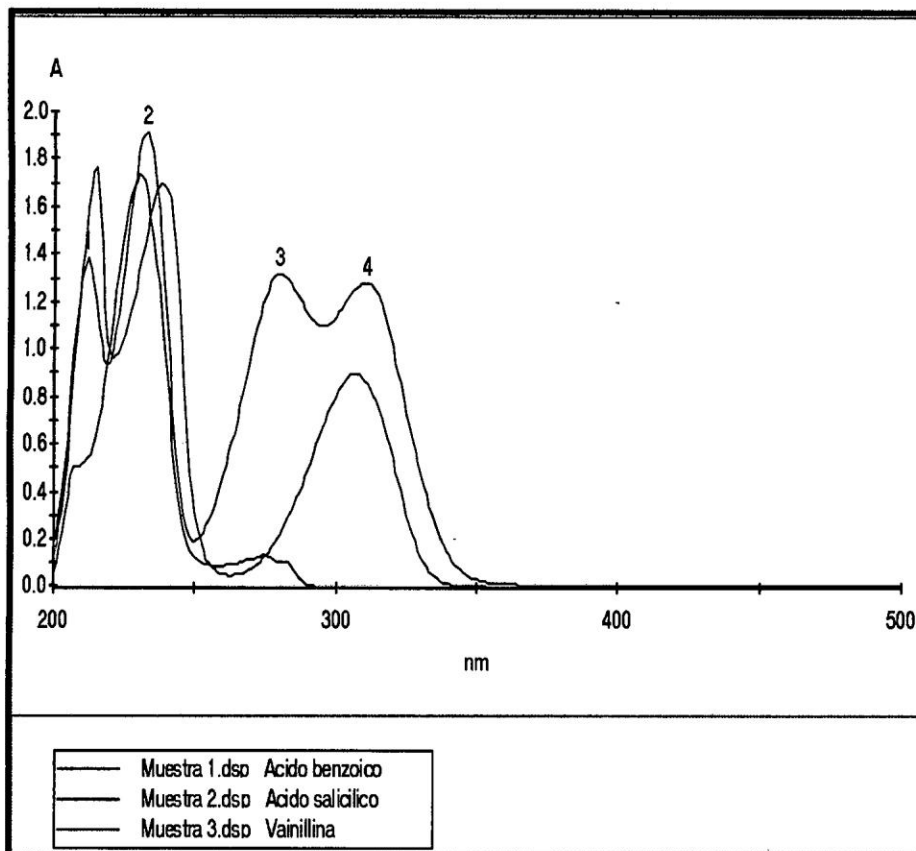
Muestra 1.dsp		Morochó Ayacuchano	
Maxima		Threshold: 0.01 A	
1	225 nm;	2.230 A	2 265 nm; 1.379 A
Muestra 2.dsp		Centenario	
Maxima		Threshold: 0.01 A	
1	225 nm;	1.805 A	2 265 nm; 1.089 A
Muestra 3.dsp		Oscar Blanco	
Maxima		Threshold: 0.01 A	
1	225 nm;	1.855 A	2 265 nm; 1.170 A

Anexo 14. Curva espectral del extracto de *Amaranthus caudatus* L. kiwicha. Ayacucho-2014.



Muestra 4.dsp		Taray	
Maxima		Threshold: 0.01 A	
1	225 nm;	1.977 A	2 265 nm; 1.140 A

Anexo 15. Curva espectral de compuestos fenólicos. Ayacucho-2014.



Muestra 1.dsp		Acido benzoico			
Maxima		Threshold: 0.01 A			
1	230 nm;	1.733 A	2	275 nm;	0.130 A
Muestra 2.dsp		Acido salicilico			
Maxima		Threshold: 0.01 A			
1	215 nm;	1.762 A	2	238 nm;	1.698 A
			3	307 nm;	0.896 A
Muestra 3.dsp		Vainillina			
Maxima		Threshold: 0.01 A			
1	212 nm;	1.381 A	2	233 nm;	1.908 A
			3	280 nm;	1.319 A
4	311 nm;	1.280 A			

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEORICO	HIPOTESIS	VARIABLES	METODOLOGIA
Actividad antioxidante de cuatro variedades del fruto de <i>Amaranthus caudatus</i> L. "Kiwicha". Ayacucho-2014	¿Cuál de las cuatro variedades del fruto de <i>Amaranthus caudatus</i> L. "Kiwicha" tendrá mayor actividad antioxidante ?	<p><u>Objetivo general:</u> Evaluar la actividad antioxidante de cuatro variedades del fruto de <i>Amaranthus caudatus</i> L. "Kiwicha".</p> <p><u>Objetivo específicos:</u> • Cuantificar fenoles totales de cuatro variedades del fruto de <i>Amaranthus Caudatus</i> L. "Kiwicha".</p>	<p><u>RADICAL LIBRE:</u> Es un átomo o molécula que contiene un electrón desapareado en su orbital exterior.</p> <p><u>ANTIOXIDANTE:</u> Son sustancias que tienen la capacidad de inhibir la oxidación causada por los radicales libres.</p> <p><u>FENOLES :</u> Existe interés creciente debido a su efecto contra algunas enfermedades como ciertos cánceres y desórdenes cardíacos derivados de su poderosa actividad antioxidante.</p> <p><u>AMARANTHUS CAUDATUS:</u> " KIWICHA" O TRIGO DE LOS INKAS, es un cultivo poco conocido en América, la planta presenta inflorescencia, llamada también panoja, es grande y de colores variados como amarillo, rojo púrpura, dorado. Variedades: Morocho ayacuchano Taray Centenario Oscar Blanco.</p>	La variedad morocha ayacuchano del fruto de <i>Amaranthus caudatus</i> L. "Kiwicha" Tiene mayor actividad antioxidante.	<p><u>Variable independiente:</u> Extracto metanólico de <i>Amaranthus caudatus</i> L. "Kiwicha".</p> <p><u>Indicadores:</u> Extracto metanólico 10ug/ml, 50ug/ml, 100ug/ml</p> <p><u>Variable dependiente</u> • Captación de radicales libres. • Cuantificación de fenoles totales</p> <p><u>Indicadores:</u> Decoloración de DPPH.</p>	<p>TIPO DE INVESTIGACION: Básica</p> <p>NIVEL DE INVESTIGACION: descriptivo</p> <p>LUGAR: El estudio se desarrolló en el laboratorio de farmacognosia "JACK HARRISON THIEL" del pabellón de farmacia de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga.</p> <p>POBLACIÓN: Cuatro variedades de <i>Amaranthus caudatus</i> L. "kiwicha" de la zona de INIA (Instituto Nacional de Innovación Agraria) del departamento de Ayacucho.</p> <p>MUESTRA: 1 kilo gramo de cada variedad del fruto de <i>Amaranthus caudatus</i> L. "Kiwicha"</p> <p>METODOLOGÍA: Determinación de la actividad antioxidante. Se determinará la actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos, mediante el método de captación de radical libre DPPH. Cuantificación de fenoles totales. La concentración de fenoles totales fue medida por espectrofotometría, basándose en una reacción colorimétrica de óxido- reducción. El agente oxidante utilizado fue el reactivo de Folin-Ciocalteu.</p>