

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Capacidad antioxidante y contenido de compuestos
fenólicos de cuatro cultivares del germinado de
Chenopodium quinoa Willd "quinua". Ayacucho 2018.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

Presentado por el:

Bach. GUTIÉRREZ CUADROS, Guido Brumel

Ayacucho - Perú

2019

A mis padres Faustina CUADROS, Claudio GUTIERREZ (+) que Dios lo tenga en su gloria y mis hermanos quienes con sus consejos y apoyo han inculcado en mí los valores para ser una gran persona y un ejemplar profesional, a mi pareja e hija que son el motor y mi motivo para seguir adelante.

AGRADECIMIENTO

A mi *Alma Mater* Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por haberme albergado durante cinco años en sus aulas y por ser forjador de excelentes profesionales al servicio de la sociedad.

A la Facultad de Ciencias de la Salud y en especial a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, a los excelentes docentes que en ella laboran, quienes contribuyeron en mi formación brindando las herramientas necesarias para mi desenvolvimiento profesional.

Un reconocimiento especial a mi asesor Dr. Q.F Edwin Carlos ENCISO ROCA y mi Co-asesor Mg. Enrique Javier AGUILAR FELICES, por permitirme recurrir a su capacidad y experiencia para que sea posible realizar y culminar esta investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE ANEXOS	xi
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes del estudio	3
2.2. <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua”	5
2.3. Compuestos fenólicos	7
2.4. Radicales libres	9
2.5. Antioxidantes	9
2.6. Estrés oxidativo	9
2.7. Germinado	9
2.8. Importancia biológica de los germinados	11
III. MATERIALES Y MÉTODOS	13
3.1. Ubicación del trabajo de investigación	13
3.2. Definición de la población y muestra	13
3.3. Metodología y recolección de datos	13
3.4. Análisis de datos	18
IV. RESULTADOS	19
V. DISCUSIÓN	25
VI. CONCLUSIONES	31
VII. RECOMENDACIONES	33
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
ANEXOS	41

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estructura de los ácidos benzoicos.	7
Figura 2. Estructura de los ácidos cinámicos.	8
Figura 3. Estructura química de una flavona y un flavonol.	8
Figura 4. Secuestro del DPPH (radical libre) por un compuesto fenólico (secuestrador del radical libre).	15
Figura 5. Estructura química de la reacción entre ABTS y persulfato potásico.	16
Figura 6. Reacción general por método FRAP (potencial antioxidante reductor del hierro).	17
Figura 7. Contenido de Fenoles totales presentes en cuatro cultivares de semillas germinadas de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua". Ayacucho-2019.	21
Figura 8. Contenido de Flavonoides presentes en cuatro cultivares de semillas germinadas de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua". Ayacucho-2019.	21
Figura 9. Contenido de Flavonoles presentes en cuatro cultivares de semillas germinadas de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua". Ayacucho-2019.	22
Figura 10. Actividad secuestradora del radical libre DPPH, expresado como $\mu\text{mol ET/g}$ muestra del germinado de semillas de cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua". Ayacucho-2019.	22
Figura 11. Actividad secuestradora del radical libre ABTS, expresado como $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra del germinado de las semillas de cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua". Ayacucho-2019.	23
Figura 12. Potencial actividad reductora del hierro (FRAP), expresado como $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra del germinado de semillas de cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua". Ayacucho-2019.	23

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Certificado de identificación botánica de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua”. Ayacucho 2018.	43
Anexo 2. Certificación de los cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua”.	44
Anexo 3. Flujograma del procedimiento para la obtención del germinado de cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua”.	45
Anexo 4. Flujograma del procedimiento para la obtención de fenoles totales del germinado de cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua”	46
Anexo 5. Flujograma del procedimiento para la obtención de flavonoides del germinado de cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua”	47
Anexo 6. Flujograma del procedimiento para la obtención del flavonol del germinado de cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua”.	48
Anexo 7. Flujograma del procedimiento para la determinación de la actividad antioxidante por método DPPH del germinado de cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua”. Ayacucho 2019.	49
Anexo 8. Flujograma del procedimiento para la determinación de la capacidad antioxidante por el método ABTS, del germinado de cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua”.	50
Anexo 9. Flujograma del procedimiento para la determinación de la capacidad antioxidante por el método FRAP, del germinado de cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua”.	51
Anexo 10. Semillas de cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua”.	52
Anexo 11. Germinado de semillas de los cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua” Ayacucho 2019.	53

Anexo 12.	Fotografía del proceso de molienda del germinado de las semillas de los cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua” Ayacucho 2019.	54
Anexo 13.	Fotografía del extracto metanólico de las semillas germinadas de cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> “Willd”. Ayacucho 2019.	54
Anexo 14.	Fotografía del proceso de cuantificación de fenoles totales de las semillas germinadas de los cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua” en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2019.	55
Anexo 15.	Fotografía del proceso de cuantificación de flavonoides totales de las semillas germinadas de los cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua” en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2019.	56
Anexo 16.	Fotografía del proceso de cuantificación de flavonoles de las semillas germinadas de los cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd “quinua” en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2019.	57
Anexo 17.	Fotografía de la reacción de captación del DPPH de los compuestos fenólicos aislados de las semillas germinadas de cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. “quinua”. Ayacucho – 2019.	58
Anexo 18.	Fotografía de la reacción de ABTS de los compuestos fenólicos aislados de las semillas germinadas de cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. “quinua”. Ayacucho – 2019.	58
Anexo 19.	Fotografía de la reacción del FRAP de los compuestos fenólicos aislados de las semillas germinadas de cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. “quinua”. Ayacucho – 2019.	59
Anexo 20.	Composición química bromatológica de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. “quinua”.	59
Anexo 21.	Procedimiento para la cuantificación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en $\mu\text{molET/g}$ de muestra.	60

Anexo 22.	Curva de calibración con el ácido gálico como estándar para cuantificar el contenido de fenoles totales a longitud de onda de 725 nm.	61
Anexo 23.	Curva de calibración con la quercetina como estándar para cuantificar el contenido de flavonoides totales a longitud de onda de 550 nm.	61
Anexo 24.	Curva de calibración con la quercetina como estándar para cuantificar el contenido de flavonoles a longitud de onda de 440 nm.	62
Anexo 25.	Curva de calibración con trolox como estándar para determinar la actividad antioxidante por el método DPPH a longitud de onda de 515 nm.	62
Anexo 26.	Curva de calibración con trolox como estándar para determinar la actividad antioxidante por el método ABTS a longitud de onda de 734 nm.	63
Anexo 27.	Curva de calibración con trolox como estándar para determinar la actividad antioxidante por el método FRAP a longitud de onda de 593 nm.	63
Anexo 28.	Análisis de varianza factorial y prueba complementaria de scheffé del contenido de fenoles totales del germinado de cuatro variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua".	64
Anexo 29.	Análisis de varianza factorial y prueba complementaria de scheffé del contenido de flavonoides totales del germinado de cuatro variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua".	65
Anexo 30.	Análisis de varianza factorial y prueba complementaria de cheffé del contenido de flavonoles del germinado de cuatro variedades de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua".	66
Anexo 31.	Análisis de varianza factorial y prueba complementaria de cheffé de la actividad antioxidante por el método DPPH del germinado de cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua".	67

Anexo 32.	Análisis de varianza factorial y prueba complementaria de cheffé de la actividad antioxidante por el método ABTS del germinado de cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua".	68
Anexo 33.	Análisis de varianza factorial y prueba complementaria de cheffé de la actividad antioxidante por el método FRAP del germinado de cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua".	69
Anexo 34.	Matriz de consistencia. Ayacucho 2018.	71

RESUMEN

Las semillas de quinua poseen propiedades nutricionales remarcables, no solamente por su contenido de proteínas, sino también por su alto balance de aminoácidos y compuestos con propiedades promovedoras de la salud, tales como ácidos fenólicos, fitoesteroles y flavonoides. El objetivo de esta investigación fue determinar la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en el germinado de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd "quinua". Las semillas de los cultivares Blanca de Junín, Amarilla de Marangani, Roja Pasankalla y Negra Collana, fueron adquiridas y certificadas por el Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA – Ayacucho). Se llevó a cabo en los laboratorios de Farmacia de la Facultad de Ciencias de la Salud de la UNSCH. Se realizó la obtención del germinado de las semillas siguiendo el procedimiento descrito por Carciochi *et al*, fenoles totales mediante el método Folin-Ciocalteu, flavonoides y flavonoles por el método de cloruro de aluminio; la capacidad antioxidante mediante tres métodos: secuestro del radical libre 1,1-difenilpicril-hidrazilo (DPPH), secuestro del catión radical libre ABTS y capacidad reductora del hierro (FRAP). Se obtuvo un mayor contenido de fenoles totales en el cultivar amarilla marangani con un valor $2,78 \pm 0,06$ mg EAG/g de muestra, en la prueba de flavonoides totales el cultivar negra collana obtuvo un valor máximo de $1,96 \pm 0,1$ mg EQ/g muestra, así mismo el cultivar amarilla marangani presentó mayor contenido de flavonoles con un valor de $0,33 \pm 0,01$ mg EQ/g de muestra. Se obtuvo una mayor capacidad antioxidante, en el cultivar amarilla marangani con un valor de $35,93 \pm 0,03$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra, que fue evaluado por el método DPPH, la misma variedad presentó una mejor capacidad antioxidante realizado por el método ABTS con un valor de $15,89 \pm 1,20$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra, mientras el cultivar negra collana fue el cultivar con mejor capacidad antioxidante evaluado con el método FRAP, obteniendo un valor de $11,05 \pm 0,38$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra. En conclusión, el germinado de semillas de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd "quinua", presenta contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante.

Palabras clave: *Chenopodium quinoa* Willd. germinado, capacidad antioxidante, compuestos fenólicos.

I. INTRODUCCIÓN

El uso de la semilla germinada data desde el año 3.000 a.C., los chinos y japoneses germinaban los granos de soja mungo y cebada como suplemento alimenticio fijo en su dieta, los occidentales en el siglo XVIII utilizaron los germinados para poder realizar los largos viajes en barco con más de tres años en el mar sin perder a ningún marinero a causa del escorbuto. Durante la Segunda Guerra Mundial, en Estados Unidos, los brotes de soja se convirtieron en una reserva estratégica de alimento¹. Considerados alimentos funcionales por ser alimentos pre digeridos que facilitan su asimilación y aprovechamiento de nutrientes en el organismo; con la germinación se incrementa el contenido de antioxidantes y además se obtienen alimentos organolépticamente agradables; proporcionan cantidades importantes de fibra².

Los germinados poseen mayor fuente de compuestos fenólicos y presencia de actividad antioxidante, es por ello el interés en el área farmacológica ya que ha sido provocado por los resultados de los estudios epidemiológicos que vinculan el consumo de dietas ricas en alimentos de origen vegetal con un menor riesgo de enfermedades asociadas con el estrés oxidativo, controlando la proliferación de radicales libres, especies altamente reactivas de oxígeno y nitrógeno que pueden favorecer la alteración genética del ADN sobre la piel y el intestino contribuyendo al incremento del riesgo de contraer cáncer o reducir la funcionalidad de las células del hígado, una característica propia del envejecimiento³. Otra de las bondades consiste en que puede aumentar la producción de enzimas hepáticas antioxidantes, lo que reduce el daño sobre el endotelio vascular que producen los radicales libres, esto contribuye a mejorar la función endotelial y disminuye la oxidación de las moléculas de lipoproteínas de baja densidad (LDL)⁴.

Existen diversos métodos *in vitro* para evaluar la capacidad antioxidante en un producto, estos métodos como el FRAP, DPPH y ABTS son aquellas que están basadas en la reacción de transferencia de electrones⁵.

Objetivo general.

Determinar la capacidad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos presentes en el germinado de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd.

Objetivos específicos.

- Cuantificar el contenido de fenoles totales, flavonoides y flavonoles del germinado de las semillas de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua”.
- Determinar la capacidad antioxidante por los métodos DPPH, ABTS y FRAP, del germinado de cuatro cultivares de las semillas de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua”.
- Determinar la influencia del color de las semillas en el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante del germinado de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua”.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

Cruz⁶. determinó la Capacidad Antioxidante de 2 variedades, 16 accesiones y 10 especies silvestres de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”, en Bolivia, a través de ensayos como el DPPH, ABTS y FRAP. Además, se midió el Contenido de Fenoles Totales y Flavonoides, reportando que la accesión challapata (DK1) presentó la mayor actividad antioxidante con un valor de 145,38 $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra y el valor mínimo obtuvo la especie silvestre (C-OR) con 0,95 $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra, en el contenido de fenoles totales realizado por el método Folin - Ciocalteu, también la accesión Challapata (DK1) presentó el máximo valor con 1,06 mg EAG/g de muestra y el menor contenido la accesión Challapata 2 (DK2) con un valor de 0,24 mg EAG/g muestra, esta misma accesión presentó mayor contenido de flavonoides con un valor de 0,83 mg EC/g de muestra.

Castilla⁷, determinaron la estabilidad de los compuestos antioxidantes durante la germinación y extrusión en la cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen), en cuanto a las pruebas de germinación, las semillas fueron germinadas hasta 96 horas y en la cual presentó mayor contenido de compuestos fenólicos con un valor de 351,1 mg EAG/100 g. Para efectos de comparación se extruyó la cañihua y esta presentó 208,8 mg EAG/100 g, cuyo valor es inferior con respecto a la cañihua germinada. Por otra parte, se hizo la determinación de la capacidad antioxidante mediante el método ABTS, en el que la cañihua extruida presentó 2093,9 $\mu\text{mol ET/100 g}$, valor inferior en comparación a la cañihua germinada por 96 horas que presentó un valor de 4432,5 $\mu\text{mol ET/100 g}$.

Gharachorloo y Mortazavic⁸, determinaron el efecto de la germinación sobre el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante de la semilla de *Cicer arietinum* “garbanzo”, utilizaron tres tipos de solventes para extraer los fenoles presentes en la semilla y el germinado. El contenido de fenoles totales fue determinado por el método de Folin – Ciocalteu y la actividad antioxidante por el ensayo del secuestro del radical libre hidroxilo. Los resultados indican que el proceso de germinación modificó la actividad antioxidante. La extracción con acetona obtuvo una mayor actividad secuestradora del radical libre hidroxilo y la extracción con metanol mostró menor actividad secuestradora del radical libre hidroxilo, que puede deberse a la calidad de los compuestos fenólicos extraídos y asimismo, la actividad antioxidante fue dependiente de la concentración.

Choque M⁹, determinó el contenido de los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de los cereales nacionales andinos de quinua, kañiwa y kiwicha. La quinua obtuvo el mayor contenido de compuestos fenólicos en la variedad roja pasankalla con un valor de 139,94 mg ácido gálico/100 g. Así mismo la kañiwa obtuvo un valor de 85,71 mg ácido gálico/100 g y en muestras de kiwicha con valor de 30,41 mg ácido gálico/100 g. Con respecto a la capacidad antioxidante de secuestro del radical libre hidroxilo, la quinua de la variedad roja pasankalla obtuvo una mayor capacidad antioxidante con un valor de 2400,55 µg trolox/g).

Waqas et al¹⁰, estudiaron la capacidad antioxidante de extractos crudos de las semillas de *Vitis vinifera*, *Tamarindus indica* y *Glycin max*, se examinaron por sus propiedades de eliminación de radicales libres usando ácido ascórbico como antioxidante estándar. La actividad de eliminación de radicales libres se evaluó usando DPPH. Cuyo resultado mostró una mayor capacidad antioxidante en las semillas de uva (*Vitis vinifera*), seguida en orden descendente por la soja (*Glycin max*) y el tamarindo (*Tamarindus indica*), mostrando 85,61 %; 83,45 % y 79,26 % de actividad de eliminación de DPPH respectivamente (p<0,05). Concluyéndose que dichas plantas poseen antioxidantes que pueden ser de utilidad en algunas enfermedades degenerativas.

Aguilar y col¹¹, evaluaron el contenido de compuestos fenólicos por el método de Folin Ciocalteu y la actividad antioxidante mediante métodos DPPH, ABTS, y FRAP del germinado y no germinado de cuatro variedades de las semillas de *Amaranthus caudatus* L. “Kiwicha”. Las variedades germinadas mostraron mayor contenido de fenoles totales respecto a las semillas sin germinar, al igual que en el contenido de flavonoides. Siendo las variedades germinadas Cristalino y Taray

fueron los que obtuvieron mayor contenido de fenoles totales con valores de (32,92 y 35,00 mg GAE/g de muestra), respectivamente. Las mismas variedades presentaron mayores resultados con respecto a la capacidad secuestradora de los radicales libres DPPH con valores de (151,85 y 151,38 mg TE/g de muestra); ABTS con valores de (178,09 y 180,18 mg TE/g de muestra) y FRAP con valores de (132,75 y 136,42 mg TE/g de muestra) respectivamente. Así mismo la variedad Cristalino tuvo mayor contenido de flavonoides con valor de (580,95 mg QE/g). Pérez et al¹², valoraron el contenido de polifenoles y actividad antioxidante mediante la técnica DPPH y FRAP; en germinados de *Medicago sativa* “alfa alfa” y *Amaranthus cruentus* “amaranto”. Para el germinado de amaranto, con respecto a la prueba de taninos condensados obtuvieron un valor de (0,5107 ± 0,06 mg EC/g de muestra); fenoles totales con un valor de (76,564 ± 0,26 mg EAG/g de muestra) y falvonoides totales con un valor de (234,029 ± 0,39 mg ER/ g de muestra). En el germinado de alfalfa en la prueba de taninos condensados se obtuvo un valor de (0,3916 ± 0,05 mg EC/g de muestra); fenoles totales con valor de (24,6347 ± 0,64 mg EAG/g de muestra) y flavonoides totales con valor de (137,9 ± 0,57 mg ER/ g de muestra). La capacidad antioxidante en ambos tipos de germinados oscila entre 40 - 50 % de porcentaje de inhibición.

2.2. *Chenopodium quinoa* willd “quinua”

2.2.1. Clasificación taxonómica según el sistema de Cronquist. A. 1988.

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	CARYOPHYLLIDAE
ORDEN	:	CARYOPHYLLALES
FAMILIA	:	CHENOPODIACEAE
GÉNERO	:	<i>Chenopodium</i>
ESPECIE	:	<i>Chenopodium quinoa</i> willd.
N.V	:	"quinua"

Fuente: Certificado emitido por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas¹³ (Anexo 1)

2.2.2. Descripción botánica.

Es una planta herbácea dicotiledónea que alcanza alturas variables desde 30 a 300 cm, dependiendo del tipo de quinua, de la fertilidad de los suelos, de los genotipos, de las condiciones ambientales donde crece. Su raíz es pivotante, vigorosa, profunda, bastante ramificada y fibrosa. El tallo es cilíndrico, que puede presentar o no ramificaciones. Sus hojas son alternas y están formadas por peciolo y lámina. Las flores son incompletas, pequeñas y no tienen pétalos, generalmente son bisexuales y se autofertilizan. El fruto es un aquenio, produce semillas pequeñas de forma circular, alrededor de 2 mm de diámetro (250- 500 semillas por gramo), está cubierta por un perigonio, que es del mismo color que la planta: blanco, amarillo, gris, marrón claro, rosa, negro o rojo¹⁴.

2.2.3. Distribución geográfica.

En toda la región andina desde Colombia (Pasto) hasta el norte de Argentina (Jujuy y Salta) y Chile (Antofagasta), y se ha encontrado un grupo de quinuas de nivel del mar en la región de Concepción. Se extiende desde los 5° latitud norte al sur de Colombia, hasta los 43° latitud sur en la décima región de Chile, y su distribución altitudinal varía desde el nivel del mar en Chile hasta los 4000 m.s.n.m. en el altiplano que comparten Perú y Bolivia, existiendo así, quinuas de costa, valles, valles interandinos, puna y altiplano¹⁵.

2.2.4. Composición química.

La semilla de la quinua contiene proteínas que varía entre 13,81 y 21,9 % dependiendo de la variedad. Posee aminoácidos esenciales como: la leucina, isoleucina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina¹⁶. Ácidos fenólicos derivados del ácido benzoico, tales como los ácidos p-hidroxibenzoico, 3-4-dihidroxibenzoico, vanillico, protocatéquico; derivados del ácido cinámico, entre ellos los ácidos p-cumárico, caféico, ferúlico e isoferúlico. Flavonoides, principalmente glicósidos de los flavonoles quercetina y canferol. También se ha detectado epicatequina y glicósidos de miricetina^{17,18}.

2.2.5. Uso medicinal tradicional.

Entre sus usos más frecuentes de las semillas de quinua se puede mencionar: abscesos, luxaciones, hemorragias, afecciones hepáticas, anginas, cistitis, analgésico dental, antiinflamatorio, cicatrizante, diurético e infecciones de vías urinarias¹⁹.

Investigaciones de Zeballos *et ál*, confirman su uso para pacientes que sufren de trastornos derivados de su condición de celíacos, la quinua puede sustituir a las

harinas y derivados de trigo que afectan a dichos pacientes. También se asocia con efectos positivos en pacientes que sufren diabetes, asociado a sus contenidos de fibra y a la presencia de hidratos de carbono de fácil digestibilidad²⁰.

2.3. Compuestos fenólicos

Constituyen un amplio grupo de metabolitos secundarios, son estructuras formadas por un anillo aromático unido a uno o más grupos hidroxilo, siendo frecuente encontrarlos naturalmente conjugados con uno o más residuos de azúcar, aunque en ocasiones pueden encontrarse unidos a otros ácidos, aminas, lípidos y a otros compuestos fenólicos²¹.

Clasificación: se dividen en clases según su estructura y subcategoría dentro de cada clase en función del número y la posición del grupo hidroxilo y la presencia de otros sustitutos²².

a) No flavonoides

- **Fenoles no carboxílicos:** C6, C6-C1, C6-C3
- **Ácidos fenoles:** Derivados del ácido benzoico C6-C1 y derivados del ácido cinámico C6-C3.²²

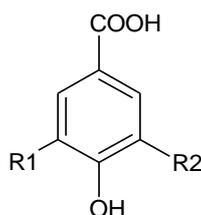
b) Flavonoides (C6-C3-C6)

Formados por dos grupos bencénicos unidos por un puente tricarbonado. Subgrupos: Antocianos, Flavonas, flavononas, flavanoles, flavanonoles. flavanoles, taninos condensados y lignanos²²

2.3.1. Ácidos fenólicos

Son metabolitos secundarios producidos por todas las plantas, son un grupo de sustancias que poseen en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos. Son relativamente polares y tienden a ser solubles en agua, pueden ser detectados por el intenso color verde, azul o negro, que producen cuando se les agregan cloruro férrico. Los ácidos fenólicos están agrupados en dos grandes familias: los ácidos hidroxibenzoicos y los ácidos hidroxicinámicos, estos ácidos se encuentran en forma libre o esterificada²³.

- **Ácidos fenólicos derivados del ácido benzoico**

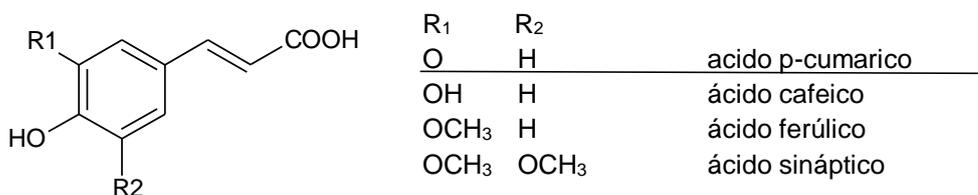


R ₁	R ₂	
H	H	ácido p-hidroxibenzoico
OCH ₃	H	ácido vinílico
OH	OH	ácido gálico
OCH ₃	OCH ₃	ácido siríngico

Ácido p-hidroxibenzoico

Figura 1. Estructura de los ácidos benzoicos²².

- **Ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico**



Acido p-hidroxicinámico

Figura 2. Estructura de los ácidos cinámicos²².

2.3.2. Flavonoides

Son metabolitos secundarios que se caracterizan por ser derivados de la α – benzo – pirano con un sustituyente arílico en posición 2. que generalmente se encuentran como O-glicosidos en sus fuentes naturales, aunque también se encuentran de forma natural como C-glicosidos²⁴. En función de los grados de oxidación e insaturación del anillo heterocíclico se pueden diferenciar varias clases de flavonoides y, dentro de cada clase, se pueden establecer diferencias en base a la naturaleza y número de los sustituyentes unidos a los anillos²⁵.

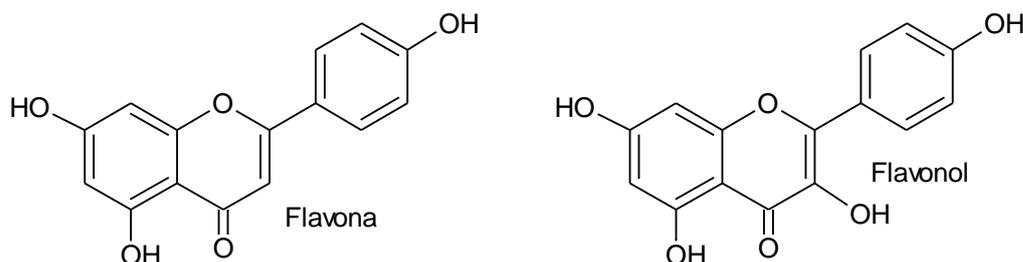


Figura 3. Estructura química de una flavona y de un flavonol²⁵

2.3.3. Actividad biológica de los compuestos fenólicos.

Todos los compuestos fenólicos son capaces de eliminar radicales libres y especies oxidativas a través de propiedades dadoras de oxígeno de electrones, generando un radical fenoxilo relativamente estable. Son capaces de unirse a polímeros biológicos, tales como enzimas, transportadoras de hormonas y ADN; quelar iones metálicos transitorios como el Fe⁺², Cu⁺², Zn⁺², y de esta manera inhibir la actividad enzimática responsable de la oxidación, catalizar el transporte de electrones, reducir hidroperóxidos, peróxidos de hidrógeno, captación de superóxidos y oxígeno singlete convirtiéndose en potentes absorbentes de radicales libres²⁶.

Se ha estudiado en la prevención y el posible tratamiento de enfermedades cardiovasculares, debido a su intervención en las vías metabólicas, ya que son capaces de proteger a los lípidos séricos (lipoproteínas LDL) frente a la oxidación, punto que representa la etapa principal en el desarrollo de arteriosclerosis²⁷.

2.4. Radicales libres

Es aquella molécula, átomo o ion que poseen un número impar de electrones, (electrón desapareado), lo que las hace muy inestables. En los sistemas vivos tienden a reaccionar rápidamente con diversas macromoléculas como ácidos nucleicos, cadenas de aminoácidos y los dobles enlaces en ácidos grasos poliinsaturados, provocando modificaciones estructurales y funcionales; entre éstas últimas sobresale la peroxidación lipídica, en la que los lípidos insaturados de membrana son oxidados a través de una reacción en cadena iniciada por un radical libre, durante este proceso las funciones de la membrana son afectadas y provocándose con ello la muerte celular²⁸.

2.5. Antioxidantes

Son compuestos, los cuales pueden inhibir o retardar la oxigenación de otras moléculas inhibiendo la iniciación y/o propagación de las reacciones en cadena de los radicales libres. se dividen en dos categorías principalmente son: sintéticos y naturales. Los sintéticos son compuestos de estructuras fenólicas con varios grados de sustitución alquílica, mientras que los naturales pueden ser: compuestos fenólicos (tocoferoles, flavonoides y ácidos fenólicos), compuestos nitrogenados (alcaloides, derivados de la clorofila, aminoácidos y aminos) o carotenoides, así como el ácido ascórbico²⁹.

2.6. Estrés oxidativo

Es el desequilibrio entre el incremento de la producción de radicales libre y la incapacidad o insuficiencia de los mecanismos de protección antioxidante para neutralizarlos, ocasionando daños en las estructuras vitales de las células como los lípidos, las proteínas y el ADN, favoreciendo así el desarrollo de enfermedades crónicas como el cáncer, diabetes, asma, artritis reumatoide y acelerar el envejecimiento³⁰.

2.7. Germinado

Se define como aquel que comienza con la imbibición de agua por parte de la semilla y que concluye con la formación de una plántula capaz de desarrollarse de manera independiente, la emergencia de la radícula y el desprendimiento de los restos de las cubiertas seminales de los cotiledones indican el inicio y la

finalización de la germinación, estos producen cambios radicales en la composición de metabolitos primarios y secundarios como consecuencia de la compleja red metabólica que se activa durante este período, la aplicación del germinado ha sido planteada como una alternativa para mejorar tanto el valor nutritivo como las propiedades saludables de semillas de numerosas especies³¹.

2.7.1. Fases de la germinación.

Fase I o de hidratación: Es el periodo durante el cual la semilla embebe agua, provocando el hinchamiento de la misma (aumento de su peso fresco). Se produce la hidratación enzimática, reactivándose numerosos sistemas metabólicos que conducen a la síntesis de ATP, proteínas y comienzo de la actividad respiratoria³².

Fase II o de germinación: una vez que el agua atraviesa los envoltorios seminales y llega al embrión en cantidad suficiente, éste se activa y comienzan los procesos metabólicos necesarios para su crecimiento y transformación en una planta autónoma. En esta fase, la toma de agua y de oxígeno se reduce considerablemente, llegando incluso a detenerse³².

Fase III o de crecimiento: se asocia a la emergencia de la radícula (cambio morfológico visible), movilización de las reservas y desarrollo de la plántula. Durante este periodo vuelve a incrementarse la actividad respiratoria y la absorción de agua, debido a que parte de las proteínas y los carbohidratos almacenados son hidrolizados a compuestos de menor peso molecular, los cuales son transportados al eje embrionario en crecimiento³².

2.7.2. Factores externos para el proceso del germinado.

Agua: La disponibilidad de agua es importante en los distintos procesos, el cual controla el nivel de la actividad metabólica de las plantas, por lo que su pérdida afecta notablemente la naturaleza de las reacciones físicas y bioquímicas³³. Una semilla madura contiene 10 a 15 % de agua, por lo que este contenido debe aumentar y ser controlada para comenzar las reacciones metabólicas, ya que si es muy alta puede ser dañina para la semilla³⁴.

Oxígeno: Respecto de la concentración de oxígeno (O₂), éste tiene efectos complejos en la germinación de las semillas. La mayoría de las semillas requiere O₂ para germinar, pero este requerimiento depende en gran parte de la especie, ya que es el embrión el que lo necesita, siendo las cubiertas que lo recubren las que reducen su entrada y determinan la sensibilidad de la semilla a este gas³⁵.

Temperatura: Es el factor ambiental de mayor influencia en los procesos fisiológicos y bioquímicos de las plantas, condicionando su crecimiento y desarrollo. Dependiendo de la época del año en que la planta cumple su ciclo y la ubicación geográfica donde se desarrolle, las semillas pueden germinar en un rango de temperatura entre los 0 °C hasta los 45 °C. Por lo tanto, la sensibilidad de las especies difiere y no necesariamente una mayor temperatura influye un incremento en la germinación³¹.

Iluminación: Es uno de los recursos más importantes para la vida de las plantas, estas poseen un sofisticado conjunto de fotorreceptores que les permiten percibir la luz y utilizarla eficientemente para distintos fines. Existen especies que sólo germinan bajo luz continua, mientras que otras sólo germinan en la oscuridad³⁶.

2.8. Importancia biológica de los germinados

El germinado de las semillas son fácilmente asimilable porque liberan todos los nutrientes encapsulados y mejoran su valor nutricional. Contienen enzimas, clorofila, aminoácidos, minerales, vitaminas A y C, oligoelementos vivos, que contribuyen a la prevención de enfermedades, ayudando a la depuración y eliminación de residuos almacenados en los tejidos o en la sangre, fortalecen el sistema inmune, actúan como antioxidantes combatiendo la acción de los radicales libres, estimulan las secreciones del páncreas, facilitan la digestión, activan los procesos de regeneración y desinflamación del aparato digestivo y disminuye el índice de colesterol³⁷.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del trabajo de investigación

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en los laboratorios de Farmacia de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga durante los meses de octubre de 2018 a marzo de 2019.

3.2. Definición de la población y muestra

3.2.1. Población: semillas de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua”, que fueron adquiridas y certificadas por el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA – Ayacucho), de la provincia Huamanga del departamento de Ayacucho.

3.2.2. Muestra: cinco gramos de semillas de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua”.

Los cuatro cultivares fueron: Negra Collana, Roja Pasankalla, Blanca de Junín y Amarilla de marangani. (anexo 10)

3.3. Metodología y recolección de datos

3.3.1. Obtención del germinado.

Cinco gramos de semilla de cada cultivar de quinua fueron humedecidos con 2.5 % de hipoclorito de sodio por 5 minutos para desinfectar la superficie y luego fueron lavados con agua destilada, para después ser ubicadas sobre un recipiente conteniendo papel filtro en la base, siendo hidratadas por capilaridad. Los recipientes fueron conservados en laboratorio protegido de la luz a temperatura ambiente, las semillas fueron hidratadas diariamente con agua destilada para evitar la desecación y mantener el contenido de humedad³⁸. El tiempo necesario para la germinación está basada en la observación, ya que germinados muy desarrollados no son útiles para procesos prácticos de la presente investigación.

Se determinó la longitud del germinado utilizando una regla, registrándose la longitud en cm ³⁹. (Anexo 3 y 11).

Las semillas germinadas fueron desecadas a 40 °C en una estufa Memmert y trituradas utilizando un mortero de porcelana, hasta obtener un polvo fino que fueron almacenados en frascos hasta su posterior uso.

3.3.2. Obtención del extracto metanólico.

Un gramo del germinado de las semillas de quinua fue extraído con 50 mL de metanol (1:50), utilizando un agitador magnético durante 4 horas. Se centrifugó a 3000 rpm durante 30 minutos y el sobrenadante fue recuperado y vertido en una fiola de 50 mL y enrasado con metanol. Cada uno de los extractos fue conservado en refrigeración hasta su posterior uso⁴⁰.

3.3.3. Determinación del contenido de fenoles totales

El contenido de fenoles totales fue determinado usando el método Folin-Ciocalteu descrito por Thaipong *et al*⁴¹. Los extractos diluidos en metanol se homogenizaron durante dos minutos aproximadamente, se utilizó 150 µL de la muestra y fueron colocadas en tubos de ensayo adicionando 2400 µL de agua y 150 µL de Folin-Ciocalteu (0.25N); se agitó durante 5 min en el vortex luego se añadió 300 µL de carbonato de sodio y se dejó reposar por 2 horas en la oscuridad. La absorbancia fue medida a 725 nm y comparada con una curva de calibración de ácido gálico (0,0.05,0.1,0.15,0.2,0.25,0.3 mL). Los resultados se expresan en mg equivalente a ácido gálico por gramo de muestra (mg GAE/g de muestra). (anexo 4).

3.3.4. Determinación del contenido de flavonoides

El contenido de flavonoides se determinó utilizando el método descrito por Zhishen *et al.* con ligeras modificaciones, que es descrito por Thangaraj⁴¹. 0,50 mL de una alícuota del extracto fue mezclado con 0,50 mL de agua destilada y 0,15 mL de solución de nitrito de sodio al 5 % en un tubo de ensayo.

Después de 5 minutos, 0,15 mL de solución de cloruro de aluminio al 10 % fue adicionado. A los 6 minutos, 2,0 mL de hidróxido de sodio al 4 % fue adicionado a la mezcla, Inmediatamente la solución fue completada hasta 5,0 mL con agua destilada y completamente mezclada. La absorbancia de la mezcla final fue determinada a 510 nm contra un blanco de la reacción. Se preparó una curva de calibración con quercetina (0,2; 0,4; 0,6; 0,8 y 1,0 µg/mL). El contenido de flavonoides de los extractos fue expresado como mg equivalentes a quercetina/g de muestra (mg EQ/g). (Anexo 5)

3.3.6.2. Procedimiento

El método DPPH empleado es descrito por Brand-Williams *et al*⁴². con algunas modificaciones hechas por Thaipong *et al*⁴¹. la solución patrón (SP) fue preparada disolviendo 24 mg de DPPH en 100 mL de metanol refrigerada hasta su uso. La solución trabajo (ST) se obtuvo al mezclar 10 mL de SP y 45 mL de metanol hasta ajustar su absorbancia a $0,7 \pm 0,02$ leída a 515 nm. Se adicionó en tubos de ensayo 150 μ L del extracto de cada cultivar de semilla germinada de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua” por triplicado y 2850 μ L de la solución trabajo (ST) las cuales se dejaron reaccionar durante 30 min en la oscuridad, Las absorbancias fueron leídas a 515 nm en un espectrofotómetro UV – Vis GENESYS 10. La curva estándar tubo una concentración entre (25-800 μ M) de trolox. El resultado se expresa en μ mol equivalentes de trolox/g muestra. (anexo 7)

$$\% \text{ Actividad secuestradora del DPPH} = \left[\frac{A_{\text{DPPH}} - (A_{\text{mp}} - A_{\text{blanco}})}{A_{\text{DPPH}}} \right] \times 100$$

3.3.7. Determinación de la actividad antioxidante por el método de secuestro del catión radical del ácido 2,2'-azinobis - (3 - etilbenzotiazolina) - 6 - sulfónico (ABTS^{•+})

3.3.7.1. Fundamento

El fundamento de este método consiste en generar el radical ABTS^{•+} a partir de su precursor, el ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) y comprobar cómo los antioxidantes son capaces de atrapar este radical. El radical catiónico ABTS^{•+} es un compuesto de color verde-azulado, con espectro de absorción en el intervalo de ultravioleta-visible, que presenta máximos a 414, 645, 734 y 815 nm. Se forma el radical en ausencia de la muestra a analizar hasta obtener una absorbancia estable, al añadir la muestra la concentración del radical disminuye y el color de la reacción desciende a medida que lo hace la concentración del radical catiónico ABTS^{•+}, midiéndose entonces el descenso de absorbancia producido⁴².

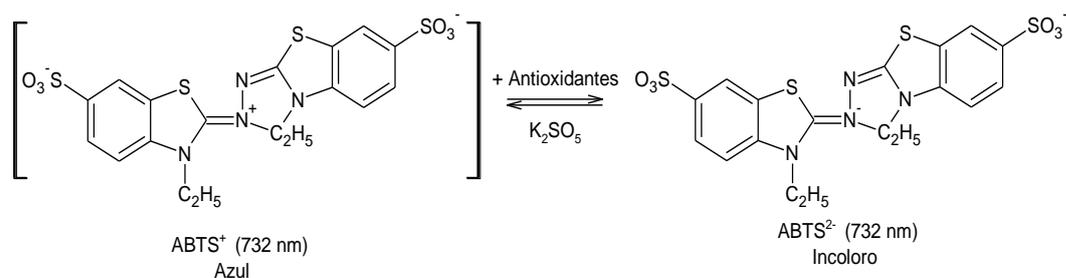


Figura 5. Estructura química de la reacción entre ABTS y persulfato potásico⁴².

3.3.7.2. Procedimiento

Se utilizó el procedimiento descrito por Arnao *et al*⁴³. modificado por Thaipong *et al*⁴¹. para el cual se prepara una solución patrón (SP) constituida por 7, 4 mM de ABTS y 2,6 mM de persulfato de potasio a los cuales se deja reaccionar por 12 horas. Según Repo *et al*⁴⁵. la solución de trabajo (ST) será preparada a partir de 1 mL de SP disuelto en 60 mL de metanol para obtener $0,7 \pm 0,02$ de absorbancia a 734 nm. La muestra (150 μ L) será mezclada con 2900 μ L de solución de ABTS y se deja reaccionar en la oscuridad por 30 min y se lee la absorbancia a 734 nm. Se prepara una curva estándar con Trolox (25 – 600 μ M). Los resultados serán expresados como μ mol equivalentes de Trolox/g de muestra (μ mol ET/g de muestra). (Anexo 8)

3.3.8. Determinación de la actividad antioxidante por el método de reducción del hierro (FRAP)

3.3.8.1. Fundamento

Este método se basa en la reducción del complejo 2,4,6, tripiridil-s-triazina (TPTZ), aquí el hierro férrico (Fe^{3+} – TPTZ) se reduce a ion ferroso a bajo pH, ocasionando la formación de un complejo ferroso tripiridiltriiazina coloreado (Fe^{2+} – TPTZ), todo ello por acción de los compuestos antioxidantes resultando una coloración azul que absorbe a 593 nm, cuya intensidad está relacionada proporcionalmente con la capacidad reductora de la muestra estudiada⁴³.

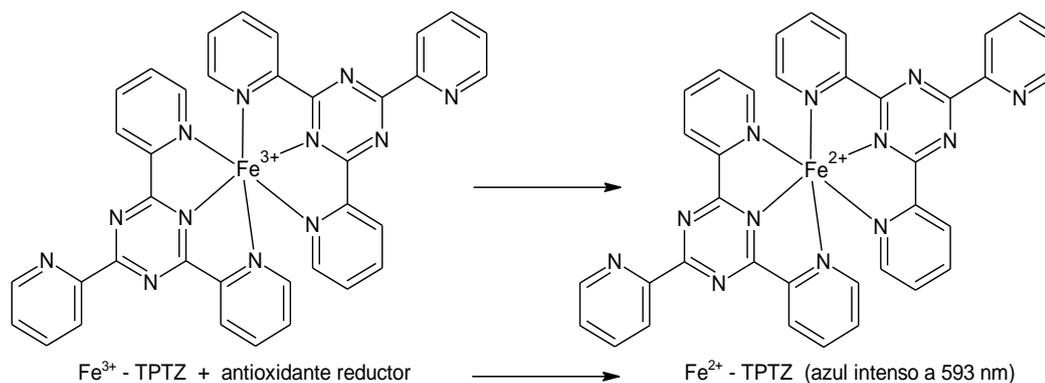


Figura 6. Reacción general por método FRAP⁴³.

3.3.8.2. Procedimiento

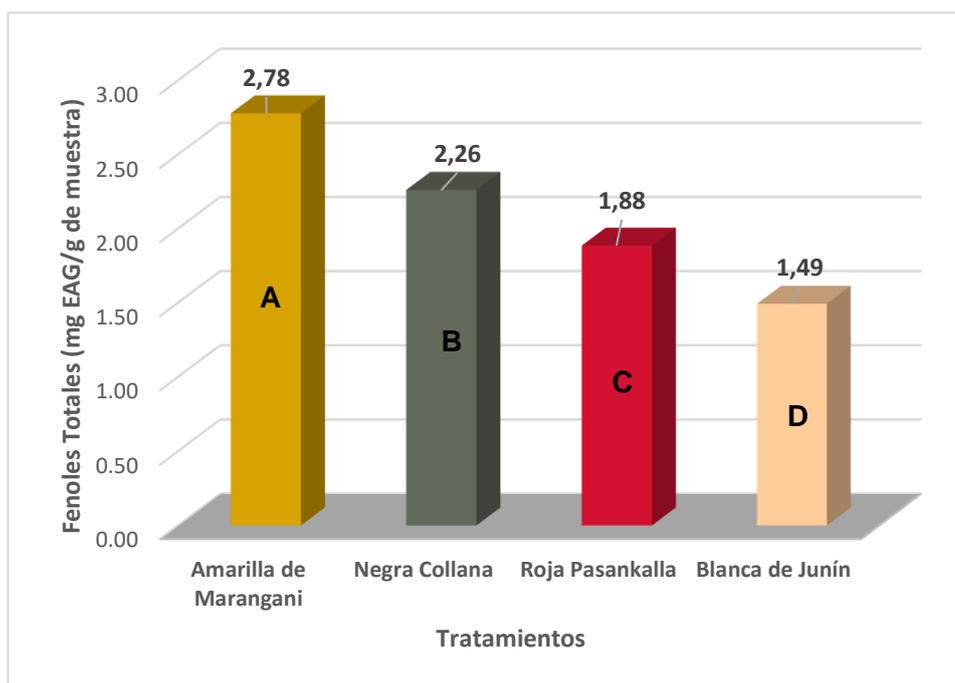
Se realizará según el procedimiento descrito por Benzie *et al*⁴⁴. con modificaciones hechas por Thaipong *et al*⁴¹. La solución patrón incluye 300 mM de buffer acetato pH 3,6; 10 mM TPTZ (2,4,6 – tripiridil – triiazina) disueltos en una solución de HCl 40 mM y 20 mM de solución de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

La solución de trabajo (ST) se obtuvo mezclando y calentando a 37 °C, 25 mL de buffer acetato con 2,5 mL de solución de TPTZ y 2,5 mL de la solución de FeCl₃. Se mezcló 150 µL de muestra con 2850 µL de solución ST, dejándose reaccionar por 30 minutos y se lee a una absorbancia de 593 nm. Se prepara una curva estándar con Trolox (25 – 800 µM). Los resultados serán expresados como µmol equivalentes de Trolox/g de muestra (µmol ET/g de muestra) (Anexo 9)

3.4. Análisis de datos

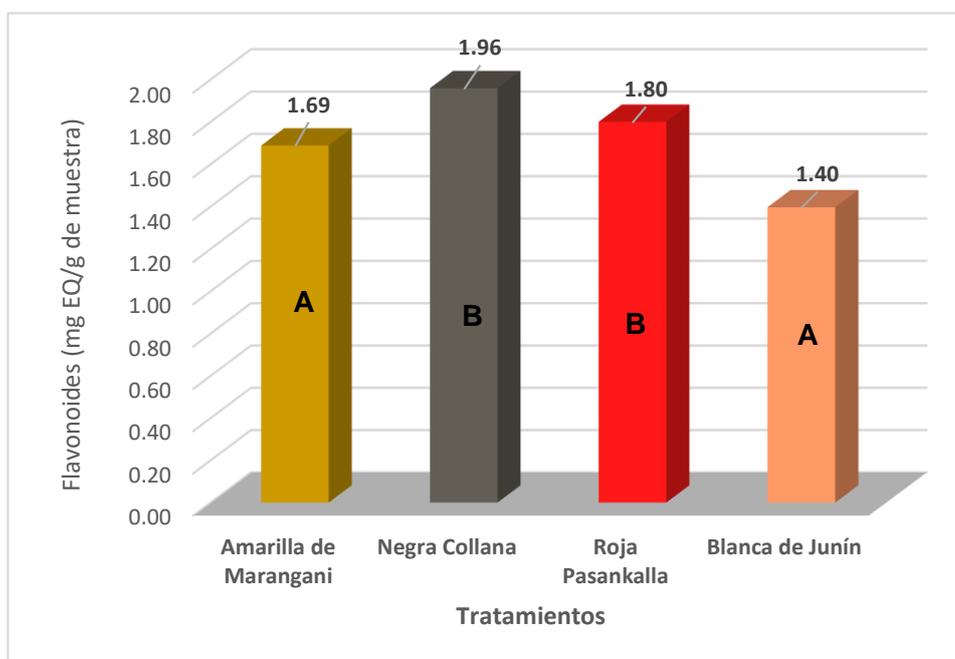
La comparación de cuatro cultivares en estudio serán evaluadas mediante análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia estadística de 95 % respectivamente y una prueba complementaria Scheffé.

IV. RESULTADOS



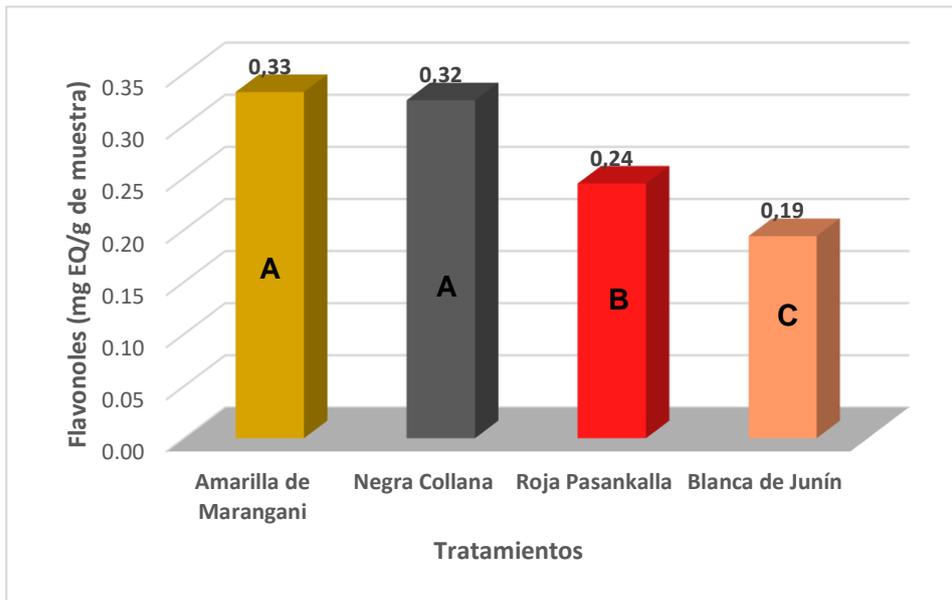
$p < 0,05$

Figura 7. Contenido de Fenoles totales presentes en cuatro cultivares de semillas germinadas de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua". Ayacucho-2019.



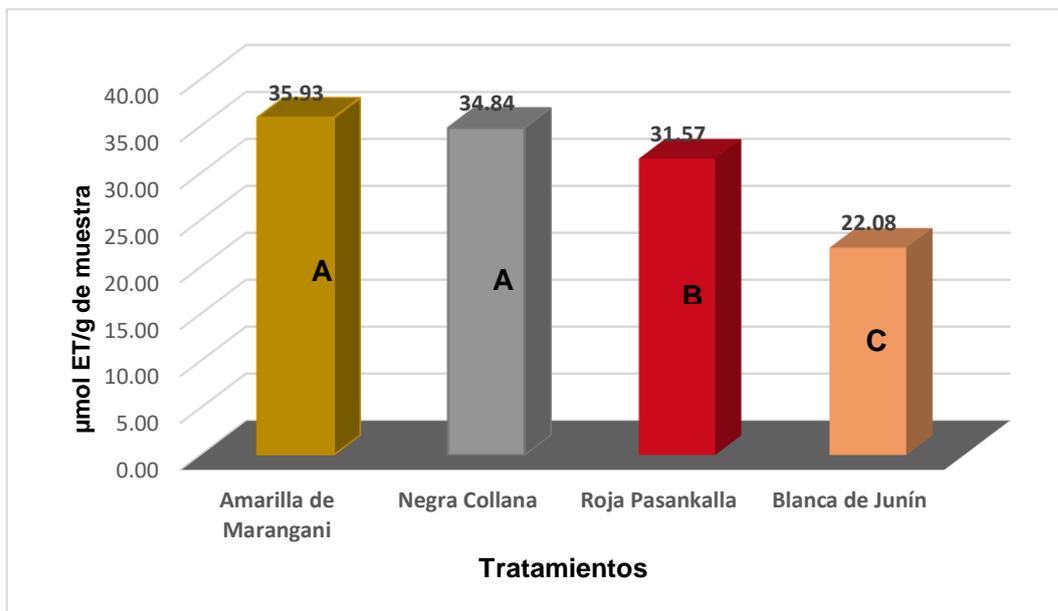
$p < 0,05$

Figura 8. Contenido de Flavonoides presentes en cuatro cultivares de semillas germinadas de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua". Ayacucho-2019.



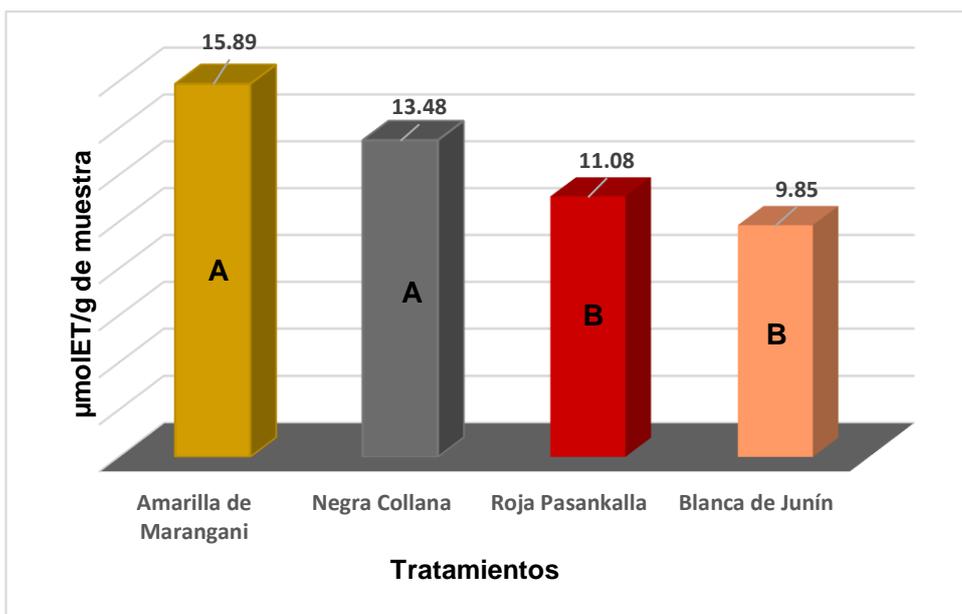
$p < 0,05$

Figura 9. Contenido de Flavonoles presentes en cuatro cultivares de semillas germinadas de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua". Ayacucho-2019.



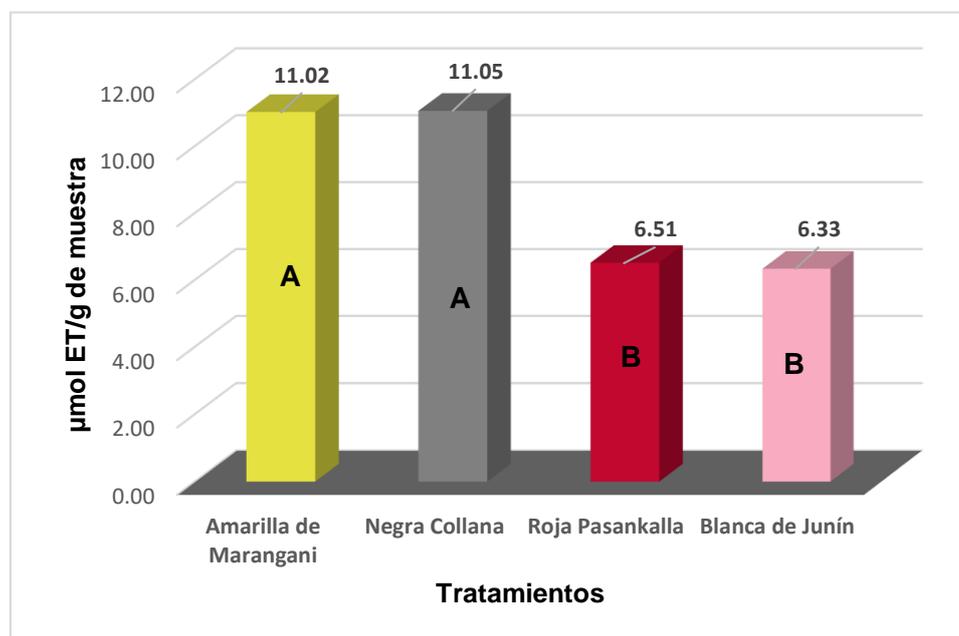
$p < 0,05$

Figura 10. Actividad secuestradora del radical libre DPPH, expresado como $\mu\text{mol ET/g}$ muestra del germinado de semillas de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua". Ayacucho-2019.



$p < 0,05$

Figura 11. Actividad secuestradora del radical libre ABTS, expresado como $\mu\text{mol ET/g}$ muestra del germinado de semillas de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua". Ayacucho-2019.



$p < 0,05$

Figura 12. Potencial actividad reductora del hierro (FRAP), expresado como $\mu\text{mol ET/g}$ muestra del germinado de semillas de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua". Ayacucho-2019.

V. DISCUSIÓN

En la figura 7, nos muestra el contenido de fenoles totales de las semillas germinadas de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua” se observa que el cultivar Amarilla de Marangani presenta una mayor cantidad de fenoles totales con un valor de $2,78 \pm 0,06$ mg EAG/g, seguidamente del cultivar Negra Collana con $2,26 \pm 0,02$ mg EAG/g y los cultivares Roja Pasankalla y Blanca de Junín con $1,88 \pm 0,01$ mg EAG/g y $1,49 \pm 0,04$ mg EAG/g, respectivamente el incremento de los compuestos fenólicos fue un aproximado del 87 % en el cultivares Amarilla de Marangani en comparación al cultivar Blanca de Junín. según el análisis de varianza (ANOVA), nos determinó que existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). (anexo 28), seguidamente se efectuó la prueba de comparaciones múltiples de Sheffé (anexo 28), se observa que el cultivar Amarilla de Marangani tuvo el mayor contenido de fenoles totales con respecto al cultivar Blanca de Junín el cual obtuvo un menor contenido.

César⁴⁵, evaluó el contenido de fenoles totales de semillas germinadas de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* willd. expresados como (mg equivalente de ácido caféico/100 g de extracto seco), reportando que la variedad amarilla obtuvo mayor contenido de fenoles totales con un valor de (325,448), seguida de la variedad roja con (276,876), la variedad negra (266,210), finalmente la variedad blanca el cual presento menor contenido de fenoles totales con (254,019). En comparación a los resultados obtenidos en la presente investigación, se observa que los cuatro cultivares de las semillas germinadas es ligeramente menor a los valores reportados por Cesar, debido a que él empleó una extracción de 5 g en 100 mL de solución alcohólica de 96° mediante el aparato de soxhlet y se concentró a sequedad en un rotavapor y utilizó como estándar el ácido caféico.

Así mismo Mendoza⁴⁶, determinó el contenido de fenoles totales de 8 cultivares de quinua provenientes del departamento de Arequipa, entre los cuales el cultivar Negra Collana obtuvo un valor de $136,1 \pm 8,1$ mg EAG/100 g muestra, y el cultivar Roja pasankalla $125,1 \pm 7,8$ mg EAG/100 g muestra, haciendo una comparación con los resultados del presente trabajo de investigación los valores se duplica para el cultivar Negra Collana, y el cultivar Roja Pasankalla presenta un valor ligeramente superior, esto debido a que hubo una influencia en el germinado de las semillas para obtener un mayor contenido de compuestos fenólicos totales.

La evaluación de flavonoides totales en las semillas germinadas de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* "Willd" se reportan en la figura 8, nos muestra un mayor contenido de flavonoides totales en el cultivar Negra Collana con un valor de $1,96 \pm 0,1$ mg EQ/g muestra, seguidamente del cultivar Roja Pasankalla con $1,80 \pm 0,19$ mg EQ/g muestra, la variedad Amarilla de Marangani con $1,69 \pm 0,29$ mg EQ/g muestra, y la que obtuvo un menor contenido fue el cultivar Blanca de Junín con un valor de $1,40 \pm 0,09$ mg EQ/g muestra. El incremento de flavonoides totales fue un 40 % del cultivar Negra Collana con respecto al cultivar Blanca de Junín. Se realizó el análisis de varianza (ANOVA), donde nos muestra diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) (anexo 29), seguidamente se efectuó la prueba de comparaciones múltiples de Sheffé (anexo 29), en la que nos muestra que el germinado del cultivar Negra Collana tuvo un mayor contenido de flavonoides totales y el germina del cultivar Blanca de Junín fue la que obtuvo un menor contenido.

Brend y col⁴⁷, reportaron en contenido de flavonoides totales en semillas, en las variedades amarilla y roja de *Chenopodium quinoa* Willd., expresados como equivalentes de mg de catequina, siendo estos para la variedad amarilla de $0,9 \pm 0,1$ y para la variedad roja $1,9 \pm 0,1$ respectivamente, observándose que la variedad roja tiene casi el doble que la variedad amarilla.

En el presente estudio de investigación, ambas variedades presentan un similar contenido de flavonoides totales, variando su contenido por efecto de la germinación. Las diferencias pueden deberse porque en mi investigación se utilizó como estándar a la quercetina y Brend y col., utilizaron a la catequina como estándar. Se hallaron diferencias estadísticas en el contenido de flavonoides totales entre la variedad de las semillas.

Así mismo Aguilar y col⁴⁸, reportaron el contenido de flavonoides totales en semillas germinadas y no germinadas de cuatro variedades de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua” en la que la variedad blanca germinado obtuvo un mayor contenido de flavonoides totales con un valor de 54,63 µg EQ/g de extracto, la variedad negra con 18,63 µg EQ/g de extracto, la variedad roja con 17,50 µg EQ/g de extracto y finalmente la variedad con un menor contenido de flavonoides totales fue la amarilla con 14,50 µg EQ/g de extracto. Comparando con los resultados obtenidos en mi trabajo de investigación, no concuerdan con los resultados obtenidos por Aguilar y Col, ya que en mis resultados se obtuvo un valor mayor de contenido de flavonoides totales en los cuatro cultivares siendo el cultivar Negra Collana la que obtuvo un mayor contenido de flavonoides totales y el menor contenido se obtuvo en el cultivar Blanca de Junín, esto puede deberse a que ellos utilizaron 5 g de muestra y el solvente a extraer fue etanol a 96 %.

Carciochi y col³⁸, indica que en los granos existen diferencias no sólo entre especies, sino que incluso difieren entre variedades, también hace mención que los factores genéticos, ambientales y condiciones de manejo post cosecha de cada cultivo pueden influir considerablemente en los contenidos de compuestos fenólicos totales, es por esto que se encontraron diferencias significativas entre las variedades de quinua estudiadas.

En la figura 9, se muestra el contenido de flavonoles totales de los germinados de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua” se observó un mayor contenido en los cultivares Amarilla de Marangani con un valor de 0,33±0,01 mg EQ/g muestra, y Negra Collana con 0,32±0,01 mg EQ/g muestra, el cultivar Roja Pasankalla con 0,24±0,02 mg EQ/g muestra y finalmente el cultivar Blanca de Junín con un menor contenido de flavonoles con 0,19±0,0 mg EQ/g muestra. El incremento en el contenido de flavonoles fue aproximadamente 74 % del cultivar Amarilla de Marangani con respecto al cultivar Blanca de Junín. Se realizó el análisis de varianza (ANOVA), obteniendo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) (anexo 30). Seguidamente se realizó la prueba de comparaciones múltiples de Sheffé (anexo 30), En el cual el germinado del cultivar Amarilla de Marangani presento mayor contenido de flavonoles totales con respecto al germinado del cultivar Blanca de Junín que obtuvo un menor contenido entre los demás cultivares.

En la figura 10, reporta la actividad antioxidante con el método DPPH en semillas de los germinados de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* "Willd", en la que se observa que el cultivar Amarilla de Marangani presentó mayor actividad antioxidante con un valor de $35,93 \pm 0,03$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra, seguida del cultivar Negra Collana con $34,84 \pm 0,63$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra, luego el cultivar Roja Pasankalla con $31,57 \pm 1,26$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra y finalmente la variedad Blanca de Junín $22,08 \pm 0,47$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra. El incremento de la capacidad antioxidante fue un aproximado de 43 % del cultivar Amarilla Marangani sobre el cultivar Blanca de Junín. Se realizó el análisis de varianza (ANOVA), hallándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) (Anexo 31), luego se realizó la prueba de comparaciones múltiples de Scheffé (Anexo 31), en el cual, el germinado de la semilla del cultivar Amarilla de Marangani fue el que presento mayor actividad antioxidante y el cultivar Blanca de Junín presentó menor actividad en comparación a los demás cultivares.

Chagua y Palomino⁴⁹, determinaron la actividad antioxidante de tres variedades de *Chenopodium quinoa* willd "quinua" provenientes del departamento de Junín, efectuado sobre el producto expandido, donde la quinua blanca registra un valor más alto con $2,92 \pm 0,06$ $\mu\text{mol TE/g}$ muestra, la cual es menor a lo que se reporta en el presente trabajo de investigación, esto debido a que estos compuestos nutricionales son afectados cuando el producto es sometido a algún proceso de transformación como el tostado, la cocción, el extruido y/o la expansión, este último proceso consiste en añadir calor a alta presión a la humedad que contiene el producto dando paso a la explosión del grano por la caída brusca de presión.

Valencia y Cámara⁵⁰, determinaron la actividad antioxidante por el método de DPPH de 24 accesiones de quinua de la colección nacional del INIA Perú, donde se obtuvo valores en el rango de ($474,21 \pm 17,54$ – $972,87 \pm 53,89$ $\mu\text{mol TE/100 g}$ muestra), comparando con los resultados del presente trabajo de investigación los valores fueron superiores al rango establecido por Valencia y Cámara esto debido a que extrajeron 100 mg de muestra molida con 5 mL de solución MeOH: H₂O (2:1), a parte hubo una influencia por el germinado de las semillas.

En la figura 11, nos muestra resultados de la actividad antioxidante evaluados con el método ABTS, en el cual se observó que el cultivar Amarilla de Marangani presento mayor capacidad antioxidante con un valor $15,89 \pm 1,20$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra, Negra Collana con $13,48 \pm 1,75$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra, Roja Pasankalla con $11,8 \pm 0,95$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra y finalmente Blanca de Junín con $9,85 \pm 0,56$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra.

ET/g muestra. El incremento de la capacidad antioxidante fue de un aproximado del 61% del cultivar Amarilla de Maranganí con respecto al cultivar Blanca de Junín. Se realizó el análisis de varianza (ANOVA), hallándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) (anexo 32). Luego se efectuó la prueba de comparaciones múltiples de Scheffé (Anexo 32), en el cual, el germinado de la semilla del cultivar Amarilla de Maranganí fue el que presentó mayor capacidad antioxidante y el cultivar Blanca de Junín presentó menor capacidad en comparación a los demás cultivares.

Valencia y Cámara⁵⁰, determinaron la actividad antioxidante por el método ABTS, de 24 accesiones de quinua de la colección nacional del INIA Perú, donde se obtuvo valores en el rango de ($1036,54 \pm 137,92 - 1835,78 \pm 69,06 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g muestra}$), comparando con los resultados con el presente trabajo de investigación los valores fueron similares al rango establecido por Valencia y Cámara.

Mendoza⁴⁶, determinó la actividad antioxidante por el método ABTS, de 8 cultivares de quinua provenientes del departamento de Arequipa, entre los cuales el cultivar negra collana obtuvo uno de los valores más altos $10,5 \pm 0,4 \mu\text{mol TE}/ \text{g muestra}$ y el cultivar roja pasankalla $8,4 \pm 0,2 \mu\text{mol TE}/ \text{g muestra}$. Comparando con los resultados del presente trabajo de investigación los valores para estos dos cultivares fueron mayores a lo reportado por Mendoza, esto debido a que hubo una influencia en el germinado de las semillas ya que el aumento de la actividad antioxidante con el brote es uno de los muchos cambios metabólicos que se producen al brotar las semillas, principalmente al aumento de la actividad de las enzimas hidrolíticas endógenas.

La figura 12, nos muestra los resultados de la actividad antioxidante con el método FRAP en la cual se observó que el cultivar Negra Collana presentó una mayor actividad antioxidante dándonos un valor de $11,05 \pm 0,38 \mu\text{mol ET}/\text{g muestra}$, seguido del cultivar Amarilla de Maranganí con un valor de $11,02 \pm 0,47 \mu\text{mol ET}/\text{g muestra}$, en estas dos vemos una similitud en su actividad antioxidante puesto que la diferencia es mínima, por último en los cultivares Roja Pasankalla y Blanca de Junín con valores de $6,51 \pm 0,24 \mu\text{mol ET}/\text{g muestra}$ y $6,33 \pm 0,93 \mu\text{mol ET}/\text{g muestra}$, respectivamente, El incremento de la capacidad antioxidante fue de un aproximado del 74 % del cultivar Negra Collana y Amarilla de Maranganí con respecto a los cultivares Roja Pasankalla y Blanca de Junín. Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) hallándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) (Anexo 33). Seguidamente se efectuó la prueba de comparaciones

múltiples de Scheffé (Anexo 33), en el cual, el germinado de la semilla del cultivar Negra Collana y Amarilla Marangani fue el que presentó mayor actividad antioxidante y el cultivar Blanca de Junín presentó menor actividad.

Brend *et al*⁴⁷, evaluaron la actividad antioxidante por el método FRAP, de dos variedades de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua”, roja y amarilla reportando un valor de $5,1 \pm 0,2 \mu\text{mol ET/g}$ muestra para la variedad roja, y $1,7 \pm 0,1 \mu\text{mol ET/g}$ muestra para la variedad amarilla. Estos valores son menores en comparación a los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación debido a la influencia en el germinado de las semillas.

VI. CONCLUSIONES

1. El germinado de las semillas de los cuatro cultivares Amarilla de Marangani, Blanca de Junín, Roja Pasankalla y Negra Collana de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua" presentan capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos.
2. El germinado de las semillas de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd, presentan contenido de fenoles totales, flavonoides y flavonoles siendo los cultivares de mayor contenido, Amarilla de Marangani con valor de $2,78 \pm 0,06$ mg EAG/g de muestra; Negra Collana con $1,96 \pm 0,1$ mg EQ/g de muestra y Amarilla de Marangani con $0,33 \pm 0,01$ mg EQ/g de muestra, respectivamente; mientras que el cultivar Blanca de Junín tuvo menor contenido.
3. El germinado de las semillas de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd "quinua", tienen capacidad antioxidante, evaluados por los métodos DPPH, ABTS y FRAP, siendo los cultivares de mayor actividad antioxidante, Amarilla de Marangani y Negra Collana con valores de $35,93 \pm 0,03$ $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra; $15,89 \pm 1,20$ $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra y $11,05 \pm 0,38$ $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra; mientras que el cultivar Blanca de Junín tuvo una menor actividad antioxidante.
4. El color de las semillas de *Chenopodium quinoa* Willd "quinua", tuvo influencia en el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante, siendo los cultivares germinadas, Amarilla de Maranganí y Negra Collana las que mostraron mayor contenido de compuestos fenólicos y mejor capacidad antioxidante con respecto a los cultivares Roja Pasankalla y Blanca de Junín.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar un estudio comparativo para diferenciar la cantidad de compuestos fenólicos y actividad antioxidante entre los germinados de quinua y las semillas sin germinar.
2. Realizar el ensayo de la actividad antioxidante con el germinado de otros cultivares de las semillas de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua”, para cuantificar cuál de ellas tiene mejor actividad antioxidante.
3. Realizar otros estudios sobre la actividad antioxidante empleando otros modelos experimentales.
4. Empezar un proyecto de comercialización de germinados de quinua como una nueva opción, por el aumento de alimentos funcionales y nutracéuticos para la prevención del cáncer y enfermedades degenerativas.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ponce de León E, Matallana M y Torija E. Germinados o brotes. Su interés en la alimentación actual. Schironia. Revista científica del Colegio Oficial de Farmacéuticos de Madrid. 2011; 10: 5-13.
2. Dávila M, Sangronis E. y Granito M. Leguminosas germinadas o fermentadas: alimentos o ingredientes de alimentos funcionales. Arch Latinoam Nutr. 2003; (53), 348-354.
3. Bewley J. Seed germination and dormancy. The Plant Cell. American Society of Plant Physiologists; 1997. 9: 1055-1066.
4. Neri S, Calvagno S, Mauceri B, Misseri M, Tsami A, Vecchio C, et al. Effects of antioxidantson posprandial oxidative stress an endothelial dysfunction in subjects with impaired glucose tolerance and Type 2 diabetes. European Journal of Nutrition. 2010; 49(7): 409-16.
5. Ou B, Huang D, Hampsch-Woodill M, Flanagan J. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (O.R.A.C.) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. Journal of agricultura! and food chemistry. 2002; 50(11): 3122-8.
6. Cruz D. Antioxidantes en variedades y líneas nuevas de cañihua (*Chenopodium pallidicaule*) en Bolivia. [Tesis para obtener el grado de magister Scientiarum]. Bolivia: Universidad Mayor de San Andrés. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas. 2013.
7. Castillo E. Determinación de los compuestos antioxidantes durante la germinación y extrusión en la cañihua (*chenopodium pallidicaule* Aellen) [para optar título de Ingeniero Agroindustrial]. Perú: Universidad del Altiplano. Facultad de Ciencias Agrarias. 2010; p.8-20
8. Tarzi B, Gharachorlo M, Baharinia M, Mortazavi S. The effect of germination on phenolic content and antioxidant activity of chickpea. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 2002; pp. 1137 - 1143.
9. Choque M. Cuantificación de los compuestos antioxidantes fenólicos y selenio en quinua (*Chenopodium quinoa willd*). Facultad de Agronomía. Universidad Mayor de San Andrés. La Paz-Bolivia. 2013.
10. Waqas M, Saqib N, Rashid S, Shah P, Akhtar N, Murtaza G. Screening of various botanical extracts for antioxidant activity using DPPH free radical method. Afr J Tradit Complement Altern Med. 2013; 10(6): 452-455.

11. Aguilar E, Romero M, Cabana J, Linares P. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos aislados del germinado de cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L. "Kiwicha". Unidad de Investigación e Innovación. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. 2017; Ayacucho - Perú.
12. Pérez I, Feregrino A, y Jiménez S. Contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en germinados de (*Medicago sativa*) "alfa alfa" y (*Amaranthus cruentus*) "amaranto". "Congreso internacional de investigación e innovación 2018". 2016; Guanajuato – México.
13. Aucasime I. Descripción personal de *Chenopodium quinoa* willd "quinua". Certificado emitido por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas. Ayacucho-Perú. 2018.
14. Muñoz, M. Monografía de la quinua y comparación con amaranto. Asociación Argentina de fitomedicina. Argentina. 2012.
15. Ayala .G., L. Ortega y C. Morón. valor nutritivo y usos de la quinua. In: A. Mujica, S. Jacobson, J. Izquierdo y JP. Marathee. Quinua: Ancestral cultivo andino, alimento del presente y futuro. FAO. UNA. CIP. 2004. Santiago. Chile. pp. 215-253.
16. Ahamed T, Singhal R and Kulkarni P, lesser A. know grain, chenopodium quinoa: review of the chemical compositionof its edible parts. Food And Nutrition Bulletin. Vol.19. N°1. The United Nations University.
17. Alvarez-Jubete, L., Wijngaard, H., Arendt, E., Gallagher, E. Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa, buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. Food Chemistry. 2010; 119, 770–778.
18. Tang Y, Li X, Zhang B, Chen P, Liu R, Tsao R. Characterisation of phenolics, betanins and antioxidant activities in seeds of three *Chenopodium quinoa* Willd. genotypes. Food Chemistry. 2015; 166, 380-388.
19. Organización Mundial de la Salud. Guías para el asesoramiento y la regulación de las medicinas tradicionales, Ginebra; 2012.
20. Neri S, Calvagno S, Mauceri B, Misseri M, Tsami A, Vecchio C, et al. Effects of antioxidantson posprandial oxidative stress an endothelial dysfunction in subjects with impaired glucose tolerance and Type 2 diabetes. European Journal of Nutrition. 2010;49(7): 409-16.

21. Bravo L, Saura F. Characterization of dietary fiber and the in vitro indigestible fraction of grape pomace. *American Journal of Enology and Viticulture*. 1998; p.135-141.
22. Gimeno E. Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. OFFARM. *Ámbito Farmacéutico nutrición*. [Revista en internet] 2004. [Acceso septiembre 2017]; 23(6). Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-compuestos-fenolicos-un-analisis-sus-13063508>.
23. Bruneton J. *Farmacognosia y Fitoquímica*. Segunda Edición ed. Zaragoza: Acribia; 2001.
24. Harborne J, Williams C. Advances in flavonoid research since phytochemistry. 2000, 55:481-504.
25. Robards K, Prentzler P, Tucker G, Swatsitang P, Glover W. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, p.436.
26. Valko, Mirian; *et al*. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. En: *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2007; Vol. 39, n°. 1. p.44-84.
27. Limon J. *et al*. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. En: *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2009; Vol. 674, no. 1-2. p.137-47.
28. Montero M. Los radicales libres y las defensas antioxidantes. *Rev. Anales de la Facultad de Medicina*. 1996; 57(4): 278-281
29. Vermerris W y Nicholson R. *Phenolic Compound Biochemistry*. Primera Edición. Dordrecht: Springer, 2006. p.285-292.
30. Dhalla N, Temsah R, Netticadan T. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *J Hypertens*. (2000); 18, 655-673.
31. Bewley, J. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell*. American Society of Plant Physiologists. 1997; 9, 1055-1066.
32. García P, Primo E. Germinación de las semillas. En: *Fisiología y Bioquímica Vegetal*; España, McGraw Hill Interamericana. 1993; 419-433.
33. Crowe J, Hoekstra F, Crowe L. Anhydrobiosis. *Annual Review of Physiology*. 1992; 54, 579-599.

34. Bradford K. Water relations in seed germination. En: Kigel, J. y Galili, G. (Editores). Seed development and germination. 1995; 352-396- Marcell Dekker Inc., New York.
35. Corbineau, F. y Come D. Control of seed germination and dormancy by the gaseous environmet. En: Seed Development and germination, Kigel, J. y Galili, G. (Editores). 1995; pp. 397424. Marcel Dekker Inc., New York.
36. Colbach, N., Chauvel, B., Durr, C., Richard, G. Effect of environmental conditions on *Alopecurus myosuroides* germination. I. Effect of temperature and light. European Weed Research Society. 2002; 42, 210-221.
37. Martínez M, Hernández M, Ojeda M, Mena R, Alegre A y Alfonso J. Desarrollo de un programa de educación nutricional y valoración del cambio de hábitos alimentarios saludables en una población de estudiantes de Enseñanza Secundaria Obligatoria. *Nutrición Hospitalaria*. 2009; 24 (4), 504-510.
38. Carciochi RA, Manrique GD, Dimitrov K. Changes in phenolic composition and antioxidant activity durin germination of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd). *International Food Research Journal*. 2009; 21(2), 2014.p.767 - 773.
39. Xue Z, Wang C, Zhai L, Yu W, Chang H, Kou X, Zhou E. Bioactive compounds and antioxidant activity of mung bean (*Vigna radiata* L.), soybean (*Glycine max* L.) and black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during the germination process. *Czech J. Food Sci*. 2016; pp. 68-78.
40. Palombini SV, Claus T, Maruyama SA, Gohara AK, Souza AHP, de Souza NE, Visentainer JV, Gomes STM, Matsuhita M. Evaluation of nutritional compounds in new amaranth and quinoa cultivars. *Food Sci. Technol, Campinas*. 2013; 33(2), pp. 339 - 344.
41. Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros L, Hawkins D. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Food Compos*. 2006,19,669-675.
42. Brand-Williams W, Cuveler M, Berset C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT-Food Sci. Technol*. 1995; 28,25-30.
43. Arnao M, Cano A, Acosta M. The hydrofilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry*. 2001; p.239 – 244.
44. Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assays. *Analytical Biochemistry* 1996; 239: 70 – 76.

45. Cesar W. Actividad antioxidante del extracto etanólico del germinado de cuatro variedades de *chenopodium quinoa willd* "quinua". Tesis para obtener el título profesional de químico farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. 2016; Ayacucho - Perú.
46. Mendoza j. "Compuestos fenólicos, ácidos grasos y capacidad antioxidante en quinua (*chenopodium quinoa willd*)". Tesis para obtener el título profesional de ingeniería en industrias alimentarias. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. 2015; Arequipa – Perú.
47. Brend Y, Galili L, Badani H, Hovav R, Galli S. Total phenolic content and antioxidant activity of red and yellow quinoa (*Chenopodium quinoa Will.*) seeds as affected by baking and cooking conditions. *Food and Nutrition Sciencies*, Volumen 3. 2012; pp. 1150 - 1155.
48. Aguilar E, Romero M, Velazco C, Ore K. Actividad antioxidante de los ácidos fenólicos aislados del germinado de cuatro variedades de *Chenopodium quinoa Willd*. "quinua". Unidad de Investigación e Innovación Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. 2016; Ayacucho - Perú.
49. Chagua G y Palomino L. "estudio comparativo de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos en quinua (*chenopodium quinoa willd*) expandida de tres variedades provenientes del departamento de Junín". Tesis para obtener el título profesional de ingeniero agroindustrial. Universidad Nacional del Centro del Perú. 2014; Arequipa. Tarma – Perú.
50. Valencia Z, Camara F, Ccapa k, Catacora P, Quispe F. Compuestos bioactivos y actividad antioxidante de semillas de quinua peruana (*chenopodium quinoa willd*). *Rev. Soc. Quím. Perú*. 2007; 83(1).

ANEXOS

Anexo 1. Certificado de identificación botánica de *Chenopodium quinoa* Willd.
"quinua".

CONSTANCIA

**LA BIÓLOGA LAURA AUCASIME MEDINA ESPECIALISTA EN
TAXONOMÍA Y SISTEMÁTICA DE PLANTAS DEJA CONSTANCIA:**

Que, el Bach. en Farmacia y Bioquímica, Sr. Guido Brumel, GUTIÉRREZ
CUADROS, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo
de tesis.

Dicha muestra ha sido determinada según el Sistema de Clasificación de
Cronquist. A. 1988. siendo su taxonomía el siguiente:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	CARYOPHYLLIDAE
ORDEN	:	CARYOPHYLLALES
FAMILIA	:	CHENOPODIACEAE
GENERO	:	Chenopodium
ESPECIE	:	<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.
N.V.	:	"quinua"

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

Ayacucho, 31 de Octubre del 2018



LAURA AUCASIME MEDINA
BIÓLOGA
Reg. C.B.R. N° 583 C.R. - XIII

Anexo 2. Certificación de los cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua”.



PERÚ Ministerio de Agricultura y Riego



La Dirección de Desarrollo Tecnológico y Documentación Científica de la Estación Experimental Agraria Canaán del Instituto Nacional de Innovación Agraria - INIA

CERTIFICA:

Que, las semillas de las cultivares de INIA 415 Pasankalla, Blanca de Junín, INIA 420 Negra Collana y Amarilla de Marangani otorgadas al Sr. **Guido Brumel GUTIERREZ CUADROS**, Identificada con DNI N°46110312. Corresponden al material genético con la que viene trabajando el Programa Nacional de Innovación en cultivos Andinos, los mismos que se vienen multiplicando en los pisos altitudinales recomendados para producción de semilla de calidad y así mismo se encuentra certificados por el Área de Regulación de semillas (ARES) de la EEA Canaán-INIA.

Se expide el presente certificado a solicitud de la interesada para los fines pertinentes.

Ayacucho, 06 de noviembre del 2018

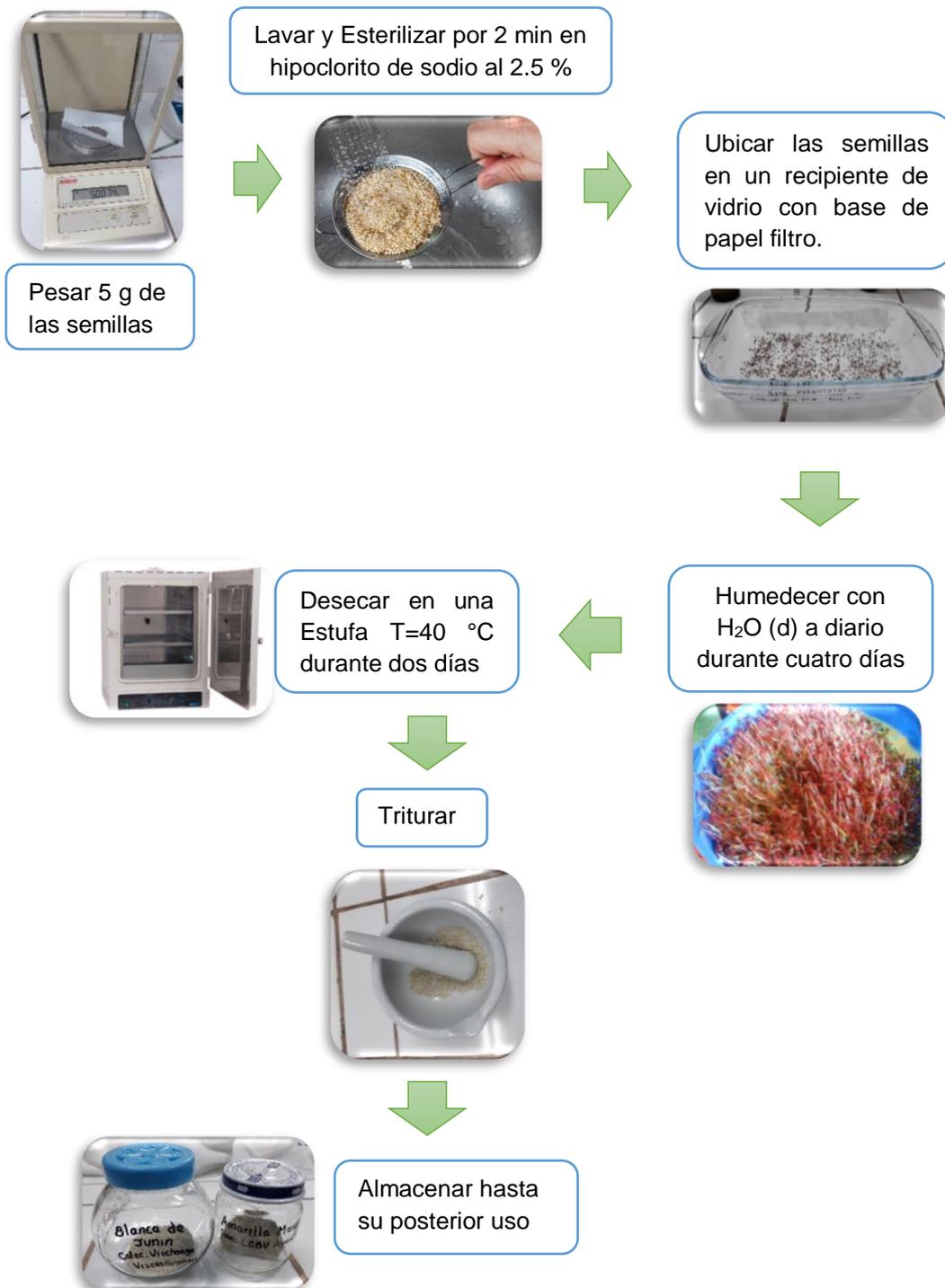
INIA
Estación Experimental Agraria Canaán

Ing. Abraham Millantay Palomino
Coordinación DDTA

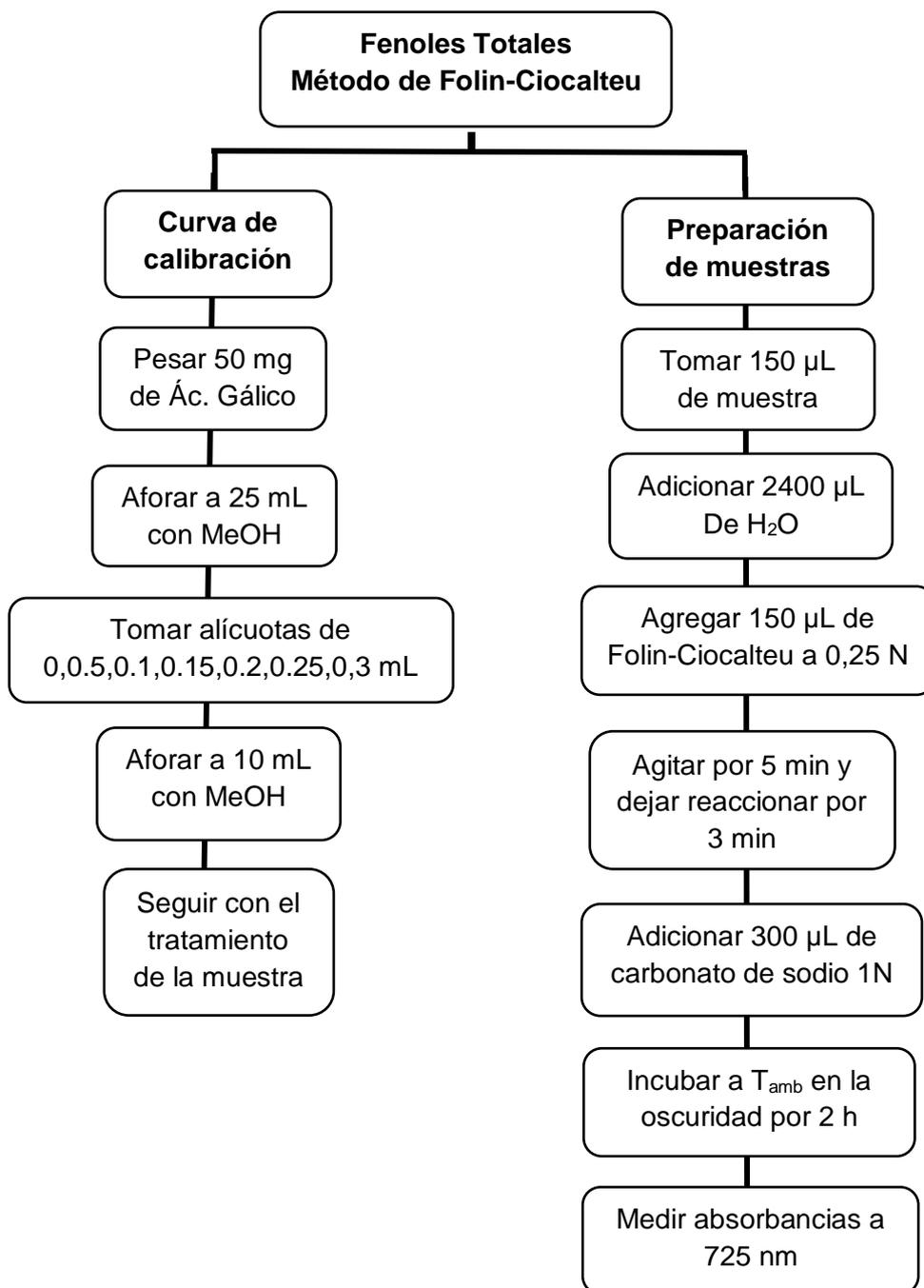
Av. La Molina 1981 - La Molina - Lima
T: (511) 240-2100
www.inia.gob.pe
www.minagri.gob.pe

EL PERÚ PRIMERO

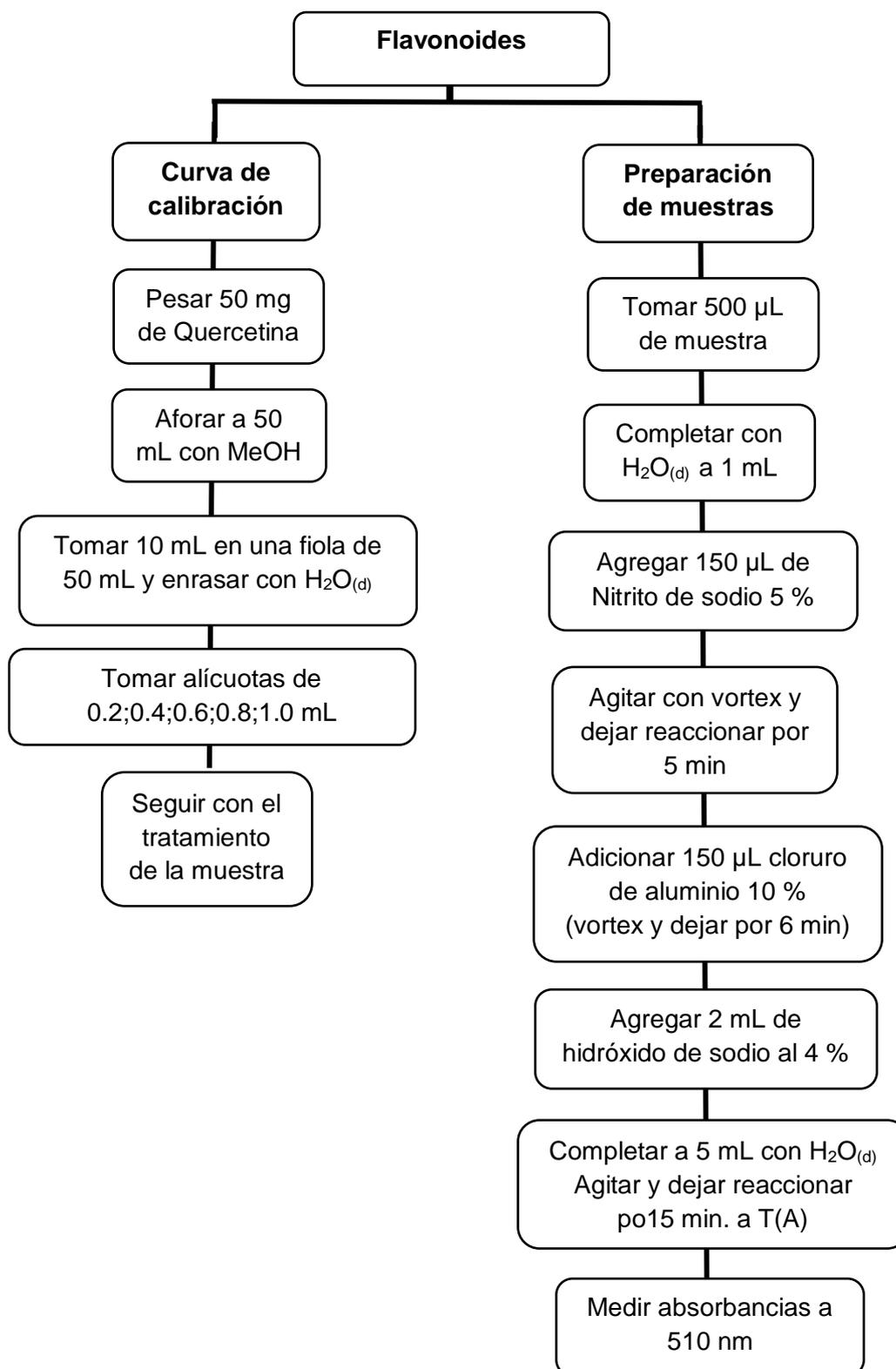
Anexo 3. Flujograma del procedimiento para la obtención del germinado de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd "quinua".



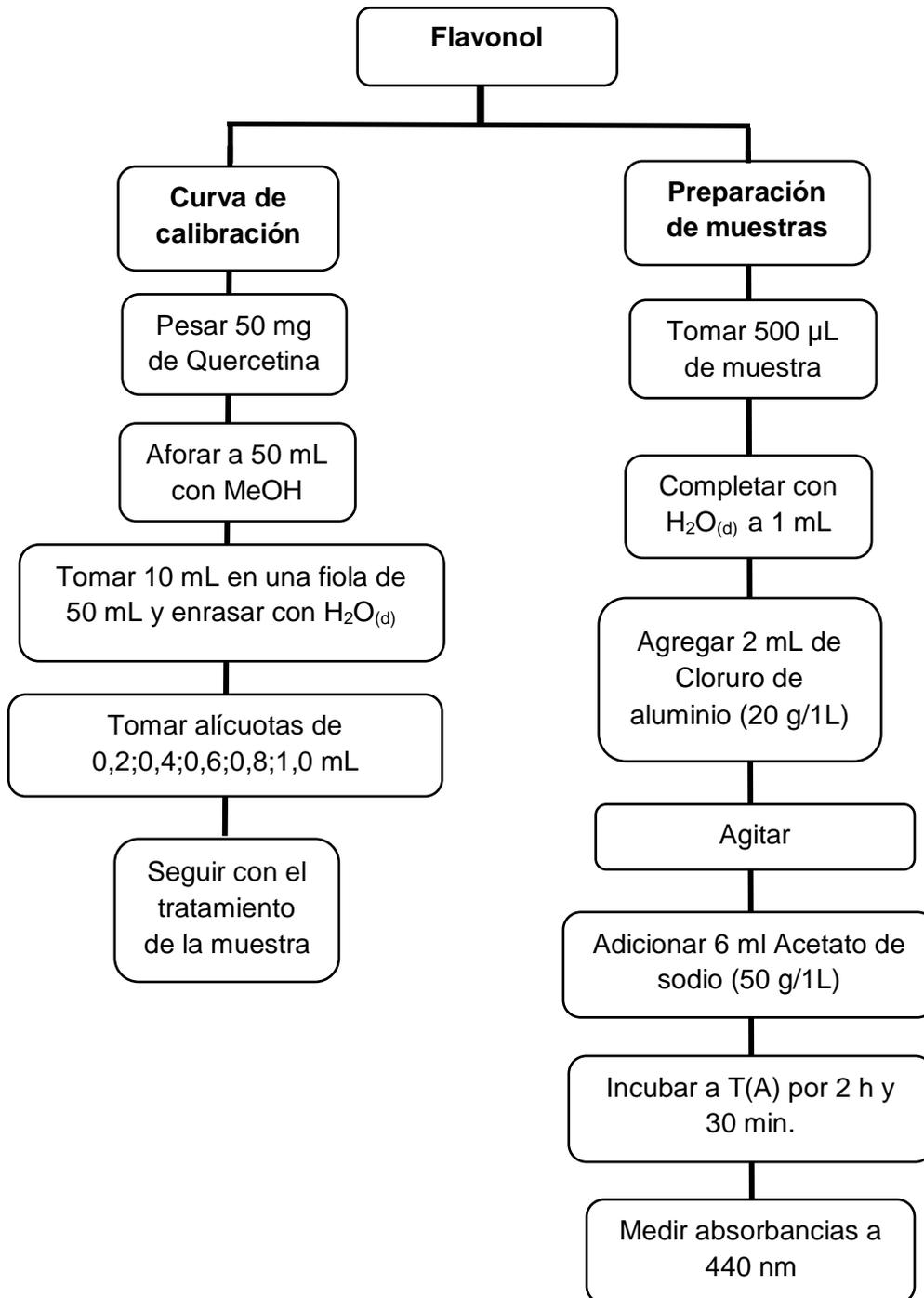
Anexo 4. Flujograma del procedimiento para la obtención de fenoles totales del germinado de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua”.



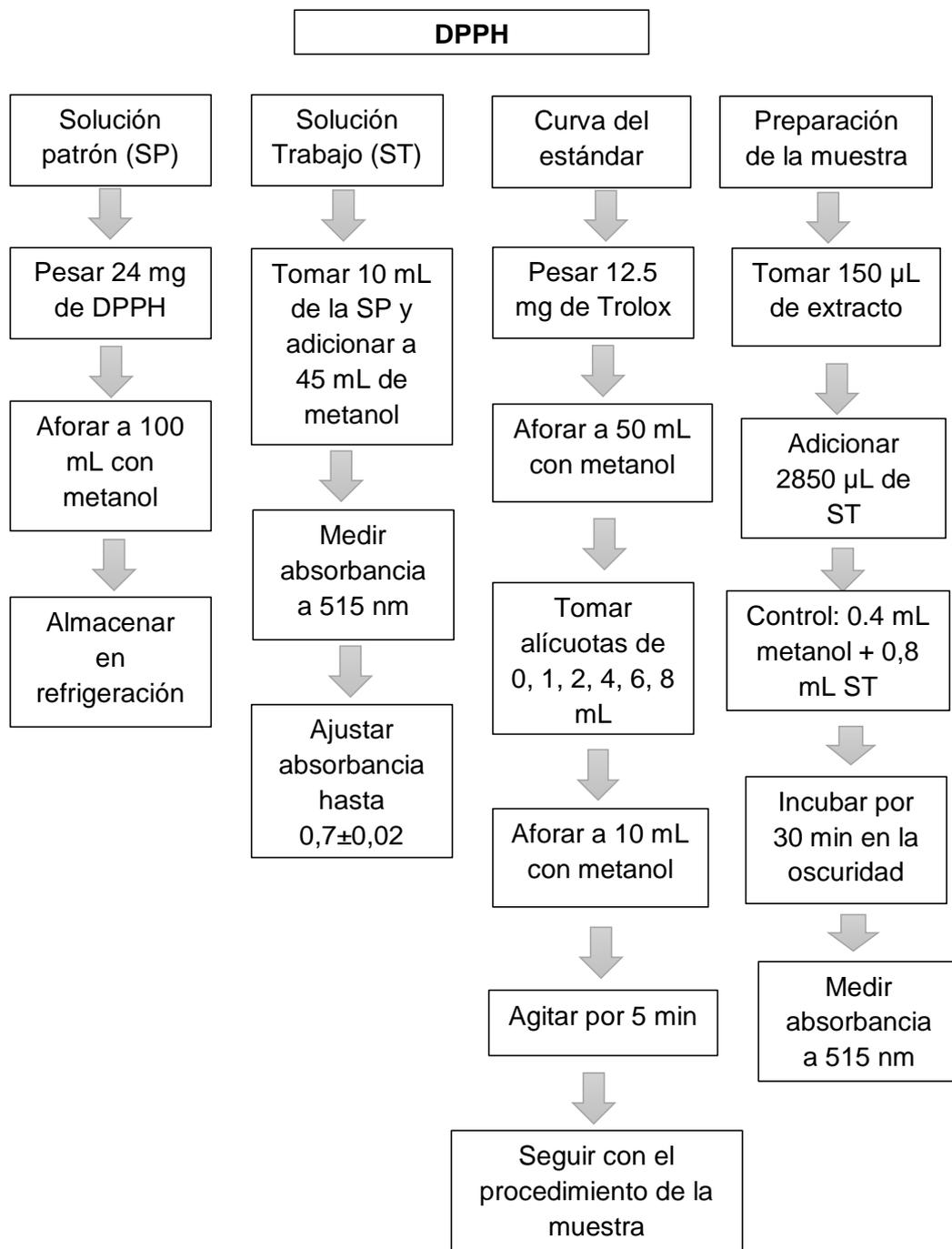
Anexo 5. Flujoograma del procedimiento para la obtención de flavonoides del germinado de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua”.



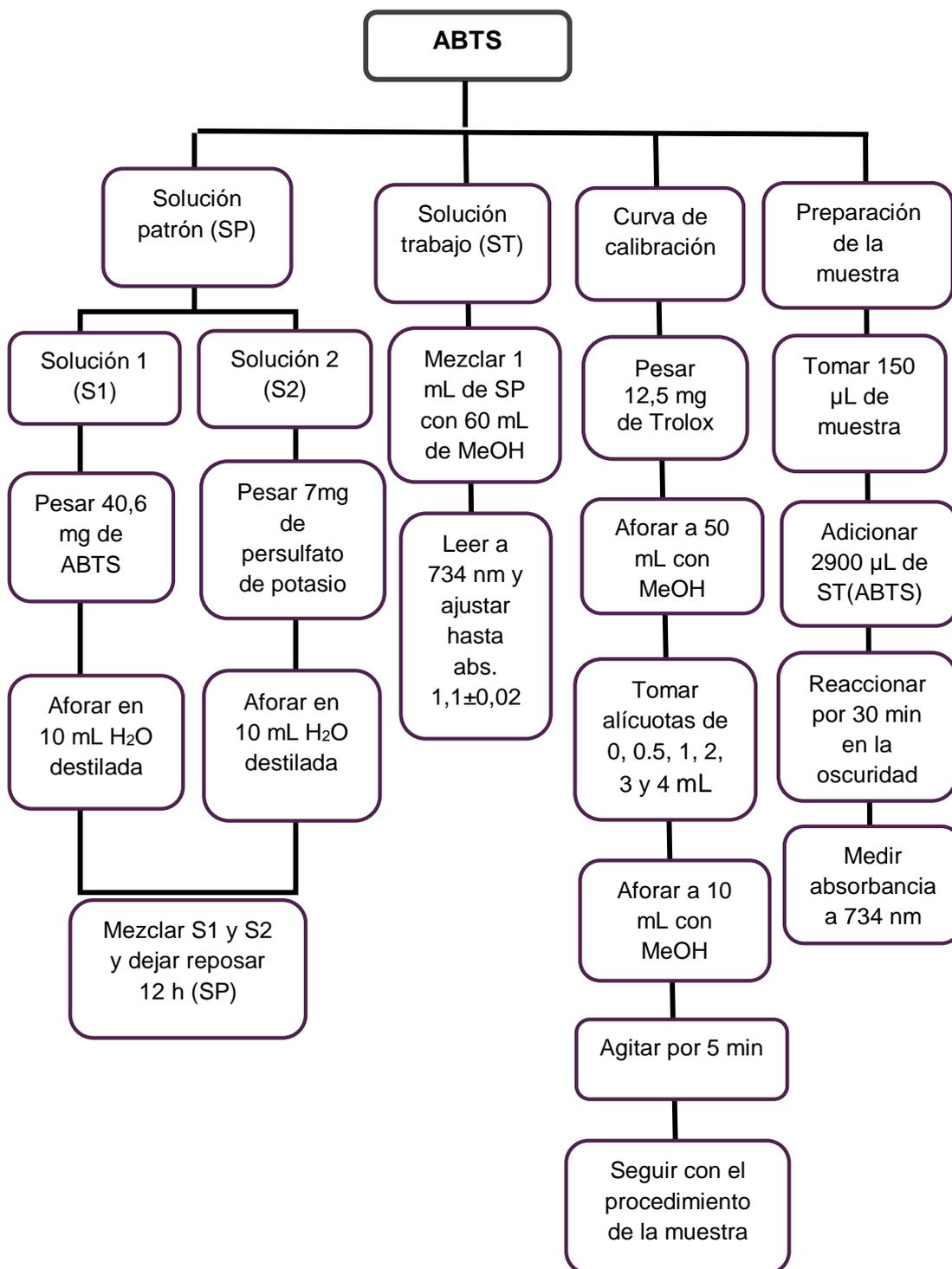
Anexo 6. Flujograma del procedimiento para la obtención del flavonol del germinado de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua”.



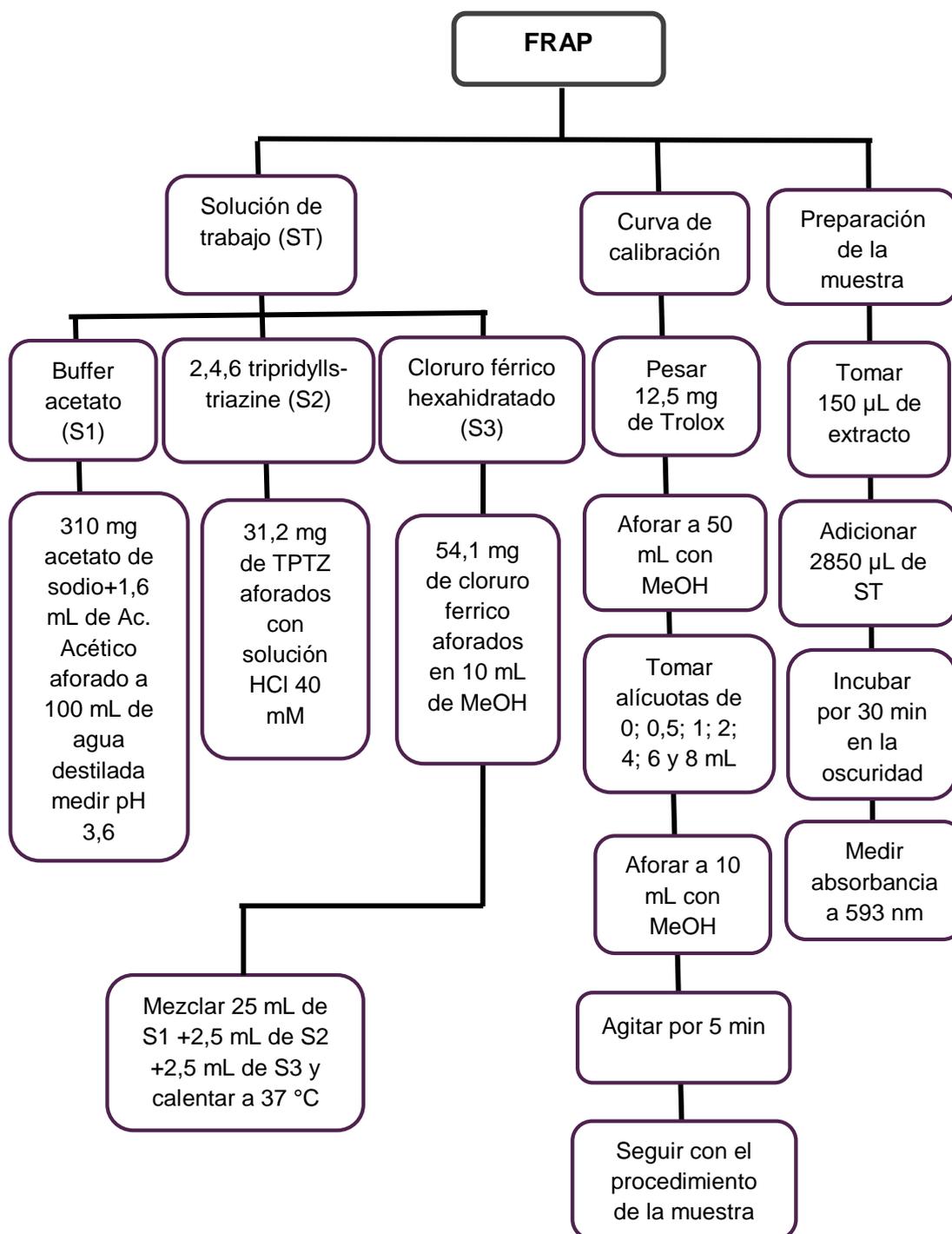
Anexo 7. Flujograma del procedimiento para la determinación de la actividad antioxidante por método DPPH del germinado de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua”. Ayacucho 2019.



Anexo 8. Flujograma del procedimiento para la determinación de la capacidad antioxidante por el método ABTS, del germinado de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua”.



Anexo 9. Flujograma del procedimiento para la determinación de la capacidad antioxidante por el método FRAP, del germinado de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua”.



Anexo 10. Semillas de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua”.



Cultivar Amarilla de Marangani



Cultivar Blanca de Junín



Cultivar Negra Collana



Cultivar Roja Pasankalla

Anexo 11. Germinado de semillas de los cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd "quinua" Ayacucho 2019.



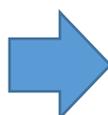
Cultivar Blanca de Junín



Cultivar Amarilla de Marangani



Cultivar Roja Pasankalla

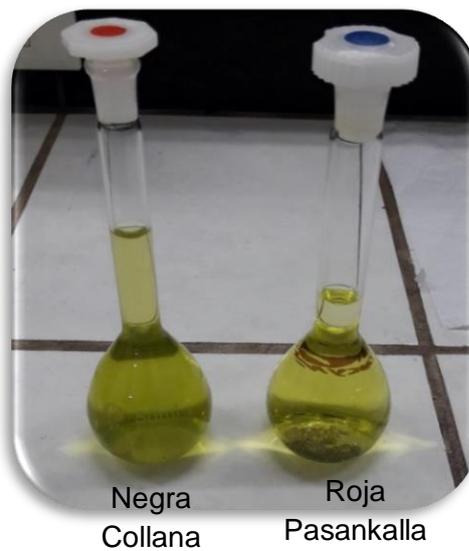
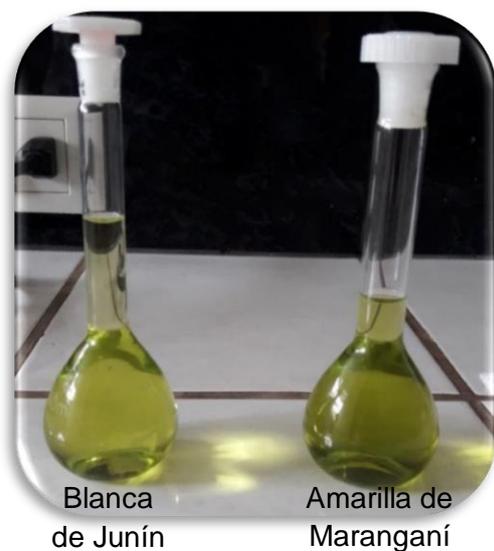


Cultivar Negra Collana

Anexo 12. Fotografía del proceso de molienda del germinado de las semillas de los cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua” Ayacucho 2019.



Anexo 13. Fotografía del extracto metanólico de las semillas germinadas de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* “Willd”. Ayacucho 2019.



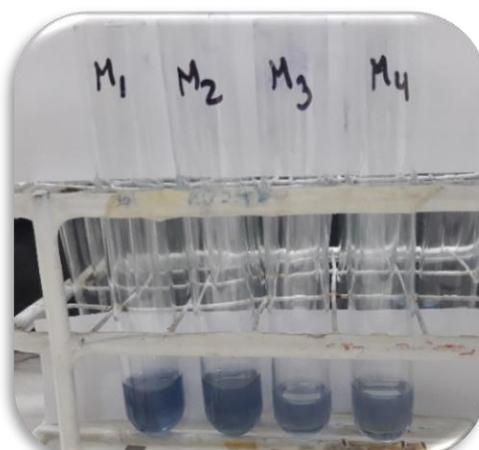
Anexo 14. Fotografía del proceso de cuantificación de fenoles totales de las semillas germinadas de los cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua” en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2019.



Adicionando 150 μ L de muestra y los reactivos respectivos para la identificación de fenoles totales (150 μ L de follin ciocalteu a 0,25 N) y (300 μ L de carbonato de sodio 1N)



Reacción del estándar (ácido gálico) a concentraciones 0; 0,05; 0,1; 0,15; 0,2; 0,25 y 0,3 mL. para la curva de calibración

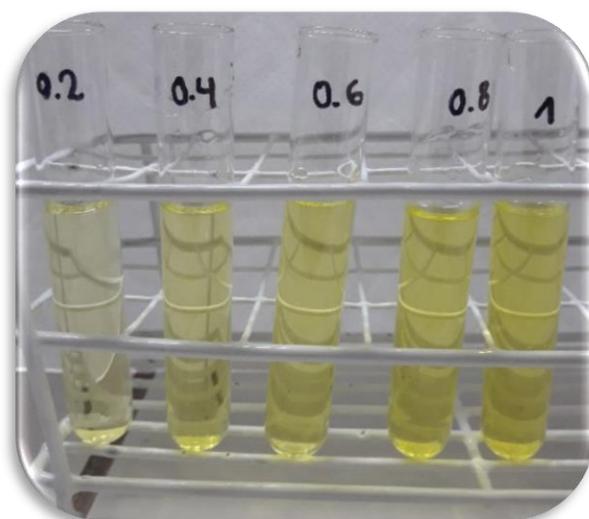


Reacción de las muestras para la cuantificación de fenoles totales

Anexo 15. Fotografía del proceso de cuantificación de flavonoides totales de las semillas germinadas de los cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua” en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2019.



Adicionando 150 μL de muestra y los reactivos respectivos para la identificación de fenoles totales (150 μL de follin ciocalteu a 0,25 N) y (300 μL de carbonato de sodio 1 N)



Estándar

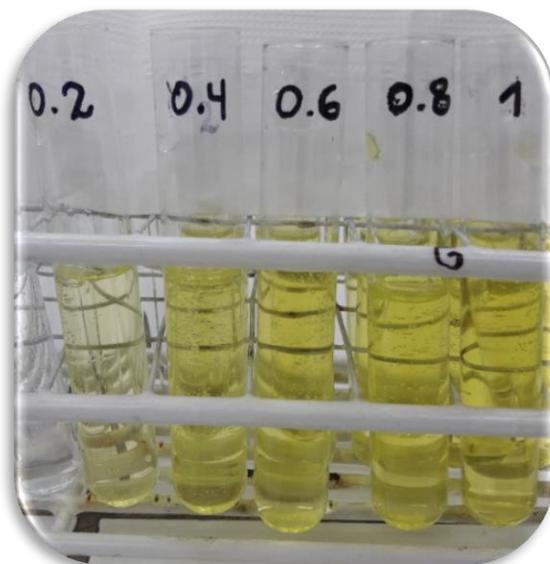


Muestra

Anexo 16. Fotografía del proceso de cuantificación de flavonoles de las semillas germinadas de los cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua” en el Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho 2019.



Adicionando 150 μ L de muestra y los reactivos respectivos para la identificación de fenoles totales (150 μ L de follin ciocalteu a 0,25 N) y (300 μ L de carbonato de sodio 1 N)

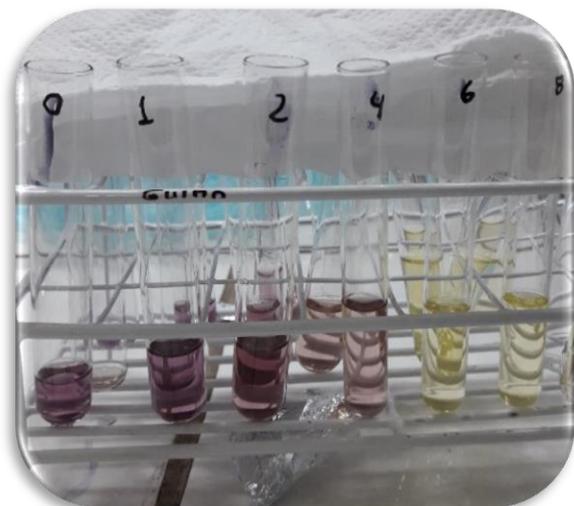


Estándar



Muestra

Anexo 17. Fotografía de la reacción de captación del DPPH de los compuestos fenólicos aislados de las semillas germinadas de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua". Ayacucho – 2019.

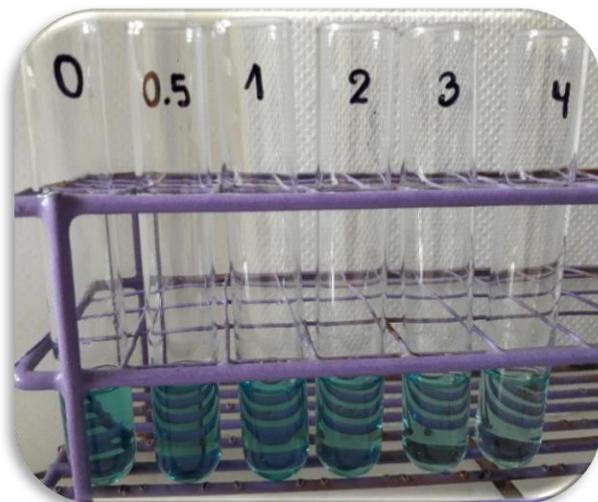


Estándar



Muestra

Anexo 18. Fotografía de la Reacción de ABTS de los compuestos fenólicos aislados de las semillas germinadas de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua". Ayacucho – 2019.



Estándar

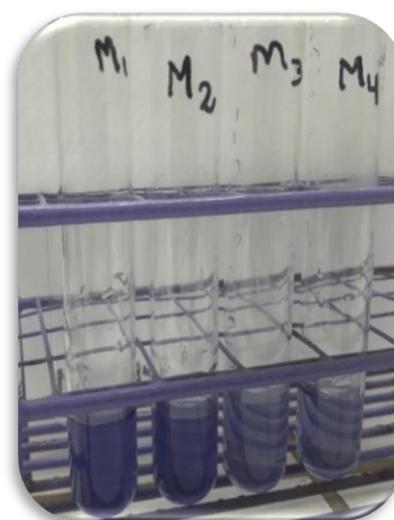


Muestra

Anexo 19. Fotografía de la reacción del FRAP de los compuestos fenólicos aislados de las semillas germinadas de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua". Ayacucho – 2019.



Estándar



Muestra

Anexo 20. Composición química bromatológica de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua".

Composición química y valor nutricional

Componente	Roja	Amarilla	Blanca
Almidón	59,2	58,1	64,2
Monosacarido	2,0	2,1	1,8
Disacarido	2,6	2,2	2,6
Fibra cruda	2,4	3,1	2,1
Pentosanas	2,9	3,0	3,6

Contenido de aminoácidos

Aminoácido	(mg/100 g de proteína)
Isoleucina	68
Leucina	104
Lisina	79
Fenilalanina	79
Tirosina	41
Cistina	68
Metionina	18
Treonina	40
Triptofano	16
Valina	76

Composición de carbohidratos (% de materia prima)

Elemento	Unidad	valor
Agua	%	12,00
Proteínas	%	10,70
Grasas	%	5,70
Carbohidratos	%	69,29
Cenizas	%	3,20
Celulosa	%	4,30

Anexo 21. Procedimiento para la cuantificación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra.

Preparación de la Solución stock		
Trolox	12,5	mg
Sol. Estándar	50	mL
Sol. Estándar	968,8761	$\mu\text{Mol/mL}$
	968,8761	$\mu\text{Mol/mL}$

[]	ABSORVANCIA
0	0,67
1	0,58
2	0,46
4	0,31
6	0,15
8	0,02

$$\mu\text{M/ml} = \frac{968,8761 \times st1}{10}$$

	Sol. stock (mL)	St (mL)	$\mu\text{Mol/ml}$
St1	0,00	10	0,00
St2	1,00	10	96,89
St3	2,00	10	193,78
St4	4,00	10	387,55
St5	6,00	10	581,33
St6	8,00	10	775,10

St [$\mu\text{Mol/mL}$]	A	%
0,00	0,670	4,96
96,89	0,580	17,73
193,78	0,460	34,75
387,55	0,310	56,03
581,33	0,150	78,72
775,10	0,020	97,16

MUESTRA

Amarilla	Negra	Roja	Blanca
Absorbancia			
0,054	0,063	0,144	0,288
0,043	0,076	0,109	0,273
0,042	0,055	0,106	0,276
Porcentaje (%)			
92,340	91,064	79,574	59,149
93,901	89,220	84,539	61,277
94,043	92,199	84,965	60,851
$\mu\text{Mol/L}$			
709,56	698,85	602,38	430,88
722,67	683,36	644,06	448,74
723,86	708,37	647,63	445,17
$\mu\text{Mol/g}$ de muestra			
35,48	34,94	30,12	21,54
36,13	34,17	32,20	22,44
36,19	35,42	32,38	22,26
Amarilla	Negra	Roja	Blanca
Promedio			
35,93	34,84	31,57	22,08
Desviación estándar			
0,40	0,63	1,26	0,47

$$\% \text{ inhb} = \frac{\text{abs DPPH} - \text{abs muestra}}{\text{abs DPPH}} \times 100$$

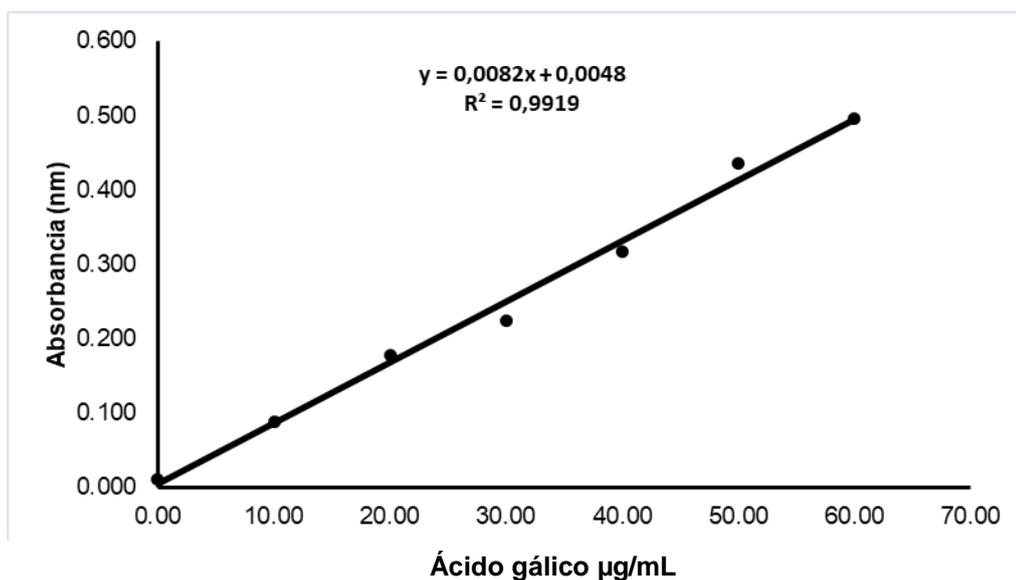
De la ecuación de la recta

$$y = mx + b$$

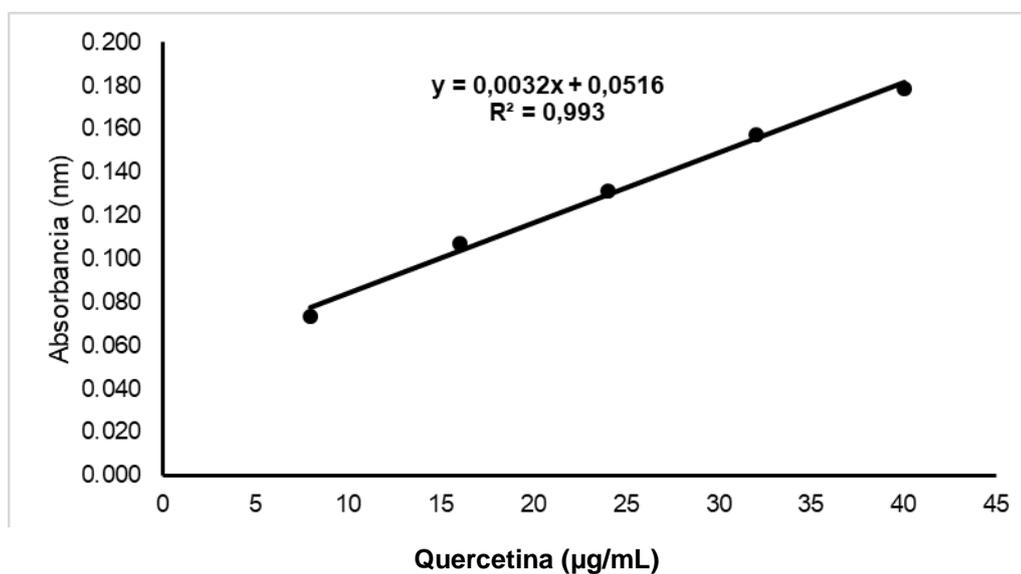
$$x = \frac{\% \text{ inhib} - b}{m}$$

Para [1g/50 mL]

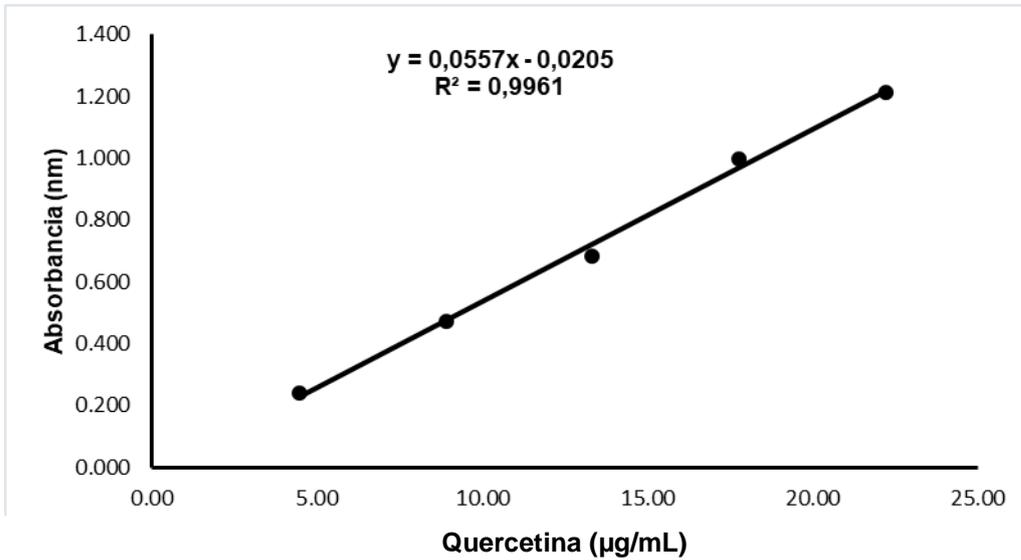
Anexo 22. Curva de calibración con el ácido gálico como estándar para cuantificar el contenido de fenoles totales a longitud de onda de 725 nm.



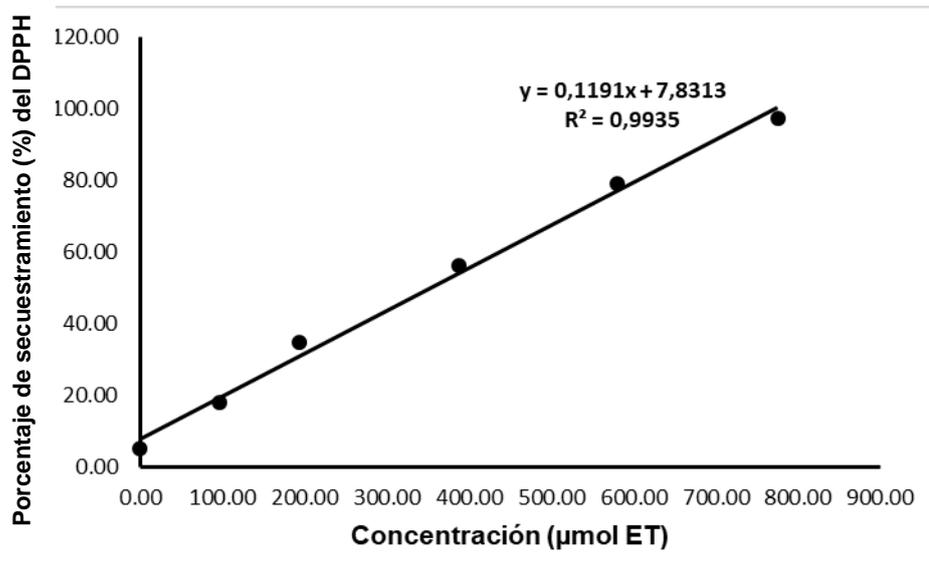
Anexo 23. Curva de calibración con la quercetina como estándar para cuantificar el contenido de flavonoides totales a longitud de onda de 550 nm.



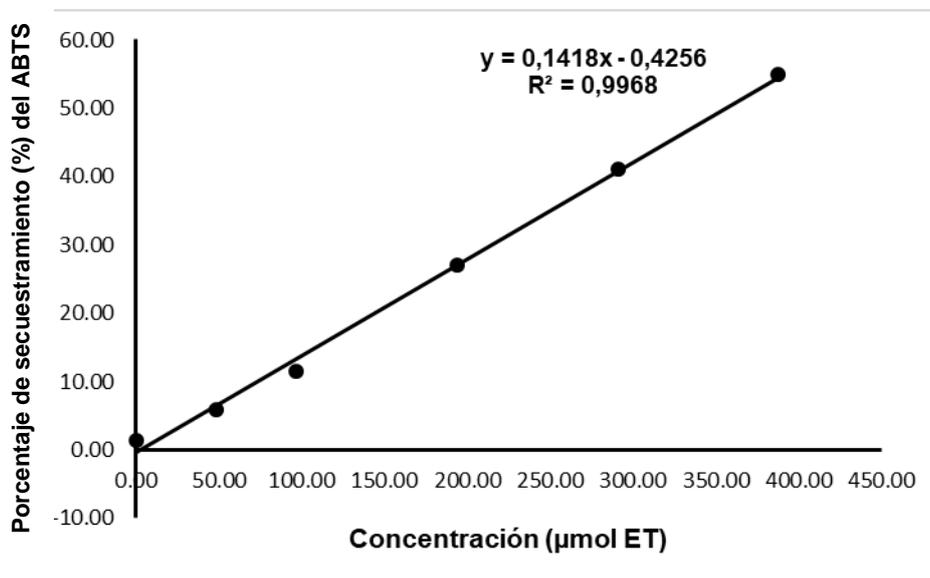
Anexo 24. Curva de calibración con la quercetina como estándar para cuantificar el contenido de flavonoles a longitud de onda de 440 nm.



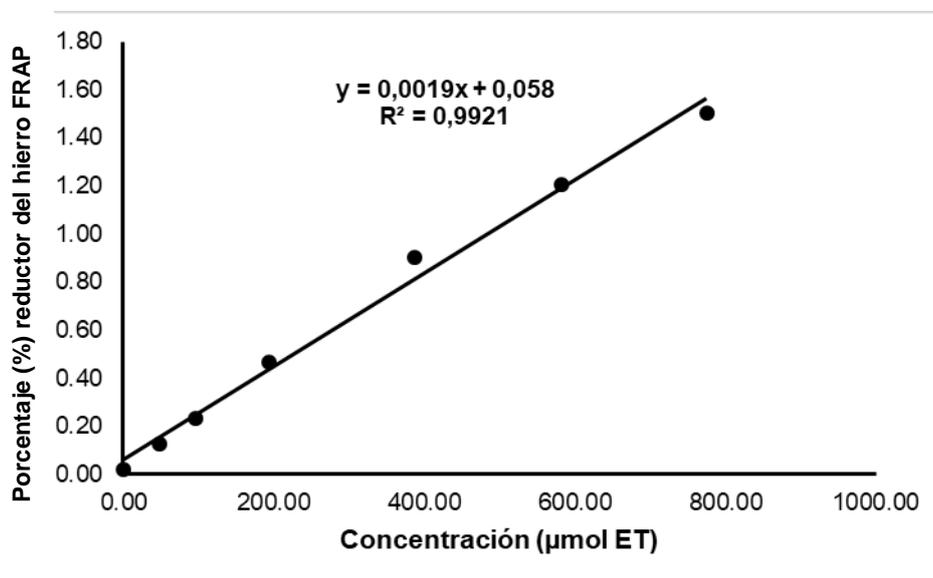
Anexo 25. Curva de calibración con trolox como estándar para determinar el porcentaje (%) de secuestro del radical DPPH a longitud de onda de 515 nm.



Anexo 26. Curva de calibración con trolox como estándar para determinar la actividad antioxidante por el método ABTS a longitud de onda de 734 nm.



Anexo 27. Curva de calibración con trolox como estándar para determinar la actividad antioxidante por el método FRAP a longitud de onda de 593 nm.



Anexo 28. Análisis de varianza factorial y prueba complementaria de Scheffé del contenido de fenoles totales del germinado de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua".

ANOVA de un factor

Fenoles totales (mg EAG/g de muestra)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	5,382	3	1,794	69,884	,000
Intra-grupos	,513	20	,026		
Total	5,895	23			

Fenoles totales (mg EAG/g de muestra)

Scheffé^a

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Blanca de Junín	6	1,4933			
Roja Pasankalla	6		1,8867		
Negra Collana	6			2,2600	
Amarilla de Marangani	6				2,7767
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 6,000.

Anexo 29. Análisis de varianza factorial y prueba complementaria de scheffé del contenido de flavonoides totales del germinado de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua".

ANOVA de un factor

Flavonoides (mg EQ/g de muestra)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1,011	3	,337	9,623	,000
Intra-grupos	,701	20	,035		
Total	1,712	23			

Flavonoides (mg EQ/g de muestra)

Scheffé^a

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Blanca de Junín	6	1,3983	
Amarilla de Marangani	6	1,6867	1,6867
Roja Pasankalla	6		1,8017
Negro Collana	6		1,9600
Sig.		,101	,128

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 6,000.

Anexo 30. Análisis de varianza factorial y prueba complementaria de Scheffé del contenido de flavonoles del germinado de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua".

ANOVA de un factor

Flavonoles (mg EQ/g de muestra)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,079	3	,026	158,855	,000
Intra-grupos	,003	20	,000		
Total	,082	23			

Flavonoles (mg EQ/g de muestra)

Scheffé^a

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Blanca de Junín	6	,1933		
Roja Pasankalla	6		,2450	
Negra Collana	6			,3233
Amarilla de Marangani	6			,3317
Sig.		1,000	1,000	,740

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 6,000.

Anexo 31. Análisis de varianza factorial y prueba complementaria de Scheffé de la actividad antioxidante por el método DPPH del germinado de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua".

ANOVA de un factor

Capacidad antioxidante DPPH ($\mu\text{mol ET/g}$ de muestra)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	23,730	3	7,910	200,126	,000
Intra-grupos	,316	8	,040		
Total	24,046	11			

Capacidad antioxidante DPPH ($\mu\text{mol ET/g}$ de muestra)

Scheffé^a

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Blanca de Junín	3	5,6967		
Roja Pasankalla	3		8,1433	
Negra Collana	3			8,9867
Amarilla de Marangani	3			9,2700
Sig.		1,000	1,000	,435

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

Anexo 32. Análisis de varianza factorial y prueba complementaria de Scheffé de la actividad antioxidante por el método ABTS del germinado de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua".

ANOVA de un factor

Capacidad antioxidante ABTS ($\mu\text{mol ET/g}$ de muestra)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	3,900	3	1,300	15,173	,001
Intra-grupos	,686	8	,086		
Total	4,586	11			

Capacidad antioxidante ABTS ($\mu\text{mol ET/g}$ de muestra)

Scheffé^a

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Blanca de Junín	3	2,4367		
Roja Pasankalla	3	2,7400	2,7400	
Negra Collana	3		3,3300	3,3300
Amarilla de Marangani	3			3,9233
Sig.		,670	,188	,185

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

Anexo 33. Análisis de varianza factorial y prueba complementaria de Scheffé de la actividad antioxidante por el método FRAP del germinado de cuatro cultivares de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua".

ANOVA de un factor

Capacidad antioxidante FRAP ($\mu\text{mol ET/g}$ de muestra)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	4,086	3	1,362	65,696	,000
Intra-grupos	,166	8	,021		
Total	4,252	11			

Capacidad antioxidante FRAP ($\mu\text{mol ET/g}$ de muestra)

Scheffé^a

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Blanca de Junín	3	1,6067	
Roja Pasankalla	3	1,6500	
Amarilla de Marangani	3		2,7900
Negra Collana	3		2,8000
Sig.		,986	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

Anexo 34. Matriz de consistencia. Ayacucho 2018.

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	MARCO TEORICO	VARIABLE	DISEÑO METODOLOGICO
Capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos de cuatro cultivares del germinado de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd "quinua". Ayacucho 2018.	¿Cuál de los germinados de los cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd "quinua" tendrá mayor capacidad antioxidante en relación a su contenido de compuestos fenólicos?	<p>Objetivo general. Determinar la capacidad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos presentes en el germinado de cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua" Ayacucho 2018.</p> <p>Objetivos específicos.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cuantificar el contenido de fenoles totales, flavonoides y flavonoles del germinado de las semillas de cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd "quinua". • Determinar la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos del germinado de las semillas por métodos DPPH, ABTS y FRAP, de cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd "quinua". • Determinar la influencia del color de las semillas en el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante del germinado de cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd "quinua". 	<p>Hi: El germinado de cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd "quinua" presenta mayor capacidad antioxidante en relación a su contenido de compuestos fenólicos.</p>	<p><i>Chenopodium quinoa</i> Willd "quinua". Descripción botánica. Distribución geográfica. Uso medicinal tradicional. Composición química.</p> <p>Compuestos fenólicos. Clasificación (ácidos fenólicos y flavonoides). Actividad biológica de los compuestos fenólicos.</p> <p>Radicales libres. Antioxidantes. Estrés oxidativo. Germinado. Fases de la germinación. Factores externos para el proceso del germinado.</p> <p>Importancia biológica de los germinados. Método para evaluar el contenido de compuestos fenólicos. Fenoles totales. Flavonoides totales. Flavonoles.</p> <p>Método para evaluar la capacidad antioxidante. DPPH. ABTS. FRAP.</p>	<p>V.I: Compuestos fenólicos presentes en el germinado de cuatro cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. "quinua".</p> <p>Indicador: Fenoles totales (mg GAE/g de muestra) Flavonoides (mg EQ/g de muestra) Flavonoles (mg EQ/g de muestra).</p> <p>V.D: Capacidad antioxidante.</p> <p>Indicador: Captación del radical libre DPPH expresado como $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra. Captación del radical libre ABTS expresado como $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra. Capacidad Reductora del Hierro (FRAP) expresado como $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra.</p>	<p>Tipo de investigación Básico</p> <p>Nivel de investigación Descriptivo comparativo</p> <p>Método Población Semilla de cultivares de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd "quinua", adquiridas y certificadas por el (INIA- Ayacucho)</p> <p>Muestra Cinco gramos de semilla de cada cultivar, seleccionas por conveniencia</p> <p>Técnica Observación</p> <p>Instrumentos Ficha de datos</p> <p>Análisis de datos La diferencia entre el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante entre las variedades será evaluada mediante análisis de varianza (ANOVA) al 95%, y una prueba complementaria de sheffé.</p>