

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL**

**DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA**

**Y BIOQUÍMICA**



Actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de  
cuatro ecotipos del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum*

Ruiz & Pav. "mashua". Ayacucho - 2012.

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**QUÍMICO FARMACÉUTICO**

PRESENTADO POR:

**BACH. MORALES HUAMÁN, NERIO NILO**

AYACUCHO - PERÚ

**2013**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**Escuela De Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica**

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

**R.D.Nº: 080-13-UNSCH-FCB-D**

**BACH. NERIO NILO MORALES HUAMÁN**

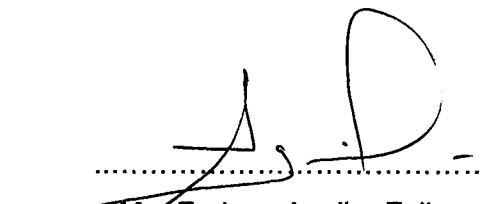
En la ciudad de Ayacucho a las 21 días del mes de junio de 2013, se reunieron en el auditorium del Centro Cultural de la UNSCH, siendo las cuatro de la tarde, los miembros del jurado calificador presidida por el Mg. José Manuel Diez Macavilca e integrada por los siguientes docentes: Mg. Enrique Aguilar Felices , Blga. Laura Aucasime Medina y el Dr. Edwin C. Enciso Roca (miembro asesor) quien además actuó secretario docente encargado para recepcionar la sustentación de la tesis: Actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de cuatro ecotipos del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua". Ayacucho - 2012, presentado por el Bachiller Nerio Nilo MORALES HUAMÁN, quien pretende optar el título profesional de Químico Farmacéutico.

Como primer acto el presidente dio las recomendaciones al sustentante para su exposición la que no debe exceder los 45 minutos. Culminada la exposición el presidente solicitó a los miembros del jurado su participación en el siguiente orden: Blga. Laura Aucasime Medina, Mg. Enrique Aguilar Felices, Mg. José Manuel Diez Macavilca y finalmente el Dr. Edwin C. Enciso Roca como asesor. Culminada la exposición y la fase de participación de los miembros del jurado, el presidente invitó al sustentante y al público en general a abandonar temporalmente el auditorio para que los miembros del jurado puedan deliberar sus calificaciones. De lo deliberado se obtuvo lo siguiente:

Miembro Jurado	Exposición	Rpta. a preguntas	Promedio
Blga. Laura Aucasime Medina	16	16	16
Mg. Enrique Aguilar Felices	17	17	17
Mg. José Manuel Diez Macavilca	17	17	17
Dr. Edwin C. Enciso Roca	17	17	17
		<b>Promedio</b>	<b>17</b>

De la evaluación realizada el sustentante obtuvo la nota promedio de DIECISIETE (17) de lo cual dan fe los miembros del jurado calificador estampando su firma al pie de la presente.

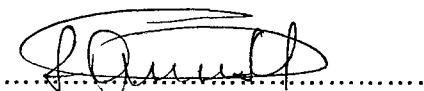
Culmina el acto de sustentación siendo las seis de la tarde.



.....

**Mg. Enrique Aguilar Felices**

**Miembro**



.....

**Blga. Laura Aucasime Medina**

**Miembro**



.....

**Mg. José Manuel Díez Macavilca**

**Presidente-miembro**



.....

**Dr. Edwin C. Enciso Roca**

**Miembro-asesor**

## **DEDICATORIA**

**A Cristo Jesús, a mis padres  
Teodosio y Aurelia, a mis  
hermanas Zarita y Noemí.**

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por acogerme en sus ambientes de conocimiento durante los cinco años de formación profesional.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica y a los docentes catedráticos por su contribución en el aporte de las bases teóricas y prácticas que son base de mi formación profesional.

A mi asesor Dr. QF. Edwin Carlos Enciso Roca por su apoyo, enseñanzas y por la asesoría brindada en la realización del presente trabajo.

## ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vii
RESUMEN	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1. Antecedentes	4
2.2. <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pav. "mashua"	7
2.3. Tubérculos andinos con propiedades antioxidantes	10
2.4. Radicales libres	11
2.5. Antioxidantes	12
2.6. Metabolitos secundarios relacionados con actividad antioxidante	13
III. MATERIALES Y MÉTODOS	18
3.1. Ubicación del trabajo de investigación	18
3.2. Materiales	18
3.3. Diseño de investigación	18
3.4. Metodología para la recolección de datos	19
3.4.1. Procedimiento para la recolección e identificación botánica de muestra	19
3.4.2. Preparación de la muestra	19
3.4.3. Preparación del extracto hidroalcohólico	19
3.4.4. Ensayo fitoquímico cualitativo	20
3.4.5. Determinación de la actividad antioxidante	20
3.5. Análisis estadístico	23
IV. RESULTADOS	24
V. DISCUSIÓN	28
VI. CONCLUSIONES	33
VII. RECOMENDACIONES	34
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
ANEXOS	40

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de los cuatro ecotipos estudiados de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pav. "mashua".	25

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Mecanismo antirradicalario de las moléculas antioxidantes.	13
Figura 2. Catecol.	14
Figura 3. (I) Ácido benzoico, (II) Ácido cenámico.	14
Figura 4. Secuestro del DPPH (radical libre) por un antioxidante (secuestrador de radical libre).	21
Figura 5. Porcentajes de captación del radical libre según tratamientos de cuatro ecotipos del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pav. "mashua" y vitamina C.	26
Figura 6. Porcentajes de captación del radical libre según tratamientos de ecotipos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pav. "mashua".	27



## ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Certificado de clasificación taxonómica de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pav. "mashua".	41
Anexo 2. Certificado de identificación de los cuatro ecotipos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pav. "mashua".	42
Anexo 3. Caracterización fitoquímico.	43
Anexo 4. Porcentaje de captación de radical libre del extracto hidroalcohólico del tubérculo de cuatro ecotipos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pav. "mashua".	44
Anexo 5. Análisis de varianza del porcentaje de captación de radical libre DPPH por parte de los extractos hidroalcohólicos del tubérculo de cuatro ecotipos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pav. "mashua" y el estándar vitamina C.	45
Anexo 6. Análisis de varianza del porcentaje de captación de radical libre DPPH por parte de los extractos hidroalcohólicos del tubérculo de cuatro ecotipos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pav. "mashua".	46
Anexo 7. Identificación de flavonoides con reactivo de Shinoda del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pav. "mashua". Ecotipos: (1) "zapallo", (2) "oqe", (3) "sangre de Cristo" y (4) "yana ñahui".	47
Anexo 8. Identificación de lactonas y cumarinas con reactivo de Baljet del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pav. "mashua". Ecotipos: (1) "zapallo", (2) "oqe", (3) "sangre de Cristo" y (4) "yana ñahui".	48
Anexo 9. Identificación de taninos y fenoles con cloruro férrico del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pav. "mashua". Ecotipos: (1) "zapallo", (2) "oqe", (3) "sangre de Cristo" y (4) "yana ñahui".	49
Anexo 10. Identificación de azúcares reductores con reactivo de Fehling del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pav. "mashua". Ecotipos: (1) "Zapallo", (2) "Oqe", (3) "Sangre de Cristo" y (4) "Yana Ñahui".	50

Anexo 11. Catequinas observadas con luz U.V. del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pav. "mashua". Ecotipos: (1) "Zapallo", (2) "Oqe", (3) "Sangre de Cristo" y (4) "Yana Ñahui".	51
Anexo 12. Ecotipos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pav. "mashua".	52
Anexo 13. Flujograma de preparación del extracto hidroalcohólico y su lectura en espectrofotómetro de cuatro ecotipos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pav. "mashua".	53
Anexo 14. Matriz de consistencia.	54

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación se desarrolló con fines de conocer las diferencias de la actividad antioxidante de cuatro ecotipos del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua". Tiene como objetivo principal evaluar la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de cuatro ecotipos del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua" en los laboratorios del Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, de agosto del 2012 a enero del 2013. La investigación es de tipo básica, nivel descriptivo.

Se recolectó los tubérculos de los cuatro ecotipos del distrito de Ocros, provincia Huamanga, región Ayacucho, ubicada a 2600 m.s.n.m. con los cuales se preparó los extractos hidroalcohólicos de cada uno de ellos. Se realizó el Ensayo fitoquímico cualitativo para identificar metabolitos presentes. La actividad antioxidante se determinó por el método de captación del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH). Las diferencias entre las medias fueron contrastadas mediante el Análisis de Varianza a un nivel de confianza del 95% ( $p < 0,05$ ). Los metabolitos secundarios presentes en los cuatro ecotipos fueron flavonoides, cumarinas y lactonas, compuestos fenólicos, azúcares reductores y catequinas. La actividad antioxidante del ecotipo "oqe" fue mejor, seguidamente en forma decreciente el ecotipo "yana ñahui", luego el ecotipo "sangre de cristo", y por último el ecotipo "zapallo". Al comparar la actividad antioxidante de los ecotipos con la vitamina C, ésta última demostró ser mejor antioxidante, y estadísticamente a un nivel de confianza del 95% ( $p < 0,05$ ) existe una diferencia significativa en la actividad antioxidante de los ecotipos y el estándar. Se concluye que los extractos hidroalcohólicos de los ecotipos evaluados del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua" tienen actividad antioxidante.

Palabras clave: *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav., actividad antioxidante.

## I. INTRODUCCIÓN

La biodiversidad del bioma terrestre en los Andes posee ventajas comparativas y competitivas excepcionales en relación a otras regiones o países, así los granos, las raíces y tubérculos, y las frutas existen una variabilidad en formas, colores y tamaños, y ocurren diferencias de calidades y cantidades de metabolitos primarios (almidones, minerales, proteínas, vitaminas, ácidos grasos, glucósidos, azúcares), y secundarios (saponinas, alcaloides, taninos, oxalatos, carotenos, flavonoides, antocianinas, betacianinas). Tienen características nutritivas y medicinales para resolver problemas de desnutrición humana y enfermedades, no solamente en la zona andina, sino en gran parte del mundo.<sup>1</sup>

Según diversas investigaciones internacionales, los tubérculos andinos como oca, mashua, olluco, y raíces como maca, arracacha, yacón, entre otros tienen la característica de ser potenciales fuentes funcionales, al existir información sobre estudios de marchas fitoquímicas donde se encontró una diversidad de metabolitos secundarios entre los que figuran la presencia de abundantes compuestos fenólicos, además de otros compuestos con características antioxidantes.<sup>1</sup>

Los recursos vegetales constituyen una buena fuente de sustancias con propiedades antioxidantes, en las que podemos citar a la vitamina C, los compuestos fenólicos, los flavonoides, los taninos y otros compuestos.

*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua" es un cultivo indígena para las tierras altas andinas y es de valor económico como una comida y un cultivo medicinal. Ha sido tradicionalmente y extensamente usado en los remedios caseros de la región andina, y su domesticación pudo haber estado relacionada con su importancia como un agente medicinal. Muchos investigadores han tomado importancia acerca de las propiedades de éste tubérculo es así que los estudios recientes señalan que el "mashua" tiene un contenido alto de compuestos fenólicos (ácido clorogénico), antocianinas, así como también una aptitud hidrófila importante de la capacidad antioxidante.<sup>2</sup>

El antioxidante al reaccionar con el radical libre le cede un electrón oxidándose a su vez y transformándose en un radical libre débil, con escasos o nulos efectos tóxicos y que en algunos casos como la vitamina E, pueden regenerarse a su forma primitiva por la acción de otros antioxidantes.<sup>3</sup> El sistema antioxidante provee al organismo de defensas contra la acción dañina de los radicales libres. Éstos últimos son muy reactivos ya que tiende a reducirse, es decir, sustrae un electrón de átomos o moléculas estables, a las cuales oxida, con el fin de alcanzar su propia estabilidad.<sup>4</sup> La salud de las personas se relaciona con el adecuado balance oxidativo. Es decir, que radicales libres y antioxidantes se equilibren de modo tal que se minimice el daño y se retarde la aparición de enfermedades.<sup>5</sup>

Es entonces de gran importancia estudiar los principios activos de las plantas y su localización en las diferentes partes de las plantas o en los diferentes extractos debe ser motivo de ensayos biológicos adecuados.<sup>6</sup>

Por estas consideraciones y con el propósito de generar conocimiento acerca de las propiedades de los tubérculos andinos, es necesario conocer la actividad antioxidante a nivel de varios ecotipos de la mashua, razón por la cual se plantearon los siguientes objetivos:

**Objetivo general:**

- Evaluar la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico del tubérculo de cuatro ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua".

**Objetivos Específicos**

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el tubérculo de cuatro ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua".
- Comparar la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico del tubérculo de cuatro ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua" con el estándar vitamina C.
- Comparar la actividad antioxidante de los cuatro ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua".

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

En las últimas décadas se ha despertado el interés por el estudio fitoquímico de los antioxidantes y de acuerdo a esta base científica se va logrando la validez del uso tradicional de los mismos; de la misma manera hay un gran interés por el estudio de los tubérculos andinos con diferentes actividades farmacológicas.

En estudios a cerca del efecto antioxidante *in vitro* de *Lepidium peruvianum* Chacón "maca", se ha encontrado en un extracto etanólico los efectos antioxidantes de la harina cruda de 80,96%, harina tostada de 81,08%. En el extracto acuoso los efectos antioxidantes fueron: harina cruda con un promedio de 94,16%, harina tostada fue de 79,36%. En el extracto clorofórmico los efectos antioxidantes fueron: harina cruda con un promedio de 69,08%, harina tostada fue de 71,68%. Donde se demuestra que el extracto etanólico y acuoso de la maca tienen mayor efecto antioxidante que la clorofórmica.<sup>7</sup>

Se demostró la actividad antioxidante de extracto de las hojas de *Smilax sonchifolius* "yacón". Las pruebas con los extractos, inhibieron la lipoperoxidación en un estudio de ratas *in vivo*, en membranas subcelulares protegiendo a los hepatocitos de la rata de lesión oxidativa. Además indican la presencia de ácidos clorogénico y cafeico. También indican que el "yacon" es un

remedio potencial en la prevención de enfermedades crónicas como la arteriosclerosis.<sup>8</sup>

En un estudio comparativo de la actividad antioxidante del extracto metanólico de cuatro cultivares de *Oxalis tuberosa* Mol. "oca"; indica que los cuatro cultivares evaluados tienen actividad antioxidante y no son influenciados por el tipo de cultivar y el efecto de la cocción.<sup>9</sup>

En un estudio de determinación del contenido de compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante de cuatro especies de tubérculos y raíces andinos, *Tropaeolum tuberosum* "isaño", *Oxalis tuberosa* "oca", *Ullucus tuberosus* "ulluco" y *Arracacia xanthorrhiza* "arracacha" realizaron la cuantificación de la capacidad antioxidante total (TAC) y la determinación de compuestos fenólicos totales (TPH). La capacidad antioxidante fue medida mediante el uso de los métodos ácido 2,2'-azino-bis (3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS) y basado en la capacidad de reducción férrica del antioxidante (FRAP), los compuestos fenólicos fueron medidos mediante el uso del reactivo de Folin & Ciocalteu. La capacidad antioxidante encontrada en los tubérculos estudiados tiene un rango de 0,35 a 11,8  $\mu\text{mol}$  equivalente de trolox/g de muestra seca, el rango de compuestos fenólicos es de 0,002 a 0,02  $\mu\text{mol}$  equivalente de ácido gálico/g de muestra seca. En general *Tropaeolum tuberosum* "isaño" oscuro muestra los valores altos de capacidad antioxidante y compuestos fenólicos comparados con los otros tubérculos.<sup>10</sup>

Un estudio de la composición de antocianinas para tres genotipos púrpuras de *Tropaeolum Tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua" con el uso de equipos como cromatografía líquida de alta performance (HPLC) y espectrofotometría de masas, encontraron la presencia de 11 antocianinas diferentes y determinaron su actividad antioxidante del tubérculo.<sup>11</sup>



Chirinos *et al*<sup>2</sup>, realizaron una optimización de las condiciones de extracción de compuestos fenólicos antioxidantes de los tubérculos de *Tropaeolum Tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua".

Según las diversas investigaciones acerca de la "mashua" se sabe con seguridad su actividad antioxidante incluso los compuestos fenólicos y antocianinas que posee, también indican que los compuestos fenólicos de tubérculos andinos *Tropaeolum Tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua" exhiben protección en contra de la oxidación de aceite de la soja.<sup>12</sup>

Se ha realizado estudios sobre el efecto del calor en la capacidad antioxidante de la *Tropaeolum tuberosum* "mashua amarilla", con y sin cáscara, encontrando que el calor no influye en la capacidad antioxidante de la "mashua amarilla" con y sin cáscara.<sup>13</sup>

La mayoría de los estudios realizados al *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua" es a los genotipos púrpura<sup>11</sup>, mientras que los genotipos amarilla son escasamente estudiadas. Entonces es necesario conocer la actividad antioxidante de los genotipos amarilla y que mejor a nivel de varios ecotipos, razón por la cual se realiza la presente investigación.

## **2.2. *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua"**

### **2.2.1. Clasificación Taxonómica**

<b>DIVISIÓN</b>	:	MAGNOLIOPHYTA
<b>CLASE</b>	:	MAGNOLIOPSIDA
<b>SUB CLASE</b>	:	ROSIDAE
<b>ORDEN</b>	:	GERANIALES
<b>FAMILIA</b>	:	TROPAEOLACEAE
<b>GÉNERO</b>	:	<i>Tropaeolum</i>
<b>ESPECIE</b>	:	<i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pav.
<b>NOMBRE COMÚN</b>	:	"mashua"

Fuente: Constancia expedida por Herbarium Huamangensis de la Facultad de Ciencias Biológicas (Anexo 1).

<b>ECOTIPOS</b>	:	"zapallo", "oqe", "yana ñahui" y "sangre de Cristo"
-----------------	---	--

Fuente: Departamento Académico de Agronomía y Zootecnia (Anexo 2).

### **2.2.2. Descripción botánica de la familia y género**

Son hierbas algo suculentas, postradas o trepadoras por medio de los peciolos y aún por los estolones, algunos con rizoma parcialmente engrosado o con tubérculos. Hojas simples, alternas, lobuladas con o sin estípulas. Flores hermafroditas, zigomorfas solitarias en las axilas de las hojas, raramente en umbelas, sépalos cinco, imbricados o valvares, pétalos generalmente cinco, enteros, lobados hasta fimbriado-ciliados, los dos superiores por lo general diferentes en forma y mayores que los inferiores que son tres. Ocho estambres en dos verticilos, libres desiguales. Ovario súpero. Fruto esquizocárpico que en

la madurez se descompone en tres mericarpios rugosos, indehiscentes. Semillas grandes con embrión recto y endosperma generalmente nulo. Familia americana con dos géneros, uno *Tropaeolum*, que vive desde México hasta la Argentina y Chile y otro Magallana. El género *Tropaeolum* tiene 90 especies de las cuales 18 viven en el Perú.<sup>14</sup>

### **2.2.3. Descripción botánica *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav.**

El *Tropaeolum tuberosum* "mashua" es una planta herbácea de crecimiento inicialmente erecto que luego varía semiprostrado, ocasionalmente trepadora, se cultiva desde 2 400 a 4 300 msnm.

Las hojas son alternas, peltadas, con tres a cinco lóbulos brillantes en el haz y más claras en el envés; los tallos son cilíndricos por lo general muy ramificados. Las flores son solitarias, zigomorfas que nacen de las axilas de las hojas y aparecen sobre pedúnculos intensamente pigmentados; el cáliz es de color rojo, formado por cinco sépalos; la corola tiene cinco pétalos de color rojo anaranjado, el número de estambres varía de ocho a trece. El fruto es esquizocarpo, formado de tres mesocarpios uniseminados indehiscentes, carentes de endospermo. Los tubérculos son tan grandes como la papa, cónicos o cilíndricos, curvos o alargados. El color varía de blanco marfil a púrpura muy oscuro, pasando por el amarillo, naranja en distintas tonalidades. Sobre la piel pueden presentarse coloraciones rosadas o púrpuras o café en forma de puntos, jaspes o bandas que se distribuyen en el ápice y debajo de las yemas.<sup>15</sup>

### **2.2.4. Composición química**

El *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua" tiene alto contenido de carbohidratos (11% en base fresca), alto contenido de ácido ascórbico (67 mg por 100 g en base fresca), el contenido de proteína puede variar de 6,9 a 15,9%

en base seca. El principal componente secundario son los glucosinolatos que pueden ser responsables para los usos medicinales y agricultura de esta especie. En un análisis bromatológico de muestras secas de los tubérculos (por 100 g) se obtuvo: 371 calorías, 11,4 g de proteína, 4,3 g de grasa, 78,6 g de hidrato de carbono total, 5,7 g fibra, 5,7 g de ceniza, 50 mg de calcio, 8,6 mg de hierro, 214 µg de beta-caroteno equivalente, 0,43 mg, 0,57 mg de riboflavina, 4,3 de niacina y 476 mg de ácido ascórbico.<sup>16</sup> También estudios como análisis químico bromatológico de cinco ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* "mashua" en Ayacucho a 2760 msnm. indican la presencia de estos componentes en este tubérculo.<sup>17</sup>

Al realizar el tamizaje fitoquímico se encontró la presencia de triterpenoides y esteroides, catequinas, flavonoides, azúcares reductores, compuestos fenólicos y aminoácidos en este tubérculo.<sup>18</sup>

Se menciona por estudios la presencia de 11 antocianinas diferentes en este tubérculo *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua".<sup>11</sup> Chirinos *et al.*<sup>2</sup> indican que este tubérculo tiene compuestos fenólicos.

#### **2.2.5. Propiedades y usos medicinales**

Tradicionalmente la mashua tiene muchos usos medicinales para la gente. Se considera un anti afrodisiaco y muchos hombres andinos lo recomiendan las mujeres mientras ellos se niegan a comerlo. En una investigación con ratas machos fueron alimentados con una dieta a base del tubérculo, no mostró ninguna declinación en fertilidad, pero se mostró una baja del 45% en total de los niveles de las hormonas testosterona y dihidrotestosterona.<sup>15</sup>

Otras propiedades encontradas en ese tubérculo es la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* "mashua" en ratas.<sup>18</sup>

La mashua por su mayor rendimiento por hectárea tiene importancia para satisfacer la alimentación de los habitantes de menores recursos en zonas rurales marginales en los Andes altos. Se prepara en forma de sancochado, asado o como "thayacha"; esta última consiste en exponer los tubérculos por una noche a los efectos de la helada. Al día siguiente se comen, acompañados de miel de chancaca (miel de caña de azúcar).<sup>19</sup>

### **2.3. Tubérculos andinos con propiedades antioxidantes**

En las comunidades rurales de los Andes, los tubérculos son predominantemente papa, oca y mashua entre otros que se menciona a continuación:

*Solanum tuberosum* "papa" o "patata" es una solanácea originaria del altiplano andino. Los principales carotenoides en la papa son luteína, zeaxantina, y violaxantina todos de los cuales son xantófilas. Existen trazas de alfa - o beta-caroteno, lo que significa que la papa no es una fuente de esa pro-vitamina. En cuanto a los compuestos fenólicos, varios ácidos fenólicos o flavonoídicos fueron encontrados tales como catequina, ácido ferúlico y otros, siendo el ácido clorogénico es fenólico mayoritario.<sup>21</sup> Varios genotipos de *Solanum tuberosum* "papa" poseen propiedad antioxidante y fenoles totales.<sup>21</sup>

*Oxalis tuberosum* "oca" es un tubérculo de fuente importante de vitamina C, su valor nutritivos muy variable, pero igual o mejor que la papa. Su contenido de proteína es muy variable, pero generalmente está por encima del 9% en materia

seca y con buena proporción de aminoácidos esenciales.<sup>22</sup> Se ha comprobado que la oca tiene propiedades antioxidantes.<sup>9</sup>

A cerca de las propiedades de éste tubérculo andino *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua" se menciona en la sección: 2.2.4. y 2.2.5.

*Lepidium peruvianum* Chacón "maca" es otro tubérculo con propiedades antioxidantes.<sup>7</sup>

El *Smallanthus sonchifolius* "yacón" es una planta cultivada en los Andes por su raíz tuberosa de textura crujiente, sabor dulce, pariente del girasol. La raíz está compuesta mayormente de agua y oligofruktanos. Tanto las raíces como las hojas contienen compuestos con un alto poder antioxidante: ácido clorogénico, triptófano y varios fenoles derivados del ácido cafeico.<sup>23</sup> Además está comprobada que también las hojas de *Smallanthus sonchifolius* "yacón" tienen actividad antioxidante e inmunológica.<sup>24</sup>

Según investigaciones realizadas la *Arracacia xanthorrhiza* "arracacha" tiene compuestos fenólicos y actividad antioxidante.<sup>10</sup>

#### **2.4. Radicales libres**

En los sistemas vivos se generan muchos tipos de radicales libres, siendo lo más conocidos los radicales libres del oxígeno. Se utiliza el término especies reactivas del oxígeno (reactive oxygen species, ROS) como nombre colectivo para referirse a las especies derivadas del oxígeno, incluyendo tanto los derivados radicales como los no radicales, que son agentes oxidantes y/o fácilmente convertibles en radicales.<sup>25</sup>

En forma general, un radical libre es un átomo o molécula que tiene uno o más electrones desapareados en sus orbitales externos y es capaz de tener una existencia independiente; sin embargo, es muy reactivo ya que tiende a

reducirse, es decir, sustrae un electrón de átomos o moléculas estables, a las cuales oxida, con el fin de alcanzar su propia estabilidad. Una vez que el radical libre ha conseguido el electrón que necesita para aparear a su electrón libre, la molécula estable que pierde el electrón se oxida y deja a otro electrón desapareado, lo que la convierte a su vez en un radical libre, iniciándose y después propagándose de la misma manera, generando así una reacción en cadena.<sup>4</sup>

## **2.5. Antioxidantes**

Son sustancias cuya acción consiste en inhibir la tasa de oxidación de los nocivos radicales libres (disminuyen las defensas, producen daño celular con la posibilidad de producir cáncer, arteriosclerosis y envejecimiento). Existen antioxidantes naturales (fisiológicas), presentes en nuestro organismo, sistémicos; dentro de un grupo los antioxidantes pueden ser enzimas que aumentan la velocidad de ruptura de los radicales libres, otros que previenen la participación de iones de metales de transición en la generación de radicales libres y los inactivadores o barredores y de esta manera protegerían de las infecciones, deterioro celular, del envejecimiento prematuro y probablemente del cáncer.<sup>26</sup>

### **2.5.1. Actividad antirradicalaria**

Los antioxidantes pueden actuar en los diferentes procesos de la secuencia oxidativa y tener más de un mecanismo de acción. Para que un antioxidante tenga actividad antirradicalaria debe cumplir una característica básica que es generar un radical más estable y menos dañino después de reaccionar con la especie radical. Esta reacción se basa en una transición redox en la que está implicada la donación de un electrón (o un átomo de hidrógeno) a la especie radicalaria (Figura 1). Como resultado de esta transferencia, se formará un

radical derivado del antioxidante que puede tener un carácter inerte, estable o presentar cierta reactividad<sup>27</sup>.

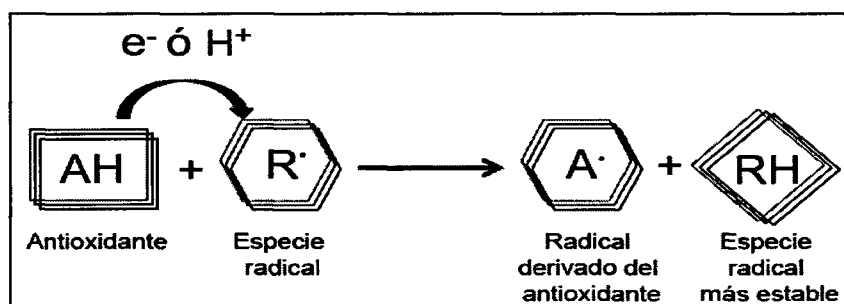


Figura 1. Mecanismo antirradicalario de las moléculas antioxidantes.<sup>27</sup>

## 2.6. Metabolitos secundarios relacionados con actividad antioxidante

### 2.6.1. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos están ampliamente distribuidos en la naturaleza en el reino vegetal, todos ellos presentan un anillo aromático común que puede estar unido a grupos hidroxilos libres y combinados en forma de éster, éter, heterósidos, etc.<sup>26</sup>

Los estructuras fenólicos son metabolitos secundarios que pueden proceder de la ruta del ácido shikímico como fenoles sencillos, ácidos fenólicos (benzoicos, cinámicos, etc.), cumarinas, lignanos, flavonoides, antocianos y taninos; y otros que proceden de la ruta de los acetatos o ruta del ácido mevalónico como antraquinonas y heterósidos antracénicos.<sup>28</sup>

### 2.6.2. Actividad biológica de los compuestos fenólicos

Poseen acciones antihelmínticas, antihepatotóxicas, antiinflamatorias, antidiarreicos, antiulcerosos, antivirales, antialérgicas y vasodilatadoras. Se ha verificado que inhiben la replicación del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y del virus simplex humano (HSV), inhiben las glucosiltransferasa del *Streptococcus mutans* (caries dental), también inhiben efectos citotóxicos, la promoción del crecimiento tumoral. La actividad antioxidante de los fenoles es el



origen de funciones biológicas tales como la antimutagénica, anticancerígena y antienvjecimeinto.<sup>29</sup>

#### a. Fenoles simples

Los fenoles simples como el catecol (Figura 2), guaiacol, floroglusinol, etc. Son poco frecuentes en la naturaleza, a excepción de los derivados quinónicos hidroxilados presentes en algunas familias (Rosáceas, Ericáceas, etc.) generalmente en forma de glucósido.<sup>26</sup>

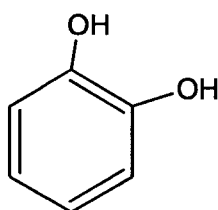


Figura 2. Catecol

#### b. Ácidos fenólicos

Bajo este término se engloba a todos los compuestos orgánicos que tiene al menos una función carboxílica y un grupo hidroxilo fenólico, sin embargo en la práctica habitual esta denominación queda reservada para derivados del ácido benzoico ( $C_6-C_1$ ) (Figura 3) y del ácido cinámico ( $C_6-C_3$ ) (Figura 3).

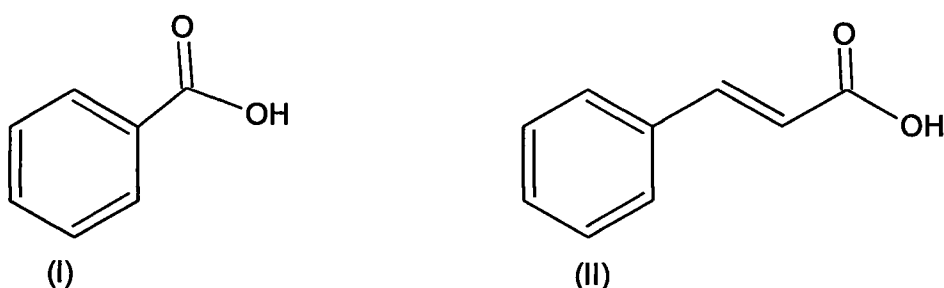


Figura 3. (I) Acido benzoico, (II) Acido cinámico

### **c. Cumarinas**

Son derivados de la benzo- $\alpha$ -pirona, como la cumarina, esculetina, umbeliferona y escopoletina, son comunes en las plantas, tanto en estado libre como en el de heterósidos. No todos son fenólicos, pero se estima conveniente incluirlos aquí entre los derivados fenólicos. La cumarina se ha encontrado en unas 150 especies, que se distribuyen en más de 30 familias diferentes.<sup>31</sup> Las cumarinas libres son solubles en alcohol, en otros disolventes orgánicos, como el éter etílico, así como en disolventes clorados, con los cuales se puede extraer.<sup>26</sup>

### **d. Taninos**

Los taninos son compuestos fenólicos que abundan en muchas plantas y frutos. Son hidrosolubles. Su composición química es variable pero poseen una característica común, la de ser astringente y coagular los alcaloides, albúminas y metales pesados. Son polvos amorfos de color amarillento, aspecto grasiento, poco denso, solubles en agua y alcohol, e insoluble en éter, benceno y cloroformo; cuando se calienta a 210 °C, se descomponen produciendo dióxido de carbono y pirogalol. Entre sus propiedades destaca su capacidad de formar complejos con varias sustancias, pero además su actividad antioxidante, se fundamenta en la captura de radicales libres, constituye una de las actividades farmacológicas. Los taninos han sido utilizados desde la antigüedad por sus propiedades astringentes en uso interno y externo, propiedad ligada a la unión de las proteínas en la piel y mucosas formando una especie de curtido que hace que las capas más superficiales sean menos permeables y protejan a las capas subyacentes, por eso es utilizada también en los casos de quemaduras y como cicatrizante. En uso interno son antidiarreicos, disminuyen el peristaltismo y son antisépticos.

Muchas de estas propiedades se relacionan con su actividad antioxidante y la captura de radicales libres, mediante el estudio de inhibición de la peroxidación

de los lípidos en mitocondrias o microsomas en el hígado de los ratones estudiados.<sup>26</sup>

#### **d.1. Taninos hidrolizables**

Pueden ser hidrolizados por ácidos o enzimas, como la tanasa. Están formados por varias moléculas de ácidos fenólicos, como el gálico y el egálico, que se unen por enlace éster a un núcleo central de glucosa.<sup>30</sup>

#### **d.2. Taninos condensados**

Éstos comprenden todos los restantes taninos verdaderos. Sus moléculas son más resistentes a la rotura que las de los taninos hidrolizables y parecen ser intermediarios en su biosíntesis, las catequinas y las flavan-3,4-dioles están, por tanto, relacionados con los pigmentos flavonoides<sup>30</sup>.

El aislamiento de taninos puros ha permitido ensayar otras reacciones farmacológicas. Muchas de ellas se relacionan antioxidante y la captura de radicales libres que hayan sido investigados en varios sistemas experimentales<sup>28</sup>.

#### **e. Flavonoides**

Son compuestos fenólicos ampliamente distribuidos en los vegetales. Son responsables de las coloraciones de las plantas, la mayoría de ellos presentan actividades biológicas muy importantes. Se conocen más de 5000 estructuras diferentes y están presentes en frutas y vegetales, así como en alimentos y bebidas obtenidas a partir de plantas como el aceite de oliva, el té y el vino tinto. Son compuestos fenólicos, responsables de la coloración de flores y frutos, por lo tanto "guías de néctar". Tiene como núcleo básico al 2-fenil cromano. Farmacológicamente son antioxidantes por quelación de metales, acción antiespasmódica, antiinflamatoria, anticoagulante indirecto de la sangre, acción diurética, antiedematoso, hipocolesterolemiantes.<sup>31</sup>

Sus propiedades farmacológicas están ampliamente difundidas ya sean estas antioxidantes, anticancerígenos. Los flavonoides en general, poseen capacidad para neutralizar radicales libres, responsables, cuando están dotados de un grado de reactividad, en la aparición de algunas patologías. Esta actividad antirradicalaria es en algunos casos, heterogénea en relación a los distintos tipos de radicales libres (anión superóxido, radical hidroxilo, etc.). Muchos flavonoides interaccionan *in vivo* con el radical libre estable 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), lo que se utiliza para poner en manifiesto su actividad antirradicalaria. La capacidad de los flavonoides para prevenir la oxidación del ácido ascórbico es un hecho reconocido en la protección de esta vitamina en los zumos frescos de las frutas. Por lo que podemos considerar que presenta una actividad antioxidante.<sup>26</sup>

### **2.6.3. Carotenoides**

Se han identificado aproximadamente 500 carotenoides en verduras y frutas usadas en la alimentación humana, pero la gran mayoría de estos compuestos se presentan en concentraciones bajas y probablemente tienen muy poca importancia nutricional. El beta-caroteno, un precursor de la vitamina A, es con mucho el carotenoide mejor conocido y mejor estudiado. Sin embargo, el aumento del interés por los antioxidantes dietéticos se ha centrado en otros carotenoides como el licopeno y luteína que se encuentran abundantemente en los tomates y verduras pigmentadas. La estructura molecular de los carotenoides incluye una larga cadena de dobles enlaces de la que proviene su función antioxidante.<sup>32</sup>

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Ubicación del trabajo de investigación**

El presente trabajo de investigación se realizó en los Laboratorios de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, de agosto a diciembre del 2012.

#### **3.2. Población y muestra**

##### **3.2.1. Población**

Tubérculos de los cuatro ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua" que se recolectaron del distrito de Ocros de la provincia Huamanga, región Ayacucho, ubicada a 2600 msnm.

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

Se utilizó 2 kg de tubérculo de cuatro ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua" recolectados en buen estado y se conservaron limpias en bolsas de tela.

#### **3.3. Diseño de investigación**

Tipo: básico

Nivel: descriptivo

### **3.4. Metodología para la recolección de datos**

#### **3.4.1. Procedimiento para la recolección e identificación botánica de muestra.**

El procedimiento para la recolección de las muestras se realizó de acuerdo a los procedimientos de recolección y conservación propuestas por Villar del Fresno<sup>26</sup>, como sigue:

- Se seleccionó el tubérculo que no esté dañado ni maltratado, luego se procedió a lavarlo, secarlo y guardarlo para su transporte al laboratorio de Farmacia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
- Para su identificación botánica se recurrió con las muestras de tubérculos de “mashua” a especialistas del Herbarium Huamangensis de la Facultad de Ciencias Biológicas y de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, quienes dieron su conformidad.

#### **3.4.2. Preparación de la muestra**

- Se trozaron las muestras en forma transversal con ayuda de un cuchillo hasta obtener láminas delgadas.
- El secado de la muestra se realizó a la sombra con buena ventilación, luego con la ayuda de la estufa a 37°- 40°C.
- Con un mortero se procedió moler las muestras secas hasta triturar y se almacenó en un frasco de vidrio de color ámbar hasta su utilización.<sup>18</sup>

#### **3.4.3. Preparación del extracto hidroalcohólico**

Se tomó 100 g de muestra seca y pulverizada de cada uno de los ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. “mashua” y se maceró en un litro de solución hidroalcohólica al 80% en recipientes de vidrio de color ámbar por un espacio de una semana agitando frecuentemente cada 12 horas a temperatura ambiente, el

extracto se concentró en rotavapor; luego se sometió al calor en estufa a 40°C hasta obtener un extracto seco.<sup>18</sup>

#### **3.4.4. Ensayo fitoquímico cualitativo**

La caracterización fitoquímico se basó en el agrupamiento de metabolitos estructuralmente semejantes, para identificar el comportamiento químico frente a reacciones estandarizadas. Se realizaron las pruebas de coloración al extracto hidroalcohólico del tubérculo de cuatro ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua" que se fundamentan en los cambios estructurales ocasionados en los metabolitos presentes, como aparición o desaparición de una coloración, formación o dilución de un precipitado o desprendimiento de gas<sup>6</sup> (Anexo 7 al11).

#### **3.4.5. Determinación de la actividad antioxidante**

**3.4.5.1. Método:** Actividad Secuestradora del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH)<sup>33</sup>.

##### **3.4.5.2. Fundamento:**

Uno de los métodos para determinar la capacidad antioxidante es aquel que emplea al radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo), el cual por su estabilidad es destruido solamente por antioxidantes, de tal manera que el mejor compuesto destructor del DPPH será el mejor antioxidante.

La técnica empleando el DPPH que tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta, se basa en la desaparición de dicho color hacia el amarillo pálido por la reacción de la sustancia antioxidante, pudiendo cuantificarse la reacción espectrofotométricamente a 517 n.m. por diferencia de absorbancias, con lo que se determina el porcentaje de inhibición del radical DPPH.<sup>33</sup>

La reacción entre la sustancia a evaluar y el DPPH se observa en la siguiente figura.

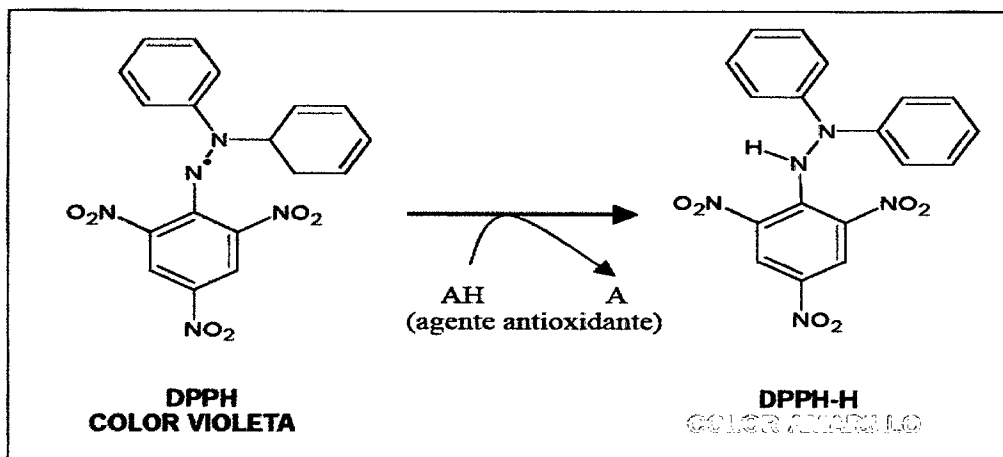


Figura 4. Secuestro del DPPH (radical libre) por un antioxidante (secuestrador de radical libre).<sup>33</sup>

#### 3.4.5.3. Procedimiento:

Para el ensayo se utilizó el siguiente procedimiento para cada uno de los cuatro ecotipos:

- Una solución de DPPH Sigma en metanol de 20 mg/l.
- Una solución metanólica del extracto hidroalcohólico de 300 µg/ml (sol. A)
- Un blanco con metanol: agua (2:1) para ajustar el espectrofotómetro a cero.
- Un blanco de muestra con 0,75 ml de muestra (sol. A) y 1,5 ml de metanol.
- Un patrón de referencia (estándar) con 1,5 ml de DPPH Sigma y 0,75 ml de agua destilada.
- La muestra con 0,75 ml de solución A y 1,5 ml de DPPH Sigma obteniéndose una concentración final de 100 µg/ml, se dejó a temperatura ambiente por cinco minutos y se realizó la lectura a 517 nm en el espectrofotómetro.



- Se diluyó la solución A (2) con metanol en una proporción de 1:1 (sol. B) para obtener una concentración final de 50 µg/ml y luego en una proporción de 1: 9 (sol. C) para obtener una concentración final de 10 µg/ml.
- Con las soluciones B y C se procedió igual que en el caso anterior.

El cálculo de la capacidad antioxidante de los radicales libres se realizó empleando la siguiente fórmula:

$$\%AA = 100 - \frac{(A_m - A_b)}{A_c} \times 100$$

Donde:

**Ac:** Absorbancia del control DPPH Sigma

**Am:** Absorbancia de la muestra

**Ab:** Absorbancia del blanco de la muestra

**AA:** Actividad antioxidante

### **3.5. Análisis estadístico**

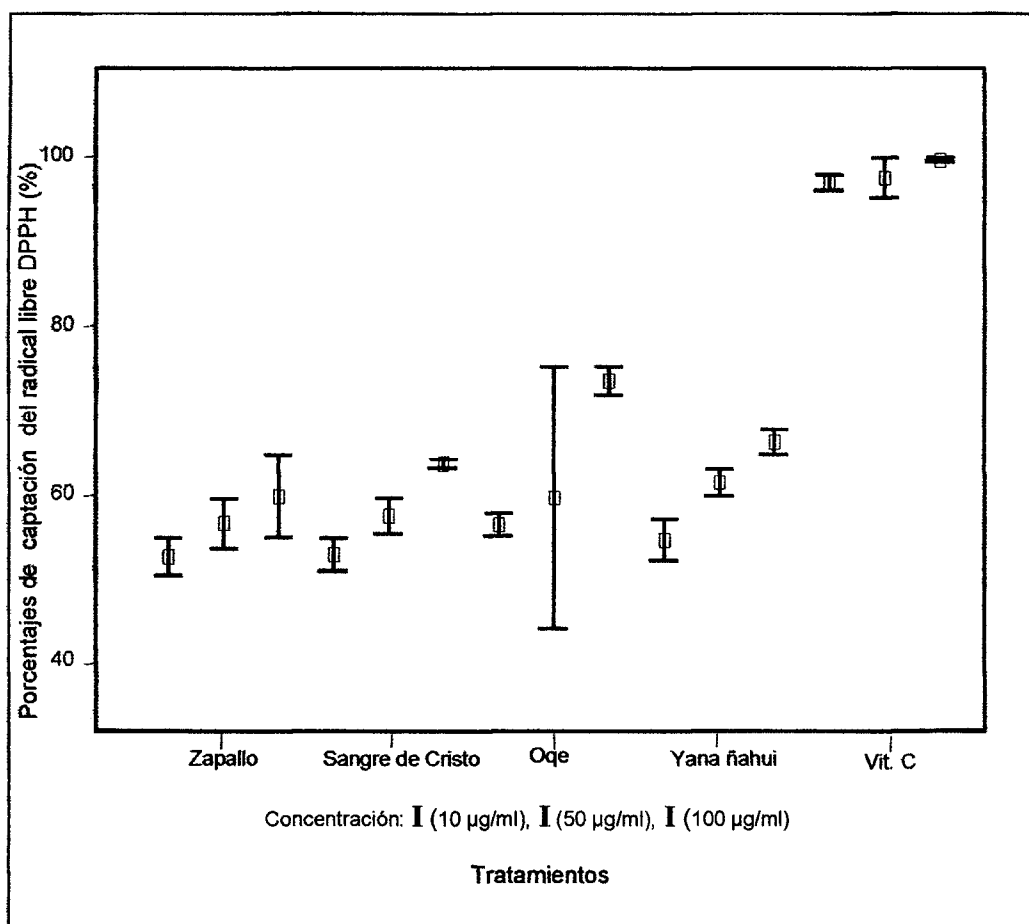
Los resultados de la actividad antioxidante son representados en forma de gráfico de barras en función de las medias. Las diferencias entre las medias fueron contrastadas mediante el Análisis de Varianza (ANOVA) a una nivel de confianza del 95% ( $p < 0,05$ ).

#### **IV. RESULTADOS**

Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de los cuatro ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua".

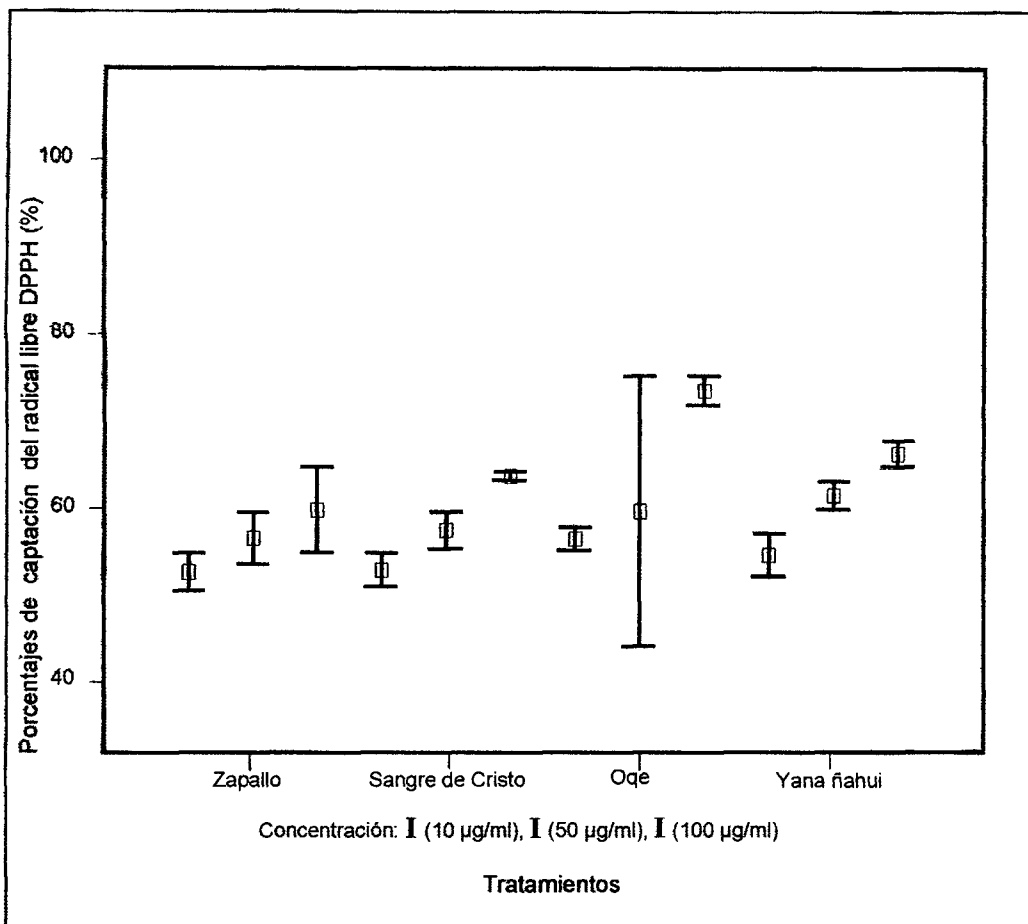
Metabolitos secundarios	Resultados/Ecotipos			
	Zapallo	Oqe	Sangre de Cristo	Yana ñahui
Flavonoides	+	++	++	++
Cumarinas y lactonas	+	++	+	+
Compuestos fenólicos	+++	+++	+++	+++
Azúcares reductores	+++	+++	+++	+++
Catequinas	++	+++	+++	+++

Leyenda:  
 Abundante : (+++)  
 Moderado : (++)  
 Leve : (+)



ANOVA  $p < 0,05$

Figura 5. Porcentajes de captación del radical libre según tratamientos de cuatro ecotipos del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua" y vitamina C.



ANOVA  $p < 0,05$

Figura 6. Porcentajes de captación del radical libre según tratamientos de ecotipos del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua."

## V. DISCUSIÓN

Existe un número creciente de datos experimentales, clínicos y epidemiológicos que demuestran los efectos beneficiosos de los antioxidantes frente a las enfermedades degenerativas inducidas por el estrés oxidativo, envejecimiento y las enfermedades relacionadas con la edad (cáncer) por lo que se ha generado un gran interés hacia el papel que ejercen los antioxidantes.<sup>32</sup>

En el presente trabajo se propuso evaluar la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico del tubérculo de cuatro ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua", el método empleado para lograr este objetivo fue la actividad secuestradora del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH); es una técnica *invitro* de decoloración del radical del inestable.<sup>33</sup> Según la Figura 5 los cuatro ecotipos de "mashua" tienen una actividad antioxidante.

En la Tabla 1, al identificar los metabolitos secundarios presentes en el tubérculo de cuatro ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua", se observa que los ecotipos "oqe", "sangre de Cristo", y "yana ñahui" contienen una cantidad abundante de catequinas; mientras que el ecotipo "zapallo" contiene en cantidad moderada. Se evidencia estos resultados al observar una mancha verde carmelita en luz UV después de aplicar una solución de carbonato de sodio sobre una mancha en papel de filtro de cada una de las muestras.<sup>6</sup>

Además las catequinas son un tipo de compuestos relacionados a los flavonoides y tiene la capacidad de ser antioxidantes.<sup>28</sup>

En caso de azúcares reductores los cuatro ecotipos contienen en cantidad abundante (Tabla 1). Se observa estos resultados al contrastar con la teoría, que los azúcares reductores dan precipitados de coloración rojo ladrillo al realizar la prueba de Fehling.<sup>6</sup>

Los ecotipos "oqe", "sangre de Cristo", y "yana ñahui" contienen una cantidad moderada de flavonoides; mientras que el ecotipo "zapallo" contiene en cantidad menor (Tabla 1). Para reconocer la presencia de los flavonoides se realiza la prueba de Shinoda en los cuales se observa coloraciones rojas.<sup>6</sup> En una investigación de actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua" en ratas, se identificó los metabolitos secundarios encontró flavonoides abundantemente, pero sin indicar el nombre del ecotipo.<sup>18</sup> Al realizar estudios de metabolitos secundarios de cuatro tubérculos andinos entre ellos el *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua", encontraron de los 11 genotipos estudiados que los de color púrpura tiene mayor contenido de antocianinas (pertenecientes a los flavonoides) que los genotipos amarillos.<sup>34</sup> Por ésta razón se realizaron más estudios a la composición de antocianinas para tres genotipos de mashuas púrpuras; encontrando 11 tipos de antocianinas y determinaron su actividad antioxidante de éstos.<sup>11</sup> Entonces según estos estudios se justifica la poca cantidad de flavonoides encontrados en los ecotipos amarillos estudiados en el presente trabajo.

Diversos autores indican que las antocianinas son pigmentos que se encuentran principalmente en flores, frutos y tejidos con coloraciones que van del rojo hasta el violeta y el azul. Las antocianinas por sus características se han sugerido como colorantes de alimentos.<sup>35</sup> Además al realizar un examen organoléptico de



los cuatro ecotipos estudiados en este trabajo, se observó que el ecotipo “oqe” tiene mayor cantidad de pigmentos de coloraciones moradas, por fuera y por dentro del tubérculo; el ecotipo “yana ñahui” tiene coloraciones morado-azul en sus ojos no en todo el cuerpo del tubérculo, además de pigmentaciones internas; el ecotipo “sangre de Cristo” tiene coloraciones en forma de gotas de sangre de color morado que brotan de los ojos del tubérculo, al hacer un corte transversal como los anteriores, se observa una pigmentación en forma de aro y por último el ecotipo “zapallo” no presentan estas coloraciones, es un tubérculo sólo de coloración amarilla sin pigmentos que se pueden observar tanto en la piel como por dentro del tubérculo. Otros Investigadores, realizaron un estudio según coloraciones a varios genotipos de “mashua” entre las púrpuras y las amarillas, y encontraron que los genotipos púrpuras del mashua presentaron antocianinas y capacidad antioxidante con valores más altos, mientras que genotipos amarillos del “mashua” presentaron valores inferiores de estas componentes; en cuanto a contenidos fenólicos totales, los genotipos púrpuras presentan una ligera superioridad de valores a los de genotipos amarillos, y en cuanto al contenido total de carotenoides los valores se invierten.<sup>34</sup> Con estas investigaciones se justifica la actividad antioxidante que es moderada (Figura 6) de los cuatro ecotipos estudiados en este trabajo.

En cuanto a la presencia de metabolitos cumarinas y lactonas en el ecotipo “oqe” se encuentra en cantidad moderada, mientras en los demás ecotipos se encuentran en cantidad menor (Tabla 1). Para reconocer la presencia de cumarinas se realizó la prueba de Baljet en los cuales se observa coloración y precipitado rojo.<sup>6</sup> Además las cumarinas son combinaciones fenólicas con propiedades antiinflamatorias.<sup>29</sup>

Y por último los compuestos fenólicos, los cuatro ecotipos contienen en cantidad abundante (Tabla 1). Los compuestos fenólicos dan coloraciones oscuras al

tratar con solución de cloruro férrico al 5%.<sup>6</sup> Se indica que los compuestos fenólicos o polifenoles poseen una estructura común, un anillo aromático que lleva al menos un sustituyente hidroxilo. Éstos tienen propiedades antiinflamatorias y antioxidantes.<sup>26</sup>

Estos componentes antioxidantes mencionados y los metabolitos secundarios encontrados en la Tabla 1 respaldan la actividad antioxidante de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua".

En la Figura 6 se compara la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico del tubérculo de los cuatro ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua" donde se muestra que el ecotipo "oqe" es el que tiene mayor actividad antioxidante obtenidos a 10 µg/ml (56,51%), 50 µg/ml (59,65%), 100 µg/ml (73,50%), seguidamente en forma decreciente el ecotipo "yana ñahui" a 10 µg/ml (54,66%), 50 µg/ml (61,50%), y 100 µg/ml (66,25%), luego el ecotipo "sangre de Cristo" a 10 µg/ml (52,94%), 50 µg/ml (57,52%), 100 µg/ml (63,69%), y por último el ecotipo "zapallo" a 10 µg/ml (52,70%), 50 µg/ml (56,63%), 100 µg/ml (59,83%). En la Figura 5 muestra la comparación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico del tubérculo de cuatro ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua" con la estándar vitamina C, donde el estándar muestra resultados obtenidos a 100 µg/ml tiene un mayor porcentaje de captación del radical libre a concentraciones 10 µg/ml (96,91%), a 50 µg/ml (97,50%), a 100 µg/ml (99,58%), mientras que los ecotipos se mencionan anteriormente. Si comparamos los porcentajes de captación del radical libre el estándar de vitamina C tiene alto y los cuatro ecotipos tienen en forma moderada. Según investigaciones y la teoría, se sabe que la vitamina C es un antioxidante y ayuda a proteger los tejidos de los efectos dañinos de los radicales libres, es el antioxidante más efectivo presente en el plasma, en las

frutas, verduras y patatas.<sup>36, 33</sup> A cerca del mecanismo de acción de la vitamina C (ácido ascórbico), se menciona que esta Vitamina hidrosoluble actúa absorbiendo los radicales libres al igual que la vitamina E (liposoluble), ambas captan radicales y reduciéndolos e inhiben la reacción en cadena o rompen la reacción de propagación. La vitamina C es un buen antioxidante e indicador como sistema de referencia para captar el radical libre del DPPH.<sup>33</sup>

*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua" halladas en nuestros mercados locales procedentes de nuestras serranías, son los ecotipos de coloraciones amarillas y blancas-roja, y pocas veces las moradas. Al parecer las razones de la abundancia de dos primeros son explicados por un estudio a muchos ecotipos de mashua agrupando según la coloración amarilla y blancas-roja y morada. Encontrando que blancas-roja y amarilla presentan mayor cantidad de glucosinolatos. Estas sustancias le confieren resistencia a insectos herbívoros, hongos, bacterias, moluscos y microorganismos, entonces tienen mucha importancia en la agricultura, razón por la cual los campesinos siembran más las "mashuas" amarilla y blanca.<sup>37</sup> Y en el presente trabajo se estudió los ecotipos de "mashua" más abundantes en nuestros mercados locales, que son las amarillas.

En consecuencia, por los metabolitos secundarios encontrados y por su actividad antioxidante demostrada en esta investigación, podemos utilizar como fuente potencial de antioxidantes nuestra amplia variedad de ecotipos que existen de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua", más ahora sabiendo que el ecotipo "oqe" y "yana ñahui" es el que tiene mayor actividad antioxidante y ésta actividad no es afectada por el proceso de cocción<sup>13</sup>, que es la forma más común de consumirlo.

## VI. CONCLUSIONES

- Los extractos hidroalcohólicos de los tubérculos de cuatro ecotipos analizados de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. “mashua” presentan actividad antioxidante.
- Los metabolitos secundarios presentes en los extractos hidroalcohólicos de cuatro ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. “mashua” son: flavonoides, cumarinas y lactonas, compuestos fenólicos, azúcares reductores y catequinas.
- Los extractos hidroalcohólicos de los tubérculos de cuatro ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. “mashua” tienen menor actividad antioxidante, que la vitamina C.
- El ecotipo “oqe” presentó mayor actividad antioxidante, seguido por el ecotipo “yana ñahui, luego el ecotipo “sangre de Cristo”, y por último el ecotipo “zapallo”.

## VII. RECOMENDACIONES

- Proseguir con el estudio de la actividad antioxidante de los cuatro ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua" y en especial del ecotipo "oqe", aislando y elucidando la estructura química que los contiene.
- Realizar estudios comparativos de actividad antioxidante de ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua", de coloraciones amarilla, blanca-roja y morada procedentes de las alturas de la Región Ayacucho.
- Realizar estudios explicativos acerca de la actividad antioxidante de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua" ecotipo "oqe" y qué relación tiene con las coloraciones que presenta este tubérculo con las antocianinas.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jacobson S, Mujica A, Ortiz R. La importancia de los cultivos andinos. FERMENTUM (Mérida) [revista en internet]. 2003. [acceso 17 de abril del 2013] 13(36):14-24. Disponible en: <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/20610/1/articulo1.pdf>
2. Chirinos R, Campos D, Arbizu C, Rogez H, Rees J, Larondelle Y, Noratto G y Cisneros L. Effect of genotype, maturity stage and post-harvest storage on phenolic compounds, carotenoid content and antioxidant capacity, of Andean mashua tubers (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón). Journal of Agricultural and Food Chemistry. [Revista en internet]. 2007. [acceso 17 de abril del 2013]; 87:437–446. Disponible en:<http://openagricola.nal.usda.gov/Record/IND44021136>
3. Criado C, Moya M. Vitaminas y antioxidantes. Sanidad y Ediciones, S.L. [Revista en internet]. 2009. [acceso 10 de octubre del 2012]; España. Disponible en:[http://2011.elmedicointeractivo.com/Documentos/doc/VITAMINAS\\_Y\\_ANTIOX\\_EL\\_MEDICO.pdf](http://2011.elmedicointeractivo.com/Documentos/doc/VITAMINAS_Y_ANTIOX_EL_MEDICO.pdf)
4. Quintanar M, Calderón J. La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. Educación Bioquímica [Revista en internet]. 2009. [acceso 10 de octubre del 2012]; 28(3):89-101. Disponible en:<http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=49016098004>
5. Goodman J, Gilman R. Bases farmacológicas de la terapéutica. 7<sup>ma</sup> Ed. Buenos Aires-Argentina: Panamericana; 1996.
6. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el Estudio de los Productos Naturales. 2<sup>a</sup> Ed. Pontificia Universidad Católica del Perú: Fondo Editorial; 1994.
7. Rosas Portugal J. Determinación del efecto antioxidante *in vitro* del *Lipidium peruvianum* Chacón "maca" [Tesis para obtener el título profesional de Químico Farmacéutico]. Arequipa: Fac. Farmacia y Bioquímica, Universidad Católica Santa María. 2003.
8. Valentova K, Cvak L, Muck A, Ulrichova J, Simanek V. Antioxidant activity of extracts from the leaves of *Smallanthus sonchifolius*. European Journal of Nutrition [Revista en internet]. 2003. [acceso 19 de abril del 2013]; 42(1):61-66. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12594543>

9. Jayo Escajadillo C. Estudio comparativo de la actividad antioxidante del extracto metanólico de cuatro cultivares de *Oxalis tuberosa* Mol. "oca" [Tesis para obtener el título profesional de Químico Farmacéutica]. Ayacucho: Farmacia y Bioquímica, UNSCH; 2006.
10. Salluca T, Peñarrieta M, Alvarado A, Bergenstahl B. Determination of total phenolic compounds content and the antioxidant capacity of andean tubers and roots (isaño, oca, ulluco and arracacha). Instituto de Investigaciones Químicas [Revista en internet]. 2008. [acceso 19 de abril del 2013]; 25(1):58-61. Disponible en: [http://archive.idrc.ca/library/document/096951/index\\_s.html](http://archive.idrc.ca/library/document/096951/index_s.html)
11. Chirinos R, Campos D, Betalleluz I, Giusti M, Schwartz S, Tian Q, Pedreschi R, y Larondelle Y. High-performance liquid chromatography with photodiode array detection (HPLC-DAD)/HPLC-mass spectrometry (MS) profiling of anthocyanins from Andean Mashua Tubers (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) and their contribution to the overall antioxidant activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry. [Revista en internet]. 2006. [acceso 17 de abril del 2013]; 54(19):7089-7097. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16968067>
12. Betalleluz I, Chirinos R, Rogez H, Pedreschi R, Campos D. Phenolic compounds from Andean mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) tubers display protection against soybean oil oxidation. PubMed - Indexed for MEDLINE [revista en internet]. 2011. [acceso 17 de abril del 2013]; 18(3):271-80. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22701060>.
13. Guillén Y, Palomares L, Oliveira G, Troncoso L. Efecto del calor en la capacidad antioxidante de la mashua amarilla *Tropaeolum tuberosum*, con y sin cáscara. IX Jornadas de Investigación en Salud; Medicina Humana-UNMSM. 2007; 68(1): 75-88.
14. Mostacero León J, y Mejía Coico F. Taxonomía de fanerógamas peruanas. Trujillo: CONCYTEC; 1993.
15. Tapia B. Catálogo de recursos genéticos de raíces y tubérculos andinos en Ecuador. Quito:INEAP; 1996.
16. Felices Villar J. Extracción de nutrientes por diez ecotipos de mashua *Tropaeolum tuberosum* R y P. en secano (Chiara, 3600 msnm). [Tesis para obtener el título profesional de Ingeniero Agrónomo]. EFP. Agronomía, UNSCH; 2001.

17. Quispe Laura D. Análisis químico bromatológico de cinco ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* "mashua" Ayacucho a 2760 msnm. [Tesis para obtener el título profesional de Bióloga]. Biología, UNSCH. 2001.
18. Mayhua García H. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* "mashua" en ratas [Tesis para obtener el título profesional de Químico Farmacéutico]. Ayacucho: Farmacia y Bioquímica, UNSCH; 2007.
19. González S. Producción de "oca" *Oxalis tuberosa*, "papalisa" *Ullucus tuberosus* e "isaño" *Tropaeolum tuberosum*, importancia, zonas productoras, manejo y limitantes. [Tesis para obtener el título profesional de Ingeniero Agrónomo]. Cochabamba - Bolivia. 2003.
20. Suquilanda Valdivieso M. Producción Orgánica de cultivos andinos. [Revista en internet]. 2011. [acceso 22 de octubre del 2012]; 1(1):1-199. Disponible en:  
[http://www.mountainpartnership.org/fileadmin/user\\_upload/mountain\\_partnership/docs/1\\_produccion\\_organica\\_de\\_cultivos\\_andinos.pdf](http://www.mountainpartnership.org/fileadmin/user_upload/mountain_partnership/docs/1_produccion_organica_de_cultivos_andinos.pdf)
21. Al-Saikhan M, Howard I, Miller J. Antioxidant Activity and Total Phenolics in Different Genotypes of Potato (*Solanum tuberosum*, L.). Food Science, [revista en internet]. 1995. [acceso 19 de abril del 2013]; 60(2): 341–343. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jfds.1995.60.issue-2/issuetoc>.
22. Cajamarca Ruiz E. Evaluación nutricional de la oca (*Oxalis tuberosa*) fresca, endulzada, y deshidratada en secador de bandejas. [Tesis para obtener el título profesional de Bioquímico Farmacéutico]. Riobamba, Universidad Politécnica de Chimborazo. 2010.
23. Muñoz A, Ramos D, Alvarado C, Castañeda B. Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. Sociedad Química del Perú. 2007; 73(1):142-149.
24. Aguilar E, y Bonilla B. Actividad antioxidante e inmunológica de flavonoides aislados de hojas de *Smallanthus sonchifolius* (yacón). Ciencia e Investigación [revista en internet]. 2009. [acceso 19 de abril del 2013]; 12(1): 15-23. Disponible en:  
[http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v12\\_n1/pdf/a03v12n1.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v12_n1/pdf/a03v12n1.pdf)
25. Mitjavila M, López D, Sáiz M. Los Radicales Libres y su implicación en procesos fisiológicos y patológicos. España. 2001.



26. Villar de Fresno A. Farmacognosia General. España: Síntesis; 1999.
27. Ugartondo Casadevall V. Caracterización de derivados polifenólicos obtenidos de fuentes naturales, citotoxicidad y capacidad antioxidante frente a estrés oxidativo en modelos celulares [Tesis para obtener el título profesional de Ingeniero de Industrias alimentarias]. Industrias de Alimentos, Universidad de Barcelona; 2009.
28. Kuklinski C. Farmacognosia: estudios de las drogas y sustancias. Medicamentosas de origen vegetal. Barcelona: Omega S.A; 2000.
29. Proestos C, Choriantopoulos N, Nychas G, Komaitis M. RP-HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry. [Revista en internet]. 2005. [acceso 23 de febrero del 2013]; 53(4):1190-5. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf040083t>
30. Evans W. Farmacognosia. 4ª ed. México: Editorial Interamericana McGraw Hill; 1991.
31. Bruneton J. Elementos de fitoquímica y farmacognosia. Editorial Zaragoza: Acribia S.A. 1991.
32. Pokorny J, Yanishlieva N, Gordon M. Antioxidantes de los Alimentos, Aplicaciones Prácticas. Zaragoza: Acribia, S.A; 2001.
33. Castañeda C, Ramos E, Ibañez V. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. Horizonte Médico [revista en internet]. 2008. [acceso 19 de octubre del 2012]; 8(1):56-72. Disponible en: [http://www.medicina.usmp.edu.pe/horizonte/2008\\_I/Art4\\_Vol8\\_N1.pdf](http://www.medicina.usmp.edu.pe/horizonte/2008_I/Art4_Vol8_N1.pdf)
34. Campos D, Noratto G, Chirinos R, Arbizu C, Roca L, y Cisneros L. Antioxidant capacity and secondary metabolites in four species of Andean tuber crops: native potato (*Solanum* sp.), mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón), Oca (*Oxalis tuberosa* Molina) and ulluco (*Ullucus tuberosus* Caldas). Journal of the Science of Food and Agriculture [revista en internet]. 2006. [acceso 17 de abril del 2013]; 86(1):1481–1488. Disponible en: [http://aggie-orticulture.tamu.edu/faculty/cisneros/Papers/Campos\\_2006.pdf](http://aggie-orticulture.tamu.edu/faculty/cisneros/Papers/Campos_2006.pdf)
35. Martínez M. Farmacognosia: Flavonoides. Medellín-Colombia: Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia; 2005.
36. Geoffrey P. Complementos Nutricionales y Alimentos Funcionales. España: Acribia, S.A. 2006.

37. Arias Cortes M. Análisis y comparación de los glucosinolatos presentes en diferentes accesiones de cubio (*Tropaeolum tuberosum*) para evaluar su uso potencial en el control del patógeno de la papa *Spongosptora subterranea*. [Tesis de maestría]. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias; 2011.

## **ANEXOS**

## Anexo 1

Tabla 2. Certificado de clasificación taxonómica de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua".



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

### C E R T I F I C A

Que, el Bach. en Farmacia y Bioquímica, Sr. Nerio Nilo, MORALES HUAMÁN, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

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

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ROSIDAE
ORDEN	:	GERANIALES
FAMILIA	:	TROPAEOLACEAE
GÉNERO	:	<i>Tropaeolum</i>
ESPECIE	:	<i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pav.
N.V.	:	"mashua"



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

Ayacucho, 05 de Setiembre del 2012

UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
HERBARIUM HUAMANGENSIS  
  
B<sup>ga</sup>. Laura Fournelle Medina  
JEFE

## Anexo 2

Tabla 3. Certificado de identificación de los cuatro ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua".

 <p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTOBAL DE HUAMANGA Departamento Académico de Agronomía y Zootecnia</p> <p><b>EL QUIEN SUSCRIBE, PROFESOR DE LA CATEDRA DE PRODUCCION Y MANEJO DE SEMILLAS DE LA ESCUELA DE FORMACION PROFESIONAL DE AGRONOMIA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTOBAL DE HUAMANGA:</b></p> <p style="text-align: center;"><b>C E R T I F I C A</b></p> <p>Que, el señor Nerio Nilo <b>MORALES HUAMAN</b>, estudiante de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica ha solicitado la identificación de ecotipos de muestras de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz &amp; Pav. (Mashua), las mismas que han sido identificadas como sigue:</p> <p>Muestra 01:      Ecotipo zapallo Muestra 02:      Ecotipo Oqe Muestra 03:      Ecotipo Yana ñahui Muestra 04:      Ecotipo Sangre de Cristo</p> <p>Se expide el presente certificado a solicitud del interesado, para los fines que estime conveniente.</p> <p style="text-align: right;">Ayacucho, 20 de Setiembre del 2012.</p> <p style="text-align: center;"> <b>Dr. ROLANDO BAUTISTA GOMEZ</b> DOCENTE</p>
--

### Anexo 3

Tabla 4. Caracterización fitoquímica.<sup>6</sup>

<b>Metabolitos secundarios</b>	<b>Ensayos con reactivos</b>	<b>Resultados/observación</b>
Flavonoides	Shinoda	Formación de coloración naranja, carmelita o rojo
Cumarinas y lactonas	Baljet	Formación de coloración roja
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	Formación de coloración oscura
Azúcares reductores	Fehling	Formación de precipitado rojo ladrillo
Catequinas	Catequinas	Fluorescencia verde carmelita a la luz UV

#### Anexo 4

Tabla 5. Porcentaje de captación de radical libre del extracto hidroalcohólico del tubérculo de cuatro ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua".

Muestras	Concentración ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	10 ( $\mu\text{g/ml}$ )	50 ( $\mu\text{g/ml}$ )	100 ( $\mu\text{g/ml}$ )
Ecotipo zapallo	52,70%	56,63%	59,83%
Ecotipo oqe	56,51%	59,65%	73,50%
Ecotipo sangre de Cristo	52,94%	57,52%	63,69%
Ecotipo yana Ñahui	54,66%	61,50%	66,25%
Estándar vitamina C	96,91%	97,50%	99,58%

## Anexo 5

Tabla 6. Análisis de varianza del porcentaje de captación de radical libre DPPH de los extractos hidroalcohólicos de cuatro ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua" y el estándar vitamina C.

			Método único				
			Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Porcentaje de captación del radical DPPH (%)	Covariables	Tratamientos	6 652,617	1	6 652,617	60,328	0,000
	Efectos principales	Conc. (µg/ml)	736,704	2	368,352	3,340	0,045
	Modelo		7 389,320	3	2 463,107	22,336	0,000
	Residual		4 521,273	41	110,275		
	Total		1 910,594	44	270,695		



## Anexo 6

Tabla 7. Análisis de varianza del porcentaje de captación de radical libre DPPH de los extractos hidroalcohólicos de cuatro ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua".

Método único							
			Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Porcentaje de captación del radical DPPH (%)	Covariables	Tratamientos	152,647	1	152,647	15,497	0,000
	Efectos principales	Conc. ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	821,211	2	410,606	41,686	0,000
	Modelo		973,8458	3	324,619	32,956	0,000
	Residual		315,200	32	9,850		
	Total		289,057	35	36,830		

## Anexo 7

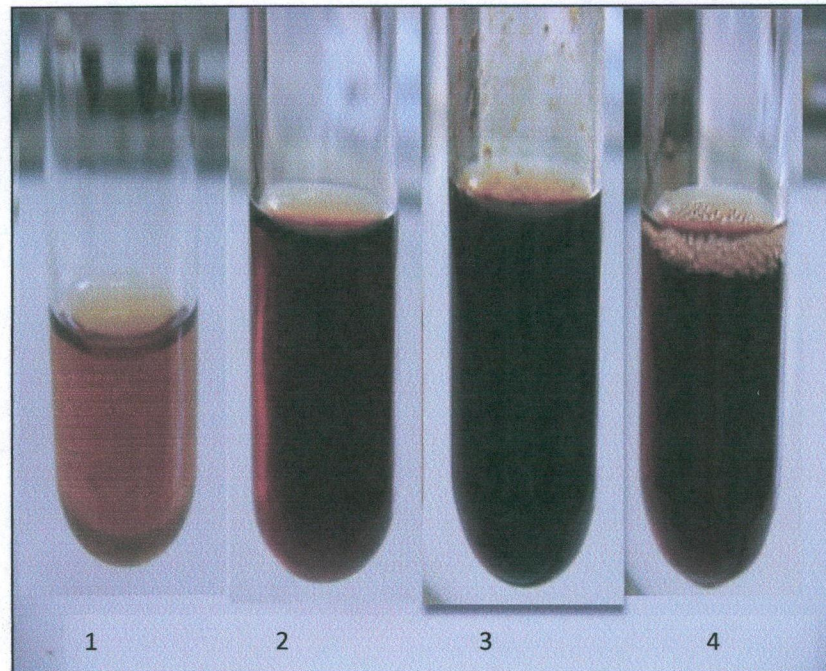


Figura 7. Identificación de flavonoides con reactivo de Shinoda del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua". Ecotipos: (1) "zapallo", (2) "oqe", (3) "sangre de Cristo" y (4) "yana ñahui".

## Anexo 8

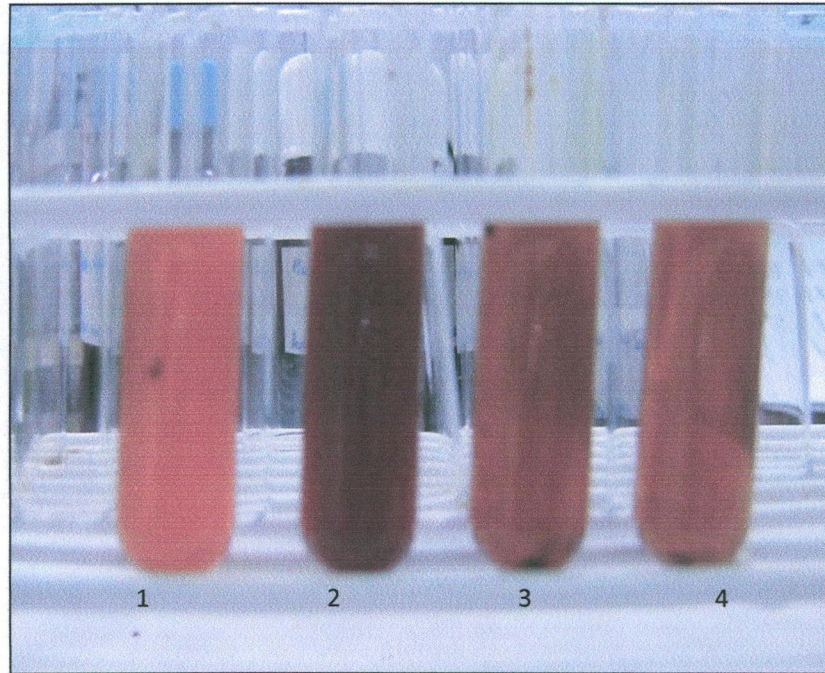


Figura 8. Identificación de lactonas y cumarinas con reactivo de Baljet del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua". Ecotipos: (1) "zapallo", (2) "oqe", (3) "sangre de Cristo" y (4) "yana ñahui".

## Anexo 9

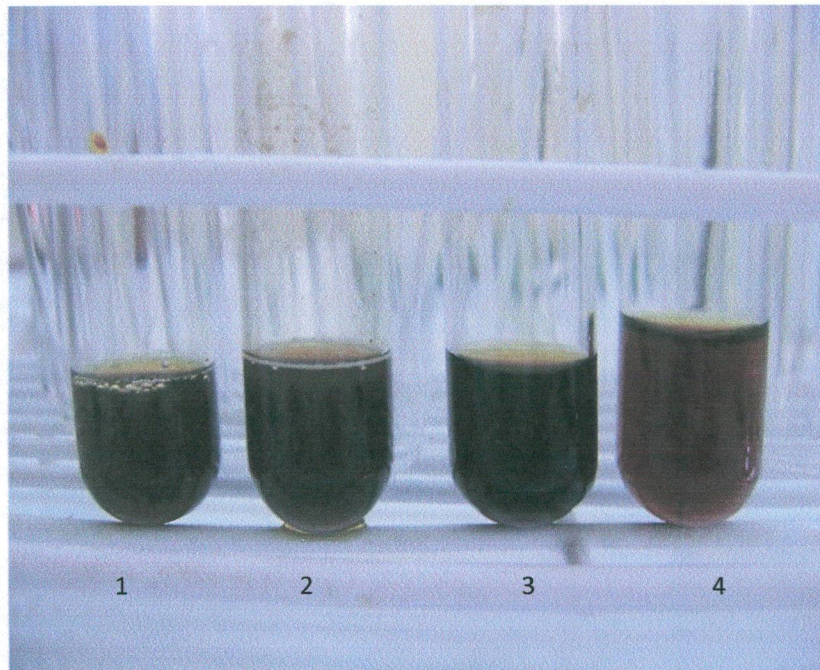


Figura 9. Identificación de taninos y fenoles con cloruro férrico del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua". Ecotipos: (1) "zapallo", (2) "oqe", (3) "sangre de Cristo" y (4) "yana ñahui".



## Anexo 10

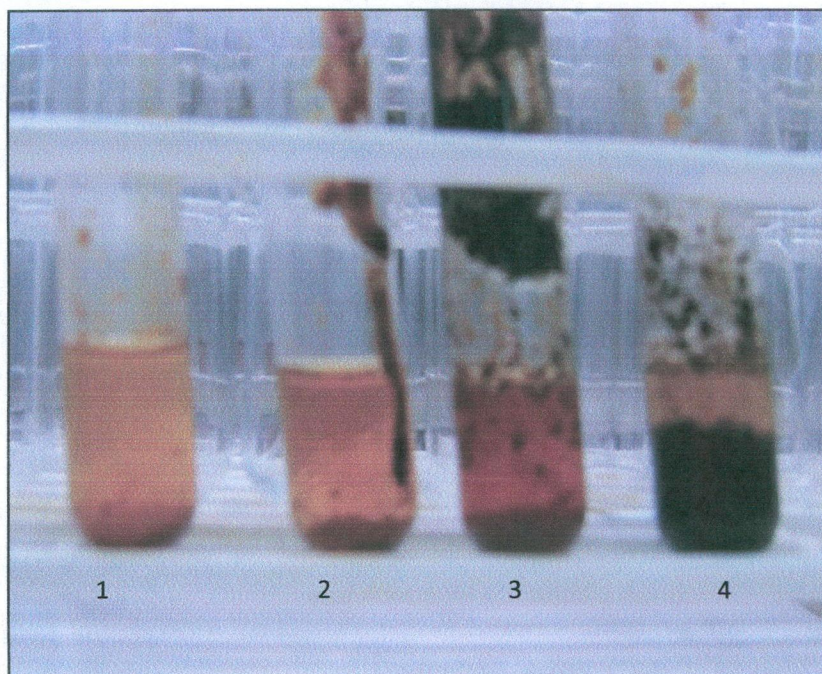


Figura 10. Identificación de azúcares reductores con reactivo de Fehling del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaecolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua". Ecotipos: (1) "zapallo", (2) "oqe", (3) "sangre de Cristo" y (4) "yana ñahui".

## Anexo 11

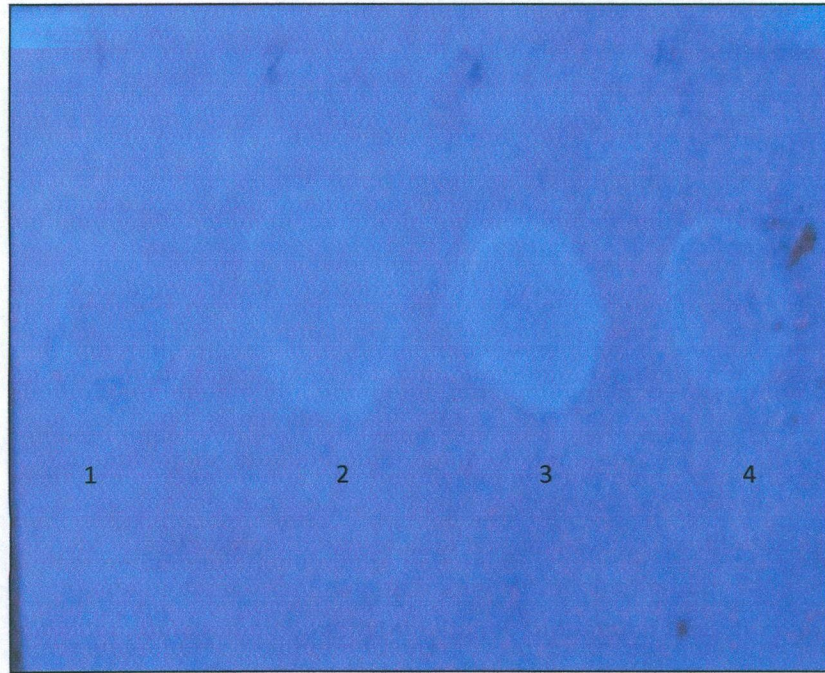


Figura 11. Catequinas observadas con luz U.V. del extracto hidroalcohólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua". Ecotipos: (1) "zapallo", (2) "oqé", (3) "sangre de Cristo" y (4) "yana ñahui".

Anexo 12



Figura 12. Ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua".



Anexo 13

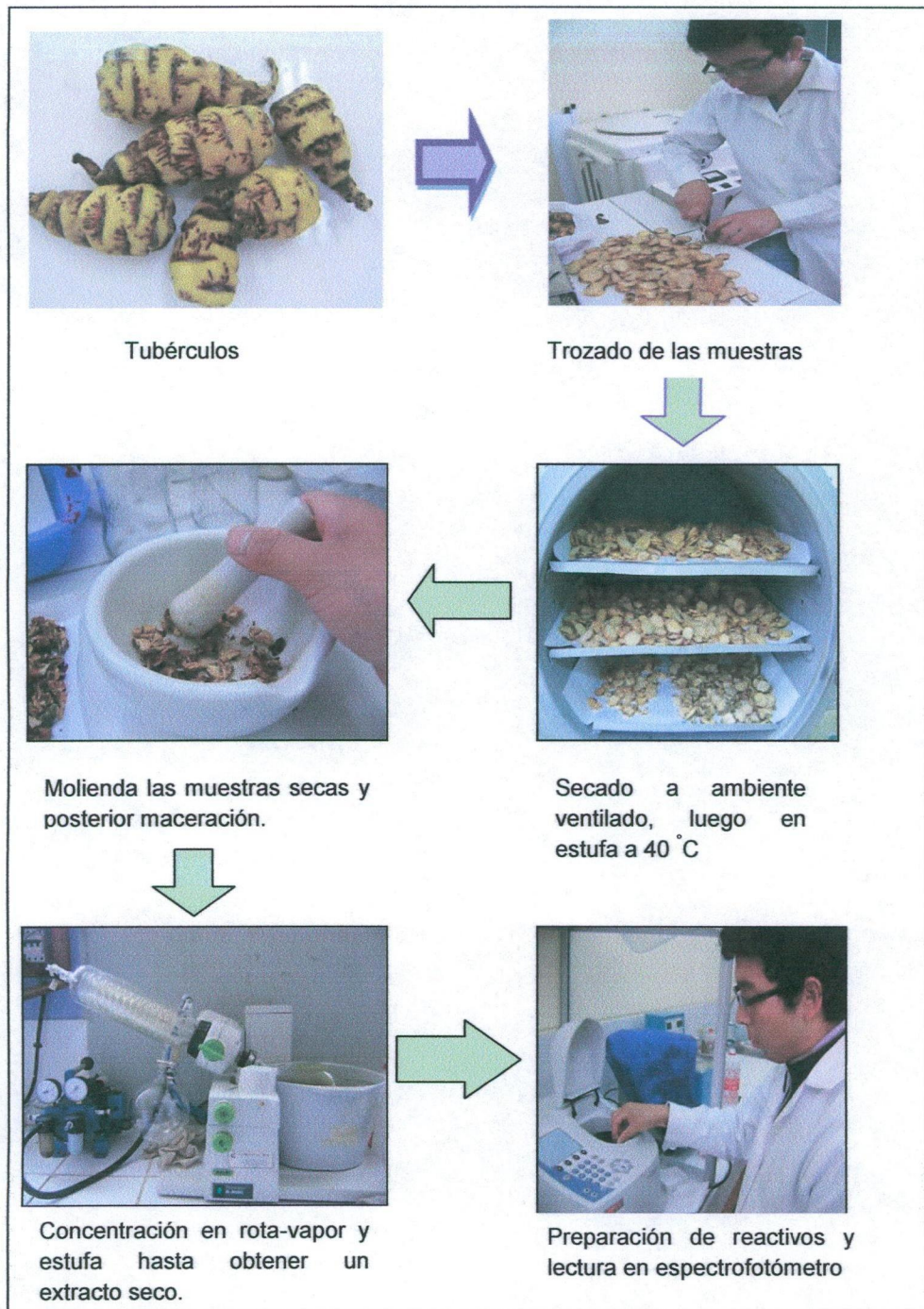


Figura 13. Flujo de preparación del extracto hidroalcohólico y su lectura en espectrofotómetro de cuatro ecotipos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. "mashua".



Anexo 14

Tabla 8. Matriz de consistencia

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEORICO	HIPOTESIS	VARIABLES	METODOLOGIA
Actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de cuatro ecotipos del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pav. "mashua". Ayacucho 2012.	¿Tendrá diferente actividad los extractos hidroalcohólicos de los cuatro ecotipos del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pav. "mashua"?	<p><b>Objetivo general:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Evaluar la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico del tubérculo de cuatro ecotipos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz &amp; Pav. "mashua".</li> </ul> <p><b>Objetivos específicos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Identificar los metabolitos secundarios presentes en el tubérculo de cuatro ecotipos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz &amp; Pav. "mashua".</li> <li>• Comparar la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico del tubérculo de cuatro ecotipos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz &amp; Pav. "mashua" con el estándar vitamina C.</li> <li>• Comparar la actividad antioxidante de los cuatro ecotipos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz &amp; Pav. "mashua".</li> </ul>	<p>El <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz &amp; Pav. "mashua" es una planta herbácea que se cultiva desde 2400 a 4300msnm.(Tapia, 1996). Tradicionalmente la mashua se considera un anti afrodisiaco (Tapia, 1996). Un análisis bromatológico realizado indica que la mashua contiene beta-caroteno, rivo flavina, niacina, ácido ascórbico además de otros nutrientes</p> <p><b>Radicales libres</b> son átomos o moléculas que tiene uno o más electrones desapareados, es muy reactivo,es decir, sustrae un electrón de átomos o moléculas estables, a las cuales oxida, con el fin de alcanzar su propia estabilidad (Quintanar y Calderón, 2009).</p> <p><b>Los antioxidantes</b> son sustancias cuya acción consiste en inhibir la tasa de oxidación de los nocivos radicales libres. (Villar de Fresno, 1999)</p>	El extracto hidroalcohólico de cuatro ecotipos del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pav. "mashua" poseen diferente actividad antioxidante.	<p><b>Variable Independiente:</b></p> <p>Extracto hidroalcohólico de cuatro ecotipos del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz &amp; Pav. "mashua".</p> <p><b>Indicador:</b></p> <p>Diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico obtenidos de cuatro ecotipos del tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz &amp; Pav. "mashua".</p> <p><b>Variable Dependiente:</b></p> <p>Actividad antioxidante</p> <p><b>Indicadores:</b></p> <p>Porcentaje (%) de captación de Radicales Libres.</p>	<p><b>Tipo:</b> Básico</p> <p><b>Nivel:</b> Descriptivo</p> <p><b>Población:</b> Ecotipos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz &amp; Pav. "mashua" que se encuentran en la Provincia Huamanga, Región Ayacucho.</p> <p><b>Muestra:</b> 2Kg de tubérculo de cuatro ecotipos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz &amp; Pav. "mashua"</p> <p><b>Diseño metodológico:</b></p> <p>De los extractos hidroalcohólicos obtenidos de los cuatro ecotipos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz &amp; Pav. se estudiará la actividad antioxidante por el método de actividad secuestradora del Radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) (Castañeda y Col. 2008)</p>